



Determination of Seed-borne Fungi in Some Sunflower Genotypes Showing Different Tolerance Degree Against Downy Mildew Disease

Mustafa ARAP¹ Nuray ÖZER² Harun BAYRAKTAR³

¹Deniz Tarım LTD., Muratlı, Tekirdağ

²Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Tekirdağ

³Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Ankara

ABSTRACT

Identification of fungi species on pericarps and seeds of sunflower genotypes, which were sensitive and highly tolerant against downy mildew, and determination of their pathogenicities were aimed in this study. *Alternaria alternata* was determined in seeds and pericarps of all sensitive genotypes. The presence of *Alternaria infectoria*, *Bipolaris cynodondis*, *Cladosporium cladosporioides* and *Fusarium oxysporum* differed to genotypes, pericarps and seeds. The highest pericarp and seed rate contaminated with fungi was recorded on 2517-A (19%) and 9728-A (16%), respectively. It was determined that pericarp and seeds of genotypes highly tolerant to downy mildew were commonly contaminated with *Fusarium culmorum*, and also *A. alternata* and *A. infectoria* were found in a few genotypes. Among the highly tolerant genotypes, pericarps and seeds of I3-TR-001 and TTAE-I3-I9, respectively, were contaminated with fungi at the highest rate. In pathogenicity tests by inoculation of pericarps with seeds with fungi species, *A. alternata*, *A. infectoria*, *B. cynodontis*, *C. cladosporioides*, *F. culmorum* and *F. oxysporum* caused disease severity in seedlings at the rates reaching to 33.03%, 22.7%, 30.7%, 26.47%, 52.03% and 38.7%, respectively.

Keywords: Sunflower (*Helianthus annuus* L.), sunflower genotypes, seed-borne fungi, pathogenicity

ÖZ

Mildiyö Hastalığına Karşı Farklı Tolerans Derecelerindeki Bazı Ayçiçeği Genotiplerinde Tohum Kökenli Fungusların Belirlenmesi

Bu çalışmada ayçiçeği mildiyösü hastalığına karşı hassas ve yüksek derecede toleran olan genotiplerin perikarp ve tohumlarında bulunan fungus türlerinin tanımlanması ve patojenisitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada *Alternaria alternata* hassas genotiplerin tümünün tohum ve perikarplarında tespit edilmiştir. *Alternaria infectoria*, *Bipolaris cynodondis*, *Cladosporium cladosporioides* ve *Fusarium oxysporum*'un varlığı genotiplere, perikarp ve tohum kısımlarına göre farklılık göstermiştir. Funguslarla bulaşık en yüksek perikarp ve tohum oranı sırasıyla 2517-A (%19) ve 9728-A (%16) genotiplerinde olmuştur. Ayçiçeği mildiyösüne yüksek derecede toleran genotiplerin perikarp ve tohumlarının yaygın olarak *Fusarium culmorum* ile bulaşık olduğu ayrıca az sayıda genotipte *A. alternata* ve *A. infectoria*'nın da bulunduğu belirlenmiştir. Yüksek derecede toleran genotipler arasında I3-TR-001 ve TTAE-I3-I9'un sırasıyla perikarp ve tohumlarının fungal organizmalarla en yüksek oranda bulaşık olduğu belirlenmiştir. İzole edilen fungus türlerinin tohum içeren perikarba inokulasyonu şeklinde gerçekleştirilen patojenisite testlerinde *A. alternata*, *A. infectoria*, *B. cynodondis*, *C. cladosporioides*, *F. culmorum* ve *F. oxysporum* fidelerde sırasıyla %33.03, %22.7, %30.7, %26.47, %52.03 ve %38.7'ye ulaşan oranlarda hastalık şiddeti oluşturmuşlardır.

Anahtar kelimeler: Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), ayçiçeği genotipleri, tohum kökenli funguslar, patojenisite

GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızlı artışıyla birlikte, artan nüfusun ihtiyaçlarını karşılamak her geçen gün zorlaşmakta, sınırlı olan tarım arazilerinde daha yüksek verim ve kalitenin elde edilmesi zorunluluğu ortaya çıkmaktadır. Bu bağlamda insanın temel ihtiyaç maddelerinden olan

yağın üretimini artırmak da önem taşımaktadır. Dünyada bitkisel yağlar soya, palmiye, kanola, ayçiçeği, fıstık, pamuk ve zeytinden karşılanmaktadır. Ülkemizde bitkisel yağın hammaddesi olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) ekonomik değeri oldukça yüksek bir yağ bitkisidir. Ayçiçeği tohumlarının %40 ile %60 arasında yağ içermesi nedeniyle tarımsal üretimdeki önemi gün geçtikçe artmaktadır.

Dünyada ayçiçeği üretim alanı 2019 yılı verilerine göre 27 368 766 ha ve üretim miktarı ise 56 072 746 tondur. Dünyada 2019 yılında üretimde ilk sırayı 15 379 284 ton ile Rusya, ikinci sırayı 15 254 120 ton ile Ukranya, üçüncü sırayı 3 825 750 ton ile Arjantin almaktadır. Ülkemiz ise 754 693 ha alan ile dünya sıralamasında 10.

Article Info / Makale Bilgileri

Corresponding author e-mail: nurayozzer62@gmail.com

Received: July 2, 2021 Accepted: October 22, 2021

ORCID ID's of Authors in order:

0000-0001-5005-8380, 0000-0001-6876-7580,

0000-0003-2562-4461

İlk yazının Yüksek Lisans tezi ürünüdür. Bu çalışma IX. International Scientific Agriculture Symposium 'AGROSYM kongresinde (2018) sunulmuş ve bildirir kitabında özeti basılmıştır.

Çizelge 2. Denemelerde kullanılan ayçiçeği genotipleri

Örnek No	Hassas	Örnek No	Yüksek derecede tolerant
1	2453-A	6	TTAE-13-19
2	9728-A	7	13-TR-009
3	9725-A	8	TTAE-13-9
4	2517-A	9	11-TR-015
5	9178-A	10	13-TR-001

sırada olmakla birlikte 2 100 000 ton üretim ile 7. sırada bulunmaktadır (FAO 2019).

Ayçiçeğinde gerek yeterli yağış miktarının alınamaması gerekse yapılan yanlış uygulamalara bağlı iklimsel verim kayıpları yaşanmaktadır. Fakat bunun haricinde ayçiçeğinde başta fungal hastalıklar olmak üzere yabancı ot sorunu ve diğer hastalık ve zararlılar bulunmaktadır. Ayçiçeğinin en önemli fungal hastalığının *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berlet and de Toni tarafından oluşturulan ayçiçeği mildiyösü olduğu bildirilmektedir (Viranyi ve Spring, 2011). Bu yüzden günümüzde hâlâ ayçiçeği mildiyösüne dayanıklı hatlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Ancak geliştirilen bu dayanıklı hatlarda tohum kökenli fungal hastalıklar nedeniyle çıkış öncesi ve sonrası ölümler görülmektedir.

Ülkemizde ayçiçeği tohumlarında bulunan fungal organizmaların tespiti konusunda sadece bir çalışma ile karşılaşılmıştır (Aktaş ve ark., 2001). Bu çalışmada çok sayıda fungal organizma (*Acromoniella* spp., *Alternaria* spp., *Arthrotrichum* spp., *Aspergillus* spp., *Botrytis* spp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Drechslera* spp., *Fusarium* spp., *Macrophomina* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Phoma* spp., *Rhizopus* spp., *Septonema* spp., *Stemphylium* spp., *Trichoderma* spp., *Ulocladium* spp.) tespit edilmiş, ancak bu fungal organizmaların patojenisiteleri belirlenmemiştir.

