

ANKARA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZLERİN İZLENİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

NOHUTLARDA ANTRAKNOZA [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.] KARŞI
DAYANIKLILIĞIN SALİSİLİK ASİT UYGULAMASI İLE TEŞVİK EDİLMESİ

Harun BAYRAKTAR

104444

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

104444

ANKARA

2001

Her hakkı saklıdır



۲۲۲۲۰۱

Doç. Dr. Sara DOLAR danışmanlığında Harun BAYRAKTAR tarafından hazırlanan bu çalışma 28 / 08 / 2001 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Haluk SORAN

İmza:



Üye: Prof. Dr. Zekai KATIRCIOĞLU

İmza:



Üye: Doç. Dr. Sara DOLAR

İmza:



Yukarıdaki somucu onaylarım

Prof. Dr. Esmâ KILIÇ

Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	7
2.1. Salisilik Asit ve Türevleri ile Dayanıklılığın Uyarılması.....	7
2.2. Nohutlarda <i>Ascochyta rabiei</i> ' ye Karşı Dayanıklılık Mekanizması.....	14
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal.....	19
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi.....	19
3.2.2. <i>Ascochyta rabiei</i> (Pass.) Labr. izolatının yetiştirilmesi.....	19
3.2.3. Bitki inokulasyonu ve hastalık değerlendirmesi.....	20
3.2.3.1. İnokulum hazırlanışı.....	20
3.2.3.2. Bitki inokulasyonu.....	20
3.2.3.3. Hastalık değerlendirmesi.....	21
3.2.4. Bitkilere salisilik asit uygulaması.....	22
3.2.4.1. Tohuma salisilik asit uygulaması.....	22
3.2.4.2. Bitkilerin toprak üstü kısımlarına salisilik asit uygulaması.....	22
3.2.4.2.1. Bitkilere inokulasyondan önce bir kez salisilik asit uygulaması.....	22
3.2.4.2.2. Bitkilere inokulasyondan önce birkaç kez salisilik asit uygulaması.....	23
3.2.4.2.3. Bitkilere inokulasyondan sonra salisilik asit uygulaması.....	23
3.2.5. Salisilik asidin <i>Ascochyta rabiei</i> ' ye fungitoksik etkisinin belirlenmesi.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	25
4.1. Bitkilere Salisilik Asit Uygulaması.....	25
4.1.1. Tohuma salisilik asit uygulaması.....	25
4.1.2. Bitkilere inokulasyondan önce bir kez salisilik asit uygulaması.....	27
4.1.3. Bitkilere inokulasyondan önce birkaç kez salisilik asit uygulaması.....	29
4.1.4. Bitkilere inokulasyondan sonra salisilik asit uygulaması.....	31
4.2. Salisilik Asidin <i>Ascochyta rabiei</i> Üzerindeki Fungitoksik Etkileri.....	33
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	36
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	47

ÖZET

T.106664

Yüksek Lisans Tezi

NOHUTLARDA ANTRAKNOZA [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.] KARŞI
DAYANIKLILIĞIN SALISİLİK ASİT UYGULAMASI İLE TEŞVİK EDİLMESİ

Harun BAYRAKTAR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sara DOLAR

Ascochyta rabiei (Pass.) Labr.' ye karşı nohut bitkilerindeki dayanıklılığın salisilik asit (SA) uygulaması ile teşvik edilmesinin araştırıldığı bu denemede salisilik asit nohut bitkilerin (Canutez-87) tohum ve toprak üstü organlarına uygulanmıştır. Ayrıca salisilik asidin in vitro' da *A. rabiei'* nin koloni gelişimi, spor çimlenmesi ve çim borusu uzunluğuna olan etkisi tespit edilmiştir.

Tohuma salisilik asit uygulamasında *A. rabiei* enfeksiyonu % 14.38 ile % 23.44 oranında engellenmiş olup en fazla engelleme 1 mM SA uygulanan bitkilerde görülmüştür. Bitkinin toprak üstü organlarına SA uygulamasında inokulasyondan 2 gün önce bitkilere bir kez SA uygulanmasının diğer günlere kıyasla hastalık enfeksiyonu üzerinde daha fazla etkili olduğu ve hastalık şiddetinin 0.8 mM' da % 48.15 oranında engellendiği saptanmıştır. İnokulasyondan önce 2 günlük aralıklar ile birkaç (2, 3, 4 ve 5 kez) kez SA uygulamasında ise 2 kez 5 mM SA uygulanan bitkilerdeki hastalık şiddetinde % 46.10 oranında azalma sağlanmış ve hemen hemen tüm uygulamalarda en etkili dozun 5 mM olduğu tespit edilmiştir. İnokulasyondan sonra SA uygulamasında *A. rabiei* ile inokulasyondan 1 gün sonra bitkilere SA uygulanmasının hastalık şiddetini % 30.81 ile % 43.37 oranında azalttığı ve en etkili dozun 2.5 mM olduğu tespit edilmiştir.

Fungitoksisite denemelerinde 7.5 mM SA uygulamasının in vitro' da *A. rabiei'* nin koloni gelişimini, spor çimlenmesini ve çim borusu gelişimini tamamen durdurduğu saptanmıştır.

2001, 47 sayfa

ANAHTAR KELİMELER : *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., Antraknoz, Nohut (*Cicer arietinum* L.), Salisilik asit (SA), Sistemik Kazandırılmış Dayanıklık (SKD)

ABSTRACT

Master Science Thesis

INDUCTION OF RESISTANCE IN CHICKPEA TO BLIGHT [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.] BY SALICYLIC ACID

Harun BAYRAKTAR

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sara DOLAR

In this study, induction of resistance to chickpea plants by salicylic acid (SA) treatment against *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. investigated, SA was applied to seed and foliage of the chickpea cultivar Cantez-87. Besides, in vitro effect of SA on mycelial growth, spore germination and germ tube growth of *A. rabiei* was determined.

With the application of SA to seed, infection by *A. rabiei* was reduced rate of 14.38-23.44 % as compared to control treatment. The highest inhibition was observed with the plants following 1 mM SA application. Once application of SA to foliage 2 days before the inoculation with the pathogen reduced the infection more as compared to other days and at 0.8 mM inhibition rate of disease severity was found as 48.15 %. Also, SA applied 2, 3, 4 and 5 times with 2 days intervals and inhibition rate was observed as 46.10 % with the twice 5 mM SA application. In almost all cases the most effective dose was found to be as 5 mM. SA also was applied following inoculation with the pathogen and disease severity reduction values at one day after inoculation ranged between 43.37-30.81 % was observed. The most effective dose was 2.5 mM.

Fungitoxicity studies revealed that application of 7.5 mM SA under in vitro conditions inhibited the colony growth, spore germination and germ tube growth.

2001, 47 pages

Key Words: *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., Chickpea Blight, Chickpea (*Cicer arietinum* L.), Salicylic acid (SA), Systemic Acquired Resistance (SAR)

TEŞEKKÜR

Nohutlarda antraknoza [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.] karşı dayanıklılığın salisilik asit uygulaması ile teşvik edilmesine yÖnelik olarak gerçekteŐtirilen bu çalışmanın her aŐamasında yakın ilgi ve Önerileri ile beni yÖnlendiren danışman hocam Doç. Dr. Sara DOLAR' a, çalıŐmamın bir kısmında bana yardımcı olan Ankara Zirai MÜcadele Araştırma Enstitüsüne, AraŐ.Gör.Dr. Fikret DEMİRÇİ' ye ve çalıŐmam boyunca tüm ilgi ve desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Harun BAYRAKTAR
Ankara, Ađustos 2001

SİMGELER DİZİNİ

CSMDA	Nohut unu dekstroza agar
HR	Hipersensitif reaksiyon
mM	milimolar
M	Molar
PR proteinleri	Patojenisite ile ilişkili proteinler
SA	Salisilik asit
SAR	Sistemik kazandırılmış dayanıklılık

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. 1999 yılı verilerine göre baklagillerin Türkiye’deki ekiliş alanı ve üretim miktarı.....	2
Şekil 4.1. Kontrol (K), İnokuleli kontrol (İK) ve Tohuma a) 0.8 mM b) 1 mM c) 4 mM d) 8 mM SA uygulanan bitkilerdeki <i>A. rabiei</i> enfeksiyonu.....	26
Şekil 4.2. İnokulasyondan 2 gün önce bir kez a) 0.4 mM b) 0.8 mM SA uygulanan bitkilerdeki <i>A. rabiei</i> enfeksiyonu.....	28
Şekil 4.3a. İnokulasyondan önce 2 kez a) 2 mM b) 3 mM SA uygulamasının <i>A. rabiei</i> enfeksiyonu üzerine etkisi.....	30
Şekil 4.3b. İnokulasyondan önce 2 kez a) 5 mM b) 6 mM SA uygulamasının <i>A. rabiei</i> enfeksiyonu üzerine etkisi	31
Şekil 4.4. İnokulasyondan 1 gün sonra a) 2.5 mM b) 5 mM SA uygulanan bitkilerdeki <i>A. rabiei</i> enfeksiyonu.....	33
Şekil 4.5. Salisilik asidin farklı dozlarının <i>A. rabiei</i> ’nin kültür gelişimine etkisi.....	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye’ de 1991-1999 yılları arasındaki toplam nohut ekim alanı, üretim ve verim değerleri	2
Çizelge 4.1. Tohum SA uygulamasının <i>A. rabiei</i> enfeksiyonu üzerindeki etkisi.....	25
Çizelge 4.2. İnokulasyondan önce bir kez SA uygulanan bitkilerdeki % hastalık şiddeti ve % engelleme değerleri.....	27
Çizelge 4.3. İnokulasyondan önce birkaç kez SA uygulanan bitkilerdeki % hastalık şiddeti ve % engelleme değerleri.....	29
Çizelge 4.4. İnokulasyondan sonra değişik konsantrasyonlarda SA uygulanan bitkilerdeki % hastalık şiddeti ve % engelleme değerleri.....	32
Çizelge 4.5. Salisilik asidin <i>A. rabiei</i> ’ nin koloni gelişimi üzerindeki etkisi.....	34
Çizelge 4.6. Salisilik asidin <i>A. rabiei</i> ’ nin spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine etkisi.....	35

1. GİRİŞ

Nohut (*Cicer arietinum* L.) Güney ve Batı Asya, Hindistan, Etiyopya ve Kuzey Afrika ülkelerinde yaygın olarak kullanılan bir besin maddesi olup özellikle dinsel inanışlardan dolayı hayvansal proteinin tüketilmediği ülkelerde önemli bir protein kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır (Muehlbauer 1993, Akem 1999). Ayrıca yaprak, gövde ve kapsüllerinden elde edilen malik ve oksalik asit gibi bazı salgılar bronşit, nezle, kabızlık, ishal, kolera, sindirim güçlüğü, yılan sokması, güneş çarpması, siğil gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Duke 1981). İnsan beslenmesinde yaygın olarak kullanılan nohut bitkisi tanelerinde yüksek oranda protein (%18-31) içermesinden dolayı özellikle gelişmiş ülkelerde hayvan beslenmesinde ve yeşil gübre olarak da kullanılmaktadır. Nohut baklagillerin genel bir özelliği olarak köklerinde bulunan *Rhizobium* spp. bakteri ile ortak yaşam sürerek toprağı azotça zenginleştirmektedir. Toprak koşullarında oluşturduğu bu fiziksel, kimyasal ve biyolojik iyileşmeler ekim nöbetinde kendisinden sonra gelen kültür bitkileri için daha iyi gelişme ortamı sağlamaktadır (Eser ve Soran 1978).

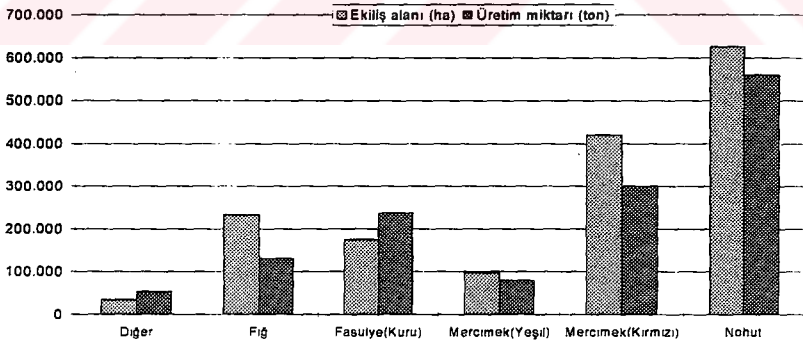
Türkiye gibi sıcak iklime sahip bölgelerde kabulü olarak bilinen büyük taneli ve bej renkli nohutlar üretilmekte iken yarı kurak tropik bölgelerde desi olarak isimlendirilen küçük, köşeli, siyah, kahverengi, sarı veya yeşil renkli nohutlar yetiştirilmektedir (Muehlbauer ve Singh 1987). Dünyadaki nohut üretiminin % 97' si gelişmekte olan ülkelerde gerçekleşmekte olup 1994' de dünyada 10.2 milyon hektar alanda nohut ekimi yapılarak 7.9 milyon ton ürün elde edilmiştir (Singh ve Saxena 1996).

Dünyada nohut üretimi açısından Hindistan' ın arkasından ikinci sırada yer alan ülkemizde 1999 yılı verilerine göre toplam nohut ekim alanı 625.000 ha, üretim 560.000 ton verim ise 906 kg/ha dır (Çizelge 1.1). Ayrıca 1999 yılında 102.062.582 kg nohut ihraç edilerek ekonomiye 58.120.029 dolarlık bir katkı sağlamıştır. Bununla birlikte çeşitli şekillerde 1999 yılında 8.121.716 kg nohut ithal edilmiştir (Anonymous 2000).

