



KIRGIZISTAN-TÜRKİYE MANAS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

OŞ BÖLGESİNDE DEPOLANAN PATATESLERDE KURU
ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞINA NEDEN OLAN *FUSARIUM*
TÜRLERİNİN TESPİTİ VE PATOJENİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

Dana MURATALI

Yüksek Lisans Tezi

HAZİRAN, 2024

KTMÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

OŞ BÖLGESİNDE DEPOLANAN PATATESLERDE KURU ÇÜRÜKLÜK
HASTALIĞINA NEDEN OLAN *FUSARIUM* TÜRLERİNİN TESPİTİ VE
PATOJENİTELERİNİN BELİRLENMESİ

HAZIRLAYAN
Dana MURATALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. İsmail ERPER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN, 2024

KABUL VE ONAY

Prof. Dr. İsmail ERPER danışmanlığında Dana MURATALI tarafından hazırlanan “OŞ BÖLGESİNDE DEPOLANAN PATATESLERDE KURU ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞINA NEDEN OLAN *FUSARIUM* TÜRLERİNİN TESPİTİ VE PATOJENİTELERİNİN BELİRLENMESİ” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Kırgızistan Türkiye Manas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

...../...../.....

JÜRİ

Komisyon Başkanı:	Doç. Dr. Kümüşbek MAMBETOV
Danışman:	Prof. Dr. İsmail ERPER
Üye:	Prof. Dr. İsmail ERPER
Üye:	Yrd. Doç. Dr. Hossein ZEİNALZADEH TABRİZİ
Üye:	Yrd. Doç. Dr. Saykal BOBUŞEVA
Üye:	Öğr. Gör. Dr. Mahabat KONURBAYEVA

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

...../...../.....

Prof. Dr. İsmet ALTINTAŞ

.....

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, görsel veya yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun olarak sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, yararlanılan eserlere eksiksiz atıf yapıldığını, tezde yer alan verilerin hiçbir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını ve tez yazım kurallarına uygun hazırlandığını bildiririm.

Dana MURATALI

İmza:

ÖN SÖZ

Patates (*Solanum tuberosum* L.), dünyada buğday, mısır ve çeltikten sonra üretim açısından dördüncü en büyük üründür. Kırgızistan iklim ve ekolojik yapısı açısından patates yetiştiriciliği için uygun olduğundan, günümüzde bu bitki ülkenin hemen her yerinde yetiştirilmektedir ve tüketimi yıl boyu devam etmektedir. Patates insanlar tarafından doğrudan mutfakta tüketildiği gibi işlenerek cips, parmak patates gibi değişik şekillerde de tüketilmekte ve bunun yanı sıra endüstride de ham madde olarak kullanılmaktadır. Birçok fungal patojeni patates yumrularında hasat, nakliye ve/veya depolama sırasında oluşan yaralardan girerek hastalıklara neden olmaktadır. Patateste *Fusarium* Kuru Çürüklüğü hasat sonrası ortaya çıkan dünya çapında yaygın ve yıkıcı bir hastalıktır.

Bu tez Oş bölgesi'nde depolanmış patateslerde görülen Kuru Çürüklük hastalığına neden olan *Fusarium* türlerinin tanımlanması amacıyla yapılmıştır. Hastalık belirtisi gösteren patates yumrularından izolasyon yapılarak elde edilen türlerin morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak teşhisi yapılmış ve sağlıklı patates yumrularında seçilen izolatlarla patojenite testi gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bu günlere gelmemde en büyük katkı sahibi sayın hocam Prof. Dr. İsmail ERPER'e teşekkürü borç bilirim. Ayrıca moleküler çalışmalarda desteklerini sağlayan Prof. Dr. Göksel ÖZER'e ve Ziraat Yüksek Mühendisi Tuğba BOZOĞLU'na içten teşekkür ederim

Dana MURATALI

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
TABLolar LİSTESİ	viii
FOTOĞRAFLAR LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
АННОТАЦИЯ.....	3
КЕҢИРИ МАЗМУНУ.....	4
BÖLÜM I.....	10
1. GİRİŞ.....	10
BÖLÜM II	16
2. GENEL BİLGİLER.....	16
BÖLÜM III.....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	24
3.1. Gereç	24
3.2. YÖNTEM.....	24
3.2.1. Hastalıklı patates yumrularının toplanması.....	24
3.2.2. Fungal izolasyon	26
3.2.3. Morfolojik Karakterizasyon	28
3.2.4. DNA İzolasyonu.....	29
3.2.5. iPBS analizi	30
3.2.6. <i>TEF-1</i> PCR Reaksiyonu	30
3.2.7. Agaroz Jel Elektroforezi.....	30
3.2.8. Veri Analizleri.....	31

3.2.9. Patojenite testi	31
3.2.10. İstatistiki analiz.....	33
BÖLÜM IV	34
4. BULGULAR.....	34
4.1. Örnek alınan patates depolarında tespit edilen <i>Fusarium</i> türleri	34
4.2. <i>Fusarium</i> spp.'nin Kültürel ve Morfolojik Özellikleri	40
4.2.1. <i>Fusarium acuminatum</i> Ellis & Everhart	40
4.2.2. <i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Saccardo	41
4.2.3. <i>Fusarium flocciferum</i>	42
4.2.4. <i>Fusarium oxysporum</i> Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen	43
4.2.5. <i>Fusarium proliferatum</i> (Matsushima) Nirenberg.....	44
4.2.6. <i>Fusarium sambucinum</i> Fückel	45
4.2.7. <i>Fusarium solani</i> (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen.....	46
4.3. Moleküler Karakterizasyon.....	47
4.3.1. DNA İzolasyonu, Sekans verileri ve filogenetik ağaç oluşturulması.....	47
4.4. Patojenite Testi Sonuçları	49
4.5. Tartışma.....	53
BÖLÜM V	56
SONUÇ	56
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
PGPR	: Plant growth-promoting rhizobacteria
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
SNA	: Sentetik Nutrent Agar
PDA	: Patates Dekstroz Agar
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
ITS	: Internal Transcribed Spacer
TEF	: Translation Elongation Factor
EF	: Elongation Factor
Rpb2	: RNA polymerase II second largest subunit
RMAP	: Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism
IRAP	: Interretrotransposon amplified polymorphism
iPBS	: Inter-primer binding site
LTR	: Long terminal repeat
mm	: Milimetre
L	: Litre
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
ha	: Hektar
t	: Ton
bp	: Baz çifti (base pair)
mg	: Miligram
°C	: Santigrat derece

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. 2022 yılında dünyada bazı ülkelerin patates üretim alanı ve üretim miktarı [4]	10
Tablo 1.2. 2013-2023 yılları arasında Kırgızistan'da patates üretim alanı ve üretim miktarı[5]	11
Tablo 1.3. 2023 yılı Kırgızistan'da bölgelere göre patates üretim alanı ve üretim miktarı [5]	12
Tablo 1.4. 2023 yılı Oş bölgesindeki illerin patates üretim alanları ve üretim miktarları [5]	12
Tablo 3.1. Oş bölgesi illerinde hastalıklı patates örneklerinin toplandığı köyler, örnek alınan depo sayısı ve toplanan hastalıklı yumruların sayısı.....	25
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon buffer içeriği	29
Tablo 4.1. Oş ilçesine bağlı ilçelerde hastalıklı patateslerden elde edilen <i>Fusarium</i> spp.'ne ait izolat sayıları ve bulunuş oranları	35
Tablo 4.2. <i>Fusarium</i> türlerinin Nookat ilçesindeki dağılımı.....	36
Tablo 4.3. <i>Fusarium</i> türlerinin Alay ilçesindeki dağılımı.....	37
Tablo 4.4. <i>Fusarium</i> türlerinin Çon-Alay ilçesindeki dağılımı.....	38
Tablo 4.5. <i>Fusarium</i> türlerinin Kara-Su ilçesindeki dağılımı	39
Tablo 4.6. <i>Fusarium</i> izolatlarının patates yumrularında lezyon oluşumu üzerine etkileri	50

FOTOĞRAFLAR LİSTESİ

Fotoğraf 3.1. Depolardan hastalıklı patates yumrularının toplanması.....	26
Fotoğraf 3.2. İzolasyon işleminde kullanılan Kuru Çürüklük belirtisi görülen patates yumrusu	26
Fotoğraf 3.3. Kurutulan hastalıklı patates parçaların Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamına yerleştirilmesi	27
Fotoğraf 3.4. Tek spor izolasyonu aşamaları.....	28
Fotoğraf 3.5. Patojenite testinde kullanılan patates yumruları	32
Fotoğraf 3.6. Patojenite testinin aşamaları	32
Fotoğraf 3.7. İnkübasyona bırakılan patates yumruları	33
Fotoğraf 4.1. Oş bölgesinde hasat sonrası patateslerin depolandığı alanlar	35
Fotoğraf 4.2. <i>Fusarium acuminatum</i> 'un PDA'daki gelişimi.....	41
Fotoğraf 4.3. <i>Fusarium acuminatum</i> 'un makrokonidileri	41
Fotoğraf 4.4. <i>Fusarium equiseti</i> 'nin PDA'daki gelişimi	42
Fotoğraf 4.5. <i>Fusarium equiseti</i> 'un makrokonidileri	42
Fotoğraf 4.6. <i>Fusarium flocciferum</i> 'un PDA'daki gelişimi	43
Fotoğraf 4.7. <i>Fusarium flocciferum</i> 'un makrokonidileri.....	43
Fotoğraf 4.8. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un PDA'daki gelişimi	44
Fotoğraf 4.9. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un kısa fialitleri ve mikrokonidileri.....	44
Fotoğraf 4.10. <i>Fusarium proliferatum</i> 'un PDA'daki gelişimi	45
Fotoğraf 4.11. <i>Fusarium proliferatum</i> 'un mikrokonidileri	45
Fotoğraf 4.12. <i>Fusarium sambucinum</i> 'un PDA'daki gelişimi	46
Fotoğraf 4.13. <i>Fusarium sambucinum</i> 'un makrokonidileri.....	46
Fotoğraf 4.14. <i>Fusarium solani</i> 'nin PDA'daki gelişimi.....	47
Fotoğraf 4.15. <i>Fusarium solani</i> 'nin makro ve mikro konidileri.....	47
Fotoğraf 4.16. <i>Fusarium spp.</i> 'nin patates üzerinde etkileri.....	51
Fotoğraf 4.17. <i>Fusarium spp.</i> 'nin patates yumrusu içinde oluşturduğu lezyonlar	51
Fotoğraf 4.18. Patates yumruları üzerinde virülensi yüksek OÇFsa07 izolatının etkisi	52
Fotoğraf 4.19. Patates yumruları üzerinde virülensi düşük ONFe02 izolatının etkisi...	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Patates Kuru Çürüklük (<i>Fusarium</i> spp.) hastalığının yaşam döngüsü [10] ...	14
Şekil 4.1. Elde edilen <i>Fusarium</i> türlerinin ilçelere göre dağılımı	36
Şekil 4.2. Nookat ilçesinde <i>Fusarium</i> türlerinin bulunuş oranları	37
Şekil 4.3. Alay ilçesinde <i>Fusarium</i> türlerinin bulunuş oranları	38
Şekil 4.4. Çon-Alay ilçesinde <i>Fusarium</i> türlerinin bulunuş oranı.....	39
Şekil 4.5. Kara-Su ilçesinde <i>Fusarium</i> türlerinin bulunuş oranı	40
Şekil 4.6. Çalışmada elde edilen izolatlara ait iPBS2395 primeri ile elde edilen DNA profillerine ait agaroz jel görüntüsü.....	48
Şekil 4.7. Maksimum Likelihood yöntemi kullanılarak oluşturulan <i>Fusarium</i> izolatlarının <i>TEF1</i> dizileri kullanılarak filogenetik ağacı. <i>Fusarium</i> türlerinin <i>TEF1</i> dizileri	49

ÖZET

OS BÖLGESİNDE DEPOLANAN PATATESLERDE KURU ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞINA NEDEN OLAN *FUSARIUM* TÜRLERİNİN TESPİTİ VE PATOJENİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Patateste *Fusarium* Kuru Çürüklük hastalığı tüm dünyada hasat sonrası patates yumrularında görülen en önemli fungal hastalıklardan biridir ve yumruların besin ve tohum kalitesini düşürmektedir. Bu çalışma Kırgızistan'ın Oş bölgesi Nookat, Alay, Çon-Alay ve Kara-Su ilçelerinde depolanmış patateslerde Kuru Çürüklük hastalığına neden olan *Fusarium* türlerinin morfolojik ve moleküler yöntemlerle tanımlanması ve patojenitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu kapsamda 2023 yılında bu ilçelerde bulunan 34 patates depo alanında sörvey çalışmaları yapılmış ve Kuru Çürüklük belirtileri gösteren patates yumruları toplanmıştır. Yürütülen çalışmalarda toplam 53 *Fusarium* izolatu elde edilmiştir. Klasik tanımlama çalışmaları sonuçlarında izolatların tür teşhislerin doğrulanması amacıyla, retrotranspozon elementlerine dayalı iPBS markör sistemi ve translation elongation factor-1 alpha (*EF1-α*) lokuslarına dayalı DNA sekans analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen *Fusarium* izolatları arasında %50,94'lik oranla *F. sambucinum* en fazla izole edilen tür olmuş, bunu *F. oxysporum* (%16,98), *F. flocciferum* (%11,32), *F. equiseti* (%9,43), *F. proliferatum* (%5,66), *F. acuminatum* (%3,77) ve *F. solani* (%1,89) takip etmiştir. Patojenite çalışmaları sonucunda en virulent izolatın (OÇFsa07)'in *F. sambucinum* türüne ait olduğu, en düşük virülensliğe sahip izolatın (ONFe02)'in ise *F. equiseti*'ye ait olduğu tespit edilmiştir. Diğer beş türe ait izolatların oluşturduğu lezyon ölçülerinin ise 0,914-3,16 cm arasında değiştiği görülmüştür. Sonuç olarak Oş bölgesindeki patates depolarında *Fusarium* Kuru Çürüklük hastalığının yaygın olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Solanum tuberosum* L., *Fusarium* spp., Kuru Çürüklük, patojenite

ABSTRACT

DETECTION OF *FUSARIUM* SPECIES CAUSING DRY ROT IN STORED POTATOES IN OSH REGION AND DETERMINATION OF THEIR PATHOGENICITIES

Fusarium Dry Rot is one of the most significant fungal diseases affecting post-harvest potato tubers worldwide, leading to a reduction in both nutritional and seed quality of tubers. This study aims to identify the *Fusarium* species causing dry rot in stored potatoes from the Nookat, Alay, Chong-Alay, and Kara-Suu districts of the Osh region in Kyrgyzstan using morphological and molecular methods, and to determine their pathogenicity. In this context, surveys were conducted in 34 potato storage facilities within these districts in 2023, and potato tubers showing symptoms of Dry Rot were collected. A total of 53 *Fusarium* isolates were obtained during the study. iPBS marker analysis based on retrotransposons and DNA sequence analyzes based on the translation elongation factor-1 alpha (*EF1-α*) locus were performed the species identification from classical taxonomic studies. Among the *Fusarium* isolates obtained, *F. sambucinum* was the most frequently isolated species, constituting 50.94% of the isolates, followed by *F. oxysporum* (16.98%), *F. flocciferum* (11.32%), *F. equiseti* (9.43%), *F. proliferatum* (5.66%), *F. acuminatum* (3.77%), and *F. solani* (1.89%). Pathogenicity studies revealed that the most virulent isolate (OÇAFsa07) belonged to the *F. sambucinum* species, while the isolate with the lowest virulence (ONFe02) belonged to *F. equiseti*. The lesion sizes caused by isolates of the other five species ranged from 0,58 to 3,1 cm. Consequently, it was determined that *Fusarium* Dry Rot disease is prevalent in potato storage facilities in the Osh region.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., *Fusarium* spp., Dry Rot, pathogenicity

АННОТАЦИЯ

ВЫЯВЛЕНИЕ ВИДОВ *FUSARIUM*, ВЫЗЫВАЮЩИХ БОЛЕЗНЬ СУХОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ В ХРАНИЛИЩАХ ОШСКОЙ ОБЛАСТИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ ПАТОГЕННОСТИ

Фузариозная сухая гниль картофеля является одним из наиболее серьезных грибковых заболеваний, наблюдаемых в послеуборочных клубнях картофеля во всем мире, и снижает пищевые качества и качества семенных клубней. Данное исследование проведено с целью выявления видов *Fusarium*, вызывающих заболевание «Сухая гниль» картофеля, хранящегося в Ноокатском, Алайском, Чон-Алайском и Кара-Суйском районах Ошской области Кыргызстана, с использованием морфологических и молекулярных методов и определения их патогенности. В связи с этим в 2023 году были проведены обследования в 34 картофелехранилищах в этих районах и собраны клубни картофеля с признаками сухой гнили. В результате проведенных исследований получено 53 изолята *Fusarium*. Анализ iPBS маркеров на основе ретротранспозонов и анализ последовательностей ДНК на основе локуса фактора элонгации трансляции-1 альфа (*EF1-α*) был проведен для подтверждения идентификации вида на основе классических таксономических исследований. Среди полученных изолятов *Fusarium* самым распространенным видом был *F. sambucinum* с показателем 50,94%, за ним следовали *F. oxysporum* (16,98%), *F. flocciferum* (11,32%), *F. equiseti* (9%). 43), *F. proliferatum* (5,66%), *F. acuminatum* (3,77%) и *F. solani* (1,89%). В результате исследований патогенности установлено, что наиболее вирулентный изолят (OCAFsa07) принадлежал к виду *F. sambucinum*, а изолят с наименьшей вирулентностью (ONFeq02) – к *F. equiseti*. Было отмечено, что размеры поражений изолятов, принадлежащих к остальным 5 видам, варьировали в пределах 0,58-3,1 см. В результате установлено, что Фузариозная сухая гниль распространенное заболевание картофеля в хранилищах Ошской области.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., *Fusarium* spp., сухая гниль, патогенность

КЕҢИРИ МАЗМУНУ

ОШ ОБЛУСУНДАГЫ КАМПАЛАРДА САКТАЛГАН КАРТОШКАНЫН КУРГАК ЧИРИК ИЛДЕТИН ЧАКЫРГАН *FUSARIUM* ТҮРЛӨРҮН АНЫКТОО ЖАНА АЛАРДЫН ПАТОГЕНДҮҮЛҮГҮН БЕЛГИЛӨӨ

Картошка (*Solanum tuberosum* L.) Solanaceae тукумуна кирген бир жылдык өсүмдүк. Анын тамыры жегенге жарамдуу, Бою 70-80 см чейин жеткен өсүмдүктүн түймөгүнөн башка өсүмдүк органдары уулуу келет. Өсүмдүктүн жер астында калган түймөктөрү картошка деп аталат. Картошкада крахмал түрүндө углевод, белок, витаминдер жана Fe сыяктуу маанилүү элементтер камтылат. Өндүрүш боюнча дүйнөдө буудай, жүгөрү жана күрүчтөн кийин төртүнчү орунда турган картошка түздөн-түз кайнатылып жана куурулуп, ашканада колдонгондой эле кайра иштетилип, чипс, жарым фабрикаттар (тондурулган картошка фри ж.б), малга жем катары, этанол жана крахмал өндүрүүдө колдонулат.

Бул иштин максаты Ош облусунун Ноокат, Алай, Чоң-Алай жана Кара-Суу райондорунун кампаларында сакталган картошкада кургак чирикти чакырган *Fusarium* түрлөрүн аныктоо жана ал түрлөрдүн патогендүүлүгүн белгилөө болуп эсептелинет.

Дүйнөдө 17.788.408 га аянтта 374.777.763,43 т картошка өстүрүлөт. Эң көп картошка Кытай, Индия жана Украинада өндүрүлөт (FAOSTAT 2023). Кыргызстанда 2023-жылы 72.489 га аянтта 1.286.826,7 т картошка өстүрүлгөн.

Талаа шарттарында, ташуу мезгилинде картошкада пайда болгон жаракаттар аркылуу бактериялык, козу-карындык оорулар жугушу мүмкүн. Картошка узак мөөнөт ичинде сакталуучу жашылча болгондуктан кампаларда сактоо шарттары туура келбей оору күчөп, жайылып баштайт. Мындай оорулардын бири - картошканын Кургак чирик илдети. Бул ооруга *Fusarium* түрлөрү (*F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. coeruleum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. flocciferum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. sambucinum*, *F. solani*, *F. sulphureum*) себеп болушат.

Картошканын түймөктөрүнө жаралар аркылуу жуккан илдет түшүмдүүлүктү, үрөндүн сапатын жана картошканын товардык көрүнүшүн бузат. Кургак чириктен улам түшүм жоготуулары талаада 6-25%га чейин жетет жана узак мөөнөттүү сактоо учурунда бул жоготуулар 60%ке чейин көбөйүшү мүмкүн. Ооруну козгогуч

картошка түймөктөрүндө жана/же топурактагы өсүмдүк калдыктарында хламидоспора же мицелий түрүндө көп жылдар бою жандуулугун сактай алат. Ошондой эле, илдет картошканын үрөндөрү аркылуу таралышы мүмкүн. *Fusarium* инфекциясы үчүн ыңгайлуу температура 15-28°C болуп саналат жана муну менен бирге ылайыктуу нымдуулук оорунун тез өнүгүшүнө түрткү берет.

Фузариоздук кургак чирик оорусу картошка түймөктөрүндө белгилерин көрсөткөн ткандарда күрөң-кара ичине кирген (чөгүп кеткен) жаралар, кургоо, бырышуу белгилери менен байкалат. Оору козгогуч узак мөөнөт сактоо учурунда бырыш жерлерде пахта сымал ак, кызгылт же кызгылт сары түстө спораларды жана мицелиалдык массаны пайда кылат.

Ош облусу картошка өстүрүү боюнча Ысык-Көл облусунунан кийин 2 орунда турат. 2023-жылы Ош облусунда 13.136 га аянтта 211.356,5 т картошка өстүрүлгөн. Эң көп түшүм Ноокат (54.532 т), Алай (38.804 т) жана Чоң-Алай (36.498 т) райондорунда алынат.

