



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İSPANAKTA ANTRAKNOZ HASTALIĞI (*Colletotrichum spinaciae* Ellis ve
Halst)'NİN LEZYON GELİŞİMİ ÜZERİNE İNOKULUM YOĞUNLUĞU,
YAPRAK ISLAKLIK SÜRESİ, SICAKLIK, BİTKİ VE YAPRAK YAŞININ
ETKİLERİ**

Aysun UYSAL

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
ARALIK-2014**



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSPANAKTA ANTRAKNOZ HASTALIĞI (*Colletotrichum spinaciae* Ellis ve Halst)'NİN LEZYON GELİŞİMİ ÜZERİNE İNOKULUM YOĞUNLUĞU, YAPRAK ISLAKLIK SÜRESİ, SICAKLIK, BİTKİ VE YAPRAK YAŞININ ETKİLERİ

Aysun UYSAL

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
ARALIK-2014**

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İSPANAKTA ANTRAKNOZ HASTALIĞI (*Colletotrichum spinaciae* Ellis ve
Halst)'NİN LEZYON GELİŞİMİ ÜZERİNE İNOKULUM YOĞUNLUĞU,
YAPRAK ISLAKLIK SÜRESİ, SICAKLIK, BİTKİ VE YAPRAK YAŞININ
ETKİLERİ**

AYSUN UYSAL
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Şener KURT danışmanlığında hazırlanan bu tez **11/12/2014** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **OYBİRLİĞİ/OYÇOKLUĞU** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şener KURT
Başkan

Yrd. Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL
Üye

Yrd. Doç. Dr. Fatih Mehmet TOK
Üye

Kod No:

Prof. Dr. İsmail Hakkı KARAHAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir.

Proje No: MKÜ BAP-10720

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelgelerin, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

11.12.2014

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Aysun UYSAL

ÖZET

İSPANAKTA ANTRAKNOZ HASTALIĞI (*Colletotrichum spinaciae* Ellis ve Halst)'NİN LEZYON GELİŞİMİ ÜZERİNE İNOKULUM YOĞUNLUĞU, YAPRAK ISLAKLIK SÜRESİ, SICAKLIK, BİTKİ VE YAPRAK YAŞININ ETKİLERİ

Kontrollü koşullarda, inokulum yoğunluğu, yaprak ıslaklık süresi, sıcaklık, bitki ve yaprak yaşının ıspanakta antraknoz hastalığının (*Colletotrichum spinaciae* Ellis ve Halst) gelişimi ve enfeksiyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Püskürtme yöntemi ile 10^2 , 10^4 , 1×10^6 , 2×10^6 konidi/ml spor süspansiyonu inokule edilmiş bitkilerin yaprak yüzeyinde, inokulum konsantrasyonunun 10^4 'ten 10^6 'ya yükselmesi ile bitki başına düşen lezyon sayısı % 50,7 oranında artış göstermiştir. 10^6 inokulum yoğunluğu lezyon gelişimi için yeterli olmuştur. Bu çalışmada, yedi farklı sıcaklık (15, 18, 22, 25, 28, 30 ve 33°C) ve dokuz farklı yaprak ıslaklık süresi (3, 5, 10, 20, 24, 30, 44, 48, 53 saat) kullanılmıştır. Genellikle test edilen tüm sıcaklıklarda yaprak ıslaklık süresi arttıkça lezyon gelişimi artmıştır. Fakat daha sonra hastalık oranı azalmaya başlamıştır. En yüksek lezyon gelişimleri 22 ve 25°C sıcaklıklarda tespit edilmiştir. Maksimum hastalık gelişimi 22°C sıcaklıkta 24 saat ıslaklık süresinde kaydedilmiştir. 15°C' de inkübe edilen bitkilerdeki her bir lezyondaki spor sayısı 33°C sıcaklıkta inkübe edilenlere göre daha fazladır. Genç ıspanak yapraklarına göre, yaşlı yapraklarda daha fazla lezyon gelişimi olduğu kaydedilmiştir.

2014, 59 sayfa

Anahtar Kelimeler: Epidemiyoloji, antraknoz hastalığı, ıspanak

ABSTRACT

EFFECTS OF INOCULUM DENSITY, LEAF WETNESS DURATION, TEMPERATURE, PLANT AND LEAF AGE ON ANTHRACNOSE DISEASE (*Colletotrichum spinaciae* Ellis and Halst) OF SPINACH

The effect of inoculum density, leaf wetness duration, temperature, plant and leaf age on infection and development of anthracnose disease(*Colletotrichum spinaciae* Ellis and Halst) of spinach were studied in controlled environment conditions. The mean number of lesions per plant on the spray –inoculated leaf surface with 10^2 , 10^4 , 1×10^6 , 2×10^6 spore/ml spore suspension increased at the rate of 50,7% with increasing inoculum concentration from 10^4 to 10^6 conidia per milliliter. Inoculum density with 10^6 conidia per ml was suitable for lesion development. In this study, seven different temperatures (15, 18, 22, 25, 28, 30 and 33°C) and nine different durations of leaf wetness (3, 5, 10, 20, 24, 30, 44, 48, 53 hours) were used. Generally, in all temperatures tested, as leaf wetness duration increased, lesion development was higher. But, later disease incidence started to decrease. The highest lesion developments were found at temperatures of 22, 25°C. Maximum lesion development was recorded for 24 h wetness duration at 22°C temperature. The number of spore on each lesion on the plants incubated at 15°C was more than those incubated at 33°C. According to young spinach leaves were recorded to be more lesion development in older leaves.

2014, 59 pages

Keywords: Epidemiology, anthracnose disease, spinach

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde, laboratuvar çalışmalarında ve yazım aşamasında değerli bilgileri ile bana yardımcı olan danışman hocam Prof.Dr. Şener KURT' a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bana her konuda yardımlarını esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. E. Mine SOYLU' ya, Prof. Dr. Soner Soylu' ya ve Yrd. Doç. Dr. Fatih M. Tok' a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, tez çalışmaları sırasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan MKÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na, maddi destek veren MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna ve isimlerini burada zikredemediğim ama yardımlarını esirgememiş herkese içten teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi olarak yardımlarını esirgemeyen öncelikle aileme sonra Ar. Gör. Merve KARA' ya, Zir. Müh. Sema YAMAN' a ve Zir. Müh. Aylin ILDIR 'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
1.GİRİŞ.....	1
2.ÖNCEKİÇALIŞMALAR.....	8
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	15
3.1.Materyal.....	15
3.2.Yöntem.....	15
3.2.1. Hastalık Etmeninin İzolasyonu, Tanısı ve Patojenisitesi	15
3.2.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	17
3.2.3. . İnokulum Üretimi.....	18
3.2.4. Farklı İnokulum Yoğunluğunun Lezyon Gelişimine Etkisi.....	19
3.2.5. Yaprak Islaklık Süresi ve Sıcaklığın Antraknoz Hastalığının Lezyon Gelişimine Etkisi.....	20
3.2.6. <i>C. spinaciae</i> ' nin Sporulasyonu Üzerine Sıcaklığın Etkisi	21
3.2.7. Bitki ve Yaprak Yaşının Antraknoz Hastalığının Lezyon Gelişimine Etkisi.....	21
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	22
4.1. Hastalık Etmeninin İzolasyonu, Tanısı ve Patojenitesi.....	22
4.2. <i>C. spinaciae</i> Patojeninin Farklı Yoğunluklarının Lezyon Gelişimi Üzerine Etkisi.....	25
4.3. Yaprak Islaklık Süresi ve Sıcaklığın Antraknoz Hastalığının Lezyon Gelişimi Üzerine Etkisi.....	29
4.4. <i>C. spinaciae</i> ' nin sporulasyonu üzerine sıcaklığın etkisi	36
4.5. Bitki ve Yaprak Yaşının Antraknoz Hastalığının Lezyon Gelişimi Üzerine Etkisi.....	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	46

EKLER.....	47
EK1.....	47
EK2.....	48
EK3.....	49
EK4.....	50
EK5.....	51
EK6.....	52
EK7.....	53
EK8.....	54
EK9.....	55
EK10.....	56
EK11.....	58
EK12.....	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Dünyadaki ıspanak üretiminin 2012 yılı verilerine göre ülkelere göre dağılımı (ton/ha).....	2
Şekil 1.2.	Ülkemizde farklı bölgelerde (A) ve Hatay ilinde (B) ıspanak üretim miktarları (ton/ha).....	2
Şekil 1.3.	İspanak bitkisinde <i>Colletotrichum spinaciae</i> 'nin neden olduğu antraknoz hastalığının yapraklarda oluşturduğu kloroz ve nekrozlar.....	4
Şekil 1.4.	Antraknoz etmeni <i>C. spinaciae</i> ' un ıspanak yaprakları üzerinde oluşturduğu tipik klorotik ve nekrotik lezyonları.....	5
Şekil 1.5.	Antraknoz etmeni olan <i>C. spinaciae</i> 'un aservulusu ve setaları (A), falçata şeklindeki konidileri (B).....	6
Şekil 3.1.	Dezenfekte edilmiş olan ıspanak yapraklarının PDA ortamına pens yardımıyla yerleştirilmesi (A), kültür diskinin mantar delici yardımı ile kesilip öze yardımıyla ıspanak yaprakları üzerine yerleştirilmesi (B), Agar disk inokulasyon yöntemi uygulanan yapraklar (C), inkübatörde ıspanak yaprakları üzerinde gelişmeye bırakılan miselyal kitlenin görünümü (D).....	16
Şekil 3.2.	Matador çeşidi ıspanak bitkilerinin inokulasyon öncesi saksıda geliştirilmesi	17
Şekil 3.3.	<i>Colletotrichum</i> fungusunun ıspanak yaprakları üzerinde gelişiminden sonra kaşık yardımıyla alınması (A), patojenin konidilerinin suya geçmesi için parçalanması (B), hazırlanan süspansiyonun tülbent yardımıyla süzülmesi (C).....	18
Şekil 3.4.	<i>C. spinaciae</i> ' nin farklı inokulum yoğunluklarında inokulasyona tabi tutulan bitkilerin polietilen torba ile kapatılarak inkübasyona bırakılması.....	19
Şekil 3.5.	<i>C. spinaciae</i> ile inokule edilmiş olan ıspanak bitkisinin fan yardımıyla kurutulması ve doğal ortama alınması.....	20
Şekil 4.1.	<i>C. spinaciae</i> ' nin ıspanak bitkisinde doğal koşullarda oluşturduğu lezyonlar.....	22
Şekil 4.2.	<i>Colletotrichum</i> fungusunun, PDA ortamındaki koloni gelişimi (A), Agar inokulasyon tekniği sonucu ıspanak yaprakları üzerindeki kolonizasyonu (B).....	23
Şekil 4.3.	<i>C. spinaciae</i> ' nin eşeysiz üreme yapısı olan aservulus ve koyu renkli, sivri, steril seteaları (A), aservuluslar içerisinden çıkan falçata şeklindeki konidileri (B).....	23
Şekil 4.4.	<i>C. spinaciae</i> ' nin farklı inokulum yoğunluklarının ıspanak bitkisinde bitki başına lezyon gelişimine etkisi.....	25
Şekil 4.5.	En fazla lezyon oluşturan 10 ⁶ konidi/ml konsantrasyonun ıspanak bitkilerindeki lezyon gelişimi (A), kontrol bitkileri (B).....	26
Şekil 4.6.	SCs1 izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerinde inokulum yoğunluğu ile lezyon gelişimi arasındaki ilişki.....	27
Şekil 4.7.	<i>C. spinaciae</i> ' nin artan inokulum konsantrasyonlarında ıspanak bitkilerinde yaprak başına meydana gelen ortalama lezyon sayıları.....	28

Şekil 4.8.	Scd1 izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerinde lezyon gelişimi üzerine sıcaklık ve yaprak ıslaklık sürelerinin etkileri. Her bir bar, 15 bitkinin ortalama lezyon sayısını temsil etmektedir.....	30
Şekil 4.9.	SCs1 izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerinde farklı sıcaklıklarda (15, 18, 22, 25, 28, 30, 33°C) lezyon gelişimi ve yaprak ıslaklık süresi(5, 10, 20, 24, 30, 44, 48, 53 saat) arasındaki ilişki.....	33
Şekil 4.10.	Farklı sıcaklık ve yaprak ıslaklık sürelerinde, SCs1izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkisindeki lezyon sayısı	35
Şekil 4.11.	Farklı yaşlardaki ıspanak bitkilerinde ve yaprak yaşlarındaki lezyon gelişimi.....	37
Şekil 4.12.	<i>C. spinaciae</i> ile inokule edilmiş farklı yaşlardaki ıspanak bitkilerinde yaşlı ve genç yapraklar arasındaki ilişki.....	38
Şekil 4.13.	İspanak bitkisinde bitki ve yaprak yaşının <i>C. spinaciae</i> ' nın lezyon gelişimine etkisi.....	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	Farklı inokulum konsantrasyonlarında ıspanak bitkisinde yaprak başına meydana gelen ortalama lezyon sayıları	29
Çizelge 4.2	Farklı sıcaklık ve yaprak ıslaklık sürelerinde, SCs1 izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerindeki lezyon sayıları.....	31
Çizelge 4.3.	Farklı sıcaklıkların ıspanak bitkisindeki antraknoz hastalığı lezyon sayısı ve lezyon başına düşen spor sayıları.....	36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

ha	: Hektar
g	: Gram
L	: Litre
ml	: Mililitre
cm	: Santimetre
dk	: Dakika

KISALTMALAR

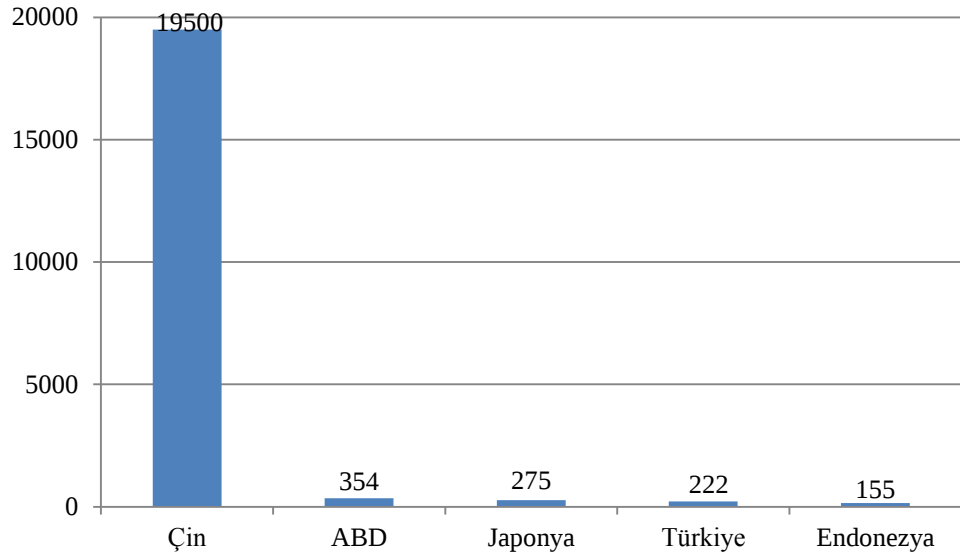
NaOCl	:Sodyum hipoklorit (dezenfektan)
SDA	:Spinach Dekstroz Agar katı besi ortamı
SNA	:Sentetik Nutrient Agar katı besi ortamı
PDA	:Patates Dekstroz Agar katı besi ortamı
SYAS	:Sodium-klorid Yeast Agar Sukroz besi ortamı
KNO ₃	:Potasyum nitrat
KH ₂ PO ₄	:Mono Potasyum Fosfat
MgSO ₄ .7H ₂ O	:Magnezyum sülfat heptahidrat
KCl	:Potasyum klorür

1. GİRİŞ

Günümüzde kış mevsiminde çok fazla tüketilen ıspanak (*Spinacia oleracea*) *Chenopodiaceae* familyasına ait olup, anavatanının Güney Türkistan, Kafkasya, Nepal yani Batı Asya olduğu kabul edilmektedir. Ispanak bitkisinin yüksek seviyelerde vitamin, mineral ve anti-oksidant bileşikler içermesinden dolayı çok besleyici bir sebze olduğu yaygın bir şekilde bilinmektedir (Correll ve ark. 1994; Kansal ve ark., 1981). Ispanak bitkisi, tohumun dikenli-dikensiz, yaprak renginin açık yeşil-koyu yeşil, yaprak sapının uzun-kısa, yaprak şeklinin yuvarlak-oval-üçgen, yaprak etinin ince-kalın, yaprak durumunun dik-yatay, gelişme hızının erkenci-geçci, tohum miktarının az (40kg/da)-fazla (170kg/da) olmasına göre sınıflandırılmaktadır. Bölgede en fazla üretilen ıspanak çeşitleri, matador ve sivri yaprak olup, morfolojik özellikleri bakımından, kazık köklü, gövdesi otsu ve içi boş şekilde ve yaprakları yuvarlağa yakın oval ya da ucu sivri şekillidir. Etli yapraklı çeşitler ise genellikle oval şekilli bir görünüme sahiptir. Kışın yetiştirilen Viroflay ve Münsterlender gibi çeşitler ise açık renkli yapraklara sahiptir. Diğer önemli ıspanak çeşitlerinden Viking, Juliana, Üniversal ve Matador ise koyu renkli ve açıkta yetiştirilen özelliklere sahiptir.

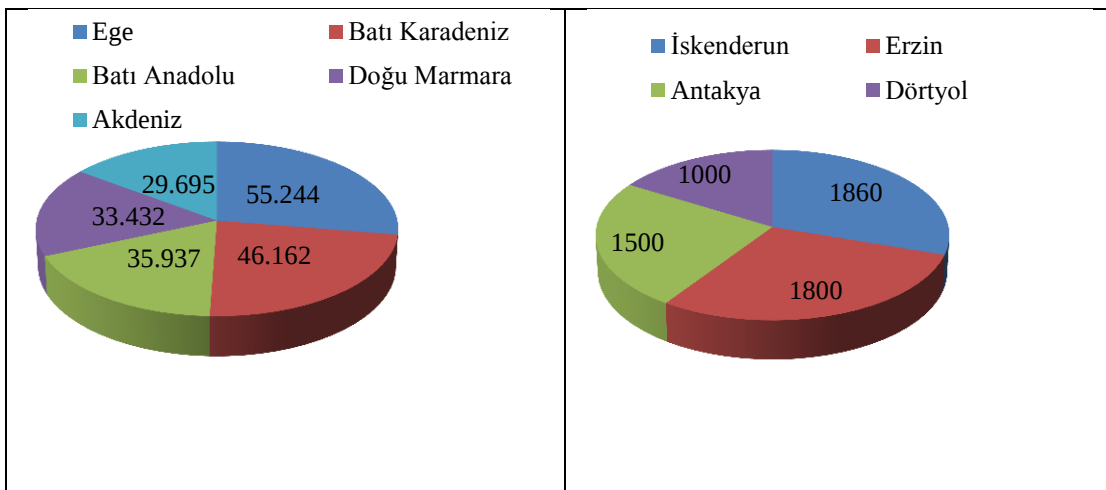
Ispanak üretim dönemleri; sonbaharda ekim ve sonbaharda hasat, ilkbaharda ekim ve ilkbaharda hasat, sonbaharda ekim ve erken ilkbaharda hasat şeklinde gerçekleşmektedir. Ispanak ekim işlemleri; doğrudan tohum ekimi mibzerle veya serpme olarak iki şekilde yapılmaktadır. Pazar durumuna bağlı olarak hasat; erken dönemde 15-18 cm boyunda 5-6 yapraklı iken veya gerektiğinde bitkilerin yaprak sayısını arttırması ve yaprakların etlenmesine bağlı olarak biraz daha geç yapılabilir (Anonim, 2011).

