

TÜTÜN MİLDİYÖSÜ (*Peronospora tabacina* Adam) NÜN OOSPOR TEŞKİLİ ÜZERİNDE ÖN ÇALIŞMALAR

Suna ALTINYAYI

G İ R İ Ş

Tütün mildiyüsü (*Peronospora tabacina* Adam) nün biyolojisi, epidemiyolojisi ve mücadelesi Özbaş (1967)² tarafından olanaklar çerçevesinde incelenmiş, ancak meydana gelebilen oosporların oldukça küçük olduğu belirtilmiştir. Özkan (1966), bu konudaki incelemesinde oosporların meydana geliş sürelerine temas etmiş, İren (1965) ise Avustralya, Avrupa ve Türkiye'deki oospor durumlarını eleştirerek, oospor faaliyetinin açıklığa kavuşturulmasının önemine dikkati çekmiştir. Bu nedenle yapılan çalışmalara az da olsa bir katkıda bulunabilmek amacıyla oosporların meydana geliş durumları ve enfeksiyondaki rolleri gibi hususlar çalışmalarımıza konu alınmıştır.

MATERYAL VE METOD

Tütün mildiyösünün oospor meydana getirme durumunun ve bunların enfeksiyondaki rollerinin araştırılması için düzenlenen denemelerde 2421 Maden ve 985 Düzce tütün çeşitleri kullanıldı. Mikroskopik incelenmelerde çeşitli preparat ortamları (Colley, su, lactophenol, gliserin) denendi. Ancak, en net ve en uzun süre inceleme imkânı Colley ile sağlanabildiğinden preparat hazırlamada bu mahlül tercih edildi. Konidi inokulasyonları, 0.5 lt'lik camdan yapılmış küçük el atomizörü ile ve sabah saatlerinde toplanan hastalıklı yaprakların su içinde yıkanması suretiyle elde edilen konidi süspansiyonu ile yapıldı.

Denemeler boyunca kullanılan toprak, tütün yetiştirilen bir tarladan temin edilerek otoklavda (2,6 atm. de 25') sterilize edildi. Denemelerin devamı boyunca laboratuvarında sıcaklık 20-28°C, orantılı nem % 60-75 idi. Bu konuda yapılan çalışmalar iki grupta planlandı.

- 1 Bölge Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü Endüstri ve Süs Bitkileri Hastalıkları Laboratuvarı Mütahassısı - SAMSUN.
- 2 ÖZBAŞ, O., 1967. Tütün mildiyüsü (*Peronospora tabacina* Adam) Hastalığının biyolojisi, epidemiyolojisi ve mücadele imkânları üzerinde araştırmalar. Nihai Rapor. Bölge Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü - SAMSUN.

A. Oospor oluşumunun tetkiki

Bu çalışma üç tertip halinde yürütüldü.

1. Hastalıklı yaprak parçaları 14.7.1972 günü petri kutularına konulan çeşme suyu içine yerleştirildi. Bu tertipte, petri kutularından bir kısmı buzdolabının buzlukunda -1 ile -3 °C arasında, diğer bir kısmı da lâboratuvarda normal oda sıcaklığında muhafaza edildi. Aynı tarihte toprakla doldurulan petri kutularına hastalıklı yaprak parçaları konularak yine buzluga, lâboratuvara ve bahçeye yerleştirildiler.

2. Bu tertipte toplanan hastalıklı kuru tütün yapraklarının nekrotik lekeli olan kısımları ile yeni teşekkül etmiş lekelerin bulunduğu yeşil yapraklardan alınan numuneler çeşme suyu ve toprak doldurulmuş petri kutularına 24.7.1972 de yerleştirildiler. Bu petriler lâboratuvar şartlarında muhafaza edildiler.

3. Mikhailova (1963) a göre 14.9.1972 günü düzenlenen denemede petri kutularına çift katlı kurutma kâğıtları konuldu. Üzerlerine ortalama 2 cm çapındaki fide yaprakçıkları yerleştirilerek bütün petri kutuları ıslatıldı. Hazırlanan konidi süspansiyonu ile bütün yaprakçıklar inokule edildi. Petri kutuları;

- a) İlk 24 saat ıslak, daha sonra kuru.
- b) Her gün 8 saat kuru ve 16 saat ıslak,
- c) Her gün devamlı ıslak olarak muhafaza edildiler.