Çizelge 1.1. Türkiye’ de 1991-1999 yılları arasındaki toplam nohut ekim alanı, üretim ve verim değerleri (Anonymous 2000)

Yıllar	Ekim alanı (ha)	Üretim(ton)	Verim(kg/ha)
1991	878.000	855.000	978
1992	856.000	770.000	930
1993	820.000	780.420	948
1994	760.000	650.000	860
1995	745.000	730.000	984
1996	780.000	732.000	940
1997	721.000	720.000	1000
1998	665.000	625.000	949
1999	625.000	560.000	906

Nohut ülkemizde 1999 yılı kayıtlarına göre ekim alanı ve üretim miktarı olarak da baklagiller arasında birinci sırayı almakta ve onu sırasıyla kırmızı mercimek ve kuru fasulye takip etmektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. 1999 yılı verilerine göre baklagillerin Türkiye’ deki ekiliş alanı ve üretim miktarı (Anonymous 2000)

Çizelge 1.1. de görülebileceği gibi son 10 yılda gerek nohut ekim alanı gerekse bu alanlardan alınan ürün miktarında sürekli bir azalış görülmektedir. Üretimdeki başlıca kısıtlamalar bölgesel çeşitlerin hastalıklara hassasiyeti, çevresel stres, kuraklık, hastalıklar, böcekler ve zayıf ürün yönetimidir. Nohutta görülen fungal hastalıkların en önemli nedenlerinden birisi ise ülkemizde ve dünyada nohut ekim alanlarında yaygın olarak görülen *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.' in sebep olduğu antraknoz hastalığı olup iklim koşullarına bağlı olarak bazı yıllar büyük ürün kayıplarına sebep olabilmektedir (Karahan 1968, Eser 1976, Smithson et al. 1985, Singh ve Reddy 1990).

Ascochyta rabiei (Pass.) Labr. (Eşeyli devresi: *Didymella rabiei* (Kovacheski) v. Arx)' nin sebep olduğu nohut antraknozu Güney Asya, Orta Doğu, Akdeniz ve Kuzey Afrika bölgelerindeki birçok ülkede nohutun en önemli hastalığı olup (Nene 1982, Nene ve Reddy 1987, Kaiser ve Muehlbauer 1988, Nene et al. 1989) son olarak da Latin Amerika' da tespit edilmiştir (Kaiser et al. 2000). Bu hastalık özellikle kışlık ekimin yapıldığı ülkelerde önemli olup yağışın çok fazla olduğu yıllarda epidemik oranlarda zararlara sebep olmaktadır. Hastalığın ilk kez tanımlanmasından bu yana patojenin biyolojisi, yayılması, hayatta kalışı ve kontrolü üzerinde birçok araştırma gerçekleştirilmiştir (Kaiser 1973, Reddy ve Singh 1990, Trapero-Casas et al. 1996).

Hastalığın gelişimi ve yayılmasında sıcaklık, yağmur ve rüzgar gibi çevresel koşulların büyük etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Weltzien ve Kaach 1984, Nene ve Reddy 1987, Trapero-Casas ve Kaiser 1992). Özellikle serin ve nemli havaların mevsim sonuna kadar uzaması hastalık etmeni tarafından tercih edilmektedir (Kaiser 1981, Gowen et al. 1989). Epidemik olarak nohut antraknozunun oluşmasından önceki aylık ortalama sıcaklığın en az 8 °C, aylık yağışında en az 40 mm olması gerekmektedir. Hastalık gelişimi için optimum sıcaklık 20 °C, yaprak ıslaklık süresi de en az 7 saattir. Ayrıca 5 °C altında ve 30 °C üzerindeki sıcaklıklarda enfeksiyon ve hastalık gelişimi sınırlanmaktadır (Trapero-Casas ve Kaiser 1992).

Ascochyta rabiei nohut yetiştirilen Türkiye, Bulgaristan, Hindistan, Rusya, Yunanistan, Pakistan gibi birçok ülkede % 20' den % 100' e kadar varan ürün kayıplarına sebep olmaktadır (Karahan 1968, Eser 1976, Nene 1982).

Ascochyta rabiei' nin düzenli olarak mevsimsel epidemiler göstermesi bu patojenin bir sezondan diğerine canlı kalabilmek için etkili mekanizmalara sahip olduğunu göstermektedir. Fungus esasen hastalıklı ürün artıklarında, enfekteli bitkilerin tohumlarında (Kaiser 1972, Morrall ve McKenzie 1974, Tu ve Hall 1984, Navas-Cortes et al. 1995, Trapero-Casas et al. 1996) ve kapsüllerin ayırımı esnasında sporlar ile bulaşan tohumlar üzerinde canlı kalmaktadır (Kaiser 1997). Enfekteli nohut artıkları patojenin bir sezondan diğerine kadar canlı kalmasında ve sonraki nohut ekilişleri için enfeksiyon kaynağı oluşturması açısından önemlidir (Kaiser 1973, Navas-Cortes et al. 1995). Ayrıca enfekteli nohut tohumlarının önceden nohut antraknozunun bulunmadığı ülke veya bölgelere patojenin girişinden sorumlu olduğu (Kaiser 1972, Maden et al. 1975, Cother 1977) ve fungusun depodaki enfekteli nohut tohumlarında düşük canlılık kaybı ile en az 5 yıl hayatta kalabildiği de bilinmektedir (Kaiser 1987).

Hastalık genelde tarlada yanmış bitkilerin oluşturduğu ocaklar şeklinde çiçeklenme ve kapsül bağlama döneminde bitkinin tüm toprak üstü kısımlarında görülebilmektedir (Nene et al. 1991). *Ascochyta rabiei*' nin erken belirtileri yaprak ve gövdeler üzerindeki küçük (1-2 mm) kırmızımsı kahverengi noktalar şeklindedir. Bu noktalar yavaş yavaş büyür ve açık veya koyu kahverengine döner ve nekrozlaşır. Bu lezyonlar genelde sarı klorotik bir alanla çevrili siyah bir sınıra sahiptir. Gövdelerdeki lezyonlar ise koyu kahverengi ve uzunumsudur. Gövde lezyonlarında lekelerin orta kısmında dokuya kısmen gömülü konsantrik halkalar şeklinde dizilmiş küçük siyah fruktifikasyon organı olan piknitler oluşur ve bunlar gözle kolayca görülebilir. Lezyonlar gövdeyi kuşattığında lezyonun yukarıdaki bitki kısımları kurur gövde zayıflar ve kolayca kırılır. Eğer hastalık etmeni bitkiyi ana gövdenin taban kısmından kuşatır ise tüm bitkiyi öldürmektedir. Kapsüllerdeki lezyonlar genelde yuvarlak, koyu bir sınırla çevrili olup üzerinde piknitler bulunmaktadır. *Ascochyta* ile enfekteli

tohumlar ise küçük, buruşuk ve çeşitli şekil ve büyüklükte koyu kahverengi lezyonlara sahiptir (Haware et al. 1986).

Bu hastalığın şiddeti ekim nöbeti, hastalıklı bitki artıklarının yok edilmesi veya derine gömülmesi, tohum ve yeşil aksam ilaçlaması, geç ekim ve hastaliksız tohumların kullanılması ile azaltılabildiği halde bu kontrol metotlarının hem ekonomik hem de yeterli olmamasından dolayı nohut antraknozuna karşı etkili bir mücadele yöntemi olarak tüm dünyada dayanıklı çeşitlerin tespit edilmesi ve yetiştirilmesi önerilmektedir (Nene ve Reddy 1987, Reddy ve Singh 1990, Wilson ve Kaiser 1995).

Türkiye’ de olduğu gibi Batı Asya ve Kuzey Afrika’ nın bazı bölgelerinde nohut genelde kış yağmurları bittikten sonra yazın yetiştirilmekte bu ise ürünün kuraklık ve sıcaklık stresi ile karşılaşmasından dolayı verim kaybına yol açmaktadır. CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research) soğuğa toleranslı % 50-100 oranında ürün artışı sağlayan ve *Ascochyta*’ ya dayanıklı çeşitler geliştirerek kabulü nohutların ekim tarihini daha öne almaya çalışmaktadır. Bölgedeki milli program sayesinde kışlık ekime adapte olmuş 40’ dan fazla nohut çeşidi ortaya çıkmıştır (Anonymus 1998).

Ascochyta rabiei ile kimyasal mücadele tohum ve yaprak ilaçlaması şeklinde yapılmaktadır. Ancak bu uygulamalar epidemik koşullarda hem pratik hem de ekonomik değildir (Kaiser et al. 1973, Singh ve Reddy 1989). Çünkü hassas çeşitlerde hastalığı kontrol etmek için her sezon 6’ dan fazla fungusit uygulamasına ihtiyaç duyulmaktadır (Reddy ve Singh 1990).

Nohut antraknozuna karşı dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi ise yüksek ve sabit dayanıklılığın olmamasından dolayı istenilen oranda başarılı olmamaktadır. *A. rabiei* yüksek derecede değişken olup patojenin eşeyli döneminin bulunması patojenin yeni

ırklarının veya pathotiplerinin oluşumuna yol açtığı sanılmaktadır. Ayrıca patojenin yeni ırklarının ortaya çıkmasından dolayı hastalığa dayanıklı yeni çeşitlerin yetiştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Nene ve Reddy 1987, Singh ve Reddy 1991).

Bu patojenin agresif ırklarına karşı istenilen niteliklere sahip dayanıklı nohut çeşitlerinin mevcut olmamasının yanısıra önerilen tohum ve yaprak ilaçlarının bu hastalığı engellemede yetersiz kalmasından dolayı sürekli alternatif mücadele yöntemleri araştırılmaktadır. Son yıllarda dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesinin yanısıra nohut bitkilerinde dayanıklılık mekanizmasının uyarılması ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmektedir (Bashir et al. 1997, Singh et al. 1998). Salisilik asit (SA) ve türevlerinin patojenite ile ilişkili (PR) proteinlerin oluşumunu teşvik ederek sistemik (SAR) ve lokal kazandırılmış dayanıklılıkta (LAR) rol oynadığı değişik araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Yalpani et al. 1991, Malamy et al. 1992). Ayrıca salisilik asit ve türevlerinin patojenlerin kültür gelişimlerini ve enzim aktivitelerini, uygulama dozları ve patojenlere bağlı olarak değişik oranlarda etkilediği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Çökmüş ve Sayar 1991, Elad 1993, Palva et al. 1994, Coquez et al. 1995, Spletzer ve Enyedi 1999). Ancak salisilik asidin bir çok hastalık etmenine karşı etkisinin araştırılmasına rağmen şu ana kadar *A. rabiei*'nin kültür gelişimi üzerindeki etkisi ve nohut bitkilerinde dayanıklılığın uyarılması üzerinde ne derece etkili olduğuna dair bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle etkin bir mücadele yöntemi bulunmayan nohut antraknozuna karşı salisilik asidin (SA) etkileri araştırılarak alternatif bir mücadele yönteminin geliştirilmesi bu çalışmada amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Salisilik Asit ve Türevleri ile Dayanıklılığın Uyarılması

Malamy et al. (1990) SA' din doğal bir transdüksiyon sinyali gibi hareket ederek TMV' ye karşı dayanıklı olan Xanthi NN tütünündeki patojenisite ile ilişkili proteinleri (PR) kodlayan genleri ve dayanıklılığı uyardığını ayrıca TMV' ye karşı duyarlı olan Xanthi nn tütün bitkisinin de PR genlerini taşıdığını ve bu genlerin TMV enfeksiyonu ile değil ancak dışarıdan SA uygulaması ile uyarılabileceğini bildirmişlerdir.

Metraux et al. (1990) *Colletotrichum lagenarium* ve Tobacco necrosis virus' u ile inokule edilen hıyar bitkilerinde sistemik kazanılmış dayanıklılığın (SAR) oluşmasından önce bu bitkilerdeki SA miktarının geçici olarak arttığını bu sebeple SA' din hıyar bitkisindeki SAR transmisyonunda endojen bir sinyal olarak fonksiyon gördüğünü belirtmişlerdir.

Çökmüş ve Sayar (1991) domates bitkilerini *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile inokule etmeden önce ikişer gün aralıklar ile 7 defa 0.36-7.24 mM arası konsantrasyonlarda SA uygulamış ve 3.62 mM SA uygulamasının bitkilerdeki hastalık şiddetini % 71.7 - % 81 oranında azalttığını saptamışlardır. Bunun yanı sıra SA' din gerek sulama gerekse püskürtme şeklinde uygulanmasının domates bitkilerinin bu etmene karşı aynı derecede direnç kazanmasına yol açtığını ve 0.36-7.24 mM arasındaki SA konsantrasyonların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*' nun kültür gelişimini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Rasmussen et al. (1991) 250 µM veya daha yüksek konsantrasyonlarda SA' din doku içine enjeksiyonunun, uygulamadan 24 saat sonra *Colletotrichum lagenarium* ile

inokule edilen hıyar bitkilerindeki lezyon sayısı ve nekrotik alanda azalmaya sebep olduğunu ve peroksidaz enzim aktivitesini artırdığını ancak salisilik asidin inokule edilen kotiledonların yüzeyinde appressorium oluşumu ve spor çimlenmesi üzerinde gözle görülür bir etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca bu araştırmacılar genç kotiledonların yaşlı kotiledonlara göre salisilik aside daha hızlı tepki verdiğini tespit etmişlerdir.

Yalpani et al. (1991) TMV ile enfekteli Xanthi - nc (NN) tütün bitkileri 32 °C' de inkube edildiği zaman hipersensitif reaksiyonun (HR) kaybolduğunu ve SA ve PR-1 proteinlerinin birikmediğini bu sebeple virusun bitkide sistemik olarak yayıldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca yapraklara SA püskürtülmesinin bu sıcaklıkta PR-1 proteinlerini indüklediğini bu sebeple SA birikimi ile PR-1 indüksiyonu ve HR arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Malamy et al. (1992) ise 32 °C' de tutulan enfekteli tütün bitkilerine dışarıdan SA uygulanmasının PR genlerini uyarmak için yeterli olduğu halde HR indüklediğini bildirmişlerdir.

Weete (1992) *Cassia obtusifolia* L. bitkisinin ilk yaprağına 1 mM SA uygulanmasının *Alternaria cassiae* enfeksiyonuna karşı bitkideki sistemik dayanıklılığı uyardığını ve ikinci yapraktaki lezyon sayısını kontrole göre % 18 oranında azalttığını bildirmiştir.

