

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI



KIRGIZİSTAN BUĞDAY EKİLİŞ ALANLARINDA SORUN
OLUŞTURAN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL ETMENLERİN
TANISI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

UMUT KARAKUŞ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Göksel ÖZER

BOLU, TEMMUZ - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Umut KARAKUŞ tarafından hazırlanan “**KIRGIZİSTAN BUĞDAY EKİLİŞ ALANLARINDA SORUN OLUŞTURAN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL ETMENLERİN TANISI**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği/ oy çokluğuyla kabul edilmiştir. 28/07/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Göksel ÖZER
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Mehmet Erhan GÖRE
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Harun BAYRAKTAR
Ankara Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 18/08/2023 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 21 olarak tespit edilmiştir.

.....
UMUT KARAKUŞ

ÖZET

KIRGIZİSTAN BUĞDAY EKİLİŞ ALANLARINDA SORUN OLUŞTURAN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL ETMENLERİN TANISI YÜKSEK LİSANS TEZİ

UMUT KARAKUŞ
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. GÖKSEL ÖZER)

BOLU, TEMMUZ - 2023
XII + 62

Buğday tacı ve kök çürüklüğü hastalıkları ile ilişkili fungus türleri dünya genelinde birçok bölgede yaygın ve önemli zararlara neden olmaktadır. Bu çalışma kapsamında Kırgızistan'ın kuzeyindeki üç ana buğday üretim bölgesinde buğday tacı/kök çürüklüğü ile ilişkili fungus türleri araştırılmıştır. Semptomatik dokulardan toplam 598 fungus izolatu, morfolojik, mikroskopik özellikleri ile nükleer ribozomal DNA'nın internal transcribed spacer (ITS) bölgesi, translation elongation factor 1 α (*TEF1*) ve RNA polimerase II beta subunit (*RPB2*) genlerinin dizi analizleri kullanılarak tanımlanmıştır. Her bir fungusun izole edildiği alanların yüzdesi ve izolasyon seviyelerinin oranı belirlenmiştir. Yaygın kök çürüklüğü etmeni *Bipolaris sorokiniana*, izlenen alanların %86,67'sinde tespit edilmiş olup izolasyon sıklığı %40,64 olarak bulunmuştur. *Fusarium* spp. tüm elde edilen isolatların %53,01'ini oluşturmuş ve 12 farklı türe ayrıldıkları anlaşılmıştır. En yaygın tanımlanan *Fusarium* türü, izlenen bölgelerin %70'inden izole edilen ve izolasyon sıklığı %21,57 olan *Fusarium acuminatum*'dur. Bu türü olan *F. culmorum*, *F. nygamai*, *F. oxysporum* ve *F. equiseti* takip etmiştir. Hassas *Triticum aestivum* cv. Seri 82 üzerinde gerçekleştirilen patojenisite çalışmaları, *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum* isolatlarının eşit olarak en virulent patojenler olduğunu göstermiştir. Orta derecede virulent olan *B. sorokiniana* yaygınlığından dolayı buğday kültürü için ciddi bir tehdit oluşturduğu düşünülmektedir. Buğday üretim bölgelerinde, *F. culmorum* dışındaki *Fusarium* türleri, *F. acuminatum*, *F. nygamai*, *F. oxysporum* ve *F. equiseti* türlerinin patojenik olmadığı ancak *F. redolens*, *F. algeriense* ve *F. pseudograminearum* gibi daha az rastlanılan türlerin virulent olduğu belirlenmiştir. Üç farklı alanda bulunan *Curvularia inaequalis* hafif derecede virulent olmasına karşın *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. burgessii* ve *F. tricinctum* ile birlikte *Microdochium bolleyi*, *Microdochium nivale* ve *Macrophomina phaseolina* türlerinin patojenik olmadığı tespit edilmiştir. Bu türlerin ikincil kolonizatörler olarak kabul edilmiştir. Bu çalışma, Kırgızistan'da buğday tacı/kök çürüklüğü ile ilişkili patojenlerin göreceli önemi ve dağılımı hakkındaki en detaylı rapordur. Çalışma sonuçları literatüre ve dayanıklı buğday ıslah çalışmalarına önemli katkı sağlamaktadır.

ANAHTAR KELİMELELER: *Triticum* spp.; Buğday hastalıkları; Taç ve kök çürüklüğü; Patojenite; *Fusarium*; *Bipolaris*

ABSTRACT

DIAGNOSIS OF SOIL-BORNE FUNGAL FACTORS CAUSING PROBLEMS IN WHEAT CULTIVATION AREAS OF KYRGYZSTAN

MSC THESIS

UMUT KARAKUŞ

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

(SUPERVISOR: PROF. DR. GÖKSEL ÖZER)

BOLU, JULY 2023

XII + 62

Fungal species associated with wheat crown and root rot diseases cause significant damage in many regions worldwide. In this study, fungal species associated with wheat crown/root rot were investigated in the three main wheat production regions in northern Kyrgyzstan. A total of 598 fungal isolates from symptomatic tissues were identified using morphological, microscopic characteristics, and sequence analyses of the internal transcribed spacer (ITS) region of nuclear ribosomal DNA, translation elongation factor 1 α (*TEF1*), and RNA polymerase II beta subunit (*RPB2*) genes. The percentage of areas from which each fungus was isolated and the ratio of isolation levels were determined. The common root rot agent, *Bipolaris sorokiniana*, was detected in 86.67% of the surveyed areas, with an isolation frequency of 40.64%. *Fusarium* spp. constituted 53.01% of all isolates obtained and were classified into 12 different species. The most commonly identified *Fusarium* species was *Fusarium acuminatum*, isolated from 70% of the surveyed regions, with an isolation frequency of 21.57%. This species was followed by *F. culmorum*, *F. nygamai*, *F. oxysporum*, and *F. equiseti*. Pathogenicity studies conducted on susceptible *Triticum aestivum* cv. Seri 82 showed that *F. pseudograminearum* and *F. culmorum* isolates were equally the most virulent pathogens. *Bipolaris sorokiniana*, being moderately virulent, is considered a serious threat to wheat culture due to its prevalence. In wheat production regions, *Fusarium* species other than *F. culmorum*, such as *F. acuminatum*, *F. nygamai*, *F. oxysporum*, and *F. equiseti*, were found to be non-pathogenic, while less common species like *F. redolens*, *F. algeriense*, and *F. pseudograminearum* were virulent. *Curvularia inaequalis*, found in three different areas, was mildly virulent, while *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. burgessii*, *F. tricinctum*, along with *Microdochium bolleyi*, *Microdochium nivale*, and *Macrophomina phaseolina* species were found to be non-pathogenic. These species have been considered as secondary colonizers. This study is the most detailed report on the relative importance and distribution of pathogens associated with wheat crown/root rot in Kyrgyzstan. The results of the study provide significant contributions to the literature and to the development of resistant wheat breeding efforts.

KEYWORDS: *Triticum* spp.; Wheat diseases; Crown and root rot; Pathogenicity; *Fusarium*; *Bipolaris*

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xi
TEŞEKKÜR	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	11
3.1 Çalışma.....	11
3.2 Materyal	11
3.3. Fungal izolat temini.....	11
3.3.1.Fungal İzolasyon.....	12
3.4. Moleküler Karakterizasyon	13
3.4.1.Fungusların Geliştirilmesi	13
3.4.2.DNA İzolasyonu	13
3.4.3.iPBS analizi	15
3.4.4.PCR Reaksiyonu.....	15
3.4.5.Agaroz Jel Elektrophorezi	16
3.5. Veri Analizleri.....	17
3.6. Patonejisite Testi	17
4. BULGULAR	20
4.1. Morfolojik Karakterizasyon	23
4.1.1.İzolatların Kültür Karakterizasyonu	23
4.2. Moleküler Karakterizasyon	40
4.2.1.DNA İzolasyonu, Sekans Verileri ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması	40
4.3. Patojenisite Testi	43

5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
7. KAYNAKLAR.....	54



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1. Kuzey Kırgızistan'ın 2020'de araştırmaya konu olan bölgesi (sarı renkle işaretlenmiş)	12
Şekil 3.2. Kök ve kök boğazı semptomları gösteren bitkilerin toprak altı kısımlarının su altında bekletilmesi ve kurutulması.....	13
Şekil 3.3. DNA izolasyonu aşaması ve spektrofotometrede DNA ölçüm örneği..	15
Şekil 3.4. Patojenite çalışmalarında kullanılan 1-5 skalası.....	19
Şekil 4.1. İzolasyonu gerçekleştirilen fungal izolatların morfolojik gelişimleri ...	20
Şekil 4.2. <i>Bipolaris sorokiniana</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), konidileri (b).....	23
Şekil 4.3. <i>Curvularia inaequalis</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), konidileri (b).....	24
Şekil 4.4. <i>Macrophomina phaseolina</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), mikrosklerotileri (b).....	25
Şekil 4.5. <i>Microdochium bolleyi</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), sporları (b).....	26
Şekil 4.6. <i>Microdochium nivale</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), sporları (b).....	27
Şekil 4.7. <i>Fusarium pseudograminearum</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	28
Şekil 4.8. <i>Fusarium culmorum</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	29
Şekil 4.9. <i>Fusarium nygamai</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), zincir oluşumu (b).....	30
Şekil 4.10. <i>Fusarium redolens</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	31
Şekil 4.11. <i>Fusarium oxysporum</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	32
Şekil 4.12. <i>Fusarium acuminatum</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	33
Şekil 4.13. <i>Fusarium equiseti</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	34
Şekil 4.14. <i>Fusarium proliferatum</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	35
Şekil 4.15. <i>Fusarium burgessii</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	36
Şekil 4.16. <i>Fusarium tricinctum</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	37
Şekil 4.17. <i>Fusarium algeriense</i> kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	38
Şekil 4.18. <i>Fusarium solani</i> PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).....	39
Şekil 4.19. <i>Fusarium</i> izolatlarının <i>TEF1</i> ve <i>RPB2</i> dizileri kullanılarak filogenetik analizi IQ-TREE kullanılarak maksimum olasılığa dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada referans ve dış grup olarak kullanılan diziler vurgulanmıştır.	42