Dış ülkelerde ayçiçeği tohumlarında bulunan fungusların tespitine yönelik araştırmalar bulunmakla beraber (Merriman ve Heathcote, 1978; Dawar ve Ghaffar, 1991; Bhutta ve ark., 1997; Wu ve Wu, 2003; Nahar ve ark., 2005; Rao, 2006; El-Azhary, 2008; Afzal ve ark., 2010; Abdullah ve Al-Mosavi, 2010; Levic ve ark., 2012; Ghoneem ve ark., 2014; El-Vakil, 2014; Masirevic ve ark., 2014; Costa Nobre ve ark., 2015; Irshad ve ark., 2017; Srinivas ve ark., 2017; Patil ve ark., 2018), tohumlardan tespit edilen fungal etmenlerin patojenisitelerine (Bhutta ve ark., 1997; Wu ve Wu, 2003; Afzal ve ark., 2010; Ghonem ve ark., 2014) ve tohum enfeksiyonu ile çeşitler arasındaki ilişkilere yönelik (Rao, 2006; El-Azhary, 2008; Abdullah ve El-Mosavi, 2010) az sayıda araştırma ile karşılaşılmıştır.

Ayçiçeği tohumları perikarp (tohum kabuğu) içinde bulunmaktadır. Danenin %45'ini oluşturan perikarp düz ya da çizgili gri-siyah renkte olup özel kabuk kırıcılarıyla kolaylıkla tohumdan ayrılabilir. Ayçiçeği mildiyösüne hassas ve yüksek derecede tolerant olan genotiplerin perikarp ve tohumları ile gerçekleştirilen bu çalışmada, tohum kökenli fungal organizmaların

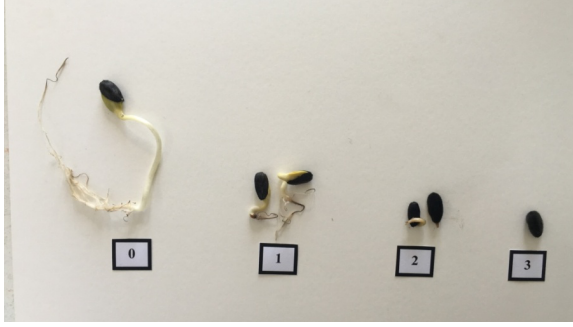
tespit edilmesi, patojenisitelerinin belirlenmesi ve fungal etmenlerin bulunma oranları açısından genotiplerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada kullanılan genotipler Edirne'de bulunan Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Söz konusu Enstitü'nün uzun yıllara dayanan çalışmaları sonucunda mildiyö hastalığına karşı yüksek derecede tolerant olduğunu bildirdikleri 5 genotip ve hassas olarak belirttikleri 5 genotip olmak üzere toplam 10 genotipe ait perikarp ve tohumlar (Çizelge 1) içerdikleri fungal organizmalar açısından incelenmiştir.

Farklı ayçiçeği genotiplerinin tohum ve perikarbinda bulunan fungal organizmaların izolasyonu

Fungal etmenlerin tespiti amacıyla perikarp ile birlikte tohumlar önce %2'lik sodyum hipoklorit ile 7 dakika süre ile sterilizasyona tabi tutulmuş daha sonra 2 kez steril saf sudan geçirilerek steril kurutma kağıtlarında kurutulmuştur. Steril bistüri yardımıyla perikarp ve tohumlar ayrılarak içinde patates dekstroz agar (PDA) içeren petri kaplarına yerleştirilmiştir. Denemeler her tekrarda 1 petri ve her petride 10 adet tohum ya da perikarp bulunacak şekilde 10 tekrarlı olarak tesadüf parselleri deneme deseninde yürütülmüş toplamda her bir genotipten 100'er adet tohum ve perikarp kültüre alınmıştır. Perikarp ve tohumları içeren petripler 23 °C'de karanlıkta 7 gün süre ile inkübasyona bırakılmış, bu süre sonunda gelişen funguslar konidi ve konidiofor yapılarına ve besi ortamlarındaki koloni gelişimlerine göre cins düzeyinde tanılanarak gruplandırılmıştır (Ellis, 1976; Domsch ve ark., 1980; Watanabe, 2002; Woudenberg ve ark., 2013; Lawrence ve ark., 2014). *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. ve *Rhizopus* spp. saprofit olarak değerlendirilmiştir. Tanılama sürecinde PDA dışında patates havuç agar (PCA), malt ekstrakt agar (MEA) ve sebze suyu (V8) agar kullanılmıştır. Hassas ve yüksek derecede tolerant genotiplerden elde edilerek cins düzeyinde gruplandırılmış izolatların tek spor izolasyonları yapılmıştır, daha sonra PDA besi ortamı içeren tüplere alınarak +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Ayçiçeği fidelerinde fungal etmenlerin oluşturduğu hastalık şiddeti için oluşturulan skala.

Patojenisite testleri

Patojenisite testlerinde tek spor olarak elde edilen cinslere ait gruplardan, enfekteli tohum oranları dikkate alınarak tesadüf olarak seçilen izolatlar kullanılmıştır. Testler en yüksek ve en düşük düzeyde bulaşık bulunan 2 genotipte gerçekleştirilmiştir. Tohumlar perikarbi ile birlikte, seçilen izolatların spor süspansiyonu ile inokule edilmiştir. Inokulasyon sırasında *Alternaria* spp. ve *Bipolaris* sp. için 1×10^5 konidi/ml (Noelting ve ark., 2012; Tanahashi ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2017); *Fusarium* spp. ve *Cladosporium* sp. için 10^6 konidi/ml (Palou ve ark., 2016; Touati-Hattab ve ark., 2016; Tetorya ve Rajam, 2018) konsantrasyonları kullanılmıştır. Fungal organizmaların izolasyonu bölümünde belirtildiği şekilde steril edilen tohum+perikarp konidi süspansiyonları içine alınarak üzerine 10 µl Tween 20 damlatılmış ve 1 saat süre ile sallayıcıda çalkalanmıştır. Çalkalanma sonunda steril kurutma kağıtlarının üzerinde 5 dakika süre ile kurutulan perikarpli tohumlar, içinde steril su ile ıslatılmış 4 kat kurutma kağıdı bulunan petrilere her petriye 10 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir. Denemeler 10 tekrarlı olarak (her tekrarda bir petri) tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür.

Perikarbi ile birlikte inokule edilen tohumlar 1 hafta süre ile 23 °C'de karanlıkta inkübasyona bırakıldıktan sonra fidelerde farklı belirtiler gözleendiği ve daha önce verilen herhangi bir skala bulunmadığı için tarafımızdan oluşturulan 0-3 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir (0: Sağlıklı, 1: Çimlenme var, ancak kök uçları kahverengileşmiş, 2: Çimlenme var, perikarp fungus tarafından kolonize olmuş, 3: Çimlenme yok, perikarp ve tohum fungus tarafından tamamen kolonize olmuş) (Şekil 1). İnkübasyon döneminden sonra oluşan hastalık şiddeti ise Townsend-Heuberger formülü yardımıyla hesaplanmıştır (Karman 1971).

