



AYÇİÇEĞİ MİLDİYÖSÜ (*Plasmopara halstedii*  
(Farlow) Berl. Et de Toni) 'NE KARŞI  
DAYANIKLILIK MEKANİZMASININ  
İNCELENMESİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

**Tuğba Hilal KILIÇ**

**Doktora Tezi**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**  
**Danışman: Prof. Dr. Nuray ÖZER**  
**2020**

T.C.

TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**AYÇİÇEĞİ MİLDİYÖSÜ (*Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et de Toni)  
'NE KARŞI DAYANIKLILIK MEKANİZMASININ İNCELENMESİ  
ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

**Tuğba Hilal KILIÇ**

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Prof. Dr. Nuray ÖZER**

**TEKİRDAĞ-2020**

**Her hakkı saklıdır.**



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde eksiksiz biçimde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Tuğba Hilal KILIÇ

İMZA



Bu tez TARIMSAL ARAŞTIRMALAR VE POLİTİKALAR GENEL MÜDÜRLÜĞÜ  
(TAGEM) tarafından TAGEM-BS-15/04-01/02-06 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Prof. Dr. Nuray ÖZER danışmanlığında, Tuğba Hilal KILIÇ tarafından hazırlanan “Ayçiçeği Mildiyösü (*Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et de Toni)'ne Karşı Dayanıklılık Mekanizmasının İncelenmesi Üzerine Çalışmalar” başlıklı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından 18.06.2020 tarihinde Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Nuray ÖZER

*İmza:*

Üye : Prof. Dr. Temine ŞABUDAK

*İmza:*

Üye : Prof. Dr. Soner SOYLU

*İmza:*

Üye : Prof. Dr. Figen MERT

*İmza:*

Üye : Dr. Öğretim Üyesi Arzu COŞKUNTUNA

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç.Dr. Bahar UYMAZ  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Doktora Tezi

AYÇİÇEĞİ MİLDİYÖSÜ (*Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et de Toni) 'NE KARŞI  
DAYANIKLILIK MEKANİZMASININ İNCELENMESİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

**Tuğba Hilal KILIÇ**

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuray ÖZER

*Plasmopara halstedii* [(Farlow) Berl. Et de Toni] tarafından oluşturulan mildiyö ayçiçeğinin en tahrip edici hastalıklarından biridir. Etmen kullanılan fungusitlere karşı dayanıklılık kazandığından, günümüzde hastalığın kontrolünde dayanıklı çeşit kullanımı halen geçerliliğini korumaktadır. Bu çalışmanın amacı *P. halstedii*'ye karşı farklı ayçiçeği ıslah hatlarında ortaya çıkan dayanıklılık mekanizmalarının morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyonudur. Çalışmada, simptomatolojik testler ve dayanıklılık genlerinin varlığı veya yokluğuna bağlı olarak 9'u dayanıklı, 3'ü hassas toplam oniki farklı ayçiçeği ıslah hattı kullanılmıştır. Islah hatlarına ait yapraklarda morfolojik özellikler (stoma eni, boyu ve açıklık büyüklüğü) ile birlikte, yaprak inokulasyonu ile sekonder enfeksiyon sonrasında sporangium sayısı incelenmiştir. Ayrıca kök inokulasyonu yöntemi ile inokulasyon süresince ve inokulasyon sonrasında elde edilen ekstraktların İnce Tabaka Kromatografisinde (TLC) analizleri ile ortaya çıkan fraksiyonların anti-oomycete etkileri incelenmiştir. Sporangium boşalmasını  $\geq 50\%$  engelleyen bitki ekstraktlarının uçucu bileşik içeriği Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS), uçucu olmayan veya kolayca bozulabilen bileşik içeriği ise Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) analizi ile tespit edilmiştir. Değerlendirmeler sonucunda, incelenen hatlar arasında CL 217 R, HAR 5, K5 R SN:11/2014 ve K-9 R-SN:3/2014 dayanıklı ıslah hatlarının sekonder enfeksiyon (düşük sporangium sayısı), morfolojik (dar stoma açıklığı) ve biyokimyasal (sporangium boşalması engelleyen çok sayıda fraksiyona ve yüksek miktarda fenolik bileşiklere sahip olma) mekanizmalar yönünden önemli dayanıklılık göstergelerine sahip olduğu belirlenmiştir. Hem inokulasyon süresince ve hem de inokulasyon sonrasında tespit edilen 2-ethyl-2-methyl-tridecanol (alkol); nonanal (aldehit), 2,6,10,15-tetramethylheptadecane (alkan); 2-(1-ethoxy-ethoxy)-1,1,1-trifluoro-4-iodobutane (alkil halojenür); 9-octadecenoic acid (Z)- (yağ asidi); 2-hydroxy-3-[(1-oxooctadecyl)oxy]propyl ester (ester)'in sadece dayanıklı hatlarda bulunan anti-oomycete etkinliğe sahip fraksiyonlar olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ayçiçeği mildiyösüne karşı bitki dayanıklılık mekanizmalarının karakterize edildiği ilk kayıt olup, bu sonuçların alternatif mücadele yöntemlerine önemli derecede katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Ayçiçeği mildiyösü, *Plasmopara halsitedii*, morfolojik dayanıklılık, biyokimyasal dayanıklılık, anti-oomycete bileşikler, ıslah hattı

**2020, 76 sayfa**

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

INVESTIGATIONS ON RESISTANCE MECHANISM OF SUNFLOWER  
AGAINST TO DOWNY MILDEW (*Plasmopara halstedii* (FARLOW) BERL. ET DE  
TONI)

**Tuğba Hilal KILIÇ**

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Nuray ÖZER

Downy mildew caused by *Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et de Toni) is one of the most destructive disease of sunflower (*Helianthus annuus* L.).The use of resistant varieties in the control of disease is still in high demand today due to resistance problem of the pathogen to the fungicides used. The aim of this study is to characterize the morphological and biochemical resistance mechanism occurred in different sunflower inbred-lines against the disease agent. Twelve inbred-lines (9 resistant and 3 sensitive of them to the pathogen based on symptomatic observations and presence or absence of the resistance genes) were used throughout the study. Sporangium numbers after secondary infection by leaf inoculation in addition to morphological characteristics (width and length of stomata and aperture size) of the lines were determined. Moreover, anti-oomycete effects of the fractions raised after Thin Layer Chromatography (TLC) analysis of the extracts obtained during and after root inoculation were investigated. The content of volatile compounds in fractions representing inhibition of  $\geq 50\%$  for sporangial discharge were detected by Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC/MS), whereas the content of the non-volatile or easily degradable compounds in the same fractions were detected by Liquid Chromatography – Mass Spectrometry (LC-MS/MS). As a result, among the all lines tested, the resistant lines CL 217 R, HAR 5, K5 R SN:11/2014 and K-9 R-SN:3/2014 had the important resistance indications for secondary infection (low sporangium number), morphological (narrow stomatal aperture) and biochemical mechanism (having the fractions with anti-oomycete effects on sporangia and phenolic compounds at high amount. It was determined that 2-ethyl-2-methyl-tridecanol (an alcohol); nonanal (an aldehyde), 2,6,10,15-tetramethylheptadecane (an alkane); 2-(1-Ethoxy-ethoxy)-1,1,1-trifluoro-4-iodobutane (an alkyl halide); 9-octadecenoic acid (Z)- (a fatty acid); 2-hydroxy-3-[(1-oxooctadecyl)oxy]propyl ester (an ester) were present in anti-oomycete fractions obtained from resistance lines only, both during and after inoculation of the pathogen. This study is the first report for the examination of resistance mechanism for sunflower downy mildew disease and it was thought that the obtained results would notably contribute to alternative control methods against this disease.

**Key words:** Sunflower downy mildew, *Plasmopara halsitedii*, morphological resistance, biochemical resistance, anti-oomycete compounds, inbred lines

**2020, 76 pages**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ .....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
TEŞEKKÜR .....	ix
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>9</b>
<b>3. MATERİYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>12</b>
3.1. Materyal.....	12
3.2. Yöntem .....	13
3.2.1. İnokulumun Hazırlanması ve Çoğaltılması .....	13
3.2.2. İnokulum Karışımının Özellikleri.....	14
3.2.3. Morfolojik Dayanıklılık .....	15
3.2.4. Sekonder Enfeksiyonların Belirlenmesi .....	17
3.2.5. Biyokimyasal Dayanıklılık Mekanizması.....	19
3.2.5.1. İnokulasyon süresince meydana gelen kök akıntılarının ekstraksiyonu .....	20
3.2.5.2. İnokulasyon sonrasında köklerden ekstraksiyon.....	21
3.2.5.3. İnce tabaka kromatografisi (TLC) analizi .....	21
3.2.5.4. GC/MS ve LC-MS/MS Analizleri için örneklerin hazırlanması.....	22
3.2.5.5. GC/MS Koşulları.....	23
3.2.5.6. LC-MS/MS Koşulları.....	23
3.2.6. Deneme Deseni ve İstatistik Analiz .....	24
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>25</b>
4.1. <i>Plasmopara halstedii</i> Irklarının Belirlenmesi.....	25
4.2. Morfolojik Dayanıklılık Mekanizması .....	25
4.3. Sekonder Enfeksiyonlar .....	26
4.4. Biyokimyasal Dayanıklılık Mekanizması.....	30



4.4.1. İnokulasyon Süresince Kök Akıntılarında TLC İle Tespit Edilen Anti-oomycete Bileşikler.....	30
4.4.2. İnokulasyon Sonrası Köklerde TLC İle Tespit Edilen Anti-oomycete Bileşikler .....	32
4.4.3. İnokulasyon Süresince Kök Akıntılarında Elde Edilen Anti-oomycete Bileşiklerin GC/MS ile Tanımlanması.....	34
4.4.4. İnokulasyondan Sonra Köklerden Elde Edilen Anti-oomycete Bileşiklerin GC/MS ile Tanımlanması .....	37
4.4.5. İnokulasyon Süresince Kök Akıntılarında ve Sonrasında Köklerde Ortaya Çıkan Bileşiklerin Ayçiçeği Mildiyösü Etmeninin Sporangium Boşalmasına Etkisinin Toplu Analizi .....	44
4.4.6. LC-MS/MS Analizleri .....	46
4.4.7. İnokulasyon Süresince Kök Akıntılarında Fenolik Maddelerin Üretimi .....	46
4.4.8. İnokulasyondan Sonra Köklerde Fenolik Maddelerin Üretimi.....	49
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>51</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>56</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>67</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>76</b>

## ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan ayçiçeği hatları ve teknolojik özellikleri .....	12
Çizelge 3.2. Tourvieille vd. (2000) tarafından bildirilen <i>Plasmopara halstedii</i> uluslararası ırk ayırım seti .....	14
Çizelge 3.3. Tourvieille vd., (2000) tarafından bildirilen üçlü kod sistemi ile ırk belirleme ...	15
Çizelge 4.1. Denemede kullanılan <i>Plasmopara halsitedii</i> izolatlarına ait ırklar .....	25
Çizelge 4.2. Farklı hatlara ait yapraklarda stoma en, boy ve açıklık büyüklüğü ( $\mu\text{m}$ ) .....	26
Çizelge 4.3. Dayanıklı ve hassas hatların yaprak disklerinde sekonder enfeksiyon sonucu meydana gelen sporangium yoğunluğu .....	28
Çizelge 4.4. İnokulasyon süresince hassas ve dayanıklı ayçiçeği hatlarına ait kök akıntılarında elde edilen ve %50'nin üzerinde anti-oomycete etki gösteren fraksiyonların GC/MS analizi sonuçları.....	35
Çizelge 4.5. İnokulasyon sonrası hassas ve dayanıklı ayçiçeği hatlarına ait köklerden elde edilen ve %50'nin üzerinde anti-oomycete etki gösteren fraksiyonların GC/MS analizi sonuçları.....	38
Çizelge 4.6. İnokulasyon süresince ve sonrasında ortaya çıkan, farklı seviyelerde sporangium boşalmasına etkisi olan fraksiyonlardaki bileşiklerin gruplandırılması .....	45

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1.1. Ayçiçeği bitkisi.....	1
Şekil 1.2. <i>Plasmopara halsitedii</i> 'nin yaşam döngüsü (Molinero-Ruiz, 2020).....	4
Şekil 1.3. <i>Plasmopara halstedii</i> 'nin sporangiofor ve sporangiumları.....	4
Şekil 1.4. Arazide mildiyö hastalığına yakalanmış bitkiler ve yaprak altlarında sporangiumlardan oluşan fungal örtü.....	5
Şekil 1.5. Sistemik (primer) enfeksiyon sonucu bodur ayçiçeği bitkileri.....	5
Şekil 1.6. Yapraklarda sekonder enfeksiyondan kaynaklanan lokal lezyonlar.....	6
Şekil 3.1. Hassas ayçiçeği hatlarında patojen inokulum kaynağının çoğaltılması ve kotiledon yapraklardaki yoğun sporulasyon.....	14
Şekil 3.2. Ethanolacetic acid (3:1 v/v) karışımındaki yapraklar (A) ve 4 saat sonra klorofili kaybolmuş yapraklar (B).....	16
Şekil 3.3. Stoma en, boy ve açıklık ölçümleri.....	17
Şekil 3.4. Yaprak disklerinin petrilere yerleştirilmesi.....	18
Şekil 3.5. Hazırlanan örneklerin inkübasyona bırakılması.....	18
Şekil 3.6. İnokulasyon sonrası inkübasyona bırakılan örnekler.....	20
Şekil 3.7. Elde edilen ekstraktın ayırma hunisinde ayırma işlemi.....	21
Şekil 4.1. Enfekteli yaprak diskleri (A) ile gözle görülür sporulasyon bulunmayan yaprak diskleri (B).....	27
Şekil 4.2. Hassas hatta (9661) fluoresan mikroskopta sporangioforların görünümü (A,B). Enfekteli (C) ve enfekteli olmayan (D) stomaların fluoresan mikroskopta görünümü.....	29
Şekil 4.3. Dayanıklı RHA 447 (A) ve RHA 419 (B) hatlarına ait yaprak disklerinde etmenin stomalardan giriş yaptığı noktalar.....	29
Şekil 4.4. Dayanıklı YDRH 7/2014 (A) ve K9 R SN:3/2014-R-SN:3/14 (B) hatlarına ait yaprak disklerinde enfeksiyonun gelişimi.....	30
Şekil 4.5. Farklı ayçiçeği hatlarına ait tohumların mildiyö etmeni ile inokulasyon süresince kök akıntılarında ortaya çıkan fluoresan bileşiklerin sporangium boşalmasını engelleme oranları (%)......	31

Şekil 4.6. Farklı ayçiçeği hatlarına ait tohumların mildiyö etmeni ile inokulasyonundan sonra köklerde ortaya çıkan fluoresan bileşiklerin sporangium boşalmasını engelleme oranları (%)..	33
Şekil 4.7. Standart fenolik bileşiklerin sporangium boşalmasına etkisi .....	47
Şekil 4.8. İnokulasyon süresince kök akıntılarında elde edilen, dayanıklı ve hassas hatlarda ortaya çıkan fenolik maddeler .....	48
Şekil 4.9. İnokulasyondan sonra dayanıklı ve hassas hatlarda ortaya çıkan fenolik maddeler	50



## SİMGELER VE KISALTMALAR

cm	: santimetre
da	: dekar
eV	: elektron çarpma modu
g	: gravity
mg	: miligram
$\mu$ l	: mikro litre
$\mu$ M	: mikro molar
ml	: mililitre
mM	: milimolar
M	: molar
ng/g	: nanogram/gram
nm	: nanometre
Rf	: TLC gecikme faktörü

## TEŞEKKÜR

Bu özel çalışmamın tez konusu olarak belirlenmesini sağlayan, çalışmamın her aşamasında kıymetli zamanımı ayıran, rehberlik eden, katkı ve yorumlarımı esirgemeyen Sayın hocam Prof. Dr. Nuray ÖZER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez içeriğinde yer alan biyokimyasal analiz sonuçlarının yorumlanmasında destek veren Prof. Dr. Temine ŞABUDAK'a, Tez İzleme Komisyonu'mda yer alan Dr. Öğretim Üyesi Arzu COŞKUNTUNA ve tüm hocalarıma katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım. İhtiyaç duyulduğunda laboratuvarlarımın kapısını açan Prof. Dr. Mustafa MİRİK ve Araş. Gör. Cansu ÖKSEL'e de teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı proje olarak destekleyen Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)'e ve çalışmalarımı kurumumda yürütmemi destekleyen Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Doç. Dr. Adnan TÜLEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım ve tüm öğrenim sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen aileme, mesleğime tutkuyla bağlanmamı sağlayan, akademik yolculuğum süresince katkıda bulunan tüm hocalarıma, doktora çalışmalarım sırasında manevi desteğini eksik etmeyen sevgili eşim Kenan KILIÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran, 2020

Tuğba Hilal KILIÇ  
Ziraat Yüksek Mühendisi

## 1. GİRİŞ

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) tüm dünyada ve ülkemizde yağlık, çerezlik ve yiyecek sektöründe kullanılmak amacıyla yetiştirilen önemli bir endüstri bitkisidir (Şekil 1.1.). Ayçiçeği tohumu % 40-55 oranında yağ içermektedir. Yüksek oranda yağ içermesi birim alandan elde edilen yağ miktarının da yüksek olmasını, yağ maliyetinin ise düşük olmasını sağlamaktadır. Ayçiçek yağının yemeklik kalitesi de yüksek olduğundan tüketimini arttırmaktadır. Bitkisel yağ üretimimizin %69'u, toplam sıvı yağ tüketimimizin yaklaşık %84'ü, toplam yağ kullanımının ise %32'si ayçiçeğinden karşılanmaktadır (Ziraat Mühendisleri Odası [ZMO], 2019). 2018 yılı FAO verilerine göre dünyada toplam ayçiçeği ekim alanı 26.668.101 ha ve üretim miktarı da 51.954.777 ton'dur. Rusya ayçiçeği ekili alan yönünden 7.953.338 ha ile ilk sırada yer alırken, verim açısından ise Ukrayna 14.165.170 ton ile öne çıkmaktadır. Türkiye'de ise ayçiçeği ekim alanı 734.190 ha ve üretim miktarı 1.949.229 ton olup, ülkemiz dünya ayçiçeği ekiliş alanı bakımından 9. sırada yer alırken verim açısından ise 6. sıradadır (Food and Agriculture Organization. [FAO], 2019).



Şekil 1.1. Ayçiçeği bitkisi

Ülkemizde ayçiçeği tarımı ağırlıklı olarak Trakya-Marmara Bölgesi'nde yapılmaktadır. Üretim miktarları illere göre incelendiğinde ise; Tekirdağ (347. 502 ton) ilk sırada yer alırken, onu sırasıyla Konya, Edirne, Kırklareli ve Adana illeri takip etmektedir (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2019).

Ayçiçeğinin en önemli hastalıklarından biri, epidemiyeye neden olduğu yıllarda çok büyük ekonomik kayıplara neden olabilen ayçiçeği mildiyösüdür (Şekil 1.6). Hastalık etmeni *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berlese et de Toni'dir. Etmen Chromista alemi, Oomycetes sınıfı, Peronosporaceae familyasında yer alan toprak kökenli obligat bir oomycete olup kışı toprakta bitki artıklarında oospor formunda geçirir. Eşeyli bir spor tipi olan oosporlar uzun yıllar toprakta canlılığını koruma potansiyeline sahiptir.

Halsted tarafından yapılan araştırmada, 1876 tarihinde *Eupatorium purpureum* üzerinde bulunan bir örnek ile *Helianthus tuberosus*'da bulunan örneğin aynı patojen olduğu rapor edilmiştir (Onan, 1988). Oomycetes sınıfına ait patojen ilk toplayan kişi Halsted'e atf yapılarak Farlow tarafından 1882'de *Peronospora halstedii* ismini almıştır. Peronospora cinsinin düzenlenmesinden sonra 1888'de etmen *Plasmopara halstedii* (Berlese et De Toni) olarak yeniden adlandırılmış olup dünya literatüründe bu isimle yer almaktadır (Sakr, 2015).

Ayçiçeği mildiyösü ayçiçeği tarımı yapılan tüm ülkelerde görülmekte ve ekonomik olarak kayıplara neden olmaktadır. Etmenin 2006 yılına kadar 35, 2014 yılına kadar 41 ırkı tespit edildiği belirtilirken günümüzde 50 adet ırkının bulunduğu bildirilmektedir (Gulya, 2007; Spring, 2019; Viranyi, Gulya ve Tourvielle, 2015). Uzun mesafede dağılımı etmenle bulaşık tohumların değişimi ile gerçekleşmektedir (Cohen ve Sackston, 1974; Spring, 2001). Daha yüksek verim elde etmeyi hedefleyen çiftçiler tarafından yeni çeşitler veya gen havuzlarını genişletmek isteyen ıslahçılar tarafından ithal edilen tohumların kullanımı hastalığın tüm dünyaya yayılmasında etken olmuştur. Özellikle hibrit çeşit geliştirilme aşamasında iki generasyon atlatmak için yıl içerisinde kuzeyden güneye lokasyon değiştirilmesi alandan alana bulaşmayı önemli ölçüde hızlandırmıştır. Bu nedenle, hastalığın yayılması daha ziyade küresel pazarların gelişmesiyle birlikte gerçekleşmiştir (Delmotte vd., 2008).

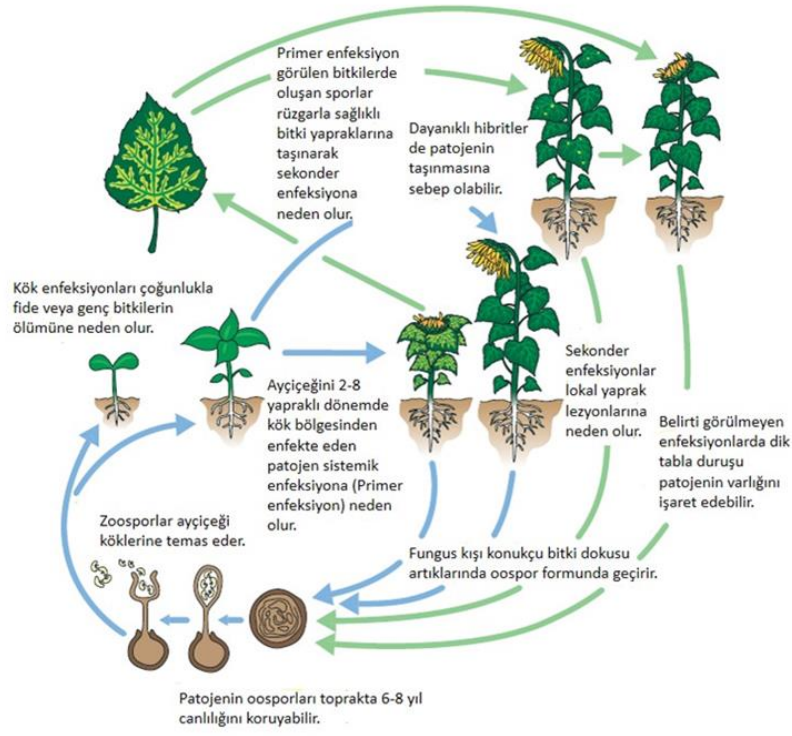
*Plasmopara halstedii* ülkemizde ilk olarak 1958'de Adapazarı'nda görülmüş (Karel, 1958), sonraları Trakya - Marmara Bölgesi'nde yaygın olduğu bildirilmiş, ayrıca Ege Bölgesi



ve Erzurum'da da tespit edilmiştir (Döken, 1982; Döken, 1986; Onan, Çimen ve Karcıoğlu, 1992; Yücer ve Karaca, 1978). Hastalık etmeni yağmurlu, nispi nemin yüksek ve hava sıcaklığının 20°C'nin altında olduğu iklim koşullarında yoğun bir şekilde görülmektedir. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 2007 ve 2008 yıllarında bölgede yapılan tespit çalışmalarında, ayçiçeği üretim alanlarında % 80-90'lara varan mildiyö epidemisi olduğu belirlenmiştir (Evcı, Akın, Kaya, Pekcan ve Yılmaz, 2011).

Hastalığın epidemisinde rol oynayan önemli faktörler; yağmur suyunun taşıdıkları oosporlar veya zoosporlar, yabancı ayçiçeği türleri veya yakın tarlalardan rüzgârla gelen zoosporlar, bir önceki yıldan kalan enfekteli bitki kalıntılarında oluşan toprak kaynaklı inokulumlardır (Zizzerini, 1978).

Etmenin yaşam çemberi diploid karakterli ve kalın hücre duvarlı yapıya sahip bir dinlenme sporu olan oospor ile başlar (Şekil 1.2). Oosporlar bir zoosporangium meydana getirirler ve zoosporangiumun içerisinde birbirinden bağımsız serbest halde hareket edebilen çift kamçılı zoosporlar meydana gelir. Ayçiçeği kökleri ile temas eden zoosporlar kamçılarını kaybederler, çimlenirler ve köke penetrasyon sırasında çim tüpünden apressorium ve penetrasyonu takiben konukçu dokusu içerisinde interselüler alanda bölmesiz hif oluştururlar. Etmenin köklerden gerçekleştirdiği primer enfeksiyonlar sistemik karakterdedir, çıkış öncesi ve çıkış sonrası cüceleşmeye ve hatta ölüme neden olarak ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Tülek, Hekimhan ve Akın, 2014). Sistemik enfeksiyonlar sonucu etmen gövdedeki hücrelerde haustorium oluşturarak ilerlemekte, sap ve hipokotil aracılığıyla yapraklara ulaşmakta daha sonra yaprak ana damarlar boyunca gelişmesine devam etmektedir. Yaprakların alt yüzeyindeki stoma boşluklarında sporangioforlar ve sporangiumlarından oluşan (Şekil 1.3) fungal örtü (Şekil 1.4) meydana getirmektedir ve bitki bodur (Şekil 1.5) kalmaktadır (Döken, 1986). Etmenin yapraktan stomalar aracılığıyla giriş yaparak çiçeklenme döneminde yapraklarda oluşan lokal karakterdeki sekonder enfeksiyonlar (Şekil 1.6) ekonomik zarara neden olmamakla birlikte tohumla taşınma açısından önem taşımaktadır (Spring, 2009). Ancak, bitkiler sekonder enfeksiyonlara daha uzun süre maruz kalmaları durumunda, uygun iklim koşullarında sistemik enfeksiyonlara nazaran daha fazla hassasiyet gösterebilmektedirler.



Şekil 1.2. *Plasmodiopsis halstedii*'nin yaşam döngüsü (Molinero-Ruiz, 2020)



Şekil 1.3. *Plasmodiopsis halstedii*'nin sporangiofor ve sporangiumları



Şekil 1.4. Arazide mildiyö etmeli ile enfekteli yakalanmış bitkiler ve yaprak altlarında sporangiumlardan oluşan fungal örtü



Şekil 1.5. Sistemik (primer) enfeksiyon sonucu bodur kalmış ayçiçeği bitkileri





Şekil 1.6. Yapraklarda sekonder enfeksiyondan kaynaklanan lokal lezyonlar

Ülkemizde hastalığın yayılışı, etmenin ırkları yapay inokulasyonu, hastalık üzerine sıcaklığın ve tohum ilaçlamalarının etkisine yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Maden, 1982; Oksal, 2014; Onan ve Onoğur, 1990; Onan, Çimen ve Karcıoğlu, 1992). Hastalık etmeninin kullanılan fungusitlere karşı dayanıklılık kazanmasından dolayı alternatif mücadele yöntemlerine gereksinimler artmıştır. Bu bağlamda bazı bitki aktivatörlerinin ve biyolojik ajanların hastalığı genellikle fide koşullarında %50-75 arasında engellediği bildirilmektedir (Hazarhun ve Özer, 2016; Körosi, Lazar ve Viranyi, 2009; Nagaraju, Murali, Sudisha, Amruthesh ve Mahadeva 2012; Nagaraju, Sudisha, Mahadeva ve Ito 2012; Nandeeshkumar, Ramachandrakini, Prakash, Niranjana ve Shekar, 2008 a,b; Tosi, Giovannetti, Zizzerini ve Sbrana, 1993; Tosi, Luigetti ve Zizzerini 1998; Tosi, Luigetti ve Zizzerini, 1999; Tosi ve Zizzerini 2000). Bununla birlikte hastalığın mücadelesine yönelik çalışmalar özellikle dayanıklı çeşit elde etme yolunda olmuştur (Evcı vd, 2011) ve halen devam etmektedir.

Hastalıklara karşı dayanıklılık çalışmalarında daha ziyade dayanıklılık genlerine yönelik incelemeler yapılmaktadır. Ancak bitkilerde patojenlere karşı savunma mekanizması oldukça kompleksdir. Bitkilerde gözlenen bu dayanıklılık, önceden var olan dayanıklılık (pasif) ve enfeksiyonun teşvik ettiği dayanıklılık (aktif) olarak iki gruba ayrılmaktadır (Dickinson ve Lucas, 1982; Soylu, 2008). Enfeksiyon öncesi bulunan yapısal (pasif) dayanıklılıkta, bitkinin morfolojik ve kimyasal özellikleri önemli rol oynamaktadır. Fiziksel bariyerler olarak yapısal karakterler, patojenin girişine engel olmaktadır. Patojen ve konukçu bitki arasındaki ilk ilişki, çoğu zaman kutikula tabakasında sınırlanmaktadır. Epidermal hücre duvarlarını örten bu mumsu tabaka, belirli patojenlere karşı bitkinin dayanıklılığında önemli bir faktördür. Ayrıca ayçiçeği mildiyösü gibi stomalardan giriş yapan patojenlerde stomaların büyüklüğü, açık ya da kapalı oluşu etmenin girişinde dolayısıyla dayanıklılıkta önem taşımaktadır (Onoğur, 1996). Pasif biyokimyasal savunma mekanizması çerçevesinde bitki hücrelerinde bulunan toksik bileşikler, enzim inaktivatörleri, bazı besin elementleri, pH gibi birçok faktör, inhibitör olarak dayanıklılıkta rol oynamaktadır (Dickinson ve Lucas, 1982). Bazı bitkilerin yapraklarındaki fungitoksik eksudatlar fungusların spor çimlenmesini inhibe edecek konsantrasyonda bulunabilmektedir. Pasif savunmadaki kimyasal faktörler arasında fenoller, saponinler, alkaloidler, glukosinolatlar ve doymamış laktonlar sıralanabilir. Fenolik bileşiklere kırmızı soğan kabuğunda catechol, domateste tomatin, yulafta avenacin, lale soğanında tulipozid örnek verilebilir (Bennett ve Wallsgrave, 1994; Isaac, 1992).

Enfekteli bitkilerde gerçekleşen biyokimyasal değişikliklerin (Aktif savunma) en önemlilerinden biri fenilalanin'den cinnamic acid, benzoic acid (BTH), en son salisilik acid (SA) ve fenolik bileşiklerin biyosentezidir (Nicholson ve Hammerschmidt, 1992). Fenolik bir bileşik olan ve bitkide doğal olarak bulunan SA, bitki savunma mekanizmasında SAR (Sistemik Uyarılmış Dayanıklılık) mekanizmasını uyarmada önemli bir sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır. (Hammerschmidt ve Smith-Becker, 1999; Klessig ve Malamy 1994; Ramussen Hammerschmidt ve Zook, 1991; Raskin, 1992). Günümüzde bitki savunma aktivatörü olarak adlandırılan bazı sentetik bileşiklerin ticari preparatları hazırlanmış ve pratikte kullanıma sunulmuştur. Örneğin ticari bir preparat olan Actigard 50WG [(acibenzolar-S-methyl; ASM), Benzo (1,2,3) thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester; Novartis Crop Protection, Inc., Basel Switzerland]'nin fungal, bakteriyel ve viral kökenli birçok hastalık etmenine karşı sistemik dayanıklılığı teşvik eden gen aktivasyonunda rol oynadığı bildirilmiştir (Görlach vd., 1996; Kessmann vd., 1994; Louws vd., 2001; Soylu, Baysal ve Soylu, 2003; Tally, Oostendorp, Lawton, Staub ve Bassi, 1999). Yapı olarak SA'ya

benzemeyen bu sentetik bileşimin, bitki savunma mekanizmasında SA gibi görev yaptığı bildirilmiştir (Friedrich vd., 1996; Görlach vd., 1996; Lawton vd., 1996). Daha sonra bu preparatın % 50 metalaxyl içeren formu “Bion” ismi ile piyasaya sunulmuştur.

Konukçu-patojen etkileşimi konukçunun bir patojeni engelleyebilme yeteneğine ve patojenin konukçusundan yararlanabilme yeteneğine bağlıdır. Ancak dayanıklılık ve duyarlılık kalıtsal niteliklerdir. Bu nedenle dayanıklı bitki ıslahı çalışmalarında konukçunun genetiği, patojenle etkileşimi, etmenin neden olduğu hastalığın gelişim süreci kritik önem taşımaktadır. Bu kompleks sistemde, bitkilerdeki morfolojik ve biyokimyasal savunma mekanizmasının aydınlatılması dayanıklılık ıslahı çalışmalarına farklı bir bakış açısı getirecektir. Dış ülkelerde muz, fesleğen, buğday ve Arabidopsis bitkilerinde kök patojenlerine karşı biyokimyasal savunma mekanizmasının belirlenmesine yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Bais, Walker, Schweizer, ve Vivanco, 2002; Bais, Park, Weir, Callaway ve Vivanco, 2004; Bais, Prithiviraj, Jha, Ausubel ve Vivanco, 2005; Buxton, 1962; Lanoue vd, 2009; Walker, Bais, Halligan, Stermitz ve Vivanco, 2003). Ayçiçeğinde herhangi bir hastalık etmeni dikkate alınmaksızın yaprak ve gövde ekstraktlarının ayrıca bitki kalıntılarının fenolik madde içeriği incelenmiştir (Alsaadawi, Sarbout ve Al-Shamma, 2012; Ghafar, Saleem, Ul-Haq, Jamil ve Qureshi, 2001). Ülkemizde daha önceki yıllarda yapılan bir çalışmada biyokimyasal içerik belirlenmeksizin, hassas ve dayanıklı gruptan birer adet bitkinin kök ekstraktlarının sporangium çimlenmesine etkisi incelenmiş ve aralarında farklılık olmadığı rapor edilmiştir (Onan ve Onoğur, 1991).

