

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEBUCONAZOLE'UN *in vitro* KOŞULLARDA
***Fusarium culmorum* 'un GELİŞİMİNE ve KONİDİ**
ÇİMLENMESİNE ETKİSİNİN SAPTANMASI

Tuğba TOÇAN

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 04/07/2014

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Figen TÜRK

ÇANAKKALE

Tuğba TOÇAN tarafından Doç.Dr. Figen TÜRK yönetiminde hazırlanan ve **04/07/2014** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Tebuconazole’un in vitro Koşullarda *Fusarium culmorum*’un Gelişimine ve Konidi Çimlenmesine Etkisinin Saptanması**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. Figen TÜRK

.....

Başkan

Prof. Dr. Savaş KORKMAZ

.....

Üye

Doç. Dr. Altıngül ÖZASLAN PARLAK

.....

Üye

Sıra No:.....

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

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

Tuğba TOÇAN

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Figen TÜRK'e ve araştırmamın her aşamasında bana yardımcı olan Bitki Koruma Bölümü Araştırma Görevlisi Ali KARANFİL'e teşekkür ederim.

Tezime katkılarından dolayı tez jüri üyeleri Prof. Dr. Savaş KORKMAZ ve Doç. Dr. Altıngül ÖZASLAN PARLAK'a teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim sırasında benden desteklerini esirgemeyen Bitki Koruma Bölümü öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine teşekkür ederim.

Buğday temininde yardımlarından dolayı Tarla Bitkileri Bölümü öğretim elemanlarına ve çalışmada elde ettiğim verilerin istatistiksel analizlerini yapan Tarla Bitkileri Bölümü Arş. Gör. Dr Fatih KAHRIMAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Ziraat Mühendisleri Kamil KELLEÇİOĞLU, Özge KARA'ya ve son olarak hayatımın her evresinde bana destek olan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tuğba TOÇAN

Çanakkale, Haziran 2014

SİMGELER VE KISALTMALAR

DON	Deoxynivalenol
T-2	T-2 toxin
NIV	Nivalenol
DAS	Diacetoxyscirpenol
HT-2	HT-2 toxin
FAO	Gıda ve tarım örgütü
ha	Hektar
ZEA	Zearalenone
ppm	Milyonda bir
FHB	Fusarium başak yanıklığı
μ l	Mikrolitre
kg	Kilogram
g	Gram
cm	Santimetre
μ g	Mikrogram
PDA	Patates dextrose agar
NaOCl	Sodyum hipoklorid
DMI	Dimetilasyon inhibitörleri
SBI	Sterol biyosentezi inhibitörleri
MS	Orta duyarlı
S	Duyarlı
UV	Ultraviyole
CLA	Karanfil yaprağı agar
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu

ÖZET

TEBUCONAZOLE'UN *in vitro* KOŞULLARDA *Fusarium culmorum*'un GELİŞİMİNE ve KONİDİ ÇİMLENMESİNE ETKİLERİNİN SAPTANMASI

Tuğba TOÇAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Doç. Dr. Figen TÜRK

04/07/2014, 53

Bu çalışmada, Çanakkale İli buğday alanlarındaki hastalıklı bitki örneklerinden izole edilmiş olan 10 farklı *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc. izolatına tebuconazole etkili maddeli fungusitin *in vitro*'daki etkisini araştırmak hedeflenmiştir. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 ppm) tebuconazole PDA besin ortamına eklenmiş ve fungusun misel gelişimi, konidi çimlenme yüzdesi, çim tüpü uzaması ve çim tüplerinde görülen değişimler gözlemlenmiştir. Ayrıca rastgele seçilen iki *F. culmorum* izolatı ile saksı denemesi yapılmıştır. Saksı denemesi ile buğday bitkisinin fide döneminde tebuconazole ve Captan etkili maddelerinin etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmaların sonucunda tebuconazole'un 1 ppm üzerindeki dozlarda miselyal gelişimi yavaşlattığı, 10 ppm üzerindeki dozlarda ise tamamen durdurduğu tespit edilmiştir. Fungusitin konidi çimlenmesine ciddi olumsuz bir etkisi olmadığı, ancak çimlenen konidilerde çimlenme olsa bile doz artışına bağlı olarak morfolojik bozulmalar olduğu tespit edilmiştir. Farklı saat aralıklarında yapılan çim tüpü ölçümlerinde ise tebuconazole uygulaması ile 5 ppm ve üzeri dozlarda çim tüplerinde oluşan bozulmalar ile zaman faktörü ilişkisi belirgin olarak ortaya konmuştur. Saksı denemesinde kullanılan her 2 izolatın da gerek çimlenme ve gerekse çökerten üzerine negatif etkisi olduğu bulunmuştur. Tebuconazole'a ek olarak Captan ile yapılan saksı denemesinde, tebuconazole ile ilaçlanan tohumların çıkış yüzdeleri Captan ile kıyaslandığında yüksek bulunmuş ve çıkış yapan fidelerde ise hastalık şiddetinin belirgin bir şekilde düştüğü gözlenmiştir.

Anahtar sözcükler: *Fusarium culmorum*, Çim Tüpü, Konidi Çimlenmesi, Buğday, Tebuconazole

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECT OF TEBUCONAZOLE ON MYCELIA GROWTH AND CONIDIUM GERMINATION OF *Fusarium culmorum* *in vitro* CONDITION

Tuğba TOÇAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Plant Protection

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Figen TÜRK

04/07/2014, 53

In this study, 10 different isolates of *Fusarium culmorum* (WG Smith) Sacc. isolated from diseased wheat plants in the Canakkale Province and the effect of tebuconazole, a fungicide, against the fungus was investigated *in vitro* conditions. For this purpose, tebuconazole was amended into PDA culture medium in 10 different concentrations (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 ppm) and the mycelial growth, the percentage of conidium germination, germ tube elongation and germ tubes changes were assessed. In addition to laboratory research, two isolates of *F. culmorum* were selected randomly in order to examine whether tebuconazole have any effect on wheat seed germination and disease severity. Captan, another fungicide effective as seed protectant, was also employed in pot experiment. The *in vitro* experiments exhibited that the tebuconazole doses above 1 ppm reduced mycelial growth dramatically, and doses above 10 ppm inhibited completely the mycelia growth. Tebuconazole seems to have no effect on conidium germination no matter which concentration was used, however, abnormal branching along with deformation and disorganisation of hyphae were observed under microscopy. Germ tube elongation was also measured at four different time intervals (6, 12, 18 and 24 hours after inoculation). Although the growth of germ tubes was associated with the time, the thickness and distortions of hyphae were observed. Pot experimets showed that *F. culmorum* has dramatical effects on germination of wheat seeds and crown rot. Covering seeds with tebuconazole resulted in a high seed germination and a significant reduction of disease severity compared with positive control plants and the Captan fungicide.

Keywords: *Fusarium culmorum*, Germ Tube, Codinia Germination, Wheat, Tebuconozole

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAV SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
BÖLÜM 1 – GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
BÖLÜM 3 – MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. <i>Fusarium culmorum</i> izolatları	15
3.1.2. Saksı denemesinde kullanılan buğday çeşidi.....	15
3.1.3. Kullanılan fungusitler	15
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Hastalıklı dokulardan <i>Fusarium culmorum</i> izolasyonu	16
3.2.2. İnokulum hazırlığı ve saksı denemeleri	16
3.2.2.1. Kullanılan izolatların patojenite testleri.....	17
3.2.2.2. Tebuconazole'ün kök ve kökboğazı çürüklüğüne karşı etkinliğinin saptanması.....	17
3.2.2.3. Saksı denemelerinin değerlendirilmesi.....	18
3.2.3. Tebuconazole ile <i>in vitro</i> çalışmalar	18
3.2.3.1. Tebuconazole'ün miselyal çapa etkisi	19
3.2.3.2. Tebuconazole'ün konidi çimlenmesine etkisi.....	19
3.2.3.3. Tebuconazole'ün çim tüpü üzerine etkisi	19
3.2.3.4. Tebuconazole'ün farklı zamanlı çim tüpü üzerine etkisi.....	20
3.2.4. Fungal gelişimin durdurulması.....	21
3.2.5. İstatistiksel analizler.....	21
BÖLÜM – 4 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	22
4.1. Simptomoloji ve <i>Fusarium culmorum</i> 'un Teşhis Edilmesi.....	22

4.2. Tebuconazole'ün <i>in vitro</i> 'da <i>Fusarium culmorum</i> 'un Miselyal Gelişimine Etkileri	24
4.3. Tebuconazole'ün <i>in vitro</i> 'da <i>Fusarium culmorum</i> 'un Konidi Çimlenmesine Etkileri	28
4.4. Tebuconazole'ün <i>in vitro</i> 'da <i>Fusarium culmorum</i> 'un Çim Tüpü Uzamasına Etkileri	30
4.5. Tebuconazole'ün <i>in vitro</i> 'da <i>Fusarium culmorum</i> 'un Farklı Saat Aralıklarında Çim Tüpü Uzamasına Etkileri.....	33
4.6. <i>F. culmorum</i> 'un Tohum Çimlenmesine ve Hastalık Şiddetine Etkisi	39
BÖLÜM 5 – SONUÇLAR VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 3.1. <i>Fusarium culmorum</i> 'un inokulumunun hazırlanması	17
Şekil 3.2. <i>Fusarium culmorum</i> 'un bitki çıkışı ve hastalık şiddetine etkisi	18
Şekil 3.3. Fungal büyümenin lactophenol çözeltisiyle durdurulması	20
Şekil 3.4. Çim tüpü ölçümleri	20
Şekil 4.1. Kök, kökboğazı ve sap bölgesinde <i>Fusarium culmorum</i> infeksiyonundan kaynaklanan kahverengileşme belirtileri	22
Şekil 4.2. <i>Fusarium culmorum</i> 'un sebep olduğu başak yanıklığı belirtisi	23
Şekil 4.3. Petride geliştirilen <i>Fusarium culmorum</i> izolatı	23
Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının miselyal gelişimi	25
Şekil 4.5. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Fc314 izolatı kontrol'de çim tüpü uzaması	35
Şekil 4.6. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Fc314 izolatına uygulanan 5 ppm tebuconazole konsantrasyonunda çim tüpü uzaması	35
Şekil 4.7. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Fc314 izolatına uygulanan 10 ppm tebuconazole konsantrasyonunda çim tüpü uzaması	36
Şekil 4.8. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Fc314 izolatına uygulanan 50 ppm tebuconazole konsantrasyonunda çim tüpü uzaması	36
Şekil 4.9. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Fc314 izolatına uygulanan 100 ppm tebuconazole konsantrasyonunda çim tüpü uzaması	37
Şekil 4.10. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Fc314 izolatına uygulanan 500 ppm tebuconazole konsantrasyonunda çim tüpü uzaması	37
Şekil 4.11. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Fc314 izolatında 24 saat inkübasyondan sonra çim tüpü uzaması	38
Şekil 4.12. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Fc314 izolatında 6., 12., 18., 24. saat inkübasyondan sonra farklı konsantrasyonlarda çim tüpü uzaması	38
Şekil 4.13. <i>Fusarium culmorum</i> ile bulaştırılmış toprağa ekilen buğday tohumlarının çimlenmesi ve bitki çıkışı	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 1.1. Başlıca tahılların dünyada ve ülkemizdeki durumu.....	1
Çizelge 3.1. Kullanılan <i>Fusarium culmorum</i> izolatları, orijinleri ve izole edildikleri bitki dokuları	15
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan fungusitlerin aktif madde, ticari adları ve önerilen dozları.....	15
Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının miselyal gelişimine ait kareler ortalaması	26
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının miselyal gelişimi	26
Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının miselyal inhibisyonuna ait kareler ortalaması	27
Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının miselyal inhibisyonu	27
Çizelge 4.5. Tebuconazole eklenen PDA'da geliştirilen <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının konidi çimlenmesi varyans tablosu	29
Çizelge 4.6. <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının kontrol ve 50 ppm konsantrasyonunda tebuconazole bulunan ortamda konidi çimlenmesi.....	29
Çizelge 4.7. <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının farklı konsantrasyonlarda tebuconazole uygulamasında çim tüpü uzunlukları varyans tablosu.....	32
Çizelge 4.8. <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının farklı konsantrasyonlarda tebuconazole uygulamasında çim tüpü uzunluğu ortalamaları	32
Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da geliştirilen <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının farklı zaman aralıklarında çim tüpü uzunlukları varyans tablosu.....	34
Çizelge 4.10. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da geliştirilen <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının farklı zaman aralıklarında çim tüpü uzunlukları.....	34
Çizelge 4.11. <i>Fusarium culmorum</i> 'un iki izolatına karşı uygulanan fungusitlerin bitki çıkışına etkisine ait kareler ortalaması.....	39
Çizelge 4.12. <i>Fusarium culmorum</i> 'un iki izolatına karşı uygulanan fungusitlerin bitki çıkışına etkisi	40
Çizelge 4.13. <i>Fusarium culmorum</i> 'un iki izolatı ile inokule edilen buğdayda hastalık şiddetine ait kareler ortalaması.....	41

Çizelge 4.14. <i>Fusarium culmorum</i> 'un iki izolatu ile inokule edilen buğdayda hastalık şiddeti	41
--	----

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tahıllar, temel besin öğelerini içermesi, ucuz karbonhidrat kaynağı olması gibi sebeplerle dünyada yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan tarım ürünleridir. Ayrıca dünya genelinde ve ülkemizde de yetiştirilme alanı ve üretim miktarı bakımından oldukça geniş paya sahiptir. İnsan besini olarak önemli oranda kullanılan tahıllar ayrıca hayvan beslemede de kullanılmaktadır.

Tahıl yetiştiriciliği diğer tarım ürünlerinde olduğu gibi iklim faktörlerine bağlı olarak yayılış gösterir. Ülkemizde tahıl tarımı en yoğun olarak İç Anadolu Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yapılmakla birlikte diğer bölgelerde de belli oranda tahıl yetiştiriciliği yapılmaktadır. Tahıllar besin olarak kullanılmamanın haricinde endüstriyel olarak da geniş kullanım alanına sahiptir.

Tahıllar olarak bilinen başlıca tarım ürünleri buğday, arpa, yulaf, mısır, çeltik ve darıdır. Bunlardan buğday ve çeltik ağırlıklı olarak insan besini olarak değerlendirilirken, arpa ve mısır ise hayvan yemi olarak önem kazanmıştır. Ayrıca üretimi yapılan bu tahıl grupları içerisinde üretim alanı ve miktarı olarak ülkemizde ve dünyada en göze çarpan ürünün buğday olduğu görülmektedir (Çizelge 1.1). Ülkemizde buğdayı sırasıyla arpa, mısır ve çeltik izlemektedir. Dünya genelindeki toplam veriler açısından ise ekim alanı olarak buğday ilk sırada gelirken üretim miktarı olarak mısır ilk sırada yer almakta ve bunu çeltik takip etmektedir.

Çizelge 1.1. Başlıca tahılların dünyada ve ülkemizdeki durumu (Anonymous, 2012)

TAHILLAR	DÜNYA		TÜRKİYE	
	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)
Buğday	216.638.762	674.884.372	7.529.600	20.100.000
Mısır	176.991.927	875.098.631	622.600	4.600.000
Çeltik	163.463.010	718.345.380	119.720	880.000
Arpa	49.310.546	132.350.225	2.748.766	7.100.000

Buğday (*Triticum* spp. L.) bitkisinin üretimi de diğer tarım ürünlerinde olduğu gibi biyotik ve abiyotik etmenler tarafından tehdit edilmektedir. Abiyotik etmenler olumsuz hava koşulları, iklim özellikleri, elverişsiz toprak özellikleri, uygun olmayan işleme yöntemleri ve çeşitli kirlilikler; biyotik etmenler olarak ise hastalık, zararlı ve yabancı otlar buğday üretimini kalitatif ve kantitatif olarak olumsuz etkilemektedir.

Buğday ilkbahar yağışları ve yaz kuraklığı isteyen bir bitkidir. Bu koşullar oluştuğunda buğdayda verim artışı görülmektedir. İklim özelliği bakımından nemli ve bol yağış alan bölgelerde ise hastalık görülme oranı, nemli koşulların fungal hastalıkların gelişimi ve üremesini kolaylaştırması sebebiyle artış göstermektedir. Buğday bitkisi yetişme döneminin ilk evrelerinde düşük sıcaklık ve bol nemli hava istemektedir. Bu koşullar fide döneminde kök boğazı çürüklüğü yapan etmenler için de oldukça uygun koşullardır ve bitkiler bu durumda fungal saldırılara hassas olurlar. Fungal hastalıklar tohum ve başakta, yeşil aksamda ayrıca kök ve kök boğazında infeksiyon oluşturmaktadır.

Buğday üretiminde yaygın olarak kök-kökboğazı ve sap hastalığına sebep olan *Bipolaris*, *Fusarium*, *Gaeumannomyces*, *Pseudocercospora*, *Pythium* ve *Rhizoctonia* cinslerine bağlı çeşitli fungus türleridir (Wiese, 1987). Bu etmenler içerisinde buğdayda hastalık oluşturan ve tür sayısı açısından en zengin olan *Fusarium* cinsidir. Ayrıca bu türlerin konukçu dizini oldukça geniştir. *Fusarium* cinsine ait türlerin meydana getirdiği *Fusarium* başak yanıklığı (FHB) dünya genelinde ciddi ekonomik kayıplara neden olan en önemli buğday hastalığıdır (Mc Mullen ve ark., 1997).

Fusarium cinsine bağlı bazı türler mikotoksin oluşturarak insan ve hayvan sağlığını tehdit etmekte ve bu özelliği ile de diğer türlerden ayrı bir önem arz etmektedirler. *Fusarium* spp.'nin başağı kolonizasyonu sırasında ikincil metabolit olarak oluşturduğu mikotoksinler tüketildiğinde sıcakkanlılarda "mikotoksikozis" denilen zehirlenmelere yol açarlar. Mikotoksikozis oluşturduğu saptanan spesifik birkaç fungus cinsi mevcuttur yani her fungus mikotoksin oluşturmamaktadır. Farklı funguslar tarafından üretilen ve en sık karşılaşılan mikotoksinler aflatoxin, zearalenone (ZEA), nivalenol (NIV), deoxynivalenol (DON), T-2, HT-2, Diacetoxyscirpenol (DAS), ocratoxin, patulin ve fumonisindir (Huwig ve ark., 2001). Oluşan bu toksinler vücutta biriktiğinde akut ve kronik etkilere neden olarak fiziksel, fizyolojik bozukluklara, doku ve organ kayıplarına sebep olurlar. Mikotoksinlerin oluşumunun ardından kimyasal veya fiziksel yöntemlerle ortamdan uzaklaştırılması mümkün olmadığından hiç oluşmamasını sağlamak ya da olabildiğince kontrol altına almak en önemli koruma yöntemidir. Bu sebeple *Fusarium* spp.'nin neden olduğu fungal hastalıklarla mücadele ekonomik anlamda olduğu gibi sağlık açısından da

önem arz etmektedir.

Fusarium spp., bitkiler için önemli bir hastalık etmeni olmanın yanında son günlerde yapılan çalışmaların sonucunda bazı türlerinin bağışıklık sistemi zayıflamış insanlarda da hastalık etmeni olması ile gündeme gelmiştir (Vartivarian ve ark., 1993).

Fusarium cinsine bağlı türler başak yanıklığına ve kök-kök boğazı çürüklüğüne sebep olmaktadır. Bu şekilde verimi % 50'ye kadar düşürebildiği belirtilmiştir (Cook, 1968). FHB'ye birçok *Fusarium* türü sebep olmaktadır. Bunlardan en önemlileri *Fusarium avenaceum*, *F. poae*, *F. nivale*, *F. graminearum* (*Giberella zae*) ve *F. culmorum*'dur (Parry ve ark., 1995). *F. graminearum*, *F. verticilloides*, *F. avenaceum* buğdayda patojenite açısından farklı olmaları yanında filogenetik olarak da birbirlerinden ayrılırlar, yaşam döngüleri ve toksijenik profilleri birbirlerinden farklıdır (Leslie ve Summerell, 2006).

Dünyada yaygın olarak görülen FHB'ye daha çok *F. graminearum*'un neden olduğu belirtilmekle beraber Avrupa'da bu hastalığa daha çok *F. culmorum*'un sebep olduğu bildirilmiştir. Çünkü *F. graminearum* gelişiminde sıcak iklimleri, *F. culmorum* ise serin iklimleri tercih etmektedir (Snijders, 1989).

F. culmorum özellikle buğday ve arpada kök ve kökboğazı çürüklüğü ile başak yanıklığına, ayrıca sap çürüklüğüne sebep olan oldukça yaygın bir fungustur. Fungusun teşhisi sporodochium yada karanfil yaprağı agar (CLA)'da oluşturduğu makrokonidi şekline göre yapılmaktadır. Konidiyoforları monofialidlerden oluşmuş olup kısa ve geniştir. Makrokonidiler genellikle 3-5 septumlu olup kalın duvarlı ve muz şeklindedir. Fungus ya makrokonididen yada hifte intercalary olarak oval yada dairesel klamidospore üretmektedir. Mikrokonidi oluşturmamaktadır. Koloni PDA üzerinde oda sıcaklığında hızlı bir şekilde büyür. Miselyum kirli beyaz, sarımsı ve çoğunlukla koyu pembe kırmızımsı renktedir. Tahılların yanısıra şeker pancarı, keten, karanfil, fasulye, bezelye, pırasa, çilek ve patates gibi birçok bitkide hastalık oluşturabilmektedir (Scherm ve ark., 2012).

