



TR0100009

IN VITRO KOŞULLARDA ASCOCHYTA RABIEİ (PASS.) LABR'NİN GELİŞMESİ ÜZERİNE GAMA IŞINLARININ ETKİSİ

F. Sara DOLAR *

Gülizar AYDIN **

* A. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 06110, Ankara.

** T.A.E.K. Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi Nükleer Tarım Bölümü, Sarayköy- Ankara.

ÖZET

Gama ışınının 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ve 10 kGy'lik dozları ile ışınlanan *Ascochyta rabiei* kültürlerinin koloni gelişme hızları 1'er hafta arayla 4 hafta süresince ölçülmüştür. 0.5 kGy'lik doz misel gelişmesini etkilememiş buna karşın 6 kGy'in üstündeki dozlar miseloyal gelişmeyi tamamen durdurmuştur. Diğer dozlar ise gelişmeyi geciktirici etki yapmışlardır. 5 kGy'lik doz hariç diğer dozlar *A. rabiei*'nin sporulasyonunu azaltmıştır. Piknit ve pikniospor büyüklükleride ışınlamadan etkilenmiştir. Spor çimlenmesi 3 kGy'in üstündeki dozlar tarafından, çim borusu uzunluğu ise 1 kGy'den daha yüksek dozlar tarafından önemli ölçüde azaltılmıştır.

GİRİŞ

Ülkemizde nohut en fazla üretilen baklagillerin başında gelmektedir. 1992 yılı kayıtlarına göre toplam nohut ekim alanı 856 000 ha, üretim 770 000 ton ve verim 930 kg/ha'dır (Anonymus, 1992). Ekim alanı oldukça fazla olmasına rağmen nohut üretimi ve verimi yeterli düzeyde değildir. Bunun nedenleri arasında *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. tarafından meydana getirilen antraknoz hastalığı önemli bir yer tutmaktadır. Koşullar etmen için elverişli olduğunda %100'e varan ürün kayıplarına neden olabilmektedir (Karahan, 1968). Bu hastalığın mücadelesinde son yıllarda dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi yoluna gidilmektedir. Dayanıklı mutantların elde edilmesinde radyasyondan yararlanılmaktadır (Hassan ve Khan, 1991). Birçok patojenin engellenmesinde yine ışınlamadan yararlanılmaktadır. Işınlamanın etkisi fungusun gelişmesinin tamamen engellenmesi şeklinde olmayıp, çeşitli derecelerde fungusun gelişmesini geciktirmesi şeklindedir. Işınlamanın özellikle düşük sıcaklık, sıcak su muamelesi ve düşük dozlarda kimyasal preparatlarla kombine olarak kullanılması halinde sonuç daha iyi olmaktadır (Matthee ve Potgieter, 1965; Johnson ve ark., 1990).

Işınlamanın *Ascochyta rabiei*'nin morfolojik ve kültürel karakterlerine etkisi konusunda bugüne kadar yapılmış bir çalışmanın olmaması nedeniyle, in vitro koşullarda değişik gama ışın dozları kullanılarak bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE METOD

1. Işınlamanın *Ascochyta rabiei* 'nin Miseliyal Gelişmesi, Sporulasyon, Piknit ve Pikniospor Büyüklüğüne Etkisi

Ascochyta rabiei 'nin 1 nolu rtki 10 gün süreyle CSMDA (Nohut-Unu-Dekstroz-Agar) içeren 9 cm lik cam petri kaplarında, 12 saat yakın ultraviole ışık, 12 saat karanlık periyot ve $20 \pm 2^{\circ}$ C sıcaklık içeren inkübasyon odasında geliştirildi. Daha sonra her dozdan 1 petri olmak üzere 60 Co gama ışın (0.62 Mrad/saat) kaynağında 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 kGy'lik dozlarda petriiler ışınılandı. Işınlanan ve ışınlanmayan *A. rabiei* kültürlerinden mantar delici ile 7 mm çapında diskler alarak yeni CSMDA ortamı üzerine ters çevrilerek konuldu. Her bir doz için 5 petri bu şekilde aşılandıktan sonra inkübasyon odasına yerleştirildi. Kültürlerin koloni çapları 1'er hafta arayla 4 hafta boyunca ölçüldü.