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. Dünyada başlıca üretici ülkelerin buğday üretim (milyon ton) (FAOSTAT, 2023)	1
Tablo 1.2. 2011-2021 Yılları Kırgızistan buğday ekim alanı, üretimi ve verim değerleri (FAOSTAT, 2023)	3
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon buffer içeriği	14
Tablo 4.1. Kırgızistan'ın çeşitli coğrafi bölgelerinden elde edilen buğday tacı/kök çürüklüğü ile ilişkili izolat sayısı ve izolasyon yoğunluğu	21
Tablo 4.2. Kırgızistan'ın incelenen bölgelerinde çeşitli tarlalarda buğday tacı/kök çürüklüğü ile ilişkili fungal türlerinin dağılımı ve fungal türlerinin tarla insidansı	22
Tablo 4.3. Bu çalışmada elde edilen temsili izolatların GenBank Erişim numaraları	40
Tablo 4.4. Çalışmada tanımlanan fungal türlerinin patojenite değerleri	45

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

g	: Gram
µm	: Mikrometre
µl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
l	: Litre
cm	: Santimetre
mM	: Milimol
°C	: Santigrat Derece
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
bp	: Baz Çifti
km	: Kilometre
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FAOSTAT	: Birleşmiş Milletler Gıda Ve Tarım Örgütü
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDA	: Patates Dekstroz Agar
sp.	: Tür
spp.	: Türler
TBE	: Tris Borate EDTA
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
iPBS	: Inter-Primer Binding Site
ITS	: Internal Transcribed Spacer
TEF1	: Translation elongation factor 1α
RPB2	: RNA polymerase II beta subunit
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>

TEŞEKKÜR

“Kırgızistan buğday ekiliş alanlarında sorun oluşturan toprak kökenli fungal etmenlerin tanısı” adlı yüksek lisans tez konumu belirlememde yol gösteren, her daim yanımda olan bütün bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşarak eğitimimde büyük emeği olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Göksel ÖZER’e

Ayrıca çalışmalarda teknik ve analiz kısımlarında desteklerini çok yakından hissettiğim Araştırma Görevlisi Sezim ZHOLDOSHBEKOVA, Mehtap ALKAN ve Tuğba BOZOĞLU’na sonsuz teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

Buğday (*Triticum* spp.), tahıllar ailesinin en önemli üyesi olarak bilinen, dünya genelinde yaygın olarak yetiştirilen bir bitki türüdür. Buğday, insanlar için önemli bir besin kaynağıdır ve un, ekmek, makarna, bisküvi gibi birçok gıda ürününde kullanılmaktadır. Buğday, dünya tarım ekonomisinde önemli bir yere sahiptir. Dünya çapında en yaygın yetiştirilen tahıl türüdür ve dünya tahıl üretiminin yaklaşık %20'sini oluşturur. Dünya buğday üretim miktarı 2021 yılı için yaklaşık 221 milyon ha alanda 770 milyon ton üretim gerçekleştirilmiştir. 2021 yılında en fazla buğday üreten ülkeler verilmiştir (FAOSTAT, 2023). Buna göre 2021 yılında en fazla buğdayı 137 milyon ton ile Çin üretirken bunu sırasıyla Hindistan, Rusya, Amerika Birleşik Devletleri, Fransa, Ukrayna, Avustralya, Pakistan, Kanada ve Almanya izlemektedir. Dünya genelindeki buğday üretimi incelendiğinde Kırgızistan 2021'de 362 bin ton ile 65. sırada yer aldığı görülmektedir.

Tablo 1.1. Dünyada başlıca üretici ülkelerin buğday üretim (milyon ton)
(FAOSTAT, 2023)

No	Ülke	Üretim (milyon ton)
1	Çin	137,0
2	Hindistan	109,6
3	Rusya	76,1
4	Amerika Birleşik Devletleri	44,8
5	Fransa	36,6
6	Ukrayna	32,2
7	Avustralya	31,9
8	Pakistan	27,5
9	Kanada	22,3
10	Almanya	21,5

Buğdayın ekonomik önemi, üretim ve ticaretindeki büyüklüğünden kaynaklanmaktadır. Buğday uluslararası ticarete oldukça yüksek bir hacme sahiptir. Buğday fiyatı tüketicilerin bu ürüne olan talebi, fiyat dalgalanmalarına yol açabilmektedir.

Orta Asya'da yer alan Kazakistan, Özbekistan, Kırgızistan, Tacikistan ve Türkmenistan'da, buğday açık ara en önemli ve yaygın yetiştirilen temel tarımsal üründür (Li vd., 2020). Kırgızistan 250 bin hektar alanda üretilen 362 bin ton

buğday ile dünyanın en büyük 65. buğday üreticisidir (FAOSTAT, 2023). Bu nedenle, Kırgızistan'ın ekili alanlarının %30'unu oluşturan buğdayın üretkenliği ve tane kalitesi ülkenin ekonomik kalkınma stratejileri için çok önemlidir (Li vd., 2020). Kırgızistan'da üretilen buğdayın bir kısmı, tüketiciler tarafından doğrudan tüketilmek üzere kullanılırken, bir kısmı da un, makarna, ekmek ve diğer gıda ürünlerinin yapımında kullanılmakta olup ayrıca hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Kırgızistan'da, buğdayın ekim ve hasat zamanları çoğu Batı Asya ülkeleri ve Türkiye'ye benzerlik göstermekte olup ekimi genellikle sonbaharda ve hasat zamanı genellikle Temmuz ve Ağustos aylarında yapılmaktadır.

Kırgızistan'da buğday verimi dünya ortalaması olan 3,47 ton/ha'dan oldukça altında olarak 1,45 ton/ha olarak gerçekleşmekte olup bunun nedenlerinden biriside biyotik ve abiyotik stres faktörleri olarak görülmektedir (Bockus vd., 2010a). İklim koşulları ve toprak verimliliği Kırgızistan'da buğday üretiminde önemli stres faktörleri içerisinde yer almaktadır. Su kaynaklarının yetersizliği, tarım arazilerinin yetersizliği ve geleneksel tarım yöntemlerinin modern tarım teknikleri ile değiştirilmesi gerekliliği gibi faktörler, buğday üretimini olumsuz etkileyebilmektedir.

2011 yılında Kırgızistan'da buğday bitkisinin 372 bin ha alanda ekilişi gerçekleştirilmiş olup, buna karşılık 800 bin ton üretim ve 2,14 ton/ha verim değerleri gözlenmiş iken bu veriler 2021 yılında ise yaklaşık 250 bin ha ekiliş alanı, 362 bin ton üretim ve 1,45 ton/ha verim olarak gerçekleşmiştir (Tablo 1.2). Son yıllarda Kırgızistan'da buğday ekim alanlarının sürekli azalması, yağışlar, kuraklık gibi çevresel ve iklimsel faktörler buğdayın hem üretimini hem de ihracatını olumsuz etkilemektedir.

Ülkenin yağmurlu alanları sadece dağlık bölgelerinde bulunduğundan, Kırgızistan'ın sulanan topraklarının çoğu alçak rakımlı bölgelerde yer almaktadır. Syr Darya ve Amu Darya nehirlerinden alınan su, buğdayın yarı destekli sulama koşullarında ekildiği alçak rakımlı tarım alanlarının sulanmasında kullanılmaktadır. Bu nedenle, ülkenin başlıca abiyotik stres faktörleri, dünya çapında bir sorun olan su kıtlığından kaynaklanan kuraklık ve ısı stresidir (Li vd., 2020; Park vd., 2021). *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* neden olan sarı pas hastalığı, biyotik stres faktörlerinin genel olarak belgelenmemesine rağmen

Kırgızistan'daki buğdayı etkileyen en önemli yaprak hastalığı olarak kabul edilmektedir (Ziyaev vd., 2011). Dzhunusova vd. (2009), Kırgızistan'da buğday üretim kayıplarının %10-30'unun sarı pastan kaynaklandığını bildirmiştir. Ayrıca, Kırgızistan'da yaprak pasının (kahverengi pas) popülasyonlarının genetik farklılaşması, çizgi pasına karşı çeşitli tarama ve direnç testleri gibi konularda da raporlar bulunmaktadır (Garadagi, 1976; Ziyaev vd., 2011). Diğer yandan, kök ve kök boğazı dokularındaki buğday hastalıklarıyla ilişkili fungal popülasyonları, yaprak hastalıklarıyla karşılaştırıldığında daha önce hiç çalışılmamıştır.

Tablo 1.2. 2011-2021 Yılları Kırgızistan buğday ekim alanı, üretimi ve verim değerleri (FAOSTAT, 2023)

Yıllar	Ekilim Alanı (bin ha)	Üretim (bin ton)	Verim (ton/ha)
2011	373	800	2,14
2012	323	541	1,67
2013	346	819	2,36
2014	339	573	1,68
2015	297	705	2,37
2016	270	662	2,44
2017	250	601	2,40
2018	254	616	2,42
2019	240	601	2,50
2020	247	629	2,54
2021	250	363	1,45

Kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalıkları, özellikle yüksek patojen baskısı altında buğday üretimi için ana sınırlayıcı faktörlerden birini temsil etmektedir (Poole vd., 2015). Bir dizi fungal patojen tarafından neden olan bu hastalıklar genellikle buğday verimini ve tahıl kalitesini azaltır (Bockus vd., 2010). Kök ve taç enfeksiyonu, vasküler sistemin daralmasına neden olarak suyun emilimini ve transferini kısıtlar ve dolgunluk aşamasında beyaz başaklar oluşur. Tipik olarak birden fazla fungus türü bir arada bulunur ve sinerjistik veya rekabetçi bir şekilde etkileşebilirler. Küresel anlamda en büyük buğday üreticisi ülkelerde, buğdayda tac ve kök çürük patojenlerinin tarla değerlendirmeleri düzenli olarak bildirilmektedir (Alahmad vd., 2018; Bozoğlu vd., 2022; Fei Xu vd., 2018; Gebremariam vd., 2018; Moya-Elizondo vd., 2011, 2015; Paulitz vd., 2002; Özer vd., 2020; Smiley vd., 2005; Tunalı vd., 2008; Zhou vd., 2019). Bu çalışmalara göre, *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium* spp., *Microdochium* spp., *Rhizoctonia* spp. ve *Curvularia* spp. gibi çeşitli fungus türleri, karışık popülasyonlar halinde