Bu tez çalışmasında ayçiçeği bitkisinin stomadan giriş yaparak sekonder enfeksiyona, köklerinden giriş yaparak sistemik enfeksiyona neden olan, ülkemizde ve dünyada ekonomik kayıplara yol açan ve ayçiçeğinin en önemli fungal patojeni olan ayçiçeği mildiyösüne karşı morfolojik ve biyokimyasal dayanıklılık mekanizmasının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla mildiyö etmenine karşı farklı dayanıklılık genlerine sahip olduğu bilinen hatlar ile herhangi bir dayanıklılık geni içermeyen hassas hatlarda morfolojik dayanıklılık kapsamında stomaların büyüklüğünün önemi dikkate alınmış, sekonder enfeksiyonların durumu yapraklara inokulasyon yapılarak belirlenmiştir. Biyokimyasal dayanıklılık kapsamında ise hem inokulasyon süresince kök akıntılarında ve inokulasyon sonrasında köklerde meydana gelen biyokimyasal değişiklikler incelenmiştir. Elde edilen bilgiler ışığında kimyasal mücadeleye alternatif olabilecek çözümler üretilmesi ve dayanıklılık mekanizmasının aydınlatılarak genetik çalışmalara katkı sağlanması hedeflenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kök akıntıları bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılıkta rol oynayan önemli biyokimyasal faktörlerden birisidir (Buxton, 1962). Kök akıntılarında bulunan bileşikler, organik ve inorganik maddelerle etkileşime girmektedir. Sadece toprak ortamındaki biyoyararlılığı değil aynı zamanda taşınmasını da düzenler. Ayrıca rizosfer mikroflorasının tür kompozisyonunu, besin durumunu, organik maddelerin ayrışmasını, mineralizasyonunu ve toprakta organik madde oluşumunu etkilemektedir (Hodge ve Millard, 1998). Üretilen kök akıntılarının miktarı, bitki türüne, çeşidine, yaşına ve stres faktörlerine göre değişkenlik göstermektedir (Uren, 2000). Kökler ayrıca düşük moleküler ağırlıklı organik bileşik içeriği bakımından çeşitlilik göstermektedir. Bunlar arasında şekerler ve basit polisakkaritler (arabinoz, fruktoz, glikoz, maltoz, mannoz, oligosakkaritler), amino asitler (arginin, asparagin gibi, aspartik, sistein, sistin, glutamin), organik asitler (asetik, askorbik, benzoik, ferulik, malik asitler) ve fenolik bileşikler yer almaktadır. Bu bileşiklerin bazıları; özellikle fenolik bileşikler, çevredeki bitkilerin büyümesini, gelişimini ve toprağın mikroorganizma içeriğini etkilemektedir. Ayrıca, flavonoidler gibi daha yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler, enzimler, yağ asitleri, büyüme düzenleyicileri, nükleotidler, tanenler, karbonhidratlar, steroidler, terpenoidler, alkaloidler, poliasitlenler ve vitaminler büyük miktarlarda salınmaktadır (Fan Lane, Pedler, Crowley ve Higashi, 1997; Hale, Moore, ve Griffin, 1978; Rovira, 1969; Uren, 2000). Amino asit içeriğindeki artış çeşitli bitki-patojen sistemlerinde bağışıklık ile ilişkilendirilmiştir. Amino asitler fitoaleksinlerin sentezinde rol oynamaktadırlar (Cui Alois, Oscar, Clint, 2000).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Onan ve Onoğur (1991) 72 ayçiçeği çeşit ve hattının etmene karşı reaksiyonunu belirlemişler, ayrıca hassas ve dayanıklı gruba giren 2 çeşitte kök ekstraktlarının zoosporangium çimlenmesine etkisini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar kök inokulasyonu yöntemini kullanarak dayanıklı ve hassas çeşit/hatları gruplamışlardır. Hassas ve dayanıklı birer çeşide ait küçük kökleri inokulasyondan sonra derin dondurucuda muhafaza etmişler, daha sonra parçalayarak fosfat buffer (Sörensen PO<sub>4</sub>) içine almışlar, filtrasyondan sonra 30 dakika süre ile buzdolabında tutmuşlardır. Bu süre sonunda elde edilen ekstrakt içinde zoosporangiumları 8 saat süre ile tutarak sporangiumların çimlenme oranını belirlemişlerdir. Araştırmacılar her ne kadar dayanıklı bitkiden elde edilen kök akıntılarında sporangium çimlenme oranı düşük olsa da dayanıklı ve hassas bitki arasında farklılık olmadığını rapor etmişlerdir.

Bitki türlerinin köklerden biyolojik aktiviteye sahip bitki metabolitlerini salgılaması ve bu bileşiklerin rizosfere transferi için ya belirleyici bir davranış ya da sadece toprak patojenleri tarafından uyarılma kapasitesine bağlıdır. Kök türevli antimikrobiyal bileşikler terpenoidler, benzoxazinone, flavonoidler, izoflavonoidler ve fenolik bileşikler olarak adlandırılmaktadırlar (Dixon, 2001).

Ayçiçeği bitkisinin yaprak ve gövde ekstraktlarında chlorogenic acid, ferulic acid, syringic acid ve vanillic acid içerdiği belirlenmiştir (Ghafar vd., 2001). Yine farklı ayçiçeği çeşitlerine ait kalıntıların tarla koşullarında toprağa karıştırılmasının ardından buğday yetiştirildiğinde yabancı ot populasyonunun azaldığı, buğdayda başak sayısı, başaktaki tane sayısı, 1000 dane ağırlığı ve bitki veriminin bazı ayçiçeği çeşitlerinin kalıntıları ile yüksek oranda arttığı tespit edilmiştir (Alsaadawi vd., 2012). Aynı araştırmacılar bitki gelişimini teşvik eden ayçiçeği çeşitlerine ait kalıntılardan yaptıkları ekstraktların fenolik maddelerden chlorogenic acid, caffeic acid, catechol, ferulic acid, gallic acid, hydroxybenzoic acid, p-coumaric acid, protocatechuic acid, sinapic acid, syringic acid, vanillic acid diğer çeşitlere göre daha yüksek oranda içerdiğini bildirmişlerdir.

Bitkiler toprakta bulunan patojenler tarafından saldırıya uğradıklarında bu saldırılara karşı önceden engelleme veya doğal bağışıklık gibi çeşitli savunma sistemleri geliştirmektedirler (Thordal-Christensen, 2003). Yapılan son çalışmalar kökten salgılanan doğal maddelerin bitki savunma stratejisinin bir parçası olduğunu göstermektedir ancak bu tür mekanizmaların etkileşimleri tam olarak bilinmemektedir. Bitkiler bu doğal ürünlerin salgılanmasıyla topraktaki mikrobiyal kompozisyonu veya miktarı etkileyebilir (Bais vd., 2004; Bonkowski, 2004) ya da bunun aksine mikrobiyal ürünler bitki kök akıntılarını teşvik edebilir (Phillips, Fox, King, Bhuvanewari ve Teuber, 2004). Öte yandan kök salgıları; topraktaki bir dizi saldırganı karşı antimikrobiyal, fitotoksik, nematoid veya insektisit etki yapabilmektedir (Bais vd., 2006).

Kökler, bitki özelliklerinin yarısını temsil etmektedir bu yüzden rizosferdeki kimyasal sinyalleri algılamak için sürekli yöntemler geliştirilmektedir. Analitik kimyada ileri teknikler kök akıntılarının analizine yeni bakış açısı sağlamıştır (Sato vd., 2003; Seal, Pratley, Haig ve An, 2004; Steeghs vd., 2004; Walker vd., 2003). Kök akıntılarının çoğunun fonksiyonlarının tam olarak belirlenmemesine rağmen bazı örnekler bu akıntılarının bitki savunma mekanizmasında önemli rol oynadığını göstermektedir. Örneğin; fesleğenin (*Ocimum*



*basilicum*) saçak köklerinin sadece patojenik fungus *Pythium ultimum* tarafından uyarıldığında kaçırıcı özelliğe sahip bir kök akıntısı olan rosmarinik asit salgıladığı belirtilmektedir (Bais vd., 2002). Arabidopsis kök akıntılarında antimikrobial özellikte fenolik maddelerin olduğu tespit edilmiştir (Bais vd., 2005). Arpada yapılan bir çalışmada, *Fusarium* kök çürüklüğüne karşı savunma reaksiyonu olarak, kök akıntılarında, vanillic acid, syringic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, miktarlarının artış gösterdiği t-cinnamic acidin ise yeni bir bileşik olarak olduğu tespit edilmiştir (Lanoue vd., 2009).

Mahmoud (2010), yapmış olduğu çalışmada, 41 ayçiçeği çeşidinin kömür çürüklüğü (*Macrophomina phaseolina*) hastalığı enfeksiyonuna reaksiyonunu ölçmüştür. Sonuçlar, bazı ayçiçeği çeşitlerinin kök boğazı hastalığına dirençli olduğunu, ancak çeşitlerin büyük çoğunluğunun hastalığa duyarlı olduğunu göstermiştir. Kök salgıları ile ayçiçeğinin dip çürümesi/çökerten ve kök boğazı hastalıklarına direnç mekanizması arasında bir bağlantı olduğu saptanmıştır.

Ayçiçeği bitkisinin saplarından elde edilen ekstraktların tablolardan elde edilen ekstraktlara göre buğday, arpa, ayçiçeği ve mercimek bitkilerinin çimlenme ve fide gelişimi üzerine daha az engelleyici etkisi olduğu tespit edilmiştir (Kaya vd., 2013). Başka bir çalışmada yaprak ve sürgün ekstraktlarının buğday ve mısır bitkisinin tohum çimlenmesi ve gelişimini azaltmasına rağmen, taze kök ekstraktlarının buğdayda sadece %0.22 oranında tohum çimlenmesini azalttığı, mısırdaki herhangi bir azalma olmadığı, her iki bitkinin plumula ve kök uzunluğunda 0.22-0.62 cm'lik bir azalma olduğu belirlenmiştir (Muhammad ve Majeed, 2014).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü (TTAE) ayçiçeği ıslah programında kullanılan farklı dayanıklılık genlerine sahip bazı ıslah hatlar ile dayanıklılık geni bulunmayan hatlar, ayçiçeği mildiyösü etmeni *Plasmopara halstedii*'nin Trakya-Marmara Bölgesi'nden toplanan izolatları (doğal popülasyon halinde), LC-MS/MS standartları çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur. Çalışmada yer alan hatlar ve bazı teknolojik özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan ayçiçeği hatları ve teknolojik özellikleri

NO	Hatlar	Dayanıklılık Geni	Kaynak
1	CL 217 R	<i>Pl 6</i>	TTAE*
2	HAR 5	<i>Pl 13</i>	USDA
3	K5 R SN:11/2014	<i>Pl 6+Pl 2</i>	TTAE
4	K9 R SN:3/2014	<i>Pl 8</i>	TTAE
5	RHA 419	<i>Pl Arg</i>	USDA
6	RHA 437	<i>Pl 8</i>	USDA
7	RHA 443	<i>Pl 4</i>	USDA
8	RHA 447	<i>Pl 2</i>	USDA
9	YDRH SN:7/2014	Mutant MR	TTAE
10	HA 89	Dayanıklılık geni içermemektedir	TTAE
11	2517	Dayanıklılık geni içermemektedir	TTAE
12	9661	Dayanıklılık geni içermemektedir	TTAE

\*TTAE Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü; USDA United States Department of Agriculture

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. İnokulumun Hazırlanması ve Çoğaltılması

Mildiyö hastalık etmeninin izolatları, 2016 yılı Mayıs ayında Tekirdağ, Kırklareli, Edirne illerine bağlı köylerinde yetiştirilen ayçiçeği bitkilerinden elde edilmiştir. Enfekteli yapraklar 3-4 gün gölgede kurutulduktan sonra inokulasyon aşamasında kullanılmak üzere etiketlenerek -80 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Kullanımdan hemen önce her lokasyondan eşit miktarlarda yaprak örneği alınarak karışım hazırlanmış ve hazırlanan hastalıklı bitki yaprak popülasyonundan saf su içerisine fungal örtüde bulunan sporangiumlar fırça ile süpürülmüştür. Daha sonra karışık izolatların sporangiumlarının yoğunluğu mikroskop ve thoma lamı yardımıyla  $1 \times 10^5$  sporangium/ ml olacak şekilde ayarlanmış ve dayanıklılık mekanizmalarının belirlenmesi çalışmalarında kullanılmak üzere çoğaltılmıştır (Gulya, Miler, Viranyi ve Sackston, 1991; Gulya vd.,1998; Viranyi, 1977; Viranyi 2007).

Öncelikle test edilecek ayçiçeği materyaline ait tohumların yüzeyi % 1'lik NaOCl kullanılarak steril edilmiş ve saf su ile durulanmıştır. Sonra içlerinde steril su ile ıslatılmış 3 katlı steril kurutma kağıtları bulunan petri kaplarına yerleştirilerek, çimlendirmek üzere oda ısısında karanlık bir ortamda 24-48 saat bekletilmiştir ve çimlenen tohumların kökçüklerinin uzunluğu 0,5-1 cm olması sağlanmıştır. Her petriye 10 tohum gelecek şekilde 10 petri (tekrar) hazırlanmıştır. Çimlenen tohumlar, etmeni inokule etmek amacıyla petriler içerisindeki yukarıda belirtilen konsantrasyonda hazırlanan sporangium süspansiyonuna yerleştirilmiş ve 16°C'de 4-5 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda fidecikler içinde steril edilmiş kum + perlit karışımı (1/3 perlit+2/3 kum) bulunan saksılara ekilerek ortam sıcaklığı 24°C'ye ayarlanmış, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde iklim odasında kontrollü şartlarda büyümeye bırakılmıştır. İnokule edilmiş bu bitkilerin ilk gerçek yaprakları 2-3 mm büyüklüğüne ulaştığında, saksıların dolayısıyla bitkilerin üzeri hava geçirmeyecek şekilde, şeffaf naylon poşet ile kapatılmıştır. Kapatma işlemi bitki büyüme ortamında %100 nem oluşması amacıyla yapılmaktadır. Bu şekilde kapatılan bitkiler 16°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Gulya vd.,1991, 1998; Vranyi, 1977). Elde edilen inokulum izleyen denemelerde kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Hassas ayçiçeği hatlarında patojen inokulum kaynağının çoğaltılması ve kotiledon yapraklardaki yoğun sporulasyon

### 3.2.2. İnokulum Karışımının Özellikleri

İnokulum karışımına ait ırkların belirlenmesi amacıyla uluslararası ırk ayırıcı set kullanılmıştır (Çizelge 3.2.) (Tourvieille vd. 2000). Ayçiçeği mildiyösü ırklarına hassas ayçiçeği hattı üzerinde çoğaltılan *P. halstedii*'nin farklı izolatlarına ait sporangium konsantrasyonları thoma lamında belirlenerek ayırıcı hatlara ait ayçiçeklerinin inokulasyonu 3.2.1'de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. Tourvieille vd. (2000) tarafından bildirilen *Plasmopara halstedii* uluslararası ırk ayırım seti

	Kod	Set 1	Dayanıklılık geni	Dayanıklılık kaynağı
Set 1	D-1	HA 89	-	-
	D-2	RHA 265	Pl <sub>1</sub>	953-102 (Kanada)
	D-3	RHA 274	Pl <sub>2</sub> /Pl <sub>21</sub>	953-88 (Kanada)
Set 2	D-4	DM 2	Pl <sub>PM3</sub>	Novinka (Rusya)
	D-5	PM 17	Pl <sub>5</sub>	? (İran)
	D-6	803-1	Pl <sub>5+</sub>	<i>H. tuberosus</i>
Set 3	D-7	HAR 4	Pl <sub>14</sub> /Pl <sub>16</sub>	? (Arjantin)
	D-8	HAR 5	Pl <sub>13</sub>	Guayacan INRA (Arjantin)
	D-9	HA 335	Pl <sub>6</sub>	Yabani <i>H. annuus</i>

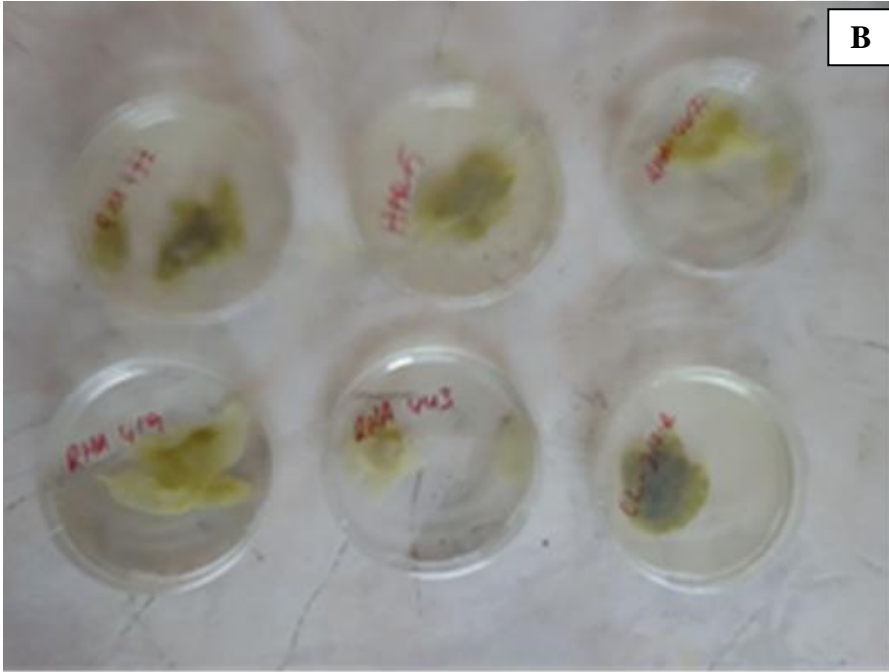
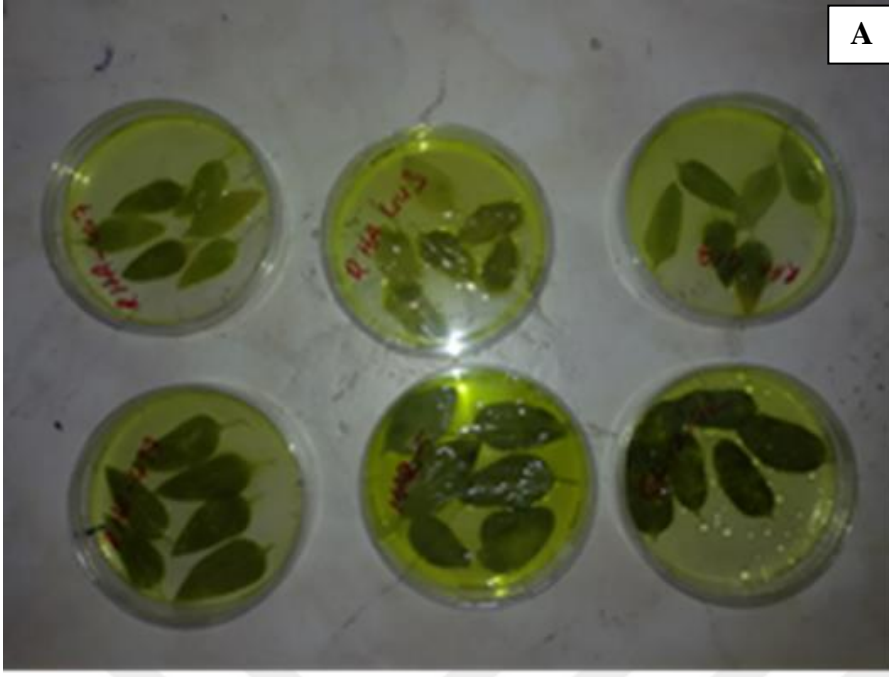
Hastalık değerlendirmesinde ilk gerçek yapraklar veya kotiledonlar üzerindeki sporulasyon oluşumu görülen bitkiler hassas (H), sporulasyon oluşumu görülmeyen bitkiler ise dayanıklı (D) olarak değerlendirilmiştir. İzolatların ırk ayrımı ise Tourvieille vd. (2000) tarafından bildirilen üçlü sınıflandırmaya (Çizelge 3.3) göre yapılmıştır.

Çizelge 3.3. Tourvieille vd., (2000) tarafından bildirilen üçlü kod sistemi ile ırk belirleme

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>Üçlü kod</b>
<b>İrk ayırıcı hatlar</b>	D-1 D-2 D-3	D-4 D-5 D-6	D-7 D-8 D-9	
<b>Değer</b>	1 2 4	1 2 4	1 2 4	
<b>Avrupa ırkı</b>	H D D 1 + 0 + 0=1	D D D 0 + 0 + 0=0	D D D 0 + 0 + 0=0	100
<b>Red River ırkı</b>	H H D 1 + 2 + 0=3	D D D 0 + 0 + 0=0	D D D 0 + 0 + 0=0	300
<b>İrk? xyz</b>	H H H 1 + 2 + 4=7 <b>X</b>	H D H 1 + 0 + 4=5 <b>Y</b>	D H D 0 + 2 + 0=2 <b>Z</b>	752 <b>XYZ</b>

### 3.2.3. Morfolojik Dayanıklılık

Morfolojik dayanıklılık kapsamında, test edilecek hatlara ait bitki yapraklarına ait stomaların en, boy ve stoma açıklıklıkları ölçülmüştür. Dayanıklı ve hassas çeşitlere ait yapraklarda (her çeşitten 5 yaprak ve aynı zamanda alınmış) stoma en boy ve stoma açıklığının büyüklüğü belirlenmiştir. Bu amaçla 1 cm<sup>2</sup>'lik yaprak diskleri etanol:acetic acid (3:1 v/v) karışımında klorofil giderilene kadar (48 saat) bekletilmiş ve daha sonra saf su içinde 4 saat tutulmuştur (Şekil 3.2 A ve B). Yaprak diskleri daha sonra laktik asit, gliserol ve su (1:1;1 v/v/v) karışımına aktarılmış, yaprak disklerinin her birinde 50 adet stomanın en boy ve açıklık ölçümleri (µm) yapılmıştır (Şekil 3.3.) (Zhang ve Dickinson, 2001).



Şekil 3.2. Ethanol:acetic acid (3:1 v/v) karışımında bekletilen yapraklar (A) ve klorofili kaybolmuş yapraklar (B)



Şekil 3.3. Stoma en, boy ve açıklık ölçümleri

### 3.2.4. Sekonder Enfeksiyonların Belirlenmesi

Sekonder enfeksiyonları belirlemek amacıyla, modifiye edilmiş ve soğuk sterilizasyona tabi tutulmuş MS (Mineral salt solution) ortamına [180 mg D-glucose, 1.3 mg L-asparagine, 5.3 mg  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2.4 mg  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1.1 mg  $\text{CaCl}_2$ , 3.1 mg  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1.6 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.7 mg thiamine HCL/l] ) (Nelson ve Hsu, 1994) etmene ait popülasyonun çoğaltılması ile elde edilen inokulum (3.2.1) aktarılıp hafifçe çalkalanmış,  $10^5$  sporangium/ml sporangium süspansiyonu hazırlanmıştır. Sporangium içeren MS ortamından alınan 50  $\mu\text{l}$ , sporangium içermeyen MS ortamından alınan 450  $\mu\text{l}$  ile karıştırılarak (toplam 500  $\mu\text{l}$ ), 9 cm'lik steril petri kaplarında bulunan steril saat camlarına aktarılmıştır. Karışım üzerine mantar delici ile 1 cm çapında hazırlanmış yaprak diskleri yaprak alt yüzeyi sıvıya değecek şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.4). Patojen gelişiminin gerçekleşmesi için yeterli nemi sağlamak amacıyla petri kaplarının kapaklarına steril su püskürtüldükten sonra parafilm ile kapatılan petri kapları  $16^\circ\text{C}$ 'de 10 gün inkübasyona bırakılmış (Şekil 3.5), inkübasyondan sonra sporulasyon oluşumu gözlenmiş ve sporangium sayımı yapılmıştır. Deneme her bir hat için 10 tekerrürlü olarak yürütülmüş, her tekerrürde 2 yaprak diski kullanılmıştır.





Şekil 3.4. Yaprak disklerinin petrilere yerleştirilmesi



Şekil 3.5. Hazırlanan örneklerin inkübasyona bırakılması



İnokulasyondan 10 gün sonra simptomatolojik olarak gözlenen ve sporulasyon oluşan 10 adet yaprak diski üzerine 1 ml fizyolojik su (9 g NaCl + 1 l destile su) ilave edildikten sonra elle çalkalanmış, zoosporların çıkışı durdurulmuştur (Sakr vd., 2008). Bir dakika süre ile çalkalandıktan sonra Thoma lamında sporangium sayımları gerçekleştirilerek ml'deki sporangium sayısı belirlenmiştir (Kim Khiook vd., 2013; Zyprian vd., 2016). Sayımlar her bir genotip için 10 yaprak diskinde gerçekleştirilmiştir.

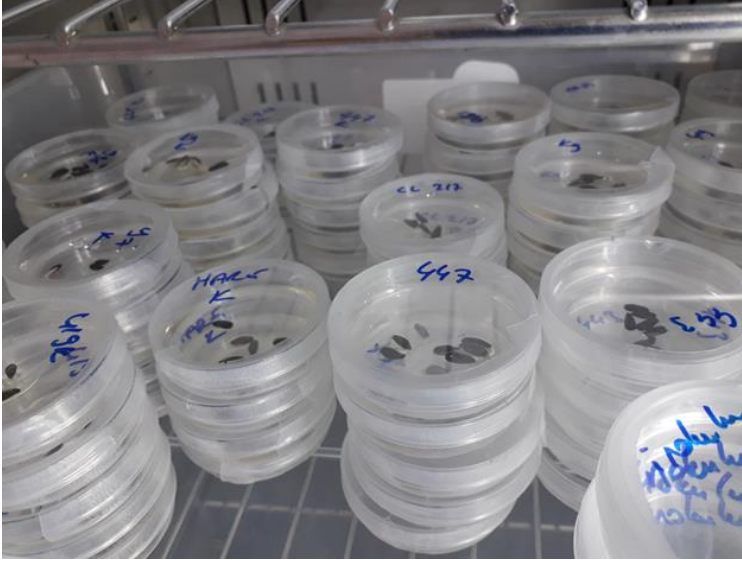
Sekonder enfeksiyonların belirlenmesi bölümünde herhangi bir sporulasyon oluşmayan hatlara ait yaprak disklerindeki enfeksiyondan emin olabilmek için her tekrardan 1 yaprak diski (Toplam 10 yaprak) boyanarak stoma enfeksiyonları kontrol edilmiştir. Bu amaçla yaprak diskleri üzerine 1 M Potasyum hidroksit (KOH)'den 1.5 ml konulmuş 24 saat sonra içindeki KOH alınarak, aynı miktar KOH eklenmiş ve rengi açılana kadar işlem tekrarlanmıştır. Rengi açılan yaprak diskleri 0.067 M dipotasyum hidrojen fosfat ( $K_2HPO_4$ ) içinde % 0.05 aniline blue içeren boya ile 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra saf su içinde 5 dakika süre ile 2 kez yıkanmıştır (Godard, Slacanin, Viret ve Gindro, 2009; Jorges, Kassemeyer ve Dürrenberger, 2009; Liu vd. 2015). Hazırlanan preparatlar yaprak alt yüzeyi üstte kalacak şekilde lam üzerine yerleştirilip floresan mikroskopta (LEICA DM 2500, Germany) incelenmiştir.

### **3.2.5. Biyokimyasal Dayanıklılık Mekanizması**

Dayanıklı ve hassas hatlarda biyokimyasal dayanıklılık mekanizmasının incelenmesi için yapılan çalışmalar inokulasyon süresince oluşan kök akıntılarında ve inokulasyondan sonra köklerde meydana gelen anti-oomycete bileşiklerin belirlenmesi olmak üzere iki farklı aşamada tamamlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar ince tabaka kromatografisinde (TLC) fraksiyonlarına ayrılmıştır. TLC plakalarında ortaya çıkan fraksiyonlar gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS)'nde içerdiği uçucu bileşikler açısından incelenmiştir. Uçucu olmayan bileşikleri belirlemek için ise yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (LC-MS/MS) analizleri yapılmıştır.

### 3.2.5.1. İnokulasyon süresince meydana gelen kök akıntılarının ekstraksiyonu

Bu amaçla önce tohumlar 5 ml steril su içinde çimlenmeye bırakılmış, daha sonra 3.2.1'de belirtilen şekilde çoğaltılmış inokulumdan hazırlanan sporangium süspansiyonundan 1 ml ilave edilerek 16°C'de 12 saat (Şekil 3.6) bekletilmiştir. Her bir hat için 5 petri kabı kullanılmış olup, her petriye 5 tohum yerleştirilmiştir. Kontrol petrilere aynı miktarda su ilave edilerek çimlenmiş tohumlar yerleştirilmiştir.



Şekil 3.6. İnokulasyon sonrası inkübasyona bırakılan örnekler

12 saat sonra petrilere bulunan sıvılar toplanarak 10 ml'si analizlerde kullanılmıştır. Elde edilen sıvı (10 ml) 0.22 µm steril filtreden süzülerek pH 2 olacak şekilde pH'sı ayarlanmıştır. Hazırlanan sıvıya 2:1 oranında etil asetat eklenerek karanlıkta 24 saat bekletildikten sonra ayırma hunisinde su uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.7) ve elde edilen ekstrakt çeker ocakta uçurulmuştur (Lanoue vd., 2009).



Şekil 3.7. Elde edilen ekstraktın ayırma hunisinde ayırma işlemi

### 3.2.5.2. İnokulasyon sonrasında köklerden ekstraksiyon

Çalışmamızda ele alınan hatlarda inokulasyon 3.2.1 bölümünde belirtilen şekilde gerçekleştirildikten sonra bitkiler, aynı bölümde belirtildiği gibi inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda bitkilerin köklerinden 0.1 g tartılarak derin dondurucuda saklanmıştır. Ekstraksiyon sırasında ise 100 mg kök üzerine 400 µl etanol konularak 24 saat süre ile karanlıkta bekletilmiş, bu süre sonunda 0.22 mm lik steril filtrelerden geçirilerek analizlerde kullanılmıştır.

### 3.2.5.3. İnce tabaka kromatografi (TLC) analizi

İnokulasyon süresince oluşan ekstraktlarda kurutulmuş organik faz üzerine 1 ml etanol damlatılmış ve organik fazın çözünmesi beklenmiştir. Çözünme gerçekleşikten sonra ekstraktan 80 µl silika jel plakası (TLC plates 60 F<sub>254</sub>, Merck, Darmstadt, Germany), üzerine damlatılmıştır. Ayırıcı çözücü olarak chloroform:methanol (10:1) kullanılmıştır. Testler için 2 plaka hazırlanmıştır. Bu plakalardan biri fraksiyonların sporangium boşalmasına etkisini belirlemek amaçlı, diğeri GC/MS analizleri için kullanılmıştır. Fraksiyonlar, uzun (365nm) ve kısa (254nm) dalga boylu floresan lambalar altında karanlıkta işaretlenmiştir ve her bir

fraksiyonun Retention factor (Rf) değerleri (*Tutunma faktörü (Rf); bileşimin TLC plakalar üzerinde kat ettiği mesafenin, çözücünün kat ettiği mesafeye bölünmesi elde edilen değer*) kayıt edilmiştir. Oluşan fraksiyonlar bistüri ile kazınarak plakadan ayrılmış, 0.5 ml ethanol ile 12000 g de 20 dakika süre ile ekstrakte edilmiş, üstte kalan sıvı alınmıştır. Bileşik içeren fraksiyonların sporangium çimlenmesi üzerine anti-oomycete etkisini belirlemek amacıyla TLC plakalarından ayrılmış ve ethanolde çözülmüş olan fraksiyonlar steril kabin altında kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra üzerine 500 µl steril su ilave edilmiş, her bir fraksiyon spor süspansiyonu-fraksiyon karışımının %75 ini içerecek şekilde steril tüpler içine yerleştirilerek 17°C'de 12 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda zoosporlarını boşaltmış olan sporangiumlar belirlenmiştir. Kontrol tüplere sadece su ilavesi yapılmıştır. İnokulasyon sonrası köklerde oluşan uçucu bileşikleri belirlemek amacıyla, 3.2.5.2 bölümünde belirtildiği şekilde hazırlanan ekstraktlarla bu bölümde anlatılan testler gerçekleştirilmiştir. Testler 4 tekrarlı olarak yürütülmüş olup, her tekrarda 100 sporangium sayımı gerçekleştirilmiş ve fraksiyonların sporangium boşalmasına etkileri (%) Abbot formülüne göre belirlenmiştir [%Etki: Kontrolde zoosporunu boşaltan sporangium sayısı (A) – fraksiyon uygulamasında boşalan sporangium sayısı (B)/A X100].

#### **3.2.5.4. GC/MS ve LC-MS/MS Analizleri için örneklerin hazırlanması**

GC/MS analizlerinde gerek inokulasyon süresince gerekse inokulasyon sonrasında elde edilen ekstraktların TLC de fraksiyonlarına ayrılmasından sonra, sporangium boşalmasını %50'nin üzerinde engelleyen fraksiyonlar kullanılmıştır.

LC-MS/MS analizlerinde standart bileşikler olarak daha önce yapılan çalışmalarda bitki gelişimini teşvik eden ve ayçiçeği çeşitlerine ait kalıntılardan yaptıkları ekstraktlarda bulunan fenolik maddelerden chlorogenic acid, caffeic acid, catechol, ferulic acid, gallic acid, dihydrobenzoic acid, p-coumaric acid, sinapic acid, syringic acid, vanillic acid (Alsaadawi ve ark. 2012) kullanılmıştır. Önce bu bileşiklerin sporangiumdan zoospor boşalmasına etkileri belirlenmiştir. Bu amaçla su içinde 10 mM stok solusyon hazırlanmıştır. 500 µl steril su içine 100, 10, 1 ve 0.1 µM konsantrasyonlarda seyreltilmiştir. Her bir tüp 10<sup>5</sup> sporangium/ml konsantrasyonunda sporangium süspansiyonu ile inokule edilmiştir. Kontrol tüplere aynı oranda su ilavesi yapılmıştır. 16°C'de 12 saat inkübasyon periyodundan sonra zoospor boşalması gerçekleşmiş sporangiumlar sayılmıştır ve sporangium boşalmasını %50' nin

üzerinde engelleyen (3.2.5.3'de belirtilen formülle hesaplanmıştır) bileşikler LS/MS analizlerinde standart olarak kullanılmıştır.

Ekstraksiyon süresince kök akıntılarında uçucu olmayan bileşikleri tespit etmek amacıyla etil asetat ile hazırlanan ekstraksiyondan sonra elde edilen kurutulmuş organik faz üzerine 100 µl metanol ilave edilerek yukarıda belirtilen testler sonucunda seçilen bileşiklerin varlığı açısından LC-MS/MS'de ölçümler yapılmıştır (Lanoue vd., 2009). İnokulasyon sonrası köklerde uçucu olmayan bileşikleri tespit etmek amacıyla 6400 µl metanol:su (80:20, v/v) karışımı ilave edilerek 1200 rpm de 30 dakika sallanmıştır. Daha sonra 12 677 rpm'de 5 dakika santifij edilerek, üstte kalan sıvıdan 50 µl alınmış ve LC-MS/MS analizleri için kullanılmıştır.

### **3.2.5.5. GC/MS Koşulları**

GC/MS analizlerinde Shimadzu QP-2010 Ultra mass seçici detektörü bulunan Shimadzu QP-2010-Ultra model gaz kromatografi (Shimadzu, Kyoto, Japan) kullanılmıştır. Örnekler Teknokroma TRB-5MS kolon (30 m 0.25 mm i.d. 0.25 µm film kalınlığı, Sant Cugat del Vallés, Spain) kullanılarak analiz edilmiştir. Sıcaklık önce 70°C'de 2 dakika sonra 150°C'ye (25°C/da) yükseltilmiş ve 150°C'de 10 dakika tutulmuştur. Daha sonra 260°C'ye (25°C/da) yükseltilerek 40 dakika tutulmuştur. Kolonda taşıyıcı gaz olarak 1ml/da akış hızına sahip helyum gazı kullanılmıştır (Hemlal ve Ravi, 2012). Mass spektrofotometre 35-500m/z genişliğinde tarama yapan 70eV elektron çarpma modunda işlem yapmakta olup iyon kaynağı sıcaklığı 220°C'dir. Bileşiklerin tanımlanması NIST27, NIST107, NIST147 ve WILEY7 veri tabanları kullanılmıştır.

