



Araştırma Makalesi/Research Article

## Farklı Tebuconazole Konsantrasyonlarının *in vitro* Koşullarda *Fusarium culmorum*'un Misel Gelişimi ve Konidi Çimlenmesi Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi

Tuğba Toçan

Figen Mert\*

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Çanakkale  
Sorumlu yazar: fturk@comu.edu.tr

Geliş Tarihi: 26.10.2018

Kabul Tarihi: 28.12.2018

### Öz

Bu çalışmada, Çanakkale İli buğday alanlarındaki hastalıklı bitki örneklerinden izole edilmiş olan 10 farklı *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc. izolatına tebuconazole etkili maddeli fungusitin *in vitro*'daki etkisini araştırmak hedeflenmiştir. Bu amaçla tebuconazole farklı konsantrasyonlarda PDA besin ortamına eklenmiş (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 ppm) ve fungusun misel gelişimi, konidi çimlenme yüzdesi, çim tüpü uzaması ve çim tüplerinde görülen değişimler gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmaların sonucunda tebuconazole'ün 1 ppm üzerindeki dozlarda miselyal gelişimi yavaşlattığı, 10 ppm üzerindeki dozlarda ise tamamen durdurduğu tespit edilmiştir. Konidilerin 50 ppm gibi yüksek konsantrasyonlarda dahi çimlenebildiği, fakat bazı izolatların konidilerinin çimlenme oranlarının düştüğü tespit edilmiştir. Zaman aralı çalışmaları 10 ppm ve alt dozlardaki konsantrasyonlarda çim tüpünün 6 saatten sonraki 12, 18 ve 24 saat zaman dilimlerinde ölçülemeyeceğini göstermiştir. İnkübasyondan 18 saat sonra dahi fungus 100 pp konsantrasyonundaki ortamda gelişebilmiş, fakat fungal gelişimden dolayı daha sonraki zamanlarda ölçüm yapılamamıştır. Fungusitin konidi çimlenmesine ciddi olumsuz bir etkisi olmadığı, ancak çimlenen konidilerde çim tüpü ve miselyal gelişimin artan konsantrasyonlardan etkilendiği gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda iklim koşullarına, buğdayın dayanıklılığına, ilacın uygulanma şekline göre değişmekle beraber farklı dozlarda tebuconazole ile buğday bitkisinde *F. culmorum* infeksiyonlarına karşı koruma sağlayabileceği ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Fusarium culmorum*, Çim tüpü, Konidi çimlenmesi, Buğday, Tebuconazole

### Determination of the Effect of Tebuconazole on Mycelial Growth and Conidium Germination of *Fusarium culmorum* *in vitro* Condition

#### Abstract

We aimed to investigate the effect of tebuconazole, a fungicide, on *in vitro* development of the 10 isolates of *Fusarium culmorum* (WG Smith) Sacc. collected from the diseased wheat plants in Çanakkale. For this purpose tebuconazole at different concentrations (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 ppm) was added into PDA nutrient medium and then fungus mycelial growth, conidium germination, germ tube elongation, germ tubes changes were observed. Mycelial growth was slower at 1 ppm and lower doses, but inhibited completely at doses of 10 ppm and over. Conidia of the fungus germinated even at as high as 50 ppm concentration although germination was deteriorated in few isolates. Time course studies showed that germ tube length could be measured at 6 hours after incubation, however measurement was impossible below 10 ppm concentration at 12, 18 and 24 hours after incubation. The fungus continued to elongate even at 100 pp concentration 18 hours after incubation, and no measurement could be done later on. We observed that conidium germination occurred no matter how high the tebuconazole concentration was; however mycelial growth and germ tube elongation affected with the higher concentration of the fungicide. We concluded that tebuconazole could be effective to control *F. culmorum*, taking in consideration that some external factors will affect the success such as climate, resistance of the variety and application procedure.

**Keywords:** *Fusarium culmorum*, Germ Tube, Conidia Germination, Wheat, Tebuconazole

#### Giriş

Buğday üretiminde yaygın olarak kök ve kökboğazı ile sap hastalığına sebep olan *Bipolaris*, *Fusarium*, *Gaeumannomyces*, *Pseudocercospora*, *Pythium* ve *Rhizoctonia* cinslerine bağlı çeşitli fungus türleridir (Wiese, 1987). Bu etmenler içerisinde buğdayda hastalık oluşturan ve tür sayısı açısından en zengin olan *Fusarium* cinsidir. Ayrıca bu türlerin konukçu dizini oldukça geniştir. Türkiye'de buğdayda kök ve kökboğazı hastalık etmenlerini tespit etmeye yönelik birçok çalışma



yapılmıştır. Hastalıklı örneklerden yapılan izolasyonlarda, kök ve kökboğazı ile sap çürüklüğüne sebep olan izolatlardan %10'unun *F. culmorum* tarafından oluşturduğu tespit edilmiştir (Tunalı ve ark., 2006).