Изилдөө иштери 2023-жылы Ноокат, Алай, Чоң-Алай жана Кара-Суу райондорунда түшүм жыйноодон кийин картошка кампаларында жүргүзүлгөн. Кургак чириктин белгилерин көрсөткөн жалпы 170 даана, анын ичинен ар бир кампадан 5 түп оорулуу, Ноокаттын 6 айылынын 10 кампасынан 50, Алайдын 6 айылынан 9 кампасынан 45, Чоң-Алайдын 6 айылынын 10 кампасынан 50, Кара-Суунун 3 айылынан 6 кампасынан 25 кургак чириктин белгилерин көрсөткөн картошка түймөгү топтолуп алынды. Натыйжада 34 кампадан 170 даана картошка жыйналды. Үлгүлөр полиэтилен баштыктарга салынып, этикеткаланды. Изоляцияга чейин муздаткычта +4°C сакталды.

Лабораториялык иштер эң биринчи үлгүлөрдү даярдоодон башталды. Оорулуу картошканын түймөктөрү топурак бөлүкчөлөрүнөн тазаланып жуулду, кургатылды. Андан кийин, картошка бычак менен экиге бөлүндү жана стерилдүү скальпель менен ооруган ткандардын четинен 0,3-0,5 см өлчөмүндөгү бөлүкчөлөргө кесилди. Андан соң үстүртөн дезинфекциялоо үчүн алар 1% NaOCl (натрий гипохлорити) 2-3 мүнөт кармалды, стерилдүү суу менен 3 жолу чайкалды жана стерилдүү фильтр кагазынын арасында стерилдүү шарттарда кургатылды. Кургаган бөлүкчөлөр стрептомицин сульфаты (0,2 г/л) кошулган картошка декстроза агары (PDA) чөйрөсүнө отургузулду. Петри чөйчөкчөлөрү инкубатордо 23±1°C температурада 5-7 күн сакталды. Бул мезгилдин аягында мицелийдин

өсүүсүнө микроскоп астында байкоо жүргүзүлүп, *Fusarium* сымал колониялардан гиф учтарын камтыган агар бөлүкчөлөрү кесилип, жаңы PDA чөйрөсүнө отургузуу жолу менен тазаланды. Кийинки этапта бир спораны бөлүп алуу үчүн 7 күн инкубациялоодон кийин пайда болгон ар бир *Fusarium* культурасынан мицелиалдык бөлүкчөлөр 1,5 мл стерилдүү таза сууну камтыган Эппендорф пробиркасына алынып, аралаштырылды. Бул суспензиянын 50 мкл пипетка аркылуу алынып, жаңы PDA чөйрөсүн камтыган Петри чөйчөкчөсүнө куюлду. Чөйчөкчөлөр 45 градус бурчта эңкейген абалда 23 ± 1 °C температурада 24 саат бою инкубацияланышты. Бул мезгилдин аягында чөйчөкчөлөр микроскоп астында $20 \times$ чоңойтуу менен каралып, бир спораны камтыган агар бөлүкчөсү кесилди жана жаңы синтетикалык азык чөйрөгө (SNA) өткөрүлдү. Чөйчөкчөлөр 23 ± 1 °C температурада инкубаторго коюлду. Фиаалиддердин жана конидиялардын пайда болушун стимулдаштыруу үчүн өсүп келе жаткан колониялардын 1-2 см алдына стерилдүү фильтр кагаздары (1 см²) коюлду. 4-5 күндөн кийин мицелийдин кагаздын четтеринен препарат даярдалып, жарык микроскоп астында $40 \times$ чоңойтууда фиаалид түрүнө (монофиаалид, полифиаалид), макроконидия жана микроконидиялардын, хламидоспоралардын пайда болуусу жана алардын структураларына көңүл бурулуп идентификациялоо жүргүзүлдү.

Fusarium түрлөрүнүн патогендүүлүгүн аныктоо үчүн «Сорая» сортундагы картошка түймөктөрү колдонулду, бөлүнүп алынган изоляттарынын арасынан 21 *Fusarium* изоляты тандалып алынды. Эң биринчи, түймөктөр сууда жууп тазаланды, 1% натрий гипохлоритинде 5 мүнөт чыланды, андан соң стерилдүү таза суу менен 3 жолу чайкаланды, кургатылды. Кургаган түймөктөрдө диаметри 4 мм, тереңдиги 10 мм болгон бирден тешикче жасалган. Тандалган изоляттар 5 күн ичинде өстүрүлдү жана 4 мм диаметрдеги агар бөлүктөрү кесилди. Бул бөлүктөр үстүнкү өсүп келе жаткан мицелий кыртышы менен тешикченин ичин көздөй жайгаштырылды. Бир изолятка тиешелүү бештен картошка жабыркоого учурады. Контролдогу картошка үлгүлөрүндө дагы жаралар ачылып, таза агар бөлүктөрү коюлган. Инокуляцияланган түймөктөр пластик идиштерге салынды, четтерине нымдуу кебез коюлду, полиэтилен пакеттерде караңгы жерде 20 ± 1 °C температурада 28 күн инкубацияланды.

Изоляция иштеринин (бөлүп алуу) натыйжасында оорулуу картошка түймөктөрүнөн 7 *Fusarium* түрү, жалпы 53 изолят аныкталган. Классикалык

идентификациялык изилдөөлөр жүргүзүлгөн изоляттардын түрлөрүн идентификациялоону ырастоо үчүн элонгация трансляция фактору-1 альфа (*EF1- α*) локустарынын негизинде ДНК ырааттуулугунун анализи жүргүзүлдү. Бардык *Fusarium* изоляттарынын ырааттуулугу GenBank маалымат базасындагы түрлөргө 99-100% окшош экенин көрсөттү. Бардык алынган тизмектер PP795981- PP796033 номерлери менен GenBankка сакталган.

Морфологиялык жана молекулярдык ыкмаларды колдонуу менен диагностикалык иштердин жыйынтыгында, *F. sambucinum* алынган бардык изоляттардын ичинен 50,94% көрсөткүчү менен эң көп изоляцияланган түр болду. Андан кийин *F. oxysporum* (16,98%), *F. flocciferum* (11,32%), *F. equiseti* (9,43%), *F. proliferatum* (5,66%), *F. acuminatum* (3,77%) жана *F. solani* (1,89%). Жыйынтыктарга көңүл бурганда, *F. acuminatum* түрү бир гана Чоң-Алай районунан, ал эми *F. solani* түрү Алай районунан гана бөлүнүп алынган. *Fusarium* түрлөрүнүн райондор боюнча таралышын карасак, эң көп изоляттар 43,4% менен Чоң-Алай районунан алынган. Андан кийин бирдей көрсөткүч менен Ноокат (22,64%) жана Алай (22,64%), андан кийин 11,32% менен Кара-Суу району турат.

Ноокат районунун Айбек, Көтөрмө, Гүлистан, Кара-Ой, Жаңы-Ноокат жана Кашкалдак айылдарындагы жалпы 10 кампада изилдөө иштери жүргүзүлдү. Натыйжада *Fusarium* 3 түрүнө таандык жалпы 12 изолят бөлүнүп алынды. Изоляттардын таралышын караганыбызда, эң көп изоляттар Көтөрмө айылынан алынган. *F. proliferatum* Кашкалдак айылында гана аныкталган. Бардык алынган изоляттардын ичинен эң көп изоляцияланган түр 58,33% көрсөткүч менен *F. oxysporum* болду. Андан кийин 25% көрсөткүчү менен *F. equiseti* жана 16,67% көрсөткүчү менен *F. proliferatum* келген.

Алай районунунда Жошолу, Кабылан-Көл, Корул, Таш-Коро, Будалык жана Жаңы-Арык айылдарындагы жалпы 9 кампадан үлгүлөр топтолду. Натыйжада 5 *Fusarium* түрүнө таандык жалпысынан 12 изолят бөлүнүп алынган. *F. flocciferum* жана *F. oxysporum* түрү Жошолу айылында гана, *F. solani* Корул айылында гана кездешкен. Алынган бардык изоляттардын ичинен эң көп изоляцияланган түр 41,67% көрсөткүч менен *F. sambucinum* болду. Андан кийин *F. proliferatum* (33,34%) жана бирдей көрсөткүч менен (8,33%) башка 3 түр (*F. flocciferum*, *F. oxysporum* жана *F. solani*) орун алды.

Чоң-Алай районунда Карамык, Жарбашы, Кашка-Суу, Ачык-Суу, Жайылма жана Дароот-Коргон айылдарынын жалпысынан 10 кампадан үлгү алынды. Натыйжада 4 *Fusarium* түрүнө таандык жалпы 23 изолят аныкталды. Чоң-Алай районунан алынган изоляттардын таралышын карасак, эң көп изоляттар Жайылма айылынан алынган. Бардык изоляттардын ичинен эң көп изоляцияланган түр 82,6% көрсөткүч менен *F. sambucinum* болду. Андан кийин *F. acuminatum* (8,7%), *F. oxysporum* (4,35%) жана *F. equiseti* (4,35%) түрлөрү орун алды. *F. sambucinum* кампаларда табылды.

Кара-Суу районунда Алгабас, Талдык, Лангар жана Мады айылдарынын жалпы 6 кампадан үлгү алынды. Натыйжада 3 *Fusarium* түрүнө таандык жалпы 6 изолят аныкталды. Бардык изоляттардын ичинен эң көп изоляцияланган түр 50% көрсөткүч менен *F. sambucinum* болду. Андан кийин *F. flocciferum* (33,33%) жана *F. equiseti* (16,67%) түрлөрү орун алды.

Патогендүүлүктү аныктоо ооруга баа берүү үчүн, 28 күндүк инкубациялык мезгилден кийин түймөктөр эки бөлүнүп, жабыркоолордун туурасы жана терендиги өлчөндү. Бардык алынган маалыматтардын статистикалык анализи SPSS статистикалык программасын колдонуу менен жасалган (25-версия, Property of SPSS, Inc., IBM Company, USA). Өлчөмдөрдүн орточо көрсөткүчтөрү Tukey-HSD салыштыруу тести ($P < 0.05$) колдонулуп иштетилген.

Экспериментте контролдогу картошка үлгүлөрү менен изилденген изоляттардын таасиринен жабыркаган картошка үлгүлөрү ортосунда чоң айырма бар экени байкалды. *F. sambucinum* катары аныкталган ОҢFsa07 изоляты эң вируленттүү болуп табылды, ал эми жабыркаган аймак 3,81 см түздү. *F. equiseti* түрүнүн ONFe02 жана ONFe03 изоляттарынын таасиринен жабыркаган аймактары 0,44 см жана 0,7 см түзүп, вируленттүүлүгү төмөн түр катары аныкталган. *F. solani* изолятынын жабыркаган аймагы 0,58 см болуп, бул түрдүн дагы вируленттүүлүгү төмөн экендиги аныкталган. *F. acuminatum* 0,914 см жана 1,4 см, *F. oxysporum* изоляты 2,19-3,1 см арсында, *F. proliferatum* изоляты 1,38-2,16 см арсында, *F. flocciferum* 2,73 см жана 2,77 см жабыркоолорду пайда кылышты.

Изилдөө алкагында Ош облусу Ноокат, Алай, Чоң-Алай жана Кара-Суу райондорунда картошка кампаларда кургак чирик илдетин чакырган *Fusarium* түрлөрү аныкталган. Картошка түймөктөрүнөн *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. flocciferum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. sambucinum*, *F. solani* түрлөрүнө

тиешелүү жалпы 53 изолят алынды. Бардык түрлөрдүн ичинен *F. sambucinum* эң көп изоляцияланган (50,94%) жана эң вируленттүү түр экендиги аныкталган. Патогендүүлүк тесттин жыйынтыгы боюнча бардык изоляттардын оору козгоо жөндөмдүүлүгү бар болгону, контроль үлгүдөгү картошка түймөктөрү менен салыштырганда чоң айырмачылык бар болгону тастыкталды. Бул изилдөөнүн жыйынтыгында Ош облусунун картошка кампаларында кургак чирик оорусу кеңири таралганы жана бул ооруну көбүнчө *F. sambucinum* түрү козгогону аныкталды.

Кургак чирик илдетине сезгич келген сортторду өстүрүү жана сактоо, сактоо мөөнөтүнүн узактыгы кургак чириктин өнүгүшүнө түздөн-түз таасирин тийгизет, ошол эле учурда туура эмес сактоо шарттары жоготуулардын көбөйүшүнө алып келиши мүмкүн. Түймөк инфекциялар сакталуучу жайдын, кампанын температурасына жана нымдуулугуна жараша өрчүп тез жайылышы мүмкүн. Ошондуктан желдетүү, абанын айлануусун камсыз кылуу жана сактоочу жайларда температураны көзөмөлдөө чоң мааниге ээ. Жабыркаган түймөктөрдү сактоо учурунда 10°C жогору температура оорунун өнүгүшүнө түрткү берүүчү шарт болуп саналат.

Тилекке каршы, Ош облусу картошка сактоочу жайлардын көбүндө температура, желдетүү шарттары көзөмөлгө алынган эмес. Мамлекет тарабынан уюштурулган кампалар жок болгондуктан, чоң фермердик чарбачылыгы аз болгондуктан дыйкандар алган түшүмдү үйдүн бир канасында, подвалдарда, жерге көмүп, ороолордо жана жөнөкөй жасалган курулуштарда сакташат. Картошка жайылып же каптарга топтолуп сакталат, көбүнчө жыгач такта, поддондор коюлбай түздөн-түз жерге жайылат.

Кургак чирик илдетинин жана негизи эле картошка ооруларынын пайда болушун, жайылышын контролго алуу жана чектөө үчүн эң биринчиден картошка өстүрүүчүлүк, картошка сактоо боюнча изилдөөлөр жүргүзүлүп, бул тармактагы чет элдик тажрыйбалар менен таанышып үйрөнүү керек. Бул маалымат менен дыйкандар менен бөлүшүү, туура кеңеш берүү аябай маанилүү.

Негизги сөздөр: *Solanum tuberosum* L., *Fusarium* spp., кургак чирик, патогендүүлүк

BÖLÜM I

1. GİRİŞ

Patates (*Solanum tuberosum* L.), Solanaceae familyasından yumruları yenen tek yıllık, boyu 70–80 cm'ye varan, beyazımsı-pembemsi çiçekler açan, yumruları hariç zehirli köklü bir bitkidir. Bitkinin toprak altında kalan yumruları patates olarak bilinir. Patates yumruları nişasta halinde karbonhidrat, protein, vitaminler ve demir gibi önemli besin maddelerini içermektedir. Yüz gram patates bir insan için günlük gerek olan C vitamininin %20-50'sini, B1 vitamininin %10'unu, demirin %10'unu, protein ihtiyacının %7'sini içerir [1]. Patates verimliliği yüksek ve besin maddelere zengin olduğundan dünya üzerinde buğday, çeltik ve mısırdan sonra dördüncü sıradadır [2]. Patates yetiştiriciliğinin genel olarak kolay olması, özel iklim koşulları istememesi, yüksek verimli ve besin maddesi içeriği yüksek olan ürün olduğu için hemen hemen tüm dünya ülkelerinde üretilmektedir. Patates doğrudan haşlama, kızartma formlarda taze olarak tüketildiği gibi işlenmiş gıda ürün (cips), yarı mamül ürünler (dondurulmuş patates), hayvan yemi olarak, etanol ve nişasta üretiminde da kullanılmaktadır [3].

Patates dünya üzerinde buğdaygillerden sonra çok tüketilen üründür. Dünyada 17.788.408 ha alanda 374.777.763,43 tonluk üretimle patates, en fazla Çin, Hindistan ve Ukrayna'da üretilmektedir (Tablo 1.1) [4].

Tablo 1.1. 2022 yılında dünyada bazı ülkelerin patates üretim alanı ve üretim miktarı [4]

Sıra	Ülkeler	Üretim alanı (ha)	Üretim miktarı (ton)
1.	Çin	5.723.449	95.570.056
2.	Hindistan	2.226.000	56.176.000
3.	Ukrayna	1.204.300	20.899.210
4.	Rusya	1.086.482	18.887.679
5.	ABD	362.440	17.791.840
6.	Almanya	266.400	10.683.400
7.	Bangladeş	464.011	10.144.835
8.	Fransa	211.670	8.067.380
9.	Pakistan	314.125	7.936.884
10.	Hollanda	162.300	6.915.900
15.	Türkiye	139.072	5.200.000
18.	Kazakistan	199.471	4.080.473
22.	Özbekistan	109.110	3.443.224
39.	Kırgızistan	74.205	1.274.500

Dünyanın 39. büyük patates üreticisi konumunda olan Kırgızistan’da 2022 yılı verilerine göre 74.205 ha’lık alanda 1.274.500 ton patates üretimi yapılmaktadır[5] (Tablo 1.2). Kırgızistan kişi başı patates tüketiminde Orta Asya’da birinci, dünyada ise Beyaz Rusya’nın ardından ikinci sıradadır [6]. Patates, buğdaydan sonra Kırgızistan’da en önemli ikinci üründür. Ülkede patates yetiştiriciliği Isık-Göl, Fergana, Çüy, Narın ve Talas bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir. Ülkede yetiştirilen patateslerin büyük bir kısmı yemeklik olarak tüketilmekte, belli bir kısmı ihraç edilmekte ve tohumluk olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca tohumluk olarak kullanılan bazı çeşitler (Picasso, Arizona, Linus, Agata, Ranomi, Vega vb.) yurt dışından ithal edilmekte ve genellikle üreticiler bu çeşitlerin tohumlarını 2 yılda bir tohumluk olarak kullanmaktadır.

Tablo 1.2. 2013-2023 yılları arasında Kırgızistan’da patates üretim alanı ve üretim miktarı[5]

Yıllar	Üretim alanı (ha)	Üretim miktarı (ton)
2013	80.506	1.332.020
2014	78.892	1.320.700
2015	84.488	1.416.370
2016	82.155	1.388.369
2017	83.033	1.416.011
2018	84.428	1.446.610
2019	79.207	1.373.800
2020	76.315	1.327.163
2021	74.904	1.289.108
2022	74.205	1.274.500
2023	72.489	1.286.827

Patatesin üretimi Kırgızistan’ın tüm bölgelerinde yapılmaktadır. Ülkemizde patates yetiştiriciliğinde ilk sırada 22.814 ha’lık alanda 460.739,1 t patates üretimi ile Isık-Göl bölgesi gelmekte olup, bunu Oş, Talas, Çüy, Calal-Abad, Narın ve Batken bölgeleri takip etmektedir [5] (Tablo 1.3). Oş bölgesinde patates yetiştiriciliğinde ilk sırada 3.106 ha’lık alanda 54.531,9 t patates üretimi ile Nookat ili gelmekte olup, bunu Alay, Çon-Alay, Aravan, Kara-Suu, Özgön ve Kara-Kulja illeri takip etmektedir [5] (Tablo 1.4).

Patates uzun süre depolanan bir ürün olduğu için bu sürede abiyotik kaynaklı (don zararı, uygun olmayan havalandırma, sıcaklık zararı, mineral element eksikliği veya toksisitesi, su ve sıcaklık ilişkisi, şiddetli basınç ve yaralanma vb.) ve/veya biyotik kaynaklı (fungal, bakteriyel vb.) hasat sonrası bozulmalar ve kayıplar meydana

gelebilmektedir. Bunlar arasında bazı fungal bitki patojenlerinin tarla ve/veya depolarda önemli ürün kayıplarına neden olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında *Synchytrium endobioticum* (Patates Siğil Hastalığı), *Phytophthora infestans* (Patates Mildiyözü-Geç Yanıklık), *Fusarium* spp. (Patateste Kuru Çürüklük), *Alternaria solani* (Erken Yanıklık), *Rhizoctonia solani* (Siyah Siğil ve Kökboğazı Nekrozu), *Ralstonia solanacearum* (Bakteriyel Solgunluk ve Patateste Kahverengi Çürüklüğü), *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Patates Halka Çürüklüğü), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *E. chrysanthemi*, *Dickeya didantii*) (Patateste Bakteriyel Yumuşak Çürüklük Karabacak), *Streptomyces scabies* (Patateste Adi Uyuz), *Potato Y potyvirus* (PVY), *Potato leafroll luteovirus* (PLRV), *Potato X potexvirus* (PVX) ve *Potato A potyvirus* (PVA) önemli hastalık etmenleridir [7].

Tablo 1.3. 2023 yılı Kırgızistan’da bölgelere göre patates üretim alanı ve üretim miktarı [5]

Sıra	Bölgeler	Üretim alanı (ha)	Üretim miktarı (t)
1.	Isık-Göl	22.814	460.739,1
2.	Oş	13.136	211.356,5
3.	Talas	10.174	181.083,9
4.	Çüy	9.236	171.173,8
5.	Calal-Abad	8.270	127.389,7
6.	Narın	6.230	95.676,0
7.	Batken	2.512	37.245,2
8.	Oş şehri	19	2.058,0

Tablo 1.4. 2023 yılı Oş bölgesindeki illerin patates üretim alanları ve üretim miktarları [5]

Sıra	İller	Üretim Alanı (ha)	Üretim miktarı (t)
1.	Nookat	3.106	54.532
2.	Çon-Alay	2.180	38.804
3.	Alay	2.167	36.498
4.	Aravan	1.689	26.645
5.	Kara-Suu	1.528	21.026
6.	Özgön	1.132	17.186
7.	Kara-Kulja	1.334	16.667

Patates için iyi bir depolamada; ürünün aşırı nem kaybının önlenmesi, filizlenmenin engellenmesi ve kullanım amacına göre kalitesinin korunması önemlidir. Ayrıca depolanacak ürünün yetiştirilme koşullarının iyi olması ve hasadının doğru yapılması (özellikle hasat sırasında yumrulara bazı patojenlerin giriş yapabileceği yaraların açılmamasına dikkat edilmesi), depoların uygun sıcaklık, nem ve havalandırma

koşullarına sahip olması son derece önemlidir. Ülkemizde genellikle modern depo koşulları olmadığından, patates farklı şekillerde depolanabilmektedir. Mahzen ve/veya kilerlerde dökme veya çuvalarda yığın şekilde depolama ile toprak silolarda depolamaktadır. Sıcaklık, nem ve havalandırma kontrolünün olmadığı bu depoların aslında temiz, havalanabilir, rutubetsiz ve serin olması gerekmektedir. Depo sıcaklığı ve nemi tam olarak kontrol edilemediği için, yaklaşık %10-20 ve hatta daha fazla oranda kayıplar meydana gelebilmektedir.