Fungus türlerinin teşhisi

Moleküler teşhise temel olması açısından mikroskopik görünüşleri ve koloni gelişimlerine göre gruplara ayrılan izolatlardan yüksek düzeyde patojen olanları seçilerek PCA, PDA, V8 ve MEA besi ortamlarında

gelişme hızları ölçülmüştür. Gelişme hızını ölçmek için PDA besi ortamında geliştirilen izolatlardan mantar delici ile 0.7 cm çapında agar disk alınarak belirtilen besi ortamlarına aktarıldıktan sonra 23 °C'de karanlıkta inkübasyona bırakılmış ve 3., 5., 10. ve 15. günlerde koloni çapları belirlenmiştir. Her bir izolat ve besi ortamı için 3 tekrar yapılmıştır. Ayrıca söz konusu izolatların konidi boyutları ve her bir besi ortamındaki koloni gelişimleri belirlenmiş, DNA ekstraksiyonu, PCR amplifikasyonu ve DNA dizi analizi için Namık Kemal Üniversitesi NABİLTEM laboratuvarına gönderilmiştir. Elde edilen sekanslar NCBI (National Center for Biotechnology Information)' de BLAST analizi ile incelenerek tür teşhisleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda, fungus türlerinin tohum ve perikarp kısımlarında bulunma oranları ve patojenisite testleri sonucunda elde edilen değerler SPSS programı kullanılarak tek yönlü varyans analizine tabii tutulmuş, ortalamalar arasındaki farklılıklar LSD testine ($P = 0.05$) göre karşılaştırılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Farklı ayçiçeği genotiplerinin tohum ve perikarbında tespit edilen fungus türleri

Çalışmamızda kullanılan mildiyö hastalığına karşı hassas genotiplerde yapılan incelemeler sonucunda, tohum ve perikarpta alternata tür grubundan *Alternaria alternata*, infectoria tür grubundan *Alternaria infectoria*, ayrıca *Bipolaris cynodontis*, *Cladosporium cladosporioides* ve *Fusarium oxysporum* olmak üzere 5 farklı fungus türü tespit edilmiştir (Çizelge 2). İzole edilen fungus türleri arasında *A. alternata* tüm genotiplerde belirlenmiş, en yüksek enfekteli perikarp oranı (%17) 4 no'lu genotipte olmuş, bu genotipte söz konusu tür ile enfekteli tohum ve perikarp oranı arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Diğer genotiplerde enfekteli perikarp ve tohum oranı arasında istatistiki bir farklılık olmamış, etmen %2 ile %6 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir. *A. infectoria*, 1 ve 2 no'lu genotiplerin hem tohum hem de perikarp kısmında, 3 ve 4 nolu genotiplerin sırasıyla perikarp ve tohum kısmında bulunmuştur. 3 no'lu genotipin tohum kısmı söz konusu fungus türünü içermemiş bu durum istatistiki olarak önemli olmuştur. *Bipolaris cynodontis* 2 ve 3 no'lu genotiplerin sadece tohumlarında tespit edilmiş, perikarp kısmının bu fungusla bulaşık olmadığı görülmüştür. *C. cladosporioides* 1 no'lu genotipin ve *F. oxysporum* ise 3 ve 4 no'lu genotiplerin hem tohum hem de perikarp kısımlarında tespit edilmişlerdir. *C. cladosporioides* için 1 no'lu genotipte, *F. oxysporum* için 4 no'lu genotipte enfekteli tohum ve perikarp oranları arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli olmuştur. Ayçiçeği mildiyösüne karşı hassas olan genotipler toplam fungus açısından değerlendirildiğinde 4 no'lu genotipin (tohum + perikarp) diğerlerine göre daha yüksek oranda bulaşık olduğu görülmüştür.

Çizelge 2. Ayçiçeği mildiyösüne karşı hassas genotiplerde fungus türleri ile bulaşık tohum ve perikarp oranları (%)

Fungus türleri	Genotip									
	1 (2453-A)		2 (9728-A)		3 (9725-A)		4 (2517-A)		5 (9178-A)	
	Tohum	Perikarp	Tohum	Perikarp	Tohum	Perikarp	Tohum	Perikarp	Tohum	Perikarp
<i>Alternaria alternata</i>	5.0b*	4.0b	5.0b	6.0b	0.0b	2.0b	6.0b	17.0a	3.0b	4.0b
<i>Alternaria infectoria</i>	4.0ab	1.0b	8.0a	3.0ab	0.0b	8.0a	2.0b	0.0b	0.0b	0.0b
<i>Bipolaris cynodondis</i>	0.0b	0.0b	3.0ab	0.0b	6.0a	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
<i>C. cladosporioides</i>	5.0a	1.0b	0.0b	3.0ab	1.0b	0.0b	0.0b	1.0b	0.0b	0.0b
<i>Fusarium oxysporum</i>	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	1.0b	2.0ab	6.0a	1.0b	0.0b	0.0b
Toplam	14	6	16	12	8	12	14	19	3	4

*: Her değer 10 tekrarı ortalamasıdır. Aynı sırada farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar LSD testine göre önemlidir (P = 0.05).

Çizelge 3. Ayçiçeği mildiyösüne karşı yüksek derecede tolerant genotiplerde fungus türleri ile bulaşık tohum kısımları (%)

Fungus türleri	Genotip									
	6 (TTAE-13-19)		7 (13-TR-009)		8 (TTAE-13-9)		9 (11-TR-015)		10 (13-TR-001)	
	Tohum	Perikarp	Tohum	Perikarp	Tohum	Perikarp	Tohum	Perikarp	Tohum	Perikarp
<i>Alternaria alternata</i>	0.0*b	1.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	2.0b	2.0b	4.0ab	7.0a
<i>Alternaria infectoria</i>	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	1.0b
<i>Fusarium culmorum</i>	6.0ab	0.0c	3.0bc	1.0bc	1.0bc	9.0a	2.0bc	1.0bc	0.0c	11.0a
Toplam	6	1	3	1	1	9	4	3	4	19

*: Her değer 10 tekrarı ortalamasıdır. Aynı sırada farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar LSD testine göre önemlidir (P = 0.05).

Mildiyöye yüksek derecede tolerant olduğu bilinen genotiplerde yapılan incelemeler sonucunda ise *A. alternata*, *A. infectoria* ve *Fusarium culmorum* olmak üzere 3 tür tespit edilmiştir. Bunlar arasında *F. culmorum*'un tüm genotiplerde, *A. alternata*'nın 7 ve 8 no'lu genotipler hariç diğer genotiplerde, *A. infectoria*'nın ise sadece 10 no'lu genotipin perikarp kısmında %1 oranında bulunduğu görülmüştür (Çizelge 3). Tespit edilen türlerden *A. alternata* ile en yüksek bulaşıklılık oranı (%7) 10 no'lu genotipin perikarp kısmında olmuş ancak enfekteli tohum oranı ile arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Diğer türlerle kıyaslandığında en yüksek bulaşıklılık oranı *F. culmorum* ile gözlenmiş, 8 ve 10 no'lu genotiplerin perikarplarının sırasıyla %9 ve %11 arasında fungusla bulaşık olduğu belirlenmiştir. Her iki genotipte söz konusu etmenle bulaşık perikarp oranı, bulaşık tohum oranına göre önemli derecede yüksek olmuştur. Fungus ayrıca 6 no'lu genotipte tohum kısmında, perikarp kısmına göre önemli derecede yüksek oranda izole edilmiştir. Bu grupta toplam fungus türleri değerlendirildiğinde en yüksek bulaşık tohum ve perikarp oranlarının sırasıyla 6 ve 10 no'lu genotiplerde bulunduğu, 7 no'lu genotipin (tohum + perikarp) genel olarak funguslarla en düşük oranda bulaşık olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda izole edilen türlerden *A. alternata*, gerek ülkemizde gerekse dış ülkelerde ayçiçeği tohumlarından izole edilmiştir. Dış ülkelerde yapılan çalışmalardan sadece Tayvan'da etmen ile bulaşık tohum oranı %99'a ulaşmış (Wu ve Wu, 2003), ülkemiz dahil diğer tüm ülkelerde bulaşık tohum oranı %1.3 ile %35.3 arasında değişmiştir (Dawar ve Ghaffar,

1991; Aktaş ve ark., 2001; Nahar ve ark., 2005; Rao, 2006; Abdullah ve El-Mosavi, 2010; Ghoneem ve ark., 2014; El-Vakil, 2014; Irshad ve ark., 2017). Araştırmamızda ayçiçeği mildiyösüne hassas ve yüksek derecede tolerant genotiplerin perikarp ve tohumları kullanılmış, söz konusu etmenin bulunma oranı maksimum %17 olmuştur.

