



Araştırma Makalesi

***In-vitro* Koşullarda pH'nın Nohut (*Cicer arietinum*)'da Antraknoz Etmeni Olan *Ascochyta rabiei*'nin Miselyal Gelişimi Üzerine Etkisi**

Sevim ATMACA^{1,*}, Ali ENDES ²

¹⁻²Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma, Bölümü, 66100, Yozgat, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-8568-3469>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4815-5864>

*Sorumlu Yazar e-mail: sevim.dogan@yobu.edu.tr

Makale Tarihiçesi

Geliş: 02.06.2022

Kabul: 11.06.2022

Anahtar Kelimeler

Ascochyta rabiei,
Miselyal gelişim,
pH

Öz: Nohut (*Cicer arietinum*, Fabaceae), Orta Asya ve Afrika'nın birçok yerinde önemli bir diyet proteini kaynağını temsil eden yenilebilir bir baklagil mahsulüdür. Bu baklagil, çoğunlukla gelişmekte olan ülkelerde, hayvansal proteinlere bir alternatif olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır ve ekonomik nedenlerden ya da vejetaryen insanların tercihlerinden dolayı önemli bir diyet bileşeni olmuştur. Tüm dünyada nohutları etkileyen fungal hastalıklar içerisinde en önemli olan *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.'in neden olduğu *Ascochyta* yanıklığıdır [teleomorf: *Didymella rabiei* (Kovachesi) Von Arx]. Patojen, özellikle hastalık gelişimi için elverişli koşullar altında hassas kültür çeşitlerinde salgın boyutunda ciddi yanıklığa ve verim kayıplarına (%100'e kadar) neden olur. Bu çalışmada, Patates Dextrose Agar üzerinde farklı pH (5, 6, 7) derecelerinin *Ascochyta rabiei*'nin miselyal büyümesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada Yozgat ili nohut üretim alanlarından izole edilen 9 adet izolat kullanılmıştır. Steril bir mantar delici kullanılarak 10 günlük kültürlerin aktif olarak büyüyen kenarlarından 6 mm çapında fungus diskleri alınmış ve farklı pH değerlerine ayarlanan PDA besi yerlerine yerleştirilmiştir. Her bir izolatiğin 4 tekerrür olmak üzere tesadüf parselleri deneme desenine göre çalışma yürütülmüştür. Optimum miselyal gelişimini belirlemek için yapılan çalışmada, pH 6 ve 7'de etmenin gelişimi pH 5'e göre fazla olmuştur. Ar9 ve Ar44 *A. rabiei* izolatlarının gelişiminin diğer izolatlarla göre önemli ölçüde farklı olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, patojen × pH etkileşimi anlamlı ölçüde farklılık göstermiştir.

Atıf Künyesi: Atmaca S. ve Endes A. (2022). *In-Vitro* Koşullarda pH'nın Nohut (*Cicer arietinum*)'da Antraknoz Etmeni Olan *Ascochyta rabiei*'nin Miselyal Gelişimi Üzerine Etkisi, *Bozok Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(1), 24-30. **How To Cite:** Atmaca S. ve Endes A. (2022). The Effect of pH on Mycelial Growth of *Ascochyta rabiei*, An Anthracnose Agent in Chickpea (*Cicer arietinum*) in *In-Vitro* Conditions, *Bozok Journal of Agriculture and Natural Sciences*, 1(1), 24-30.

The Effect of pH on Mycelial Growth of *Ascochyta rabiei*, An Anthracnose Agent in Chickpea (*Cicer arietinum*) in *In-Vitro* Conditions