Yukardaki şekilde düzenlenen denemelerde oosporların oluşumu her gün yapılan preparatlarla mikroskopta izlendi.

B. Oosporların enfeksiyon gücünün tesbiti

Oosporların enfeksiyon güçlerinin tesbiti 1972 ve 1973 yıllarında tertiplenen denemelerle aşağıda belirtilen şekillerde araştırıldı. 1973 yılında yapılan çalışmalarda 1972 yılında hazırlanmış materyallerden faydalanıldı.

1. Lâboratuvarda pamuk ve tülbent yerleştirilmiş petri kutularına, 985 Düzce ve 2421 Maden çeşitlerine ait tohumlar ekilerek her devredeki oosporlarla aşılama yapılabilmesi için fide yetiştirildi. Bu fidelere 3.8.1972, 25.8.1972 ve 29.8.1972, 19.12.1972 ve 5.1.1973, 5.2.1973, 5.3.1973, 5.4.1973 tarihlerinde oosporlarla inokülasyon yapıldı. Oda koşullarında muhafaza edilerek 30 günlük devrede fidelere her gün kontrol edildi.

2. 24.7.1972 günü düzenlenen ve oospor elde edilen tertibe ait oosporlu materyalin bir kısmı, hazırlanan topraklı petri kutularının yüzeyine 7.8.1972, 10.11.1972 ve 11.12.1972 tarihlerinde serpildi ve tütün tohumu ekildi. Ayrıca 1972 de

ARALIK 1974

arazi koşullarında muhafaza edilmiş ve içinde hastalık yaprak parçalarını ihtiva eden toprak ortamlı petri kutularına 5.1.1973 de başlayarak Şubat ve Nisan aylarında tütün tohumu ekildi. Tohumların intaşını takiben fidelerin durumları gözlemlendi.

3. Bez kafesler içine alınmış saksılarda yetiştirilen 6-8 yaprak devresindeki fidelere 15.9.1972, 18.12.1972 günleri (1. tertipte meydana gelen ve çeşitli dönemlerde bulunan) oosporlarla, yapraklara, gelişme noktalarına ve gövdeye inokulasyonlar (temas suretiyle) yapıldı. Bu fidelerin durumu 16.10.1972 ve 20.1.1973 tarihine kadar gözlemlendi.

4. Lâboratuvarda 5.3.1973 den itibaren muhafaza edilmiş ve oospor teşekkül etmiş, ortamı su olan petrilere Mayıs ayına kadar aylık periyodlarda tütün tohumu serpidi. Fidelerin intaşını takiben durumları gözleme tabi tutuldu.

5. Saksıda yetiştirilmiş, 6-8 yapraklı fidelere 9.4.1973 günü oosporlu materyal ile inokulasyon yapılarak 21.5.1973'e kadar fidelerin durumu takip edildi.

6. Buzdolabına 13.12.1972 tarihinde konulan içinde oospor teşekkül etmiş ve ortamı su olan petri kutuları ile içinde hastalıklı yaprak parçalarını ihtiva eden toprak ortamlı petri kutuları, 11.4.1973 de buzdolabından alındı. Oda sıcaklığında bir gün bekletildikten sonra kontrol edilerek su ortamlı petri kutularından alınan numunelerle petri kutularında yetiştirilmiş fidelere inokulasyon yapıldı. Toprak ortamlı olan petri kutularına ise tütün tohumu ekildi.

Oosporların enfeksiyon güçlerinin olup olmadığı, inokulasyondan sonra fidelerin durumu dikkatle gözlenerek tesbite çalışıldı.