### **3.2.5.6. LC-MS/MS Koşulları**

Fenolik bileşiklerin miktar tayininde çok yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip güçlü bir teknik olan LC-MS/MS sistemi kullanılmıştır. Bu sistem sıvı kromatografi sistemi (Eksigent marka, UPLC- Ultra pressure liquid chromatography) ve sıralı kütle dedektöründen (ABSciex 3200 Q Trap marka, MS/MS) oluşmaktadır. Analitlerin birbirinden ayrılması için UPLC kolonu olarak 3.0\*100 mm\*2,7 mikron boyutlarında Agilent marka Poroshell 120 SB-C8 model kromatografik kolon kullanılmıştır. UPLC sistemi çift pompa, degazer, otomatik örnekleyici ve kolon fırınından oluşmaktadır. Bu sistemde hareketli faz olarak A hattında

%0,2 formik asit içeren ultrasaf su ve B hattında ise %0,2 formik asit içeren asetonytril kullanılmıştır. Analitlerin kolonda birbirinden ayrılması için gradient akış metodu (başlangıç ve 1. dakika için %20 buffer B, 3. ve 5. dakika için %80 buffer B ve 8. dakika için %20 Buffer B) kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 0,3 ml/dk, enjeksiyon hacmi 20 µL ve analiz süresi 8 dk olarak belirlenmiştir. Kolon sıcaklığı 40 °C'de tutulmuştur. Kütle spektrometresi, otomatik modda kütle/ yük değeri 100-1000 aralığındaki tam tarama modunda çalıştırılmıştır. MS iyonlaşması, Elektrosprey iyonizasyon (ESI) ile hem pozitif hem negatif modda elde edilmiştir. Perdeleyici gaz olarak (CUR Gas-curtain gas) azot gazı kullanılmış ve bu değer 30 psi ayarlanmıştır. İyon sprej voltajı (IS) 4500 volt, Gaz 1: 60 psi ve Gaz 2: 40 psi değerine ayarlanmıştır. İyon kaynağı sıcaklığı (TEM) 500°C olarak belirlenmiştir.

Fenolik bileşiklerin kantitatif tayini için MRM (Multiple Reaction Monitoring) çiftleri kullanılmıştır. Oluşan iyonlara ilişkin kütle/yük ana iyon (Precursor ion, Q1), yavru iyon (Product ion, Q3) değerleri otomatik olarak Analyst 1.6.2 yazılımı tarafından belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan ve sporangium boşalmasını %50'nin üzerinde engelleyen fenolik bileşiklere ait saf standartların (Ek Şekil 1 - 5) herbiri ile 1000 ppm konsantrasyonundaki stok çözeltiler hazırlanmıştır. Her bir stok çözeltiden 100'er µL alınarak 10 ml hacminde 10 ppm konsantrasyonunda mix çözelti elde edilmiştir. Bu karışım çözeltilerin de uygun oranlarda seyreltilmesi ile elde edilen 0,125-0,25-0,5 ve 1 ppm konsantrasyonlardaki çözeltiler kullanılarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Kalibrasyon eğrisindeki bu konsantrasyon aralığı cihazın bu bileşikleri tayin edebileceği en düşük konsantrasyondan başlanacak şekilde belirlenmiştir. Her numunede regresyon katsayısı 0.997'den yüksek olmuştur.

### **3.2.6. Deneme Deseni ve İstatistik Analiz**

Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre üretilmiştir (Karman, 1971). Her test sonucunda elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences, 2001, version 11.0; Chicago, IL, USA) programı kullanılarak varyans analizine tabii tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre ( $P \leq 0.05$ ) belirlenmiştir. Yüzde olarak elde edilen veriler açılı değeri alındıktan sonra ilgili testler yapılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. *Plasmopara halstedii* Irklarının Belirlenmesi

Çalışmada kullanılmak üzere bölgeden toplanan izolatların, 3.2.1 ve 3.2.2 bölümlerinde belirtildiği şekilde ırk tespiti yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre karışım halinde kullanılan inokulum kaynağına ait 5 farklı ırk olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Denemede kullanılan *Plasmopara halsitedii* izolatlarına ait ırklar

İzolat No	İl	İrk
1	Edirne	704
2	Edirne	705
3	Kırklareli	704
4	Kırklareli	715
5	Tekirdağ	774
6	Tekirdağ	735

### 4.2. Morfolojik Dayanıklılık Mekanizması

Morfolojik dayanıklılık kapsamında etmenin stomalardan da giriş yapması nedeniyle, ele alınan hatların yapraklarının stoma eni, boyu ve açıklığı ölçülmüştür (Çizelge 4.2). Çizelge 4.2’de de görüldüğü gibi ayçiçeği mildiyösüne karşı dayanıklılık geni içeren ve içermeyen hatlarda stoma en ve boyu açısından çok önemli farklılıklar bulunmamıştır. En küçük stoma enine sahip dayanıklı hatlardan K9 R SN:3/2014 dayanıklı olmayan 2517 ile aynı grupta yer almış, HA 89 ve 9661 e göre aralarındaki farklılık önemli bulunmuştur. Bununla birlikte stoma açıklığı incelendiğinde dayanıklı hatlardan RHA 419, K9 R SN:3/2014, K5 R SN:11/2014 ve CL 217 R’nin stoma açıklığının hassas hatlara göre önemli derecede düşük olduğu görülmüştür ( $P \leq 0.05$ ) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Farklı hatlara ait yapraklarda stoma en, boy ve açıklık büyüklüğü (µm)

Hat	Dayanıklılık Geni	En*	Boy*	Açıklık*
CL 217 R (D)	PI 6	18,72±0,23 abc **	32,79±0,37 a	2,00±0,09 e
HAR 5 (D)	PI 13	17,68±0,28 bcd	29,78±0,36 ab	2,64±0,15 c
K5 R SN:11/2014 (D)	PI 6+PI 2	18,57±0,27 abc	30,56±0,56 ab	2,11±0,13 de
K9 R SN:3/2014 (D)	PI 8	16,74±0,31 d	27,65±1,68 b	2,04±0,03 de
RHA 419 (D)	PI Arg	18,92±0,35 ab	29,50±0,80 ab	1,49±0,03 f
RHA 437 (D)	PI 8	17,86±0,37 abcd	29,61±0,65 ab	2,60±0,06 c
RHA 443 (D)	PI 4	19,04±0,64 a	30,37±1,74 ab	3,81±0,27 a
RHA 447 (D)	PI 2	18,69±0,26 abc	30,23±1,33 ab	2,42±0,08 cd
YDRH SN:7/2014 (D)	Mutant MR	19,06±0,24 a	27,92±0,86 b	2,72±0,10 c
HA 89 (H)	-	18,12±0,45 abc	28,96±1,58 b	2,74±0,09 c
2517 (H)	-	17,58±0,43 cd	29,30±0,38 ab	3,21±0,13 b
9661 (H)	-	18,55±0,53 abc	28,90±1,21 b	2,85±0,23 bc

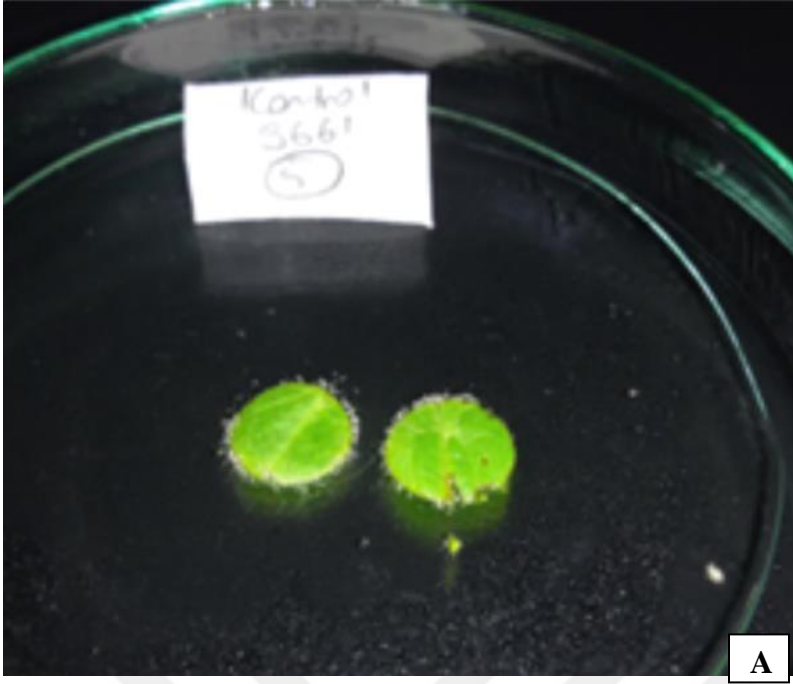
\*Her bir değer 50 tekkerrürün ortalamasıdır. D: Dayanıklı; H: Hassas

\*\*Her bir sütunda yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre önemlidir (P≤0.05).

### 4.3. Sekonder Enfeksiyonlar

Ayçiçeği mildiyösü etmeni *P. halstedii* ile yaprak enfeksiyonu ve 10 gün (±16 °C) inkübasyon sürecinin sonucundaki değerlendirmelere göre; herhangi bir dayanıklılık geni içermeyen HA 89, 2517 ve 9661 hatlarına ait yaprak disklerinin tümünde yoğun enfeksiyon oluşumu gözlenirken (Şekil 4.1 A), sırasıyla PI 13, PI arg, PI 8 ve PI 2 dayanıklılık genlerine sahip HAR5, RHA 419, RHA 437, RHA 447 hatlarında enfeksiyon oluşmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.1 B). Yine farklı dayanıklılık genleri bulunan CL 217 R, RHA 443, K9 R SN:3/2014, YDRH SN:7/2014 hatlarında ise hassas hatlara oranla düşük de olsa enfeksiyon oluşumu görülmüştür. İnokulasyon yapılan yapraklarda yapılan sporangium sayımlarına göre; RHA 447, RHA 419, RHA 437, HAR 5 dayanıklı ayçiçeği hatlarında sporangium gelişimi oluşmadığı (Çizelge 4.3.), hassas hatların yapraklarındaki sporangium yoğunluğu ile aralarındaki farklılığın istatistiki olarak önemli olduğu görülmüştür. Bununla birlikte söz konusu hatlar sporulasyon oluşan ancak düşük enfeksiyon olduğu belirlenen diğer dayanıklı hatlarla farklı istatistiki grupta yer almıştır ve bu hatların da yapraklarındaki sporangium yoğunluğunun hassas hatlara göre önemli derecede düşük olduğu tespit edilmiştir.





Şekil 4.1. Enfekteli yaprak diskleri (A) ile gözle görülür sporulasyon bulunmayan yaprak diskleri (B)

Sekonder enfeksiyon değerlendirmeleri sonucunda gözle görülebilir herhangi bir sporulasyon görülmeyen yaprak diskleri metot kısmında belirtilen şekilde anilin blue ile boyanarak flouresan mikroskopta incelenmiştir (Şekil 4.2). HAR 5, RHA 419, RHA 437 ve

RHA 447 dayanıklı hatlarında patojenin stomalardan giriş yaptığı kısımlar belirlenmiştir. Ancak stomalardan giriş yaptığı halde stomaların etrafı incelendiğinde patojenin sporangium ve sporangioforlarının oluşmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.3).

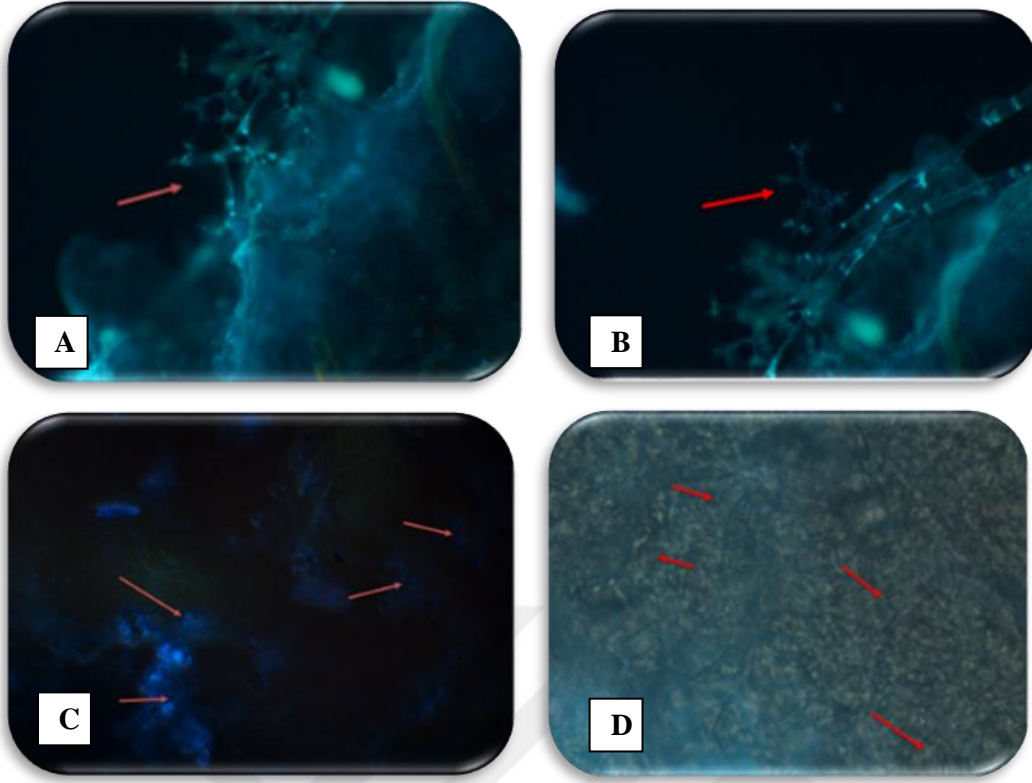
Bununla birlikte K9 R SN:3/2014 ve YDRH SN:7/2014 gibi düşük oranda da olsa enfeksiyon oluşumu gözlenen hatlara ait yaprak diskleri boyanarak flouresan mikroskop altında incelendiğinde ise patojenin stomalar arasında ilerlediği görülmüştür (Şekil 4.4).

Çizelge 4.3. Dayanıklı ve hassas hatların yaprak disklerinde sekonder enfeksiyon sonucu meydana gelen sporangium yoğunluğu

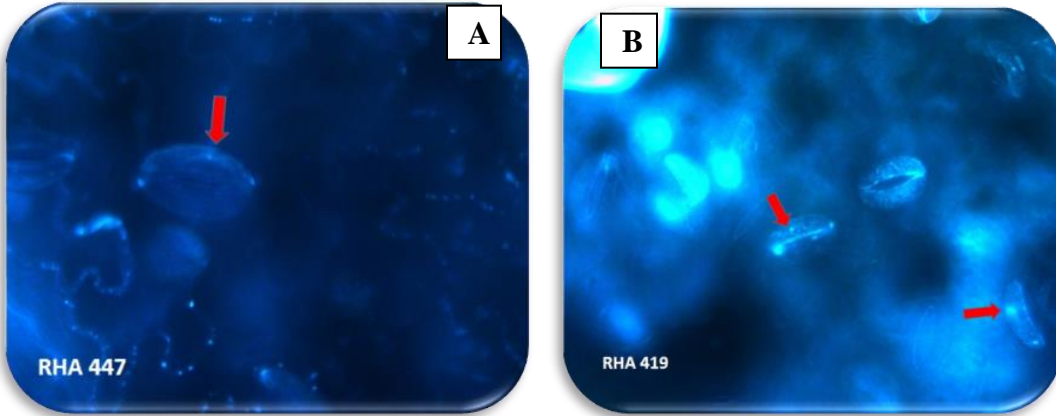
Hat	Dayanıklılık geni	Sporangium sayısı (X10 <sup>3</sup> )
CL 217 R	Pl 6	11,60±0,90 de
HAR 5	Pl 13	0,00±0,00 g
K5 R SN:11/2014	Pl 6+Pl 2	14,20±0,93 d
K9 R SN:3/2014	Pl 8	12,40±0,85 d
RHA 419	Pl Arg	0,00±0,00 g
RHA 437	Pl 8	0,00±0,00 g
RHA 443	Pl 4	8,90±0,36 ef
RHA 447	Pl 2	0,00±0,00 g
YDRH SN:7/2014	Mutant MR	7,10±0,80 f
HA 89	-	32,00±1,34 c
2517	-	45,30±2,38 b
9661	-	49,80±2,28 a

\*Her bir değer 10 tekkerrürün ortalamasıdır.

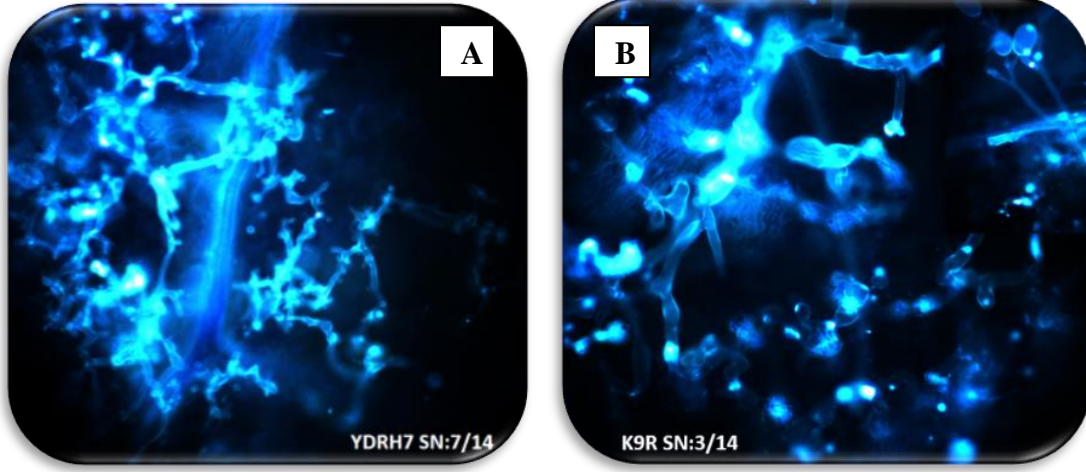
\*\*Farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre önemlidir (P≤0.05).



Şekil 4.2. Hassas hatta (9661) fluoresan mikroskopta sporangioforların görünümü (A,B). Enfekteli (C) ve enfekteli olmayan (D) stomaların fluoresan mikroskopta görünümü (stomalar üzerinde görünen beyaz renkli alanlar enfeksiyonun olduğunu göstermektedir)



Şekil 4.3. Dayanıklı RHA 447 (A) ve RHA 419 (B) hatlarına ait yaprak disklerinde etmenin stomalardan giriş yaptığı noktalar (stoma üzerindeki okun gösterdiği beyaz kısımlar etmenin varlığını göstermektedir.)

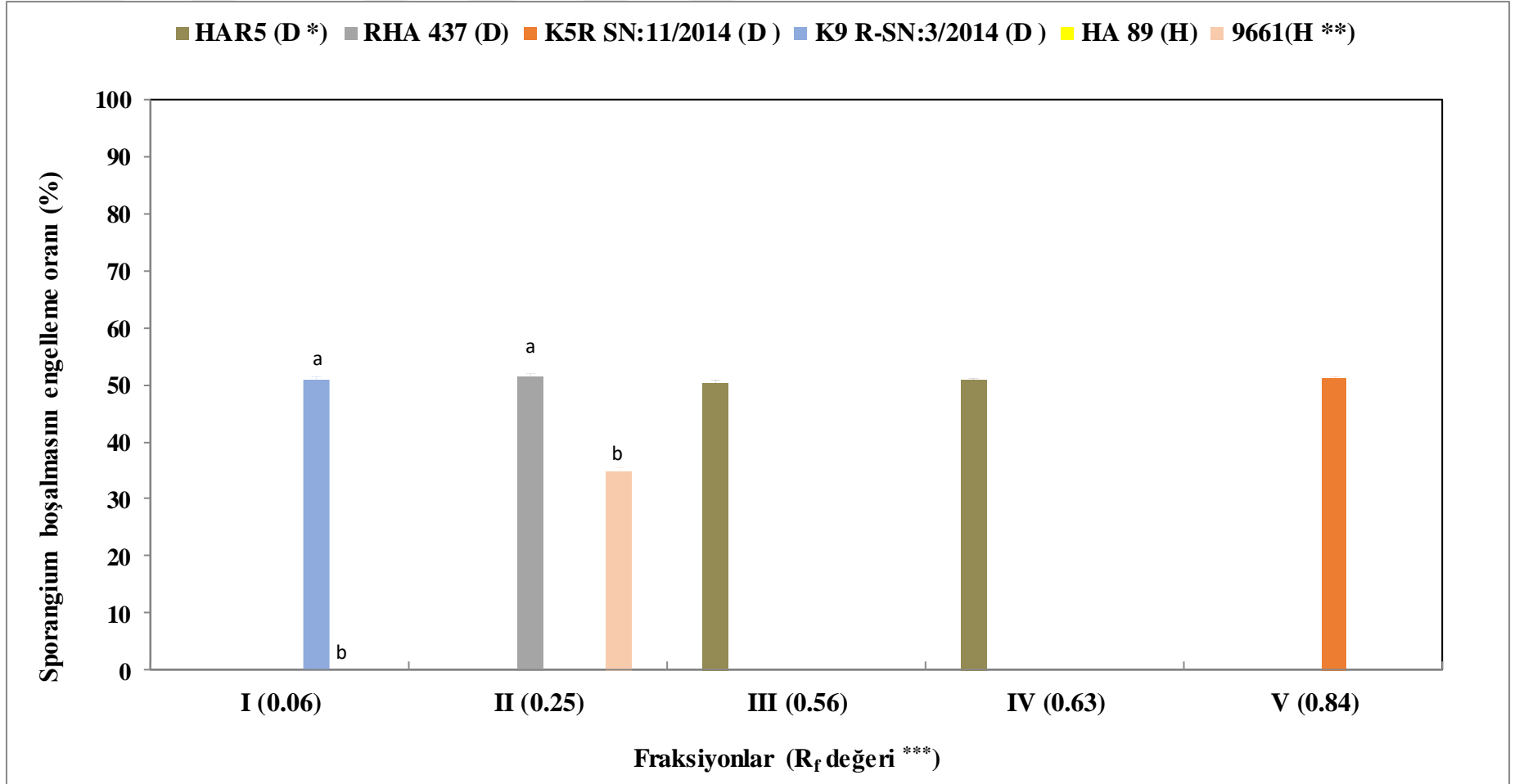


Şekil 4.4. Dayanıklı YDRH SN:7/2014 (A) ve K9 R SN:3/2014 (B) hatlarına ait yaprak disklerinde enfeksiyonun gelişimi

#### 4.4. Biyokimyasal Dayanıklılık Mekanizması

##### 4.4.1. İnokulasyon Süresince Kök Akıntılarında TLC İle Tespit Edilen Anti-oomycete Bileşikler

Farklı ayçiçeği hatları kök inokulasyonu yöntemi ile inokule edilerek inokulasyon süresince kök akıntılarında elde edilen ekstraktlar TLC plakalarında fraksiyonlarına ayrılmıştır. Sporangium boşalmasını %50'nin üzerinde engelleyen 0.06 ile 0.84 arasında değişen Rf değerine sahip 5 adet fraksiyon belirlenmiştir. Tespit edilen fraksiyonlardan, HAR5'e ait kök akıntılarında elde edilen ekstraktlardaki Fraksiyon III ve IV, RHA 437'den II, K 5 R SN:11/2014'den V, K 9 R SN:3/2014'dan I %50'nin üzerinde sporangium boşalmasını engellemişler ve diğer hatlara ait kök akıntılarında tespit edilen aynı fraksiyonlara göre istatistik olarak önemli bulunmuşlardır ( $P \leq 0.05$ ) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Farklı ayçiçeği hatlarına ait tohumların mildiyö etmeni ile inokulasyon süresince kök akıntılarında ortaya çıkan fluoresan bileşiklerin sporangium boşalmasını engelleme oranları (%). Her bir değer dört tekrarın ortalamasını ve standart hatasını göstermektedir. Her bir fraksiyon içinde farklı harflerle gösterilen değerler duncan çoklu karşılaştırma testine göre ( $p \leq 0.05$ ) birbirinden önemli derecede farklıdır. \*D: dayanıklı, \*\*H: hassas, \*\*\*TLC Gecikme faktörü.

#### 4.4.2. İnokulasyon Sonrası Köklerde TLC İle Tespit Edilen Anti-oomycete Bileşikler

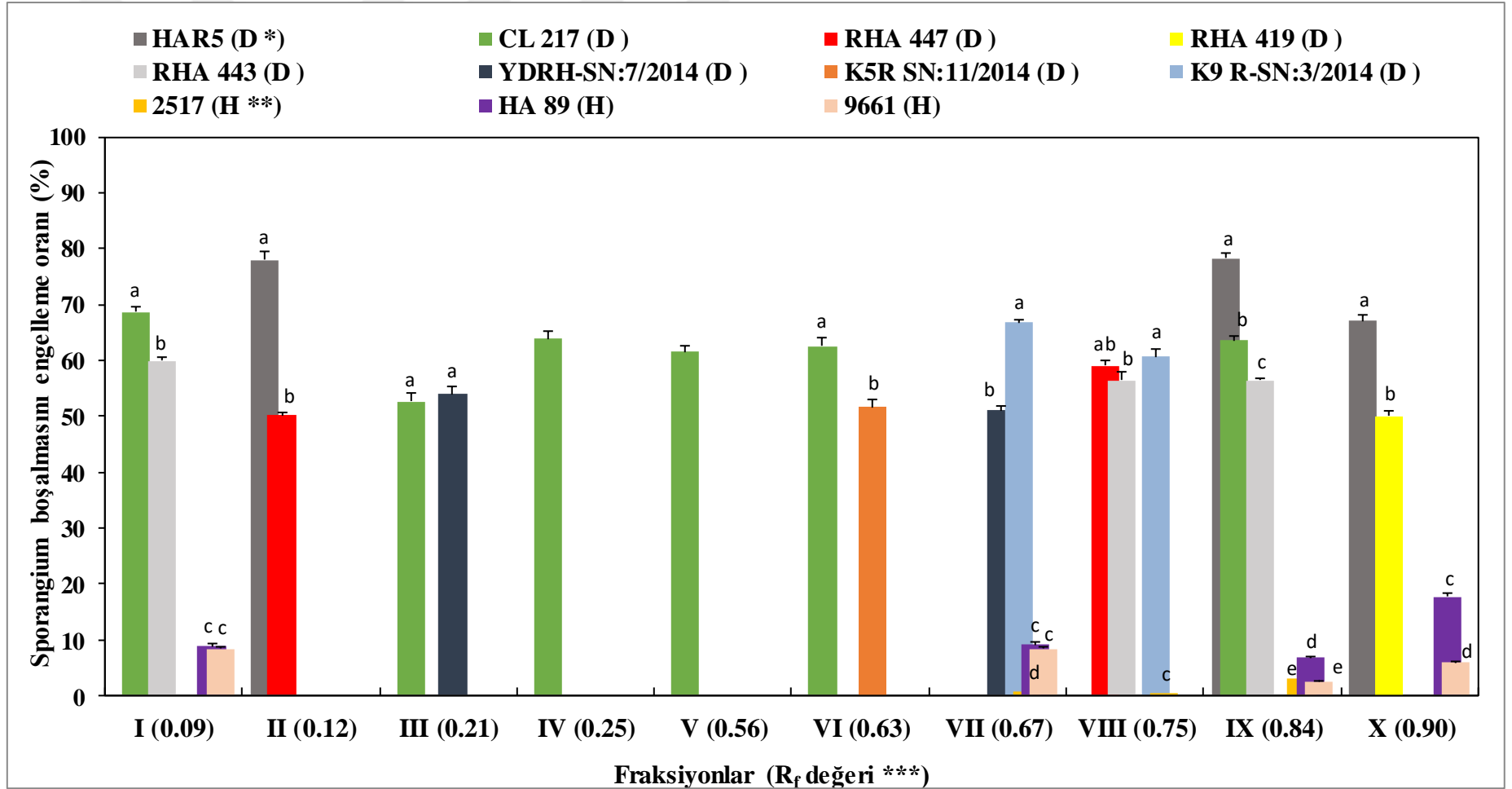
Farklı ayçiçeği hatlarının *P. halstedii* ile inokule edilmiş köklerinden elde edilen ekstraktlar TLC' de fraksiyonlarına ayrıldığında Rf değerleri 0.09 ile 0.9 arasında değişen 10 adet fraksiyon elde edilmiştir. Bunlar arasında Fraksiyon II (Rf 0.12), III (Rf 0.21), IV (Rf 0.25), V (Rf 0.50) ve VI (Rf 0.63) sadece dayanıklı hatların köklerinden elde edilen ekstraktlarda bulunmuştur (Şekil 4.6).

Sporangium boşalmasını en yüksek oranda engelleyen HAR 5 hattının köklerine ait ekstraktlarda ortaya çıkan IX no'lu fraksiyon olmuştur. Bunu aynı hattan elde edilen II no'lu, CL 217 R'den I no'lu, yine HAR 5'den elde edilen X no'lu ve K9 R SN:3/2014' den VII no'lu fraksiyon izlemiştir. Söz konusu 5 fraksiyon da diğer hatlardan elde edilen aynı fraksiyonlara göre önemli derecede yüksek oranda etkili bulunmuştur.

En fazla fraksiyonu CL 217 R hattına ait köklerden elde edilen ekstraktlar sergilemiş, bunlardan 6 tanesi %50'nin üzerinde sporangium boşalmasını engellerken, Fraksiyon IV ve V'in sadece CL 217 R'ye özgü olduğu ve sırasıyla %60.53 ve %61.59 oranında etkililik gösterdiği tespit edilmiştir. Sporangium boşalmasını %60.63 oranında engelleyen K9 R SN: 3/2014'nin köklerine ait ekstraktlarda bulunan fraksiyon VIII aynı fraksiyonda yer alan RHA 447 ve RHA 443 ile istatistiki olarak benzerlik göstermiştir.

Diğer fraksiyonlar arasında RHA 447'nin köklerinden elde edilen Fraksiyon II, RHA 419'dan X, RHA 443'den I ve IX, YDRH SN:7/2014'den III ve VII, K5-R-SN:11/2014'den VI %50'nin üzerinde sporangium boşalmasını engellemişlerdir.

Hassas hatların köklerinden elde edilen ekstraktlarda bulunan fraksiyonların tümü sporangium boşalması üzerinde oldukça düşük etki göstermişlerdir.



Şekil 4.6. Farklı ayçiçeği hatlarına ait tohumların mildiyö etmeni ile inokulasyonundan sonra köklerde ortaya çıkan fluoresan bileşiklerin sporangium boşalmasını engelleme oranları (%). Her bir değer üç tekrarın ortalamasını ve standart hatasını göstermektedir. Her bir fraksiyon içinde farklı harflerle gösterilen değerler duncan çoklu karşılaştırma testine göre ( $P \leq 0.05$ ) birbirinden önemli derecede farklıdır. \*D: dayanıklı, \*\*H: hassas, TLC gecikme faktörü.

#### 4.4.3. İnokulasyon Süresince Kök Akıntılarında Elde Edilen Anti-oomycete Bileşiklerin GC/MS ile Tanımlanması

Farklı ayçiçeği hatlarının kök inokulasyonu işleminden sonra inokulasyon süresince kök akıntılarında meydana gelen bileşiklerin kimyasal bileşenlerinin tespit edilmesi amacıyla GC/MS analizleri yapılmıştır. Anti-oomycete etki gösteren bileşiklerin içerikleri açısından karşılaştırılabilmesi için sporangium boşalmasını ( $\geq 50\%$ ) engelleyenler ile düşük etki gösterenler seçilmiştir (Çizelge 4.4). Bu analizler sonucunda inokulasyon süresince kök akıntılarında elde edilen anti-oomycete özelliğe sahip bileşikler 15 farklı grupta sınıflandırılmıştır. İnokulasyon süresince kök akıntılarında elde edilen anti-oomycete özellikteki bu bileşikler içerisinde en büyük grubu esterler oluşturmuştur. Esterleri sırasıyla alkanlar, alkoller, terpenler, aldehitler-ke-tonlar- silisyumlu bileşikler, amidler - aminler - yağ asitleri, heterosiklik bileşikler, alkil halojenürler - steroidler, alkenler, kükürtlü organik bileşikler takip etmektedir.

Esterler grubuna ait bileşiklerden 20'si dayanıklı ayçiçeği hatlarında, Es.<sup>122</sup> kodlu bileşik yalnızca hassas hatta, Es.<sup>21, 46, 51, 132, 133</sup> kodlu bileşikler ise hem dayanıklı hem hassas hatlarda tespit edilmiş olup toplam 26 adet farklı bileşik tespit edilmiştir.

Toplam 13 adet bileşik 2. sırada yer alan alkanlar grubunda ise Alk.<sup>5, 16, 18, 35, 39, 45, 46, 50, 57, 66</sup> kodlu bileşikler yalnızca dayanıklı hatlarda tespit edilmişken, Alk.<sup>10, 19, 45</sup> kodlu bileşikler yalnızca hassas hatlarda Alk.<sup>63</sup> kodlu bileşik ise hem dayanıklı hem de hassas hatlarda tespit edilmiştir.

Alkoller grubunda yer alan Alc.<sup>13, 17, 20, 28, 30, 40</sup> kodlu bileşikler yalnızca dayanıklı hatlarda, Alc.<sup>24, 25</sup> yalnızca hassas hatlarda tespit edilmiştir.

Terpenler grubunda bulunan Te.<sup>19, 21, 32</sup> kodlu bileşikler yalnızca dayanıklı hatlarda, Te.<sup>4, 26</sup> yalnızca hassas hatlarda, Te.<sup>6, 25</sup> kodlu bileşikler ise her ikisinde de tespit edilmiştir. Aldehitler grubuna ait toplam 6 adet bileşikten Ald.<sup>1, 6, 12, 14, 17</sup> kodlu bileşikler yalnızca dayanıklı hatlarda tespit edilirken, Ald.<sup>3</sup> kodlu bileşik hassas hattan elde edilmiştir. Ketonlar grubuna ait Ke.<sup>4, 5, 7</sup> kodlu bileşikler dayanıklı, Ke.<sup>2, 14, 19</sup> kodlu bileşikler ise hassas hatlarda ortaya çıkmıştır.