Dünya ıspanak üretiminde Çin 1. sırada yer almakta olup (Anonim, 2012), ülkemiz ABD ve Japonya' dan sonra 4. sırada bulunmaktadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Dünyadaki ıspanak üretiminin 2012 yılı verilerine göre ülkelere göre dağılımı (ton/ha,×1000 kg)

Ülkemizde ise ıspanak üretimi Ege, Batı Karadeniz, Batı Anadolu, Doğu Marmara ve Akdeniz bölgelerinde yaygın olarak gerçekleştirilmektedir. Bunlar arasında Akdeniz bölgesi, yaklaşık 30 ton üretim ile 4. sırada yer almaktadır. Akdeniz Bölgesi'nde Hatay ili, 654 ha alanda 7300 ton üretim ile önemli bir ıspanak üretim alanına sahip bulunmaktadır. Hatay' da ise 155 ha alanda 1860 ton üretimle (Anonim, 2013) İskenderun ilçesi birinci sırada yer almaktadır (Şekil 1.2). Bunu Erzin ve Antakya ilçeleri izlemektedir.



Şekil 1.2. Ülkemizde farklı bölgelerde (A) ve Hatay ilinde (B) ıspanak üretim miktarları (ton/ha)

Günümüzde, Türkiye’ de ve dünya genelinde ticari olarak gerçekleştirilen ıspanak üretiminde verimi ve kaliteyi sınırlayan en önemli faktörlerin başında fungusların neden olduğu hastalıklar gelmektedir. Ispanakta çökertene neden olan *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp.*, *Thanatephorus cucumeris* ve solgunluk oluşturan *Fusarium oxysporum* f.sp. *spinacia*, gibi hastalık oluşturan fungal patojenlerin bazıları; toprak kaynaklı önemli hastalıklara neden olmaktadır (Correll ve ark., 1994). Ayrıca toprak kökenli bir patojen olarak bilinen *Verticillium dahliae* fungusunun, ABD, Kanada ve Hollanda gibi ülkelerde ticari olarak ıspanak üretimi yapılan alanlarda tohum kökenli solgunluk hastalığına yol açtığı kaydedilmiştir (Snyder ve Wilhelm, 1962; Van der Spek 1972; Sackston ve Sedun, 1982). Dünyanın farklı ülkelerinden ıspanak bitkisinde yeşil aksamda hastalık oluşturan etmenlerden biri olan *Peronospora farinosa* f.sp. *spinaciae*’ nin, ABD’ de yetiştirilen ıspanak bitkilerinde çok önemli bir hastalık olduğu ve tohum yoluyla yayıldığı bildirilmiştir (Inaba ve ark., 1983; Inaba 1985). Ispanak beyaz pas hastalığı patojeni olan *Albugo occidentalis*’ in ise ABD’ nin tüm bölgelerinde çok önemli bir hastalık olduğu ifade edilmiştir (Corell ve ark., 1994). Ispanakta *Cladosporium variable* ve *Stemphylium botryosum* hastalık etmenlerinin, hem yeşil aksam üretimi hem de tohum üretiminde oldukça fazla sorun olduğu belirtilmiştir (Fuentes-Davila ve Gabrielson 1996; Everts ve Armentrout 2001; Koike ve ark., 2001, 2005; du Toit ve Derie 2001, 2012; Reed ve ark., 2010). *Stemphylium botryosum* etmeni ise Teksas’ta ıspanak bitkilerinde ilk kez kaydedilmiştir (Reed ve ark., 2010).

Son yıllarda dünyada ve ülkemizde ıspanak üretim alanlarında sorun olmaya başlayan antraknoz hastalığı, giderek yaygınlık göstermektedir (Kurt ve Uysal, 2014). Ispanak bitkisinde antraknoz hastalığına neden olan *Colletotrichum spinaciae* Ellis ve Halst, önemli ölçüde ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Ispanak bitkisinde *Colletotrichum spinaciae*' nin neden olduğu antraknoz hastalığının yapraklarda oluşturduğu kloroz ve nekrozlar

Antraknoz hastalığı, ilk kez 1989 yılında Kanada'nın Ontario eyaletinin Stouffville yakınında yer alan 50 da büyüklüğündeki bir ıspanak tarlasında tespit edilmiştir (Cerkauskas ve ark., 1991). Bu hastalık daha sonra Avustralya'dan bildirilmiştir (Washington ve ark., 2006). Ülkemizde ise antraknoz hastalığı ilk kez Ekim 2012- Mart 2013 yetiştirme sezonunda Hatay ili sınırları içerisindeki ticari ıspanak ekim alanlarında tespit edilmiştir (Kurt ve Uysal, 2014). Bu hastalığın ülkemizdeki ıspanak üretim alanlarında ekonomik olarak etkili bir hastalık olduğu saptanmıştır.

Colletotrichum dematium olarak isimlendirilen ıspanak antraknoz etmeni, bu isimle ilk kez 1989 yılında New Jersey' de ıspanak antraknozu etmeni olarak tanımlanmıştır (Ellis ve Halsted, 1890). Fakat, von Arx ıspanak antraknozu patojenini konukçuya özelleşmesinden dolayı *Colletotrichum dematium* f.sp. *spinaciae* olarak yeniden adlandırmıştır (von Arx., 1957).

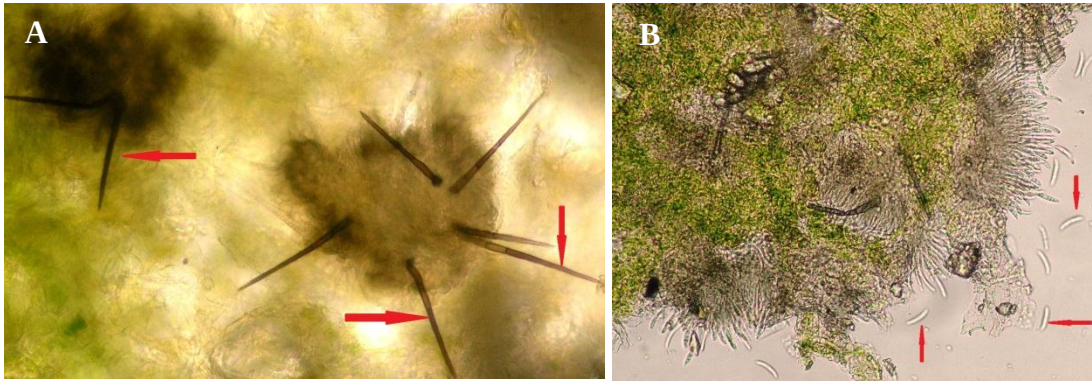
Antraknoz hastalığının etmeni olan *Colletotrichum spinaciae*, Ascomycota şubesinin Glomerellales takımına bağlı Glomerellaceae familyasında yer almaktadır (Ellis ve Halst., 1890). Fungus, olumsuz çevre koşullarında toprakta bitki artıklarında ve bitki tohum kabuğunda aservulus halinde kışı geçirir. Uygun nem koşulları bulduğu zaman aservulus içinden çıkan konidiler rüzgar, su damlaları, böcek ve işleme aletleri ile etrafa yayılarak bitkileri enfekte ederler. Konidiler, ıspanak bitkisine ulaştığında ilk enfeksiyon başlar. Genç ve yaşlı yaprakların üst yüzeyinde küçük, dairesel, suda ıslanmış gibi lezyonlar meydana gelir. Bu lezyonlar genişler ve etrafında sarı haleler

oluşur, daha sonra klorotik ve nekrotik bir hale dönüşür (Şekil 1.4). Böylece ıspanak bitkisinin hastalıklı dokuları kâğıt gibi ince bir hal alır. Yaprak lezyonları büyüteç ile yakından incelendiğinde patojenin eşeysiz üreme organı olan aservulus yapıları, belirgin bir görünümündedir. Yaprak lezyonları genişledikçe tüm yaprak alanını kaplayabilmektedir (Correll ve ark.,1994; Kurt ve Uysal, 2013).



Şekil 1.4. Antraknoz etmeni *C. spinaciae*' nin ıspanak yaprakları üzerinde oluşturduğu tipik klorotik ve nekrotik lezyonları

Hastalıklı dokularda ilerleyen dönemlerde etmenin eşeysiz üreme yapısı aservuluslar daha belirgin bir hal alır (Correll ve ark., 1994; Kurt ve Uysal, 2014). Bu aservuluslar içerisinde koyu renkli seta yapıları ve konidiler yer almaktadır. Bu setalar, steril yapılar olup teşhis karakteri olarak kullanılır. Konidiler ise şeffaf, pürüzsüz, falçata şeklinde her iki uca doğru konikleşen bir yapıya sahiptirler (Şekil 1.3) (Damm ve ark., 2009; Kurt ve Uysal, 2014).



Şekil 1.5. Antraknoz etmeni olan *C. spinaciae*'nin aservulusu ve setaları (A), falçata şeklindeki konidileri (B)

C. spinaciae' nin Sentetik Nutrient Agar (SNA) besi yerindeki morfolojik karakterleri incelendiğinde; vejetatif hif $<1-7\ \mu\text{m}$ çapında, düz duvarlı, septalı ve dallanmış şekildedir. Yaşlı kültürlerde klamidiosporları dallanmış zincirler halinde, koyu kahverengi renkte olup, tekli hücreleri $6-13\times 5-8\mu\text{m}$ boyutlarındadır. Etmenin aservulusları ve konidiforları, hifler üzerinden doğrusal olarak çıkmakta ve kahverengi, septalı ve dallanmış şekilde görülmektedir. Konidiler şeffaf, pürüzsüz duvarlı, bölmesiz olup, çoğunluğu düzensiz şekillere sahiptir. Fungusun appresoryumları tekli, eliptik veya ince loblu, kahverengi, düz duvarlı, septasız fakat nadiren septallı bir yapı arz eder (Damm ve ark., 2009).

Antraknoz etmeni *C. spinaciae*' nin enfeksiyonu sonrası ıspanak bitkisinde doğrudan pazar değerinin kaybına yol açan bu hastalığın mücadelesinde, sık bitki dikiminden ve kötü hava sirkülasyonundan kaçınılması, düzenli sulama ve gübrelemenin yapılması önerilmektedir (Correll ve ark., 1994). Bu hastalığın mücadelesinde kimyasal fungisitlerin zamansız, yoğun ve gereksiz kullanımının yaratabileceği çevre, sağlık ve ekonomik sorunlar nedeni ile hastalığın erken uyarı ve tahmin sisteminin geliştirilmesi günümüzde gerekli hale gelmiştir. Bu tip sistemlerde yağış, nem ve sıcaklık gibi çevresel parametreler, hastalığın gelişimi ve enfeksiyonu için uygun epidemiyolojik etkenler olduğu için bu parametrelerin hastalık döngüsü içerisindeki yeri ve önemi öncelikli olarak ortaya konulması gereklidir (Kurt ve Uysal, 2014). Bununla bağlantılı olarak ıspanak bitkisinde görülen *C. spinaciae*' nin epidemiyolojisine yönelik olarak ABD'de yapılan bir çalışmada, optimum hastalık şiddetinin (%50 civarında) $18,3-26,7^{\circ}\text{C}$ arasında ve 96 saatlik yaprak ıslaklık süresinde gerçekleştiğini bildirmişlerdir (Damicone ve ark., 2013).

Benzer fungal patojenlerden birisi olan *Colletotrichum coccodes*' in domates meyvesindeki lezyon gelişimine inokulum yoğunluğu, sıcaklık ve ıslaklık süresinin etkisi araştırılmış ve sonuç olarak lezyon gelişimi en fazla 25 arasındaki 31°C sıcaklıklarda meydana geldiği ifade edilmiştir. Bununla birlikte lezyonlarda üretilen spor sayısının 16°C 'den 28°C 'ye kadar yükselen sıcaklıklarda arttığı, fakat 31°C 'de azalmanın başladığı saptanmıştır. Ayrıca, 44, 48 ve 53 saatlik yaprak ıslaklık sürelerinde hastalık şiddetinin %100 olduğu, 10^1 'den 10^6 'ya kadar artan inokulum yoğunluklarında ise en büyük hastalık şiddetinin 10^6 konidi/ml spor konsantrasyonunda ortaya çıktığı bildirilmiştir (Dillard,1989). Ayrıca çilek meyvesinde hastalık oluşturan

Colletotrichum acutatum' un enfeksiyonu üzerine ıslaklık süresi ve sıcaklık parametrelerini kullanarak yapılan çalışma sonucunda, olgunlaşmamış meyvelerde 4 arasındaki 35°C sıcaklıklarda enfeksiyon gözlenmemiş, ancak 25 arasındaki 30°C sıcaklıklarda 25 saat ıslaklık süresinde % 100 enfeksiyon oranı belirlenmiştir. Olgunlaşmış meyvelerde ise 4°C' de enfeksiyon yok iken 35°C' de hastalık gözlemlenmiş, 25 arasındaki 30°C sıcaklıklarda 13 saat ıslaklık süresinde %89-97 arasında bir hastalık oranı belirlenmiştir. Bununla birlikte optimum sıcaklık 25 arasındaki 30°C olduğunda ve 13 saat ıslaklık süresinde hastalık oranı % 80 olarak saptanmıştır (Wilson ve ark.,1990). Ispanakta antraknoz hastalığının epidemiyolojisini belirlemek için, *C. spinaciae*' un farklı inokulum yoğunluklarının farklı yaşlardaki bitkilerdeki lezyon gelişimini nasıl etkilediği ve keza yaprak ıslaklık süresinin ve sıcaklığın lezyon gelişimine nasıl etkide bulunduğu konusunda yeterli bir bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmanın amacı, sıcaklık, yaprak ıslaklık süresi, inokulum yoğunluğu ve yaprak yaşının ıspanakta antraknoz hastalığı etmeni *C. spinaciae*' nin lezyon gelişimi üzerine etkilerini saptamaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Antraknoz hastalığı, ilk kez 1989 yılında Kanada'nın Ontario eyaletinin Stouffville yakınında 50 da'lık bir ıspanak tarlasında tespit edilmiştir (Cerkaukas ve ark.,1991). Ülkemizde ise antraknoz hastalığı ilk kez Ekim 2012- Mart 2013 yetiştirme sezonunda Hatay ili sınırları içerisindeki ticari ıspanak ekim alanlarında kaydedilmiştir (Kurt ve Uysal, 2014). Bu hastalığın ilk kez bildirilmesinden bu yana enfeksiyon oluşumu ve hastalık döngüsüne yönelik olarak kapsamlı ve yeterli çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle yapılan literatür çalışmaları, *Colletotrichum* cinsine bağlı farklı fungal türler üzerine sıcaklık, yaprak ıslaklık süresi, inokulum yoğunluğu, bitki yaşı ve inokulum şekli gibi faktörler konusunda çeşitli bulgular ortaya koymaktadır.

Sato ve ark. (2005), Japon turpunda *Colletotrichum dematium* etmeninin neden olduğu antraknoz hastalığını kaydetmişlerdir. Araştırmacılar, Japon turpunda Antraknoz hastalığının belirtileri olarak; bitkinin en alt yapraklarında yuvarlak, grimsi yeşil, koyu kahverengi 1-2 mm çapında birçok lekeler olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte yaprak saplarında elips şeklinde görülen siyah lekelerin genişleyerek düzensiz kahverengi bir görünüm kazandığı ve daha sonra tüm yaprak yüzeyini kapladığını bildirmişlerdir. Ayrıca hastalıklı bitkilerin lezyonları üzerinde çok sayıda siyah eşeysiz üreme organı olan aservuluslar ve bunlar içerisinde bol miktarda konidiler ve setalar gözlemlenmişlerdir. Antraknoz etmeni *C. dematium*' un Japon turpundaki belirtileri, *C. higginsianum*'un belirtilerine benzemesine karşın *C. dematium*' un daha yüksek hastalık şiddetine neden olduğu bildirilmiştir.

Smith ve ark. (1999), börülce bitkisinin köklerinde *Colletotrichum dematium* etmeninin enfeksiyon sürecini araştırmışlardır. Bu amaçla, *C. dematium* Güney Afrika' da börülce köklerinde yeni bir fungal hastalığa neden olan *C. dematium*' un penetrasyon öncesinde ve enfeksiyon süresindeki biyolojisini ışık mikroskobu ve SEM tarafından incelemişlerdir. Elde edilen bulgulara göre inokulasyondan 6 saat sonra konidiler çimlenmeye başlamış ve çim tübünün gelişmesinden sonra apresoryum oluşmaya başlamıştır. İnokulasyondan yaklaşık 14 saat sonra konukçu bitki dokusuna doğrudan penetrasyon başlamıştır. Bununla birlikte 20 saat sonra epidermal hücreye giriş başlamış ve yaklaşık 40 saat sonra *C. dematium*, ikincil hiflerini meydana getirip dallanma

göstererek yoğun bir şekilde inter ve intraselüler gelişme kaydetmiştir. Ayrıca inokulasyondan yaklaşık 48 saat sonra börülce kökleri üzerinde kahverengi lezyonlar, 70 saat sonra ise aservulus ve setalar gözle görülür hale geldiğini kaydetmişlerdir.

Tomioka ve ark. (2008), Japonya’ da popüler ve önemli bir pazar çiçeği olarak bilinen ve Liliaceae familyasına ait monokotil bir bitki olan (Yahara ve Nitta, 1991) *Polygonatum falcatum* bitkisinde, *Colletotrichum dematium* etmeninin neden olduğu antraknoz hastalığını ilk kez kaydetmişlerdir. *C. dematium*’ un *Polygonatum falcatum* üzerindeki belirtileri, başlangıçta yapraklar üzerinde kahverengi klorotik lekeler ve bu lezyonların giderek genişlemesi ile daha sonra nemli koşullar altında lezyonlar üzerinde aservuluslar, setalar ve kitle halinde konidilerin gelişimi şeklinde not edilmiştir. Ayrıca PDA ortamında yapılan izolasyon sonucunda yeşilimsi-gri renkli koloniler oluştuğu ve konidilerin şeffaf, pürüzsüz falçata şeklinde, hidrofilik ve $16-22 \times 3-4 \mu\text{m}$ boyutunda olduğu kaydedilmiştir. Öte yandan fungal etmenin patojenisitesi için iki farklı yöntem uygulamışlardır. Bu amaçla, 10 günlük PDA kültüründen steril saf su ile $3-6 \times 10^5$ konidi/ml konidi süspansiyonu hazırlamışlardır. İlk yöntem olarak, iki tane sağlıklı bitkinin yapraklarına iğne yardımıyla spor süspansiyonu uygulamışlar ve diğer yapraklara ise kontrol için sadece saf su uygulamışlardır. İkinci yöntem olarak iki sağlıklı bitkinin yapraklarına doğrudan spor süspansiyonu uygularken bitkinin diğer yapraklarına kontrol için sadece saf su uygulamışlardır. İnokulasyondan sonra bitkiler, 25°C ’ de 3 gün boyunca nem çemberinde tutulmuş ve daha sonra $20-28^\circ\text{C}$ ’ deki cam serada gelişmeye bırakılmışlardır. Sonuç olarak inokulasyondan 5 hafta sonra yapılan değerlendirmelerde, sadece birinci yöntemde lezyonların ortaya çıktığı vurgulanmıştır.

Damicone ve ark. (2013), Ispanak bitkisinde *Colletotrichum dematium* etmeninin neden olduğu antraknoz hastalığı üzerine sıcaklık ve yaprak ıslaklık süresinin etkilerini araştırmak için, $9,5 \times 10^5$ konidi/ml spor süspansiyonunu ıspanak bitkilerine inokule edip $2,78^\circ\text{C}$ aralıklarla $10 - 32^\circ\text{C}$ arasındaki sıcaklıkların her birinde 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 ve 96 saat ıslaklık sürelerine maruz bırakmışlardır. Sonuçta hastalık şiddetinin $18,3 - 26,7^\circ\text{C}$ arasında maksimum seviyede olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sıcaklık tepkilerinde mevcut ve özel bir optimum sıcaklık değeri belirlenememiştir. Bununla birlikte hastalık şiddeti üzerine ıslaklık süresinin etkilerinin kübik olduğu ve 3 saat ıslaklık süresinde hastalık şiddetinin % 2, 6 saatte % 5, 12 saatte %10, 96 saatte ise maksimum seviyede yaklaşık % 50 civarında olduğu bildirilmiştir.

