

Arazi Koşullarında Nohut Antraknozu Hastalığı [*Ascochyta rabiei* (Pass. Labr.)]'na Karşı Abiyotik Aktivatör Bion MX 44 (%4 Acibenzolar-S-Methyl+%40 Metalaxyl-M)'un Etkinliğinin Belirlenmesi

Şerife Evrim ARICI^{1*}, Fatih Burak SEVİL¹

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Isparta

(Geliş Tarihi/Received Date: 15.06.2020; Kabul Tarihi/Accepted Date: 24.09.2020)

Öz

Bu çalışmada ülkemizde nohut ekim alanlarında önemli kayıplara yol açan nohut antraknozu [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.] hastalığına karşı abiyotik aktivatör olarak Bion MX 44 (%4 Acibenzolar-S-Methyl %40 Metalaxyl-M)'ün etkinliği araştırılmıştır. Denemede Bellis (Boscalid %25 + Pyraclostrobin), Canprin 35 DS (Metalaxyl), aktivatör olarak Bion MX 44 (0.1, 0.3, 0.5), Yerel çeşit (duyarlı), Azkan (tolerant) nohut çeşitleri kullanılmıştır. Denemeler 2017 yılında Kütahya'nın Gediz ve Şaphane ilçelerinde tarla koşullarında tesadüf bloklarında bölünmüş parsel deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. İlk ilaçlamaya tohumun tarla çıkışından sonra bitki boyu ortalama 20-25 cm olduğunda başlanmış ve 10 gün arayla ikinci ilaçlama yapılmıştır. Son ilaçlamadan 21 gün sonra elde edilen sonuçlar 1-9 skalasına göre değerlendirilmiştir. Kütahya'nın Gediz ve Şaphane ilçelerinde Azkan (tolerant) ve Yerel (duyarlı) çeşitte *Ascochyta rabiei*'ya karşı en yüksek etki Bion MX 44 0.5 mM ile elde edilirken bunu Bellis ve Bellis + Bion MX 44 0.3 mM izlemiştir. Duyarlı bir çeşit olan Yerel çeşitte nohut antraknoz hastalığı gözlemlense bile kontrol bitkiler ile karşılaştırıldığında Bion MX 44 uygulamasının 0.5 mM dozunun hastalığı kısmen baskıladığı belirlenmiştir. Ayrıca, farklı dozlarda uygulanan Bion MX 44 0.5, 0.3 ve 0.1 mM uygulamasında Azkan nohut çeşidinde Bion MX dozu arttıkça protein miktarında artış tespit edilmiştir.

Sonuç olarak tolerant nohut çeşidiyle gerek pozitif bulguların elde edilmesi gerekse çevre dostu olması sebebiyle Bion MX 44'ün 0.5 mM dozunun nohut bitkisinde antraknoza karşı kullanılmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Ascochyta rabiei*, %4 Acibenzolar-S-Methyl, Nohut, Total protein miktarı, Uyarılmış dayanıklılık

Determination of the Effectiveness of the Abiotic Activator Bion MX 44 (4% Acibenzolar-S-Methyl+40% Metalaxyl-M) Against Chickpea Anthracnose [*Ascochyta rabiei* (Pass. Labr.)] in the Land Conditions

Abstract

The aim of this study was to investigate the effectiveness of Bion MX 44 (4% Acibenzolar-S-methyl 40% Metalaxyl-M) against chickpea anthracnose [*Ascochyta rabiei* Pass.) Labr.] disease which caused significant losses in chickpea plantation areas in Turkey. Bellis

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: evrimarici@isparta.edu.tr, <https://orcid.org/0000-0001-5453-5869> Fatih Burak SEVİL: fatihburaksevil@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0002-5098-4154>

(Boscalid 25% + Pyraclostrobin), Canprin 35 DS (Metalaxyl) and Bion MX 44 (0.1, 0.3, 0.5) Yerel (Susceptible) and Azkan (Tolerant) chickpea varieties were used in the experiment. This experiment was established in Gediz and Şaphane districts of Kütahya. The first application was commenced when the plant height averaged 20-25 cm in the field. The second spraying was carried out with an interval of 10 days. Results obtained 21 days after the last spraying were evaluated according to 1-9 scale. In Gediz and Şaphane districts of Kütahya, 0.5 mM Bion MX 44 is the most effective application against *Ascochyta rabiei* Yerel (Susceptible) and Azkan (Tolerant) chickpea varieties, followed by Bellis and 0.3 mM Bellis + Bion MX 44, Even if chickpea anthracnose disease is observed in Yerel chickpea cultivar (Susceptible), 0.5 mM Bion MX 44 application was determined to partially suppress the disease compared to control plants. In addition, in Bion MX 44 0.5, 0.3 and 0.1 mM application applied in different doses, the amount of protein increased as the Bion MX dose increased in Azkan chickpea cultivar.

It was concluded that 0.5 mM Bion MX 44 can be used against anthracnose in chickpea plant because of its positive results with its resistant chickpea varieties and because 0.5 mM Bion MX is environmentally friendly application.