Çizelge 4.4. İnokulasyon süresince hassas ve dayanıklı ayçiçeği hatlarına ait kök akıntularından elde edilen ve %50'nin üzerinde anti-oomycete etki gösteren fraksiyonların GC/MS analizi sonuçları

Hat	Fr	Bileşik Grupları ve Numaraları
HAR 5	III	Alc. <sup>20, 28, 40</sup> Ald. <sup>1, 12, 14, 17</sup> , Alk. <sup>17, 35, 39</sup> , Amd. <sup>22, 44</sup> , Es. <sup>7, 8, 21, 46, 104, 126, 132</sup> , Fa. <sup>5</sup> , He. <sup>75</sup> , S. <sup>4</sup> , Si. <sup>1, 12</sup> , Te. <sup>6</sup>
	IV	Alc. <sup>28</sup> , Ald. <sup>12</sup> , Alk. <sup>5, 46, 66</sup> , AIH. <sup>11</sup> , Amd. <sup>22, 44</sup> , Es. <sup>17, 46, 51, 59, 102, 105, 113, 136</sup> , Fa. <sup>5</sup> , Te. <sup>6, 32</sup>
RHA 437	II	Alc. <sup>13, 17, 28</sup> , Ald. <sup>12</sup> , Alk. <sup>57</sup> , Alke. <sup>9, 10</sup> , Amd. <sup>22, 42, 44</sup> , Amn. <sup>4</sup> , Es. <sup>21, 46, 80, 84, 132</sup> , Fa. <sup>5</sup> , Si. <sup>1, 2, 5, 12</sup> , Te. <sup>6, 25</sup>
K5 R SN:11/2014	V	Alc. <sup>30</sup> , Alk. <sup>16, 45, 63</sup> , AIH. <sup>2</sup> , Amd. <sup>22</sup> , Es. <sup>18, 21, 45, 46, 51, 107, 119, 133</sup> , He. <sup>85</sup> , Ke. <sup>5, 7</sup> , Si. <sup>1, 2, 12</sup> , St. <sup>6</sup> , Te. <sup>6, 19, 32</sup>
K9 R SN: 3/2014	I	Alc. <sup>28</sup> , Ald. <sup>6</sup> , Alk. <sup>50, 63</sup> , Amd. <sup>22, 33</sup> , Es. <sup>46, 59, 71, 99, 101, 135</sup> , Ke. <sup>4</sup> , Si. <sup>1, 3, 12</sup> , Te. <sup>6, 21, 25</sup>
HA 89	I	Alc. <sup>12, 24</sup> , Ald. <sup>3</sup> , Alk. <sup>9, 44</sup> , AIH. <sup>5</sup> , Amd. <sup>22, 44</sup> , Amn. <sup>35</sup> , Es. <sup>21, 46, 51, 132, 133</sup> , He. <sup>6, 74</sup> , Ke. <sup>2</sup> , Si. <sup>2, 11</sup> , St. <sup>10, 11</sup> , Te. <sup>6, 25</sup>
9661	II	Alc. <sup>24</sup> , AIH. <sup>3</sup> , Alk. <sup>18, 63</sup> , Amd. <sup>22, 27, 44</sup> , Es. <sup>46, 51, 122, 133</sup> , Fa. <sup>5</sup> , Ke. <sup>19</sup> , Si. <sup>1</sup> , Te. <sup>4, 6</sup>

**Fr:** Fraksiyon, **Alc:** Alkol-- <sup>12</sup>2,4-Diethyl-1-heptanol; <sup>13</sup>(6Z)-3,7-Dimethyl-6,11-dodecadien-1-ol; <sup>17</sup>Z-11,13-Dimethyl-11-tetradecen-1-ol acetate; <sup>20</sup>2-ethyl 2-methyl tridecanol; <sup>24</sup>1-Hentetracontanol; <sup>28</sup>2-Hexyl-1-decanol; <sup>30</sup>2-Isopropyl-5-methyl-1-heptanol; <sup>40</sup>Oleyl alcohol; **Ald:** Aldehit-- <sup>12</sup>5-Bis[(trimethylsilyl)oxy]benzaldehyde; <sup>3</sup>Cetenal; <sup>6</sup>10-Heptadecenal; <sup>12</sup>Nonanal; <sup>14</sup>5-Octadecenal; <sup>17</sup>Undecanal **AIH:** Alkil halojenür-- <sup>2</sup>1-Bromotriacontane; <sup>3</sup>1-Chlorooctadecane <sup>5</sup>1,12-Dibromododecane; <sup>11</sup>1-iodotridecane **Alk:** Alkan-- <sup>5</sup>Decane, 5,6-bis(2,2-dimethylpropylidene)-, (E,Z)-; <sup>9</sup>2,4-Dimethyldocosane; <sup>16</sup>Diocadecyloxy-1,1,2,2-Tetrauterio Ethane; <sup>17</sup>Docosane; <sup>18</sup>Dotriacontane; <sup>35</sup>10-Methylnonadecane; <sup>39</sup>5-Methyl Octadecane; <sup>44</sup>Octacosane; <sup>45</sup>Octadecane; <sup>46</sup>1-(Vinyloxy)octadecane; <sup>50</sup>Propane, 1,3-bis(octadecyloxy)-; <sup>57</sup>2,6,10,15-Tetramethylheptadecane; <sup>63</sup>Tetracontane; <sup>66</sup>Triacontane **Alke:** Alken-- <sup>9</sup>Squalene; <sup>102</sup>2,2,5,5-Tetramethylhex-3-Ene **Amd:** Amid-- <sup>22</sup>Erucamide; <sup>27</sup>3-Methyl-N-(2,2,2-trifluoro-1-(isopropylamino)-1-(trifluoromethyl)ethyl)butanamide; <sup>33</sup>N,N-Di(cyclohexyl)trifluoroacetamide; <sup>44</sup>Oleamide **Amn:** Amin-- <sup>42</sup>2-Aminoethanethiolsulfuric acid; <sup>35</sup>Potassium hexamethyldisilazide **Es:** Ester-- <sup>7</sup>Bis(2-ethylhexyl) maleate; <sup>82</sup>3-Bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl icosanoate; <sup>17</sup>Cyclobutanecarboxylic acid, undec-10-enyl ester; <sup>18</sup>Decyl bromoacetate; <sup>21</sup>Diisobutyl phthalate; <sup>44</sup>Ethyl 7-octenoate; <sup>45</sup>Ethyl oleate; <sup>46</sup>Ethyl palmitate; <sup>51</sup>Ethyl stearate; <sup>59</sup>Heptadecyl hexanoate; <sup>71</sup>Linalyl formate; <sup>80</sup>Methyl 2-cyclohexyl-2-methylpentanoate; <sup>84</sup>Methyl 3-oxotetradecanoate; <sup>99</sup>Monoolein TMS; <sup>101</sup>Monostearin; <sup>102</sup>Myristyl oleate; <sup>104</sup>Octadecyl chloroacetate; <sup>105</sup>9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxy-3-[(1-oxooctadecyl)oxy]propyl ester; <sup>107</sup>10-Octadecenoic acid, methyl ester; <sup>113</sup>Palmitoleyl oleate; <sup>119</sup>Propyl oleate; <sup>122</sup>Stearic acid, 3-(octadecyloxy)propyl ester; <sup>126</sup>Tetradecyl chloroacetate; <sup>132</sup>Trimethylsilyl stearate; <sup>133</sup>Trimethylsilyl octadecanoate; <sup>135</sup>Undecanoic acid, 11-bromo-, undecyl ester; <sup>136</sup>Vinyl stearate **Fa:** Yağ asidi-- <sup>5</sup>Oleic acid **He:** Heterosiklik bileşik-- <sup>6</sup>1-Amino-8-methyl-3,6-diazahomoadamantan-9-ol; <sup>74</sup>Hexamethyl methylolmelamine; <sup>75</sup>2-Hydroxyadenosine; <sup>85</sup>4,7-Methanoazulene, decahydro-1,4,9,9-tetramethyl- **Ke:** Keton-- <sup>2</sup>2-Aminobenzophenone; <sup>4</sup>Bromperidol; <sup>5</sup>Butyrylfilicinic acid; <sup>7</sup>Cyclopentadecanone; <sup>142</sup>N,N-Methylacetylamino-5-nitrobenzophenone; <sup>19</sup>1,2,3,4-Tetraphenylbutan-1-One **S:** <sup>43</sup>3-Mercaptopropyltriethoxysilane **Si:** Silisyumlu bileşik-- <sup>1</sup>Cyclocarbosilane; <sup>2</sup>Diethoxydiphenylsilane; <sup>3</sup>1,2-Diphenyltetramethyldisilane; <sup>5</sup>Nonyltrichlorosilane; <sup>11</sup>Trimethylsilyl-di(trimethylsilyloxy)-silane; <sup>12</sup>Tris(trimethoxysilyl)silane **St:** <sup>6</sup>Beta-Sitosteryl trimethylsilyl ether; <sup>107</sup>8-Epoxyllanostan-11-ol, 3-acetoxy-; <sup>11</sup>Ergostane-3,6-dione, 25-(acetyloxy)-5-hydroxy-, (5.alpha.)- **Te:** Terpen-- <sup>4</sup>Alpha-isomethylionone; <sup>6</sup>18.alpha.-Olean-3.beta.-ol, acetate; <sup>19</sup>Linalool; <sup>21</sup>(-)-Menthone; <sup>25</sup>Olean-12-ene-3,28-diol, (3.beta.)-; <sup>26</sup>Olean-18-ene; <sup>32</sup>Valeranone, (+)

Silyumlu bileşikler grubundan 6 adet bileşik inokulasyon süresince kök akıntılarında ortaya çıkmıştır. Bunlardan Si.<sup>3, 5, 12</sup> kodlu bileşikler yalnızca dayanıklı hatlarda, Si.<sup>11</sup> hassas hatlarda, Si.<sup>1,2</sup> ise her ikisinde de ortaya çıkmıştır.

Kök akıntılarında ortaya çıkan amidler grubuna ait 5 adet bileşikten Amd.<sup>33, 42</sup> kodlu olanlar yalnızca dayanıklı hatlarda, Amd.<sup>27</sup> kodlu bileşik ise yalnızca hassas hatlardan 9661'de ortaya çıkarken, Amd.<sup>22, 44</sup> her ikisinde de ortaya çıkmıştır.

Yağ asitleri grubuna ait Fa.<sup>5</sup> kodlu Oleic acid her ikisinde de tespit edilmiştir. Kök akıntılarında ortaya çıkan heterosiklik bileşikler grubuna ait 4 adet He.<sup>75, 85</sup> yalnızca dayanıklı hatlarda, He.<sup>6, 74</sup> yalnızca hassas hatlarda ortaya çıkmıştır.

Alkil halojenürler grubunda 3 bileşikten AIH.<sup>2, 11</sup> kodlu olanlar yalnızca dayanıklı hatlarda, AIH.<sup>3,5</sup> ise hassas hatlarda ortaya çıkmıştır.

İnokulasyon süresince kök akıntılarında ortaya çıkan steroid grubuna ait 3 adet bileşikten St.<sup>6</sup> kodlu Beta-Sitosteryl trimethylsilyl ether yalnızca K5 R SN:11/2014 dayanıklı hattında ortaya çıkmıştır. St.<sup>10, 11</sup> kodlu bileşikler ise yalnızca hassas hatta bulunmuştur.

Alkenler grubuna ait Alke.<sup>9, 10</sup> kodlu iki bileşik de RHA 437 yalnızca dayanıklı hattında, ortaya çıkmıştır.

Amin grubuna ait Amn.<sup>4</sup> kodlu bileşik II. fraksiyonda yer alan RHA 437 dayanıklı hattında, Amn.<sup>35</sup> kodlu bileşik ise I. fraksiyonda yer alan HA 89 hassas hattında tespit edilmiştir.

Kükürtlü organik bileşikler grubuna ait S.<sup>4</sup> kodlu tek bileşik 3-Mercaptopropyltriethoxysilane Har 5 dayanıklı hattında ortaya çıkmıştır.

#### 4.4.4. İnokulasyondan Sonra Köklerden Elde Edilen Anti-oomycete Bileşiklerin GC/MS ile Tanımlanması

İnokule edilmiş dayanıklı ve hassas hatların köklerinden elde edilen bileşiklerin kimyasal bileşenlerinin tespit edilmesi amacıyla GC/MS analizleri yapılmıştır. Anti-oomycete etki gösteren bileşiklerin içerikleri açısından karşılaştırılması amacıyla %50'nin üzerinde sporangium boşalmasına engel olan bileşikler ile düşük etki gösteren bileşikler seçilmiştir. Bu analizler sonucunda inokulasyon sonrası köklerden elde edilen anti-oomycete özelliğe sahip bileşikler 17 adet farklı grupta sınıflandırılmıştır.

İnokulasyon sonrası köklerden elde edilen anti-oomycete özellikteki bileşikler içerisinde en büyük grubu esterler oluşturmuştur. Esterleri sırasıyla heterosiklik bileşikler, alkanlar, amidler, alkoller, aminler, fenolik bileşikler, terpenler, aldehitler, ketonlar, steroidler, alkil halojenürler, alkenler, yağ asitleri ile spiro türevi bileşikler, silisyumlu bileşikler, kükürtlü organik bileşikler takip etmektedir (Çizelge 4.5). Bu bileşiklerden bazıları hem dayanıklı hem de hassas hatlardan elde edilen köklerde tespit edilirken bazıları yalnızca dayanıklı bitki köklerinde bulunmuştur.

GC/MS analizleri ile inokulasyon sonrası köklerde tespit edilen 118 adet ile en büyük grup olan esterlerden 77 adedi yalnızca dayanıklı hatlarda ortaya çıkmıştır. Yalnızca hassas hatlarda bulunan ester grubuna ait bileşiklerin sayısı 33 iken Es.<sup>5, 33, 39, 41, 46, 47, 51, 88</sup> kodlu bileşikler hem dayanıklı hem de hassas hatlarda tespit edilmiştir.

Esterlerden sonra 2. büyük grup 112 adet heterosiklik bileşikten 69'unun yalnızca dayanıklı hatlara ait olduğu, 39 adedinin hassas hatlara ait olduğu He.<sup>20, 95, 115, 133</sup> kodlu 4 bileşik ise hem dayanıklı hem de hassas hatlarda tespit edilmiştir.

57 adet alkandan 24 adedi yalnızca dayanıklı hatlarda, 11 adedi yalnızca hassas hatlarda 22 adedi ise hem dayanıklı hem de hassas hatlarda tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. İnokulasyon sonrası hassas ve dayanıklı ayçiçeği hatlarına ait köklerden elde edilen ve %50'nin üzerinde anti-oomycete etki gösteren fraksiyonların GC/MS analizi sonuçları

Hat	Fr	Bileşik Grupları ve Numaraları
<b>CL 217 R(D)</b>	I	Alc. <sup>1, 7, 20</sup> , Alk. <sup>22, 42, 61, 62</sup> , Amd. <sup>16, 26, 27, 41, 42, 44, 45, 51</sup> , Amn. <sup>7</sup> , Es. <sup>10, 26, 27, 38, 46, 47, 88, 93</sup> , Ph. <sup>6</sup> , S. <sup>5</sup> , Sp. <sup>9</sup> , Te. <sup>1, 28, 31</sup>
	III	Alc. <sup>21</sup> , Alk. <sup>8, 10, 12, 22, 23, 25, 30, 61</sup> , Amd. <sup>22, 30, 42, 45, 52</sup> , Amn. <sup>15, 38</sup> , He. <sup>90, 106, 119</sup> , Es. <sup>2, 6, 46, 60, 74, 108, 122</sup> , Fa. <sup>5</sup> , Ph. <sup>17</sup> , S. <sup>1</sup> , St. <sup>14</sup>
	IV	Alc. <sup>35, 36, 39, 46</sup> , Ald. <sup>2</sup> , Amd. <sup>4, 12, 44</sup> , Amn. <sup>4, 12, 21</sup> , Es. <sup>20, 35, 49, 79, 82, 106, 119, 128</sup> , He. <sup>12, 51, 92, 135</sup> , Ke. <sup>13</sup> , Si. <sup>6</sup> , Sp. <sup>9</sup> , St. <sup>9</sup> , Te. <sup>12, 23</sup>
	V	Alc. <sup>27, 29, 31</sup> , Ald. <sup>12</sup> , Amd. <sup>44</sup> , Es. <sup>15, 57, 61, 134</sup> , He. <sup>11, 34, 38, 39, 47, 54, 71, 72, 73, 98, 104, 122, 125</sup> , Ke. <sup>11</sup> , Te. <sup>14</sup>
	VI	Ald. <sup>8, 15</sup> , Alk. <sup>32, 40, 43, 45, 54</sup> , Amd. <sup>22, 42, 45, 50, 52</sup> , Amn. <sup>10, 18, 28, 29, 34</sup> , Es. <sup>5, 27, 39, 46, 47</sup> , He. <sup>5, 10, 32, 45, 60, 64, 133</sup> , Ph. <sup>11, 22</sup> , Te. <sup>19</sup>
	IX	Alc. <sup>3, 8, 25, 38</sup> , Ald. <sup>11</sup> , Amd. <sup>16, 22, 44</sup> , Es. <sup>42, 46, 55, 56, 77, 94, 114, 124</sup> , He. <sup>8, 24, 32, 33, 35, 47, 131</sup> , Te. <sup>18, 22</sup> , Sp. <sup>9</sup> , St. <sup>18</sup>
<b>HAR 5(D)</b>	II	Alc. <sup>2, 4, 20, 22</sup> , AIH. <sup>4</sup> , Alk. <sup>13, 20, 27, 29, 45, 49, 60, 64</sup> , Amd. <sup>42, 45, 51</sup> , Amn. <sup>22</sup> , Es. <sup>24, 27, 39, 46, 47, 55, 58, 70, 73, 112, 123</sup> , Fa. <sup>3, 6</sup> , Te. <sup>2, 13, 19</sup>
	IX	Alc. <sup>9, 11, 18</sup> , Ald. <sup>16</sup> , AIH. <sup>5</sup> , Alk. <sup>1</sup> , Amn. <sup>4</sup> , Es. <sup>9, 14, 46, 51, 89, 100, 103, 106, 109, 111, 116, 119, 120, 137</sup> , Fa. <sup>2</sup> , He. <sup>30, 36, 70, 130</sup> , Ke. <sup>8</sup> , Sp. <sup>2</sup> , St. <sup>12</sup> , Te. <sup>10, 14, 15, 24</sup>
	X	AIH. <sup>8, 12</sup> , Alk. <sup>13, 34, 57</sup> , Amd. <sup>41, 44, 45, 52</sup> , Amn. <sup>17, 25</sup> , Es. <sup>27, 30, 38, 40, 47, 51, 67, 72, 97, 118</sup> , Fa. <sup>6</sup> , He. <sup>17, 29, 102</sup> , Ph. <sup>7, 11, 13</sup> , Si. <sup>9</sup> , St. <sup>13</sup> , Te. <sup>9, 19</sup>
<b>RHA 419(D)</b>	X	AIH. <sup>10</sup> , Alk. <sup>12, 23, 28, 30, 43, 45, 55</sup> , Amd. <sup>10, 28, 36, 44, 45, 46</sup> , Es. <sup>12, 29, 46, 63, 73, 87, 129</sup> , He. <sup>9, 44</sup> , Ke. <sup>12</sup> , Ph. <sup>8</sup> , S. <sup>2</sup>
<b>RHA 437(D)</b>	-	-
<b>RHA 443(D)</b>	I	AIH. <sup>6</sup> , Alk. <sup>8, 10, 11, 12, 17, 21, 22, 23, 43, 62</sup> , Amd. <sup>2, 31, 43, 45, 51, 52</sup> , He. <sup>18, 81, 86, 105</sup> , Es. <sup>27, 37, 46, 92</sup> , Fa. <sup>5</sup> , Ph. <sup>20</sup> , Sp. <sup>8</sup> , St. <sup>1</sup>
	VIII	Alk. <sup>8, 10, 12, 17, 23, 26, 30, 43, 45, 61</sup> , Amd. <sup>21, 45</sup> , Amn. <sup>3</sup> , Es. <sup>38, 41, 46, 48, 67</sup> , He. <sup>41, 49, 58, 78, 142</sup> , Sp. <sup>5</sup> , St. <sup>16</sup> , Te. <sup>4</sup>
	IX	Alc. <sup>5</sup> , Ald. <sup>8</sup> , Alk. <sup>8, 10, 12, 19, 23, 27, 28, 36, 38, 42, 62</sup> , Amd. <sup>15, 19, 45, 52</sup> , Es. <sup>38, 46, 105</sup> , He. <sup>1, 21</sup> , Ke. <sup>16</sup> , Ph. <sup>16</sup> , St. <sup>8</sup> , Te. <sup>8</sup>
<b>RHA 447(D)</b>	II	Alc. <sup>6, 10, 26, 33, 37</sup> , Ald. <sup>9</sup> , Alke. <sup>2, 3, 4</sup> , Amd. <sup>25, 44</sup> , Amn. <sup>26</sup> , Es. <sup>16, 27, 35, 51, 75, 86, 88</sup> , He. <sup>4, 28, 37, 70</sup> , Ke. <sup>6</sup> , Sp. <sup>7</sup> , St. <sup>17</sup> , Te. <sup>5, 18, 20</sup>
	VIII	Ald. <sup>5</sup> , Alk. <sup>8, 15, 19, 22, 23, 28, 43, 45, 47, 62</sup> , Alke. <sup>5</sup> , Amd. <sup>42, 45, 47, 48, 51</sup> , Amn. <sup>22</sup> , Es. <sup>33, 39, 46, 47, 125</sup> , He. <sup>65, 84</sup> , Ph. <sup>16, 19</sup> , Te. <sup>11</sup>
<b>K5R SN:11/2014(D)</b>	VI	AIH. <sup>9</sup> , Alk. <sup>12, 17, 23, 38, 43, 62, 65</sup> , Alke. <sup>1</sup> , Amd. <sup>32, 42, 45, 52</sup> , Es. <sup>38, 46, 51</sup> , He. <sup>2, 18, 76, 94, 124</sup> , Ph. <sup>1, 25</sup>
<b>K9 R SN:3/2014(D)</b>	VII	Alc. <sup>42, 45</sup> , Alk. <sup>10, 17, 23, 30, 31, 58, 59, 62</sup> , Amd. <sup>44, 45, 51</sup> , Amn. <sup>11, 19, 23</sup> , Es. <sup>39, 46, 50, 54, 64, 78, 91, 96</sup> , He. <sup>27, 67</sup> , Ph. <sup>21, 22, 24, 30</sup> , Si. <sup>11</sup> , Te. <sup>7</sup>
	VIII	Alk. <sup>2, 8, 10, 45</sup> , Amd. <sup>14, 17, 37, 42, 45</sup> , Amn. <sup>23</sup> , Es. <sup>41, 46, 51, 66, 73, 90</sup> , He. <sup>15, 81</sup>
<b>YDRH SN:7/2014(D)</b>	III	Alk. <sup>4, 8, 11, 12, 14, 22, 33, 43, 55, 56, 62</sup> , Alke. <sup>7</sup> , Amd. <sup>35, 42, 45</sup> , Es. <sup>46, 76, 77</sup> , He. <sup>20, 27, 59, 108</sup> , Ph. <sup>18</sup> , Sp. <sup>6</sup> , Ke. <sup>1</sup>
	VII	Alc. <sup>15</sup> , AIH. <sup>3</sup> , Alk. <sup>12, 23, 40, 43, 51, 62</sup> , Amd. <sup>45, 52</sup> , Amn. <sup>6, 39</sup> , Es. <sup>32, 39, 46, 65, 117</sup> , Fa. <sup>1</sup> , He. <sup>63, 82, 88, 95, 115</sup> , St. <sup>7</sup>

Çizelge 4.5. (Devami)

Hat	Fr.	Bileşik Grupları ve Numaraları
HA 89(H)	I	Alc. <sup>47</sup> , Ald. <sup>13</sup> , AlH. <sup>1</sup> , Alk. <sup>22,41,45,52</sup> , Amd. <sup>3,13,42,45</sup> , Amn. <sup>1</sup> , Es. <sup>46,51,62,68,85,88,121</sup> , He. <sup>3,19,20,101,132,137</sup> , Ph. <sup>2,3,15,16</sup> , Si. <sup>7</sup> , Te. <sup>27</sup>
	VII	Alc. <sup>44</sup> , Ald. <sup>4</sup> , Alk. <sup>12,30,52,55,62</sup> , Amd. <sup>5,6,20,45</sup> , Es. <sup>23,28,41,45,46,51,115</sup> , He. <sup>79,121</sup> , Ke. <sup>15</sup> , Te. <sup>16,29</sup>
	IX	Alc. <sup>14,32,41</sup> , Alk. <sup>3,14,23,28,43,61</sup> , Alke. <sup>8</sup> , Amd. <sup>42,45</sup> , Es. <sup>19,25,41,46,51,53,70,98</sup> , He. <sup>31,40,136,141</sup> , Ph. <sup>10,16</sup> , Ke. <sup>10</sup> , Te. <sup>19,30</sup>
	X	Alc. <sup>19,45</sup> , Alk. <sup>7,10,14,19,23,28,30,44,45</sup> , Amd. <sup>7,29,42,45,49</sup> , Amn. <sup>14,24,27</sup> , Es. <sup>11,31,34,46,52,130</sup> , He. <sup>42,101,107</sup> , Ph. <sup>23</sup> , Ke. <sup>17</sup>
2517(H)	VII	Alc. <sup>16,43</sup> , Alk. <sup>10,22,23,42,43</sup> , Amd. <sup>11,45,53</sup> , Es. <sup>43,46,51,95</sup> , He. <sup>43,56,61,87,101,112,120,127,137,138</sup> , Ph. <sup>28</sup>
	VIII	Alc. <sup>34</sup> , Ald. <sup>7,10</sup> , Alk. <sup>23,37,43,53,54,55</sup> , Amd. <sup>45</sup> , Amn. <sup>9,23,36</sup> , Es. <sup>1,46,51</sup> , He. <sup>48,52,53,57,93,113,115,120</sup> , Ph. <sup>16,29</sup> , Si. <sup>11</sup> , St. <sup>4,15</sup>
	IX	Alk. <sup>17,23,24,30,43,48,62</sup> , Alke. <sup>6,7</sup> , Amd. <sup>9,45</sup> , Amn. <sup>28,30,33,37</sup> , Es. <sup>3,13,22,41,46,51,81,83</sup> , He. <sup>7,137</sup> , Ke. <sup>3</sup> , Ph. <sup>4</sup> , Si. <sup>8</sup> , St. <sup>3</sup> , Te. <sup>3</sup>
9661(H)	I	Alk. <sup>8,9,23,43</sup> , Amd. <sup>37,40,42,45</sup> , Es. <sup>33,36,39,41,46,47,51,130</sup> , He. <sup>25,80,118,132,133</sup> , Ph. <sup>5,12,20,23,27</sup>
	VII	Ald. <sup>5</sup> , Alk. <sup>6,8,23,38,43,61</sup> , Amd. <sup>18,24,45</sup> , Amn. <sup>8,9,13,16,20</sup> , Es. <sup>4,5,39,46,51,69</sup> , He. <sup>7,46,109,117</sup> , Ke. <sup>1</sup> , Ph. <sup>9,16,26</sup> , St. <sup>5</sup>
	IX	Alc. <sup>23</sup> , AlH. <sup>7</sup> , Alk. <sup>8,13,21,43</sup> , Amn. <sup>2,4,5,31</sup> , Es. <sup>39,46,127</sup> , He. <sup>22,50,55,101</sup> , Ph. <sup>14</sup> , Te. <sup>19</sup>
	X	Alk. <sup>8,17,23,41,58,59</sup> , Amd. <sup>23,42,45,52,54</sup> , Amn. <sup>22,32</sup> , He. <sup>68,95,140</sup> , Es. <sup>39,41,45,46,74,110,130,131</sup> , Fa. <sup>4</sup> , Ph. <sup>8</sup> , St. <sup>2</sup> , Te. <sup>4</sup>

**Fr: Fraksiyon, Alc: Alkol--**<sup>1</sup>9-Azadecan-1-ol, <sup>11</sup>11-bromo-O-[5-bromopyridin-2-yl]-; <sup>2</sup>Batılol; <sup>3</sup>4,5-Bis(hydroxymethyl)-2,2-dimethylcyclopentanol; <sup>4</sup>3-Bromo-1,2-propanediol; <sup>5</sup>2-Butyl-1-octanol; <sup>6</sup>2-Chlorocycloheptanol; <sup>7</sup>Cyclobutanol; <sup>8</sup>Cyclododecanemethanol; <sup>9</sup>1,3-Cyclohexanediol; <sup>10</sup>Cyclopentane-1,2,3,4-Tetrol; <sup>11</sup>Decyldiglycol; <sup>14</sup>2,2-Dimethyl-1-octanol; <sup>15</sup>2,7-Dimethyl-1-Octanol; <sup>16</sup>3,7-Dimethyl-1-Octanol; <sup>18</sup>2,6-Dimethyl-1,7-octadiene-3,6-diol; <sup>19</sup>1-Eicosanol; <sup>20</sup>2-ethyl 2-methyl tridecanol; <sup>21</sup>1-(3-Methoxymethyl-2,4,6-trimethylphenyl)ethanol; <sup>22</sup>2-(Pentylamino)ethanol; <sup>23</sup>Falcarinol; <sup>25</sup>1,7-Heptanediol; <sup>26</sup>11-Hexadecen-1-ol, acetate, (Z); <sup>27</sup>2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracosane-2,10,14,18,22-pentaene-6,7-diol; <sup>29</sup>2-(2-hydroxycyclopentyl)sulfanylcyclopentane-1-ol; <sup>31</sup>(5-Methylcyclopent-1-enyl)methanol; <sup>32</sup>2-Methyloctan-1-ol; <sup>33</sup>3-Methyl-1-butanol; <sup>34</sup>4-Methyl-3-Heptanol; <sup>35</sup>2-Monooleoylglycerol trimethylsilyl ether; <sup>36</sup>1-Nonanol; <sup>37</sup>2-cis,cis-9,12-Octadecadienyloxyethanol; <sup>38</sup>6,9,12-Octadecatrienol; <sup>39</sup>3-Octyn-2-ol; <sup>41</sup>1,2-Oxidolinalool; <sup>42</sup>1-(3-Tributylstannyloxiran-2-yl)pentan-1-ol; <sup>43</sup>1-(2-Aminoethylamino)-2-propanol; <sup>44</sup>4-Tert-Butyl-1-Methylcyclohexanol; <sup>45</sup>Tridecanol; <sup>46</sup>2,5,5-trimethyl-3,6-heptadien-2-ol; <sup>47</sup>Vanillyl alcohol **Ald: Aldehit--**<sup>2</sup>2-Butylacrolein; <sup>4</sup>3-(Dimethylamino)-3-(methylamino)propenal; <sup>5</sup>Heptanal; <sup>7</sup>Hexanal; <sup>8</sup>3-Hydroxy butanal; <sup>9</sup>2-Isopropyl-5-methyl-hex-2-enal, (2Z)-; <sup>10</sup>Isovaleraldehyde; <sup>11</sup>(3Z)-2-Methyl-4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-3-butenal; <sup>12</sup>Nonanal; <sup>13</sup>2-Octadecenal; <sup>15</sup>10-Octadecenal; <sup>16</sup>Trans-Undec-4-enal **AlH: Alkil halojenür--**<sup>1</sup>1-Bromo-11-iodoundecane; <sup>3</sup>1-Chlorooctadecane; <sup>4</sup>9,10-Dibromopentacosane; <sup>5</sup>1,12-Dibromododecane; <sup>6</sup>1,14-Dibromotetradecane; <sup>7</sup>1,3-Dibromo-2,2-Dimethoxypropane; <sup>8</sup>1-Hexene, 3-chloro-; <sup>9</sup>1-Iodoheptadecane; <sup>10</sup>1-Iodononane; <sup>12</sup>2-(1-Ethoxy-ethoxy)-1,1,1-trifluoro-4-iodobutane **Alk: Alkan--**<sup>1</sup>Butane, 2-(2,2-dichloro-1,3-dimethylcyclopropyl); <sup>2</sup>5-Butylnonane; <sup>3</sup>1-Chlorododecane; <sup>4</sup>Decane; <sup>5</sup>5,5-Dibutylnonane; <sup>7</sup>1,1-Diethoxyethane; <sup>8</sup>3,7-Dimethyldecane; <sup>9</sup>2,4-Dimethyldecane; <sup>10</sup>4,6-Dimethylhexadecane; <sup>12</sup>3,7-Dimethylundecane; <sup>13</sup>3,8-Dimethylundecane; <sup>14</sup>4,7-Dimethylundecane; <sup>15</sup>4,5-Dimethylnonane; <sup>17</sup>Docosane; <sup>19</sup>Eicosane; <sup>20</sup>1-(2-Decylaminoethoxy)-2-[2-(2-trimethylsilyloxyethoxy)ethoxy]ethane; <sup>21</sup>6-Ethyl-2-Methyloctane; <sup>22</sup>3-Ethyl-3-methylheptane; <sup>23</sup>5-Ethyl-2-Methyloctane; <sup>24</sup>5-Ethyl-5-Methyldecane; <sup>25</sup>3-Ethyl-6-trifluoroacetoxyoctane; <sup>26</sup>Heneicosane; <sup>27</sup>Heptacosane; <sup>28</sup>Heptadecane; <sup>29</sup>Hexacontane; <sup>30</sup>Hexadecane; <sup>31</sup>2-Methyldecane; <sup>32</sup>3-Methylheneicosane; <sup>33</sup>2-Methylheptadecane; <sup>34</sup>5-Methyl-5-Propylnonane; <sup>35</sup>5-Methylundecane; <sup>37</sup>8-Methylheptadecane; <sup>38</sup>4-Methyltetradecane; <sup>40</sup>Nonacosane; <sup>41</sup>Nonadecane; <sup>42</sup>5-(1-Methylpropyl)nonane; <sup>43</sup>5-(2-methylpropyl)nonane; <sup>44</sup>Octacosane; <sup>45</sup>Octadecane; <sup>47</sup>Pentadecane, 8-hexyl-; <sup>48</sup>1,3-Bis(methylthio)propane; <sup>49</sup>Propane, 1,3-bis(3-methoxycarbonylphenyl)-; <sup>51</sup>2,3,4-Trimethyldecane; <sup>52</sup>2,3,3-Trimethyloctane; <sup>53</sup>3,4,5,6-Tetramethyloctane; <sup>54</sup>2,3,5,8-Tetramethyldecane; <sup>55</sup>2,3,6,7-Tetramethyloctane; <sup>56</sup>2,6,10,13-Tetramethylpentadecane; <sup>57</sup>2,6,10,15-Tetramethylheptadecane; <sup>58</sup>2,6,11,15-Tetramethylhexadecane; <sup>59</sup>2,6,11-Trimethyldecane; <sup>60</sup>Tetracontane; <sup>61</sup>Tetracosane; <sup>62</sup>Tetradecane; <sup>64</sup>Triacontane; <sup>65</sup>Tricosane **Alke: Alken--**<sup>1</sup>3-Chloro-1-hexene; <sup>2</sup>Cyclooctene; <sup>3</sup>1-Heptene; <sup>4</sup>3-Methyl-Z,Z-4,6-hexadecadiene; <sup>5</sup>13-Methyl-Z-14-nonacosene; <sup>6</sup>4-Methyl-1-undecene; <sup>7</sup>7-Methyl-1-undecene; <sup>8</sup>3-methylthio-1-propene **Amd: Amid--**<sup>2</sup>Acetamide, 2-(2,4-