S O N U Ç L A R

A. Tütün mildiyösünün oospor meydana getirme durumunu incelemek için kurulan denemelerden elde edilen sonuçlar :

1. Hastalıklı yaprakların 14.7.1972 günü çeşme suyuna konulmalarının 7. gününde yapılan muayenede oospor tesbit edildi. Yeni teşekkül etmiş olan bu oosporlar çevrelerinde ince, parlak belirgin bir sargıya sahipti. 9. günden itibaren bu sargılar kalınlaştı. Açık sarı olan renkleri de koyulaşarak içleri granüle bir durum aldı. 12. gün oosporların renklerinin oldukça kahverengi kalın sargılı ve çaplarının da 40-42 μ a kadar ulaştığı tesbit edildi. Ayrıca, aynı gün normal büyüklükte olan oosporların yanında bal peteği veya dizi şeklinde sıralanmış, 9-10 μ çapında açık renkli çift cidarlı küçük sporların da bulunduğu görüldü. Bundan sonraki 17. 20. ve 45. günlerde yapılan kontrollarda da aynı durumlar tesbit edildi. Aynı tarihte toprağa yerleştirilen ve bahçede muhafaza edilen hastalıklı yaprak kısımlarında oospor teşekkülü tesbit edilemedi. Yine 14.7.1972 günü

su ve toprakla hazırlanmış ortamlara yerleştirilerek buzluğa konulan numunelerde de 45. günde yapılan muayenede konidi ve konidioforların büzülmesinden ve cidarların kalınlaşmasından başka bir değişiklik olmadığı görüldü.

2. Klorotik ve nekrotik yaprak kısımlarının 24.7.1972 günü ayrı ayrı konulması ile açılan denemede;

a) Netrotik lekeli olanlarda 4. günde çift ve oldukça kalınlaşmış sargılı oosporlar tesbit edildi. Bu tertipte 13. gün 32.6 - 39 μ çapında oosporlar, az sayıda da takriben 65 μ çapında oogon durumunda sporlar tesbit edildi.

b) Yeşil yapraklarla hazırlanan denemede 13. günde oospor müşahade edildi. Gözlemlere 50. güne kadar devam edildi. 24.7.1972 günü ortamı toprak olarak yukarıdaki paralelinde hazırlanan denemede yapılan muayenelerde ise oospor tesbit edilemedi.

3. Mikhaïlova (1963) a göre koparılmış yapraklarda hazırlanan bu denemede devamlı ve 16 saat ıslak tutulan petrilerde küf teşekkülü 6. günde oldu. Ancak, devamlı ıslak tutulanlarla meydana gelen küf yoğunluğu daha fazla idi. İlk 24 saat ıslak, daha sonra kuru olarak muhafaza edilen tertipte küf teşekkülü olmadığı gibi yaprak kuruyarak canlılığını da kaybetti. Küf teşekkülünden 8 gün sonra her iki tertipte küçük çaplı oosporlar tesbit edildi. 12 günde normal boyutlara ulaşılar. Yaprakların saprotiflerle örtülmesi nedeniyle bundan sonra inceleme yapılamadı.

B. Oosporların enfeksiyon güçlerinin tesbiti için hazırlanan denemelerden elde edilen sonuçlar :

1. Lâboratuvarda yetiştirilen 2421 Maden ve 985 Düzce fidelerine farklı tarihlerde yapılan inokulasyonları takiben bir aylık devrede her gün yapılan gözlemlerde mildiyö belirtisi veya sporu tesbit edilmedi.

2. Devreler halinde oosporla bulaştırılan toprağa ekilen 985 Düzce tohumundan ve hastalıklı yaprak kompostunu havi, bahçede bekletilen toprak doldurulmuş petri kutularına Ocak (5.1.1973), Şubat (5.3.1973) ve Nisan (4.4.1973) aylarında ekilen tütün tohumlarından yetişen fidelerin canlılıklarını korudukları ve hastalık belirtisi göstermedikleri görüldü.

3. Bez kafes içinde muhafaza edilen fideler 15.9.1972 ve 18.12.1972 günlerinde oosporlarla yapılan inokulasyonu takiben 16.10.1972 ve 20.1.1973 e kadar dikkatle izlendiyse de mildiyö belirtisi tesbit edilemedi.

4. Oosporların oluştuğu, ortamı su olan petrilerde 5.3.1973 den itibaren bir aylık devreler halinde yetiştirilen fidelerde her gün yapılan gözlemlerde hiç bir hastalık belirtisi tesbit edilemedi.

5. Saksıda yetiştirilen 6-8 yapraklı tütün bitkilerine oosporlu materyal ile bulaştırma yapıldıktan sonra 42 gün kadar durumları kontrol edildi. Fakat mildiyö meydana gelmedi.