Keywords: *Ascochyta rabiei*, 4% Acibenzolar-S-Methyl, Chickpea, Total protein assay, Induced resistance

1. Giriş

Dünya'nın pek çok ülkesinde nohut tarımı yapılmaktadır. Nohut, kuru fasulye ve bezelyeden sonra Dünya'da en önemli üçüncü baklagil bitkisi olup 44 ülkede yetiştirilmektedir (Singh & Saxena, 1999). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nün verilerine göre 2014 yılında Dünya'da nohut ekim alanının en fazla olduğu ülkelerin başında Hindistan, Pakistan, İran ve Türkiye gelmektedir (Anonim, 2014). Ülkemizde en fazla tarımı yapılan yemeklik tane baklagil cinsi nohuttur. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre, Türkiye'deki 2018 yılı nohut üretimine ait ekili alan 5 144 159 da, üretim 630 000 ton ve verim 122 kg/da'dır (TÜİK, 2018).

Nohut gelişme dönemlerinde pek çok hastalık ve zararlılara maruz kalmaktadır. Antraknoz, *Rhizoctonia* kök çürüklüğü, *Pythium* çürüklüğü, *Fusarium* solgunluğu, beyaz küf, bakteriyel yanıklık ve bazı virüs hastalıkları nohutta görülebilen hastalıklara örnek verilebilir. Ancak, nohut tarımında en çok görülen ve en fazla ekonomik zararı yapan hastalık, *Ascochyta* yanıklığı yani antraknoz hastalığıdır (Anonim, 2014; Hekimhan, 2010). Nohutun yetiştirildiği alanlarda antraknoz (*Ascochyta rabiei*) oldukça önemli ve yaygın bir fungal hastalıktır. *Ascochyta* yanıklığı veya nohut yanıklığı olarak isimlendirilen hastalığın etmeni *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. (Eşeyli devresi: *Didymella rabiei* (Kovachevski) v. Arx) fungusudur (Kaiser, 1997; Chongo et al 2004; Gamliel-Atinsky et al 2005; Gan et al 2006).

Üretici tarafından hastalığa karşı mücadelede genellikle kimyasal mücadele tercih edilmekte olup, başarı oranı çok yüksek olmamakla birlikte; üretim maliyetini arttırmakta, ilaç kalıntısı nedeniyle üretilen nohut özellikle dış pazarlarda satılması engellenerek büyük ekonomik kayıplara neden olmakta, ayrıca çevre ve insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (Ergün, 2001). Bu nedenle araştırmacılar tarafından alternatif mücadele yöntemleri araştırılmaktadır. Bu alternatif mücadele yöntemlerinden birisi de uyarılmış dayanıklılıktır. Bitkiler, bir patojenin saldırısına uğradıkları veya strese maruz kaldıklarında, savunma mekanizmalarını aktif hale getirmektedirler. Bitkilerin patojenlere karşı kendilerini savunma ve dayanıklılıklarını artırma amacıyla geliştirdikleri bu sistem uyarılmış dayanıklılık (Induced resistance) adını almaktadır. Bu sistemden yola çıkılarak bitkilere çeşitli uyarıcılar (Bion, salisilik asit, jasmonik asit vb.) uygulandıktan sonra nekroz oluşumu, fitoaleksinler ve PR (patogenesis-related) proteinlerinin akümüasyonu gibi bitkinin dayanıklılık mekanizmasının aktivasyonu sağlanabilmekte ve bitkilerde uyarılmış dayanıklılık gerçekleştirilerek hastalıklar baskı altına alınabilmektedir (Aricı & Yardımcı, 2001; Hartman et al 2016).

Yapılan bu çalışmada; nohut antraknozu hastalığına karşı Bion MX 44 (%4 Acibenzolar-S-methyl %40 Metalaxyl-M) aktivatörünün uyarılmış dayanıklılık etkinliği araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada aktivatör olarak Bion MX 44 (0.1, 0.3, 0.5 mM), fungusit olarak Bellis (Boscalid %25 + Pyraclostrobin), Canprin 35 DS (Metalaxyl), Yerel çeşit (duyarlı) ve Azkan (tolerant) nohut çeşitleri kullanılmıştır.

