

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hacer BURUN

**ADANA İLİ AYÇİÇEĞİ ALANLARINDA MİLDİYÖ ETMENİ
Plasmopara halstedii IRKLARININ SAPTANMASI**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2022

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ADANA İLİ AYÇİÇEĞİ ALANLARINDA MİLDİYÖ ETMENİ *Plasmopara halstedii* IRKLARININ SAPTANMASI

Hacer BURUN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Mukaddes KAYIM
Yıl: 2022, Sayfa: 71
Jüri : Prof. Dr. Mukaddes KAYIM
: Doç. Dr. Mustafa KÜSEK
: Dr. Öğr. Üye. Orhan BOZAN

Ayçiçeği ülkemizin her bölgesinde yetiştirilebilen ve tanelerinde yüksek oranda (%40-50) kaliteli yağ bulunduran, ekim alanı, üretim miktarı ve yağ üretimi bakımından ilk sırada yer alan önemli bir yağ bitkisidir. Etmeni *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & de Toni olan ayçiçeği mildiyösü ayçiçeğinin en önemli hastalığı olup önemli verim kayıplarına sebep olmaktadır. Yapılan son çalışmalarda etmenin 50 farklı ırkının olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Adana ilinin ayçiçeği alanlarında mildiyö etmeni *Plasmopara halstedii* ırklarının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda Adana ilinin 4 farklı ilçesinde (Ceyhan, İmamoğlu, Karaisalı ve Sarıçam) ürün çıkışından itibaren ayçiçeği tarlaları kontrol edilmiş ve mildiyö semptomu gösteren ayçiçeği bitkilerden 20 farklı *Plasmopara halstedii* izolatu elde edilmiştir. Çalışmada uluslararası ırk ayırım seti kullanılarak *Plasmopara halstedii*'nin Ceyhan'da 720, 730 ve 770 İmamoğlu'nda 715 ve 750 Karaisalı'da 715 Sarıçam'da ise 770 ve 773 nolu ırkları tespit edilmiştir. Bu ırklardan bir kaçında ITS ve ribozomal RNA'ya ait büyük altbirim gen dizleri elde edilmiş ve MegaX ile filogenetik analizleri oluşturulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Büyük altbirim, Irk ayırım seti, ITS, Patojenisite, PZR

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION OF THE DOWNY MILDEW *Plasmopara halstedii* RACES IN SUNFLOWER FIELDS IN ADANA

Hacer BURUN

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPAERTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Prof. Dr. Mukaddes KAYIM
Year: 2022, Pages: 71
Jury : Prof. Dr. Mukaddes KAYIM
: Assoc. Prof. Dr. Mustafa KÜSEK
: Asst. Prof. Dr. Orhan BOZAN

Sunflower is an important oil plant that can be grown in every region in Turkey. It contains high (40-50%) quality oil in its grains and ranks first in terms of cultivation area, production amount and oil production. Sunflower downy mildew, the causative agent of which is *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & de Toni is the most important disease of sunflower and causes significant yield losses. In recent studies, it has been determined that there are 50 different races of the pathogen. This study aimed to determine races of *Plasmopara halstedii* in infected sunflower fields of Adana province. Sunflower fields were surveyed since from plant emergence in 4 different districts of Adana province (Ceyhan, İmamoğlu, Karaisalı and Sarıçam) and 20 different isolates of the pathogen were obtained from sunflower plants showing mildew symptom. In the study, the races of *Plasmopara halstedii* were identified as 720, 730 and 770 in Ceyhan, 715 and 750 in İmamoğlu, 715 in Karaisalı, and 770 and 773 in Sarıçam using the international differential set. Partial gen sequences of ITS and large subunit of r-RNA were amplified and phylogenetic tree of these sequences was performed by MegaX.

Anahtar Kelimeler: Differential set, ITS, Large subunit, Patojenisite, PZR

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Ayçiçeği ülkemizin her bölgesinde yetiştirilen ve tanelerinde yüksek oranda (%40-50) kaliteli yağ bulunduran, ekim alanı, üretim miktarı ve yağ üretimi bakımından ilk sırada yer alan önemli bir yağ bitkisidir. Ayçiçeği üretiminde verimliliği doğrudan etkileyen hastalık, zararlı ve yabancı otlar bulunmaktadır. Etmeni *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & de Toni olan ayçiçeği mildiyösü önemli ayçiçeği hastalıklarından biridir. Etmenin epidemiyeye sebep olduğu yıllarda çok büyük verim kayıpları yaşanmaktadır. Verim kayıplarının önlenmesi için sağlıklı ve temiz tohum kullanımının yanında dayanıklı çeşit kullanımı da önem arz etmektedir. Ayçiçeği ıslahını çalışmakta olan araştırmacıların ayçiçeği mildiyösüne dayanıklı çeşitleri geliştirebilmeleri için etmenin ırklarının bilinmesi gerekmektedir.

Aynı zamanda yabancı hardal (*Sinapis arvensis*), tilkikuyruğu (*Alopecurus agrestis* L.), sirken (*Chenopodium album* L.), semizotu (*Portulaca oleracea*), darıcan (*Echinochola crus-galli* (L.) P.B), eşek marulu (*Sonchus oleraceus*), demirdiken (*Tribulus terrestris*), düğün çiçeği (*Ranunculus ficaria*), köpek üzümü (*Solanum nigrum* L.), tarla sarmaşığı (*Convolvulus arvensis* L.), ballıbaba (*Lamium amplexicaule* L.), ayrik (*Elytrigia repens*), sütleğen (*Euphorbia helioscopia*), çobandeğneği (*Polygonum aviculare* L.), çobançantası (*Capsella bursa-pastoris*), yabancı yulaf (*Avena sterilis* L.), şahtere (*Fumaria officinalis*), pıtrak (*Xanthium strumarium*) gibi birçok yabancı ot türleri ayçiçeği tarlalarında sorun olmaktadır. Ancak bu yabancı ot türleri tarımsal mücadele yöntemleri kullanılarak elemine edilmektedir. Bu yabancı otlara ilaveten ayçiçeği tarlalarında sorun olan en önemli yabancı ot türü ayçiçeği bitkilerinde kök paraziti olan orobanş (*Orobance cumana*)'dır.

Sclerotinia Kök Çürüklüğü (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib. de Bary), Ayçiçeği Pası (*Puccinia helianthi* Schw.), Verticillum Solgunluğu (*Verticillium dahliae* Kleb.), Kök Boğazı Çürüklüğü (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.), Kurşuni Küf

(*Botrytis cinerea* Fr.), ve Septorya Yaprak Lekesi (*Septoria helianthi* Ell. ve Kell) gibi bazı fungal kökenli hastalıklar da ayçiçeği bitkilerinde ciddi zararlar oluşturmaktadır (Süzer, 2014). Bu hastalık etmenlerine ilaveten ayçiçeğinde ciddi verim kayıplarına neden olan ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii*) tüm dünyada ayçiçeğinin en önemli fungal hastalığı olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışma ile Adana ilinin ayçiçeği alanlarında mildiyö etmeni ***Plasmopara halstedii*** ırklarının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda Adana ilinin 4 farklı ilçesinde (Karaisalı, İmamoğlu, Sarıçam ve Ceyhan) bitki çıkışından itibaren ayçiçeği tarlaları kontrol edilerek her ilçeden en az 5 farklı tarlaya ait mildiyö simptomsu gösteren 100 bitki alınmıştır. Bu infekteli bitkilerin her biri bir adet ayçiçeği mildiyö izolatu olarak kabul edilerek toplamda 100 farklı izolat elde edilmiştir. Ancak ırk belirleme çalışmalarında her ilçeyi temsil edecek şekilde 5'şer adet izolat farklı tarlalardan seçilmiş ve toplamda 20 izolatu ırk belirleme çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalar Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde yer alan Biyoteknoloji Laboratuvarında kontrollü koşullarda gerçekleştirilmiştir. Adana ili ayçiçeği yetiştirilen alanlarda mildiyö hastalığı etmenine ait toplam 6 ırk belirlenmiştir. Buna göre Ceyhan İlçesinde 720, 730,770 nolu, İmamoğlu İlçesinde 715,750 nolu, Karaisalı İlçesinde 715 nolu ve Sarıçam İlçesinde 770, 773 nolu ırkları tespit edilmiştir.

Elde edilen bu ırkların moleküler analizlerinde ITS gen bölgesi ve ribozomal RNA'ya ait büyük altbirim (Large subunit) (LS) genin bir kısmı polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmış, gen dizileri NCBI (ABD, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) veri tabanında diğer ülkelere ait *Plasmopara halstedii* patotiplerinin benzer gen dizileri ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen ITS ve LS gen dizileri Bioedit ile uç kısımları temizlendikten sonra önce NCBI gen bankası veri tabanında nükleotid karşılaştırma (Blastn) programı ile diğer ülkelere ait patotipler ile karşılaştırılmış ve ayçiçeği mildiyö etmeninin *Plasmopara halstedii* olduğu doğrulanmıştır. Genetik soyağacı için MEGAX yazılım programında, Maximum parsimoni ve Maksimum likelihood filogenetik analiz programları kullanılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bana tez konumu veren, çalışmamın her aşamasında katkı ve yorumlarını esirgemeyen ve yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mukaddes KAYIM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans çalışmalarım boyunca tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na ve maddi desteği ile deneylerimi destekleyen Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımı kurumumda yürütmemi destekleyen Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Dr. Abdullah ÇİL'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımı yürütme aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, ekip arkadaşlarım Dr. Ayşe Nuran ÇİL, Zeynep ÜÇDAĞ, Yılmaz YAŞAR, Vakkas ŞAHİN ve Emel TAYDAŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca yanımda olup, desteğini her zaman hissettiren ve gösteren sevgili eşim Hanifi BURUN'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her aşamasında maddi, manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen sevgili ailem; babam İbrahim MENDİ, annem Halide MENDİ, kardeşlerim Ahmet MENDİ, Güllü ERİK ve Halime BULDUK'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
2.1. Dünyada <i>Plasmopara halstedii</i> (Farlow) Berl. Et de Toni Üzerine Yapılan Çalışmalar	11
2.2. Türkiye’de <i>Plasmopara halstedii</i> (Farlow) Berl. Et de Toni Üzerine Yapılan Çalışmalar	26
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Fungus Materyali	33
3.1.2. Bitki Materyali	33
3.2. Metod	34
3.2.1. Arazi Çalışmaları	34
3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	35
3.2.2.1. <i>Plasmopara halstedii</i> saf kültürlerinin elde edilmesi	35
3.2.2.2. <i>Plasmopara halstedii</i> ırklarının belirlenmesi için Irk Ayırıcı Bitki Hatlarının <i>Plasmopara halstedii</i> ile inokulasyonu	42
3.2.2.3. <i>Plasmopara halstedii</i> İzolatlarının Moleküler Analizi	44
3.2.2.3.(1). DNA izolasyonu	44

3.2.2.3.(2). Polimeraz Zincir Reaksiyonu, AgaroZ Jel Elektroforezi ve PZR Ürünlerinin Saflaştırılması	45
3.2.2.3.(3). Filogenetik Analiz	48
4. ARAşTIRMA BULGULARI VE TARTIşMA	49
4.1. <i>Plasmopara halstedii</i> ' nin Tanısı ve <i>Plasmopara halstedii</i> izolatlarının Toplanması	49
4.2. Adana ilindeki <i>Plasmopara halstedii</i> ırkları	51
4.3. <i>Plasmopara halstedii</i> ırklarının PZR ve filogenetik analizleri	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİş	71

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1.	Türkiye’de 2014 - 2019 yıllarında ayçiçeği üretim alanları (da) ve miktarları (Ton)	1
Çizelge 1.2.	Türkiye’de ilk 10 sırada yer alan illerin 2019 yılı yağlık ve çerezlik ayçiçeği üretim alanları (da).....	2
Çizelge 2.1.	Üçlü kod sistemi ile ırk belirleme	14
Çizelge 2.2.	<i>Plasmopara halstedii</i> ’nin Dünya’daki Dağılımı.....	20
Çizelge 2.3.	<i>Plasmopara halstedii</i> ’nin Dünya’daki Dağılım.....	24
Çizelge 2.4.	Türkiye’de tespit edilen <i>Plasmopara halstedii</i> Irklarının Dağılımı	29
Çizelge 3.1.	<i>Plasmopara halstedii</i> ’ nin uluslararası ırk ayrım seti	33
Çizelge 3.2.	Adana ili ayçiçeği ekili alanlardaki <i>Plasmopara halstedii</i> örneklerinin toplandığı ilçeler ve izolat numaraları.....	34
Çizelge 3.3.	Tourvieille ve ark (2000), tarafından bildirilen üçlü kod sistemi ile ırk belirleme.....	44
Çizelge 4.1.	Adana ili ayçiçeği ekili alanlardaki <i>Plasmopara halstedii</i> izolatlarının alındığı yerler ve izolat numaraları.....	51
Çizelge 4.2.	Adana İli Ayçiçeği Alanlarından Elde Edilen <i>Plasmopara halstedii</i> İzolatlarının Reaksiyon Değerleri ve Irk Numaraları.....	54



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.	<i>Plasmopara halstedii</i> ile infekte olmuş bitkilerde cüceleşme simptomları.....	4
Şekil 1.2.	<i>Plasmopara halstedii</i> ile infekte olmuş bitkilerde klorotik lekeler	5
Şekil 1.3.	<i>Plasmopara halstedii</i> ile infekte olmuş bitkilerin yaprak altındaki sporangium ve sporangioforlarından oluşan fungal örtü	6
Şekil 1.4.	<i>Plasmopara halstedii</i> ile infekteli bitkilerde tabla görünümü	6
Şekil 3.1.	İrk ayırıcı bitki hatlarında tohum çoğaltma işlemi A) Tohumların ekimi B) Tohumların çimlenme aşaması C) Çimlenmiş bitkinin yıldız tabla dönemi D) Bitkinin çiçek dönemi.....	36
Şekil 3.2.	İnfekteli ayçiçeği yapraklarının alt kısmında yer alan sporangifor ve sporangiumlarından oluşan fungal örtü (A), mildiyö izolatlarının depolanması için infekteli yaparak örneklerinin hazırlanması (B).....	37
Şekil 3.3.	İnokulum solüsyonunun hazırlama aşaması.....	37
Şekil 3.4.	Fungus spor süspansiyonu ve tuz solüsyonu	38
Şekil 3.5.	Hassas ayçiçeği (HA89) yaprak/kotiledonlarının ELİSA Pleytine aktarılma işlemi	39
Şekil 3.6.	Hassas ayçiçeği (HA89) tohumlarının çimlenme aşaması	39
Şekil 3.7.	Ayçiçeği fidelerinin patojen ile inokulasyonu ve plastik bardaklara dikim aşaması	40
Şekil 3.8.	Bitki yetiştirme odasında yetiştirilen ayçiçeği fideleri	40
Şekil 3.9.	Nispi nemi sağlamak amacıyla fidelerin şeffaf poşet ile kapatılması.....	41

Şekil 3.10. Patojenin saf kültürünü elde etmek için sporulasyon olan yapraklardan spor kazıma işlemi	41
Şekil 3.11. Mildiyöye hassas (H) bitki	43
Şekil 3.12. Mildiyöye dayanıklı (D) bitki.....	43
Şekil 4.1. Ayçiçeği bitkilerinin <i>Plasmopara halstedii</i> ile enfeksiyonu sonucu bitkilerdeki bodurlaşma, renk değişimi ve misel oluşumu	49
Şekil 4.2. Ayçiçeği mildiyö etmeni <i>Plasmopara halstedii</i> 'nin mikroskop altındaki görünümü.....	50
Şekil 4.3. Ayçiçeği mildiyösü (<i>Plasmopara halstedii</i>) ırk ayırım setinde bulunan hatların patojene karşı duyarlılık (H) reaksiyonu	52
Şekil 4.4. Ayçiçeği mildiyösü (<i>Plasmopara halstedii</i>) ırk ayırım setinde bulunan hatların patojene karşı Dayanıklılık (D) reaksiyonu.....	52
Şekil 4.5. <i>Plasmopara halstedii</i> 'nin Adana ili Ceyhan, Karaisalı ve Sarıçam ilçelerine ait 715, 720 ve 770 nolu ırkların ITS gen dizilerinin Maksimum likelihood Soy Ağaçlarının ABD (USA) izolatu ile karşılaştırılması. <i>N. parvum</i> dış grup olarak kullanılmış, dallanma noktalarındaki bootstrap değerleri 1000 tekrar içermektedir.	58
Şekil 4.6. <i>Plasmopara halstedii</i> 'nin Adana ili Sarıçam ilçesine ait 770 nolu ırkın Büyük altbirim gen dizilerinin Maksimum Parsimoni'ye göre Kore, İspanya ve ABD (USA) izolatları ile karşılaştırılması. <i>Graphium euwallaceae</i> dış grup olarak kullanılmış, dallanma noktalarındaki bootstrap değerleri 1000 tekrar içermektedir.	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
bç	: Baz çifti
Blast	: Basic Local Alignment Search Tool
Blastn	: Basic Local Alignment Search Tool nükleotid
°C	: Derece celcius
cm	: Santimetre
CU	: Cukurova Üniversitesi kodu
Ç.Ü.	: Çukurova Üniversitesi
D	: Dayanıklı
Da	: Dekar
dak.	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleikasit
dNTP	: Deoksinükleotidtrifosfat
EtBr	: Ethidium bromid
F	: Forward-ileri
FAO	: Food and Agriculture Organisation
g	: Gram
H ₂ O	: Su
H	: Hassas
INRA	: The French National Institute for Agricultural Research
ITS	: Internal transcribed spacer
ITS4	: Internal transcribed spacer primer 4
ITS5	: Internal transcribed spacer primer 5
kb	: Kilo baz
l	: Litre
LS	: Large subunit (Büyük altbirim)
M	: Molar

m	: Metre
mg/ml	: Miligram/Mililitre
mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum klorür
NaOCL	: Sodyum Hipoklorit
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
P3	: Kitinaz
PAL	: Fenilalanin amonya-liyaz
PDA	: Tetrasiklin içerikli Patates Dekstroz Agar
PDA-str	: Streptomisin içerikli Patates Dekstroz Agar
pH	: Power of Hydrogen
POX	: Peroksidaz
PPO	: Polifenol oksidaz
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	: Revers-geri
rRNA	: Ribozomal RNA
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Revolutions per minute (Dakikada devir sayısı)
SDS	: Sodium Dodesyl Sulphate
sn	: Saniye
TAE	: Tris Asetik asit EDTA
Taq	: Termo stabil polimeraz enzimi
TE	: Tris EDTA

TÜİK : Türkiye İstatistik Kurumu
U : Ünite
USA : United State of America
UV : Ultraviole





1. GİRİŞ

Ayçiçeği, yağlık tohumlu bitkiler içerisinde tanelerinde yüksek oranda (%40-50) kaliteli yağ içermesi, ekim alanı, üretim miktarı ve yağ üretimi bakımından ilk sırada yer almaktadır. Ayçiçeği ülkemizin bitkisel yağ üretiminin %69'unu, toplam sıvı yağ tüketiminin yaklaşık %84'ünü, toplam yağ kullanımının ise %32'sini tek başına karşılamaktadır (Gül ve ark., 2016). 2019 yılı FAO verilerine göre dünyada toplam ayçiçeği üretim miktarı 56.072.746 ton olup, ekim alanı 27.368.766 hektardır. (FAO,2021)

Dünya ayçiçeği üretiminde 15.379.287 ton üretimi ile Rusya ilk sırada yer alırken, bunu 15.254.120 ton üretimi ile Ukrayna ve 3.569.150 ton üretimiyle Romanya izlemektedir. Türkiye ilk 10 ülke içerisinde ekim alanı bakımından 751.693 hektar alanı ile 7. sırada, ayçiçeği üretimi bakımından, 2.100.000 ton ile 5. sırada yer almaktadır (FAO, 2021). 2019 yılı verilerine göre ülkemizde 6.759.834 dekar yağlık, 766.484 dekar çerezlik olmak üzere toplam 7.526.318 dekar alanda ayçiçeği üretimi yapılmakta olup (Çizelge 1.1) bu üretim en fazla sırasıyla Tekirdağ, Edirne, Adana, Konya ve Kırklareli, illerinde yapılmaktadır (Çizelge 1.2) (TUIK, 2020).