Elad (1993) salisilik asidin de içinde bulunduğu çeşitli bileşiklerin gül, domates, biber, patlıcan, Fransız fasulyesi ve *Senecio* sp.' de kurşunu küfe sebep olan *Botrytis cinerea*' ya karşı etkisini araştırdığı çalışmasının sonucunda SA' din 0.1 mM' lik dozunun biberde % 44, 10 mM' lik dozunun ise domateste % 60 oranında *Botrytis cinerea* enfeksiyonunu azalttığını diğer ürünlerde ise önemli bir etkiye sahip olmadığını saptamıştır. Bu araştırmacı ayrıca SA' din in vitroda *Botrytis cinerea* üzerindeki etkisini araştırmış ve 10 mM SA' din PDA ortamında fungusun misel gelişimini % 42, konidi çimlenmesini ise % 52 oranında azalttığını tespit etmiştir. Marulda *Sclerotinia sclerotiorum*' un sebep olduğu beyaz çürüklük hastalığı indeksinin 1 mM SA' din

püskürtme şeklinde uygulanması ile 5' den 3.5' a indirilebildiği de bu araştırmacı tarafından bildirilmiştir.

Gaffney et al. (1993) salisilik asidin "katekole" çevrilmesinden sorumlu olan salisilat hidroksilaz enzimini kodlayan nahG geninin bulunduğu transgenik tütün bitkilerinde TMV enfeksiyonundan sonra sistemik kazanılmış dayanıklılığın oluşmadığını bu sebeple SA' din bu bitkilerde SAR' ın uyarılmasından sorumlu olan endojen bir sinyal olarak hareket ettiğini bildirmişlerdir.

Yalpani et al. (1993) sağlıklı ve TMV ile enfekteli tütün bitkilerinde SA' din benzoik asit yoluyla sinnamik asitten oluştuğunu ve sağlıklı Xanthi - nc tütün bitkisinden alınan yaprak disklerine 0.1 mM benzoik asit uygulanmasının total SA birikimini hızla artırdığını saptamışlardır. Ayrıca bu araştırmacılar buffer uygulanan kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında SA uygulanan yapraklardaki TMV lezyon çapının % 78 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

Wieczorek (1993) inokulasyondan önce farklı indusurların (SA, Arachidonic asit, Exotoxin, fungus hücre duvarı bileşikleri) uygulanması ile patatesten *Phytophthora infestans*' a karşı sistemik dayanıklılığın uyarılıp uyarılmadığını araştırdığı çalışmasında yapraklara 2 mM SA uygulanmasının % 59 oranında koruma sağladığını ancak lezyon çapında çok fazla bir etkiye sahip olmadığını tespit etmiştir.

Cohen (1994) çeşitli aminobutirik asit türevleri ile SA ve INA (2,6-dichloroisonicotinic asit)' nin tütünlerde *Peronospora tabacina*' ya karşı etkisini araştırdığı çalışmasında inokulasyon öncesi SA (0.1 mg ml⁻¹)' din püskürtme şeklinde yapraklara uygulanmasının yapraklardaki fungal sporulasyonu % 74 oranında azalttığını bildirmiştir. Ayrıca koparılan tütün yaprak saplarının SA solusyonuna batırılmasıyla *Peronospora tabacina* enfeksiyonunun % 80 oranında azaldığını, SA' din gövde

enjeksiyonu veya toprak sulaması şeklinde uygulanmasının ise herhangi bir etkiye sebep olmadığını tespit etmiştir.

Palva et al. (1994) aseptik kültür ortamında geliştirilen tütün fidelerinin gelişme ortamına SA ilavesinin tütün fidelerinde hem *Erwinia c. subsp. carotovora'* nın çoğalmasını hem de yumuşak çürüklük belirtilerinin gelişimini engelleyerek bitkilerde dayanıklılığı sağladığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada SA' din in vitro' da antimikrobiyal aktivite göstermesine rağmen bakteriyel gelişimin durdurulması için bitki dokusunda yeterli seviyede birikmemesinden dolayı SA uygulaması ile elde edilen dayanıklılığın PR proteinlerinden sorumlu olan mRNA' ların birikimi ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca in vitro' da SA konsantrasyonuna bağlı olarak bakteriyel enzim üretimini (polygalacturonase, pectate lyase ve cellulase) % 30 - % 40 oranında azaldığını belirtmişlerdir.

Poole ve McLeod (1994) kivi bitkisine hasattan önce SA uygulamasının *Botrytis cinerea'* nın sebep olduğu depo çürüklüğünü ve ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) oksidaz aktivitesini büyük ölçüde azalttığını buna karşın PAL (phenylalanine ammonia lyase) ve peroksidaz aktivitelerini artırdığını bildirmişlerdir.

Ward ve Ryals (1994) bakteriyel salisilat hidroksilaz enzimini taşıyan (nahG) transgenik tütün ve *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde SA birikiminin olmadığını ve viral, bakteriyel ve fungal patojenlere karşı hassasiyetin arttığını bu sebeple SA birikiminin hastalıklara karşı dayanıklılığının uyarılması için gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

Coquez et al. (1995) patates yapraklarına SA uygulanmasının *Phytophthora infestans'* a karşı dayanıklılık sağladığını fakat uygulamadan 24 saat sonra bitkilerde PR-1

proteinlerinin lokal olarak biriktiğini saptamışlardır. Ayrıca kültür ortamına 1 ve 10 mM SA ilave edilmesinin *P. infestans*' ın miseliyal gelişimini etkilemediğini belirtmişlerdir.

Gullner et al. (1995) superoksit tolerant ve duyarlı tütün biyotiplerinin yapraklarına SA uygulanmasının, pestisitlerin ve diğer ksenobiotiklerin detoksifikasyonuna katılan ve bir antioksidant olan GST (Glutathione S-Transferase) aktivitesini lokal olarak teşvik ettiğini ancak bu teşvikin superoksit tolerant olan tütün biyotipinde çok daha fazla ve hızlı olduğunu saptamışlardır.

Lawton et al. (1995) SA' ı hidrolize eden bir enzim olan salisilat hidroksilazı kodlayan bakteriyel nahG genini taşıyan transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde, patojen enfeksiyonu ile oluşan SA birikiminin ve dışarıdan SA uygulamasıyla uyarılan PR-1 proteinlerinin ve SAR aktivasyonunun engellendiğini bununla birlikte kimyasal bir SA analogu olan INA' nın transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde PR-1 proteinlerinden sorumlu olan mRNA birikimini ve SAR aktivasyonunu teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Silverman et al. (1995) tütünde olduğu gibi çeltikte de SA' ın benzoik asit yoluyla sinnamik asitten sentezlendiğini ve çeltik filizlerinde bulunan SA' ın büyük kısmının serbest asit formunda olmasına rağmen dışarıdan uygulanan SA' ın SA-Gtase (SA-inducible glucosyltransferase) enzimi ile β -O-D-glucosylSA' ı de çevrildiğini bildirmişlerdir.

Fodor et al. (1997) tütün yapraklarına SA enjekte edilmesi ile DHAR (dehydroascorbate reductase), GR (glutathione reductase), GST (glutathione S-transferase) ve SOD (superoxid dismutase) aktivitelerinin uyarıldığını ancak katalaz aktivitesinin değişmediğini bildirmişlerdir.

Reglinski et al. (1997) kivi (*Actinidia deliciosa*) bitkisine SA ve 4CSA (4- chlorosalisilik asit) uygulanmasının *Sclerotinia sclerotiorum*' un sebep olduğu lezyon büyüklüğünü azalttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar 4CSA' nın daha etkili olduğunu ve kontrollere göre hastalık seviyesini yaprak disklerinde % 85, sülükler üzerindeki yapraklarda ise % 78 oranında azalttığını, SA' din ise yaprak diskleri ve sülükler üzerindeki yapraklardaki hastalık seviyesini % 48 oranında engellediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca 2 mM SA uygulamasından 2 gün sonra kivi yapraklarındaki PAL (phenylalanine ammonia lyase) aktivitesini 10 kat artırdığını da bildirmişlerdir.

Quintanilla ve Brishammar (1998) SA' din patatesten *Phytophthora infestans*' a karşı SIR (Sistemik İndüklenmiş Dayanıklılık) ı teşvik etme kabiliyetini araştırmışlar ve elde edilen SIR' ın kullanılan patates çeşidine göre değiştiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar yaptıkları tarla denemesinde SA' din duyarlı Cecilla çeşidinde hassasiyeti artırdığını dayanıklı ve tolerant çeşitlerde ise dayanıklılıkta hafif bir artışa sebep olduğunu saptamışlardır. Yetiştirme odasında yapılan denemelerde ise SA' din duyarlı Bintje ve dayanıklı Ovatio çeşitlerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı halde tolerant Hertha çeşidinde hastalığı azalttığını gözlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar SA' di patates yumrularına enjekte ederek farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Genetik olarak dayanıklı çeşitlerde yüksek SA konsantrasyonu dayanıklılığı artırdığı halde düşük SA konsantrasyonunun hassasiyetin artmasına sebep olduğunu ve kullanılan her iki SA konsantrasyonunun duyarlı Bintje çeşidinde yanıklık enfeksiyonunu azalttığını saptamışlardır.

Gahalain et al. (1999) bezelyede yaprak yanıklığına yol açan *Alternaria alternata* üzerinde SA ve çeşitli fitohormonların (GA, Kinetin, NAA, Ethrel[ethephon] ve ABA) etkisini araştırdıkları çalışmalarında bitkilere 100 ppm SA + 10 ppm ABA karışımı püskürtüldüğünde hastalığın % 60.56 oranında, 100 ppm SA + 100 ppm Ethrel karışımı püskürtüldüğünde ise % 30.46 oranında azaldığını ayrıca tek başına SA uygulaması ile % 37.89' luk bir azalma sağlandığını bulmuşlardır. Bununla birlikte SA' din diğer fitohormonlarla (GA, Kinetin, NAA) karışımının herhangi bir etkiye sebep olmadığını

ve 100 ppm SA' din 10 ppm ABA ile kombinasyonunda bezelyede % 27.85 oranında daha fazla ürün elde edildiğini bildirmişlerdir.

Nabila (1999) SA, oksalik asit ve sıcak su uygulamasının CMV üzerindeki etkisini araştırdığı çalışmasında kabak tohumlarına 10 mM SA uygulanmasının virus partiküllerini % 83.3 oranında azaltarak kabak bitkilerinin CMV enfeksiyonuna karşı dayanıklılığını artırdığını bildirmiştir.

Narusaka et al. (1999) *Cladosporium cucumerinum*' ile inokulasyondan 7 gün önce hıyar bitkisinin yapraklarına 5 mM SA püskürtülmesinin yapraklardaki kitinaz birikimini artırarak uygulanan yapraklarda lokal bir dayanıklılık sağladığını tespit etmişlerdir. Ayrıca dışarıdan uygulanan SA' din sadece lokal kazanılmış dayanıklılığı uyarımasından dolayı SA' din hıyar bitkisinde sistemik dayanıklılığı uyarıcı bir sinyal olarak hareket etmesinin mümkün olmadığını belirtmişlerdir.

Sathiyabama ve Balasubramanian (1999) yerfıstığı yapraklarına SA uygulamasının *Puccinia arachidis*' in üredospor ve püstül sayısını azalttığını ve pas hastalığının gelişimini geciktirdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca SA uygulanan bitkilerde interselüler kitinaz ve glukanaaz aktivitelerinin arttığını tespit etmişlerdir.

Spletzer ve Enyedi (1999) domates bitkisinde *Alternaria solani* enfeksiyonuna karşı SA uygulamasının PR-1 gen aktivasyonunu ve SAR' ı uyardığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada hydroponic olarak yetiştirilen domates bitkilerinin kök sistemine 200 µM SA uygulanmasının 48 saat sonra kontrol bitkilerine göre serbest SA seviyesini 65 kat artırdığını ve domateste *Alternaria solani*' nin sebep olduğu yanmış yaprak alanında % 77 yaprak başına düşen lezyon sayısında ise % 83 oranında azalma sağladığını tespit etmişlerdir. Ayrıca MCM (değiştirilmiş mısır unu agar) ortamında yapılan in vitro denemesinde 0–200 µM arasındaki SA konsantrasyonun *Alternaria solani*' nin

miseliyal gelişimini etkilemediğini bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada SA' din köke uygulanmasının yaprak yüzeyine uygulanmasından daha etkili bir yol olduğunu belirtmişlerdir.

Fengquan ve Jinsheng (2000) çeltik fidelerine kök daldırması (5 µg/ml) veya sprey (10 µg/ml) şeklinde SA uygulanmasının *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*' nin sebep olduğu yaprak yanıklığını sırasıyla % 50.8 ve % 50.4 oranında azalttığını ve SA uygulaması ile inokulasyon arasında 1-2 günlük aranın uygun olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca SA' din test edilen konsantrasyonlarda *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*' nin hücre ve kültür gelişimi üzerinde engelleyici etkiye sahip olmadığı bu çalışmada görülmüştür. Bununla birlikte inokulasyondan önce birinci ve ikinci yapraklara SA püskürtüldüğünde uygulama yapılmayan üçüncü ve dördüncü yaprakların yanıklığa karşı dayanıklı olduğu gözlenmiş ve araştırmacılar bu sonuçların SA' din çeltik fidelerinde sistemik olarak dayanıklılığı teşvik ettiği görüşünü desteklediğini belirtmişlerdir.

Pun et al. (2000) çeşitli virus engelleyici bileşiklerin (SA, ASA, Benzoik asit, Baryum klorid) banya sarı damar virusu (Okra yellow vein virus) üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada 500 ppm SA' din % 73.3, 200 ppm asetil salisilik asidin (ASA) ise % 75 oranında OYVMV enfeksiyonunu azalttığını bildirmişlerdir.

2.2. Nohutlarda *Ascochyta rabiei*' ye Karşı Dayanıklılık Mekanizması

Kunzru ve Sinha (1970) *Cicer arietinum* L.' un *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. ile inokule edilmiş kapsüllerinde "Cicerin" adı verilen fitoaleksini ilk olarak tespit etmeyi başarmışlardır (Ingham 1976).