2.1. Tarla denemeleri

Nohut üretiminin çok fazla yapıldığı Kütahya'nın Gediz ve Şaphane ilçelerinde daha önce nohut yetiştiriciliği yapılmış olan ve nohut antraknoz hastalığı görülen tarlalar tespit edilmiş ve denemeler 2017 yılında bu tarlalarda yürütülmüştür. Duyarlı Yerel çeşit ile tolerant Azkan nohut çeşitleri Kütahya'nın Gediz ilçesinde 17 Mayıs 2017 tarihinde, Kütahya'nın Şaphane ilçesinde 18 Mayıs 2017 tarihinde ekilmiştir. Nohutların tarla çıkışından sonra bitki boyu ortalama 20-25 cm olduğunda 28 Haziran 2017'de Bion MX 44 ve Bellis bitkilerin yeşil aksamına, Canprin 35 DS bitkilerin kök bölgesine uygulanmıştır. 10 gün sonra 8 Temmuz 2017 tarihinde ikinci uygulamalar ilkiyle aynı olacak şekilde yapılmıştır. Çalışmada kullanılan ilaçlara ait dozlar firma beyanları emsal alınarak, Bion MX (0.1, 0.3, 0.5 mM), Bellis (50 gr da⁻¹), Bellis+Bion MX 44 (50 g da⁻¹+0.3 mM), Canprin (30 g L⁻¹) olarak belirlenmiştir. Kontrol bitkilerine ise sadece yeşil aksamdan su uygulanmıştır. Deneme tesadüf bloklarında bölünmüş parsel deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Son uygulamadan 21 gün sonra 29 Temmuz 2017 tarihinde bitkiler 1-9 skalasına göre değerlendirilmiştir [1: Toleranslı (Lezyon yoktur); 3: Orta toleranslı (Bitkilerin %10' undan azında lezyon görülmekte, lezyonlar gövdeyi kuşatmamaktadır); 5: Orta hassas (Bitkilerin %25' inde lezyon görülmekte, lezyonlar bitkilerin % 10'undan azında gövdeyi kuşatmakta, fakat çok az zarar meydana gelmektedir); 7: Hassas (Bitkilerin çoğunda ve bitki saplarının %50'sinde yaygın lezyonlar vardır. Birkaç bitki ölmüş, belirgin hasar vardır); 9: Çok hassas (Bitkilerin hemen hemen hepsi ölmüştür)] (Sing et al 1981). Hastalık şiddeti verileri Townsend-Heuberger formülüne göre hesaplanmıştır (Townsend & Heuberger, 1943). Değerlendirmeden sonra

hastalıklı bitkiler laboratuvarında incelenmiş ve bitki örneklerinden *Ascochyta rabiei*'nin izolasyonu yapılmıştır.

2.2. Protein miktarının belirlenmesi

Bitkilerde hastalığa karşı aktivatörlerin bitki protein miktarına etkisini araştırmak için, ikinci uygulama yapıldıktan 48 saat sonra bitki yaprak örnekleri kilitli polietilen poşetlere konularak toplanmıştır. Soğuk zincir ile bitkiler protein analizi için alınıp, bitki dokuları analiz yapılincaya kadar -80 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra dondurulmuş bitki yapraklarından 1'er gram alınarak seramik havan içerisinde 0,1 M Sodium phosphate buffer, pH 6,0 (1:4) içerisinde ezilip filtreden geçirilmiş, 14000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra üst sıvısı alınarak, Bradford metoduna göre protein analizi yapılmıştır (Bradfort, 1976). Protein konsantrasyonu bovin serum albumin (BSA) standardı kullanılarak belirlenmiştir (Bradfort, 1976). Elde edilen değerler linear olarak bulunmuş, deneyde kullanılan örneklerin protein değerleri grafik yardımı ile hesaplanmıştır.

2.3. Verilerin değerlendirilmesi

Çalışmalar sonucunda elde edilen veriler Tukey çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler için IBM® SPSS® 22 Statistics paket programlarından yararlanılmıştır. Arazide kurulan her bir deneme 4 tekerrürlü olarak her parsel 70 bitkiden oluşmuştur.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Gediz ve Şaphane ilçelerindeki tarla denemeleri sonuçları

Ascochyta rabiei'ye karşı Gediz ilçesinde Azkan (tolerant) nohut çeşidine yapılan uygulamalardan en düşük hastalık şiddeti (%) Bion MX 44 0.5 mM uygulamasında olduğu belirlenmiştir (%0.75). Uygulamalar arasında hastalık şiddeti (%) açısından en yüksek hastalık şiddeti Canprin 35 DS (%6.80) fungusit uygulamasında belirlenmiştir. Bion MX 44 0.5 mM (%0.75), Bellis (%1.20), Bellis + Bion MX 44 0.3 mM (%1.10) uygulamaları aralarında değerlendirildiğinde istatistiki olarak bir fark bulunmamıştır. Bion MX 44 0.3 mM (%2.60), Bion MX 44 0.1 mM (%4.65) ve Canprin 35 DS (%6.80) istatistiki olarak farklı gruplarda yer almıştır ($P \leq 0.05$) (Çizelge 1).

Ascochyta rabiei'ye karşı Şaphane'de yapılan denemede, Azkan (Tolerant) nohut çeşidine yapılan uygulamalardan en düşük hastalık şiddeti (%) Bion MX 44 0.5 mM (%0.80) uygulaması olduğu belirlenmiştir. Uygulamalar arasında hastalık şiddeti (%) açısından en yüksek hastalık şiddeti değeri Canprin 35 DS (%4.10) uygulamasında bulunmuştur. Bion MX 44 0.5 mM (%0.80), Bellis (%1.10), Bellis + Bion MX 44 0.3 mM (%1.30) ve Bion MX 44 0.3 mM (%1.25) uygulamaları istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır ($P \geq 0.05$). Bion MX 44 0.1 mM (%2.40) ve Canprin 35 DS (%4.10) uygulamaları istatistiki olarak farklı grupta yer almıştır. Her iki ilçede kontrol nohut bitkilerinde hastalık şiddeti %5.50 olarak tespit edilmiş ve istatistiki olarak farklı grupta yer almıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Gediz ve Şaphane İlçelerinde Bion MX aktivatörün Azkan Nohut Çeşidinde *Ascochyta rabiei*'ye Karşı Etkinliği

| İlacın ticari ismi ve dozu | Hastalık şiddeti (%)* | |
|----------------------------|-----------------------|----------------|
| | Gediz İlçesi | Şaphane İlçesi |
| Bion MX 44 0.5 mM | 0.75±0.40 a | 0.80±0.54 a |
| Bellis | 1.20±0.38 a | 1.10±0.53 a |
| Bellis + Bion MX 44 0.3 mM | 1.10±0.39 a | 1.30±0.43 a |
| Bion MX 440.3 mM | 2.60±0.71 ab | 1.25±0.57 a |
| Bion MX 44 0.1 mM | 4.65±0.98 bc | 2.40±0.74 ab |
| Canprin 35DS | 6.80±0.63 cd | 4.10±0.83 bc |
| Kontrol | 8.25±0.54 d | 5.50±0.76 c |