Çizelge 1.1. Türkiye’de 2014 - 2019 yıllarında ayçiçeği üretim alanları (da) ve miktarları (Ton)

Yıllar	Ekilen Alan Yağlık (Dekar)	Ekilen Alan Çerezlik (Dekar)	Üretim Miktarı Yağlık (Ton)	Üretim Miktarı Çerezlik (Ton)
2014	5.524.651	1.049.925	1.480.000	157.900
2015	5.689.950	1.163.224	1.500.000	180.700
2016	6.167.800	1.033.281	1.500.000	170.716
2017	6.813.976	982.241	1.800.000	164.385
2018	6.489.344	855.307	1.800.000	149.229
2019	6.759.834	766.484	1.950.000	150.000

Çizelge 1.2. Türkiye’de ilk 10 sırada yer alan illerin 2019 yılı yağlık ve çerezlik ayçiçeği üretim alanları (da)

İL ADI	Ekilen Alan (Yağlık) Dekar	Ekilen Alan (Çerezlik) Dekar	Toplam Ekilen Alan (Dekar)
Tekirdağ	1.365.350		1.365.350
Edirne	950.498		950.498
Adana	844.022		844.022
Konya	721.495	34.881	756.376
Kırklareli	740.511		740.511
Çorum	307.440	13.795	321.235
Balıkesir	182.703		182.703
Çanakkale	182.350		182.350
Samsun	167.056		167.056
İstanbul	166.390		166.390

Ayçiçeği üretimini sınırlandıran birçok hastalık etmeni ve zararlılar bulunmaktadır. Bu hatalık etmeni ve zararlılardan ayçiçeğinin önemli bazı zararlıları danaburnu (*Gryllotalpa* sp.), çayır tırtılı (*Loxostege sticticalis*), makaslı böcek (*Lethrus brachiicollis* Fairm) ve bozkurt (*Agrotis* sp) bulunmaktadır. Aynı zamanda yabancı hardal (*Sinapis arvensis*), tilkikuyruğu (*Alopecurus agrestis* L.), sirken (*Chenopodium album* L.), semizotu (*Portulaca oleracea*), darıcan (*Echinochola crus-galli* (L.) P.B), eşek marulu (*Sonchus oleraceus*), demirdikeni (*Tribulus terrestris*), düğün çiçeği (*Ranunculus ficaria*), köpek üzümü (*Solanum nigrum* L.), tarla sarmaşığı (*Convolvulus arvensis* L.), ballıbaba (*Lamium amplexicaule* L.), ayırık (*Elytrigia repens*), sütleğen (*Euphorbia helioscopia*), çobandeğneği (*Polygonum aviculare* L.), çobançantası (*Capsella bursa-pastoris*), yabancı yulaf (*Avena sterilis* L.), şahtere (*Fumaria officinalis*), pıtrak (*Xanthium strumarium*) gibi birçok yabancı ot türleri ayçiçeği tarlalarında sorun olmaktadır. Ancak bu yabancı ot türleri tarımsal mücadele yöntemleri kullanılarak elemine edilmektedir. Bu yabancı otlara ilaveten ayçiçeği tarlalarında sorun olan en önemli parazit yabancı ot türü kök paraziti olan orobanş (*Orobance cumana*)’dır.

Ayçiçeğinde Mildiyö (*Plasmopara halstedii*), *Sclerotinia* Kök Çürüklüğü (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib. de Bary), Ayçiçeği Pası (*Puccinia helianthi* Schw.), Verticillium Solgunluğu (*Verticillium dahliae* Kleb.), Kök Boğazı Çürüklüğü (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.), Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea* Fr.), ve Septorya Yaprak Lekesi (*Septoria helianthi* Ell. ve Kell) gibi bazı fungal kökenli hastalıklar önemli ürün kayıpları oluşturmaktadır (Süzer, 2014). Bu hastalık etmenleri içerisinde mildiyö etmeni sürekli yeni ırklar oluşturmaları nedeniyle tüm dünyada ayçiçeğinin en önemli fungal hastalığı olarak kabul edilmektedir (Viranyi ve Spring, 2010; Oksal, 2014; Kılıç, 2020). Ayçiçeği bitkisinde *Plasmopara halstedii* ilk kez Amerika'da Indiana, Iowa, Newyork ve Minnesota eyaletlerinde 1920'lerin başında rapor edilmiştir (Young ve Morris 1927). Patojen, önce eski Yugoslavya'da sonra diğer doğu Avrupa ülkelerinde 1940'lı yıllardan sonra görülmeye başlanmıştır (Sacston 1992). Oksal (2014)'ın bildirdiğine göre etmenin Türkiye'de varlığı ilk kez 1958'de Sakarya'da Karel tarafından ortaya konmuştur. Ülkemizde ayçiçeği mildiyö hastalığı halk arasında "Köse" ismiyle bilinmektedir (Oksal, 2014).

Plasmopara halstedii'nin Taksonomik Sınıflandırması mikoloji bankasına göre aşağıdaki gibidir (<http://www.mycobank.org>).

Üst alem : Eukaryota
Alem : Chromista
Şube : Oomycota
Sınıf : Oomycetes
Takım : Peronosporales
Familya : Peronosporaceae
Cins : *Plasmopara*
Tür : ***Plasmopara halstedii*** (Farl.) Berl. et de Toni
Sinonimi : *Peronospora halstedii* Farl
Rhysotheca halstedii (Farl.) G.W.Wilson
Plasmopara helianthi Novot. f. *Helianthi*

Ayçiçeği mildiyösü verimde ciddi kayıplara neden olması nedeniyle en önemli ayçiçeği hastalıklarından birisidir. Etmen bitkiyi sistemik olarak infekte ettiği için ayçiçeği fidelerinde çökerten, bitkilerde cüceleşme (Şekil 1.1), infekteli bitkilerin yaprakları ana damar boyunca uzanan soluk yeşil ve klorotik lekeler (Şekil 1.2) oluşmaktadır. Nemli koşullar altında bu yaprak yüzeyindeki klorotik alanlar genişler yaprak alt yüzeyinde fungusun sporangium ve sporangioforlarından oluşan beyaz renkli fungal tabaka (Şekil 1.3) meydana gelir. Ayrıca infekteli tablalar ikiz yapraklılık da oluşturmaktadır. Sistemik olarak infekteli bitkilerin generatif ve vejetatif kütlelerinde şiddetli bir azalma meydana gelir (Spring ve ark. 1991, Oksal 2014, Sedlovara ve ark. 2013, Sedlovara ve ark. 2016, Kılıç 2020).



Şekil 1.1. *Plasmopara halstedii* ile infekte olmuş bitkilerde cüceleşme belirtileri

İnfekteli ayçiçeği bitkilerinin tablaları küçük ve yukarıya dönüktür (Şekil 1.4). Tablada oluşan tohum sayısı az olmakla birlikte oluşan bu tohumların canlılık oranları düşüktür. Mildiyönlü ayçiçeği bitkilerinden elde edilen tohumlar az gelişmiş

ve renksiz, ya da nadiren sağlıklı görünürler. Geç infekte olduklarında dahi bu tür tohumlar düşük kalitededir. Bu tohumlar ekildiğinde çimlenme güçleri ortalamanın altındadır ve normal olmayan fideler oluştururlar. *Plasmopara halstedii* ile sistemik olarak infekte olan bitkilerin tohumlarında etmenin miselyumu testa ve perikarpta bulunmasına rağmen embriyoda bulunmamaktadır (Döken 1989).



Şekil 1.2. *Plasmopara halstedii* ile infekte olmuş bitkilerde klorotik lekeler

Latent enfeksiyonlu bitkiler semptom göstermediğinden dışarıdan bakıldığında diğer bitkilerden kolaylıkla ayırt edilemezler. Latent enfeksiyonlar vejetatif kısımların büyümesinin bittiği ve çiçeklenme dönemi sırasındaki geç enfeksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu şekildeki enfeksiyonlar daha çok tohum kontaminasyonuna neden olmakta ve çiçek tablasının erken olgunlaşmasıyla anlaşılmaktadır (Spring 2001).



Şekil 1.3. *Plasmopara halstedii* ile infekte olmuş bitkilerin yaprak altındaki sporangium ve sporangioforlarından oluşan fungal örtü



Şekil 1.4. *Plasmopara halstedii* ile infekteli bitkilerde tabla görünümü

Plasmopara halstedii de ayçiçeği gibi Kuzey Amerika orijinli olup ayçiçeği tarımı yapılan farklı bölgelere dağılmıştır. Bütün kıtalarda etmenin varlığı rapor edilmiştir. Ayçiçeği yetiştirilen subtropikal bölgelere göre ılıman iklimin hâkim olduğu yerlerde daha yaygındır ve daha fazla verimi olumsuz yönde etkilemektedir. Mildiyöye erken dönemde yakalanıp yok olan bitkilerin bulunduğu bir tarlada, geriye kalan sağlıklı bitkilerde daha geniş tablalar oluşturduğu için verim kaybı kısmen de dengelenmektedir. Enfekte olan bitkilerin tohumları daha açık renkli, hafif, yağ oranı daha düşük ve daha küçük tablaya sahip olmaktadır. Meydana gelebilecek verim kayıpları dayanıklı hibrit çeşitlerin kullanılması ve yüksek etkili fungusitlerle tohum ilaçlamalarının yapılması ile büyük oranda minimize edilmektedir (Tülek ve ark., 2017).

Obligat biyotrofik patojen, *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. ve de Toni'nin neden olduğu mildiyö, ılıman bölgelerde yetiştirilen ayçiçeğinde ekonomik açıdan önemli bir fide hastalığıdır. Mildiyö oluşumundan kaynaklanan kayıplar, çimlenme ve çıkış arasındaki serin, nemli hava koşullarına, enfekte olmuş bitkilerin oranı ile tarladaki yerlerinin kombinasyonuna bağlıdır (Gascuel ve ark. 2015, Gulya ve ark.2016). Ayçiçeği mildiyösü hastalığı ile kimyasal savaş mümkündür. Dünyada birçok ülkede öncelikle fungusitler tercih edilmektedir. *Plasmopara halstedii*'ye karşı en yaygın olarak kullanılan fungusit Metalaxyl'dir. Tohum ilaçlaması olarak kullanılmaktadır. Hastalığın kimyasal mücadelesi olmakla birlikte hastalık etmeninin çok hızlı yeni ırklar oluşturmasından dolayı pek çok kimyasal madde etkinliğini yitirmiştir. Metalaxyl'e karşı dayanıklılık sorunları ortaya çıkmıştır (Delen ve ark., 1985). Etmenin çok hızlı yeni ırklar oluşturmasına bağlı olarak kimyasal mücadeleye alternatif mücadele yöntemleri üzerine çalışmalar artmıştır ve dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi ayçiçeği mildiyösü ile savaşta olumlu sonuçlar vermiştir.

Ayçiçeği bitkisinde *Plasmopara halstedii* ilk kez Amerika’da Indiana, Iowa, Newyork ve Minnesota eyaletlerinde 1920’lerin başında rapor edilmiştir (Young ve Morris 1927). Patojen, önce eski Yugoslavya’da sonra diğer doğu Avrupa ülkelerinde 1940’lı yıllardan sonra görülmeye başlanmıştır (Sacston 1992, Oksal 2014).

Oksal (2014)’ın bildirdiğine göre etmenin **Türkiye’de** varlığı ilk kez 1958’de Sakarya’da Karel tarafından 1958 yılında ortaya konmuştur. Ülkemizde ayçiçeği mildiyö hastalığı halk arasında “Köse” ismiyle bilinmektedir (Oksal, 2014).

Plasmopara halstedii içerisindeki patojenik formların mevcudiyeti ilk olarak mildiyöye dayanıklı ayçiçeği çeşitlerinin kullanımından sonra ortaya çıkmıştır. Başlangıçta fungusun 2 farklı patotipi tespit edilmiştir. Bunlar; Avrupa ırkı olarak bilinen patotip 1, Kuzey Amerika’nın Red River vadisinden adını alan red river ırkı olarak bilinen patotip 2’dir. Kuzey Amerika kıtasından farklı yeni ırkların rapor edilmesine rağmen 1988 yılına kadar Avrupa’da sadece patotip 1 tespit edilmiştir. Şu ana kadar çeşitli ülkelerden çok sayıda patotip rapor edilmiştir (Gulya ve ark. 1991, Molinero-Ruiz ve ark. 2002, Gulya 2007, Oksal 2014, Spring 2019,).

Ayçiçeği mildiyösü’nün ırklarının tespiti için Gulya ve ark. (1998) ve Tourvielle ve ark. (2000) tarafından ortaya konulan 3’lü kod sisteminden önce çeşitli ülkelerdeki araştırmacılar farklı ırk ayırıcı hatlar kullanarak *Plasmopara halstedii*’nin aynı ırklarına farklı isimler vermişlerdir. Gulya ve ark. (1998) ve Tourvielle ve ark. (2000) tarafından yeni patotip sayısındaki artış ve araştırmacıların karşılaştığı sorunların çözümüne yönelik olarak daha kesin, kıyaslanabilir bir yöntem olan, patojenin virülensliğini hedef alan ve 3 x 3 ırk ayırıcı hatları temel alan 3’lü kod sistemi geliştirilmiştir. *Plasmopara halstedii*’nin ırklarının coğrafik dağılımı Gulya tarafından 2007 yılında yayımlanmış ve 36 ırkının olduğu belirtilmiştir. 2020 yılında yapılan çalışmalarla mildiyönün 50 ırkı olduğu bildirilmektedir (Spring, 2019).

Ülkemizde ayçiçeği mildiyö ırk çalışmaları 2014 yılında Oksal tarafından Trakya Bölgesi olarak Edirne'den, Batı Karadeniz Bölgesi olarak Samsun'dan, İç Anadolu Bölgesi'nden Ankara, Kırklareli, Yozgat illerinden ve Doğu Akdeniz Bölgesi olarak sadece Adana'dan bir örnek alınarak ırk çalışması yapılmıştır. Adana Ceyhan ilçesinden alınan bir örneğin 100 nolu ırk olduğu saptanmıştır. Mildiyö etmenleri her yıl yeni ırklar geliştirdikleri için 2014 yılından 2021 yılına kadar geçen surede yeni ırklar gelişebileceğinden Adana ilini kapsayacak şekilde 4 farklı bölgeden hastalıkla infekteli bitkiler toplanarak olası diğer ırklarının saptanması bu çalışmanın temel amacını oluşturmaktadır. Diğer taraftan ayçiçeği mildiyö etmenlerinin moleküler analizi konusunda Türkiye'de hiçbir çalışma olmaması da ikinci bir hedef olarak bu tez çalışmasının konusu olmuştur.

Bu amaçla;

- Adana ili ayçiçeği üretim alanlarını kapsayacak şekilde 4 farklı yön ve ilçelerde survey çalışması
- Mildiyölü yaprak örneklerinden izolatların saflaştırılması ve tek spor kültürlerinin yapılması
- Toplam 20 mildiyö izolatının ayçiçeği ırk ayırımı seti üzerinde ırk belirleme çalışmalarının yapılması
- Belirlenen ırklarda moleküler tanılama analizlerinin yapılması bu tez kapsamında çalışılmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Dünyada *Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et de Toni Üzerine Yapılan Çalışmalar

Farlow isimli araştırmacı 1883 yılında *Peronospora halstedii*'yi *Eupatorium purpureum*, *Bidens frondosa*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Rudbeckia laciniata*, *Silphium terebinthaceum* ve çok yıllık *Helianthus* türleri olan *Helianthus strumosus*, *H. tuberosus* ve *H. doronicoides* (*H. mollis* x *H. giganteus*) üzerinde tanımlamıştır. Halsted 1876'da *Eupatorium purpureum*da Bussey enstitüsünün yakınında bulunduğu örnek ile *H. tuberosus* (farlow herbaryum no:79107)'da bulunan örneğin aynı olduğunu bildirmiştir.

Schröter (1886) *Plasmopara* ile *Peronospora*'nın farkının zoospor çimlenmesinde çim tüpleri yerinin farklı yerlerde oluşturduğunu bulmuştur. Daha sonra Berlese ve De Toni (1888) bu etmeni *Plasmopara halstedii* (farl.) Berlese et de Toni adı altında yeni bir tür olarak *Plasmopara* içine transfer etmişlerdir. Tüm Compositae üyesi bitkilerde *Plasmopara halstedii*'nin olduğu varsayılmaktadır (Nishimura, 1922).

Young ve Morris (1927), ayçiçeği bitkisinde *Plasmopara halstedii*'yi ilk kez Amerika'da Indiana, Iowa, Newyork ve Minnesota eyaletlerinde rapor etmişlerdir. Ayçiçeği mildiyösüne *Plasmopara halstedii*'nin neden olduğunu, fide aşamasında infekte olan bitkilerin bodurlaştığını ve yaprakların aşağı doğru kıvrılarak alt yüzeyinde beyaz renkli konidiaların geliştiğini bildirmişlerdir.

Cohen and Sackston (1974), tarlada doğal olarak *Plasmopara halstedii* ile infekte olmuş ayçiçeklerinin tohumlarında etmenin oosporlarını gözlemlediklerini ve bu tohumlardan elde edilen bitkilerin simptom göstermediğini bildirmişlerdir. İnfekteli tohumlar ekilip 20°C'de yetiştirildiğinde bitkilerin %14-89 oranında enfeksiyon meydana getirdiğini tespit etmişlerdir.

Gulya ve ark. (1991a,), Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika'da ayçiçeği mildiyö patojeninin (*Plasmopara halstedii*) yeni ırkları üzerine yapmış oldukları

çalışmalarında *Plasmopara halstedii*'nin Arjantin'de ırk 3 ve ırk 7'nin, Fransa, Macaristan ve Bulgaristan'da, ırk 4'ün, Kanada ve Fransa'da, ırk 6'nın bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 11 ülkeden toplam 33 ticari hibritte gerçekleştirdikleri çeşit reaksiyonunda test sonucuna göre 33 ticari hibridin % 70'nin ırk 2'ye karşı dayanıklı, % 27'sinin ise ırk 6'ya karşı dayanıklı olduğunu bulmuşlardır. Ancak test edilen çeşitlerin ırk 4'e karşı dayanıklı olmadığını bildirmişlerdir.

Mouzeyar ve ark. (1993), ayçiçeği mildiyösü etmeni *Plasmopara halstedii*'nin ayçiçeği fidelerinin infeksiyonu üzerinde histopatolojik çalışmalar yapmışlardır. Araştırmacılar hassas ve dayanıklı hatlar üzerinde yaptıkları araştırmada köklerden ve hipokotilden fungusun penetrasyon yaptığını gözlemlemişlerdir. Hassas ayçiçeği hatlarında parazit fungusun hiflerinin intersellüler, haustorium'unun ise intrasellüler gelişme göstererek bitkiyi sistemik olarak istila ettiğini, dayanıklı bitkilerin ise etmeni parankima dokusunda sınırlandırarak hipersensitif reaksiyon ve nekrotik bölgeler oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Rashid (1993), Manitoba ve Saskatchewan'da *Plasmopara halstedii*'nin ayçiçeği tarlalarında görülme sıklığı 1988'de % 6' ken 1990 ve 1991'de % 20' den daha fazla olduğunu tespit etmiştir. Tarla başına hastalıklı bitki oranı 1988'de % 1'den az iken 1990'da % 30'a yükselmiştir. 1988'den önce ırk 1 ve 2'nin baskın olduğu 1988 ve 1989 yıllarında 5 kültürde sadece ırk 3 ve ırk 4 saptanmıştır. 1990-1991'de kültürlerin % 35 ile % 45'inde ırk 3 ve ırk 4'ün olduğu, ayrıca bu yerlerde ırk 1, 2, 6 ve 7'nin varlığı da bildirmiştir.

Cachinero ve ark. (1996), kitinaz ve 1, 3-glukanaz aktivitelerini mildiyöye karşı dayanıklı ve hassas olan ayçiçeği çeşitlerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarında test etmişlerdir. Ayçiçeği çeşitlerinin *Plasmopara halstedii* ile inoküle edilmesi, hem kitinaz hem de 1,3-glukanaz aktivitelerinde belirgin bir artış ile sonuçlanmıştır. En yüksek 1, 3-glukanaz aktivitesinin köklerde, kitinaz aktivitesinin ise hipokotillerde olduğunu tespit etmişlerdir.

