

**AYÇİÇEĞİ MİLDİYÖSÜ HASTALIĞININ
(*Plasmopara halstedii*) ANTAGONİST
FUNGUSLARLA KONTROL OLANAKLARI**

Gülden HAZARHUN

Yüksek Lisans Tezi

**Bitki Koruma Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Nuray ÖZER
2016**

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**AYÇİÇEĞİ MİLDİYÖSÜ HASTALIĞININ (*Plasmopara halstedii*)
ANTAGONİST FUNGUSLARLA KONTROL OLANAKLARI**

Gülden HAZARHUN

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Nuray ÖZER

TEKİRDAĞ-2016

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Nuray ÖZER danışmanlığında, Gülden HAZARHUN tarafından hazırlanan “Ayçiçeği Mildiyösü Hastalığının (*Plasmopara halstedii*) Antagonist Funguslarla Kontrol Olanakları” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Nuray ÖZER

İmza :

Üye: Doç. Dr. Himmet TEZCAN

İmza :

Üye: Yrd. Doç. Dr. Arzu COŞKUNTUNA

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AYÇİÇEĞİ MİLDİYÖSÜ HASTALIĞININ (*Plasmopara halstedii*) ANTAGONİST FUNGUSLARLA KONTROL OLANAKLARI

Gülden HAZARHUN

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuray ÖZER

Bu çalışmada, yemeklik soğanda siyah küf hastalığını önleyen AS3 (aflatoksin üretmeyen *Aspergillus flavus* Link), TRIC7 ve TRIC8 (*Trichoderma harzianum* Rifai) izolatları, ve ticari bir mikorhiza preparatı (MycoZoom-bitki gelişmesini teşvik edici), ayçiçeğinde bitki gelişimi ve *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berlese et de Toni tarafından oluşturulan mildiyö hastalığına karşı etkileri açısından test edilmişlerdir. Potansiyel antagonistlerle tohum uygulamasında yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlar antagonistlerin konidi süspansüyonları (1×10^7 conidia/ml) içinde 1 saat çalkalanmıştır. Mycorhiza ile tohum uygulaması ise firma tarafından önerilen doz ve sürede (0.075g/100 ml su ve 1 saat) gerçekleştirilmiştir. Hastalığın kontrolü testlerinde ayrıca antagonistlerle 6 saat süreli tohum uygulaması da yapılmıştır. Sonuç olarak tüm uygulamalar tohum çimlenmesini teşvik etmiştir. Uygulamalar arasında TRIC8 bitki boyu, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu, yaprak indeksi ve sayısı yönünden en yüksek değerleri almıştır. Kısa süreli yapılan tohum uygulamaları hastalığı düşük oranda engellemiş (<50%), ancak uzun süreli tohum uygulamalarında TRIC8 ve TRIC7 sırasıyla % 72.22 ve 65.55 oranlarında etkili bulunmuşlardır.

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), mildiyö, biyolojik kontrol

ABSTRACT

Msc. Thesis

POSSIBILITIES FOR CONTROLLING OF SUNFLOWER DOWNY MILDEW (*Plasmopara halstedii*) WITH ANTAGONISTIC FUNGI

Gülden HAZARHUN

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Main Science Division of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Nuray ÖZER

The isolates of AS3 (non-aflatoxicogenic *Aspergillus flavus* Link), TRIC7 and TRIC8 (*Trichoderma harzianum* Rifai) which controlled black mold disease in onion, and a commercial mycorrhiza prepareate (MycoZoom-inducer plant growth) were tested for their effects on plant growth and the disease incidence caused by *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berlese et de Toni in sunflower (*Helianthus annuus* L.) in this study. The surface-sterilized sunflower seeds were treated with the conidia suspension (1×10^7 conidia/ml) of potential antagonists by shaking the seeds for 1 hour. Solution of MycoZoom was applied to the seeds at the recommended dosage and duration for agitation by the firm (0.075g/100 ml water and 1 hour. In the evaluation tests of disease incidence, the seeds were also exposed to the agitation in conidia suspension of antagonists for 6 hours. All treatments induced the germination of seeds. Among them TRIC8 had the highest values for plant height, the width, length, number and index of leaf. Short-term seed treatments controlled the disease at very low rates (<50%). However long-term seed treatments with TRIC8 and TRIC7 were found as effective at the rates of 72.22 and 65.55%, respectively.

Keywords: sunflower (*Helianthus annuus* L.), downy mildew, biological control

2016, 31 pages

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	İ
ABSTRACT	İİ
İÇİNDEKİLER	İİİ
ÇİZELGE DİZİNİ	İV
ŞEKİL DİZİNİ	V
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR TARAMASI	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM	11
3.1. Materyal.....	11
3.2. Yöntem.....	11
3.2.1. Aday antagonist fungusların çoğaltılması ve tohum inokulasyonu.....	11
3.2.2. Antagonist fungusların tohum çimlenmesi üzerine etkisi.....	13
3.2.3. Antagonist fungusların bitki büyümesi üzerine etkisi.....	13
3.2.4. Antagonist fungusların mildiyö hastalığı üzerine etkisinin belirlenmesi.....	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	18
4.1. Antagonistlerin Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkileri.....	18
4.2. Aday antagonistlerin Bitki Büyümesi Üzerine Etkisi.....	19
4.3. Aday Antagonistlerin ve Mycozoom'un Hastalık Oranı Üzerine Etkisi.....	20
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	27
6. KAYNAKLAR	28
TEŞEKKÜR	31
ÖZGEÇMİŞ	32

ÇİZELGE DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1. Antagonistlerin tohum çimlenmesi üzerine etkisi.....	18
Çizelge 4.2. Aday antagonistlerin ve mikorhiza ile tohum uygulamasının bitki gelişimi üzerine etkisi.....	19
Çizelge 4.3. Aday antagonistler ve mycozooom ile kısa süreli tohum uygulamasının hastalık oranına etkisi.....	21
Çizelge 4.4. Aday antagonistler ve mycozooom ile uzun süreli tohum uygulamasının hastalık oranına etkisi.....	22

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Ayçiçeği bitkisi.....	1
Şekil 1.2. Tarlada mildiyö hastalığına yakalanmış bodur bitkiler.....	4
Şekil 1.3. Yaprak altlarında sporangiumların oluşturduğu fungal örtü.....	4
Şekil 1.4. <i>Plasmopara halstedii</i> zoosporangiumları (zoosporangia).....	5
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan antagonist funguslar a: TRIC8; b: AS3; c: TRIC7.....	12
Şekil 3.2. Antagonist fungusların tohumlara bulaştırılması.....	12
Şekil 3.3. Tohumların viyollerde çimlenmesi (a) ve bitki gelişimi (b).....	13
Şekil 3.4. Saksılara aktarılan fideler.....	14
Şekil 3.5. Bitkilerde gözlem aşaması.....	14
Şekil 3.6. Çimlendirme amacıyla kağıt arası tohum ekimi	15
Şekil 3.7. Patojen inokulasyonunun gerçekleştirildiği kökçük aşaması	16
Şekil 3.8. Patojen inokulasyonundan sonra inkübasyona bırakılan fidelikler	17
Şekil 4.1. Antagonist uygulanan (1) ve kontrol (2) tohumlardan gelişen fideliklerde kök gelişimi.....	21
Şekil 4.2. Mycorhiza ile 1 saat süreli tohum uygulaması sonucu mildiyö gelişimi.....	22
Şekil 4.3. Kontrol bitkilerdeki mildiyö gelişimi.....	23
Şekil 4.4. TRIC8 ile 6 saat süreli tohum uygulaması sonucu mildiyö gelişimi.....	23
Şekil 4.5. TRIC7 ile 6 saat süreli tohum uygulaması sonucu mildiyö gelişimi.....	24
Şekil 4.6. AS3 ile 6 saat süreli tohum uygulaması sonucu mildiyö gelişimi.....	24

1. GİRİŞ

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) tüm dünyada ve ülkemizde yağ için yetiştirilen önemli bir endüstri bitkisidir (Şekil 1.1.). Tohumları % 40-50 oranında yağ içermekte olup, ülkemizdeki bitkisel yağ üretimimizin % 57'si ayçiçeğinden elde edilmektedir. Ayrıca % 40-45 oranında elde edilen ayçiçek küspesinin içerdiği % 30-40 oranındaki protein ile de değerli bir yem olarak hayvanlar için besin kaynağıdır. Yemelik yağ dışındaki yağlar, sabun ve boya sanayinde değerlendirilmekte; sapları da yakacak olarak kullanılmaktadır. Sapların yakılmasından sonra oluşan kül %36-40 oranında potasyum içermekte olup, gübre olarak da değerlendirilebilmektedir. Ayrıca, ayçiçeği tohumu çerezlik olarak da tüketilmektedir (Tülek ve ark. 2014). Toplam ayçiçeği üretimimizin % 2,6'sı çerezlik ayçiçeğidir. Oldukça sağlıklı olan ayçiçeği çekirdeği fındık türü diğer kabuklu ürünlerle karşılaştırıldığında protein içeriği bakımından oldukça yüksektir. FAO verilerine göre dünyada toplam ayçiçeği ekim alanı 25.590.104 ha ve üretim miktarı da 44.753.264 ton'dur. Ayçiçeği ekili alan yönünden Rusya (6.976.100 ha), verim açısından Ukranya (11.050.480 ton) ilk sırada bulunmaktadır. Türkiye'de ise ayçiçeği ekim alanı 609.784 ha ve üretim miktarı 1.523.000 ton olup, dünya ekiliş alanı bakımından 9. sırada verim açısından 8. sırada yer almaktadır (Anonim 2013).