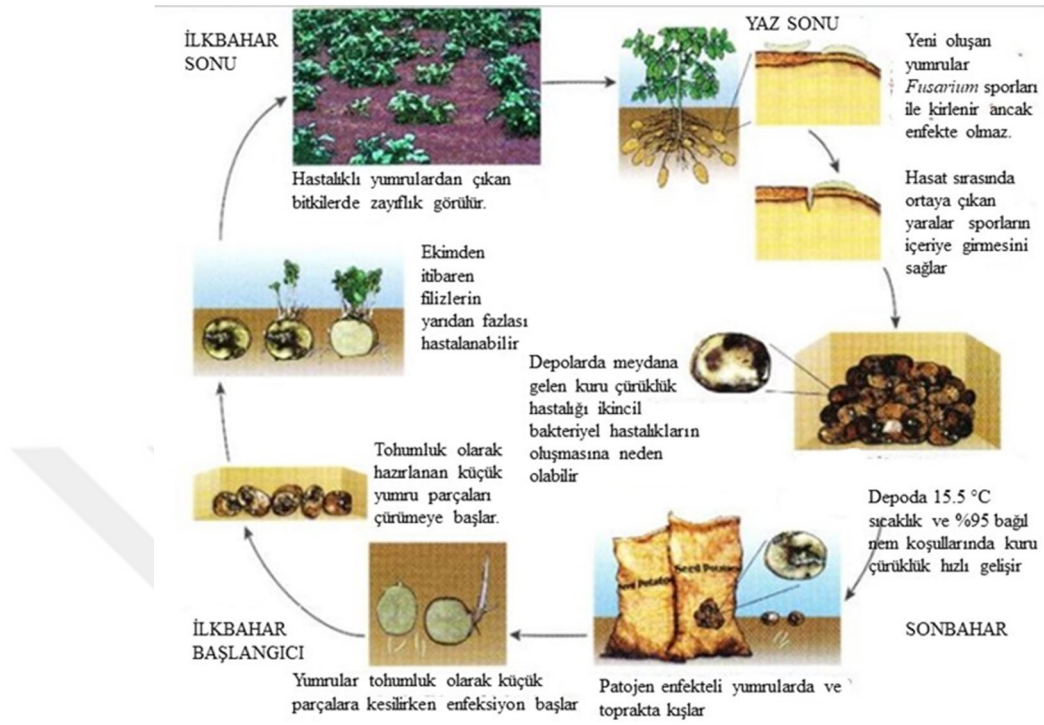
Patateste tarlada olduğu kadar depolama sırasında da birçok biyotik faktörden dolayı önemli ürün kayıpları görülmektedir. Özellikle uygun olmayan depolama koşullarında fungal patojenlerin neden olduğu depo hastalıkları önemli bir yer tutmaktadır. Bunlar arasında, hem depolanmış patates yumrularında hem de tarladaki tohumluk yumrularında kayba neden olan fungal patojenlerden *Fusarium* Kuru Çürüklük hastalığına neden olan ve dünya üzerinde ondan fazla *Fusarium* türü (*F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. coeruleum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. sulphureum* vb.) patateste hasat sonu kayıplara neden olmaktadır [8]-[13].

Patates yumrularında açılan yaralardan giriş yapan *Fusarium* spp.'nin neden olduğu hastalık verim, tohumluk kalitesi ve ürünün pazarlanabilirliğini azaltmaktadır. Kuru Çürüklüğe bağlı ürün kayıplarının tarlada %6-25 arasında olduğu tahmin edilmekte olup, uzun süreli depolamalar sırasında ise bu kayıpların %60'a kadar çıkabildiği bildirilmektedir[14]. Hastalık etmeni patates yumrularında ve/veya toprakta bulunan bitki artıklarında, klamidospore veya misel halinde uzun yıllar canlı kalabilmektedir. Ayrıca hastalık etmeni tohumluk patates yumruları ile taşınabilmektedir [17].

Fusarium spp.'nin enfeksiyonu için optimum sıcaklık 15-28°C arasında olup, bu sıcaklıkta uygun nem (%50-80) koşullarıyla birlikte yumrulara hızlı bir hastalık gelişimi görülmektedir [17]. Hasat sırasında yaralanmış yumrulara bulaşan patojen depoda gelişmeye devam etmekte ve sonuçta bu patateslerin çimlenme gücü azalmaktadır. Daha sonra bu yumrular tohumluk olarak kullanıldıklarında tarladaki yeni bitki yumrularında da Kuru Çürüklük ortaya çıkmakta, hatta yeni bitki çıkışı olmamaktadır.

Fusarium Kuru Çürüklük hastalığı belirtisi gösteren yumruların üzerinde çökük kahverengi-siyah lezyonlar, dokularda kuruma ve buruşmalar görülür. Etmen buruşan alanlarda uzun süreli depolama sırasında pamuksu beyaz, mor, pembe veya turuncumsu

spor ve misel kitlesi üreterek toprak ya da çürümüş yumru kalıntılarında canlı kalabilmektedir [15],[18],[12] (Şekil 1.1; Fotoğraf 1.1).



Şekil 1.1. Patates Kuru Çürüklük (*Fusarium* spp.) hastalığının yaşam döngüsü [10]



Fotoğraf 1.1. Oş bölgesi patates depolarından alınan yumrulardaki *Fusarium* spp.'nin neden olduğu Kuru Çürüklük hastalığı belirtileri

Son yıllarda Kırgızistan’da depolanan patateslerde Kuru Çürüklük hastalığı ile ilgili üreticilerden şikayetler gelmektedir. Erper ve ark. [12] yaptığı bir çalışmada Kırgızistan’ın Çüy bölgesinde depolanan patateslerde *Fusarium* Kuru Çürüklüğü’ne *F. sambucinum*’un neden olduğunu tespit etmişlerdir. Kırgızistan’da başta Isık-Göl olmak üzere diğer bölgelerde de patates depoları genellikle modern depo şeklinde olmayıp, depolanan patatesler yığın veya çuval şeklinde depolanmaktadır (Fotoğraf 1.2). Özellikle son yıllarda üreticilerden gelen şikayetler üzerine ve Isık-Göl başta olmak üzere farklı bölgelerdeki patates depolarından alınan örneklerde Kuru Çürüklük hastalığının uygun olmayan depolama koşullarından dolayı oldukça yaygın olduğu tespit edilmiştir.



Fotoğraf 1.2. Oş bölgesi (Kırgızistan)’nde bulunan farklı patates depoları

Kırgızistan'da patates üretiminde *Fusarium* Kuru Çürüklük hastalığının yaygınlaşmasının nedenleri üzerine odaklanan bu tez çalışması önemli bir tarımsal soruna değinmektedir. Patates üretiminde sertifikalı tohum kullanımının ihmal edilmesi, hastalıklı üretim alanlarının varlığı ve depolama koşullarının yetersizliği gibi faktörler, hastalığın yayılmasını teşvik etmektedir. Tez çalışmasında, Oş bölgesi'nde bulunan Nookat, Alay, Çon-Alay ve Kara-Su ilçelerindeki patates depolarından toplanan hastalıklı yumrulardan *Fusarium* izolatlarının izole edilmesi, bu izolatların morfolojik ve moleküler analizlerinin yapılması ve elde edilen izolatların patojenitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM II

2. GENEL BİLGİLER

Dünyada depolanan patateslerde *Fusarium* spp. başta olmak üzere Kuru Çürüklük hastalığına neden olan farklı fungal patojenlerle ilgili yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır [13]2-[19].

Erzurum ilinde patates ve soğan depolarında yapılan bir çalışmada, 16 cinse ait 30 fungus türü tanımlanmış ve en yaygın türler arasında, *F. moniliforme*, *F. solanum* var. *coeruleum*, *F. sulphureum*, *F. equiseti*, *Gliocladium roseum*, *Penicillium* spp., *Trichothecium roseum* ve *Ulocladium botrytis*’in yer aldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada çürümüş patates yumrularının %62,5’inden *F. sulphureum* elde edilmiştir [20].

Erzurum ilinde patates depolarında Kuru Çürüklüğe neden olan fungal etmenleri tespit için yapılan bir çalışmada, farklı depolarda sürveyler yapılmış ve toplanan hastalıklı yumrulardan 17 fungus ve fungus benzeri organizma cinsine ait 25 tür elde edilmiştir. En yaygın olarak *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Helminthosporium*, *Penicillium* ve *Doratomyces* cinsleri tespit edilmiştir. Patojenite çalışmalarında *F. sambucinum*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* ve *Pythium ultimum*’un virülensliğinin yüksek olduğu belirlenmiştir [21].

Mecteau ve ark. [22] tarafından yapılan çalışmada *in vitro* koşullarda organik ve inorganik tuzların *F. sambucinum*’a karşı etkileri gözlemlenmiş: birkaç tuzun (0.2 M) misel gelişimini ve spor çimlenmesini tamamen inhibe ettiği tespit edilmiştir. *In vivo* çalışmalarında koruyucu uygulamada sodyum metabisülfid, sodyum karbonat ve sodyum bikarbonatın kullanımı ve tedavi edici uygulamada alüminyum klorürün kullanımı patates yumrularında kuru çürük oluşumunu önemli ölçüde azalttığını göstermiştir.

Cullen ve ark. [9] yaptığı çalışmada patates Kuru Çürüklüğüne neden olan *Fusarium* türleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) metodu kullanılarak *F. avenaceum*, *F. coeruleum*, *F. culmorum* ve *F. sulphureum* tanımlanmıştır. Depolanan patateslerde *F. sulphureum* ve *F. coeruleum*’un diğer türlere göre daha fazla izole edilmiştir.

İngiltere’de yapılan diğer bir çalışmada, toplam 219 farklı depodan toplanan 10.950 yumrudan yapılan izolasyonlarda 228 *Fusarium* spp. izolatu elde edilmiş ve elde edilen izolatların yaklaşık %95’i *Fusarium coeruleum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum* ve *F. sambucinum*’a ait olduğu görülmüştür [23].

İran’da Kuru Çürüklük hastalığı belirtisi gösteren patates yumrularında yapılan izolasyonlarda *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. sulphureum*, *F. oxysporum* ve *F. trichoteciododes* en fazla izole edilen türler olmuş, bunlar arasında ise *F. solani*’nin en virulent tür olduğu belirlenmiştir [25].

Kotan ve ark. [26] tarafından yapılan çalışmada, patatest Kuru Çürüklük hastalığına neden olan *F. sambucinum*, *F. oxysporum* ve *F. culmorum*’a karşı *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, *B. amyloliquefaciens*, *B. atrophaeus*, *B. macerans* ve *Flavobacter balastinium* *in vitro* ve *in vivo* koşullarda antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. En fazla *B. cepacia* suşu OSU-7’de, 35,33 ila 47,37 mm arasında değişen inhibisyon bölgeleriyle gözlenmiştir. Ayrıca bitki büyümesini teşvik eden kök bakterilerinin (PGPR) suşları iki patates çeşidi (Agria ve Granola) yumrularında depolama koşullarında *Fusarium* spp. ’ne karşı etkinlikleri belirlenmiştir. Sadece *B. cepacia* OSU-7 suşu iki patates çeşidinde üç farklı fungus türünü etkilemiştir. Sonuç olarak bu çalışma, *B. cepacia*’nın depolama koşullarında Kuru Çürüklük hastalığına neden olan *F. oxysporum* ve *F. culmorum*’a karşı etkili bir biyo-kontrol ajanı olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu gösteren ilk çalışmadır.

Estrada ve ark. [16]’nin 2004-2005’te ABD’nin kuzey-orta patates üretim bölgesindeki depolarda yaptıkları sorvey çalışmalarında Kuru Çürüklük hastalığına neden olan fungal patojenlerin *F. graminearum* ve *F. sambucinum* olduğu ortaya konulmuştur. *F. graminearum* kuru çürüklük belirtileri gösteren patates yumrularından (n=15), buğday tanelerinden (n=15) ve şeker pancarı köklerinden (n=5) izole edilmiştir. Daha sonra patates yumruları üzerinde izolatların patojeniteleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak *F. graminearum* izolatları arasında kuru çürüklük nedeniyle ölçülen lezyon alanları açısından, orijinal konakçıya bakılmaksızın anlamlı farklılıklar bulunmamıştır.

Malezya’da yapılan bir çalışmada farklı bölgelerden toplanan hastalıklı patateslerden 65 *Fusarium* izolatu elde edilmiştir. *F. solani* tür kompleksi (FSSC) ve *F. oxysporum*’un iki morfotipine ait olan bu 65 izolatu virülenslikleri belirlenmiştir [27] .

Sagar ve ark. [28] yaptığı çalışmada, Hindistan’da Sehar ve Şahbad illerindeki soğuk hava depolarından toplanan hastalıklı patates örneklerinden elde edilen fungusların morfolojik ve moleküler karakterizasyonu sonucunda, hastalığa neden olan etmenin *F. sambucinum* olduğu tespit etmişlerdir.

Çin’in kuzeyindeki altı önemli patates üretim bölgesinde toplanan 698 hastalıklı patates yumrularından toplam 260 *Fusarium* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların sekans

analizi ile *F. sambucinum*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *F. equiseti* ve *F. acuminatum* olduğu tespit edilmiştir. Çin'de kullanılan 67 patates genotipi *F. sambucinum*'a hassas olarak tanımlanmış ve bu sonuç mevcut patates genetik kaynaklarını kullanarak dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi için kısıtlı bir alan olduğunu göstermiştir [29].

Gachango ve ark. [19], Michigan'da tohumluk patates üretim depolarından toplanan Kuru Çürüklük belirtilerini gösteren örneklerden *Fusarium* cinsine ait 11 tür tespit etmişlerdir. *F. oxysporum* en sık izole edilen tür olurken, bunu *F. equiseti*, *F. sambucinum* ve *F. avenaceum* türleri takip etmiştir. Ayrıca *F. cerealis*, *F. solani*, *F. acuminatum*, *F. sporotrichioides*, *F. torulosum*, *F. tricinctum* ve *F. graminearum* türleri daha az izole edilmiştir. Aynı çalışmada tüm izolatların difenoconazole'ye hassas olduğu belirlenmiştir.

Al-Qasim (Saudi Arabistan)'da yapıldığı çalışmada patates yumruları lekelerinde fungus kontaminasyonun varlığı moleküler teşhisin modern yöntemlerin kullanılarak incelenmiştir. Farklı lezyon türlerinden elde edilen 160 izolatlardan en yaygın cinsler *Fusarium*, *Penicillium*, *Ilyonectria*, *Alternaria* ve *Rhizoctonia* olarak belirlenmiştir. Genomik DNA'nın ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin sekans analizi ile toplanan tüm izolatlar tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bu çalışma sırasında toplanan tüm *Fusarium* suşların patates yumruları üzerinde patojeniteleri belirlenmiştir [30].

Rusya Federasyonu'nun Krasnoyarsk bölgesinde yetiştirilen Ogonyok, Nevsky ve Berlikhingen patates çeşitlerinin hastalıklı yumrularından *Phytophthora infestans*, *Phoma exigua* var. *exigua*, *Fusarium* spp. ve ayrıca bakteriyel patojenler izole edilmiştir. Bunlar arasında *Fusarium* Kuru Çürüklüğü (%57'ye kadar)'nın baskın olduğu belirlenmiş, bu hastalığa *F. solani* (%42), *F. moniliforme* (%37) ve *F. oxysporum* (%21)'un neden olduğu tespit edilmiştir [31].

Yapılan başka bir çalışmada patates yumrularından izole edilen *F. sambucinum*'un morfolojik karakterlere göre tanımlanması amacıyla, koloni çapı, kültür rengi, makrokonidilerin şekli, büyüklüğü, mikrokonidi ve klamidospore varlığı belirlenmiştir. İzolatlar doğrudan hastalıklı yumru dokusundan ve yumru nemli odada inkübasyondan sonra oluşan hastalıklı filizlerinden izole edilmiştir [32].

Mısır'da yapılan bir çalışmada, nar kabuklarından elde edilen metanol ekstraktının *F. sambucinum*'un hem *in vitro* büyümesini kontrol etme kabiliyeti hem de patates yumrularında Kuru Çürüklük hastalığına karşı tedavi edici ve koruyucu uygulamalarla etkinliği belirlenmiştir. Ekstraktın patojenin misel gelişimini %75,5

oranında engellediği ve spor çimlenmesini tamamen durdurduğu bulunmuştur. Ekstraktın içinde 24 farklı fenolik bileşen tespit edilmiş ve toplam fenol içeriği ölçülmüştür. Mikroskopik incelemeler, *F. sambucinum*'un morfolojik ve ultra yapısal değişikliklere uğradığını göstermiştir. Nar kabuklarının metanol ekstraktının hastalık gelişimini önemli ölçüde azalttığı ve sentetik fungusitlere alternatif bir doğal ürün olabileceği tespit edilmiştir [33].

Tunus'ta yapılan bir çalışmada *Fusarium* türlerinin etkileşimleri incelenmiştir ve beş yerel patates çeşidine (Spunta, Oceania, Nicola, Mondial ve Atlas) tek ve karışık enfeksiyonlarla iki farklı sıcaklıkta (20°C ve 30°C) uygulanmıştır. Sonuç olarak, *F. sambucinum* ve *F. solani* kombinasyonunun en agresif enfeksiyon oluşturduğu ortaya konulmuştur. Patates çeşitleri, farklı sıcaklıklarda farklı tepkiler göstermiştir ve hiçbirisi tüm her iki patojene tamamen tolerant olarak bulunmamıştır [34].

Afyon ili depolarından alınan Lady Rosetta çeşidi patates yumrularının filizlerinde hastalığa neden olan *F. sambucinum* türü belirlenmiştir. *In vitro* koşullarda yapılan patojenite çalışması, hem yumruların hem de filizlerin *F. sambucinum* tarafından hastalandırıldığını ve çürümeye neden olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, doğal olarak enfekteli ve yapay olarak enfekte edilen yumrulara aynı belirtiler gözlenmiştir. Türkiye'de *F. sambucinum*'un tohumluk patateslerde gelişmekte olan filizlerde, Filiz Çürüklüğü hastalığına neden olduğu ilk kez rapor edilmiştir [24].

Norveç'te yapılan çalışmada, patateslerde *Fusarium* Kuru Çürüklüğü hastalığının yaygınlığı üç yıl boyunca araştırılmıştır. Morfolojik karakterizasyon sonucunda örneklerin %47'sinin *Fusarium* spp. ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Toplam 718 *Fusarium* spp. izolatu elde edilmiş ve 7 tür tanımlanmıştır. En çok izole edilen türler *F. coeruleum*, *F. avenaceum*, *F. sambucinum* ve *F. culmorum* olmuştur. Berber ve Rutt patates çeşitlerinin çalışmada elde edilen *Fusarium* türlerine hassas olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *F. coeruleum*'a özgü bir gerçek zamanlı PCR tekniği geliştirilmiştir [34].

Polonya'da Kuru Çürüklük belirtileri gösteren patates yumrularından izole edilen fungal isolatlar, translasyon elongasyon faktörü 1- α ve β -tubulin genlerinin kısmi nükleotid dizileri kullanılarak farklı *Fusarium* türleri olarak tanımlanmış ve 149 izolattan 12 tür belirlenmiştir. En çok elde edilen tür *F. oxysporum* (%45) olmuş, bunu *F. avenaceum* (%12.1), *F. solani* (%10.7) ve *F. sambucinum* (%7.4) izlemiştir. Filogenetik

analizler sonucunda *F. solani* yüksek bir çeşitliliğe, *F. oxysporum* ise düşük bir çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir [36].

Saber ve ark. [37] Mısır'da yaptıkları çalışmada, 4 farklı bölgeden toplanan hastalık belirtisi gösteren örneklerden geliştirilen izolatlardan, patatesten kuru çürüklük hastalığına neden olan 4 farklı *Fusarium* türüne (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum* ve *F. semitectum*) ait 11 izolatın genetik farklılığını RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Elde edilen veriler, jel analizi ile birleştirilerek dendrogram oluşturmuşlardır. Bu çalışmada, dendrogram on izolatın ikinci birleşime ve tek bir izolatın üçüncü birleşime ait olduğunu göstermiştir. Yani, genetik açıdan benzer olan izolatlar gruplandırılmıştır.

Yıkılmazsoy [3] yaptığı çalışmada 2015-2016 yıllarında İzmir'in Ödemiş ve Torbalı ilçelerindeki depolarından topladığı hastalıklı patates yumrularından izolasyon çalışmaları yapmıştır. Morfolojik ve moleküler tanımlama sonucunda *Fusarium* türlerinin *F. sambucinum*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum* ve *F. equiseti*'ye ait olduğunu belirlenmiştir. Patojenite çalışmaları en virulent izolatın *F. sambucinum*'a ait olduğunu göstermiştir. Hastalığa duyarlılığının belirlenmesi için 13 patates çeşidi üzerinde çeşit reaksiyon testleri yapılmıştır ve en duyarlı çeşitin Russet Burbank olduğu saptanmıştır. Kuru Çürüklükle mücadele çalışmalarında ise, *F. sambucinum*'un miselyal gelişimini önemli oranda engelleyen fludioxonil, fludioxonil+sedaxane ve imazalil etkili maddeli fungisitler sağlamıştır.