Gulya ve ark. (1991), birkaç Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika ülkelerinden *Plasmopara halstedii* koleksiyonları, ırkları belirlemek üzere bir dizi ayçiçeği hattını inokulasyon yapmak için kullanmışlardır. Arjantin'de ırk 3, Fransa, Macaristan ve Bulgaristan'da ırk 4, Kanada ve Fransa'da ırk 6 belirlenmiştir. Bu çalışma, Güney Amerika'daki ırk 3'ün, Avrupa'da ırk 4'ün ilk raporu ve aynı zamanda ırk 6 ve 7'nin ilk tespitidir. Bu çalışmada 11 ülkeden toplam 33 ticari hibrit ayçiçeği test edilmiş olup, bunlardan % 70'nin ırk 2'ye karşı dayanıklı, % 27'sinin ırk 6'ya karşı dayanıklı olduğunu ancak ırk 4'e karşı hiçbirinin dayanıklı olmadığını tespit etmişlerdir. *Plasmopara halstedii* 'ye dayanıklı hibritlerin üretiminde tüm 7 mildiyö ırkına dayanıklı USDA (United States Department of Agriculture) hatları HA-335, HA-336, HA-337, HA-338, HA-339, RHA-340, HA-R4 ve HA-R5'in kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Gulya ve ark. (1998), *Plasmopara halstedii* ırklarının farklılıklarını tanımlamak için USDA (United States Department of Agriculture) ve INRA (Institut national de la recherche agronomique) tarafından geliştirilen dokuz hattan oluşan ayçiçeği setinin kullanılması önerilmektedir. Buna ilaveten kısa ve kullanımı kolay bir üçlü kod kullanan bir isimlendirme sistemi de sunulmuştur. Irkların net bir şekilde adlandırılması birleştirilmiş üçlü kodlama sisteminin ve dokuz hattan oluşan setin tüm dünyada kullanılması ile mümkün olacağını bildirmişlerdir.

Meliala ve ark. (2000), *Plasmopara halstedii* 'nin sekonder infeksiyonunu kontrollü koşullar altında ve tarla koşullarında ayçiçeğinin çeşitli büyüme evrelerinde incelemişlerdir. Sekonder infeksiyonun, yaprak dokularında veya çiçek tomurcuğu üzerinde oluşabildiğini, 28 ve 42 günlük bitkilerde yapay infeksiyon sonrası simptomların, çiçek açmada doğal olarak istila edilmiş ayçiçeğinde görülen belirtilere tekabül ettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca *Plasmopara halstedii* ile bitkilerin sekonder infeksiyonu ile ilgili olarak 7-14 gün yaşları arasında infekte olursa bitki kaybı olacağını, 28 günlük yaşta infekte olursa bitkilerin tohum oluşturmayacağını,

35 veya 42 günlük yaşta infekte olursada bitkilerin az miktarda kontamine tohum üretebileceğini bildirmişlerdir.

Tourvieille ve ark. (2000), altı ülkedeki patoloğlar tarafından ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii*) ırklarını tanımlamak üzere dokuz hattan oluşan standart bir set için bir öneride bulunmuşlardır. Buna ilaveten kısa ve kullanımı kolay bir üçlü kod kullanan bir isimlendirme sunmuşlardır. Daha önce kullanılanların yerine yeni isimlendirme kullanılmıştır (ABD Sistemi: 1, 2,3 Fransız Sistemi: A, B,... ırkları). Patojenin Avrupa ve red river ırkı olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Üçlü kod sistemi eğer hat duyarlı ise sayısal olarak bir değer atamaktadır. Üçlü bir grubun ilk hattı duyarlı ise, "1" değerini; İkinci hat duyarlı ise "2" değerini ve eğer üçüncü hat duyarlı ise, "4" değerini vermektedir. izolatin "ırk adı", üç basamaklı kod, hattın her üç setinden bir basamak içerecek şekilde oluşturulmaktadır. Yani ırk numarasının yüzler basamağını set 1, onlar basamağını set 2, birler basamağını ise set 3 oluşturmaktadır. Şu anda 10 ırk (100, 300, 310, 330, 700, 703, 710,711, 730 ve 770) üçlü kod sistemine göre tanımlanmıştır.

Çizelge 2.1. Üçlü kod sistemi ile ırk belirleme (Tourvieille ve ark, 2000)

Irk Ayırıcı Hatlar	1			Toplam	2			Toplam	3			Toplam	Irk Numarası
	D1 HA89	D2 RHA 265	D3 RHA 274		D4 DM-2	D5 PMI- 17	D6 803-1		D7 HAR- 4	D8 HAR-5	D9 HA335		
Değeri	1	2	4		1	2	4		1	2	4		
Avrupa Irkı	H	D	D		D	D	D		D	D	D		
	1 +	0+	0=	1	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Red River Irkı	H	H	D		D	D	D		D	D	D		
	1+	2+	0=	3	0+	0+	0=	0	0+	0+	0=	0	300
IRK?xyz?	H	H	H		H	D	H		D	H	D		
	1+	2+	4=	7	1+	0+	4=	5	0+	2+	0=	2	752
	X				Y				Z				XYZ
H: Hassas, D: Dayanıklı													

Molinero-Ruiz ve ark. (2002), 1994 yılından 2000 yılına kadar İspanya'da infekteli ayçiçeği tarlalarından toplanan bitkilerden elde ettikleri izolatlarda *Plasmopara halstedii* 'nin 9 farklı ırkını tespit etmişlerdir. Irk 1'in merkezi İspanya'da bulunan en yaygın ırk olduğunu, ırk 4, 6 ve 7'nin güney İspanya'da yaygın olan ırklar olduğunu bildirmişlerdir.

Molinero-Ruiz ve ark. (2003), *Plasmopara halstedii*'nin neden olduğu ayçiçeği mildiyösünün üretimde % 80'den fazla ürün kaybına neden olabileceğini ve fungusun İspanya'da 100, 300, 310, 330, 710, 703, 730 ve 770 ırklarını tespit ettiklerini bildirmişlerdir. 310 ırkı ülkenin güneydeki ana ayçiçeği yetiştirme bölgesinde görülüyor iken ırk 703'ün yüksek virulensliği kuzeydoğusunda görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Tosi ve Beccari (2007), patojenin dağılımını ve ırk değişimini izlemek için İtalya'nın orta kesimlerinde 92 hektarlık alanda 2006 yılında yaptıkları ayçiçeği mildiyösu sürveylerinde on iki tarladan sadece 5 tanesinde enfeksiyona rastladıklarını ve enfeksiyonun görüldüğü tarlalardaki ayçiçeği bitkilerinde yaprak klorozu, cücelik ve yaprak alt yüzeylerinde sporulasyon olduğunu tespit etmişlerdir. İzolasyon sonucunda elde ettikleri 3 izolatin ırk tespitini yapmışlar ve bu izolatların *Plasmopara halstedii* 'nin 700 ve 704 nolu ırklar olduğunu bildirmişlerdir. Tespit ettikleri ırklar ile yaptıkları deneme sonucunda fungusit (Metalaxyl-M) uygulaması yapılmayan tohumları kullandıklarında enfeksiyon oranının % 84-89, fungusit uygulanan tohumlarda enfeksiyon oranının % 8-17 oranında olduğunu belirtmişlerdir.

Heller- Dohmen ve ark. (2008), ayçiçeği mildiyö etmeninin patojenitesi üzerinde virion oluşumunu ve potansiyel viral etkiyi araştırmak için *Plasmopara halstedii* 'nin sekiz adet patotipinde çalışmışlardır. Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika'daki sekiz ülkeden elde ettikleri 26 *Plasmopara halstedii* izolatındaki 23 tanesinde etmeni transmisyon elektron mikroskobu ile tespit etmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda *Plasmopara halstedii* izolatlarının viryonlarını morfolojik ve biyokimyasal olarak karakterize ederek birbirleriyle de karşılaştırma

yapmışlardır. Konukçularının patotipleri, izolatın coğrafi orijini ve metalaxyl fungusitine karşı duyarlılığı ne olursa olsun, elde edilen viral karakterlerin aynı olduğunu bildirmişlerdir.

Spring (2008), *Plasmopara halstedii* ile sekonder olarak ayçiçeğinin sistemik infeksiyonu ve patojenin epidemiyolojisi üzerine yapmış olduğu çalışmada daha önce ayçiçeğinin yetiştirilmediği toprakta süs amaçlı yetiştirilen bir ayçiçeği tarlasında *Plasmopara halstedii* ile doğal infeksiyonlu ayçiçeklerini tespit etmiştir. Nisan ve Temmuz ayları arasında ardışık 5 tarla parselinde farklı gelişim aşamalarındaki bitkilerde lokal ve sistemik infeksiyonları gözlemlemiştir. İnfeksiyonun havadan zoosporangiumlar ile kaynaklandığını, tarla geçmişi, patojenik simptomlar, infeksiyonun zaman süreci ve gövdedeki miselyum dağılımının mikroskopik incelemesinden çıkarttığını bildirmiştir. Sonuç olarak Orta Avrupa'daki tipik hava koşullarında süs ayçiçeği yetiştiriciliğinde, lokal infeksiyondan sistemik infeksiyona geçiş için yüksek bir potansiyel bulunduğunu, ekonomik ve epidemiyolojik olarak ayçiçeği mildiyösünün yalnızca toprak kökenli infeksiyonlarından kaynaklanmadığını, hava kaynaklı ikincil infeksiyonların bitkinin tüm gelişim aşamalarında ve tüm organlarında meydana gelebildikleri için geç sistemik infeksiyona sebep olarak patojeni gelecek mevsime taşıyan kontamine tohumların üretiminde rol oynayabileceğini bildirmiştir.

Nandeeshkumar ve ark. (2009), ayçiçeğinde *Plasmopara halstedii* 'nin neden olduğu mildiyöye karşı dayanıklılık gelişimi, β -amino bütirik asit (BABA) ile işlem sonrası incelemiştir. Ayçiçeği tohumlarının 50 mM BABA ile işlem görmesi hastalık şiddetinin azalmasına ve serada % 47, arazi koşullarında ise % 50 koruma sağladığını tespit etmişlerdir. BABA tarafından *Plasmopara halstedii* 'ye karşı direnç oluşturulması, duyarlı ayçiçeği fidelerinde çeşitli konukçuda savunma ile ilgili enzimlerin birikimi ile birlikte olmuştur. BABA ile işlem görmüş tohumlardan yetiştirilen ayçiçeği fidelerinin sırasıyla 6 saat, 9 saat, 12 saat inokülasyonu sonrasında, katalaz aktivasyonu, fenilalanin amonya-liyaz (PAL),

kitinaz (P3), peroksidaz (POX) ve polifenol oksidaz (PPO) miktarında artış gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Mounira ve ark. (2011), Beja'da 2010 yılı ilkbaharında yapmış oldukları surveylerde ayçiçeğinin yetiştirildiği birçok bölgenin ayçiçeği mildiyö patojeni olan *Plasmopara halstedii* ile bulaşık olduğunu izlemişlerdir. Daha sonra 2010 yılında *Plasmopara halstedii* etmenini enfeksiyonlu ayçiçeği tohumlarından elde ederek Metalaxyl, %64Mancozeb+%4Metalaxyl-M, %80 Fosetyl-Al, ve Mancozeb (800g/kg) (WP) olmak üzere dört fungusit reaksiyonunun patojenin virülensliğini nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Yapmış oldukları çalışmada bu fungusitlerin, kontrol grubuna kıyasla fungusların koloni gelişimini önemli ölçüde azalttığını, Metalaxyl, Mancozeb 800g/kg (WP) ve %80 Fosetyl-Al ile miselyal büyümesinde belirgin azalma elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Sakr (2010), morfolojik ve genetik değişkenliklerin yanı sıra patojenite değişikliklerine ilişkin çalışmaları *Plasmopara halstedii*'nin çeşitli ırklarına ait izolatları ile gerçekleştirmiştir. Çalışmada yüksek seviyede kantitatif direnç gösteren bir ayçiçeği hattını patojenin saldırganlık düzeyini belirlemede kullanılmıştır. Patojen izolatları arasında genetik ilişkiler 12 EST markörü kullanılarak tespit edilmiştir. Saldırganlık kriterleri için patojen izolatları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. *Plasmopara halstedii*'nin kullanılan ayçiçeği hattına karşı virülans ve saldırganlık reaksiyonuna dayanarak, 100 ve 3xx ırklarının daha agresif ve daha az virülant izolatlar, 7xx ırklarının daha az agresif ve daha virülant izolatları olmak üzere iki grup olduğunu belirtmiştir. Irk 714, 704 ve 314'ün genetik pozisyonu ırk 100 ve ırk 710 arasında tespit edilmiştir. Ayrıca, *Plasmopara halstedii*'de saldırganlık ile oval zoosporangium canlılığı arasında ilişki olduğu sonucuna varılmıştır. Patojenite özellikleri ile EST genotipleri arasında herhangi bir korelasyon tespit edilmemiştir.

Radwan ve ark. (2011), konukçu-patotip kombinasyonuna bağlı olarak tip 1 dayanıklılık ve tip 2 dayanıklılık olmak üzere ayçiçeği-*Plasmopara halstedii* uyumsuzluk reaksiyonu tanımlanmıştır. Tip 1 dayanıklılığı bitkinin hipokotillerinin

bazal bölgesinde patojenin büyümesini sınırlayabilmiştir. Tip 2 dayanıklılığı patojenin bitkinin kotiledon yapraklarına ulaşmasına izin vererek hipokotillerin büyük bir kısmının patojen tarafından istila edilmesine ve aşırı duyarlılık reaksiyonu göstermesine neden olmuştur. Yarı kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile (PZR) Tip 1 dayanıklılığına sahip bitkilerin kotiledonlarında patojen tespit edilmemiş olmasına rağmen Tip 2 dayanıklılığına sahip bitkilerin kotiledonlarında patojen tespit edilmiştir. Enfeksiyondan 6 ve 12 gün sonra duyarlı bitkilerin kotiledonlarında bol miktarda patojen gelişmiştir. Bu, patojen büyümesinin konukçu-patojen kombinasyonuna göre farklılık gösterdiğini göstermektedir. Araştırmacılar çalışmalarında ayçiçeği dayanıklılık genleri hakkında daha fazla bilgi almak için PLARG geni (Tip 1 dayanıklılık) ve P114 geni (Tip 2 dayanıklılık) ile ayrılan RGC151 ve RGC203'ün tam uzunluktaki cDNA'ları klonlanmış ve nükleotid dizilimi belirlenmiştir. Sekans analizleri, RGC151'in Toll/interlökin-1 reseptör (TIR) nükleotid bağlanma sahası lusun bakımından zengin tekrar (NBS-LRR) sınıfına ait olduğunu, RGC203'ün ise sarmal (CC) - NBS-LRR sınıfına ait olduğunu ortaya çıkarmıştır. Çalışma sonucunda tip 1 dayanıklılığını kontrol edebilen TIR-NBS-LRR genleri yerine tip II dayanıklılığının *Plasmopara halstedii* tarafından enfeksiyon üzerine geliştirilmiş CC-NBS-LRR gen transkriptleri tarafından kontrol edilebileceğini bildirmişlerdir.

Sakr (2011), *Plasmopara halstedii* 'nin yedi (100, 300, 304, 314, 704, 710 ve 714) ırkında virülenslik düzeylerini incelemiştir. Yüzde enfeksiyon oranı, latent dönem, sporulasyon yoğunluğu ve hipokotil uzunluğunun azalması (cücelik) gibi saldırganlık kriterleri, yüksek seviyede kantitatif dayanıklılık gösteren bir ayçiçeği kendilenmiş soyunda analiz edilerek 12 EST markörü ile patotipler arasındaki genetik ilişkiler tespit edilmiştir. Irklar arasında, 100, 300, 304 ve 314 ırklarının 710, 704 ve 714 ırklarına göre daha kısa latent dönem geçirdiği ve daha yüksek sporulasyon yoğunluğuna sahip olduğu tespit edilmiştir. 314 dışındaki tüm ırklarda fide uzunluğunda büyük bir azalmaya neden olmuştur. Irk 714, 704 ve 314'ün

genetik pozisyonu ırk 100 ile ırk 710 arasında tespit edilmiştir. Araştırmacı agresiflik ile genotipler arasında hiçbir korrelasyonun olmadığını bildirmiştir.

Sakr (2013), *Plasmopara halstedii*'nin farklı ırklarında 35 adet izolatu patojenisite, morfolojik ve genetik varyasyon açısından incelemiştir. Çalışmada etkili Plgen taşıyan ayçiçeği hibritlerinde virülens spektrumu analiz edilmiştir. Yüksek seviyede kantitatif dayanıklılık gösteren bir ayçiçeği hattını kullanılmıştır. İzolatların virülens spektrumunda farklılıklar saptanmıştır. Herbir izolat için saldırganlık indeksi hesaplanmış; 100 ve 3xx ırklarının daha agresif izolatlar ve 7xx ırklarının daha az agresif izolatlar olarak iki grup ortaya çıkarmıştır. Zoosporangium ve sporangifor morfolojisinde önemli morfolojik farklılıklar bulmuştur. Patojen izolatları arasında genetik ilişki 12 EST markörü kullanılarak tespit edilmiş ve 35 adet *Plasmopara halstedii* izolatu arasında 5 multilokus genotipi (MLG) belirlenmiştir. Ancak morfolojik, genetik karakterler ve saldırganlıkları arasında hiçbir korrelasyon saptanmamıştır.

Sedlářová ve ark. (2013), 2007–2012 yılları arasında Çek Cumhuriyeti'nin 128 bölgesinde *Plasmopara halstedii*'nin dağılımı ve şiddetine ilişkin ilk ayrıntılı çalışmalar yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda ülkenin güneydoğusundaki (Orta ve Güney Moravya) ve orta kısımlarındaki (Doğu ve Orta Bohemya) yedi bölgeden sadece dört bölgede patojeni kayıt altına almışlardır. *Plasmopara halstedii*'nin görülme sıklığını deneysel tarla alanlarında % 87, ticari alanlarda % 4 ve özel hobi bahçelerinde % 1 oranında tespit etmişlerdir.

Viranyi ve ark. (2015), ayçiçeği mildiyö etmeni *Plasmopara halstedii* 'nin zamanla yeni patojenik ırklar üretme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. *Plasmopara halstedii* ırk kompozisyonundaki değişiklikler ilk kez 2007'de gözden geçirilmiş olsa da, o zamandan beri patojen virülens karakterini dramatik bir şekilde değiştirmeye devam etmiştir. Bu nedenle, Kuzey ve Güney Amerika ve Avrupa'daki patojen populasyonlarındaki zamansal ve mekânsal değişiklikleri hesaba katarak *Plasmopara halstedii* 'nin patojenik çeşitliliği hakkındaki bilgilerin güncellenmesi için 2007 ve 2013 yılları arasında güncel yayınlara ve kişisel iletişimlere dayanarak bir çalışma yapılmıştır. Makale konferans sunumu ve

raporların yanı sıra ayçiçeği üreten ülkelerin çoğundan ayçiçeği patolojileri ile kişisel iletişime dayanarak, Avrupa'da en az 24 *Plasmopara halstedii* ırkı ve Amerika'da 40 ırk son 7 yıl içinde tespit edilmiştir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. *Plasmopara halstedii* 'nin Dünya'daki Dağılımı (Viranyi ve ark.2015)

IRK	ARJ.	KAN.	ABD.	BUL.	ÇEK	FR.	ALM.	MAC.	İTA.	ROM.	RUS.	SIR.	İSP.	TÜR.	TOTAL
100		Y	X,Y	X		X	X,Y	X,Y	X	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y		10+8
120		Y													0+1
300	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y		X	X,Y	X	X	X,Y	X,Y		X,Y	X	12+8
304						X,Y									1+1
307						X,Y									1+1
310		X					X,Y			Y	X,Y		X,Y		4+4
314			Y			X,Y									1+2
320		Y					Y								0+2
321		Y													0+1
323		X													1+0
330	X,Y		X	X,Y			X,Y	X,Y		X,Y	X,Y		X,Y	X	9+7
331		Y													0+1
333		X													1+0
334		Y	Y			X,Y									1+3
500															
502															
560															
563															
700		X,Y	X,Y	X,Y	Y	X		X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X	11+10
702		X,Y													1+1

Çizelge 2.2'in devamı

IRK	ARJ.	KAN.	ABD	BUL.	ÇEK	FR.	ALM.	MAC.	İTA.	ROM.	RUS.	SIR.	İSP.	TÜR.	TOTAL
703		X,Y	X			X,Y			X,Y				X,Y	X	6+4
704			Y		Y	X,Y		Y	Y						1+5
707						X,Y									1+1
710	X,Y	X	X,Y		Y	X,Y	X,Y	X,Y		Y	X,Y		X,Y	X	9+9
713			Y											X	1+1
714			Y		Y	X,Y		Y							1+4
717						X,Y									1+1
720		Y													0+1
721				Y											0+1
722		X,Y													1+1
723		X,Y													1+1
730	X,Y	X,Y	X,Y		Y	X,Y	X,Y	X,Y		X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X	11+11
731		X		Y											1+1
732		X,Y	X,Y												2+2
733		X,Y	X,Y												2+2
734			Y												0+1
735			Y												0+1
737			Y												0+1
740			X,Y												1+1
743		X													1+0
750							Y								0+1
754			Y												0+1
770	X,Y	X,Y	X,Y		Y	Y	X,Y						Y	X	5+7
772		X,Y	X,Y												2+2
773			Y											X	1+1
774			Y			Y									0+2
TOTAL	5+5	17+18	12+21	4+5	0+6	14+13	7+9	6+7	4+3	5+7	7+7	3+3	8+9	9+0	
* X : 2007 yılından önce, Y : 2007 yılından sonra tespit edilen anlamına gelmektedir. **ARJ.-Arjantin; KAN.-Kanada; ABD.-Amerika Birleşik Devletleri; BUL.-Bulgaristan; ÇEK.-Çek Cumhuriyeti; FR.-Fransa; ALM.-Almanya; MAC.-Macaristan; İTA.-İtalya; ROM.-Romanya; RUS.-Rusya; SIR.-Sırbistan; İSP.-İspanya; TÜR.-Türkiye															

Bu çalışmada toplam 14 ülke araştırılmıştır ve bunlardan sadece üçü (Arjantin, Rusya ve İspanya) iki zaman periyodu arasında, yani 2007'ye kadar ve sonrasında ırk kompozisyonunun çok az değişiklik gösterdiği veya hiç göstermediği yer almaktadır. Diğer ülkelerde de bazı ırkların ortadan kaybolduğu veya bu iki çalışma dönemi arasında yenileri ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, daha önce Çek Cumhuriyeti'nden veya 2007'den sonra Türkiye'den elde edilen hiçbir verinin olmadığı görülmüştür. (Çizelge 2.2). Bu belgede yer alan ülkeler arasında kaydedilen en yüksek patojenik çeşitlilik, 2007-2013 dönemi için sırasıyla 18, 21 ve 13 belgelenmiş ırkla Kanada, ABD ve Fransa'da bulunmaktadır.