dimethoxybenzylidenehydrazino)-N-ethyl-2-oxo-; <sup>3</sup>Acetamide, N-(4-bromo-2-chlorophenyl)-; <sup>4</sup>Acetamide, N-(4-hydroxy-2-cyclohexen-1-yl)-, cis-; <sup>6</sup>Acetamide, N-[2-(acetyloxy)-2-[3,4-bis(acetyloxy)phenyl]ethyl]-N-methyl-, (R)-; <sup>7</sup>4-Acetamido-N,N-diisopropyl-3-nitrobenzamide; <sup>9</sup>Benzamide, 4-(2,4,6-trimethylbenzoyl)-N-methoxy-; <sup>10</sup>3.beta.-Acetoxy-bisnor-5-cholenamide; <sup>12</sup>Caproamide; <sup>13</sup>Carbromal; <sup>14</sup>2-Chloro-4-(trifluoromethyl)benzamide; <sup>15</sup>Cyclohexanecarboxamide; <sup>16</sup>Cyclohexanecarboxamide, N-furfuryl-, <sup>17</sup>4-Cyclohexene-1,2-dicarboximide, N-butyl-, cis-; <sup>18</sup>Cyclopentanecarboxylic acid(1-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl-ethyl)-amide; <sup>19</sup>2,2-dichloro-N-(2-chloropyridin-3-yl) acetamide; <sup>20</sup>3-Diethylsulfamoyl-N-O-tolyl-benzamide; <sup>21</sup>Dodecanamide; <sup>22</sup>Erucamide; <sup>24</sup>Heptanamide, 4-ethyl-5-methyl-; <sup>25</sup>Hexaethylphosphoramidate; <sup>26</sup>8-Methyl-6-nonenamide; <sup>28</sup>1-Methyl-2-pyrrolidone-4-carboxamide; <sup>29</sup>2-Myristynoyl-glycinamide; <sup>30</sup>N-(2,4-Dimethylphenyl)Acetamide; <sup>31</sup>N-(3,5-dimethylphenyl)-3-Ethoxypropanamide; <sup>32</sup>N'-(3-Bromobenzylidene)-4-Hydroxybutanohydrazide; <sup>35</sup>N-Butylcarbamoil-4-(Salicylideneamino) Benzenesulfonamide; <sup>36</sup>N-Butylcarbamoil-4-(salicylideneamino)benzenesulfonamide; <sup>37</sup>N-Cyano-N-[4,6-bis(dimethylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]-p-toluenesulfonamide; <sup>39</sup>N-methyl-N-(2-methylpropyl)formamide, <sup>40</sup>N-methyl-N-(2-phenylethyl)acetamide; <sup>41</sup>N-Methyl nicotinamide TMS; <sup>42</sup>Nonadecanamide; <sup>43</sup>N-Sec-butyl-3-(2-hydroxy-3,4-dimethyl-phenyl)-3-phenyl-propionamide; <sup>44</sup>Oleamide; <sup>45</sup>Oleylacetamide; <sup>46</sup>Oxiranecarboxamide, 2-ethyl-3-propyl-; <sup>47</sup>Propanediamide, N,N'-1,6-hexanediybis[N'-heptyl-N'-methyl-]; <sup>48</sup>Propionamide, 3,3'-dithiobis-; <sup>49</sup>Pyrazinamide <sup>50</sup>1-(3,4-Methylenedioxybenzylidene)semicarbazide; <sup>51</sup>Stearamide; <sup>52</sup>Tetradecanamide **Ann: Amin--** <sup>1</sup>N-Acetyl-2,5-dimethoxy-4-ethylamphetamine; <sup>2</sup>N-Acetyl-2-methoxy-4,5-methylenedioxyamphetamine; <sup>3</sup>N-Acetyl-2-propoxyamphetamine; <sup>5</sup>3-Amino-4-(methylthio)benzotrifluoride; <sup>6</sup>3-Azido-N,N-dimethyl-4-nitroaniline; <sup>7</sup>Benzenamine, N,n,4-trimethyl-2-(trimethylsilyl)-; <sup>8</sup>Bis(3-phenyl-propyl)amine; <sup>9</sup>4-Bromo-2-chloroaniline; <sup>10</sup>2-Butanamine; <sup>11</sup>Butanamine, 2,2-dinitro-N-methyl-; <sup>12</sup>3-Buten-2-amine, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl); <sup>13</sup>Butylmethylnitrosamine; <sup>14</sup>2-Carbomethoxy-5,5-dimethoxy quinuclidine; <sup>15</sup>2-Chloroaniline-5-sulfonic acid; <sup>16</sup>Chloroacetylamine, N-[2-n-octyl]-; <sup>17</sup>3-Chloro-2,2,3-trifluoro-N-methyl-N-(1-methylethyl)-1-propanamine; <sup>18</sup>Desipramine; <sup>19</sup>Desmethyltrimipramine; <sup>20</sup>Diethylenetriamine; <sup>21</sup>(3,5-Dimethylpyrazol-1-ylmethyl)(4-methylfuran-3-yl)amine; <sup>22</sup>2,5-Dimethoxy-4-Propylamphetamine; <sup>23</sup>2,6-dimethyl-N-trimethylsilyl-4-trimethylsilyloxyaniline; <sup>24</sup>Diocetylamine; <sup>25</sup>1,2-Ethanediamine, N-(2-aminoethyl)-N'-[2-[(2-aminoethyl)amino]ethyl]-; <sup>26</sup>1-Heptanamine, N-heptyl-N-nitro-; <sup>27</sup>Heptadecanamide; <sup>28</sup>2-Hydroxydesipramine; <sup>29</sup>3,3'-Iminobispropylamine; <sup>30</sup>Mescaline hydrochloride; <sup>31</sup>N-[2,6-Dimethyl-4-[(trimethylsilyl)oxy]phenyl]-1,1,1-trimethylsilanamine; <sup>32</sup>N-Desmethylclomipramine AC.; <sup>33</sup>N-octan-2-yloctan-2-amine; <sup>34</sup>Norspermidine; <sup>36</sup>2-Pyrimidinamine, 5-bromo-4-methoxy-N,N-dimethyl-; <sup>37</sup>Silanamine, N-[2,6-dimethyl-4-[(trimethylsilyl)oxy]phenyl]-1,1,1-trimethyl-; <sup>38</sup>Tetradecylamine; <sup>39</sup>Tris(2-aminoethyl)amine **Es: Ester--** <sup>1</sup>Acetic acid, trifluoro-, 3,7-dimethyloctyl ester; <sup>2</sup>Acetic acid, (2,4,5-trichlorophenoxy)-, methyl ester; <sup>3</sup>Acridin-9-ylamino-acetic acid methyl ester; <sup>4</sup>Azamalonil ester; <sup>5</sup>Benzenoacetic acid, 3-methoxy-4-[(trimethylsilyl)oxy]-ethyl ester; <sup>6</sup>Benzoic acid, 4-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester; <sup>9</sup>Boric acid (HBO2), cyclohexyl ester; <sup>10</sup>3-Bromobenzoic acid, tridecyl ester; <sup>11</sup>3-(3-Bromophenyl)propenoic acid, 2-(diethoxyphosphinyl)-, ethylester; <sup>12</sup>Butanoic acid, heptafluoro-, 1-(butoxycarbonyl)propyl ester; <sup>13</sup>Carbamic acid, N-(4-methylphenyl)-, oxiranylmethyl ester; <sup>14</sup>Chloroacetic acid, 1-cyclopentylethyl ester; <sup>15</sup>Chloromethyl 3-chlorooctanoate; <sup>16</sup>Cis-L-Carvyl acetate; <sup>19</sup>Decyl nitrate; <sup>20</sup>3-Deoxy-d-mannonic lactone; <sup>22</sup>2,4-Dichloro-6-iodophenoxyacetic acid, ethyl ester; <sup>23</sup>Dimethyl 2-[fluoro(1H-indol-3-ylsulfanyl)methylene]malonate; <sup>24</sup>Diethyl phthalate; <sup>25</sup>3-(Dimethoxy-phosphoryl)-3-hydroxy-butyric acid ethyl ester; <sup>26</sup>1,3-Dipalmitin; <sup>27</sup>1,3-Distearin; <sup>28</sup>Dithiocarbamic acid, N,N-dimethyl-, S-dimethylamino ester; <sup>29</sup>8,11,14-Docosatrienoic acid, methyl ester; <sup>30</sup>Dodecanoic acid, undecylester; <sup>31</sup>2,4,6,10-Dodecatetraenoic acid, 3,7,11-trimethyl-, methyl ester; <sup>32</sup>Eicosane; <sup>33</sup>Ethanoethioic acid, S-[8-(diethylphosphono)octyl] ester; <sup>34</sup>Ethyl caproate; <sup>35</sup>Ethyl cholate; <sup>36</sup>Ethyl 2-(2-chloroacetamido)-3,3,3-trifluorolactate; <sup>37</sup>Ethyl 2-(2-chloroacetamido)-3,3,3-trifluoro-2-(2-fluoroanilino)propionate; <sup>38</sup>Ethyl erucate; <sup>39</sup>Ethyl 9-hexadecenoate; <sup>40</sup>Ethyl linoleate; <sup>41</sup>Ethyl 2-(3-methoxy-4-trimethylsilyloxyphenyl)acetate; <sup>42</sup>Ethyl nonadecanoate; <sup>43</sup>Ethyl 18-nonadecenoate; <sup>45</sup>Ethyl oleate; <sup>46</sup>Ethyl palmitate; <sup>47</sup>Ethyl pentadecanoate; <sup>48</sup>Ethyl 2-(4-[4-(trifluoromethyl)phenoxy]phenoxy)propanoate; <sup>49</sup>Ethyl 3-(2-Propynyloxy)Propanoate; <sup>50</sup>Ethyl Piperazine-1-Carboxylate; <sup>51</sup>Ethyl stearate; <sup>52</sup>Ethyl tetradecanoate; <sup>53</sup>Ethyl 2,4,6-trichloro-5-nitronicotinate; <sup>54</sup>2-Ethylhexyl decanoate; <sup>55</sup>4-Fluoro-1-methyl-5-carboxylic acid, ethyl; <sup>56</sup>2-Furancarboxylic acid, octadec-9-enyl ester; <sup>57</sup>Geranyl Isovalerate; <sup>58</sup>Glycol stearate; <sup>60</sup>3-Heptenoic acid, methyl ester, (E)-; <sup>61</sup>7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z); <sup>62</sup>3-(Methylthio)hexyl butanoate; <sup>63</sup>3-Hydroxyoctanoic acid, di-TMS; <sup>64</sup>4-Hydroxyphenyl 3-nitrobenzoate; <sup>65</sup>(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)ethylene glycol tris(pentafluoropropionate); <sup>66</sup>Hydrastininic acid; <sup>67</sup>Hydrazinecarboxylic acid, 2-ethyl-, methyl ester; <sup>68</sup>1-Imidazolic acid, 5-bromo-4-nitro-, ethyl ester; <sup>69</sup>Isopropyl Myristate; <sup>70</sup>Linalyl anthranilate; <sup>72</sup>Menthyl trimethylsilylmethylmalonate; <sup>73</sup>Methoxyacetic acid, 4-hexadecyl ester; <sup>74</sup>Methoxyacetic acid, 4-tridecyl ester; <sup>75</sup>Methyl 11-(2,3-methylene-cyclopentanyl)-undecanoate; <sup>76</sup>Methyl 11,14-octadecadiynoate; <sup>77</sup>Methyl 15-oxohexadecanoate; <sup>78</sup>Methyl 16-[(trimethylsilyl)oxy]hexadecanoate; <sup>79</sup>Methyl 2-bromopropionate; <sup>81</sup>Methyl 3-hydroxy-2-tetradecyloctadecanoate; <sup>82</sup>Methyl 3-hydroxyoctadec-9-enoate; <sup>83</sup>Methyl 3-nonenoate; <sup>85</sup>Methyl 9,12-epoxystearate; <sup>86</sup>Methyl abscisate; <sup>87</sup>Methyl cis-3-[p-anisido]acrylate; <sup>88</sup>Methyl perfluorobutyrate; <sup>89</sup>Methyl trans-9-(2-butylcyclopentyl)nonanoate; <sup>90</sup>Methyl 16-Oxoctadecanoate; <sup>91</sup>Methyl 2-(2-methoxy-2-oxoethyl)benzoate; <sup>92</sup>Methyl oleate ozonide; <sup>93</sup>Methyl thiocyanate; <sup>94</sup>Methyl-2-heptynoate; <sup>95</sup>1-Methylbutyl docosanoate; <sup>96</sup>2-(2-Methylaminoethyl)-4,5-dimethoxyphenylacetic acid, methyl ester; <sup>97</sup>Mono(2-ethylhexyl) adipate; <sup>98</sup>Monolinolenin TMS; <sup>100</sup>1-Monopalmitin; <sup>103</sup>Nepetalactone; <sup>105</sup>9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxy-3-[(1-oxooctadecyl)oxy]propyl ester; <sup>106</sup>9-Octadecenoic acid, (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methylester, cis-; <sup>108</sup>2-octadecoxyethyl octadecanoate; <sup>109</sup>6-Octenoic acid, 3-ethenyl-3,7-dimethyl-2-methylene-, methyl ester; <sup>110</sup>7-Oxodehydroabietic acid, trimethylsilyl ester; <sup>111</sup>10-Oxocyclodec-2-enecarboxylic acid, methyl ester; <sup>112</sup>Palmitic acid, 2-(trimethylsiloxy)ethyl ester; <sup>114</sup>2-Pentenoic acid, 2-methoxy-3-methyl-, methyl ester; <sup>115</sup>1-Phenazinecarboxylic acid, 6-(1-methoxyethyl)-, methyl ester; <sup>116</sup>Propanedioic acid, monocyclohexyl ester; <sup>117</sup>Propenoic acid, 3-(3-methylphenyl)-2-diethoxyphosphinyl-, ethyl ester;

<sup>118</sup> Propyl 2-methylvalerate; <sup>119</sup> Propyl oleate; <sup>120</sup> Prost-13-en-1-oic acid, 9,11,15-trihydroxy-6-oxo-, methyl ester, (9.alpha.,11.alpha.,13E,15S); <sup>121</sup> Prosta-11,15-dien-1-oic acid, 7,9,13-tris[(trimethylsilyloxy], methyl ester; <sup>122</sup> Stearic acid, 3-(octadecyloxy)propyl ester; <sup>123</sup> Tartaric acid cyclic butaneboronate; <sup>124</sup> Terpinyl butyrate; <sup>125</sup> Tert-Pentyl Pentanoate; <sup>127</sup> Thiosulfuric acid, S-(2-amino-1-phenylpropyl)ester; <sup>128</sup> Tristearin; <sup>129</sup> Tricosenoic acid, 2-[(trimethylsilyloxy]-, methyl ester; <sup>130</sup> Tridecyl trichloroacetate; <sup>131</sup> Trimethylsilyl bis[(trimethylsilyloxy)acetate]; <sup>134</sup> 4,7,7-Trimethyl-3-oxo-2-oxa-bicyclo[2.2.1]heptane-1-carboxylic acid, methoxycarbonylmethyl ester; <sup>137</sup> Z,E-7,11-Hexadecadien-1-ylacetate **Fa: Yağ asidi--** <sup>1</sup> Behenic acid; <sup>2</sup> Heptenoic acid; <sup>3</sup> Lauroyl peroxide; <sup>4</sup> Linoleic acid; <sup>5</sup> Oleic acid; <sup>6</sup> Stearic acid **He: Heterosiklik bileşik--** <sup>1</sup> Acetic Acid, 3-cyano-2-cyclohexyl-6-methyl[1,2]oxazinan-6-ylmethyl ester; <sup>2</sup> 4-Acetyl-2-phenyl-6,7,8,8a-tetrahydro-2h-pyrrolo[1,2-d][1,2,4]triazin-1-one; <sup>3</sup> Acridin-1(2H)-one, 3,4-dihydro-3,3-dimethyl-9-propylamino-; <sup>4</sup> Alanylhistidin, E <sup>5</sup> Alloxanic acid; <sup>7</sup> 1-(2-Amino-propyl)-4-benzoyl-3-hydroxy-5-phenyl-1,5-Dihydro-pyrrol-2-on; <sup>8</sup> 2-Amino-8-[(3R,4S,5R)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]imidazo[1,2-a][1,3,5]triazin-4-one; <sup>9</sup> 2-Amino-1H-imidazole-5-carboxylic acid; <sup>10</sup> N-Aminohomopiperidine; <sup>11</sup> Argentilactone; <sup>12</sup> Azacyclodecan-5-ol; <sup>15</sup> 3H-1,4-Benzodiazepine, 3-Morpholino-5-phenyl-; <sup>17</sup> 2,4-Bis(hydroxylamino)-6-methylpyrimidine; <sup>18</sup> 4-Bromo-3-(dimethylamino)sydnone; <sup>19</sup> 5-Bromo-2,4-bis(methylthio)pyrimidine; <sup>20</sup> 5-Bromo-2-mercaptopyridine-1-oxide; <sup>21</sup> 5-Bromo-4-nitroimidazole-2-[2-thioacetic acid]; <sup>22</sup> (-)-(5)-Bromouridine; <sup>24</sup> Carbofuran phenol; <sup>25</sup> 2-(5-Chloro-2-nitro-phenylsulfanyl)-1-methyl-1h-imidazole; <sup>27</sup> 7-(4-Chlorophenyl)-1,6-diazabicyclo[4.1.0]heptane; <sup>28</sup> Columbin; <sup>29</sup> Coumaran-5,6-diol-3-one; 2-[4-Hydroxycarbonylbenzylidene]-; <sup>30</sup> 1-Cyanoacetyl piperidine; <sup>31</sup> 6-Cyanomethoxy-N-methoxymethyl-n',n'-dimethyl-1,3,5-triazine-2,4-Diamine; <sup>32</sup> Cyclobarbital; <sup>33</sup> Cycloheptano[D]imidazolidine; 1,3-Dihydroxy-2-methyl; <sup>34</sup> Cyclohexanecarboxamide; N-furfuryl; <sup>35</sup> 1-(3-(Cyclohexylamino)propyl)guanidine; <sup>36</sup> 1-Cyclohexyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carbonitrile; <sup>37</sup> Cytidine, 2'-deoxy-; <sup>38</sup> 2'-Deoxycytidine; <sup>39</sup> 1-[2-Deoxy-beta.-d-erythro-pentofuranosyl]pyrrole-2,4-dicarboxamide; <sup>40</sup> Diazepam; <sup>41</sup> 1,4-Diazapine; 2,3-dihydro-6-(4-nitropyrazol-1-yl)-; <sup>42</sup> 1H-Dibenzo[B,E][1,4]diazepin-11-one; 5-(3-Aminopropyl)-5,10-dihydro-; <sup>43</sup> Dibenzo[B,E]thiepin-11-ol, 2-Chloro-11-ethenyl-; <sup>44</sup> 5,5'-Di(Ethoxycarbonyl)-3,3'-dimethyl-4,4'-dipropyl-2,2'-dipyrromethane; <sup>45</sup> 1,4-Diethylpiperazine; <sup>46</sup> Didecyl 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-3,5-pyridinedicarboxylate; <sup>47</sup> (3a,10a-Dihydroxy-2,10-dimethyl-3,8-dioxo-3,3a,4,6a,7,8,9,10,10a,10b-decahydrobenzo[e]azulen-5-yl)methyl acetate; <sup>48</sup> 2,3-Dihydroxy-6-nitroquinoxaline; <sup>49</sup> 1,4-Dihydro-pyridine-3-carboxylic acid, 5-cyano-6-ethoxy-2-methyl-4-phenyl-; <sup>50</sup> 5-Di-[4-Bromophenyl]-1,3,4-oxadiazole; <sup>51</sup> 2,5-Dihydro-1-nitroso-1h-pyrrole; <sup>52</sup> 3-Dimethylamino-2-(4-chlorophenyl)-thioacrylic acid, thiomorpholide; <sup>53</sup> 2-(Dimethylamino)-1,3-dimethyltetrahydro-1,3,2-diazaphosphole 2-oxide; <sup>54</sup> N2,O6-Dimethylguanidine; <sup>55</sup> 7,8-Dimethoxy-1-methyl-3,5-dihydro-benzo[d][1,2]diazepin-4-one; <sup>56</sup> 3-(3,4-Dimethoxy-phenyl)-7,8-dimethyl-1,5-dihydro-benzo[e][1,3]dithiepine; <sup>57</sup> 4,5-Dimethoxy-2-benzofuran-1,3-dione; <sup>58</sup> 2,6-Dimethyl-4-pyrone; <sup>59</sup> N-[3,5-Dinitropropidin-2-yl]proline; <sup>60</sup> 3,5-Diphenyl-4,5-dihydro-1h-pyrazole-1-carbothioamide; <sup>61</sup> Ethane, 1-(4,4,4-trifluoro-1,3-dithiobutyl)-2-(3,3,3-trifluoro-1,2-dithiopropyl)-; <sup>63</sup> ethyl 1-Benzyl-5-(4-nitrophenyl)-1h-1,2,3-triazole-4-carboxylate; <sup>64</sup> Ethyl 2-(4-(4-chlorophenyl)thiazol-2-yl)acetate; <sup>65</sup> 10-Ethyl-3,7-dimethyl-10h-phenotellurazine; <sup>67</sup> 1-Fluoropyridinium triflate; <sup>68</sup> Fluphenazine; <sup>70</sup> Furazano[3,4-B]pyrazin-5(4h)-one, 6-(1-pyrrolidinyl); <sup>71</sup> Guanosine, 2'-Deoxy, <sup>72</sup> 2(Heptadec-7-ynyloxy)tetrahydropyran; <sup>73</sup> Hexahydro-benzofuran-2-one; <sup>76</sup> 4-(Hydroxymethyl)-5,7-dimethoxy-6-methyl-1(3h)-isobenzofuranone; <sup>78</sup> Imidazole, 2-amino-5-[(2-carboxy)vinyl]-; <sup>79</sup> 1H-Imidazole-4-ethanamine, n,5-dimethyl-; <sup>80</sup> 1-Imidazolic acid, 5-bromo-4-nitro-, ethyl ester; <sup>81</sup> 1H-Indole-2,3-dione, 1-(tert-butyl dimethylsilyl)-5-chloro-, 3-(o-ethylxime); <sup>82</sup> Isonicotinic acid n'-(piperidine-1-carbothioyl)-hydrazide; <sup>84</sup> 2,5-Methano-2h-thiopyrano[3,2-b] furan, hexahydro; <sup>86</sup> 2-Methyl-6-(5-methyl-2-thiazolin-2-ylamino)pyridine; <sup>87</sup> 2-Methyl-8-nitroisoxazolizidine; <sup>88</sup> 2-Methylthio-4,4-diphenyl-5-oxo-2-imidazoline; <sup>90</sup> 6-Methyl-2-(3-nitrophenyl)imidazo[1,2-a]pyridine; <sup>92</sup> 6-Methyl-4,5-tetramethylenetetrahydro-1,3-oxazine-2-thione; <sup>93</sup> Nitrazepam; <sup>94</sup> 4-Nitro-1H-pyrazole-3-carboxylic acid; <sup>95</sup> N-Methyl-N-[2-methyl-2-[7-chloro-4-quinolylamino]ethyl]hydrazine; <sup>98</sup> 1-(3-Oxobutyl)-3,3-pentamethylenediaziridine; <sup>101</sup> 3-Phenyl-5-[4-[7-dichloro-4-quinolyl]amino]butylhydantoin; <sup>102</sup> 2-Phenylquinoline-4-carboxylic acid n-oxide; <sup>104</sup> Piperidin-4-one, 1,2,5-trimethyl-, thiosemicarbazone; <sup>105</sup> Pteridine-8-oxide, 6-aldoximino-2-amino-4(3h)-oxo-; <sup>106</sup> Pyrazolidine-3,5-dione, 4-(4-fluorobenzylidene)-1-phenyl-; <sup>107</sup> Pyridine-3-carboxamide, n-butyl-2,4,6-trichloro-5-nitro-; <sup>108</sup> Pyridine-3-carboxylic acid, 1,4-dihydro-5-cyano-2-hydroxy-4-(4-isopropylphenyl)-6-methyl-, ethyl ester; <sup>109</sup> Pyridine-3-carboxylic acid, 2,4,6-Trichloro-5-nitro-; <sup>112</sup> Pyridof[3,2-D]pyrimidin-4(3h)-one, 3-hydroxy-2-methyl-; <sup>113</sup> 2,4(1H,3H)-Pyrimidinedione, 6-amino-1,3-di-2-propenyl-; <sup>115</sup> 2H-Pyrrol-2-one, 4-acetyl-5-(2-fluorophenyl)-1,5-dihydro-3-hydroxy-1-methyl-; <sup>117</sup> Quinazolin-4(3H)-one, 2-[2-(2-hydroxy-5-bromophenyl)ethenyl]-3-methyl-; <sup>118</sup> 4(3H)-Quinazolinone, 2-methyl-3-(2-methylphenyl)-6-[(trimethylsilyloxy)]; <sup>119</sup> Quinolin-2-ol, 6-chloro-4-methyl-o-[5-[1-cycloazapropyl]-n-pentyl]; <sup>120</sup> Quinoline, 3-pentyl-6,8-dipropyl; <sup>121</sup> Quinoline-4-carboxamide, 2-(4-chlorophenyl)-6-methyl-; <sup>122</sup> Quinuclidin-3-one; 2-(2-hydroxybenzyl)-; <sup>124</sup> Thiazolidin-4-one, 5-(2,3-dimethoxybenzylidene)-2-thioxo-; <sup>125</sup> 5H-Thiazolo[2,3-A]pyridine-8-carboxamide, 3-(1-adamanthyl)-7-methyl-5-oxo-; <sup>126</sup> Thieno[3,2-D]pyrimidin-4(3H)-one, 7-(4-Nitrophenyl)-; <sup>127</sup> Thiophene, 2-(methylselenyl)-5-(propylthio)-; <sup>130</sup> trans-Cis-7,11-Hexadecadienylacetate, <sup>131</sup> (8,13,14-Triacetyloxy-9-chloro-1,6-dihydroxy-4,12,12,15-tetramethyl-5-oxo-8-tetracyclo[8.5.0.0.2,6.0]1,13]pentadec-3-enyl)methyl acetate; <sup>132</sup> 1,2,4-Triazol-3-amine, 5-(1,3,5-Trimethyl-4-pyrazolyl)amino-; <sup>133</sup> 1,2,3-Triazole-4,5-dicarboxylic acid; <sup>135</sup> 1,3,5-Triazine-2,4-diamine, 6-Bromo-N,N'-diethyl-; <sup>136</sup> 1,3,5-Triazine-2,4-diamine, 6-Chloro-N-ethyl-, <sup>137</sup> 2R,3S-1-[[1,3,4-Trihydroxy-2-butoxy]methyl]cytosine; <sup>138</sup> 2-(Trimethylsilyl)benzothiazole; <sup>140</sup> Uleine; <sup>141</sup> Uleine N-dimethyl-; <sup>142</sup> Xanthine, 1,3-dipropyl-8-[4-[(4-hydroxy)phenylamino]carbonyl]methoxyphenyl]- **Ke: Keton--** <sup>1</sup> 4-Acetylstilbene; <sup>2</sup> Amino-5-chlorobenzophenone, trimethylsilyl; <sup>6</sup> 2-Cyclohexen-1-one, 3-(hydroxymethyl)-6-(1-methylethyl)-; <sup>8</sup> 4,8-Dimethylnona-3,7-dien-2-one; <sup>10</sup> 3-Eicosanone; <sup>11</sup> Ethanone, 1-(4-cycloocten-1-yl); <sup>12</sup> Ethanone, 2-(2-benzothiazolylthio)-1-(3,5-dimethylpyrazolyl)-; <sup>13</sup> Methyl cyclohexyl ketone; <sup>15</sup> 1-(2-trimethylsilyloxyphenyl)propan-1-one; <sup>16</sup> 4-Octanone <sup>17</sup> n-Octadecylmercapto-6-hydroxy-5,8-quinolinedione **Ph: Fenolik bileşik--** <sup>1</sup> Acitretin; <sup>2</sup> Amino-4-

nitrophenol;<sup>3</sup>Aramite;<sup>4</sup>8-Azanonane, 4-cyano-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-;<sup>5</sup>Benzestrol di-TMS derivative;<sup>7</sup>Bis(Trimethylsilyl)bisphenola;<sup>8</sup>2,6-Bis-Tms-4-T-Butylphenol;<sup>10</sup>Daurisoline;<sup>12</sup>2,4-di-tert-butyl-6-(Tert-Butylamino)phenol;<sup>14</sup>2,6-Dichloranisole;<sup>16</sup>1,4-Dithiin, 2,5-bis(4-bromophenyl)-;<sup>17</sup>Notatic acid;<sup>18</sup>Phenol, 2,2'-[(1-methyl-1,2-ethanediy)bis(nitrimethylidyne)]bis-;<sup>21</sup>Phenol, 4,4'-[Thiobis[[3-(acetyloxy)-2-(2-methoxyphenoxy)propylidene]oxy]]bis[2-methoxy-, diacetate;<sup>22</sup>Phenol, 4-methoxy-2-(7,8-dimethylbenzo[e]dithiepan-3-yl)-;<sup>23</sup>Phenol, 4-tert-butyl, TMS;<sup>24</sup>Thebenine;<sup>25</sup>4-t-Butyl-.alpha...alpha.'-bis(dimethylamino)-2,6-xilenol;<sup>26</sup>4-t-Butyl-6-dimethylaminomethyl-2-[4-dimethylaminophenyl]phenol;<sup>27</sup>1-Tert-Butyl-4-(2-Ethoxyethoxy)Benzene;<sup>28</sup>2-Tert-Butyl-4-Methyl-6-(1-Methyl-1-Phenylethyl) Phenol;<sup>29</sup>2,3,5,6-Tetrabromo-4-Ethylphenol;<sup>30</sup>Tetracycline;<sup>33</sup>Trimethylsilyl-di(timethylsiloxy)-silane;<sup>31</sup>3,6,9,12-Tetraoxatetradecan-1-ol, 14-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenoxy]-;<sup>32</sup>Trimethyl-(5-methyl-2-propan-2-ylphenoxy)silane **S:**<sup>1</sup>Bis[2-mesyramidioethyl]disulfide,<sup>2</sup>4,4-Bis(dichlorofluoromethyl)-1,2-oxathietane-2,2-dioxide,<sup>5</sup>Thiourea, tetramethyl- **Si: Silisyumlu bileşik--**<sup>6</sup>Silane, [(6-chlorohexyl)oxy]trimethyl;<sup>7</sup>Silane, bromomethyltripropyl-;<sup>8</sup>Silane, dichloromethyl-;<sup>9</sup>Tetradecyltrichlorosilane;<sup>10</sup>Trimethyl(4-tert-butylphenoxy)silane;<sup>11</sup>Trimethylsilyl-di(timethylsiloxy)-silane **Sp: Spiro türevi bileşik--**<sup>2</sup>2,2-Dimethyl-1-oxa-spiro[2.4]heptane,<sup>5</sup>2-Methyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane,<sup>6</sup>Perhydro-hix, 1-acetyl-2-depenyl-,<sup>7</sup>Spiro(4,5)decan-1-one,<sup>8</sup>Spirost-8-en-11-one, 3-hydroxy-, (3.beta.,5.alpha.,14.beta.,20.beta.,22.beta.,25R)-,<sup>9</sup>2-(Trichloromethyl)-1-oxaspiro[4.5]dec-2-en-4-one **St: Steroid--**<sup>1</sup>17-(Acetyloxy)-19-hydroxy-4,4-dimethylandrostan-3-yl acetate,<sup>2</sup>5 alpha-Pregnan-15-One,<sup>3</sup>1,4,7-Androstatrien-3,17-dione,<sup>4</sup>Androstane-11,17-dione, 3-hydroxy-, (3.alpha.,5.beta.),<sup>5</sup>3 beta-(Methoxymethoxy)-5alpha-pregnan-20-one,<sup>7</sup>Colalin,<sup>8</sup>3,5-Cyclochol-23-yn-22-ol, 6-methoxy-, (3.beta.,5.alpha.)-,<sup>9</sup>16-Deoxokryptogenin diacetate,<sup>12</sup>Ergost-25-ene-3,6-dione, 5,12-dihydroxy-, (5.alpha.,12.beta.),<sup>13</sup>Estrone semicarbazone,<sup>14</sup>Pregn-4-en-3-one, 17,20,21-tris(trimethylsilyloxy)-, O-methyloxime, (20R)-,<sup>15</sup>2-Pyrrolidinecarboxamide, N-androst-5-en-17-yl-, (S)-,<sup>16</sup>Samanine,<sup>17</sup>Secaliferol,<sup>18</sup>Testoserone **Te: Terpen--**<sup>1</sup>Alpha-Cadinol,<sup>2</sup>(+)-.Alpha.-Cyperone,<sup>3</sup>Alpha-Guaiene<sup>4</sup>Alpha-Isomethylionone,<sup>5</sup>5.Alpha.-Pregnan-15-One;<sup>7</sup>Aphidicolin Glycinate,<sup>8</sup>2.Beta.,4.Beta.,16.Alpha.-Tribromoallopregn-16-Ene-3,20-Dione,<sup>9</sup>Beta-Bisabolene,<sup>10</sup>beta.-Patchoulane,<sup>11</sup>Camphor,<sup>12</sup>(+)-2-Carene,4-Alpha.-Isopropenyl;<sup>13</sup>Carvacrol,<sup>14</sup>Citral,<sup>15</sup>Farnesene,<sup>16</sup>Friedelanol;<sup>18</sup>Isopulegol;<sup>19</sup>Linalool;<sup>20</sup>p-Menthan-1,3,3-D3-2-Ol;<sup>22</sup>Methoprene;<sup>23</sup>(-)-Neoclovene-(I), Dihydro;<sup>24</sup>Neoisolongifolane, Hydroxy-;<sup>27</sup>Pregnane-3,20-Dione, (5.Beta.)<sup>28</sup>Rubratoxin B;<sup>29</sup>Scillarenin;<sup>30</sup>Terpinolene;<sup>31</sup>Toxaphene.



İnokulasyondan sonra köklerden elde edilen anti-oomycete bileşikler arasında 46 adetle 4. sırada yer alan amidlerden 29'unun yalnızca dayanıklı hatlara ait olduğu tespit edilmiştir. Yalnızca hassas hatlarda bulunan amid grubuna ait bileşik sayısının 13 adet olduğu belirlenirken, Amd.<sup>24, 37, 42, 45</sup> kodlu 4 bileşik ise hem dayanıklı hem de hassas hatlarda belirlenmiştir. Alkol grubuna ait 40 adet bileşikten 29'u yalnızca dayanıklı hatlarda tespit edilirken, 10'u yalnızca hassas hatlarda tespit edilmiştir. Alc.<sup>45</sup> kodlu bileşik ise her ikisinde de bulunmuştur. Amin grubuna ait 35 adet bileşikten 16'sı sadece dayanıklı hatlarda tespit edilmiştir. Yine aynı gruba ait bileşiklerden 16 bileşik ise yalnızca hassas hatlarda bulunmuştur. Amn.<sup>22, 28, 38</sup> kodlu 3 adet bileşik ise hem dayanıklı hem de hassas hatlarda tespit edilmiştir.

Fenolik bileşikler grubuna ait 28 bileşikten 12 adedi yalnızca dayanıklı hatlarda, 13 adedi ise hassas hatlarda tespit edilmiştir. Hem dayanıklı hem de hassas hatlarda bulunan bileşikler ise Ph.<sup>8, 16, 20</sup> kodlu bileşiklerdir. Terpenler grubuna ait 25 bileşikten 18'i yalnızca dayanıklı hatlarda, 5'i yalnızca hassas hatlarda, Te.<sup>4, 19</sup> kodlu olan iki bileşik ise her ikisinde de bulunmuştur. Aldehitler grubuna ait 12 bileşikten 7'si yalnızca dayanıklı hatlarda 4 adedi yalnızca hassas hatlarda Ald.<sup>5</sup> kodlu bileşik ise her ikisinde de bulunmuştur.

Ketonlar grubuna ait 11 adet bileşikten 6 adedi yalnızca dayanıklı hatlarda, 4 adedi yalnızca hassas hatlarda K.<sup>1</sup> kodlu bileşik ise hem dayanıklı hem de hassas hatlarda bulunmuştur. Spiro türevi bileşikler grubuna ait Sp.<sup>2, 5, 6, 7, 8, 9</sup> kodlu bileşiklerin tümü dayanıklı hatlarda tespit edilmiştir. Alkil halojenür grubuna ait 10 bileşikten AIH.<sup>3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12</sup> kodlu bileşikler yalnızca dayanıklı hatlarda, AIH.<sup>1,7</sup> kodlu bileşikler ise yalnızca hassas hatlarda tespit edilmiştir.

Alkenler grubuna ait 8 bileşikten Alke.<sup>1, 2, 3, 4, 5</sup> kodlu olanlar yalnızca dayanıklı hatlarda, Alke.<sup>6, 8</sup> kodlu olanlar yalnızca dayanıklı hatlarda, Alke<sup>7</sup> kodlu bileşik ise her ikisinde de bulunmuştur. Yağ asitleri grubuna ait 6 adet bileşikten Fa.<sup>1, 2, 3, 5, 6</sup> kodlu bileşikler yalnızca dayanıklı hatlarda, Fa<sup>4</sup> kodlu bileşik ise X. fraksiyonda yer alan 9661 hattında ortaya çıkmıştır. Spiro türevi bileşikler yalnızca dayanıklı hatlarda tespit edilmiş olup Sp.<sup>2, 5, 6, 7, 8, 9</sup> kodlu olanlar inokulasyon sonrası köklerden elde edilen bileşiklerden elde edilmiştir. Silisyumlu bileşikler grubunda yer alan Si.<sup>6, 9</sup> kodlu olanlar yalnızca dayanıklı hatlarda, Si.<sup>7, 8</sup> yalnızca hassas hatlarda, Si.<sup>11</sup> ise hem dayanıklı hem de hassas hatlarda yer almıştır. Kükürtlü

organik bileşikler ise yalnızca dayanıklı hatlarda tespit edilmiş olup, S.<sup>1, 2, 5</sup> kodlu olanlar inokulasyon sonrası köklerden elde edilen bileşikler arasında yer almıştır (Çizelge 4.5).