Şekil 1.1. Ayçiçeği bitkisi

Ülkemizde illere göre üretim miktarına baktığımızda, ayçiçeği üretimimizin %62.5'i sırasıyla Tekirdağ, Edirne ve Kırklareli illerimizde gerçekleşmektedir. Bu illerimizi sırasıyla İstanbul, Çanakkale, Balıkesir, Bursa ve Kahraman Maraş izlemektedir (Anonim 2014)

Ayçiçeği yabancı döllen bir bitkidir. Çiçekli bitkilerin temel tozlayıcısı olarak kabul edilen rüzgar, hem homojen tozlaşma sağlayamaması, hem de ağır çiçek tozlarını taşıyamaması yüzünden ayçiçeği de dahil olmak üzere birçok bitki türünde tozlaşma için yeterli olmamaktadır. Bal arısı birçok ülkede uzun yıllardan beri çeşitli meyve, sebze, yem bitkisi ve endüstri bitkilerinin tozlaşmasında kullanılmaktadır, Bal arıları polen ve nektar toplamak amacıyla çiçekleri ziyaret etmekte ve çiçekten çiçeğe dolaşırken vücutlarına yapışan polenleri de taşıyarak bitkilerin döllenmesine neden olmaktadır. Bal arılarının uçuş alanları ve etkinlikleri fazladır ayrıca haberleşme sistemleri de gelişmiştir. Koloni ömürleri uzun ve popülasyonları fazladır. Hızlı çoğalırlar, her zaman bulunabilirler, yetiştiricilikleri kolaydır ve kovan içinde bulduklarından zirai ilaçlardan kısmen korunabilirler. Sahip oldukları bu özellikler bal arılarının polinatör olarak önemlerini artırmaktadır (Tülek ve ark. 2014).

Ayçiçeğinde, yabancı ot, çiçekli parazit bitki ve diğer etmenler yanında en önemli fitopatolojik sorunlardan birisi de mildiyö hastalığıdır. Hastalığına obligat bir fungal patojen olan *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berlese et de Toni etmeni sebep olmaktadır. Patojen 1876 tarihinde Halsted tarafından Massachusetts (A.B.D)'de rapor edilmiştir.

İlk yıllarda Asteraceae familyasında bulunan bitki türlerinden sporangium ve sporangioforların benzerliği nedeniyle çok sayıda mildiyö izolatu elde edilmiştir. Ancak 1900 lü yıllarda yapılan denemeler sonucunda etmenin konukçu dizininin dar olduğu ileri sürülmüştür. Daha sonraki yıllarda 70 den fazla potansiyel konukçu ile suni ve doğal tarla koşullarında yapılan testlerde çok yıllık ayçiçeği türleri, *Helianthus maximiliani*, *H. grosseserratus*, *H. tomentosus* ve hibrid *HelianthusXmultiflorus* kadar tek yıllık ayçiçeği türlerinin (*H. lenticularis*-Yabani ayçiçeği varyetesi, *H. debilis*) etmene karşı hassas olduğu tespit edilmiştir. Bu liste *H. divaricatus* ve *H. argophyllus* ile genişletilmiştir. Bununla birlikte Asteraceae familyasında *H. annuus* hariç diğer bitki bitki türlerinden elde edilen mildiyö izolatları inokulum kaynağı olarak başarılı olamamıştır (Viranyi ve Spring 2011).

Etmen ilk önce 1883 yılında *Eupatorium purpureum*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Bidens frondosa*, *Rudbeckia laciniata*, *Silphium terebinthaceum* ve çok yıllık ayçiçeği türleri olan *Helianthus strumosus*, *H. tuberosus* ve *H. doricoides* (*H. mollis* X *giganteus*) üzerinde bulunan patojen izolatları dikkate alınarak Farlow tarafından *Peronospora halstedii* olarak sınıflandırılmış, daha sonra direkt çim tüpü yerine zoospor vererek çimlenmesi nedeniyle 1888 yılında Berlese ve de Toni tarafından *Plasmopara halstedii* olarak değiştirilmiştir. 1907 yılında Wilson etmeni *Rhysotoeca halstedii* olarak tanımlasa da bu isim kesinlikle kabul görmemiştir (Viranyi ve Spring 2011).

Plasmopara halstedii ayçiçeği gibi Kuzey Amerika orijinli olup Avrupa'da ilk önce Yugoslavya'da 1940'lı yıllarda görülmüş daha sonra diğer Avrupa ülkelerine yayılmıştır. Fungus, Avustralya hariç bütün ülkelerde rapor edilmiştir ve ayçiçeği yetiştirilen subtropikal bölgelere kıyasla ılıman iklimin hâkim olduğu yerlerde daha yaygındır ve daha fazla verim kayıplarına sebep olmaktadır. Yağmurlu, nispi nemin yüksek ve hava sıcaklığının 20°C'nin altında olduğu iklim koşulları hastalığın yoğun olarak görülmesi için en önemli faktördür. Ülkemizde ilk kez 1958'de Adapazarı'nda görülmüştür (Karel 1958). Sonraki yıllarda Trakya ve Marmara Bölgesi'nde büyük bir sorun haline gelmiş ayrıca Ege Bölgesi ve Erzurum'da da tespit edilmiştir (Yücer ve Karaca 1978; Döken 1982; Döken 1987; Onan ve ark. 1992).

Ayçiçeğinde mildiyö hastalığının şiddeti ve tipi inokulum miktarına, çeşidin hassasiyetine, toprak nemi, sıcaklık gibi iklim faktörlerine bağlı olarak çok değişkenlik göstermektedir. Belirtiler sistemik ve lokal olmak üzere iki şekilde kendini göstermektedir. Köklerde başlayan sistemik enfeksiyon sonucu çıkış öncesi fide ölümleri ve çıkış sonrası fide yanıklıkları şeklinde kendini göstermektedir. Sistemik enfeksiyonun en tipik belirtisi yaprakların buruşarak klorotik bir hal alması ve boğum aralarının kısalması ile bitkilerin bodurlaşmasıdır (Şekil 1.2.). Bodurlaşmış bitkiler sağlıklı bitkilerin yarısı ya da daha az boyda olmaktadır. Sistemik olarak enfekte olmuş bitkilerde sonradan çıkan bütün yapraklar tamamen veya kısmen sararmaktadır. Serin iklim koşullarında yoğun bir çiğ veya yağmurdan sonra etmen gövdedeki hücrelerde haustorium oluşturarak ilerlemekte, sap ve hipokotil aracılığıyla yapraklara ulaşmakta daha sonra yaprak ana damarlar boyunca gelişmesine devam etmekte, yaprakların alt yüzeyindeki stoma boşluklarında sporangioforlar ve zoosporangiumlarını (Şekil 1.3) oluşturmaktadır (Döken 1986).



Şekil 1.2. Tarlada mildiyö hastalığına yakalanmış bodur bitkiler



Şekil 1.3. Yaprak altlarında sporangiumların oluşturduğu fungal örtü

Lokal karakterdeki sekonder enfeksiyonlarda ise bodurlaşma olmamakta, yapraklarda klorotik lekeler oluşmakta, iklim koşulları uygun olduğunda yaprak altında sistemik enfeksiyonda belirtildiği gibi sporangium ve sporangioforlardan oluşan fungal örtü oluşmaktadır. Lokal enfeksiyon ekonomik bir zarara neden olmamakla birlikte tohumla taşınma açısından önem taşımaktadır (Spring 2009). Ayrıca, bitkiler sekonder enfeksiyonlara daha uzun süre maruz kalmaları nedeniyle, uygun iklim koşullarında sistemik enfeksiyonlara nazaran daha fazla hassasiyet göstermektedirler.