*Fusarium* cinsine ait türlerin meydana getirdiği *Fusarium* başak yanıklığı (*Fusarium* Head Blight, FHB) da dünya genelinde ciddi ekonomik kayıplara neden olan en önemli buğday hastalığıdır (Mc Mullen ve ark., 1997). *Fusarium* cinsine bağlı bazı türler mikotoksin oluşturarak insan ve hayvan sağlığını tehdit etmekte ve bu özelliği ile de diğer türlerden ayrı bir önem arz etmektedirler. *Fusarium* spp.'nin başağı kolonizasyonu sırasında ikincil metabolit olarak oluşturduğu mikotoksinler tüketildiğinde sıcakkanlılarda "mikotoksikozis" denilen zehirlenmelere yol açarlar. *Fusarium* cinsine bağlı türler başak yanıklığı ile kök ve kök boğazı çürüklüğüne sebep olmaktadır. Bu şekilde verimi %50'ye kadar düşürebildiği belirtilmiştir (Cook, 1968). FHB'ye birçok *Fusarium* türü sebep olmaktadır. Bunlardan en önemlileri *Fusarium avenaceum*, *F. poae*, *F. nivale*, *F. graminearum* (*Giberella zeae*) ve *F. culmorum*'dur (Parry ve ark., 1995).

FHB kontrolü amacıyla dayanıklı çeşit üretimi üzerinde durulmuş ancak üretimin yaygın olarak yapıldığı ve iklim özelliklerinin hastalık etmeni açısından uygun olduğu bölgelerde bu yöntem tek başına yetersiz kalmıştır (Snijders ve Perkowski, 1990). Fungisitlerle yapılan tarla denemeleri göstermiştir ki propiconazole (McMullen ve ark., 1997), metconazole, yada tebuconazole gibi triazole grubu sistemik fungisitler FHB mücadelesinde önemli bir grubu temsil etmektedir (Mauler-Machnic ve Zahn 1994). FHB için kimyasal mücadele uygulayan bazı ülkelerde 1970'lerde yaygın olarak carbendazim etkili maddesi kullanılmaktaydı. Yapılan uygulamalar ile benzimidazoller grubunda olan bu etkili maddenin *Fusarium* cinsine ait fungus türlerinin oluşturduğu yıkıcı etkilere karşı iyileştirici sonuçlar elde edilmiştir (Delp, 1987). FHB mücadelesinde tebuconazole ilaçlamasının oldukça etkili sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Homdork ve ark., 2000). İnokulasyondan önce ve sonraki 3 gün arasında tebuconazole uygulaması yapıldığında hastalığı önlemede %60'ın üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir (Mauler-Machnic ve Zahn 1994).

Yapmış olduğumuz bu çalışma ile buraya kadar anlatılan bilgiler ışığında, sistemik özellikte ve triazole grubu olan tebuconazole etkili maddesinin *in vitro*'da *F. culmorum*'da miselyal çap gelişimine, çim tüpü uzamasına, çimlenme yüzdesine olan etkileri araştırılmıştır.

## **Materyal ve Yöntem**

### **Kullanılan *Fusarium culmorum* İzolatları, Buğday Çeşidi ve Fungisit**

Yapılan çalışmalarda kullanılan *F. culmorum* izolatları Çanakkale ili genelinde infekteli buğday bitkilerinden elde edilmiş ve virulent oldukları teyit edilmiştir. Kullanılan izolatların patojenite testi ile tebuconazole'ün *in planta* koşullarda etkililik testlerinde *F. culmorum*'a karşı hassas olduğu bilinen beyaz başaklı, kılçıksız özellikli olan Kate-A-1 çeşidi kullanılmıştır. Petri çalışmalarında tebuconazole etkili maddeli (Folicur WP 25, Bayer) fungisit kullanılmıştır.