Hartung ve ark. (1981), Yaban mersini üzerinde Antraknoz hastalığına neden olan *Colletotrichum gloeosporioides* etmeninin kültür ortamında sıcaklığın misel gelişimine ve spor çimlenmesine etkisi için araştırmalar yapmışlardır. Kültür ortamında patates dekstroza agar (PDA)'da geliştirilen fungus 5, 10, 15, 20, 27 ve 30°C sıcaklıklarda inkübe edildikten 7 gün sonra ölçüm alınmıştır. Fungusun misel gelişimi incelendiğinde optimum gelişim 20°C -27°C arasında olmuştur. Daha sonra spor çimlenmesi denemesi için 6 günlük PDA kültüründen steril saf su ile süspansiyon hazırlanmış ve karanlıkta 5, 10, 15, 20, 30°C sıcaklıklarda inkübe etmişler ve daha sonra 100 konidi üzerinden % çimlenme oranı belirlenmiştir. Bununla birlikte sporlar 8, 16, 24, 32 ve 40 saat süreyle tutularak çimlenme tüpü uzunluğu ölçülmüştür. Sonuç olarak spor çimlenmesinin 40 saat sürede 30°C sıcaklıkta çok hızlı olduğu, fakat çim tüpü uzunluğunun 20°C'de daha uzun olduğunu bildirmişlerdir.

Dillard (1989), domates (*Solanum lycopersicum* L.) meyvesi üzerinde *Colletotrichum coccodes* etmeninin enfeksiyonu ve lezyon gelişimi üzerine sıcaklığın, yaprak ıslaklık süresi ve inokulum yoğunluğunun etkisi araştırmak için, konidiler V-8 suyu agar besiyerinde geliştirilen 10-14 günlük kültürlerden geliştirilmiştir. Denemede kullanılacak meyveler, %0,5'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 2 dakika süreyle dezenfekte edilmiştir. Sıcaklığın lezyon gelişimine etkisi için, $1,2 \times 10^4$ konidi/ml konsantrasyonundaki spor süspansiyonu püskürtme yoluyla veya hipodermik iğne yardımı ile meyvenin 3 bölgesine inoküle edilmiş ve plastik torbalarda 7, 16, 25 ve 31°C sıcaklıklarda inkübe edilmiştir. Değerlendirme amacıyla inokülasyondan 8 gün sonra meyvelerin lezyon çapları ölçülmüştür. İnokulum yoğunluğunun etkisini belirlemek için, $1,2 \times 10^1$, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 ve 10^6 konidi/ml spor süspansiyonu meyvelere püskürtme yoluyla inoküle edilmiş ve 20-22°C sıcaklıklarda inkübe edildikten sonra 6, 8 ve 13 gün sonra hastalık şiddeti belirlenmiştir. Islaklık süresinin etkisi için $1,2 \times 10^4$ spor süspansiyonu püskürtülen meyveler 0, 3, 5, 10, 20, 24, 29, 44 ve 53 saat ıslaklık süresinde plastik torbalarda tutulmuştur. Sıcaklığın sporulasyon üzerine etkisi için, $1,5 \times 10^4$ spor süspansiyonu hipodermik iğne yardımı ile inoküle edilen meyveler 3,5 saat boyunca 16, 19, 22, 25, 28 ve 31°C sıcaklıklarda plastik torbalarda inkübe edilmiştir. Sonuç olarak, 25 ve 31°C sıcaklıklarda lezyon gelişimi en yüksek seviyede bulunmuştur. Lezyonlarda üretilen spor sayısı, 16°C'den 28°C'ye kadar artan sıcaklıklarda artmış, fakat 31°C'de azalma göstermiştir. Ayrıca, 10, 20, 24, 29, 44, 48

ve 53 saat süreli ıslaklığa maruz kalan domates meyvesi üzerinde hastalık oranı, sırasıyla % 35, 75, 92, 100, 100 ve 100 olarak belirlenmiştir. Öte yandan hastalık şiddeti 10^1 'den 10^6 'ya kadar artan inokulum yoğunluklarında ise en yüksek, 10^6 konidi/ml konsantrasyonda saptanmıştır.

Wilson ve ark. (1990), olgunlaşmamış ve olgun çilek (*Fragaria vesca*) meyvesinde *Colletotrichum acutatum* etmeninin enfeksiyonu üzerine sıcaklığın ve ıslaklık süresinin etkisini araştırmak için, kültür ortamında PDA' da geliştirilen patojenin $2,5 \times 10^4$ konidi/ml konsantrasyonda hazırlanan süspansiyonu, püskürtme yoluyla meyvelere inoküle edilmiş ve plastik torbalara alınmıştır. Denemeler 4, 6, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35°C sıcaklıklarda ve her bir sıcaklıktaki 0,5-51 saat arasında değişen ıslaklık sürelerinde gerçekleştirilmiştir. Sonuçta, olgunlaşmamış meyvelerde, 4 ve 35°C sıcaklıklarda herhangi bir enfeksiyon gözlenmemiş ancak, 25 arasındaki 30°C sıcaklıklarda 25 saat ıslaklık süresinde % 100 enfeksiyon oranı saptanmıştır. Olgunlaşmış meyvelerde ise 4°C 'de enfeksiyon görülmez iken 35°C de enfeksiyona rastlanmıştır. Ayrıca 25 ve 30°C sıcaklıklarda 13 saat ıslaklık süresince %89 -%97 arasında enfeksiyon saptanmıştır. Optimum sıcaklık dereceleri olan 25 ve 30°C ' de ve 13 saat ıslaklık süresince hastalık oranı %80 olarak belirlenmiştir.

Monroe ve ark. (1997), karpuz (*Citrullus lanatus*) bitkisinde antraknoz etmeni *Colletotrichum orbiculare* fungusunun enfeksiyonu üzerine sıcaklığın ve ıslaklık süresinin etkisi araştırmak için, asitleştirilmiş patates dekstrozu agar (APDA) ortamında geliştirilmiş kültürlerden spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Daha sonra $50,000 \pm 5,000$ konidi/ml konsantrasyona ayarlanmış olan süspansiyon püskürtme yöntemi ile karpuz fidelerine uygulanmıştır. Patojen fungus, 12, 15, 18, 21, 24, 27 ve 30°C sıcaklıklarda ve 2, 4, 8, 12, 16, 24 saat ıslaklık süresinde karpuz fidelerine inoküle edilmiş ve 10 gün sonra fidelerdeki lezyon oranları kaydedilmiştir. Sonuç olarak en düşük sıcaklıklarda (12 ve 15°C) ve en yüksek sıcaklıkta enfeksiyonun az olduğu, 21 ve 24°C sıcaklıklarda ve 24 saat ıslaklık süresinde enfeksiyonun % 100 olduğu bildirilmiştir.

Hong ve Hwang (1998), biber (*Capsicum annum*) üzerinde *Colletotrichum coccodes* etmeninin lezyon gelişimi üzerine inokulum yoğunluğu ve ıslaklık süresinin etkisi araştırmak için, kültür ortamında hazırlanmış süspansiyondan 10^3 ve 10^6 konidi/ml konsantrasyonlarda inokulumlar hazırlanmıştır. Bu inokulumlar, biber

bitkilerine püskürtme yoluyla inoküle edilerek plastik torbalarda 12, 24, 36, 48 ve 60 saat ıslaklık sürelerinde inkübe edilmişlerdir. Sonuç olarak 10^3 spor/ml yoğunlukta belirti az, 10^4 konidi/ml yoğunlukta orta düzeyde, 10^5 ve 10^6 konidi/ml yoğunlukta genç yaprakların öldüğü, 48 ve 60 saat ıslaklık süresinde yoğun hastalık oluşumunun gerçekleştiği gözlenmiştir.

Chongo ve Bernier (2000), mercimek antraknozu hastalığına neden olan *Colletotrichum truncatum* etmeninin enfeksiyon gelişimi üzerine konukçunun, inokulum yoğunluğunun, yaprak ıslaklık süresinin, büyüme evresinin ve sıcaklığın etkilerini araştırmak için fungus, Sodium-klorid Yeast Agar Sukroz (SYAS) ortamında 7 gün boyunca beyaz floresan ışık altında oda sıcaklığında geliştirilmiştir. İnokulum konsantrasyonu denemesi için, 4 haftalık bitkilere 2×10^4 , 4×10^4 , 6×10^4 , 8×10^4 ve 1×10^5 konidi/ml gibi farklı konsantrasyonlarda atomizer ile püskürtme yapılarak 24 saat nem çemberine tutulmuştur. Sonuçta, konsantrasyon artışına bağlı olarak enfeksiyon oranı da artmıştır. Islaklık süresi denemesinde ise 4 haftalık bitkilere 4×10^4 konidi/ml süspansiyon uyguladıktan sonra 6, 12, 24, 36 ve 48 saat ıslaklık sürelerine maruz bırakılmıştır. Sonuçta, 6. saatten 48. saate kadar enfeksiyonda sürekli artış görülmüştür. Sıcaklık denemesinde ise 4 haftalık bitkilere 4×10^4 konidi/ml süspansiyon uygulandıktan sonra sırasıyla gece ve gündüz olarak 16 ve 12; 20 ve 16; 24 ve 20; ve 28 ve 24°C gibi farklı sıcaklıklara maruz bırakılmıştır. Sonuçta en düşük enfeksiyon 16°C’de, en yüksek enfeksiyon 28°C’de gerçekleşmiştir. Gelişme evresi denemesinde 4×10^4 konidi/ml süspansiyonu, 2, 4, 6 ve 8 haftalık bitkilere uygulanmıştır. Sonuçta en az enfeksiyon 2 haftalık bitkilerde, en fazla enfeksiyon 4 haftalık bitkilerde gerçekleşmiştir.

Moral ve ark. (2012), *Colletotrichum acutatum* ve *C. simmondsii*’nin neden olduğu zeytin (*Olea europaea*) meyvesinde antraknoz hastalığı üzerine sıcaklık, ıslaklık süresi ve dikim yoğunluğunun etkisini araştırmak için patojen, püskürtme şeklinde uygulanmıştır. Daha sonra 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35°C’lerde fungus inoküle edilmiş ve naylon torbalar içerisinde karanlık ortamda inkübe edilmiştir. İnokulasyondan 14 gün sonra enfeksiyonun, optimum 10 - 25°C sıcaklıklar arasında oluşmuştur. Ayrıca 0, 6, 12, 24 ve 48 saatlik sürelerde ıslaklık süresinin lezyon gelişimine etkisi incelendiğinde, 0-24 saat arasındaki ıslaklık süresinde hastalık şiddeti yaklaşık % 22 ve 48 saatlik ıslaklık süresinde % 58,4 olarak kaydedilmiştir. Bununla birlikte araştırmacılar, hektarda

1904 zeytin ağacı olması durumunda antraknoz epidemilerinin hızlı şekilde ilerlediğini bildirmişlerdir

Trapero-Casas ve Kaiser (1992), nohut (*Cicer arietinum* L.) bitkisinde *Ascochyta rabiei*' nin enfeksiyonu ve gelişimi için optimum sıcaklığın, kontrollü koşullarda 2 haftalık fidelerde yapılan çalışmaya göre 20°C olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte bu sıcaklıkta, patojenin hafif ve şiddetli enfeksiyon meydana getirebilmesi için sırasıyla 6, 7 ve 17 saat ıslaklık periyoduna ihtiyaç duyduğunu ifade etmişlerdir. Bazı enfeksiyonların ise inokulasyondan sonra ıslaklık süresi olmadan gerçekleştiğini saptamışlardır. Bununla birlikte enfeksiyonun ve hastalık gelişiminin en az 5°C sıcaklıkta, en fazla 30°C'de meydana geldiğini ortaya koymuşlardır. Hastalık gelişiminin 2 haftalık genç bitkilerde 8 haftalık yaşlı bitkilerde göre daha fazla olduğunu ve 1ml'de 1×10^4 'ten 1×10^7 'ye doğru artan inokulum yoğunluklarında ise hastalık şiddetinin de arttığını saptamışlardır.

Sultıvan ve ark. (2002), sıcaklık ve yaprak ıslaklık süresinin ıspanakta beyaz pas hastalığı üzerine etkilerini ortaya koymak amacıyla kontrollü çevre koşulları altında bir çalışma yapmışlardır. Bu amaçla, duyarlı olduğu bilinen Kent çeşidi, inokulasyonun ardından 6-28°C arasındaki sıcaklıklara ve 3-84 saat yaprak ıslaklık süresine maruz bırakılmıştır. Sera koşullarında hastalık şiddeti, 20-30°C arasında olduğu kolayca gözlenmiştir. Hastalık tüm sıcaklıklarda ve ıslaklık düzeyi ile doğru orantılı olarak artış göstermiştir. Hastalığın optimum gelişme sıcaklığının 12-18°C arasında olduğu ve 12-22°C arasında hastalık oluşumu için sadece 3 saatlik bir ıslaklık süresine ihtiyaç duyulduğu tespit edilmiştir. Optimuma yakın sıcaklıklarda hastalığın minimum ıslaklık isteğinin 6-12 saat olduğu bulunmuştur.

Udin ve ark. (2003), sıcaklık, yaprak ıslaklık süresinin çavdar' da *Pyricularia grisea* etmeninin neden olduğu gri yaprak lekesi hastalığının gelişimi üzerine etkilerini araştırmak için kontrollü çevre koşullarında denemeler gerçekleştirmişlerdir. Bunun için 6 haftalık çavdar bitkileri, *P. grisea*' nın sulandırılmış 8×10^4 spor/ml yoğunluğundaki spor süspansiyonu ile inoküle edilmiş ve 20, 24, 28 ve 30°C olmak üzere 4 farklı sıcaklık ile 3'ten 36'ya kadar 3 saatlik aralıklarla 12 farklı yaprak ıslaklık süresine tabi tutulmuştur. Sonuçta, inokulasyondan 3 gün sonra bütün sıcaklıklarda ve yaprak ıslaklık sürelerinde belirtiler gelişmeye başlamıştır. Yaprak

lekesi hastalığının gelişimi için en uygun sıcaklığın 28°C olduğu ve bütün sıcaklıklarda artan yaprak ıslaklık süresine karşılık hastalık sıklığı ve şiddetinde artış kaydedilmiştir.

Kurt ve Tok (2006), maydanoz'da *Septoria* yanıklığı etmeni *Septoria petroselini*' nin lezyon gelişimi üzerinde inokulum yoğunluğu, yaprak yaşı, yaprak ıslaklık süresi ve sıcaklığın etkilerini araştırmak için kontrollü koşullarda denemeler yürütmüşlerdir. Maydanoz suyu agar ve patates dekstrozu agar (PDA)'da 21°C' de 7-10 gün boyunca geliştirilen kültürden 0, 10², 10⁴, 1×10⁶, 2×10⁶, 1×10⁷ ve 2×10⁷ spor/ml şeklinde farklı yoğunlukta hazırlanan süspansiyon deve tüyünden yapılmış fırça yardımıyla bitkilere inokule edilmiştir. İnokuleli bitkiler yetiştirme odasında 20 günlük inkübasyondan sonra bitki başına lezyon sayıları değerlendirilmiştir. 10⁶ konidi/ml spor süspansiyonu, 15, 17, 20, 23, 27 ve 32°C sıcaklıklarda 0, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60 ve 72 saat süreyle nem çemberinde tutularak sıcaklığın ve yaprak ıslaklık süresinin hastalık gelişine etkisi gözlenmiştir. Lezyon başına en fazla lezyon 2×10⁶'da meydana gelmiştir. 10⁴'ten 2×10⁶ konidi/ml'ye çıkan konsantrasyonlarda genç yaprakta %50 ye varan azalma gözlenirken, yaşlı yaprakta %72,4 oranında artış olmuştur. En fazla lezyon gelişimi, 20 ve 23°C sıcaklıklarda 72 saatlik ıslaklık süresinde gözlenmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada, ıspanak antraknoz hastalığı etmeni *Colletotrichum spinaciae* 'nin izolasyonu için sodyum hipoklorit (NaOCl), kültüre almak için patates dekstrozu agar (PDA) ve ıspanak suyu dekstrozu agar (SDA) gibi besi ortamları, izole edilen fungusun geliştirilmesi için inkübatör, fungal inokulumun hazırlanmasında kan sayım aleti (Thoma lamı), binoküler mikroskop, tülbent gibi laboratuvar malzemeleri kullanılmıştır. Fungal etmenin bitkiye inokulasyonunda kullanılmak üzere el pülverizatörü, inoküle edilmiş ıspanak bitkilerinin inkübasyonu için şeffaf polietilen torbalar, bitki yetiştirme kabini, bitki yetiştirmek için saksılar, torf, üre (% 46) ve 40-22 ticari isimli bitkisel kökenli organik gübre kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

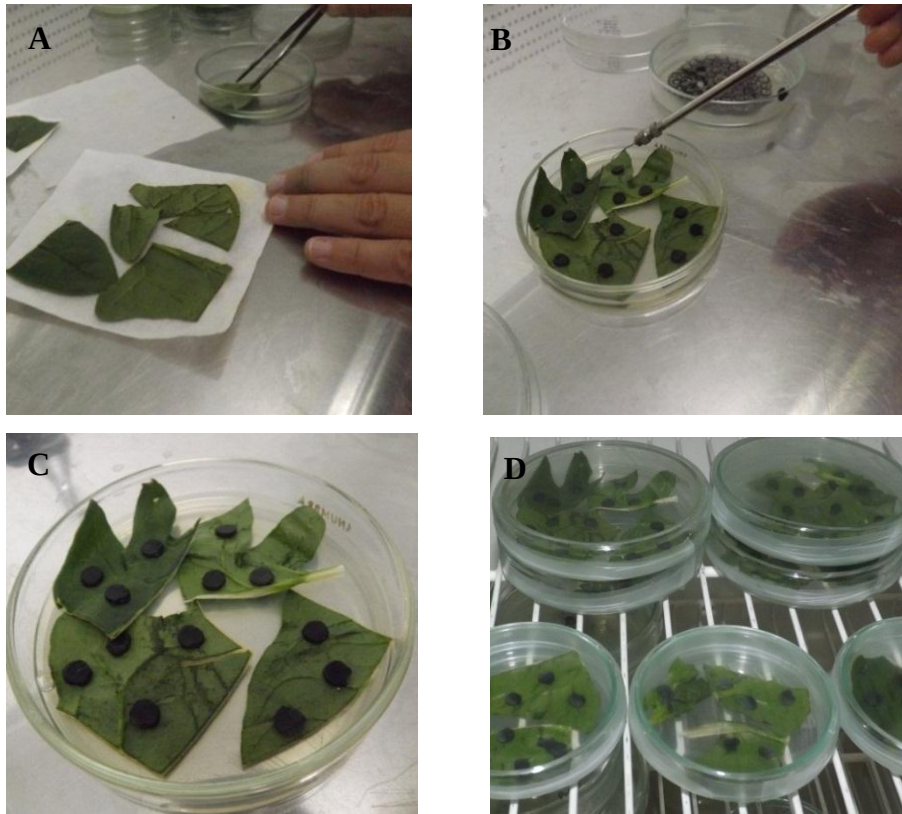
3.2.1. Hastalık Etmeninin İzolasyonu, Tanısı ve Patojenisitesi

Hatay ilinde ticari olarak ıspanak yetiştirilen üretim alanlarında gerçekleştirilen sörveyler sonucu hastalıklı olarak değerlendirilen bitkiler, şeffaf polietilen torbalar içerisinde laboratuvara getirilmiştir. İzolasyon için temiz bir bistüri ile sap ve özellikle yapraklarda gözlenen hastalıklı ve sağlam dokuları içeren lezyonlar kesilerek alınmıştır. Bu bitki parçaları, %5'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) solüsyonunda 1-2 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra, hastalıklı bitki dokuları steril pens yardımıyla içinde steril saf su bulunan petri kaplarına alınmıştır. Steril saf içinde durulanan parçalar buradan alınıp steril kurutma kağıtlarına aktarılmıştır ve üzeri steril kurutma kağıdı ile kapatılarak kurumaya bırakılmıştır. Hastalıklı bitki parçaları tamamen kuruduktan sonra steril pens yardımıyla içerisine PDA ve SDA dökülmüş petri kaplarına aktarılmış ve 25°C sıcaklıkta 10 gün inkübasyona bırakılmıştır (Kurt ve Uysal, 2014).