Köster et al. (1983) enfekteli nohut bitkilerinden isoflavonların (formononetin ve biochanin A) yanısıra pterocarpon fitoaleksiner olan medicarpin ve maackiain' i HPLC yöntemiyle saptamışlar ve bu bitkilerdeki fitoaleksiner miktarının (1.5-10 nmol g⁻¹ taze ağırlık) bitkinin yaşına bağılı olarak değıştığını bildirmişlerdir.

Kessmann ve Barz (1986) nohut bitkilerinin dikiminden kısa bir süre sonra kotiledonlarında isoflavon biochanin A ve formononetin ile bunların 7-0-glukozid ve 7-0-glukozid-6"- malonat' larının birikmeye başladığını ve kotiledonların yaralanmasıyla da pterocarpan fitoaleksiner olan medicarpin ve maackiain birikiminin uyarıldığını göstermişlerdir. Ayrıca *A. rabiei*' nin miselyumlarından veya gelişme ortamından elde edilen elicitor' un kotiledonlara uygulanmasıyla fitoaleksiner, biochanin A ve formononetin sentezinin arttığını fakat bunların konjugatlarının (7-0-glukozid ve 7-0-glukozide-6" malonate) birikiminin etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Weigand et al. (1986) *A. rabiei* ile enfeksiyondan sonra dayanıklı (ILC 3279) ve duyarlı (ILC 1929) nohut çeşitlerindeki isoflavon ve pterocarpon fitoaleksiner miktarını HPLC yöntemiyle karşılaştırmışlar ve her iki çeşitte de isoflavon ve isoflavon konjugatlarının miktarının çok farklı olmadığını buna karşın enfeksiyondan sonra dayanıklı çeşitlerde medicarpin ve maackiain' nin büyük miktarlarda (20-26 nmol g⁻¹ taze ağırlık) ve hızla biriktiğini ancak duyarlı çeşitte ise sadece az miktarda medicarpin (5 nmol g⁻¹ taze ağırlık) in bulunduğunu bildirmişlerdir.

Hinderer et al. (1987) isoflavonların pterocarpan' lara indirgendüğünü, nohut hücre süspanسیون kültürlerinden elde edilen mikrosomal fraksiyonun fitoaleksiner biyosentezinde 4'-methoxyisoflavonların (biochanin A ve formononetin) 2' ve 3' pozisyonundaki monohidroksilasyonu katalize ettiklerini ve isoflavon 2' - ve 3' - hidroksilaz enzimlerinin pterocarpanların biyosentezine katıldıklarını tespit etmişlerdir.

Kessmann ve Barz (1987) *Ascochyta rabiei*' e karşı dayanıklı (ILC 3279) ve duyarlı (ILC 1929) nohut çeşitlerinin hücre süspansiyon kültürlerinde yüksek miktarda isoflavon biochanin A ve formononetin ile bunların glukozid ve malonylglukozid konjugatlarının biriktiğini buna karşın medicarpin ve maackiain miktarının dayanıklı çeşit hücre süspansiyon kültürlerinde duyarlıdan daha yüksek miktarlarda olduğunu gözlemişlerdir.

Tiemann et al. (1987) dayanıklı (ILC 3279) nohut çeşidinin hücre süspansiyon kültüründen pterocarpan fitoaleksinlerin sentezinde yeni bir enzim olan NADPH: isoflavone oksidoreduktazı izole etmeyi başarmışlardır. Ayrıca maksimum enzim aktivitesinin hücrelerin ortama transferinden 16 saat sonra gerçekleştiğini ve sonra enzim aktivitesinin hızla kaybolduğunu ve bu enzimin medicarpin' in biyosentezinde orta kademe olan isoflavone-2'-hidroksiformononetin' in isoflavanone vestitone indirgenmesini katalize ettiğini göstermişlerdir.

Daniel ve Barz (1990) dayanıklı ve duyarlı nohut bitkilerinin hücre kültürlerine *A. rabiei*' nin misellerinden elde edilen elicitor uygulandığı zaman medicarpin ve maackiain miktarının arttığını ve bu artışın dayanıklı bitkilerde duyarlı bitkilere göre 5 kat daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca fitoaleksinlerin sentezinde rol oynayan enzimlerden isoflavone 2'- ve 3'- hidroksilaz aktivitesinin dayanıklı çeşidin hücrelerine elicitor uygulanmasından 8 saat sonra maksimum düzeyde olmasına karşın, duyarlı çeşit hücrelerinde isoflavone 2'-hidroksilaz aktivitesinde önemli bir artış olmadığını ve fitoaleksin miktarının çok düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Dolar ve Gürcan (1993) *A. rabiei* ile inokule edilen dayanıklı ve duyarlı nohut çeşitlerinin yaprak ve gövdelerinde oluşan pterocarpan fitoaleksinlerden medicarpin ve maackiain' i HPLC yöntemiyle saptamışlardır. Dayanıklı çeşitlerin yaprak ve gövdelerinde her iki fitoaleksininde inokulasyondan 12 saat sonra oluştuğunu ve duyarlı çeşitlerde maackiain' e rastlanmamasına karşın medicarpin birikiminin inokulasyondan

24 saat sonra başladığını tespit etmişlerdir. Ayrıca dayanıklı bitkilerdeki medicarpin (22 µg/g taze ağırlık) ve maackiain (17 µg/g taze ağırlık) miktarının fungal gelişmeyi engellemeye yeterli düzeyde olduğu halde duyarlı çeşitlerde (9.0 µg/g taze ağırlık) yeterli olmadığını ve maackiain' in sadece dayanıklı çeşitlerde tespit edilmesi nedeniyle de dayanıklılıkta önemli bir rolü olabileceğini belirtmişlerdir.

Bashir et al. (1997) inokulasyon önce dayanıklı (CM 72) ve duyarlı (C 727) nohut çeşitlerine 20 mM oksalik asit püskürtülmesinin bitkilerdeki SAR' ı indüklediğini ve hastalık şiddetinin kontrol bitkilerine göre dayanıklı çeşitlerde % 52 hassas çeşitlerde ise % 40 oranında azaldığını saptamışlardır.

Dolar (1997) *A. rabiei*' ye dayanıklı ve duyarlı nohut çeşitlerinin genç yapraklarındaki medicarpin miktarının yaşlı yapraklardakinden daha yüksek olduğunu ve fitoaleksinin miktarı ile hastalık şiddeti arasında negatif bir korelasyonun olduğunu bildirmiştir.

Anil et al. (1998) doku kültüründe geliştirilen nohut genotiplerinin *A. rabiei*' nin kültür filtratı ile inokulasyonundan 24 ve 72 saat sonra fenol, peroksidaz ve beta-1,3- glukanaz aktivitesini değerlendirmişlerdir. Fenol bileşiklerinin artışı dayanıklı genotiplerde duyarlı genotiplere göre daha yüksek olup bu artışın dayanıklı hücre hatlarındaki fungal gelişmeyi engellemeye yetecek düzeyde olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca peroksidaz ve beta-1,3-glukanaz' ın fitoaleksinin ve fenol biyosentezinde rol oynadığını saptamışlardır.

Erdiller vd. (1998) *A. rabiei* (rrk1) ile inokule edilen dayanıklı (ILC 195) ve duyarlı (Canitez-87) nohut çeşitlerinin yapraklarındaki β-1,3-glukanaz ve kitinaz enzim aktivitesini araştırmışlar ve inokulasyondan 1 gün sonra β-1,3-glukanaz aktivitesinin kontrole göre dayanıklı ve duyarlı çeşitlerde 1.3 kat arttığını inokulasyondan sonraki 3. ve 5. günlerde ise bu artışın dayanıklı çeşitlerde 1.9, duyarlı çeşitlerde 1.2 kat daha fazla olduğunu saptamışlardır. Ayrıca inokulasyondan 1 gün sonra kitinaz enzim aktivitesinin

kontrole göre dayanıklı bitkilerde 2.1 duyarlı bitkilerde 1.6 kat daha yüksek olduğunu, inokulasyondan sonra 3. ve 5. günde ise kitinaz enziminin dayanıklı bitkilerde sırasıyla 1.7 ve 1.3 kat daha fazla olduğu halde duyarlı bitkilerde bu günlerde kitinaz enzim aktivitesinin kontrol bitkilerinden farklı olmadığını bildirmişlerdir.

Khirbat ve Jalali (1998) *A. rabiei* ile inokulasyondan sonra duyarlı ve dayanıklı nohut çeşitlerinin yapraklarındaki spesifik polifenoloksidaz aktivitesini ve bağlı fenol seviyesini araştırdıkları çalışmalarında polifenoloksidaz aktivitesinin dayanıklı çeşitlerde inokulasyondan sonra 6-10 gün kadar devam ettiğini, bağlı fenol seviyesindeki artışın ise dayanıklı çeşitlerde inokulasyondan sonra 2-4 gün sürdüğünü tespit etmişlerdir.

Singh et al. (1998) nohutta doğal olarak bulunan malik asidin düşük konsantrasyonlarının (% 0.005 - % 0.01) *Ascochyta rabiei*' nin pikniospor çimlenmesini artırdığını yüksek konsantrasyonların (% 1.5 - % 2) ise çimlenmeyi büyük ölçüde geciktirdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca yaprak ve sürgün dokularının yıkanmasıyla elde edilen organik asitlerin (malik asit vd.) dayanıklı çeşitlerde hassas çeşitlere göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Khirbat ve Jalali (1999) dayanıklı, tolerant ve hassas nohut genotiplerini *A. rabiei* ile enfeksiyondan sonra flavanol, şeker ve major ve minör elementler bakımından karşılaştırmışlar ve duyarlı çeşitlerde flavanol ve nitrojen içeriğinin daha yüksek, şeker içeriğinin ise daha düşük olduğunu buna karşın dayanıklı çeşitlerde fosfor ve potasyum içeriğinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca kullanılan genotipler arasında minör elementler bakımından farklılık bulamamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Denemelerde kullanılan *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.' a karşı duyarlı Canitez-87 tohumu ve *A. rabiei*' nin Ank-6 (Irk-6) izolatu Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden temin edilmiştir. Serbest salisilik asit ($C_7H_6O_3$, MA=138.12, pH=2.4) ise Şifa kimya (Konya) firmasından sağlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi

Tohumlar ekimden önce yüzeysel dezenfeksiyon amacıyla % 1' lik sodyumhipoklorit' de (NaOCl) 2 dakika tutulmuş ve bunu takiben 3 seri steril saf sudan geçirilmiştir. Daha sonra içerisinde 1:1:1 (v/v/v) oranında toprak-kum-gübre bulunan 5 numara saksıların her birine 8 tohum olacak şekilde ekim yapılmış ve bitkilerin çıkışına göre her saksıda 5 bitkinin gelişmesi sağlanmıştır. Denemelerin bir kısmında 19x26x5 cm boyutlarındaki plastik küvetler kullanılmış ve her bir küvette 20 bitkinin gelişmesine izin verilmiştir. Saksı ve küvetler 12 saat aydınlık (Işık intensitesi 9000 lüks) 12 saat karanlık ve 23±2 °C sıcaklık içeren bitki yetiştirme odasında tutulmuştur.

3.2.2. *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. izolatının yetiştirilmesi

Denemelerde *Ascochyta rabiei* (Ank-6)' nin sporulasyonu için en uygun ortam olduğu

Gowen (1986) tarafından bildirilen Nohut -Unu-Dekstroz-Agar (CSMDA: 40 g nohut unu, 20 g dekstroz, 20 g agar ve 1 l saf su) kullanılmıştır. Ank-6 izolatu 20 ml CSMDA içeren 9 cm' lik cam petrilere steril koşullarda aşlandıktan sonra 22±1 °C' de 12 saat aydınlık (yakın ultraviole ışık) 12 saat karanlık periyot içeren inkübasyon odasında 15 gün süreyle geliştirilmiştir.

3.2.3. Bitki inokulasyonu ve hastalık değerlendirmesi

3.2.3.1. İnokulum hazırlanışı

CSMDA üzerinde geliştirilen 15 günlük *Ascochyta rabiei* (Ank-6) kültürlerinin üzerine bir miktar steril saf su ilave edildikten sonra steril bir spatül yardımı ile fungus agar yüzeyinden kazanmış ve steril filtre kağıdından süzülerek misel ve agar parçaları süspansiyondan uzaklaştırılmıştır. Hazırlanan bu spor süspansiyonun konsantrasyonu thoma lamı ile sayım yapılarak 6×10^5 spor /ml' ye ayarlanmıştır.

3.2.3.2. Bitki inokulasyonu

Bitkiler basınçlı pülverizatör kullanılarak 15 günlük *Ascochyta rabiei* (Ank-6) kültürlerinden hazırlanan spor süspansiyonu ile iyice ıslanmaya kadar inokule edilmiştir. Kontrol olarak kullanılan bitkilere ise sadece saf su püskürtülmüştür. İnokulasyondan sonra yüksek nem sağlamak amacıyla bitkilerin üzerine nemli şeffaf torba geçirilmiş ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ve 23±2 °C sıcaklık içeren bitki yetiştirme odasına yerleştirilmiştir. İnokulasyondan 3 gün sonra bitkilerin üzerindeki torbalar çıkarılmış ve yüksek nemli bir ortamdan sonra düşük nemli bir ortamda şoka girmemeleri için bitkilerin üzerine 5 gün boyunca günde 3-4 kez su püskürtülmüştür.

3.2.3.3. Hastalık değerlendirmesi

İnokulasyondan sonra 3 hafta boyunca birer hafta aralıklar ile gözlemler yapılmıştır. Bitki değerlendirmesinde Singh et al. (1981)' nın 1-9 skalası kullanılmış ve skala değerlerine göre % hastalık şiddeti Tawsend-Heuberger formülüne göre tespit edilmiştir (Karman 1971).