#### **4.4.5. İnokulasyon Süresince Kök Akıntılarında ve Sonrasında Köklerde Ortaya Çıkan Bileşiklerin Ayçiçeği Mildiyösü Etmeninin Sporangium Boşalmasına Etkisinin Toplu Analizi**

İnokulasyon süresince ve sonrasında ortaya çıkan bileşikler ayçiçeği mildiyösü etmenine farklı seviyelerde sporangium boşalmasına etkisi olan fraksiyonlardaki mevcudiyetine dayanarak birlikte gruplandırılmışlardır (Çizelge 4.6). Sporangium boşalmasına yüksek etki gösteren ( $\geq 50\%$ ) fraksiyonlarda yer alan ve inokulasyon süresince sadece dayanıklı hatlara ait kök akıntılarında elde edilen grupta yer alan bileşikler incelendiğinde 6 adet alkol, 5 adet aldehit, 10 adet alkan, 2 adet alken, 2 adet alkil halojenür, 2 adet amid, 1 adet amin, 19 adet ester, 2 adet heterosiklik bileşik, 3 adet keton, 1 adet kükürt içeren organik bileşik, 3 adet silisyumlu bileşik, 1 adet steroid, 3 adet terpenoid tespit edildiği görülmektedir (*Grup 1a*). Sporangium boşalmasına %50'nin altında etki eden, inokulasyon süresince kök akıntılarında elde edilen ve yalnızca hassas hatlara spesifik olduğu tespit edilen bileşikler ise *Grup 1b*'de verilmiştir.

Yine sporangium boşalmasına yüksek etki gösteren ( $\geq 50\%$ ) fraksiyonlarda yer alan ve inokulasyondan sonra sadece dayanıklı ayçiçeği hatlarına ait köklerden elde edilen grupta yer alan bileşikler incelendiğinde 29 adet alkol, 7 adet aldehit, 23 adet alkan, 5 adet alken, 8 adet alkil halojenür, 29 adet amid, 16 adet amin, 76 adet ester, 5 adet yağ asidi, 69 adet heterosiklik bileşik, 6 adet keton, 12 adet fenolik bileşik, 3 adet kükürt içeren organik bileşik, 2 adet silisyumlu bileşik, 6 adet spiro türevi bileşik, 10 adet steroid, 18 adet terpenoid tespit edildiği görülmektedir (*Grup 2a*). Sporangium boşalmasına %50'nin altında etki eden, inokulasyon sonrası köklerden elde edilen ve yalnızca hassas hatlara spesifik olduğu tespit edilen bileşikler ise *Grup 2b*'de verilmiştir.

Hem inokulasyon süresince kök akıntılarında hem de inokulasyon sonrası köklerden elde edilen ve sporangium boşalmasına yüksek etkili bulunan fraksiyonlarda yer alan dayanıklı hatlara ait bileşiklerden bazıları her iki grupta da (*Grup 1a* ve *Grup 2a*) tespit edilmiştir. Alkol (Alc.<sup>20</sup>), aldehit (Ald.<sup>12</sup>), alkan (Alk.<sup>57</sup>), alkil halojenür (AlH.<sup>12</sup>) ve ester (Es.<sup>105</sup>) grubu bileşiklerden birer adedinin her iki grupta da yer aldığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. İnokulasyon süresince ve sonrasında ortaya çıkan, farklı seviyelerde sporangium boşalmasına etkisi olan fraksiyonlardaki bileşiklerin gruplandırılması

Bileşik Grupları ve Numaraları *	
<b>Grup 1</b>	
<b>a</b>	<b>Alc</b> <sup>13, 17, 20, 28, 30, 40</sup> , <b>Ald</b> <sup>1, 6, 12, 14, 17</sup> , <b>Alk</b> <sup>5, 16, 17, 35, 39, 45, 46, 50, 57, 66</sup> , <b>Alke</b> <sup>9, 10</sup> , <b>AlH</b> <sup>2, 12</sup> , <b>Amd</b> <sup>33, 42</sup> , <b>Amn</b> <sup>4</sup> , <b>Es</b> <sup>7, 8, 17, 18, 45, 59, 71, 80, 84, 99, 101, 102, 105, 107, 113, 119, 126, 135, 136</sup> , <b>He</b> <sup>75, 85</sup> , <b>Ke</b> <sup>4, 5, 7</sup> , <b>S</b> <sup>4</sup> , <b>Si</b> <sup>3, 5, 12</sup> , <b>St</b> <sup>6</sup> , <b>Te</b> <sup>19, 21, 32</sup>
<b>b</b>	<b>Alc</b> <sup>12, 24</sup> , <b>Ald</b> <sup>3</sup> , <b>Alk</b> <sup>9, 18, 44</sup> , <b>AlH</b> <sup>3, 5</sup> , <b>Amd</b> <sup>27</sup> , <b>Es</b> <sup>122</sup> , <b>He</b> <sup>6, 74</sup> , <b>Ke</b> <sup>2, 14, 19</sup> , <b>Si</b> <sup>11</sup> , <b>St</b> <sup>10, 11</sup> , <b>Te</b> <sup>4, 26</sup>
<b>Grup 2</b>	
<b>a</b>	<b>Alc</b> <sup>1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 15, 18, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 29, 31, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 42, 46</sup> , <b>Ald</b> <sup>2, 8, 9, 11, 12, 15, 16</sup> , <b>Alk</b> <sup>1, 2, 4, 11, 15, 25, 26, 27, 29, 31, 32, 33, 34, 36, 40, 47, 49, 51, 56, 57, 60, 64, 65</sup> , <b>Alke</b> <sup>1, 2, 3, 4, 5</sup> , <b>AlH</b> <sup>3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12</sup> , <b>Amd</b> <sup>2, 4, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 19, 21, 22, 25, 26, 28, 30, 31, 32, 35, 36, 39, 41, 43, 44, 46, 47, 48, 50, 51, 52</sup> , <b>Amn</b> <sup>3, 5, 6, 9, 10, 11, 14, 16, 18, 19, 21, 25, 26, 35, 39, 40</sup> , <b>Es</b> <sup>2, 6, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 20, 24, 26, 27, 29, 30, 32, 35, 37, 38, 40, 42, 48, 49, 50, 54, 55, 56, 57, 58, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 67, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 82, 86, 87, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 96, 97, 100, 103, 105, 106, 108, 109, 111, 112, 114, 116, 117, 118, 119, 120, 122, 123, 124, 125, 128, 129, 134, 137</sup> , <b>Fa</b> <sup>1, 2, 3, 5, 6</sup> , <b>He</b> <sup>1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 17, 18, 21, 24, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 41, 44, 45, 47, 49, 51, 54, 58, 59, 60, 63, 64, 65, 67, 70, 71, 72, 73, 76, 78, 84, 81, 82, 86, 88, 90, 92, 94, 98, 102, 104, 105, 106, 108, 119, 122, 124, 125, 126, 130, 131, 135, 142</sup> , <b>Ke</b> <sup>6, 8, 11, 12, 13, 16</sup> , <b>Ph</b> <sup>1, 7, 11, 13, 17, 18, 19, 21, 22, 24, 25, 30</sup> , <b>S</b> <sup>1, 2, 5</sup> , <b>Si</b> <sup>6, 9</sup> , <b>Sp</b> <sup>2, 5, 6, 7, 8, 9</sup> , <b>St</b> <sup>1, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 16, 17, 18</sup> , <b>Te</b> <sup>1, 2, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 20, 23, 24, 28, 31</sup>
<b>b</b>	<b>Alc</b> <sup>14, 16, 19, 23, 32, 34, 41, 43, 44, 47</sup> , <b>Ald</b> <sup>4, 7, 10, 13</sup> , <b>Alk</b> <sup>3, 6, 7, 9, 24, 37, 41, 44, 48, 52, 53</sup> , <b>Alke</b> <sup>6, 8</sup> , <b>AlH</b> <sup>1, 7</sup> , <b>Amd</b> <sup>3, 5, 6, 7, 9, 11, 13, 18, 20, 29, 40, 49, 53</sup> , <b>Amn</b> <sup>1, 2, 4, 7, 8, 12, 13, 15, 20, 24, 27, 31, 32, 33, 34, 37</sup> , <b>Es</b> <sup>1, 3, 4, 11, 13, 19, 22, 23, 25, 28, 31, 34, 36, 43, 45, 52, 53, 62, 68, 69, 74, 81, 83, 85, 95, 98, 110, 115, 121, 127, 130, 131</sup> , <b>Fa</b> <sup>4</sup> , <b>He</b> <sup>3, 7, 19, 22, 25, 31, 40, 42, 43, 46, 48, 50, 52, 53, 55, 56, 57, 61, 68, 79, 80, 87, 93, 101, 107, 109, 112, 113, 117, 118, 120, 121, 127, 132, 136, 137, 138, 140, 141</sup> , <b>Ke</b> <sup>3, 10, 15, 17</sup> , <b>Ph</b> <sup>2, 3, 5, 9, 10, 14, 15, 23, 26, 27, 28, 29</sup> , <b>Si</b> <sup>7, 8</sup> , <b>St</b> <sup>2, 3, 4, 5, 15</sup> , <b>Te</b> <sup>3, 16, 27, 29, 30</sup>

*Grup 1* İnokulasyon süresince kök akıntılarında elde edilen bileşikler

a) %50'nin üzerinde anti-oomycete etki gösteren ve yalnızca dayanıklı hatlardan elde edilen bileşikler

b) Yalnızca hassas hatlardan elde edilen ve sporangium boşalmasına etkili olmayan (<%50) bileşikler

*Grup 2* İnokulasyon sonrası köklerden elde edilen bileşikler

a) %50'nin üzerinde anti-oomycete etki gösteren ve yalnızca dayanıklı hatlardan elde edilen bileşikler

b) Yalnızca hassas hatlardan elde edilen ve sporangium boşalmasına etkili olmayan (<%50) bileşikler

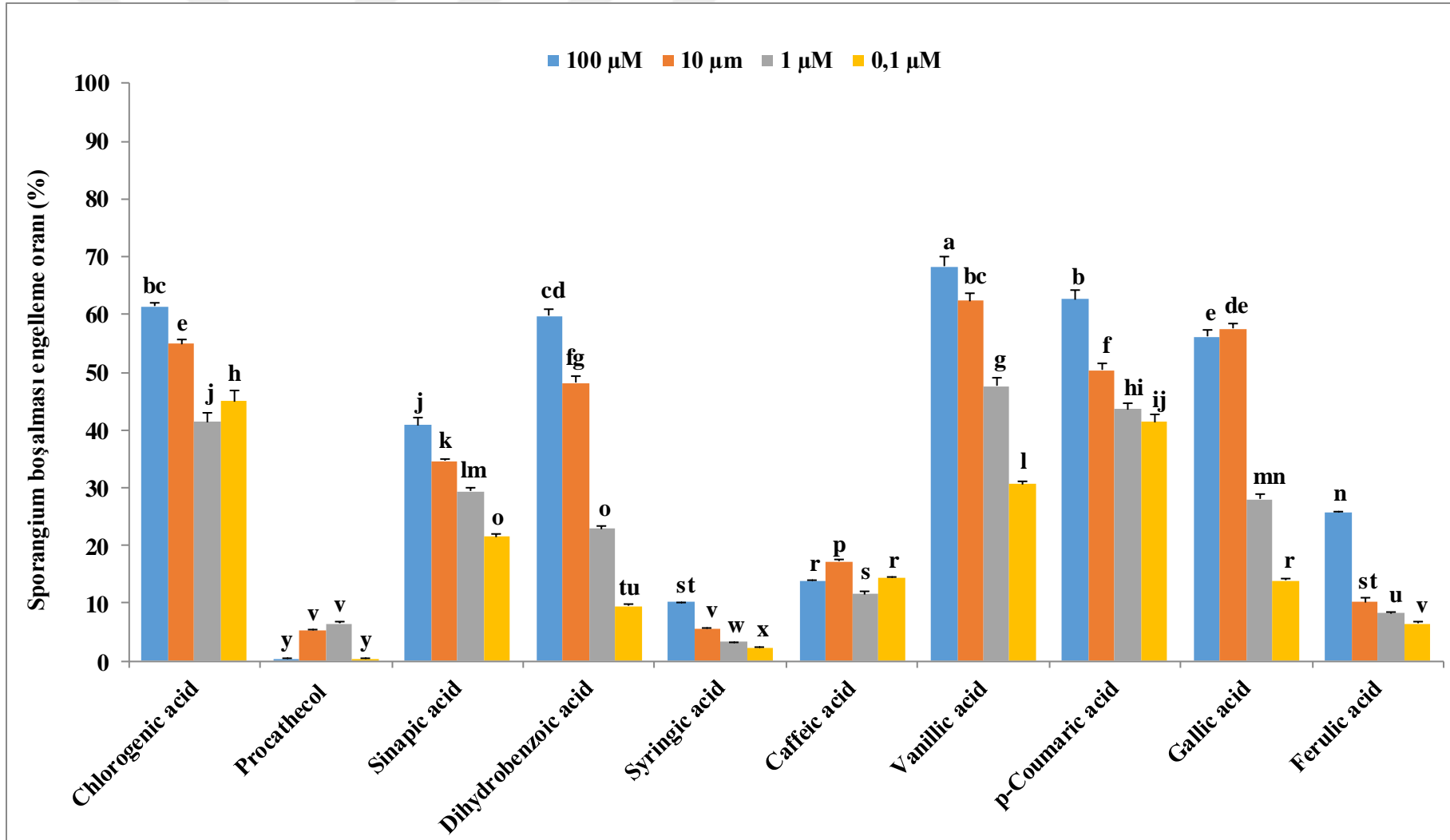
\* *Bileşiklerin isimleri için Çizelge 4.4 ve 4.5'e bakınız.*

#### 4.4.6. LC-MS/MS Analizleri

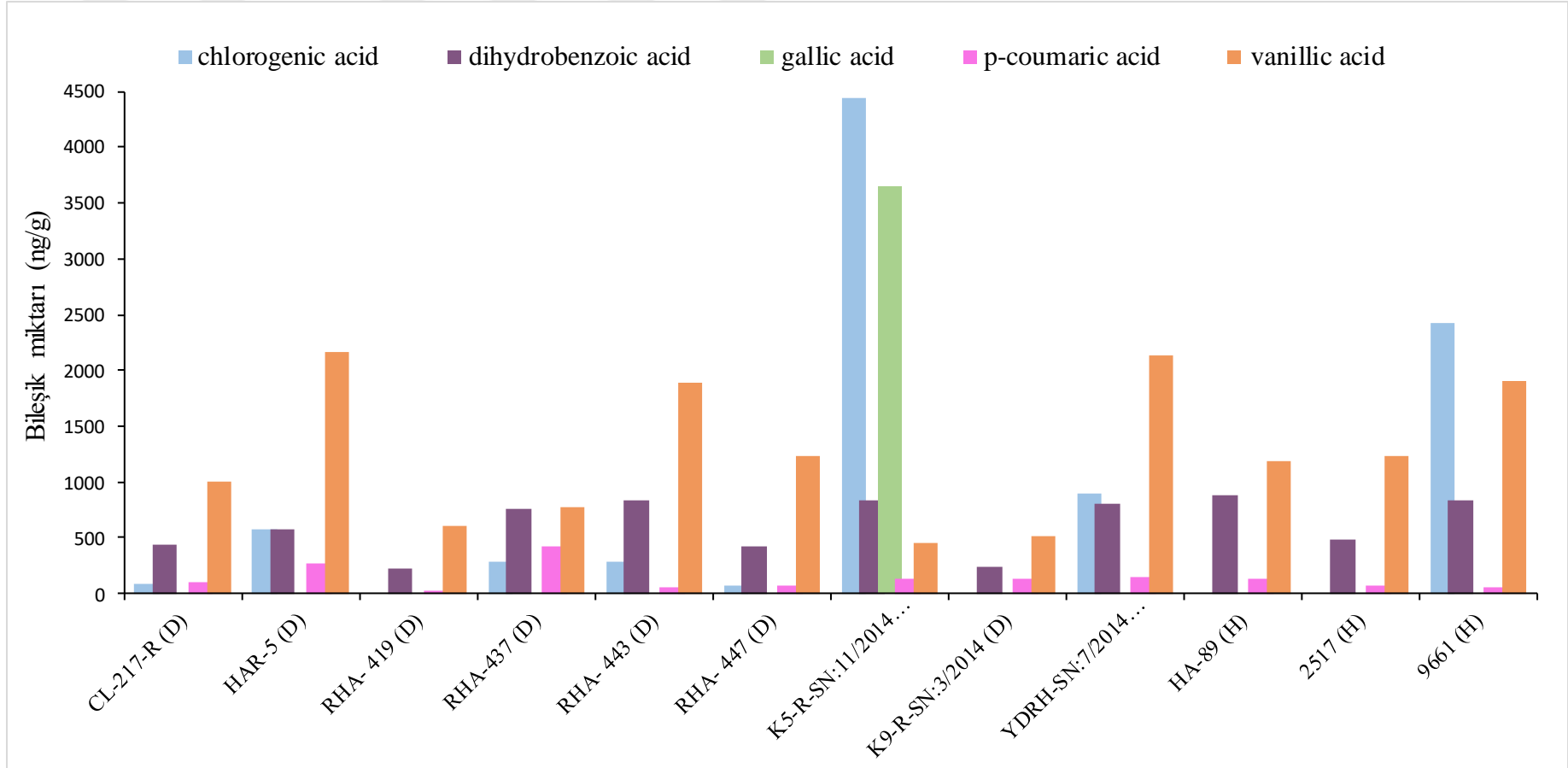
Kök ekstraktlarında uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin belirlenmesi LC-MS/MS ile gerçekleştirilmiştir. Test edilen fenolik maddelerden chlorogenic acid, dihydrobenzoic acid, vanillic acid, p-coumaric acid ve gallic acid'in sporangium boşalmasını %50'nin üzerinde engel olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Söz konusu bileşikler LC-MS/MS cihazında yapılan analizlerde standart olarak kullanılmıştır.

#### 4.4.7. İnokulasyon Süresince Kök Akıntılarında Fenolik Maddelerin Üretimi

Kök akıntılarında uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılması amacıyla LC-MS/MS analizleri yapılmıştır. Daha önce belirtildiği gibi sporangium boşalmasına %50'nin üzerinde engel olduğu tespit edilen standartlar kullanılmıştır. Kök akıntılardan elde edilen bileşikler arasında gallic acid yalnızca K5 R SN:11/2014 hattında ortaya çıkmıştır (Ek Şekil 6). Yine aynı hatta ait ekstraktlarda sporangium boşalmasına etki eden tüm standart bileşikler belli miktarlarda ortaya çıkmıştır. RHA 447 dayanıklı hattına ait ekstraktlarda vanillic acid miktarının HA 89 hassas hattına ait olanlardan yüksek olduğu, RHA 443 dayanıklı hattına ait ekstraktlarda 2517 ve HA 89 hattına ait olanlardan yüksek olduğu görülmektedir. HAR 5 (Ek Şekil 7) ve YDRH SN:7/2014 dayanıklı hatlarına ait ekstraktlarda ise söz konusu bileşiğin miktarının tüm hassas hatlara ait örneklerdeki miktarlardan fazla olduğu tespit edilmiştir. En yüksek vanillic acid miktarı ise 2160 ng/g ile HAR 5 dayanıklı hattında ortaya çıkmıştır. Dihydrobenzoic acid miktarı sırasıyla RHA 443 ve K5-R- SN:11/2014, YDRH SN:7/2014, RHA 437, HAR 5 dayanıklı hatlarında 2517 hassas hattına göre daha yüksektir (Ek Şekil 8). Yalnızca inokulasyon süresince kök akıntılarında ortaya çıkan p- coumaric acid miktarı en fazla RHA 437 hattında ortaya çıkmıştır. Söz konusu bileşiğin HAR 5 ve YDRH SN:7/2014 dayanıklı hatlarında da hassas hatlardaki miktarlardan yüksek olduğu görülmektedir. CL 217 R, K5 R SN:11/2014 ve K9 R SN:3/2014 dayanıklı hatlarındaki p-coumaric acid miktarı ise 2517 ve 9661 hassas hatlarından yüksektir. K5 R SN:11/2014 hattına ait chlorogenic acid miktarının (Ek Şekil 9) tüm hassas hatlardan daha yüksek miktarda olduğu gözlenirken sırasıyla YDRH SN:7/2014, HAR 5, RHA 443 ve RHA 437, CL 217 R ve RHA 447 hassas hatlar 2517 ve HA 89'da ortaya çıkan miktardan yüksektir (Şekil 4.8).



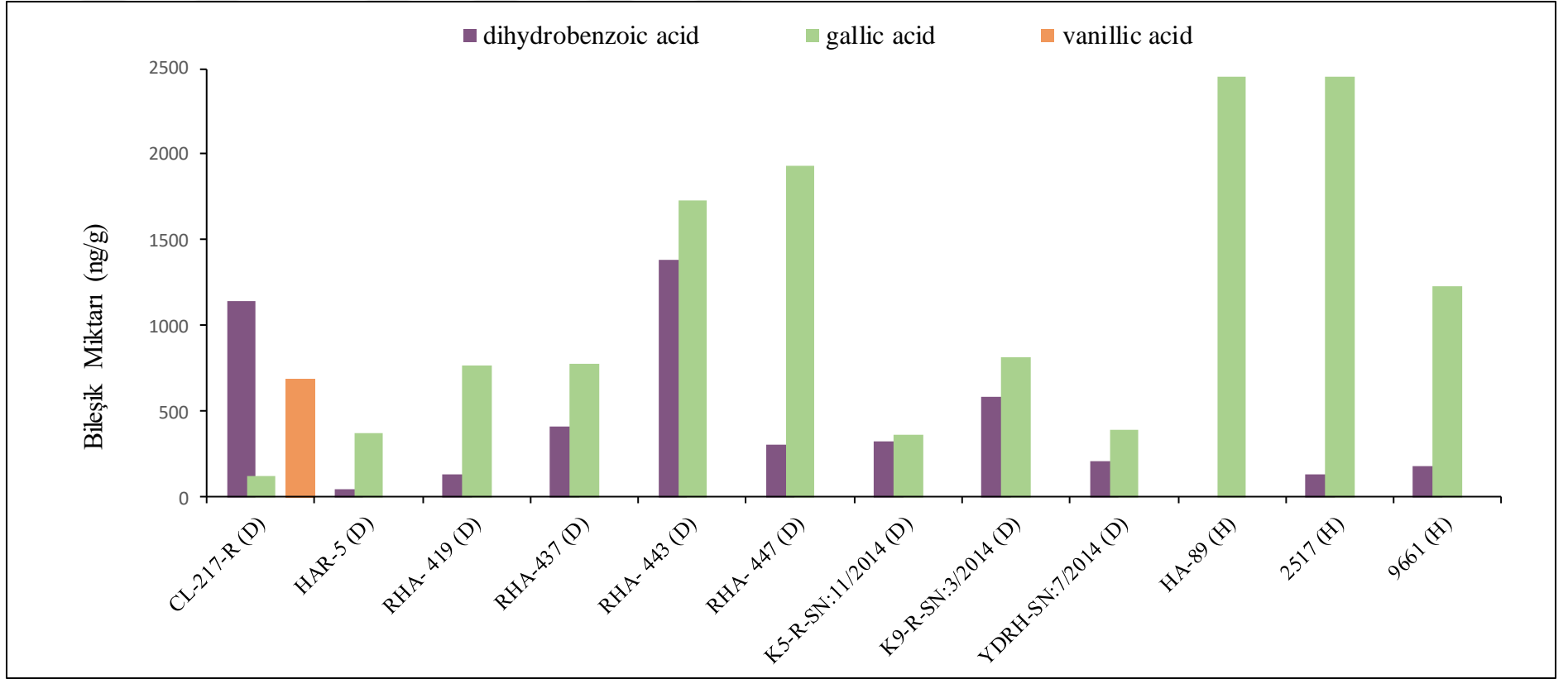
Şekil 4.7. Standart fenolik bileşiklerin sporangium boşalmasına etkisi. Her bir değer üç tekrarı ortalamasını ve standart hata ( $\pm$ ) göstermektedir. Her bir fenolik bileşik içinde farklı harflerle gösterilen değerler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre ( $P \leq 0.05$ ) birbirinden önemli derecede farklıdır



Şekil 4.8. İnokulasyon süresince kök akıntularından elde edilen, dayanıklı ve hassas hatlarda ortaya çıkan fenolik maddeler

#### 4.4.8. İnokulasyondan Sonra Köklerde Fenolik Maddelerin Üretimi

Kök ekstraktlarında uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılması amacıyla LC-MS/MS analizleri yapılmıştır. LC-MS/MS analizlerinde standart bileşikler olarak fenolik maddelerden sporangium boşalmasına %50'nin üzerinde engel olduğu tespit edilen chlorogenic acid, dihydrobenzoic acid, vanillic acid, p-coumaric acid ve gallic acid (Şekil 4.9) kullanılmıştır. İnokulasyondan sonra köklerden elde edilen bileşikler incelendiğinde; gallic acidin tüm hatlarda ortaya çıktığı gözlenmiştir. RHA 447 ve RHA 443 dayanıklı hatlarına ait örneklerinde ortaya çıkan gallic acid miktarının 9661 hassas hattından elde edilen örnekte ortaya çıkan bileşik miktarından yüksek olduğu gözlenmektedir. Vanillic acid CL 217 R hattından elde edilen örnekte 690 ng/g miktarında tespit edilmiştir. Ancak diğer bitkilere ait köklerden elde edilen ekstraktlarda vanillic acide rastlanılmamıştır. Yine sporangium boşalmasını engelleyen ( $\geq 50\%$ ) bileşiklerden dihydrobenzoic acid HA 89 hassas hattı hariç tüm örneklerde tespit edilmiştir. RHA 447, RHA 443, RHA 437, CL 217 R (Ek Şekil 10), K5 R SN:11/2014 (Ek Şekil 11), YDRH SN:7/2014 ve K9 R SN:3/2014 (Ek Şekil 12) hatlarına ait örneklerden elde edilen dihydrobenzoic acid miktarının hassas hatlar 2517 (Ek Şekil 13), 9661 ve HA 89'dan elde edilenlere göre yüksek olduğu görülmektedir. HAR 5 dayanıklı hattında ortaya çıkan dihydrobenzoic acid miktarının HA 89 hassas hattından fazla olduğu görülürken; RHA 419 dayanıklı hattındaki miktarın ise 2517 hattından elde edilen bileşik miktarıyla aynı olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmada standart bileşiklerden sporangium boşalmasını ( $\geq 50\%$ ) engelleyen p-coumaric ve chlorogenic acid bileşiklerine ise inokule edilmiş köklerden elde edilen ekstraktlarda rastlanmamıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. İnokulasyondan sonra dayanıklı ve hassas hatlarda ortaya çıkan fenolik maddeler



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ayçiçeği mildiyösü ülkemizde ve dünyada ayçiçeği bitkisinin en önemli fungal hastalığı olmakla birlikte günümüzde bilinen 50 adet ırkının bulunması ve kimyasal mücadelesinde etkili maddeye karşı oluşan direnç, hastalıkla mücadelede zorluklar oluşturmaktadır. Ayçiçeği mildiyösü (*P. halstedii*)'nün ülkemizde ve dünyada bulunan ırklarının çeşitliliği ile ilgili yapılan bir çalışmada, Türkiye'de 2007 yılından önce toplam 9 ırk tespit edildiği (300, 330, 700, 703, 710, 713, 730, 770 ve 774) belirtilmiştir (Viranyi, Gulya ve Tourvieille, 2015). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise 6'sı farklı olmak üzere 9 farklı ırkının (100, 102, 110, 300, 500, 502, 510, 702 ve 712 ) varlığı tespit edilmiştir (Oksal, 2014). Bu çalışmada ise Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerine ait 2'şer lokasyondan toplanan ve inokulum kaynağı olarak kullanılan örnekler Gulya vd. (1998) ve Tourvieille vd. (2000) tarafından geliştirilen 3'lü kod sistemine göre ırk ayırıcı set kullanılarak değerlendirilmiş olup 5 farklı ırk tespit edilmiştir (704, 705, 735, 715, 774). Bu çalışmada tespit edilen ırklar ile birlikte ülkemizde toplam 21 ırkın bulunduğu belirlenmiştir. Çalışmalarımız sonucunda belirlenen ırklardan 4'ü (704, 705, 735, 715) ülkemiz için ilk kayıt niteliğindedir.

Bu patojen ile mücadelede kültürel önlemlerle birlikte dayanıklı çeşit kullanımı önerilmektedir. Dolayısıyla ülkemizde ve dünyada yürütülmekte olan çalışmalar çoğunlukla dayanıklı çeşit geliştirme üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak ayçiçeği mildiyösü etmeni *P. halsitedii*'nin yeni ırklarının ortaya çıkışı dayanıklı çeşit geliştirme süreci içerisinde olabilmekte, bu nedenle de ayçiçeği mildiyösüyle mücadelede alternatif yöntemlerin araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tez çalışmasında ayçiçeği mildiyösüne karşı dayanıklılık genlerine sahip olduğu bilenen bazı hatlar ile herhangi bir dayanıklılık geni içermeyen hassas hatların morfolojik ve biyokimyasal özelliklerinin hastalığa karşı dayanıklılıktaki rolü incelenmiştir.

Pasif dayanıklılıkta rol oynayan morfolojik özelliklerden olan stoma büyüklüğü (Onoğur, 1996)'un da belirttiği üzere ayçiçeği mildiyösü gibi stomalardan giriş yapan patojenlerde etmenin girişinde ve dolayısıyla dayanıklılıkta önemlidir. Bu amaçla dayanıklı ve hassas hatlara ait 12 farklı bitkiden alınan yaprak diskleri üzerinde stoma en, boy ve stoma açıklığı ölçümleri yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda en ve boy değerlerinde önemli bir farklılık görülmezken, dayanıklı hatlardan RHA 419, K9 R SN: 3/2014, K5 R SN-11/2014 ve

CL 217 R stoma açıklığı değerleri bakımından diğer hatlara göre oldukça küçük olduğu belirlenmiştir. Bu durumun söz konusu hatlarda etmenin stomalardan bitkiye girişini güçleştirmiş olması nedeniyle hastalık gelişiminin engellenmiş olabileceği düşünülmektedir.

Ayçiçeği mildiyösünün neden olduğu büyük ekonomik kayıplar her ne kadar primer enfeksiyonlar (kök enfeksiyonları) nedeniyle olsa da karantinaya tabi olan etmenin sekonder enfeksiyonların yol açabileceği tohumla yayılma riski gibi problemler de göz ardı edilememektedir. Bu çalışmada materyal olarak seçilen dayanıklı ve hassas hatlar yaprak inokulasyonuna tabi tutularak sekonder enfeksiyon oranları da değerlendirmeye alınmıştır. Sekonder enfeksiyon değerlendirmesinde floresan mikroskop görüntüleri de incelenmiş, stomalardan giriş yapan etmenin gözle görülemeyen enfeksiyon gelişimi de incelemiştir. Bu aşamada HAR 5, RHA 419, RHA 437, RHA 447 dayanıklı hatlarında sporulasyon gözlenmemiştir. Bununla birlikte stoma ölçümleri ile sporulasyon arasında ilişki olup olmadığını belirlemek amacıyla korelasyon analizi yapılmıştır ve aralarındaki ilişki önemli bulunmamıştır.

Bu tez çalışmasında ayçiçeği mildiyösu etmeni *Plasmopara halsitedii* ile inokule edilen bazı dayanıklı ve hassas ayçiçeği hatlarında, inokulasyon süresince meydana gelen kök akıntılarında ve inokulasyondan sonra köklerde ortaya çıkan fraksiyonlar farklı Rf değerlerinde sınıflandırılmıştır. Elde edilen sonuçlar dayanıklı hatlarda oluşan fraksiyonların sporangium boşalmasını ( $\geq 50\%$ ) engellediği tespit edilmiştir. Bitkilere ait kök ve kök akıntılarında elde edilen bu fraksiyonların farklı bileşik içermekte olduğu ve içerikleri incelendiğinde bazılarının yüksek anti-oomycete özellikte olduğu bazılarının ise düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan analizler (GC/MS) sonucunda kök ve kök akıntılarında toplamda 17 farklı bileşik ortaya çıkmıştır. Bu bileşikler arasında heterosiklik bileşikler toplamda 142 adet ile en büyük grubu oluştururken onu sırasıyla esterler, alkanlar, amidler, alkoller, aminler, terpenler, fenolik bileşikler, ketonlar, aldehitler-steroidler, alkil halojenürler-silyumlu bileşikler, alkenler, spiro türevi bileşikler, yağ asitleri, kükürtlü organik bileşikler takip etmiştir. Yapılan çalışmalarda alkanlar, yağ asitleri ve esterlerin savunma sinyalizasyonunda önemli rol oynadığı öne sürülmüştür, Ayçiçeği mildiyösu gibi obligat bir patojen olan küllleme etmeninin konidi çimlenmesine karşı anti-oomycete etki gösterdiği ve bağ küllemesi üzerine yapılmış bir başka çalışmada çoğunun dayanıklı yaprak ve meyve mumsu tabakalarından elde edildiği görülmüştür. Bununla birlikte anti-oomycete etkinlik ( $>75\%$ ) gösterdiği de belirtilmiştir (Batovska vd., 2008; Hansjakob, Bischof,

Bringmann, Riederer ve Hildebrandt 2010, Hansjacob, Riedere ve Hildebrandt 2011; Özer, Şabudak, Özer ve Solak 2016; Schnee, 2008; Shah, 2005).

Choi vd., (2010)'nın *in vivo* koşullarda yapmış oldukları çalışmada yağ asitlerinin metil veya etil esterlerinin (düşük alkil yağ asidi esterleri) beş bitki patojenine (*Magnaporthe oryzae*, *Rhizoctonia solani* AG1, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *B. graminis* f. sp. *hordei*) anti-oomycete etkilerini incelemiştir. Araştırmacılar, bunlar içerisinde Methyl palmitate, Ethyl palmitate, Methyl oleate, Ethyl oleate, Methyl linoleate ve Methyl linolenate'nin arpa küllleme hastalığına (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) karşı yüksek anti-oomycete etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise Ethyl oleate (Es.<sup>45</sup>) inokulasyon süresince kök akıntılarında elde edilen K5 R SN:11/2014 dayanıklı hattında görülürken, hassas hatlarda görülmemiştir. İnokulasyon sonrası köklerden elde edilen fraksiyonlarda ise yalnızca HA 89 ve 9661 hassas hatlarında tespit edilmiştir. Ethyl palmitate (Es.<sup>46</sup>) inokulasyon süresince kök akıntılarında elde edilen fraksiyonlarda da inokulasyon sonrası köklerden elde edilen fraksiyonlarda da hem dayanıklı hem de hassas hatlarda tespit edilmiştir.

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda fenolik bileşiklerin, pek çok bitki patojenine karşı dayanıklılığı teşvik eden gruplardan biri olduğu belirtilmektedir (Hunt vd., 1997; Sticher Mauch-Mani ve Metraux, 1997; Soylu, Bennett ve Mansfield, 2002; Soylu, 2006; Soylu, 2008; Özer vd., 2016). Ayçiçeği mildiyösü etmeni ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmasa da bağ küllemesi etmeni üzerinde yapılan çalışmalar asma yaprak ve meyvelerinde bulunan fenolik bileşik içeriklerinin bağda külllemeye karşı dayanıklılıkta önemli rol oynadığını göstermekte olup özellikle dirençli çeşitlerde fenolik madde miktarının da fazla olduğu belirtilmektedir (Satisha, Doshi ve Adsule, 2008). Özer vd., (2016)'nin asma yaprak ve meyvesinde bulunan mumsu tabakanın bağ küllmesine (*Erysiphe necator*) karşı dayanıklılıktaki rolü üzerine yapmış oldukları çalışmada dirençli çeşitlerin yaprak veya meyve elde edilen fenolik bileşikler mumlarından yüksek anti-oomycete aktivite gösterdiği belirtilmektedir. Bu tez çalışmasında ise bazı ayçiçeği hatlarının ayçiçeği mildiyösü etmeni (*P. halstedii*) ile inokulasyonu sonrası köklerden elde edilen bileşiklerin GS/MS analizi sonucunda hem dayanıklı hem de hassas bitkilerde fenolik bileşikler tespit edilmiştir. Bunlardan yalnızca dayanıklı hatlarda bulunan Ph. 1, 7, 11, 13, 17, 18, 19, 21, 22, 24, 25, 30 kodlu (sırasıyla Acitretin; Bis(Trimethylsilyl) Bisphenol A; 2,4-Di-Tert-Butyl-6-(Tert-Butylamino) Phenol; 1,3-Diphenoxybenzene; Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-;

Phenol, 4,4'-[thiobis[[3-(acetyloxy)-2-(2-methoxyphenoxy)propylidene]oxy]]bis[2-methoxydiacetate; Phenol, 4-methoxy-2-(7,8-dimethylbenzo[e]dithiepan-3-yl)-; Thebenine; 4-t-Butyl-.alpha.,.alpha.'-bis(dimethylamino)-2,6-xilenol; 1-Tert-Butyl-4-(2-Ethoxyethoxy)Benzene; 2-Tert-Butyl-4-Methyl-6-(1-Methyl-1-Phenylethyl) Phenol; Trimethylsilyl-di(trimethylsiloxy)-silane) fenolik bileşiklerin sporangium boşalmasını engellediği ( $\geq 50\%$ ) tespit edilen fraksiyonlarda yer aldığı görülmüştür.