Tarafımızdan tespit edilen türlerden en yüksek %8 oranında bulunan *A. infectoria*'nın ayçiçeği tohum ya da perikarplarında bulunduğu dair bir araştırma ile karşılaşılmamıştır. Yine çalışmamızda izole edilen türlerden *C. cladosporioides*, *F. culmorum* ve *F. oxysporum* daha önce yapılan çalışmalarda da düşük oranlarda (sırasıyla %0.5-4.56, %1-3 ve % 0.23-5.71) izole edilmiş olup (Aktaş, 2001; Nahar ve ark., 2005; Abdullah ve Al-Mosavi, 2010; Bhutta ve ark., 2014; Ghoneem ve ark., 2014; Irshad ve ark., 2017), sadece bir çalışmada *F. oxysporum* ile enfekteli tohum oranı maksimum %19 olarak belirlenmiştir (El-Vakil, 2014). Dış ülkelerde ayçiçeği perikarp ve tohum kısımlarının ayrı ayrı ele alındığı iki araştırma ile karşılaşılmıştır. Bunlardan Nahar ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada sadece yüksek oranda funguslarla bulaşıklılık gösteren örnekler incelenmiş, *F. solani*'nin tohum kısmında bulunduğu, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* ve *Trichoderma harzianum*'un hem tohum hem de perikarp kısmında bulunabildiği bildirilmiştir. Diğer çalışmada (Rao, 2006) ise izole edilen fungus türlerinden *A. alternata*, *A. helianthi* ve *Rhizoctonia bataticola*'nın hem perikarp hem de tohumlarda bulunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4. İki farklı ayçiçeği genotipinde *Alternaria* türlerine ait izolatların fidelerde oluşturdukları hastalık şiddeti (\pm Standart hata)

Genotip No	<i>A. alternata</i>		<i>A. infectoria</i>	
	izolat No	Hastalık şiddeti (%)	izolat No	Hastalık şiddeti (%)
4	1	29.03 \pm 2.35 ab *	15A	12.51 \pm 2.91 bc
7		27.03 \pm 3.41 ab		6.31 \pm 1.07 c
4	16	27.70 \pm 1.49 ab	31	13.14 \pm 2.16 b
7		30.70 \pm 1.87 ab		22.70 \pm 2.37 a
4	17	33.03 \pm 3.55 a		
7		30.03 \pm 2.98 ab		
4	25	27.37 \pm 2.39 ab		
7		31.70 \pm 1.68 ab		
4	32	31.03 \pm 1.99 ab		
7		29.37 \pm 2.84 ab		
4	42	24.03 \pm 2.11 b		
7		28.70 \pm 2.76 ab		
4	45	24.70 \pm 2.37 ab		
7		29.70 \pm 1.92 ab		
4	53	28.37 \pm 1.44 ab		
7		29.03 \pm 2.69 ab		

*: Her bir değer 10 tekrarın ortalamasıdır. Her sütunda değişik harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık LSD testine göre istatistik olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Araştırmamızda tespit edilen *A. infectoria*, *C. cladosporioides*, *B. cynodontis*, *F. culmorum* ve *F. oxysporum*'un tohum ya da perikarpıta bulunma durumları ilk kez incelenmiştir. Yine izole edilen fungus türlerinin genelde perikarp ve tohum kısımlarında değişen oranlarda bulunduğu, her türün en az bir genotipin tohum ya da perikarp kısmında önemli derecede yüksek oranda bulunduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda farklı fungus türleri ile bulaşık tohum ve perikarp oranları genotiplere göre farklılık göstermiştir. İzole edilen türler arasında *A. alternata* ayçiçeği mildiyösüne hassas olan genotiplerin tümünde görülmesine karşın, yüksek derecede tolerant genotiplerin 3 tanesinde bulunmuştur. Yine *A. infectoria* 5 nolu genotip hariç, hassas tüm genotiplerin tohum ya da perikarbindan izole edilmiş, yüksek derecede tolerant genotiplerde ise sadece 10 nolu genotipin perikarp kısmında %1 oranında tespit edilmiştir. Buna karşın hassas genotiplerde bulunmamasına karşın yüksek derecede tolerant genotiplerde %11'e varan oranlarda *F. culmorum* izole edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda her ne kadar mildiyö hastalığına karşı reaksiyonları dikkate alınmasa da fungal etmenlerin tohumda bulunma oranlarının çeşitlere göre farklılık gösterdiği bildirilmektedir (Wu ve Wu, 2003; El-Ezhary, 2008; Abdullah ve El-Mosavi, 2010; Patil ve ark., 2018).

Tespit edilen fungusların patojenisiteleri

A. alternata ile bulaşık tohum ve perikarp oranlarına göre tesadüfi olarak seçilen 8 izolat ile 2 farklı genotipte [4: En yüksek oranda bulaşık-Hassas), 7: En düşük oranda bulaşık (Yüksek derecede tolerant)] yürütülen

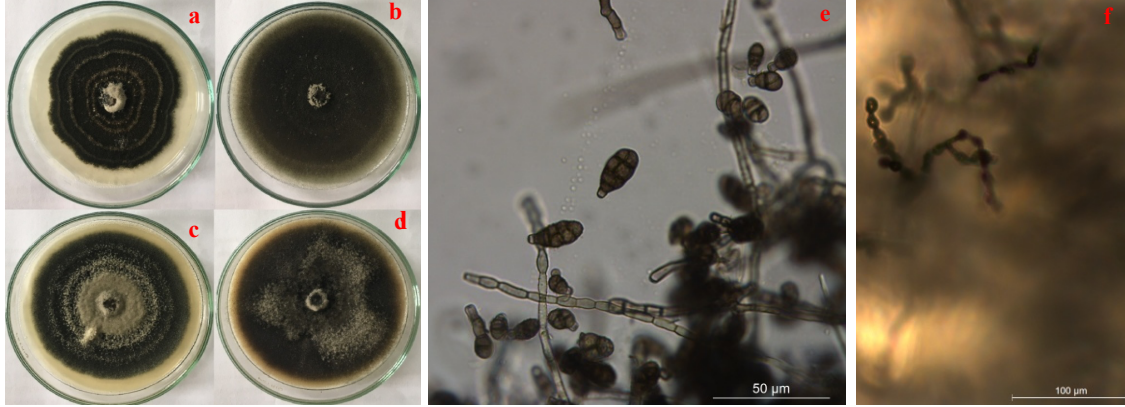
patojenisite testlerinde en yüksek hastalık şiddeti (%33.03) 17 nolu izolat 4 numaralı genotipe inokule edildiğinde olmuştur (Çizelge 4). En düşük hastalık şiddeti ise 42 numaralı izolat tarafından 4 numaralı genotipte (%24.03) oluşturulmuştur. Bu iki izolat arasındaki farklılık istatistik olarak önemli bulunmuş, ancak 17 nolu izolat ile diğer izolatlar arasında hastalık şiddeti açısından önemli bir farklılık oluşmamıştır. *A. infectoria* izolatları tarafından oluşturulan hastalık şiddeti 4 numaralı genotipte önemli bir farklılık göstermezken, 7 numaralı genotipte izolatlar arasında önemli bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. *A. infectoria* izolatlarında 31 nolu izolat 7 nolu genotipte önemli derecede daha yüksek bir hastalık şiddetine neden olmuş, 15A izolatı ise her iki genotipte de düşük hastalık şiddeti meydana getirmiştir.