### **Hastalıklı Dokulardan *F. culmorum* İzolasyonu**

Kök ve kökboğazı ile sap bölgesinde çürüklük ve başakta yanıklık şeklinde hastalık belirtileri gösteren bitki materyalleri bistüri ile 1-5 mm büyüklüğünde parçalara 5 adeti 1.5-2 dakika süreyle % 0.5' lik sodyum hipoklorit (NaOCl) içerisinde tutulmuş ve 2 kez steril su ile durulanmıştır. Parçacıklar steril kurutma kağıtları arasında kurutulmuştur. Hastalıklı bitki materyalinin izolasyonu için, streptomycin sülfat (100 µg/mL) eklenmiş patates dekstroz agar (PDA) ortamı kullanılmıştır. Yaklaşık yedi günlük inkübasyondan sonra gelişen funguslar saflaştırılarak cins düzeyinde *Fusarium* izolatları teşhis edilmiş ve *F. culmorum* türünün teşhisi için bir sonraki aşamaya geçilmiştir. *F. culmorum*'un teşhisi Leslie ve Summerell (2006)'e göre yapılmıştır. İzolatlar PDA ve karanfil agar ortamındaki (carnation leaf agar: CLA) morfolojik gelişimlerine göre teşhis edilmiştir.

### **Tebuconazole ile *in vitro* Çalışmalar**

Tebuconazole final konsantrasyonu 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 ppm dozlarında olacak şekilde, aktif maddeye göre hesaplanarak PDA'ya eklenmiştir. Fungisit süspansiyonu eklenen ılık PDA hafifçe çalkalandıktan sonra steril petri kaplarına 12-15 ml olacak şekilde dökülmüştür. Katılaştıran besin ortamlarına daha sonra fungus misel diskleri yerleştirilmiştir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan ve farklı dozlar içeren petrielerde miselyal çap, çimlenme yüzdesi ve çim tüpü uzaması çalışmaları yapılmıştır. Çim tüpü uzaması çalışması yarı güçte PDA üzerinde inokulasyondan 2 ve 4 gün sonra cetvel ile ölçülerek yapılmıştır. Konidilerin çimlenme oranlarının



saptanabilmesi için petrinin altına cam kalemi yardımıyla her petri için 6 adet çapı yaklaşık 1.5 cm olan daireler çizilmiş ve içine 5 µl spor solüsyonu dökülmüş ve hafifçe sallayarak dairenin yüzeyine dağılması sağlanmıştır. Petriler 25±2°C'de 5 saat inkübasyonun ardından her dairenin üzerine 1 damla laktofenol [20 ml lactic acid, 40 ml gliserol, 0,05 gr cotton blue, 20 ml su (Soylu ve ark., 2010)] damlatılarak durdurulmuş ve mikroskobun görüş alanına rastgele denk gelen bir noktada bulunan tüm çimlenen ve çimlenmeyen sporlar sayılmıştır. Bu amaç için toplamda her izolat için 400 spor sayılmıştır.

Tebuconazole'ün çim tüpü üzerine etkisini saptamak için petri kapları alt kısımlarına yukarıdaki gibi cam kalemiyle daireler çizilmiştir. Kontrol grubuna sadece spor solüsyonu verilirken, fungusit denemesini oluşturan petri kaplarına ise spor solüsyonu ile ilaçlı solüsyon eppendorf tüplerde homojen karıştırılarak mikro pipetler yardımıyla uygulanmıştır. Kapağı açık şekilde steril kabinde bir süre havalandırılarak su damlasının kuruması sağlanmıştır. Daha sonra petrilerin kapakları kapatılarak 24°C'deki inkübatörde 5 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra Lactophenol çözeltisiyle gelişim durdurulmuştur. Ölçüm gerçekleşene kadar buzdolabında +4°C de muhafaza edilmiştir. Mikrometre yardımıyla mikroskopta 10X10 büyütme kullanılarak çim tüpü ölçülmüştür. 0,01-500 ppm aralığındaki farklı konsantrasyonlarda hazırlanan fungusitin çim tüpü büyümesine olan etkisini araştırmak amacıyla 6., 12., 18., 24. ve 48. saatler olmak üzere farklı zaman aralıklarında çim tüpü uzunluğu ölçülmüştür. Çalışmanın bu kısmında rastgele seçilen M314 izolatı kullanılmıştır. Belirtilen zaman aralıklarında fungal gelişimi durdurmak için Lactophenol çözeltisi kullanılmış ve mikrometre yardımıyla mikroskopta (10X10) çim tüpü uzunluğu ölçümü yapılmıştır (Soylu ve ark., 2010).

#### **İstatistiksel Analizler**

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

#### **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

##### **Tebuconazole'ün *in vitro*'da *F. culmorum*'un Konidi Çimlenmesine Etkileri**

*F. culmorum* izolatlarının konidi çimlenmesine olan etkisini araştırmak amacıyla yapılan ön denemelerde 50 ppm'in altında olan tüm dozlarda, kontroldaki oranlarda spor çimlenmesinin gerçekleştiği gözlenmiştir. Bundan dolayı çok yüksek olan 50 ppm'lik dozda deneme kurulmuştur.