Işınlamanın sporulasyon miktarına etkisi 4 haftanın sonunda hazırlanan spor süspansiyonlarının "haemocytometer" kullanılarak yapılan sayımları sonucunda saptanmıştır. Piknit ve pikniospor büyüklükleri her bir tekrardan 50 adet olmak üzere her bir doz için 250 piknit ve pikniospor 'un ölçülmesiyle tespit edilmiştir.

2. Işınlamanın Spor Çimlenmesi Ve Çim Borusu Uzunluğuna Etkisi

A. rabiei izolatu 15 gün süreyle CSMDA ortamında ve yukarıda koşulları belirtilen inkübasyon odasında geliştirildikten sonra her bir doz için 5 tekrarı olacak şekilde 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 kGy'lik dozlarda ışınılandı. Dolar ve Gürçan (1993)'ın metodundan yararlanılarak spor çimlenme yüzdesi ve çim borusu uzunluğu saptandı. Her bir doz için 5 tekrarı ve her bir tekrarda değerlendirilmeler 100 spor üzerinden yapılmıştır. Denemelerden elde edilen değerlere varyans analizi ve Duncan testi uygulanarak istatistiksel analizleri yapılmıştır.

3. Bitki Denemesi

Doğal olarak enfekteli ve tipik antraknoz lekeleri içeren tohumlar 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 kGy'lik dozlarda ışınılandıktan sonra steril toprak içeren saksıların her birine 10 adet olacak şekilde eklildi. Deneme her bir doz için 3 tekrarı halinde yürütüldü. Saksılar $23 \pm 2^{\circ}$ C sıcaklık, 12 saat aydınlık (ışık intensitesi 10 000 lux.) 12 saat karanlık periyot, %35-50 nisbi nem içeren bitki yetiştirme odasına konuldu. 15 gün arayla 45. güne kadar gözlemler yapıldı.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Gama ışınının 11 farklı dozu ile ışınlanan ve ışınlanmayan *A. rabiei* kültürlerinin 4 farklı zamanda ölçülen koloni çapları Tablo 1'de verilmiştir. 0.5 kGy'lik doz *A. rabiei* 'nın miseliyal gelişmesi üzerine herhangi bir etkiye bulunmamıştır. Buna karşın 6 kGy 'in üstündeki dozlar gelişmeyi tamamen durdurmuştur. Diğer dozlarda ise (1, 2, 3, 4, 5 ve 6 kGy) etki koloni gelişmesini geciktirme şeklinde olmuştur.

Tablo 1. Farklı dozlarda ışınlanan *Ascochyta rabiei* kültürlerinin koloni çapları (mm)

Doz (kGy) ^a	Işınlamadan Sonraki Günler ^b			
	7	15	21	28
0	27.2± 1.7 a	56.2± 5.8 a	81.1± 8.7 a	83.9± 2.4 a
0.5	26.0± 2.8 a	57.2± 2.2 a	78.6± 3.3 a	80.5± 1.6 a
1	24.0± 2.3 b	53.7± 2.6 a	75.0± 4.4 ab	84.5± 4.1 a
2	24.0± 1.9 b	45.6± 8.3 b	62.9± 7.8 c	79.8± 3.9 a
3	16.5± 1.5 c	44.7± 3.7 b	64.5± 6.5 c	81.2± 2.2 a
4	7.0± 0.0 d	33.6± 3.2 c	56.0± 5.2 c	68.3± 10.8 a
5	7.0± 0.0 d	35.1± 2.9 c	65.6± 2.4 bc	86.1± 2.4 a
6	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	15.2± 11.6 d	22.7± 12.7 b
7	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 b
8	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 b
9	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 b
10	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 d	7.0± 0.0 b

(a) Aynı harfi alan ortalamalar arasında P>0.05'e göre fark önemsizdir.
(b) Her bir sütündeki değerler kendi aralarında duncan testine tabi tutulmuştur.