Türkiye'de buğdayda kök ve kökboğazı hastalık etmenlerini tespit etmeye yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Hastalıklı örneklerden yapılan izolasyonlarda, kök ve kökboğazı ile sap çürüklüğüne sebep olan izolatlardan % 10'unun *F. culmorum* tarafından oluşturduğu tespit edilmiştir (Tunalı ve ark., 2006). *F. culmorum* ile infekteli kök ve koleoptil ile toprak yüzeyinin hemen üstünde ve ilk 2-3 internodda kahverengileşmeye sebep olmaktadır. Kardeşlenmeyi olumsuz etkileyebildiği gibi, kök ve sap sisteminin hastalanmasından dolayı ak başak oluşumuna sebep olmaktadır. Hastalıklı kök ve

saplardan dolayı oluşan başaklarda dane dolumu ya gerçekleşmemektedir, ya da gerçekleşse dahi oluşan danelerin kalitesi ciddi bir şekilde etkilenmektedir.

F. culmorum etmeni ayrıca FHB'ye sebep olmaktadır (Milus ve Parsons, 1994). FHB infeksiyonunda ilk görülen simptomlar kavuz üzerinde su emmiş görünümlü daha sonra açık kahverengi lekeler şeklindeyken, infeksiyonun ilerlemesiyle renk açılması oluşur. Fungus, infeksiyonun başladığı başakçıktan sonra başak eksenini boyunca bitişik başakçıkların da infekte olması şeklinde gelişir. FHB için bitkinin hassas olduğu dönem anterlerin çıkış yaptığı yarı çiçeklenme dönemidir. Bu dönemde oluşan infeksiyonlar sırasında iklim koşulları yani sıcaklık ve nem değerleri fungal etmen için de uygun ise yıkıcı etki oluşmaktadır. Fungal etmen tek bir başakçıktan ya da birkaç başakçıktan giriş yapabilir ve hızlı bir şekilde intraselüler gelişim göstererek sağlıklı başakçıkları da hasta edebilir. FHB infeksiyonu hasat öncesi başlar ve hasattan sonra da eğer daneler nemli ortamda depolanırsa, gelişimini orada da devam ettirebilir (Stenglein ve Rogers, 2010).

Yaprak infeksiyonunda hastalığın bitki üzerinde oluşturduğu etkiler fotosentezin yavaşlaması sonucu zayıf dane oluşumu ve dane ağırlığının önemli oranda azalması şeklindedir. Eğer nemli koşullar oluşursa başakların tamamında veya başak yüzeyinde belli kısımlarda pembe renkli miselyumlar oluşur, daneler buruşuk yapıda gelişir, beyaz ve bazen pembe renklidir (Parry ve ark., 1995). Başak infeksiyonu sonucu elde edilen infekteli tohumlar bir sonraki yıl üretim materyali olarak kullanıldığında kök ve kök boğazı çürüklüğüne sebep olmaktadır. Kökte başlayan infeksiyon kök boğazını da etkileyebilmektedir. Kök ve kök boğazı infeksiyonu tüm tahıllar için daha fide döneminde ciddi kayıplara neden olabilmektedir. Oluşan bu kayıpların önlenmesi açısından dünya çapında birçok çalışma yapılmıştır.

Bugüne kadar yetiştiriciliği yapılan buğday çeşitlerinde *Fusarium* sap çürüklüğüne tam olarak dayanıklı bir çeşit bilinmemektedir. Dayanıklılık açısından incelenen buğday çeşitlerinde infeksiyonlar kesin olarak önlenemezken, patojen gelişimi açısından değerlendirildiğinde; ileri aşamalarında ortaya çıkan kahverengileşme seviyeleri, farklı buğday varyetelerine göre değişiklik göstermekte, tolerans düzeyi yüksek olanlarda sap çürüklüğü gelişimi daha düşük olmaktadır (Klein ve ark., 1985; Wildermuth ve McNamara, 1994).

FHB kontrolü amacıyla dayanıklı çeşit üretimi üzerinde durulmuş ancak üretimin yaygın olarak yapıldığı ve iklim özelliklerinin hastalık etmeni açısından uygun olduğu bölgelerde bu yöntem tek başına yetersiz kalmıştır (Mesterhazy, 1989; Snijders ve

Perkowski, 1990). Bununla birlikte yanlış ürün rotasyonu ve kültürel uygulamalar hastalığın şiddetli görülmesinde rol oynarken (Sutton, 1982) danelerin toksin kontaminasyonunda da oldukça önem kazanmıştır (Obst ve ark., 1997). Yapılan bilimsel çalışmalar ile kimyasal uygulamalarının yıkıcı hastalık epidemilerinin oluşumu riskinin önüne geçilmesinde önemli olduğu rapor edilmiştir (Martin ve Johnston 1982; Ellner ve Jahn 1997). Fungisitlerle yapılan tarla denemeleri göstermiştir ki propiconazole (McMullen ve ark., 1997), metconazole (Gilgenberg, 1999), yada tebuconazole (Mauler-Machnic ve Zahn, 1994) gibi triazole grubu sistemik fungisitler FHB mücadelesinde önemli bir grubu temsil etmektedir. FHB için kimyasal mücadele uygulayan bazı ülkelerde 1970'lerde yaygın olarak carbendazim etkili maddesi kullanılmaktaydı. Yapılan uygulamalar ile benzimidazoller grubunda olan bu etkili maddenin *Fusarium* cinsine ait fungus türlerinin oluşturduğu yıkıcı etkilere karşı iyileştirici sonuçlar elde edilmiştir (Delp, 1987). Daha sonra 1980'li yıllarda ise dimetilasyon inhibitörleri (DMI) yaygın olarak kullanılmaya başlandı. DMI fungisitleri de benzimidazoller gibi geniş spektrumlu olmaları sebebiyle FHB üzerinde olumlu sonuçlar vermiş yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde tahıllarda strobülirinler ile kombine şekilde kullanılmaktadırlar (Ellner, 1997).

DMI fungisitleri dünyada en fazla tüketilen grubu oluşturur. Bu grubun 2005 yılı verilerine göre fungisit piyasasındaki payı % 27.7'dir (Kuck ve Gisi, 2007).

FHB'nin yaygın olarak görülmesi sebebiyle hastalığın sürekli olarak yeni ırkları oluşmaktadır ve bu sebeple de yetiştiriciliği yapılan kültürlerin çoğu hastalığa hassastır. Yetiştirme dönemi içinde bölgenin yağış alması ve yine hassas bir tür olan mısır ile rotasyon yapılması sonucu kimyasal mücadele çoğu zaman kaçınılmaz haldedir (Pirgozliev ve ark., 2002).

FHB mücadelesinde tebuconazole ilaçlamasının oldukça etkili sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Mielke ve Meyer 1990; Homdork ve ark.; 2000). İnokulasyondan önce ve sonraki 3 gün arasında tebuconazole uygulaması yapıldığında hastalığı önlemede % 60'ın üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir (Mauler-Machnic ve Zahn 1994).

Tebuconazole'ün içinde bulunduğu Triazole grubu, fungusun gelişiminde oldukça önemli olan ergosterolün biyosentezini engelleyen oldukça büyük bir fungisit sınıfıdır (Kerkehaar ve Barug, 1984). Özellikle de sistemik fungisitler tohumlara ya da yeşil aksama uygulandıklarında doku içerisine ve hücresel yapılara nüfuz ederek bitkinin kendi içinde madde alışverişi sağlaması sonucu iletim dokularıyla diğer dokularına taşınabilmektedir. İnfeksiyon öncesi veya sonrasında fungisitlerle temas eden fungal

yapıların gelişimleri bir süre sonra sekteye uğramakta ve bunun sonucunda hastalıkların ilerleyişine engel olunmaktadır. Mildiyö etmeni gibi funguslar sterol sentezlemediğinden bu gruptaki ilaçlar etki göstermezler (Solel, 1970).

Biyokimyasal açıdan funguslar bitki ve hayvanlardan farklı ve özelleşmiş sterollere sahiptir. Steroller çoğu fungal etmen için hücre zarında yaşamsal faaliyetlerin gerçekleştirilmesinde görevlidir. Bu nedenle mücadelede özel engelleyiciler geliştirilmiştir (Kuck ve Vors, 2007). Ergosterol sentezi azaldıkça yağ sentezi oransal olarak artış gösterir. Sonuç olarak hücre içinde üretilen ve tüketilen maddeler arası dengesizlik oluşur. Yani ergosterol azalırken toksik nitelikte bileşikler artış gösterir (Burden ve ark., 1989; Kuck and Vors, 2007). Oluşan bu dengesizlik hücre zarı yapısını ve buraya bağlı enzimlerin aktivitesini etkiler (Weete, 1989). Ergosterolün yokluğu hücrede kitin sentezinin artışına neden olur. Bu durumda hücre çeperlerinin yapılanmasının ve bölünmelerinin sekteye uğradığı görülür. Bunun sonucu olarak hiflerde şişkinlik, şekil bozukluğu, anormal dallanmalar görülür (Janssen ve Bossche, 1987). Ayrıca sterol biyosentezi inhibitörü (SBI) fungusitlerinin spor çimlenmesine etkileri oldukça azdır, fakat çim borusu uzamasına önemli ölçüde olumsuz etki ederler (Fuchs ve De Waard, 1982).

Türkiye’de tebuconazole *F. culmorum*’un sebep olduğu FHB veya kök ve kök çürüklüğü hastalıkları için ruhsatlı değildir, oysa bir çok ülkede (örneğin; Avustralya, İspanya, Güney Afrika, Almanya, Birleşik Krallık ve ABD) ruhsatlı olup epidemi dönemlerinde kullanılmaktadır (Anonymous, 2014). Avrupa ülkelerinin çoğunda, tahıllarda *Fusarium* türlerinin sebep olduğu tohum kökenli fide hastalıkları mücadelesinde tohum ve yeşil aksam ilaçlaması amacıyla tebuconazole, flutriafol, methconazole ve prochloraz kullanılmaktadır (Anonymous, 2006). Türkiye’de buğdayda tebuconazole’ün ruhsatlı olduğu hastalıklar yeşil aksam ilaçlamasında; külleme, pas, Septoria yaprak lekesi iken tohum ilaçlamasında ise sürme ve rastıktır (Delen, 2008).

Yapmış olduğumuz bu çalışma ile buraya kadar anlatılan bilgiler ışığında, sistemik özellikte ve triazole grubu olan tebuconazole etkili maddesinin *in vitro*'da miselyal çap gelişimine, çimlenme yüzdesine, çim tüpü uzamasına olan etkileri araştırılmıştır. Ayrıca saksı denemesi ile tebuconazole’ün hastalık baskısı altındaki buğday tohumunun çimlenmesine ve hastalık şiddetine etkisi araştırılmıştır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Buğdayda kök, kökboğazı ve sap çürüklüğü ile başak yanıklığına neden olan *Fusarium* cinsine ait funguslar ekonomik anlamda önemli bir yere sahiptir. Başak yanıklığı (*Fusarium* head blight = FHB) son yıllarda üzerinde çok çalışılan hastalıklardan biridir. Dünya çapında yapılan çalışmalara göre tahıllarda FHB oluşumuna sebep olan 17 *Fusarium* türü rapor edilmiştir; bunların arasında *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. poae* ve *F. nivale* çok yaygın olarak bulunmaktadır. FHB'tan sorumlu türler çökerten, kök ve kökboğazı çürüklüğüne de sebep olmaktadır; fakat her üç hastalığın epidemiyolojik açıdan birbirleri ile ilişkisi henüz tam olarak anlaşılammıştır (Parry ve ark., 1995).

Araz ve ark. (2009) Sakarya ilinde buğday bitkisinde kök ve kök boğazı hastalığına neden olan etmenleri araştırmışlardır. Bu araştırmaya göre Sakarya Tarımsal Enstitüsünde ve Kirazca işletmesinde yetiştirilen 18 buğday çeşidinde ve Sakarya Merkez ilçesinde dört ayrı bölgede yetiştirilen buğday çeşitlerinde kök ve kök boğazı hastalığına neden olan etmenler saptanmıştır. Belirtilen bölgede tespit edilen türlerin *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. subglutinans*, *F. crookwellense*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. dimerum*, *F. solani*, *F. equiseti*, *F. acuminatum*, *F. sporotrichoides*, *Rhizoctonia* spp. ve *Alternaria* spp. olduğu bulunmuştur. En sık rastlanan etmenlerin ise *F. graminearum* ile *F. culmorum* olduğu tespit edilmiştir.

Orta Anadolu'da Konya ilinde yapılan bir çalışmada kök ve kökboğazı bölgesinde hastalık belirtisi gösteren örneklerin % 21'inin *F. culmorum*, % 21.5'inin ise *F. moniliforme* kaynaklı olduğu saptanmıştır. Belirtilen etmenlerin sırasıyla % 9 ve % 5 ürün kaybına sebep olduğu belirtilmiştir. Eskişehir'de yapılmış olan benzer bir çalışma ile bölgede oluşan hastalık yoğunluğunun % 70 seviyelerine ulaştığı belirlenmiştir (Aktaş ve ark. 1999).

Orta Anadolu platosunda ise 1994-2004 yılları arasında 3 kez yapılan sörvey ile kök ve kök boğazı dokusundan elde edilen izolatlar arasında en yaygın olan türün *F. culmorum* olduğu rapor edilmiştir (Aktaş ve ark., 1999; Tunalı ve ark., 2006). Türkiye coğrafyasında kök çürüklüğü (Crown Rot-CR) dağılışı incelendiğinde Kuzeydoğu Marmara Bölgesinde *F. pseudograminearum* görülme oranı *F. culmorum*'dan daha fazla olduğu saptanmıştır (Aktaş ve ark., 1996).

F. culmorum kök ve kökboğazı çürüklüğünün yanı sıra FHB'a da sebep olmaktadır. Bu konuda en belirgin çalışmalar Tunalı ve ark. (2006) tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar 2003-2005 üretim sezonlarında Türkiye genelinde yetiştirilen buğdaylardan FHB semptomları gösteren başak örnekleri almışlardır. Alınan örneklerden *F. acuminatum*, *F. avenacum*, *F. chlamyosporum*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. pseudograminearum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. subglutinans* ve *F. verticilloides* türleri izole edilmiştir.

İnfeksiyonun etkileri açısından değerlendirildiğinde FHB'li başaklardan elde edilen daneler normalden daha küçük, buruşuk ve beyazdan uçuk pembeye değişen renklerde olmaktadır. Ayrıca infekteli daneler çimlenme güçlerini kaybetmekle birlikte bu taneler üzerinde gelişen fungusların spesifik bazı türleri mikotoksin de üretmektedir (Bai ve Shaner, 1994). Bu gibi özellikleri nedeniyle *Fusarium* cinsi funguslar dünya çapında birçok bilim insanı için tıbbi, biyolojik ve zirai anlamda önemli bir araştırma konusu olmuştur.

FHB ilk kez 1930'lu yıllarda Amerika'da tespit edilmiş ve daha sonra diğer kıtalarda da varlığı belirlenmiştir (Burgess ve ark., 2001). Ülkemizde ise hastalık ilk kez 1993 yılında rapor edilmiştir (Aktaş ve Tunalı, 1993). Daha sonra Muratçavuşoğlu ve Hancıoğlu (1995)'nin Ankara ili buğday ekim alanlarında yaptıkları çalışmada, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. acuminatum*, *F. heterosporium* türlerinin varlığını bildirmişlerdir. Türkiye genelinde yapılan çalışmalarda ise Marmara Bölgesinde *F. graminearum* *F. culmorum*'a göre daha yaygın (Aktaş ve ark., 1996) iken Orta Anadolu Bölgesinde *F. culmorum* *F. graminearum*'a oranla daha yaygın bulunmuştur (Aktaş ve ark., 1999).

İklim özelliklerine bağlı olarak Avrupa'da *F. culmorum*, dünyada ise *F. graminearum* yayılımı hakimdir. (Snijders, 1989). Amerika'nın kuzeyinde yapılan bir çalışmada *F. graminearum* ve *F. culmorum*'un sıcaklık isteği açısından karşılaştırılması sonucu *F. graminearum*'un *F. culmorum*'a göre 3-4°C daha yüksek sıcaklıklarda etkili olduğu bulunmuştur. Bu iki türün patojenite açısından en dominant türler olduğu da yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (Sitton ve Cook, 1981).

FHB buğday, arpa ve diğer tahıllarda çok yıkıcı olduğundan dünya çapında ekonomik açıdan büyük bir öneme sahiptir. Son yıllarda dünyanın bir çok bölgesinden FHB epidemileri rapor edilmektedir (McMullen ve ark., 1997). *F. culmorum* ile infeksiyondan sonra tek veya birkaç başakçık ve hatta bazen tüm başak hastalanabilir. Zayıf fotosentez sonucunda zayıf dane oluşur ve dane ağırlığı önemli oranda azalır.

Başaklar veya bunların bir kısmı nemli koşullarda pembe renkli, gevşek miselyumlarla kaplanır, daneler buruşuk, beyaz ve bazen pembe renklidir (Parry ve ark., 1995). Verime direk etkisinin yanı sıra *F. culmorum* farklı moleküler yapıya sahip mikotoksin de üretmektedir. Mikotoksin ile bulaşık yemler ve besinler insan ve hayvan sağlığını ciddi bir şekilde etkileyebilmektedir. Mikotoksin ile bulaşmayı önlemek için öncelikle FHB ile mücadele etmek gerekmektedir.

Türkiye’de Kuzeybatı Anadolu’da FHB epidemileri, çiçeklenme sırasında yoğun nem oluşan yıllarda *F. graminearum* birincil patojen kaynağı olmuştur (Tunalı ve ark., 2006). *F. culmorum* ise *F. graminearum* türünü takiben ikincil patojen olarak oluştuğunda patojenite testleri sonuçlarına göre başak infeksiyonlarında daha virulent olduğu sonucuna varılmıştır.

FHB’den kaynaklanan zararların önlenmesi yada etkilerin kontrol altına alınarak azaltılması açısından çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda hastalığın biyolojisini ve etiyolojisini anlamak açısından fungal etmenin kendisini ve mücadelesinde kullanılan fungusitleri ve bu fungusitlerin fungal etmen üzerindeki morfolojik, fizyolojik etkileri birçok çalışma ile *in vitro* koşullarda incelenmiştir. Ayrıca çoğu zaman bu etkiyi kesin olarak görmek açısından yapılan *in vitro* çalışmalar tarla ve saksı denemeleri ile desteklenmiştir. Bu bölümde hastalık etmeni ile ilgili daha önce yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçlar değerlendirilmiş, yapılan *in vitro* çalışmalar ve *in vivo* patojenite çalışmaları incelenmiş, farklı *Fusarium* spp. izolatları karşılaştırılmış ve bu çalışmalar paragraflar halinde özetlenmiştir.

Zange ve ark. (2004) buğday bitkisinde *F. culmorum* kaynaklı FHB infeksiyonuna karşı Folicur ticari adı ile satılan tebuconazole etkili madde içerikli fungusitin etkilerini araştırmışlardır. Fungisit uygulaması sonucu infeksiyon öncesi ve sonrası gelişimler elektron mikroskopu ile incelenmiştir. Fungisit uygulanmayan kontrol başakçıklarda 12-24 saat içerisinde yumurtalık kısmında olduğu gibi palea ve lemma dokularının yüzeyinde de makrokonidi çimlenmesi gerçekleştiği tespit edilmiştir. İnokulasyondan 2 gün sonra fungus yoğun miselyal ağ şeklini almış ve 36 saat içerisinde de epidermal hücre duvarı penetrasyonu gerçekleşmiştir. Hücrelerarası kısa bir gelişimin ardından hücre içi gelişim de başlamış ve bunu takiben bitki dokusunda belirgin bir zarar oluşumu gözlemlenmiştir. Tebuconazole koruyucu amaçlı olarak inokulasyondan önce kullanıldığında konidi çimlenmesini engellemediği, ancak çimlenme gerçekleşen makrokonidilerde çim tüplerinde düzensiz kalınlaşma, çim tüpü uçlarının şişmesi ve aşırı dallanması gibi belirgin morfolojik değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca fungus sporları konukçu

dokuya penetre olmadan uygulanması sporların üzerinde oldukça şiddetli etkiler oluşturduğu ve sporların penetre etme niteliğini kaybettiği de gözlemlenen sonuçlar arasındadır.