Article Info

Received:02.06.2022
Accepted: 11.06.2022

Keywords

Ascochyta rabiei,
Mycelial growth,
pH

Abstract: Chickpea (*Cicer arietinum*, Fabaceae) is an edible legume crop that represents an important source of dietary protein in many parts of Central Asia and Africa. This legume is increasingly used as an alternative to animal protein, mostly in developing countries, and has become an important dietary component either for economic reasons or the preference of vegetarian people. Among the fungal diseases affecting chickpeas all over the world, the most important is Ascochyta blight caused by *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. [teleomorph: *Didymella rabiei* (Kovachski) Von Arx]. The pathogen causes epidemic-size severe blight and yield losses (up to 100%) in susceptible cultivars, especially under conditions favorable for disease development. In this study, the effect of different pH (5, 6, 7) on Potato Dextrose Agar on mycelial growth of *Ascochyta rabiei* was investigated. In the study, 9 isolates isolated from chickpea production areas in Yozgat province were used. Fungi discs with a diameter of 6 mm were taken from the actively growing edges of the 10-day-old cultures using a sterile mushroom borer and placed in PDA media adjusted to different pH values. The study was carried out according to the randomized plot design with 4 replications for each isolate. In the study conducted to determine the optimum mycelial growth, the growth of the agent was higher at pH 6 and 7 than at pH 5. It was determined that the development of Ar9 and Ar44 *A. rabiei* isolates was significantly different from other isolates. As a result, the pathogen \times pH interaction differed significantly.

1. Giriş

Nohut (*Cicer arietinum* L.) Leguminosae (Fabaceae) familyasının Faboideae alt familyasına ait bir baklagildir. Nohut baklagiller içerisinde iyi bir protein kaynağı olarak insanoğlunun sağlıklı beslenmesi, yoksulluğu ve açlığı azaltma ve ekosistem dengesini koruma gibi özellikleri nedeniyle dünya ekonomisinde büyük bir öneme sahiptir (Pande ve ark., 2005). Nohudun kökeni konusunda farklı görüşler öne sürülse de anavatanı olarak bilinen yer Türkiye'nin Güney Doğu bölgesidir. Pek çok kaynağa göre, bu bölgede nohut ekimi 7000-7500 yıl önceye dayanmaktadır. Bugün artık dünyanın pek çok ülkesinde nohut tarımı yapılmaktadır. Dünyada nohut, fasulyeden sonra ikinci en önemli baklagil bitkisi olup en az 46 ülkede yetiştirilmektedir (FAOSTAT, 2020).

Dünya'da 2019 verilerine göre nohudun ekiliş alanı 4.865.918 ha, üretim miktarı ise 5.898.440 ton olup üretimin çoğunluğu gelişmekte olan ülkelere aittir. Türkiye aynı yıl verilerine göre 281.741 ha ekim alanı ve 353 631 ton üretim miktarı ile Kanada, Hindistan, Avustralya'dan sonra dördüncü sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2020). Türkiye'de 2021 verilerine göre 520.595 ha nohut ekimi yapılarak yaklaşık 630.000 ton nohut elde edilmiştir. Nohut üretiminde 2019-2021 yılları ortalama verilerine göre birinci sırada 558.097 dekar alanda 71.484 ton nohut üretimi ile Kırşehir yer almaktadır. Yozgat ili, 577.460 dekar alanda 69.450 ton nohut üretimi ile Türkiye'nin toplam nohut üretiminin %11.03'ünü karşılayarak nohut üretimi sıralamasında Türkiye ikincisi olmuştur (TÜİK, 2021).

Nohut danesi protein, karbonhidrat, minareller ve vitaminler bakımından oldukça zengindir (Setia ve ark., 1985). Özellikle leucine, histidine, iso-leucine, lysine, fenilalanin, threonine ve valine gibi aminoasitlerce zengindir. Hayvansal proteinin yeterince sağlanamadığı ülkelerde önemli bir bitkisel protein kaynağı durumundadır. Nohudun sapsarı tahıl sapsarı oranla yüksek oranda azot içerdiğinden hayvan beslemede yem rasyonlarında kullanılmaktadır (Şehirali, 1988). Nohut bitkisinin köklerine yerleşen *Rhizobium* spp. bakterileri ile ortak yaşam içerisinde olup, havanın serbest azotunu bağlayarak toprağın azotça zenginleşmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu özelliği nedeniyle ekim nöbetinde tarlaya sonrasında ekilen kültür bitkileri için daha iyi bir gelişme ortamı sağlar ve böylece birim alandaki verim artışında önemli bir rol oynamaktadır (Eser ve Soran, 1978). Ülkemizde nohut yemeklik ve kuruyemiş olarak kullanılmasından ötürü önemli bir yer tutmaktadır. Nohut üretim miktarının