buğdayda bulunmuş olup, ancak her bir türün yaygınlığı ve virölansı farklı ülkeler ve coğrafi bölgeler arasında değişmektedir. Yaygın kök çürüklüğü fungal etmeni *B. sorokiniana* tarafından neden olan ve *Fusarium* tacı çürüklüğü çoğunlukla *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* ve *F. graminearum* gibi birçok *Fusarium* türü tarafından neden olmakla birlikte Dünya çapında en yaygın ve önemli hastalıklardır (Bozoğlu vd., 2022; Cook, 2010; Dyer vd., 2009; Fei Xu vd., 2018; Fernandez vd., 2011; Zhou vd., 2019). Dünya'nın en büyük buğday üreticisi olan Çin'de, *B. sorokiniana* kök ve taç çürüklüğünün ana nedeni olarak belirlenmiştir (Fei Xu vd., 2018). Ayrıca dünya çapında buğdayın en yıkıcı enfeksiyonlarından biri olarak kabul edilmektedir (Acharya vd., 2011; Al-Sadi, 2021; Kumar vd., 2002). Benzer şekilde, Avustralya'da (Akinsanmi vd., 2004), Kuzey Amerika'da (Dyer vd., 2009; Smiley vd., 2005), Türkiye'de (Gebremariam vd., 2018), Azerbaycan'da (Özer vd., 2020) ve Kazakistan'da (Bozoğlu vd., 2022) bu hastalıkla ilişkili en yaygın türlerin *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum* olduğu tespit edilmiş olup ayrıca verimi de ciddi anlamda düşürmektedirler. Bu fungusların coğrafi popülasyonları arasındaki farklılıklar, örnekleme yerlerindeki agroekolojik bölgeler, tarım ve yönetim uygulamaları ve mevsimsel çevresel koşullardaki farklılıklara bağlanabilir (Anderson vd., 2000; Bockus vd., 2010). Ayrıca, *B. sorokiniana*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *M. nivale* ve *M. majus* gibi bazı türler, tohum kaynaklı, toprak kaynaklı veya kalıntı kaynaklı olabilen kompleks popülasyon dinamiklerine sahiptir ve buğdayın gelişimi sırasında nokta yanıklığı, siyah nokta, fide solgunluğu, kök çürüklüğü, ayak/taç çürüklüğü ve baş çürüklüğü gibi bir dizi hastalığa neden olurlar (Al-Sadi, 2021; Karlsson vd., 2021; Scherm vd., 2013).

Taç ve kök çürüklüğü hastalıklarının karmaşıklığı nedeniyle bilim insanları ve tahıl üreticileri onları on yıllardır kontrol edilememiştir (Pérez-Méndez vd., 2022). Hastalıkla mücadele etmek için patojen biyolojisi ve popülasyonları ile hastalığın alevlenmesine neden olan epidemiyolojik yönleri hakkında derinlemesine bilgi gerekmektedir. Kırgızistan'da buğdayın kök ve kök boğazı dokularındaki hastalıkların yaygınlığı ve dağılımı hakkında herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışma kapsamında (i) Kırgızistan'ın başlıca buğday yetiştirme bölgelerinde buğdayda kök ve taç çürümesine neden olan fungus türlerini, ITS, *TEF1* ve *RPB2* lokuslarının dizilimi de dahil olmak üzere morfolojik ve mikroskobik yöntemler kullanarak tanımlamayı; (ii) her türün

dağılımını ve sıklığını belirlenmesini; ve (iii) buğday kökleri ve taçlarından elde edilen her bir fungus türünün virölansını değerlendirmesini amaçlanmıştır. Bu çalışma, Kırgızistan'da geniş bir coğrafi aralıktaki çeşitli alanlardan patojen popülasyon dağılım verilerini gösteren ilk ayrıntılı sörvey çalışmasıdır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Cook (1968), ilk kez 1964 yılında ABD'nin Kuzeybatı Pasifik'inde kışlık buğdayda taç çürümesini incelemek için ayrıntılı bir araştırma yapmıştır. Bu çalışmada kışlık buğday tarlalarında %50'ye varan verim kayıpları rapor edilmiştir. Hastalıklı bitkilerden elde edilen izolatların %90'dan fazlası yaygın tür olan *F. culmorum* olmakla birlikte, *F. graminearum*, *F. avenaceum* zaman zaman bölgedeki bitkilerin taç kısımlarından izole edilmiş, nadiren enfekteli bitkileri öldürmüştür.

Akinsanmi vd. (2004), buğday başak yanıklığı (FHB) ve kök boğazı çürüklüğü (CR) ile ilişkili *Fusarium* türlerini belirlemek için, 2001 yılında farklı ekim geçmişi olan Güney Queensland ve Kuzey Yeni Güney Galler'deki buğday tarlalarından örnekler toplamışlardır. CR daha yaygın olduğu tespit edilmiş, ancak FHB sadece Kuzey Yeni Güney Galler'de belirginmiş olup genellikle aynı tarlada CR ile birlikte meydana geldiği ortaya çıkmıştır. Farklı bitki parçalarından elde edilmiş monokonidial izolatlardan morfoloji ve türe özgü PCR testleri kullanılarak 20 farklı *Fusarium* türü tanımlanmıştır. *Fusarium pseudograminearum* tüm izolatların %48'ini oluşturduğu ve çoğunlukla kök boğazından elde edilmiş, *F. graminearum* ise tüm izolatların %28'ini oluşturmuş ve başaktan elde edilmiştir. Genel olarak, sap ve kök boğazından elde edilen izolatlar CR için daha saldırgan iken, bayrak yaprak boğumundan elde edilen izolatlar FHB için daha saldırgan bulunmuştur.

Smiley vd. (2005), çalışmasında, *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum*'un tohum çimlenmesi, bitki canlılığı azalması ve taç çürüklüğüne neden olma konusundaki agresifliklerini karşılaştırmıştır. İkisi sert kırmızı ilkbahar buğdayı çeşidi ve ikisi durum buğdayı çeşidi olmak üzere dört çeşide iki yıl boyunca üç türden her birinden beş izolat ile alan çalışması yapılarak, görelî virülenslikleri değerlendirilmiştir. Patojenisite testlerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Özellikle *F. culmorum* daha fazla tohum çimlenmesini engellerken, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum* daha fazla taç çürüklüğüne neden olmuştur. En büyük verim kayıpları *F. pseudograminearum* tarafından oluşturulmuştur. Tohum hastalığı ve geç sezon taç çürüklüğü açısından çeşit farklılıkları belirlenmiştir. Çeşit reaksiyonu ile karşılaştırıldığında, herhangi bir etkileşim izolatları veya türleri ile

belirlenmemiştir.

Bentley vd. (2006), çalışmasında rastgele toplanan buğday kökü ve yedi çim türü ile ilişkili *Fusarium* türlerinin izolasyon sıklığını değerlendirmek için Yeni Zelanda'nın Güney Adası'nda bir araştırma yapmışlardır. Toplam 11 *Fusarium* türü buğday kökünden izole edilmiş olup bunlardan altısı diğer çimlerden de izole edilmiştir. Bilinen buğday patojenleri *F. culmorum* ve *F. pseudograminearum*'un olası izolatları buğday ve çim kökünden elde edilmiştir. *Fusarium culmorum* tüm buğday saplarının %16'sından izole edilirken, *F. pseudograminearum* sadece %1,5'inden izole edilmiştir. Amplifiye edilmiş fragment uzunluk polimorfizmi analizi, elde edilen izolatlar arasında beş farklı kümeyi ortaya çıkarmıştır. Bu kümeler, translation elongation factor 1 α (*TEF1*) geni dizisi temelinde dört patojenik türe, *F. pseudograminearum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense* ve *F. graminearum*'a karşılık gelmektedir. Morfolojik özelliklere dayanarak *F. pseudograminearum* olarak tanımlanan *Chionochloa rubra* ssp. *cuprea* çimlerinden elde edilen izolatlar, laboratuvar koşullarında homotalik olarak perithecium oluşturamayan *F. graminearum* izolatlarıdır. Moleküler karakterizasyon, *F. pseudograminearum*'un buğday sapı tabanlarıyla ilişkisini doğrulamış ve Yeni Zelanda'nın Kuzey ve Güney Adaları'nda bu önemli patojenden elde edilen izolatlar arasında bazı genetik farklılıklar olduğunu göstermiştir.

Tunali (2008), çalışmasında 2 yıllık bir süre boyunca 518 ticari alanda hedefli bir anket gerçekleştirerek, Türkiye'nin tahıl üretilen bölgelerinde buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilişkili fungus türlerinin prevalansını araştırmayı amaçlamıştır. Anket, tarlaların %26'sından fazlasının genellikle kurak alan kök çürüklüğü kompleksi ile ilişkili bir veya daha fazla fungus türüne sahip olduğunu, en yaygın olanın *F. culmorum* olduğunu (%14), ardından *B. sorokiniana* (%10) ve *F. pseudograminearum* (%2). *Gaeumannomyces graminis* ve *Pythium* spp. gibi yüksek yağış alan kök çürüklüğü kompleksinin bir parçası olarak kabul edilen funguslar çok düşük frekanslarda bulundu (sırasıyla %2 ve %3). Tarlaların %22'sinde *Rhizoctonia* türleri tespit edilmiştir. Ek olarak, *F. oxysporum* ve *F. chlamydosporum*, *F. sporotrichioides* ve *F. avenaceum* ve *F. solani* dahil olmak üzere, tahıllar için daha az veya patojenik olmadığı düşünülen birkaç *Fusarium* türü yüksek frekanslarda bulunmuştur. Çalışmada, tahıl kökü çürüten türlerin araştırma alanındaki dağılımının çoğunlukla rastgele olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu durum belirli bir türün buğday üzerindeki göreceli ekonomik öneminin, fungus patojenitesi, konukçu duyarlılığı/toleransı ve mevsimsel koşullar gibi faktörlere bağlı olacağını göstermektedir. Genel olarak, çalışma, Türkiye'nin tahıl üretilen bölgelerinde buğdayın kök ve taç dokularıyla ilişkili çok çeşitli fungus türlerinin olduğunu göstermektedir.

Eslahi vd. (2012), *Fusarium solani*, *F. equiseti*, *F. moniliforme*, *F. subglutinans*, *F. sambucinum*, *F. culmorum*, *F. proliferatum*, *F. pseudograminearum*, *F. longipes*, *F. avenaceum* dahil olmak üzere makroskopik ve mikroskopik özelliklere dayalı 115 izolat tanımlamıştır.