1-9 Skalası (Singh et al. 1981)

- 1:Hiçbir bitkide lezyon görülmemekte (yüksek derecede dayanıklı).
- 3:Bitkilerin % 10' undan azında lezyonlar görülmekte, gövdeyi kuşatmamakta (dayanıklı).
- 5:Bitkilerin % 25' inde lezyon görülmekte , bitkilerin % 10' undan daha azında gövdeyi kuşatmakta fakat çok az zarar meydana gelmekte (tolerant).
- 7:Bitkilerin çoğunda lezyon görülmekte, % 50' den daha azında gövdeyi kuşatmakta bunun sonucu olarak birkaç bitki ölmekte ve önemli ölçüde zarar meydana gelmekte (duyarlı).
- 9:Tüm bitkilerin üzerinde çok sayıda lezyon görülmekte, bitkilerin % 50' den fazlasında lezyonlar gövdeyi kuşatmakta ve bitkilerin çoğunda ölüm meydana gelmekte (yüksek derecede duyarlı).

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\Sigma \text{ Skala değeri} \times \text{Skaladaki örnek adedi}}{\text{Toplam örnek adedi} \times \text{En yüksek sınıf değeri}} \times 100$$

Denemeler 5 tekerrür halinde yürütülmüş ve her bir uygulama en az 2 kez tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde MSTAT ve FMSAS istatistik programları kullanılarak varyans analizi ve Duncan ile LSD testleri yapılmıştır.

3.2.4. Bitkilere salisilik asit uygulaması

Bitkilere salisilik asit uygulaması tohum ve toprak üstü kısımlarına olmak üzere 2 farklı şekilde yapılmıştır. Denemelerde kullanılan salisilik asit 0.1 M NaOH (sodyum hidroksit) ile pH= 6.5-7' ye ayarlanarak bitkilere uygulanmıştır

3.2.4.1. Tohumla salisilik asit uygulaması

Farklı dozlarda hazırlanan salisilik asit süspansiyonlarında (0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1, 2, 4 ve 8 mM) nohut tohumları 1 saat bekletildikten sonra ekilmiş ve çıkıştan 15 gün sonra bitkiler 3.2.3.2. de belirtildiği şekilde inokule edilmiştir.

3.2.4.2. Bitkilerin toprak üstü kısımlarına salisilik asit uygulaması

3.2.4.2.1. Bitkilere inokulasyondan önce bir kez salisilik asit uygulaması

Salisilik asidin inokulasyondan önce bitkilerdeki SAR' ı indükleme zamanı ve dozunu tespit etmek için 3.2.1. de belirtildiği gibi yetiştirilen 18 günlük nohut bitkilerine inokulasyondan 1, 2, 3 ve 4 gün önce bir kez 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 ve 1.6 mM dozlarında salisilik asit basınçlı pülverizatör ile püskürtülerek uygulanmıştır. Daha sonra bitkiler *A. rabiei*' nin spor süspansiyonu (6×10^5 spor/ml) ile inokule edilerek belli zaman aralıkları ile gözlemler yapılmış ve inokulasyondan 3 hafta sonra bitkilerdeki % hastalık şiddeti 1-9 skalası uygulanarak değerlendirilmiştir.

3.2.4.2.2. Bitkilere inokulasyondan önce birkaç kez salisilik asit uygulaması

Salisilik asidin 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 mM'lık dozları 2 günlük aralıklarla 2, 3, 4, ve 5 kez olmak üzere nohut bitkilerine uygulanmış ve son uygulamadan 2 gün sonra bitkiler spor süspansiyonu (6×10^5 spor/ml) ile inokule edilmiştir. İnokulasyondan sonra birer hafta aralıklar ile gözlemler yapılmış ve 3. haftanın sonunda % hastalık şiddeti hesaplanmıştır.

3.2.4.2.3. Bitkilere inokulasyondan sonra salisilik asit uygulaması

Salisilik asidin inokulasyondan sonra *A. rabiei* üzerindeki fungitoksik etkisini araştırmak için yapılan denemede inokulasyondan 1, 3 ve 5 gün sonra çeşitli dozlardaki salisilik asit (0.5, 1, 2.5, 5, 7.5 ve 10 mM) nohut bitkilerine bir kez uygulanmış ve uygulamadan 3 hafta sonra bitkilerdeki hastalık şiddeti 1-9 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.2.5. Salisilik asidin *Ascochyta rabiei*'ye fungitoksik etkisinin belirlenmesi

Fungitoksisite testlerinde salisilik asidin 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 15 mM'lık dozlarının Ank-6 izolatının kültür gelişimi, spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Salisilik asidin *Ascochyta rabiei*'nin kültür gelişimine etkisini belirlemek için, değişik dozlardaki salisilik asit 40 °C'ye kadar soğutulan erlen içindeki CSMDA ortamına katılarak iyice çalkalanmış ve petri başına 20 ml olacak şekilde 9 cm'lik cam petri kaplarına dökülmüştür. Daha sonra 15 günlük Ank-6 kültüründen alınan 0.7 mm

çapındaki diskler salisilik asit içeren CSMDA ortamı üzerine ters çevrilerek konulmuştur. Her bir doz için 5 petri bu şekilde aşılandıktan sonra 22±1 °C sıcaklık ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyot içeren inkubasyon odasına yerleştirilmiştir. Koloni çapı ölçümlerine birer hafta arayla 3 hafta boyunca kontrol petrielerindeki *A. rabiei* gelişimi 8.5 cm' ye ulaşınca kadar devam edilmiş ve bu değerlere göre % engelleme hesaplanmıştır.

Salisilik asidin *A. rabiei*' nin spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimine etkisini belirlemek için ise % 50' lik Czapek-dox sıvı ortamı içeren erlenlere 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 15 mM olmak üzere 6 farklı konsantrasyonda salisilik asit katılmış ve ultrasonik ses dalgaları ile parçalanmıştır. Steril saf suyun 5 µl' sinde 100 spor (20.000 spor/ml) olacak şekilde Ank-6 spor süspansiyonu kullanılmadan hemen önce hazırlanmıştır. Daha sonra 9 cm' lik cam petri kaplarındaki (nemli hücre) steril lamaların üzerine parafinle yaklaşık 1 cm çapında 2 halka çizilmiş ve her bir halka bir tekrür olarak kabul edilmiştir. Lamaların petri kaplarındaki nemli hücreye temasını önlemek için lamalar steril kürdanlar üzerine konulmuştur. Bu şekilde hazırlanan lamalar üzerindeki halkalara otomatik mikro pipet yardımıyla 45 µl % 50' lik Czapek-dox-salisilik asit karışımı + 5 µl spor süspansiyonu konulmuştur. Kontrol olarak hazırlanan lamaların üzerine ise 45 µl % 50' lik Czapek-dox sıvı ortamı + 5 µl spor süspansiyonu konulmuştur. Petri kapları 22±2 °C' de ışık altında 16 saat inkübe edilmiş ve bu sürenin sonunda sporları öldürmek amacıyla halkalara asitfuksin laktofenol ilave edilerek üzerlerine lamel kapatılmıştır. Mikroskopta çimlenen ve çimlenmeyen sporlar sayılmış ayrıca sporların çim borusu uzunluğu ölçülmüştür. Her bir konsantrasyon ve kontrol 5 tekrür olarak çalışılmış ve her bir tekrürde değerlendirmeler 100 spor üzerinden yapılmıştır (Dolar ve Gürcan 1993).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bitkilere Salisilik Asit Uygulaması

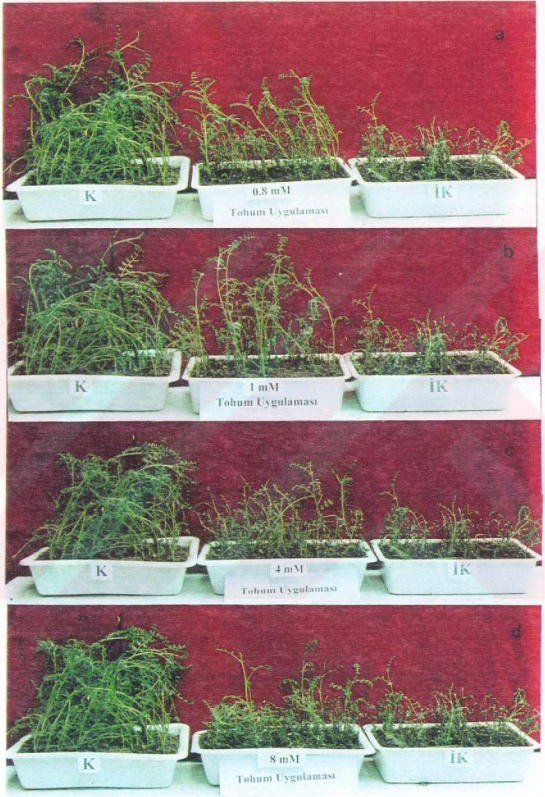
4.1.1. Tohuma salisilik asit uygulaması

Tohuma salisilik asit uygulamasının *A. rabiei* ile daha sonra oluşacak enfeksiyonlara karşı nohut bitkisinde dayanıklılığı uyarıp uyardığını tespit etmek amacıyla yapılan denemelerde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1. de verilmiştir. 0.025 ile 0.8 mM arasındaki SA dozları kontrole göre hastalık şiddetini önemli derecede azaltmamıştır. Daha yüksek dozlarda ise % 14.38 ile % 23,44 oranında *A. rabiei* enfeksiyonu engellenmiştir. 0.8 ile 8 mM arasındaki dozlarda görülen engellemeler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. En fazla engelleme ise % 64.64 hastalık şiddetinin görüldüğü 1 mM' da tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Tohuma SA uygulamasının *A. rabiei* enfeksiyonu üzerindeki etkisi

SA dozu (mM)	% Hastalık şiddeti ^a	% Engelleme
0	84.44±2.22 a	-
0.025	80.02±7.04 ab	-5.23
0.05	79.79±4.24 ab	-5.50
0.1	75.16±4.52 abc	-10.99
0.2	75.05±4.96 abc	-11.12
0.4	74.69±5.26 abc	-11.54
0.8	70.04±4.45 bc	-17.05
1	64.64±11.92 c	-23.44
2	72.29±3.92 bc	-14.38
4	70.00±0.49 bc	-17.10
8	68.68±7.98 c	-18.66

^aAynı harfi alan ortalamalar arasında P>0.05' e göre fark önemsizdir.



Şekil 4.1. Kontrol (K), İnokuleli kontrol (İK) ve Tohuma a) 0.8 mM b) 1mM c) 4 mM d) 8 mM SA uygulanan bitkilerdeki *A. rabiei* enfeksiyonu

4.1.2. Bitkilere inokulasyondan önce bir kez salisilik asit uygulaması

Bitkilere inokulasyondan önce bir kez salisilik asit uygulamasında inokulasyondan 4 gün önce 0.025, 0.05 ve 0.1 mM SA uygulanan bitkilerde hastalık şiddetinde önemli derecede artış gözlenirken, diğer dozlarda kontrole kıyasla istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmemiştir. İnokulasyondan 3 gün önce yapılan SA uygulamasının tüm dozlarında hastalık şiddetinin kontrolden farklı olmadığı tespit edilmiş ve bu günde 0.05 mM hariç diğer 6 doz hastalığı teşvik etmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. İnokulasyondan önce bir kez SA uygulanan bitkilerdeki % hastalık şiddeti ve % engelleme değerleri

Salisilik asit konsantrasyonu (mM)	% Hastalık şiddeti*			
	4 gün	3 gün	2 gün	1 gün
0	71.42±2.91 cdefg	-	-	-
0.025	95.83±4.41 (+34.17) ^b a	73.50±13.73 (+2.91) bedef	77.77±6.42 (+8.89) bede	79.01±9.32 (+10.62) bcd
0.05	87.65±4.89 (+22.72) b	70.76±12.94 (-0.92) cdefg	78.88±6.73 (+10.44) bed	79.08±4.81 (+10.72) bcd
0.1	98.69±2.26 (+38.18) a	73.73±13.81 (+3.23) bedef	61.90±4.39 (-13.32) efg	82.01±6.00 (+14.82) bcd
0.2	83.33±5.55 (+16.67) bc	79.08±2.26 (+10.72) bcd	60.49±7.70 (-15.30) fg	66.66±3.22 (-6.66) defg
0.4	68.42±6.63 (-4.20) cdefg	83.30±1.89 (+16.63) bc	43.43±19.35 (-39.19) hi	71.42±5.53 (0.00) cdefg
0.8	69.75±12.5 (-2.33) cdefg	72.22±4.89 (+1.12) cdefg	37.03±6.36 (-48.15) i	68.05±4.72 (-4.71) cdefg
1.6	70.25±4.36 (-1.63) cdefg	71.80±8.08 (+0.53) cdefg	55.50±10.90 (-22.29) gh	70.30±2.68 (-1.56) cdefg

* Aynı harf alan ortalamalar arasında $P > 0.05$ e göre fark önemsizdir.

^b Parantez içindeki + değerler % teşviki - değerler % engelleme oranını göstermektedir.