İnkübasyondan sonra gelişen fungus kolonilerinden tek spor izolasyonları yapılmıştır. Daha sonra PDA içeren eğik agar ortamına hifsel transferler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kültürler, +4°C buzdolabında eğik agar ortamında saklanmıştır. Fungusun tanısı için izolatlar, tekrar PDA besi yerinde canlandırıldıktan sonra yaklaşık bir hafta süre ile morfolojik ve mikroskopik olarak incelenmiştir. Bu amaçla fungusun, koloni rengi, şekli, gelişimi, hifsel yapısı, dallanma şekli eşeysiz

üreme yapıları, konidiofor ve konidi şekilleri gibi karakteristik özellikler dikkate alınarak tanı işlemi gerçekleştirilmiştir.

Patojenisite denemesi için agar disk inokulasyon tekniği kullanılmıştır. Bu yöntem için, öncelikle 12 cm çapındaki saksıda yetiştirilen “Matador” çeşidine ait ıspanak bitkilerinin yaprakları, önce akan çeşme suyu altında yıkandıktan sonra %5’lik NaOCl içeren petri kabında yüzey dezenfeksiyonu için 2-3 dakika bekletilmiş ve içerisinde steril saf su bulunan bir başka petri kabında durulanmıştır. Dezenfekte edilen yapraklar, steril kurutma kağıtları arasında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan yapraklar, PDA içeren petri kaplarına steril pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Daha sonra PDA ortamında 10 gün boyunca geliştirilen fungal kültürlerden diskler alınarak yaprakların üzerine yerleştirilmiş ve petrinin ağzı parafilm ile sarılarak 25°C’de inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Dezenfekte edilmiş olan ıspanak yapraklarının PDA ortamına pens yardımıyla yerleştirilmesi (A), kültür diskinin mantar delici yardımı ile kesilip öze yardımıyla ıspanak yaprakları üzerine yerleştirilmesi (B), Agar disk inokulasyon yöntemi uygulanan yapraklar (C), inkübatörde ıspanak yaprakları üzerinde gelişmeye bırakılan miselyal kitlenin görünümü (D)

İnkübasyondan sonra agar disklerinde gelişen kültürlerden spor süspansiyonu hazırlamak için, üzerinde fungus gelişmiş yapraklar bir kaşık yardımıyla PDA üzerinden alınıp steril boş bir petri kabına konulmuş ve yaprakların üzerine steril saf su konularak önce kaşık sonra havan eli yardımıyla iyice parçalanarak aservulusların içinden sporların çıkması sağlanmıştır. Elde edilen süspansiyon iki katlı temiz bir tülbent ile süzölmüştür. Bu spor süspansiyona 1-2 damla Tween 80 damlatılarak suyun yüzey gerilimi azaltılmıştır. İnokulum yoğunluğu, kan sayım aleti (Thoma lamı) yardımı ile 10^6 konidi/ml konsantrasyonda olacak şekilde ayarlanmıştır. Spor süspansiyonu 4-6 haftalık taze Matador çeşidi ıspanak bitkilerine püskürtme yoluyla inoküle edilmiştir. Kontrol bitkilerine ise sadece saf su uygulanmıştır. İnokulasyon yapılan ve kontrol bitkiler, orantılı nem düzeyinin yükselmesini sağlamak için şeffaf polietilen bir torba içine alınarak doğal yetiştirme koşullarında 2 gün boyunca bekletilmiştir. İnokulasyondan sonra doğal koşullarda hastalık gözlemlerine devam edilerek 30. günde bitkiler hasta ve sağlam olarak kaydedilmiştir. Ayrıca, hastalıklı dokular üzerinde gelişen fungal yapılar makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir. Bununla birlikte PDA ortamını kullanarak etmenin geriye izolasyon işlemi gerçekleştirilerek patojenin varlığı doğrulanmıştır.

3.2.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Matador adı verilen ıspanak çeşidine ait tohumlar, torf, perlit (4:1, v/v) karışımından oluşan harç ile doldurulan 8 cm yüksekliğe ve 12 cm çapına sahip saksılara ortalama 15 tane tohum gelecek şekilde ekilmiştir (Şekil 3.2).

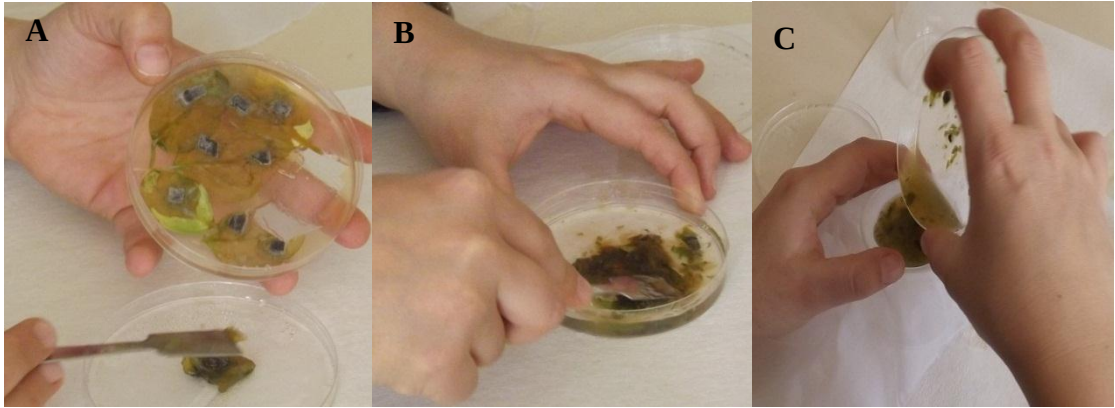


Şekil 3.2. Matador çeşidi ıspanak bitkilerinin inokulasyon öncesi saksıda geliştirilmesi.

Saksılar önce bitki yetiştirme kabinine alınmış tohumların çıkışlarından bir hafta sonra doğal yetiştirme ortamına konulmuştur. Bitkiler, 20-27°C sıcaklığa ayarlanmış 12 saat gündüz, 18-22°C sıcaklığa ayarlanmış 12 saat gece aydınlatmalı bitki yetiştirme kabininde gelişmeye bırakılmıştır. Bitkiler, 3-4 haftalık olduklarında 1lt suya 1ml olacak şekilde ayarlanmış 40-22 ticari isimli bitkisel kökenli organik gübre ile gübrenmiştir. Yetiştiricilik sırasında bitkilerde görülen afit ve kırmızı örümcek gibi bazı zararlıların kontrolü için abamectin etken maddeli insektisit kullanılarak mücadele yapılmıştır.

3.2.3. İnokulum Üretimi

Yöredeki ticari ıspanak ekim alanlarında yapılan gözlemler sonucu hastalıklı bitkilerden izole edilen *Colletotrichum* fungusunun virülensliğini belirlemek için ön çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, saksıda yetiştirilen matador çeşidi ıspanak bitkilerinin yapraklarının %5'lik NaOCl çözeltisinde 2-3 dakika yüzeyden steril edilmesinden sonra PDA içeren petri kaplarına yerleştirilmesi sonrasında, daha önce geliştirilmiş olan fungus kültüründen alınan disk yardımı ile agar disk inokulasyon tekniği kullanılmıştır. Daha önceki 3.2.1 başlığı altında da belirtildiği gibi burada geliştirilen patojenden spor süspansiyonu hazırlanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *Colletotrichum* fungusunun ıspanak yaprakları üzerinde gelişiminden sonra kaşık yardımıyla alınması (A), patojenin konidilerinin suya geçmesi için parçalanması (B), hazırlanan süspansiyonun tülbent yardımıyla süzülmesi(C)

3.2.4. Farklı İnokulum Yoğunluğunun Lezyon Gelişimine Etkisi

Bu denemede, *Colletotrichum* fungusunun inokulum yoğunluğunun ıspanak bitkisindeki lezyon gelişimine etkisi araştırılmıştır. Bunun için, önceki bölümlerde söz edildiği gibi patojen fungusun, 0, 10^2 , 10^4 , 1×10^6 , 2×10^6 , 1×10^7 ve 2×10^7 konidi/ml konsantrasyonlarındaki farklı inokulum yoğunlukları ele alınmıştır. Ancak, patojenin yeterli sporlanma göstermemesinden dolayı 1×10^7 ve 2×10^7 şeklindeki inokulum yoğunlukları denemeye alınmamıştır. Her bir inokulum yoğunluğu için spor süspansiyonu konsantrasyonu, kan sayım aleti ile ayarlanarak her bir yaprağa H. R. Dillard (1989) tarafından tanımlandığı gibi püskürtme yoluyla uygulanmıştır. Kontrol bitkiler ise sadece steril saf su ile muamele edilmiştir. Daha sonra enfeksiyon için gerekli orantılı nemin sağlanması için tüm bitkiler, şeffaf polietilen torbalara yerleştirilerek ağızları ipe bağlanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. *C. spinaciae*' nin farklı inokulum yoğunluklarında inokulasyona tabi tutulan bitkilerin polietilen torba ile kapatılarak inkübasyona bırakılması

Patojen inokule edilmiş ve kontrol bitkiler, 2 gün sonra torbalardan çıkarılarak doğal yetiştirme ortamlarında gelişmeye bırakılmıştır. İnokulasyondan 30 gün sonra ise bitki başına ve bitkideki yaprak başına düşen lezyonlar kaydedilmiştir. Elde edilen verilere varyans analizi uygulanmış ve ortalamalar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır.

3.2.5. Yaprak Islaklık Süresi ve Sıcaklığın Antraknoz Hastalığının Lezyon Gelişimine Etkisi

Doğal iklim koşullarında saksıda yetiştirilen 4-6 haftalık Matador çeşidi ıspanak bitkilerinin her birinin tüm yaprak yüzeyi, 10^6 konidi/ml konsantrasyonundaki spor süspansiyonundan 50 ml olacak şekilde püskürtme yöntemi ile inokule edilmiştir. Kontrol bitkilere ise sadece saf su püskürtülmüştür. Her bir sıcaklık- yaprak ıslaklık kombinasyonunda 15 bitki olmak üzere her bir sıcaklıkta 135 bitki kullanılmıştır.

Kontrol ve patojen inokule edilmiş olan bitkiler; 15, 18, 22, 25, 28, 30 ve 33°C sıcaklıklara ayarlanmış iklim kabininde, nem oranının yüksek tutulması amacıyla şeffaf polietilen torbalar içerisinde 0, 3, 5, 10, 20, 24, 30, 44, 48 ve 53 saat süre ile bekletilmiştir. Daha sonra bu bitkiler, elektrikli fan ile ortalama 10-15 dakika kurutularak doğal yetiştirme ortamına alınmış ve bitkideki lezyon gelişimleri gözlenmeye başlanmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *C. spinaciae* ile inokule edilmiş olan ıspanak bitkisinin fan yardımıyla kurutulması ve doğal ortama alınması

İnokulasyondan 10 gün sonra yapraklar üzerinde ortaya çıkan lezyonların her biri mürekkepli kalemle daire içine alınmıştır. Lezyonlar 3 günde bir sayılarak 30. güne kadar değerlendirme yapılmıştır. Elde edilen veriler, istatistiksel olarak varyans analizine

tabi tutulmuş ve farklı sıcaklıklarda hastalık gelişimi ve yaprak ıslaklık süresi arasındaki ilişkiyi belirlemek için hastalık şiddeti üzerinde regresyon analizleri yapılmıştır.

3.2.6. *C. spinaciae*' nin Sporulasyonu Üzerine Sıcaklığın Etkisi

Bitkinin yaprakları üzerinde görülen lezyonlarda oluşan spor sayısı üzerine düşük (15°C) ve yüksek (33°C) sıcaklığın etkilerini karşılaştırmak için, 4-6 haftalık ıspanak bitkilerinin yaprakları, püskürtme tekniği ile inoküle edilmiştir. Bitkiler, söz konusu sıcaklıklarda 48 saatlik bir ıslaklık süresine maruz bırakılmış ve daha sonra buradan alınarak hastalık gelişimi için doğal yetiştirme ortamına aktarılmıştır. İnokulasyondan 30 gün sonra yaprağın her bir cm²' sine düşen lezyon sayısı hesaplandıktan sonra, lezyonlar büstüri ile kesilerek mikroskopta incelenmiştir. Klorotik hale hariç yapraktaki lezyon alanı (mm²), $((L \times W)/4) \times \pi$ denklemi yolu ile hesaplanmıştır. Burada, L=her bir lezyon uzunluğu, W= lezyon genişliğidir. Kesilmiş lezyonlar, 1 ml saf su içerisinde iyice ezilmiştir. Ezilme işleminden sonra Thoma lamı yardımı ile spor yoğunlukları hesaplanmıştır. Daha sonra cm²' deki yaprak alanında bulunan lezyon sayısı, lezyon başına düşen spor sayıları T testi (P=0.05) kullanılarak analiz edilmiştir.

3.2.7. Bitki ve Yaprak Yaşının Antraknoz Hastalığının Lezyon Gelişimine Etkisi

Denemede 3 farklı yaşta ıspanak bitkileri ve her bitkinin en yaşlı ve en genç yaprağı kullanılmıştır. Bu amaçla, 20, 45 ve 60 günlük ıspanak bitkileri, 10⁶ spor/ml konsantrasyondaki spor süspansiyonu püskürtme yöntemi ile bitkilere inoküle edilmiştir. Bitkiler doğal yetiştirme ortamlarında 48 saat süre ile şeffaf polietilen torbalarda nem çemberinde tutulmuş ve daha sonra doğal yetiştirme ortamlarında gelişmeye bırakılmıştır. İnokulasyondan 30 gün sonra ise her bir bitki tek tek kontrol edilerek en yaşlı ve en genç yapraklardaki lezyonlar sayılarak kaydedilmiştir. Elde edilen verilere varyans analizi uygulandıktan sonra ortalama değerler, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre karşılaştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

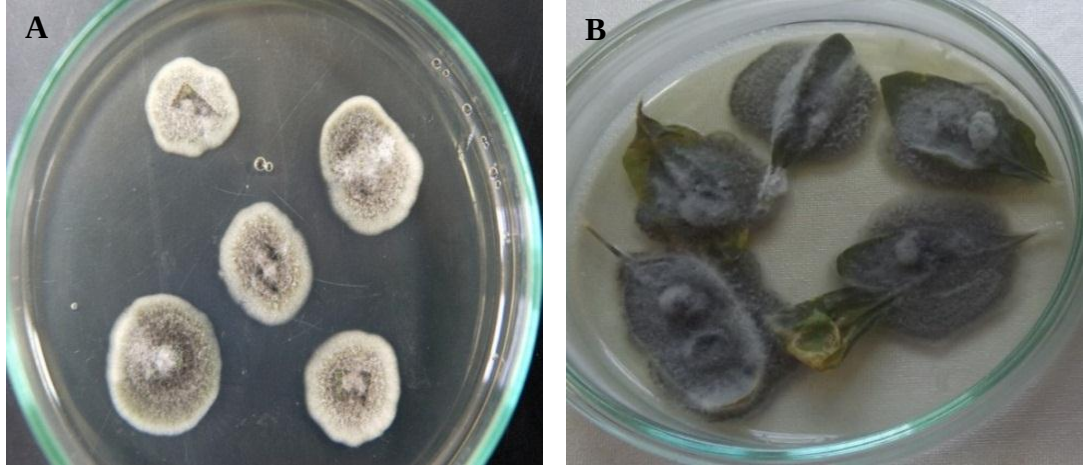
4.1 Hastalık Etmeninin İzolasyonu, Tanısı ve Patojenitesi

Hatay ilinde 2013 ve 2014 yıllarında farklı zamanlarda ıspanakta (*Spinacia oleracea* L.) antraknoz hastalığı belirtileri görülen yaprak ve sap örnekleri toplanmıştır. Elde edilen ıspanak bitkilerinin sap ve yapraklarında antraknoz hastalığının tipik belirtileri incelenmiştir. Enfekteli ıspanak bitkilerinin genç ve yaşlı yapraklarının üst yüzeyinde küçük, dairesel, suda ıslanmış gibi lezyonlar gözlenmiştir. Bu lezyonlar genişleyerek etrafında sarı haleler meydana getirmiştir. Daha sonra bu belirtiler klorotik ve nekrotik bir hale dönüşmüştür. Sonuçta ıspanak bitkisinin hastalıklı dokuları kâğıt gibi ince bir hal almıştır (Şekil 4.1).



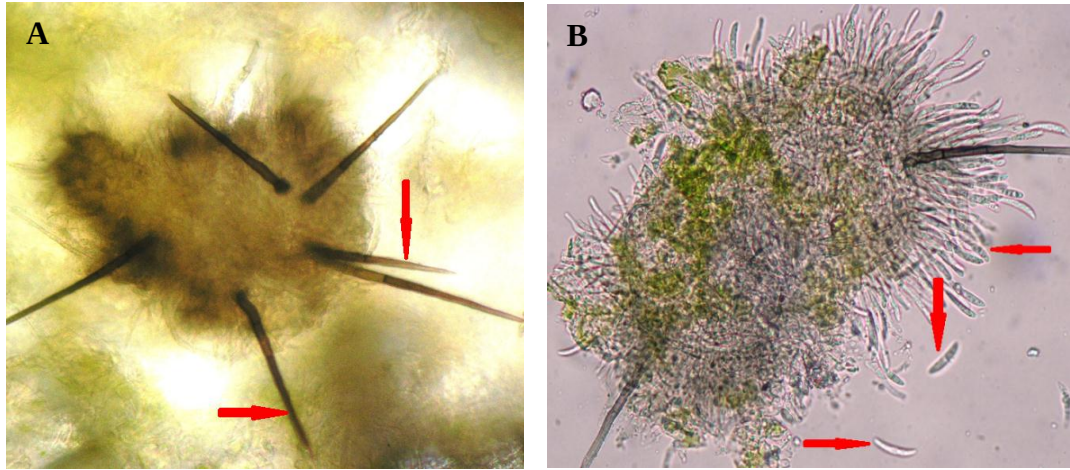
Şekil 4.1. *C. spinaciae*' nin ıspanak bitkisinde doğal koşullarda oluşturduğu lezyonlar.

Hastalıklı dokuların, ıspanak dekstroz agar (SDA) ve patates dekstroz agar (PDA) ortamlarında 25°C' de 7 gün boyunca inkübasyonu sonucunda pamuksu, beyaz-soluk gri miselyumlar ve etmenin eşeysiz üreme yapısı aservulusların oluştuğu belirlenmiştir.



Şekil 4.2. *Colletotrichum* fungusunun, PDA ortamındaki koloni gelişimi (A), Agar inokulasyon tekniği sonucu ıspanak yaprakları üzerindeki kolonizasyonu (B).

Daha sonra mikroskopik incelemeler sonucunda aservuluslar içinde koyu renkli seta yapıları ve konidiler bulunduğu saptanmıştır. Konidilerin ise $17-28\mu\text{m} \times 2,5-6\mu\text{m}$ boyutlarında şeffaf pürüzsüz falçata şeklinde her iki uca doğru konikleşen bir yapıya sahip olduğu kaydedilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *C. spinaciae*' nin eşeysiz üreme yapısı olan aservulus ve koyu renkli, sivri, steril setaları (A), aservuluslar içerisinde bulunan falçata şeklindeki konidileri (B).