Çomak [38] Afyonkarahisar (Türkiye) ilinden topladığı Kuru Çürüklük belirtisi gösteren patateslerden elde ettiği 32 *Fusarium* izolatının moleküler olarak teşhisini yapmıştır. Sonuç olarak 15 izolat *F. oxysporum*, 8 izolat *F. solani*, 5 izolat *F. sambucinum* ve 4 izolat *F. graminearum* olarak tespit edilmiştir.

Çakar [39] yaptığı çalışmada Erzurum ili patates depo alanlarından Kuru Çürüklük hastalığı belirtisi gösteren yumrulardan izolasyon yapmıştır. Morfolojik ve moleküler karakterizasyon sonucunda *F. oxysporum* türü tespit edilmiş ve ona karşı biyoajanların kullanımı *in vitro* ve *in vivo* denemelerle değerlendirilmiştir. Çalışmada, daha önce test edilmiş olan çeşitli bakteri ve fungus [(7 adet *Bacillus subtilis* (BAB140, TV12H, TV6F, EK7, TV17C, CP1 ve TV125A), 3 adet *B. megaterium* (TV103B, TV87A ve TV91C), 2 adet *B. pumilus* (RK103 ve TV67C), 1 adet *B. thuringiensis* subsp. *kurstakii* (BAB410), 2 adet *Pantoea agglomerans* (BRTB ve RK92), 1 adet *Agrobacterium radiobacter* (A16) ve 2 adet *Trichoderma harzianum* (ET 4 ve ET 14)] izolatları

kullanılmıştır. Sonuç olarak *F. oxysporum*'un gelişimini tamamen engelleyerek en etkili sonucu *P. agglomerans*'ın BRTB izolatu göstermiştir.

Ren ve ark. [40] yaptıkları çalışmada patatest Kuru Çürüklük hastalığına neden olan *F. oxysporum*'a karşı kitosanın etkinliği belirlemişlerdir. Kitosanın fungusun misel gelişimini ve spor çimlenmesini önemli ölçüde engellediği, ayrıca virülensliğini düşürdüğü tespit edilmiştir. Kitosan olduğunda veya olmadığında *F. oxysporum*'un transkriptom analizi sonucunda, toplam 4955 farklı şekilde ifade edilen gen (DEG'lerin) belirlenmiş, bunların 2839'u yukarı regüle edilmiş ve 2116'sı aşağı regüle edilmiştir. KEGG yolu ve GO terimi analizi, DEG'lerin çoğunlukla protein metabolizması, stres toleransı ve hücre yapısı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular, kitosanın *F. oxysporum* tarafından neden olan Kuru Çürüklük hastalığı için umut verici bir doğal fungusit olabileceğini ortaya koymuştur.

Kırgızistan'ın Çüy bölgesindeki patates depolarında yapılan sörveylerde *Fusarium* Kuru Çürüklük hastalığının varlığı tespit edilmiştir. Hastalıklı yumrulardan elde edilen fungal izolatlarda morfolojik özelliklere göre ve *EF1-α* geninin kısmi sekansına dayalı filogenetik analizler sonucunda *F. sambucinum* olarak tanımlanmıştır [12].

Atay ve ark. [1] yaptığı çalışmada tarımsal üretimde önemli olan tohumluk seçiminin patates üretimindeki etkisini incelenmişlerdir. Ticari olarak patates tohumluğu üreten firmalardan toplam 48 partiden patates yumrusu örnekleri toplanmıştır. Agria, Madeleine, Marabel ve Marfona gibi patates çeşitlerine ait ayumrulardan yapılan izolasyonlarda %3.87 oranında *Fusarium* spp. ve %0.11 oranında *R. solani* tespit edilmiştir.

Kırgızistan'ın Naryn bölgesine bağlı Kochkor, Jumgal, Naryn ve At-Bashy ilçelerindeki patates depolarında bulunan ve Kuru Çürüklük hastalığına neden olan *Fusarium* türlerinin ve patojenitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada hastalıklı patates yumrularından toplam 93 *Fusarium* izolatu izole edilmiştir. En sık izole edilen tür *F. solani* (%35,48) olurken, bunu sırasıyla *F. sambucinum* (%29,03), *F. graminearum* (%12,90), *F. oxysporum* (%11,83) ve *F. verticillioide*s (%10,75) izlemiştir. Patojenite test sonuçlarına göre, kullanılan *Fusarium* izolatlarının patates yumruları üzerinde oluşturduğu lezyon çapları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0.05$). *F. sambucinum*'a ait izolatların virülensliklerinin yüksek (lezyon uzunluğu 2,72- 2,81 cm) olduğu, *F. oxysporum*, *F. solani* ve *F. graminearum* izolatlarının

neden olduğu lezyon uzunluğunun 1,66 ile 2,43 cm arasında değiştiği, *F. verticillioides* izolatlarının ise virölensliğinin düşük olduğu belirlenmiştir [41].

Irak'ın Duhok ilinde yapılan bir çalışmada, 20 soğuk hava deposu ve 15 adi depo gezilerek *Fusarium* Kuru ürüklük hastalığı belirtileri gösteren patates yumruları toplanmıştır. Elde edilen fungal izolatların morfolojik ve moleküler karakterizasyonların sonucunda *F. equiseti* ve *F. oxysporum* en çok görülen iki tür olarak belirlenmiştir. Patojenite testi sonucunda *F. oxysporum* en virölent tür olup, 23,86 mm derinliğinde ve 21 mm genişliğinde lezyonu oluşturmuş, *F. equiseti* ise daha az agresif olup, derinliği 12,86 mm, genişliği ise 8,14 mm olan lezyona neden olmuştur [42].

Rusya'da yapılan bir çalışmada *F. sambucinum* tür kompleksi (FSAMSC) ve *F. solani* tür kompleksi (FSSC) içerisinde yer alan 31 *Fusarium* izolatı, *tef* ve *rpb2* lokuslarının çoklu genetik analizi kullanılarak tanımlanmış ve fizyolojik özellikleri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Sonuç olarak, FSAMSC içinde *F. sambucinum*'un 21 ve *F. venenatum*'un 1 izolatı tanımlanmıştır. FSSC içinde incelenen izolatlar arasında, *F. mori*'nin 1 izolatı, *F. noneumartii*'nin 4 izolatı, *F. stercicola* ve *F. vanettenii*'nin 2'er izolat tanımlanmıştır. Bu alışma ile dünyada *F. mori* patates üzerinde ilk defa tespit edilmiştir. Ayrıca *F. noneumartii* ile *F. stercicola*'nın Rusya'da ilk defa tespiti yapılmıştır. FSAMSC'de bulunan izolatların gelişmesi için optimal sıcaklığının 25°C ve gelişme hızının 11,6-15,0 mm/gün olduğu, FSSC'de bulunan izolatların ise optimal gelişme sıcaklığının 25-30°C arasında ve gelişme hızının 5,5-14,1 mm/gün olduğu belirlenmiştir. Yapılan patojenite sonucunda, FSAMSC'ye ait tür kompleksi içinde, *F. sambucinum*'un *F. venenatum*'a göre daha virölent olduğu, bununla birlikte FSSC'ye ait tür kompleksi içinde ise *F. noneumartii* izolatlarının en virulent olduğu, *F. mori*, *F. stercicola* ve özellikle *F. vanettenii* izolatlarının ise virölensliklerinin oldukça düşük oldukları tespit edilmiştir [13].

Michigan'da cipslik patates depolarına buluşan hastalıkları tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, beş ilçede bulunan 12 tarladan örnek alınarak değerlendirilmiştir. Genel olarak Michigan'da hasat sonrası hastalıklar arasında *Fusarium* Kuru ürüklüğü, *Pythium* Islak ürüklüğü ve Pembe ürüklük hastalıklarının yaygın olduğu rapor edilmiştir. Yine çalışmada önceki araştırmalardan farklı olarak, *F. graminearum*'un Michigan'daki depolanan patateslerde yüksek derecede virulent bir tür olduğu belirlenmiştir [43].

Retrotranspozonlar (sınıf I transpozonlar), kendilerini kopyalayarak genomun farklı bölgelerine taşıyan, tekrarlayan ve mobil DNA dizileridir. Bu özelliklerinden dolayı, mutasyonlara, genom büyüklüğünün artmasına ve genetik çeşitliliğin artmasına neden oldukları için önemli bir markör kaynağı olarak görülmektedirler [44]. Retrotranspozonların yüksek markör üretme potansiyeli nedeniyle, retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism (RMAP) ve interretrotransposon amplified polymorphism (IRAP) gibi teknikler birçok ökaryotik organizmanın karakterizasyonu ve genetik haritalaması için kullanılmıştır. Retrotranspozon temelli inter-primer binding site (iPBS) amplifikasyon tekniği, LTR retrotranspozonlarındaki ters transkriptaz primer bağlanma bölgesine dayanan evrensel bir DNA markör yöntemi olarak Kalendar ve ark. [45] tarafından tanıtılmış ve birçok ökaryotik organizmada etkinliği kanıtlanmıştır. iPBS markörleri, şimdiye kadar birçok bitki patojeni fungusun tür içi ve türler arası genetik farklılıklarının araştırılmasında başarılı bir şekilde kullanılmıştır [46]-[48].

BÖLÜM III

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmanın ana materyalini Oş bölgesine bağlı Nookat, Alay, Çon-Alay ve Kara-Su ilçelerinde bulunan patates depolarından toplanan Kuru Çürüklük hastalığı belirtisi gösteren patates yumruları ve bu yumrulardan yapılan izolasyonlardan elde edilen *Fusarium* spp. izolatları oluşturmuştur. Ayrıca hastalıklı yumrulardan yapılan izolasyonlar için Potato Dextrose Agar (Merck, Almanya) [(PDA; 1 L için; 39 g Potato Dextrose Agar)], Sentetik Nutrent Agarı [(SNA; 1 L için: 1 g KH₂PO₄, 1 g KN₃, 0,5 g MgSO₄.7H₂O₄, 0,5 g KCl, 0,2 g Glucose, 0,2 g Sucrose)] kullanılmıştır. Bakterilerin gelişimini engellemek için Streptomycin sülfat (0.2 g/L) kullanılmıştır. Laboratuvar çalışması boyunca 9 cm çaplı büyük ve 6 cm çaplı küçük Petri kapları, pipet ve diğer laboratuvar malzemeleri, terazi, manyetik karıştırıcı, fungusların morfolojik özelliklerini incelemek için bilgisayar bağlantılı Euromex marka mikroskop (Arnhem, Hollanda), izolatların gelişmesi için inkübatör (N-BIOTEK – 2201 LF, ABD), buzdolabı, patojenisite testleri için sağlıklı patates yumruları (Alman çeşidi “Soraya”) ise çalışmanın diğer materyalleri olarak kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hastalıklı patates yumrularının toplanması

Kırgız Cumhuriyeti Milli İstatistik Komitesi’nin 2022 yılı Oş bölgesi patates üretim alanı ve miktarı verilerine göre, patates ekiminin en yoğun olduğu ilçeler tespit edilmiştir. O verilere göre sörvey çalışmaları Nookat, Alay, Çon-Alay ve Kara-Su’daki patates depolarında 2023 yılı vejetasyon dönemi hasat sonrası yapılmıştır. Hastalıklı patates yumru örnekleri, yığınlardan veya çuvallardan güdümlü örnekleme metoduna [49] göre 34 depodan alınmıştır (Tablo 3.1). Nookat’a ait 10 depodan 50, Alay’a ait 9 depodan 45, Çon-Alay’a ait 10 depodan 50 ve Kara-Su’ya ait 5 depodan 25 adet olmak üzere toplamda Kuru Çürüklük hastalığı belirtilerini gösteren 170 adet patates yumrusu toplanmıştır (Fotoğraf 3.1). Örneklemede hastalık belirtisi görülen yumru örnekleri polietilen torbalar içine konularak etiketlenmiştir. Örnekler izolasyon yapılana kadar +4°C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Tablo 3.1. Oş bölgesi illerinde hastalıklı patates örneklerinin toplandığı köyler, örnek alınan depo sayısı ve toplanan hastalıklı yumruların sayısı

İl	Örnek alınan köyler	Örnek alınan depo sayısı	Toplanan yumru sayısı
Nookat	Aybek	2	10
	Kötörmö	2	10
	Gülistan	1	5
	Kara-oy	2	10
	Canı-Nookat	2	10
	Kaşkaldak	1	5
Toplam	6	10	50
Alay	Coşolu	2	10
	Kabılan-Köl	1	5
	Korul	1	5
	Taş-Koro	2	10
	Budalık	2	10
	Canı-Arık	1	5
Toplam	6	9	45
Çon-Alay	Karamık	2	10
	Carbaşı	2	10
	Kaşka-Su	1	5
	Açık-Su	2	10
	Cayılma	1	5
	Daroot-Korgon	2	10
Toplam	6	10	50
Kara-Su	Algabas	2	10
	Taldık	2	10
	Langar	1	5
Toplam	3	5	25
Genel Toplam	21	34	170



Fotoğraf 3.1. Depolardan hastalıklı patates yumrularının toplanması

3.2.2. Fungal izolasyon

Hastalıklı patates yumruları üzerindeki toprak parçalarının temizlenmesi için öncelikle musluk suyu altında yıkanmış ve kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra patatesler bıçak yardımıyla ortadan ikiye bölünmüş ve steril bistüri kullanılarak enfekteli dokuların (Fotoğraf 3.2) kenarından 0,3-0,5 cm büyüklüğündeki parçalar kesilmiştir. Ardından yüzeysel dezenfeksiyon için %1'lik NaOCl (Sodyum Hipoklorit)'de 2-3 dakika bekletilmiş, 3 kez steril saf sudan geçirilerek, steril kurutma kağıtları arasına alınmış ve steril kabin içinde kurumaya bırakılmıştır.



Fotoğraf 3.2. İzolasyon işleminde kullanılan Kuru Çürüklük belirtisi görülen patates yumrusu

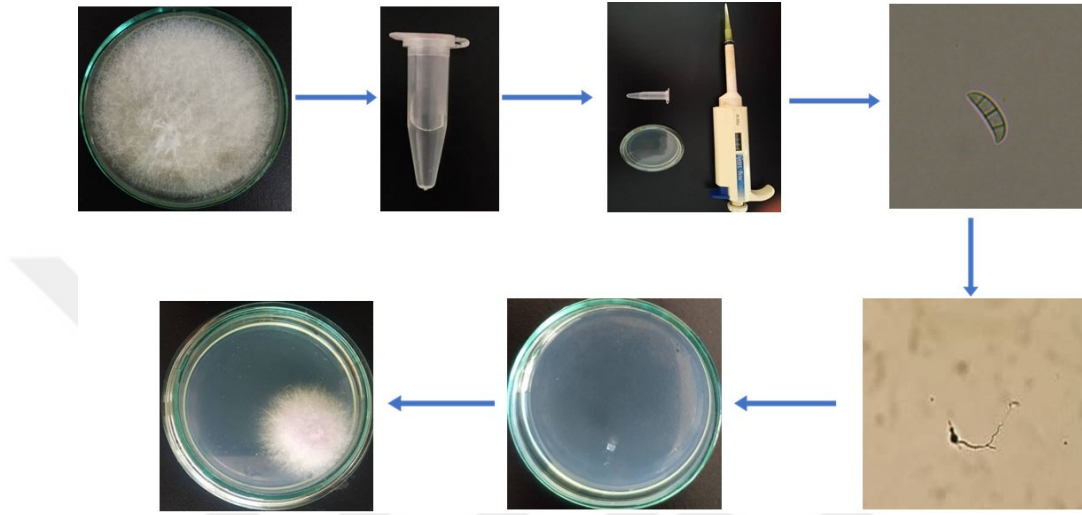
Kurutulan parçalar streptomisin sülfat (0,2 g/L) eklenmiş ½ kuvvette patates dekstrozo agar (PDA) besi ortamı içeren 6 cm'lik steril Petri kaplarına ve her yumrudan en az üç parça olacak şekilde yerleştirilmiş (Fotoğraf 3.3) ve 23±1°C'de 5-7 gün, 12 saat aydınlık/karanlık fotoperyotta inkübasyona bırakılmıştır.



Fotoğraf 3.3. Kurutulan hastalıklı patates parçaların Patates Dekstrozo Agar (PDA) besi ortamına yerleştirilmesi

Bu süre sonunda gelişen miseliyal gelişme mikroskop altında incelenmiş ve *Fusarium*'a benzeyenlerin hif uçlarından alınan agar parçaları, taze PDA içeren Petri kaplarına aktararak saflaştırılmıştır. Tek spor izolasyonu yapmak amacıyla, beş günlük inkübasyon sonunda gelişen her bir *Fusarium* kültüründen bir miktar misel parçası, 1,5 mL steril saf su içeren ependorfa alınmış, vortekslenmiş ve bu karışımdan pipet yardımıyla 50 µL alınarak, PDA içeren 6 mm çaplı Petri kaplarına konulmuş ve süspansiyonun agar yüzeyinde homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Petriler 24 saat ve 45 derecelik açı yapacak şekilde eğilmiş ve 23±1 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda mikroskop altında 20× büyütmede incelenerek, çim tüpü oluşturan

konidilerden her biri bistüri yardımıyla kesilmiş ve taze SNA besi ortamına aktarılmıştır (Fotoğraf 3.4) ve 23 ± 1 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Tek spor izolasyonu yapılan isolatların geliştiği kültürlerden alınan agar parçaları eğik agar içeren tüplerde +4°C'de ve ayrıca filtre kağıdına sardırılanlar ise -20°C'de saklanmıştır.



Fotoğraf 3.4. Tek spor izolasyonu aşamaları

3.2.3. Morfolojik Karakterizasyon

Hastalıklı yumrulardan izole edilen ve tek spor izolasyonu yapılan *Fusarium* isolatlarının morfolojik özelliklerine göre tür teşhislerinin yapılması amacıyla, tüm isolatlar SNA besi ortamı içeren Petri kaplarına aktarılmış ve 23 ± 1 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Fiyalit ve konidi oluşumunu teşvik için steril kurutma kağıtları (1cm²'lik), misel gelişme uçlarının 1-2 cm ilerisine steril bir pens yardımıyla agar üzerine bırakılmıştır. Misel gelişiminin görüldüğü kurutma kağıdının kenarlarından 4-5 gün sonra alınan agar parçası lam üzerine yerleştirilmiş, üzerine su/lakto fenol cotton blue damlatılmış ve lamel hava boşluğu kalmayacak şekilde kapatılmıştır. Hazırlanan preparat ışık mikroskobu (Euromax) altında 40× büyütmede, fiyalit tipleri (monofiyalit/polifiyalit), makrokonidi, mikrokonidi ve klamidospor yapıları teşhis anahtarlarından yararlanılarak tür teşhisleri yapılmıştır [50][52].

3.2.4. DNA İzolasyonu

İzolatların genomik DNA'sının izolasyonu hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB)'a dayalı bir metodu olan ve DArT DNA izolasyon (<https://www.diversityarrays.com>) yönteminde belirtilen ekstraksiyon–lisis tamponu modifiye edilerek kullanılmıştır (Tablo 1.1).

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon buffer içeriği

Ekstraksiyon–Lisis Tamponu İçeriği	Miktar
Tris HCl pH 8.0 ml	12,00
EDTA pH 8.0 ml	5,00
5M NaCl ml	18,00
Sorbitol g	2,75
CTAB g	1,50
Sarcosyl g	1,00
PVP-40 g	1,50
Sodium disulfite g	0,50
Bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.	

Kullanılan primerler ve sekans hizmeti, ticari bir kuruluş olan Macrogen (Seul, Kore) tarafından sağlanmıştır. Her izolata ait yaklaşık 100 mg misel/spor dokusu, önceden ısıtılmış (65°C) 750 µl ekstraksiyon–lisis tamponuna (125 mM Tris-HCl pH 8,0, 25 mM EDTA pH 8,0, %2 CTAB, %2 PVP-40, 0,8 M NaCl, %0,5 sodyum disülfür, %1 sarkosil) aktarılmıştır. Örnekler, bir mikro homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiş ve her 15 dakikada bir hafifçe ters çevrilerek 65°C'de 60 dakika inkübasyona alınmıştır. İnkübasyon sonrasında, örnekler kuru blok ısıtıcıdan alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve üzerlerine 750 µL kloroform/izoamil alkol (24:1 w/w) eklenerek 10 dakika boyunca yavaşça ters çevrilmiş ve 12000 g'de 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Süpernatantlar temiz 1,5 mL'lik santrifüj tüplerine aktarılmış ve DNA'ı çöktürmek için 0,6 hacim soğuk izopropanol eklenmiştir. 12000 g'de 5 dakika santrifüj işlemi uygulandıktan sonra, süpernatant uzaklaştırılmış ve pelletler 2 kez %70'lik soğuk etanolle yıkanmış ve oda sıcaklığında 30 dakika kurutulmuştur. Elde edilen DNA, 200 µl steril ultra saf su içinde çözülerek, konsantrasyonu DS-11 FX Serisi Spektrofotometre (Denovix Inc., Wilmington, DE, ABD) ile ölçülmüş ve PCR çalışmaları için 40 ng/µL'ye ayarlanmıştır.

3.2.5. iPBS analizi

Genetik tür farklılıklarını değerlendirmek amacıyla, izolatlar ilk olarak iPBS markır sisteminden alınan iPBS2395 primeri ile üretilen ampikonların DNA profillemesiyle karakterize edilmiştir [45]. Bu amaçla PCR amplifikasyonları, önerilen annealing sıcaklıklarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, amplifikasyonlar, 2,5 µL 10× PCR reaksiyon tamponu, her primerden 0,24 µM, 50 ng şablon DNA, her dNTP'den 200 µM ve 0,8 ünite *Taq* DNA polimeraz içeren 25 µL hacimde hazırlanmıştır. Amplifikasyon koşulları şu şekildedir: Başlangıçta 94°C'de 3 dakika, ardından 94°C'de 30 saniye, annealing sıcaklığında 30 saniye ve son olarak 72°C'de 2 dakika süren 35 döngü yapılmıştır. Son döngüde ise 72°C'de 10 dakikalık bir süre uygulanmıştır. iPBS amplifikasyonları, Kalendar ve ark. [45] belirttiği protokollere uygun olarak Dream *Taq* DNA polimeraz (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon ürünleri, %1,4'lük agaroz jelde elektroforeze tabi tutulmuş ve etidyum bromür boyaması sonrasında Syngene tarafından üretilen G: Box F3 Jel Dokümantasyon Sistemi (Cambridge, İngiltere) ile görüntülenmiştir. Buradan benzer profil veren izolatlardan temsili izolatlar seçilerek sekans analizi gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. *TEF-1* PCR Reaksiyonu

Genomik DNA'nın *TEF1* lokusunu çoğaltmak için, O'Donnell ve ark. [53] tarafından ise EF1 (5'-ATG GGT AAG GAR GAC AAG AC-3'), EF2 (5'-GGA RGT ACC AGT SAT CAT G-3') primerleri kullanılmıştır.