İnokulasyondan 2 gün önce salisilik asit uygulamasında ise 0.4 mM' a kadar *A. rabiei* enfeksiyonunda önemli bir azalma olmaz iken 0.4 mM' da % 39.19, 0.8 mM' da % 48.15 oranında hastalık şiddeti engellenmiştir (Şekil 4.2). 1.6 mM' da ise hastalık şiddetinde % 22.29 oranında bir azalma görülmüştür. İnokulasyondan 1 gün önce salisilik asit uygulamasının da *A. rabiei* üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı bulunmuştur. Bu denemenin sonucunda inokulasyondan 2 gün önce SA uygulamasının diğer günlere kıyasla daha etkili olduğu ve 0.2 mM' ın üzerindeki dozların engelleme oranlarının diğer dozlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.2. İnokulasyondan 2 gün önce bir kez a) 0.4 mM b) 0.8 mM SA uygulanan bitkilerdeki *A. rabiei* enfeksiyonu

4.1.3. Bitkilere inokulasyondan önce birkaç kez salisilik asit uygulaması

İnokulasyondan önce belli zaman aralıkları ile birkaç kez SA uygulanması sonucu elde edilen hastalık şiddeti değerleri Çizelge 4.3. de verilmektedir. İnokulasyondan önce 2 gün aralıkla 5 kez SA uygulanan bitkilerde % 14.78 ile % 29.10 oranında hastalık şiddetinde engelleme sağlanmıştır. En fazla engelleme oranı 5 mM SA uygulanan bitkilerde elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. İnokulasyondan önce birkaç kez SA uygulanan bitkilerdeki % hastalık şiddeti ve % engelleme değerleri

Salisilik asit Konsantrasyonu (mM)	% Hastalık şiddeti ^a			
	5 kez	4 kez	3 kez	2 kez
0	84.31±2.88 a	-	-	-
0.25	71.85±2.57 (-14.78) ^b bcd	70.37±7.40 (-16.54) bcdef	72.22±3.34 (-14.34) bc	70.37±1.85 (-16.54) bedef
0.5	66.66±2.22 (-20.94) bcdefgh	75.75±7.25 (-10.16) ab	64.10±2.83 (-23.98) cdefghi	64.81±7.23 (-23.13) cdefghi
1	62.96±3.39 (-25.33) cdefghi	61.11±1.11 (-27.52) defghij	70.94±4.59 (-15.86) bcde	68.25±3.30 (-19.05) bedefg
2	64.44±8.01 (-23.57) cdefghi	71.71±3.68 (-14.95) bcd	61.31±3.77 (-27.27) defghij	55.55±0.00 (-34.12) hijk
3	60.68±11.56 (-28.03) defghij	65.07±6.65 (-22.82) cdefghi	62.96±4.20 (-25.33) cdefghi	50.61±2.82 (-39.98) jk
4	61.11±1.11 (-27.52) defghij	63.62±7.48 (-24.53) cdefghi	68.88±7.28 (-18.31) bcdef	58.97±7.78 (-30.06) fghij
5	59.78±1.39 (-29.10) efghij	55.55±16.4 (-34.12) hijk	60.78±3.11 (-27.91) defghij	45.45±4.09 (-46.10) k
6	66.66±6.94 (-20.94) bcdefgh	56.94±6.70 (-32.47) ghij	59.25±5.60 (-29.73) fghij	53.53±4.71 (-36.51) ijk

^aAynı harfli alan ortalamalar arasında $P>0.05$ e göre fark önemsizdir.

^bParantez içindeki - değerler % engelleme oranını göstermektedir.

4 kez SA uygulanan bitkilerdeki hastalık şiddeti % 55.55 ile % 75.75 arasında olup bu bitkilerdeki engelleme oranı % 10.16 ile % 34.12 arasındadır. 3 kez SA uygulanan bitkilerdeki engelleme oranı ise % 14.31 ile % 29.73 olarak tespit edilmiştir. 2 kez SA uygulanan bitkilerdeki hastalık şiddeti % 70.37 ile % 45.45 arasında olup % 16.54 ile % 46.10 oranında hastalık şiddetinde engelleme sağlanmıştır (Şekil 4.3ab). Hemen hemen tüm uygulamalarda en etkili SA dozunun 5 mM olduğu bulunmuştur. Uygulama sayısı bakımından karşılaştırıldığında ise en fazla engelleme 2 kez uygulama yapılan bitkilerde görülmüştür. İnokulasyondan önce SA uygulanan bitkilerde en fazla engelleme % 46.10 ile 2 kez 5 mM SA uygulanan bitkilerde elde edilmiştir (Şekil 4.3b).



Şekil 4.3a. İnokulasyondan önce 2 kez a) 2 mM b) 3 mM SA uygulamasının *A. rabiei* enfeksiyonu üzerine etkisi



Şekil 4.3b. İnokulasyondan önce 2 kez a) 5 mM b) 6 mM SA uygulamasının *A.rabiei* enfeksiyonu üzerine etkisi

4.1.4. Bitkilere İnokulasyondan Sonra Salisilik Asit Uygulanması

İnokulasyondan sonra 3 farklı zamanda SA uygulanan bitkilerdeki hastalık şiddeti Çizelge 4.4. de verilmiştir. Salisilik asit uygulanan bitkilerde en fazla engelleme inokulasyondan 1 gün sonra uygulama yapılan bitkilerde görülmüştür. Bu uygulamada 0.5 mM' da bir etki görülmez iken daha yüksek dozlarda hastalık şiddeti % 30.81 ile % 43.37 oranında azalmıştır.

Çizelge 4.4. İnokulasyondan sonra değişik konsantrasyonlarda SA uygulanan bitkilerdeki % hastalık şiddeti ve % engelleme değerleri

Salisilik asit konsantrasyonu (mM)	% Hastalık şiddeti ^a		
	1 gün	3 gün	5 gün
0	86.00±2.61 bcd	-	-
0.5	83.80±3.98 (-2.55) ^b bcd	90.85±5.96 (+5.64) ab	89.07±9.23 (+3.57) ab
1	59.50±7.30 (-30.81) fg	77.70±5.44 (-9.65) cde	89.70±1.42 (+4.30) abc
2.5	48.70±3.78 (-43.37) g	65.60±3.91 (-23.72) efg	88.80±7.87 (+3.25) abc
5	53.90±8.16 (-37.32) g	71.23±11.32 (-17.17) def	88.80±2.11 (+3.25) abc
7.5	57.40±11.57 (-33.25) fg	83.72±12.62 (-2.64) abcd	87.60±2.09 (+1.86) abc
10	52.70±3.99 (-38.72) g	88.00±9.41 (+2.33) abc	95.20±1.31 (+10.69) a

^aAynı harfî alan ortalamalar arasında $P>0.05$ ' e göre fark önemsizdir.

^bParantez içindeki + değerle % teşviki - değerler % engelleme oranını göstermektedir.

Hastalık şiddetindeki en fazla azalma 2.5 mM SA uygulanan bitkilerde elde edilmekle beraber 1, 2.5, 5, 7.5 ve 10 mM SA dozlarının engelleme oranları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.4).

İnokulasyondan 3 gün sonra SA uygulanan bitkilerde ise en fazla engelleme inokulasyondan 1 gün sonra SA uygulanan bitkilerde olduğu gibi 2.5 mM SA uygulanan bitkilerde görülmüştür. İnokulasyondan 5 gün sonra SA uygulamasının ise *A. rabiei* enfeksiyonu üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. İnokulasyondan 1 gün sonra a) 2.5 mM b) 5 mM SA uygulanan bitkilerdeki *A. rabiei* enfeksiyonu

4.2. Salisilik Asidin *Ascochyta rabiei* Üzerindeki Fungitoksik Etkileri

Salisilik asidin altı farklı konsantrasyonunun *A. rabiei*' nin koloni gelişimi üzerine etkisi Çizelge 4.5. de verilmektedir. Salisilik asidin 2,5 mM' lik dozu *A. rabiei*' nin misel gelişimi üzerinde % 3.77' lik bir etkiye sahip iken 5 mM' dan itibaren salisilik asidin *A. rabiei*' nin kültür gelişimi üzerindeki etkisi görülmeye başlanmış ve bu dozda % 17.09 oranında bir azalma sağlanmıştır. Salisilik asidin 7,5 mM ve daha yüksek konsantrasyonlarında ise *A. rabiei*' nin kültür gelişimi % 100 oranında engellemiştir (Şekil 4.5)

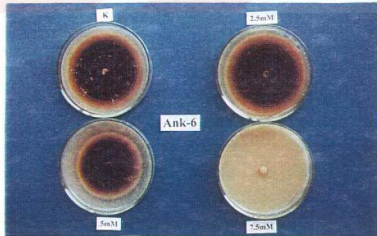
Çizelge 4.5. Salisilik asidin *A. rabiei*' nin koloni gelişimi üzerindeki etkisi

Salisilik asit konsantrasyonu (mM) ^c	Koloni çapı (mm) ^a		
	7gün	14gün	21gün
0	32.87±0.62 a	60.25±0.64 a	82.62±0.47 a
2.5	32.00±0.91 (-2.64) ^b a	57.12±2.59 (-5.19) a	79.5±3.02 (-3.77) b
5	21.37±2.25 (-34.98) b	44.12±2.83 (-26.77) b	68.5±2.38 (-17.09) c
7.5	0.0±0.0 (-100.00) c	0.0±0.0 (-100.00) c	0.0±0.0 (-100.00) d
10	0.0±0.0 (-100.00) c	0.0±0.0 (-100.00) c	0.0±0.0 (-100.00) d
12.5	0.0±0.0 (-100.00) c	0.0±0.0 (-100.00) c	0.0±0.0 (-100.00) d
15	0.0±0.0 (-100.00) c	0.0±0.0 (-100.00) c	0.0±0.0 (-100.00) d

^aAynı harfi alan ortalamalar arasında $P>0.05$ ' e göre fark önemsizdir.

^bParantez içindeki - değerler % engelleme oranını göstermektedir.

^cHer bir sütundaki değerler kendi aralarında LSD testine tabi tutulmuştur.



Şekil 4.5. Salisilik asidin farklı dozlarının *A. rabiei*' nin kültür gelişimine etkisi

Farklı salisilik asit dozlarının *A. rabiei*' nin spor çimlenmesi ve çim borusu uzunluğuna etkisi Çizelge 4.6. da gösterilmektedir. *A. rabiei*' nin salisilik asidin 2.5 ve 5 mM' lık konsantrasyonlarındaki çimlenme yüzdesi kontrole göre sırasıyla % 98.32 ve % 96.27 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte 7.5 mM' da *A. rabiei*' nin çimlenme yüzdesi belirgin bir şekilde azalmıştır. Bu dozda fungusun çimlenme yüzdesi % 1.29 olup spor çimlenmesi % 98.7 oranında engellenmiştir.

A. rabiei' nin çim borusu gelişiminin salisilik asit konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Salisilik asidin en düşük konsantrasyonu olan 2.5 mM' da Ank-6 izolatının çim borusu gelişimi % 10.22 oranında, 5 mM' lık konsantrasyonda % 24.16 oranında engellenmektedir. 7.5 mM' da çok az spor çimlenmekle beraber bu sporların çim boruları kısa olup aynı zamanda deformasyona uğramışlardır. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise spor çimlenmesi gözlenmemiştir.

Çizelge 4.6. Salisilik asidin *A. rabiei*' nin spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine etkisi

Salisilik asit konsantrasyonu (mM)	Çimlenme oranı (%)	Kontrole oranla çimlenme yüzdesi	Çim borusu uzunluğu (µm)
0	89.50±2.32	-	38.82±4.40
2.5	88.00±2.68	98.32	34.85±4.40
5	86.16±3.43	96.26	29.44±3.24
7.5	1.16±1.29	1.29	7.50±1.58
10	0.00±0.00	0.00	0.00±0.00
12.5	0.00±0.00	0.00	0.00±0.00
15	0.00±0.00	0.00	0.00±0.00

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırma nohutlarda büyük problemlere neden olan nohut antraknozuna karşı dayanıklılıkta salisilik asidin rolü üzerinde yapılan çalışmaları içermektedir. Salisilik asit birçok hastalık etmenine karşı bitkilerin dayanıklılığını teşvik etmede kullanılmasına karşın, bu güne kadar *Ascochyta rabiei* enfeksiyonuna karşı nohut bitkilerinin dayanıklılığı üzerinde ne derece etkili olduğuna dair bir çalışma yapılmamıştır. Bu amaç doğrultusunda salisilik asidin tohumu ve bitkinin toprak üstü kısımlarına uygulanması ile bitkilerdeki SAR veya LAR tepkisinin uyarılıp uyarılmadığı ve ayrıca salisilik asidin *A. rabiei* üzerinde fungitoksik etkiye sahip olup olmadığı araştırılmıştır.

Tohuma SA uygulamasında düşük dozlarda uygulama yapılan bitkilerdeki hastalık şiddetinde önemli bir azalma görülmemiş olup tohum uygulamasında en fazla etki hastalık şiddetinde % 23.44 azalma ile 1 mM SA uygulanan bitkilerde tespit edilmiştir. Nabila (1999) 10 mM SA uygulanan kabak tohumlarında CMV partiküllerinin % 83.3 oranında azaldığını gözlemiştir. Cohen (1994)' in SA' din yapraklara püskürtme şeklinde uygulandığında *Peronospora tabacina* enfeksiyonunun azaldığını buna karşın gövde enjeksiyonu veya toprak sulaması şeklinde uygulandığında hastalık şiddetinde bir azalma olmadığını belirttiği çalışmasında olduğu gibi bizim çalışmamızda da yaprak uygulamalarında daha etkili sonuçlar alınmıştır. Tohuma SA uygulamasında çok fazla etkinin görülmemesinin nohutta SA' din sistemik olarak bitkinin toprak üstü kısımlarına taşınmaması sebebiyle mi yoksa uygulama ile inokulasyon arasındaki süre zarfında SA' din etkisinin geçmesinden dolayı mı olduğu bilinmemektedir. Ayrıca SA' din bitkide farklı metabolitlere çevrilmesi nedeniyle yeterli ölçüde dayanıklılığın oluşmaması da mümkündür.

İnokulasyondan önce bir kez SA uygulamasında inokulasyondan 2 gün önce SA uygulanan bitkilerde *A. rabiei* enfeksiyonu üzerinde belirgin bir azalma görülmüştür.

Bununla birlikte inokulasyondan 4, 3 ve 1 gün önce SA uygulanan bitkilerde *A. rabiei* enfeksiyonu üzerinde herhangi bir azalma görülmemiş olup bazı SA dozları hastalığı teşvik etmiştir. Bu sonuçlar SA uygulaması ile inokulasyon arasındaki 2 günlük aranın bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmasının uyarılması için uygun olduğunun belirtildiği diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Cohen 1994, Spletzer ve Enyedi 1999, Fenquan ve Jinsheng 2000). Genellikle SA uygulamasından 24 ile 48 saat sonra lokal dayanıklılığı sağlayan kitinaz birikiminin, bunun yanı sıra phenylalanine ammonia lyase (PAL) aktivitesinin arttığı ve esas olarak SAR aktivasyonunu sağlayan PR-1 proteinlerinin lokal olarak birikiminin başladığı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Yalpani et al. 1991, Palva et al. 1994, Coquez et al. 1995, Lawton et al. 1995, Narusaka et al. 1999, Fengquan ve Jinsheng 2000). Bu çalışmada elde edilen dayanıklılığın salisilik asit uygulaması ile PR-1 proteinlerinin birikiminin teşvik edilmesinden dolayı mı yoksa başka enzim aktiviteilerinin uyarılmasıyla mı ilişkili olduğu bilinmemektedir.