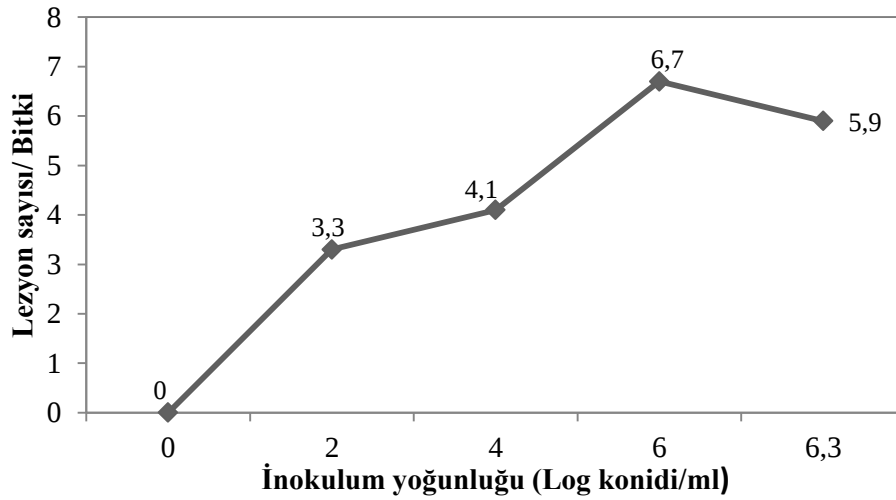
Ülkemizde ıspanak üretim alanlarında ilk kez 2013 yılında belirlenen ıspanak antraknoz hastalığı (Kurt ve Uysal, 2014), benzer belirtiler ve fungusun mikroskopik özellikleri yönünden dünyanın diğer bazı ülkelerden bildirilmiştir (Singh ve Gupta,

1951; Dechmani ve Goode, 1972; Cerkauskas ve ark.,1991; Koike ve Correll, 1993; Washington ve ark., 2006; Domicone ve ark., 2013). Ispanak bitkisinde izole edilen fungal etmenin kültürel ve mikroskopik özellikleri incelendiğinde ortaya konan tüm özellikleri, önceki yıllarda *Colletotrichum dematium* f. *spinaciae* olarak bilinen ve son yıllarda *Colletotrichum spinaciae* olarak tanımlanan (Damm ve ark., 2009) fungusun karakteristik özellikleri ile benzerlik göstermektedir. Sonuçta hastalık belirtileri ve etmenin morfolojisine dayanarak fungus, *Colletotrichum spinaciae* Ellis & Halst, olarak (Damm ve ark., 2009) tanımlamıştır. Benzer bir başka çalışmada (Tomioka ve ark. (2008), *Polygonatum falcatum* bitkisi üzerinde antraknoz hastalığının lezyonları kaydedilmiştir. PDA ortamında gerçekleştirilen izolasyon sonucunda yeşilimsi - gri renkli kolonilerin oluştuğu, konidilerin ise şeffaf, pürüzsüz falçata şeklinde, hidrofilik ve 16-22×3-4µm çapında olduğu saptanmıştır.

Patojenisite denemesi için Agar disk inokulasyon yöntemi ile 10⁶ konidi/ml konsantrasyonda hazırlanmış spor süspansiyonu püskürtme şeklinde 4-6 haftalık Matador çeşidi ıspanak bitkilerine uygulanmıştır. İnokulasyondan 20 gün sonra ilk belirtiler gözlenmeye başlanmıştır. Lezyonlu yapraklardan preparat hazırlayıp mikroskop altında incelendiğinde etmenin aservulus, setea ve konidileri gözlenmiştir. Ayrıca inokule edilen bitkilerde, % 75-77 arasında değişen hastalık şiddeti belirlenmiştir. Yapılan patojenisite denemesinin sonucunda en yüksek virülensliğe sahip olarak SCs1 izolatu belirlenmiştir. Gelişen lezyonlardan yapılan geriye izolasyon ile etmen tekrar izole edilebilmiştir. Bu bulgulara göre ıspanak antraknoz hastalığı etmeni *Colletotrichum spinaciae* Ellis & Halst, olarak tanımlanmıştır. Çalışmanın bundan sonraki diğer tüm aşamalarında *C. spinaciae*' nin SCs1 izolatu kullanılmıştır. Kanada' da antraknoz hastalığı için 1991 yılında Tyee, Melody ve Vienna ıspanak çeşitlerinde gerçekleştirilen patojenisite denemesinde 10⁵ konidi/ml spor süspansiyonu püskürtme yoluyla 44 günlük ıspanak bitkilerine uygulanmıştır. İnokulasyondan 14 gün sonra tüm ıspanak çeşitlerinde yüksek düzeyde hastalık şiddeti ile birlikte etmenin aservulus, seta ve sporlarının mikroskopta gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Cerkauskas ve ark. 1991).

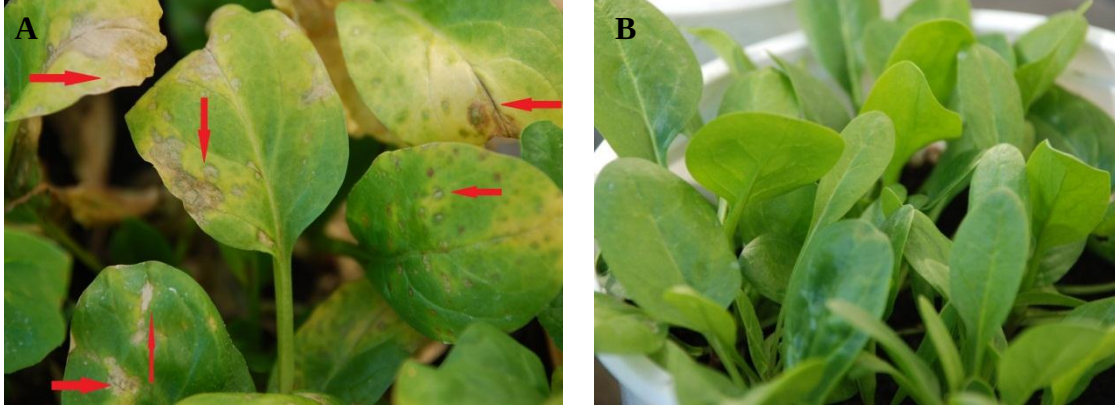
4.2. *C. spinaciae* Patojeninin Farklı Yoğunluklarının Lezyon Gelişimi Üzerine Etkisi

İspanak antraknoz etmeni *C. spinaciae*' nin farklı inokulum yoğunluğunun bitki başına oluşturduğu lezyon gelişimi üzerine etkisine incelendiğinde, kontrol bitkilerinde hiçbir lezyon oluşumu gözlenmezken, inokulum yoğunluğu arttıkça lezyon gelişim doğrusal olarak artış göstermiştir. Patojenin 10^6 konidi/ml' den fazla konsantrasyonda bu doğrusal artışın azalışa geçtiği gözlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, 10^2 , 10^4 , 10^6 ve 2×10^6 konsantrasyonlarda, sırasıyla bitki başına 3.3, 4.1, 6.7 ve 5.9 adet lezyon meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *C. spinaciae*' nin farklı inokulum yoğunluklarının ıspanak bitkisinde bitki başına lezyon gelişimine etkisi (2; 10^2 , 4; 10^4 , 6; 10^6 ve 6,3; 2×10^6 konidi/ml).

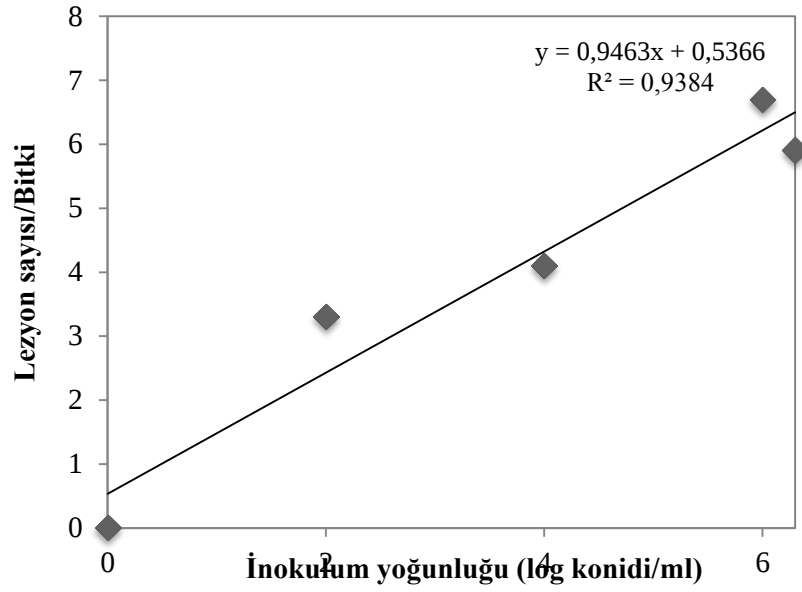
Bitki başına düşen lezyon sayısı bakımından en fazla lezyon sayısı 1×10^6 konidi/ml konsantrasyonda meydana gelmiştir. Bunun sonucuna göre, inokulum zarar ilişkisi konusunda 1×10^6 inokulum yoğunluğunu önemli olduğu kanısına varılmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. En fazla lezyon oluşturan 10^6 konidi/ml konsantrasyonun ıspanak bitkilerindeki lezyon gelişimi (A), kontrol bitkileri (B)

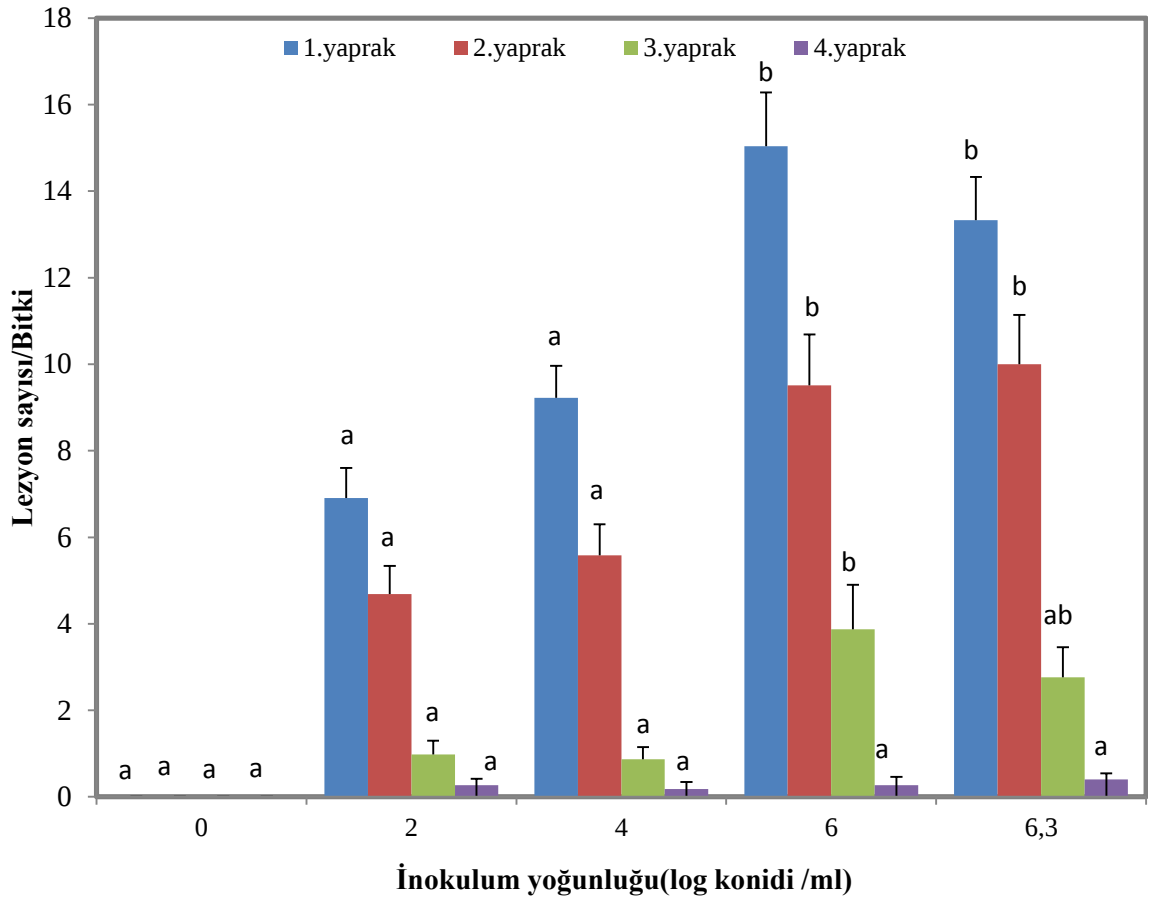
Nitekim, domates meyvesinde *Colletotrichum coccodes*' in neden olduğu enfeksiyon üzerine farklı epidemiyolojik faktörlerin etkilerinin araştırıldığı çalışmada inokulum yoğunluğu arttıkça inokule edilen yaprak yüzeyindeki lezyon sayılarında doğrusal bir artış olduğu ve en fazla lezyon sayısının 10^6 konidi/ml konsantrasyonda olduğu bildirilmiştir (Dillard, 1989). Yine benzer bir başka çalışmada maydanoz bitkisinde *Septoria petroselinii* etmeninin neden olduğu septorya yanıklığının enfeksiyonu üzerine inokulum yoğunluğunun lezyon gelişimine etkisi araştırılmıştır. Sonuçta, inokulum yoğunluğu arttıkça bitki başına lezyon sayısının arttığı ve 10^6 konidi/ml konsantrasyondan sonra inokulum yoğunluğu arttıkça lezyon sayısının fazla değişmediği saptanmıştır (Kurt ve Tok, 2006).

C. spinaciae ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerinde farklı inokulum yoğunlukları ile lezyon gelişimi arasındaki ilişki incelendiğinde, her iki faktör arasında pozitif yönde doğrusal bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. SCs1 izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerinde inokulum yoğunluğu ile lezyon gelişimi arasındaki ilişki (2; 10^2 , 4; 10^4 , 6; 10^6 ve 6,3; 2×10^6 konidi/ml)

C. spinaciae' nin farklı inokulum yoğunluklarında ıspanak bitkilerinde meydana getirdiği lezyon gelişimi incelendiğinden en fazla lezyon 1×10^6 konidi/ml inokulum yoğunluğunda bitkinin ilk yapraklarında olduğu gözlenmiştir. En yüksek inokulum yoğunluğu olan 1×10^6 ve 2×10^6 da bitkilerin birinci ve ikinci yapraklarındaki lezyon sayıları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *C. spinaciae*' nin artan inokulum konsantrasyonlarında ıspanak bitkilerinde yaprak başına meydana gelen ortalama lezyon sayıları (2; 10^2 , 4; 10^4 , 6; 10^6 ve 6,3; 2×10^6 konidi/ml).

Buna karşın en az inokulum yoğunluğu olan 10^2 ve 10^4 konsantrasyonlarda ise bitkilerdeki lezyon sayıları da 0 konsantrasyonda uygulanan bitkilerdeki lezyon sayıları ile aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge4.1)

Çizelge 4.1. Farklı inokulum konsantrasyonlarında ıspanak bitkisinde yaprak başına meydana gelen ortalama lezyon sayıları

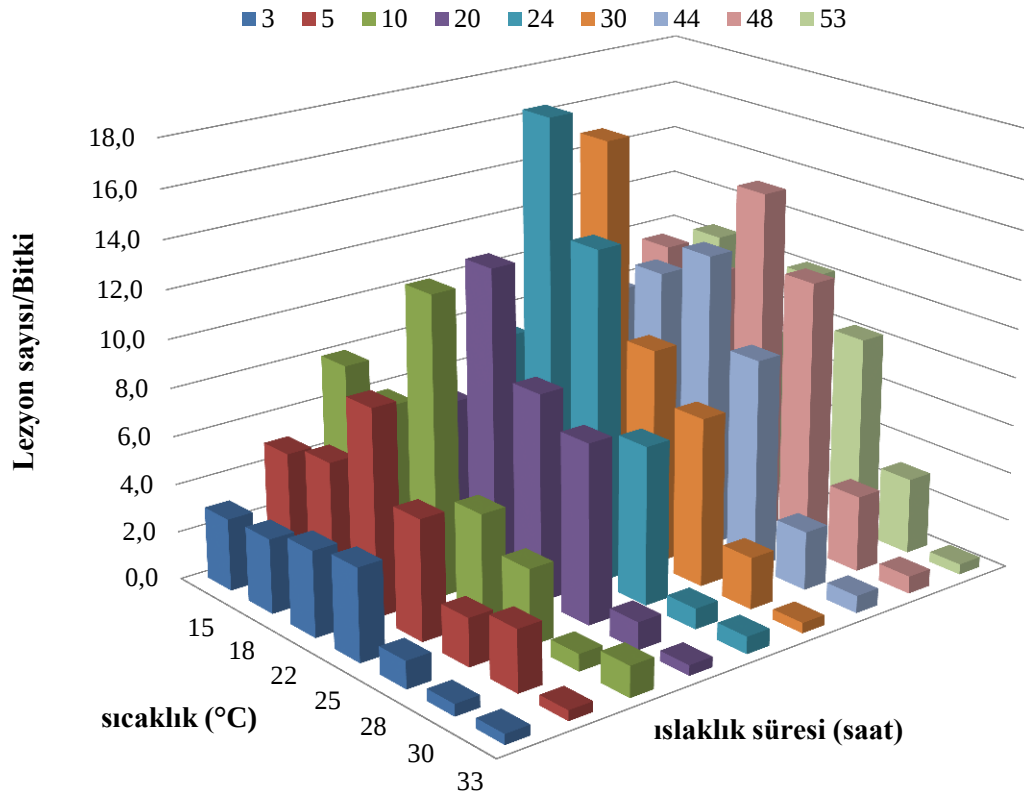
İnokulum yoğunluğu	1.yaprak	2.yaprak	3.yaprak	4.yaprak	Ortalama
0	0,00a*	0,00a	0,00a	0,00a	0,0
10²	6,91a	4,69a	0,98a	0,27a	3,21
10⁴	9,22a	5,58a	0,87a	0,18a	3,96
1×10⁶	15,04b	9,51b	3,87b	0,27a	7,17
2×10⁶	13,33b	10,00b	2,76ab	0,40a	6,62
Ortalama	8,90	5,95	1,69	0,22	

*Sütün içinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine(p=0,05) göre birbirinden önemli ölçüde farklıdır.

Tüm yapraklardaki ortalama lezyon sayısı göz önüne alındığında 7,17 ile en fazla 1×10⁶ konidi/ml, en az ise 3,21 ile 10² konidi/ml konsantrasyonda saptanmıştır.

4.3. Yaprak Islaklık Süresi ve Sıcaklığın Antraknoz Hastalığının Lezyon Gelişimi Üzerine Etkisi

Saksı koşullarında 9 farklı yaprak ıslaklık süresi ve 7 farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen denemede, *C. spinaciae*' nin ıspanak bitkilerinde oluşturduğu lezyon gelişimleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, 15, 18, 22, 25, 28, 30 ve 33°C gibi farklı sıcaklıklarda, 3, 5, 10, 20, 24, 30, 44, 48, 53 saatlik nem periyodlarının hepsinde lezyon gelişimi gözlenmiştir. Ispanak bitkilerinde bitki başına lezyon gelişimi 15°C' den itibaren 22°C'ye kadar kademeli olarak artış göstermiş olup en fazla lezyon 22°C'de kaydedilmiş, bu sıcaklıktan sonra lezyon gelişimi kademeli olarak azalmıştır. En az lezyon ise 33°C' de olduğu kaydedilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Scd1 izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerinde lezyon gelişimi üzerine sıcaklık ve yaprak ıslaklık sürelerinin etkileri. Her bir bar, 15 bitkinin ortalama lezyon sayısını temsil etmektedir.