Sulama suyu veya yağmur suyunun taşıdıkları oosporlar veya zoosporlar, yabancı ayçiçekleri veya yakın tarlalardan rüzgârla gelen zoosporlar, bir önceki yıldan kalan enfekteli bitki kalıntılarında oluşan toprak kaynaklı inokulum hastalığın epidemisinde rol oynayan önemli faktörlerdir (Zizzerini 1978). Diploid karakterli ve kalın hücre duvarlı yapıya sahip bir dinlenme sporu olan oosporların çimlenmesi ile etmenin yaşam çemberi başlamaktadır. Oosporlar bir zoosporangium meydana getirmekte ve zoosporangiumun içerisinde birbirinden bağımsız serbest halde hareket edebilen çift kamçılı zoosporlar meydana gelmektedir. (Şekil 1.4) Ayçiçeği kökleri ile temas eden zoosporlar kamçılarını kaybederek, köklere giriş yaptıktan sonra çim tüpü, apressorium ve ardından bölmesiz hif oluşturmaktadırlar. Etmenin köklerden gerçekleştirdiği primer enfeksiyonlar sistemik karakterdedir



Şekil 1.4. *Plasmopara halstedii* zoosporangiumları (Zoosporangia)

Hastalığın kontrolünde inokulum yoğunluğunu azaltmak için sertifikalı tohum kullanımı, sık ekimden kaçınılması, 7 yıllık münavebe yapılması, düzenli yabancı ot savaşımının yapılması, zayıf drenaja sahip topraklarda ayçiçeği üretimi yapılmaması, dayanıklı çeşit kullanılması, hasta bitkilerin ve bitki artıklarının sökülüp imha edilmesi gibi kültürel yöntemler önerilmektedir (Anonim 2008). Bunlar arasında özellikle 7 yıllık münavebe üretici açısından pratik olmamaktadır.

Kimyasal mücadele kapsamında fungusitlerle tohum ilaçlaması yapılmaktadır. Bununla birlikte iklim koşullarının uygun olduğu bazı yıllar epidemiler meydana gelebilmektedir. Bu da etmenin ırklarının olmasından ve kullanılan fungusitlere karşı dayanıklılık kazanmasından kaynaklanmaktadır (Delen ve ark., 1985; Onan ve Karcılıoğlu, 1988; Albourie ve ark. 1998; Molinero-Ruiz ve ark. 2008; Viranyi ve Spring, 2011).

Ülkemizde hastalığın yayılışı, etmenin ırkları yapay inokulasyonu ve hastalık üzerine sıcaklığın ve tohum ilaçlamalarının etkisine yönelik bulgular elde edilmiştir (Maden, 1982; Onan ve Onoğur, 1990; Onan ve ark., 1992; Oksal, 2014). Hastalık etmeninin kullanılan fungusitlere karşı dayanıklılık kazanma özelliği alternatif mücadele yöntemlerine gereksinimleri arttırmış, çalışmalar özellikle dayanıklı çeşit elde etme yolunda olmuştur (Evcı ve ark., 2011). Dayanıklı çeşit elde edilmesinin yanı sıra bitki aktivatörlerinin kullanımına yönelik yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Tosi ve ark.1998; Tosi ve ark.1999; Tosi ve Zizzerini 2000; NandeeshKumar ve ark. 2008 b; Körosi ve ark.2009; NandeeshKumar ve ark. 2009). Hastalığın kontrolünde biyolojik ajanların rolü ile ilgili ise sadece yurt dışında kısıtlı sayıda çalışma yapılmıştır (Tosi ve ark. 1993; NandeeshKumar ve ark. 2008 a; Nagaraju ve ark. 2012a ve b).

Bu tez çalışmasında kimyasal savaşıma alternatif olabilecek bazı antogonist fungusların ve mikorhiza preparatının bitki gelişimine ve mildiyö hastalığına olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR TARAMASI

Ayçiçeği mildiyösüne karşı yapılan biyolojik savaş çalışmaları oldukça az sayıdadır. Bu nedenle burada kimyasal savaşıma alternatif olmasının yanı sıra, bitki gelişimine ve hastalık kontrolüne etkilerini değerlendirmek ve sonuçlarımızla karşılaştırmak amacıyla bitki aktivatörleri ile yapılan çalışmalara da yer verilmiştir.

Tosi ve ark. (1993) ayçiçeği mildiyösüne dayanıklı ve hassas ayçiçeği çeşitlerinde mikorhiza türü olan *Glomus mosseae*'nin etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar en yüksek inokulum konsantrasyonunda *G. mosseae* ile inokule edilmiş bitkilerde bu mikorhiza tarafından iyi bir kök kolonizasyonunun gerçekleştiğini, bitkilerin kök ve sürgün uzunluğu ile kuru ağırlığının kontrol bitkilere göre önemli derecede arttığını, patojen tarafından oluşturulan kök enfeksiyonunda ve sistemik enfeksiyonda azalma meydana geldiğini bildirmektedirler. Çalışmada ayrıca dayanıklı bitkilerdeki fenolik madde üretimi ve liğnin birikimi gibi savunma reaksiyonlarının mikorhiza tarafından teşvik edilmediği tespit edilmiştir.

Tosi ve ark. (1998) patojenin (ırk 1 veya Avrupa ırkı) sporangium süspansiyonunun ekimden 5 gün sonra toprağa inokule edilmesi ile bitki aktivatörlerinden amino-n-butanoic asitin 4 isomeri ile farklı toprak uygulamalarının ayçiçeği mildiyösüne etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar çalışmaları sonucunda DL-B-amino-n-butyric acid (BABA)'nın patojen inokulasyonundan bir gün önce toprağa 150-200 mg/kg toprak oranında uygulanması halinde, hastalığın %80-83 oranında önlendiğini, 300 mg/kg toprak dozunda uygulanması durumunda ise %90'ın üzerinde bir etkinin oluştuğunu, ancak yüksek doz uygulamasında fitotoksik etkilerin ortaya çıktığını belirtmektedirler.

Tosi ve ark.(1999) bitki aktivatörü olan CGA 245704 [(benzo(1,2,3) thiadiazole-7-carbothioic acid S methyl ester (aci-benzolar-S-methyl)(BTH)]'nin patojenin (ırk 1 veya Avrupa ırkı) ön çimlendirme yapılmış tohumların kökçüklerine inokulasyonundan bir ya da 3 gün önce farklı dozlarda toprağa uygulanması, aktivator ile toprak uygulaması+metalaxyl ile tohum uygulaması kombinasyonu ve aktivatör ile yaprak uygulaması şeklindeki farklı uygulamaların ayçiçeği mildiyösüne etkilerini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmaları sonucunda patojen inokulasyonundan 3 gün önce aktivatörün 150-200 mg/toprak oranında toprağa uygulanması durumunda %80-82 oranında hastalığın önlendiğini, yüksek doz

uygulamalarında ise (300 mg/kg top) fitotoksik etkinin oluştuğunu, aktivatörün metalaxyl ile birlikte uygulanması halinde tek başına metalaxyl uygulamasına göre önemli bir farklılık oluşmadığını, yaprak uygulamasının ise %66-73 arasında etki gösterdiğini bildirmektedirler.

Tosi ve Zizzerini (2000) *Plasmopara helianthi* ile *Glomus mosseae* ile iki bitki aktivatörü DL-B-amino-n-butyric acid(BABA) ve CGA 245704 (acibenzolar-S-methyl(BTH)) arasındaki ilişkileri, ön çimlendirme yapılmış tohumların köklerine farklı zamanlarda patojen (ırk 1 veya Avrupa ırkı) inokulasyonu yaparak ve aktivatörlerle farklı uygulamalar gerçekleştirerek araştırmışlardır. Çalışmada mikorhiza tüm koşullarda tohumların 2 cm altına gelen toprak tabakasına 300g/kg toprak dozunda uygulanmış, enfeksiyon patojenin kök ve kotiledon yapraklara inokulasyonu ile sağlanmıştır. Çalışma sonucunda mikorhizal bitkilere patojen inokulasyonundan 1 ve 3 gün önce 50 ve 100 mg/kg toprak oranında sırasıyla BABA ve BTH'nin toprağa uygulanmasının patojene karşı orta derecede (%50-55) bir koruma sağladığı, aktivatör uygulamalarında mikorhizal kolonizasyonda, çimlenme ve kök sisteminde azalmalar olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar mikorhiza uygulaması yapılmış bitkilere patojen inokulasyonundan 1 gün sonra 400 ve 200 µg/ml dozunda sırasıyla BABA ve BTH'nin yapraklara püskürtülmesi halinde yaklaşık %80 oranında yaprak enfeksiyonunun azaldığını, bu uygulamanın mikorhiza kolonizasyonuna ve kök sistemine negatif bir etkisinin olmadığını belirtmektedirler.