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir (P≤0.05)

Ascochyta rabiei'ye karşı Gediz ilçesinde duyarlı Yerel çeşide yapılan uygulamalardan en düşük hastalık şiddeti (%) Bion MX 44 0.5 mM (%50.30) dozunda bulunmuştur. Uygulamalar arasında en yüksek hastalık şiddeti (%) Canprin 35 DS (%97)'de tespit edilmiştir. Bellis (%65), Bellis + Bion MX 44 0.3 mM (%74.25) ve Bion MX 44 0.3 mM (%84.5) kendi aralarında değerlendirildiğinde birbirleri arasında istatistiki olarak fark vardır ancak bu farklar önemli değildir. Bion MX 44 0.1 mM (%95.5) ve Canprin 35 DS (%97) arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır. Kontrol nohut bitkilerinde hastalık şiddeti %100 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). *Ascochyta rabiei*'ye karşı Şaphane ilçesinde duyarlı Yerel çeşitte yapılan uygulamalardan en düşük hastalık şiddeti (%) Bion MX 44 0.5 mM (%46.85) dozunda belirlenirken, en yüksek hastalık şiddeti (%) Bion MX 44 0.1 mM ve Canprin 35 DS (%96)'de belirlenmiştir. Bion MX 44 0.5 mM dozu (%46.85) nohutta antraknoz hastalığına karşı yapılan diğer tüm uygulamalarla karşılaştırıldığında istatistiki açıdan fark tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Gediz ve Şaphane İlçelerinde Yerel Çeşitte Yapılan Uygulamaların *Ascochyta rabiei*'ye Karşı Etkinliği

| İlacın ticari ismi ve dozu | Hastalık şiddeti (%)* | |
|----------------------------|-----------------------|----------------|
| | Gediz İlçesi | Şaphane İlçesi |
| Bion MX 44 0.5 mM | 50.30±5.23 a | 46.85±5.92 a |
| Bellis | 65.0±6.31 ab | 65.75±5.35 b |
| Bellis + Bion MX 44 0.3 mM | 74.25±4.23 bc | 68.50±4.86 b |
| Bion MX 440.3 mM | 84.5±3.38 cd | 93.75±2.04 c |
| Bion MX 44 0.1 mM | 95.5±1.65 d | 96.0±1.52 c |
| Canprin 35DS | 97.0±1.22 d | 96.0±1.12 c |
| Kontrol | 100±0 d | 96.50±1.09 c |

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir (P≤0.05)

Yapmış olduğumuz çalışmada uygulamalar, çeşit ve bölgeler karşılaştırıldığında çeşit, uygulama ve çeşit+uygulama arasında istatistiki açıdan önemli olduğu bulunmuştur. Bölge, bölge+çeşit, bölge+uygulama ve bölge+çeşit+uygulamalar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Bağımlı Değişkenlerin Kendi Aralarındaki Etkinlikleri

| Bağımlı değişkenler | Mean square | F | Significant |
|----------------------|-------------|----------|-------------|
| Bölge | 104.579 | 0.721 | 0.396 |
| Çeşit | 845686.864 | 5832.807 | 0.000 |
| Uygulama | 8957.882 | 61.784 | 0.000 |
| Bölge+Çeşit | 23.207 | 0.160 | 0.689 |
| Bölge+Uygulama | 116.745 | 0.805 | 0.566 |
| Çeşit+Uygulama | 5995.539 | 41.352 | 0.000 |
| Bölge+Çeşit+Uygulama | 139.257 | 0.960 | 0.451 |

Bu çalışmada tolerant ve duyarlı nohut çeşitlerinde antraknoz hastalığına karşı Bion MX 44 0.5 mM uygulamasının en etkili uygulama olduğu belirlenmiştir. Bion MX 44 uygulanan bitkilerde hiçbir dozun toksik etkisine rastlanmamıştır. Benzer sonuçlar farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir.