6. Buzdolabından 11.4.1973 de alınıp, bir gün bekletilen petri kutusu kontrol edildiğinde oosporların daha koyu renkli ve kalın bir cidarla çevrilmiş olduğu görüldü. Bunlar petri kutusu içinde büyütülmüş fidelere inokule edildiğinde hastalık meydana gelmediği görüldü. Toprak ortamlı petri kutularına tohum ekilerek yetiştirilen fidelerin de gayet canlı oldukları, hastalanmadıkları tesbit edildi.

Bütün denemelerde fidelere üzerine bulaştırılan oosporlu materyalin zaman zaman yapılan kontrolünde, bunların tümünün ilk kondukları günkü durumlarını muhafaza ettikleri ve hiçbir değişiklik göstermedikleri de müşade edildi.

MÜNAKAŞA VE KANAAT

Tütün mildiyösünün oospor meydana getirme durumunun incelenmesi için düzenlenen denemelerde elde edilen oosporların boyutları 20-42 μ arasında idi. Clayton ve Stevenson (1943), Adam'a atfen oospor sınırlarının 35-60 μ ; Angel ve Hill'e atfen de 28-50 μ olduğunu, Clayton ve Stevenson (1935) oospor sınırlarının ortalama 32-40 μ olduğunu belirtmişlerdir. Golenia (1962) de oospor boyutlarını 14.8-19.6 μ , Mikhailova (1963) da 20-50 μ olarak tanımlamaktadırlar. Bizim çalışmalarımızda bulunan ölçüler ise genellikle bu son sınırlar içine girmektedir. Ancak, çeşitli araştırmacıların tesbit ettikleri değişik ölçülerin, farklı koşullarda çalışmış olmalarından ileri gelebileceği kanaatindeyiz. Tesbit ettiğimiz oosporlar, görünüm olarak Clayton ve Stevenson (1935), Lucas (1958), Mikhailova (1963) ün tanımlamalarına uygundur.

14.7.1972 de kurulan denemede, oosporların 7. günde meydana geldiği ve 12. günde olgunlaşmasını tamamladığı tesbit edilmiştir. Grath ve Miller (1958), yaprak hücrelerinin ölümünü takiben, ölü dokular içinde 4-7 günde oosporların meydana gelip olgunlaştığını, Lucas (1958), taze konidili genç yaprakların petrielerde rutubetli olarak muhafaza edildiklerinin 4. gününde oospor meydana gelip, 6. günde olgunlaştığını, Mikhailova (1962), 23°C de oosporların 3-12 günde, 1-2°C lerde 4 ayda teşekkül ettiklerini Mikhailova (1963) ise Pawlik'e atfen ancak laboratuvar şartlarında 5 hafta su içinde tutulduktan sonra ve Özyar'ın ise 11 günde oospor tesbit ettiğini, Özkan (1966) çalışmasında 5-7 gün içinde genç oogon ve oospor teşekkülünü müşahade ettiğini bildirmektedir. Nekrotik lekeye sahip yapraklarda oosporun 4 ncü günde olgunlaşması da Grath ve Miller (1958) in çalışması ile doğrulanmakta ise de yeşil yapraklarda 13. günde elde edilmiş olması Lucas (1958) ile ters düşmektedir. Ayrıca Mikhailova (1963) nın Pawlik'e atfen verdiği süre de çok farklı bulunmaktadır. Aynı ülkede olması dolayısıyla önem taşıyan Özkan (1966) nın tesbiti ile çalışmamız paralelité göstermekte, ancak oogon tesbit süreleri farklı bulunmaktadır. Yeşil yapraklarda oosporların, nek-

rotik lekeli yapraklara nazaran geç meydana gelmesi, Mikhailova (1963) tarafından da teyit edilmektedir. Bu durum oosporların meydana gelmelerinde bitki bünyesinde bir gelişme safhası geçirdiği kanısını vermektedir.

Genellikle çalışma ortamları benzer olduğu halde görülebilen bu ayrılıkların fungusun farklı ırklarından veya denemelerde kullanılan farklı tütün çeşitlerinden ileri gelebileceği düşünülmektedir.