Çizelge 1'de görüldüğü gibi bazı izolatlarda tebuconazole ile muamele görmüş konidilerde kontrolle kıyaslandığında aralarında istatistiki olarak fark olmamasına rağmen, Fc411, Fc102 ve Fc107 gibi izolatların konidi çimlenmeleri %50 ila % 66 civarı engellenmiştir. Bu izolatların kontroldeki çimlenme oranları da diğer izolatlardan daha düşük bulunmuştur.

Fungisit final dozunun 50 ppm olduğu konsantrasyonda konidi çimlenmesi genellikle çok sık karşılaşılan bir sonuç olmamasına rağmen, sterol biyosentezi inhibitörü (SBI) fungusitlerinin spor çimlenmesine etkilerinin çok az olduğu, fakat çim borusu uzamasına önemli ölçüde olumsuz etki ettikleri bildirilmiştir (Fuchs ve De Waard, 1982; Leroux ve ark., 1999).

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

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda bulunan tebuconazole'ün çim tüpüne olan etkisinin farklı zaman aralığında test edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla her bir dozun fungus sporları üzerine olan etkisini belirlemek için inokulasyondan 6., 12., 18., ve 24. saat sonunda reaksiyon durdurucu lactophenol çözeltisi uygulanmıştır.

Kontrol grubuna ait çim tüpü uzunlukları 6 saat sonunda 53,16 µm'ye ulaşmış ve daha sonraki saat aralıklarında ölçüm yapılamayacak seviyeye gelmiştir. 6 saat inkübasyonun ardından her doz konsantrasyonu için çim tüpü gözlemleri yapılmıştır ve bu gözlemler sonucunda doz artışına bağlı olarak düzenli bir düşüş olduğu ancak belirgin bir fark olmadığı görülmüştür. 12 saat inkübasyon sonrası ise 10 ppm konsantrasyonunun altındaki petrilere sporların çimlenip aşırı gelişimleri sonucu çim tüpü uzunluğu ölçülemez. On ppm üzerindeki dozlarda ise yine düzenli bir düşüş görülmüştür. Yüz ppm dozunda her zaman aralığı için elde edilen ortalamalar istatistiksel anlamda farklı bulunmuştur. 500 ppm dozunda ise 24 saate kadar olan tüm zaman aralıklarında ölçüm



yapılmıştır ancak 12, 18, 24 saat sonra ölçülen çim tüpleri aynı grupta yer almıştır, dolayısıyla 12 saatten sonra bir gelişme olmadığı sonucuna varılmıştır (Çizelge 2, Şekil 1).

Çizelge 1. Tebuconazole eklenen PDA'da geliştirilen *Fusarium culmorum* izolatlarının konidi çimlenmesi ve engellenme oranları (%).

İzolat	Kontrol	50 ppm	% Engelleme
Fc16	94,19 ab	92,73 c	1,53
Fc83	96,19 a	95,33b	1,24
Fc209	89,11 cd	83,57e	6,22
Fc211	86,63 d	86,15d	0,55
Fc213	92,01 bc	96,30ab	0
Fc314	95,98 a	96,70 ab	0
Fc411	34,44 g	11,70h	66,03
Fc413	95,61 a	97,70a	0
Fc102	67,08 e	34,14f	49,11
Fc107	43,29 f	17,98g	58,65
Ortalama	79,45 a	71,23 b	

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

Farklı zaman aralıklarında reaksiyon durdurulması ile elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, zaman faktörünün ve artan fungusit dozunun etkileri görülmüştür. Çim tüpü uzunlukları açısından da doz artışı ile çim tüpü uzunluklarında belirgin düşüşler olduğu saptanmıştır. Tebuconazole uygulaması ile ekstrem dozlarda dahi *F. culmorum* etmeninin fiziksel anlamda gelişim gösterdiği ancak yapısal olarak bozukluklar oluştuğu belirgin olarak görülmüştür. Doz artışına bağlı olarak görülen bozulmaların zaman ilerlemesi ile daha belirgin bir hal aldığı saptanmıştır (Şekil 1).

Bu denemeye yüksek konsantrasyonda bile fungusit uygulaması ile çimlenmenin durmadığı ancak çimlenen sporların gelişmelerine devam etseler de morfolojik olarak bozulmalara uğradıkları saptanmıştır. Yüksek doz uygulamalarında sporların çim tüplerinde şişkinleşmeler ve aşırı dallanmalar olduğu görülmüştür (Şekil 1).

Çizelge 2. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole eklenen PDA'da geliştirilen *Fusarium culmorum* Fc314 izolatının farklı zaman aralıklarında çim tüpü uzunlukları ( $\mu\text{m}$ ).