Hekimhan (2010)'ın yapmış olduğu çalışmada Trakya bölgesi buğday ekim alanlarında kök ve kökboğazı hastalıklarına neden olan *Fusarium culmorum*'a karşı Acibenzolar –S Methyl, ve saprofit *F.oxysporum*'un patojen üzerine etkileri araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda ASM'in %21.81 oranında hastalığı engellediği aynı zamanda fitotoksik etkilerin de meydana geldiği saptanmıştır. Ergün (2001), mancozeb ve chlorothalonil etken maddeli fungusitleri saksı koşullarında yetiştirilen nohut bitkilerini tek tek ve bir bitki aktivatörü (Humiforte N6) ile karışımı halinde antraknoz hastalığına karşı uygulamış ve çalışma sonucunda fungusit ile aktivatörün karışımının antraknoz hastalığına karşı etkisinin daha uzun süreli ve etkili olduğu sonucuna varmıştır. Dereboylu & Tort (2010), sera koşullarında yetiştirilen hıyar bitkisine bazı aktivatör ve fungusit uygulamalarının meyve verimi ve kalitesi üzerindeki etkilerini araştırmış, belirli aralıklarla yaptıkları meyve boy ve çap ölçümleri sonucunda aktivatör uygulanan yerlerde artış gözlemlemiştir. Ayrıca aktivatör uygulanan yerlerde toplam çiçek ve meyve sayısında kontrol grubuna göre artış gözlemlemiştir. Fungisit uygulanan yerlerde ise meyve verim ve kalitesinin düşük olmasının yanında toplam çiçek ve meyve sayısının kontrol grubuna göre az olduğunu saptamışlardır. Bayraktar (2001), nohut bitkilerinin antraknoza karşı dayanıklılığının salisilik asit (SA) uygulamasıyla hastalık üzerindeki değişimleri belirlemek amacıyla yürüttüğü çalışmada, nohut antraknozu hastalığına hassas olan Canitez-87 nohut çeşidinin toprak üstü kısmına ve tohumuna salisilik asit (SA) uygulamıştır. Tohumu uygulanan SA hastalığı %14.38 ile %23.44 oranında baskıladığı, toprak üstü organlarına yapılan uygulamada ise % 48.15 oranında engellediği belirlenmiştir. Ayrıca hastalığın bitkiye bulaşmasından bir gün sonra bile SA uygulanmasıyla hastalık şiddetini %30.81 ile %43.37 oranında azalttığını tespit etmiştir. Sarwar et al (2011), *Ascochyta rabiei*'ye duyarlı C727 nohut çeşidini 20 m²'lik bir arazide yetiştirip 50 mM K₂HPO₄, 1.0 mM SA, 0.4 mM Bion 50 mg ml⁻¹ metanol de kaynatılan 2 tip neem yaprağı çözeltisi bitkilere uygulamıştır. Çiçek açma zamanında bu uygulamayı yapmışlar ve bu uygulamalardan 1 hafta sonra *A. rabiei*'nin spor solüsyonunu bitkilere enfekte etmişlerdir. Hastalık oluşumunu engelleme amaçlı yapılan bu çalışmada en yüksek etkiyi SA, daha sonra da Bion'dan elde etmişlerdir.

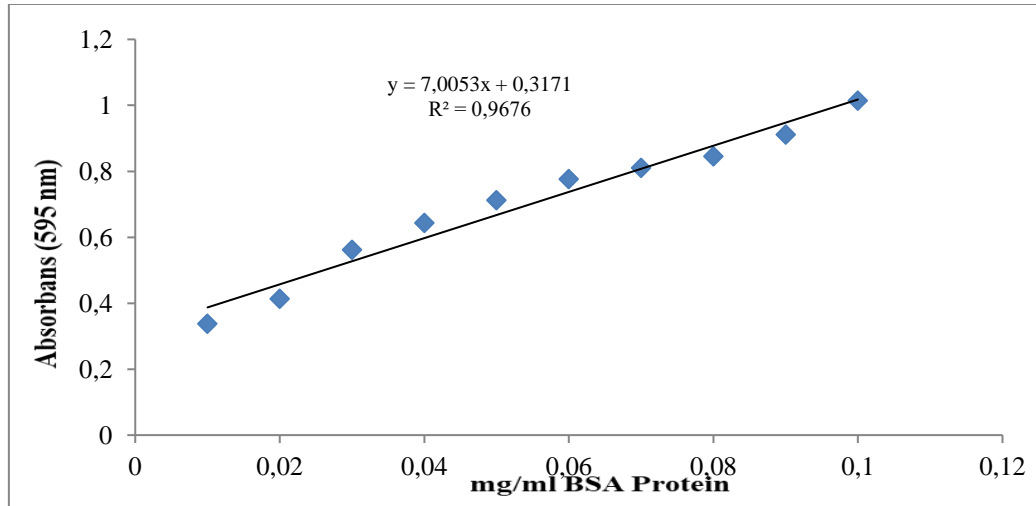
Aysan & Erkiş (2019), yapmış oldukları bir çalışmada çilekte *Rhizoctonia solani*'nin neden olduğu siyah kök çürüklüğü hastalığına karşı kök ve yapraktan uygulanan bitki

aktivatörlerinin (Salisilik asit, Acibenzolar S-Methyl, Messenger, ISR 2000, Crop Set ve Fosetyl-Al) etkisini laboratuarda petri kaplarında ve serada saksı denemeleriyle araştırmışlardır. Bitki aktivatörlerinin *Rhizoctonia solani*'nin miseliyal gelişimine olan etkilerini incelediklerinde, Salisilik Asit ve Aliette 700 ppm dozunun üzerindeki konsantrasyonlarda patojen gelişimini baskılamakta, diğer bitki aktivatörleri patojene herhangi bir etkide bulunamamıştır. Bitki aktivatörlerinden Salisilik asit, BION ve Aliette kök daldırma uygulamasında hastalığı %47-65 arasında baskılamakta, yeşil aksam uygulamasında, Messenger ve Aliette hastalığı %59-64 arasında baskılamıştır. Hem kök daldırma hem de yeşil aksam uygulamasında Aliette uygulaması başarılı bulunmuştur. Sonuçta, çilekte *Rhizoctonia solani*'nin neden olduğu kök çürüklüğü hastalığının entegre mücadelesinde bitki aktivatörlerinin kullanılabileceği bu çalışmayla gösterilmiştir.