beklenen verimden daha düşük olmasının nedeni yetiştiricilikteki eksikliklerin yanı sıra birçok biyotik hastalık etmenlerin özellikle de fungal patojenlerin bitkilerde oluşturduğu zararlardan da kaynaklanmaktadır. Bu fungal patojenlerden özellikle *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. nohutta antraknoz denilen hastalığa neden olmaktadır. Türkiye’de ve dünyada nohudun yetiştirildiği tüm bölgelerde görülmektedir (Kaiser ve Küsmenoglu, 1997). Bu patojen, nohut üretimini sınırlayan ve ciddi ürün kayıplarına neden olan en önemli fungal patojenlerden birisi olup, bitkinin herhangi gelişme döneminde toprak üstü tüm kısımlarına saldırmakta ve bitkiyi ölüme kadar götürmektedir (Nene ve ark., 1996; Haware ve ark., 1986; Pande ve ark., 2005; Bayraktar ve ark., 2016). *A. rabiei* bitkinin yaprak, sapı, dallar ve kapsül gibi tüm toprak üstü organlarını enfekte etmektedir (Nene, 1982). Hastalığın en önemli zararı, gövde kırılmaları ve tohum hastalıkları şeklinde görülür. Hastalık belirtileri; yapraklar üzerinde daire şeklinde kahverengi-kırmızı hatlarla çevrilidir. Yapraklar üzerinde kahverengimsi-kırmızı renklenmeler gözlemlenir. Yeşil aksamlar üzerinde iç içe geçmiş halkalar şeklindedir. Yeşil baklalar üzerinde iç içe geçmiş piknidyumları içeren konsantrik halkalar bulunmaktadır (Kaiser, 1973). Gövde üzerinde ise 3-4 cm’e kadar, kahverengi lezyonlar üzerinde siyah lekeler şeklindedir. Lezyonlar öncelikle bitkinin gövdesini zamanla ilerledikçe tamamını öldürmektedir. Kaiser ve Küsmenoglu (1997) ülkemizde nohut üretim alanlarında önemli bir problem olarak antraknoz hastalığının var olduğunu bildirmişlerdir. Hastalığın kimyasal kontrolüne dair; tohum ilaçlaması (Kaiser, 1973; Maden, 1987; Reddy ve Kababeh, 1983), tarla püskürtme (Gaur ve Singh, 1985; Kader ve ark., 1990; Singh ve Singh, 1990) ya da her ikisi (Tripathi ve ark., 1987) olarak önerilen pek çok araştırma vardır.

Hastalığın kimyasal mücadelesinde; thiram+benomyl karışımı önerilmektedir. *A. rabiei*’nin kontrolünde yeşil aksam ilaçlaması ekonomik olmayıp, uygulama zamanına ve hava koşullarına bağlı olarak etkili olabilmektedir (Maden, 1987). Morjane ve ark. (1993), prochloraz ve prochloraz+mancozeb karışımı 2 kez uygulandığında hastalığın kontrolünde etkili olduğu ve verimde artışa sebep olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Boscalid ve Prothioconazole uygulaması antraknoz hastalığının şiddetini azaltmakta ve üründe artışa neden olmaktadır (Wise ve ark., 2006).



Şekil 1. *A. rabiei*’nin nohut bitkisinin yaprakları ile gövde ve yan dallarda oluşturduğu karakteristik hastalık belirtileri

Hastalık öncelikle küçük alanlarda başlayıp ve uygun şartlar altında hızla yayılmaktadır. Hastalık epidemisinde çevresel faktörler sıcaklık, yağmur ve rüzgâr en önemli faktörlerdir. Hastalık ve epidemilerinin gelişiminde yağmur kritik faktördür. *A. rabiei* sporunun çimlenme sıcaklığı 20°C’dir (Trapedo- Casas ve Kaiser, 1992). Yaprak ıslaklık süresi arttıkça hastalığın şiddeti de artmaktadır (Gamliel-Atinsky ve ark., 2005; Trapero-Casas ve Kaiser, 1992). En iyi gelişme gösterdiği pH aralığı 5-7 arasındadır.