Sakr (2015), fenotipik varyasyon (morfolojik ve patojenik karakterler) ve genetik değişkenliği *Plasmopara halstedii* 'nin yedi tane ırkının (100, 300, 314, 710, 704 ve 714) 50 izolatu üzerinde çalışmıştır. Patojen izolatlarında önemli morfolojik, saldırganlık ve genetik farklılıklar olduğunu ancak, zoosporangimların morfolojisi, sporangiofor ve çalışmada kullanılan ırkların patojenik ve genetik özellikleri arasında bir ilişki olmadığını bildirmiştir.

Sedlářová ve ark. (2016), 2014 yılının başlarında Çek Cumhuriyeti'nde tek bir alandan (Podivín, Güney-Doğu Moravya) topladıkları ayçiçeği bitkilerinden *Plasmopara halstedii* 'nin 705 ve 715 ırklarını izole etmişlerdir. *Plasmopara halstedii* patojen karmaşıklığının artmasının beş basamaklı bir kodla yeni bir ırk tanımlamasına yol açtığını bunun neticesinde Çek Cumhuriyeti'nde kaydedilen iki *Plasmopara halstedii* ırkını 705 71 ve 715 71 olarak kayıt altına aldıklarını bildirmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar şimdiye kadar dünya çapında tespit edilen ve rapor edilen en az 42 *Plasmopara halstedii* ırkı olduğunu ve kendi tespit ettikleri ırklar ile bu sayının artarak 44'e yükseldiğinin bildirmişlerdir.

Gilley ve ark. (2016), çalışmanın amacı ırk değişikliklerini ve direnç genlerinin etkinliğini görerek Kuzey Dakota ve Güney Dakota'daki mildiyönün hem yaygınlığını hem de sıklığını belirlemektir. Çalışmada 30 Haziran - 10 Temmuz 2014 ve 8-24 Temmuz 2015 tarihleri arasında Kuzey Dakota ve Güney Dakota'da sırasıyla 105 ve 76 tarlada survey yapılarak 436 izolat toplanmıştır. Bu

izolatlara ek olarak USDA-ARS tohum şirketi personeli tarafından Kuzey Dakota, Güney Dakota, Minnesota ve Nebraska'dan 126 numune göndermiştir. Patojen, diferansiyel sette ve bazı tamamlayıcı diferansiyel hatlarda (RHA 340 (Pl8), RH 419 (PlArg), HA 458 (Pl17), HA DM-1(Pl18), RHA 468 (?), TX16R*(?), RHA 428*(?), RNID (Pl15) gözlenmiştir. Pl16 (% 1) ve Pl13 (% 1) genlerini içeren hatlarda virülenslik minimum oranda bulunmuştur. Pl6 geni içeren hatta virülenslik % 47 olarak tespit edilmiştir. Hem Pl6 hem de Pl8 genlerinde hiçbir izolat öldürücü olmamıştır. PlArg, Pl15, Pl17, Pl18 ve bilinmeyen direnç genlerine sahip diğer iki hattı içeren altı tamamlayıcı hatta hiçbir virülenslik bulunmamıştır. 2014 ve 2015 yıllarında Kuzey Dakota, Güney Dakota, Minnesota ve Nebraska'dan alınan örneklerde 304, 314, 700, 700+, 704, 707, 710, 710+, 714, 717, 730, 734, 770, 774 nolu ırk olmak üzere toplam 11 ırk bulunmuştur. Şu anki başlıca mildiyö ırkları 714, 710 ve 700'dür. Bu ırklardan 304, 707 ve 717 ABD için yeni olduğunu bildirmişlerdir.

Spring (2019), makalesinde Avrupa, Güney Amerika, Asya ve Afrika'ya yayılan Kuzey Amerika kökenli ayçiçeği mildiyösünün rotalarını izlemeyi ve patotiplerin dünya çapındaki çeşitliliğinin güncellenmesini hedeflemiştir. Çalışma sonucunda patotip sayısının 2006'da 35 (Gulya 2007), 2014'te 41 (Virányi ve ark. 2015) ve 2018'de 50'ye (Çizelge 2.3) yükseldiğini bildirmiştir.

Çizelge 2.3. *Plasmopara halstedii* 'nin Dünya'daki Dağılımı (Spring 2019)

<i>Plasmopara halstedii</i> (Farlow) Berlese & de Toni'nin Literatür raporlarına göre Dünya çapında patotip çeşitliliği [x – Gulya (2007)], [y – Virányi ve ark. (2015)], 2015'ten sonra yeni raporlar (z) (Spring 2019)																			
İrk	Kuzey Amerika		Güney Amerika	Afrika		Asya			Avrupa										
	Ca	US	Ar	Mo	SA	Ch	In	Ir	Bg	Cz	Fr	Ge	Hu	It	Ro	Ru	Sp	Se	Tu
100	Y	XY		X	X	X	X	X	X		X	X	XY	X		XY	XY	XY	
120	Y																		
300	XY	XY	XY	X	X	X	X		XY		X	X		X		XY	XY		X
304											XY								
307											XY								
310	X											XY				XY	XY		
314		Y									XY								
320	Y											Y							
321	Y																		
323	X																		
330		X	XY	X	X							XY	XY			X	Y		X
331	Y																		
333	X																		
334	Y	Y									XY					Z			
354												Z							
500				X															
502	X																		
560	X																		
563	X																		
700	XY	XY			X				XY	Y	X	X	XY	XY		XY	XY	XY	X
702	XY																		
703	XY	X			X						XY	(X)		XY			XY	X	X
704		Y								Y	XY		Y	XY					
705										Z							Z		
707											XY								

Çizelge 2.3'ün devamı

<i>Plasmopara halstedii</i> (Farlow) Berlese & de Toni'nin Literatür raporlarına göre Dünya çapında patotip çeşitliliği [x - Gulya (2007)], [y - Virányi ve ark. (2015)], 2015'ten sonra yeni raporlar (z) (Spring 2019)																				
İrk	Kuzey		Güney	Afrika		Asya			Avrupa											
	Ca	US		Ar	Mo	SA	Ch	In	Ir	Bg	Cz	Fr	Ge	Hu	It	Ro	Ru	Sp	Se	Tu
710	X	XY	XY		X						Y	XY	XY	XY			XY	XY	X	X
713		Y															Z		X	X
714		Y									Y	XY								
715											Z									
717												XY								
720	Y												XY							
721										Y										
722	XY																			
723	XY				X															
724														Z						
730	XY	XY	XY	X	X					X	Y	XY	XY	XY			XY	XY	XY	X
731	X																			
732	XY	XY																		
733	XY	XY															Z			
734		Y															Z			
735		Y																		
737		Y																		
740		XY																		
743	X																			
750													Y						X	
754		Y																		
770	XY	XY	XY		X						Y	Y	(XY)	(X)				(X)Y		X
772	XY	XY																		
773		Y																		X
774		Y										Y								
* Almanya'daki patotip durumunda parantez içerisinde belirtilen X ve XY Spring'e ait kişisel gözlemdir. ** 2015'ten sonraki patotiple ilgili ilk rapor koyu renkle yazılmıştır. *** Macaristan ve İspanya'daki (Virányi ve diğerleri 2015) saha izolatlarından tespit edilmemiştir. **** Ca - Kanada; ABD - Amerika Birleşik Devletleri; Arg - Arjantin; Mo - Fas; SA - Güney Afrika; Ch - Çin; In - Hindistan; Ir - İran; Bg - Bulgaristan; Cz - Çek Cumhuriyeti; Fr - Fransa; Ge - Almanya; Hu - Macaristan; It - İtalya; Ro - Romanya; Ru - Rusya; Sp - İspanya; Se - Sırbistan; Tu - Türkiye'yi ifade etmektedir.																				

2.2. Türkiye’de *Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et de Toni Üzerine Yapılan Çalışmalar

Maden (1982)’nin ayçiçeği mildiyösü ile ilgili yaptığı bu çalışmada, Ridomil 25 W.P fungisitinin hem tohum ilaçlaması (300 g/100 kg tohum) hem de yaprak ilaçlaması (200 g/100 lt. su) yapılarak, hastalığın başarılı şekilde önlendiğini bildirmiştir.

Delen ve ark (1985), Ege ve Karadeniz bölgelerindeki topraklardan çıkan *P. halstedii*’nin 6 izolatını fungusitlere duyarlılık bakımından incelemişler ve 6 farklı izolatın duyarlılık açısından farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmalarında 100 g ayçiçeği tohumuna 21 ve 28 µg metalaxyl uygulaması yaptıklarında infeksiyonun engellendiğini, 70 µg metalaxyl uygulaması yaptıklarında infeksiyonun engellenemediğini bildirmişlerdir.

Döken (1987), Erzurum ve çevresinde ilk olarak 1981 yılı Temmuz ayı sonlarında, Pasinler Ovasında Zirai Araştırma Enstitüsü denemelerinde dikkati çeken hastalığın ayçiçeği mildiyösü olduğunu belirlemiştir. O yıl sadece Trakya’dan getirilen ayçiçek tohumlarından oluşan bazı bitkilerde ortaya çıkan hastalığın, 1982 yılında çevredeki çiftçilerin ayçiçek ekim alanlarına da yayıldığını ve yörede ayçiçeklerinde sadece primer sistemik infeksiyonlara neden olan fungusun sekonder infeksiyonlarının oluşmadığını bildirmiştir.

Onan (1988), 1984-1987 yılları arasında yürütmüş olduğu çalışmasında 72 ayçiçeği çeşidi ve hattının kontrollü koşullarda mildiyöye karşı reaksiyonunu belirlemiştir. Daha sonra dayanıklı olarak nitelendirilen çeşitler üzerinde bu reaksiyonu anlamaya yönelik gözlem ve testler yapmıştır. Ayrıca etmenin konukçudaki gelişimi makroskopik ve mikroskopik olarak inceleyerek hastalık oluşumuna etkili faktörleri araştırmıştır. Çalışmasında Trakya, Marmara, Ege ve Karadeniz Bölgelerinin ayçiçeği mildiyösü ile bulaşık alanlarından alınan toprak örneklerinden izole edilen izolatlar, 72 ayçiçeği çeşidi ve hattı ile makro besin elementleri (N,P,K) uygulanmıştır. İnokulum, Vniimk-8931 fideleri üzerinde korunmuştur. Hastalık şiddeti değerlendirilmesi, bitkinin kotiledon ve dört

yapraklı olduğu evrelerde yapılmıştır. Daha sonra ortalama hastalık indeksini hesaplamıştır. Denemesinde izolatların yüksek virulense sahip olduğunu ve izolatlar arasında bazı farklılıkların olduğunu tespit etmiştir. Çeşit reaksiyonlarının belirlenmesinde, çimlendirilen tohumları 10^5 sporangium/ml süspansiyonu ile inokule etmesi sonucunda 72 çeşitten 17 adedinin (Elia, Floram 305, Floram 60, Hyb.219/79/Gi, Hyb.13/80, Mirasol, TTS-H-15, NS-H-17, NS-H-27, Primasol, Rodeo, Romsun-59, Romsun-90, Start, H-1, IS-7775 S ve IS-7116) dayanıklı gruba girdiğini bildirmiştir. Dayanıklı olarak tespit ettiği bitkilerin hipokotil gövde geçiş bölgesinin fungal yayılmaya karşı mekanik bir engel oluşturduğunu belirtmiştir.

Döken (1989), *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl et de Toni tarafından sistemik infekte edilen bitkilerden toplanan tohumların nadiren sistemik mildiyö belirtileri gösterdiğini tespit etmiştir. Bu bitkilerden elde edilen olgunlaşmış tohumlar arasındaki infekteli tohum oranını % 28 bulmuştur. Hilum bölgesinin geliştiği dokulardan yumurtalıklara ilerleyen hiflerin tohum infeksiyonuna neden olduğunu ve infekte olmuş olgun tohumlarda miselyumun, testa ve perikarpın iç tabakasında bulunup embriyoda bulunmadığını bildirmiştir.

Onan ve ark. (1992), 1991 yılında Balıkesir ve Çanakkale illerinde yaptıkları araştırmalarda ayçiçeğinde önem sırasına göre *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Plasmopara halstedii* , *Alternaria* sp., *Puccinia helianthi*, *Verticillium dahliae*, *Rhizopus* sp. ve *Botrytis* olmak üzere 8 fungal patojen tespit etmişlerdir.

Göre (2009), 2007 ve 2008 yılının ilkbaharında, Trakya'daki ticari alanlarda yetiştirilen ayçiçeği bitkilerinin V4 (dört gerçek yaprak) gelişim evresinde *Plasmopara halstedii* 'nin ciddi bir mildiyö oluşumuna neden olduğunu, bazı bölgelerde düşük sıcaklık ve yoğun yağışların etkisiyle hastalığın artarak ürünlerde yaklaşık % 85 oranında verim kaybına neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca araştırmacı etmenin IAPSC (Interafrican Phytosanitary Council) tarafından A1 karantina zararlısı olarak listelendiğini, Avustralya'da büyük bir karantina

zararlısı olarak değerlendirildiğini ve EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization)'nun halen karantina durumunu incelediğini belirtmiştir.

Evcı ve ark. (2011), çalışmalarında, Trakya bölgesinde ayçiçeğinde mildiyönün durumunu belirlemek amacıyla, farklı alanlardan hastalıklı bitkilerden yaprak örnekleri toplayarak Trakya'da tüm mildiyö ırklarının bir karışımını oluşturmuşlardır. Mildiyö spor solüsyonu hazırlanarak HA-460, RHA-419, RHA-340, RHA-436, RHA-437, 6626-A, HA-89, K3-R-SN-3, K3-R-SN-4 ve K3-R-SN-9 ayçiçeği hatlarının tohumlarına spor solüsyonu vasıtası ile hastalık bulaştırılmıştır. Çalışma sonunda HA-89 ve 6626-A hatları hastalığa karşı hassas, RHA-419, RHA-436, RHA-437, RHA-340 ve HA-460 hatlarının ise dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir.

Oksal (2014), ayçiçeği mildiyösü etmeni *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & De Toni'nin Türkiye'deki ırklarının tespiti ve bazı ticari ayçiçeği çeşitlerinin bu ırklara karşı reaksiyonlarının belirlenmesi üzerine çalışma yapmıştır. Çalışmasında Türkiye'nin yoğun ayçiçeği tarımı yapılan Tekirdağ, Edirne, Kırklareli, Ankara, Kırşehir, Kırıkkale, Eskişehir, Bursa, Samsun, Tokat ve Adana illerinde 2010 yılında sürveyler yaparak 65 adet *Plasmopara halstedii* izolatu elde etmiş ve saflaştırmıştır. Irk ayırıcı set kullanılarak *Plasmopara halstedii* izolatlarının ırk tespitleri yapılmış ve ülkemizde etmenin 9 farklı ırkını (100, 102, 110, 300, 500, 502, 510, 702, 712) tespit etmiştir (Çizelge 2.4). Tespit etmiş olduğu ırkların hepsinin Türkiye için ilk kayıt niteliğinde olduğunu 102, 712, 510 ve 110 ırklarının ise dünya için yeni kayıt niteliğinde olduğunu bildirmiştir. Ülkemizdeki bazı ticari ayçiçeği çeşitlerinin *Plasmopara halstedii* 'nin ırklarına karşı durumlarının belirlenmesi amacıyla da ırk tespiti yapılan ve farklı ırkları temsil eden *P. halstedii* izolatları kullanarak ekimi yaygın olarak yapılan (LG 5400 HO, LG 5550, LG 5650 CL, LG 5580, SANAY MR, SANBRO MR, SANBRO, OLEKO, ALHAJA, TRANSOL, BISER CL, SIRENA, COMFETA, ARMADA CL, ES PRIMUS, ES AMIRA ve AITANA) ticari ayçiçeği çeşitlerinin reaksiyonlarını tespit etmiştir. Ticari çeşitlerin etmenin 9 farklı ırkına da

dayanıklılık göstermediğini ancak LG540HO, LG5580, Sanbro MR, Sanay MR, Sanbro ve Comfeta çeşitlerinin sırasıyla 2, 4, 3, 3, 1 ve 2’şer ırka karşı dayanıklılık reaksiyonu gösterdiğini bildirmiştir.

Çizelge 2.4. Türkiye’de tespit edilen *Plasmopara halstedii* Irklarının Dağılımı (Oksal 2014)

IRKLAR/İLLER	ADANA	ANKARA	BURSA	EDİRNE	KIRKLARELİ	SAMSUN	TEKİRDAĞ	TOKAT
100	X	X	X	X	X	X	X	X
102			X					
110				X				
300				X	X		X	
500				X	X		X	
502					X			
510					X			
702					X			
712					X			

Akatlar (2016), bazı ayçiçeği çeşit ve hatlarının ayçiçeği mildiyösüne (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & De Toni.) reaksiyonlarının belirlenmesi ile ilgili bir çalışma yapmıştır. Çalışmasında PR64G46, Sanbro MR ayçiçeği çeşitleri ve HA-460 hattının ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii*)’nın 703 ve 710 nolu ırklarına karşı dayanıklılığının tüm, mildiyö ırklarına hassas (duyarlı) HA-89 hattı ile karşılaştırarak belirlenmesini amaçlamıştır. Çalışmasında Sanbro MR, PR64G46, ayçiçeği çeşitleri ve HA-460 hattını kullanmıştır. Viranyi ve Bartha’nın geliştirdiği hastalık şiddeti değerlendirme skalasına göre hastalık şiddeti değerlendirmesini yapmıştır. Uyguladığı yapay inokulasyon testlerinden sonra, hastalık şiddetini belirtilen skalaya göre hesapladığını bunun sonucu olarak HA-89 hattının 703 no’lu mildiyö ırkına % 47,57 ve 710 nolu mildiyö ırkına % 51,06

oranında duyarlı, HA-460 hattının 703 nolu mildiyö ırkına % 73,06 ve 710 nolu mildiyö ırkına % 78,02 oranında çok dayanıklı, PR64G46 çeşidinin 703 nolu mildiyö ırkına % 92,15 ve 710 nolu mildiyö ırkına % 88,35 oranında çok dayanıklı, Sanbro MR çeşidinin ise 703 nolu mildiyö ırkına % 98,04 oranında ve 710 nolu mildiyö ırkına % 92,15 oranında çok dayanıklı olduğunu tespit ettiğini bildirmiştir.