Bir diğer çalışmada da Kang ve ark. (2001) sistemik bir fungusit olan tebuconazole etkili maddesinin *in vitro* koşullarda uygulanması ile *F. culmorum*'un üzerinde oluşturduğu morfolojik, yapısal etkiler ile hücre duvarı komponentleri ve toksin üretimi etkilerini araştırmıştır. Fungisit uygulaması filtre kağıtlarına fungusit solüsyonu emdirilmesi şeklinde inokulum etrafına bu kağıtlar yerleştirilerek yapılmıştır. Fungisit uygulaması sonucu miselyal gelişimin ciddi oranda durdurulduğu tespit edilmiştir. Gözlemler sonucu hiflerde aşırı dallanma ve düzensiz şişkinlikler oluşmuştur. Fungisit fungal etmenin hücre duvarlarında önemli ölçüde kalınlaşmanın yanında ultrastrüktürel seviyede morfolojik değişimlere yol açmıştır. Aşırı septasyon, septum oluşumun yarım kalması, vakuollerin uzaması, sayısının artışı ve daha ileri boyutlarda hif stoplazmasında dejenerasyonlar ile nekroz oluşumları gözlemlenmiştir. Bunlarla beraber hif hücresi stoplazmasında membransız yapıların oluşumu da sıklıkla gözlemlenmiştir. Fungisit uygulanması sebebiyle hif hücrelerinde oluşan yapısal bozukluklar yeni hif oluşumunun da önüne geçmiştir. Benzer bozulmalar farklı çalışmalar sonucu ergosterol biyosentezini etkileyen diğer fungusitlerin uygulanması ile de görülmüştür. Fungisit uygulaması ile çim tüplerinin uzamasında sorunlar olduğu belirlenmiş, düzensiz dallanmalar ve şişkinleşmeler olduğu görülmüştür. Bir mikotoksin olan Deoxynivalenol (DON) oluşumu ile fungusit uygulaması karşılaştırıldığında ise fungusitin mikotoksin oluşumunu önemli oranda azalttığı ve miselyal çap ölçümlerinde de belirgin olarak gelişimi durdurduğu tespit edilmiştir.

Semaskiene ve ark. (2006) Litvanya tarla koşullarında fungusitler ile ilgili üst üste 2 yıl süren bir çalışma yapmıştır. Çalışmada fungusitlerin *Fusarium* infeksiyonlarında koruma amacıyla kullanımı ve hastalığın yoğunluğu ile deoksinivalenol (DON) oluşumuna etkileri araştırılmıştır. Çalışmada arpada tek başına azoxystobin, tebuconazole ile azoxystobin karışımı, ayrıca prothioconazole ve tebuconazole karışımı denenmiştir. Buğday için ise epoxyconazole'ün pyraclostrobin ve fenpropimorph ile karışımı ve tek başına tebuconazole denenmiş ve etkileri karşılaştırılmıştır. Fungisit uygulamaları başak çıkışından önce, başaklanma ve çiçeklenme dönemlerinde yapılmıştır. Her iki yılda da doğal yollardan oluşan infeksiyon oranı oldukça şiddetli boyutlarda olmuştur. Fungisit uygulaması yapılan parsellerden alınan dane örneklerinde DON birikimi analizleri yapılmıştır. Analizler sonucunda her iki yıl için yapılan buğday ve arpa analizlerinde DON miktarının fungusit uygulanan tanelerde oldukça düşük olduğu belirlenmiştir.

Sawinska ve Malecka'nın (2007) Polonya'da yaptığı bir çalışma ile yeşil aksam ilaçlamasının kışlık buğdayda etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada kök, gövde, yaprak ve başaklarda görülen fungal hastalıkların görülme durumu ve hassas olduğu dönemler baz alınarak koruma ve tedavi amaçlı farklı ilaçlama programları denenmiştir. Tarla sürveyleri ile elde edilen buğday örneklerinde kök ve gövde çürümelerine neden olan etmenlerin çoğunlukla *Fusarium* türleri ve *Gaeumannomyces graminis* olduğu tespit edilmiştir.

Aynı çalışmada tohumların farklı etkili maddeler uygulanması ile hastalığın olumsuz etkilerinin belli oranda önüne geçilmiştir. Farklı kimyasalların kompleks olarak bir program dahilinde uygulanması ile hastalık etkileri ciddi oranda kontrol altına alınmıştır. Denemede kışlık buğday çeşidi Sakwa kullanılmıştır. İklim ve toprak koşullarına uygun bir biçimde sulama ve gübreleme programı uygulanmıştır. Tohum ilaçlamasında tek başına Raxil (tebuconazole) kullanımı ile *G. graminis* infeksiyon yüzdesi % 34.5 seviyelerinde başlamış 75.5'e ulaşmıştır. *Fusarium* spp. ise % 22.9 iken gelişimin ilerleyen süreçlerinde 52.9 seviyesine ulaşmıştır. Latitute (Imidacloprid + Carboxin + Metalaxyl) ve Raxil birlikte kullanıldığında ise *G. graminis* için infeksiyon oranı belirgin bir şekilde düşüş göstererek % 11.9'den ancak 24.2 seviyeleri geçmiş, *Fusarium* spp.'de ise % 21.3 iken 48.6 oranlarına geçerek çok belirgin bir fark görülmemiştir.

Majeska ve ark.'nın (2012) Slovakya'da yaptığı çalışmaya göre farklı bölgelerden topladıkları numunelerden elde ettikleri farklı *Fusarium* ve *Microdochium* türlerinin ırkları üzerinde seçilmiş 14 farklı fungusitin ve fungusit kombinasyonlarına hassasiyeti araştırılmıştır. Çalışmanın amacı zirai mücadelede temel sorunlardan biri hastalık etmenlerinin farklı ırklarında oluşan dayanıklılık problemini incelemek olarak belirtilmiştir. Toplanan örneklerden saf kültürler elde edilmiş ve elde edilen türlerin morfolojik tanımlanmaları yapılmıştır. Her türün içinde bulunan örnekler düşük dayanıklı, orta dayanıklı ve yüksek dayanıklı olarak sınıflandırılmıştır. Her bir tür fungusitlere karşı değişik reaksiyon vermiştir. Genel olarak değerlendirme yapıldığında test edilen tüm fungusitlere karşı en fazla hassas olan tür *M. nivale* en düşük hassasiyette olan ise *F. avenaceum* ve *F. graminearum* olarak, *F. poae* ve *F. culmorum* ise orta dayanıklı olarak bulunmuştur.

Mathies ve ark. (1999) yaptığı bir çalışmada *F. graminearum* üzerinde 1 ml/ L tebuconazole % 90 inhibisyon oluştururken aynı dozda carbendazim ise % 40 inhibisyon sağladığını tespit etmiştir.

Sırbistan’da Ivić ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada 2006 yılında yapılan tarla sörveyi ile buğday bitkisinden elde edilen 13 *F. graminearum*, 6 *F. verticilloides*, 6 *F. avenaceum* izolatu PDA üzerinde 5 farklı dozda carbendazim, tebuconazole, flutriafol, metconazole ve prochloraz kullanılarak geliştirilmiş, miselyal gelişimi ölçümleri yapılmış ve kullanılan ilaçların inhibisyon yüzdeleri hesaplanmıştır. *In vitro* koşullarda gelişimi durdurma açısından her 3 türe ait izolatlar için değerlendirme yapıldığında en etkili olan sonuçlar prochloraz, en düşük sonuçlar ise flutriafol etkili maddesine ait çalışmalar ile elde edilmiştir. Kalan diğer 3 etkili madde kendi içerisinde karşılaştırıldığında ise metconazole diğerlerine oranla daha etkili sonuçlar vermiştir. *F. graminearum* 10 mg/L tebuconazole dozu kullanıldığında gelişim gösterememiştir. Yapılan çalışma ile farklı etkili madde fungusitleri farklı dozlara beklendiği gibi farklı inhibisyon yüzdeleri oluşturarak reaksiyon vermiştir. Ancak aynı türe ait farklı izolatlar arasındaki sonuçlar arasında fark bulunamamış yani izolatlar arası hassasiyet yada dayanıklılık tespit edilememiştir.

Hırvatistan’da yapılan tarla denemelerinde prochloraz, tebuconazole ve carbendazim çeşitli dozlarda karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar tarla koşulları açısından karşılaştırıldığında *Fusarium* gelişimini azaltabilme açısından en etkili olan prochloraz etkili maddesi olmuştur. Tebuconazole ise carbendazim ile eşit, fakat prochlorazdan daha düşük etkide sonuç vermiştir. Bunun yanında yapılan birçok tarla denemesinde çoğu zaman tebuconazole, prochloraz ve carbendazimden daha etkili olarak tespit edilmiştir (Ellner, 1997).

Almanya’da yapılan benzer bir çalışmada tebuconazole uygulaması ile uygulama zamanının farklı olmasına bağlı olarak değişen ve % 43-56 oranında değişen koruma sağlanmıştır. Prochloraz ile % 22-41 oranında değişen koruma elde edilmiş ve tohum ile yeşil aksam ilaçlamaları da karşılaştırıldığında paralel sonuçlar elde edilmiştir (Mathies ve Buchenauer, 2000).

İtalya’da yapılan bir başka çalışmaya göre kültürlerin iki tanesinde tebuconazole etkili iken diğer ikisinde ise prochloraz daha etkili sonuç vermiştir (Menniti ve ark., 2003).

Almanya’da Wagacha ve Muthomi (2007) tarafından yürütülen bir çalışmada *F. culmorum* etmeninin infeksiyon süreci, mikotoksin üretim mekanizması ve bunların buğdayın patogenesisi üzerine etkileri araştırılmıştır. Hastalık yüzdesi ve mikotoksin varlığını tespit etmek amacıyla buğday başakları kullanılmıştır. Yapılan çalışmada hiçbir buğday çeşidinin hastalığa tam olarak dayanıklı olmadığı ancak doğal infeksiyonlara karşı fungusit kullanımı ile koruma sağlanabileceği belirtilmiştir.

ABD’de Nagelkirk ve Kirk (2013) FHB ile uygun şekilde mücadele etmek amacıyla çeşitlerin etkisi, kültürel uygulamalar ve fungusit kullanımının zamanının belirlenmesi ile ilgili bir çalışma yürütmüşlerdir. FHB mücadelesi için metconazole, prothiconazole, tebuconazole fungusitlerini denemişlerdir. Metconazole etkili maddesi ve tebuconazole ile prothiconazole kombinasyonundan en iyi sonuçları elde etmişlerdir. Tebuconazole tek başına kullanıldığında istenen sonuç alınamamıştır. Dayanıklılık riskinin ve maliyetinin yüksek olması sebebiyle tebuconazole kullanımı yeterli bulunmamıştır. Aynı çalışmada fungusit uygulama zamanının hastalığın kontrolü açısından en uygun olduğu dönemin % 25-50 çiçeklendiği zaman olduğu tespit edilmiştir. Bu zaman sıcaklığa bağlı olarak değişmekle birlikte başağın tam olarak çıkışını takip eden 2-5 gün olarak kabul edilmiştir.

Brezilya’da Dong ve ark. (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada buğday bitkisinin *F. graminearum* popülasyonunun triazole grubuna hassasiyeti ve elde edilen izolatların tebuconazole’e karşı dayanıklılığı araştırılmıştır. Çalışmada 50 adet izolat kullanılmıştır. Çalışmada daha önce laboratuvar çalışmalarıyla FHB’ye hassas olduğu tespit edilen New York çeşidi kullanılmıştır. Ticari olarak tavsiye edilen dozlarda tebuconazole kullanımı FHB oluşumunu ve DON birikimini baskılamıştır. Tebuconazole’e dayanıklı ve hassas olan izolatlar karşılaştırıldığında hassas olan gruptaki buğdaylarda hastalık şiddeti ve toksin konsantrasyonu daha yüksek bulunmuştur. Metconazole uygulamasında aynı başarı sağlanamamıştır.

Wachowska ve ark. (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada tebuconazole ve kitosan’ın *Fusarium* türlerinin gelişimi üzerine inhibisyonu tarla koşullarında araştırılmıştır. Çalışma 3 yıl sürmüş ve Bogatka çeşidi kullanılmıştır. Tebuconazole etkili maddesinin buğdayın gelişim döneminde *F. culmorum* ve *F. graminearum* üzerinde baskılayıcı bir etki oluşturduğu ve koruma bakımından etkin özellikte olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kitosan maddesinin ise *Fusarium* spp. gelişimi üzerinde önleyici bir etkisi olmadığı saptanmıştır.

Londra’da yapılan bir çalışmada *F. culmorum* türünün çimlenme özellikleri araştırılmıştır. Araştırmada *F. culmorum*’un makrokodilerinin şişkinleşip çimlenmesi için karbon ve azot kaynakları önem taşımakta olduğu ve çim tüpü çıkışından önce sporlarda şişkinleşme görüldüğü belirlenmiştir. Bu şişkinleşme sürecinde spor yüzeyinin yapışkan bir yapı ile kaplandığı ve enzimatik özellikteki bu yapının glikozun hücre içine alınmasında görev aldığı belirtilmiştir. Bu amaçla azot kaynağı içeren, trityumlu sıvı hazırlanmış sporların aşırı su alıp kuru ağırlığın artışı önlenmiş spor şişmesi demonstrasyonu sağlanmıştır ve inceleme yapılmıştır (Marchant ve White, 2011).

ABD’da yapılan bir çalışmada *F. graminearum* etmeninin makrokonidilerinin çimlenme sırasında morfojenezi incelenmiştir. Bu çalışmada, pamuksu miselyal gelişim gösteren diğer funguslarda olduğu gibi makrokonidilerin bipolar çimlenme özelliğine sahip olduğu ancak tercihen apikal gelişim gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca çimlenme sırasında, yeni oluşan yapının uç kısmında ve korteks bölgesinde kitin birikimi olduğu ve bu birikimin çim tüpü oluşumunda kullanıldığı belirlenmiştir. Çimlenme sırasında oluşan fonksiyonel mikrotübüller ile yeni oluşan hücreye madde transferi sağlandığı ve bu sistemde oluşabilecek aksaklık ile *F. graminearum* etmeninin konukçu bitkide kolonizasyon oluşumunun engellenebildiği de gözlemlenmiştir (Harris, 2005).

Arslan ve Baykal (2002) tarafından yapılan bir çalışmada tohum koruyucu fungusit uygulaması ile *F. culmorum* etmeninin bazı buğday çeşitlerinde etkileri ve kök, kök boğazı fungal patojenlerine karşı buğday çeşitlerinin gösterdiği reaksiyonlar araştırılmıştır. Bu çalışmada 3 farklı fungal etmen (*F. culmorum*, *F. graminearum*, *Rhizoctonia cerealis*), 8 farklı buğday çeşidi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda Saraybosna buğday çeşidi *F. culmorum* etmenine karşı orta duyarlı (MS), diğer iki etmene ise duyarlı (S) olarak tespit edilmiştir. Diğer 7 çeşit ise her 3 patojene de duyarlı olarak tespit edilmiştir. *F. culmorum*’a karşı kullanılan ve ülkemizde sürme, rastık gibi hastalıklara ruhsatlı olan; carbendazim, tebuconazole, maneb, triticonazole etkili maddelerinin tohuma uygulanması sonucu sırasıyla % 80, % 80, % 60 ve % 28 oranlarında koruma sağlandığı saptanmıştır.

ABD’da yapılan bir çalışmada *F. graminearum* etmeninin konidi çimlenmesi genetik açıdan araştırılmıştır. Hastalık etmeninin erken dönemde gelişimini incelemek amacıyla *in vitro*’da geliştirilen makrokonidiler mikroskop ile incelenmiştir. İnceleme yapmak amacıyla sporlar sıvı ortamda spor süspansiyonu olarak geliştirilmiştir. Gözlemler sonucunda 2 saat içerisinde sporların şişkinleşmiş olduğu, 8 saat içerisinde çim tüpü oluşturduğu ve 24 saat içerisinde de hif dallanması meydana geldiği belirlenmiştir. Fungal sporlar gen ekspresyonu sırasında oluşan gelişme ve değişimlerin tespiti açısından 2, 8 ve 24 saat inkubasyona tutulup genetik açıdan incelenmiştir. Bu şekilde spor çimlenmesinden sorumlu moleküler mekanizması belirlenmiştir (Seong ve ark., 2008).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan *Fusarium culmorum* izolatları

Yapılan çalışmalarda kullanılan *F. culmorum* izolatları 2012 üretim yılında Çanakkale İli ve çevresinde bulunan buğday tarlalarından toplanmıştır. Kullanılan izolatlar ve orijinleri ile elde edildikleri bitki kısımları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan *Fusarium culmorum* izolatları, orijinleri ve izole edildikleri bitki dokuları

İzolat No	Orijin	İzole Edildiği Hastalıklı Doku
Fc16	Merkez	Kök boğazı
Fc83	Merkez	Sap
Fc209	Ezine	Sap
Fc211	Ezine	Sap
Fc213	Bayramiç	Dane
Fc314	Bayramiç	Sap
Fc411	Biga	Dane
Fc413	Biga	Sap
Fc102	Lapseki	Kök boğazı
Fc107	Lapseki	Sap

3.1.2. Saksı denemesinde kullanılan buğday çeşidi

Kullanılan izolatların patojenite testi ile tebuconazole'ün *in planta* koşullarda etkililik testlerinde *F. culmorum*'a karşı hassas olduğu bilinen beyaz başaklı, kılçıksız özellikli olan Kate-A1 çeşidi kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan fungusitler

Yapılan tüm çalışmalarda tebuconazole etkili maddeli fungusit kullanılmıştır. Kök çürüklüğü testine Captan içerikli fungusit de dahil edilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan fungusitlerin aktif madde, ticari adları ve önerilen dozları

Etkili madde*	Ticari adı ve Formülasyonu	Firma	Önerilen doz
Tebuconazole	Folicur WP 25	Bayer	75 g/da
Captan	CAPTAN (% 50)	Hektaş	300 g/100 L su

*Tebuconazole çalışmanın tüm aşamalarında, Captan ise sadece saksı denemesinde kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Hastalıklı dokulardan *F. culmorum* izolasyonu

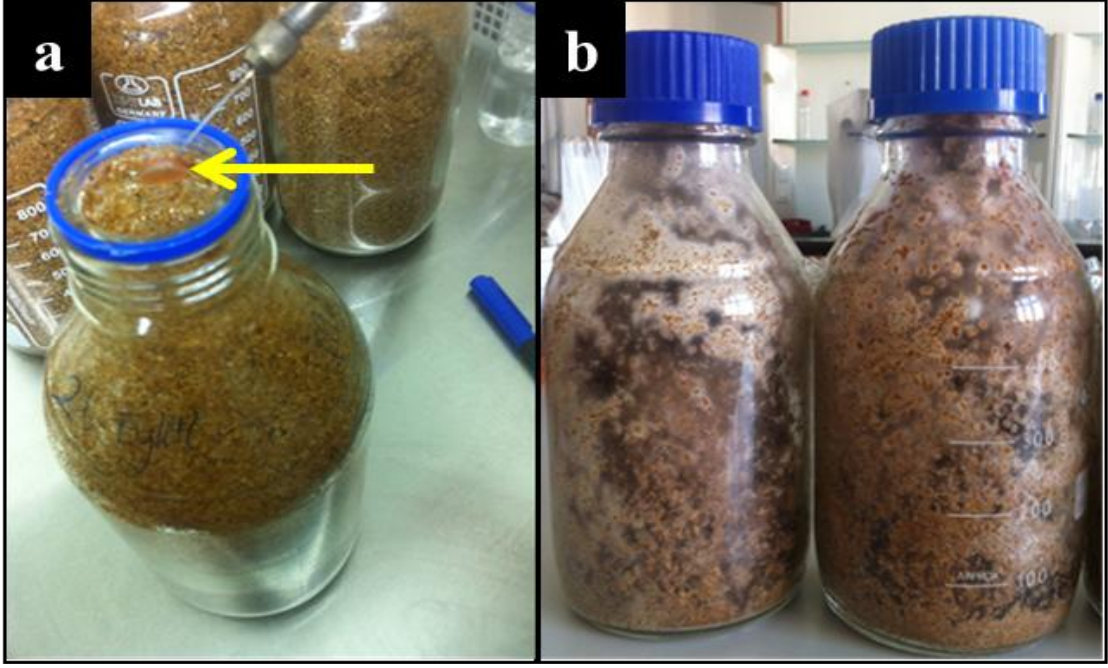
Kök ve kökboğazı ile sap bölgesinde çürüklük ve başakta yanıklık şeklinde hastalık belirtileri gösteren bitki materyalleri musluk suyu altında yıkanarak topraklarından arındırılmış ve belirti gösteren kısımları (kök, kökboğazı, sap) bistüri ile 1-5 mm büyüklüğünde parçalara ayrılmıştır. Bu parçaların 5 adeti 1.5-2 dakika süreyle % 0.5' lik sodyum hipoklorit (NaOCl) içerisinde tutulmuş ve 2 kez steril su ile durulanmıştır. Parçacıklar steril kurutma kağıtları arasında kurutulmuştur. Hastalıklı bitki materyalinin izolasyonu için, streptomycin sülfat (100 µg/mL) eklenmiş patates dekstroz agar (PDA) ortamı kullanılmıştır. Yaklaşık yedi günlük inkübasyondan sonra gelişen funguslar saflaştırılarak cins düzeyinde *Fusarium* izolatları teşhis edilmiş ve *F. culmorum* türünün teşhisi için bir sonraki aşamaya geçilmiştir.