Nandeeshkumar ve ark. (2008a), ayçiçeği tohumlarını bitki gelişimini teşvik eden bakteri izolatı olan INR7 (*Bacillus* spp.) nin farklı konsantrasyonları ile 6 saat süreyle çalkalayarak tohum kaplaması yapmışlar, bu tohumlardan gelişen 4 günlük fidelere ise sera koşullarında patojenin (hassas bir çeşitten elde edilmiş izolat) spor süspansiyonu ile 3 gün ardı ardına yıkama şeklinde inokulasyon gerçekleştirmişlerdir. Tarla koşullarında yapılan denemelerde ise patojenle doğal olarak bulaşık alanlar kullanılmıştır. Araştırmacılar bu çalışma sonucunda söz konusu bakterinin 1×10^8 hücre/ml dozundaki uygulamasının 1 hafta sonra % 86 ile en yüksek tohum çimlenme oranını sağladığını, 2215 ile en fide gücü indeksine neden olduğunu, sera ve tarla koşullarında hastalık oranını sırasıyla %51 ve 54 oranında azalttığını bildirmektedirler.

Nandeeshkumar ve ark. (2008b), bitki dokuları etrafında yarı geçirgen bir film oluşturarak çok sayıda patojenin girişini engelleyen chitosanın farklı konsantrasyonları ile

farklı sürelerde tohum kaplaması yaparak, uygulamaların tohum çimlenmesine, fide gücü indeksine, sera ve tarla koşullarındaki hastalık oranına etkilerini incelemişlerdir. Patojenin sera koşullarındaki inokulasyonu NandeeshKumar ve ark. (2008a)'daki gibi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada %85 çimlenme ve 1985 fide gücü değeriyle % 5 lik dozdaki chitosan uygulaması dikkate alınmıştır. Çalışmada bu dozun sera ve doğal olarak patojenle bulaşık tarla koşullarında hastalık oranını sırasıyla %42 ve %52 oranında önlediği gözlenmiş, ayrıca dayanıklılığı teşvik edildiğini gösteren enzimlerden peroksidaz, polifenol oksidaz ve kitinaz enzim aktivitelerinde artış olduğu tespit edilmiştir.

Körosi ve ark.(2009) tarafından yapılan diğer bir çalışmada daha önce farklı amaçlarla kullanılmış olan Dichloroisonicotinic acid (INA) DL-β-Aminobutyric acid (BABA) hassas ayçiçeklerine uygulanarak bitki yüksekliğine ve *Plasmopara halstedii* (patotip 700) ile kök inokulasyonu yapılmış tohumlardan gelişen bitkilerin kotiledon yaprakları üzerindeki etmenin sporulasyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda 3 günlük hassas ayçiçeği fidelerinde kullanılan bu kimyasallardan özellikle INA'nın sporangium çimlenmesini, kotiledon yapraklar üzerindeki sporulasyonu azalttığı ve 3 hafta sonra bitki yüksekliğini arttırdığı tespit edilmiştir.

Nandeeshkumar ve ark. (2009), hassas ayçiçeği tohumlarına farklı konsantrasyonlarda BABA uygulamasının tohum çimlenmesi, fide gücü indeksi ve ayrıca NandeeshKumar ve ark. (2008a)'daki gibi inokulasyonun gerçekleştirildiği sera ve patojenle doğal olarak bulaşık tarla koşullarında hastalık oranı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar %86 lık maksimum çimlenme oranı ve 2122 olan maksimum güç indeksi nin 50mM BABA uygulaması ile elde edildiğini, bu konsantrasyonun ayrıca sera ve tarla koşullarında sırasıyla %47 ve %50 oranlarında hastalık oranını azalttığını ileri sürmektedirler. Çalışmada ilave olarak BABA uygulaması ile dayanıklılığın da teşvik edildiği bildirilmektedir.

Nagaraju ve ark. (2012a) tarafından yapılan bir çalışmada, Hindistan'da çeşitli sebze ve ayçiçeği yetiştirilen tarlalarda bitkilerin rizosfer bölgesinden toplanan 59 izolatin konidi süspansiyonu ve talk formülasyonu ile 25°C de 6 saat süre ile tohum kaplaması yapılmış ve uygulamaların tohum çimlenmesi ve fide gücüne etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. ve *Phoma* sp.' ye ait toplam 7 izolat tohum çimlenmesini ve fide gücünü arttırmış, PGPFYCMTh izolatu konidi

süspansiyonu şeklinde kullanıldığında %92 ile en yüksek çimlenme oranı ve 1871 ile en yüksek fide gücü elde edilmiştir. Tüm izolatlarda konidi süspansiyonu uygulaması tohum çimlenmesi açısından daha başarılı bulunmuştur. Hastalığın kontrolü amacıyla sera koşullarında patojenin sporangium süspansiyonu ile kotiledon yaprakların 3 gün ardı ardına yıkanması şekline inokulasyon yapılan denemelerde ise yine PGPFYCMTh izolatının konidi süspansiyonu ile tohum kaplaması hastalığı en yüksek oran olan %63 ile engellemiştir.

Nagaraju ve ark.(2012b) sağlıklı ayçiçeği ve kabak bitkilerinin rizosfer bölgelerinden toplanan 3 *Trichoderma harzianum* izolatı (PGPFYCM-2, PGPFYCM-8 ve PGPFYCM-14) ile tohum uygulamalarının çimlenme, fide gücü, bitkilerdeki azot, fosfor ve potasyum alımı, ve sera ve tarla koşullarında hastalık oranı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Tohumlar Nagaraju ve ark. (2012b) de belirtildiği gibi antagonistlerle kaplanmış ve sera koşullarında patojen inokulasyonu yapılmıştır. Araştırmacılar izolatların konidi süspansiyonu uygulamasında %89.5-91.0 oranında tohum çimlenmesi elde ettiklerini PGPFYCM-14 izolatının konidi süspansiyonu ile tohum kaplamasının sera ve patojenle doğal olarak bulaşık tarla koşullarında hastalık oranı üzerine sırasıyla %63 ve %69 oranında etkili olduğunu, maksimum NPK alımının da aynı uygulama ile sağlandığını ileri sürmektedirler.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada mildiyö hastalığına karşı hassas olduğu bilinen Ayçiçeği çeşitlerinden Sirena çeşidi ve Patojen izolatu olarak yüksek derecede virulent olduğu bilinen *Plasmopara halstedii*'nin 771 nolu ırkı kullanılmıştır.

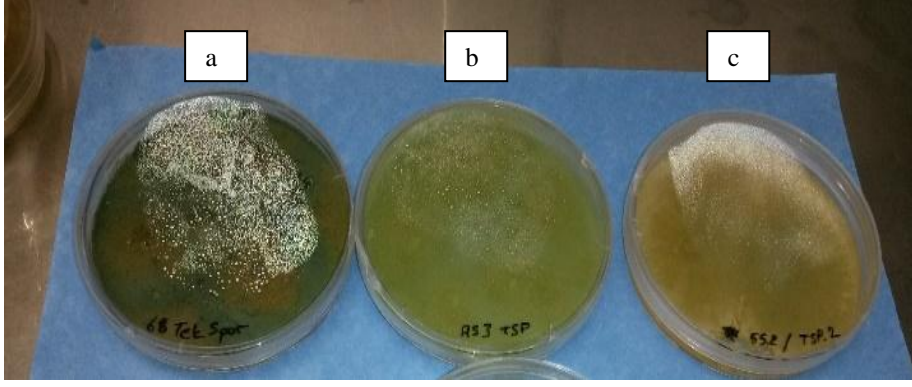
Aday antagonist funguslar olarak, daha önce yemeklik soğanda siyah küf etmeni *Aspergillus niger*'e karşı fungistatik etki gösteren soğan tarlası topraklarından izole edilmiş olan ve soğanda söz konusu patojene karşı yüksek derecede etkili bulunan (Özer 2011; Özer ve Arın 2014), *Aspergillus flavus* (AS3), *Trichoderma harzianum* (TRIC7 ve TRIC8) izolatları kullanılmıştır.