İnokulasyon süresince kök akıntılarında ve inokulasyondan sonra köklerde GC/MS analizi sonucunda dayanıklı hatlardan elde edilen bileşikler toplu olarak değerlendirildiğinde; inokulasyon süresince kök akıntılarında ortaya çıkan ve yüksek anti-oomycete etki gösteren fraksiyonlardaki alkol, aldehit, alkan, ester ve terpen grubundaki bileşiklerin sayısı (*Grup 1a*) düşük anti-oomycete etki gösteren ve hassas hatlardan elde edilen aynı gruplarda yer alan bileşiklerin sayısından (*Grup 1b*) fazla bulunmuştur. Alken, amin ve kükürtlü organik bileşik grubundan bileşikler (Alke.<sup>9, 10</sup>; Amn.<sup>4</sup>; S.<sup>4</sup>) yalnızca dayanıklı hatlardan elde edilen ve yüksek anti-oomycete etki gösteren fraksiyonlarda yer alırken (*Grup 1a*) yalnızca hassas hatlardan elde edilen ve düşük anti-oomycete etki gösteren fraksiyonlarda (*Grup 1b*) bu kimyasal gruplar görülmemiştir (Çizelge 4.6).

Çalışmada, GC/MS analizleri sonucunda ayçiçeği hatları *P. halstedii* ile inokule edildikten sonra yalnızca dayanıklı ayçiçeği hatlarına ait köklerde tespit edilen ve yüksek anti-oomycete etki ( $\geq 50\%$ ) gösteren *Grup 2a*'da yer alan alkol, aldehit, alken, alkil halojenür, amid, ester, yağ asidi heterosiklik bileşik, keton, steroid ve terpen grubundan bileşiklerin sayısının, yalnızca hassas hatlardan elde edilen ve düşük ( $< 50\%$ ) anti-oomycete etki gösteren *Grup 2b*'de yer alanlardan daha fazla olduğu görülmüştür. *Grup 2a*'da yer alan kükürtlü organik bileşik grubu (S.<sup>1,2,5</sup>) ve spiro türevi grubunun (Sp.<sup>2,5,6,7,8,9</sup>) yalnızca dayanıklı hatlardan elde edilen köklere ait fraksiyonlarda ortaya çıktığı; hassas hatlardan elde edilen ve düşük anti-oomycete etki gösteren *Grup 2b*'de söz konusu kimyasal grupların yer almadığı görülmüştür.

Bazı ayçiçeği hatlarının ayçiçeği mildiyösü ile inokulasyon süresince kök akıntılarında ve inokulasyondan sonra köklerde meydana gelen, ardından yapılan GC/MS analizlerinde tespit edilen bileşiklerden bazılarının her iki grupta da yer aldığı görülmüştür. Bunlardan 2-ethyl-2-methyl-tridecanol (Alc.<sup>20</sup>), Nonanal (Ald.<sup>12</sup>), 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane (Alk.<sup>57</sup>), 2-(1-Ethoxy-ethoxy)-1,1,1-trifluoro-4-iodobutane (AIH.<sup>12</sup>), 9-Octadecenoic acid (Z),

2-hydroxy-3-[(1-oxooctadecyl)oxy]propyl ester (Es.<sup>105</sup>)'in sadece dayanıklı hatlardan elde edilen ve sporangium boşalmasını engelleyen ( $\geq 50\%$ ) fraksiyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin ticari formları ile etmenin mücadelesine yönelik yapılacak çalışmaların, hastalığa karşı alternatif mücadele yöntemlerine ışık tutacağı düşünülmektedir.

Ayçiçeği mildiyösü etmeni ile inokule edilen dayanıklı ve hassas hatlardan inokulasyon süresince kök akıntılarında ve inokulasyondan sonra köklerde üretilen fenolik maddelerin üretimini tespit edilmesi amacıyla LC-MS/MS analizleri yapılmıştır. Sporangium boşalmasına %50'nin üzerinde engel olduğu tespit edilen chlorogenic acid, dihydrobenzoic acid, vanillic acid, p-coumaric acid ve gallic acid standart bileşikleri kullanılmıştır ve değerlendirmeler sonucunda; inokulasyon süresince kök akıntılarında tüm standart bileşiklerin tespit edildiği K5 R SN:11/2014 dayanıklı hattının öne çıktığı görülmüştür. İnokulasyondan sonra köklerde ise dihydrobenzoic acid, gallic acid ve vanillic acid bulunduğu tespit edilen CL 217 R dayanıklı hattının öne çıktığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında incelenmiş olan ve bitkiye kökten giriş yapan ayçiçeği mildiyösü etmeni ile mücadelede dayanıklılıkta rol oynayan, sporangium boşalmasına engel olabilecek bileşikler belirlenmiştir. Bununla birlikte yalnızca dayanıklı ayçiçeği hatlarından elde edilen ve yüksek anti-oomycete etki gösteren bileşiklerin tespit edildiği fraksiyonları sergileyen dayanıklı ayçiçeği hatlarının ayçiçeği mildiyösüne karşı dayanıklı çeşit geliştirme çalışmalarında ıslah materyali olarak kullanılması önerilebilir. Stoma açıklığı, sekonder enfeksiyon yoğunluğu ve biyokimyasal içerikleri açısından incelenen tüm hatlar arasında CL 217 R, HAR 5, K5 R SN:11/2014 ve K-9 R-SN:3/2014 dayanıklı hatları öne çıkan ayçiçeği hatları olmuştur. Dolayısıyla bu tez çalışmasının sonucunda elde edilen verilere göre belirtilen hatların biyokimyasal yapısına ait genetik özelliklerinin de ortaya konması gerekmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Alsaadawi, I.S., Sarbout, A.K. ve Al-Shamma, L.M. (2012). Differential allelopathic potential of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes on weeds and wheat (*Triticum aestivum* L.) crop. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 58(10), 1139-1148.
- Bais, H. P., Park, S. W., Weir, T. L., Callaway, R. M. ve Vivanco, J. M. (2004). How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science* 9(1), 26-32.
- Bais, H. P., Prithviraj, B., Jha, A. K., Ausubel, F. M. ve Vivanco, J. M. (2005). Mediation of pathogen resistance by exudation of antimicrobials from roots. *Nature*, 434, 217-221.
- Bais, H. P., Walker, T. S., Schweizer, H. ve Vivanco, J. M. (2002). Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 40(11), 983-995
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S. ve Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233-266.
- Batowska D. I., Todorova I. T., Nedelcheva D. V., Parushev S. P., Atanassov A. I., Hvarleva T. D., Djakova G. J., Bankova V. S. ve Popov S. S. (2008). Preliminary study on biomarkers for the fungal resistance in *Vitis vinifera* leaves. *Journal of Plant Physiology*, 165(8), 791-795.
- Bennett, M. H. ve Wallsgrave, R. M. (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, 127(4), 617-633.
- Bonkowski, M. (2004). Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytologist*, 162(3), 617-631.
- Buxton, E. W. (1962). Root exudates from banana and their relationship to strains of the *Fusarium* causing Panama wilt. *Annals of Applied Biology*, 50, 269-282. doi: 10.1111/j.1744-7348.1962.tb06009.x
- Choi G. J., Jang K. S., Choi Y. H., Yu J. H. ve Kim J. C. (2010). Antifungal activity of lower alkyl fatty acid esters against powdery mildews. *Plant Pathology Journal*, 26(4), 360-366.
- Cohen, Y. ve Sackston, W. E. (1974): Seed infection and latent infection of sunflower by *Plasmopara halstedii*. *Canadian Journal of Botany*, 52(1), 231-238.

- Cui, Y., Alois A. B., Oscar J. ve Clint M. (2000). Expression of potential defense response genes in cotton. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 56(1), 25-31.
- Delmotte, F., Giresse, X., Richard-Cervera, S., M'Baya, J., Vear, F., Tourvieille, J., Walser, P. ve Tourvieille de Labrouhe D. (2008). Single nucleotide polymorphisms reveal multiple introductions into France of *Plasmopara halstedii*, the plant pathogen causing sunflower downy mildew. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(5), 534-540.
- Dickinson, C. H. ve Lucas, J. A. (1982). *Plant Pathology and Plant Pathogens*. (2nd ed.). London: *Blackwell Scientific Publication*.
- Dixon, R. A. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411, 843–847.
- Döken, M. T. (1982). Erzurum yöresinde ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara helianthi* Novot.). *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(4), 55-60.
- Döken, M. T., (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. doi: 10.1111/j.1439-0434.1986.tb00942.x
- Evcı, G., Akın, K., Kaya, Y., Pekcan, V. ve Yılmaz, M.İ. (2011). Bazı ayçiçeği hatlarının Trakya Bölgesi'ndeki ayçiçeği mildiyösüne (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & De Toni.) dayanıklılıklarının belirlenmesi. *Anadolu Journal of the Aegean Agricultural Research Institute*, 21(1), 36-43.
- Fan, T. W., Lane, A. N, Pedler, J., Crowley, D. ve Higashi, R. M. (1997). Comprehensive analysis of organic ligands in whole root exudates using nuclear magnetic resonance and gas chromatography mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 251(1), 57-68.
- Friedrich, L., Lawton, K., Ruess, W., Masner, P., Specker, N., Rella ,MG., Meier, B., Dmcher, S., Staub, T., Métraux, J.P., Kessmann, H. ve Ryals, J. (1996). A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *The Plant Journal*, 10, 61-70. doi: 10.1046/j.1365-313X.1996.10010061.x.
- Food and Agriculture Organization. (2019). FAO statistical databases. Erişim adresi: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Gabbett, T., Jenkins, D. ve Abernethy, B. (2010). Physical collisions and injury during professional rugby league skills training. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 13(6), 578-583

- Ghafar, A., Saleem, B., Ul-Haq, A., Jamil, M. ve Qureshi, J. (2001). Isolation and identification of allelochemicals of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*, 3(1), 21-22.
- Godard, S., Slacanin I., Viret, O. ve Gindro, K. (2009). Induction of defence mechanisms in grapevine leaves by emodin- and anthraquinone-rich plant extracts and their conferred resistance to downy mildew. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(9), 827-837.
- Görlach, J., Volrath, S., Knauf-Beter, G., Hengy, G., Beckhove, U., Kogel, K.H., Oostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessman, H. ve Ryals, J. (1996). Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell*, 8(4), 629-643.
- Gulya, T. J. (2007, July 2-6), *Distribution of Plasmopara halstedii* races from sunflower around the world. Paper presented at Second International Downy Mildew Symposium, July 2–6, 2007, Olomouc, Czech Republic, 121-134.
- Gulya, T. J., Miler, J. F., Viranyi, F. ve Sackston, W. E. (1991). Proposed internationally standardized method for race identification of *P. halstedii*. *Helia*, 14, 11-20.
- Gulya, T. J., Tourvielle de la Brouhe D., Maširević, S., Penaud, A., Rashid, K. ve Viranyi, F. (1998, January 13-14). *Proposal for standardized nomenclature and identification of races of Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). Paper presented at ISA Symposium III: Sunflower downy mildew, Fargo (ND, United State), 130-136.
- Hale, M. G., Moore, L. D. ve Griffin, G. J. (1978). Root exudate and exudation. *In Interactions Between Non-pathogenic Soil Microorganisms and Plants*. (1st ed.) (163-203) Amsterdam: Elsevier.
- Hammerschmidt, R. ve Smith-Becker, J. A. (1999). The role of salicylic acid in disease resistance *In Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores*. (37-53). St. Paul, Minnesota: APS Press
- Hansjacob A., Bischof S., Bringmann G., Riederer M. ve Hildebrandt U., (2010). Very-longchain aldehydes promote *in vitro* prepenetration processes of *Blumeria graminis* in a dose- and chain length-dependent manner. *New Phytologist*, 188, 1039-1054. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03419.x
- Hansjacob A., Riederer M. ve Hildebrandt U., (2011). Wax matters: absence of very-longchain aldehydes from the leaf cuticular wax of the *glossy11* mutant of maize



- compromises the prepenetration processes of *Blumeria graminis*. *Plant Pathology*, 60, 1151-1161. doi: 10.1111/j.1365-3059.2011.02467.x.
- Hazarhun G. ve Özer, N. (2016). Control of sunflower downy mildew *Plasmopara halstedii* with antagonistic fungi. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 81(2), 91-97.
- Hemlal, H. ve Ravi, S. (2012). GC-MS, HPTLC and antimicrobial analysis of root extracts of *Pseudarthria viscida* Wight and Arn and *Desmodium gangeticum* (Linn) DC. *International Research Journal of Biological Sciences*, 1, 57-65.
- Hodge, A. ve Millard, P. (1998). Effect of elevated CO<sub>2</sub> on carbon partitioning and exudate release from *Plantago lanceolata* seedlings. *Plant Physiology*, 103(2), 280-286.
- Hunt M. D., Delaney T. P., Dietrich R. A., Weymann K. B., Dangl J. L. ve Ryals J. A., (1997). Salicylate-independent lesion formation in *Arabidopsis* lsd mutants. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 10(5), 531-536.
- Isaac, S. (1992). *Fungal-Plant Interactions* (1st ed.). London: Chapman & Hall.
- Jurges, G., Kassemeyer, H. ve Dürrenberger, M. (2009). The mode of interaction between *Vitis* and *Plasmopara viticola* Berk. & Curt. Ex de Bary depends on the host species. *Plant Biology*, 11(6), 886-898.
- Karel, G. (1958). *A preliminary list of Plant diseases in Turkey*. Ankara: Ayyıldız Matbaası.
- Karman, M., (1971). *Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları* (1. Basım). İzmir: T.C. Tarım Bak. Zir. Müc. ve Karantina Gn. Md. Yayınları, Mesleki Kitaplar Serisi.
- Kaya, M. D., Özcan, F., Day, S., Bayramin, S., Akdoğan, G. ve İpek, A. (2013). Allelopathic role of essential oils in sunflower stubble on germination and seedling growth of the subsequent crop. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15(2), 337-341.
- Kessmann, H., Staub, T., Hofmann, C., Maetzke, T., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S. ve Ryals, J. (1994). Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology*, 32, 439-459.
- Kim Khioak, I. L., Schneider, C., Heloir, M. C., Bois, B., Daire, X., Adrian, M. ve Trouvelot, S. (2013). Image analysis methods for assessment of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and *Plasmopara*

- viticola* development in grapevine leaves: Application to the evaluation of resistance to downy mildew. *Journal of Microbiological Methods*, 95(2), 235-244.
- Klessig, D. A. ve Malamy, J. (1994). The salicylic acid signal in plants. *Plant Molecular Biology*, 26, 1439-1458.
- Körösi K., Lazar N. ve Viranyi, F. (2009). Resistance to downy mildew in sunflower induced by chemical activators. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 44(1), 1-9.
- Lanoue, A., Burlat, V., Henkes, G.J., Koch, I., Schurr, U. ve Röse, U. S. R. (2009). De novo biosynthesis of defense root exudates in response to *Fusarium* attack in barley. *New Phytologist*, 185, 577-588. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03066.x
- Lawton, K., A., Friedrich, L., Hunt, M., Weyman, K., Delaney, T., Kessmann, H., Staub, T. ve Ryals, J. (1996). Benzothiadiazole induces disease resistance in arabidopsis by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. *The Plant Journal*, 10, 71-82. doi: 10.1046/j.1365-313X.1996.10010071.x
- Liu, R., Wang L., Zhu, J., Chen, T., Wang, Y., Xu, Y. (2015). Histological responses to downy mildew in resistant and susceptible grapevines. *Protoplasma*, 252(1), 259–270.
- Louws, F. J., Wilson, M., Campbell, H. L., Cuppels D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., Şahin, F. ve Miller, S. (2001). Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Disease*, 85(5), 481-488.
- Maden, S. (1982). Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et De Toni) yapay inokulasyonu, bunun değerlendirilmesi, inokulasyondan sonraki sıcaklığın hastalık çıkışına etkisi ve kimyasal savaşımları. *Bitki Koruma Bülteni*, 22(1), 52-58.
- Mahmoud, A. F. A. (2010). *Molecular and biological investigations of damping-off and charcoal-rot diseases in sunflower* (Doktora Tezi). Sabancı Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Molinero-Ruiz, L. (2020). Occurrence of Downy mildew in Europe and evolution of races. Paper presented at Workshop. Seville, İspanya 5-7 Kasım 2019.
- Muhammad, Z. ve Majeed, A. (2014). Allelopathic effects of aqueous extracts of sunflower on wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 46(5), 1715-1718.

- Nagaraju, A., Murali, M., Sudisha, J., Amruthesh, K. N. ve Mahadeva Murthy, S. (2012). Beneficial microbes promote plant growth and induce systemic resistance in sunflower against downy mildew disease caused by *Plasmopara halstedii*. *Current Botany*, 3(5), 12-18.
- Nagaraju, A., Sudisha, J., Mahadeva, S. ve Ito, S. (2012). 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(6), 609-620.
- Nandeeshkumar, P., Ramachandrakini, K., Prakash, H. S., Niranjana, S. R. ve Shekar Shetty, H. (2008a). Induction of resistance against downy mildew on sunflower by rhizobacteria. *Journal of Plant Interactions*, 3(4), 255-262.
- Nandeeshkumar, P., Sudisha, J., Ramachandrakini, K., Prakash, H. S., Niranjana, S. R. ve Shekar Shetty, H. (2008b). Chitosan induced resistance to downy mildew in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72(4), 188-194.
- Nelson, E. B. ve Hsu, J. S. T. (1994). Nutritional factors affecting responses of sporangia of *Pythium ultimum* to germination stimulants. *Phytopathology*, 84(7), 677-683.
- Nicholson, P. ve Hammerschmidt, R. (1992). Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 30, 369-389.
- Oksal, E. (2014). *Ayçiçeği mildiyösü etmeni Plasmopara halstedii (Farl.) Berl. & de Toni'nin Türkiye'deki ırklarının tespiti ve bazı ticari ayçiçeği çeşitlerinin bu ırlara karşı reaksiyonlarının belirlenmesi*. (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Onan, E. (1988). *Ayçiçeği mildiyösü (Plasmopara helianthi Novot)'nde hastalık oluşumu ve buna etkili faktörler üzerinde araştırmalar*. (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Onan, E. ve Karcıoğlu, A. (1988). *Ayçiçeği mildiyösü (Plasmopara helianthi Novot.) hastalığına karşı bazı preparatların etkililiği ile Metalaxyl'e karşı dayanıklılığının saptanması üzerinde araştırmalar*. V. Türkiye Fitopatoloji Kongresinde sunulan bildiri, 107, Antalya.

- Onan, E. ve Onoğur E. (1991). Studies on relation between host and pathogen of sunflower downy mildew (*Plasmopara helianthi* Novot.). *Journal of Turkish Phytopathology*, 20(1), 1-10.
- Onan, E., Çimen, M. ve Karcıoğlu, A. (1992). Fungal diseases of sunflower in Aegean Region of Türkiye. *Journal of Turkish Phytopathology*, 21(2-3), 101-107.
- Onan, E., Onoğur, E. (1990). Relation between quantity and quality of inoculum and disease severity of sunflower downy mildew (*Plasmopara helianthi* Novot.). *Journal of Turkish Phytopathology*, 19(3), 141-148.
- Onoğur, E. (1996). Basılmamış Ders Notu.
- Özer N., Şabudak T., Özer C. Gindro, K., Schnee, S. ve Solak E. (2016). Investigations on the role of cuticular wax in resistance to powdery mildew in grapevine. *Journal of General Plant Pathology*, 83(5), 316-328.
- Phillips, D. A., Fox, T. C., King, M. D., Bhuvaneshwari, T. V. ve Teuber, L. R. (2004). Microbial products trigger amino acid exudation from plant roots. *Plant Physiology*, 136(1), 2887-2894
- Ramussen, J. B., Hammerschmidt, R. ve Zook, M. N. (1991). Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiology*, 97(4), 1342-1347.
- Raskin, I. (1992). Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43, 439-463.
- Rovira, A. D. (1969). Plant root exudates. *Botanical Review*, 35, 35-57.
- Sakr, N. (2015). Phenotypical characterization in *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew) isolates of several races. *Botanica Complutensis*, 39, 7-18. doi: 10.5209/rev\_BOCM.2015.v39.49129
- Sakr, N., Mireille, D., Tourvieille, J., Walser, P., Vear, F. ve Tourvielle, D. L. (2008). Variation in form and size of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew) zoosporangia. *Mycological Progress*, 7(4), 257-265.
- Satisha J., Doshi P. ve Adsule P. G., (2008). Influence of rootstocks on changing the pattern of phenolic compounds in Thompson Seedless grapes and its relationship to the incidence of powdery mildew. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32(1), 1-9.

- Sato, D., Awad, A. A., Chae, S. H., Yokota, T., Sugimoto, Y., Takeuchi, Y. ve Yoneyama, K. (2003). Analysis of strigolactones, germination stimulants for *Striga* and *Orobanche*, by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1162–1168.
- Schnee, S., (2008). *Facteurs de résistance à l'oïdium (Erysiphe necator Schwein.) chez la vigne (Vitis vinifera L.)* (Ph.D. Thesis), Université de Neuchâtel, Switzerland.
- Seal, A. N., Pratley, J. E., Haig, T. ve An, M. (2004). Identification and quantitation of compounds in a series of allelopathic and non-allelopathic rice root exudates. *Journal of Chemical Ecology*, 30(8), 1647–1662.
- Shah, J., (2005). Lipids, lipases, and lipid-modifying enzymes in plant disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 229-260.
- Soylu, S., Bennett, M.H. ve Mansfield, J.W. 2002. Induction of phytoalexin accumulation in broad bean (*Vicia faba* L.) cotyledons following treatments with biotic and abiotic elicitors. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 26, 343-348.
- Soylu, S., Brown, I. ve Mansfield, J.W. (2005). Cellular reactions in arabidopsis following challenge by strains of *Pseudomonas syringae*: from basal resistance to compatibility. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 66, 232-243.
- Soylu, S. (2006). Accumulation of cell-wall bound phenolic compounds and phytoalexin in *Arabidopsis thaliana* leaves following inoculation with pathovars of *Pseudomonas syringae*. *Plant Science*, 170, 942-952.
- Soylu, S., (2008). Mechanisms of Disease Resistance in Plants Against Phytopathogens. In: *Biochemical Responses of Plants to Invaders*. M.E Legaz and C. Vicente, (eds.), Research Signpost, Kerala, India, ISBN: 978-81-308-0306-7. page 33-48,
- Soylu, S., Baysal, Ö. ve Soyulu, E.M. (2003). Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-s-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings. *Plant Science*, 165, 1069-1075.
- Spring, O. (2001). Non-systemic infections of sunflower with *Plasmopara halstedii* and their putative role in the distribution of the pathogen. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 108(4), 329–336.

- 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(2), 75-80.
- Spring, O. (2019). Spreading and global pathogenic diversity of sunflower downy mildew. *Plant Protection Science*, 55(3), 149-158.
- Steeghs, M., Bais, H. P., de Gouw, J., Goldan, P., Kuster, W., Northway, M., Fall, R. ve Vivanco, J. M. (2004). Proton-transfer-reaction mass spectrometry as a new tool for real time analysis of rootsecreted volatile organic compounds in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 135, 47–58. doi: 10.1104/pp.104.038703.
- Sticher L., Mauch-Mani B. ve Metraux J. P., (1997). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 35, 235-270.
- Tally, A., Oostendorp, M., Lawton, K., Staub, T. ve Bassi, B. (1999). Commercial development of elicitors of induced resistance to pathogens. *In Induced Plant Defences Against Pathogens and Herbivores* (1st ed.) (357-369). St. Paul:APS Press.
- Thordal-Christensen, H. (2003). Fresh insights into processes of nonhost resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(4), 351–357.
- Tosi, L. ve Zizzerini, A. (2000). Interactions between *Plasmopara helianthi*, *Glomus mosseae* and two plant activators in sunflower plants. *European Journal of Plant Pathology*, 106(8), 735-744.
- Tosi, L., Giovannetti, M., Zizzerini, A. ve Sbrana, C. (1993). Interaction between *Plasmopara helianthi* and arbuscular mycorrhizal fungi in sunflower seedlings susceptible and resistant to downy mildew. *Phytopathologia Mediterranea*, 32(2), 106-114.
- Tosi, L., Luigetti, R. ve Zizzerini, A. (1998). Induced resistance against *Plasmopara helianthi* in sunflower plants by DL-β-Amino-R-butyrac acid. *Journal of Phytopathology*, 146(5-6), 295-299
- Tosi, L., Luigetti, R. ve Zizzerini, A. (1999) Benzothiadiazole induces resistance to *Plasmopara helianthii* in sunflower plant. *Journal of Phytopathology*, 147(6), 365-370.
- Tourvieille, L. D., Gulya, T. J., Masirevic, S., Penaud, A., Rashid. K. Y. ve Viranyi, F. (2000). *New nomenclature of races of Plasmopara halstedii (sunflower downy mildew)*. Paper presented at fifteenth International Sunflower Conference, Toulouse, France.

- Tülek, A., Hekimhan, H. ve Akın, K. (2014). Ayçiçeği mildiyösü. Erişim adresi <http://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=76>
- Türkiye İstatistik Kurumu, (2019). TÜİK, Erişim adresi: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>
- Uren, N. C. (2000). Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. *In The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*. (1nd ed.) (19-40). New York: Marcel Dekker, Inc.,
- Viranyi, F. (1977). An improved method for detecting systemic infection of sunflower seedlings caused by *Plasmopara halstedii*. *Acta Phytopathologica Acad. Scientiarum Hungaricae*, 12(3-4), 263-267.
- Viranyi, F. (2007). The Sunflower — *Plasmopara Halstedii* Pathosystem: Natural and Artificially Induced Coevolution. *Advances in Downy Mildew Research*, 167–172. Doi: 10.1007/0-306-47914-1\_6
- Viranyi, F. ve Spring, O. (2011). Advanced in sunflower downy mildew research. *European Journal of Plant Pathology*, 129, 207–220. doi: 10.1007/s10658-010-9683-0.
- Viranyi F., Gulya T. J. ve Tourvielle D. L. (2015): Recent changes in the pathogenic variability of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew) populations in different continents. *Helia*, 38(63), 149–162.
- Walker, T. S., Bais, H. P., Halligan, K. M., Stermitz, F. R. ve Vivanco, J. M. (2003). Metabolic profiling of root exudates of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2548–2554.
- Yücer, M. M. ve Karaca, İ. (1978). Investigations on sunflower diseases in Thrace, their rate of existence, their fungal pathogens and their pathogenicity. *Journal of Turkish Phytopathology*, 7(1), 39-50.
- Zizzerini, A. (1978). Diffusion of *Plasmopara helianthi* in relation to the soil slopes. *Phytopathologia Mediterranea*, 17, 153-156.
- Zhang, L. ve Dickinson, M. (2001). Fluorescence from rust fungi: a simple and effective method to monitor the dynamics of fungal growth in planta. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 59(3), 137-141.

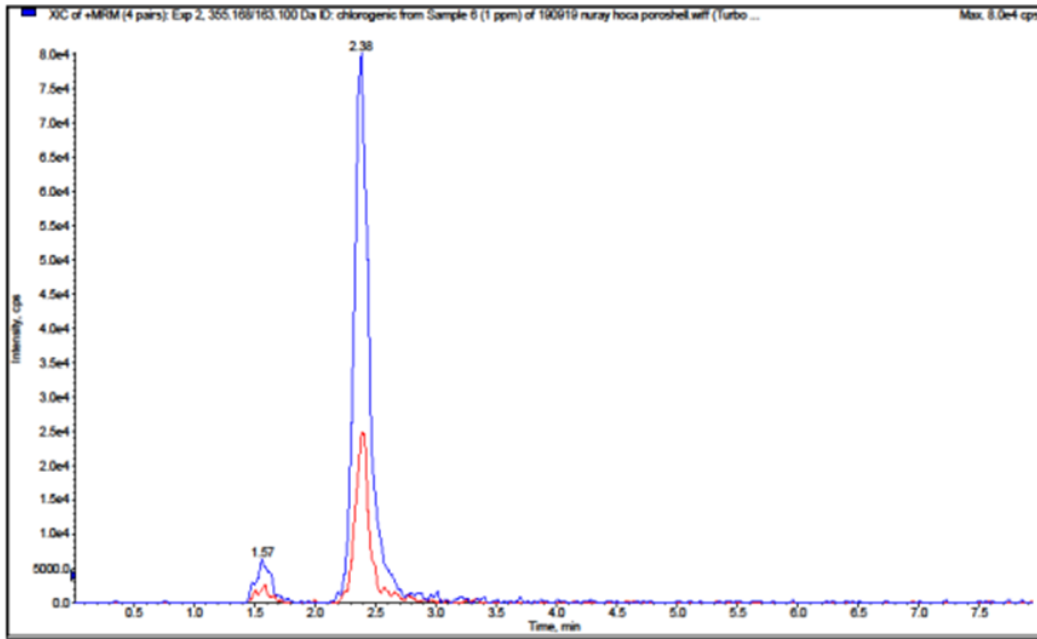
Ziraat Mühendisleri Odası. (2019). ZMO Ayçiçeği Raporu 2018 Erişim adresi: [https://www.zmo.org.tr/genel/bizden\\_detay.php?kod=30602&tipi=17&sube=0](https://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=30602&tipi=17&sube=0)

Zyprian, E., Ochßner, I., Schwander, F., Šimon, S., Hausmann, L., Bonow-Rex, M., Moreno-Sanz, P., Grando, M. S., Wiedemann-Merdinoglu, S., Merdinoglu, D., Eibach, R. ve Töpfer, R. (2016). Quantitative trait loci affecting pathogen resistance and ripening of grapevines. *Molecular Genetics and Genomics*, 291(4), 1573-1594.