Gebremariam vd. (2018), Türkiye'nin farklı buğday yetiştirme bölgelerinden ekmeklik buğdayın (*Triticum aestivum* L.) ve makarnalık buğdayının (*T. durum* Desf.) alt saplarında (taçlarında) kolonize olan *Fusarium* türlerini toplamak için kapsamlı bir araştırma yapmışlardır. On yedi *Fusarium* türünü temsil eden toplam 339 izolat tanımlanmış olup, en yaygın olarak izole edilen tür *F. equiseti* bulunmuştur. Zarara neden olan türler arasında, *F. culmorum* baskın tür olurken, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum*, az sayıda alandan izole edilmiştir. Patojenite testleri, test edilen 17 *Fusarium* türünden altısının değişen derecelerde taç çürüklüğüne neden olduğunu ortaya çıkarmıştır. *Fusarium culmorum*, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum* virülensliği en yüksek bulunmuşken, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. solani* ve diğer *Fusarium* türleri patojenik değildir. Bu sonuçlar, Türkiye'de buğday taç çürüklüğü ile ilişkili çok çeşitli *Fusarium* türlerinin varlığını göstermiştir.

Fei Xu vd. (2018), yaptıkları çalışmada 2013-2016 yılları arasında Kuzey Çin Ovası'ndaki 104 tarladan alınan kış buğdayı (*T. aestivum*) kök ve taç çürüklüğü ile ilişkili patojen fungusların dağılım sıklığı belirlemişlerdir. Tanımlanan dört en önemli tür *B. sorokiniana* (%24,0 köklerden; %33,7 gövdeden), *F. pseudograminearum* (%14,9 köklerden; %27,8 gövdeden), *R. cerealis* (%1,7 köklerden; %4,4 gövdeden) ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (%9,8 köklerden; %4,4 gövdeden) olarak tespit edilmiştir. *Fusarium pseudograminearum* bölge 1 ve 3'te baskınken, *F. graminearum*, *F. acuminatum* ve *R. cerealis* ise bölge 2 ve 4'te baskın bulunmuştur. *F. pseudograminearum* ve *R. cerealis*'in görülme sıklığı bölge 1 ve 4 arasında önemli derecede farklıdır. Diğer türlerin dağılımı ve tarım bölgeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Kuzey Çin Ovası'nda 2013-2016 yılları arasındaki ortalama

yıllık yağış ile *F. pseudograminearum*'un görülme sıklığı arasında negatif bir korelasyon ($r = -0,71$; $P < 0,01$) ve ortalama yıllık yağış ile *F. asiaticum*'un görülme sıklığı arasında pozitif bir korelasyon ($r = 0,74$; $P < 0,01$) gözlenmiştir. *Fusarium graminearum*, *F. acuminatum* ve *F. sinensis* gibi birkaç *Fusarium* türü düşük frekanslarla ($\sim 2,1\%$ – $3,4\%$) ve *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* ve *F. asiaticum* gibi diğer türler ise $\sim 0,1\%$ – $1,3\%$ frekansla tespit edilmiştir. Buğdayın kök ve taç dokularından, alanların %93'ünden fazlasında iki veya daha fazla kök ve taç çürüklüğü türü izole edilmiştir. *Fusarium* spp. ve *B. sorokiniana*'nın aynı tarladaki (65,4%) veya aynı bitkide (11,6%) birlikte bulunması, diğer türlerin kombinasyonlarından daha yaygın olduğu tespit edilmiştir.

Zhou vd. (2019), çalışmasında Çin'in Huanghuai buğday yetiştirme bölgesinde *Fusarium* taç çürüklüğüne neden olan patojenlerin dağılımını ve çeşitliliğini belirlemişler. Bu türler arasında en baskın türün *F. pseudograminearum* olduğunu tespit etmişlerdir.

Özer vd. (2020), yaptıkları çalışmada, Azerbaycan'da buğdayın taç ve kök çürüklüğü ile ilişkili fungus popülasyonlarını belirlemişlerdir. Türe özgü PCR ve ITS ve *TEF1* lokuslarının DNA dizilimi dahil olmak üzere morfolojik ve moleküler araçlar kullanılarak toplam 630 fungal izolatu tanımlanmıştır. Çalışma, Azerbaycan'da *F. culmorum*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. pseudograminearum*, *F. graminearum*, *F. incarnatum*, *F. avenaceum* ve *F. hostae* dahil olmak üzere, buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilişkili çok çeşitli fungus türlerini ortaya çıkarmış olup, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. algeriense* ve *F. brachygibbosum*'un yanı sıra *B. sorokiniana*, *Curvularia spicifera*, *Exserohilum pedicellatum*, *Nigrospora oryzae* ve *Rhizoctonia* spp., *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum* en agresif patojenler olarak bulunurken, *C. inaequalis*, *E. pedicellatum* ve *N. oryzae* zayıf agresif olduğunu bildirmişlerdir.

Bozoğlu vd. (2022), Kazakistan'da buğdayda kök ve taç çürüklüğü ile ilişkili fungusların dağılımını belirlemek için yaptıkları çalışmada ülkenin üç bölgesindeki 65 tarladan toplam 1221 fungus izolatu elde edilmiş olup, morfolojik ve moleküler araçlar kullanılarak tanımlanmıştır. *Bipolaris sorokiniana* ve *F. acuminatum*'un incelenen alanların sırasıyla %86,15 ve %66,15'inde bulunan en baskın fungus türleri olduğu bulunmuştur. Duyarlı buğday çeşidi üzerinde yapılan aşılama testleri, *F. culmorum* ve *F. pseudograminearum*, *B. sorokiniana*,

Fusarium sp., *R. solani*, *F. redolens*, *C. spicifera*, *C. inaequalis* ve *N. oryzae*'nin virulent olduğunu göstermiştir. Çalışma, Kazakistan'da daha önce buğdayda patojen olarak rapor edilmemiş *F. pseudograminearum*, *Fusarium* sp., *C. spicifera* ve *C. inaequalis* dahil olmak üzere, Kazakistan'da buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilgili çok çeşitli patojenik fungus türleri spektrumunu ortaya çıkarmıştır.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Çalışma

3.2 Materyal

Gerçekleştirilmiş olan bu araştırmada incelenen hastalıklı bitki materyalleri Kırgızistan'ın önemli buğday üretim alanlarından Uluslararası Mısır ve Buğday Geliştirme Merkezi (International Maize and Wheat Improvement Center=CIMMYT) toprak kökenli fungal patojenleri tarama çalışması dahilinde elde edilmiştir.

3.3. Fungal izolat temini

Bu çalışmanın bulguları, 2020'de Kırgızistan'ın kuzeyindeki üç bölgede buğday yetiştirme alanlarının araştırılmasından elde edilmiştir (Şekil 3.1). Kuzey Kırgızistan'ın 2020'de araştırılan, sarı renkle işaretlenmiş bölgesi ürünün olgunluk döneminde ve hasat zamanında, herhangi bir ön koşul olmaksızın rastgele seçilen 30 buğday tarlasından (Bişkek'te 10, Sokulluk'ta 10 ve Kara-Balta Bölgesinde 10) karakteristik taç ve kök çürüklüğü belirtileri gösteren bitki örnekleri toplanmıştır. Hedeflenen bölgelerde, örnekleme alanları arasındaki minimum mesafe 5 km'dir. Her tarladaki bitkiler, aralarında minimum 30 m mesafe olacak şekilde 1–2 m²'lik farklı tarla alanlarında zigzag deseninde 20–30 kopya halinde örneklenmiş ve her örnekleme alanı tarla kenarından en az 15 m uzakta olacak şekilde örnekler toplanmıştır. Numuneler laboratuvara kâğıt torbalarda taşınmış ve oda sıcaklığında saklanmıştır. Her bir tarlayı temsil eden örnek rastgele seçilmiş 20 bitkiden oluşmaktadır. Her tarlalardan toplanan bitkilerin üst kısımları kesilip atılarak kökleri ile kâğıt torbalara alınmış, torbaların üzeri numaralandırarak laboratuvara getirilmiş ve çalışmaya dahil edilmiştir.



Şekil 3.1. Kuzey Kırgızistan'ın 2020'de araştırmaya konu olan bölgesi (sarı renkle işaretlenmiş)

Bu araştırmada kapsamında yürütülmüş çalışmalar özetle buğday ekiliş alanlarından toplanmış kök ve kök boğazı semptomları gösteren hastalıklı bitki örneklerinden izolatlarının izolasyonunu, izolasyonu gerçekleştirilen izolatların tür teşhisi ve tanımlanan türlerin patojenisite çalışmaları yer almaktadır.

3.3.1. Fungal İzolasyon

Örnekler izolasyondan önce yıkanmış ve kök kısımlarından toprakları temizlenmiştir (Şekil 3.2). Kök ve kök boğazı semptomları gösteren bitkilerin toprak altı kısımları 15 dakika boyunca toprak parçacıklarını uzaklaştırmak için akan musluk suyuyla iyice yıkanmıştır. Dokulardan küçük parçalar alınarak 2 dakika süreyle %1 sodyum hipoklorit çözeltisi ile muamele edilmiş ve 3 seri steril saf su ile durulanarak bir steril kabin içerisinde steril filtre kağıtları arasında kurutulmuştur. Yüzeysel dezenfeksiyon gerçekleştirilmiş olan parçalar litrede 8 gr patates dekstroza agar (PDA; Merck, Darmstadt, Almanya) + 15 gr agar (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, ABD) içeren 1/5 kuvvetinde PDA ortamlarına aktarılmıştır. Besi ortamına bakteriyel kontaminasyonu engellemek için 100 mg/l streptomisin sülfat ve 25 mg/l kloramfenikol eklenmiştir. Bütün Petri kapları üç gün boyunca sürekli karanlıkta 22°C'de inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.2. Kök ve kök boğazı semptomları gösteren bitkilerin toprak altı kısımlarının su altında bekletilmesi ve kurutulması

Petri kaplarındaki muhtemel fungal gelişmeler binoküler mikroskop yardımı ile incelenmiş ve *Bipolaris* spp. ve *Fusarium* spp. benzeri fungal izolatlardan hif ucu alınarak tam kuvvetli PDA içeren ortamlara aktararak saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen izolatların morfolojik özellikler, Leica DM1000 mikroskobu (Leica Microsystems, Wetzlar, Almanya) ve Leica LAS EZ yazılımıyla 400 büyütmede (Leslie vd., 2008) kriterleri dikkate alınarak incelenmiş ve her bir izolattan 25 sporun ölçümü gerçekleştirilmiştir. Siyah pigmentli fungal izolatlar (Ellis, 1971) ve (Sivanesan, 1987a) anahtarı kullanılarak diğer türler ise (Holliday vd., 1970) *Macrophomina* sp. açıklaması kullanılarak tanımlanmıştır.