Araştırmamızda ayrıca ticari olarak yurtdışında kullanılan mikorhiza preparatı olan MycoZoom kullanılmıştır. Bu preparat hastalıklara karşı dayanıklılığı ve sağlıklı bitki gelişimini teşvik ettiği için gübre olarak önerilen organik bir preparat olup FİBL adlı bir firma tarafından üretilmektedir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Aday antagonist fungusların çoğaltılması ve tohum inokulasyonu

İzolatlar Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamında 25°C'de 10 gün süre ile karanlıkta inkübasyona bırakılarak çoğaltılmıştır (Şekil 3.1)



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan antagonist funguslar a: TRIC8; b: AS3; c: TRIC7

Tohumlar %3'lük sodyum hipoklorit çözeltisinde 1 dakika süre ile bekletildikten sonra üç kez steril saf sudan geçirilerek steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur.

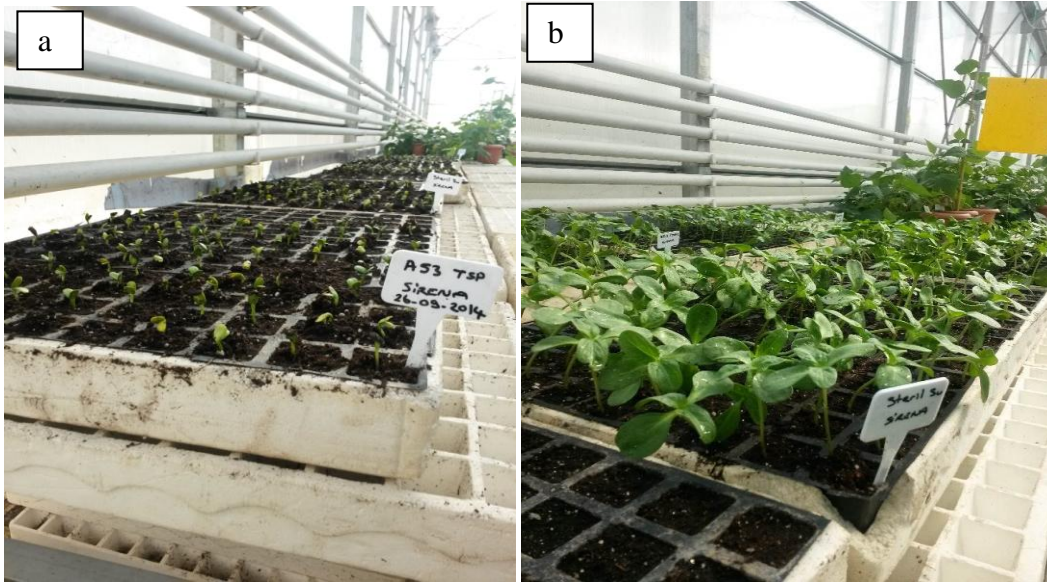
PDA besi ortamında geliştirilen aday antagonist funguslardan 1×10^7 konidi/ml yoğunluğunda konidi süspansüyonları hazırlanmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış tohumlar bu süspansüyon içerisinde 25°C 'de 1 saat süre ile çalkalayıcıda tutularak inokulasyon işlemi yapılmıştır (Şekil 3.2). Mikorhiza ile tohum uygulaması firması tarafından önerilen doz ve sürede (0.075g/100 ml su ve 1 saat) tohumları çalkalayarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Antogonist fungusların tohumlara bulaştırılması

3.2.2. Antagonist fungusların tohum çimlenmesi üzerine etkisi

3.2.1. de belirtildiği gibi antagonist funguslarla inokule edilmiş tohumlar, içinde torf, kum, toprak, vermikulit ve perlit (2:2:2:1:1) bulunan viyollere ekilmiştir. Viyoller 12 saat aydınlatmalı 25°C sıcaklıktaki seraya aktarılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış ancak herhangi bir antagonistle uygulama yapılmamış tohumlar kontrol olarak kullanılmıştır. Denemeler 5 tekrarlı olarak, her bir tekrarda 22 adetlik viyol her bir viyolde 1 tohum olacak şekilde yürütülmüş toplamda 110 tohum kullanılmıştır. Tohumların ekiminden sonra, 5.günden itibaren 12 gün boyunca her gün sayım yapılarak antagonistlerin tohum çimlenmesi üzerine etkileri belirlenmiştir. (Şekil 3.3.)



Şekil 3.3. Tohumların viyollerde çimlenmesi (a) ve bitki gelişimi (b)

3.2.3. Antagonist fungusların bitki büyümesi üzerine etkisi

Antagonist funguslarla bulaştırılıp viyollere ekilen tohumlardan 12 gün sonra fide aşamasına gelen 100'er adeti 15 cm lik üretim saksılarına aktarılmıştır. (Şekil 3.4). Bitkiler 25-30°C'de 12 saat ışıklandırılmalı kontrollü sera koşullarında tutulmuşlardır.

Uygulama yapılmış ve yapılmamış kontrol bitkiler tohum ekiminden 80 gün sonra (Şekil 3.5) UPOV (Uluslar arası yeni bitki çeşitlerinin korunması birliği) kriterlerinin bazılarına göre değerlendirilmiştir (Anonim 2011). Denemeler 5 tekrarlı, her tekrarda 20 saksı ve her saksıda 1 bitki olacak şekilde yürütülmüştür.



Şekil 3.4. Saksılara aktarılan fideler



Şekil 3.5. Bitkilerde gözlem aşaması

3.2.4. Antogonist fungusların mildiyö hastalığı üzerine etkisinin belirlenmesi

Tohumlar antagonist funguslar ile kısa ve uzun süreli olmak üzere 2 şekilde inokule edilmiştir. Kısa süreli uygulamada tohumlar 3.2.1. de belirtildiği gibi antagonist funguslarla inokule edilmiştir. Uzun süreli uygulamada ise antagonistlerle inokulasyon 6 saat süre ile çalkalama şeklinde yapılmıştır. Her iki şekilde antagonistlerle uygulama yapılmış tohumlar, steril plastik petripler içindeki steril mavi çimlenme kağıtları arasına yerleştirilmiş (Şekil 3.6) ve 25°C'deki inkübatörde üç gün süre ile çimlenmeye bırakılmıştır. Fidecikler kökçük aşamasına geldiğinde (Şekil 3.7) steril şişelere aktarılmıştır.



Şekil 3.6. Çimlendirme amacıyla kağıt arası tohum ekimi



Şekil 3.7. Patojen inokulasyonun gerçekleştirildiği kökçük aşaması

Patojenin inokulasyonu için, etmenin 771 ırkına ait sporangiumlar yapraklar üzerinden fırça ile kazıma metoduyla steril suya aktarılmış, Thoma lamı yardımıyla yoğunluğu 1×10^5 sporangium/ml olarak ayarlanmıştır. Steril şişeler içerisine konulan fideciklerin üzerine sporangium süspansiyonu ilave edilmiş, daha sonra 15-16 derecede karanlıkta 7 saat inkubasyona bırakılmıştır (Şekil 3.8). İnkubasyon sonrasında fidecikler viyollere ekilerek 25°C de 12 saat gün ışığı 12 saat karanlık koşullara sahip kontrollü seraya aktarılmıştır. Bitkiler ilk gerçek yapraklar gözükünceye kadar (yaklaşık 1 hafta) serada tutulup daha sonra sporulasyonun oluşumu için %90 nemde 17°C 'deki gelişim odasına alınmışlardır. Kontrol bitkilerin yaprakları yüzeyinde sporulasyon tamamlandığında hastalık değerlendirmeleri yapılmıştır. Denemeler 5 tekrarlı olarak her tekrarda 20 viyol her viyolde bir bitki olacak şekilde yürütülmüştür.



Şekil 3.8. Patojen inokulasyonundan sonra inkübasyona bırakılan fidecikler

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Antagonistlerin tohum çimlenmesi üzerine etkileri

Aday antagonist funguslarla inokule edilmiş tohumların 12 gün boyunca çimlenme ve çıkış seyri Çizelge 4.1. de verilmiştir. Çizelge 4.1.'de de görüldüğü gibi antagonist funguslarla, özellikle TRIC7 ve TRIC8 ile uygulama yapılmış tohumlar ilk günlerde kontrol ve diğer uygulamalara göre daha hızlı bir çimlenme göstermişlerdir. 9. Günden itibaren AS3 ve Mycozoom uygulaması diğer antagonist funguslarla uygulama yapılmış tohumların çimlenme değerlerine ulaşmış, istatistiki olarak önemli bir farklılık olmasa da tüm uygulamalar kontrolden daha yüksek bir çimlenmeye neden olmuşlardır.