Hazarhun (2016), ayçiçeği mildiyösü hastalığının (*Plasmopara halstedii*) antagonist funguslarla kontrol olanakları üzerine yapmış olduğu çalışmasında yemeklik soğanda siyah küf hastalığını önleyen AS3 (aflatoksin üretmeyen *Aspergillus flavus* Link), TRIC7 ve TRIC8 (*Trichoderma harzianum* Rifai) izolatları, ve ticari bir mikorrhiza preparatı (MycoZoom-bitki gelişmesini teşvik edici), ayçiçeğinde bitki gelişimi ve *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berlese et de Toni tarafından oluşturulan mildiyö hastalığına karşı etkilerini incelemiştir. Potansiyel antagonistlerle tohum uygulamasında tohumların yüzey sterilizasyonunu yaparak tohumları 1 saat boyunca antagonistlerin konidi süspansiyonları (1×10^7 konidi/ml) içinde çalkalama işlemini gerçekleştirmiştir. Mycorrhiza ile tohum uygulamasının ise firma tarafından önerilen doz ve sürede (0.075 g/100 ml su ve 1 saat) gerçekleştirdiğini belirtmiştir. Ayrıca hastalığın kontrolü testlerinde antagonistlerle 6 saat süreli tohum uygulaması da yapmıştır. Çalışmalarının sonucunda tüm uygulamaların tohum çimlenmesini teşvik ettiğini, uygulamalar arasında TRIC8 bitki boyu, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu, yaprak indeksi ve sayısı yönünden en yüksek değerleri aldığını tespit etmiştir. Kısa süreli yapılan tohum uygulamalarının ise hastalığı düşük oranda engellediğini (<5 %), ancak uzun süreli tohum uygulamalarında TRIC8 ve TRIC7 hastalığı engellemede sırasıyla % 72.22 ve 65.55 oranlarında etkili bulunduğu bildirmiştir.

Er (2018), Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii*)'ne karşı bazı uçucu yağların antifungal etkilerinin belirlenmesi amacıyla acı elma (*Salvia triloba*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), çörek otu (*Nigella sativa*), defne (*Laurus nobilis*), hardal (*Sinapis alba*), ısırgan (*Urtica dioica*), kantaron (*Hypericum*

perforatum), karabaş (*Lavandula stoechas*), kekik (*Thymus vulgaris*), keten (*Linum usitatissimum*), limon (*Citrus limon*), pelesenk (*Lignum dalbergine*), sarımsak (*Allium sativum*), üzüm (*Vitis vinifera*) ve zencefil (*Zingiber officinale*) bitkilerinin farklı kısımlarından elde edilen ticari uçucu yağların % 0.6, % 0.8 ve % 1 konsantrasyonlarını 08-TR-003 ayçiçeği çeşidinde fitotoksik etkileri açısından incelemiştir. Fitotoksite denemeleri sonucunda acı elma, çörek otu, defne, hardal, kantaron, karabaş, sarımsak, üzüm ve zencefil uçucu yağlarının fitotoksik açıdan ayçiçeği bitkisinde önemli bir yan etki göstermediğini bildirmiştir. Yine aynı çalışma içerisinde belirtilen ticari uçucu yağların % 0.2 , % 0.4, % 0.6, % 0.8 ve % 1 konsantrasyonlarda *Plasmopara halstedii* 'nin 771 ve 773 ırklarına karşı yaprak diskleri üzerinde, antifungal etkileri bakımından incelemiştir. Zencefil bitkisinin %1 konsantrasyonun da önemli ölçüde antifungal etki gösterdiğini ve her iki ırka karşı da en etkili uçucu yağ olduğunu tespit ettiğini bildirmiştir. Yaprak disklerinde yapılan denemeler sonucunda antifungal aktiviteye sahip uçucu yağlar olarak belirledikleri çörek otu, hardal, kantaron, sarımsak, üzüm ve zencefilin in vivo denemeler için kullanmıştır. In vivo denemelerinde uçucu yağların % 0.2, % 0.4 ve % 0.6 konsantrasyonları ile tohum uygulaması, yaprak uygulaması ve tohum+yaprak uygulaması yapmıştır. Çalışmasının sonucunda yaprak uygulamasının artan konsantrasyonlarda fitotoksik etkisinin olduğu, sadece tohum uygulamasının kullanılabilir ve pratiğe aktarılabilir olduğu bildirmiştir. Üzüm uçucu yağının % 0.6 konsantrasyonda yapılan tohum uygulamasının her iki ırka karşı da % 90 ve üzeri antifungal etki gösterdiğini tespit etmiştir.

Kılıç (2020), *Plasmopara halstedii* 'ye karşı farklı ayçiçeği ıslah hatlarında ortaya çıkan dayanıklılık mekanizmalarının morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu üzerine çalışmalar yapmıştır. Çalışmasında simptomatolojik testler ve dayanıklılık genlerinin yokluğuna veya varlığına bağlı olarak 9'u dayanıklı (CL 217 R, HAR-5, RHA- 419, RHA- 437, RHA - 443, RHA- 447, K5 R SN-11/2014, K9 R SN: 3/2014, YDRH-SN:7/2014) 3'ü hassas (HA 89, 2517, 9661) toplam oniki farklı ayçiçeği ıslah hattını kullanmıştır. Dayanıklı ve hassas

hatlara ait 12 farklı bitkiden alınan yaprak diskleri üzerinde stoma en, boy ve stoma açıklığı ölçümleri yapmıştır. Çalışmasının sonucunda stomaların en ve boy değerlerinde önemli bir farklılık görülmediğini, RHA 419, K9 R SN: 3/2014, K5 R SN-11/2014 ve CL 217 R dayanıklı hatlarının stoma açıklığı değerleri bakımından diğer hatlara göre oldukça küçük olduğu belirlemiştir. Bunun sonucu olarak etmenin söz konusu hatlarda stomalardan bitkiye girişini güçleştirdiğini ve bu nedenle hastalık gelişiminin engellenmiş olabileceği bildirmiştir.

Kılıç'ın 2020 yılında yapmış olduğu aynı çalışmada 12 farklı hattı (dayanıklı, hassas) yaprak inokulasyonuna tabi tutarak sekonder infeksiyon oranları da değerlendirmiştir. Sekonder infeksiyon değerlendirmesinde floresan mikroskop görüntülerini inceleyerek stomalardan giriş yapan etmenin gözle görülemeyen infeksiyon gelişimi de gözlemlemiştir. Bu aşamada HAR5, RHA419, RHA437, RHA447 dayanıklı hatlarında sporulasyon olmadığını tespit etmiştir. Buna ilaveten stoma ölçümleri ile sporulasyon arasında ilişki olup olmadığını belirlemek amacıyla korelasyon analizi yaptığını ve aralarındaki ilişkinin önemli olmadığını bildirmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma 2017-2021 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı ile Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün Modern Bitki Islahı ve Generasyon Atlası Merkezi bünyesinde yer alan Biyoteknoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Fungus Materyali

Plasmopara halstedii fungus izolatları Adana ilinin yoğun ayçiçeği yetiştiriciliği yapılan dört farklı ilçesinde (Ceyhan, İmamoğlu, Karaisalı ve Sarıçam) bulunan ayçiçeği tarlalarından toplanan hastalık etmeni ile infekteli bitki yapraklarından sağlanmıştır.

3.1.2. Bitki Materyali

Saf patojen kültürü ve tek sporların elde edilmesinde HA89 ayçiçeği hattı, fungus ırklarının belirlenmesinde uluslararası kullanılan ırk ayırıcı bitki hatları seti kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. *Plasmopara halstedii* ' nin uluslararası ırk ayırıcı seti

Tanımlama	Orijinal ismi	Soyağacı	Dayanıklılık kaynağı
D-1	Ha-89 (USDA)	-	Yok
D-2	Rha-265 (USDA)	Peridovik/953-102	953-102 (Kanada)
D-3	Rha-274 (USDA)	HA-119/HA-62	953-88 (Kanada)
D-4	DM-2 (INRA)	selection of PMI-3	Novinka (Rusya)
D-5	PMI-17	PI 406022	? (İran)
D-6	803-1 (USDA)	<i>H. tuberosus</i>	<i>H. tuberosus</i>
D-7	HAR-4 (USDA)	Saenz-Pena 74-1-2	? (Arjantin)
D-8	HAR-5 USDA	QHP-1 (INRA)	Guayacan INRA (Arjantin)
D-9	HA-335 (USDA)	HA-89 x <i>H. annuus</i>	Yabani <i>H. annuus</i>

3.2. Metod

3.2.1. Arazi Çalışmaları

Çalışma kapsamında 2019 yılı içerisinde Adana ilinin 4 farklı ilçesindeki (Karaisalı, İmamoğlu, Sarıçam ve Ceyhan) ayçiçeği tarlaları bitki çıkışından itibaren kontrol edilerek her bir ilçenin merkez ve/veya köylerinde bulunan 20 farklı tarladaki mildiyö semptomu gösteren bitkilerden toplam 100 infekteli bitki örneği alınmıştır (Çizelge 3.2). Alınan örnekler etiketlenip, kese kâğıdı içerisinde buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örnekler daha sonra kullanılmak üzere -80°C’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.2. Adana ili ayçiçeği ekili alanlardaki *Plasmopara halstedii* örneklerinin toplandığı ilçeler ve izolat numaraları

CEYHAN	İZOLAT NO	İMAMOĞLU	İZOLAT NO	SARIÇAM	İZOLAT NO	KARAIŞALI	İZOLAT NO
Gümürdülü	ACPh1	Danacılı	AIPh.1	Buruk-Toki	ASPh1	Söğüt/Tümek	AKPh1
Gümüşdöven	ACPh2	Menteş	AIPh.2	Buruk-Cihadiye	ASPh2	Kocaveliler	AKPh2
Gümüşdöven	ACPh3	Merkez Mah.	AIPh.3	Cihadiye Toplama Kampı arkası	ASPh3	Altınova	AKPh3
Gümüşdöven	ACPh4	Merkez Mah.	AIPh.4	Hasanbeyli	ASPh4	Güvenç	AKPh4
Gümüşdöven	ACPh5	Merkez Mah.	AIPh.5	Hasanbeyli	ASPh5	Karahan	AKPh5

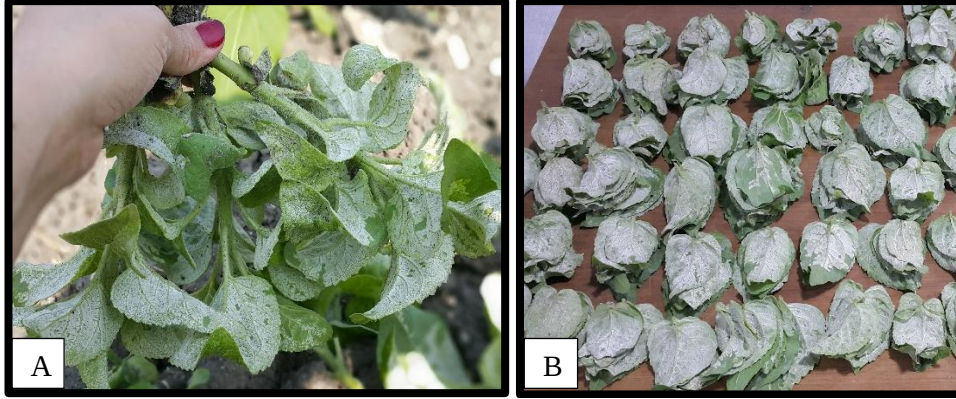
3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları**3.2.2.1. *Plasmopara halstedii* saf kültürlerinin elde edilmesi**

Öncelikle saf patojen kültürü ve tek sporların elde edilmesinde kullanılan hat ve fungus ırklarının belirlenmesinde uluslararası kullanılan ırk ayırıcı bitki hatlarına ait tohumlar az sayıda olduğu için öncelikle tohum çoğaltma işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 3.1).

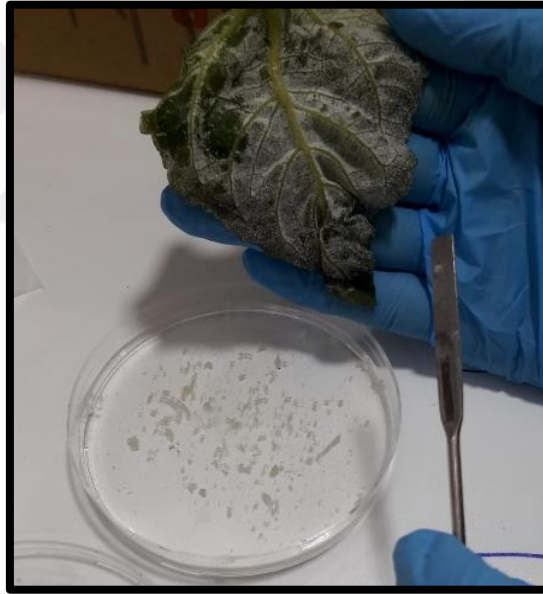
Plasmopara halstedii saf kültürlerinin elde edilmesinde Spring ve ark (1997, 1998)'nın geliştirdiği metod kullanılmıştır. Spring ve ark (1997, 1998)'na göre; -80 °C derin dondurucuda saklanan mildiyö ile infekteli ayçiçeği yapraklarının alt kısmında yer alan sporangiofor ve sporangium'larından oluşan fungal örtü (Şekil 3.2) bir büstri yardımıyla içerisinde 2 ml steril saf su içeren cam petrilere hafifçe kazınarak inokulum solüsyonu hazırlanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.1. Irk ayırıcı bitki hatlarında tohum çoğaltma işlemi A) Tohumların ekimi B) Tohumların çimlenme aşaması C) Çimlenmiş bitkinin yıldız tabla dönemi D) Bitkinin çiçek dönemi



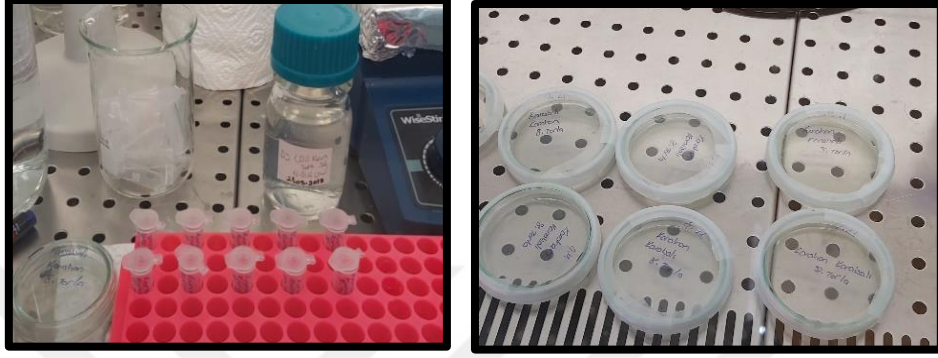
Şekil 3.2. İnfekteli ayçiçeği yapraklarının alt kısmında yer alan sporangifor ve sporangiumlarından oluşan fungal örtü (A), mildiyö izolatlarının depolanması için infekteli yaparak örneklerinin hazırlanması (B)



Şekil 3.3. İnokulum solüsyonunun hazırlama aşaması

Fungus spor süspansiyonundan 100 μ l alınarak 2ml'lik santrüfuj tüplerine aktarılmış ve üzerine daha önceden hazırlanmış olan %1'lik tuz solüsyonundan (1 litre için 1 g agar, 10 μ g/ml rifampicin, 0.5 mM KH_2PO_4 , 0.5 mM, K_2HPO_4 , 0.5

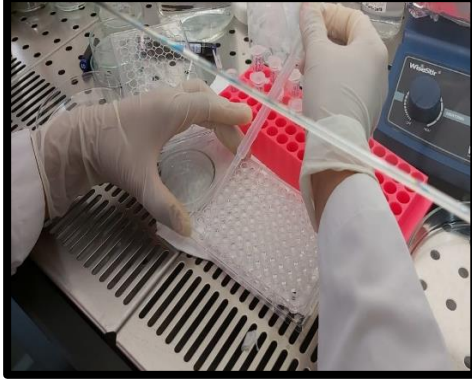
mM $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$, 0.5 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 ,) 1 ml ilave edilerek hafifçe çalkalanmış ve 5-6 cm çapındaki steril plastik petrilere dökülmüştür (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Fungus spor süspansiyonu ve tuz solüsyonu

Fungal inokulumdan petrideki sıvıya geçen sporangiumlar bir pastör pipet yardımı ile alınarak içerisinde 200 μl %1'lik tuz solüsyonu içeren ELİSA pleyti kuyucuklarına aktarılmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa iklim odasında yetiştirilen, yüzey sterilizasyonu uygulanmış HA 89 hattına ait ayçiçeği yaprak veya kotiledonlarından mantar delici ile yaprak diskleri çıkartılarak yerleştirilmiştir (Şekil3. 5).

ELISA pleyti streç film ile kapatılarak 14 saat 18°C'de ışık altında iklim odasında inkübe edilmiştir. İklim odasındaki ELISA pleyti hergün sporulasyon açısından takip edilerek, Ortalama 5-10 gün içerisinde üzerinde sporulasyon meydana gelen diskler, zoospore aktivitesini arttırmak amacıyla 50 ml steril saf su içerisine 25 $\mu\text{g/ml}$ riboflavin ve 2 g/l glikoz eklenmiş 100 ml'lik beherlere transfer edilmiştir. Gelişen bu sporlardan Tek spor tuzaklama amacı ile yüzey sterilizasyonu uygulanmış ayçiçeği tohumları plastik bardaklara ekilerek 25-27°C'de 2-3 gün karanlık koşullarda çimlendirilmiştir (Şekil 3.6).



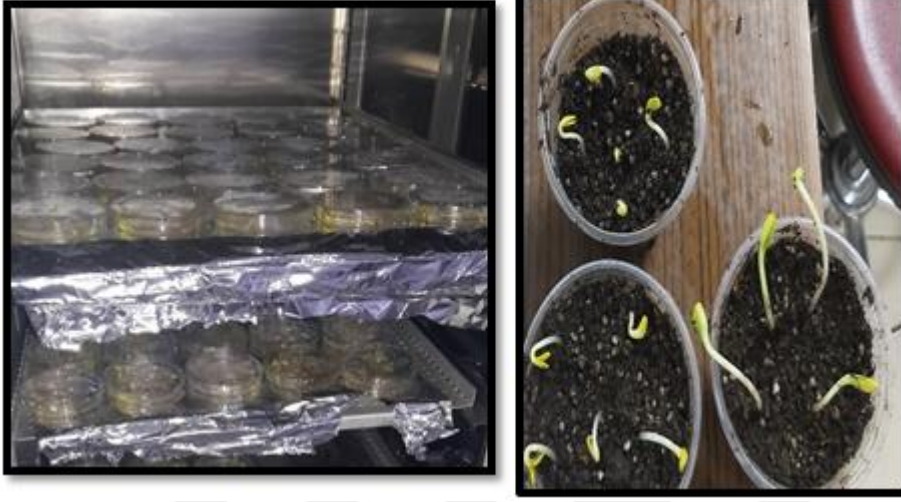
Şekil 3.5. Hassas ayçiçeği (HA89) yaprak/kotiledonlarının ELİSA Pleytine aktarılma işlemi



Şekil 3.6. Hassas ayçiçeği (HA89) tohumlarının çimlenme aşaması

Çimlenen ayçiçeği bitkileri plastik petri kapları içerisinde hazırlanan zoospor solüsyonuna fide daldırma yöntemiyle 18 °C de 4 saat karanlıkta bırakılarak inokule edilmiştir. Bu süre sonunda inokule edilmiş fideler steril perlit/kum (2/3, v/v) içeren 9 cm çaplı plastik bardaklara 5'er adet olacak şekilde ekilerek (Şekil 3.7) 20-24°C ve 12 saat foto periyot içeren bitki yetiştirme odasında ilk gerçek yapraklar gelişinceye kadar (yaklaşık 10–12 gün) yetiştirilmiştir (Şekil 3.8). İlk gerçek yapraklar farekulağı büyüklüğüne ulaştıktan

sonra bitkiler 24-48 saat % 100 nispi nemde 18 °C ve karanlık periyotta inkübasyona bırakılmıştır (Molinero-Ruiz ve ark. 2002).



Şekil 3.7. Ayçiçeği fidelerinin patojen ile inokulasyonu ve plastik bardaklara dikim aşaması



Şekil 3.8. Bitki yetiştirme odasında yetiştirilen ayçiçeği fideleri

Nispi nemi sağlamak ve aynı zamanda nemlendirmek için bardakların içi bir piset yardımıyla steril saf su ile sulanarak bardakların üzeri şeffaf plastik poşet ile kapatılmıştır (Şekil 3.9). Sporulasyonun gerçekleştiği yapraklar ve

kotiledonlarda bulunan zoosporangioforlar bir büstri yardımıyla kazınmış ve fungal inokulum elde edilmiştir (Şekil 3.10). Elde edilen inokulum saf kültür olarak kabul edilerek, izolatlara ait fungal inokulumun kullanılmayan kısmı 1,5 ml’lik eppendorf tüplerde -80 °C’lik derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 3.9. Nispi nemi sağlamak amacıyla fidelerin şeffaf poşet ile kapatılması



Şekil 3.10. Patojenin saf kültürünü elde etmek için sporulasyon olan yapraklardan spor kazıma işlemi

İrk ayırıcı bitki hatlarının *Plasmopara halstedii* ile inokule edilmesi için en az 20 izolattan tek spor kültürü yukarıda bahsedildiği şekilde hazırlanmıştır. İrk ayırıcı 9 bitki hattı her izolatan tek spor kültürü ile inoküle edilmiştir. Çalışma sonunda 1 izolat için (9 bitki hattı x 3 tekrerrür) 27 bitki test edilmiştir. 20 izolat

için $x 27 = 540$ adet bitki kullanılmıştır. Deneme iki kez tekrar edilerek toplam 1080 bitkinin testlemesi yapılmıştır.