TEF1 bölgesini amplifikasyonu için termal cyclus programı şu şekildedir: 94°C'de ilk denatürasyon adımı için 3 dakika, ardından 94°C'de 60 saniye, 54°C'de 45 saniye ve 72°C'de 1 dakika ile 35 döngü ve 72°C'de 10 dakikalık bir uzatma ile sonlanmıştır.

3.2.7. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünleri, %1'lik agaroz jel içinde 0,5× Tris-borat-EDTA (TBE) tampon solüsyonunda 90 voltla 60 dakika boyunca elektroforetik ayrımına tabi tutulmuştur.

Agaroz jele 10 µL PCR ürünü yüklenerek yaklaşık 1 saat elektriksel alanda elektroforetik ayrımına tabi tutulmuş ve 15-20 dakika etidyumbromür içeren solüsyonda bekletilerek bir G:BOX F3 jel görüntüleme sistemi (Syngene, Cambridge, İngiltere) yardımı ile jelin fotoğrafı çekilmiştir.

Elektroforez sonucunda bantların varlığı belirlenen ürünlerin geri kalan 30 µL'si, üretici talimatlarına göre Wizard SV Gel ve PCR Temizleme Sistemi (Promega,

Madison, WI, ABD) ile saflaştırılarak ve ticari bir şirket (MacroGen Inc., Seoul, Kore) tarafından çift yönlü sekanslamaya tabi tutulmuştur.

3.2.8. Veri Analizleri

DNA dizileri düzenlenmiş ve konsensüs dizileri, hesaplama platformlarında MEGA7: Moleküler Evrimsel Genetik Analizi kullanılarak manuel olarak hesaplanmıştır. Tüm diziler, BLASTn algoritması kullanılarak Ulusal Biyoteknolojik Bilgi Merkezi olan GenBank veri tabanı ile karşılaştırılmış olup ve her tür için temsili izolatlar GenBank'ta kaydedilmiştir. *Fusarium* izolatları ve diğer izolatlar, sırasıyla *TEF1* dizilerine dayalı olarak filogenetik olarak analiz edilmiştir. Ek referans dizileri ile bu çalışmadan elde edilen izolatlar MAFFT v.7 çevrimiçi arayüzünde (<http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) kullanılarak hazırlanmıştır. Varsayılan ayarlar MEGA 7 ile manuel olarak düzenlenmiştir. Maximum likelihood (ML) gen ağaçları, IQ-TREE 1.6.7'nin komut satırı sürümü kullanılarak *Fusarium* türleri için *TEF1* veri kümeleri için ayrı ayrı çıkarılmıştır. Elde edilen ağaçlar FigTree v1.4.2 yazılımında analiz edilerek düzenlenmiştir. *Ilyonectria crassa* suşu CBS 158.31'un sekansları konsensüs ağaçlarının üretimini kolaylaştırmak için dış gruplar olarak eklenmiştir.

3.2.9. Patojenite testi

Kuru Çürüklük hastalığı belirtisi gösteren patates yumrularından izole edilen *Fusarium* spp.'ne ait izolatların patojenitelerini tespit etmek amacıyla, her türe ait izolatlar arasından tesadüfi olarak 21 izolat seçilmiş ve bölgede yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan "Soraya" patates çeşidine ait sağlıklı yumrular kullanılarak patojenite denemesi yapılmıştır. Yumruların mümkün olduğunca homojen büyüklükte olmasına dikkat edilmiştir.

Öncelikle yumrular topraklarından arındırılması amacıyla akan musluk suyu altında yıkanmıştır, daha sonra %1'lik sodyum hipokloritte 5 dakika tutulmuştur ve ardından 3 kez steril saf sudan geçirilmiştir (Fotoğraf 3.5). Kurutulan yumruların üzerinde cork borer (mantar delici) ile 4 mm çapında ve 10 mm derinliğinde yara açılmıştır. Her bir *Fusarium* türünü temsilen seçilen eden izolatlar, 6 cm çaplı Petri kaplarındaki PDA besi ortamında 5 gün geliştirilmiş ve taze *Fusarium* misellerini içeren 4 mm çaplı agar parçaları, misel kısmı dokuya temas edecek şekilde yaralara inokule edilmiştir. Kontrol

olarak kullanılan yumrulara taze PDA parçaları yerleştirilmiştir. Uygulama yapılmış yumrular (Fotoğraf 3.6) plastik meyve viollerine yerleştirilmiş ve kenarlarına nemli steril pamuk yerleştirildikten sonra polietilen poşetler içinde 28 gün, $20\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır (Fotoğraf 3.7). İnkübasyon süresi sonunda yumrular lezyonlu kısımlarda ikiye bölünerek, lezyonun eni ve lezyon derinliğini ölçülmüştür. Ayrıca Koch's postulatını doğrulamak amacıyla, inokulasyon yapılan yumrulardan reizolasyonlar yapılmıştır. Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 tekerrürlü olarak yapılmıştır.



Fotoğraf 3.5. Patojenite testinde kullanılan patates yumruları



Fotoğraf 3.6. Patojenite testinin aşamaları



Fotoğraf 3.7. İnkübasyona bırakılan patates yumruları

3.2.10. İstatistiki analiz

Elde edilen tüm verilerin istatistik analizleri SPSS istatistik program (version 25, Property of SPSS, Inc., IBM Company, ABD)'ı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ayrı ayrı tek yönlü varyans analizine tabi tutularak, ortalamalar Tukey-HSD karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır ($P < 0,05$).

BÖLÜM IV

4. BULGULAR

4.1. Örnek alınan patates depolarında tespit edilen *Fusarium* türleri

Oş bölgesi Nookat, Alay, Çon-Alay ve Kara-Su ilçelerinde 2023 yılı hasat sonrasında 34 depoda yapılan sörvey çalışmaları sonucunda 170 hastalıklı patates yumrusu toplanmıştır. Örnek alınan tüm patates depolarında Kuru Çürüklük hastalığına rastlanılmış olup, depoların genellikle adi depo şeklinde olduğu, modern bir depo şeklinde olmadığı, çoğunun üreticinin kendi evinin bir odası ya da kazılan toprak zeminli kuyu şeklinde olduğu, patateslerin genellikle toprak zeminiyle temas ederek depolandığı görülmüştür (Fotoğraf 4.1). Gezilen tüm depolar içinde sadece Nookat ilçesindeki 2 depoda patateslerin altında tahta palet olan çuvallarda saklandığı görülmüştür.

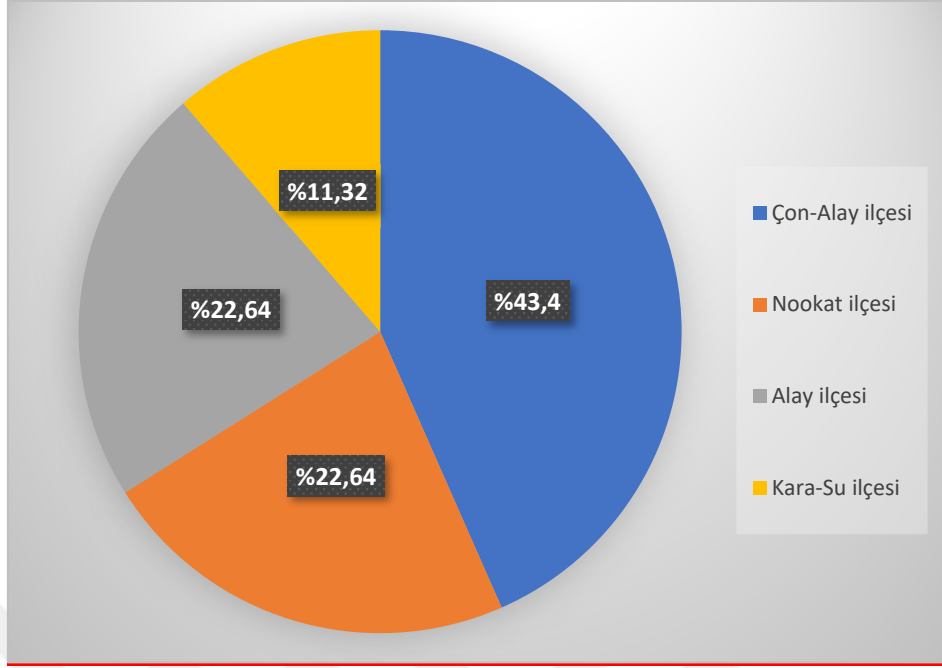
Yapılan izolasyonlar sonucunda hastalıklı yumrulardan toplam 53 *Fusarium* izolatı elde edilmiştir. Morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılan teşhis çalışmaları sonucunda, elde edilen tüm izolatlar arasında %50,94'lik oranla *F. sambucinum* en fazla izole edilen tür olmuştur. Bunu *F. oxysporum* (%16,98), *F. flocciferum* (%11,32), *F. equiseti* (%9,43), *F. proliferatum* (%5,66), *F. acuminatum* (%3,77) ve *F. solani* (%1,89) izlemiştir (Tablo 4.1). Yapılan izolasyonda *F. acuminatum* sadece Çon-Alay ilçesinden, *F. solani* ise tek Alay ilçesinden izole edilmiştir. *Fusarium* spp.'nin ilçelere göre dağılımına bakıldığında en fazla izolat %43,4'lük oran ile Çon-Alay ilçesinden elde edilmiştir. Bunu aynı oranla Nookat (%22,64) ve Alay (%22,64), daha sonra da %11,32 ile Kara-Su izlemiştir (Şekil 4.1).



Fotoğraf 4.1. Oş bölgesinde hasat sonrası patateslerin depolandığı alanlar

Tablo 4.1. Oş ilçesine bağlı ilçelerde hastalıklı patateslerden elde edilen *Fusarium* spp.'ne ait izolat sayıları ve bulunuş oranları

Tespit edilen <i>Fusarium</i> spp.	Elde edilen izolat sayısı				Toplam	Tüm izolatlar içindeki bulunuş oranı (%)
	Nookat	Alay	Çon-Alay	Kara-Su		
<i>F. acuminatum</i>	-	-	2	-	2	3,77
<i>F. equiseti</i>	3	-	1	1	5	9,43
<i>F. flocciferum</i>	-	4	-	2	6	11,32
<i>F. oxysporum</i>	7	1	1	-	9	16,98
<i>F. proliferatum</i>	2	1	-	-	3	5,66
<i>F. sambucinum</i>	-	5	19	3	27	50,94
<i>F. solani</i>	-	1	-	-	1	1,89
Toplam	12	12	23	6	53	100,00

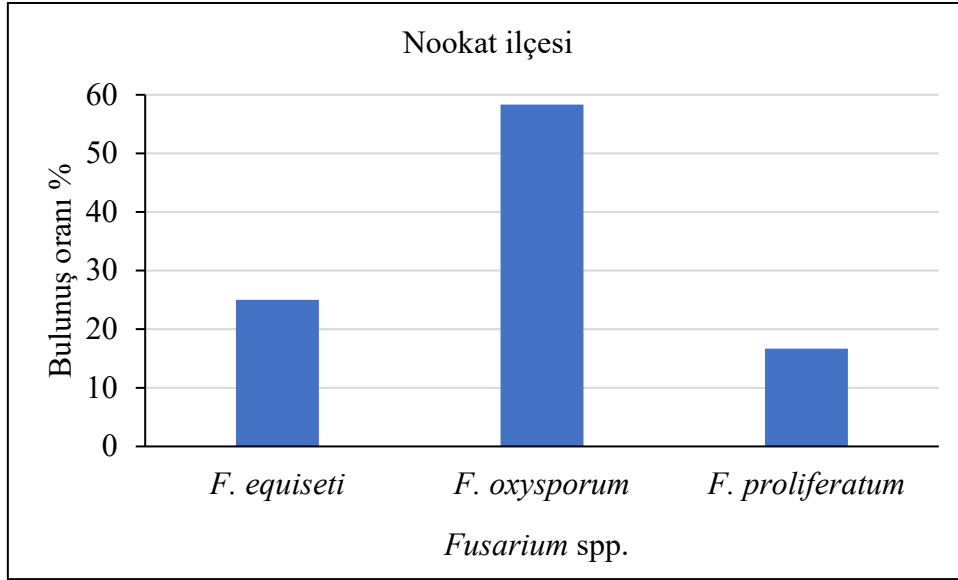


Şekil 4.1. Elde edilen *Fusarium* türlerinin ilçelere göre dağılımı

Nookat ilçesine bağlı Aybek, Kötörmö, Gülistan, Kara-oy, Canı-Nookat ve Kaşkaldak köylerinde toplamda 10 depoda sorvey çalışması yapılmıştır. Hastalıklı patates yumrularından yapılan izolasyonlarda 3 *Fusarium* türüne ait toplam 12 izolat elde edilmiştir. Yapılan sorveylerde elde edilen izolatların dağılımına bakıldığında en fazla izolat Kötörmö köyünden elde edilmiştir. *F. proliferatum* sadece Kaşkaldak köyünde tespit edilmiştir (Tablo 4.2). Elde edilen tüm izolatlar arasında en fazla izole edilen tür %58,33'lik oranla *F. oxysporum* olmuştur. Bunu %25'lik oranla *F. equiseti* %16,67'lik oranla *F. proliferarum* takip etmiştir (Şekil 4.2).

Tablo 4.2. *Fusarium* türlerinin Nookat ilçesindeki dağılımı

<i>Fusarium</i> spp.	Köyler						Toplam izolat
	Aybek	Kötörmö	Gülistan	Kara-Oy	Canı-Nookat	Kaşkaldak	
<i>F. equiseti</i>	-	-	1	1	1	-	3
<i>F. oxysporum</i>	2	4	-	-	-	1	7
<i>F. proliferatum</i>	-	-	-	-	-	2	2
Toplam	2	4	1	1	1	3	12

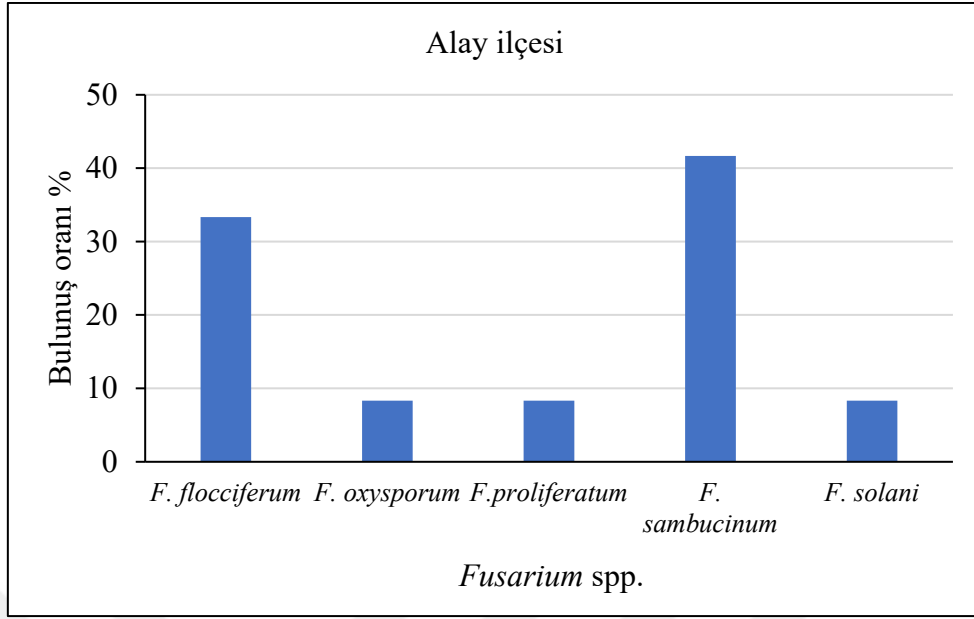


Şekil 4.2. Nookat ilçesinde *Fusarium* türlerinin bulunuş oranları

Alay ilçesine bağlı Coşolu, Kabılan-Köl, Korul, Taş-Koro, Budalık ve Canı-Arık köylerinde toplam olarak 9 depoda sörvey çalışması yapılmıştır. Hastalıklı patates yumrularından yapılan izolasyonlarda 5 *Fusarium* türüne ait toplam 12 izolat elde edilmiştir (Tablo 4.3). *F. proliferatum* ve *F. oxysporum* türleri sadece Coşolu köyünde, *F. solani* ise sadece Korul köyünde bulunmuştur. Elde edilen tüm izolatlar arasında en fazla izole edilen türler %41,67'lik oranla *F. sambucinum* olmuştur. Bunu *F. flocciferum* (%33,34) ve diğer 3 tür (*F. proliferatum*, *F. oxysporum* ve *F. solani*) (%8,33) takip etmiştir (Şekil 4.3).

Tablo 4.3. *Fusarium* türlerinin Alay ilçesindeki dağılımı

<i>Fusarium</i> spp.	Köyler						Toplam izolat
	Coşolu	Kabılan-Köl	Korul	Taş-Koro	Budalık	Canı-Arık	
<i>F. flocciferum</i>	-	2	-	1	-	1	4
<i>F. oxysporum</i>	1	-	-	-	-	-	1
<i>F. proliferatum</i>	1	-	-	-	-	-	1
<i>F. sambucinum</i>	-	-	1	1	2	1	5
<i>F. solani</i>	-	-	1	-	-	-	1
Toplam	2	2	2	2	2	2	12

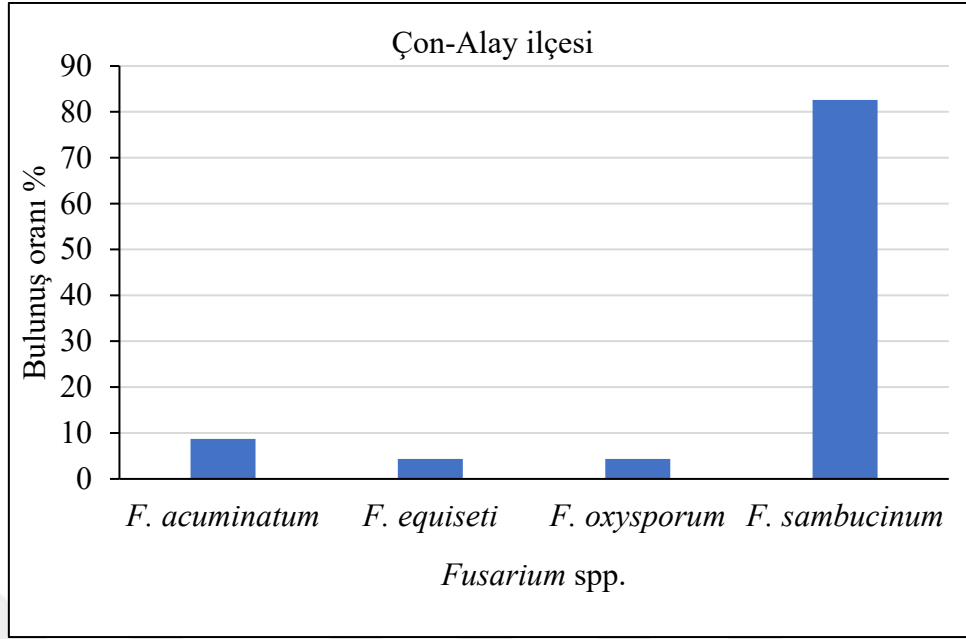


Şekil 4.3. Alay ilçesinde *Fusarium* türlerinin bulunuş oranları

Çon-Alay ilçesine bağlı Karamık, Carbaşı, Kaşka-Su, Açık-Su, Cayılma ve Daroot-Korgon köylerinde toplamda 10 depoda sörvey yapılmıştır. Hastalıklı patates yumrularından yapılan izolasyonlarda 4 *Fusarium* türüne ait toplam 23 izolat elde edilmiştir. Çon-Alay ilçesinden elde edilen izolatların dağılımına bakıldığında en fazla izolat Cayılma köyünden elde edilmiştir (Tablo 4.4). Elde edilen tüm izolatlar arasında en fazla izole edilen türler %82,6'lık oranla *F. sambucinum* olmuştur. Bunu *F. acuminatum* (%8,7), *F. oxysporum* (%4,35) ve *F. equiseti* (%4,35) takip etmiştir (Şekil 4.4). *F. sambucinum* tüm köylerdeki depolarda bulunmuştur.