Çizelge 4.1. Antogonistlerin tohum çimlenmesi üzerine etkisi

Uygulamalar	Çimlenme – Çıkış (%)							
	5.gün	6.gün	7.gün	8.gün	9.gün	10.gün	11.gün	12.gün
AS3	92.72	94.54	95.45	96.36	98.18	98.18	98.18	98.18
TRIC7	95.45	97.27	98.18	98.18	98.18	98.18	98.18	98.18
TRIC8	94.54	96.36	97.27	98.18	98.18	98.18	98.18	98.18
MycoZoom	87.27	93.63	94.54	97.27	98.18	98.18	98.18	98.18
Kontrol	91.81	92.72	93.63	93.63	93.63	93.63	93.63	93.63

Yurt dışında yapılmış bazı araştırmalarda , bitki gelişimini teşvik eden *Bacillus* izolatu, chitosan, BABA, *Trichoderma* sp. izolatu (PGPFYCMTh) ve *T. harzianum* izolatu (PGPFYCM-14) ile yapılan tohum uygulamalarında, 1 hafta sonra sırasıyla % 86, %85; %86; %92 ve %91 oranlarında tohum çimlenmesi elde edilmiştir (NandeeshKumar ve ark. 2008 a ve b; NandeeshKumar ve ark. 2009; Nagaraju ve ark. 2012 a ve b). Çalışmamızda kullanılan izolatların tohuma uygulanması ile 1 hafta sonra %94.54 ve %98.18 arasında değişen değerlerde daha yüksek çimlenme oranları belirlenmiştir.

4.2. Aday Antagonistlerin Bitki Büyümesi Üzerine Etkisi

Aday antagonistlerle 1 saat süreyle ve mikorhiza ile uygulama yapılmış, ayrıca herhangi bir uygulama yapılmamış kontrol tohumlardan gelişen bitkilerde, bitki gelişimi açısından önem taşıyan, bitki boyu, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu, yaprak indeksi ve yaprak sayısı ölçümü sonuçları Çizelge 4.2'de görülmektedir. Çizelgede de görüldüğü gibi, tohumlara TRIC8 uygulaması sonucu gelişen bitkiler tüm bu kriterler yönünden en yüksek değerleri almış, bunu TRIC7 ve AS3 uygulamaları takip etmiştir.

Çizelge 4.2. Aday antagonistlerin ve mikorhiza ile tohum uygulamasının bitki gelişimi üzerine etkisi

Tohum uygulaması	Bitki Boyu (cm)	Yaprak Genişliği (cm)	Yaprak uzunluğu (cm)	Yaprak indeksi*	Yaprak Sayısı (Adet)
AS3	105.44±0.48 c**	10.11±0.10 c	12.78±0.12 c	130.53±2.48 c	24.46±0.09 b
TRIC7	111.12±0.32 b	10.93±0.09 b	13.84±0.11 b	153.11±2.47 b	25.73±0.04 a
TRIC8	120.16±0.92 a	11.25±0.04 a	14.70±0.05 a	166.42±1.18 a	25.97±0.11 a
Mikorhiza	94.44±0.46 d	8.50±0.03 d	10.79±0.07 e	92.37±0.79 e	23.78±0.04 c
Kontrol	118.04±0.24 a	9.87±0.05 c	12.10±0.07 d	120.95±1.29 d	23.31±0.08 d

** Yaprak indeksi: Yaprak genişliği X Yaprak uzunluğu

**Her bir değer 5 tekrarın ortalamasıdır. Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler Tukey-Kramer testine göre önemli derecede (P=0.05) farklıdır.

TRIC8 ile uygulama yapılan tohumlardan gelişen bitkilerde yaprak genişliği, yaprak uzunluğu ve yaprak indeksindeki artış, kontrol ve diğer uygulamalara göre istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bitki boyunu sadece TRIC8 uygulaması arttırmış, ancak bu artış kontroldekine göre önemli olmamıştır.

İkinci sırada yer alan TRIC7 uygulaması da bitki boyu hariç, diğer kriterler açısından AS3, mikorhiza uygulaması ve kontrol ile karşılaştırıldığında önemli derecede artışa neden olmuş, yaprak sayısı yönünden TRIC8 ile aynı grupta yer almıştır.

Üçüncü sırada yer alan AS3 uygulamasında, bitkiler her ne kadar TRIC7 ve TRIC8 uygulaması yapılmış bitkilerden söz konusu gelişim kriterlerinde daha düşük değerlere sahip olsa da, yaprak uzunluğunu, yaprak indeksini ve yaprak sayısını kontrole göre önemli derecede arttırmıştır.

MycoZoom uygulaması ise sadece yaprak sayısında artışa neden olmuş, uygulama yapılmış tohumlardan gelişen bitkilerde, yaprak genişliği, uzunluğu, indeksi ve bitki boyu kontrole göre önemli derecede azalmıştır.

Antagonist ve mikorhiza uygulaması yapılmış bitkilerin tümünde kökler iyi gelişmiş ve yapraklar koyu yeşil renkte olmuştur.

Antagonist mikroorganizma ve çeşitli aktivatörlerle tohum ve toprak uygulamalarının 80 günlük bir gelişme dönemi sonucunda bitki gelişimine yönelik yapılmış bir çalışma ile karşılaşılmamıştır. Çalışmamızda mikorhiza preparatı hariç diğer tüm uygulamaların özellikle yaprak genişliği, yaprak uzunluğu, yaprak indeksi ve sayısı üzerine negatif bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

4.3. Aday Antagonistlerin ve MycoZoom'un Hastalık Oranı Üzerine Etkisi

Patojenin inokulasyonu aşamasında, aday antagonist funguslarla uygulama yapılan tohumlardan oluşan fideliklerde köklerin daha uzun ve kılcak kök gelişiminin daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1.).

Çalışmamızda ele alınan aday antagonistler kısa süreli (1 saat) tohumlara uygulandıktan sonra, patojen inokulasyonu yapıldığında AS3, TRIC7 ve TRIC8 uygulamaları hastalık oranını azaltmada başarılı olamamışlardır (Çizelge 4.3.). Aday antagonistlerden sadece AS3 çok düşük bir oranda (%5.68) etkili olmuş, MycoZoom uygulaması ise hastalık oranını kontrole göre önemli derecede azaltmış (Şekil 4.2.) ve %42.04 oranında etkili bulunmuştur



Şekil 4.1. Antagonist uygulanan (1) ve kontrol (2) tohumlardan gelişen fideciklerde kök gelişimi

Çizelge 4.3. Aday antagonistler ve MycoZoom ile kısa süreli tohum uygulamasının hastalık oranına etkisi

Tohum uygulaması	Hastalık oranı (%)	Etkililik (%)
AS3	83.0±2.55 a*	5.68
TRIC7	88.0±2.00 a	0.00
TRIC8	89.0±1.00 a	0.00
MycoZoom	51.0±2.91 b	42.04
Kontrol	88.0±1.22 a	-

*Her bir değer 5 tekrarın ortalamasıdır. Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler Tukey-Kramer testine göre önemli derecede (P=0.05) farklıdır.



Şekil 4.2. Mikorhiza ile 1 saat süreli tohum uygulaması sonucu mildiyö gelişimi

Aday antagonistler daha sonraki aşamada tohumlara 6 saat süre ile uygulanmış, Mycozoom uygulaması ise ilk uygulamadaki gibi gerçekleştirilmiştir. Antagonist funguslar 6 saat süre ile tohumlara uygulandığında (Çizelge 4.4.), hastalık oranı kontrole (Şekil 4.3) göre önemli derecede azalmıştır. Antagonist funguslardan TRIC8 %72.22 ile en yüksek etkiyi göstermiş (Şekil 4.4), bunu 65.55 ile TRIC7 (Şekil 4.5) ve %51.11 ile AS3 (Şekil 4.6.) izlemiştir. Her üç uygulamada da sporulasyonun hafif olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. Aday antagonistler ve mycozoom ile uzun süreli tohum uygulamasının hastalık oranına etkisi

Tohum uygulaması	Hastalık oranı (%)	Etkililik (%)
AS3	44.0±2.45 bc*	51.11
TRIC7	31.0±1.87 cd	65.55
TRIC8	25.0±1.58 d	72.22
MycoZoom	51.0±2.91 b	43.33
Kontrol	90.0±2.24 a	-

*Her bir değer 5 tekrarın ortalamasıdır. Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler Tukey-Kramer testine göre önemli derecede (P=0.05) farklıdır.