Bu çalışma ile; *in vitro* koşullarda *A. rabiei* hastalık etmeninin en iyi geliştiği pH aralığı saptanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Çalışmada kullanılan materyaller

Çalışmada kullanılan fungal izolatlar Yozgat ili ve ilçelerinden (Merkez, Sorgun, Sarıkaya, Boğazlayan ve Yerköy) nohut üretimi yapılan alanlardan elde edilmiştir. Çalışma kapsamında Bitki Koruma Bölümü stok kültürlerinden tek spordan geliştirilen *Ascochyta rabiei* etmeninden dokuz izolat (1, 3, 8, 9, 10, 43, 44, 77, 78) kullanılmıştır.

Fungusların yetiştirilmesinde PDA (Patato Dekstroz Agar) besi yeri kullanılmıştır.

2.2. A. rabiei'nin In-vitro Koşullarda Optimum Gelişim pH'sının Belirlenmesi

Ascochyta rabiei'nin ekimi için PDA (Patato Dekstroz Agar) besi yeri hazırlanmıştır. Bu ortamlar karıştırıcı ile karıştırılmış, NaOH ve HCl kullanılarak pH dereceleri pH 5, 6 ve 7 olarak ayarlanmıştır. Ayarlanan besi yerleri otoklavda 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika steril edildikten sonra steril kabin içerisinde plastik petri kaplarına dökülmüştür. Petrilerin merkez noktası işaretlenerek 6 mm çapında kesilen miseliyal diskler PDA besi yerine aktarılmıştır. Deneme boyunca petriler 25°C 'de 1 hafta karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Çalışma 5 tekerrürlü olarak kurulmuştur.

2.3. İstatistiksel Analiz

Yedinci günün sonunda gelişen *Ascochyta rabiei* izolatlarının miselyum çapları ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Alınan kayıtlar Microsoft Excel programında düzenlenerek SPSS programında çoklu karşılaştırma yöntemi olan LSD testine göre %95 güven seviyesine göre karşılaştırılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Ascochyta rabiei'nin en iyi geliştiği pH değerini saptamak için yapılan bu çalışma sonunda elde edilen veriler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. İzolatların pH'larına göre gelişme durumu

İzolat No	pH ve ölçümler (mm)			İzolatların ortalaması
	pH 5	pH 6	pH 7	
Ar-1	13.3	16.27	16.4	15.3±0.5 f*
Ar-3	16.6	19.1	20.6	18.8±0.6 abc
Ar-8	14.4	18.5	20.5	17.8±0.8 cd
Ar-9	17.0	20.6	20.3	19.3±0.6 ab
Ar-10	15.6	19.8	19.5	18.3±0.7 bc
Ar-43	12,9	19.4	18.8	17.0±1.0 de
Ar-44	16.6	20.4	21.5	19.5±0.7 a
Ar-77	14.9	17.9	17.6	16.8±0.5 de
Ar-78	15.0	17.0	16.8	16.3±0.3 ef
pH'nin Ana Etkisi	15.1±0.3 b	18.8±0.3 a	19.1±0.3 a	

*Sütun ve satırlarda aynı harf içeren değerler, p=0.05 önem seviyesinde, LSD testine göre birbirinden farklı değildir. LSD (%) değeri sütun ve satırlar için sırasıyla 0.61 ve 1.06'dur.

pH 5'te en iyi gelişen izolat 9 numaralı izolat olmuştur. 3, 10 ve 44 numaralı izolatların gelişiminde istatistiki olarak fark görülmemiştir. pH 5'te gelişimi en zayıf olan izolat ise 1 ve 43 numaralı izolatlar olmuştur. Aynı zamanda 77 ve 78 numaralı izolatların gelişiminde de fark gözlemlenmemiştir. (Şekil 2).