Yapmış olduğumuz çalışmada kullanılan Azkan nohut çeşidinin hastalığa karşı tolerant olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar Aydın et al (2016)'nin yapmış olduğu çalışma ile paralellik gösterirken, *Ascochyta rabiei*'ye karşı doğal şartlarda nohut çeşitlerinin reaksiyonuna ve mücadelesine yönelik bir çalışma yapmışlardır. Tolerant nohut çeşidi tohumları kullanmışlar ve değerlendirme sonucunda Azkan ve Arda çeşitlerini hastalığa karşı en dayanıklı çeşit olarak belirlemişlerdir. Bu çeşitler sonbaharın geç döneminde ekilirken tohum ilaçlaması, ilkbaharda da yeşil aksam ilaçlaması yapıldıktan sonra hastalığın meyve verimi üzerindeki etkisinin en az olduğunu tespit etmişlerdir. Dolar (1994)'in yürüttüğü bir çalışmada *Ascochyta rabiei*'ye karşı dayanıklı Azkan nohut çeşidinin fungus tarafından daha az enfekte olduğu belirlenmiştir.

3.2. Protein Miktarının Belirlenmesi

Protein konsantrasyonu bovin serum albumin (BSA) standardı kullanılarak belirlenmiştir ve standart grafik hazırlanmıştır (Bradford, 1976) (Şekil 1). Farklı uygulamalar sonucunda protein miktarları Çizelge 4'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Protein miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik

Farklı dozlarda uygulanan Bion MX 44 0.5, 0.3 ve 0.1 mM uygulamasında Azkan nohut çeşidinde Bion MX dozu arttıkça protein miktarında artış tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Farklı Uygulamalar Sonucunda Nohut Çeşitlerindeki Protein Miktarları (mg ml⁻¹)

| Nohut Çeşidi | Uygulamalar | Protein miktarı (mg ml ⁻¹) |
|--------------|-------------------------|--|
| Azkan | Bion MX 44 0.5 mM | 1.90±0.43 a |
| Azkan | Canprin 35 DS | 1.81±0.30 a |
| Azkan | Bion MX 44 0.3 mM | 1.51±0.24 ab |
| Azkan | Kontrol | 1.48±0.12 ab |
| Azkan | Bellis | 1.47±0.14 ab |
| Azkan | Bellis+Bion MX 44 0.3mM | 1.46±0.26 ab |
| Azkan | Bion MX 44 0.1 mM | 1.22±0.27 abc |
| Yerel çeşit | Bellis+Bion MX 44 0.3mM | 0.93±0.27 bc |
| Yerel çeşit | Bion MX 44 0.5 mM | 0.87±0.17 bc |
| Yerel çeşit | Bion MX 44 0.3 mM | 0.77±0.04 bc |
| Yerel çeşit | Bellis | 0.75±0.20 bc |
| Yerel çeşit | Bion MX 44 0.1 mM | 0.68±0.02 c |
| Yerel çeşit | Kontrol | 0.66±0.19 c |
| Yerel çeşit | Canprin 35 DS | 0.54±0.16 c |

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir (P≤0.05)

Yaptığımız çalışmada nohutta en yüksek protein miktarı kullanılan uygulamalar arasında tolerat Azkan çeşidinde Bion MX 44 0.5 mM dozunda olduğu bulunmuştur (1.90 mg ml⁻¹). Azkan çeşidinin Bion MX 44 0.3 mM, Kontrol, Bellis, Bellis+Bion MX 44 0.3 mM, Bion MX 44 0.1 mM uygulamalarının protein miktarı 1.51-1.22 mg ml⁻¹ arasında değişirken duyarlı Yerel çeşidin bütün uygulamaların protein miktarının az olduğu ve protein miktarının 0.93-0.54 mg/ml arasında değiştiği belirlenmiştir. Yerel çeşitte ise en yüksek protein miktarı Bellis+Bion 0.3 mM dozunda olduğu bulunmuştur. Bellis+Bion 0.3 mM dozunun protein miktarının fazla olmasının sebebi sinerjik etki olabileceği düşünülmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada tolerat Azkan nohut çeşidinin Bion MX 44 0.5 ,0.3, 0.1 mM, uygulamalarında indüklenen bitkilerde protein miktarının artmasının nedeni peroksidaz, kitinaz ve β1,3 glukanları gibi patogeneze bağlı proteinler (PR-protein) olabilir. Patogeneze bağlı proteinlerin (PR-protein) bitkilerin hastalık dayanımında rol oynayan başlıca savunma mekanizmalarından biri olup, PR proteinleri bitkilerde patojen enfeksiyon sonucu veya buna benzer stres koşullarında sentezlenen proteinlerdir. Bu proteinler sistemik dayanıklılık oluşturmada, patojenin saldırısını, yayılmasını, çok yönlülüğünü sınırlandırmaktadırlar. PR proteinleri olarak adlandırılan kitinaz, glukanaz, peroksidaz vb. sentez yolunda yer alan enzimleri kodlamaktadırlar. PR proteinleri, hücrede, genellikle sitoplazmanın dışında intersellüler alanda yer almaktadırlar (Gozzo, 2003). Yerel nohut çeşidinde protein miktarlarının daha düşük olmasının nedeni hastalığa karşı savunma sisteminin aktif hale gelmediğini düşündürmektedir. Dayanıklı bitkilerde protein miktarının artmasının nedeni ise Bion tarafından uyarılan SAR sisteminden dolayı bitkilerde protein miktarı artış göstermiş olabilir. Bu nedenle nohutta antraknoz'a karşı yapılan Bion uygulamasının dayanıklı çeşit Azkan'da protein miktarının artmasında etkili olabileceği düşünülmektedir.

Benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir. Karabay et al (2003)'ın yaptıkları çalışmada domates bakteriyel benek (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) ve bakteriyel leke (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) hastalıklarına karşı kullanılan Bion (Acibenzolar-S-Methyl), Cuprocol (bakır oksiklorit) ve Crop-set (*Lactobacillus acidophilus*) uygulayarak sistemik uyarılmış dayanıklılık (SIR) etki mekanizmasını araştırmışlardır. Denemede konukçu dayanıklılığındaki artışı gösteren spesifik peroksidaz enzim aktivitesindeki değişimler, tek tek ve kombine edilmiş uygulamalardan sonra domates fidesi yapraklarından analiz etmişlerdir. Yapılan deneme sonucunda en yüksek total protein ve peroksidaz miktarı sonuçları Cuprocol uygulamalarından elde edilmiştir. Bu değerler *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun 0.69 mg ml⁻¹ ve *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın 0.91 mg ml⁻¹'dir. Diğer sonuçlar ise uygun bakterisit ve fungusitler ile SAR uyarıcılarının kombine uygulamaları sonucunda karşılaştırılabilir etkililiğin pratikte kabul edilebilirliğini ve uygulanabilirliğini göstermektedir. Sarwar et al (2011)'nin *Ascochyta rabiei*'ye duyarlı C727 nohut çeşidine arazi koşullarında ekimi yapılan nohut bitkilerine 1.0 mM Salisilik asit, 50 mM K₂HPO₄, Bion 0.3 mM ve 2 adet neem ağacı yaprağı ekstraktı püskürtme şeklinde uygulanmıştır. Nohut bitkilerine yapılan bu uygulamalardan 1 hafta sonra *Ascochyta rabiei*'nin (10⁶ spor ml⁻¹) spor süspansiyonu hazırlanarak kontrol (+) ve kontrol (-) uygulamalarından kontrol (+) hastalık bulaştırıldıktan sonra 0, 24, 48, 72 saatler içerisinde yaprak örnekleri toplanmışlar ve protein ve peroksidaz enzim aktivitelerine bakmışlardır. Test edilen tüm kimyasallara bitkilerin püskürtülmesinden sonra, C727 nohut çeşidinde antraknoz hastalığının önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Hastalığa karşı en etkili uygulama Salisilik asit (%63) daha sonra Bion, K₂HPO₄ ve neem ağacı ekstraktları olduğunu bildirmişlerdir. Bitkinin protein miktarındaki değişim yapılan uygulamalardan 24 saat sonra önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol bitkilerine bakıldığında protein miktarı hepsinde artış göstermiş, ancak protein miktarı 24, 48 saatlerinde toplanan bitkilerde daha fazla olduğunu tespit etmiştir. En yüksek protein miktarı sırasıyla Salisilik Asit, K₂HPO₄, Bion 0.3 mM ve neem ekstraktı olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada uygulanan Bion 0.3 mM'ın protein miktarı Sarwar et al (2011)'in yaptığı çalışma ile benzer şekilde bulunmuştur.

4. Sonuç ve Öneriler

Kütahya'nın Gediz ve Şaphane ilçelerinde Azkan (tolerant) ve Yerel çeşitte (duyarlı) *Ascochyta rabiei*'ya karşı en yüksek etki Bion MX 44 0.5 mM ile elde edilirken bunu Bellis ve Bellis + Bion MX 44 0.3 mM izlemiştir. Duyarlı bir çeşit olan Yerel çeşidinde nohut antraknoz hastalığı gözlenirse bile kontrol bitkiler ile karşılaştırıldığında Bion MX 44 uygulamasının 05 mM dozunun hastalığı kısmen baskıladığı belirlenmiştir. Azkan nohut çeşidi tolerantlı bir çeşit olması sebebiyle ve abiyotik aktivatör olan Bion MX 44 0.5 mM uygulaması sayesinde *Ascochyta rabiei*'dan daha az etkilenmiştir. Bu sayede nohut bitkisinin antraknoz hastalığına karşı tolerantlı çeşitlerin yanında dışardan bitkide sistemik dayanıklılığı aktif hale getirecek takviyeler yapılmasıyla bitki hastalığa karşı daha dirençli hale gelmektedir. Aktivatörlerin bitkiye uygulanmasıyla bitki savunma mekanizmasının aktif hale gelmesi sonucu bitkiye dışarıdan gelebilecek her türlü hastalık ve zararlı tehdidine karşı hazır olurken, kimyasal uygulaması ile sadece uygulanan pestisit etkili olacağı canlıya karşı önlem alınmış olacaktır. Bu sebeple aktivatör kullanımının tercih edilmesi ile kimyasal kullanımının minimum düzeye indirilebileceği ve çevresel kirlenmenin bitkisel aktivatörlerin kullanımıyla azaltılabileceği düşünülmektedir. Yapmış