İki ayçiçeği genotipinde oluşturdukları hastalık şiddeti açısından *Bipolaris cynodontis*'in 8 ve 13 nolu izolatları incelendiğinde (Çizelge 5) 8 nolu izolata göre her iki genotipte de daha yüksek hastalık şiddeti oluşturduğu belirlenmiştir. Her iki izolata oluşturduğu hastalık şiddeti açısından genotipler arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. *Fusarium culmorum* sadece ayçiçeği mildiyösüne yüksek derecede tolerant genotiplerden izole edilse de 4 ve 7 numaralı genotiplerde yüksek derecede patojen bulunmuştur. Test edilen izolatlardan 54 nolu izolat %52.03 ile 7 nolu genotipte en yüksek hastalık şiddetini oluşturmuş, aynı izolata 4 nolu genotipte oluşturduğu hastalık şiddeti arasında önemli bir farklılık görülmemiştir. Bununla birlikte 50 nolu izolat 4 nolu genotipte 7 nolu genotipe göre önemli derecede daha yüksek hastalık şiddetine neden olmuş aynı genotip (4)

Çizelge 5. İki farklı ayçiçeği genotipinde *Bipolaris cynodontis* ve *Fusarium* türlerine ait izolatların fidelerde oluşturdukları hastalık şiddeti (\pm Standart hata)

Genotip No	<i>B. cynodontis</i> izolat No	Hastalık şiddeti (%)	<i>F. culmorum</i> izolat No	Hastalık şiddeti (%)	<i>F. oxysporum</i> izolat No	Hastalık şiddeti (%)
4	8	28.03 \pm 1.63 a*	50	39.03 \pm 1.82 b	21	36.70 \pm 2.28 a
7		30.70 \pm 1.33 a		29.03 \pm 1.95 c		38.70 \pm 4.03 a
4	13	19.37 \pm 2.26 b	54	44.03 \pm 3.95 ab	46	16.37 \pm 2.72 b
7		19.37 \pm 2.93 b		52.03 \pm 3.91 a		21.37 \pm 1.55 b

*: Her bir değer 10 tekrarin ortalamasıdır. Her sütunda değişik harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık LSD testine göre istatistik olarak önemlidir (P = 0.05).

Şekil 2. *Alternaria alternata*'nın PDA (a), PCA (b), MEA (c) ve V8 (d) besi ortamındaki koloni gelişimi ve konidileri (e, f).

dikkate alındığında 54 no'lu izolat ile aynı grupta yer almıştır. *Fusarium oxysporum* izolatlarından 21 no'lu izolat çeşitlere göre istatistik bir farklılık göstermeden 46 no'lu izolata göre daha yüksek hastalık şiddeti oluşturmuştur (Çizelge 5).

C. cladosporioides'e ait bir izolatla yapılan patojenite testleri sonucunda etmen 4 ve 7 nolu genotiplerde sırasıyla %26.47 ve %22.45 hastalık şiddeti oluşturmuştur. Etmenin patojenitesi genotiplere göre önemli derecede bir farklılık göstermemiştir.

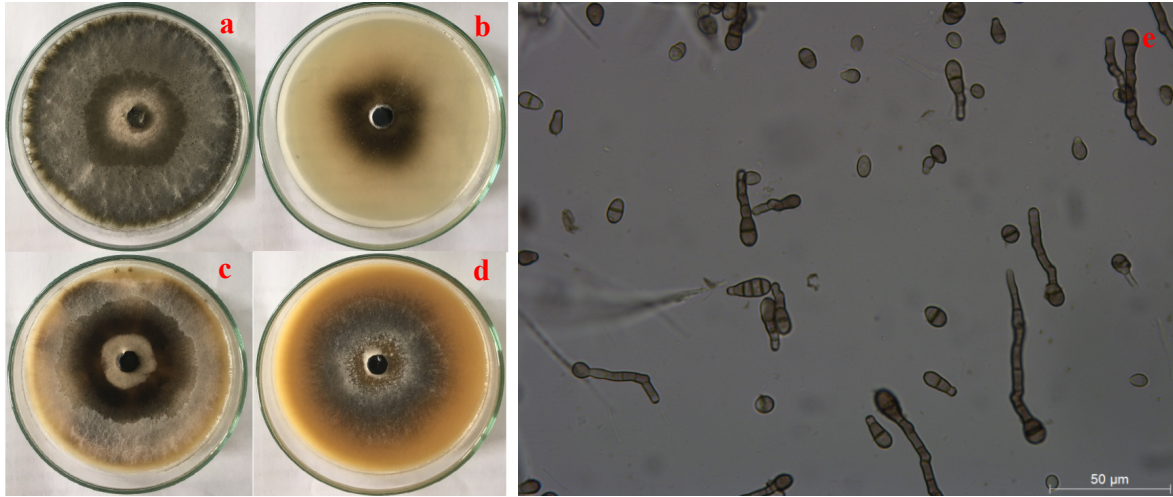
Daha önce yapılan çalışmalarda Afzal ve ark. (2010), steril toprak karışımı bulunan saksılara *A. alternata*'nın spor süspansiyonunu karıştırarak gerçekleştirdikleri patojenite testlerinde etmenin %10-12 arasında fide ölümlerine neden olduğunu bildirmektedirler. Çalışmamızda *A. alternata* izolatlarının oluşturduğu hastalık şiddetinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Ghoneem ve ark (2014) *F. oxysporum*'un tohuma inokulasyonu şeklinde gerçekleştirdikleri patojenite testlerinde etmenin %15.3-%37.0 arasında enfeksiyona neden olduğunu belirtmektedirler. Araştırmamızda *F. oxysporum* ile elde edilen sonuçlar, söz konusu araştırmacının sonuçları ile uyum içerisindedir. Bununla birlikte ayçiçeğinde *F. oxysporum*'un *F. culmorum*'a göre daha virulent olduğunu ileri süren Bhutta ve ark (1997)'nin aksine çalışmamızda *F. culmorum* en yüksek hastalık şiddeti oluşturan tür olmuştur. Bu durumun, patojenite testlerinde kullanılan genotipler, inokulasyon yöntemleri ve izolatlar arasındaki

farklılıktan ileri geldiği düşünülmektedir. *A. infectoria*, *Bipolaris cynodontis* ve *C. cladosporioides*'in ayçiçeği tohumlarında patojenitesine yönelik daha önce yapılmış bir çalışma ile karşılaşılmamıştır.

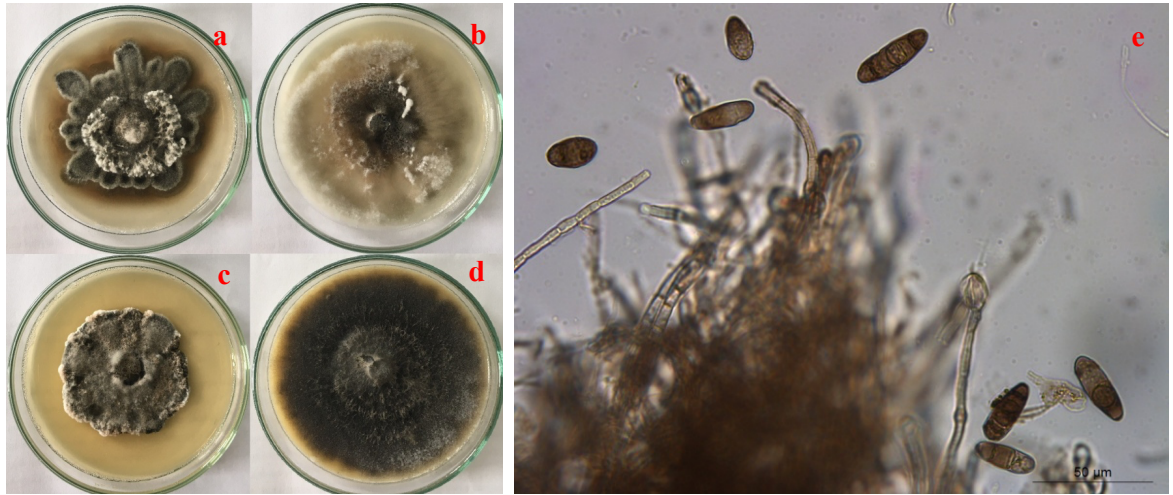
İzole edilen fungus türlerinin bazı kültürel ve morfolojik özellikleri

Bu çalışmada, izole edilen 6 fungus türünün moleküler analizleri desteklemesi açısından farklı besi ortamlarındaki koloni gelişimleri ve ayrıca morfolojik özellikleri belirlenmiştir.