F. culmorum'un teşhisi Leslie ve Summerell (2006)'e göre yapılmıştır. İzolatlar PDA ve karanfil agar ortamındaki (carnation leaf agar: CLA) morfolojik gelişimlerine göre teşhis edilmiştir. CLA ortamı için genç karanfil yaprakları kullanılmıştır. Yapraklar steril saf suda bir kaç kez çalkalandıktan sonra, bir alüminyum folyo üzerine küçük parçalar halinde (2 mm) kesilmiş ve ince bir tabaka şeklinde yayılmıştır. 70°C'ye ayarlanmış etüvde 2 saat kadar kurutulduktan sonra, steril petri kaplarına aktarılmış ve 1 saat daha etüvde kurumaya bırakılmıştır. Parçacıklar etüvden alındıktan sonra, UV kabin içinde 15-30 dakika kadar tutulmuş ve daha sonra kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

Her petriye 7-10 parçacık karanfil yaprağı eklenmiş ve üzerine steril su agarı dökülmüştür. Soğuyan CLA ortamlarına izolatların ekimi yapılmış ve teşhiste morfolojik karakterler kullanılmıştır.

3.2.2. İnokulum hazırlığı ve saksı denemeleri

F. culmorum izolatlarının inokulumunun hazırlaması için iri buğday kepeği kullanılmıştır. Her 100 ml hacmindeki kepeğe 10 ml steril destile su eklenerek kepeğin iyice nemlenmesi sağlanmıştır. Üst üste iki kez yapılan otoklavdan sonra kepeklere fungal diskler eklenmiş 10-15 gün 24 °C'de inkübe edilmiştir (Şekil 3.1). Saksılara toprak doldurulduktan sonra yüzeyine kepek kültüründen ince bir tabaka yayılmış, daha sonra üzeri tekrar toprak ile örtülmüştür. Saksıların üzerlerine tohumlar ekildikten sonra, en üstü yeniden inokulumsuz saksı toprağı ile kaplanmıştır (Şekil 3.2). Ekimden önce tohumlar yüzeysel olarak sterilize edilip durulandıktan sonra, homojen çıkış için 3 gün soğutucuda inkübe edilmiştir. Her saksıya 10 tohum ekilmiştir. Her izolat için 3 saksı kullanılmıştır.



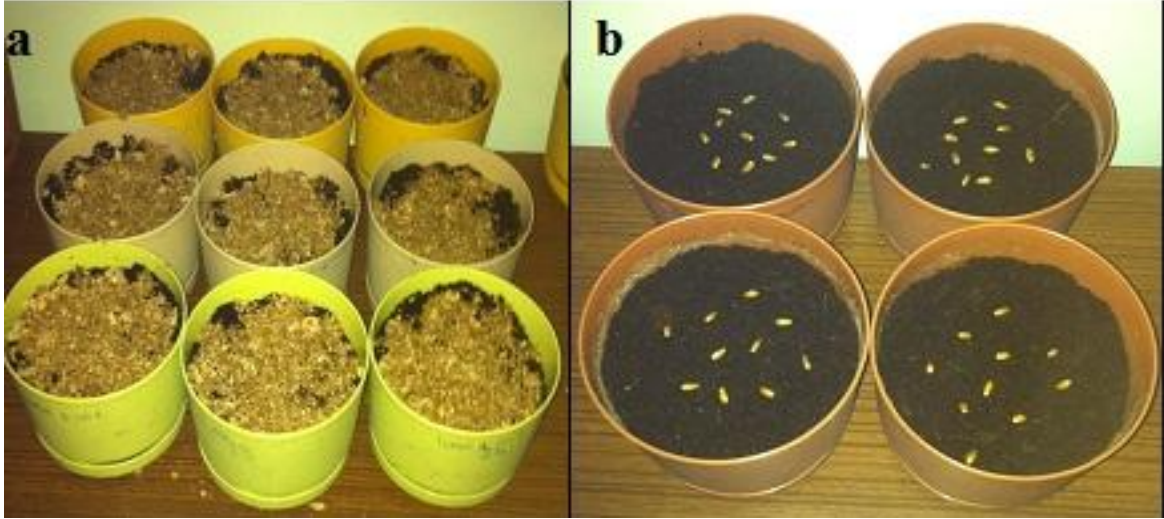
Şekil 3.1. *Fusarium culmorum* inokulumunun hazırlanması. Steril kepek kültürüne fungal disk aşılama (a), 10-15 gün inkübe edilmiş inokulum (b)

3.2.2.1. Kullanılan izolatların patojenite testleri

Elde edilen izolatların patojenite testleri için 3.2.2 numaralı bölümde açıklandığı gibi hazırlanan inokulum toprağa yüzeysel olarak eklenmiş ve her bir izolatın virülensliği ayrı ayrı saksılarda araştırılmıştır.

3.2.2.2. Tebuconazole'ün kök ve kökboğazı çürüklüğüne karşı etkinliğinin saptanması

Tebuconazole'ün bulaşık topraklarda kök ve kökboğazı çürüklüğüne karşı etkinliğini saptamak için 2 *F. culmorum* (Fc83 ve Fc211) izolatı rastgele seçilmiştir. Çalışmanın bu kısmında inokulum 3.2.2.'de olduğu gibi hazırlanmıştır. Yüzeysel olarak sterilize edilmiş ve soğutucuda bekletilmiş tohumlar, 125 gr/ 100 kg tohum dozunda tebuconazole ile kaplanmıştır. Ayrıca genelde tohum ilaçlaması olarak kullanılan Captan etkili maddeli formülasyon da 100 gr/ 100 kg tohum dozunda kullanılarak çalışmaya dahil edilmiştir.



Şekil 3.2. *Fusarium culmorum*'un bitki çıkışı ve hastalık şiddetine etkisi çalışmaları. Saksılara inokulumun eklenmesi (a), Saksılara tohumların yerleştirilmesi(b)

3.2.2.3. Saksı denemelerinin değerlendirilmesi

Deneme ekimden 15 gün sonra sona erdirilmiştir (Uçkun, 2008). Kök ve kök boğazı ve ikinci nodiyuma kadar olan kısım bir bütün olarak düşünülmüş ve Wildermuth ve McNamara (1994)'nin aşağıda verilen 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir:

- 0- Sağlıklı bitki, sözü edilen bitki aksamında herhangi bir renk değişimi yok
- 1- Nekroz alanı % 25'den az
- 2- Nekroz alanı % 25-50 arasında
- 3- Nekroz alanı % 51-75 arasında
- 4- Nekroz alanı % 75'den fazla
- 5-Çıkış öncesi çökerten

3.2.3. Tebuconazole ile *in vitro* çalışmalar

Bu çalışma tebuconazole etkili maddesinin *in vitro* koşullarda değişik dozlarda miselyal gelişime, çim tüpü uzamasına ve çimlenme yüzdesine olan etkilerinin ölçülmesi ve karşılaştırılması amacıyla planlanmıştır. Bir litre saf suya 39 gr gelecek şekilde PDA (Merck, Almanya) eklenmiş ve 121°C'de 1 atm basınçta 20 dk otoklav edilmiştir. Otoklavdan alınan şişeler fungusit eklenmeden önce 50°C'ye ayarlanmış sıcak su banyosunda 1-2 saat inkübe edilmiştir. Ilımlı olan PDA'ya hazırlanan stok fungusit süspansiyondan ekleme yapılmıştır. PDA'da fungusit final konsantrasyonu 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 ppm dozlarında olacak şekilde, aktif maddeye göre hesaplanarak PDA'ya eklenmiştir. Fungisit süspansiyonu eklenen ılık PDA hafifçe çalkalandıktan sonra steril petri kaplarına 12-15 ml olacak şekilde dökülmüştür. Donan ortamlara daha sonra aşılama yapılmıştır.

3.2.3.1. Tebuconazole'ün miselyal çapa etkisi

Tebuconazole etkili maddesinin miselyal çapa olan etkilerinin incelenmesi amacıyla kurulan denemede 3.2.3'te belirtilen şekilde 10 farklı doz çap gelişimi açısından kontrol ile karşılaştırılmıştır. Deneme kurulduktan sonra 2. ve 4. günlerde çapları ölçülmüş ve kontrol grubu petriyi tamamen kapladığı sürede deneme sonlandırılmıştır.

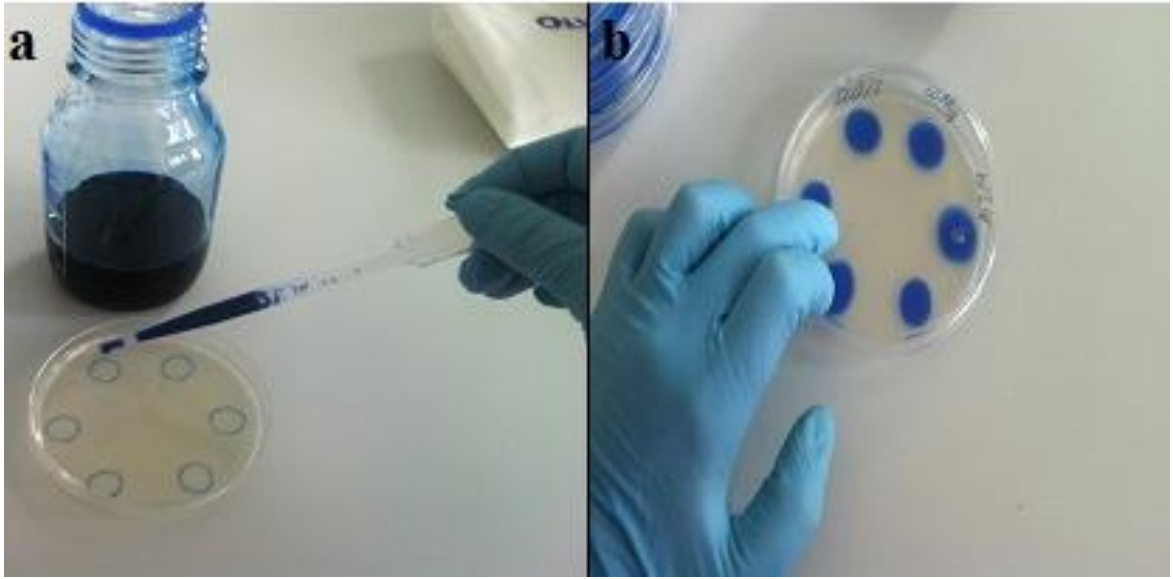
3.2.3.2. Tebuconazole'ün konidi çimlenmesine etkisi

Bu çalışmada negatif ve pozitif kontrol grubuna ek olarak Bölüm 3.2.3'de açıklanan konsantrasyonlarda tebuconazole uygulaması *in vitro* koşullarda 10 farklı izolatta çimlenme yüzdeleri olarak karşılaştırılmıştır. Bu amaçla 3.2.3.'de açıklandığı şekilde hazırlanan PDA petri kaplarına dökülüp donmaları sağlandıktan sonra, petrinin altına cam kalemi yardımıyla her petri için 6 adet çapı yaklaşık 1.5 cm olan daireler çizilmiştir. Her şeklin içine 5 µl spor solüsyonu dökülmüş ve hafifçe sallayarak dairenin yüzeyine dağılması sağlanmıştır. Petriler 25±2°C'de 5 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin ardından fungusların gelişimi 3.2.4'de anlatılan solüsyon ile durdurulmuş (Şekil 3.3a), daha sonra mikroskopun görüş alanına rastgele denk gelen bir noktada bulunan tüm çimlenen ve çimlenmeyen sporlar sayılmıştır (Şekil 3.4b). Bu amaç için toplamda her izolat için 400 spor sayılmıştır.

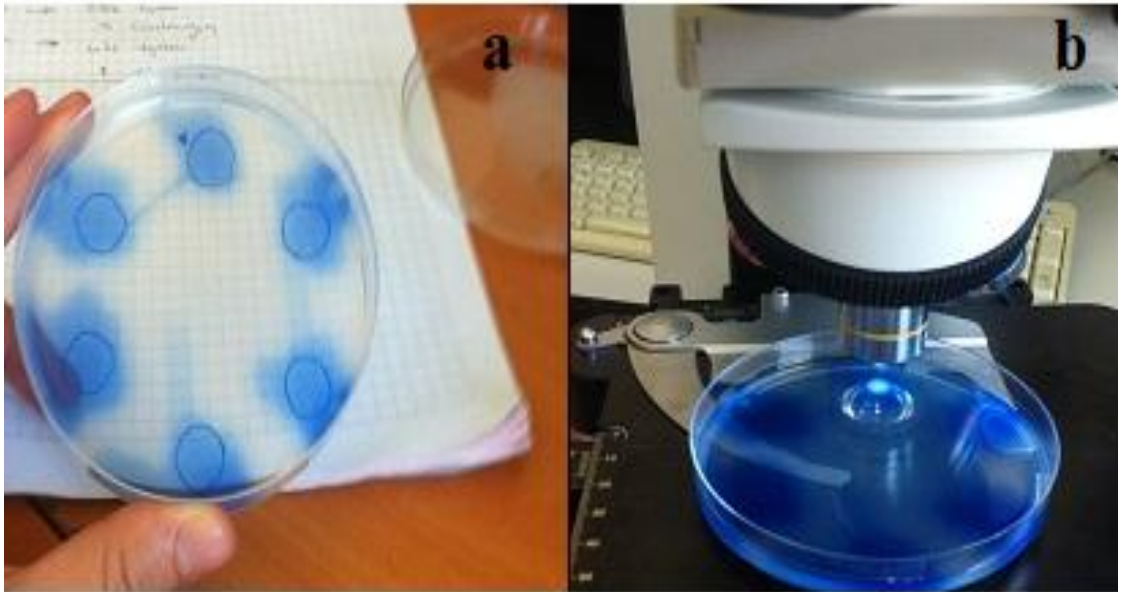
3.2.3.3. Tebuconazole'ün çim tüpü üzerine etkisi

Bu çalışma ile daha önceden yapılan ön deneme ile belirlenen ve çim tüpü uzunluğu ölçümü için en uygun süre olan 5 saatlik inkübasyon süresi uygulanmıştır. Çim tüpü uzamasında ise çim tüplerinin uzunluğunu ölçülmesini zorlaştıracak ölçüde hızlı gelişme olabileceğinden yarı güçte PDA kullanılmıştır (1 lt saf suya 20 gr PDA+ 7.5 gr Agar).

Bu amaçla plastik tek kullanımlık petri kapları kullanılmıştır. Petri kapları alt kısımlarına yukarıda da anlatıldığı gibi spor solüsyonlarının döküleceği yerlerden, sayımı kolaylaştırmak amacıyla, cam kalemiyle daireler çizilmiştir. Kontrol grubuna sadece spor solüsyonu verilirken, fungusit denemesini oluşturan petri kaplarına ise spor solüsyonu ile ilaçlı solüsyon eppendorf tüplerde homojen karıştırılarak mikro pipetler yardımıyla uygulanmıştır. Kapağı açık şekilde steril kabinde bir süre havalandırılarak su damlasının kuruması sağlanmıştır. Daha sonra petrilerin kapakları kapatılarak 24°C'deki inkübatörde 5 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra Lactophenol çözeltisiyle gelişim durdurulmuştur. Ölçüm gerçekleşene kadar buzdolabında +4°C de muhafaza edilmiştir. Mikrometre yardımıyla mikroskopta 10X10 büyütme kullanılarak çim tüpü ölçülmüştür.



Şekil 3.3. Fungal büyümenin lactofenol çözeltisiyle durdurulması. İnkubasyon sonrası lactofenol uygulaması (a), Çözeltinin spora hafifçe yayılması (b)



Şekil 3.4. Reaksiyonu durdurulmuş petri (a), Çim tüpü uzunluğu ölçümü (b)

3.2.3.4. Tebuconazole'ün farklı zamanlı çim tüpü üzerine etkisi

0,01-500 ppm aralığındaki farklı konsantrasyonlarda hazırlanan fungusitin çim tüpü büyümesine olan etkisini araştırmak amacıyla 6., 12., 18., 24. ve 48. saatler olmak üzere farklı zaman aralıklarında çim tüpü uzunluğu ölçülmüştür. Çalışmanın bu kısmında rastgele seçilen Fc314 izolatı kullanılmıştır. Fungus gelişimini yavaşlatmak amacıyla yarı

güçte PDA kullanılmıştır. Belirtilen zaman aralıklarında fungal gelişimi durdurmak için Lactophenol çözeltisi kullanılmış ve mikrometre yardımıyla mikroskopta (10X10) çim tüpü uzunluğu ölçümü yapılmıştır.

3.2.4. Fungal gelişimin durdurulması

Çimlenme ve çim tüpü uzunluğunu ölçmek için yapılan çalışmalarda, belli saat aralıklarında ölçüm yapıldığı için, tüm petrielerde bulunan örneklerde, fungusların gelişimlerini aynı anda durdurmak amacıyla Lactophenol solüsyonu kullanılmıştır. Yaklaşık 10 µl solüsyon durdurulması istenen dairenin içine eklenmiş ve petri kapağı kapatıldıktan sonra hafifçe sallayarak dikkatlice yayılması sağlanmıştır. Sayım ve ölçüm işlemleri tamamlanıncaya kadar bir soğutucuda muhafaza edilmiştir.

Lactophenol solüsyonu daha önceki raporda belirtilen formülasyonun modifiye edilmiş şekli olarak aşağıda verilmiştir (Arda, 2000):

20 ml lactic acid

40 ml gliserol

20 ml su

0.05 gr cotton blue

3.2.5. İstatistiksel analizler

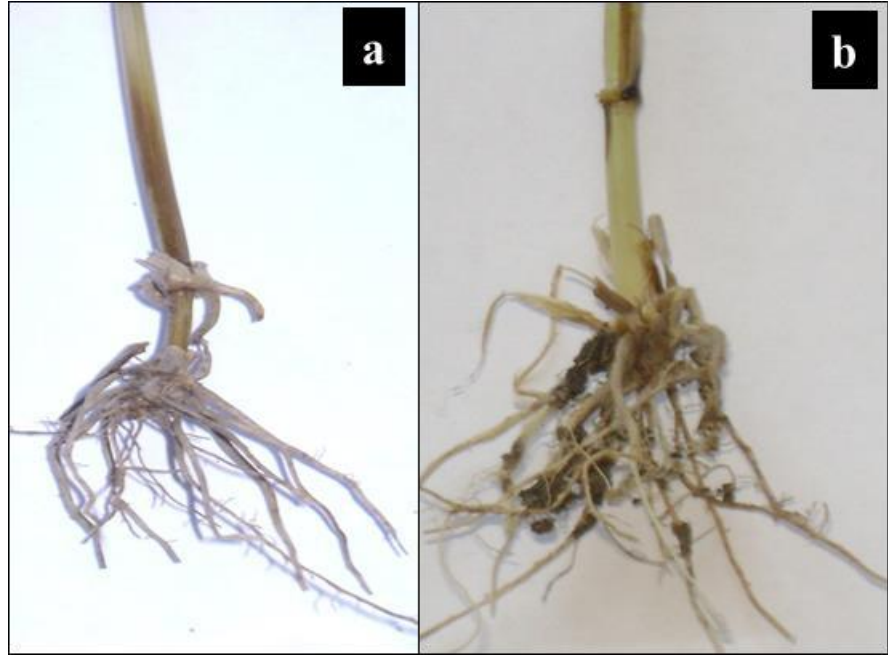
Araştırmadan elde edilen veriler SAS V8 istatistik paket programı kullanılarak analiz edilmiştir (SAS Ins. 1999). Varyans analizleri PROC GLM komutu kullanılarak gerçekleştirilmiş ve analiz sonucunda önemli bulunan varyans unsurlarının düzeylerini karşılaştırmak amacıyla asgari önemli fark (LSD) testinden faydalanılmıştır.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Simptomoloji ve *F. culmorum*'un Teşhis Edilmesi

F. culmorum ile bulaşık buğdayda kökboğazı ve sap çürüklüğü ile bulaşık örneklerin sap kısmında kahverengileşme gözlenmiştir (Şekil 4.1). Özellikle başaklanma döneminden sonra sapta kahverengileşme belirtileri gösteren örneklerden *F. culmorum*'un izole edilme şansı çok daha yüksek bulunmuştur. Başağa kalkma döneminden önceki dönemlerde ise *Fusarium culmorum*'un daha az sıklıkta izole edildiği saptanmıştır.



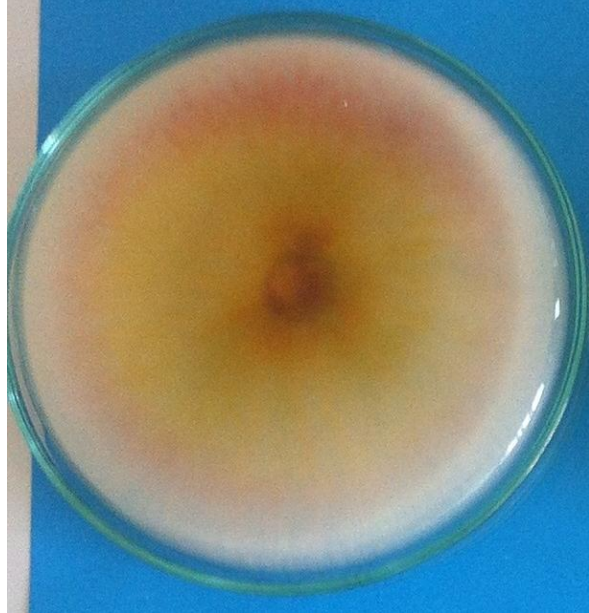
Şekil. 4.1. Kök, kökboğazı ve sap bölgesinde *Fusarium culmorum* enfeksiyonundan kaynaklanan kahverengileşme belirtileri (a), Sağlıklı bitki (b)

Başak uyuzu hastalığında ise, başaklarda hafif pembeleşme ile birlikte, diğerlerine kıyasla daha erken dönemde başakta sararma ve başak sapına doğru uzanan yanıklık, hastalığın teşhisinde önemli ipucu vermiştir (Şekil 4.2). İnfekteli başaklarda bulunan daneler küçük ve buruşuk olup, rengi soluktan hafif pembemsiye kadar değişmiştir.