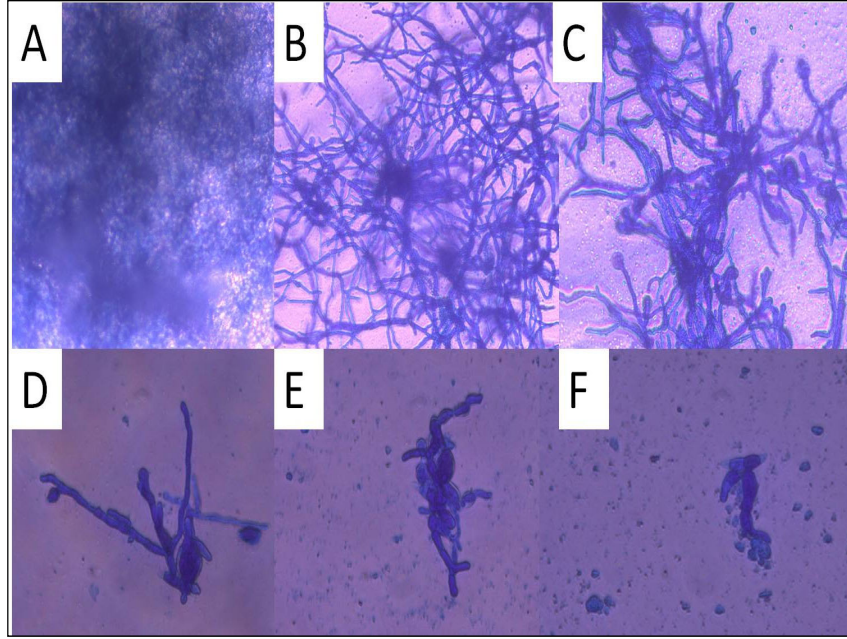
İzolat	Reaksiyonun durdurulduğu zaman aralıkları			
	6. Saat	12. Saat	18. Saat	24. Saat
Kontrol	53,16	x	x	x
0.01	54,00	x*	x	x
0.05	46,83	x	x	x
0.1	42,50	x	x	x
0.5	35,33	x	x	x
1	36,50	x	x	x
5	33,66	x	x	x
10	29,66b	121,33a	x	x
50	27,66b	67,16a	x	x
100	23,33c	50,00b	98,16a	x
500	20,16b	47,33a	50,50a	48,16a
Ortalama	36,62 c	71,45 a	74,33 a	48,16 b

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

\*\* x ile gösterilen değerler çim tüplerinin ölçülemeyecek kadar geliştiğini göstermektedir.

Kang ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışmayla tebuconazole etkili maddesinin etkileri TEM, SEM ve Immunogold Labeling yöntemleriyle incelenmiş ve sonuçlar elde ettiğimiz bulgular ile paralellik göstermiştir. Oluşan morfolojik ve sitolojik değişimler; hiflerin aşırı dallanması ve şişkinleşmesi, uzama gerilikleri, yapısal bozukluklar, organellerde fonksiyon kayıpları, hücre duvarında nekrozlar, sitoplazma dejenerasyonu, vakuollerde aşırı madde birikimi dolayısıyla da

sayılarında ve hacimlerinde artış şeklinde belirlenmiştir. Benzer değişiklikler farklı patojenler üzerinde EBI fungusitler denendiğinde de görülmüştür (Fuller ve Roberson 1990).



Şekil 1. *Fusarium culmorum*'un Fc314 izolatında 24 saat inkübasyondan sonra Kontrol (A), 5 ppm (B), 10 ppm (C), 50 ppm (D), 100 ppm (E), 500 ppm (F) konsantrasyonlarında çim tüpü uzaması

### **Tebuconazole'ün *in vitro*'da Farklı *F. culmorum* İzolatlarının un Çim Tüpü Uzamasına Etkileri**

Bu amaçla kurulan denemede 10 farklı izolat kültürü hazırlanmış fakat laboratuarda yaşanan aksaklıklardan dolayı 3 izolat denemenin bu kısmına dahil edilememiştir. Çim tüpünün 5 saatten sonra boyunun ölçümünün güçleşmesinden dolayı çalışmanın 5 saat sonra yapılması uygun görülmüştür. Analizlere göre istatistiksel açıdan 5 farklı grup oluşmuştur. Her izolatın kontrol grubu incelendiğinde en uzun çim tüplerinin 66.50 µm ile Fc83 izolatına ait olduğu görülmektedir. En düşük çim tüpü uzunluğu ise 26.71 µm ile Fc211 izolatında ölçülmüştür.