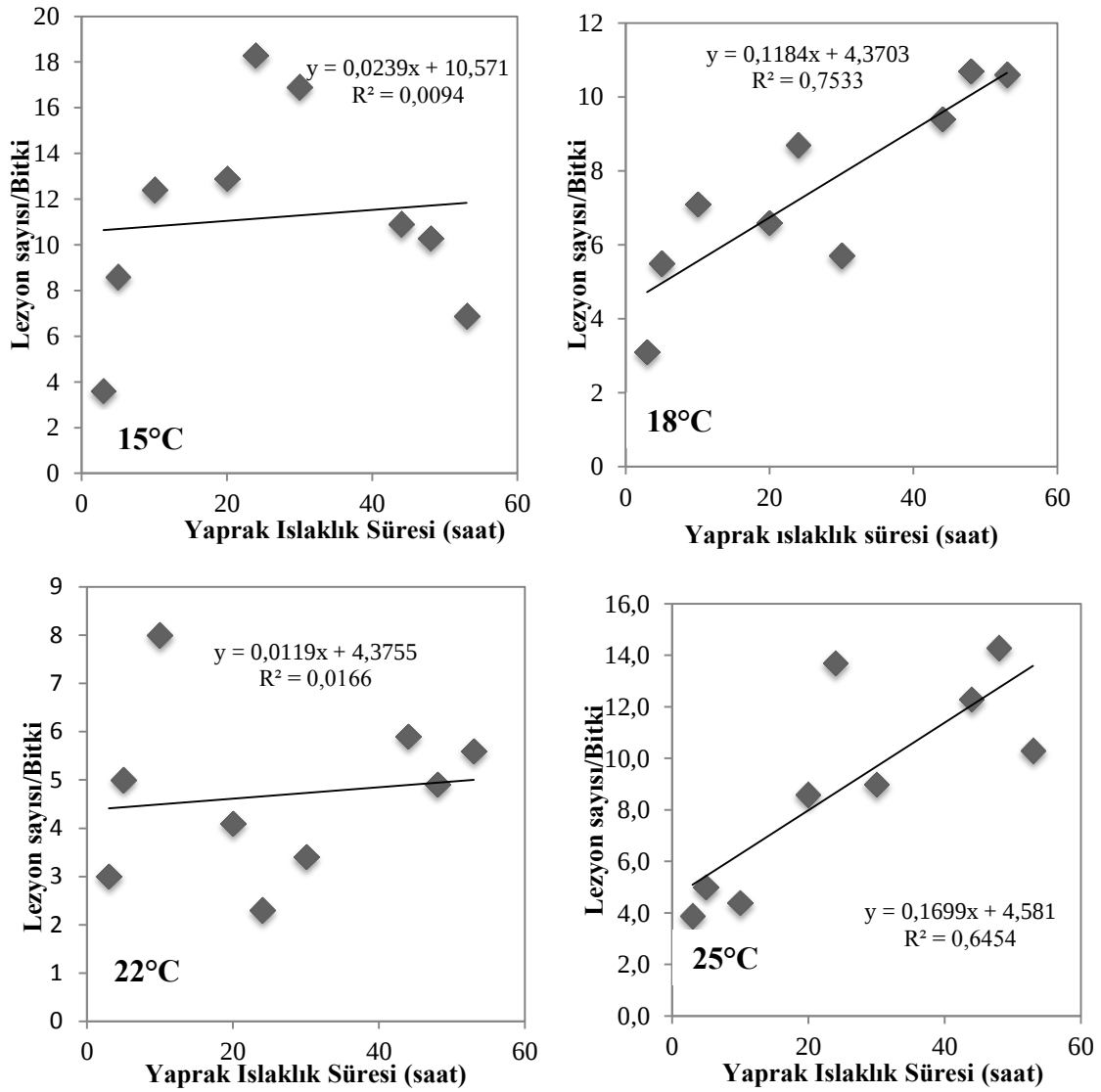
Islaklık sürelerinin lezyon gelişimine etkisi 3. Saatten 24. saate kadar kademeli bir artış gözlenmiş, 24. saat ve 30. saat ıslaklık sürelerinde lezyon sayıları birbirine yakın olup bu sürelerde en yüksek lezyon sayıları kaydedilmiştir. 30. saatten itibaren 53. saate kadar lezyon gelişimlerinde hafif bir azalma görülmüştür. En az lezyon 3 saat ıslaklık süresine tabi tutulan bitkilerde kaydedilmiştir. Buna göre en fazla lezyon 22°C sıcaklıkta 24 saat ıslaklık süresine tabi tutulan ıspanak bitkilerinde gözlemlendiği kaydedilmiştir. Lezyon gelişiminin az olduğu sıcaklık ve yaprak ıslaklık sürelerinde istatistiksel olarak değerler aynı grupta yer almıştır. Elde edilen bulgulara göre 22°C sıcaklıkta ve 24 saat yaprak ıslaklık süresinde en yüksek lezyon gelişimine rastlanmıştır olup en düşük değer 33°C’ deki tüm yaprak ıslaklık sürelerinde belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Farklı sıcaklık (°C) ve yaprak ıslaklık sürelerinde, SCs1 izolatı ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerindeki lezyon sayıları

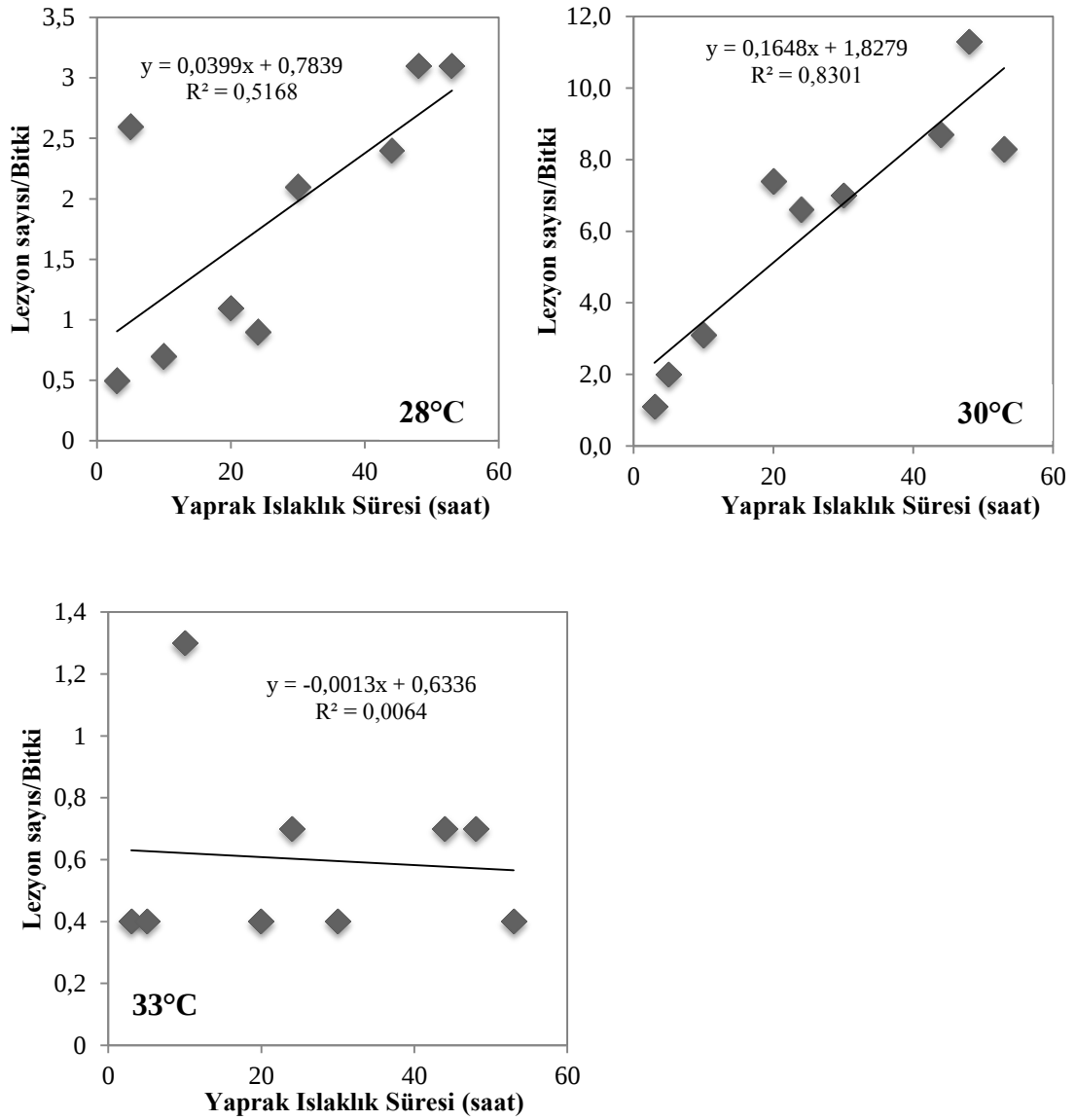
Sıcaklık(°C)	3.saat	5.saat	10.saat	20.saat	24.saat	30.saat	44.saat	48.saat	53.saat	Ortalama
15	3,00abc	5,00b	8,00c	4,14ab	2,29a	3,43ab	5,86abc	4,86abc	5,57abc	4,68
18	2,00abc	3,29ab	7,14bc	6,57bc	8,71b	5,71bc	9,43bc	10,71bcd	10,57c	7,12
22	3,57abc	8,57c	12,43d	12,86d	18,29d	16,86d	10,86c	10,29bcd	6,86bc	11,17
25	3,86bc	5,00b	4,43abc	8,57c	13,71c	9,00c	12,29c	14,29d	10,29c	9,04
28	1,14ab	2,00ab	3,14ab	7,43bc	6,57b	7,00bc	8,71bc	11,29cd	8,29bc	6,17
30	4,57c	2,57ab	0,71a	1,14a	0,86a	2,14ab	2,43ab	3,14ab	3,14ab	2,3
33	0,43a*	0,43a	1,29a	0,43a	0,71a	0,43a	0,71a	0,71a	0,43a	0,61
Ortalama	2,6	3,83	5,30	5,87	7,30	6,36	7,18	7,89	6,45	

*Sütun içinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine (p=0,05) göre birbirinden önemli ölçüde farklıdır

C. spinaciae ile inokule edilmiş olan ıspanak bitkilerinin yapraklarında farklı sıcaklıklar ve yaprak ıslaklık süreleri ile bitki başına düşen lezyon sayıları arasındaki ilişki Şekil 4.9’ da verilmiştir. Elde edilen verilerden anlaşılabacağı gibi 18, 25 ve 30°C’ lerdeki yaprak ıslaklık süreleri ile lezyon gelişimi arasında önemli ($p \leq 0,01$) bir ilişki saptanmıştır.



Sayfa 32'nin devamı

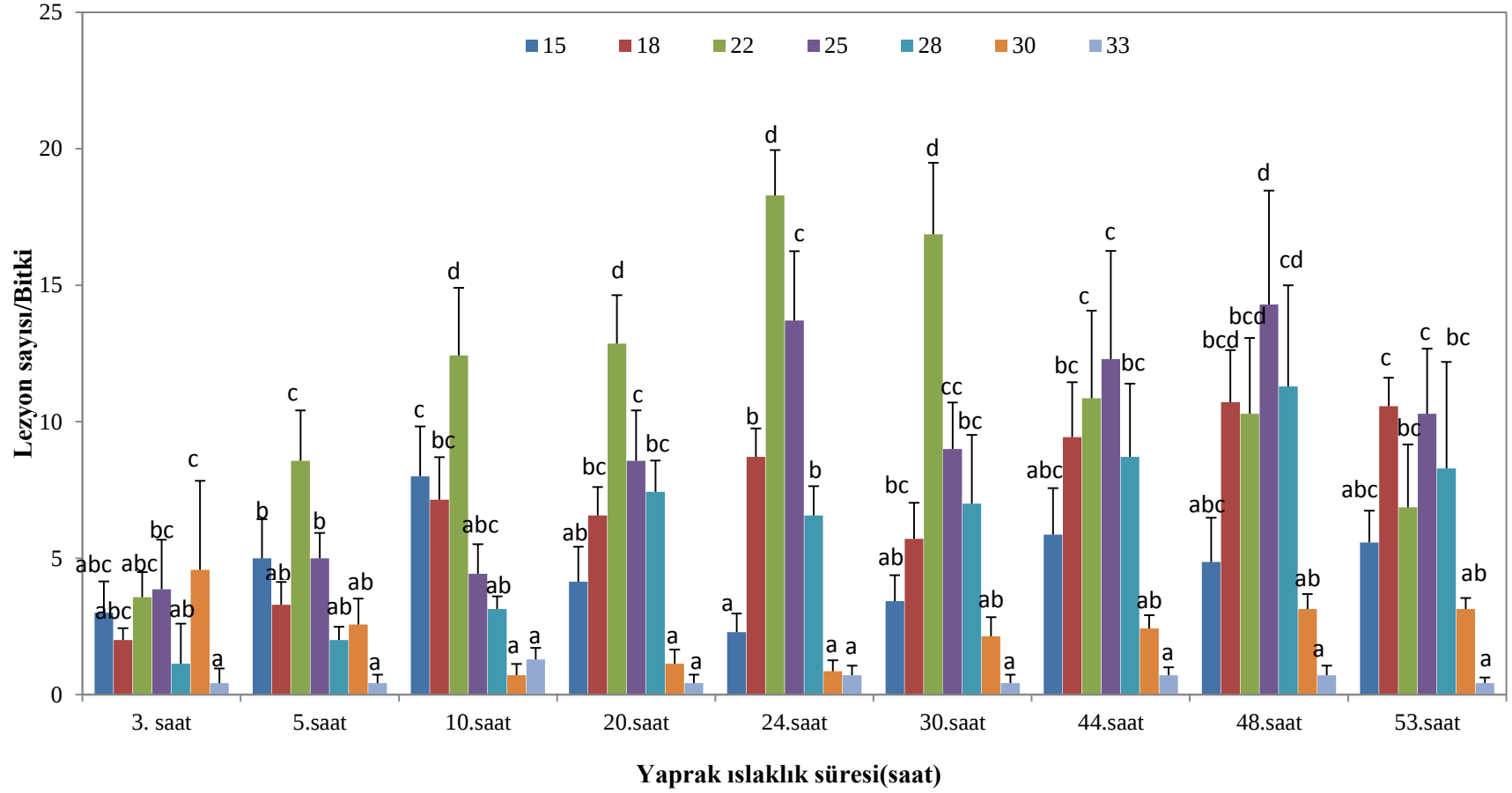


Şekil 4.9. SCs1 izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkilerinde farklı sıcaklıklarda (15, 18, 22, 25, 28, 30, 33°C) lezyon gelişimi ve yaprak ıslaklık süresi (5, 10, 20, 24, 30, 44, 48, 53 saat) arasındaki ilişki

Buna karşılık 15, 22, 28 ve 33°C sıcaklıklarda yaprak ıslaklık süreleri ile lezyon gelişimleri arasındaki doğrusal ve önemli seviyede bir ilişki gözlenmemiştir.

ABD' de ıspanak bitkisinde antraknoz hastalığının gelişimini etkileyen faktörleri daha iyi anlamak için hastalık gelişimi üzerine sıcaklık ve yaprak ıslaklık periyodunun kombine etkileri, nem çemberinde araştırılmıştır. Bitkiler, $9,5 \times 10^5$ konidi/ml konsantrasyondaki spor süspansiyonu ile inokule edilmiş ve 2,78°C aralıklarla 10' dan 32°C' ye kadar olan aralıkta ve her bir sıcaklıkta 8 farklı yaprak ıslaklık süresine tabi

tutulmuştur (Domicone ve ark., 2013). Sonuçta yaprak ıslaklık periyodu, sıcaklık ve bunların interaksiyonlarının hastalık gelişimi üzerine etkileri önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Bu bulgular çalışmamızda elde ettiğimiz verilerle uyumluluk göstermektedir. Diğer bir ortak nokta ise sıcaklık tepkilerinin hastalık gelişimi üzerinde değişkenlik arz etmesidir. Nitekim, sıcaklık etkilerinin quadratik bir etki ile maksimum hastalık şiddetinin $18.3-26.7^{\circ}\text{C}$ arasında olduğunu bildiren Damicone ve ark (2013)' nın bulguları, bu çalışma kapsamında elde ettiğimiz maksimum hastalık şiddetinin belirlendiği $28-28^{\circ}\text{C}$ ' ler arasındaki değerleri (Şekil 4.10) destekler niteliktedir. Ancak çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre optimum gelişme sıcaklığı ve yaprak ıslaklık süresi 22°C ' de 24 saat olarak belirlenmesine karşın diğer çalışmada (Domicone ve ark., 2013) optimum sıcaklık tanımlanamamıştır. Bununla birlikte hastalık şiddetinin, 6 saatte %5' i ve 12 saat ıslaklık süresinde %10' u aştığı ifade edilmiştir.



Şekil 4.10. Farklı sıcaklık ve yaprak ıslaklık sürelerinde, SCs1 izolatu ile inokule edilmiş ıspanak bitkisindeki lezyon sayıları

4.4. *C. spinaciae*' nin Sporulasyonu Üzerine Sıcaklığın Etkisi

Bu aşamada sıcaklığın, bitki başına lezyon gelişimine ve her lezyondaki spor oluşumuna etkisi araştırılmıştır. *C. spinaciae*' nin 10^6 konidi/ml spor süspansiyonu ile inokule edilen ve 15 ila 33 °C sıcaklıklarda 48 saat süre ile yaprak ıslaklık süresine tabi tutulan bitkiler 20. günün sonunda değerlendirmeye alınmıştır. Buna göre, 15°C' de sıcaklıkta her bir yaprağın cm^2 ' sine düşen lezyon sayısı 0,493 olarak bulunmuştur. Fakat 33°C' de sıcaklıkta ıspanak bitkilerinde her bir yaprağın cm^2 ' sine düşen lezyon sayısı 0,450 olduğu kaydedilmiş, ancak bunlarda herhangi bir sporulasyon gözlenmemiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı sıcaklıkların ıspanak bitkisindeki antraknoz hastalığı lezyon sayısı ve lezyon başına düşen spor sayıları.

Sıcaklık (°C)	Lezyon $\pm$ standart hata sayısı ($\text{lezyon}/\text{cm}^2$)	Spor sayısı/lezyon $\pm$ standart hata
15	0,493 $\pm$ 0,03	3,86 $\pm$ 0,21
33	0,450 $\pm$ 0,06	0 $\pm$ 0,0

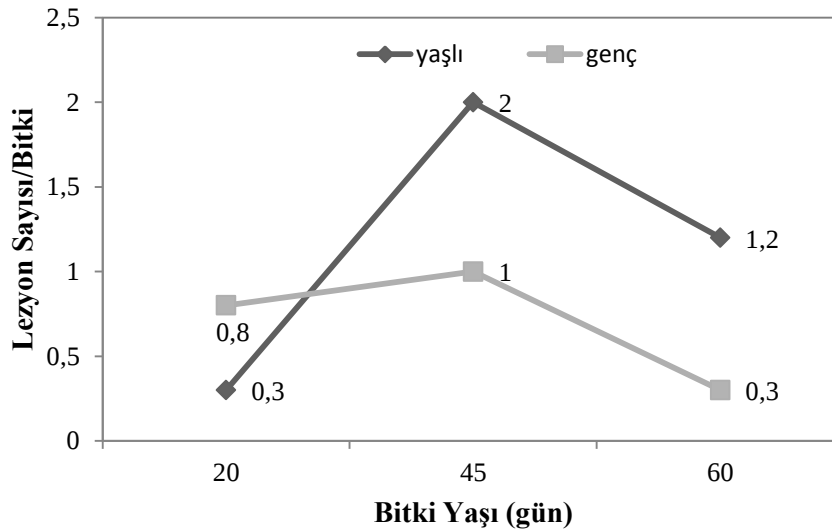
T testi analizine göre ıspanak yaprağında cm^2 alanına düşen lezyon sayılarında farkın olmadığı, ancak lezyon başına düşen spor sayısında önemli fark olduğunu gözlenmiştir (Ek 12). Benzer bir çalışmada, maydanozda septorya yanıklığı etmeni *Septoria petroselini*' nin sporulasyonu üzerine 13 ve 27°C sıcaklıkların etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada her iki sıcaklıkta da yakın sayıda lezyon kaydedilmiştir. T testine göre lezyonlar arasında fark olmadığı, lezyon başına düşen spor sayılarında farkın önemli olduğu saptanmıştır. Lezyon başına düşen spor sayısı 13°C' ye göre 27 °C' de daha fazla olduğu bildirilmiştir. (Kurt ve Tok, 2006).