3.2.2.2. *Plasmopara halstedii* ırklarının belirlenmesi için Irk Ayırıcı Bitki Hatlarının *Plasmopara halstedii* ile inokulasyonu

Plasmopara halstedii ırklarını belirlemek için Tourvieille ve ark. (2000) tarafından bildirilen uluslararası ırk ayırım seti kullanılmıştır(Çizelge 3.1).

Ayçiçeği mildiyösü ırklarına hassas ayçiçeği hattı (HA 89) üzerinde çoğaltılan *Plasmopara halstedii* 'nin farklı izolatlarına ait sporangium konsantrasyonları thoma lamında belirlenmiş olup 3×10^4 sporangium/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. İnokulum süspansiyonunun içerisine zoospor aktivitesini arttırmak için 25 µg/ml riboflavin ve 2 g/l glikoz eklenmiştir. Irk ayırıcı bitki hatlarının inokulasyonu Molinero-Ruiz ve ark. (2002)'na göre yapılmıştır. Bu kapsamda denemede kullanılan ırk ayırıcı hatlara ait ayçiçeği tohumları yüzeysel sterilizasyon için % 1'lik sodyum hipokloritte (NaOCl) 3 dakika bekletildikten sonra steril destile su ile en az 3-4 kez yıkanmıştır. Bu işlemi takiben her ırk ayırıcı bitki hattından 5 adet tohum içerisinde torf - perlit bulunan şeffaf plastik bardaklara ekimi yapılarak 24 °C, % 60 nem içeren karanlık koşullarda bulunan iklim kabininde çimlendirilmeleri sağlanmıştır. Çimlenen bitki köklerini torf- perlit karışımından uzaklaştırmak amacı ile plastik bardaklar yandan kesilerek bitki kökleri zarar görmeden çıkarılmış ve saf su ile yıkama işlemine tabi tutulmuşlardır. Torf- perlit karışımından uzaklaştırılan ırk ayırıcı bitki hatlarına ait bitkiler plastik petrilere konularak üzerine, hazırlanan spor süspansiyonundan ilave edilmiş ve 16 °C de 4 saat karanlık koşullarda iklim odasında bekletilmiştir. Bu süre sonunda patojen ile inoküle edilen bitkiler, içerisinde torf: kum: perlit bulunan yeni şeffaf bardaklara transfer edilmiştir. Dikimi gerçekleştirilen bitki fideleri 24 °C de % 60 nemde 12 saat karanlık /12 saat aydınlık ortamda ilk yeşil renkli gerçek yaprakları oluşuncaya kadar iklim odasında bekletilmiş ve her gün ortamın nemi kontrol edilerek ihtiyaç duyulması halinde piset yardımı ile bitkilere steril su verilmiştir.

Bu süre sonunda ortamın nemini artırmak ve sporulasyon oluşumunu sağlamak amacıyla bitki bardaklarının bulunduğu karton kutuların üzerine şeffaf poşet geçirilerek 2 gün boyunca yüksek nem kontrollü iklim odasında bekletilmiştir. Bu şekilde yetiştirilen ırk ayırıcı bitkilerden patojen sporulasyonu oluşturanlar mildiyöye hassas (H) (Şekil 3.11) oluşturmayanlar ise dayanıklı (D) (Şekil 3.12) olarak kabul edilmiştir (Çizelge 3.3) (Tourvieille ve ark. 2000).



Şekil 3.11. Mildiyöye hassas (H) bitki



Şekil 3.12. Mildiyöye dayanıklı (D) bitki

Deneme iki tekerrür olacak şekilde yürütülmüştür. İzolatların ırk ayırımı Tourvieille ve ark (2000), tarafından bildirilen üçlü sınıflandırmaya göre yapılmıştır. Üçlü kod sisteminde eğer hat duyarlı ise sayısal olarak bir değer almaktadır. Üçlü bir grubun ilk hattı duyarlı ise, "1" değerini; İkinci hat duyarlı ise "2" değerini ve eğer üçüncü hat duyarlı ise, "4" değerini almaktadır. İzolatın "ırk adı", üç basamaklı kod, hattın her üç setinden bir basamak içerecek şekilde oluşturulmaktadır. Yani ırk numarasının yüzler basamağını set 1, onlar basamağını set 2, birler basamağını ise set 3 oluşturmaktadır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Tourvieille ve ark (2000), tarafından bildirilen üçlü kod sistemi ile ırk belirleme

İrk Ayırıcı Hatlar	1			Toplam	2			Toplam	3			Toplam	İrk Numarası
	D1 HA89	D2 RHA 265	D3 RHA 274		D4 DM-2	D5 PMI- 17	D6 803-1		D7 HAR- 4	D8 HAR-5	D9 HA335		
Değeri	1	2	4		1	2	4		1	2	4		
Avrupa İrki	H	D	D		D	D	D		D	D	D		
	1 +	0+	0=	1	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Red River İrki	H	H	D		D	D	D		D	D	D		
	1+	2+	0=	3	0+	0+	0=	0	0+	0+	0=	0	300
İRK?xyz?	H	H	H		H	D	H		D	H	D		
	1+	2+	4=	7	1+	0+	4=	5	0+	2+	0=	2	752
	X				Y				Z				XYZ
H: Hassas, D: Dayanıklı													

3.2.2.3. *Plasmopara halstedii* İzolatlarının Moleküler Analizi

3.2.2.3.(1). DNA izolasyonu

Genomik DNA ayçiçeği yaprak alt kısımlarında yoğun olarak bulunan sporangium ve sporangioforlardan oluşan saf fungus kütlesi ependorf tüplere 50-100 mg olacak şekilde aktarılmış ve önce sıvı azot içerisinde mavi çubuklarla ezilerek toz haline getirilmiştir. DNA izolasyonu, Cenis (1992), tarafından geliştirilen protokol dikkate alınarak küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla;

1. Yapraklardan kazınarak elde edilen fungus miseli ortalama 100 mg tartılarak 1.5 ml'lik steril santrifüj tüp içerisine yerleştirilmiş ve bir gece -80°C'de bekletilmiştir. Ertesi gün santrifüjdeki misel mavi renkli steril plastik bir çubuk ile ezilmiş ve üzerine 500 µl ekstraksiyon çözeltisinden

[200 mM Tris HCl; 250 mM NaCl; 25 mM EDTA; % 2 SDS (Sodyum dodecyl sulfate); pH 8.5] ilave edilmiştir.

2. Daha sonra fungal misele 150 µl 3M sodyum asetat (pH 5.2) eklenerek 10 dakika -20°C'de inkübe edilmiştir.
3. İnkübe edilen tüpler 10 dakika santrifüj (12.000 rpm) edilerek üstte kalan sıvı kısım yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
4. Santrifüj tüpüne alınan üst sıvının miktarına eşit hacimde isopropanol eklenerek 10 dakika 0°C inkübe edilmiş ve bu süre içerisinde tüpler nazik bir şekilde ortalama 5 kez yukarı-aşağı hareket edilerek karıştırılmıştır.
5. Daha sonra genomik DNA'nın çökmesi için 10 dakika 12.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
6. Mikrosantrifüj tüpünün dibinde krem tortu şeklinde çökelen genomik DNA'ya dikkat edilerek mikrosantrifüj tüpünden üst sıvı kısım uzaklaştırılmış ve üzerine 1 ml % 70'lik etanol eklenerek DNA çökeltisi yıkanmıştır. Etanol tüpten uzaklaştırıldıktan sonra, DNA çökeltisi üzerindeki alkolün tamamen uçması için tüpler ağzı açık olacak şekilde laminar air flow içerisinde 20 dak. bekletilmiştir.
7. Tortu şeklindeki genomik DNA'nın çözülmesi ve uzun süreli depolanması için her bir DNA örneği içeren tüplere 50'şer mikrolitre TE solüsyonu ilave edilmiş ve 65°C sıcak su banyosunda 1 saat inkübe edilmiştir.
8. TE solüsyonunda çözünen genomik DNA, moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere -20°C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.2.2.3.(2). Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Agaroz Jel Elektroforezi ve PZR Ürünlerinin Saflaştırılması

Ayçiçeği mildiyö etmeni *Plasmopara halstedii* patojen izolatların moleküler tanısında rDNA'nın ITS bölgelerinin (ITS1, ITS2 ve 5.8S) (1212bp) ve ribozomal RNA'nın büyük altbirim (1280bp) (LS) genlerinin bir parçasının PZR ile çoğaltmak için kullanılan primerler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. PZR Çalışmalarında Kullanılan Primerler

Hedef Gen	Primer	Primer Baz Dizisi
Nüklear rDNA	ITS5 F	5' GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG 3'
	ITS4 R	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'
Nüklear rDNA	ITS-O	5' cggAAGGATCATTACCAC-3'
	LR-O	5' GCTTAAGTTTCAGCGGGT-3'
Büyük alt birim	PHAL-F	5'- TATCTCTAAGTTGCTTATAC-3'
	PHAL-R	5'- AGCATATACAGCACATACG-3'
	PH-f1	5'-TGTAGGTGTACCTGCAGAAGG-3'
Büyük alt birim	PHr-1030	5'-TAAACTATCGGCAATAACATTTATG-3'
	PHf-1031	5'-TAAATCTATGAATCGTAGTTATGAG-3'
	PHr2080	5'-AGTTTATTAATAAGCCGAAACTTATAA-3'

PZR analizi her bir örnek için toplam 100 µl hacimde olacak şekilde gerçekleştirilmiş olup PZR kokteyli; 10X tampon çözelti 10 µl, 25 mM MgCl₂'den 10 µL, 2mM dNTP (Fermantas)'den 10 µl, 10µM primer konsantrasyonlarından her bir primer çiftinden (Sentromer oligonükleotid sentezi) (ITS4/ITS5, PHAL-F/PHAL-R, PH-f1/PH-r ve PHf-1030/PHr-2080, PHr-1031) 2 µl, fungal patojen DNA'sından 8,0 µl, 5U/1µl Taq DNA polimeraz enziminden (Fermantas) 2 µl ve steril miliQ sudan 14 µl alınarak hazırlanmıştır (Çizelge 3.2).

ITS (1212 bp), ve ribozomal RNA büyük altbirim (LS) (1260 bp) genlerinin PZR döngüsü; başlangıç denatürasyon sıcaklığı 95 °C'de 2 dk ve sonraki 40 döngü için 95 °C'de 30 sn, 55-47 °C'de 45 sn, 72 °C'de 90 sn ve son bitiş döngüsü 72 °C'de 6 dak. olarak ayarlanmıştır (Çizelge 3.2).

Polimeraz Zincir Reaksiyon ile çoğaltılan ürünler birbirinden ayırt etmek için TAE tampon çözeltide hazırlanmış %1 agaroz jel elektroforez kullanılmıştır. Etidyum bromid (0,5 µg/ml) ile boyanan PZR ürünleri bir UV transillimünatör üzerinde görülebilir duruma getirilerek PZR ürünlerinin çoğaltımları kontrol edilmiştir.

Çizelge 3.2. PZR Kokteylinin Hazırlanışı

PZR Kokteyli	25 µl	100 µl hacim için
10 x PZR tampon çözelti	2.5	10
MgCl ₂ (25 mM)	2.5	10
dNTP (2 mM)	2.5	10
İleri Primer (10 µM)	0.5	2
Geri Primer (10 µM)	0.5	2
Taq polimeraz (1 U / 1 µl)	0.5	2
DNA (patojen)	2.0	8
sQH ₂ O	14	56
Toplam	25	100

Çoğaltılan PZR ürünleri QIAquick® PZR Purifikasyon kiti (QIAGEN, U.S.A) ile firmanın önerdiği protokol dikkate alınarak aşağıda belirtildiği gibi saflaştırılmıştır.

1. PZR örneğinin 1 hacmine 5 hacim tampon PB eklenen ependorf tüpler yavaş bir şekilde karıştırılmıştır.
2. Karışım sarı renkte ise üçüncü aşamaya geçilmiş, fakat karışımın rengi turuncu ya da menekşe ise karışıma 10 µL 3 M sodyum asetat (pH 5,0) eklenip nazikçe ters düz edilerek karıştırılmış ve karışımın rengi sarıya dönüştürülmüştür.
3. Bir mikrosantrifüj (2,0 ml) tüp içerisine QIAquick spin kolonu yerleştirilmiş ve bu kolonların içerisine hazırlanan karışımdan yeteri kadar eklenerek 13.000 rpm'de 30-60 sn. santrifüj edilmiştir.
4. Santrifüj sonrasında mikrosantrifüj tüp içerisine geçen sıvı atık olarak boşaltılmış ve geri kalan karışım için, üçüncü aşama aynı mikrosantrifüj ve QIAquick spin kolonu kullanılarak tekrarlanmıştır.
5. QIAquick spin kolonunun filtresinde absorbe edilen PZR ürünlerini temizlemek için 750 µl PE tampon çözelti kolon içerisine eklenmiş ve 13.000 rpm'de 30-60 sn. santrifüj edilmiş ve sonra mikrosantrifüj

tüp içerisine geçen sıvı atık olarak boşaltılmıştır.

6. Daha sonra aynı mikrosantrifüj tüp içerisine boş olarak alınan QIAquick spin kolonu 1dak. 13.000 rpm’de santrifüj edilmiş ve bu santrifüj sonrasında alta bulunan mikrosantrifüj tüpü atılarak yerine, 1.5 ml hacimli yeni bir mikrosantrifüj tüpü konulmuştur.
7. QIAquick spin kolonunun filtrelerinde absorbe edilen PZR ürünlerini çıkarmak için, bu kolon filtresinin tam ortasına 50 µL EB tampon çözelti eklenerek 1 dak. oda koşullarında inkube edilmiş ve sonra 13.000 rpm’de 1 dak. santrifüj yapılmıştır. Bu işlem sonunda kolon filtresindeki PZR ürünleri alta bulunan mikrosantrifüj tüp içerisine geçişi sağlanmış ve -20 °C sıcaklıkta daha sonraki çalışmalar için stoklanmıştır.

3.2.2.3.(3). Filogenetik Analiz

Filogenetik ilişkiyi incelemek için PZR ile elde edilen ITS ve ribozomal RNA’nın büyük alt birimine ait genlerin (LS) baz dizilimleri çift yönlü (5’-3’ ve 3’-5’) olmak üzere Genoks (Ankara, Türkiye) firmasına sentez ettirilmiştir. Buradan elde edilen izolatlar ait her primer için baz dizilerinin pik noktaları dikkate alınarak, sorunlu bölgeler, BioEdit programı ile belirlenmiş ve böylece ileri ve geri primerlere ait sorunsuz bölgeler ClustalW programı ile hizalanmıştır. NCBI sitesindeki gen verileri ile Blastn programı kullanılarak diğer *Plasmopara halstedii* izolatlarının, ITS ve LS genlerine ait baz dizileri ile karşılaştırılmış ve 4 farklı ilçeden toplanan izolatlar tür düzeyinde tanımlanmıştır. Ayrıca Ayçiçeği mildiyö izolatlarının akrabalık ilişkilerinin belirlenmek için MEGAX filogenetik analiz programı kullanılmıştır. İzolatlar ait tüm baz dizileri her gen için ayrı ve kombinasyon oluşturularak maksimum parsimoni ve maksimum likelihood ile izolatların genetik soy ağaçları oluşturulmuştur. *Diatrypella verruciformis* ve *Neofusicoccum parvum* fungus türleri, tüm analizler için dış grup olarak kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

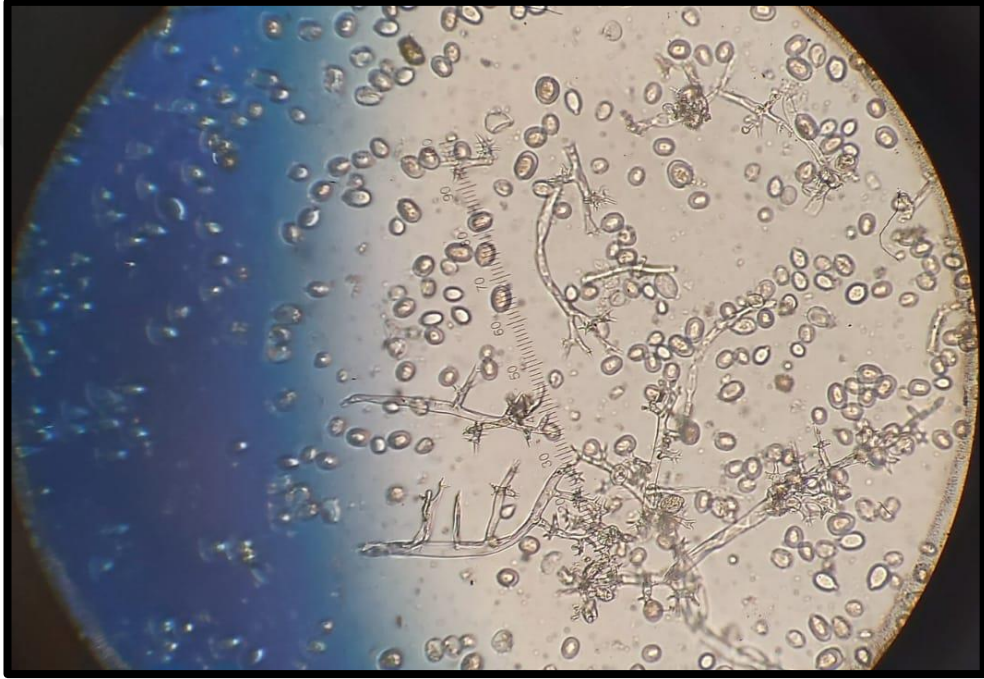
4.1. *Plasmopara halstedii* izolatlarının Toplanması ve Tanısı

Çalışma kapsamında 2019 yılı içerisinde, Adana ili Ceyhan, İmamoğlu, Sarıçam ve Karaisalı ilçelerinde bulunan ayçiçeği tarlalarında güdümlü sürveyler yapılmıştır. Yapılan sürveyler sonucunda mildiyö etmeni *Plasmopara halstedii* ile infekteli olan bitkiler tespit edilmiştir. Enfeksiyonun görüldüğü tarlalardaki infekteli bitkilerin diğer sağlıklı bitkilere göre boğum aralarının kısalarak bodur kaldığı, yapraklarının ana damar boyunca uzanan açık yeşil ve klorotik alanlarla kaplandığı, nemli koşullar altında bu yaprak yüzeyindeki klorotik alanların genişleyerek yaprak alt yüzeyinde fungusun sporangium ve sporangifor'larından oluşan beyaz renkli fungal tabaka meydana getirdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Ayçiçeği bitkilerinin *Plasmopara halstedii* ile enfeksiyonu sonucu bitkilerdeki bodurlaşma, renk değişimi ve misel oluşumu

Adana İlinin Ceyhan, İmamoğlu, Sarıçam ve Karaisalı ilçelerindeki *Plasmopara halstedii* ile infekteli olduğu simptomotolojik olarak tespit edilen *Plasmopara halstedii* izolatları (Çizelge 4.1) laboratuvar koşullarında tanısı yapılmak üzere laboratuvara getirilerek – 80 °C’lik derin dondurucuda muhafazaya alınmış olup ayrıca morfolojik yapıları mikroskop altında incelenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Ayçiçeği mildiyö etmeni *Plasmopara halstedii* 'nin mikroskop altındaki görünümü

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi Ceyhan 5, İmamoğlu 5, Sarıçam 5, Karaisalı 5 olmak üzere toplam 20 adet patojenik *Plasmopara halstedii* izolatu elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. Adana ili ayçiçeği ekili alanlardaki *Plasmopara halstedii* izolatlarının alındığı yerler ve izolat numaraları

CEYHAN	İZOLAT NO	İMAMOĞLU	İZOLAT NO	SARIÇAM	İZOLAT NO	KARAIŞALI	İZOLAT NO
Gümürdülü	ACPh1	Danacılı	AIPh.1	Buruk-Toki	ASPh1	Söğüt/Tümek	AKPh1
Gümüşdöven	ACPh2	Menteş	AIPh.2	Buruk-Cihadiye	ASPh2	Kocaveliler	AKPh2
Gümüşdöven	ACPh3	Merkez Mah.	AIPh.3	Cihadiye Toplama Kampı arkası	ASPh3	Altınova	AKPh3
Gümüşdöven	ACPh4	Merkez Mah.	AIPh.4	Hasanbeyli	ASPh4	Güvenç	AKPh4
Gümüşdöven	ACPh5	Merkez Mah.	AIPh.5	Hasanbeyli	ASPh5	Karahan	AKPh5

4.2. Adana ilindeki *Plasmopara halstedii* ırkları

Adana ilinin Ceyhan, İmamoğlu, Sarıçam, Karaisalı ilçelerinde Çizelge 4.1’de belirtilen ayçiçeği tarlalarından elde edilen ve saflaştırılan *Plasmopara halstedii* izolatlarının ırklarını belirlemek üzere uluslararası ırk ayırım seti kullanılmıştır (Tourvieille ve ark, 2000). ırk ayırım seti ile yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilen ırklar ve ırk setinde bulunan hatların göstermiş oldukları reaksiyonlar Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’ deki gibi gözlemlenmiştir. Oluşan reaksiyonlar sonucu elde edilen değerler Çizelge 4.2 de belirtilmiştir.