Tablo 4.4. *Fusarium* türlerinin Çon-Alay ilçesindeki dağılımı

<i>Fusarium</i> spp.	Köyler						Toplam izolat
	Karamık	Carbaşı	Kaşka-Su	Açık-Su	Cayılma	Daroot-Korgon	
<i>F. acuminatum</i>	-	-	-	-	2	-	2
<i>F. equiseti</i>	-	-	-	-	-	1	1
<i>F. oxysporum</i>	-	-	-	-	1	-	1
<i>F. sambucinum</i>	5	2	4	3	3	2	19
Toplam	5	2	4	3	6	3	23

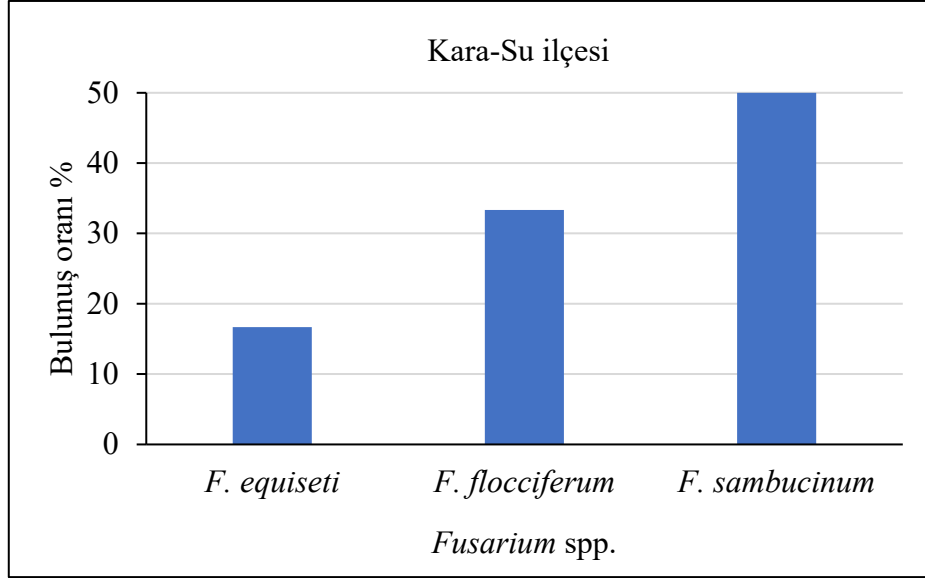


Şekil 4.4. Çon-Alay ilçesinde *Fusarium* türlerinin bulunuş oranı

Kara-Su ilçesinde Algabas, Taldık ve Langar köylerinde toplam olarak 5 depoda sörvey yapılmıştır. Hastalıklı patates yumrularından yapılan izolasyonlarda 3 *Fusarium* türüne ait toplam 6 izolat elde edilmiştir (Tablo 4.5). Elde edilen tüm izolatlar arasında en fazla izole edilen tür %50'lik oranla *F. sambucinum* olmuştur. Bunu *F. flocciferum* (%33,33) ve *F. equiseti* (%16,67) takip etmiştir (Şekil 4.5).

Tablo 4.5. *Fusarium* türlerinin Kara-Su ilçesindeki dağılımı

<i>Fusarium</i> spp.	Köyler			Toplam izolat
	Algabas	Taldık	Langar	
<i>F. equiseti</i>	-	1	-	1
<i>F. flocciferum</i>	-	1	1	2
<i>F. sambucinum</i>	3	-	-	3
Toplam	3	2	1	6



Şekil 4.5. Kara-Su ilçesinde *Fusarium* türlerinin bulunuş oranı

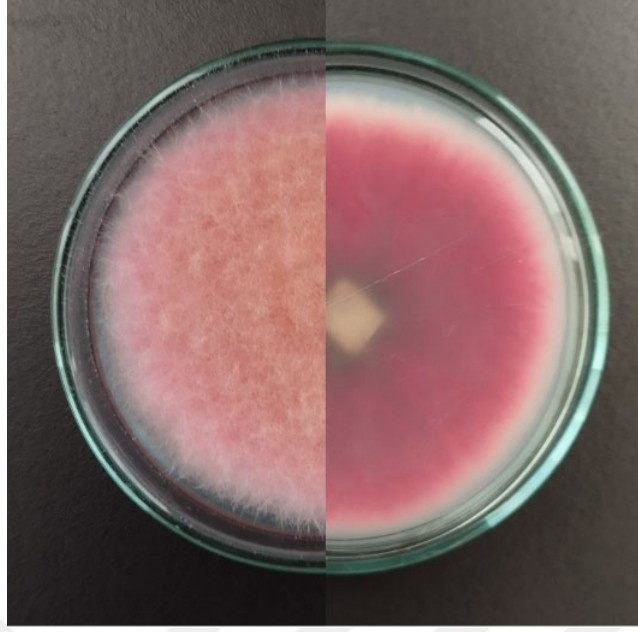
4.2. *Fusarium* spp.’nin Kültürel ve Morfolojik Özellikleri

4.2.1. *Fusarium acuminatum* Ellis & Everhart

Eşeyli dönemi: *Gibberella acuminata* Wollenweber.

Sinonimleri: *Fusarium acuminatum* ssp. *acuminatum*, *Fusarium scirpi* var. *acuminatum*, *Fusarium scirpi* ssp. *acuminatum*, *Fusarium gibbosum* var. *acuminatum*

PDA’da nispeten yavaş gelişen türdür. Koloni rengi değişebilir, beyazımsı, pembemsi (Fotoğraf 4.2), bazen kan kırmızımsı, mor, soluk turuncu, daha sonra sarı olabilir. Alt koloniler kırmızımsı bir renk alır. Apikal hücresi sivri ve bazal hücresi belirgin saplı (Fotoğraf 4.3), makrokonidiler tipik olarak 5 bölmeli olup, 3-4 bölmeli olabilir ve klamidospore oluşumu gözlenir. Yapılan ölçümlerde 3-5 bölmeli makrokonidiler $25,5-53,5 (42,2) \times 2,7-4,6 (3,8) \mu\text{m}$ ’dir.



Fotoğraf 4.2. *Fusarium acuminatum*'un PDA'daki gelişimi

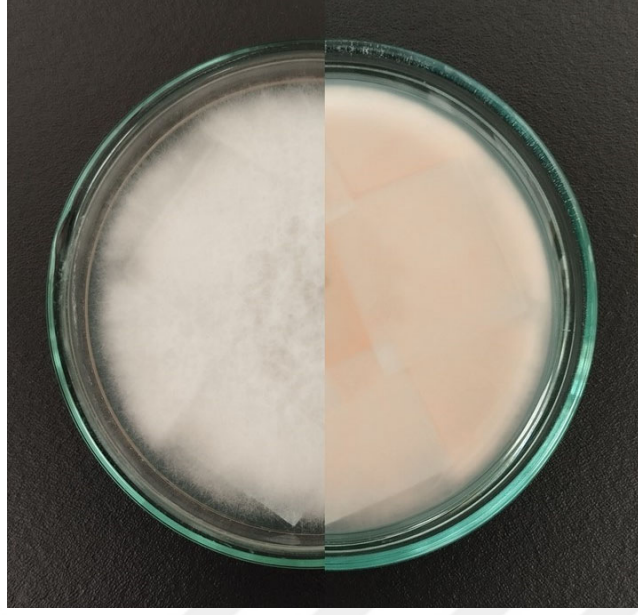


Fotoğraf 4.3. *Fusarium acuminatum*'un makrokonidileri

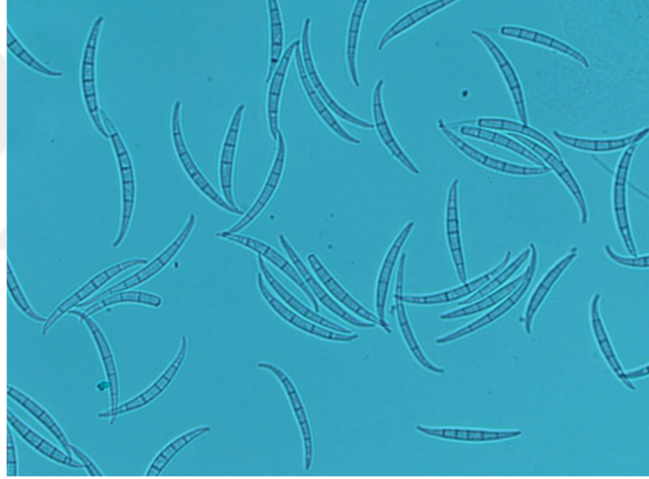
4.2.2. *Fusarium equiseti* (Corda) Saccardo

Eşeyli dönemi: *Gibberella intricans* Wollenweber.

Bol miktarda havalı misel oluşturur, önce beyazdır (Fotoğraf 4.4) gittikçe kahverengiye dönüşür. Spor kütleleri soluk turuncudan koyu kahverengiye kadar olabilir. Koloninin agar ile temas ettiği yerde soluk kahverengiden koyu kahverengine kadar bir pigment oluşturur. Ölçümleri yapılan 4-5 bölmeli makrokonidilerin boyutları 26,2-45,4 (35,7) $\times$ 2,9-5,5 (3,9) μm 'dir (Şekil 4.5).



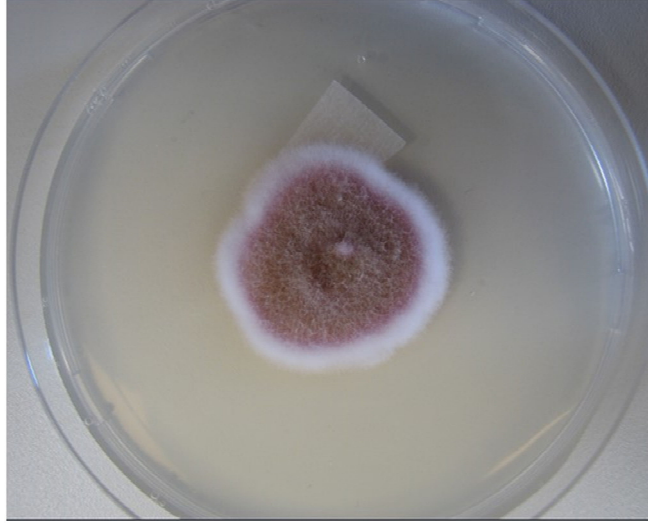
Fotoğraf 4.4. *Fusarium equiseti*'nin PDA'daki gelişimi



Fotoğraf 4.5. *Fusarium equiseti*'un makrokonidileri

4.2.3. *Fusarium flocciferum*

Koloninin yüzeyi merkezde soluk pembe bej, kenarlara doğru pembe ve beyaza kadar değişir (Fotoğraf 4.6). Agarda kırmızı pigment üretir. Makrokonidler 3-5 septalı (Fotoğraf 4.7) olup düz, kavisili şekilde, ayak şekilli bazal hücreli makrokonidileri üretir. 0-1 septalı mikrokonidileri oluşturabilir.



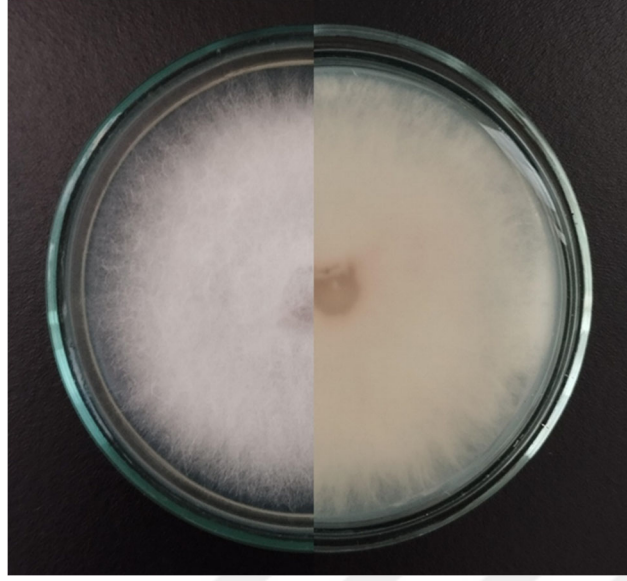
Fotoğraf 4.6. *Fusarium flocciferum*'un PDA'daki gelişimi



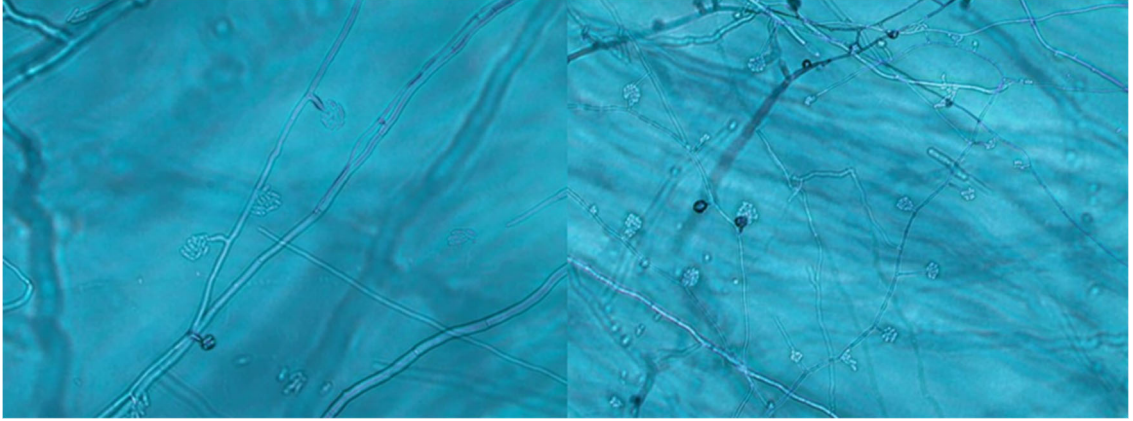
Fotoğraf 4.7. *Fusarium flocciferum*'un makrokonidileri

4.2.4. *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen

Koloni PDA'da oldukça hızlı gelişir, ortamında bol miselyumlar oluşturur, kültür rengi beyazdan koyu mor veya menekşe rengine kadar değişebilir (Fotoğraf 4.8). Makrokonidi ve mikrokonidi oluşumu görülür. Kısa zincir şeklinde phialidler oluşurlar. Yapılan ölçümlerde bölmesiz mikrokonidiler; $3,6-10,1 (6,3) \times 1,7-3,2 (2,4) \mu\text{m}$ 'dir (Fotoğraf 4.9). Üç bölmeli makrokonidiler; $18,2-35,9 (24,9) \times 2,2-5,2 (3,5) \mu\text{m}$ 'dir.



Fotoğraf 4.8. *Fusarium oxysporum*'un PDA'daki gelişimi



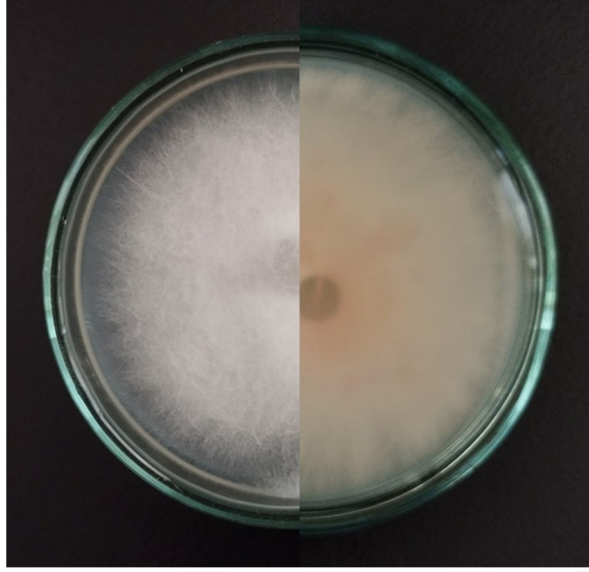
Fotoğraf 4.9. *Fusarium oxysporum*'un kısa fialitleri ve mikrokönidileri

4.2.5. *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg

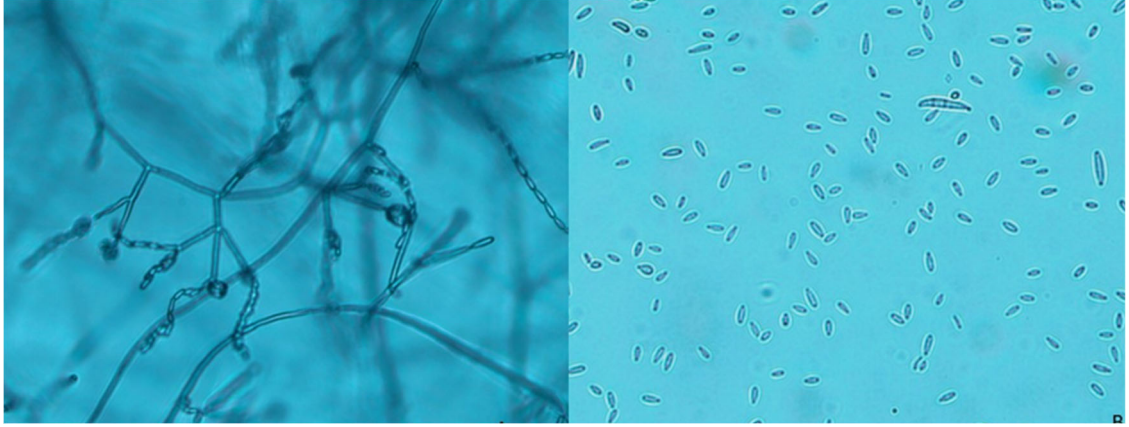
Eşeyli Dönemi: *Gibberella intermedia* (Kuhlman) Samuels, Nirenberg & Seifert.

Sinonimleri: *Gibberella fujikuroi*, *Gibberella fujikuroi* var. *intermedia*.

Koloniler PDA'da hızlı gelişip, beyaz yığın halinde havai misel oluşturur. Kültür rengi beyaz (Fotoğraf 4.10), soluk pembe, deve tüyü rengi, gittikçe griden lilaya, turuncudan kahverengiye kadar farklı olabilir. Mikrokönidiler genellikle tek hücrelidir (Fotoğraf 4.11). Onlar kısa zincir şeklinde fialitlerin üzerinde oluşurlar. Makrokönidiler orak şeklinde, az oluşur. Ayak hücre iyi gelişen olup, genellikle 3-5 bölmelidir. Klamidospor oluşturmaz. Yapılan ölçümlerde 0 bölmeli mikrokönidiler; $3,7-9,8 (6,2) \times 1,4-2,8 (2,0) \mu\text{m}$ 'dir.



Fotoğraf 4.10. *Fusarium proliferatum*'un PDA'daki gelişimi

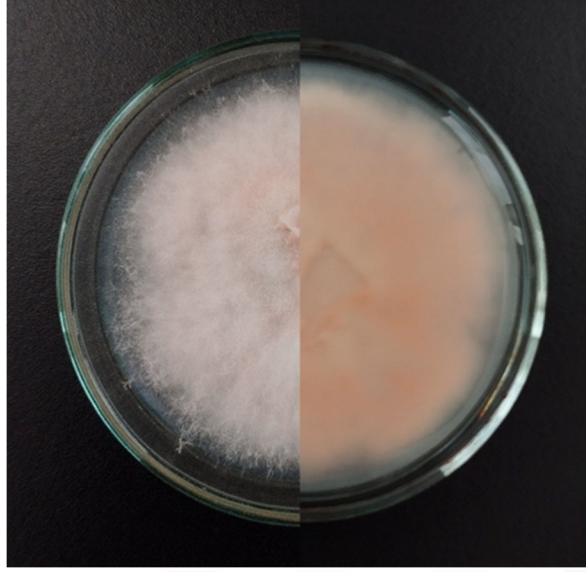


Fotoğraf 4.11. *Fusarium proliferatum*'un mikrokonidileri

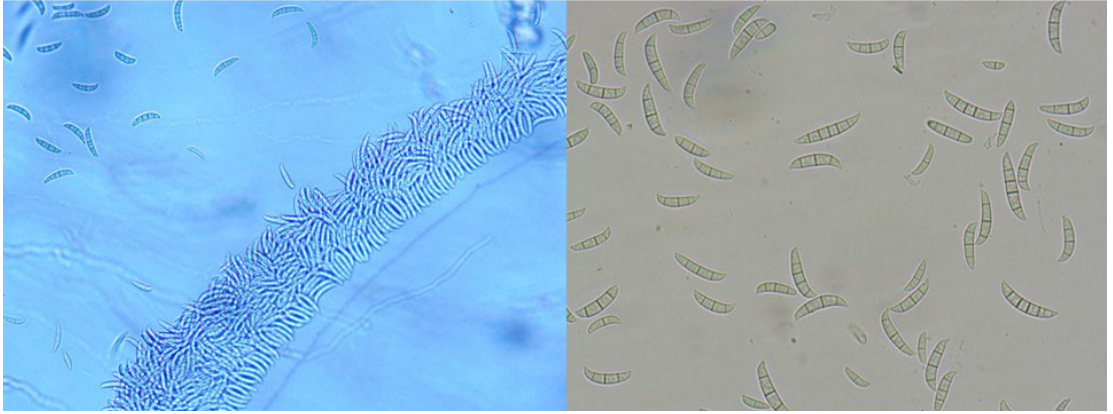
4.2.6. *Fusarium sambucinum* Fückel

Sinonimleri: *Fusarium fusarioides* (Gonz. Frag. & Cif.) *Fusarium sporotrichioides* var. *chlamydosporum* (Wollenweber & Reinking)

Koloni PDA'da hızlı gelişir, açık turuncu, pembemsi, kıvılcımsı renklere, havai miselleri oluşturur (Fotoğraf 4.12). Kültürde daha çok makrokonidi oluşumu görülse de mikrokonidi oluşumu da vardır. Makrokonidiler kavisli, mızrak şeklinde ve sivri bir tepe noktasına sahiptir. Yapılan ölçümlerde 3-4 bölmeli makrokonidiler; 18,5-40,3(30,4) × 3,2 6,4 (4,9) µ'dir (Fotoğraf 4.13).