İzolatların fungusit dozlarına karşı tepkileri açısından genel ortalamalarda inceleme yapıldığında 0.01 ppm ile kontrol grubunda fark olduğu görülmüştür. İstatistiki anlamda 5 ppm ve üzerindeki dozlarda oluşan farkın önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Tebuconazole'ün de dahil olduğu ergosterol biyosentez inhibe edici (EBI) fungusitler sterollerin oluşumunu engelleyip daha önceden birikenleri de tüketir. Böylece kitin ve β-1,3-glukan sentezi teşvik edilerek hücre zarının yapısı bozulur (Fuller ve ark., 1990). Bunun sonucunda kitin ve β-1,3-glukan birikimi olur ve hiflerde hücre duvarları düzensiz olarak kalınlaşarak hifler anormal gelişim gösterir. Sisler ve Ragsdale (1984)'e göre hiflerin aşırı dallanması hücre içi sentezlerin fonksiyonlarının, bozulması sebebiyle enzim aktivitelerinin değişmesinden kaynaklanmaktadır. Ancak konidi çimlenmesi olumsuz etkilenmemektedir.

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

Her izolat, uygulanan fungusite ve dozlara bağlı olarak farklı gelişim göstermiştir. Çizelge 4'te görüldüğü üzere genel olarak miselyal gelişim inhibisyon oranı en yüksek olan Fc411 izolatı olmuştur. En düşük inhibisyon oranı Fc314 izolatında oluşmuştur. Uygulanan dozlar karşılaştırıldığında ise her bir konsantrasyon ayrı istatistiki bir grup oluşturmuştur. Bu sebeple uygulanan her dozun izolatlar üzerinde önemli bir fark oluşturduğu söylenebilmektedir. 0.05 ppm de en yüksek inhibisyon % 43,47 inhibisyon oranı ile M413, 5 ppm'de ise %90,55 inhibisyon ile Fc213 izolatında olmuştur. Genel olarak doz artışına bağlı olarak düzenli şekilde miselyal çap oranları düşmüş ve doğal olarak inhibisyon oranları artmıştır. *In vitro*'da miselyal çap ölçümlerinde 10 ppm üzerindeki uygulamaların hiçbirinde, hiçbir izolatta gelişme oluşmadığı gözlemlenmiştir.



Çizelge 3. Farklı konsantrasyonlardaki tebuconazole uygulamalarının *Fusarium culmorum* izolatlarının çim tüpü gelişimi ( $\mu\text{m}$ ) üzerine etkisi

Tebuconazole Konsantrasyonu									
İzolat	Kontrol	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	50 ppm
Fc16	45,50c	37,61c	38,22c	39,41c	38,91bc	36,66c	30,16d	28,41cd	20,58c
Fc83	66,50a	59,62 a	57,34a	53,67a	53,50a	53,16a	40,08b	36,83b	33,41a
Fc209	45,41c	42,98 bc	40,02c	38,18c	35,33cd	27,58d	27,41d	25,25e	21,83c
Fc211	38,16d	23,50d	20,16d	28,50d	28,25d	29,83d	28,66d	25,75de	17,58c
Fc213	48,41c	44,74bc	39,32c	46,50abc	44,66b	43,66b	32,00cd	29,33c	22,08c
Fc314	64,08a	63,06 a	53,69ab	50,83ab	56,66a	55,91a	48,83a	43,58a	33,33a
Fc413	x**	x	x	x	x	x	x	x	x
Fc411	55,91b	46,73b	43,39bc	44,50 bc	44,25b	39,00c	36,08bc	38,25b	26,83b
Fc102	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fc107	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Ortalama	52,00 a	45,46 b	41,73 c	43,08 bc	43,08 bc	40,83 c	34,75 d	32,48 d	25,09 e

\*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir ( $p \leq 0.05$ ).

\*\* x ile gösterilen değerler belirtilen izolatlarda ait sporlarda konidi çimlenmesi gerçekleşmediğini göstermektedir.