3.4. Moleküler Karakterizasyon

3.4.1. Fungusların Geliştirilmesi

Fungal izolatları, morfolojik ve kültürel özellikler (mikroskopik özellikler, koloni görünümü ve pigmentasyon) ve geleneksel tür tanımlama anahtarları, *Fusarium* spp. için açıklama anahtarları (Laraba vd., 2017; Laurence vd., 2011; Leslie vd., 2006), *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. (Sivanesan, 1987a), *Macrophomina* sp. (Holliday vd., 1970) ve *Microdochium* spp. (Glynn vd., 2005) dahil olmak üzere kullanılarak tanımlanmıştır. Bazı *Fusarium* izolatlarının morfolojiye dayanarak tür düzeyinde tanımlanması zordur; bu nedenle, tüm tür tanımlı izolatlar bilinmeyen türlerle birlikte moleküler karakterizasyona tabi tutulmuştur. Tüm izolatlar çalışmalar sırasında PDA besiyerinde 4°C’de ve uzun süreli depolama için %15:85 (v/v) gliserol:su çözeltisi içeren şişelerde -80°C’de saklanmıştır.

3.4.2. DNA İzolasyonu

İzolatların genomik DNA’sının izolasyonu hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB)’a dayalı bir metodu olan ve DArT DNA izolasyon

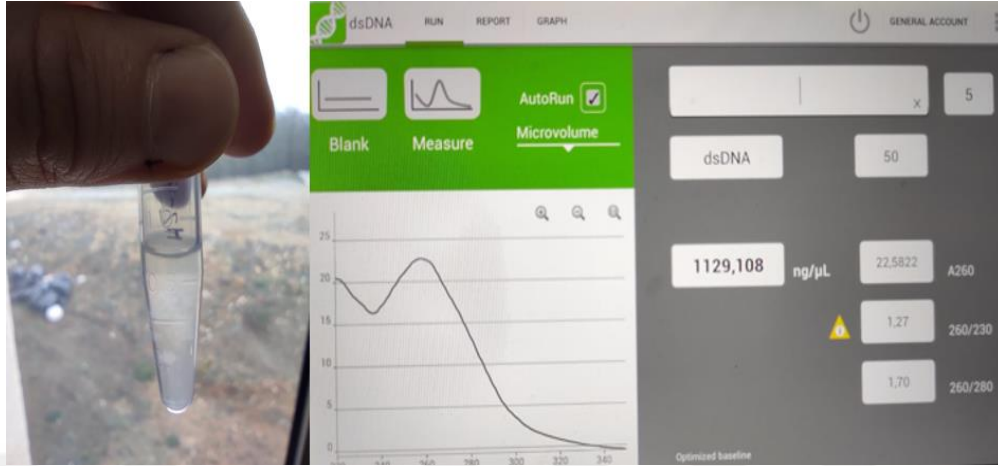
(<https://www.diversityarrays.com>) yönteminde belirtilen ekstraksiyon–lisis tamponu modifiye edilerek kullanılmıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. 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.	

Çalışmalarda kullanılan primerler ve sekans hizmeti ticari bir firma (Macrogen, Seul, Kore) tarafından sağlanmıştır. Her izolata ait 1,5 ml'lik Eppendorf tüpe aktarılmış olan yaklaşık 100 mg misel/spor dokusuna önceden ısıtılmış olan (65°C) 750 µl ekstraksiyon–lisis tamponu (125 mM Tris-HCl pH 8,0, 25 mM EDTA pH 8,0, %2 CTAB, %2 PVP-40, 0,8 M NaCl, %0,5 sodium disulfite, %1 sarcosyl) tüpe eklenmiştir. Örnekler bir mikro homojenizatör kullanılarak homojen hale getirilmiş ve her 15 dakikada bir hafifçe ters düz edilerek 65°C'de 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda kuru blok ısıtıcıdan alınan örnekler oda sıcaklığına kadar soğutularak üzerlerine 750 µl kloroform/izoamil alkol (24:1 w/w) eklenmiş ve 10 dakika süre ile yavaşça ters düz edilerek 12000 g'de 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Süpernatantlar temiz 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine aktararak üzerlerine DNA'yı çöktirmek için 0,6 hacim soğuk izopropanol eklenmiştir. 12000 g'de 5 dakika santrifüj işleminden sonra, süpernatant uzaklaştırılmış ve pelletler 2 kez %70'lik soğuk etanolle yıkanmış ve oda sıcaklığında 30 dakika ile kurutulmuştur. 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 50 ng/μl'ye ayarlanmıştır.



Şekil 3.3. DNA izolasyonu aşaması ve spektrofotometrede DNA ölçüm örneği

3.4.3. iPBS analizi

İzolatlar arasındaki genetik tür farklılıklarını değerlendirmek için, genomik DNA, (Kalendar vd., 2010a)'nın tasarlandığı fungal genomda kullanılan en yaygın iPBS primeri ile dinükleotid veya trinükleotid tekrarlarını içeren PCR amplifikasyonuna tabi tutulmuştur. iPBS markörü için annealing sıcaklıkları tavsiye edildiği gibi gerçekleştirilmiştir. PCR amplifikasyonları, 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 içermek üzere 25 μl hacimde gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon şu şekilde gerçekleştirilmiştir: 94°C'de 3 dakika, ardından 94°C'de 30 saniye, annealing sıcaklığında 30 saniye (primerlere bağlı olarak 52-54°C arasında) ve 72°C'de 2 dakika olacak şekilde 35 döngü ve son olarak 72°C'de 10 dakikalık bir döngü ile sona ermektedir. iPBS amplifikasyonları (Kalendar vd., 2010)'nın protokollerine göre Dream *Taq* DNA polimeraz (Thermo Scientific, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon ürünleri, 60 dakika boyunca %1,4'lük agaroz jelde elektroforeze tabi tutulmuş ve etidyum bromür boyamasından sonra bir G: Box F3 Jel Dokümantasyon Sistemi (Syngene, Cambridge, İngiltere) ile görüntülenmiştir.

3.4.4. PCR Reaksiyonu

Genomik DNA'nın ITS, *TEF1* ve *RPB2* lokuslarını çoğaltmak için sırasıyla, White vd. (1990) tasarladığı ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') ve ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'), (O'Donnell vd., 1998)

taraflarından ise EF1 (5'ATG GGT AAG GAR GAC AAG AC-3'), EF2 (5'-GGA RGT ACC AGT SAT CAT G-3') ve fRPB2-5f (5'-GAY GAY MGW GAT CAY TTY GG-3') (Reeb vd., 2004) ve fRPB2-7cr (5'-CCCATRGCTTGYYTTRCCCAT-3') (Liu vd., 1999) primerleri kullanılmıştır.

ITS bölgesini amplifikasyonu için termal cyler programı şu şekildedir: 94°C'de ilk denatürasyon adımı için 3 dakika, ardından 94°C'de 30 saniye, 52°C'de 60 saniye ve 72°C'de 1 dakika ile 35 döngü ve 72°C'de 10 dakikalık bir uzatma ile sonlanmıştır. *TEF1* ve *RPB2* lokuslarının amplifikasyonu için, 94°C'de 3 dakikalık bir başlangıç denatürasyon aşamasını ve ardından 94°C'de 1 dakikalık, 54°C'de 45s ve 72°C'de 1 dakikalık 35 döngüyü içermiştir. 72°C'de 10 dakikalık son uzatma ile reaksiyon sonlanmıştır. Amplifiye edilmiş DNA fragmanları, 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. Diziler, DNASTAR yazılımının 7.1.0 sürümünün (DNASTAR Inc., Madison, WI, ABD) MegAlign modülü ile okunmuştur ve düzenlenmiştir. NCBI GenBank nükleotid veri tabanında (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) saklanmıştır. Dizi homoloji araştırmaları, mevcut en yakın referans dizilerini belirlemek için NCBI GenBank'ın nükleotid veri tabanına karşı BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.5. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünleri, %1'lik agaroz jel içinde 0,5× Tris-borat-EDTA (TBE) tampon solüsyonunda 90 voltla 60 dakika boyunca elektroforetik ayrımaya tabi tutulmuştur. %1 agaroz jel hazırlamak için 160 ml 0,5× TBE solüsyonuna 1,6 g agaroz eklenmiştir.

Agaroz jele 10 µl PCR ürünü yüklenerek yaklaşık 1 saat elektriksel alanda elektroforetik ayrımaya tabi tutulmuş ve 15-20 dakika etidyum bromür 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, sekans bilgilerini elde etmek amacıyla ticari bir şirkete (Macrogen Inc., Seoul, Kore) ABI Prism® 3730xi cihazı kullanılarak gönderilmiştir. Ürünler benzer primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ham sekans dataları MEGA7

programı kullanılarak işlenmiş ve NCBI GenBank ta bulunan diğer sekanslarla benzerliklerinin karşılaştırmak için BLASTn analizine tabi tutulmuştur. Elde edilen sekanslar ClustalW program kullanılarak alignment analizi gerçekleştirilmiştir (Thompson vd., 1994). *Fusarium* türlerine ait izolatlarla ait sekanslar ile GenBank'tan elde edilen referans izolatların sekansları ile MEGA7 programı (Kumar vd., 2016) kullanılarak filogenetik ağacı Neighbor-joining dendrogramı Tamura vd. (1993) modeli kullanılarak 1000 bootstrap tekrarı ile çizilmiştir.

3.5. 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 biriktirilmiştir. *Fusarium* izolatları ve diğer izolatlar, sırasıyla *TEF1/RPB2* ve ITS dizilerine dayalı olarak filogenetik olarak ayrı ayrı 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* ve *RPB2* veri kümeleri için ayrı ayrı çıkarılmıştır. Analizler CIPRES Science Gateway V 3.3 üzerinde uygulanmıştır (<https://www.phylo.org/>). Elde edilen ağaçlar FigTree v1.4.2 yazılımında analiz edilerek düzenlenmiştir. *Fusarium solani* suşu CBS 748.79'un sekansları konsensüs ağaçlarının üretimini kolaylaştırmak için dış gruplar olarak eklenmiştir.