Şekil. 4.2. *Fusarium culmorum*'un sebep olduğu başak yanıklığı belirtisi. Sol taraftaki (a) başaklardan *Fusarium culmorum* izole edilmiştir; sağ taraftakiler ise sağlıklı başaklar (b)

F. culmorum PDA besin ortamında, 25°C'de petriyi 4-7 günde kaplamıştır. Genellikle turuncumsu kırmızı, bordo koloniler oluşturmuştur (Şekil 4.3) ve miselyal kitle *F. graminearum* ile kıyaslandığında daha yüzeysel olmuştur. Bol miktarda sporodochia, dolayısıyla makrokonidi oluşumu gözlenmiştir. Karanfil yaprağı ortamında (CLA) turuncu sporodochia'da bol miktarda makrokonidi oluşmuştur. Makrokonidiler genellikle 3-4 septumlu olup, konidinin bir ucu düzken, diğer ucunun hafif kıvrımlı olduğu gözlemlenmiştir. Mikrokonidi oluşumu görülmemiştir.



Şekil 4.3 Petride geliştirilen *Fusarium culmorum* izolatu

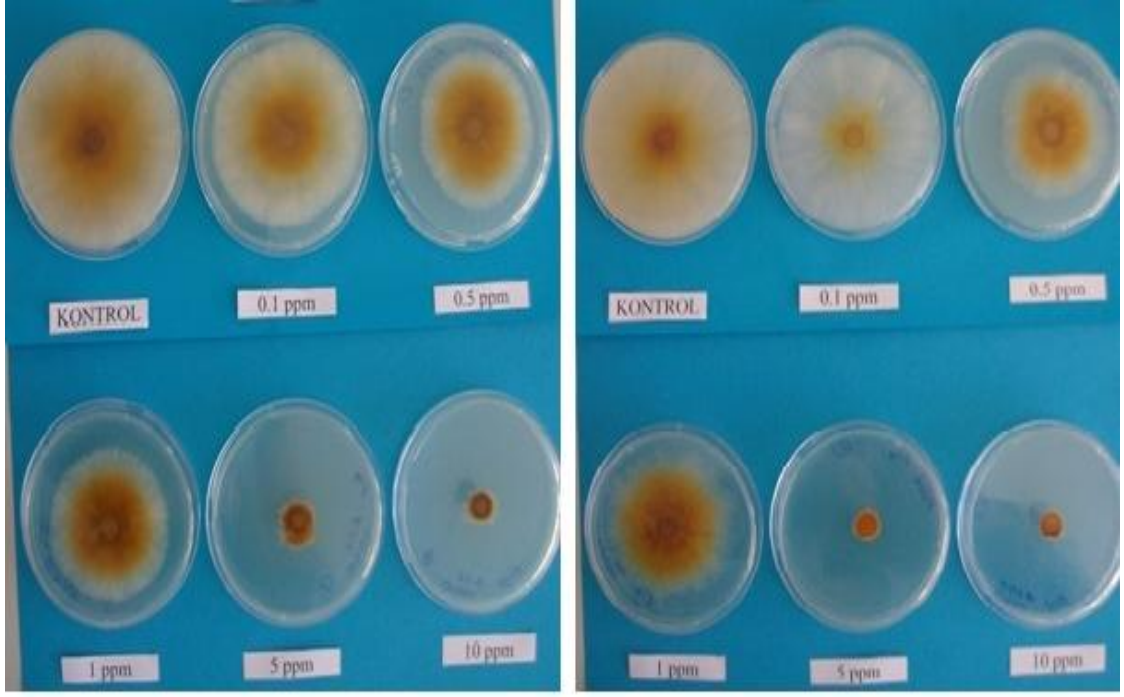
4.2. Tebuconazole'ün *in vitro*'da *F. culmorum*'un Miselyal Gelişimine Etkileri

Fungisit eklenmeyen kontrol petrilerinde bulunan izolatların tümü miselyal çap açısından denemenin 4. gününde 90 mm çapına ulaşmıştır.

PDA'ya 7 farklı konsantrasyonda tebuconazole eklenmesi sonucu tüm izolatlarda miselyal çapın doz yükseldikçe düştüğü gözlenmiştir (Şekil 4.4). Farklı dozlara izolatların duyarlılıklarının da istatistiki olarak farklı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2). PDA içerisinde 0.01 ppm dozundaki tebuconazole en duyarlı izolatın Fc411 olduğu saptanmıştır. PDA içerisinde fungusit konsantrasyonu arttıkça aynı izolatın genel olarak diğer izolatlardan daha duyarlı olduğu gözlenmiştir.

Miselyal çap açısından değerlendirildiğinde Fc83, Fc209, Fc213, Fc314, Fc102 ve Fc107 izolatlarının genel olarak 0.01 ppm uygulama dozundan fazla etkilenmediği ve istatistiki olarak miselyal gelişimlerinin benzer olduğu görülmüştür. Fungisit konsantrasyonları arttıkça, bazı konsantrasyonlar hariç benzer şekilde tepki verdikleri saptanmıştır (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2). On ppm konsantrasyonunda Fc413 ve Fc107 numaralı izolatlarda hiçbir gelişim gözlenmemiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki PDA ortamında gelişen izolatların miselyal çapları ile inhibisyon oranları arasında negatif bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Tebuconazole konsantrasyonu 0.01 iken en düşük inhibisyon % 1.66 ile Fc314 iken, en yüksek inhibisyon ise Fc411 olmuştur. Fungisit konsantrasyonu arttıkça inhibisyon oranlarında da izolatlara da bağlı olarak artış olduğu görülmüştür. Tebuconazole eklenmiş PDA ortamındaki izolatların miselyal çapını % 50 inhibe eden konsantrasyon Fc411, Fc413 ve Fc107 için 1 ppm, diğer kalan tüm izolatlar için ise 5 ppm olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4).



Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da *Fusarium culmorum* izolatlarının miselyal gelişimi: Sağdaki Fc213, soldaki Fc16 izolatlarına aittir

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da *Fusarium culmorum* izolatlarının miselyal gelişimine ait kareler ortalaması

Varyans Kaynağı	S.D	Kareler Ortalaması	Pr > F
İzolât	9	556.2660	<.0001
Doz	7	19759.3343	<.0001
İzolât*Doz	63	133.6837	<.0001
Hata	220	32.4140	

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da *Fusarium culmorum* izolatlarının miselyal gelişimi (mm)

26

İzolât	Tebuconazole Konsantrasyonu								Ortalama
	Kontrol	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	
Fc16	90	83.25 bc*	66.00 c	78.25 bc	68.50 a	61.25 ab	21.25ab	16.75b	67.98 bc
Fc83	90	84.00 a-c	71.25 bc	86.75 a	59.62 a-c	52.87 bc	28.00a	15.75b	68.85 bc
Fc209	90	84.00 a-c	71.50 bc	77.50 bc	60.00 a-c	52.75 bc	27.25a	26.75a	66.32 cd
Fc211	90	80.25 c	67.25 c	76.75 c	52.37 bc	51.87 b-d	17.75b	15.30b	63.72 de
Fc213	90	88.00 ab	78.75 a	83.75 ab	68.25 a	69.00 a	8.50c	8.50c	70.87 ab
Fc314	90	88.50 a	77.50 ab	79.25 bc	69.25 a	67.37 a	22.50ab	11.00b	71.76 a
Fc411	90	68.25 e	65.00 c	60.00 e	51.12 c	38.62 d	19.25b	16.75b	57.78 f
Fc413	90	73.75 d	50.87 d	77.75 bc	59.50 a-c	45.00 cd	15.75b	0.00d	61.68 e
Fc102	90	83.75 a-c	67.25 c	80.25 a-c	67.75 a	61.50 ab	19.62b	13.75b	68.20 bc
Fc107	90	84.00 a-c	66.75 c	70.00 d	62.00 ab	45.25 cd	16.87b	0.00d	64.65 d
Ortalama	90	81.77 c	68.21 e	77.02 d	61.83 f	54.55 g	19.67 h	12.45i	

*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$).

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA’da *Fusarium culmorum* izolatlarının miselyal inhibisyonuna ait kareler ortalaması

Varyans Kaynağı	S.D	Kareler Ortalaması	Pr > F
İzolat	9	765.1800	<.0001
Doz	6	26620.3668	<.0001
İzolat*Doz	54	145.1886	<.0001
Hata	210	37.2245	

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA’da *Fusarium culmorum* izolatlarının miselyal inhibisyonu (%)

İzolat	Tebuconazole Konsantrasyonu							Ortalama
	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	
Fc16	7.50 cd*	26.66 b	13.05 cd	23.89 c	31.94 cd	76.39cb	81.39ab	25.63 de
Fc83	6.66 c-e	20.83 bc	3.61 e	33.75 a-c	41.24 bc	68.88c	82.50ab	25.00 de
Fc209	6.66 c-e	20.55 bc	13.88 cd	33.33 a-c	41.39 bc	69.72c	70.28b	26.50 d
Fc211	10.83 c	25.27 b	14.72 c	41.80 ab	42.36 a-c	80.27b	82.92ab	30.75 c
Fc213	2.22 de	12.49 d	6.94 de	24.16 c	23.33 d	90.55a	90.56a	22.81 ef
Fc314	1.66 e	13.88 cd	11.94 cd	23.05 c	25.14 d	75.00cb	87.78ab	21.52 f
Fc411	24.16 a	27.78 b	33.33 a	43.19 a	57.08 a	78.61b	81.39ab	37.73 a
Fc413	18.05 b	43.47 a	13.61 cd	33.88 a-c	50.00 ab	82.49b	100.0a	34.50 b
Fc102	6.94 c-e	25.28 b	10.83 c-e	24.72 c	31.66 cd	78.19b	84.72ab	25.37 de
Fc107	6.66 c-e	25.83 b	22.22 b	31.11 bc	49.72 ab	81.25b	100.0a	30.97 c
Ortalama	9.138g	24.20e	14.41f	31.29d	39.38c	78.13b	82.66a	

*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$).

Fusarium spp.'nin *in vitro* koşullarda hassasiyetinin araştırıldığı benzer bir çalışmada da 3 farklı *Fusarium* spp.'ne ait 25 izolat üzerinde tebuconazole, carbendazim, flutriafol, metconazole, prochloraz etkili maddelerinin tepkileri gözlenmiştir. EC₅₀ (Miselyal gelişimi % 50 oranında durduran doz) lmleri sonucunda tebuconazole etkili maddesi *F. graminearum* türüne ait izolatlarda 0.85-2.57 ppm, *F. avenaceum* türüne ait izolatlarda ise 0.85-1.58 ppm, *F. verticillioides* türüne ait izolatlarda da 0.29-0.85 ppm aralığında bulunmuştur. Yine aynı çalışmada miselyal çap inhibisyonu ölümleri ise tüm izolatlar için en düşük dozdan, en yüksek doza sırasıyla % 2, % 34.1, % 60.8, % 79.6, % 90.6 olarak hesaplanmıştır. Tebuconazole etkili maddesi izolatların çoğunda 0.1 ppm'de etkisiz kalırken prochloraz ise aynı dozda % 80 oranında inhibisyon sağlamıştır. Bunu % 69.6 inhibisyon methconazole takip etmiştir. Tebuconazole etkili maddesi ise 1 ppm ve üzerindeki dozlarda beklenen etkiyi göstermiştir (Ivić ve ark., 2011). Bu sonuçlar bu çalışmada elde edilen verilerle paralellik göstermektedir.

Buna karşılık Matthies ve ark. (1999)'nin yaptığı farklı bir çalışmada tebuconazole'n 1 ppm uygulaması ile *F. graminearum*'da % 90 inhibisyon sağladığı rapor edilmiştir. *F. culmorum*'un neden olduğu FHB araştırması amacıyla gerçekleştirilen tarla denemelerinde ise *in vitro* alışmaların aksine tebuconazole ile prochloraz ve carbendazim'den daha etkili sonuçlar alınmıştır (Ellner, 1987). Cromeey ve ark. (2001) rapor ettiği bir çalışmada ise tebuconazole ile FHB şiddeti % 41 azaltılırken carbendazim ise sadece % 29 etki gösterebilmiştir. Prochloraz, benzimidazole ve benomyl ise etkisiz kalmıştır. Hırvatistan koşullarında tarla denemelerinde de tebuconazole ile prochloraz'dan daha etkili sonuçlar alındığı belirtilmiştir (Ivić ve ark., 2011).

Adana koşullarında elde edilen *F. culmorum* izolatları üzerinde yapılan denemede triazole grubundaki fungusitlerin patojenin miselyal gelişimini durdurmada oldukça başarılı olduğu gözlemlenmiş carboxin, thiram, tolclofos-methyl içerenlerin etkinliklerinin daha düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, içerisinde triazole grubu fungusitlerin bulunduğu karışım halindeki fungusitlerin diğer gruptaki etkili maddeleri bulunduran karışımlara oranla daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Akgl, 2008).

4.3. Tebuconazole'n *in vitro*'da *F. culmorum*'un Konidi imlenmesine Etkileri

F. culmorum izolatlarının konidi çimlenmesine olan etkisini araştırmak amacıyla yapılan ön denemelerde 50 ppm'in altında olan tüm dozlarda, kontroldaki oranda spor çimlenmesinin gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu amaçla çok yüksek olan ve genellikle birçok fungal türe ait konidilerin çimlenmesinin görülmediği 50 ppm'lik dozda izolatlar

arasındaki farkın saptanabilmesi amacıyla araştırılmak üzere çalışmanın bu kısmı yapılmıştır.

On farklı *F. culmorum* izolatının konidilerinin kontrol yani hiç bir fungusit uygulaması yapılmamış konidilerinin çimlenme yüzdelerinde dahi farklılıklar olduğu istatistiki olarak saptanmıştır. Fc411, Fc107 ve Fc102 numaralı *F. culmorum* izolatlarının konidileri kontrol petrillerinde ancak sırasıyla % 34, % 43 ve % 67 oranında kalmıştır. Genellikle kontrolde yüksek konidi çimlenmesi yüzdesine sahip izolatların, 50 ppm dozda da yüksek konidi çimlenmesine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Elli ppm’de konidi çimlenmesinin izolatlar arasında istatistiki olarak farklı olduğu gözlenmiştir. Fc211, Fc213, Fc314 ve Fc413 gibi izolatlarda kontrol konidileri ile 50 ppm tebuconazole’de geliştirilen izolatların konidi çimlenmesi açısından bir fark olmadığı saptanmıştır. Bunun yanında geri kalan izolatların kontroldeki konidilerinin, 50 ppm konsantrasyona maruz kalmış konidilerinden daha yüksek oranda konidi çimlenme yüzdesine sahip olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.5. Tebuconazole eklenen PDA’da geliştirilen *Fusarium culmorum* izolatlarının konidi çimlenmesi varyans tablosu

Varyans Kaynağı	S.D	Kareler Ortalaması	Pr > F
İzolat	9	5053.40178	<.0001
Doz	1	1014.26593	<.0001
İzolat*Doz	9	270.62103	<.0001
Hata	40	2.28803	

Çizelge 4.6. *Fusarium culmorum* izolatlarının kontrol ve 50 ppm konsantrasyonunda Tebuconazole bulunan ortamda konidi çimlenmesi (%)

İzolat	Kontrol	50 ppm	Ortalama
Fc16	94.19 ab*	92.73 c	93.46 c
Fc83	96.19 a	95.33b	95.76 ab
Fc209	89.11 cd	83.57e	86.34 d
Fc211	86.63 d	86.15d	86.39 d
Fc213	92.01 bc	96.30ab	94.16 bc
Fc314	95.98 a	96.70 ab	96.34 a
Fc411	34.44 g	11.70h	23.07 g
Fc413	95.61 a	97.70a	96.65 a
Fc102	67.08 e	34.14f	50.61 e
Fc107	43.29 f	17.98g	30.63 f
Ortalama	79.45 a	71.23 b	

*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$).

Elli ppm gibi yüksek fungusit konsantrasyonunda konidi çimlenmesi genellikle çok sık karşılaşılan bir sonuç olmamasına rağmen, sterol biyosentezi inhibitörü (SBI) fungusitlerinin spor çimlenmesine etkilerinin çok az olduğu, fakat çim borusu uzamasına önemli ölçüde olumsuz etki ettikleri bildirilmiştir (Fuchs ve De Waard, 1982; Leroux ve ark., 1999).

4.4. Tebuconazole'ün *in vitro*'da *F. culmorum*'un Çim Tüpü Uzamasına Etkileri

Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi çok yüksek bir konsantrasyon olan 50 ppm'de konidi çimlenmesi gerçekleşmesine rağmen, acaba çim tüpü uzunluğu arasında bir fark mevcut mu sorusunu cevaplamak üzere çalışmanın bu kısmı kurgulanmıştır. *F. culmorum*'un makrokonidileri genel olarak hızlı çimlenip, çim tüpü hızlı büyüyen türlerden biridir. Bu bölümde sunulan deneme kurulmadan önce bir ön deneme yapılmış ve konidi aşılmasından sonra birer saat aralıklarla yapılan gözlemlerde optimum çim tüpü uzunluğunun 5 saat sonra ölçülebileceğini, aksi takdirde aşırı büyümeden dolayı ölçümün yapılmasına olanak kalmadığı görülmüştür.

Bu amaçla kurulan denemede de bir öncekilerde olduğu gibi tüm izolatlar kullanılmıştır. Her izolat için hazırlanan spor solüsyonu 5 saat süre ile yarı güçte PDA üzerinde 25°C'de inkübe edilmiştir. İnkubasyonun ardından mikroskopta gözlemlenmiş ve oküler mikrometre ile konidilerin çim tüpü uzunlukları ölçülmüştür. Fc411, Fc102 ve Fc107 numaralı izolatlar hiç bir fungusit konsantrasyonunda gelişim göstermemesinin yanında kontrolde dahi çimlenme göstermemiştir (Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8).

Kullanılan izolatların herhangi fungusit uygulanmamış ortamda bulunan konidilerinin çimlenmesi sonucu oluşan çim tüpünün uzunluğunun izolatlar arasında farklı olduğu istatistiki olarak saptanmıştır. Kontrol petriplerdeki çim tüpü uzunluğu en küçük olan izolat Fc211 iken, en yüksek olan izolatin Fc83 ile Fc314 olduğu gözlemlenmiştir.

Ortamdaki tebuconazole konsantrasyonu arttıkça çim tüpü uzunluğunun azaldığı görülmüştür. Tebuconazole'ün 0.01 ppm dozunda çim tüpü uzunluğunda istatistiki olarak fark oluşmuştur fakat konsantrasyon attıkça örneğin 5 ppm'de de çim tüpü ölçülebilmştir. Daha yüksek konsantrasyon olan 50 ppm'de kontrolle kıyaslandığında çim tüpü uzunluğu düşmüştür ve bu fark istatistiki olarak anlamlıdır.

Çim tüpü uzunluğu yüksek fungusit konsantrasyonunda ölçülebilmesine rağmen, çim tüpü ölçümü yapılırken, yapısal bozukluklar gözlemlenmiştir. Genellikle kontrol petriplerinde bulunan konidilerin çim tüpü şekilsel olarak ince, uzun ve belli aralıklarla

septumlu olmasına rağmen, fungusitin konsantrasyonuna bağlı olarak çim tüpü duvarında kalınlaşma, şişkinleşmeler ve hifsel deformasyonlar gözlenmiştir. Bu bozulmalar düşük konsantrasyonlarda daha az iken, yüksek konsantrasyonlarda çok belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir.

Tebuconazole'ün içinde bulunduğu grup olan EBI fungusitleri sterollerin oluşumunu engelleyip daha önceden birikenleri de tüketir. Böylece kitin ve β -1,3-glukan sentezi teşvik edilerek hücre zarının yapısı bozulur (Fuller ve ark., 1990). Bunun sonucunda kitin ve β -1,3-glukan birikimi olur ve hiflerde hücre duvarları düzensiz olarak kalınlaşarak hifler anormal gelişim gösterir. Sisler ve Ragsdale (1984)'e göre hiflerin aşırı dallanması hücre içi sentezlerin fonksiyonlarının bozulması sebebiyle enzim aktivitelerinin değişmesinden kaynaklanmaktadır. Araştırmacılar çimlenmenin olumsuz etkilenmediği de rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.7. *Fusarium culmorum* izolatlarının farklı konsantrasyonlarda tebuconazole uygulamasında çim tüpü uzunlukları varyans tablosu

Varyans Kaynağı	S.D	Kareler Ortalaması	Pr > F
İzolat	6	2259.65927	<.0001
Doz	8	1319.14219	<.0001
İzolat*Doz	48	43.73734	<.0001
Hata	126	17.78726	

Çizelge 4.8. *Fusarium culmorum* izolatlarının farklı konsantrasyonlarda tebuconazole uygulamasında çim tüpü uzunluğu ortalamaları (µm)

İzolat	Tebuconazole Konsantrasyonu									Ortalama
	Kontrol	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	50 ppm	
Fc16	45.50c*	37.61c	38.22c	39.41c	38.91bc	36.66c	30.16d	28.41cd	20.58c	35.05 d
Fc83	66.50a	59.62 a	57.34a	53.67a	53.50a	53.16a	40.08b	36.83b	33.41a	50.46 a
Fc209	45.41c	42.98 bc	40.02c	38.18c	35.33cd	27.58d	27.41d	25.25e	21.83c	33.77 d
Fc211	38.16d	23.50d	20.16d	28.50d	28.25d	29.83d	28.66d	25.75de	17.58c	26.71 e
Fc213	48.41c	44.74bc	39.32c	46.50abc	44.66b	43.66b	32.00cd	29.33c	22.08c	38.97 c
Fc314	64.08a	63.06 a	53.69ab	50.83ab	56.66a	55.91a	48.83a	43.58a	33.33a	52.22 a
Fc411	x**	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fc413	55.91b	46.73b	43.39bc	44.50 bc	44.25b	39.00c	36.08bc	38.25b	26.83b	41.66 b
Fc102	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fc107	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Ortalama	52.00 a	45.46 b	41.73 c	43.08 bc	43.08 bc	40.83 c	34.75 d	32.48 d	25.09 e	

*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir (p≤ 0,05).