Alternaria alternata (Fr.) Keissl.; fungus PDA, MEA ve V8 besi ortamlarında ortası grimsi yeşil, kenarları zeytuni yeşil renkte gelişmiştir (Şekil 2a, c ve d). PCA besi ortamında ise koyu siyah renkte gelişmiş ve çok az hifsel gelişme göstermiştir (Şekil 2b). Etmen PDA ve MEA besi ortamlarında iç içe geçmiş daireler şeklinde bir koloni oluşturmuştur. Fungusun 15 günlük inübasyon sonucunda gelişme hızları, PDA'da 0.44 cm/gün, MEA'ta 0.35 cm/gün, PCA'da 0.86 cm/gün, ve V8'de 0.80 cm/gün olarak belirlenmiştir. Etmenin V8 ve PCA'daki gelişme hızı PDA ve MEA'ya göre daha hızlı olmuştur. Konidileri basit konidioforlar üzerinde zincir şeklinde oluşmuş (Şekil 2e ve f), konidi boyu 15.41-32.08 μ m arasında (ortalama 23.45 μ m), eni 8.56-13.37 μ m arasında (ortalama 9.30 μ m) olmuştur. Etmenin BLAST analizi sonucunda Gen Bankasında bulunan çok sayıda *A. alternata* izolatına (Örnek Accession No: KY367499.2, MF281351.2,



Şekil 3. *Alternaria infectoria*'nın PDA (a), PCA (b), MEA (c) ve V8 (d) besi ortamlarında koloni gelişimi ve konidileri (f).



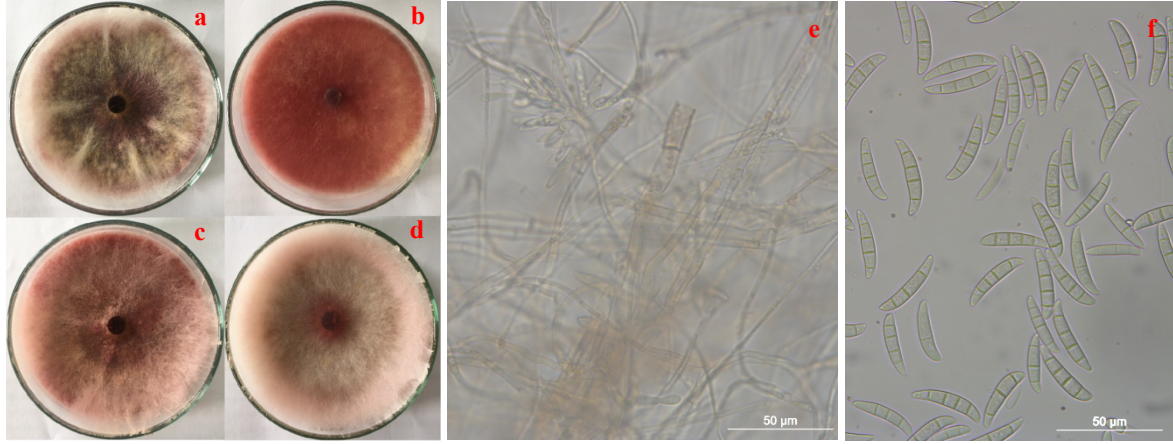
Şekil 4. *Bipolaris cynodontis*'in PDA (a), PCA (b), MEA (c) ve V8 (d) besi ortamlarında koloni gelişimi, konidileri (e).

MF281325.2, KY676196.1, LC317410.1) %99 oranında benzer bulunmuştur.

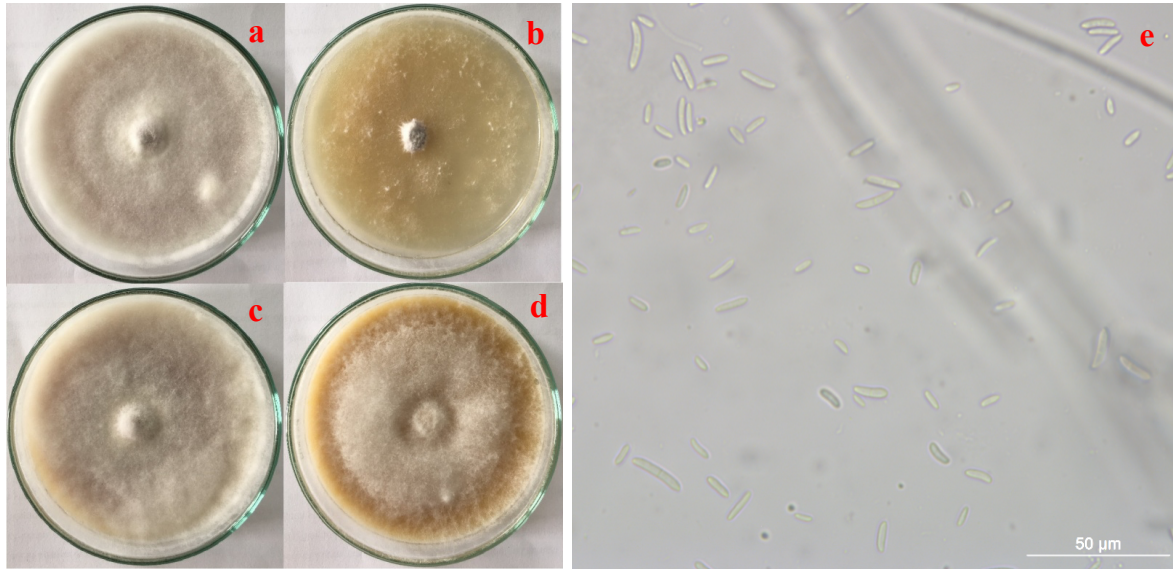
Alternaria infectoria E.G. Simmons [eşeyli formu: *Lewia infectoria* (Fuckel) M. E. Barr & E. G. Simmons]: Etmen PDA besi ortamında siyah renkte, MEA besi ortamında orta kısmı siyah kenarları gri renkte bir gelişim göstermiş, her iki besi ortamında da havai misel oluşumu gözlenmiştir (Şekil 3a ve c). PCA besi ortamında sadece merkezde siyahımsı gri renkte havai olmayan misel gelişimi, V8 besi ortamında ise merkeze doğru havai misel oluşumu gösteren siyahımsı gri renkte bir koloni oluşturmuştur (Şekil 3b ve d). PDA, PCA, MEA ve V8 ortamlarında gelişim hızları sırasıyla; 0.60 cm/gün, 0.51 cm/gün, 0.45 cm/gün ve 0.80 cm/gün olarak belirlenmiştir. Konidileri bir ya da iki hücreli olup, elips ya da oval şekildedir (Şekil 3e). Konidi boyu 17.95-32.09 µm (ortalama: 23.46 µm), eni ise 8.88-13.37 µm (ortalama: 9.29 µm) arasında olmuştur. Yapılan BLAST analizi sonuçlarında *Alternaria*

infectoria'nın iki izolatına (Accession No: KT692570.1 ve AY154690.1) %100 oranında benzer olduğu tespit edilmiştir.