Çizelge 4. Farklı konsantrasyonlarda tebuconazole uygulamalarının *Fusarium culmorum* izolatlarının misel gelişimini engellemesi (%) üzerine etkisi

Tebuconazole Konsantrasyonu							
İzolat	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
Fc16	7,50 cd	26,66 b	13,05 cd	23,89 c	31,94 cd	76,39cb	81,39ab
Fc83	6,66 c-e	20,83 bc	3,61 e	33,75 a-c	41,24 bc	68,88c	82,50ab
Fc209	6,66 c-e	20,55 bc	13,88 cd	33,33 a-c	41,39 bc	69,72c	70,28b
Fc211	10,83 c	25,27 b	14,72 c	41,80 ab	42,36 a-c	80,27b	82,92ab
Fc213	2,22 de	12,49 d	6,94 de	24,16 c	23,33 d	90,55a	90,56a
Fc314	1,66 e	13,88 cd	11,94 cd	23,05 c	25,14 d	75,00cb	87,78ab
Fc413	18,05 b	43,47 a	13,61 cd	33,88 a-c	50,00 ab	82,49b	100,0a
Fc411	24,16 a	27,78 b	33,33 a	43,19 a	57,08 a	78,61b	81,39ab
Fc102	6,94 c-e	25,28 b	10,83 c-e	24,72 c	31,66 cd	78,19b	84,72ab
Fc107	6,66 c-e	25,83 b	22,22 b	31,11 bc	49,72 ab	81,25b	100,0a
Ortalama	9,138 f	24,20 d	14,41 e	31,29 c	39,38 b	78,13 a	

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



*Fusarium* spp.'nin *in vitro* koşullarda duyarlılığın araştırıldığı benzer bir çalışmada da 3 farklı *Fusarium* spp.'ne ait 25 izolat üzerinde tebuconazole, carbendazim, flutriafol, metconazole, prochloraz etkili maddelerinin tepkileri gözlenmiştir. Bu amaçla 0,1, 0,33, 1, 3,3, 10 ppm dozlarında uygulama yapmış ve EC<sub>50</sub> (Miselyal gelişimi %50 oranında durduran doz) ölçümleri sonucunda tebuconazole etkili maddesi *F. graminearum* türüne ait izolatlarda 0.85-2.57 ppm, *F. avenaceum* türüne ait izolatlarda ise 0,85-1,58 ppm, *F. verticillioides* türüne ait izolatlarda da 0,29-0,85 ppm aralığında bulunmuştur.

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

### Sonuç ve Öneriler

Tebuconazole, fungusta sterol biyosentezini inhibe ederek etki göstermekte bu nedenle hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluklarına sebep olmaktadır. Fungal canlılar açısından hayati önem taşıyan sterollerin biyosentezinde oluşan aksaklık, etmenin gelişip üremesini önemli ölçüde durdurmaktadır. Bu çalışma ile fungusun farklı dozlardaki tebuconazole ile hazırlanmış PDA üzerinde geliştirilmesi ile miselyal gelişimi ve tebuconazole'ün dozlara göre inhibe edici özelliği ölçülmüş ardından konidi çimlenmesi ve çim tüpü üzerinde oluşan etkiler araştırılmıştır.

Tebuconazole'ün spor çimlenmesini düşük dozlarda etkilemediği, diğer birçok fungus için çok yüksek dozlarda ancak etkilediği görülmüştür. Fakat ortamdaki doz artışına bağlı olarak koloni büyümesini ve çim tüpü uzamasını etkilemiştir. Yapılan çalışma ile fungusitin sebep olduğu hücresel aksaklıklar zaman içerisinde ortaya çıkmakta ve fungal sporun patojenite özelliklerine zarar vermekte olduğu belirlenmiştir. 6 saat sonra yapılan ölçümlerde doz artışına bağlı olarak fungal etmenin gelişmesinde yavaşlama oluşmuş ancak hiçbir dozda tamamen durmamıştır. Morfolojik bozulmalar ve farklılıklar ortaya çıkmamıştır. Morfolojik bozulmalar ancak 50 ppm ve üzeri dozlarda 18 saatlik inkubasyonun ardından yapılan gözlemlerle ortaya konmuştur. Yapılan mikroskop gözlemlerinde zaman ilerleyişine bağlı olarak artan oranda bozulmalar, fungal hücrelerin çim tüplerinde şişkinleşmeler, aşırı dallanmalar ve hücre duvarı kalınlaşmaları ayrıca hiflerde dismorfi oluşumu göze çarpmaktadır. Fungal hücre duvarları yapısındaki ana içerik kitin ve  $\beta$ -1,3-glukan kompleksi şeklinde olduğu bilinmektedir (Fuchs ve DeWaard, 1982). Hif gelişimi sırasında yeni yapıların oluşumu bu içeriğin dengeli bir şekilde bulunmasına bağlıdır. Tebuconazole uygulaması ile hücre duvarı kompozisyonu bozulduğu ve hücre duvarında düzensiz kalınlaşmalar olduğu yapılan farklı çalışmalarla da belirlenmiştir.