3.6. Patonejisite Testi

Buğday tohumlarının %1'lik NaOCl çözeltisi (v/v) ile yüzey dezenfeksiyonunu yapmak üzere geçen süreyi (1, 2 ve 3 dakika) kontrol etmek için bir ön deneme gerçekleştirilmiştir. Bu sürelerin hepsinde buğday tohumları çimlenmeye başlamıştır. Bu nedenle, buğday tohumlarının yüzey dezenfeksiyonu için 3 dakika boyunca %1'lik NaOCl çözeltisi kullanılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış olan tohumlar iki kez sterilize edilmiş olan damıtılmış su içinde durulanmış ve steril filtre kağıdı üzerinde kurutulmuştur. Tohumlar daha

sonrasteril damıtılmış suyla doyurulmuş bir filtre kağıdı destesiyle Petri kabına yerleştirilmiştir ve çimlenme için 3-4 gün boyunca 25°C'lik bir sıcaklıkta bir etüvde tutulmuştur. 23°C'de 12/12 saat aydınlık/karanlık rejimine sahip yetiştirme odası koşullarında buğday fideleri üzerindeki izolatların patojenitesini değerlendirmek için, 17 türü temsil eden 70 izolat (her türden 1 ila 5 izolat) seçilmiştir. Bu amaçla ekmeklik buğday (*T. aestivum*) çeşidi Seri 82 tohumları %0,5 NaClO ile 5 dakika muamele edilmiştir. Tohumlar daha sonra çimlenmeyi teşvik etmek için 3 gün boyunca suyla nemlendirilmiş bir parça steril filtre kağıdı ile plakalara yerleştirilmiştir. Turba (KTS 1, Klasmann-Deilmann, Geeste, Germany), steril vermikülit ve steril topraktan (1:1:1, v/v/v) oluşan bir saksı karışımı, 17 cm yüksekliğinde ve 15 cm çapında plastik saksılara yerleştirilmiştir. Her saksının karışım substrat yüzeyine beş özdeş fide yerleştirildi ve her izolat için üç replika saksı kullanılmıştır Kontrol tedavileri, aynı sayıda steril agar tıkaçlarını içermiştir.

Patojenisite testi için buğday fideleri steril saksılarda 5:4:1 kum, toprak ve organik madde (v/v/v) karışımı kullanılarak yetiştirilmiştir. Toprak karışımı bulunan saksıların üzerine yaklaşık 7 günlük kültürlerden alınan 0,5 santimetre çapındaki miselyal diskler koyulmuştur. Agar disklerin üzerine tek bir tohum yerleştirilmiştir ve ince bir toprak karışımıyla kapatılmıştır. Bitkiler, 16 saat suni ışık koşullarında ve 25°C gündüz ve 15°C gece sıcaklıklarında %60-80 bağıl nem koşullarında büyüme odasında tutulmuştur (Mitter vd., 2006). Bitkiler gerektiğinde sulanarak test süresince tekrarlanmıştır.

Aşılama işleminden dokuz hafta sonra bitkiler topraktan yıkanmıştır. Taç ve ana kök boğazındaki tipik esmerleşme/çürüme yüzdesine dayalı olarak (Nicol vd., 2001)'in (Wildermuth ve McNamara'dan 1994'den modifiye edilmiştir) 1-5 skalası (1: %1-9 Dayanıklı, 2: %10-29 Orta dayanıklı, 3: %30-69 Orta hassas, 4: %70-89 Hassas, 5: %90-99 Çok hassas) (Şekil 3.4) kullanılarak yapılmıştır.

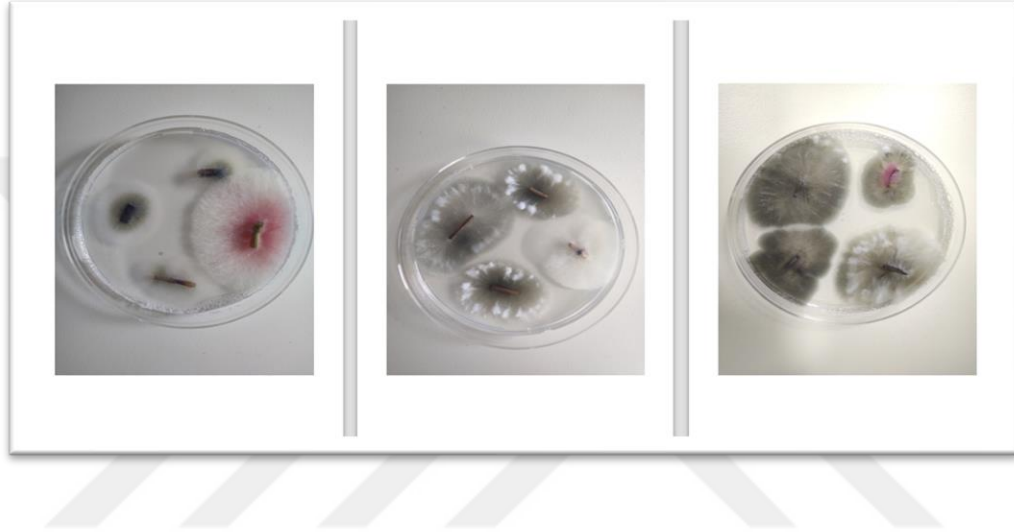


Şekil 3.4. Patojenite çalışmalarında kullanılan 1-5 skolası

Patojenler, her bir patojenik türün temsili izolatları için Koch postulatlarını yerine getirmek için aşılanmış bitkilerin ve kontrol bitkilerde oluşan belirtilerden yeniden izole edilmiştir. Yeniden izole edilen kültürlerin morfolojilerini, türlerin bilinen kültürleriyle karşılaştırarak bunlara karşılık gelen *Fusarium* türleri olarak doğrulanmıştır. Kontrol bitkilerinde herhangi bir *Fusarium* spp. kültür gelişimi gözlenmemiştir.

4. BULGULAR

Hastalıklı bitki örnekleri Kırgızistan’ın buğday ve arpa üretim alanlarında gerçekleştirilmiş sörveylerden elde edilmiştir. Bu kapsamda seçilmiş olan 30 tarlayı temsil eden hastalıklı bitkiler hasada yakın ve hasat zamanında örneklendirilerek alınmıştır. Her bir tarlayı temsil eden örnek rastgele seçilmiş 20 bitkiden oluşmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 4.1. İzolasyonu gerçekleştirilen fungal izolatların morfolojik gelişimleri

2020 yılında, Kırgızistan’ın kuzeyindeki buğday yetiştirme bölgelerindeki 30 tarladan toplanan semptomatik buğday örneklerinden 598 fungus izolatu izole edilmiştir. Morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak 243 *B. sorokiniana*, 317 *Fusarium* spp., 19 *Curvularia inaequalis*, 11 *M. phaseolina* ve 8 *Microdochium* spp. belirlenmiştir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2). Tanımlanan tüm kültürler, *Fusarium* spp. için tanımlama anahtarlarına dayalı olarak ilgili fungus cinsi ve türlerinin genel morfolojik ve kültürel özelliklerine (kültürlerin rengi, boyutu, varlığı ve şekli, konidia, konidiofor, septa ve sklerotia) sahiptir (Laraba vd., 2017; Laurence vd., 2011; Leslie vd., 2006). *Bipolaris* spp., *Curvularia* spp. için Sivanesan (1987), *Macrophomina* spp. için Holliday vd. (1970) ve *Microdochium* spp. için teşhis Glynn vd. (2005) dayalı teşhis anahtarları özelliklerine göre belirlenmiştir.

Tablo 4.1. Kırgızistan'ın çeşitli coğrafi bölgelerinden elde edilen buğday tacı/kök çürüklüğü ile ilişkili izolat sayısı ve izolasyon yoğunluğu

Türler*	Buğday bitkilerinden elde edilen izolat sayısı ve sörvey alanında ki bulunma yoğunluğu (%)							
	Bishkek		Tokbay		Kara Balta		Toplam	
	N	IF	N	IF	N	IF	N	IF
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	87	44,39	77	37,75	79	39,90	243	40,64
<i>Fusarium acuminatum</i>	31	15,82	51	25,00	47	23,74	129	21,57
<i>Fusarium culmorum</i>	11	5,61	25	12,25	30	15,15	66	11,04
<i>Fusarium nygamai</i>	41	20,92	3	1,47	0	0,00	44	7,36
<i>Fusarium equiseti</i>	6	3,06	5	2,45	15	7,58	26	4,35
<i>Fusarium oxysporum</i>	5	2,55	6	2,94	8	4,04	19	3,18
<i>Curvularia inaequalis</i>	0	0,00	13	6,37	6	3,03	19	3,18
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	0	0,00	8	3,92	9	4,55	17	2,84
<i>Macrophomina phaseolin</i>	2	1,02	6	2,94	3	1,52	11	1,84
<i>Fusarium redolens</i>	8	4,08	0	0,00	0	0,00	8	1,34
<i>Microdochium bolleyi</i>	3	1,53	2	0,98	0	0,00	5	0,84
<i>Microdochium nivale</i>	0	0,00	3	1,47	0	0,00	3	0,50
<i>Fusarium proliferatum</i>	2	1,02	0	0,00	0	0,00	2	0,33
<i>Fusarium burgessii</i>	0	0,00	2	0,98	0	0,00	2	0,33
<i>Fusarium tricinctum</i>	0	0,00	2	0,98	0	0,00	2	0,33
<i>Fusarium solani</i>	0	0,00	0	0,00	1	0,51	1	0,17
<i>Fusarium algeriense</i>	0	0,00	1	0,49	0	0,00	1	0,17
Toplam	196	100	204	100	198	100	598	100

N: İzolat sayısı IF: İzolasyon sıklığı *Tablo satırları, elde edilen toplam izolat sayısına göre en yüksekten en düşüğe doğru sıralanmıştır.