** x ile gösterilen yerler belirtilen izolatlara ait sporlarda konidi çimlenmesi gerçekleşmediğini göstermektedir.

4.5. Tebuconazole'ün *in vitro*'da *F. culmorum*'un Farklı Saat Aralıklarında Çim Tüpü Uzamasına Etkileri

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlardaki tebuconazole'ün çim tüpüne olan etkisinin farklı zaman aralığında test edilmesi amaçlanmıştır ve tesadüfi seçilen Fc314 izolatu kullanılmıştır. Bu amaçla da geliştirilen her bir dozun sporlarına 6., 12., 18., ve 24. saat inkübasyonu sonunda reaksiyon durdurucu lactophenol çözeltisi uygulanmıştır.

Ortama aşılardan 6 saat sonra yapılan gözlemlerde kontrol grubuna ait çim tüpü uzunlukları 53.16 µm'ye ulaşmıştır. Her doz konsantrasyonu için çim tüpü gözlemleri yapılmıştır ve bu gözlemler sonucunda doz artışına bağlı olarak düzenli bir düşüş olduğu görülmüştür. Kullanılan tüm dozlarda çim tüpü uzunluğunun ölçümü yapılabilmektedir.

Ortama aşılardan 12 saat sonra kontrol dahil, 0.01 ila 5 ppm arası fungusit konsantrasyonu bulunan ortamda bulunan konidilerin çim tüpü uzunluğu aşırı büyümeden dolayı ölçülemedi. On ppm üzerindeki dozlarda ise yine düzenli bir düşüş olmasına rağmen büyüme gözlenmiştir. Örneğin 10 ppm'de 6. saatte 29.66 µm olan çim tüpü uzunluğu, 12. saatte gelişmeye devam ederek 121.33 µm seviyesine ulaşmış ve aralarında istatistiksel anlamda fark olduğu belirlenmiştir.

Ekimden 18 saat sonra yine aşırı büyümeden dolayı sadece 100 ve 500 ppm dozlarda, 24 saat sonra ise sadece 500 ppm'de ölçüm yapılabilmektedir. 100 ppm konsantrasyonunda 6, 12, 18 saat aralıklarında ölçüm yapılabilmiş ve yine süre ilerledikçe çim tüpü uzunluklarında artış olduğu görülmüştür. Altıncı saatte 23.33 µm olan çim tüpü uzunluğu 18. saatte uzamaya devam ederek 98.16 µm'ye ulaşmıştır. 100 ppm dozunda her zaman aralığı için elde edilen ortalamalar istatistiksel anlamda farklı bulunmuştur. Beş yüz ppm dozunda ise 24 saate kadar olan tüm zaman aralıklarında ölçüm yapılmıştır ancak 12, 18, 24 saat sonra ölçülen çim tüpleri aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10).

Farklı zaman aralıklarında reaksiyon durdurulması ile elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, zaman faktörünün ve fungusitin etkileri açıkça görülmüştür. Çim tüpü uzunlukları açısından da doz artışı ile çim tüpü uzunluklarında belirgin düşüşler olduğu saptanmıştır. Tebuconazole uygulaması ile ekstrem dozlarda dahi *F. culmorum* etmeninin fiziksel anlamda gelişim gösterdiği ancak yapısal olarak bozukluklar olduğu belirgin olarak görülmüştür. Doz artışına bağlı olarak görülen bozulmaların zaman ilerlemesi ile daha belirgin bir hal aldığı saptanmıştır (Şekil 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11).

Ortama aşılandıktan 48. saat sonra da ölçüm alınmak istenmiş fakat 500 ppm dahi gözle görülür biçimde hif gelişimi oluşması sebebiyle reaksiyon durdurulamamış ve herhangi bir ölçüm yapılamamıştır (Şekil 4.11).

ABD’da yapılan bir çalışmada da *F. graminearum* etmeninin *in vitro*’da geliştirilen makrokonidileri mikroskop ile incelenmiştir ve gözlemler sonucunda 2 saat içerisinde sporların şişkinleşmiş olduğu, 8 saat içerisinde çim tüpü oluşturduğu ve 24 saat içerisinde de hif dallanması meydana geldiği bildirilmiştir (Seong ve ark., 2008).

Bu denemeye yüksek konsantrasyonda bile fungusit uygulaması ile çimlenmenin durmadığı ancak çimlenen sporların gelişmelerine devam etseler de morfolojik olarak bozulmalara uğradıkları saptanmıştır. Yüksek doz uygulamalarında sporların çim tüplerinde şişkinleşmeler ve aşırı dallanmalar olduğu görülmüştür (Şekil 4.8, 4.9, 4.10, 4.11).

Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA’da geliştirilen *Fusarium culmorum* izolatlarının farklı zaman aralıklarında çim tüpü uzunlukları varyans tablosu

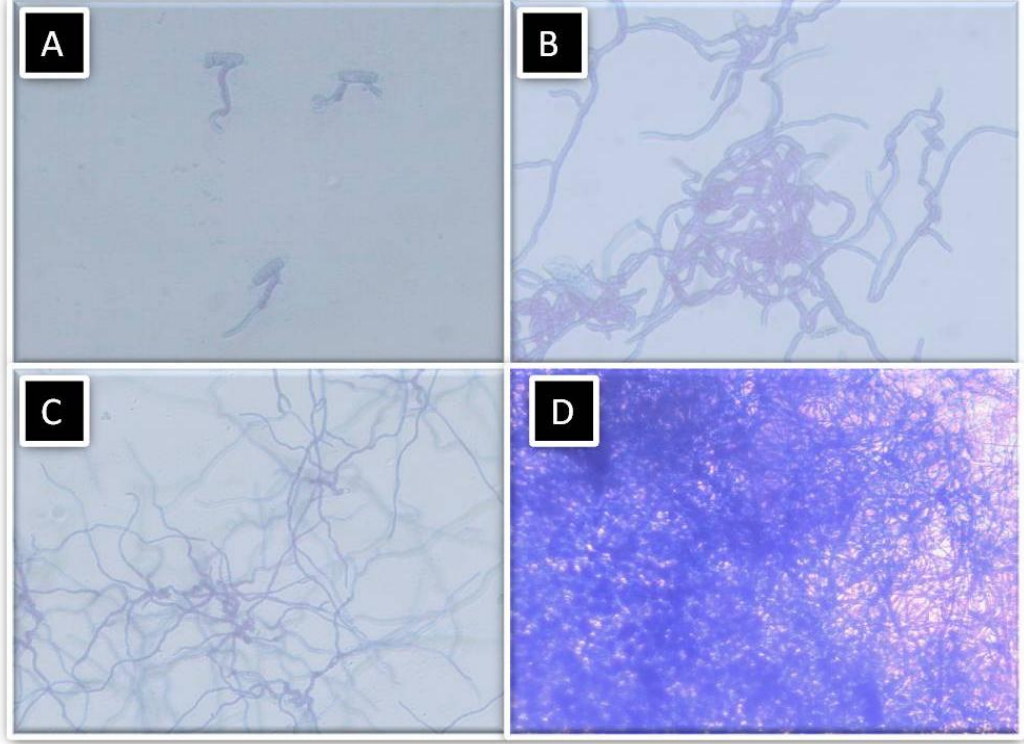
Varyans Kaynağı	S.D	Kareler Ortalaması	Pr > F
Saat	3	4986.65467	<.0001
Doz	10	1166.96402	<.0001
Saat*Doz	4	1571.60938	<.0001
Hata	36	38.04630	

Çizelge 4.10. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA’da geliştirilen *Fusarium culmorum*’un farklı zaman aralıklarında çim tüpü uzunlukları (µm)

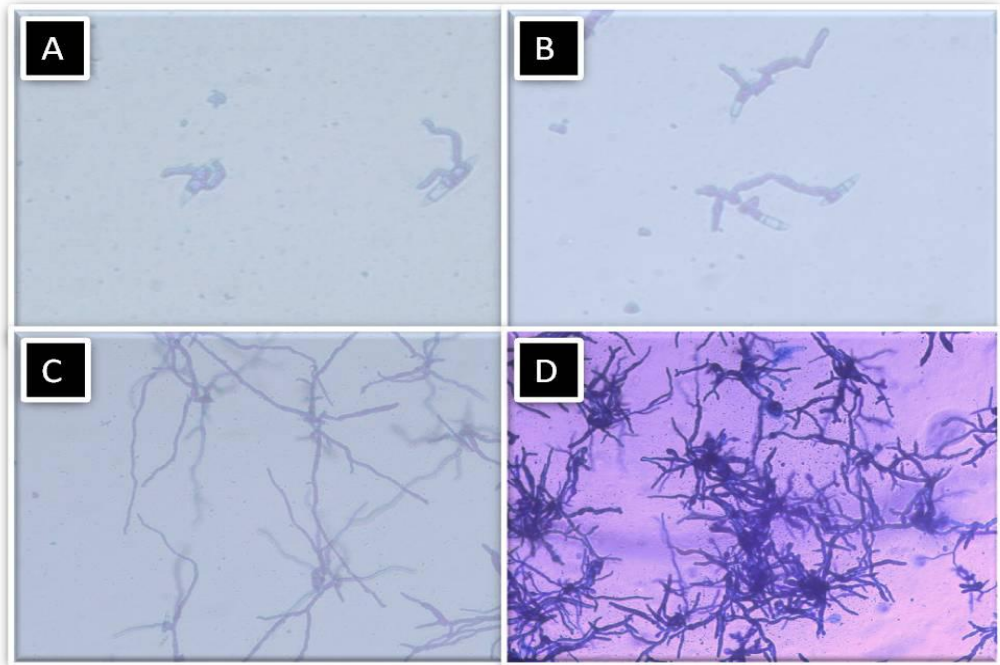
İzolat	Reaksiyonun durdurulduğu zaman aralıkları				
	6. Saat	12. Saat	18. Saat	24. Saat	Ortalama
Kontrol	53.16	x	x	x	53.16 bc
0.01	54.00	x**	x	x	54.00 bc
0.05	46.83	x	x	x	46.83 cd
0.1	42.50	x	x	x	42.50 de
0.5	35.33	x	x	x	35.33 e
1	36.50	x	x	x	36.50 e
5	33.66	x	x	x	33.66 e
10	29.66b*	121.33a	x	x	75.50 a
50	27.66b	67.16a	x	x	47.41 cd
100	23.33c	50.00b	98.16a	x	57.16 b
500	20.16b	47.33a	50.50a	48.16a	41.54 de
Ortalama	36.62 c	71.45 a	74.33 a	48.16 b	

*Aynı satırda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistik olarak fark olduğunu göstermektedir (p≤0,05).

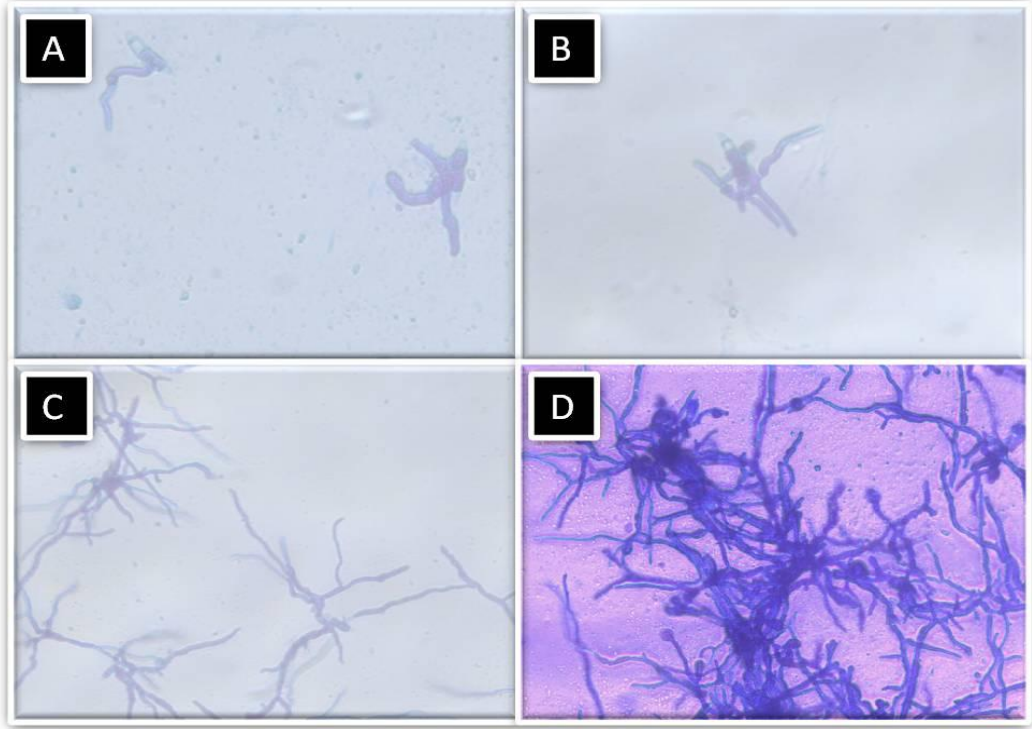
** x ile gösterilen yerler çim tüplerinin ölçülemeyecek kadar geliştiğini göstermektedir.



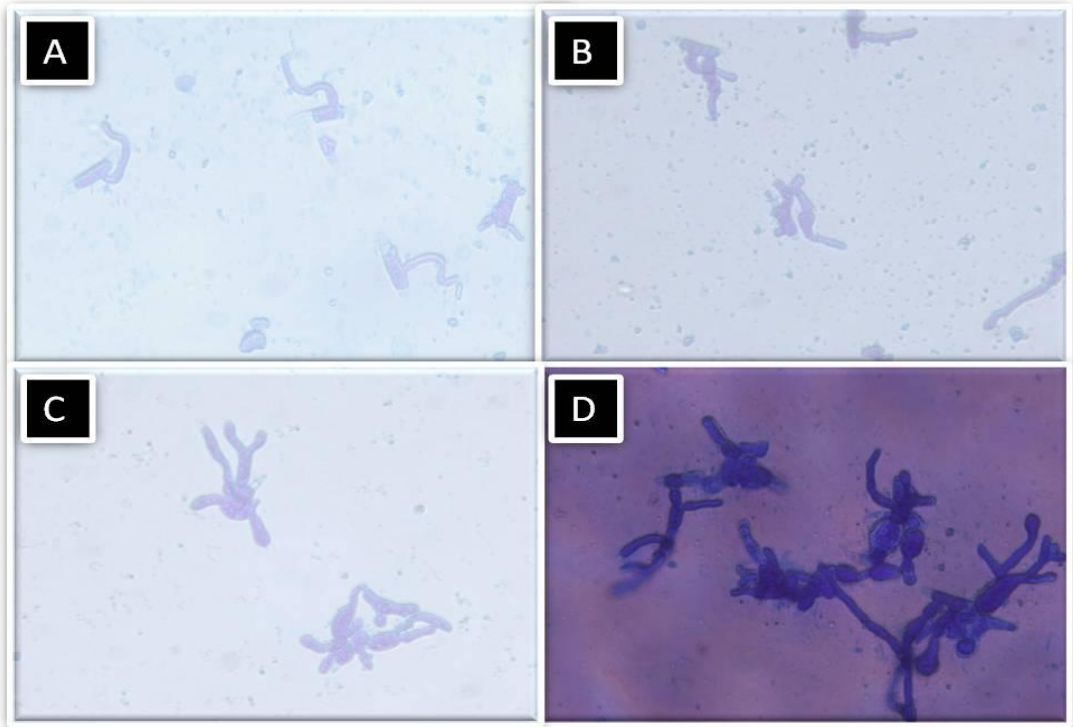
Şekil 4.5. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatu kontrol grubunda; 6 saat (A), 12 saat (B), 18 saat (C), 24 saat (D) sonra çim tüpü uzaması



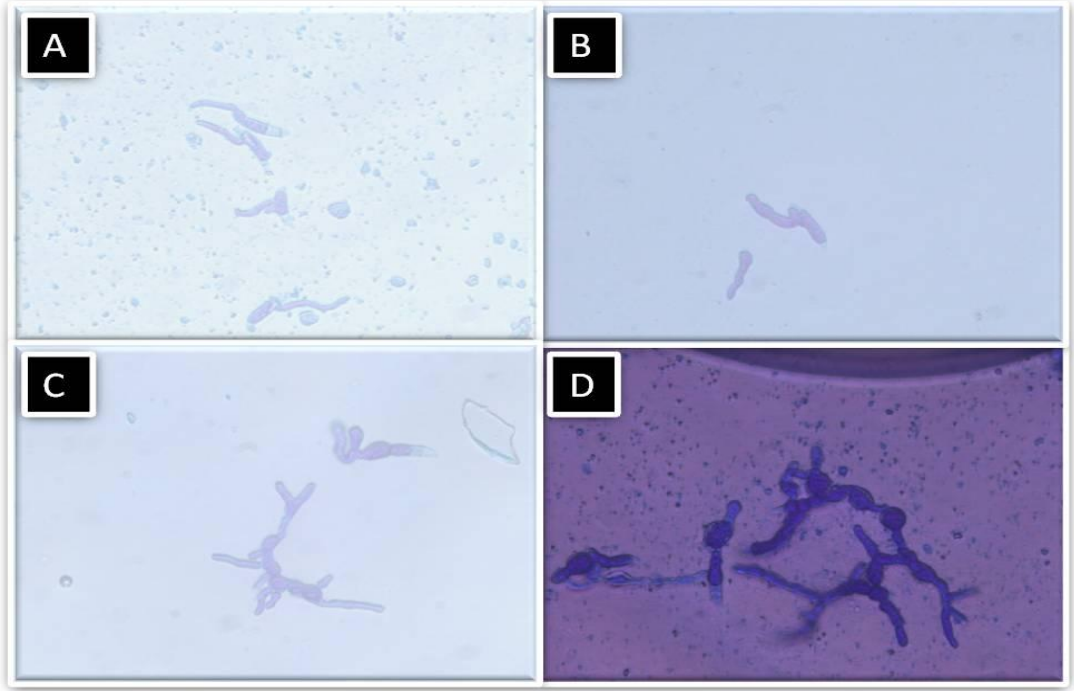
Şekil 4.6. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatına uygulanan 5 ppm tebuconazole konsantrasyonunda; 6 saat (A), 12 saat (B), 18 saat (C), 24 saat (D) sonra çim tüpü uzaması



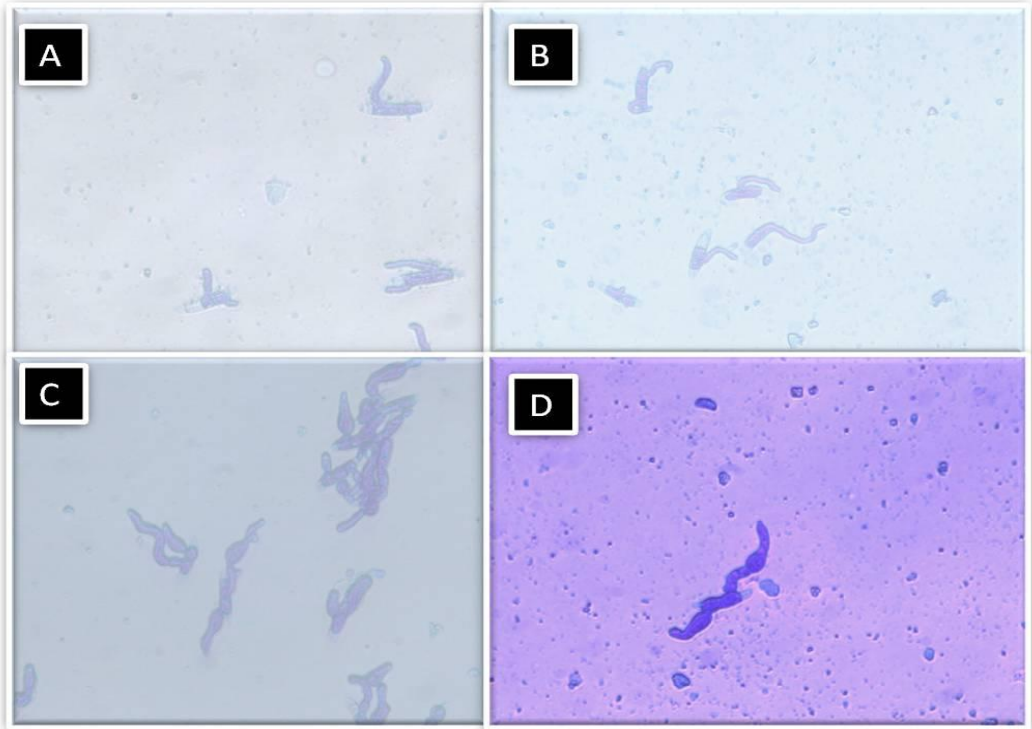
Şekil 4.7. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatına uygulanan 10 ppm tebuconazole konsantrasyonunda; 6 saat (A), 12 saat (B), 18 saat (C), 24 saat (D) sonra çim tüpü uzaması