Patojenlere karşı bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmasının SA ile uyarılmasıyla ilgili yapılan çalışmalarda genellikle inokulasyondan önce bir kez SA uygulaması yapılmış ve etkili dozlar bitki ve hastalık etmenine bağlı olarak değişmiştir (Rasmussen et al. 1991, Weete 1992, Elad 1993, Wiczorek 1993, Cohen 1994, Gahalain et al. 1999). İnokulasyondan önce bir kez SA uygulamasının yapıldığı bu denemede 0.4 - 1.6 mM arasındaki dozlarda en iyi sonuçlar alınmış ve 0.8 mM'lık SA dozu *A. rabiei* enfeksiyonunu % 48.15 oranında engelleyen en etkili doz olmuştur. Weete (1992) *Cassia obtusifolia* L. bitkisinin yapraklarına 1 mM SA uygulandığında *Alternaria cassiae* enfeksiyonunun % 18 oranında azaldığını, Elad (1993) yine 1 mM'lık SA dozunun domateslerde *Botrytis cinerea* enfeksiyonunu % 60 oranında azalttığını ve yine aynı dozun marulda *Sclerotinia sclerotiorum*'un neden olduğu beyaz çürüklük hastalık indeksini 5' den 3.5' a kadar indirilebildiğini çalışmalarında saptamışlardır. Bu bulgular bizim sonuçlarımıza uygunluk göstermektedir.

İnokulasyon öncesi belli aralıklarla birkaç kez SA uygulamasında tüm uygulamalarda ve hemen hemen tüm dozlarda hastalık şiddeti önemli derecede engellenmiştir.

Uygulama sayısı bakımından karşılaştırılma yapıldığında en fazla engelleme 2 kez uygulama yapılan bitkilerde görülmüş ve en etkili dozunda % 46.10 oranında hastalık enfeksiyonunda azalmaya neden olan 5 mM'lık SA dozu olduğu saptanmıştır. Benzer bir çalışmada Çökmüş ve Sayar (1991) domates bitkilerine *P. syringae* pv. *tomato* ile inokulasyondan önce 2 şer gün aralıklar ile 7 kez 3.62 mM SA uygulanmasının bitkilerdeki hastalık şiddetini % 81 oranında azalttığını bildirmişlerdir.

İnokulasyondan 2 gün önce bir kez 0.8 mM SA uygulanan nohut bitkilerinde hastalık şiddeti % 48.15 oranında engellenirken, inokulasyondan önce 2 gün aralıkla 2 kez 5 mM SA uygulanan bitkilerde bu oran % 46.10 olarak bulunmuştur. Bu iki uygulamada elde edilen engelleme oranlarının birbirlerine çok yakın değerler olduğu göz önüne alınırsa nohutlarda *A. rabiei* enfeksiyonunu azaltma veya engellemede bir kez ve 0.8 mM SA dozunun uygulanması yeterli olabilecektir.

İnokulasyondan sonra salisilik asit uygulamasının *A. rabiei* enfeksiyonu üzerindeki etkisinin araştırıldığı denemelerde inokulasyondan 3 ve 5 gün sonra SA uygulanan bitkilerde hastalık şiddetinde azalma bulunamamıştır. Sadece inokulasyondan 3 gün sonra 2.5 mM SA uygulanan bitkilerde % 23.72 oranında bir azalma sağlanmıştır. İnokulasyon sonrası uygulamalarında en fazla etki inokulasyondan 1 gün sonra uygulama yapılan bitkilerde görülmüş olup 2.5 mM' da hastalık şiddetinde % 43' lük bir azalma sağlanmıştır.

A. rabiei'nin sporları bitki üzerinde inokulasyondan 12 saat sonra çimlenmeye başlamakta ve 24 - 48 saat içerisinde appressorium oluşturup penetrasyonu gerçekleştirmektedir (Pandey et al. 1987, Höhl et al. 1990, Dolar 1994). İnokulasyondan sonraki 1. günde uygulanan SA bitki yüzeyindeki *A. rabiei* sporlarına direk fungitoksik etki yaparak spor çimlenmesini ve penetrasyonu engelleyebileceği gibi uygulanan SA nohutlardaki medicarpin ve maackiain adı verilen 2 pterocarpan fitoaleksinin sentezlenmesini de uyararak hastalık şiddetinde azalmaya neden olabilir.

SA' din *A. rabiei* üzerindeki fungitoksik etkisinin araştırıldığı denemelerde Ank-6 izolatının miseliyal gelişimi SA konsantrasyonundaki artışa ters orantılı olarak azalmıştır. 7.5 mM SA dozu *A. rabiei*' nin koloni gelişimi ve spor çimlenmesini tamamen engellemiştir. Düşük dozlar spor çimlenmesi üzerinde pek etkili olmamakla beraber çim borusu uzunluğunu etkilemişlerdir.

Elad (1993) tarafından 10 mM SA' din PDA ortamında *Botrytis cinerea*' nın miseliyal gelişiminin % 42, konidi çimlenmesinin ise % 52 oranında engellendiğinin bulunduğu çalışmanın sonuçları bizim sonuçlarımıza paralellik göstermektedir. Ancak Çökmüş ve Sayar (1991) bitki uygulamalarında *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*' ya karşı etkili buldukları 0.36-7.24 mM arasındaki SA konsantrasyonlarının bu bakterinin kültür gelişimini etkilemediğini bildirmektedirler. Yine Coquez et al. (1995) 1-10 mM arasındaki SA dozlarının *Phytophthora infestans*' ın miseliyal gelişimini etkilemediğini belirtmektedirler. Spletzer ve Enyedi (1999) ise domateste *Alternaria solani* enfeksiyonunu büyük ölçüde azaltan 200 µM' lık SA dozunda dahil olmak üzere 0-200 µM arasındaki SA konsantrasyonunun *A. solani*' nin miseliyal gelişimini engellemediğini çalışmalarında saptamışlardır. Bu da göstermektedir ki SA tüm hastalık etmenleri üzerinde fungitoksik bir etkiye sahip değildir. Ancak bitkilerdeki LAR veya SAR' ı teşvik ederek hastalık şiddetini azaltmaktadır.

Nohutlarda görülen en önemli hastalıklar dan biri olan *A. rabiei*' ye karşı bitkilere SA uygulanarak dayanıklılığın uyarılması bu patojene karşı etkin bir mücadele yöntemi sağlayabilir. Salisilik asidin bitkilerdeki sistemik kazanılmış dayanıklılıkta oldukça önemli bir rolü olduğu bilinmesine rağmen SA ile ilgili bazı problemler bulunmaktadır. İlk olarak SA' din bitkilerdeki etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. SA' din bitkilerdeki PR-1 proteinlerinin ve dayanıklılığın uyarılmasında rol oynadığının bilinmesine rağmen SA' din bitkilerdeki SAR' ın uyarılmasından sorumlu olan sistemik bir sinyal olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir.

Gaffney et al. (1993) salisilik asidin dekompose edilmesinden sorumlu olan salisilat hidroksilaz enzimini kodlayan nahG genini taşıyan transgenik tütün bitkilerinde TMV enfeksiyonundan sonra sistemik kazandırılmış dayanıklılığın oluşmadığını bu sebeple de SA' din patojenlere karşı SAR' ın uyarılmasında önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir. Buna karşın Vernooij et al. (1994) SA' din SAR' ı uyaran bir sinyal olmayabileceğini ve bu sistemik sinyalin oluşumunun SA birikimine bağlı olmadığını belirtmişlerdir. Bununla birlikte dışarıdan uygulanan SA genelde β -glukosidler olmak üzere farklı bileşiklere konjuge edilmektedir (Enyedi ve Raskin 1993). Bu konjugatlar ise serbest SA gibi floemde hareket edememektedir. SA uygulamasından sonra serbest SA' din büyük bir kısmının sistemik dokulara nakledilememesi ise SA' din exogen bir uyarıcı olarak faydasını azaltmaktadır. Ayrıca kullanılan SA ile ilgili olarak ürün toleransı problemleri bulunmaktadır (Kessmann et al.1994). Bu bileşiğin bitkilerde etkili ve yüksek derecede fitotoksik olduğu oran arasında dar bir güvenlik sınırı bulunmakta olup SA uygulamasıyla elde edilen dayanıklılığın SA' din bitkiye uygulanma şekli, sıcaklık, ışık, bitkinin çeşidi, yaşı ve bitkideki enzim mekanizmaları ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir.

Bütün bunlara rağmen SA birçok bitki hastalığını engellemede etkili olarak bulunmuştur ve nohutlarda problem olan ve çok sayıda ilaçlamayı gerektiren *A. rabiei* enfeksiyonuna karşı dayanıklılığı artırmada kullanılabilirliği söz konusu olabilir. Ancak SA uygulamasının bitkide hangi enzim, fitoaleksin ve protein sentezi üzerinde etkili olduğuna dair daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu tezdeki bulguların daha sonraki detaylı çalışmalara ışık tutacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Akem, C. 1999. *Ascochyta* blight of chickpea: present status and future priorities. *International Journal of Pest Management*, 45; 131-137.
- Anil, S., Rajender, S., Saini, N., Vinod, S., Singal, H.R., Sindhu, A., Singh, R. and Sangwan, V. 1998. Studies on defence mechanism of chickpea (*Cicer arietinum* L.) callus cultures against *Ascochyta rabiei*. *Legume-Research*, 21 (2); 105-108.
- Anonymous. 1998. CGIAR Secretariat: MTM/98/05 Financial Requirements of the 1998 Research Agende. May 1998.
- Anonymous. 2000. Devlet İstatistik Enstitüsü (basılmamış) Ankara.
- Bashir, N., Hashmi, M., Jamil, F. 1997. Induction of systemic acquired resistance by oxalic acid in chickpea (*Cicer arietinum*) against *Ascochyta rabiei*. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 9 (1); 18-20.
- Cohen, Y. 1994. 3-Aminobutyric acid induces systemic resistance against *Peronospora tabacina*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 44; 273-288.
- Coquoz, L.J., Buchala, J.A., Meuwly, Ph. and Metraux, P.J. 1995. Arachidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance in potato plants to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology*, 85; 1219-1224.
- Cotter, E.J. 1977. Isolation of important pathogenic fungi from seeds of *Cicer arietinum*. *Seed Science & Technology*, 5, 593-597.
- Çökmüş, C. ve Sayar, A.H. 1991. Effect of salicylic acid on the control of bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *J. Turk. Phytopath.*, 20; 27-32.
- Daniel, S. and Barz, W. 1990. Elicitor-induced metabolic changes in cell cultures of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars resistant and susceptible to *Ascochyta rabiei*. *Planta*, 182; 279-286.
- Dolar, F.S. ve Gürcan, A. 1993. The role of the phytoalexins on the resistance to chickpea blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.) in chickpeas. *J. Turk. Phytopath.*, 22 (1); 17-26.
- Dolar, F.S. 1994. Development of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. in the leaves of susceptible and resistant chickpea cultivars. *J. Turk. Phytopath.*, 23; 27-35.
- Dolar, F.S. 1997. Accumulation of the phytoalexin medicarpin in young and old leaves of resistant and susceptible chickpea cultivars to *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. *J. Turk. Phytopath.*, 26 (1); 31-38.
- Duke, J.A. 1981. Handbook of legumes of world economic importance. Plenum Press, p. 52-57., New York.
- Elad, Y. 1993. Regulators of ethylene biosynthesis or activity as a tool for reducing susceptibility of host plant tissues to infection by *Botrytis cinerea*. *Neth. J. Pl. Path.*, 99; 105-113.
- Enyedi, A.J. and Raskin, I. 1993. Induction of UDP-Glucose: salicylic acid glucosyltransferase activity in Tobacco mosaic virus-inoculated tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaves. *Plant Physiol.*, 101; 1375-1380.
- Erdiller, G., Smith, C.J., Dolar, F.S., Akbaş, B., Katurcıoğlu, Y.Z., Elibüyük, İ.Ö. ve Seçer, E. 1998. *Ascochyta rabiei*' ye dayanıklı ve duyarlı nohut çeşitlerinde

- B-1,3-glucanase ve chitinase aktivitelerinin belirlenmesi. VIII.Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 21-25 Eylül, s.95-100.
- Eser, D. 1976. Nohut (*Cicer arietinum*)' ta başlıca bitki özelliklerinin kalıtım değerleri; bu özellikler ile bitki verimi arasındaki ilişkiler ve *Ascochyta rabiei* (Pass.)' ye dayanıklılığın kalıtımı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No:620 Ankara.
- Eser, D. ve Soran, H. 1978. Yerli ve yabancı kökenli nohut çeşitlerinin orta anadolu koşullarında erkencilik, verimlilik ve hastalıklara dayanıklılık yönünden mukayeseli incelenmesi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Yayın No: 684., Ankara.
- Fengquan, L. and Jinsheng, W. 2000. Preliminary study on resistance of rice seedling to leaf blight induced by salicylic acid. Acta Phytophylacica Sinica, 27 (1); 47-52.
- Fodor, J., Gullner, G., Adam, A.L., Barna, B., Kömives, T. and Kiraly, Z. 1997. Local and systemic responses of antioxidants to Tobacco mosaic virus infection and to salicylic acid in tobacco. Plant Physiol., 114; 1443-1451.
- Gaffney, T., Friedrich, L., Vernooij, B., Negrotto, D., Nye, G., Uknes, S., Ward, E., Kessmann, H., Ryals, J. 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. Science, 261; 754-756.
- Gahalain, A., Kumar, P., Bhatt, J.C., Dube, S.D., Chauhan, V.S. 1999. Effect of environmental conditions, salicylic acid and phytohormones on pea leaf blight. Indian Phytopathology, 52 (3); 270-273.
- Gowen, S.R.,1986. Investigation into variability in *Ascochyta rabiei* and resistance to the disease in chickpea. Report of Project R 3712 funded by the Overseas Development Administration , Eland House, Londen
- Gowen, S.R., Orton, M., Thurley, B. and White, A. 1989. Variation in pathogenicity of *Ascochyta rabiei* on chickpeas. Tropical Pest Management, 35 (2); 180-186.
- Gullner, G., Fodor, J. and Kiraly, L. 1995. Induction of glutathione S-transferase activity in Tobacco necrosis virus infection and by salicylic acid. Pesticide Science, 45; 290-291.
- Haware, M.P., Nene, Y.L. and Mathur, S.B., 1986. Seed-borne diseases of chickpea. Technical Bulletin no.1. Copenhagen, Denmark: Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. 32 pp.
- Hinderer, W., Flentje, U. and Barz, W. 1987. Microsomal isoflavone 2'- and 3'-hydroxylases from chickpea (*Cicer arietinum* L.) cell suspensions induced for pterocarpan phytoalexin formation. Febs Letters, 214 (1); 101-106.
- Höhl, B., Pfautsch, M. and Barz, W. 1990. Histology of disease development in resistant and susceptible cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with spores of *Ascochyta rabiei*. J. Phytopathology, 129; 31-45.
- Ingham, J.L. 1976. Induced and constitutive isoflavonoids from stems of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) inoculated with spores of *Helminthosporium carbonum* Ullstrup. Phytopath. Z., 87; 353-367.
- Kaiser, W.J. 1972. Occurrence of three fungal diseases of chickpea (*Cicer arietinum*) in Iran. FAO Plant Protection Bulletin, 20 (4); 73-78.
- Kaiser, W.J. 1973. Factors affecting growth, sporulation, pathogenicity and survival of *Ascochyta rabiei*. Mycologia, 65; 444-457.