şekil 4.3. Ayciçeęi mildiyösü (*Plasmopara halstedii*) ırk ayırım setinde bulunan hatların patojene karşı duyarlılık (H) reaksiyonu



şekil 4.4. Ayciçeęi mildiyösü (*Plasmopara halstedii*) ırk ayırım setinde bulunan hatların patojene karşı Dayanıklılık (D) reaksiyonu

Adana İlinin Ceyhan, İmamoğlu, Sarıçam, Karaisalı ilçelerinde bulunan ayçiçeği ekili alanlarındaki mildiyö etmeni ile infekteli ayçiçeği bitkilerinden elde edilen toplam 20 adet *Plasmopara halstedii* izolatları üzerinde yapılan bu çalışmada etmenin Çizelge 4.2’de belirtildiği gibi Tourvieille ve ark (2000), bildirdiği üçlü kod sistemine göre *Plasmopara halstedii* ’nin Adana ili Ceyhan, İmamoğlu, Karaisalı ve Sarıçam ilçesindeki ırkları tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda etmenin Ceyhan İlçesinde 720, 730 ve 770 nolu, İmamoğlu ilçesinde 715 ve 750 nolu, Karaisalı ilçesinde 715 nolu ve Sarıçam ilçesinde 770 ve 773 nolu ırkları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Adana İli Ayçiçeği Alanlarından Elde Edilen *Plasmopara halstedii* İzolatlarının Reaksiyon Değerleri ve Irk Numaraları

İLÇE	İZOLAT NO	1.SET			1.SET TOPLAMI	2. SET			2.SET TOPLAMI	3.SET			3.SET TOPLAMI	IRK ADI
		HA 89	RHA	RHA		DM-2	PMI-17	803-1		HAR-4	HAR-5	HA 335		
			265	274										
CEYHAN	ACPh.1	1	2	4	7	1	2	4	7	0	0	0	0	770
CEYHAN	ACPh.2	1	2	4	7	1	2	4	7	0	0	0	0	770
CEYHAN	ACPh.3	1	2	4	3	1	2	4	7	0	0	0	0	770
CEYHAN	ACPh.4	1	2	4	7	1	2	0	3	0	0	0	0	730
CEYHAN	ACPh.5	1	2	4	7	0	2	0	2	0	0	0	0	720
İMAMOĞLU	AIPh.1	1	2	4	7	1	0	4	5	0	0	0	0	750
İMAMOĞLU	AIPh.2	1	2	4	7	1	0	4	5	0	0	0	0	750
İMAMOĞLU	AIPh.3	1	2	4	7	1	0	0	1	1	0	4	5	715
İMAMOĞLU	AIPh.4	1	2	4	7	1	0	4	5	0	0	0	0	750
İMAMOĞLU	AIPh.5	1	2	4	7	1	0	4	5	0	0	0	0	750
SARIÇAM	ASPh.1	1	2	4	7	1	2	4	7	0	0	0	0	770
SARIÇAM	ASPh.2	1	2	4	7	1	2	4	7	0	0	0	0	770
SARIÇAM	ASPh.3	1	2	4	7	1	2	4	7	0	0	0	0	770
SARIÇAM	ASPh.4	1	2	4	7	1	2	4	7	1	2	0	3	773
SARIÇAM	ASPh.5	1	2	4	7	1	2	4	7	0	0	0	0	770
KARAIŞALI	AKPh.1	1	2	4	7	1	0	0	1	1	0	4	5	715
KARAIŞALI	AKPh.2	1	2	4	7	1	0	0	1	1	0	4	5	715
KARAIŞALI	AKPh.3	1	2	4	7	1	0	0	1	1	0	4	5	715
KARAIŞALI	AKPh.4	1	2	4	7	1	0	0	1	1	0	4	5	715
KARAIŞALI	AKPh.4	1	2	4	7	1	0	0	1	1	0	4	5	715

Çalışma kapsamında 2019 yılı içerisinde Adana ilinin Ceyhan, İmamoğlu, Sarıçam ve Karaisalı ilçelerinde bulunan ayçiçeği tarlalarında sürveyler yapılmıştır. Yapılan sürveyler sonucunda mildiyö etmeni *Plasmopara halstedii* ile infekteli olan bitkiler tespit edilmiş olup, toplam 20 farklı tarladan hastalıklı ayçiçeği yaprak örnekleri toplanmıştır.

Yapılan surveylerde infeksiyonun görüldüğü tarlalardaki infekteli bitkilerin diğer sağlıklı bitkilere göre boğum aralarının kısalarak bodur kaldığı, yapraklarının ana damar boyunca uzanan açık yeşil ve klorotik alanlarla kaplandığı, nemli koşullar altında bu yaprak yüzeyindeki klorotik alanların genişleyerek yaprak alt yüzeyinde fungusun sporangium ve sporangifor'larından oluşan beyaz renkli fungal tabaka meydana getirdiği gözlemlenmiştir. Yapılan gözlemlerdeki mildiyö belirtilerinin daha önceki araştırmalarda bildirilen mildiyö belirtileri ile aynı olduğu görülmüştür (Young ve Morris, 1927; Meliala ve ark., 2000; Spring, 2008; Göre, 2009; Evcı ve ark, 2014; Oksal, 2014).

Ülkemizde *Plasmopara halstedii* 'nin ilk tespiti Sakarya ilinde Karel tarafından 1958 yılında yapılmıştır. Daha sonraki yıllarda etmenin Erzurum, Balıkesir, Çanakkale, Trakya bölgesi, Bursa, Edirne, Kırklareli, Tekirdağ Samsun, Adana, Tokat ve Ankara illerinde tespit edildiğine dair bilgiler bulunmaktadır (Döken, 1987, Onan ve ark, 1992, Evcı ve ark, 2011, Oksal, 2014).

Oksal (2014), yapmış olduğu çalışmada Adana ilinde *Plasmopara halstedii* 'nin 100 nolu ırkını tespit ettiğini bildirmiştir. Çalışmamızda Adana ilinde *Plasmopara halstedii* 'nin 100 nolu ırkından farklı olarak 715, 720, 750, 730, 770 ve 773 nolu ırkları tespit edilmiştir.

Viranyi ve ark. (2015), *Plasmopara halstedii* 'nin patojenik çeşitliliği hakkındaki bilgilerin güncellenmesi için 2007 ve 2013 yılları arasında güncel yayınlara ve kişisel iletişime dayanarak yapmış oldukları bir çalışmada Avrupa'da en az 24 *Plasmopara halstedii* ırkı ve Amerika'da 40 adet *Plasmopara halstedii* ırkının son 7 yıl içinde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Sedlářová ve ark (2016), şimdiye kadar dünya çapında tespit edilen ve rapor edilen en az 42

Plasmopara halstedii ırkı olduğunu ve kendi tespit ettikleri ırklar ile bu sayının artarak 44 yükseldiğinin bildirmişlerdir. Spring (2019), Araştırmacı makalesi ile Avrupa, Güney Amerika, Asya ve Afrika'ya yayılan Kuzey Amerika kökenli ayçiçeği mildiyösünün rotalarını izlemeyi ve patotiplerin dünya çapındaki çeşitliliğinin güncellenmesi ile ilgili yapmış olduğu çalışma sonucunda patotip sayısının 2006'da 5 (Gulya 2007), 2014'te 41 (Virányi ve ark. 2015) ve 2018'de 50'ye yükseldiğini bildirmiştir.

Virányi ve ark (2015), Sedlářová ve ark (2016) ile Spring (2019), tarafından bildirilen Türkiye'de tespit edilmiş olan 300, 330, 700, 703, 710, 713, 730, 750, 770 ve 773 nolu *Plasmopara halstedii* ırklarından yapmış olduğumuz çalışma ile *Plasmopara halstedii* 'nin 730, 750, 770 ve 773 nolu ırkları tespit edilmiş olup, bahsi geçen araştırmaların sonucu ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca daha önce Dünya'da tespit edilerek bildirilen *Plasmopara halstedii* 'nin 715 ve 720 nolu ırkları da yapmış olduğumuz çalışmada tespit edilmiştir.

Tourvieille ve ark (2000)'nin bildirdiğine göre ayçiçeği mildiyözü (*Plasmopara halstedii*) ırklarını tanımlamak üzere dokuz hattan oluşan standart bir setin ayçiçeği mildiyösüne karşı reaksiyon durumuna göre belirlenmektedir.

Bu çalışmada Adana ilinde *Plasmopara halstedii*'nin Ceyhan, İmamoğlu, Karaisalı ve Sarıçam ilçesindeki ırkları tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda etmenin Ceyhan ilçesinde 720, 730 ve 770 nolu, İmamoğlu ilçesinde 715 ve 750 nolu, Karaisalı ilçesinde 715 nolu ve Sarıçam ilçesinde 770 ve 773 nolu ırkları tespit edilmiştir.

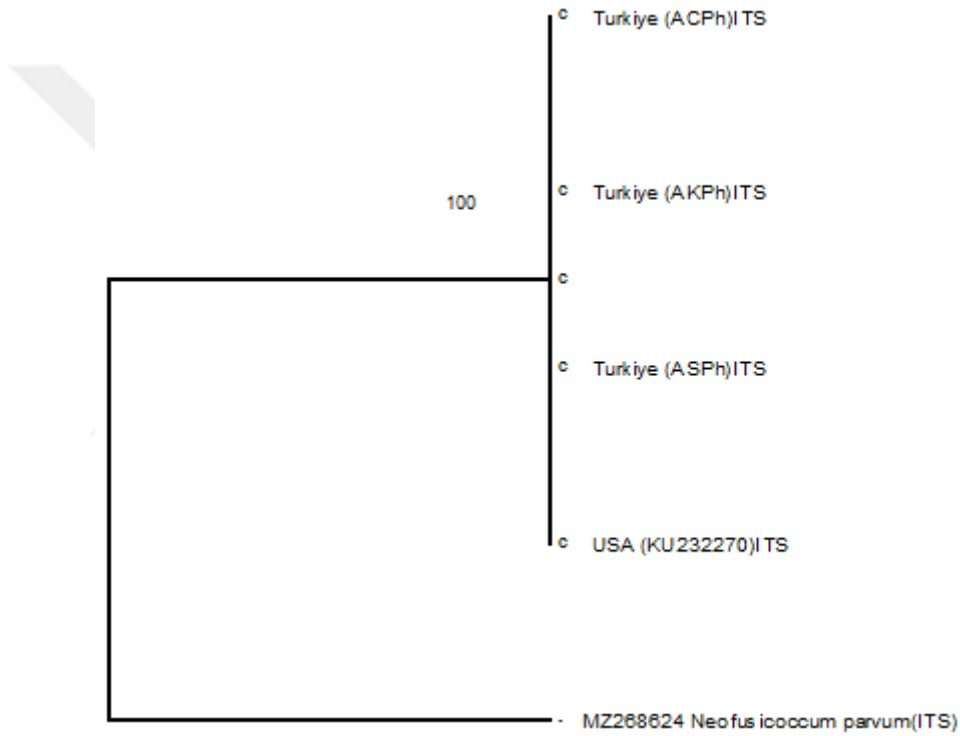
İrk 715, Çek Cumhuriyeti'nde tespit edilmiştir (Spring 2019). İrk 715, Türkiye için ilk kayıt niteliğindedir. Etmenin 720 nolu ırkı, 2007 yılından önce Almanya'da, 2007 yılından sonra Kanada ve Almanya'da tespit edilmiştir. İrk 730, 2007 yılından önce Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Arjantin, Fas, Güney Afrika, Bulgaristan, Almanya, Macaristan, Rusya, İspanya, Sırbistan ve Türkiye'de, 2007 yılından sonra ise Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Arjantin, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Macaristan, Rusya, İspanya ve

Sırbistan’da tespit edilmiştir. Irk 750, 2007 yılından önce Sırbistan’da, 2007 yılından sonra ise Almanya’da tespit edilmiştir. Irk 770, 2007 yılından önce Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Arjantin, Güney Afrika, Almanya, Macaristan, Rusya, İspanya ve Türkiye’de, 2007 yılından sonra Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Arjantin, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya ve İspanya’da tespit edilmiştir. Irk 750, Türkiye için ilk kayıt niteliğindedir. Irk 773, 2007 yılından önce Türkiye’de, 2007 yılından sonra Amerika Birleşik Devletleri’nde tespit edilmiştir (Gulya 2007, Viranyi ve ark. 2015, Spring 2019).

4.3. *Plasmopara halstedii* ırklarının PZR ve filogenetik analizleri

White ve ark (1990)’nın ITS gen bölgeleri için funguslar için geliştirdiği ITS5 /ITS4 primerleri *Plasmopara halstedii* ırk ve izolatlarının PZR reaksiyonunda hiçbir DNA fragmenti elde edilememiştir. Bu primerler daha önce birçok fungal patojenin ITS bölgelerinin gen dizisini belirlemede kullanılmış ve sonuçlar alınmıştır (Endes ve Kayim, 2016a, 2016b; Lynch ve ark, 2016; Kayim ve ark, 2018; Endes, 2017; Yones ve Kayim 2021). Endes ve Kayim (2016a ve 2016b) tarafından *Phytophthora citrophthora*, *Phytophythium* ve *Pythium* sp. türlerinin ITS bölgeleri yaklaşık 1000bç olarak sentezlenirken, *Alternaria alternata* (Kayim ve ark, 2018), *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*, *N. vitisiformae*, *Lasiodiplodia theobromae*, *L. pseudotheobromae*, *Fusicoccum aesculi* (Endes, 2017), *Botrytis cinerea*, *B. fabae* (Yones ve Kayim, 2021) ve *Phoma tracheiphila* gibi türlerde yaklaşık 600 bç, *Trichoderma* spp. türlerinde yaklaşık 700 bç (Yones ve Kayim, 2021), *Phytophthora*, *Phytophythium* ve *Pythium* türlerinde 1000-1100 bç büyüklüğünde ribosomal RNA’ya ait ITS bölgelerinden gen sentezi yapılmıştır (Endes ve Kayim(a,b), 2016). Ayçiçeği mildiyö etmeni *Plasmopara halstedii* ITS gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması için kullanılan evrensel ITS primerlerinin sonuç vermemesi bu patojenin sürekli ırk geliştirmesi nedeni ile bu bölgelerin diğer fungal patojenler göre gen diziliminin farklılık göstermesi ve bu evrensel ITS primerlerinin bu patojenin ribozomal RNA bölgesinde bağlanma noktalarının

olmamasından kaynaklanmış olabileceğidir. Bu nedenle mevcut sekanslardan ve Spring ve ark (2006) ITS gen bölgesi için kullandıkları primer dizaynlarından tekrar yeni primer sentezi oluşturularak ITS gen bölgesi için iki farklı primer seti (ITS-0 ve LR-0) PZR çalışmalarında tekrar kullanılmış ve toplam 1600 bç olan ITS gen bölgesinin 1212 bç'lik gen ürünü PZR ile elde edilmiştir. Elde edilen gen dizileri filogenetik analizde kullanılmıştır (Şekil 4.5).

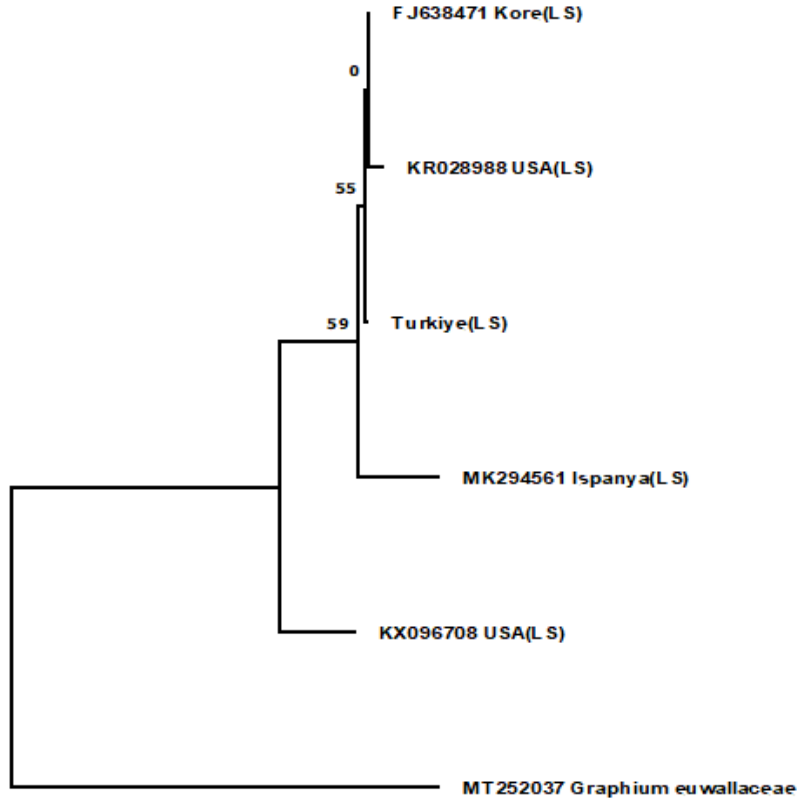


Şekil 4.5. *Plasmopara halstedii* 'nin Adana ili Ceyhan, Karaisalı ve Sarıçam ilçelerine ait 715, 720 ve 770 nolu ırkların ITS gen dizilerinin Maksimum likelihood Soy Ağaçlarının ABD (USA) izolatu ile karşılaştırılması. *N. parvum* dış grup olarak kullanılmış, dallanma noktalarındaki bootstrap değerleri 1000 tekrar içermektedir.

Şekil 4.5’de görüldüğü üzere Adana ili Karaisalı, Ceyhan ve Sarıçam ilçelerinden elde edilen, 715 (AKPh), 720 (ACPh) ve 770 (ASPh) nolu ırkların ITS gen dizileri % 100 nükleotid homojenitesi göstermiş olup, filogenetik olarak ABD izolatu (KU232270) ve biribiri ile uyumlu aynı grupta yer almış, ancak farklı bir tür olan *N. parvum* (MZ268624) ile ayrı dallanma göstermiştir.

Plasmopara halstedii ırklarının büyük alt birim gen dizisi yaklaşık 2600 bp uzunluğundadır. Bu uzunlukta gen dizisini temiz olarak elde edebilmek için bir vektöre klonlanması gerekmektedir. Klonlama çalışmalarında DNA fragment uzunluğunun 2000 bp geçmesi durumunda klonlama çalışmaları da iki aşamalı gerçekleştirileceğinden bu çalışmalar son derece pahalı olmaktadır. Bu nedenle ribozomal RNA’ya ait büyük alt birim gen dizleri parçalı olarak iki farklı DNA fragmenti şeklinde PZR ile çoğaltılmıştır. Toplamda bu büyük alt birim bu çalışmada 1600 bp uzunluğunda büyük alt birimin kısmi gen parçası elde edilmiştir. Sekans dizileri elde edildikten sonra Bioedit programı ile temizlenmiş ve MEGAX programında birleştirilmiştir. Elde edilen gen dizisi 770 nolu ırka ait DNA şablonundan çoğaltılmış olup, Kore, İspanya ve ABD izolatları ile genetik olarak karşılaştırılmıştır. *Graphium euwallaceae* fungus türüne ait birçok gen dizisi mevcut olduğu için (Lynch ve ark, 2016) bu fungus dış grup olarak seçilmiştir (Şekil 4.6).