İzolatların farklı dozlarda gelişme ve inhibe olma yeteneği, popülasyonda etmenin oldukça dinamik olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular doğrultusunda iklim koşullarına, buğdayın dayanıklılığına, ilacın uygulanma şekline göre değişmekle beraber farklı dozlarda tebuconazole ile buğday bitkisinde *Fusarium culmorum* infeksiyonlarına karşı koruma sağlandığı ortaya konmuştur. Yapılan saksı denemesinde de *in vitro* koşullarda elde edilen veriler desteklenmiş ve tebuconazole uygulaması ile oldukça olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

**Not:** Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce kabul edilen Yüksek Lisans çalışmasını bir bölümünü kapsamaktadır ve özet olarak daha önce bilimsel bir toplantıda sunulmuştur.

### Kaynaklar

- Akgül, D.S., 2008. Çukurova bölgesi buğday ekim alanlarında kök, kökboğazı ve sap çürüklüğü hastalığının durumu, bazı buğday çeşitlerinin hastalığa karşı reaksiyonları, farklı gübreleme pratikleri ve fungusit uygulamalarının hastalık gelişimine etkileri. (Doktora tezi). Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Arda, M., 2000. Preparat ve Kültür Hazırlama Yöntemleri. In: *Temel Mikrobiyoloji*, 2. Baskı. 356-357, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Cook, R.J., 1968. Fusarium Root and Foot Rot of Cereals in the Pasific Northwest. *Phytopathology*, 58: 1-126.
- Delp, C.J., 1987. Benzimidazole and related fungicides. In: *Modern selective fungicides-properties, applications, mechanisms of action* (Horst Lyr, ed.). Longman Scientific and Technical, Harlow, UK. p: 233-244.
- Fuchs, A., DeWaard, M.A., 1982. Resistance to ergosterol-biosynthesis inhibitors I. Chemistry and phenomenological aspects. *Fungicide Resistance in Crop Protection*, p. 71-86.



- Fuller, M.S., Roberson, R.W., Gisi, U., 1990. Effects of sterol demethylase inhibitor, cyproconazole, on hyphal tip cells of *Sclerotium rolfsii* III. Cell wall cytochemistry. *Pestic. Biochem. Physiol.* 36: 115-126.
- Kang, Z., Huang, L., Krieg, U., Malchnik, A.M., Buchenauer, H., 2001. Effect of tebuconazole on morphology, structure, cell wall components and trichothecene production of *Fusarium culmorum* in vitro. *Pest Manag. Sci.*, 2001 June, 57(6): 491-500.
- Leroux, P., Chapeland, F., Desbrosses, D., Gredit, M., 1999. Pattern of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop. Prot.*, 18: 687-697.
- Leslie, J.F., Summerell, A., 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK. 158-159.
- Mauler-Machnik, A., Zahn, K., 1994. Ear fusarioses in wheat - New findings on their epidemiology and control with Folicur (Tebuconazole). *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer, Leverkusen*, Vol.47: 133-160.
- Mc Mullen, M., Jones, R., Gallenberg, D., 1997. Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease*, St. Paul, vol.81: 1340-1348.
- Parry, D.W., Jenkinson, P., McLeod, L., 1995. Fusarium Ear Blight (scab) in Small Grain Cereals-A Review. *Plant Pathology*, 44: 207-238.
- Seong, K.Y., Zhao, X., Xu, J.R., Güldener, U., Kistler, H.C., 2008. Conidial germination in the filamentous fungus *Fusarium graminearum*. *Fungal Genetics and Bio.* 45: 389-399.
- Sisler, H.D., Ragsdale, N.N., 1984. Biochemical and cellular aspects of antifungal action of ergosterol biosynthesis inhibitors, In: *Mode Of Action Of Antifungal Agents*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p. 257-281.
- Snijders, C.H.A., Perkowski, J., 1990. Effects of Head Blight Caused by *Fusarium culmorum* on Toxin Content and Weight of Wheat Kernels. *Phytopathology*, 80: 566-570.
- Snijders, C.H.A., 1989. Current Status Of Breeding Wheat for Fusarium Head Blight Resistant and Mycotoxin Problem In The Netherlands. In: Kohli, M. M. Ed. *Taller Sobre La Fusariosis De La Espiga En America Del Sur*. Mexico, D.F., CIMMYT. 141-144.
- Soylu, E.M., Kurt, S., Soyly, S., 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *Int. J. Food Microbiol.*, 143: 183-189.
- Tunalı, B., Nicol, J.M., Chakraborty, S., Erol, F.Y., Altıparmak, G., 2006. Turkish *Fusarium* isolates from wheat crown and head can cause severe crown rot. *Session 2: Fusarium consortium*.
- Wiese, M.V., 1987. *Compendium of Wheat Disease*. 2nd ed. American Phytopathological Society, St. Paul MN. 53-55 pp.