olduğumuz çalışma ve benzer çalışmalar gözönünde tutularak, nohut antraknoz (*Ascochyta rabiei*) hastalığına karşı abiyotik aktivatörlerin önemi daha fazla vurgulanmalı, hastalık kontrolü için alternatif seçenekler üzerinde daha fazla araştırma yapılmalıdır.

Bu çalışma yüksek lisans tez çalışmasının bir bölümüdür.

Kaynaklar

1. Arıcı E & Yardımcı N (2001). Bitkilerde uyarılmış dayanıklılık. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 32 (1): 83-86.
2. Anonim (2014). Nohut Hastalıkları ve Zararlıları, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Edirne.
3. Ergün A (2001). Humiforte N 6'nın Klasik Fungisitlerin Bitkiye Penetrasyonuna ve Nohut Antraknozu [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.] Hastalığının Kontrolüne Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
4. Aydın H, Karademir Ç, Oğuz A & Erdemci, İ. (2016). Güneydoğu anadolu bölgesi'nde kışlık nohut ekimlerinde *ascochyta* yanıklığı (*Ascochyta rabiei*) hastalığıyla mücadele. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 45(2-3), 87-98.
5. Aysan M & Erkılıç A (2019). Çilekte *Rhizoctonia* kök çürüklüğü (*Rhizoctonia solani*)'ne karşı bazı bitki aktivatörlerinin etkileri. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(2): 173-180.
6. Bayraktar H (2001). Nohutlarda Antraknoza [*Ascochyta rabiei* (Pass. Labr.)] karşı dayanıklılığın salisilik asit uygulaması ile teşvik edilmesi. (Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara).
7. Bradford MM (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
8. Chongo G, Gossen BD, Buchwaldt L, Adhikari T & Rimmer SR (2004). Genetic diversity of *Ascochyta rabiei* in Canada. *Plant Disease*, 88(1): 4-10.
9. Dereboylu AE & Tort N (2010). Bazı aktivatör ve fungusit uygulamalarının *Cucumis sativus* L. (hıyar) bitkisinde verim-kalite üzerine etkisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Fen Bilimleri Dergisi* 31-1: 30-42
10. Dolar FS (1994). Development of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. in the leaves of susceptible and resistant chickpea cultivars. *Journal of Turkish Phytopathology*, 23(1): 27-35.
11. Gamliel-Atinsky E, Shtienberg D, Vintal H, Nitzni Y & Dinooor A (2005). Production of *Didymella rabiei* pseudothecia and dispersal of ascospores in a mediterranean climate. *Phytopathology*, 95: 1279-1286.
12. Gan YT, Siddique KHM, Macleod WJ & Jayakumar P (2006). Management options for minimizing the damage by ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum*). *Field Crops Research*, 97(2-3): 121-134.
13. Gozzo F (2003). Systemic acquired resistance in crop protection: From Nature to a Chemical Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4487-4503.
14. Hartman GL, Pawlowski ML, Chang HX & Hill CB (2016). 3 - Successful technologies and approaches used to develop and manage resistance against crop diseases and pests. Emerging Technologies for Promoting Food Security Overcoming the World Food Crisis Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition 2016, pp. 43-66
15. Hekimhan H (2010). Trakya bölgesinde buğdaylarda kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olan fungal etmenler ve patojenisitelerini etkileyen bazı faktörler üzerine araştırmalar. (Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya).
16. Kaiser WJ (1997). Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: marker assisted selection of chickpea for sustainable agriculture in the dry areas. Udupa, SM,

- Weigve, F. (Eds.), *The Teleomorph of Ascochyta rabiei and its Significance in Breeding Chickpea*. pp.3-21. ICARDA, Aleppo Syria.
17. Karabay NÜ, Türküsay H, Cüneyt AKI., Tosun N & Türkan İ (2003) Domatesin bakteriyel hastalıklarının kontrolünde bitki aktivatörleri ve bakterisitlerin etkileri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 13(2): 88-102.
 18. Sarwar N, Zahid MH, Ashfaq S & Jamil FF (2011). Induced systemic resistance in chickpea against ascochyta blight by safe chemicals. *Pakistan Journal of Botany*, 43(2): 1381-1387.
 19. Singh KB, Hawtin GC, Nene YL & Reddy MV (1981). Resistance in chickpeas to *Ascochyta rabiei*. *Plant Disease*, 65: 586-587.
 20. Singh KB & Saxena MC (1999). Chickpeas. Macmillan Education Ltd., London, Bisingtone.
 21. Townsend GK & Heuberger JW (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Report*, 27: 340-343.
 22. TÜİK (2018). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 (Erişim tarihi: 29.05.2018)