- Kaiser, W.J., Okhovat, M. and Mossahebi, G.H 1973. Effect of seed treatment fungicides on control of *Ascochyta rabiei* in chickpea seed infected with the pathogen. Plant Dis. Repr., 57; 742-746.
- Kaiser, W.J. 1981. Control of *Ascochyta* blight of chickpea through clean seed. In Proceeding of the Workshop on *Ascochyta* Blight and Winter Sowing of Chickpeas M.C. Saxena ve K.B. Singh (Ed' ler.). ICARDA. Aleppo. Syria. 117-123.
- Kaiser, W.J. 1987. Testing and production of healthy plant germplasm. Technical Bulletin. No. 2 (Copenhagen, Denmark: Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries), 30 pp.
- Kaiser, W.J. and Muehlbauer, F.J. 1988. An outbreak of *Ascochyta* blight of chickpea in the Pacific Northwest, USA, in 1987. International Chickpea Newsletter, 18; 16-17.
- Kaiser, W.J. 1997. Inter-and intranational spread of *Ascochyta* pathogens of chickpea, faba bean and lentil. Canadian Journal of Plant Pathology, 19; 215-224.
- Kaiser, W.J., Coca, F.W., Vega, S.O. 2000. First report of *Ascochyta* blight of chickpea in Latin America. Plant Disease, 84 (1); 102.
- Karahan, O. 1968. Nohut antraknozu' nun [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.] mücadele metodunun tespiti üzerinde arařtırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 8 (2); 77-110.
- Karman, M. 1971. Denemelerin kuruluş ve değerlendirme esasları. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüęü Yayınları. İzmir, s. 277.
- Kessmann, H. and Barz, W. 1986. Elicitation and suppression of phytoalexin and isoflavone accumulation in cotyledons of *Cicer arietinum* L. as caused by wounding and by polymeric components from the fungus *Ascochyta rabiei*. J. Phytopathology, 117; 321-335.
- Kessmann, H. and Barz, W. 1987. Accumulation of isoflavones and pterocarpan phytoalexins in cell suspension cultures of different cultivars of chickpea (*Cicer arietinum*). Plant Cell Reports. 6; 55-59.
- Kessmann, H., Staub, T., Hofmann, C., Maetzke, T., Herzog, J. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. Annu. Rev. Phytopathol., 32; 439-459.
- Khirbat, S.K. and Jalali, B.L. 1998. Polyphenoloxidase and bound phenol content in the leaves of chickpea (*Cicer arietinum* L.) after inoculation with *Ascochyta rabiei*. Legume-Research, 21 (3-4); 198-200.
- Khirbat, S.K. and Jalali, B.L. 1999. Biochemical basis of resistance to chickpea *Ascochyta* blight. Legume-Research, 22 (1); 46-50.
- Köster, J., Zuzok, A. and Barz, W. 1983. High-performance liquid chromatography of isoflavones and phytoalexins from *Cicer arietinum*. Journal of Chromatography, 270; 392-395.
- Lawton, K., Weymann, K., Friedrich, L., Vernooij, B., Uknes, S. and Ryals, J. 1995. Systemic acquired resistance in *Arabidopsis* requires salicylic acid but not ethylene. MPMI, 8; 863-870.
- Maden, S., Singh, D., Mathur, S.B. and Neergaard, P. 1975. Detection and location of seed-borne inoculum of *Ascochyta rabiei* and its transmission in chickpea (*Cicer arietinum*). Seed Science and Technology, 3; 667-681.
- Malamy, J., Carr, J.P., Klessig, D.F., Raskin, I. 1990. Salicylic Acid: A likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. Science, 250; 1002-1004.

- Malamy, J., Henning, J. and Klessig, D.F. 1992. Temperature-dependent induction of salicylic acid and its conjugates during the resistance response to tobacco mosaic virus infection. *The Plant Cell*, 4; 359-366.
- Metraux, J.P., Signer, H., Ryals, J., Ward, E., Benz, M.W., Gaudin, J., Raschdorf, K., Schmid, E., Blum, W., Inverardi, B. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science*, 250; 1004-1006.
- Morral, R.A. and McKenzie, D.L. 1974. A note on the inadvertent introduction to North America of *Ascochyta rabiei*, a destructive pathogen of chickpea. *Plant Disease Reporter*, 58; 342-345.
- Muehlbauer, F.J. and K.B. Singh. 1987. Genetics of chickpea. In: M.C. Saxena and K.B. Singh (eds.), *The Chickpea*. CAB. International, p. 99-125., Wallingford, Oxon, OX10 8DE, UK.
- Muehlbauer, F.J. 1993. Food and grain legumes. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*, p. 256-265., Wiley, New York.
- Nabila, A. 1999. Effects of chemical and heat treatments of seeds on squash infection by cucumber mosaic virus. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 30 (4); 193-206.
- Narusaka, Y., Narusaka, M., Horio, T., Ishii, H. 1999. Comparison of local and systemic induction of acquired disease resistance in cucumber plants treated with benzothiadiazoles or salicylic acid. *Plant Cell Physiol*, 40(4); 388-395.
- Navas-Cortes, J.A., Trapero-Casas, A. and Jimenez-Diaz, R.M. 1995. Survival of *Didymella rabiei* in chickpea debris in Spain. *Plant Pathology*, 44; 332-339.
- Nene, Y.L. 1982. A review of *Ascochyta* blight of chickpea. *Tropical Pest Management*. 28(1); 61-70.
- Nene, Y.L. and Reedy, M.V. 1987. Chickpea diseases and their control. In M.C. Saxena and K.B. Singh (eds) *The Chickpea* (Oxon, UK: CAB International), pp. 233-270.
- Nene, Y.L., Sheila, V.K. and Sharma, S.B. 1989. A world list of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) pathogens. *Legume Pathology Progress Report 7* (Patancheru Andhra Pradesh 502 324, India: Icrisat), 23 pp.
- Nene, Y.L., Reddy, M.V., Haware, M.P., Ghanekar, A.M. and Amin, K. 1991. Field diagnosis of chickpea diseases and their control. *Information Bulletin no: 28*, ICRISAT, Patancheru, Indian.
- Palva, T.K., Hurtig, M., Saindrenan, P. and Palva E.T. 1994. Salicylic acid induced resistance to *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* in tobacco. *MPMI*, 7; 356-363.
- Pandey, B.K., Singh, U.S. and Chaube, H.S. 1987. Mode of infection of *Ascochyta* blight of chickpea caused by *Ascochyta rabiei*. *J. Phytopathology*, 119; 88-93.
- Poole, P.R. and McLeod, L.C. 1994. Development of resistance to picking wound entry *Botrytis cinerea* storage rots in kiwifruit. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 22; 387-392.
- Pun, K.B., Doraiswamy, S. and Jeyarajan, R. 2000. Screening of virus inhibitory chemicals and neem products against okra yellow vein virus. *Indian Phytopathology*, 53 (1); 95-96.
- Quintanilla, P. and Brishammar, S. 1998. Systemic induced resistance to late blight in potato by treatment with salicylic acid and *Phytophthora cryptogea*. *Potato Research*, 41; 135-142.

- Rasmussen, J.B., Hammerschmidt, R. and Zook, M.N. 1991. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiol.*, 97; 1342-1347.
- Reddy, M.V. and Singh, K.B. 1990. Management of *Ascochyta* blight of chickpea through integration of host plant tolerance and foliar spraying of chlorothalonil. *Indian Journal of Plant Protection*, 18; 65-69.
- Reglinski, T., Poole, P.R., Whitaker, G. and Hoyte, S.M. 1997. Induced resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in kiwifruit leaves. *Plant Pathology*, 46; 716-721.
- Sathiyabama, M. and Balasubramanian, R. 1999. Treatment of groundnut leaves with salicylic acid controls the development of rust disease caused by *Puccinia arachidis*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 106 (2); 166-173.
- Silverman, P., Seskar, M., Kanter, D., Schweizer, P., Metraux, J.P. and Raskin, I. 1995. Salicylic acid in rice. *Plant Physiol.*, 108; 633-639.
- Singh, K.B., Hawtin, G.C., Nene, Y.L. and Reddy, M.V. 1981. Resistance in chickpeas to *Ascochyta rabiei*. *Plant Disease*. 65: 586-587.
- Sing, K.B. and Reddy, M.V. 1989. Genetics of resistance to *Ascochyta rabiei* in four chickpea lines. *Crop Science*, 29: 657-659.
- Sing, K.B. and Reddy, M.V. 1990. Patterns of resistance and susceptibility to races of *Ascochyta rabiei* among germ plasm accessions and breeding lines of chickpea. *Plant Disease*, 74; 127-129.
- Sing, K.B. and Reddy, M.V. 1991. Advances in disease-resistance breeding in chickpea. *Adv. Agron.*, 45; 191-222.
- Singh, K.B. and Saxena, M.C. 1996. Winter chickpea in mediterranean-type environments. ICARDA, Aleppo, Syria. 38 pp.
- Singh, P.J., Mahendra P. Devakumar, C., Pal, M. 1998. Role of malic acid in pycnidiospore germination of *Ascochyta rabiei* and chickpea blight resistance. *Indian Phytopathology*, 51 (3); 254-257.
- Smithson, J.B., Thompson, J.A. and Summerfield R.J. 1985. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) In: R.J. Summerfield and E.H. Roberts (eds.), *Grain Legume Crops.*, p. 312-390., Collins, London, UK.
- Spletzer, E.M. and Enyedi, J.A. 1999. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. *Phytopathology*, 89; 722-727.
- Tiemann, K., Hinderer, W. and Barz, W. 1987. Isolation of NADPH: isoflavone oxidoreductase, a new enzyme of pterocarpan phytoalexin biosynthesis in cell suspension cultures of *Cicer arietinum*. *Febs Letters*, 213 (2); 324-328.
- Trapero-Casas, A. and Kaiser, W. J. 1992. Influence of temperature, wetness period, plant age and inoculum concentration on infection and development of *Ascochyta* blight of chickpea. *Phytopathology*, 82; 589-596.
- Trapero-Casas, A., Navas-Cortez, J.A. and Jimenez-Diaz, R.M. 1996. Airborne ascospores of *Didymella rabiei* as a major primary inoculum for *Ascochyta* blight epidemics in chickpea crops in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 102; 237-245.
- Tu, J.C. and Hall, R.J. 1984. *Ascochyta rabiei* in Ontario. *Canadian Phytopathology*, 74; 826.
- Vernooij, B., Friedrich, L., Morse, A., Reist, R., Jawhar, R.K., Ward, E., Uknes, S., Kessmann, H. and Ryals, J. 1994. Salicylic acid is not the translocated signal

- responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell*, 6; 959-965.
- Ward, E. and Ryals, J. 1994. A control role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science*, 266; 1247-1250.
- Weete, J.D. 1992. Induced systemic resistance to *Alternaria cassiae* in sicklepod. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 40; 437-445.
- Weigand, F., Köster, J., Weltzien, H.C. and Barz, W. 1986. Accumulation of phytoalexins and isoflavone glucosides in a resistant and susceptible cultivar of *Cicer arietinum* during infection with *Ascochyta rabiei*. *J. Phytopathology*, 115; 214-221.
- Weltzien, H.C. and Kaack, H.J. 1984. Epidemiological aspects of chickpea *Ascochyta* blight. In M. C. Saxena and K. B. Singh (eds.) *Ascochyta* blight and winter sowing of chickpeas (The Hague, The Netherlands: Maritus Nijhoff/ Dr Junk), pp. 35-44.
- Wilson, A.D. and Kaiser, W.J. 1995. Cytology and genetics of sexual incompatibility in *Didymella rabiei*. *Mycologia*, 87; 795-804.
- Wieczorek, J.F. 1993. Induced systemic resistance of the potato leaves to *Phytophthora infestans*. *Phytopath. Polonica*, 6; 39-44.
- Yalpani, N., Silverman, P., Michael, T., Wilson, A., Kleier, D.A. and Raskin, I. 1991. Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis-related proteins in virus-infected tobacco. *The Plant Cell*, 3; 809-818.
- Yalpani, N., Leon, J., Lawton, M.A. and Raskin, I. 1993. Pathway of salicylic acid biosynthesis in healthy and virus-inoculated tobacco. *Plant Physiol.*, 103; 315-321.

ÖZGEŞMİŞ

1976 yılında Ankara' da doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini Ankara' da tamamladı. 1994 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü' nden 1998 yılında Ziraat Mühendisi ünvanıyla mezun oldu. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim dalında yüksek lisans yapmaya hak kazandı. Eylül 2000 tarihinden beri A.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**