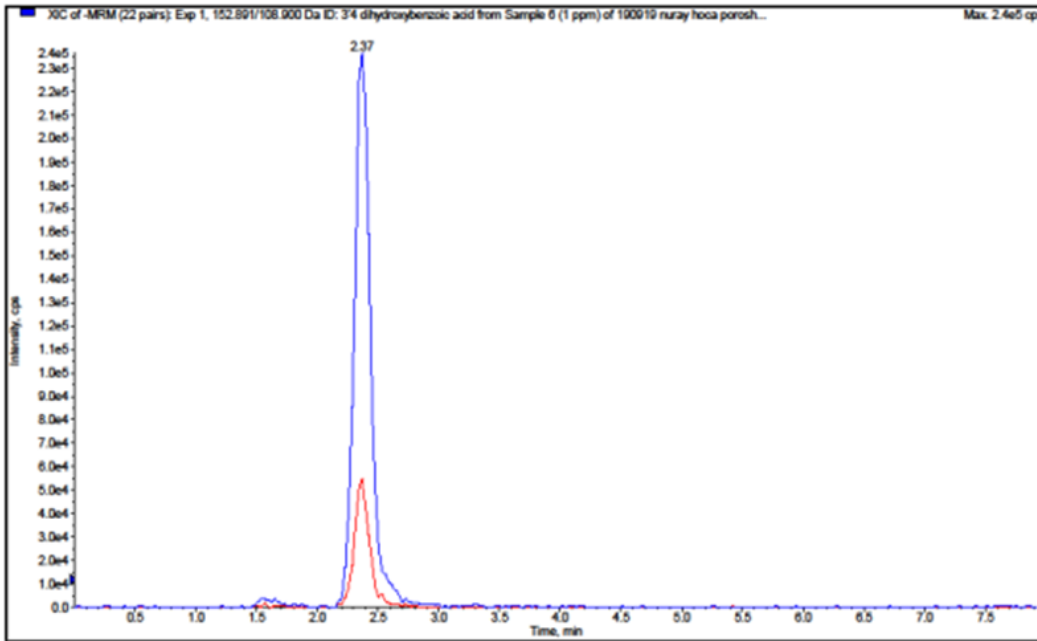




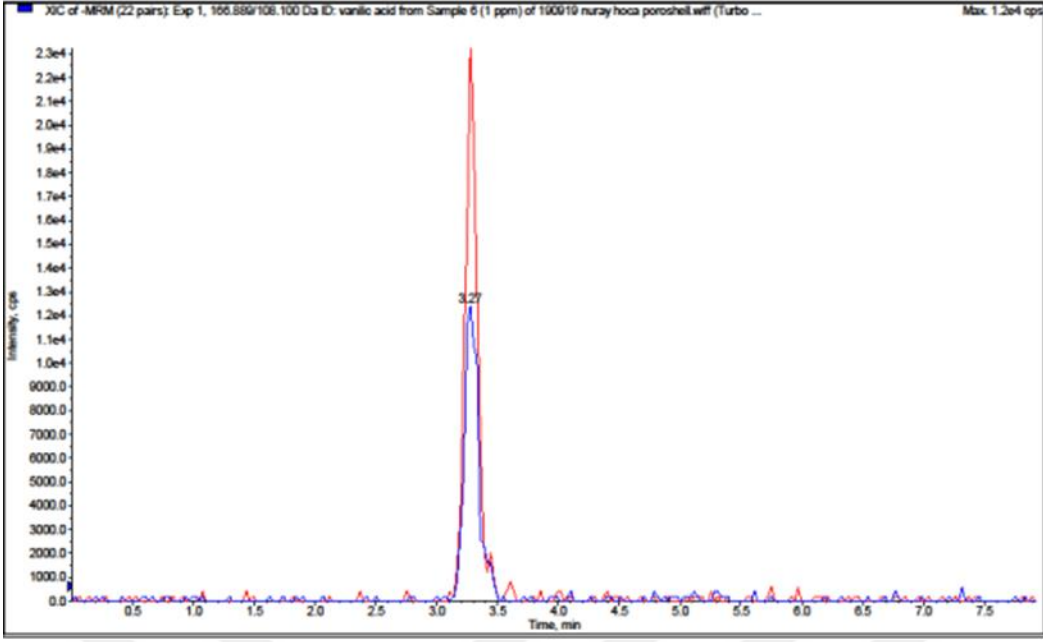
## EKLER



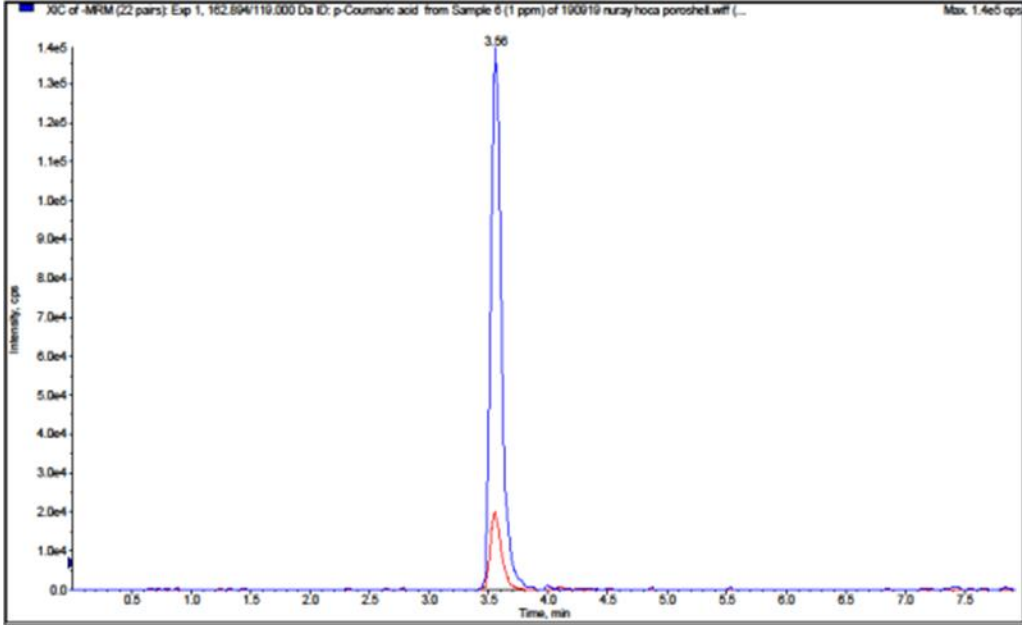
Ek Şekil 1. 1 ppm standart ile edilen Chlorogenic acid'in kütle spektrumu



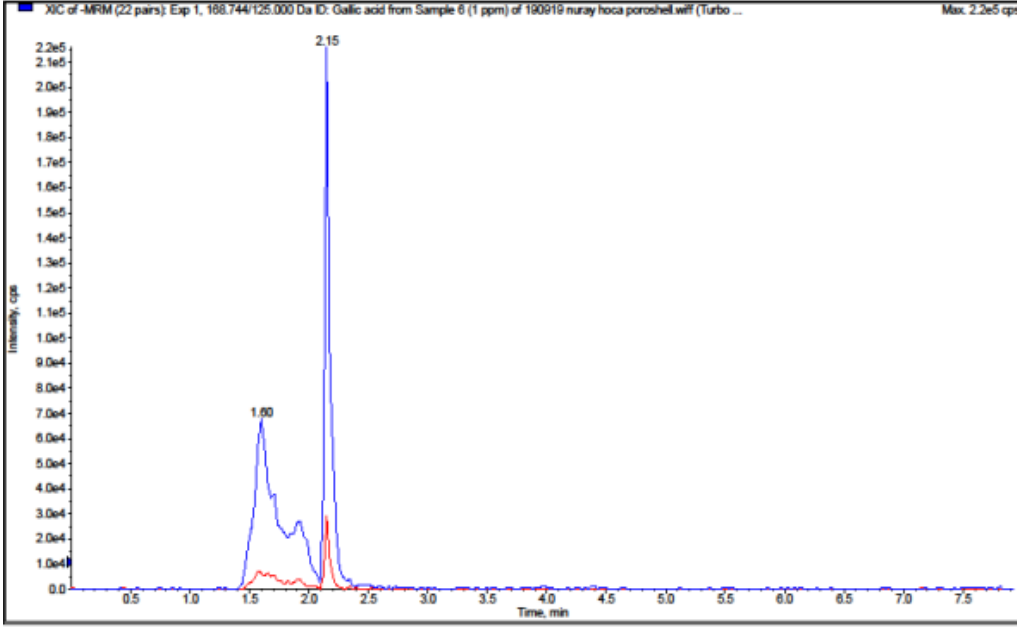
Ek Şekil 2. 1 ppm standart ile edilen Dihydrobenzoic acid'in kütle spektrumu



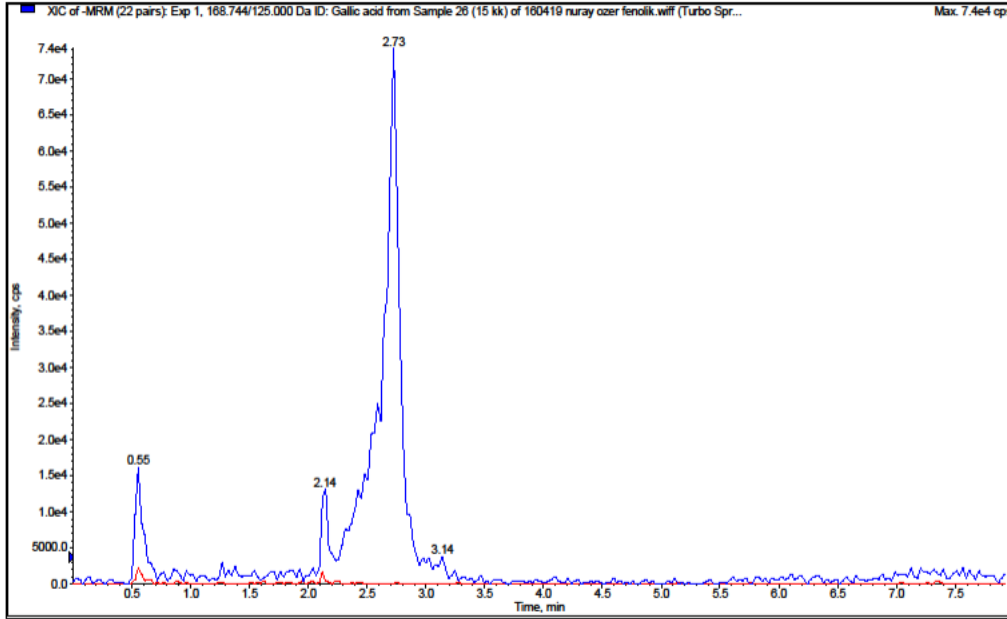
Ek Şekil 3. 1 ppm standart ile edilen Vanillic acid'in kütle spektrumu



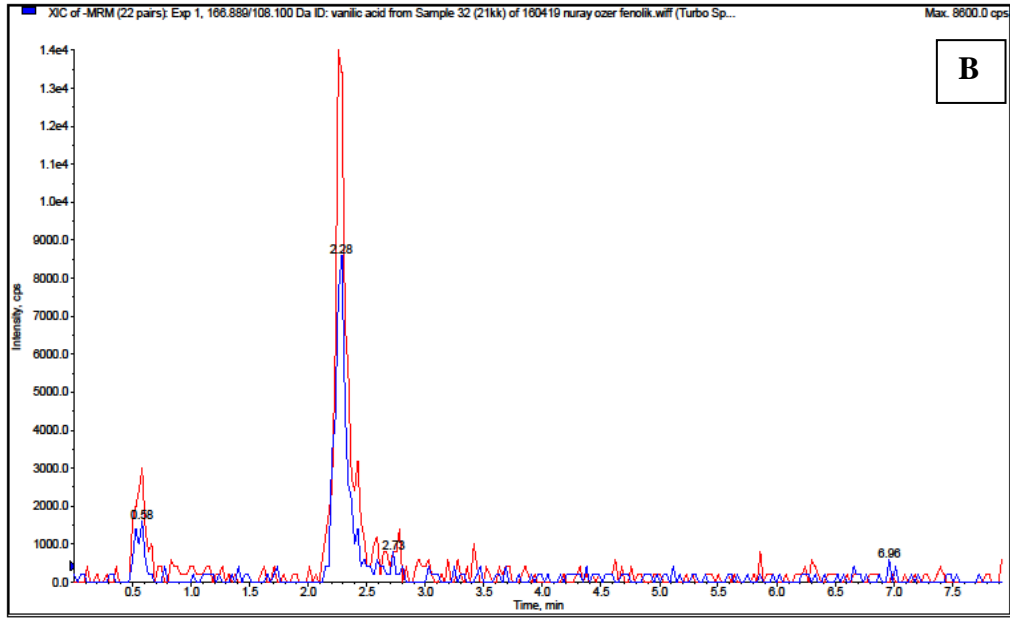
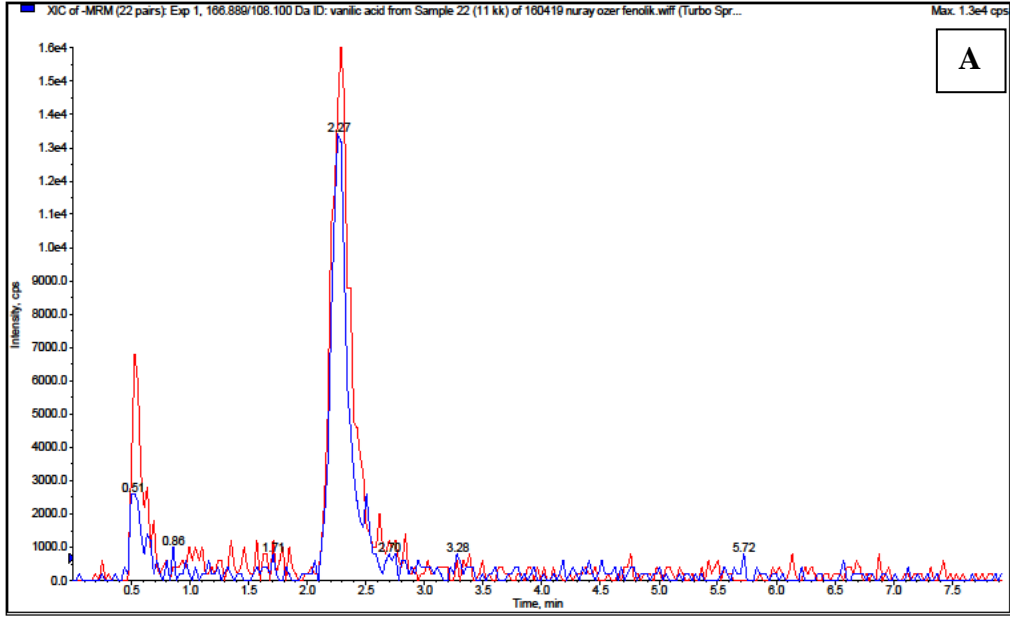
Ek Şekil 4. 1 ppm standart ile edilen P-coumaric acid'in kütle spektrumu



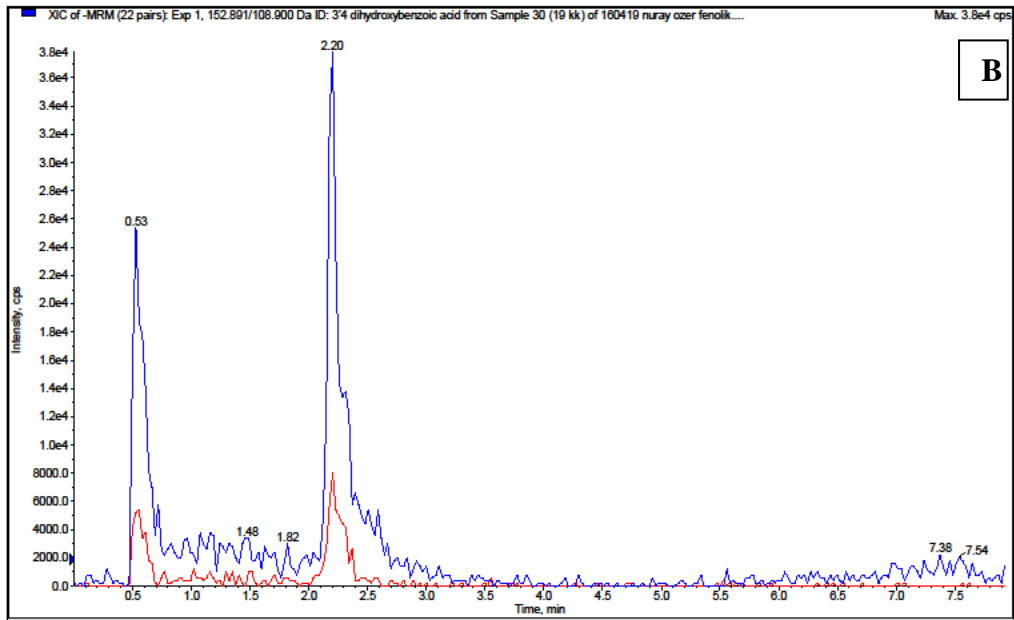
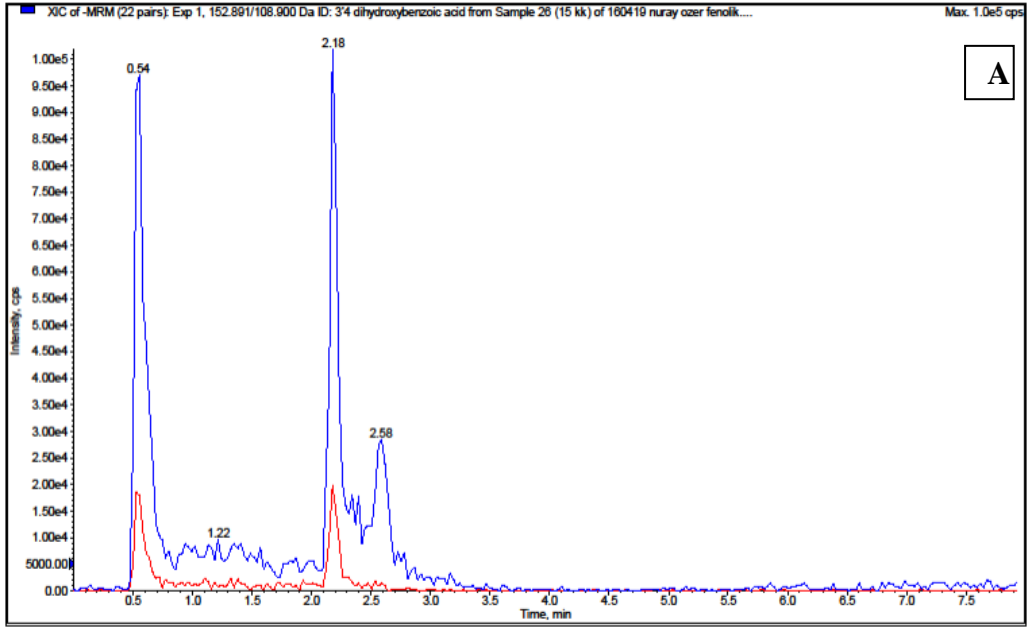
Ek Şekil 5. 1 ppm standart ile edilen Gallic acid'in kütle spektrumu



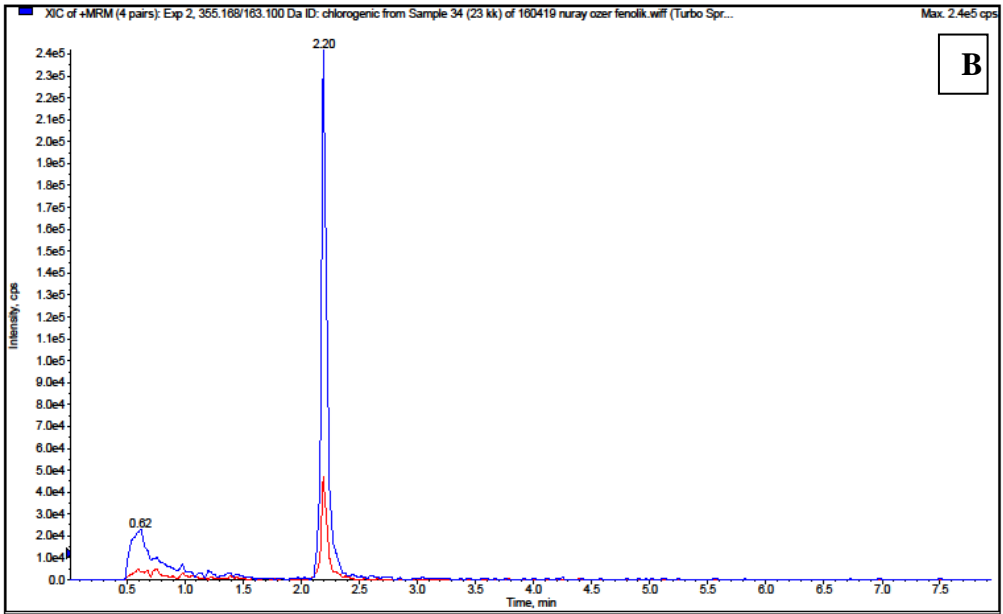
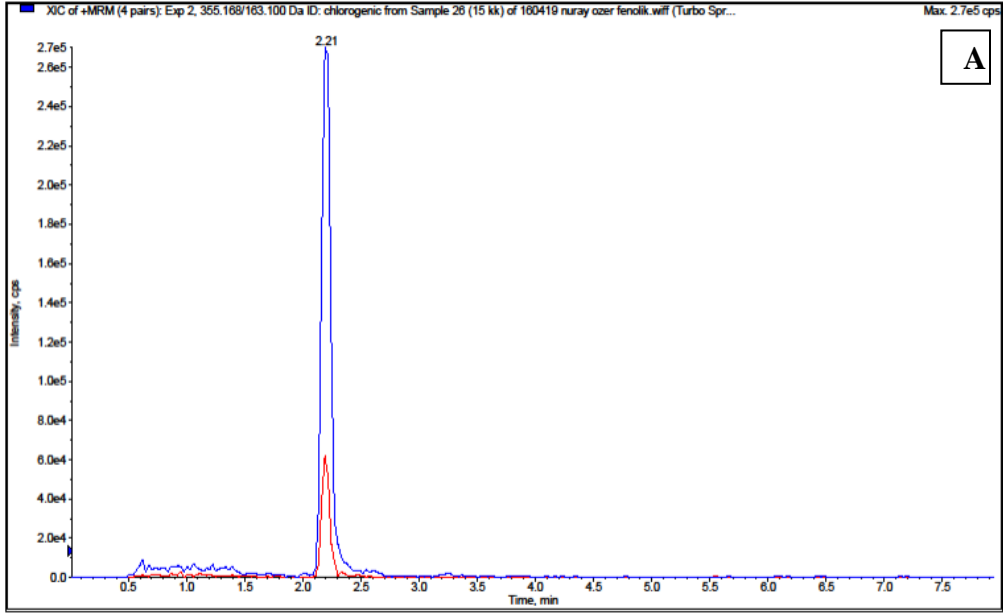
Ek Şekil 6. İnokulasyon süresince dayanıklı K5 R SN:11/2014 hattının kök akıntılarında tespit edilen Gallic acid'in LS-MS/MS kromatogramı



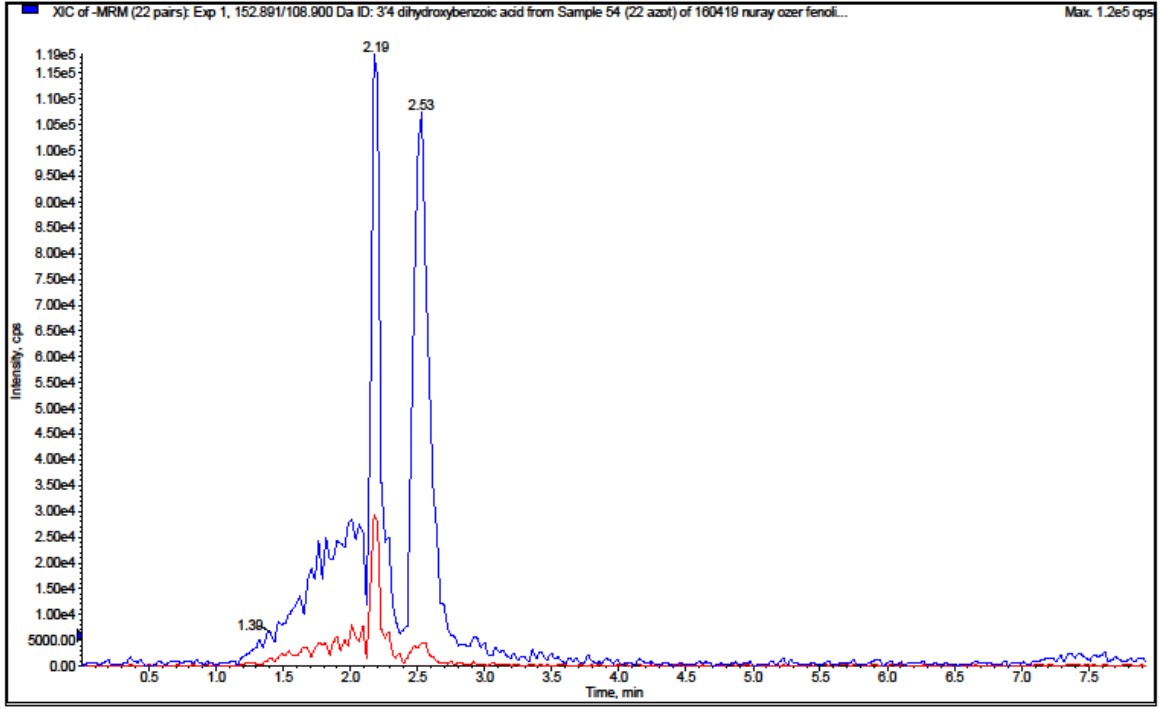
Ek Şekil 7. İnokulasyon süresince dayanıklı HAR 5 (A) ve hassas HA 89 (B) hatlarında Vanillic acid'in LS-MS/MS kromatogramı



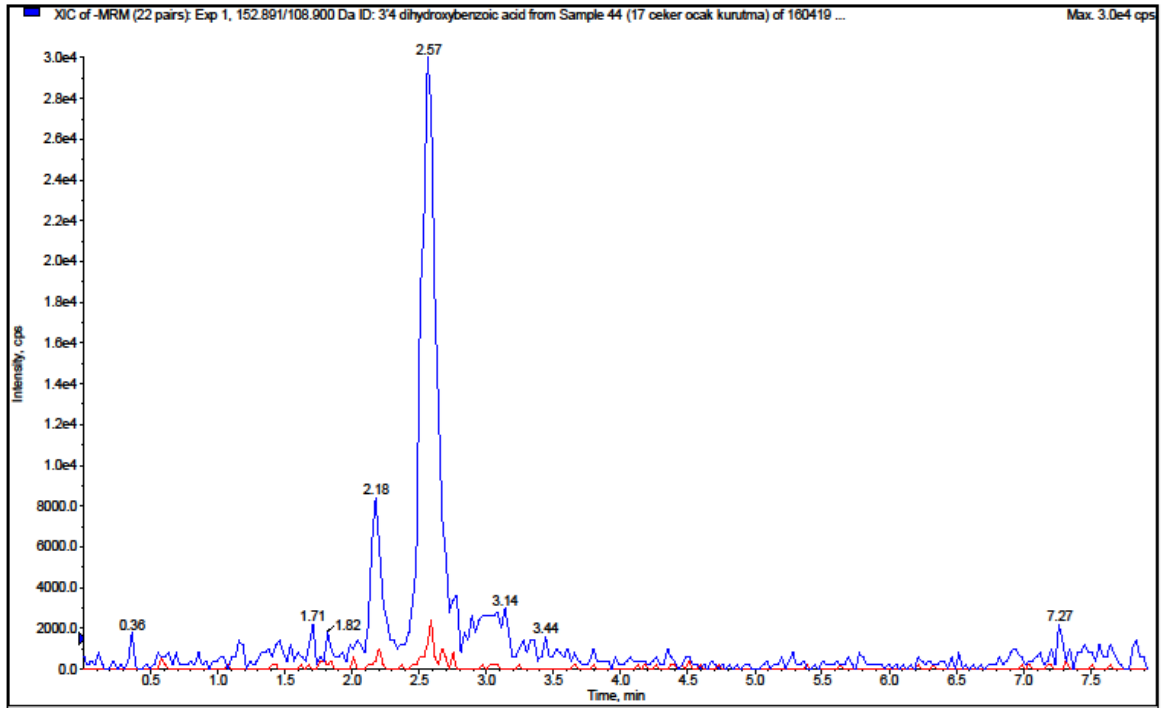
Ek Şekil 8. İnokulasyon süresince dayanıklı K5 R SN:11/2014 (A) ve hassas 2517 (B) hatlarında Dihydrobenzoic acid'in LS-MS/MS kromatogramı



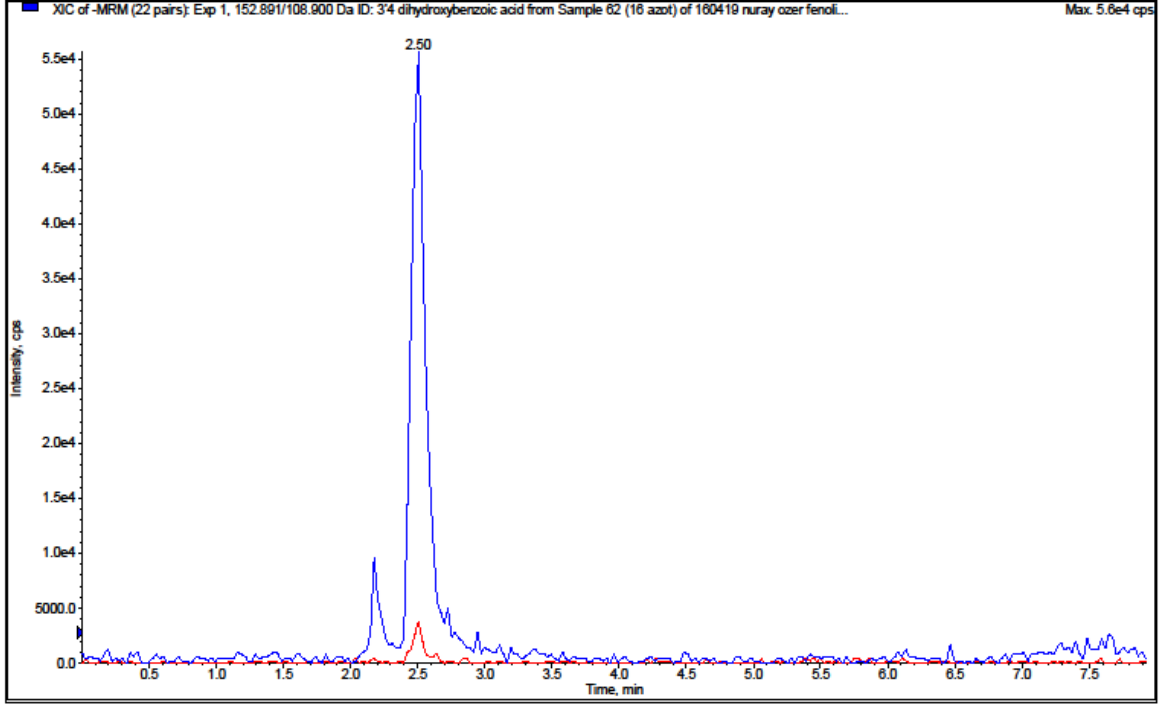
Ek Şekil 9. İnokulasyon süresince dayanıklı K5 R SN:11/2014 (A) ve hassas 9661 (B) hatlarında Chlorogenic acid'in LS-MS/MS kromatogramı



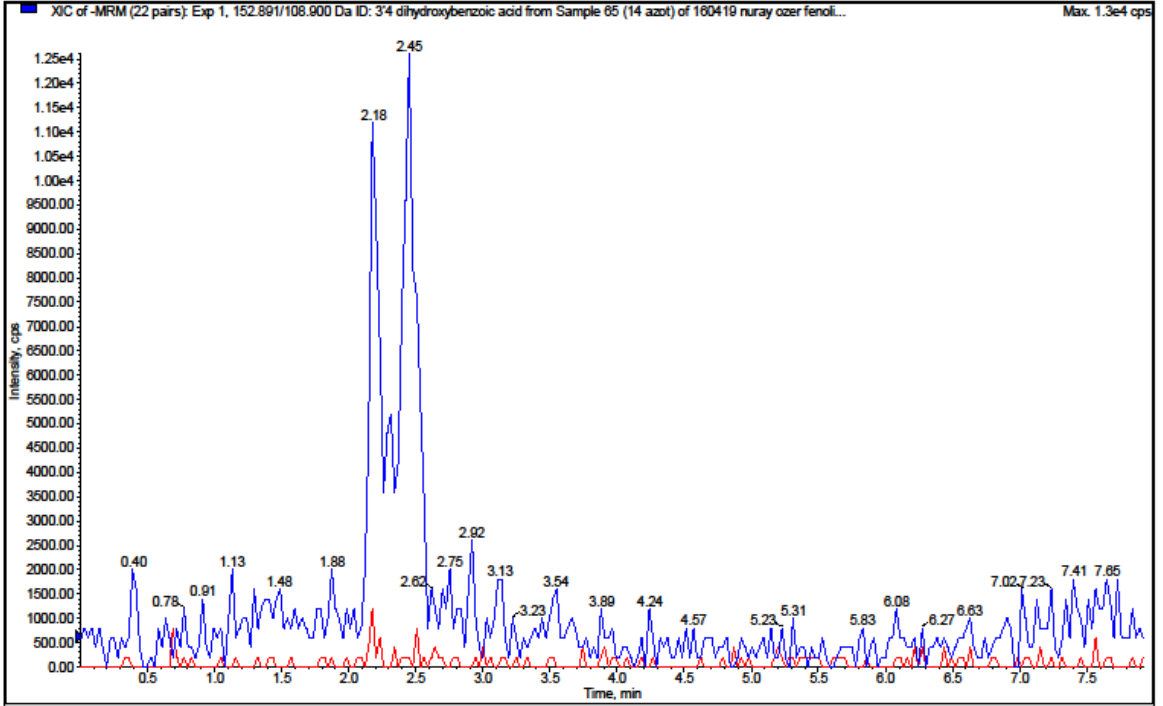
Ek Şekil 10. İnokulasyon sonrasında dayanıklı CL 217 R hattında Dihydrobenzoic acid'in LS-MS/MS kromatogramı



Ek Şekil 11. İnokulasyon sonrasında dayanıklı K5 R SN:11/2014 hattında Dihydrobenzoic acid'in LS-MS/MS kromatogramı



Ek Şekil 12. İnokulasyon sonrasında dayanıklı K9 R SN:3/2014 hattında Dihydrobenzoic acid'in LS-MS/MS kromatogramı



Ek Şekil 13. İnokulasyon sonrasında hassas 2517 hattında Dihydrobenzoic acid'in LS-MS/MS kromatogramı



Ek Çizelge 1. Negatif iyonlaşan fenoliklerin MRM dataları (A) Pozitif iyonlaşan fenoliklerin MRM dataları (B)

Experiment: 1  Scheduled MRM

Scan type: MRM (MRM)

Polarity:  Positive  Negative

Period Summary  
 Duration: 8.000 (min) Delay Time: 0 (sec)  
 Cycles: 289 Cycle: 1.6602 (sec)

Total Scan Time (includes pauses): 0.0000 (sec)

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	BP (volts)	EP (volts)	CEP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	162.894	119.000	5.0	p-Coumaric acid	-30.000	-8.500	-12.000	-20.000	0.000
2	162.894	93.000	5.0	p-Coumaric acid	-30.000	-8.500	-12.000	-38.000	0.000
3	168.744	125.000	5.0	Gallic acid	-35.000	-4.000	-10.000	-16.000	0.000
4	168.744	79.000	5.0	Gallic acid	-35.000	-4.000	-10.000	-28.000	0.000
5	268.908	123.100	5.0	epicatechin	-55.000	-4.500	-16.000	-40.000	0.000
6	268.908	109.100	5.0	epicatechin	-55.000	-4.500	-16.000	-38.000	0.000
7	152.891	108.900	5.0	24 dihydroxyben	-35.000	-4.500	-14.000	-22.000	0.000
8	152.891	108.300	5.0	24 dihydroxyben	-35.000	-4.500	-14.000	-30.000	0.000
9	108.928	91.000	5.0	pyrocatechol	-55.000	-4.500	-12.000	-22.000	0.000
10	108.928	81.100	5.0	pyrocatechol	-55.000	-4.500	-12.000	-20.000	0.000
11	222.903	208.000	5.0	sinapic acid	-40.000	-4.500	-14.000	-22.000	-2.000
12	222.903	148.900	5.0	sinapic acid	-40.000	-4.500	-14.000	-26.000	0.000
13	166.889	108.100	5.0	vanilic acid	-50.000	-4.500	-14.000	-24.000	0.000
14	166.889	151.900	5.0	vanilic acid	-50.000	-4.500	-14.000	-22.000	0.000
15	300.833	150.900	5.0	Quercetin	-65.000	-9.500	-23.311	-30.000	0.000
16	300.833	179.100	5.0	Quercetin	-65.000	-9.500	-23.311	-22.000	0.000
17	178.947	135.000	5.0	caffeic acid	-35.000	-4.500	-12.000	-22.000	0.000
18	178.947	134.100	5.0	caffeic acid	-35.000	-4.500	-12.000	-30.000	0.000
19	196.930	123.000	5.0	tyrnic acid	-55.000	-4.500	-12.000	-28.000	0.000
20	196.930	162.000	5.0	tyrnic acid	-55.000	-4.500	-12.000	-24.000	-2.000
21	435.026	273.100	5.0	phlorizin	-80.000	-4.500	-24.000	-18.000	-2.000
22	435.026	166.900	5.0	phlorizin	-80.000	-4.500	-24.000	-42.000	0.000
23									

A

Scan type: MRM (MRM)

Polarity:  Positive  Negative

Period Summary  
 Duration: 8.000 (min) Delay Time: 0 (sec)  
 Cycles: 289 Cycle: 1.6602 (sec)

Total Scan Time (includes pauses): 0.7400 (sec)

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	BP (volts)	EP (volts)	CEP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	195.007	177.100	5.0	trans-Ferulic acid	36.000	9.000	14.000	11.000	4.000
2	195.007	145.200	5.0	trans-Ferulic acid	36.000	9.000	14.000	27.000	4.000
3	355.168	183.100	5.0	chlorogenic	56.000	4.000	26.000	19.000	4.000
4	355.168	89.000	5.0	chlorogenic	56.000	4.000	26.000	69.000	4.000
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									

B

## ÖZGEÇMİŞ

12.06.1984 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2003-2007 yılları arasında Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünden mezun oldu. 2008-2011 yılları arasında Namık Kemal Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimini tamamlayarak 2012 yılında Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne atandı. 2013 yılında doktora eğitimine başladı. 2014 yılından 2020 yılına kadar aynı kurumda Bitki Sağlığı Bölüm Başkanı olarak görev yapmış olup, 2020 yılı Nisan ayında Marmara Ormancılık Araştırma Enstitüsü'ne tayin olmuştur.

## YAYINLAR

- Çiftçigil, T. H.**, Evcı, G., Pekcan, V. , Yılmaz, M. İ., Kaya, Y. (2014). Determination of resistance of some sunflower genotypes against downy mildew utilizing from artificial inoculation. Joint International Congress 14th Mediterranean Phytopathological Union, 25-29 August 2014, İstanbul-TURKEY. s.150
- Yılmaz, M. İ., Pekcan, V., Evcı, G., **Çiftçigil, T. H.**, Kaya, Y. (2016). Determination of downy mildew resistance of advanced high oleic restorer lines and the evaluation of their hybrid's yield traits. 19th International Sunflower Conference 29 May – 3 June, 2016 Edirne, Turkey
- Çiftçigil, T. H.**, Özer, N., Şabudak, T. (2016). Preliminary study on control of sunflower downy mildew (*Plasmopara halstedii*) with culture filtrates of antagonistic fungi. 19th International Sunflower Conference 29 May – 3 June, 2016 Edirne, Turkey
- Evcı, G, **Çiftçigil, T. H.**, Pekcan V. , Yılmaz M. İ. (2017). Determination of reactions some sunflower lines with Pl genes against to downy mildew [*Plasmopara halstedii* (farl.) Berlese et de Toni] Agri Balkan Congress, 16-18 May (2017), TURKEY
- Özer, N., Şabudak, T., **Çiftçigil, T. H.**, Evcı, G., Yılmaz, M. İ. (2017). Induction of potential antifungal root metabolites by biological control against sunflower downy mildew under field conditions. International Ecology Symposium, 11-13 May, Kayseri/Turkey