Hastalık etmenlerinin radyasyona gösterdikleri hassasiyette büyük farklılıklar olduğu, bazı patojenlerin misel gelişmesine çok düşük dozlar etkili olurken, bazılarındaki yüksek dozda ışınlamaya gereksinim duyulduğu değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Beraha ve ark., 1960).

Saleh ve ark.(1988) *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* gibi Moniliaceous fungusları PDA ortamı üzerinde inaktive edici dozların 0.3 megarad'dan daha düşük dozlar olmasına karşın, *Alternaria*, *Cladosporium* ve *Culvularia* gibi Dematiaceous funguslar için bu dozların 0.6-1.7 megarad arasında olduğunu yaptıkları çalışmalarda saptamışlardır. Tiryaki (1990), 3 kGy'lik gama ışın dozunun *Rhizopus stolonifer*'in gelişmesini tamamen durdurduğunu, *Botrytis cinerea*'da ise sadece gelişmeyi geciktirdiğini tespit etmiştir.

Farklı ışın dozlarının *A. rabiei* 'nin sporulasyonuna, piknit ve pikniospor büyüklüğüne etkisi Tablo 2'de gösterilmiştir. 6 kGy'in üstündeki dozlarda miseliyal gelişme olmadığından bu dozlar denemeye alınmamıştır. Işınlamanın sporulasyon üzerine etkisi olduğu gözlenmiştir. Genel olarak doz arttıkça sporulasyon azalmaktadır. Ancak bu durum 3 ve 5 kGy'lik dozlar için geçerli değildir. 5 kGy'de sporulasyon kontrole göre farklı bulunmamıştır. 4 ve 6 kGy'de kültür gelişmesi az olduğu için sporulasyonda azdır.

Tablo 2. Farklı ışım dozlarının *Ascochyta rabiei*'nin sporulasyon, piknit ve pikniospor büyüklüğüne etkisi

Doz(kGy) ^a	Sporulasyon (x10 ⁷) ^b	Piknit Büyüklüğü (µm)	Pikniospor En (µm)	Büyüklüğü Boy (µm)
0	27.5 ± 0.6 a	227 ± 7.9 a	4.7 ± 0.7 a	11.7 ± 1.5 bc
0.5	15.6 ± 0.3 bc	180 ± 3.3 bcd	5.7 ± 0.3 a	11.1 ± 0.8 cd
1	7.6 ± 3.5 cd	174 ± 9.4 cd	5.5 ± 0.5 a	10.2 ± 0.7 d
2	5.7 ± 4.2 cd	207 ± 12.6 ab	6.3 ± 0.5 a	11.4 ± 0.5 c
3	14.9 ± 5.8 bc	202 ± 3.4 abc	5.6 ± 0.1 a	11.4 ± 0.4 c
4	3.8 ± 1.9 d	167 ± 10.2 d	6.6 ± 0.1 a	13.3 ± 0.8 a
5	21.1 ± 6.3 ab	205 ± 9.9 ab	4.4 ± 0.3 a	10.9 ± 0.8 cd
6	1.6 ± 0.7 d	165 ± 11.8 d	5.2 ± 0.2 a	12.5 ± 0.5 ab

(a) Aynı harfi alan ortalamalar arasında P>0.05 'e göre fark önemsizdir.
(b) Her bir sıradaki değerler kendi aralarında duncan testine tabi tutulmuştur.

Piknit büyüklüğü 0.5, 1, 4 ve 6 kGy dozlarında ışınlanan kültürlerde kontrole göre oldukça küçüktür. Pikniospor boyu ise 1 kGy ile ışınlanan kültürde kontrole göre daha küçük iken 4 ve 6 kGy ile ışınlananlarda daha büyüktür. 4 ve 6 kGy ile ışınlanan kültürlerde sporulasyon, piknit ve pikniospor büyüklüğündeki farklılığın nedeni kültür gelişmelerinde gözlenen mutasyonlar olabilir.