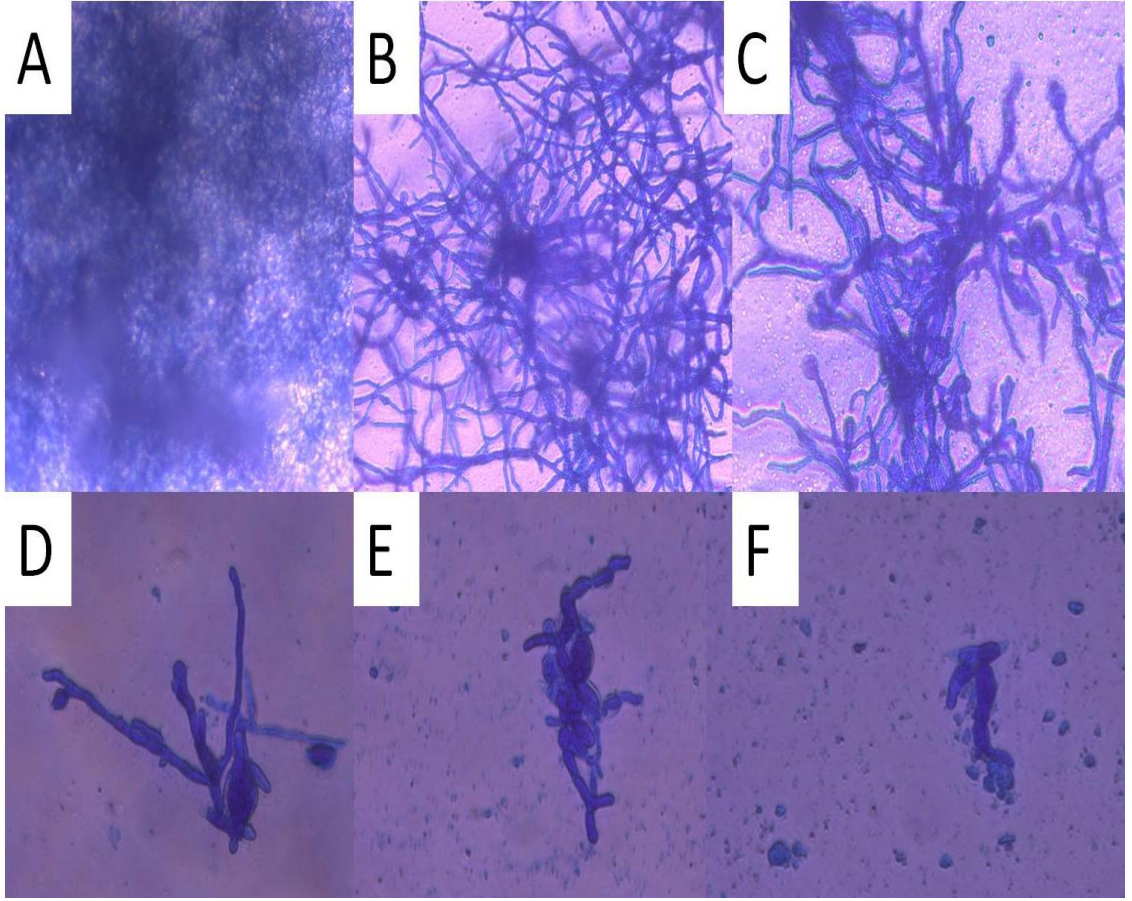
Şekil 4.8. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatına uygulanan 50 ppm tebuconazole konsantrasyonunda; 6 saat (A), 12 saat (B), 18 saat (C), 24 saat (D) sonra çim tüpü uzaması



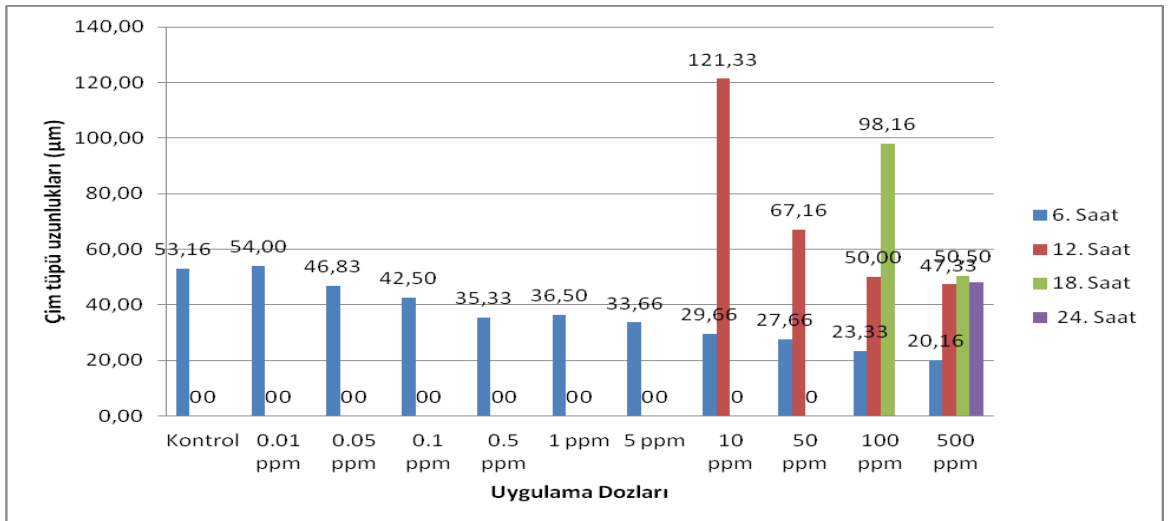
Şekil 4.9. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatına uygulanan 100 ppm tebuconazole konsantrasyonunda; 6 saat (A), 12 saat (B), 18 saat (C), 24 saat (D) sonra çim tüpü uzaması



Şekil 4.10. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatına uygulanan 500 ppm tebuconazole konsantrasyonunda; 6 saat (A), 12 saat (B), 18 saat (C), 24 saat (D) sonra çim tüpü uzaması



Şekil 4.11. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatında 24 saat inkübasyondan sonra Kontrol (A), 5 ppm (B), 10 ppm (C), 50 ppm (D), 100 ppm (E), 500 ppm (F) konsantrasyonlarında çim tüpü uzaması



Şekil 4.12. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatında 6., 12., 18., 24. saat inkübasyondan sonra farklı konsantrasyonlarda çim tüpü uzaması

Kang ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışmayla tebuconazole etkili maddesinin etkileri TEM, SEM ve Immunogold Labeling yöntemleriyle incelenmiş ve sonuçlar elde ettiğimiz bulgular ile paralellik göstermiştir. Oluşan morfolojik ve sitolojik değişimler; hiflerin aşırı dallanması ve şişkinleşmesi, uzama gerilikleri, yapısal bozukluklar, organellerde fonksiyon kayıpları, hücre duvarında nekrozlar, sitoplazma dejenerasyonu, vakuollerde aşırı madde birikimi dolayısıyla da sayılarında ve hacimlerinde artış şeklinde belirlenmiştir. Benzer değişiklikler farklı patojenler üzerinde EBI fungusitler denendiğinde de görülmüştür (Fuller ve Roberson 1990). Elektron mikroskopları sayesinde elde edilen organeller bazında incelenen bu yapısal bozukların görüntüleri daha önceleri alınamamıştır.

4.6. *Fusarium culmorum*'un Tohum Çimlenmesine ve Hastalık Şiddetine Etkisi

Hastalık etmeninin buğday bitkisinin kök ve kökboğazı çürüklüğüne ve adı geçen aktif maddenin hastalığa etkisini gözlemek amacıyla kurulan denemede tesadüfi seçilen 2 ayrı izolat kullanılmıştır. Tebuconazole etkili maddesi taşıyan Folicur'un yanısıra tohum ilaçlaması amacıyla yaygın olarak kullanılan Captan etkili maddesi referans olarak kullanılmıştır. Buğdayların ekimini takip eden 14. günde deneme sonlandırılmış, elde edilen fideler kök ve kök boğazı çürüklüğü açısından değerlendirilmiştir. Denemenin kurulmasının ardından bitkilerin gelişmesi gözlemlenmiş ve hastalık şiddeti belirlenmiştir.

Negatif kontrolde tohumların % 90 ila % 96.6'sı çimlenerek bitki çıkışları gözlenirken, rastgele seçilen 2 izolat ile toprağın bulaştırılması sonucu bitki çıkışı önemli oranda düşmüştür. Pozitif kontrol diye tanımlanan bu saksılarda çıkışlar Fc 83'te % 10, Fc 211'de % 13.3 olmuştur (Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12).

Tebuconazole ile ilaçlanan tohum çimlenmesi sonucu bitki çıkışı Fc83 ve Fc211 izolatları ile bulaştırılmış topraklarda % 86.6 olmuştur. Captan ile ilaçlanan tohumlardan bitki çıkışı ise Fc83 ve Fc211 izolatlarında sırasıyla % 30 ve % 36.6 olmuştur.

F. culmorum ile ilgili yapılan birçok çalışmanın sonucunda *in vitro* çalışmalar ile pratikte yapılan uygulamalar farklılık gösterebilmiştir. Tarla denemelerinde oluşan fungusit performansında görülen farklılıklara sebep olan faktörlere bitki çeşidi, sıcaklık, bitki organlarının fungusite dayanıklılığı, fungal sporların fungusite hassasiyeti, fungusitin tedavi edici etkileri, sistemik fungusitlerde bitki içindeki translokasyon örnek olarak sayılabilir (Jones, 2000). Ayrıca kullanılan her izolatin ve fungusun ayrı ırklarının fungusite karşı oluşturdukları tepkiler farklıdır. Bölgelere göre bile değişebilecek sonuçlar oluşabilir. Bu nedenle bu gibi etkenler FHB'ta olduğu gibi diğer hastalıklarda da fungusit denemelerinde

tutarsız sonuçlar elde edilmesine neden olabilmektedir. Fungisitlerin gerçek etkisinin görülmesi açısından *in vitro* çalışmaların tarla denemeleriyle desteklenmesi pratik anlamda oldukça önemlidir.

Çizelge 4.11. *Fusarium culmorum*'un iki izolatına karşı uygulanan fungisitlerin bitki çıkışına etkisine ait kareler ortalaması

Varyans Kaynağı	S.D	Kareler Ortalaması	Pr > F
İzolat	1	4.16667	<.0001
Uygulama	3	9626.38889	<.0001
İzolat*Uygulama	3	48.61111	<.0001
Hata	16	70.83333	

Çizelge 4.12. *Fusarium culmorum*'un iki izolatına karşı uygulanan fungisitlerin bitki çıkışına etkisi

Uygulama	+ kontrol	- kontrol*	Captan	Tebuconazole	Ortalama
Fc211	13.3 a**	90.0 a	36.6 a	86.6 a	56.6 a
Fc83	10.0 a	96.6 a	30.0 a	86.6 a	55.8 a
Ortalama	11.6 b	93.3 a	33.3 b	86.6 a	

*Negatif kontrol grubuna herhangi bir fungusit ve inokulum uygulanmamıştır.

**Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$).

Daha önceki çalışmalar ile gerek tohumdan gerekse yeşil aksamdan yapılan ilaçlamalarda tebuconazol'un, aynı gruptan diğer fungusitlere oranla başarılı bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Homdork ve ark. (2000), *F. graminearum* ve *F. culmorum*'un spor süspansiyonu karışımlarının yapay inokulasyonu ile buğday başaklarında, infeksiyon sonucu oluşan ürün kayıpları tebuconazol'un uygulanmasıyla % 31-80 arasında oranlarda engellendiğini saptamışlardır. Başka bir çalışmada tebuconazole, bromuconazole ve prochloraz uygulanan bitkilerde, sözü edilen fungusların meydana getirdiği mikotoksin birikim oranlarının sırasıyla % 49.2, % 67.2 ve % 60.4 azaldığı ifade edilmiştir. Ancak epoxyconazole ve kresoxym-methyl bu olayda etkisiz kalmışlardır (Menniti ve ark., 2003).

Dawson ve Bateman (2000) tebuconazole ile yapılan tohum ilaçlamaları tek başına hastalığın gelişmesini % 47.8 düzeyinde düşürmüş ve tüm fungusitler içerisinde oldukça istikrarlı bir etki gösterdiği belirlenmiştir.

Balmas ve ark. (2006), % 25 tebuconazole içeren Folicur WG 25 ticari adlı tebuconazole'un buğday tohumlarına uygulanması ile yaptıkları uygulamada, kontrolde %

45 olan hastalık şiddetinin, tebuconazole ile % 37'ye gerilediğini bildirmişlerdir.

Hastalık şiddetinin değerlendirilmesi açısından skala değerleri kullanılmıştır. Çizelge 4.14'te görüldüğü gibi fungal inokulum ile bulaştırılmış ve fungusit uygulaması yapılmamış kontrol saksılarda skala değerleri arasında istatistiki bir fark oluşmamış skala değerleri ortalama 4.6 bulunmuştur. Negatif kontrolde yani fungal inokulum ile bulaştırılmamış ve fungusit uygulanmamış saksılardaki bitkilerin kök ve kök boğazında herhangi nekrotik bölge gözlenmemiştir. Tebuconazole ile ilaçlanmış tohumlardan çıkan bitkilerin bir kısmında çok hafif hastalık semptomu görülmesine rağmen, genel olarak negatif kontrolle benzer bir skala değerine sahip olmuştur. Captan ise tebuconazole ile kıyaslandığında düşük bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. *Fusarium culmorum* ile bulaştırılmış toprağa ekilen buğday tohumlarının çimlenmesi ve bitki çıkışı: Tebuconazole ile tohum ilaçlaması yapılmış bitkiler (a), Captan ile tohum ilaçlaması yapılmış bitkiler (b), İlaçlanmamış pozitif kontrol Fc211 izolatu (c)

Çizelge 4.13. *Fusarium culmorum*'un iki izolatu ile inokule edilen buğdayda hastalık şiddetine ait kareler ortalaması

Varyans Kaynağı	S.D	Kareler Ortalaması	Pr > F
İzolat	1	0.00041667	<.0001
Uygulama	3	30.64708333	<.0001
İzolat*Uygulama	3	0.03819444	<.0001
Hata	16	0.040833	

Çizelge 4.14. *Fusarium culmorum*'un iki izolatu ile inokule edilen buğdayda hastalık şiddeti

Uygulama	+ kontrol	- kontrol*	Captan	Tebuconazole	Ortalama
Fc211	4.56a**	0a	3.36a	0.20a	2.03a
Fc83	4.63a	0a	3.13a	0.33a	2.02a
Ortalama	4.60a	0.00d	3.25b	0.26c	

*Negatif kontrol grubuna herhangi bir fungusit ve inokulum uygulanmamıştır.

**Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$).

FHB etmenleri olan *F. culmorum* ve *F.graminearum* etmenlerinin yapay inokulasyonu ile tebuconazole uygulanması sonucu hastalık şiddetleri karşılaştırıldığında *F. culmorum* üzerinde tedavi edici etkileri daha yüksek oranda bulunmuştur (Pirgozliev ve ark., 2002). Genel anlamda bir çok çalışmada tebuconazole *in vitro* koşullarda ve gerçek yetiştirme ortamında *F. culmorum* ve *F.graminearum* etmenlerine karşı bizim çalışmamızda olduğu gibi koruma sağlamakta ancak *F. avenacum* etmeninin doğal yada yapay infeksiyonlarında ise etkisiz kaldığı bildirilmektedir (Simpson ve ark., 2001).

Wachowska ve ark. (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada buğdayın gelişim döneminde *F. culmorum* ve *F. graminearum* üzerinde tebuconazole'ün baskılayıcı bir etki oluşturduğu ve koruma bakımından etkin özellikte olduğunu tespit etmişlerdir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada tebuconazole etkili maddesinin farklı dozlarda uygulanmasıyla *F. culmorum* fungal etmeni üzerinde oluşturduğu inhibe edici özellikler ve çim tüplerinde oluşan morfolojik değişimler ortaya konmuştur. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler ve literatürde sunulan benzer çalışmalar göstermiştir ki tebuconazole kullanımı ile *F. culmorum* infeksiyonlarında oldukça etkili sonuçlar alınmaktadır. Bu sebeple de tahıllarda ve diğer sebze meyvelerin korunmasında dünyada birçok ülkede (Avustralya, ABD, Birleşik Krallık İspanya, Çin gibi) kullanımı ruhsatlandırılmıştır. Özellikle tahıllarda başak yanıklığı epidemisi dönemlerinde, infeksiyon öncesi tebuconazole'ün yeşil aksam ilaçlaması ile koruma sağlamakta, etmenin penetrasyon yeteneğini yitirip gelişmesi ve yayılması engellenmektedir. İnfeksiyon oluşumunun ardından yapılan uygulamalarda da benzer başarılar elde edildiği yapılan çalışmalarla görülmektedir.

Ülkemizde rastık, sürme gibi tohum kökenli hastalıkların korunması amacıyla kullanımı ruhsatlandırılan tebuconazole etkili maddesi *Fusarium* spp. infeksiyonlarına karşı da koruma sağlamaktadır, ancak FHB için ruhsatlı değildir. Sürme, rastık gibi hastalıklara karşı yapılan tohum ilaçlaması dolaylı olarak *Fusarium* spp. kökenli kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı da koruma sağlamaktadır. Ancak başak yanıklığı için bu ilaçlama yetersiz kalmaktadır.

Tebuconazole, fungal etmen üzerinde sterol biyosentezini inhibe ederek etki göstermekte bu nedenle hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluklara sebep olmaktadır. Fungal canlılar açısından hayati önem taşıyan sterollerin biyosentezinde oluşan aksaklık, etmenin gelişip üremesini önemli ölçüde durdurmaktadır. Bu çalışma ile fungusun farklı dozlardaki tebuconazole ile hazırlanmış PDA üzerinde geliştirilmesi ile miselyal gelişimi ve tebuconazole'ün dozlara göre inhibe edici özelliği ölçülmüş ardından konidi çimlenmesi ve çim tüpü üzerinde oluşan etkiler araştırılmıştır. Laboratuvar çalışmaları ile doğal yetiştirme ortamında yapılan çalışmalar, koşulların farklı olması sebebiyle bazı zamanlar paralel sonuç vermemektedir. Ayrıca laboratuvar ortamında uygulanan dozlar bazı zamanlarda bitkide fitotoksisite oluşumuna da neden olabilmektedir. Fungisitinin oluşturduğu etkinin kesin olarak belirlenmesi açısından bitkiler üzerinde uygulanması oldukça önemlidir. Bu nedenle son olarak tesadüfi olarak seçilen iki izolat ile saksı denemesi yapılarak tebuconazole'ün *Fusarium culmorum* izolatları üzerinde oluşturduğu koruyucu etki ortaya konmuştur. Genel olarak tüm denemelerin sonucunda tutarlı bir

şekilde etkili maddenin doz artışı ile fungus üzerinde oldukça önemli ölçüde etkiler oluşturduğu ve inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir.

Tebuconazole'ün kullanılan izolatlar üzerinde miselyal gelişim etkisi incelendiğinde doz artışına bağlı olarak miselyal gelişimin yavaşlatıldığı, bazı izolatlarda 10 ppm'de tamamen durduğu ve 10 ppm üzerindeki dozlarda ise hiçbir izolatta gelişme olmadığı saptanmıştır. Ardından yapılan denemede tebuconazole'ün çimlenme üzerinde inhibe edici özelliği araştırılmıştır. Tek yer engelleyici özellikte olan tebuconazole sterol biyosentezini engelleyerek fungal hücrede yapısal bozukluklara neden olmaktadır. Ancak hücrede oluşan bozulmalar belli bir zaman içerisinde gerçekleştiğinden çimlenme üzerine olumsuz bir etki oluşturmamaktadır. Yaklaşık 5-6 saatlik bir inkubasyon süresi içerisinde çimlenmesi gerçekleşen *F. culmorum* sporları bu süre içerisinde fungusitin oluşturduğu etkilerden zarar görmemektedir ve normal olarak çimlenmesi gerçekleşmektedir. Kurulan bir diğer denemede zaman ilerlemesine bağlı olarak fungal etmenin üzerindeki değişimler ve çim tüpü uzaması gözlemlenmiştir. Yapılan çalışma ile fungusitin sebep olduğu hücresel deformasyonlar zaman içerisinde ortaya çıkmakta ve fungal sporun patojenite özelliklerine zarar vermekte olduğu belirlenmiştir. Ekimden 6 saat sonra yapılan ölçümlerde doz artışına bağlı olarak fungal etmenin gelişmesinde yavaşlama oluşmuş ancak hiçbir dozda tamamen durmamıştır. Morfolojik bozulmalar ve farklılıklar ortaya çıkmamıştır. Morfolojik bozulmalar ancak 50 ppm ve üzeri dozlarda 18 saatlik inkubasyonun ardından yapılan gözlemlerle ortaya konmuştur. Yapılan mikroskop gözlemlerinde zaman artışına bağlı olarak artan oranda bozulmalar, fungal hücrelerin çim tüplerinde şişkinleşmeler, aşırı dallanmalar ve hücre duvarı kalınlaşmaları ayrıca hiflerde dismorfi oluşumu göze çarpmaktadır. Fungal hücre duvarları yapısındaki ana içerik kitin ve β -1,3-glukan kompleksi şeklinde olduğu bilinmektedir. Hif gelişimi sırasında yeni yapıların oluşumu bu içeriğin dengeli bir şekilde bulunmasına bağlıdır. Tebuconazole uygulaması ile hücre duvarı kompozisyonu bozulduğu ve hücre duvarında düzensiz kalınlaşmalar olduğu gözlemlenmiştir.