Fotoğraf 4.12. *Fusarium sambucinum* 'un PDA'daki gelişimi



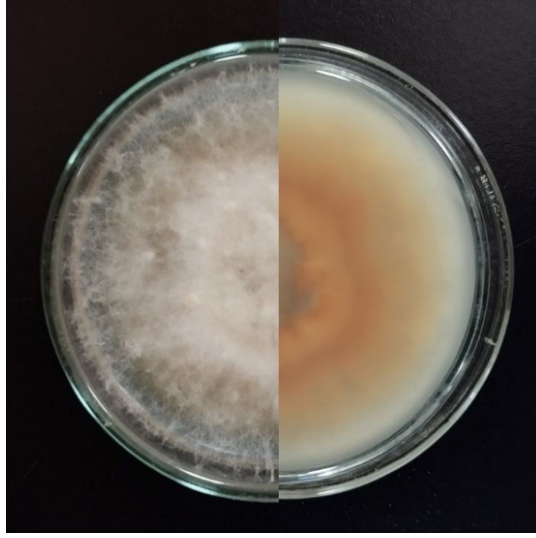
Fotoğraf 4.13. *Fusarium sambucinum*'un makrokonidileri

4.2.7. *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen

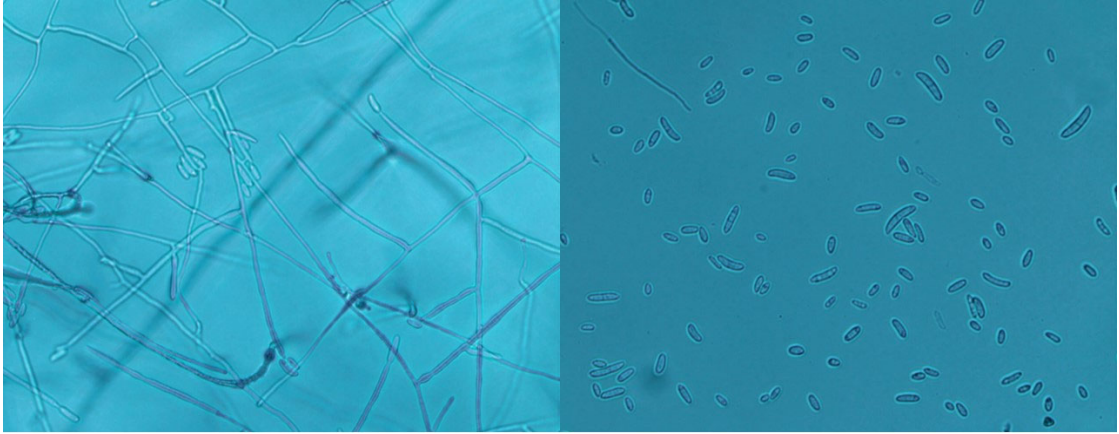
Eşeyli dönemi: *Haemanectria haematococca* (Berk. & Broome) Samuels & Nirenberg

Sinonimi: *Nectria haematococca* (Berk. & Broome)

Koloni PDA'da hızlı gelişir ve havai miselyum seyrek gözlenebilir. Koloni krem, devetüyü rengi veya grimsi beyaz olmaktadır (Fotoğraf 4.14). Genellikle 3 bölmeli olan makrokonidiler hafif eğik, elipsoid, oval veya silindirik şekilde oluşmaktadır. Mikrokonidiler septasız ya da bazen bölmeli olabilir (Fotoğraf 4.15), Terminal veya interkalar şeklinde oluşan klamidosporeler küre ve oval seklindedir. Yapılan ölçümlerde bölmesiz mikrokonidiler $8,0-20,7$ ($12,3$) $\times$ $2,5-4,5$ ($3,6$) μm 'dir.



Fotoğraf 4.14. *Fusarium solani*'nin PDA'daki gelişimi



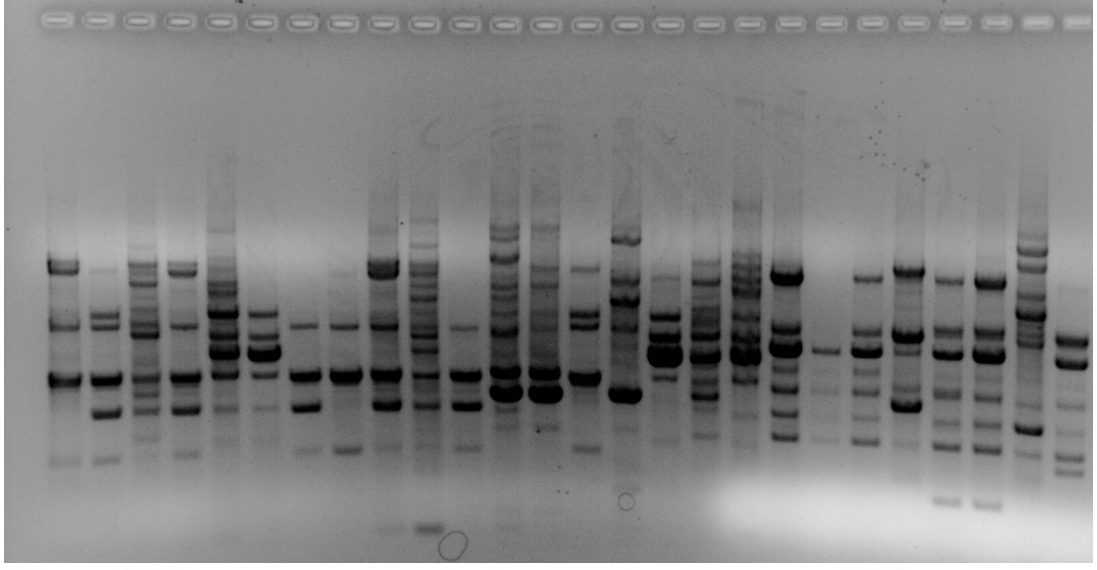
Fotoğraf 4.15. *Fusarium solani*'nin makro ve mikro konidileri

4.3. Moleküler Karakterizasyon

4.3.1. DNA İzolasyonu, Sekans verileri ve filogenetik ağaç oluşturulması

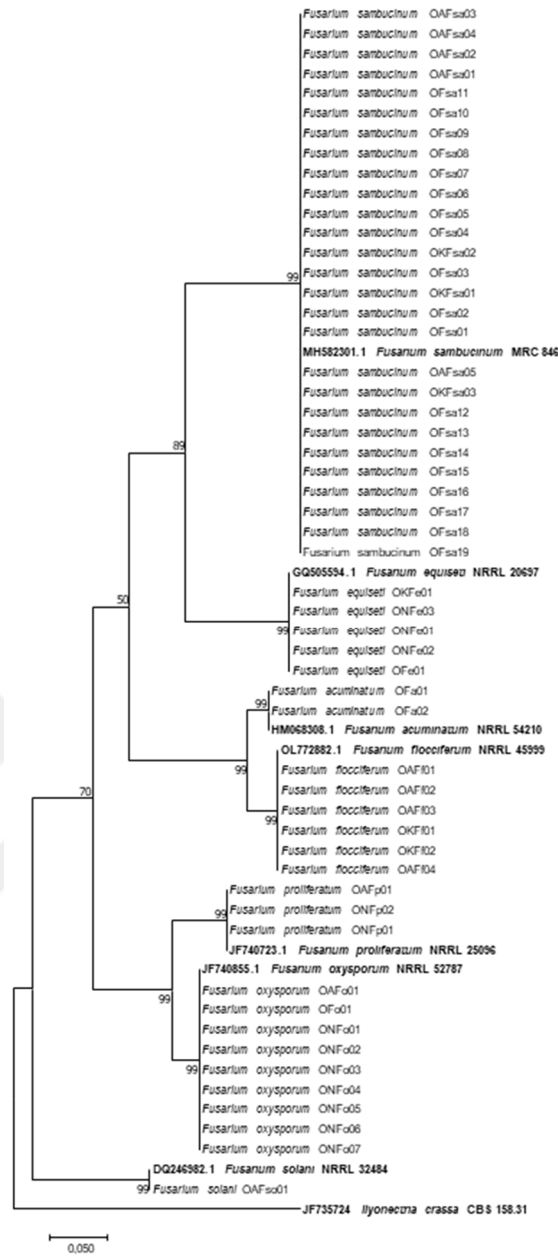
Elde edilen tüm izolatların iPBS2395 primeri ile DNA profillemesi gerçekleştirilmiştir. Buna göre farklı türe ait izolatların farklı ampikon profilleri verdiği izlenmiştir (Şekil 4.6).

Ayrıca sekans analizi için izolatlar PCR amplifikasyonu sonucu *TEF1* bölgesi çoğaltılarak 700-750 bp arasında değişen DNA fragmanları üretilmiştir. *TEF1* bölgelerine dayanan BLASTn sorguları, tüm *Fusarium* izolatların sekanslarının GenBank veritabanındaki türlerle %99-100 benzerlik olduğunu göstermiştir. Elde edilen tüm sekanslar, PP795981- PP796033 erişim numaraları ile GenBank'ta kaydedilmiştir.



Şekil 4.6. Çalışmada elde edilen izolatlara ait iPBS2395 primeri ile elde edilen DNA profillerine ait agaroz jel görüntüsü

İzolatların TEF1 bölgelerinin kısmi dizilerine dayalı filogenetik analizler GenBank'ta mevcut olan aynı türe ait referans izolatlar ile filogenetik ağaçta net bir şekilde gruplandığını göstermiştir (Şekil 4.7). Moleküler karakterizasyon sonucu iPBS profilleri ile sekans analizleri sonucu üretilen filogenetik analizdeki dağılımda oldukça yüksek bir korelasyon bulunmuştur.



Şekil 4.7. Maksimum Likelihood yöntemi kullanılarak oluşturulan *Fusarium* izolatlarının *TEF1* dizileri kullanılarak filogenetik ağacı. *Fusarium* türlerinin *TEF1* dizileri

4.4. Patojenite Testi Sonuçları

Oş bölgesinde patates yetiştirilen alanlarda yapılan sörveyler sonucunda toplanan ve hastalıklı yumrularдан elde edilen fungal izolatlar arasında 21 izolat seçilmiş ve patojenite testinde kullanılmıştır. Hastalık değerlendirmesi için 28 günlük inkübasyon süresi sonunda yumrulardaki lezyon alanları ölçülmüştür ve Tablo 4.6.'da verilmiştir.

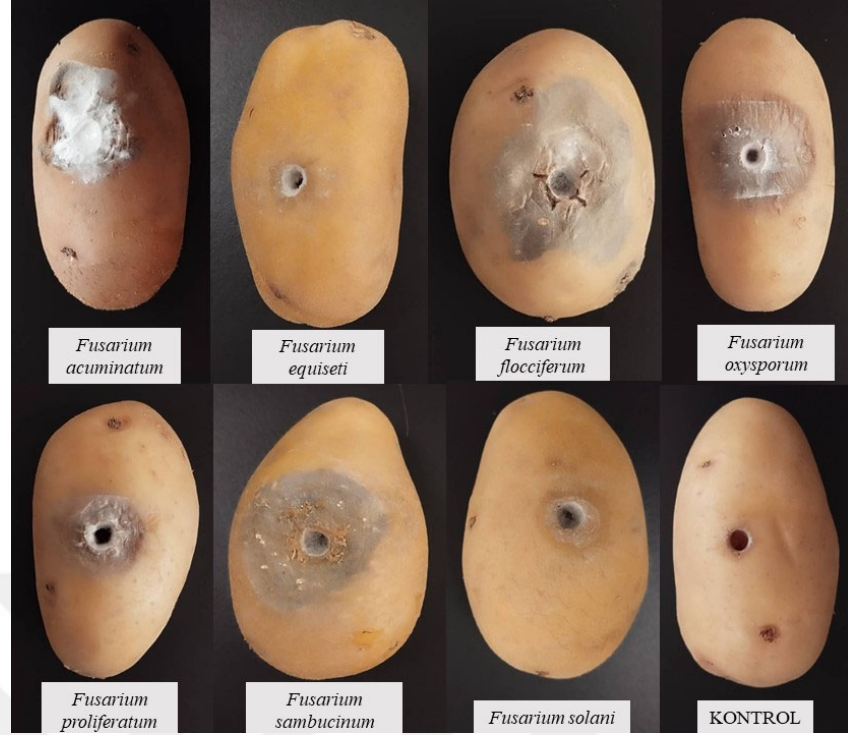
Tablo 4.6. *Fusarium* izolatlarının patates yumrularında lezyon oluşumu üzerine etkileri

<i>Fusarium</i> spp.	İzolat	Lezyon (cm)
<i>F. acuminatum</i>	OÇFa01	1,4000 *ef**
<i>F. acuminatum</i>	OÇFa02	0,9140 fg
<i>F. equiseti</i>	ONFe03	0,7000 g
<i>F. equiseti</i>	ONFe02	0,4400 gh
<i>F. flocciferum</i>	OAFf03	2,7300 bc
<i>F. flocciferum</i>	OAFf04	2,7700 bc
<i>F. oxysporum</i>	ONFo01	2,1900 cd
<i>F. oxysporum</i>	ONFo04	2,2200 cd
<i>F. oxysporum</i>	OÇFo01	3,1000 b
<i>F. oxysporum</i>	OAFo01	2,4200 cd
<i>F. proliferatum</i>	ONFp01	2,1600 cd
<i>F. proliferatum</i>	OAFp01	1,3860 ef
<i>F. proliferatum</i>	ONFp02	1,7900 de
<i>F. sambucinum</i>	OAFsa02	2,8200 bc
<i>F. sambucinum</i>	OÇFsa07	3,8100 a
<i>F. sambucinum</i>	OAFsa01	3,1600 ab
<i>F. sambucinum</i>	OÇFsa13	2,1900 cd
<i>F. sambucinum</i>	OKFsa03	2,6200 bc
<i>F. sambucinum</i>	OKFsa02	2,3600 cd
<i>F. sambucinum</i>	OÇFsa15	2,2000 cd
<i>F. solani</i>	OAFso01	0,5800 gh
Kontrol		0,0000 h

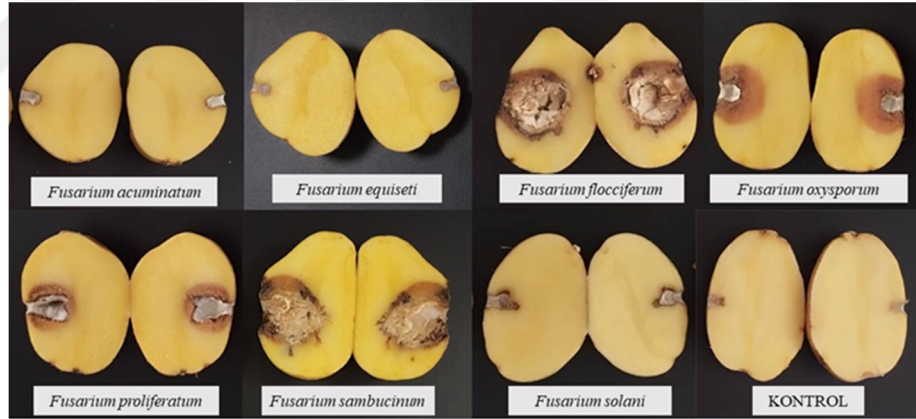
* Her patates yumrusunda oluşan lezyonun en ve boy (cm) ortalamasıdır.

** Tukey HSD karşılaştırma testine göre aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur (P<0,05).

Deneme sonuçlarına göre, kullanılan tüm izolatlar kontrol uygulamasına kıyasla değerlendirildiğinde aralarında lezyon oluşumu açısından istatistiksel olarak farklılıkların olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Patojenite denemesinde kullanılan farklı *Fusarium*



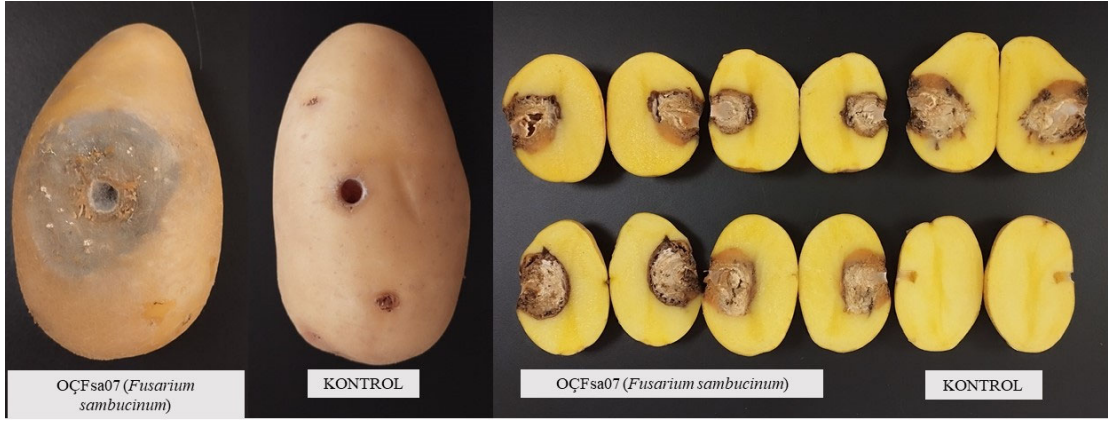
Fotoğraf 4.16. *Fusarium* spp.'nin patates üzerinde etkileri



Fotoğraf 4.17. *Fusarium* spp.'nin patates yumrusu içinde oluşturduğu lezyonlar

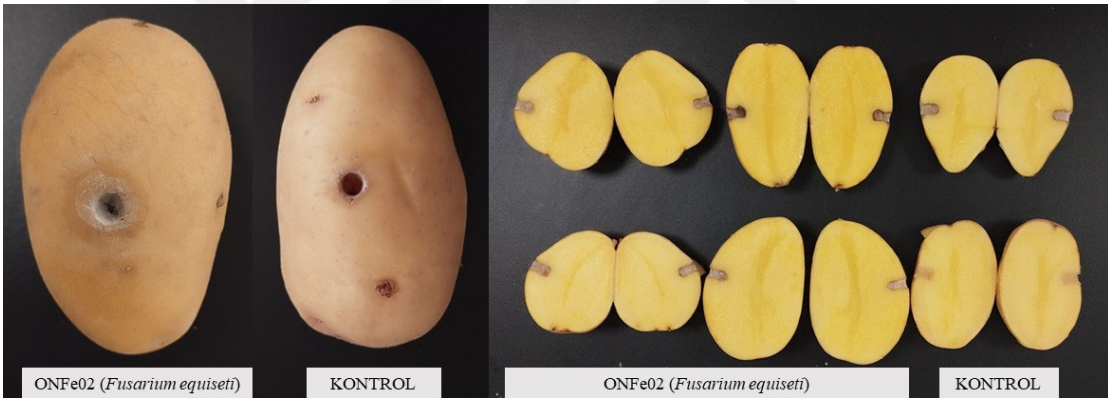
türlerine ait izolatlar farklı derecelerde patates yumrularında lezyon oluşturmuş ve sonuç olarak bazı türler yumrularında Kuru Çürüklük oluşumuna neden olmuştur (Fotoğraf 4.16). Yine Kuru Çürüklük belirtisi gösteren bu yumruların üzerinde çökük kahverengi-siyah lezyonlar, dokularda kararma, kuruma ve buruşmalar görülmüştür. Bazı izolatların buruşan alanlarda pamuksu beyaz misel kitlesi oluşturduğu ve yumru içerisine doğru çürümeye neden olduğu tespit edilmiştir (Fotoğraf 4.17). Patojenite testinde kullanılan *Fusarium* türleri arasında en virü lent izolat *F. sambucinum*'a ait OÇFsa07 olmuştur

(Fotoğraf 4.18).



Fotoğraf 4.18. Patates yumruları üzerinde virülensi yüksek OÇFsa07 izolatının etkisi

Yine, patojenite testinde kullanılan izolatlar arasında *F. equiseti*'ye ait iki izolat ONFe02 ve ONFe03'ün ise virülensliğinin düşük olduğu tespit edilmiştir (Fotoğraf 4.19).



Fotoğraf 4.19. Patates yumruları üzerinde virülensi düşük ONFe02 izolatının etkisi

4.5. Tartışma

Bu çalışmada, Oş bölgesi patates depolarında bulunan kuru çürüklük etmeni *Fusarium* türlerinin tespiti, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu ve bu türlerin patojeniteleri belirlenmiştir. Çalışmada Oş bölgesi en fazla patates yetiştiriciliği yapılan 4 ilçede (Nookat, Alay, Çon-Alay, Kara-Su) sörvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. *F. sambucinum* (%50,94) en fazla izole edilen tür olmuş, bu türü %16,98 oranla *F. oxysporum* izlemiştir. *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. flocciferum*, *F. proliferatum*, *F. solani*, izole edilen diğer türler olmuştur. Örnek alınan tüm patates depolarında Kuru Çürüklük hastalığına rastlanılmış olup, patateslerin depolarının genellikle adi depo şeklinde olduğu, üreticilerin kendi evinin bir odası ya da kazılan toprak zeminli kuyu şeklinde olduğu, patateslerin genellikle toprak zeminiyle temas ederek depolandığı görülmüştür. Bu da hastalığın her yıl bu görülmesine neden olmaktadır.

Elde edildiği *Fusarium* türlerinin hem morfolojik yapılarının hem de kültürdeki gelişme özelliklerinin literatür ile uyum içinde olduğu görülmüştür [12],[54],[41].

Kırgızistan'da depolanan patateslerde kuru çürüklüğe neden olan etmenlerin tanımlanması ile ilgili yapılan çalışmalar dünyada yapılan çalışmalara kıyasla oldukça azdır. Erper ve ark. [12] tarafından gerçekleştirilen araştırmada, Kırgızistan'ın Çüy bölgesinde bulunan patates depolarında *Fusarium* kuru çürüklüğü hastalığına *F. sambucinum*'un neden olduğunu tespit edilmiş ve bu Kırgızistan'da *F. sambucinum*'un neden olduğu patates Kuru Çürüklüğüne ilişkin ilk rapordur. Yaptığımız çalışmada elde edilen tüm izolatlar arasında %50,94'lik oranla *F. sambucinum* en fazla izole edilen tür olmuştur. Elde edilen türlerden biri olan *F. solani* ise en az izole edilen tür (%11,32) olarak belirlense de, Kırgızista'nın Narın bölgesinde yapılan bir çalışmada en sık izole edilen tür *F. solani* (%35,48) olmuştur. Bunu sırasıyla *F. sambucinum* (%29,03), *F. graminearum* (%12,90), *F. oxysporum* (%11,83) ve *F. verticillioides* (%10,75) izlemiştir. *F. sambucinum*'a ait izolatlar yüksek virülensli olmuş, *F. verticillioides* izolatlarının ise virülensinin düşük olduğu belirlenmiştir [41]. İran'da yapılan bir çalışmada patateslerde kuru çürüklüğe neden olan *Fusarium* spp. içerisinde *F. sulphureum* ve *F. solani* baskın türler olduğu ortaya konmuştur [54]. Sharifi ve ark. [25] tarafından yapılan çalışmada, Erdebil, Tahran ve Hamedan illerinden depolanmış kuru çürüklük belirtisi gösteren patates örnekleri toplanmıştır. Toplamda 208 izolat elde edilmiş ve bunlar arasında *Fusarium acuminatum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. solani*, *F. reticulatum* ve *F. verticillioides* gibi türler yer almıştır.