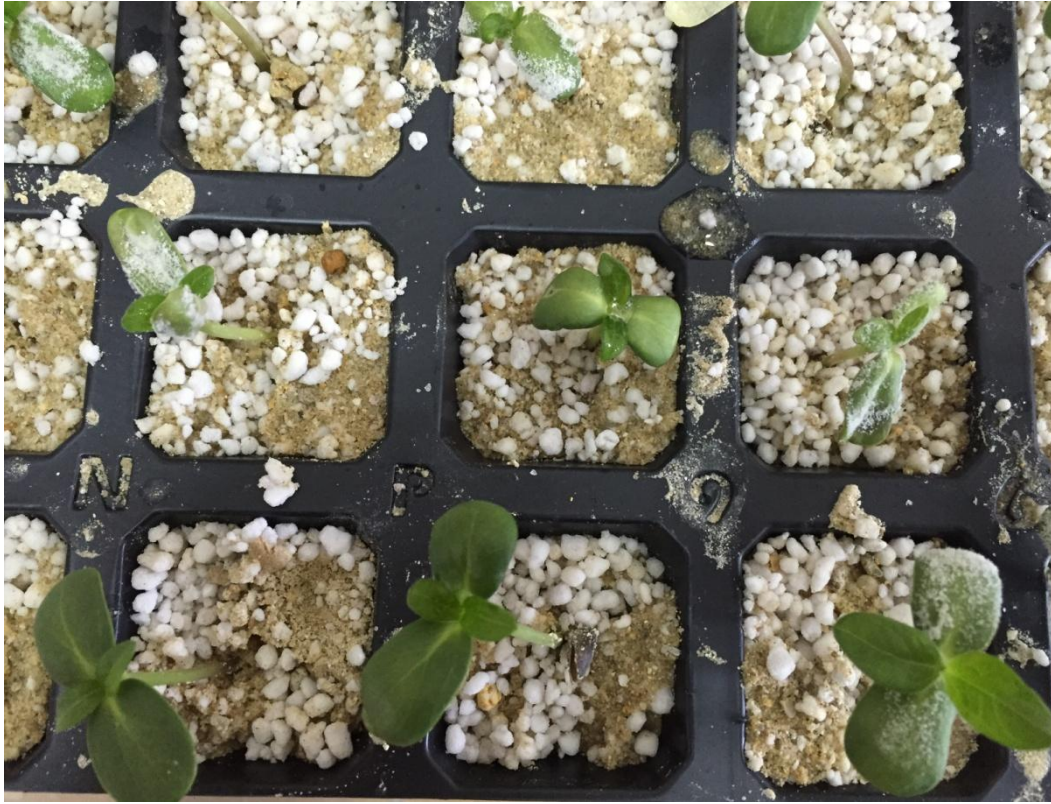
Şekil 4.3. Kontrol bitkilerdeki mildiyö gelişimi



Şekil 4.4. TRIC8 ile 6 saat süreli tohum uygulaması sonucu mildiyö gelişimi



Şekil 4.5. TRIC7 ile 6 saat süreli tohum uygulaması sonucu mildiyö gelişimi



Şekil 4.6. AS3 ile 6 saat süreli tohum uygulaması sonucu mildiyö gelişimi

Mikorhiza, antagonist mikroorganizmalar ve aktivatörlerin ayçiçeğinde mildiyo hastalığına etkilerine yönelik yapılan çalışmaların bazılarında patojen inokulasyonu çalışmamızda kullandığımız yöntemle göre gerçekleştirilmiştir (Tosi ve ark. 1999; Tosi ve Zizzerini 2000; Körösi ve ark. 2009). Bazı araştırmalarda ise patojenin sporangium süspansiyonu direkt olarak toprağa inokule edilmiş, bazılarında ise 4 günlük fideleri 3 gün ardı ardına sporangium süspansiyonu ile yıkayarak toprak inokulasyonu yapılmıştır (Tosi ve ark. 1998; NandeeshKumar ve ark. 2008a ve b; Nagaraju ve ark. 2012 a ve b). Gerek 1 saat süreli gerekse 6 saat süreli tohum uygulaması denemelerinde herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol bitkilerinde elde edilen %88 ve 90'lık hastalık oranları araştırmamızda kullanılan inokulasyon yönteminin başarılı olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda antagonist fungusların tohumlara uygulanması 1 ve 6 saat süre ile çalkalama şeklinde yapılmış, kısa süreli uygulamalarda hastalığın oldukça düşük oranlarda kontrol edildiği tespit edilmiştir. Yine MycoZoom preparatı ile firma tarafından önerilen şekilde 1 saat süre ile yapılan tohum uygulamalarının ise hastalık üzerine %43.33 oranında etkili olduğu görülmüştür. Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda mikorhiza genellikle toprağa uygulanmış, ayrıca aktivatörlerle birlikte kullanılmış ve çalışmamızda elde edilen etkililik değerlerinden biraz daha yüksek (%50-55) değerler elde edilmiştir (Tosi ve ark. 1993; Tosi ve Zizzerini 2000). Araştırmamızda elde edilen düşük etkinin kullanılan mikorhiza preparatının tohum uygulaması için uygun olmamasından ileri geldiği düşünülmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda antagonist fungus ve bakterilerle 6 saat süreli yapılan tohum uygulamaları sonucunda sera koşullarında hastalığın %51 ve 63 oranlarında kontrol edilebildiği bildirilmektedir (NandeeshKumar 2008a; Nagaraju ve ark. 2012 a ve b). Testlerimizde kullanılan TRIC8 ve TRIC7 izolatları ise sırasıyla %72.22 ve %65.55 ile daha yüksek oranlarda hastalığı kontrol etmişlerdir.

Bazı araştırmacılar bitki aktivatörlerinden BABA ve BTH ile toprak uygulamalarında mildiyo hastalığının %80-82 ile yüksek oranlarda kontrol edilebildiğini ancak yüksek dozlarda fitotoksik etkinin oluşabileceğini ileri sürmektedirler (Tosi ve ark. 1998; Tosi ve ark. 1999). BABA ile tohum uygulamalarında ise toprak uygulamalarına göre %47 gibi daha düşük bir kontrol sağlanmıştır (Nandeeshkumar ve ark. 2009)

Bu araştırmada kullanılan TRIC8 izotının gerek tohum çimlenmesi ve bitki gelişimine negatif bir etkisinin olmaması, gerekse %72 oranında hastalığı kontrol etmesi nedeniyle ayçiçeği mildiyösünün biyolojik kontrolü için ümitvar olduğu düşünölmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışma ile Tekirdağ ili yemeklik soğan üretimi yapılan topraklardan izole edilen antagonist funguslardan *Trichoderma harzianum* izolatlarının (TRIC8 ve TRIC7) konidi süspansiyonu ile 6 saat süreli tohum uygulamalarının ayçiçeği mildiyösü hastalığını fide döneminde %65'in üzerinde kontrol edebildiği ortaya konmuştur. Söz konusu uygulamalar ayrıca tohum çimlenmesi, fide çıkışını teşvik etmiş, bitki gelişimi üzerine (bitki boyu, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu, yaprak indeksi, yaprak sayısı) negatif bir etkide bulunmamıştır.

Ayçiçeği mildiyösünün kontrolünde kullanılan kimyasallara karşı etmenin dayanıklılık kazanması nedeniyle daha ziyade dayanıklı çeşit elde etme yoluna gidilmektedir. Bununla birlikte ayçiçeğinin yabancı döllene maruz kalması nedeniyle, dayanıklı çeşitlerin sürekli yenilenmesi gerekmektedir. Bu bağlamda düşünüldüğünde biyolojik savaş farklı bir alternatif konumundadır.

Trakya Bölgesine ait Tekirdağ ili topraklarından elde edilen antagonist funguslarla ayçiçeği mildiyösünün kontrolüne yönelik ülkemizde ilk kez yapılan testler sonucunda %72.22 oranında hastalığı azaltan TRIC8 izolatının bundan sonra yapılacak tarla denemelerinde dikkate alınması gerektiği düşünülmektedir. Bilindiği gibi kontrollü koşullarda yapılan biyolojik savaş denemeleri ile tarla koşullarında yapılan denemelerin sonuçları her zaman birbiri ile uyumlu olmayabilmektedir. Bu nedenle tarla toprağına uyumu değerlendirme açısından %65.55 oranında hastalığı kontrol eden TRIC7 izolatının da değerlendirilmesinde yarar bulunmaktadır.