Gerek laboratuvar ve gerekse bahçe şartlarında muhafaza edilen ve ortamın toprak olarak alındığı petri kutusunda oospor meydana gelmemesi, Grath ve Miller (1958) ve Mikhailova (1963) nın belirttiği gibi, teşekkül devrelerinde rutubete olan ihtiyaçlarından ileri geldiği ihtimalini uyandırmaktadır.

Koparılmış fide yapraklarının inokulasyonu ile oospor oluşumunun araştırılmasında her iki tertipte de aynı günlerde oospor meydana gelmesi ortamdan zaman zaman suyun çekilmesinin bir farklılık yaratmayacağını göstermiştir (Mikhailova 1963).

Özkan (1966), kotiledon testi ile fidelerin enfeksiyonundan 69 gün sonra konidi ve 9. ilâ 20. günlerde konidi tomurcuklanması, 22. ilâ 37. günlerde genç oogon ve oospor müşahade ettiğini bildirmektedir. Yaptığımız incelemelerin hiç birinde konidi tomurcuklanması olarak vasıflandırabileceğimiz bir duruma rastlayamadık. Özkan (1966) nın da belirttiği gibi bu konuda hiçbir yorumda bulunamayacağız. Ancak, oosporların geç meydana gelmesinin canlı dokuların bu teşekkülü yavaşlattığı ve canlılığını kaybetmeye daha yakın olan dokularda bu safhanın daha hızlı olduğu görüşündeyiz (Grath ve Miller 1958).

1972 yılında oosporların enfeksiyon güçlerinin araştırılması ile ilgili denemelerden sonuç alınamaması, çimlenme için oosporların uzun süre beklemesine bağlı olduğuna hamledilerek, 1973 yılında da çeşitli düzeylerde bu denemelere devam edilmişse de farklı devrelerde bulaştırma yapılarak gözlenen fidelerde hastalık görülmemiştir.

Oosporların oluştuğu petri kutularında devamlı yapılan preparatların hiç birisinde de oosporların çim borucuğu meydana getirmiş olduğu veya bu formasyona doğru yönelim gösterdiği tesbit edilmemiştir. Bu durum Grath ve Miller (1958) tarafından da binlerce oospor üzerindeki gözlemlerde ancak bir kaçında çimlenme tesbit ettiklerinin bildirilmesiyle de teyit edilmektedir. Ancak, bu incelemelerde böyle bir formasyon gözden kaçmış dahi olsa bulaştırılan fidelerde de enfeksiyon meydana gelmemiştir. Zira Lucas ve Person (1954) yaptıkları pek çok denemeden, sadece ikisinde, fidelerde hastalanma tesbit ettiklerini belirtmişlerdir. Bu indirekt hastalanma tesbitine (Anonymus 1971) İsviçre'de tütün artıklarının döküldüğü bir çiftliğin yakınındaki tarlada da rastlanılmıştır. Aynı yıl bu tipte bir primer enfeksiyon Fransa'da tesbit edilmiştir. Fakat, bütün bu ça-

lışmalarda da enfeksiyon için gerekli şartlar ortaya konamamıştır. Keza Mikhailova (1963), 22-24 °C lerde oosporların % 7-10 a kadar çimlenebildiklerini, Kröber ve Weinmann (1964) yaptıkları denemelerden sadece birinde % 7-10 nisbetinde çimlenme tesbit ettiklerini, buna mukabil enfeksiyon denemelerindeki başarının çok düşük olduğunu bildirmektedir.

Meydana gelen oospor oluşumu yoğunluklarının çok yüksek olmasına mukabil, primer enfeksiyonların neden nadir olarak meydana geldiği halâ anlaşılama-mıştır. Belki de bu durum, oosporların pek azının çimlenme kabiliyetinin olmasından veya büyük kısmının topraktaki mikroorganizmalar tarafından yok edilmesinden ileri gelmektedir.

Pratikte enfeksiyonların genellikle konidilerle olmasına rağmen, oosporların nadir de olsa enfeksiyon gücünün bulunması epidemiyoloji bakımından büyük önem taşımaktadır (Kröber ve Weinmann 1964). Bu bakımdan bilhassa etmenin en fazla geliştiği, yaygınlaştığı ve kaynak olduğu fidelikler de hastalıklı bitki artıklarının imha edilmesi gerekmektedir.