Yapılan saksı denemesiyle de *F. culmorum* izolatlarının yıkıcı özelliği ve tebuconazole'ün etmene karşı koruyucu özelliği ortaya konmuştur. Denemede farklı iki izolat kullanılmış ve her ikisi de buğday bitkisinde şiddetli biçimde kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olmuştur. Tebuconazole'ün yurtdışında ruhsatlı olduğu oranda kullanılmasıyla istenen oranda koruma sağlanırken, Captan etkili maddesi oldukça yetersiz kalmıştır. Tebuconazole'ün tohum ilaçlamasında kullanımı istenen başarıyı sağlamıştır ancak pratikte tavsiye edilen dozun üzerinde bir uygulama gerektirebilmektedir. İlacın aşırı

kullanımı kimi zaman dayanıklılık kimi zaman da fitotoksisite oluşumuna neden olabilmektedir. Bu nedenle farklı özellikte olan ilaçlarla kombine şekilde kullanımı ile buğdayda *F. culmorum* kaynaklı hastalıklarla mücadelede önemli oranda başarı elde edilebileceği tahmin edilmektedir. Buğday yetiştiriciliğinde fungusit uygulamalarında Avrupa kıtasında genellikle iki farklı aktif madde karışımı kullanılarak vejetasyon döneminde 2 yada 3 kez ilaçlama yapıldığı ve asla monokültür uygulanmadığı bu sebeple de fungusit dayanıklılığı riskinin düşük olduğu bilinmektedir.

Elde edilen bulgular doğrultusunda iklim koşullarına, buğdayın dayanıklılığına, ilacın uygulanma şekline göre değişmekle beraber farklı dozlarda tebuconazole ile buğday bitkisinde *F. culmorum* infeksiyonlarına karşı koruma sağlandığı ortaya konmuştur. Yapılan saksı denemesinde *in vitro* koşullarda elde edilen veriler desteklenmiş ve tebuconazole uygulaması ile oldukça olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Akgül D.S., 2008. Çukurova Bölgesi Buğday Ekim Alanlarında Kök, Kökboğazı Ve Sap Çürüklüğü Hastalığının Durumu, Bazı Buğday Çeşitlerinin Hastalığa Karşı Reaksiyonları, Farklı Gübreleme Pratikleri Ve Fungisit Uygulamalarının Hastalık Gelişimine Etkileri. (Doktora tezi). Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Aktaş H., Tunalı B., 1993. Konya İlinde Buğdayın Bazı Hastalık Sorunları ve Çözüm Yolları. *1. Konya'da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Semp.* 12-14 Mayıs 1993, Konya. 247-255.
- Aktaş H., Bostancıoğlu H., Tunalı B., Bayram E., 1996. Sakarya Yöresinde Buğday Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğüne Neden Olan Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi ve Bu Etmenlerin Buğday Yetiştirme Teknikleri ile İlişkileri Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 36: 151-167.
- Aktaş H.E., Kınacı E., Yıldırım A.F., Sayın L., Kural A., 1999. Konya Yöresinde Hububatta Sorun Olan Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğü Etmenlerinin Hububatta Verim Komponentlerine Etkileri ve Mücadelesi Üzerinde Araştırmalar. *Orta Anadolu'da Hububat Tarımının Sorunları Ve Çözüm Yolları Sempozyumu*, Konya. 392-403.
- Anonymous, 2006. Bayer Crop Science. Tebuconazole, The one-stop for azole, brochure. ([http://www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/cscms.nsf/id/AzoleFungici des_Agro/\\$file/one_stop_2_06.pdf](http://www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/cscms.nsf/id/AzoleFungici%20des_Agro/$file/one_stop_2_06.pdf)). 20 Haziran 2014.
- Anonymous, 2012. FAO Resmi İnternet Sitesi Verileri: (<http://www.fao.org>). 15 Aralık 2013.
- Anonymous, 2014. FAO Resmi İnternet Sitesi Verileri: Corporate Document Repository (<http://www.fao.org/docrep/w8141e/w8141e15.htm>). 22 Haziran 2014.
- Araz A., Bayram M.E., Babaroğlu E.N., 2009. Sakarya İlinde Bazı Buğday Çeşitlerinde Kök Ve Kök Boğazı Hastalıklarına Neden Olan Etmenlerin Belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 49 (1): 31-43.
- Arda M., 2000. Preparat ve Kültür Hazırlama Yöntemleri. In: *Temel Mikrobiyoloji*, 2. Baskı. 356-357, Medisan Yayınevi, Ankara.

- Arslan Ü., Baykal N., 2002. Kök ve Kökboğazı Fungal Patojenlerine Karşı Bazı Buğday Çeşitlerinin Reaksiyonları ve Tohum Koruyucu Fungisitlerin *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc.'a Etkisi. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, (2002) 16: 69-76.
- Bai G.H., Shaner G., 1994. Scab of Wheat: Prospect for Control. *Plant Dis.*, 78: 760-766.
- Balmas V., Delogu G., Sposito S., Rau D., Migheli Q., 2006. Use of Complexation of Tebuconazole with β -Cyclodextrin for Controlling Foot and Crown Rot of Durum Wheat Incited by *Fusarium culmorum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 480-484.
- Burden R. S., Cooke D.C., Carter G. A., 1989. Inhibitors of Sterol Biosynthesis and Growth in Plants And Fungi. *Phytochem.*, 28: 1791-1804.
- Burgess L.W., Backhouse D., Summerell B.A., Swan L.J., 2001. Crown Rot of Wheat. P: 271-294 in : *Fusarium Paul E. Nelson Memorial Symposium*. American Phytopathological Society, St. Paul.
- Cook R.J., 1968. Fusarium Root and Foot Rot of Cereals in the Pasific Northwest. *Phytopathology*, 58: 1-126.
- Cromey M.G., Parkes R.A., Sinclair K.I., Lauren D.R., Butler R.C., 2002. Effects of Fungicides Applied at Anthesis on Fusarium Head Blight and Mycotoxins in Wheat. *New Zealand Plant Protection*, 55: 341-346.
- Dawson W.A.J.M., Bateman G.L., 2000. Sensitivity of Fungi from Cereal Roots to Fluquinconazole and Their Suppressiveness Towards Take all on Plants with or without Fluquinconazole Seed Treatment in a Controlled Environment. *Plant Pathology*, 49: 477-486.
- Delen N., 2008. *Fungisitler*.1. Basım, s: 128-133. Ankara.
- Delp C.J., 1987. Benzimidazole and Related Fungicides. In: *Modern Selective Fungicides- Properties, Applications, Mechanisms of Action* (Horst Lyr, ed.). Longman Scientific and Technical, Harlow, UK. p: 233-244.
- Dong Y., Cummings J. A., Bergstrom G. C., 2014. Triazole Sensitivity in a Contemporary Population of *Fusarium graminearum* from New York Wheat and Competitiveness of a Tebuconazole-Resistant Isolate. *The American Phytopathological Society*. No: 5 Vol: 98: 607-613.

- Ellner F.M., 1997. Influence of Fungicide Treatment on Deoxynivalenol Content in Winter Wheat Artificially Infected with *Fusarium culmorum*. *Cereal Research Communications*, 3/2: 735-737.
- Ellner F.M., Jahn M., 1997. Influence of Fungicide Treatment on Disease Incidence and Deoxynivalenol Content in Winter Wheat Artificially Infected with *Fusarium culmorum*. *Proceeding of International Conference of Protection of Cereal Crops against Harmful Organisms*, p. 176-177.
- Fuchs A., DeWaard M.A., 1982. Resistance to Ergosterol-Biosynthesis Inhibitors I. Chemistry and Phenomenological Aspects. *Fungicide Resistance in Crop Protection*, p. 71-86.
- Fuller M.S., Roberson R.W., Gisi U., 1990. Effects of Sterol Demethylase Inhibitor, Cyproconazole, on Hyphal Tip Cells of *Sclerotium rolfsii* III. Cell Wall Cytochemistry. *Pestic. Biochem. Physiol.* 36: 115-126.
- Gilgenberg H.A., 1999. Metconazole - a New Fungicide to Control Leaf- and Ear Diseases in Cereals and Oilseed Rape. *Gesunde Pflanzen* 51(2): 55-57.
- Harris S.D., 2005. Morphogenesis in Germinating *Fusarium graminearum* Macroconidia. *Mycologia*, 97(4): 880-887.
- Homdork S., Fehrmann H., Beck R., 2000. Effects of Field Application of Tebuconazole on Yield, Yield Components and the Mycotoxin Content of *Fusarium*-infected Wheat Grain. *Journal of Phytopathology*, January 2000, Vol. 148: 1-6, Issue 1.
- Huwig A., Freimund S., Kappeli O., Dutler H., 2001. Mycotoxin Detoxification of Animal Feed by Different Adsorbants, *Toxicology Letters*, 122: 179-188.
- Ivić D., Sever Z., Kuzmanovska B., 2011. *In vitro* Sensitivity of *Fusarium graminearum*, *F. avenaceum* and *F. verticilloides* to Carbendazim, Tebuconazole, Flutriafol, Metconazole and Prochloraz. *Pestic. Phytomed.* (Belgrade), 26(1): 35-42.
- Janssen P.A.J., Bossche H.V., 1987. Mode of Action of Cytochrome P-450 Monooxygenase Inhibitors. Focus and Azole Derivates. *Arch. Pharm. Chem. Sci.* Ed., 15: 24-40.
- Jones R.K., 2000. Assessment of *Fusarium* Head Blight of Wheat and Barley in Response to Fungicide Treatment. *Plant Disease*, Vol. 9: 1021-1031.

- Kang Z., Huang L., Krieg U., Malchnik A.M., Buchenauer H., 2001. Effect of Tebuconazole on Morphology, Structure, Cell Wall Components and Trichothecene Production of *Fusarium culmorum* *in vitro*. *Pest Manag. Sci.*, 2001 June, 57(6): 491-500.
- Kerkenaar A., Barug D., 1984. Fluorescence Microscope Studies of *Ustilago maydis* and *Penicillium italicum* after Treatment with Imazalil or Fenpropimorph. *Pesticide Science*, April 1984, Vol. 15: 199–205, Issue 2.
- Klein T.A., Liddell C.M., Burgess L.W., Ellison F.W., 1985. Glasshouse Test for Tolerance of Wheat to Crown Rot Caused by *Fusarium graminearum* Schwabe Group 1. Pages: 172-173 in: *Ecology and Management of Soil Borne Plant Pathogens*. C.A. Parker, A.D. Rovira, K.J.Moore, P.T.W. Wong and J.F. Kollmorgen, eds. APS Pres, St. Paul, M.N.
- Kuck K.H., Gisi U., 2007. FRAC Mode of Action Classification and Resistance Risk of Fungicides. *Modern crop protection compounds*. Vol. 2: 415-432.
- Kuck K.H., Vors J.P., 2007. Sterol Biosynthesis Inhibitors. *Modern Crop Protection Compounds*. Vol. 2: 605-650.
- Leroux P., Chapeland F., Desbrosses D., Gredit M., 1999. Pattern of Cross-resistance to Fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) Isolates from French Vineyards. *Crop. Prot.*, 18: 687-697.
- Leslie J.F., Summerell A., 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK. 158-159.
- Majeská M., Hudec K., Bokor P., Tóthová M., 2012. Inhibition Effect of Fungicides on Mycelium Growth of *Fusarium* and *Microdochium* species. *Acta fytotechnica et zootechnica*, special number: 32-36.
- Marchant R., White M. F., 2011. Spore Swelling and Germination in *Fusarium culmorum*. *Journal of Biopesticides*, 4 (1): 53-56.
- Martin R.A., Johnston H.W., 1982. Effects and Control of Fusarium Diseases of Cereal Grains in the Atlantic Provinces. *Canadian Jour. of Plant Path.* Vol. 4: 210-216, Issue 2.

- Mathies A., Walker F., Buchenauer H., 1999. Interference of Selected Fungicides, Plant Growth Retardants as well as Piperonyl butoxide and 1-aminobenzotriazole in Trichothecene Production of *Fusarium graminearum* (strain 4528) *in vitro*. *Journal Plant Dis. Prot.* 106: 198-212.
- Mathies A., Buchenauer H., 2000. Effect of Tebuconazole (Folicur) and Prochloraz (Sportak) Treatments on Fusarium Head Scab Development, Yield and Deoxynivalenol (DON) Content in Grain of Wheat Following Artificial Inoculation with *Fusarium culmorum*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 107: 33-52.
- Mauler-Machnik A. and K. Zahn. 1994. Ear Fusarioses in Wheat - New Findings on Their Epidemiology and Control with Folicur (Tebuconazole). *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer*, Leverkusen, Vol.47: 133-160.
- Mc Mullen M., Jones R., Gallenberg D., 1997. Scab of Wheat and Barley: a Re-emerging Disease of Devastating Impact. *Plant Disease*, St. Paul, Vol.81: 1340-1348.
- Menniti M.A., Pancaldi D., Maccaferri M., Casalini L., 2003. Effect of Fungicides on Fusarium Head Blight and Deoxynivalenol Content in Durum Wheat Grain. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 109-115.
- Mesterházy A., 1989. Progress in Breeding of Wheat and Corn Genotypes not Susceptible to Infection by Fusaria. In: Chelkowski, (ed.). *Fusarium: Mycotoxins, Taxonomy, and Pathogenicity*, p. 357-373.
- Mielke H., Meyer D., 1990. New Investigations on Control of Head Blight with Reference to Efficacy of Fungicide Treatment on Yield and Baking Quality in Wheat. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanz.*, 1990 Vol. 42 No. 11: 161-170.
- Milus E. A., Parsons C. E., 1994. Evaluation of Foliar Fungicides for Controlling *Fusarium* Head Blight of Wheat. *Plant Disease*, 1994, Vol. 78 No. 7: 697-699.
- Muratçavuşoğlu N. ve Hancıoğlu Ö., 1995. Ankara ili Buğday Ekim Alanlarında Kök ve Kök Boğazı Hastalıklarına Neden Olan *Fusarium* Türlerinin Tespiti Üzerine Araştırmalar. *VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, Adana. 174-177.
- Nagelkirk M., Kirk W.W., 2013. Managing Fusarium Head Blight. Michigan State University Extension, *Wheat*. March, 2013. Michigan, USA.

- Obst A., Gleissenthall J.L.V., Beck R., 1997. On the Etiology of Fusarium Head Blight of Wheat in South Germany - Preceding Crops, Weather Conditions for Inoculum Production and head Infection, Proneness of the Crop to Infection and Mycotoxin Production. *Cereal Research Communications*, 25(3 Part 2): 699-703.
- Parry D.W., Jenkinson P., McLeod L., 1995. Fusarium Ear Blight (scab) in Small Grain Cereals-A Review. *Plant Pathology*, 44: 207-238.
- Pirgozliev S.R., Edwards S.G., Hare M.C., 2002. Effect of Dose Rate of Azoxystrobin And Methconazole on the Development of Fusarium Head Blight and Accumulation of Deoxynivalenol (DON) in Wheat Grain. *European Journal of Plant Pathology*. Vol. 108, No. 5, s:469.
- Sawinska Z., Malecka I., 2007. Effect of Seed Treatment and Foliar Protection with Fungicides on Health Status of Winter Wheat. *Plant Protect.Sci.*, 43: 13–18.
- Scherm B., Balmas V., Spanu F., Pani G., Delogu G., Pasquali P., Migheli Q., 2012. *Fusarium culmorum*: Causal Agent of Foot and Root Rot and Head Blight on Wheat. *Molecular Plant Pathology*, 2013. 14(4): 323–341.
- Schnepf E., 1986. Cellular Polarity. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36: 23-47.
- Semaškienė R., Mankevičienė A., Dabkevičius Z., Supronienė., 2006. Effect of Fungicides on , Fusarium Infection and Production of Deoxynivalenol in Spring Cereals. *Agronomy Research 4 (Special issue)*: 363-366.
- Seong K.Y., Zhao X., Xu J.R., Güldener U., Kistler H. C., 2008. Conidial Germination in the Filamentous Fungus *Fusarium graminearum*. *Fungal Genetics and Bio.* 45: 389–399.
- Simpson D.R., Weston G.E., Turner J.A., Jennings P., Nicholson P., 2001. Differential Control of Head Blight Pathogens of Wheat by Fungicides and Consequences for Mycotoxin Contamination of Grain. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 421-43.
- Sisler H.D., Ragsdale N.N., 1984. Biochemical and Cellular Aspects of Antifungal Action of Ergosterol Biosynthesis Inhibitors, In: *Mode Of Action Of Antifungal Agents*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p. 257-281.

- Sitton J.W., Cook R.J., 1981. Comparative Morphology and Survival of Chlamydospores of *Fusarium roseum* 'Culmorum' and 'Graminearum'. *Phytopathology*, 71: 85-90.
- Snijders C.H.A., Perkowski J., 1990. Effects of Head Blight Caused by *Fusarium culmorum* on Toxin Content and Weight of Wheat Kernels. *Phytopathology*, 80: 566-570.
- Snijders C.H.A., 1989. Current Status Of Breeding Wheat for Fusarium Head Blight Resistant and Mycotoxin Problem In The Netherlands. In: Kohli, M. M. Ed. *Taller Sobre La Fusariosis De La Espiga En America Del Sur*. Mexico, D.F., CIMMYT. 141-144.
- Solel Z., 1970. The Systemic Fungicidal Effect of Benzimidazole Derivatives and Thiophanate Against Cercospora Leaf Spot of Sugarbeet. *Phytopathology*, 60: 1186.
- Stenglein S.A., Rogers W.J., 2010. Barley and Wheat Resistance Genes for Fusarium Head Blight. In: *Management of Fungal Pathogens: Current Trends and Progress* (A. Arya & A. Perelló, eds.). p. 78-91. CABI: UK.
- Sutton J.C., 1982. Epidemiology of Wheat Head Blight and Maize Ear Rot Caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1982, Vol. 4: 195-209, Issue 2.
- Tunalı B., Nicol J.M., Chakraborty S., Erol F.Y., Altıparmak G., 2006. Turkish *Fusarium* Isolates from Wheat Crown and Head can Cause Severe Crown Rot. *Session 2: Fusarium consortium*.
- Uçkun Z., 2008. Güney Marmara Bölgesi Mısır Alanlarında Sap ve Koçan Çürüklüğüne Neden Olan *Fusarium* Türleri, Oluşturdukları Mikotoksinler ve Başlıca Türlerle Karşı Dayanıklılık Kaynaklarının Saptanması. (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi, İzmir.
- Vartivarian S.E., Anaissie E.J., Bodey G.P., 1993. Emerging Fungal Pathogens in Immunocompromised Patients: Classification, Diagnosis and Managment. *Clinical Infection and Disease*, 17 (Supply 2): 487-491.
- Wachowska U., Stasiulewicz-Paluch A.D., Kucharska K., 2013. The Effectiveness of Tebuconazole and Chitosan in Inhibiting the Growth of *Fusarium* Species on Winter Wheat Grain under Field Conditions. *World Academy of Science, Engineering and Tech. Inter. Jour. of Agricul., Biosystems Science and Engineering*, Vol.7 No:7.

- Wagacha J.M., Muthomi J.W., 2007. *Fusarium culmorum*: Infection Process, Mechanisms of Mycotoxin Production and Their Role in Pathogenesis in Wheat. *Crop Protection* 26: 877-885.
- Weete J.D., 1989. Structure and Function of Sterol in Fungi. *Adv. Lipid Res.*, 23: 115-167.
- Wiese M.V., 1987. *Compendium of Wheat Disease*. 2nd ed. American Phytopathological Society, St. Paul MN. p. 53-55.
- Wildermuth G.B., McNamara R.B., 1994. Testing Wheat Seedlings for Resistance to Crown Rot Caused by *Fusarium graminearum* Group 1. *Plant Disease* 78: 949-953.
- Zange B. J., Kang Z., Buchenauer H., 2004. Effect of Folicur® on Infection Process of *Fusarium culmorum* in Wheat Spikes. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Tuğba Toçan

Doğum Yeri : İstanbul

Doğum Tarihi : 18/09/1984

EĞİTİM DURUMU

Önlisans Eğitimi : Trakya Üniversitesi, Gıda Teknolojileri 2005-2007

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bitki Koruma 2009-2012

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bitki Koruma 2012-2014

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Delta Gıda 2000-2005

İLETİŞİM

E-posta Adresi : t.tocan@gmail.com