Bipolaris cynodontis (Marignoni) Shoemaker (Eşeyli formu: *Cochliobolus cynodontis* R. R. Nelson); PDA ve MEA besi ortamlarında siyah renkte ve koloninin bazı bölümlerinde beyazımsı gri renkte fungal misel gelişimi (Şekil 4a ve c), PCA besi ortamında ortadan kenarlara gidildikçe siyahtan şeffaf renge dönüşen kenar kısımlarında pamuksu fungal misel gelişimi (Şekil 4b), V8 besi ortamında ise genel düz siyah renkte koloni gelişimi görülmüştür (Şekil 4d). 15 günlük inkübasyon sonucunda ise PDA, PCA, MEA ve V8 besi ortamlarında sırasıyla 0.31 cm/gün, 0.34 cm/gün, 0.27 cm/gün ve 0.80 cm/gün olarak belirlenmiştir. Konidioforları tek tek veya gruplar halinde oluşur. Konidileri hafif eğimli, silindirik veya elips şeklinde, açık kahverengi renğinde ve çok bölmelidir (Şekil 4e). Konidi boyu 24.40-38.25 µm (ortalama: 30.10 µm), eni



Şekil 5. *Fusarium culmorum*'un PDA (a), PCA (b), MEA (c) ve V8 (d) besi ortamlarında koloni gelişimi, konidiofor (e) ve konidileri (f).

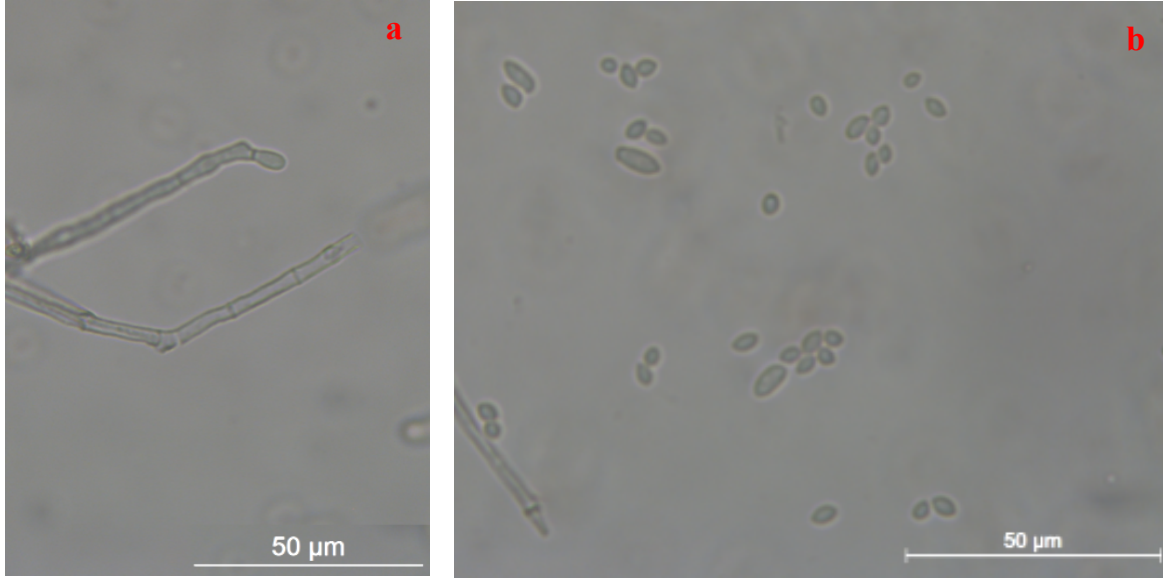


Şekil 6. *Fusarium oxysporum*'un PDA (a), PCA (b), MEA (c) ve V8 (d) besi ortamlarında koloni gelişimi ve konidileri (e).

7.93-13.20 µm (ortalama: 10.52 µm) arasında değişmektedir. Etmen BLAST analizinde HG779081.1, KM034838.1 ve KC333443.1 Accession numaralı izolatlar ile %100 benzer bulunmuştur.

Fusarium culmorum (W. G. Sm.) Sacc; fungus tüm besi ortamlarında pembeden şarap rengine dönüşen bir gelişim göstermiştir. PDA, MEA ve V8 besi ortamlarında pembe renkte yoğun havai misel gelişimi gözlenmiş (Şekil 5a, c ve d), V8 besi ortamında ise kenar kısımlarda daha yoğun bir havai misel gelişimi olmuştur. PCA besi ortamında (Şekil 5b) koloni rengi pembeden kırmızıya dönüşmüş ve çok az miktarda havai misel gelişimi olmuştur. 15 günlük inkübasyon periyodu sonucunda, PDA, PCA, MEA ve V8 besi ortamlarındaki gelişme hızları ise sırasıyla 1.08 cm/gün, 0.96 cm/gün, 1 cm/gün ve 1.68 cm/gün olarak hesaplanmıştır. V8 besi ortamındaki gelişme hızı (1.68

cm/gün) önemli derecede yüksek bulunmuştur (P=0.05). Etmenin konidioforları dallanmış olup kısa ve geniş filatillerle kaplıdır. Filatiller üzerinde oluşan makrokonidileri geniş, orak şeklinde belirgin bir ayak hücrelerine sahiptir (Şekil 5e ve f). Konidi boyu 28.98-35.89 µm (ortalama 32.05 µm), eni 4.70-7.53 µm (ortalama 5.85 µm) arasındadır. Etmenin BLAST analizi sonucunda Gen Bankasında bulunan birçok *Fusarium culmorum* izolatı ile (Örnek Accession No: KP267286.1, JF740860.1, GU370489.1, GU370481.1, GU370478.1) %100 oranında benzerlik saptanmıştır. *Fusarium oxysporum* Schlecht.; fungus PDA, MEA ve V8 besi ortamlarında birbirleri benzer şekilde pembe beyaz renkte koloniler ve üzerinde pamuksu miselyal gelişim göstermiştir (Şekil 6a, c ve d). PCA besi ortamında ise şeffafa yakın bir şekilde gelişmiş ve üzerinde çok az miktarda havai misel oluşmuştur (Şekil



Şekil 7. *Cladosporium cladosporioides*'in konidiofor (a) ve konidileri (b).

6b). PDA, PCA, MEA ve V8 besi ortamlarındaki hızları ise sırasıyla 0.60 cm/gün, 0.83 cm/gün, 0.59 cm/gün ve 0.89 cm/gün olarak belirlenmiştir. Etmen kısa, basit filitler üzerinde bölmesiz elips ya da silindir şeklinde bol miktarda mikrokonidi oluşturmuştur. Makrokonidileri iğ şeklinde, hafif kıvrık ve ayak hücresi belirgindir (Şekil 6e). Makro konidilerinin boyu 11.87-19.29 µm, eni 2.15-3.37 µm arasında, mikrokonidilerin boyu 5.59-11.05 µm, eni 1.28-3.23 µm arasında değişmiştir. BLAST analizi sonucunda etmenin Gen Bankasında bulunan çok sayıda *Fusarium oxysporum* izolatı ile (Örnek Accession No: KX165288.1, KP964863.1, KF574857.1, KF574853.1, KF537337.1) %99 oranında benzer olduğunu göstermiştir.

Cladosporium cladosporioides (Fresen.) G. A. de Vries; tüm besi ortamlarında grimsi yeşil koloniler oluşturmuştur. Etmenin eliptik ya da silindirik şekilli konidileri dik bir konidioforun dallanmış uç kısımlarında görülmüştür (Şekil 7a, b) BLAST analizi sonuçlarında ise etmen Gen Bankasında bulunan birçok *Cladosporium cladosporioides* izolatı ile (Örnek Accession No: MG946764.1, MF281329.2, LC317546.1, LC317544.1, KY977538.1) %100 oranında bezer olduğunu tespit edilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, ayçiçeği tohumlarından izole edilen fungus türlerinden sadece *A. helianthi*' nin moleküler olarak tanılandığı görülmüştür (Udayashankar ve ark., 2012). Bununla birlikte diğer tüm tespit çalışmalarında tohumlardan elde edilen çok sayıda fungal etmenin tanıları sadece morfolojik ve kültürel özelliklerine göre yapılmıştır.