4.5. Bitki ve Yaprak Yaşının Antraknoz Hastalığının Lezyon Gelişimi Üzerine Etkisi

Bu aşamada, *C. spinaciae* patojeninin ıspanak bitkilerindeki lezyon gelişimine bitki ve yaprak yaşının etkileri araştırılmıştır. 3 farklı yaşta bitkiler ve her bir bitkinin en yaşlı ve en genç yaprağının kullanıldığı bu denemede, tipik antraknoz hastalığının belirtileri gözlenmiştir. 20 günlük bitkilerde lezyon gelişimi az olup 45 günlük bitkilerde en fazla lezyon gelişimi gözlenmiştir, fakat 60 günlük bitkilerdeki lezyon

sayılarında tekrar bir azalma görülmüştür. Elde edilen bu veriler, *Colletotrichum truncatum*' un mercimek bitkisinde meydana getirdiği antraknoz hastalığı üzerinde büyüme döneminin etkilerini araştıran ve ortaya çıkan belirtilerin 28-42 günlük bitkilerde daha şiddetli olduğunu ve bunun bitkinin çiçeklenme dönemi başlangıcına rastladığını ifade eden Chongo ve Bernier (2000)' in bulgularıyla uyumluluk arz etmektedir. Bitkinin yaşlanmasına bağlı olarak lezyon gelişimlerinin azalması, biber bitkisinde *Colletotrichum coccodes*' in enfeksiyonuna karşı bitki yaşlandıkça patojene daha fazla dayanıklılığın gelişmeye başladığını vurgulayan Hong ve Hurang (1998) tarafından da desteklenmektedir.

Bir ıspanak bitkisinin genç ve yaşlı yaprak bakımından lezyon gelişimi incelendiğinde en fazla lezyon sayısının yaşlı yapraklarda olduğu, buna rağmen genç yapraklarda ise daha az lezyon sayısı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.11).

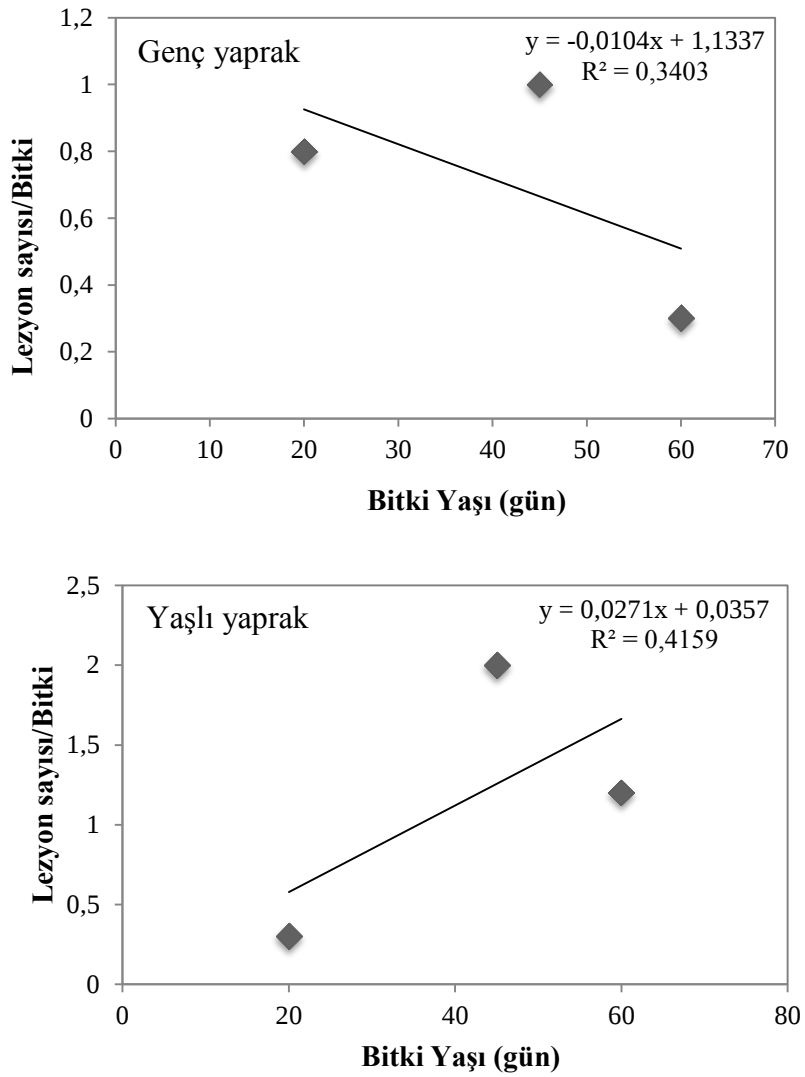


Şekil 4.11. Farklı yaşlardaki ıspanak bitkilerinde ve yaprak yaşlarındaki lezyon gelişimi

Benzer bir çalışmada, maydanoz bitkisinde *Septorya* yanıklığı hastalığının lezyon gelişimine bitki yaşını etkisi araştırıldığında, en fazla lezyon 8 haftalık bitkilerde meydana gelirken, en az lezyon 2 haftalık bitkilerde meydana geldiği saptanmıştır. 2 haftalık bitkilerden olgun bitkilere doğru yaş ilerledikçe meydana gelen bitki başına lezyon sayısı da artış göstermekte olduğunu bildirmişlerdir (Kurt ve Tok, 2006). Nitekim, 1992 yılında nohutta *Ascochyta rabiei* hastalığı için 2 ve 8 haftalık bitkilerin

hastalığa karşı tepkilerini incelenmiştir. Sonuçta, hastalık gelişiminin 2 haftalık genç bitkilerde 8 haftalık yaşlı bitkilerde göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. (Trapero-Casas ve Kaiser, 1992).

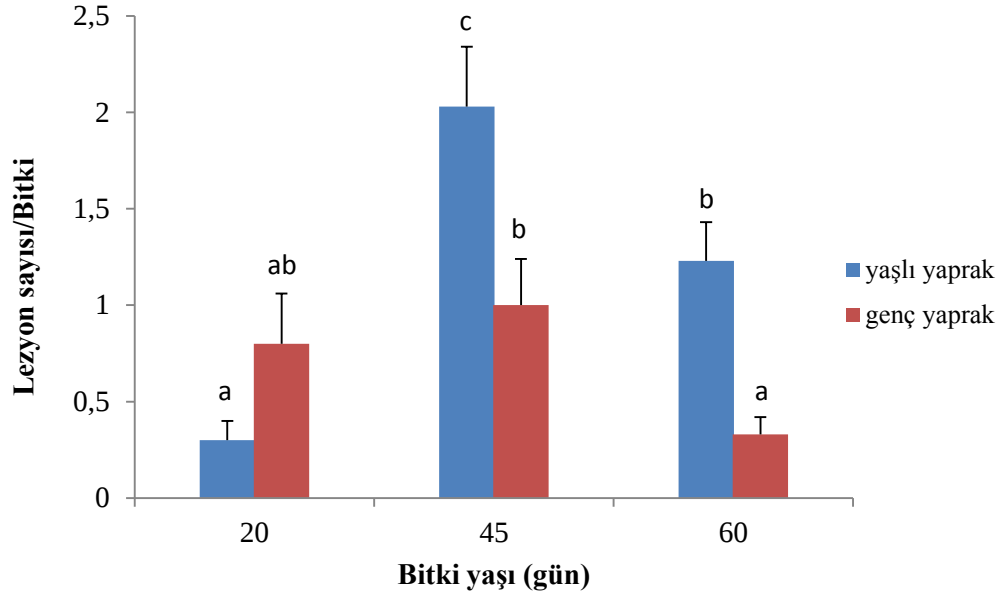
Ispanak bitkilerinin *C. spinaciae* ile inokulasyonundan sonra farklı yaşlarda bulunan genç ve yaşlı yapraklar ile lezyon gelişimleri arasındaki ilişki Şekil 4.12' de verilmiştir.



Şekil 4.12. *C. spinaciae* ile inokule edilmiş farklı yaşlardaki ıspanak bitkilerinde yaşlı ve genç yapraklar arasındaki ilişki

Şekil 4.12’ de verildiği gibi farklı yaşlardaki ıspanak bitkilerindeki genç ve yaşlı yapraklar arasındaki regresyon analizine göre doğrusal bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır.

Farklı yaşlardaki bitkilerin genç ve yaşlı yapraklarında ortaya çıkan lezyon sayılarına ait verilerin istatistiki analizi Şekil 4.13’ de verilmiştir.



Şekil 4.13. Ispanak bitkisinde bitki ve yaprak yaşının *C. spinaciae*’ nin lezyon gelişimine etkisi

Elde edilen sonuçlara göre bitki ve yaprak yaşına göre bitki başına oluşan lezyon sayıları değerlendirildiğinde artan lezyon gelişimi 45 günlük bitkilerin yaşlı yapraklarında en fazla seviyede meydana gelmiştir. Farklı yaştaki bitkilerin yaşlı yapraklarında lezyon sayıları birbirinden farklı olup, ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre istatiksel olarak farklı gruplarda yer almışlardır. Farklı yaştaki bitkilerin genç yapraklarında belirlenen lezyon sayıları incelendiğinde 20 ve 45 günlük bitkilerde lezyon sayıları istatiksel olarak aynı grupta olurken, 60 günlük bitkinin genç yapraklarında en az sayıda lezyon belirlenmiş ve istatiksel olarak farklı grupta yer almıştır.

Yaprak yaşının, 45 ve 60 günlük bitkilerde genç yapraklara göre yaşlı yapraklarda daha yüksek oranda belirlenen ıspanak antraknoz hastalığının şiddeti

üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlardan da görüleceği gibi bitki yaşlandıkça yaşlı ve genç yapraklarda lezyon sayısında azalma kaydedilmiştir. Bu veriler, biberde *C. coccodes*' in neden olduğu antraknoza karşı bitki yaşlandıkça tüm biber çeşitlerinin giderek dayanıklı hale geldiğini bildiren Hong ve Hwang (1998)' in bulguları ile desteklenmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Ispanak bitkisinde *C. spinaciae*' nin neden olduğu antraknoz hastalığı' nın lezyon gelişimine inokulum yoğunluğu, yaprak ıslaklık süresi, sıcaklık ve bitki yaşı ile sıcaklığın sporulasyon üzerine etkileri araştırılmıştır.

Hatay'da ticari ıspanak ekim alanlarında elde edilen fungal patojen, PDA ve SDA üzerindeki koloni gelişimi ve mikroskopik incelemeler sonucunda, *C. spinaciae* olarak tanımlanmıştır. Agar inokulasyon yöntemi sonucunda elde edilen 10^6 konidi/ml konsantrasyonundaki spor süspansiyonu ile ıspanak bitkilerine püskürtme yoluyla yapılan inokulasyon sonucunda tarlada görülen belirtilere benzer lezyonlar gözlenmiştir.

C. spinaciae' nin inokulum yoğunluğunun lezyon gelişimine etkileri incelendiğinde inokulum yoğunluğu 10^2 'den 10^6 'ya doğru artarken lezyon gelişimi artış gösterirken 2×10^6 konsantrasyonda azalma sergilediği tespit edilmiştir.

Sıcaklık ve yaprak ıslaklık süresinin lezyon gelişimine etkileri incelendiğinde, ıspanak bitkilerinde bitki başına lezyon gelişimi 15°C ' den itibaren 22°C 'ye kadar kademeli olarak artış göstermiştir. Bununla birlikte en fazla lezyon sayısı 22°C 'de kaydedilmiş, bu sıcaklıktan sonra lezyon gelişimi kademeli olarak azalmıştır. En az lezyonun ise 33°C 'de ortaya çıktığı kaydedilmiştir. Islaklık sürelerinin lezyon gelişimine etkisi araştırıldığında, 0. saatten 24. saate kadar kademeli bir artış gözlenmiş, 24. saat ve 30. saat ıslaklık sürelerinde lezyon sayıları birbirine yakın olup bu sürelerde en yüksek lezyon sayıları belirlenmiştir. 30. saatten itibaren 53. saate kadar lezyon gelişimlerinde hafif bir azalma gözlenmiştir. En az lezyon 3 saat ıslaklık süresine tabi tutulan bitkilerde kaydedilmiştir. Buna göre optimum lezyon sayısına 22°C sıcaklıkta 24 saat ıslaklık süresine tabi tutulan ıspanak bitkilerinde ulaşıldığı saptanmıştır. Buna göre, bu epidemik şartların takip edilmesi ve ilaçlamaların hava şartlarına göre ayarlanması hem hastalık ile savaşı kolaylaştıracak hem de mevsim içinde yapılacak ilaçlama sayısını azaltarak çevresel ve ekonomik zararların önüne geçilmiş olunacaktır.

Sıcaklığın patojenin sporulasyonu üzerine etkisi araştırıldığında, 10^6 konidi/ml spor süspansiyonu ıspanak bitkilerine püskürtülerek 15°C ve 33°C sıcaklıklarda sporulasyon üzerine etkisi incelendiğinde 15°C sıcaklıkta her bir yaprağın cm^2 'sine düşen lezyon sayısı, 0,493 olarak bulunmuştur. Fakat 33°C ' de sıcaklıkta ıspanak bitkilerinde lezyon sayısı 0,450 olduğu halde sporulasyon gözlenmemiştir.

Bitki ve yaprak yaşının lezyon gelişimine etkisi araştırıldığında, 20 günlük bitkilerde lezyon gelişimi az olup 45 günlük bitkilerde en fazla lezyon gelişimi gözlenmiştir, fakat 60 günlük bitkilerdeki lezyon sayılarında da tekrar bir azalma gözlenmiştir. Yaprak yaşının, 45 ve 60 günlük bitkilerde genç yapraklara göre yaşlı yapraklarda daha yüksek oranda belirlenen ıspanak antraknoz hastalığının şiddeti üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlardan da görüleceği gibi bitki yaşlandıkça yaşlı ve genç yapraklarda lezyon sayısında azalma kaydedilmiştir. Buna göre ıspanak yetiştirilen alanlarda 45 ve 60 günlük olan bitkilerin yaşlı yaprakları kontrol edilerek antraknoz hastalığının olup olmadığına incelenmelidir ve buna karşı önlemler alınmalıdır.

Bu çalışma, tarla koşulları altında sıcaklık, yaprak ıslaklık süresi, inokulum yoğunluğu ve bitki yaşı gibi epidemiyolojik faktörlerin ıspanak yapraklarında *C. spinaciae*'nin enfeksiyonunu nasıl etkileyeceği konusunda yararlı ve pratiğe uygun bilgiler sunmaktadır. Bu bilgiler ışığında ticari olarak ıspanak yetiştirilen alanlarda antraknoz hastalığı için minimum enfeksiyon gerçekleşen sıcaklık ve yaprak ıslaklık süreleri dikkate alınarak önceden önlem alınmış olunacaktır.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2011. Ispanak yetiştiriciliği el kitabı. **Sakarya İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü.**
- Anonim, 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations 2012.**www.fao.org. Statical Database**, Agricultural Production
- Anonim, 2013. Tarımsal yapı ve üretim. **TC Devlet İstatistik Enstitüsü Yayınları**, Ankara.
- Cerkauskas, R.F, Nauta, R., and McDonald M.R., 1991. First report of spinach anthracnose in Ontario. **Plant Disease** 75: 101
- Chongo, G., and Bernier, C. C. 2000. Effects of host, inoculum concentration, wetness duration, growth stage, and temperature on anthracnose of lentil. **Plant Disease**. 84:544-548.
- Correll, J.C., Morelock, T.E., Black, M.C., Koike,S.T., Brandenberger L.P., Dainello, F.J. 1994. Economically Important Diseases of Spinach. **Plant Disease**.78: 653-660
- Damicone, J., Pierson, T., Stoner, A., 2013. Biology and Management of spinach anthracnose. **Phytopathology** 103 (Suppl.1) : S1.3
- Damm, U., Woudenberg, J.H.C., Cannon, P.F.ve Crous, P.W. 2009. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity** 39: 45-87.
- Dechmani, U. and Goode, M. J., 1972. Spinach anthracnose in the Arkansas River Valley, Arkansas Farm Research 21:12.
- Dillard, H.R. 1989. Effect of temperature, wetness duration, and inoculum density on infectionand lesion development of *Colletotrichum coccodes* on Tomato fruit. **Phytopathology** 79: 1063-1066
- du Toit, L.J. and Derie, M.L. 2001 *Stemphylium botryosum* pathogenic on spinach seed crops in Washington. **Plant Disease** 85, 920.
- du Toit, L.J. and Derie, M.L. 2012 First report of *Cladosporium* leaf spot of spinach caused by *Cladosporium variabile* in the winter spinach production region of California and Arizona. **Plant Disease** 96, 1071–1072
- Ellis J. B. ve Halsted B. D., 1889-1890. New fungi. J. **Mycology**. 6: 34-35
- Everts, K.L. and Armentrout, D.K. 2001 Report of leaf spot of spinach caused by *Stemphylium botryosum* in Maryland and Delaware. **Plant Disease** 85, 1209.
- Fuentes-Davila, G. and Gabrielson, R.L. 1996 Penetration and infection of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaf tissues by *Cladosporium variabile*. **Revista Mexicana Micologia** 12,49-55.
- Hartung, J.S., Burton, C.L., ve Ramsdell, D.C. 1981. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology** 71: 449-453.
- Hong, J. K., ve Hwang, B. K. 1998. Influence of inoculum density, wetness duration, plant age, inoculation method, and cultivar resistance on infection of pepper plants by *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease**. 82: 1079-1083.