Ö Z E T

Tütün mildiyösünün oospor teşkil durumunun incelenmesi için hastalıklı yaprakların suya konulması ile hazırlanan denemelerde ilk oospor teşekkülü 7. gün ve bunların normal olgunluğa erişmesi de 9-12. günlerde olmuştur. Bunlar kahverenkli, kalın sargılı ve 40-42 μ çaplarında idiler. Nekrotik lekeli kuru yaprak-ra oospor meydana geldiği saptanmıştır. Oosporların enfeksiyon güçlerini araştır. Toprak ortama konulan hastalıklı yapraklarda ise, oospor tesbit edilememiştir. Koparılmış yapraklarda enfeksiyonu müteakip küf teşekkülünden 8 gün sonra oospor meydana geldiği saptanmıştır. Oosporların enfeksiyon güçlerini araştırmak için farklı devrelerde ve muhtelif düzeylerde kurulan denemelerden sonuç alınamamıştır.

S U M M A R Y

THE PRELIMINARY STUDIES ON THE OOSPORE FORMATION OF BLUE MOLD (*Peronospora tabacina* Adam)

The experiments were conducted to study the oospore formation of Blue Mold. The diseased leaves were immersed in the tap water and the oospor was determined seven days after this process. These newly formed oospores had a thin and shiny pronounced membrane which thickened after the ninth day. Light yellow color of the oospores darkened and they attained a granular appearance internally. It has been observed that the oospores were deep brown in color and had a thick membrane and they reached the 40-42 μ in diameter at twelfth day. The oospore formation of the dry leaves having necrotic spots was ear-

lier than that of the green leaves which newly went moldy. We could not observed the oospore formation on the diseased leaves which were placed in the soil media. It has been determined that, the oospores occurred on the plucked leaves eight days after the mold development following the infection. The results could not be obtained in the experiments conducted to determine the infection power of oospores at the various stages and levels.

L İ T E R A T Ü R

- ANONYMUS, 1971. General Report on Tobacco Blue Mould Outbreak in 1971. Co-
resta, 53, Quai d'Orsay, 53 Paris.
- CLAYTON, E. and J. STEVENSON, 1935. Nomenclature of the Tobacco Downy
Mildew Fungus. *Phytopath.*, 25, 516-521.
- , 1943. *Peronospora tabacina* Adam, The Organism Causing Blue Mold
(downy mildew). *Disease of Tobacco. Phytopath.*, 33, 101-103.
- GOLENIA, A., 1962. Studies on Tobacco Blue Mold at the Institut Ochrony Ros-
lin. *Biol. Inst. Ochr. Rosl. Poznan.*, 16, 7-28 (R. A. M. 42, 1963).
- GRATH, M. and P. MILLER, 1958. Blue Mold of Tobacco. *Plant Dis. Rep.*
Suppl. 250, 1-35.
- İREN, S., 1965. Türkiye'de Tütün Mildiyösü (*P. tabacina* A.) belirtileri, biyolojisi
ve mücadelesi *Zi. Müc. Z. K. Genel Md. Bitki Koruma Bülteni*, 5, 3-25.
- LUCAS, G. B., 1958. *Diseases of Tobacco. The Scarecrow Press, Inc. N. Y.*
- , L. PERSON, 1954. Factors influencing oospore germination in *Perono-*
spora tabacina. *Plant Disease Reporter*. 38, 243-244.
- KRÖBER, H. und W. WEINMANN, 1964. Der Nachweis von Blauschimmelinfec-
tionen durch Oosporen von *Peronospora tabacina* A. *Phytopathologische*
zeitschrift. 51, 79-84.
- MIKHAILOVA, P., 1962., Further Studies on Tobacco Blue Mold Oospores. *Bulg.*
Tjutjun. 7-5, 23-7 (Coresta Inf. Bull. 1963, 2, 7397).
- , 1963. Tütün Mildiyösü (*Peronospora tabacina* Adam) Oosporları Üze-
rindeki Araştırmalar. *Bitki Mücadele Enstitüsü, Sofya (Bulgarca)*.
- ÖZKAN, M., 1966. Microscopic Research on the Oospores of *Peronospora tabacina*
Adam. *Coresta Inf. Bull.* 3, 35-36.