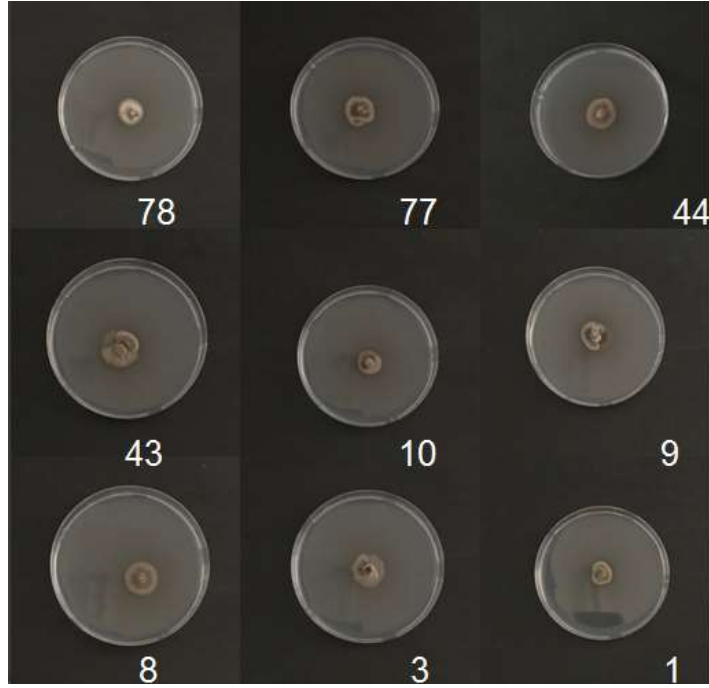
Şekil 2. pH 5'te farklı *Ascochyta rabiei* izolatlarının gelişimi

pH 6'da gelişimi en kuvvetli izolatlar 9 ve 44 numaralı izolatlar olmuştur. 8, 10 ve 43 numaralı izolatların gelişiminde fark gözlemlenmemiştir. Gelişimi en zayıf olan izolat ise 1 numaralı izolattır (Şekil 3).



Şekil 3. pH 6'da farklı *Ascochyta rabiei* izolatlarının gelişimi

pH 7'de en iyi gelişen izolat 44 numaralı izolat olmuştur. 3, 8 ve 9 numaralı izolatların gelişiminde fark gözlemlenmemiştir ve gelişimi en zayıf olan izolat 1 numaralı izolat olmuştur (Şekil 4).



Şekil 4. pH 7'de farklı *Ascochyta rabiei* izolatlarının gelişimi

Çalışmaya benzer şekilde, Endes (2021) Yozgat bölgesinden izole edilen izolatlarla yaptığı çalışmada *A. rabiei* izolatlarının, bazik pH değerlerine kıyasla asidik pH değerlerinde daha küçük çaplı koloniler oluşturduğunu ve pH 6.0 ve 7.0 değerlerinin fungusun misel gelişimini desteklediğini bildirmiştir.

Sonuç olarak, laboratuvar koşullarında yapılan petri çalışmasında nohut antraknoz hastalık etmeni *A. rabiei*'nin PDA besi yerinde en iyi gelişme pH aralığının 6-7 olduğu belirlenmiştir. Patojen fungusun pH 5'te gelişimi oldukça az olmuştur. Çalışmadan elde edilen veriler, bu etmen ile yapılacak laboratuvar çalışmalarına ışık tutacaktır.

Teşekkür

Yapılan bu çalışma 2. Uluslararası Akdeniz Sempozyumu-2. International Mediterranean Symposium (23- 25 Mayıs 2019, Mersin)'da sözlü sunum olarak bildiri kitabında yer almaktadır.

Kaynaklar

- Bayraktar, H., Dolar, F.S. and Tör, M. (2007). Determination of Genetic Diversity within *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., The cause of *Ascochyta* Blight of Chickpea in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 89(3), 341-347.
- Endes, A. (2021). Influence of culture media, temperature, pH and light regime on mycelial growth of *Ascochyta rabiei*. *Int J Agric For Life Sci*,5(1), 87-93.
- Eser, D. ve Soran, H. (1978). *Yerli ve Yabancı Kökenli Nohut Çeşitlerinin Orta Anadolu Koşullarında Erkencilik, Verimlilik ve Hastalıklara Dayanıklılık Yönünden Mukayeseli İncelenmesi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 684, Ankara.
- FAOSTAT. (2020). Food and Agriculture Organization of The United Nations Rome. <https://www.fao.org/faostat/en/#home>. Erişim tar.: 03.06.2022.
- Gamliel-Atinsky, E., Shtienberg, D., Vintal, H., Nitzni, Y., and Dinooor, A. (2005). Production of *Didymella rabiei* pseudothecia and dispersal of ascospores in a Mediterranean Climate. *Phytopathology*, 95, 1279-1286.
- Gaur, R. B., Singh, R. D. (1985): Control of *Ascochyta* blight of chickpea through foliar spray. ICPN 13, 22-24. in Syria ve Lebanon. *Phytopath. Medit.*, 24, 265-266.