Fusarium sambucinum'un Kuzey Amerika ve Avrupa'da patates yetiştirilen birçok ülkede kuru çürüklük hastalığının ana patojeni olarak bildirilmiştir [55],[56]. Estrada ve ark. [16] yaptığı çalışmada patates Kuru Çürüklüğüne neden olan baskın *Fusarium* türleri arasında yüksek oranda *F. sambucinum* ve *F. avenaceum* türlerini tanımlanmışlardır. Yapılan başka bir çalışmada Çin'de farklı patates üretim alanlarında yapılan sörveylerde *F. sambucinum* ve *F. avenaceum* türleri dominant türler olarak bellirlenmiştir. *F. sambucinum* izolatları %56, *F. avenaceum* ise %30 oranlarında bulunmuştur [29]. ABD'de Michigan'da [43] kuru çürüklük belirtilerini gösteren tohumluk patates yumrularının incelenmesi sonucunda 11 *Fusarium* türü tespit edilmiştir. *F. oxysporum* en yaygın tür (%30,3) olarak bulunmuş ve bunu %19,3 ile *F. equiseti*, *F. sambucinum* ve *F. avenaceum*'un her ikisi izole edilen türlerin %13,6'sını oluşturarak takip etmiştir. Yıkılmazsoy [3] yaptığı çalışmada ise İzmir'de kuru çürüklüğe neden 4 *Fusarium* türü: *F. sambucinum*, *F. oxysporum*, *F. equiseti* ve *F. avenaceum* tanımlanmıştır. Elde edilen izolatların içinde en çok izole edilen tür *F. sambucinum* (%39,02) olup, onu *F. oxysporum* (%26,82), *F. avenaceum* (%19,51) ve *F. equiseti* (%14,63) takip etmiştir. Gachango ve ark. [19] yaptığı çalışmada *Fusarium*'un 11 türü elde edilmiş ve *Fusarium oxysporum* fazla izole edilen olup (%30,3), onu *F. equiseti* (%19,3) takip etmiştir. Üçüncü sırada aynı oranla *F. sambucinum* ve *F. avenaceum* yer almıştır (her biri %13,6).

Patojenite çalışmaların sonucunda ise *F. sambucinum* en virü lent tür olarak tespit edilmiştir [19]. Gavrilova ve ark. [13] yaptığı çalışmada patojenite testinde *F. sambucinum*, *F. venenatum*, *F. noneumartii*, *F. mori*, *F. stercicola* ve *F. vanettenii* türleri kullanılmış, sonucunda en virü lent türler olarak *F. noneumartii* ve *F. sambucinum* belirlenmiştir. İran'da Kuru Çürüklük hastalığı belirtisi gösteren patates yumrularında yapılan izolasyonlarda *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. sulphureum*, *F. oxysporum* ve *F. trichoteciodes* en fazla izole edilen türler olmuş, bunlar arasında ise *F. solani*'nin en virü lent tür olduğu belirlenmiştir [25]. Yıkılmazsoy [3] yaptığı çalışmada patojenite testlerin sonucunda en virü lent izolat *F. sambucinum* olduğu belirlenmiştir. Moleküler olarak tanılanmasında FSF1 ve FSR1 spesifik primerleri kullanılarak 315 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen 53 *Fusarium* izolatının moleküler karakterizasyonu translation elongation factor-1 alpha (EF1- α) lokuslarına dayalı DNA sekans analizleri kullanılarak yapılmıştır. Cullen ve ark. [9] yaptığı çalışmada patates kuru çürüklüğüne neden olan *Fusarium* türleri gerçek zamanlı (TaqMan) polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak *F. avenaceum*, *F. coeruleum*,

F. culmorum ve *F. sulphureum* tespit edilmiştir. Depolanan patateslerde *F. sulphureum* ve *F. coeruleum*'un diğer türlere göre daha fazla izole edilmiştir. Mısır'da yapılan çalışmada [37], patatest Kuru Çürüklüğüne sebep olan 4 farklı *Fusarium* türü (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum* ve *F. semitectum*) belirlenmiş ve elde edilen 11 izolatin genetik farklılığı RAPD yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen veriler, jel analizi ile birleştirilerek dendrogram oluşturmuşlardır. Irak'ta yapıldığı çalışmada [42] hastalıklı patates yumrularında Kuru Çürüklüğe neden olan etmenler olarak *F. oxysporum* ve *F. equiseti* ITS bölgeleri incelenerek moleküler olarak tespit edilmiştir. Çomak [38] yaptığı çalışmada elde edilen 32 *Fusarium* izolatinın ITS ve EF gen bölgeleri Polymeraze Zincir Reaksiyonlarında (PCR) sırası ile ITS1/ITS4 ve EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılarak o bölgelerin DNA dizilimleri çıkartılmıştır.

Çalışmamızın kapsamında yapılan sörveylerde Oş bölgesi Nookat, Alay, Çon-Alay ve Kara-Su ilçelerinde toplam 34 depo gezilmiş, ancak bu depoların hiçbirinin modern depo şeklinde olmadığı görülmüştür. Üreticiler hasattan sonra patatesleri genellikle sıcaklık ve havalandırma kontrolünün olmadığı, yığın şekilde evin bir odasında, zemin katta, toprak altında çoğu zaman direk toprakla temas ederek adi, basit şekilde depolarda saklamaktadır. Bu da hastalığın yaygın olarak görülmesine neden olmaktadır. Sadece Nookat'ta 267 çiftçi tarafından oluşan HYKÖK (Нookат Үрөндүк Картошка Өндүрүүчүлөр Кооперативи) kurumunun (kooperativinin) depolama kapasitesi 600 t olan 2 deposu bulunmaktadır. Bu depolarda sıcaklık 4-8°C arasında ve nem oranı da kontrol altında tutulmaktadır.

Sanayi amaçlı üretilen patatesler genellikle 6 ila 10°C arasında depolanırken, taze pazar için olan yumrular 4 ila 10°C arasında, tohumluk yumrular ise genellikle 3 ila 4°C'de depolanmalıdır. Ayrıca depolama süresi boyunca buharlaşma nedeniyle oluşacak nem kaybını en aza indirmek için bağıl nemin %90 gibi yüksek bir seviyede tutulması gereklidir [57],[58]. Kontrollü atmosfer depolama (Controlled atmosphere storage - CA), gaz sızdırmayan depolar veya konteynerler içinde sıcaklık kontrolünün yapılabildiği, CO₂ ve O₂ seviyelerinin sürekli kontrol edilebildiği depolardır. Fellows [59], patatesler için optimum kontrollü atmosfer depolaması olarak maksimum %10 CO₂ ve minimum %10 O₂ seviyelerini önermiştir. Patates deposunun atmosferindeki O₂ ve CO₂ miktarı, yumruların filizlenmesini, çürümelerini, fizyolojik değişimleri, solunum hızını, şeker içeriğini ve işleme kalitesini etkileyebilir.

BÖLÜM V

SONUÇ

Patates tüm dünyada olduğu gibi, ayrıca Kırgızistan'da insan beslenmesinde ve sanayi alanında kullanım açısından önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle patates üretim miktarı ve kalitesi doğrudan ekonomi ile bağlantılıdır. İyi ve kaliteli bir ürün alabilmek için patateslerin yetiştirilmesi, saklaması, zararlı ve hastalıklardan arındırması için gerekli bilgi ve donanım ihtiyacı vardır.

Patateslerde farklı patojenlerin değişik hastalıklara neden olmasının yanında, *Fusarium* türlerinin neden olduğu Kuru Çürüklük hastalığı da tüm dünyada sık görülen bir hastalıktır.

Yürütülen tez çalışması kapsamında, Oş bölgesinde patates üretimi yapılan Nookat, Alay, Çon-Alay ve Kara-Su ilçelerinde yer alan depolardan Kuru Çürüklük hastalığı gözlenen patates yumruların toplanmış ve bunlardan *Fusarium* cinsine ait 7 tür tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda, Oş bölgesindeki patates depolarında Kuru Çürüklük hastalığının yaygın olduğu belirlenmiş ve özellikle bu hastalığa daha çok *F. sambucinum*'un neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örnekleme yapılan bölgede depolanan patateslerin uygun olmayan koşullarda saklandığı gözlenmiştir.

Yapılan çalışma Oş bölgesinde depolanan patateslerde bulunan *Fusarium* spp.'nin belirlemesi amacıyla yapılan temel bir çalışmadır. Çalışma sonuçlarının, patatesteki Kuru Çürüklük hastalığı ile ilgili yapılacak olan benzer veya diğer çalışmalara kaynak oluşturabileceği veya yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak patatesteki önemli kayıplara neden olan kuru çürüklük hastalık etmeni *Fusarium* türlerine karşı özellikle depolama koşullarında hastalığın yayılmasını engelleyecek şartların sağlanması büyük önem arz etmektedir. Yine patates ekimleri sırasında hastalığın enfeksiyon ve gelişiminin sınırlandırılması amacıyla alınacak önlemlerle hastalığın şiddetinin ve yaygınlığının önemli oranda düşürülmesinin mümkün olabileceği düşünülmektedir. Buna göre, patates depolarında özellikle bu hastalığa karşı uygun mücadele yöntemleri uygulanmalıdır.

Bu amaçla,

- Hasat sonrası ve dikim öncesinde yumru kontrolü;
- Hastalığın bulaşmasını önlemek için yumrulara dikmeden önce ve depolamadan önce ruhsatlı olan fungusitlerin uygulaması;

- Depolama süresinde hastalık belirtisi olan yumruların imha edilmesi;
- Depolarda havalandırma ve sıcaklık kontrolünün sağlanması;
- Ürün konulmadan önce deponun boşaltması, temizlenmesi ve ilaçlanması;
- Depoda uzun süre hastalıktan ari kalabilmesi için, çeşitli fungal hastatılıklara dayanıklı/tolerant olan patates çeşitlerinin kullanması önerilebilir.



KAYNAKLAR

- [1] Atay M., Avan M. ve Karaat Ş., Ticari Tohumluk Patates Yumrularında Görülen Bazı Fungal Etmenlerin Yaygınlıklarının Belirlenmesi, Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi, 4(2), 93-103, 2022.
- [2] Geohive World potato production in metric tonnes, 2013.
- [3] Yikilmazsoy G., İzmir ilinde depolanan patateslerde kuru çürüklük hastalığına neden olan *Fusarium* spp.nin tanınması ve mücadele olanaklarının araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, 1-114, 2019.
- [4] FAOSTAT 2024. Food and Agriculture Organization Statistical Database. Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (son erişim tarihi 09.04.2024).
- [5] Anonymous, Национальный статистический комитет Кыргызской Республики, <http://www.stat.kg>, 2024.
- [6] Abdulhamidov D., Abdurakhmanov T., ve Monneveux P., Potato in Kyrgyzstan: the second bread, Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences, 5(1), 54-63, 2015.
- [7] Anonymous, T.C. Gıda, Patates Hastalık ve Zararları ile Mücadele, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2016.
- [8] Hide G. A., Read P. J. ve Hall, S. M., Resistance to thiabendazole in *Fusarium* species isolated from potato tubers affected by dry rot, Plant Pathology, 41(6), 745-748, 1992.
- [9] Cullen D. W., Toth I. K., Pitkin Y., Boonham N., Walsh K., Barker I. ve Lees A. K., Use of quantitative molecular diagnostic assays to investigate *Fusarium* dry rot in potato stocks and soil, Phytopathology, 95(12), 1462-1471, 2005.
- [10] Wharton P., Hammerschmidt R. ve Kirk W. W., *Fusarium* dry rot, Department of plant pathology, Michigan State University, 2007.
- [11] Tiwari R. K., Kumar R., Sharma S., Sagar V., Aggarwal R., Naga K. C., Lal M. K., Chourasia K. N., Kumar D. ve Kumar M., Potato dry rot disease: current status, pathogenomics and management, 3 Biotech, 10, 1-18, 2020.
- [12] Erper I., Alkan M., Zholdosbekova S., Turkkan M., Yildirim E., ve Özer G., First report of dry rot of potato caused by *Fusarium sambucinum* in Kyrgyzstan, Journal of Plant Diseases and Protection, 129(1), 189-191, 2022.

- [13] Gavrilova O., Orina A., Trubin I., ve Gagkaeva T., Identification and Pathogenicity of *Fusarium* Fungi Associated with Dry Rot of Potato Tubers, *Microorganisms*, 12(3), 598, 2024.
- [14] Secor G. A., ve Salas B., *Fusarium* dry rot and *Fusarium* wilt, *Compendium of potato diseases*, 2, 23-25, 2001.
- [15] Stevenson W. R., Loria R., Franc G. D. ve Weingartner, D. P., *Compendium of potato diseases*, 2001.
- [16] Estrada Jr, R., Gudmestad N. C., Rivera V. V., ve Secor G. A., *Fusarium graminearum* as a dry rot pathogen of potato in the USA: prevalence, comparison of host isolate aggressiveness and factors affecting aetiology, *Plant Pathology*, 59(6), 1114-1120, 2010.
- [17] Anonymous, 2014.
- [18] Vatankhah M., Saberi-Riseh R., Moradzadeh Eskandari M. ve Afzali H., Evaluation of some fungicides for the control of *Fusarium* dry rot of potato, *Journal of Crop Protection*, 8(3), 275-285, 2019.
- [19] Gachango E., Hanson L. E., Rojas A., Hao J. J., ve Kirk W. W., *Fusarium* spp. causing dry rot of seed potato tubers in Michigan and their sensitivity to fungicides, *Plant Disease*, 96(12), 1767-1774, 2012.
- [20] Gündüz H.H., Erzurum ve Çevresinden Toplanan Bozuk Patates ve Soğanların Mikrofungus Florası Üzerinde Araştırmalar, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak. Derg.*, 8:21-31, 1977.
- [21] Eken C., Demirci E. ve Şahin F., Pathogenicity of the fungi determined on tubers from potato storages in Erzurum, *Journal of Turkish Phytopathology*, Vol. 29, No. 2/3, 61-69 ref. 2, 2000.
- [22] Mecteau M. R., Arul J. ve Tweddell R. J., Effect of organic and inorganic salts on the growth and development of *Fusarium sambucinum*, a causal agent of potato dry rot, *Mycological Research*, 106(6), 688-696, 2002.
- [23] Peters J. C., Lees A. K., Cullen D. W., Sullivan L., Stroud G. P. ve Cunningham A. C., Characterization of *Fusarium* spp. responsible for causing dry rot of potato in Great Britain, *Plant Pathology*, 57(2), 262-271, 2008.
- [24] Aydın M. H. ve Kaplan, C., Potato tuber sprout rot caused by *Fusarium sambucinum* in Turkey, 2016.

- [25] Sharifi K., Zare R., Zamani-Zadeh, H. R. ve Arjmandian A., *Fusarium* species causing dry rot of potatoes in Ardabil, Tehran and Hamedan Provinces, *Applied entomology and phytopathology*, 76(2), 2009.
- [26] Kotan R., Sahin F., Demirci E. ve Eken C., Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains, *Biological Control*, 50(2), 194-198, 2009.
- [27] Chehri K., Salleh B., Yli-Mattila T., Reddy K. R. N. ve Abbasi S., Molecular characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran, *Saudi journal of biological sciences*, 18(4), 341-351, 2011.
- [28] Sagar V., Sharma S., Jeevalatha A., Chakrabarti S. K. ve Singh, B. P., First report of *Fusarium sambucinum* causing dry rot of potato in India, *New Disease Reports*, 24(5), 2044-0588, 2011.
- [29] Du M., Ren X., Sun Q., Wang Y. ve Zhang, R., Characterization of *Fusarium* spp. causing potato dry rot in China and susceptibility evaluation of Chinese potato germplasm to the pathogen, *Potato Research*, 55, 175-184, 2012.
- [30] Gashgari R. M. ve Gherbawy Y. A., Pathogenicity of some *Fusarium* species associated with superficial blemishes of potato tubers, *Polish Journal of Microbiology*, 62(1), 59-66, 2013.
- [31] Машанов А. И. ve Бышко Н. А., Идентификация и характеристика патогенных грибов, поражающих клубни картофеля при хранении, *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*, (5), 423-426, 2012.
- [32] Borca I. D. ve Puia C. E., Studies regarding the morphological identification of *Fusarium sambucinum* Fuckel isolated from potato tubers, *ProEnvironment Promediu*, 6(13), 2013.
- [33] Elsherbiny E. A., Amin B. H., ve Baka Z. A., Efficiency of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels extract as a high potential natural tool towards *Fusarium* dry rot on potato tubers, *Postharvest Biology and Technology*, 111, 256-263, 2016.
- [34] Mejdoub-Trabelsi B., Jabnoun-Khiareddine H. ve Daami-Remadi M., Interactions between four *Fusarium* species in potato tubers and consequences for fungal development and susceptibility assessment of five potato cultivars under different storage temperature, *J Plant Pathol Microbiol*, 6(293), 2, 2015.

- [35] Heltoft P., Brurberg M. B., Skogen M., Le V. H., Razzaghian J. ve Hermansen A., *Fusarium* spp. causing dry rot on potatoes in Norway and development of a real-time PCR method for detection of *Fusarium coeruleum*, Potato research, 59, 67-80, 2016.
- [36] Stefańczyk E., Sobkowiak S., Brylińska M. ve Śliwka, J., Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland, European Journal of Plant Pathology, 145, 871-884, 2016.
- [37] Saber M., Ashour A.M.A., Rahman T. G. A., ve Alsaidi K., Genetic diversity of *Fusarium* species causing potato dry rot disease using random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR), Environ. Sci, 12(3), 237-247, 2017.
- [38] Çomak T., Afyonkarahisar ili patates alanlarında kuru çürüklük hastalığı etmeni *Fusarium* türlerinin moleküler tanınması, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, 1-73, Antalya, 2020.
- [39] Çakar G., ve Tozlu E., The biological control of *Fusarium oxysporum*, the causal agent of potato rot, *Gesunde Pflanzen*, 74(2), 305-315, 2022.
- [40] Ren J., Tong J., Li P., Huang X., Dong P. ve Ren M., Chitosan is an effective inhibitor against potato dry rot caused by *Fusarium oxysporum*, Physiological and Molecular Plant Pathology, 113, 101601, 2021.
- [41] Muratali D., Kubaniçova G. ve Erper İ., Determination of pathogenicities and *Fusarium* species agent of dry rot in potatoes stored in Naryn region, Kyrgyzstan, International Symposium on Microorganisms and The Biosphere, June 15-16, 2023 Bishkek, Kyrgyzstan. Abst., p, 78, 2023.
- [42] Ramadan S. M. ve Haleem R. A. J., Identification and Phylogeny Analysis of Two New *Fusarium* Species Causing Dry Rot on Potato Tubers in Iraq, Journal of Duhok University, 26(1), 79-86, 2023.
- [43] Schlachter E., Ruth S., Satoh-Cruz M. ve Willbur J. F., Survey of defects and diseases, including virulent *Fusarium* species, associated with chipping potatoes at-harvest and post-storage, Plant Health Progress, 2024.
- [44] Schulman A. H., Flavell A. J. ve Ellis, T. N., The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants, Mobile genetic elements: protocols and genomic applications, 145-173, 2004.
- [45] Kalendar R., Antonius K., Smýkal P. ve Schulman, A. H., iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation, Theoretical and Applied Genetics, 121, 1419-1430, 2010.

- [46] Özer G., Bayraktar H. ve Baloch F.S., iPBS retrotransposons' A Universal Retrotransposons' now in molecular phylogeny of fungal pathogens, Biochem. Syst. Ecol., 68, 142–147, 2016.
- [47] Skipars V., Siaredzich M., Belevich V., Brunevica N., Bruna L. ve Rungis D. E., Genetic differentiation of *Phoma* sp. isolates using retrotransposon-based iPBS assays, Environmental & Experimental Biology, 16(4), 2018.
- [48] Wu J., Xie X., Shi Y., Chai A., Wang Q. ve Li, B., Analysis of pathogenic and genetic variability of *Corynespora cassiicola* based on iPBS retrotransposons, Canadian Journal of Plant Pathology, 41(1), 76-86, 2019.
- [49] Bora T., ve Karaca G., Bitki hastalıkları sürveyi kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın, 167,1970.
- [50] Booth, C., The genus *Fusarium*. Kew, UK, Commonwealth Mycological Institute, 1971.
- [51] Gott K. P., Burgess L. W., Balmas V., ve Duff, J., Mycogeography of *Fusarium*: *Fusarium* species in soils from Palm Valley, central Australia, Australasian Plant Pathology, 23, 112-117, 1994.
- [52] Leslie, J. F. ve Summerell, B. A., The *Fusarium* Laboratory Manual, First addition, John Wiley & Sons, USA, 2008.
- [53] O'Donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E. ve Ploetz R.C., Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 95:2044–2049, 1998.
- [54] Esfahani M. N., Present status of *Fusarium* dry rot of potato tubers in Isfahan (Iran), Indian Phytopathology, 59(2), 142-147, 2006.
- [55] Hide G. A., ve Cayley G. R., Effects of delaying fungicide treatment of wounded potatoes on the incidence of *Fusarium* dry rot in store, Annals of applied biology, 107(3), 429-438, 1985.
- [56] Leach S. S. ve Webb R. E., Resistance of Selected Potato Cultivars and Clones to *Fusarium* Dry Rot, Phytopathology, 71(6), 623-629, 1981.

- [57] Booth, R. H. ve Shaw, R. L., Principles of Potato Storage, Lima, Peru, International Potato Centre, 105, 1981.
- [58] Brook R. C., Fick R. J. ve Forbush, T. D., Potato storage design and management, American Potato Journal, 72, 463–479, 1995.
- [59] Fellows P. J., Food Processing Technology, Ellis, Horwood, London, 1988.