Işınlama spor çimlenmesi ve çim borusu uzunluğunu da etkilemektedir (Tablo 3). 1 kGy'lik doz spor çimlenmesini ve çim borusu uzunluğunu teşvik etmiştir. 4, 5 ve 6 kGy'de çimlenme oranı kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır. Çim borusu uzunluğu ise 2 kGy ve daha büyük dozlar tarafından önemli ölçüde etkilenmiştir.

Tablo 3. Farklı ışım dozları uygulanan *Ascochyta rabiei* sporlarının 23 saatlik inkübasyon süresi sonundaki çimlenme oranları ve çim borusu uzunlukları

	Doz (kGy) ^a							
	0	0.5	1	2	3	4	5	6
Çimlenme Oranı (%) ^b	87.5±10.8 ab	88.7 ±7.3 ab	90.1±9.2 a	81.7±6.1 ab	75.3±4.3 b	23.8±5.4 d	51.6±2.5 e	22.5±7.2 d
Çim Borusu Uzunluğu (µm)	31.5±14.3 ab	26.0±8.7 bc	37.2±3.0 a	20.1±4.9 cd	14.4±1.7 d	4.8± 0.6 e	5.0±0.3 e	4.0±0.4 e

(a) Aynı harfi alan ortalamalar arasında P>0.05 'e göre fark önemsizdir.
(b) Her bir sıradaki değerler kendi aralarında duncan testine tabi tutulmuştur.

Ascochyta rabiei'nin morfolojik ve kültürel karakterlerini etkileyen ışın dozları hakkında bugüne kadar yapılmış bir çalışma olmadığı için bu çalışma ile bu konu aydınlatılmaya çalışılmıştır. Ancak denemenin sonunda etkili bulunan dozlar nohut tohumunun çimlenmesini etkilemekte, hatta yüksek dozlarda tamamen engellemektedir. Çimlenmeyi tamamen engellemeyen dozlar ise tohumların özelliklerini bozmaktadır. Bu nedenle antraknoza karşı mücadele yöntemi olarak gama ışınlarının kullanılması mümkün değildir.

KAYNAKLAR

- Anonymous., 1992. Tarımsal Yapı Ve Üretim. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü. Ankara.
- Beraha, L., G.B. Ramsey and W.R. Wright. 1960. Gamma Radiation Dose Response Of Some Decay Pathogens. *Phytopathology*. 50: 474-476.
- Dolar, F.S. and A. Gürcaan. 1993. The Role Of The Phytoalexins On The Resistance To Chickpea Blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.)Labr.) In Chickpeas. *J. Turkish Phytopathology*. 22:17-26.
- Hassan, S. and I. Khan. 1991. Improvement In Chickpea Production Through Induced Mutations. *International Chickpea Newsletter*. 25: 12-13.
- Johnson, G.I., T.S. Boag, A.W. Cooke, M. Izard, M. Panitz and S. Sangchote. 1990. Interaction Of Post Harvest Disease Control Treatments And Gamma Irradiation On Mangoes. *Annals Of Applied Biology*. 116: 245-257.
- Karahan, O., 1968. Nohut Antraknozu'nun (*Ascochyta rabiei*(Pass.)Labr.) Mücadele Metodunun Tesbiti Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*. 8:77-110.
- Mathee, F.N. and L. Potgieter. 1965. The Use Of Gamma Rays In The Storage Of Fresh Fruit And Potatoes. *Nuclear Science Abstracts*. 10(7): 11635.
- Salch, Y.G., M.S. Mayo and D.G. Ahearn. 1988. Resistance Of Some Common Fungi To Gamma Irradiation. *Applied and Environmental Microbiology*. 54:2134-2135.
- Tiryaki, O.,1990. Inhibition Of *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*And *Alternaria tenuissima*Which Were Isolated From Ankara Pears By Gamma Irradiation. *J. Turkish Phytopathology*. 19: 133-141.