- Inaba, T., Takahashi, K. and Morinaka, T. 1983. Seed transmission of spinach downy mildew. **Plant Disease** 67,1139–1141.
- Inaba, T. 1985 Seed transmission of downy mildews of spinach and soybean. **Japan Agricultural Research Q** 19, 26–31.
- Kansal, B. D., Singh, B., Bajaj, K.L. ve Kaur, G., 1981. Effect of Different Levels of Nitrogen and Farmyard Manure on Yield and Quality of Spinach (*Spinacea oleracea* L.). Qual. Plant. **Plant Foods Human Nutrient**. 31: 163-170.
- Kurt, Ş., ve Tok, F.,M. 2006. Influence of inoculum concentration, leaf age, temperature, and duration of leaf wetness on Septoria blight of parsley. **Crop Protection** . 25 :556–561
- Kurt, Ş., ve Uysal, A. 2014. Akdeniz Bölgesi’nde Ispanak’ta *Colletotrichum spinaciae*’nin neden olduğu Antraknoz hastalığı. **Türkiye Beşinci Koruma Kongresi Bildirileri**. 3-5 Şubat, Antalya, s226.
- Koike, S.T., and Correll, J.C., 1993. First report of spinach anthracnose caused by *Colletotrichum dematium* in Clifornia. Plant disease 77:318
- Koike, S.T., Henderson, D.M. and Butler, E.E. 2001. Leaf spot disease of spinach in California caused by *Stemphylium botryosum*. **Plant Disease** 85, 126–130.
- Koike, S.T., Matheron, M.E. and do Toit, L.J. 2005. First report of leaf spot of spinach caused by *Stemphylium botryosum* in Arizona. **Plant Disease** 89, 1359.
- Moral, J., Jurado-Bello, J., Sánchez, M. I., Oliveira, R., and Trapero, A. 2012. Effect of temperature, wetness duration, and planting density on olive anthracnose caused by *Colletotrichum* spp. **Phytopathology** 102:974-981.
- Monroe, J. S., Santini, J. B., ve Latin, R. 1997. A model defining the relationship between temperature and leaf wetness duration, and infection of watermelon by *Colletotrichum orbiculare*. **Plant Disease**. 81: 739 - 742.
- Reed, J.D., Woodward, J.E., Ong, K.L., Black, M.C. and Stein, L.A. 2010. First report of *Stemphylium botryosum* on spinach in Texas. **Plant Disease** 94, 1377.
- Sackston, W.E. and Sedun, F.S. 1982 *Verticillium* wilt of spinach: a useful experimental system. **Can Japan Plant Pathology** 4, 310.
- Sato T., Muto T., Imamura Y., Nojima H., Moriwaki J., Yaguchi Y., 2005. Anthracnose of Japanee radish caused by *Colletotrichum dematium*. **Japan General Plant Pathology** 71:380-383.
- Singh, B. and Gupta, V.C. 1951. An anthracnose disease of spinach. **Current Science**. 20:239-240
- Smith J. E., Korsten L., Aveling T.A.S., 1999. Infection process of *Colletotrichum dematium* on cowpea stems **Mycololgy Research**. 103(2) : 230-234.
- Snyder, W.C. and Wilhelm, S. 1962 Seed transmission of *Verticillium* wilt of spinach. **Phytopathology** 52, 365.
- Sultivan, M.J., Damicone, J.P., ve Payton, M.E. 2002. The effect of temperature and wetness period on the development of spinach white rust. **Plant Disease**. 6 :753-758.

- Tomioka K., Moriwaki J., Sato T., 2008. Anthracnose of *Polygonatum falctum* caused by *Colletotrichum spinaciae* **Japan General Plant Pathology** 74:402-404.
- Trapero-Casas, A., ve Kaiser, W.J., 1992. Influence of temperature, wetness period, plant age and inoculum concentration on infection and development of *Ascochyta* blight of chickpea. **Phytopathology** 82: 589-596
- Udin, W., Serlemitsos, K., ve Viji, G. 2003. A temperature and leaf wetness duration-based model for prediction of gray leaf spot of perennial ryegrass turf. **Phytopathology** 93 : 336 – 343
- Van der Spek, J. 1972 Internal carriage of *Verticillium dahliae* by seeds and its onsequences. **Meded Fac Landbouwwet, Rijksuniv** Gent 37, 567–573.
- Von Arx, J. A. 1957. Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Corda. **Phytopathology. Z.** 29:413-468
- Yahara T, Nitta A 1991 *Polygonatum* Adans. In: Hotta M, Ogata K, Nitta A, Hoshikawa K, Yanagi M, Yamazaki K (eds) *Useful plants of the world* (in Japanese). Heibonsha, Tokyo, Japan, pp 834–835
- Washington, W.S., Irvine, G., Aldaound, R., DeAlwis, S., Edwards, J., Pascoe, I.G., 2006. First record of anthracnose of spinach caused by *Colletotrichum dematium* in Australia. **Australasian Plant Pathology Society**.35,89-91.
- Wilson, L.L.,Madden, L.V., ve Ellis, M.A. 1990. Influence of temperature and wetness duration on infection of immature and mature strawberry fruit by *Colletotrichum acutatum* **Phytopathology** 80: 111-116

ÖZGEÇMİŞ

Yazar, 1990 yılında Fethiye’ de doğdu. İlkokul ve Ortaokul öğrenimini Muğla ilinin Seydikemer ilçesinde, lise öğrenimini ise Fethiye ilçesinde tamamladı. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Mühendisliği Bölümü’nü 2008 yılında kazandı. 2011 yılının yaz aylarında Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü’nde staj eğitimi gördü. Üniversiteden 2012 yılında mezun oldu. Aynı yılın Eylül ayında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim dalında yüksek lisansa başladı.

EKLER

EK1

Patates Dekstroz Agar(PDA)'nın hazırlanışı

Kabukları soyulmuş ve küp şeklinde doğranmış 200g patates, içinde saf su bulunan beherde yumuşayıncaya kadar haşlanmıştır. Daha sonra, patatesler süzgeçten geçirilerek uzaklaştırılmıştır. Elde edilen sıvı içine saf su ilave edilerek 1 litreye tamamlanmış ve bu karışıma 20g/l dekstroz ve 20g/l agar ilave edilerek otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir.

Ispanak suyu Agar (SDA) ortamının hazırlanışı

200-300g ıspanak yaprakları ve saplarıyla birlikte içinde saf su bulunan beher içerisinde bitkiler iyice yumuşayıp parçalanıncaya kadar haşlanmıştır. Daha sonra bu karışım süzgeçten geçirilerek süzölmüştür. Elde edilen sıvı 1 litreye tamamlanarak içerisine 20 g/l dekstroz ve 20g/l agar eklenerek 121°C'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir.

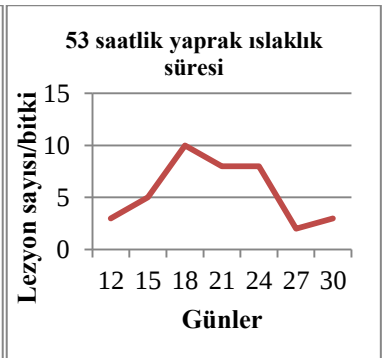
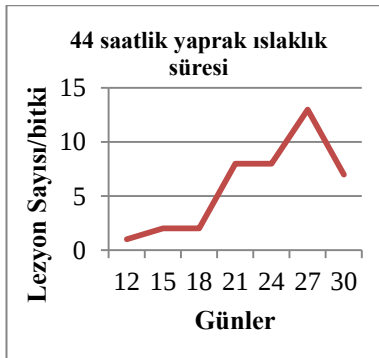
Sentetik Nutrient Agar (SNA) ortamının hazırlanışı

1 litre ortam için, 1g KH₂PO₄, 1g KNO₃, 0,5g MgSO₄.7H₂O, 0,5g KCl, 0,2g Glukoz, 0,2g Sakkaroz, 20g Agar karıştırılmış ve üzeri saf su ile tamamlanarak 121°C'de 15 dk otolavda steril edilmiştir.

EK 2

15°C

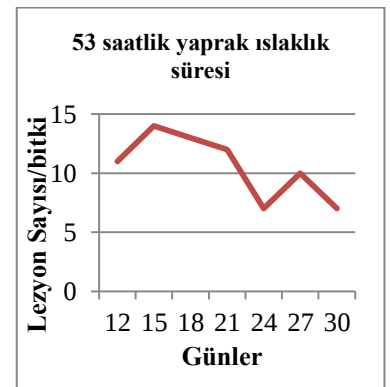
15°C sıcaklıkta 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30. günlerde ıspanak bitkilerindeki ortalama lezyon



EK3

18°C

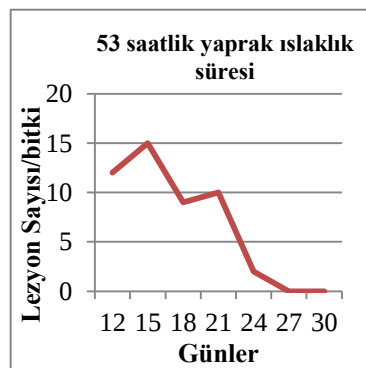
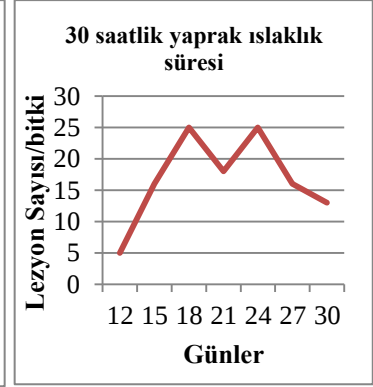
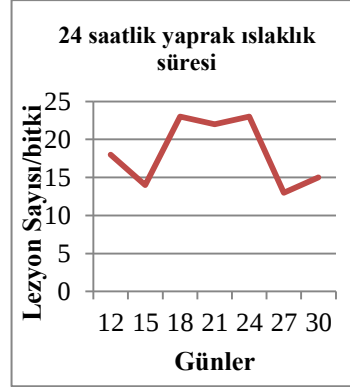
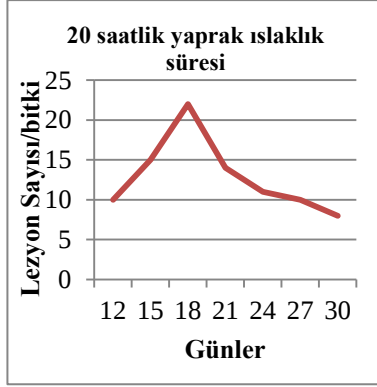
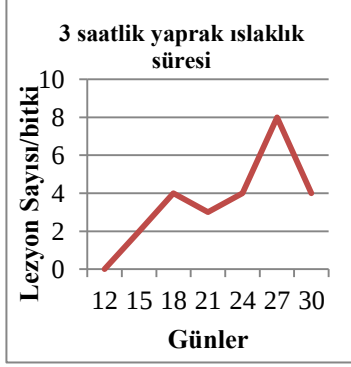
18°C sıcaklıkta 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30. günlerde ıspanak bitkilerindeki ortalama lezyon



EK4

22°C

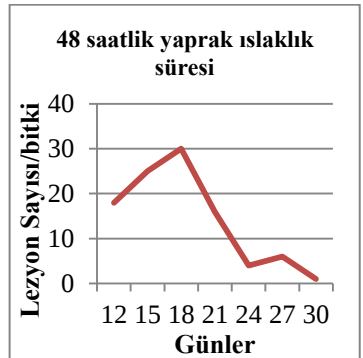
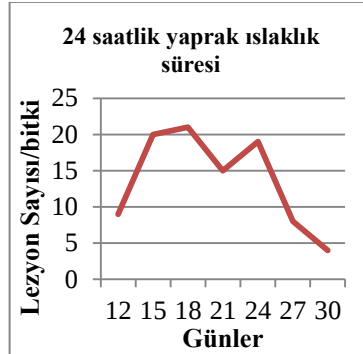
22°C sıcaklıkta 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30. günlerde ıspanak bitkilerindeki ortalama lezyon



EK5

25°C

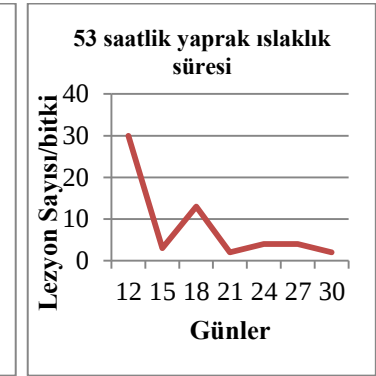
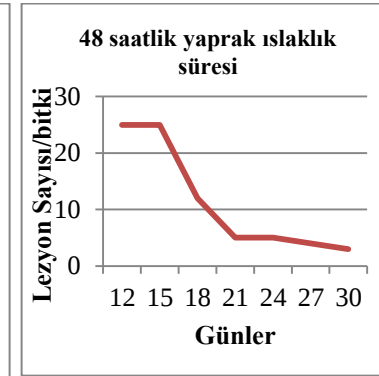
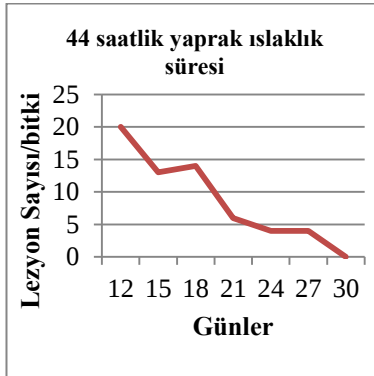
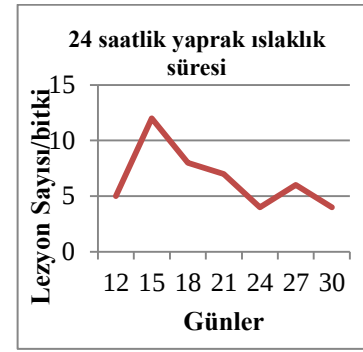
25°C sıcaklıkta 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30. günlerde ıspanak bitkilerindeki ortalama lezyon



EK6

28°C

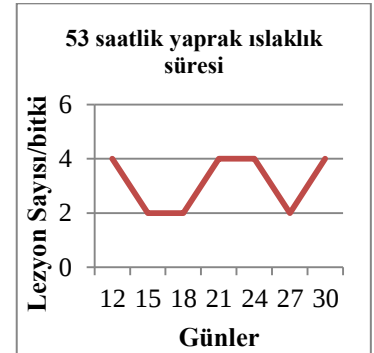
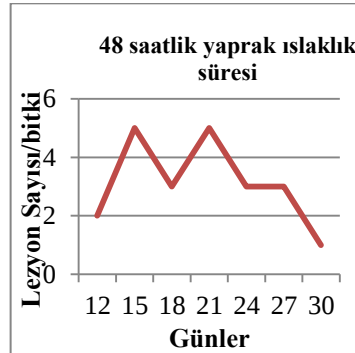
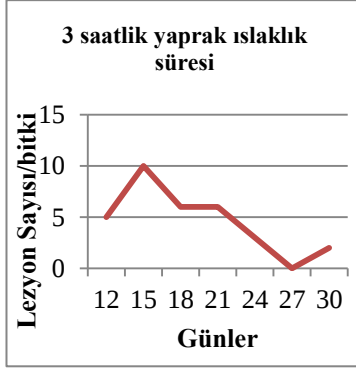
28°C sıcaklıkta 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30. günlerde ıspanak bitkilerindeki ortalama lezyon



EK7

30°C

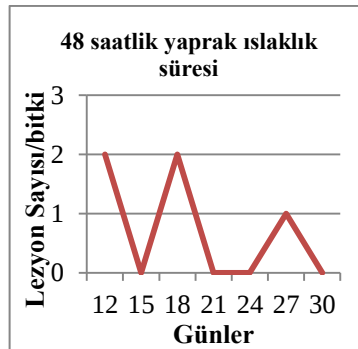
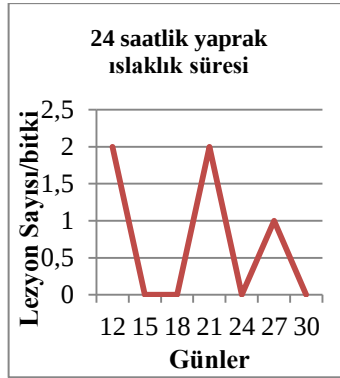
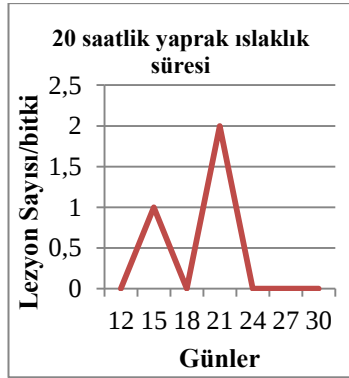
30°C sıcaklıkta 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30. günlerde ıspanak bitkilerindeki ortalama lezyon



EK8

33°C

33°C sıcaklıkta 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30. günlerde ıspanak bitkilerindeki ortalama lezyon



EK9

İnokulum Yoğunluğunun Ispanak Bitkilerinde Yaprak Başına Düşen *C. spinaciae*' un
Lezyon Sayısının İstatiksel Analizi

ANOVA

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	Önem
1. Yaprak	Gruplar arasında	1872,728	3	624,243	15,670	,000
	Gruplar içinde	7011,333	176	39,837		
	Toplam	8884,061	179			
2. Yaprak	Gruplar arasında	984,578	3	328,193	7,963	,000
	Gruplar içinde	7253,867	176	41,215		
	Toplam	8238,444	179			
3. Yaprak	Gruplar arasında	284,861	3	94,954	4,884	,003
	Gruplar içinde	3421,689	176	19,441		
	Toplam	3706,550	179			
4. Yaprak	Gruplar arasında	1,133	3	,378	,328	,805
	Gruplar içinde	202,978	176	1,153		
	Toplam	204,111	179			

EK10

15, 18, 22, 25, 28, 30, 33°C Sıcaklıklarda Farklı Yaprak Islaklık Süresinin İstatiksel Analizi

ANOVA

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	Önem
3. saat	Gruplar arasında	96,245	6	16,041	2,126	,070
	Gruplar içinde	316,857	42	7,544		
	Toplam	413,102	48			
5. saat	Gruplar arasında	294,122	6	49,020	5,975	,000
	Gruplar içinde	344,571	42	8,204		
	Toplam	638,694	48			
10. saat	Gruplar arasında	728,408	6	121,401	8,914	,000
	Gruplar içinde	572,000	42	13,619		
	Toplam	1300,408	48			
20. saat	Gruplar arasında	797,837	6	132,973	12,156	,000
	Gruplar içinde	459,429	42	10,939		
	Toplam	1257,265	48			
24. saat	Gruplar arasında	1920,694	6	320,116	26,274	,000
	Gruplar içinde	511,714	42	12,184		
	Toplam	2432,408	48			
30. saat	Gruplar arasında	1256,816	6	209,469	10,800	,000
	Gruplar içinde	814,571	42	19,395		
	Toplam	2071,388	48			

44. saat	Gruplar arasında	780,408	6	130,068	3,193	,012
	Gruplar içinde	1669,905	41	40,729		
	Toplam	2450,313	47			
48. saat	Gruplar arasında	1045,633	6	174,272	3,826	,004
	Gruplar içinde	1912,857	42	45,544		
	Toplam	2958,490	48			
53. saat	Gruplar arasında	582,408	6	97,068	3,365	,008
	Gruplar içinde	1211,714	42	28,850		
	Toplam	1794,122	48			

EK11

15 ve 33°C sıcaklıkların sporulasyon üzerine etkisinin istatistiksel analizi

One-Sample Statistics

15°C		İstatistik	Bootstrap ^a			
			Sapma	Std. Hata	95% Güven Aralığı	
					En Düşük	En Yüksek
Lezyon/cm ²	N	15				
	Ortalama	,4667	-,0018	,0341	,4000	,5000
	Std. sapma	,12910	-,02800	,07783	,00000	,20702
	Std.hata ortalaması	,03333				
Spor/lezyon	N	15				
	Ortalama	1,8533	-,0037	,2120	1,4202	2,2533
	Std. sapma	,82016	-,03810	,14709	,51439	1,07113
	Std. hata ortalaması	,21177				

a. Unless otherwise noted, bootstrap results are based on 1000 bootstrap samples

One-Sample Statistics

33°C		İstatistik	Bootstrap ^a			
			Sapma	Std.Hata	95% Güven Aralığı	
					En Düşük	En Yüksek
Lezyon/cm ²	N	15				
	Ortalama	,2867	-,0029	,0624	,1667	,4067
	Std. sapma	,24162	-,00971	,02660	,17730	,28199
	Std. hata ortalaması	,06239				
Spor/lezyon	N	15				
	Ortalama	,0000	,0000	,0000	,0000	,0000
	Std. sapma	,00000 ^b	,00000	,00000	,00000	,00000
	Std. hata ortalaması	,00000				

a. Unless otherwise noted, bootstrap results are based on 1000 bootstrap samples

b. t cannot be computed because the standard deviation is 0.

EK 12

20, 45, 60 Günlük Ispanak Bitkilerinin Yaşlı Ve Genç Yapraklarında *C. spinaciae*' un Lezyon Gelişiminin İstatiksel Analizi

ANOVA

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	Önem
Yaşlı Yaprak	Gruplar arasında	45,156	2	22,578	15,270	,000
	Gruplar içinde	128,633	87	1,479		
	Toplam	173,789	89			
Genç Yaprak	Gruplar arasında	7,022	2	3,511	2,600	,080
	Gruplar içinde	117,467	87	1,350		
	Toplam	124,489	89			