Çalışmada tohum uygulaması olarak kullanılan mikorhiza preparatı %50' nin altında hastalığı kontrol etmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak preparatın toprağına uygulanması ile hastalığın kontrol edilme olanakları araştırılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Albourie JM, Tourvieille J, de Labrouhe DT (1998). Resistance to metalaxyl in isolates of the sunflower pathogen *Plasmopara halstedii*. European Journal of Plant Pathology, 104: 235–242.
- Anonim (2008). Zirai Mücadele Teknik Talimatları. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Yayınları, 2: 8-12.
- Anonim (2011). UPOV, International Union for the Plant Protection of New Varieties of Plant (<http://www.upov.int/>) (erişim tarihi 08.10.2015)
- Anonim (2013). FAO Statistical Databases (<http://faostat.org/site/567>) (erişim tarihi, 11.10.2015).
- Anonim (2014). TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu, <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. (erişim tarihi 08.10.2015).
- Delen N, Onoğur E, Yıldız M (1985). Sensitivity levels to metalaxyl in six *Plasmopara helianthi* Novot. isolates. The Journal of Turkish Phytopathology, 14, 31-36.
- Döken MT (1982). Erzurum yöresinde ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara helianthi* Novot.). Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 13: 55-60.
- Döken MT (1986). The nature of systemic invasion of stem and leaves of sunflowers by *Plasmopara helianthi* Novot. with mechanism of sporulation and zoospore release. Journal of Phytopathology, 117: 270-275.
- Döken MT (1987). Erzurum yöresinde ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara helianthi* Novot. var. *helianthi* Novot.)'nun durumu ve biyolojisi üzerinde çalışmalar. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Araştırma Yayınları Serisi Yayın No: 2, 38 s.
- Evcı G, Akın K, Kaya Y, Pekcan V, Yılmaz Mİ (2011). Bazı ayçiçeği hatlarının Trakya Bölgesindeki ayçiçeği mildiyösüne (*Plasmopara Halstedii* (Farl.) Berl. & De Toni.) dayanıklılıklarının belirlenmesi. Anadolu, J. of AARI 21: 36–43.
- Karel G., (1958). A preliminary list of Plant diseases in Turkey. Ayyıldız Matbaası, Ankara.
- Körösi K, Lazar N, Virany F (2009) Resistance to downy mildew in sunflower induced by chemical activators. Acta Phytopatho et Entomol Hungarica, 44: 1-9.
- Maden S (1982). Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et De Toni) yapay inokulasyonu, bunun değerlendirilmesi, inokulasyondan sonraki sıcaklığın hastalık çıkışına etkisi ve kimyasal savaşımı. Bitki Koruma Bülteni, 22: 52-58.
- Molinero-Luiz MR, Condon-Torres MM, Martinez-Aguilar J, Melero-Vara JM, Dominguez J (2008). Resistance to metalaxyl and to metalaxyl-M in populations of *Plasmopara halstedii* causing downy mildew in sunflower. Canadian Journal of Plant Pathology, 30: 97-105.

- Nagaraju A, Murali M, Sudisha J, Amruthesh KN, Mahadeva S (2012a). Beneficial microbes promote plant growth and induce systemic resistance in sunflower against downy mildew disease caused by *Plasmopara halstedii* Murthy, Current Botany, 3: 12-18.
- Nagaraju A, Sudisha J, Murthy Mahadeva S, Ito S (2012b). Seed priming with *Trichoderma harzianum* isolates enhances plant growth and induces resistance against *Plasmopara halstedii*, an incitant of sunflower downy mildew disease. Australasian Plant Pathology, 41: 609–620.
- Nandeeshkumar P, Ramachandrakini K, Prakash HS, Niranjana SR, Shekar Shetty H (2008a). Induction of resistance against downy mildew on sunflower by rhizobacteria. Journal of Plant Interactions, 3: 255-262.
- Nandeeshkumar P, Sudisha J., Ramachandrakini K., Prakash HS., Niranjana SR., Shekar Shetty H. (2008b). Chitosan induced resistance to downy mildew in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 72: 188–194.
- Nandeeshkumar P, Sarosh BR, Ramachandrakini K, Prakash HS, Shekar Shetty H (2009). Elicitation of resistance and defense related proteins by b-amino butyric acid in sunflower against downy mildew pathogen *Plasmopara halstedii*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 42: 1020–1032.
- Oksal E (2014). Ayçiçeği mildiyösü etmeni *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & de Toni'nin Türkiye'deki Irklarının tespiti ve bazı ticari ayçiçeği çeşitlerinin bu ırklara karşı reaksiyonlarının belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 77 sayfa.
- Onan E, Onoğur E (1990). Relation between quantity and quality of inoculum and disease severity of sunflower downy mildew (*Plasmopara helianthi* Novot.). The Journal of Turkish Phytopathology, 19: 141-148.
- Onan E, Çimen M, Karcılıoğlu A (1992). Fungal diseases of sunflower in Aegean Region of Türkiye. The Journal of Turkish Phytopathology, 21: 101-107.
- Onan E, Karcılıoğlu A (1988). Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara helianthi* Novot.) hastalığına karşı bazı preparatların etkililiği ile Metalaxyl'e karşı dayanıklılığının saptanması üzerinde araştırmalar. V.Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildiri Özetleri, 107, Antalya.
- Özer N (2011). Screening for fungal antagonists to control black mold disease and to induce the accumulation of antifungal compounds in onion after seed treatment. BioControl, 56: 237-247.
- Özer N, Arın L (2014). Evaluation of fungal antagonists to control black mold disease under field conditions and to induce the accumulation of antifungal compounds in onion following seed and set treatment. Crop Protection, 65: 21-28.
- Spring O (2009). Transition of secondary to systemic infection of sunflower with *Plasmopara halstedii* – An underestimated factor in the epidemiology of the pathogen. Fungal Ecology, 2: 75-80.

- Tosi L, Giovannetti M, Zizzerini A, Sbrana C (1993). Interaction between *Plasmopara helianthi* and arbuscular mycorrhizal fungi in sunflower seedlings susceptible and resistant to downy mildew. *Phytopathologia Mediterranea*, 32: 106-114.
- Tosi L, Luigetti R, Zizzerini A (1998). Induced resistance against *Plasmopara helianthi* in sunflower plants by DL- β -Amino-R-butyrlic acid. *Journal of Phytopathology*, 146: 295-299
- Tosi L, Luigetti R, Zizzerini A (1999) Benzothiadiazole induces resistance to *Plasmopara helianthii* in sunflower. *Phytopathology*, 147: 365-370.
- Tosi L, Zizzerini A. (2000). Interactions between *Plasmopara helianthi*, *Glomus mosseae* and two plant activators in sunflower plants. *European Journal of Plant Pathology*, 106: 735-744.
- Tülek A, Hekimhan H, Akın K. Ayçiçeği mildiyösü, (<http://ttae.gov.tr/index.php/makaleler/hastal-k-zarar-lar/145-aycicegi-mildiyoesu>) (erişim tarihi, 27.05.2014)
- Viranyi F, Spring O (2011). Advanced in sunflower downy mildew research. *European Journal of Plant Pathology*, 129:207–220.
- Yücer M.M, Karaca İ (1978). Investigations on sunflower diseases in Thrace, their rate of existence, their fungal pathogens and their pathogenicity. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 7: 39-50.
- Zizzerini A (1978). Diffusion of *Plasmopara helianthi* in relation to the soil slopes. *Phytopathologia Mediterranea*, 17: 153-156.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada beni teşvik eden, çalıőmamın baőından son aşamasına kadar geçen zamanda kıymetli zamanını, katkı ve yorumlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen, çalıőmamın yapılması için gerekli antogonist izolatları sağlayan Sayın hocam **Prof. Dr. Nuray Özer**'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalıőmamdaki denemeleri yapmama olanak sağlayan May Tohumculuk yönetim kurulu başkan yardımcısı Sayın **Yusuf Yormazoėlu**'na sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalıőmamda bana destek veren Ziraat Mühendisi **Handan Erdemir**'e teskekürlerimi sunarım, tüm yüksek lisans aőamalarında benden manevi desteğini esirgemeyen eőim **Serkan Hazarhun**'a da sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

23.11.1979 yılında Bursa'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Bursa Emirsultan Lisesinde tamamladı.1996-2001 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma bölümünde lisans eğitimini tamamladı. 2001 2015 yılları arasında 14 yıl May Tohumculukda Ziraat Mühendisi olarak farklı pozisyonlarda görev aldı. B2 seviyesinde İngilizce bilgisine sahiptir. Evli ve iki çocuk annesidir.