Şekil 4.6’da görüldüğü üzere Türkiye izolatu 770 nolu ırk Kore ve ABD ırkları ile aynı grup içinde yer alırken İspanyol izolatu genetik olarak biraz daha farklılık göstermiş, ABD’lerine ait diğer bir ırk (KX096708) ise genetik olarak çok daha fazla farklılık göstermiştir. Ayçiçeği mildiyö etmeni ırklarında bu tip varyasyonların oldukça fazla olduğu Spring ve ark (2006) tarafından ITS genleri üzerinde de saptanmıştır. Bu tip genler normalde türlerde sabittir. Ancak sürekli yeni ırklar geliştiren fungus türlerinde son derece farklı varyasyonların olduğu görülmektedir.



Şekil 4.6. *Plasmopara halstedii* 'nin Adana ili Sarıçam ilçesine ait 770 nolu ırkın Büyük altbirim gen dizilerinin Maksimum Parsimoni'ye göre Kore, İspanya ve ABD (USA) izolatları ile karşılaştırılması. *Graphium euwallaceae* dış grup olarak kullanılmış, dallanma noktalarındaki bootstrap değerleri 1000 tekrar içermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ayçiçeği ülkemizin her bölgesinde ekim alanı, üretim miktarı ve yağ üretimi bakımından ilk sırada yer alan önemli bir yağ bitkisidir.

Sclerotinia Kök Çürüklüğü (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib. de Bary), Ayçiçeği Pası (*Puccinia helianthi* Schw.), Verticillium Solgunluğu (*Verticillium dahliae* Kleb.), Kök Boğazı Çürüklüğü (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.), Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea* Fr.), ve Septorya Yaprak Lekesi (*Septoria helianthi* Ell. ve Kell) gibi bazı fungal kökenli hastalıklar da ayçiçeği bitkilerinde ciddi zararlar oluşturmaktadır. Ayrıca ayçiçeğinde ciddi verim kayıplarına neden olan ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii*) tüm dünyada ayçiçeğinin en önemli fungal hastalığı olarak kabul edilmektedir. Dünya’da birçok araştırmacı *Plasmopara halstedii*’nin ırklarını belirlemek üzere yapmış oldukları çalışmalarda *Plasmopara halstedii*’nin farklı ırklarını tespit etmişlerdir.

Plasmopara halstedii oospore’ları toprakta bir önceki yıldan kalan bulaşık yaprak, gövde veya kök kısımlarında bulunmaktadır. Oospore’lar toprakta uzun süre canlılığını sürdürebilmektedir. Etmen canlılığını uzun süre koruyabilme özelliği sayesinde çevre koşullarında uygun hale gelmesi ile çok ciddi verim kayıplarına neden olabilmektedir. Meydana gelebilecek verim kayıpları yüksek etkili fungusitlerle tohum ilaçlamalarının yapılması ve dayanıklı hibrit çeşitlerin kullanılması ile büyük oranda minimize edilmektedir.

Dünyada birçok ülkede öncelikle fungusitler tercih edilmektedir. *Plasmopara halstedii*’ye karşı en yaygın olarak kullanılan fungusit Metalaxyl’dir. Tohum ilaçlaması olarak kullanılmaktadır. Hastalığın kimyasal mücadelesi olmakla birlikte hastalık etmeninin çok hızlı yeni ırklar oluşturmamasından dolayı pek çok kimyasal madde etkinliğini yitirmiştir. Metalaxyl’e karşı dayanıklılık sorunları ortaya çıkmıştır (Delen ve ark., 1985). Etmenin çok hızlı yeni ırklar oluşturmaya bağlı olarak kimyasal mücadeleye alternatif mücadele yöntemleri üzerine çalışmalar artmıştır ve dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi ayçiçeği mildiyösü ile

savaşta olumlu sonuçlar vermiştir. Dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılmak üzere ülkemizdeki ayçiçeği mildiyösü ırklarının düzenli olarak saptanması gerekmektedir. Bu amaçla yapmış olduğumuz çalışma ile Adana İlinin Ceyhan, İmamoğlu, Sarıçam, Karaisalı ilçelerinde bulunan ayçiçeği ekili alanlarındaki mildiyö etmeni ile infekteli ayçiçeği bitkilerinden elde edilen izolatlardan *Plasmopara halstedii*'nin 715, 720, 730, 750,770 ve 773 ırkları tespit edilmiştir.

Ülkemizdeki ayçiçeği mildiyösü'nün ırklarını belirlemek için Gulya (2007), Viranyi ve ark. (2015) ve Oksal (2014) tarafından ırk belirleme çalışmaları yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar neticesinde ülkemizde etmenin 100, 102, 110, 300, 330, 500, 502, 510, 700, 702, 703, 710, 712, 713, 730, 770, 773 nolu ırklarını tespit etmişlerdir. Ülkemizdeki ırk değişimini takip etmek ve güncel tutabilmek için ırk belirleme çalışmalarına düzenli olarak devam edilmesi gerekmektedir.

Plasmopara halstedii 'nin etkisini en aza indirebilmek için öncelikle temiz ve dayanıklı çeşitlerin kullanılması, son üç ile dört yıl içinde mildiyö olduğu bilinen alanlara yeniden ekim yapılmaması, drenajı zayıf olan alanlara ekim yapmaktan kaçınılması, tohumların hızla çimlenmesi ve infeksiyondan kaçabilmesi için erken değil daha geç ekim yapılması tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Akatlar, F.C. 2016. Bazı ayçiçeği çeşit ve hatlarının ayçiçeği mildiyösüne (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & De Toni.) reaksiyonlarının beleirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir 37 s.
- Cachinero J. M., Cabello E, Jorin J. and Tena M. 1996. Induction of different chitinase and/%1,3-glucanase isoenzymes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings in response to infection by *Plasmopara halstedii* . European Journal of Plant Pathology 102:401-405.
- Cenis, J.L., 1992. Rapid Extraction of Fungal DNA for PZR Amplification. Nucleic Acids Research, 20(9): 2380.
- Cohen, Y. and Sackson W. E. 1974. Seed infection and latent infection of sunflowers by *Plasmopara halstedii* . Canadian Journal of Botany, 52: 231-238.
- Delen, N., Onoğur, E., Yıldız, M. 1985. Sensitivity levels to metalaxyl in six *Plasmopara helianthi* Novot. isolates. Journal of Turkish Phytopathology 1985 14 1 31-36
- Döken M.T. 1987. Erzurum yöresinde ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara helianthi* Novot. var. *helianthi* Novot.)'nın durumu ve biyolojisi üzerinde çalışmalar. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Araştırma Yayınları Serisi Yayın No: 2, 38 s.
- Döken, M. T. 1989. *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. et de Toni in sunflower seeds and the role of infected seeds in producing plants with systemic symptoms. Journal of Phytopathology, 124 (1-4): 23-26.
- Endes, A., Kayim, M. 2016a. Çukurova Bölgesi'nde kayısı ağaçlarında solgunluk ve gövde çürüklüğü etmeni *Phytophthora vexans*'ın tanınması. Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, (31) 2: 59-68.

- Endes, A., Kayim, M. 2016b. Çukurova Bölgesi'nde Elma ve Şeftali Ağaçlarında Solgunluk ve Kök Boğazı Çürüklüğü Etmeni *Pythium nodosum*'un Tanılanması ve Patojenisitesi. Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, (31) 2: 69-78.
- Endes, A. 2017. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Bazı sert Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Ölü Doku, Sakızlanma ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Botryosphaeriaceae Türlerinin Yaygınlığı ve Tanılanması. Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 163s.
- Er, Y.2018. Ayçiçeği Mildiyösü(*Plasmopara halstedii*)'ne Karşı Bazı Uçucu Yağların Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 113 s.
- Evcı , G., Akın, K., Kaya, Y., Pekcan, V. and Yılmaz, M. I. 2011. The determination of downy mildew (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & De Toni) resistance of some sunflower lines in Trakya region. Anadolu 2011 Vol. 21 No. 1 pp. 36-43.
- FAO, 2021.<http://www.fao.org/statistics/databases/en/> (Erişim Tarihi 06.07.2021)
- Farlow, W. G. 1883. Note on some species in the third and eleventh centuries of Ellis's North American Fungi. Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences, 18(10), 71–73.
- “Alınmıştır” Onan, E. 1988. Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara helianthi* Novot)'nde hastalık oluşumu ve buna etkili faktörler üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi. Ege Üni. Zir. Fak. 164 s..
- Gascuel Q., Martinez Y., Boniface M., Vear F., Pichon M. And Godiard L.2015. The sunflower downy mildew pathogen *Plasmopara halstedii* . Molecular Plant Pathology 16 (2), 109–122
- Gilley,M., Misar, C., Gulya, T. and Markell Samuel. 2016. Prevalence and virulence of *Plasmopara halstedii* (downy mildew) in Sunflowers. Research Project 15-D02 2015 Grant

- Göre, M. E. 2009. Epidemic outbreaks of downy mildew caused by *Plasmopara halstedii* on sunflower in Thrace, part of the Marmara region of Turkey. Plant Pathology, 58: 396.
- Gulya, T. J. 2007. Distribution of *Plasmopara halstedii* races from sunflower around the world. Advances in Downy Mildew Research Vol 3, Palacky University and JOLA Publishers (pp. 121–134).
- Gulya, T., Gilley, M., Misar, C., Markell, S. 2016. Prevalence and virulence of *Plasmopara halstedii* (downy mildew) in Sunflowers. National Sunflower Association, Research Project 15-D02 2015 Grant.
- Gulya, T. J., Sackston, W. E., Virányi, F., Masirevic, S., Rashid, K. Y. 1991. New races of the sunflower downy mildew pathogen (*Plasmopara halstedii*) in Europe and North and South America. Journal of Phytopathology 132: 303-311.
- Gulya, T. J., Tourvieille De Labrouhe D., Masirevic S., Penaud A., Rashid K., Viranyi F. 1998. Proposal for standardized nomenclature and identification of races of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). In: Gulya T, ed. Vear F, ed. Third Sunflower Downy Mildew Symposium. Fargo, USA: ISA, 130-136.
- Hazarhun, G., 2016. Ayçiçeği Mildiyösü Hastalığının (*Plasmopara halstedii*) Antagonist Funguslarla Kontrol Olanakları. Yüksek Lisans Tezi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ 31s.
- Heller-Dohmen, M., Göpfert, J. C., Hammerschmidt, R. And Spring, O. 2008. Different pathotypes of the sunflower downy mildew pathogen *Plasmopara halstedii* all contain isometric virions. Molecular Plant Pathology, 9: 777–786.
- Karel, G. 1958. A preliminary list of plant diseases in Turkey. Ayyıldız Matbaası, Ankara. “Alınmıştır” Oksal, E. 2014. Ayçiçeği mildiyösü etmeni *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & de Toni’nin Türkiye’deki Irklarının tespiti ve bazı ticari ayçiçeği çeşitlerinin bu ırklara karşı reaksiyonlarının belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 77 s.

- Kayım, M., Yones, A. M., Endes, A. 2018. Biocontrol of *Alternaria alternata* causing leaf spot disease on faba bean (*Vicia faba* L.) using some *Trichoderma harzianum* isolates under in vitro condition. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, (22) 2: 169-178.
- Kılınç, T. H. 2020. Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. Et de Toni) 'ne karşı dayanıklılık mekanizmasının incelenmesi üzerine çalışmalar. Doktora Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ 76s.
- Lynch, S.C., Twizeyimana, M., Mayorquin, J.S., Wang, D.H., Na, F., Kayim, M., Kasson, M.T., Thu, P.Q., Bateman, C., Rugman-Jones, P., Hulcr, J., Stouthamer, R., Eskalen, A. 2016. Identification, pathogenicity and abundance of *Paracremonium pembeum* sp. nov. and *Graphium euwallaceae* sp. nov.—two newly discovered mycangial associates of the polyphagous shot hole borer (*Euwallacea* sp.) in California. *Mycologia*, (108) 2: 313-329
- Maden, S. 1982. Ayçiçeği Mildiyösü (*Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl. et de Toni)'nin Kimyasal Savaşı. *Bitki Koruma Bülteni* 22 (1): 52-58.
- Meliala, C., Vear, F. And Tourvieille De Labrouhe, D. 2000. Relation between date of infection of sunflower downy mildew (*Plasmopara halstedii*) and symptoms development. *Helia*, 23: 35–44.
- Molinero-Ruiz, M. L., Domínguez, J., Melero-Vara, J. M. 2002. Races of isolates of *Plasmopara halstedii* from Spain and studies on their virulence. *Plant Disease*, 86 (7): 736-740.
- Molinero-Ruiz, M. L., Melero-Vara, J. M. and Dominguez, J. 2003. Inheritance of resistance to two races of sunflower downy mildew (*Plasmopara halstedii*) in two *Helianthus annuus* L. lines. *Euphytica*, 131: 47–51.
- Mounira, S., Ibtissem S., Mouna K., Boujemàa K., Boughalleb N. 2011. Downy Mildew of Sunflowers in Tunisia and evaluation offour fungicides. *Research in Plant Biology*, 1 (5): 27-32.

- Mouzeyar, S., Delabrouhe, D. T. and Vear, F. 1993. Histopathological studies of resistance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to downy mildew (*Plasmopara halstedii*). Journal of Phytopathology, 139: 289–297. Mycobank. *Plasmopara halstedii*'nin Taksonomisi. (<http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&Page=200&ViewMode=Basic>)
- Nandeeshkumar P, Sarosh Br, Ramachandrakini K, Prakash Hs, Shekar Shetty H. 2009. Elicitation of resistance and defense related proteins by b-amino butyric acid in sunflower against downy mildew pathogen *Plasmopara halstedii* . Archives of Phytopathology and Plant Protection, 42: 1020–1032.
- Nishimura, M. 1922. Studies in *Plasmopara halstedii* . Journal of the College of Agriculture, Hokkaido Imperial University, 11;: 185–210.
- Oksal E. (2014). Ayçiçeği mildiyösü etmeni *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & de Toni'nin Türkiye'deki Irklarının tespiti ve bazı ticari ayçiçeği çeşitlerinin bu ırklara karşı reaksiyonlarının belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 77 sayfa
- Onan, E. 1988. Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara helianthi* Novot)'nde hastalık oluşumu ve buna etkili faktörler üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi. Ege Üni. Zir. Fak. 164 s..
- Onan, E., Çimen, M., Karcilioğlu, A. 1992. Fungal diseases of sunflower in Aegean region of Turkey. Plant Protection Research Institute, Bornova-İzmir, Turkey. Journal of Turkish Phytopathology 1992 21 2-3 101-107
- Radwan, O., Bouzidi, F.M., Mouzeyar, S. 2011. Molecular Characterization of Two Types of Resistance in Sunflower to *Plasmopara halstedii* , the Causal Agent of Downy Mildew. Phytopathology 101:970-979.

- Rashid, K. Y. 1993. Incidence and virulence of *Plasmopara halstedii* on sunflower in western Canada during 1988-1991. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 15 (3): 206-210.
- Sackston, W. E. 1992. On a treadmill: breeding sunflowers for resistance to diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 30, 529–551.
- Sakr, N. 2010. Studies on pathogenicity in *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). *Int. J. Life Sci.* 4: 48-59.
- Sakr, N. 2011. Can percentage infection and dwarfing be used to differentiate aggressiveness in *Plasmopara halstedii*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* Vol. 44, No. 14: 1365–1374.
- Sakr, N. 2013. Pathogenic, morphological and genetic diversity in *Plasmopara halstedii* the causal agent of sunflower downy mildew *Acta Scientiarum. Agronomy* Maringá, v. 35, n. 1, p. 9-19, Jan.-Mar.
- Sakr, N. 2015. Phenotypical characterization in *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew) isolates of several races. *Botanica Complutensis* 39: 7-18. 2015 ISSN: 0214-4565
- Schröter, J. 1886. Fam. Peronosporacei. In F. Cohn (Ed.), *Kryptogamen-Flora von Schlesien* (pp. 228–252). Breslau: J. U. Kern.
- “Alınmıştır” Onan, E. 1988. Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara helianthi* Novot)'nde hastalık oluşumu ve buna etkili faktörler üzerinde araştırmalar. Doktora tezi. Ege Üni. Zir. Fak. 164 s..
- Sedlářová M., Trojanová Z. and Lebeda A. 2013. Distribution and harmfulness of *Plasmopara halstedii* on sunflower in the Czech Republic. *Plant Protect. Sci.*, 49: 1–10.
- Sedlářová, M. Íchalová, R.P. Trojanová, Z.D. 2016. First Report of *Plasmopara halstedii* New Races 705 and 715 on Sunflower from the Czech Republic – Short Communication. Vol. 52, 2016, No. 3: 182–187doi: 10.17221/7/2016-PPS

- Spring, O., Benz, A. and Faust, V. 1991. Impact of downy mildew (*Plasmopara halstedii*) infection on the development and metabolism of sunflower. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 98 (6): 597-604.
- Spring, O., Rozynek, B. and Zipper, Z. 1997. Leaf disk inoculation - a useful tool for selecting infections of sunflower downy mildew at low inoculum concentration, but inappropriate to pathotype characterization Journal of Phytopathology Phytopathologische Zeitschrift 145 (4): 189-191.
- Spring, O., Rozynek, B. and Zipper, R. 1998. Single spore infections with sunflower downy mildew. Journal of Phytopathology, 146 (11/12): 577-579.
- Spring, O. 2001. Non-systemic infections of sunflower with *Plasmopara halstedii* and their putative role in the distribution of the pathogen. Journal of Plant Diseases and Protection, 108: 329–336.
- Spring, O., Bachofer, M., Thines, M., Reithmüller, A., Göker, M., Oberwinkler, F. 2006. Intraspecific relationship of *Plasmopara halstedii* isolates differing in pathogenicity and geographic origin based on ITS sequence data. European Journal of Plant Pathology, 114: 309-315.
- Spring, O. 2008. Transition of secondary to systemic infection of sunflower with *Plasmopara halstedii* —An underestimated factor in the epidemiology of the pathogen. Fungal Ecology, 2: 75–80.
- Spring, O. 2019 Spreading and global pathogenic diversity of sunflower downy mildew – Review. Plant Protection Science, Vol. 55, 2019, No. 3: 149–158
- Süzer, S. 2014. Ayçiçeği yetiştiriciliği. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
- Tosi, L. and Beccari, G. 2007. A new race, 704, of *Plasmopara helianthi* pathogen of sunflower downy mildew in Italy. Plant Disease 2007 Vol. 91 No. 4 pp. 463.

- Tourvieille, L. D., Gulya, T. J., Masirevic, S., Penaud, A., Rashid, K. Y. and Viranyi, F. 2000. New nomenclature of races of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). In: Proceedings of the 15th International Sunflower Conference (Vol. 2, I: pp. 61–65). Toulouse.
- Tuik, 2020. Tahıllar ve diğ er bitkisel ürünler, bitkisel üretim istatistikleri, Tuik. (Eriş im Tarihi 09.10.2020)
- Tülek, A., Hekimhan, H., Akın, K. 2014. Ayçiçe ğ i Mildiyö sü <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=76>. (Eriş im Tarihi 10.05.2017)
- Virányi, F., Gulya, T.J and Tourvieille, D.L. 2015. Recent Changes in the Pathogenic Variability of *Plasmopara Halstedii* (Sunflower Downy Mildew) Populations from Different Continents. In: Helia 2015; 38(63): 149–162
- White T. J., Bruns T., Lee, S. and Taylor J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. Innis, MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. Academic Press, Inc. New York, pp. 315-322.
- Yones, A.M., Kayim, M. 2021. Molecular characterization of *Trichoderma* spp. with biocontrol ability against Faba bean chocolate spot (*Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.). Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology, 22 (51&52): 52-63.
- Young, P. A. and Morris, H. E. 1927. *Plasmopara* downy mildew of cultivated sunflowers. American Journal of Botany, 14: 551–553.

ÖZGEÇMİŞ

Hacer BURUN, Kahramanmaraş Atatürk Kız Lisesinden 2003 yılında mezun oldu. 2004 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesinde lisans eğitime başlamıştır. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden 2008 yılında lisans eğitimini tamamlamıştır. 16 Mart 2009 tarihinde Kahramanmaraş ili Ekinözü ilçe Gıda Tarım ve Orman Bakanlığı'na Ziraat Mühendisi olarak ataması yapılmıştır. 15 Kasım 2013 tarihinde Adana ili Yüreğir ilçe Gıda Tarım ve Orman Bakanlığı'na tayin olmuştur. Daha sonra 11 Mayıs 2015 tarihinde Adana ilinin Yüreğir ilçesinde bulunan Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne tayin olmuştur. Halen Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde ziraat mühendisi olarak görev yapmaktadır. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Fitopatoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime başlamıştır. Evli ve iki çocuk annesidir.