- Haware, M. P., Nene, Y.L., and Mathur, S.B. (1986). *Ascochyta blight*. *Seed Borne Diseases of Chickpea. Technical Buletin from the Danish Goverment Institute of Seed Pathology for Developing Countries*, No:1, s. 9-15 Copenhagen. Denmark.
- Kader, D. A. A., El-Vakil, A., Tohami, M. R. and Ghoniem, M. I. (1990). Effect of some agricultural practices and chemical control on the incidence of *Ascochyta blight* of chickpea. *Egyptian J. Phytopathol.* 21, 31--43.
- Kaiser, W. J. (1973). Workshop on *Ascochyta Blight* and the Winter Sowing of Chickpeas. Saxena, M. C, Sing, K. B. (Eds.), *Control of ascochyta blight of chickpea through clean seed*. Pp: 117-122. Nijhoff-Junk, Aleppo, Syria.
- Kaiser, W., J. and Kusmenoglu, I. (1997). Distribution of mating types and the teleomorph of *Ascochyta rabiei* on chickpea in Turkey. *Plant Disease*, 81,1284-- 1287.
- Maden, S., (1987). Seed -borne Fungal Disease Of Chickpea in Turkey . *J. Turkish Phytopath*,16 (1), 1-8.
- Morjane, H., Cherif, M. and Harrabi, M. (1993). Chemical and genetic control of *Ascochyta blight* in chickpea. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*, 28, 11-13.
- Nene, Y. L. (1982). A review of *Ascochyta blight* of chickpea. *Trop. Pest Manage.*, 28, 61-70.
- Nene, Y. L. (1984). The chickpea. Saxena M. C., Singh K. B., (Eds.), *A review of ascochyta blight of chickpea (Cicer arietinum L.)*. Pp:223-270. CAB International, Oxfordshire.
- Nene, Y., L., Sheila, V.K. and Sharma, S.B. (1996). *A world list of chickpea and pigeonpea pathogens*. 5 th edn. Patoncheru 502324 Andhra Pradesh, India:International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics. 27p.
- Pande, S., Siddique, K. H. M., Kishore, G. K., Bayaa, B., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L., Bretag, T.W. and Crouch, J. H. (2005). *Ascochyta blight of chickpea (Cicer arietinum L.): a review of biology, pathogenicity, and disease management*. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56(4), 317-332.
- Reddy, M., V. and Kabbabeh, S., (1983). Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* in Syria ve Lebanon. *Phytopath. Medit.* 24:265-266.
- Setia, R.C., Setia, N., and Malik, C.P., (1985). Effect of Long-chain Alcohols on Some Growth and Biochemical Parameters in Chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 13, 27-29.
- Singh, G. ve Singh, M. (1990). Chemical control of *Ascochyta blight* of chickpea. *Indian Phytopathol.*, 43, 59-63.
- Şehirali, S. (1988). *Yemelik Dane Baklagiller*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1089, Ders Kitabı: 314, A. Ü. Basımevi, Ankara.
- Trapero-Casas, A., and Kaiser, W.J. (1992). Development of *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, on chickpea straw. *Phytopathology.*, 82, 1261- 1266.
- Tripathi, H. S., R. S. Singh, and H. S. Chaube. (1987). Effect of fungicidal seed and foliar applications on chickpea. *Indian Phytopathol.* 40, 63-66.
- TÜİK. (2021). Türkiye İstatistik Kurumu. 2022. Erşim tar.:03.06.2022.
- Wise, K., Bradley C., Henson B., Mckay, K., Chen W., and Dugan F. (2006). *Pathotypes and fungicide sensitivity levels of Ascochyta rabiei isolates in the United States*. *Proc. Of 1st. Internatinol Ascochyta Workshop on Grain Legumes*. J.