Bu çalışma sonuçlarına göre ayçiçeği mildiyösü hastalığının kontrolü amacıyla yüksek derecede tolerant genotiplerin kullanılması halinde bu çalışmada elde edilen verilerin dikkate alınması önerilmektedir. Bu bağlamda sürdürülebilir tarım çerçevesinde ayçiçeğinde

tohum kökenli fungal patojenlere karşı kimyasal mücadeleye alternatif olabilecek yöntemlerin etkililiğine yönelik araştırmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir. Ayrıca fungus türlerinin genotiplerde, tohum ve perikarp kısımlarında bulunma oranlarındaki farklılıklar, genotiplerin tohum ve perikarplarının kimyasal yapılarının farklı olmasından ileri gelebilir. Bu kimyasal özelliklerin daha sonraki çalışmalarda incelenmesinde yarar bulunmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada kullanılan ayçiçeği tohumlarının temini için Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Edirne)'ne çok teşekkür ederiz.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Abdullah, S.K, and Al-Mosawi, K.A. 2010. Fungi associated with seeds of sunflower (*Helianthus annuus*) cultivars grown in Iraq. *Phytopathologia* 57: 11-20.
- Afzal, R., Mughal, S.M., Munir, M., Sultana, K., Qureshi, R., Arshad, M. and Laghari, M.K. 2010. Mycoflora associated with seeds of different sunflower cultivars and its management. *Pak. J. Bot.* 42: 435-445.
- Aktaş, H., Gürer, M. and Araz, A. 2001. Türkiye'de ekilmekte olan yağlık ve çerezlik ayçiçeği çekirdeklerindeki fungal floranın saptanması üzerinde araştırmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi, Tekirdağ 2001, 250-263.
- Bhutta, A.R., Bhatti, M.H.R. and Ahmad, I. 1997. Study on pathogenicity of seed-borne fungi of sunflower in Pakistan. *Helia* 20: 57-66.
- Costa Nobre, D.A, Costa, C.A., Junior, D.S.B., Resende, J.C.F. and Flavio, N.S.D.S. 2015. Quality of sunflower seeds of different genotypes. *Cienc. Rural* 45: 1729-1735.
- Dawar, S. and Ghaffar, A. (1991). Detection of seedborne mycoflora of sunflower. *Pak. J. Bot.* 23: 173-178.

- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. 1980. Compendium of Soil Fungi. London, Academic Press, New York, 859 pp.
- El Azhary, A.M.E.S. 2008. A study on seed-borne fungi of sunflower. Ph.D Thesis, Faculty of Agriculture, Zagazig, Egypt.
- El-Wakil, D.A. 2014. Seed-borne fungi of sunflower (*Helianthus annuus* L.) and their impact on oil quality. J. Agric. Vet. Sci. 6: 38-44.
- Ellis, M.B. 1976. Dematiaceae, Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England, 507 pp.
- FAO 2019. Sunflower Production. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (Web page: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>), (Date accessed: June 2021).
- Ghoneem, K.M., Ezzat, S.M. and El-Dadamony, N. 2014. Seed-borne fungi of sunflower in Egypt with reference to pathogenic effects and their transmission. Plant Pathol. J. 13: 278-284.
- Irshad, G., Gazal, H., Naz, F., Hassan, I., Bashir, A. and Ghuffar, S. 2017. Detection and *in vitro* management of seed borne mycoflora associated with sunflower and zinnia. Pak. J. Phytopathol. 29: 7-16.
- Karman, M.B. 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler. Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, Mesleki Kitaplar Serisi, 278 s.
- Lawrence, D.P., Gannibal, P.B., Peever, T.L. and Pryor, B.M. 2013. The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. Mycologia 105: 530-546.
- Levic, J., Stankovic, S., Krnjaja, V.S., Bocarov-Stancic, A.S. and Ivanovic, D. 2012. Distribution frequency and incidence of seed-borne pathogens of some cereals and industrial crops in Serbia. Pestic. Phytomed. 27: 33-40.
- Masirevic, S.N., Medic-Pap, S.S., Terzic, A.N., Dedic, B.P. and Balalic, I.D. 2014. *Phoma macdonaldii* on seed and its importance in etiology of phoma black stem in sunflower. Jour. Nat. Sci. Matica Srpska Novi Sad 126: 57-65.
- Merriman, P.R. and Heathcote, R. 1978. Screening of sunflower seed for *Sclerotinia* spp. Australas. Plant Pathol. Soci. Newsletter 7:43
- Nahar, S., Mushtaq, M. and Hashmi, M.H. 2005. Seed-borne mycoflora of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Pak. J. of Bot. 37: 451-457.
- Noelting, M.C., Molina, M.C., Monaco, C., Sandoval, M.C. and Perello, A. 2012. First report of *Alternaria infectoria* on amaranth (*Amaranthus caudatus* ssp. *mantegazzianus*) in Argentina. New Dis. Rep. 25: 11.
- Palou, L., Rosales, R., Taberner, V. and Vilella-Esplá, J. 2016. Incidence and etiology of postharvest diseases of fresh fruit of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in the grove of Elx (Spain). Phytopathol. Mediterr. 55: 391-400.
- Patil, A.C., Surpawanshi, A.P., Anbhule, K.A., Raner, R.B. and Hurule, S.S. 2018. Detection of sunflower seedborne mycoflora and their effect on seed and seedling parameters. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 6: 2509-2514.
- Rao, M.S.L. 2006. Studies on seed-borne fungal diseases of sunflower and their management with special reference to the *Alternaria* blight. Ph.D. Thesis, University of Agricultural Sciences, Dharwad.
- Srinivas, A., Pushpavathi, B., Lakshmi, B.K.M. and Shashibhushan, V. 2017. Detection of seedborne mycoflora of sunflower (*Helianthus annuus* L.). J. Pharm. Innov. 6: 256-259.
- Tanahashi, M., Nakano, T., Akamatsu, H., Kodama, M., Otani, H. and Osaki-Oka, K. 2016. *Alternaria alternata* apple pathotype (*A.mali*) causes black spot of European pear. Eur. J. Plant Pathol. 145: 787-795.
- Tetorya, M. and Rajam, M.V. 2018. RNA silencing of *PEX6* gene causes decrease in pigmentation, sporulation and pathogenicity of *Fusarium oxysporum*. Plant Pathol. 67: 67-75.
- Touati-Hattab, S., Barreau, C., Verdal-Bonnin, M.N., Chereau, S., Richard-Forget, F., Hadjout, S., Mekliche, L. and Bouznad, Z. 2016. Pathogenicity and trichothecenes production of *Fusarium culmorum* strains causing head blight on wheat and evaluation of resistance of the varieties cultivated in Algeria. Eur. J. Plant Pathol. 145: 797-814.
- Udayashankar, A.C., Nayaka, S.C., Archana, B., Anjana, G., Niranjana, S.R., Mortensen, C.N, Lund, O.S. and Prakash, H.S. 2012. Specific PCR-based detection of *Alternaria helianthi*: the cause of blight and leaf spot in sunflower. Arch. Microbiol. 194: 923-932.
- Viranyi, F. and Spring, O. 2011. Advanced in sunflower downy mildew research. Eur. J. Plant Pathol. 129: 207-220.
- Watanabe, T. 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi, morphologies of cultured fungi and key to species. CRC Press, Florida, 486 pp.
- Woudenberg, J.H.J., Groenewald, J.Z., Binder, M. and Crous, P.W. 2013. *Alternaria* redefined. Stud. Mycol. 75: 171-212.
- Wu, H.C. and Wu, W.S. 2003. Sporulation, pathogenicity and chemical control of *Alternaria protenta*, a new seedborne pathogen on sunflower. Australas Plant Pathol. 32: 309-312.
- Zhang, W., Liu, J., Huo, P., Zhang, T. and Nan, Z. 2017. Characterization and pathogenicity of *Bipolaris peregianensis*: the causal organism for leaf spot of hybrid bermudagrass in China. Eur. J. Plant Pathol. 148: 551-555.