Tablo 4.2. Kırgızistan'ın incelenen bölgelerinde çeşitli tarlalarda buğday tacı/kök çürüklüğü ile ilişkili fungal türlerinin dağılımı ve fungal türlerinin tarla insidansı

Türler*	İzolatların elde edildikleri tarla sayısı ve türlerin bulundukları tarla oranları							
	Bishkek		Tokbay		Kara Balta		Toplam	
	N	IF	N	FI	N	FI	N	FI
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	9	90	8	80	9	90	26	86,67
<i>Fusarium acuminatu</i>	5	50	8	80	8	80	21	70,00
<i>Fusarium culmorum</i>	3	30	6	60	5	50	13	46,67
<i>Fusarium nygamai</i>	8	80	1	10	0	0	9	30,00
<i>Fusarium oxysporum</i>	2	20	2	20	5	50	9	30,00
<i>Fusarium equiseti</i>	3	30	1	10	3	30	7	23,33
<i>Macrophomina phaseolina</i>	1	10	4	40	2	20	7	23,33
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	0	0	3	30	2	20	5	16,67
<i>Fusarium redolens</i>	4	40	0	0	0	0	4	13,33
<i>Curvularia inaequali</i>	0	0	2	20	1	10	3	10,00
<i>Fusarium burgessii</i>	0	0	2	20	0	0	2	6,67
<i>Microdochium bollii</i>	1	10	1	10	0	0	2	6,67
<i>Microdochium nivale</i>	0	0	2	20	0	0	2	6,67
<i>Fusarium proliferatu</i>	1	10	0	0	0	0	1	3,33
<i>Fusarium solani</i>	0	0	0	0	1	10	1	3,33
<i>Fusarium tricinctum</i>	0	0	1	10	0	0	1	3,33
<i>Fusarium algeriense</i>	0	0	1	10	0	0	1	3,33
Toplam	10	100	10	100	10	100	30	86,67

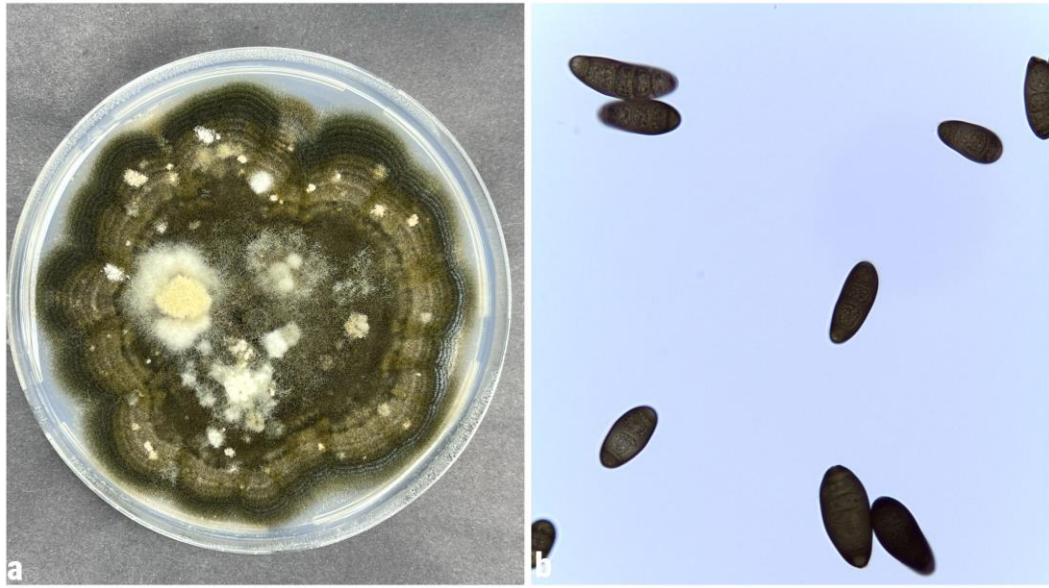
N: Tek tek türlerin tanımlandığı alan sayısı FI: Alan insidansı *Tablo sıraları, tek tek türlerin izole edildiği toplam alan sayısına göre azalan düzende düzenlenmiştir.

4.1. Morfolojik Karakterizasyon

4.1.1. İzolatların Kültür Karakterizasyonu

Bipolaris sorokiniana (Sacc.) Shoemaker

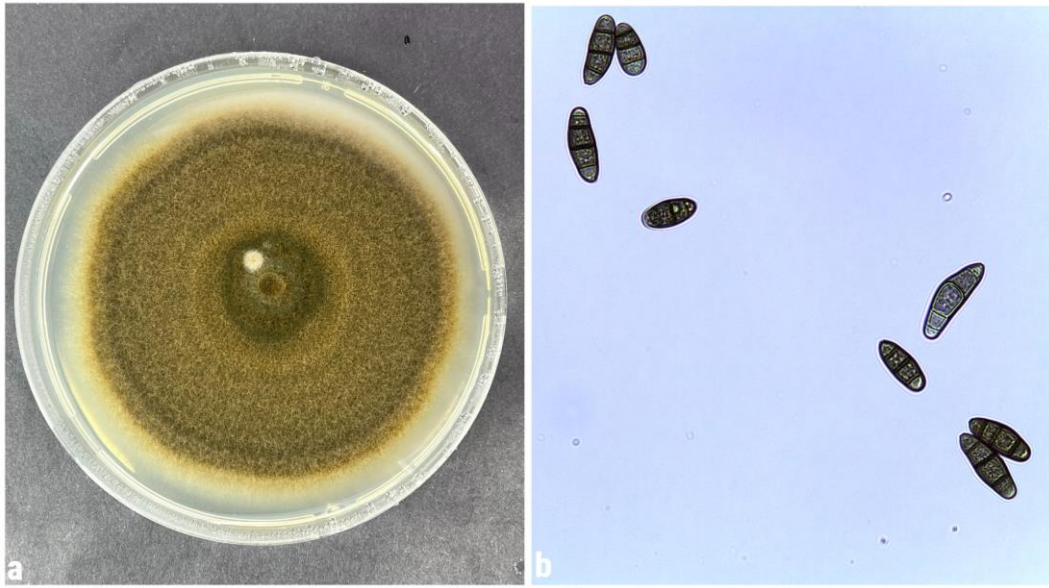
Bipolaris sorokiniana izolatlarının PDA ortamındaki kültür gelişimi başlangıçta beyaz ve soluk renkli olup, zamanla yavaş yavaş koyulaşarak zeytin-kahverengi veya grimsi-kahverengiye dönmüştür (Şekil 4.2). Konidileri birkaç hücreli, kahverengi renkte olup, eliptik, düz veya kıvrıktır şekildedirler. Konidilerin 16,2-29,6 μm $\times$ 60,3-122,6 μm boyutlarında olup, genellikle 3-7 bölmeli, uçları oval veya silindir şeklinde olduğu görülmüştür.



Şekil 4.2. *Bipolaris sorokiniana* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), konidileri (b).

***Curvularia inaequalis* (Shear) Boedijn**

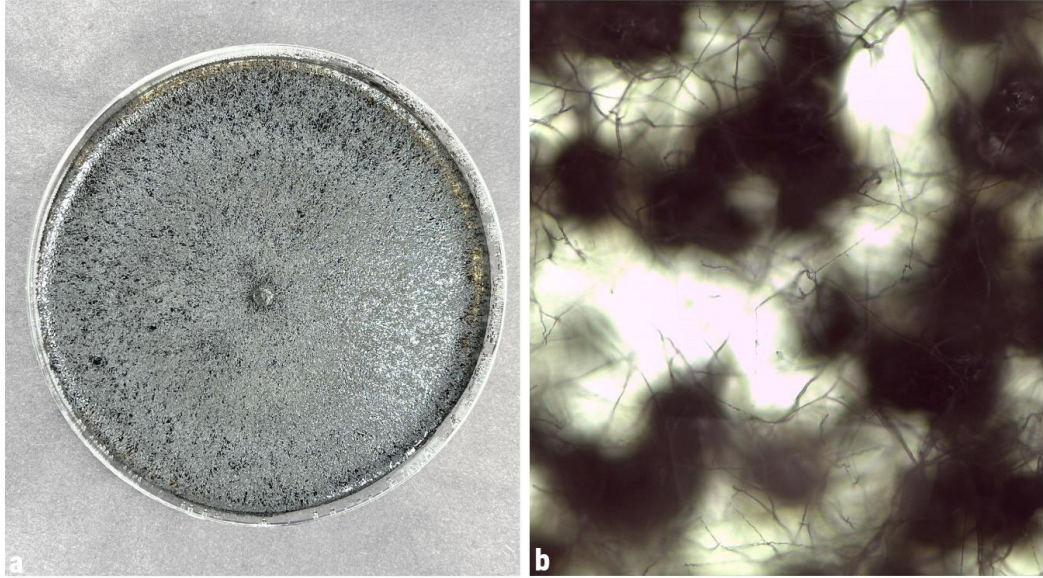
PDA ortamında *Curvularia inaequalis* izolatlarının misel gelişimi başlangıçta beyaz veya soluk olup, olgunlaştıkça hızla koyulaşarak kahverengi veya siyaha dönmüşlerdir, 1 hafta sonra ise kadifemsi bir dokuda, koyu yeşil ile grimsi siyah renklerinde görülmüşlerdir. *Curvularia inaequalis*'in conidi şekilleri çoğunlukla düz veya hafif kavisli, renkleri ise soluk kahverengidir. Konidiler 3-4 bölmeli ve $23,3\text{--}37,5 \times 8,9\text{--}13,2 \mu\text{m}$ boyutlarında görülmüş olup (Şekil 4.3) izolatların bu morfolojik özellikleri, *Curvularia inaequalis*'in tanımlarıyla eşleşmiştir.



Şekil 4.3. *Curvularia inaequalis* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), konidileri (b).

***Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid**

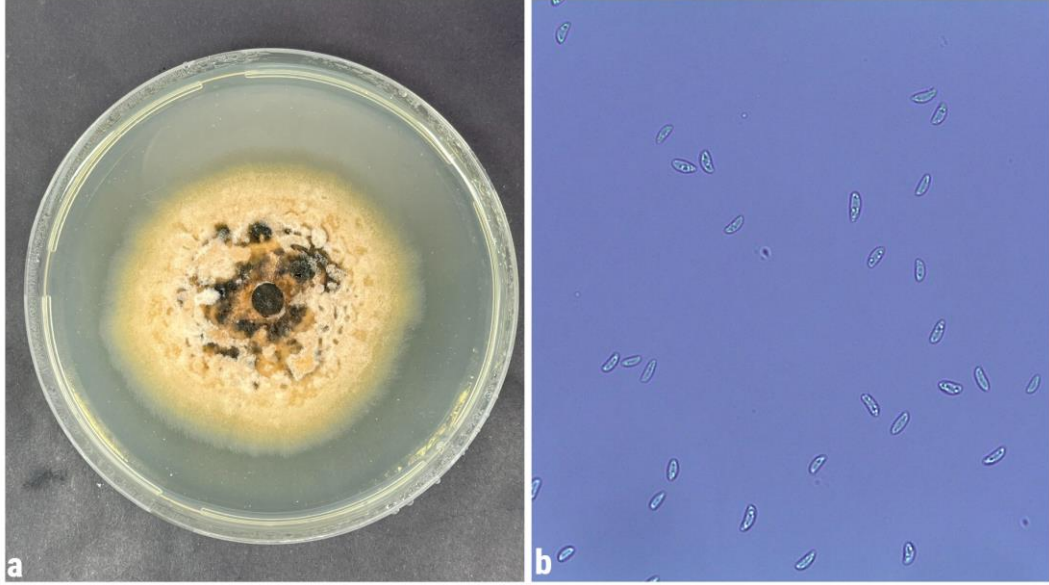
Macrophomina phaseolina, ince cidarlı hiyalin hifler veya septalı açık kahverengi ve koyu kahverengi hifler ile karakterize edilmiştir. Ana hiften gelen dallar genellikle ana hif üzerinde dik açıda oluşmuşlar ve başlangıç noktasında bir daralma göstermişlerdir. Sertleştirilmiş fungus miselinin kompakt bir kütlesi olan mikrosklerotlar $106-307 \times 92-178 \mu\text{m}$ aralığında değişen, farklı boyutlarda, küresel, oval veya dikdörtgen şeklinde oluşmuşlardır (Ashby, 1927; Goidanich, 1947). Etmenin kültürü genç aşamasında açık kahverengiyken olgunlaştıkça koyulaşmıştır. Hifleri tipik olarak renksiz ve septalıdır (Şekil 4.4). Konidiler tipik olarak konidioforlardan oluşmaktadırlar ve gelişim aşamasına bağlı olarak tek veya çok hücreli olup, tipik olarak oval ila silindirik şekilde oldukları gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4. *Macrophomina phaseolina* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), mikrosklerotileri (b).

***Microdochium bolleyi* (R. Sprague) de Hoog & Herm.-Nijh.**

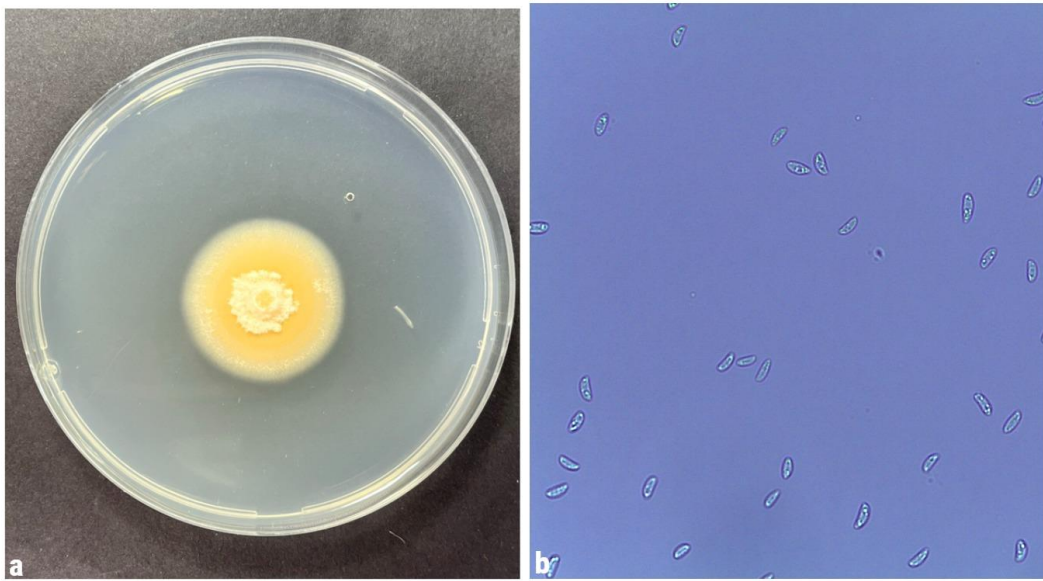
PDA üzerindeki koloni gelişiminin beyaz renkte oluşmuş ve etmenin büyüme sıcaklığının 23°C’de en uygun seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Konidiler açık renkli, pürüzsüz, tek hücreli, ince cidarlı, hilal şeklinde ve $5,0-8,7 \times 1,6-2,3 \mu\text{m}$ boyutlarında olduğu izlenmiştir (Şekil 4.5). Tüm izolatlar, morfolojik ve kültürel özelliklerine dayanarak *Microdochium bolleyi* olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.5. *Microdochium bolleyi* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), sporları (b).

***Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett**

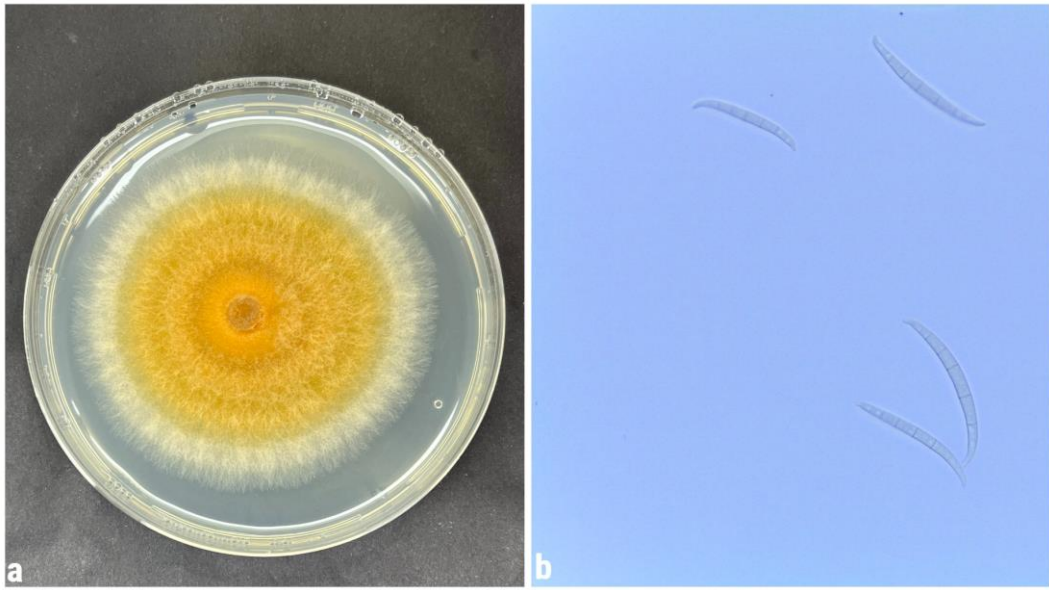
İzolatların PDA ortamındaki gelişimi başlangıçta beyaz veya soluk renkli olup, olgunlaştıkça soluk pembe veya somon rengine dönmüşlerdir. Misel dokusu tipik olarak pamuksu, veya kabarıktır. Mikroskopik inceleme altında, *M. nivale* konidileri genellikle 1-3 bölmeli, fusiform-yalancı şekilli, uçlara doğru daralmış, konik küt veya yuvarlak şeklinde olup boyutları da $7,9-13,37 \times 2,9-3,45 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Hifleri tipik olarak dallı ve yoğun bir miselyum oluşturmuştur (Şekil 4.6). *Microdochium nivale*, konidioforları tipik olarak dallı, konidileri tek hücreli ve silindirik veya elipsoidal olarak gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6. *Microdochium nivale* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), sporları (b).

***Fusarium pseudograminearum* Aoki & O'Donnell**

Fusarium pseudograminearum izolatlarının PDA üzerinde turuncu pigment ürettikleri ve hızlı büyüdüğü gözlemlenmiştir. Beyaz renkte periferide ve merkezde sarımsı olan yoğun miselyum oluşturmuşlardır. *Fusarium pseudograminearum*, orta ila uzun (50-61 μm), nispeten ince (5-7 μm) makrokonidiler üretmişlerdir. Makrokonidiler neredeyse düz ve orta derecede kıvrımlı, ayak şeklinde bazal hücrelere ve kıvrımlı apeks hücrelere sahiptir. Makrokonidiler 5-6 septalı ve çoğunluğunun 5 septaya sahip olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *Fusarium pseudograminearum* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Saccardo**

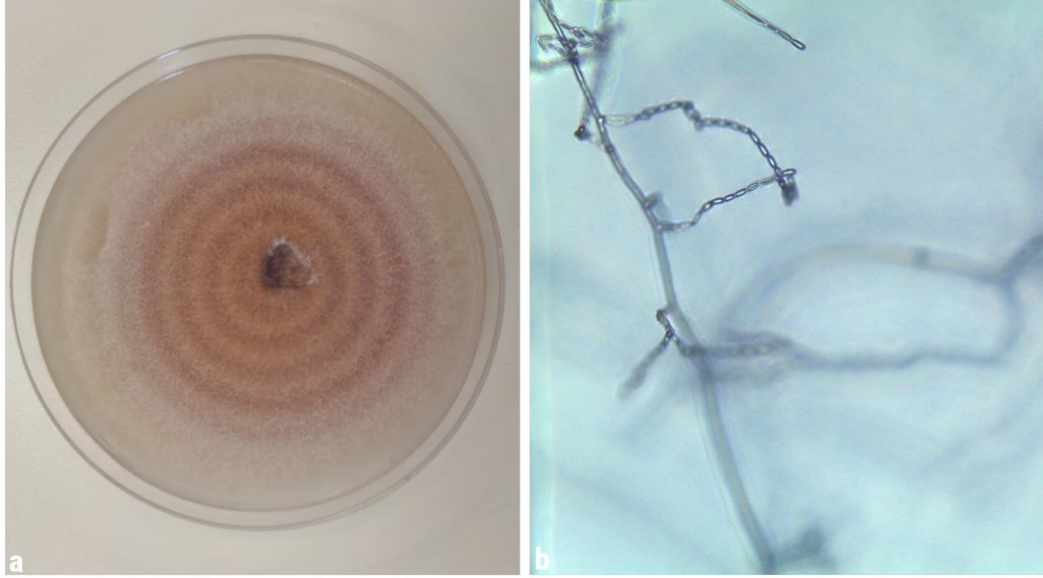
Fusarium culmorum izolatlarının neredeyse tümü, PDA üzerinde benzer koloni özellikleri göstermişlerdir. Miselyum beyazımsı, açık sarı veya kırmızıdır. PDA'nın arka yüzündeki pigment grimsi-gül, karmin kırmızısı veya bordo arasında değişmiştir. Hızlı büyüme gösterdikleri ve büyüme hızlarının 41 ila 57 mm arasında değiştiği gözlemlenmiştir. PDA'daki çoğunluğu 4 septalı olan kalın çeperli makrokonidilerin monofialitler üzerinde taşındığı görülmüştür. Makrokonidileri kalın duvarlı ve kavisli olup, genellikle 3–5 septalı ve $35\text{--}55 \times 5,2\text{--}7,6 \mu\text{m}$ boyutlarındadır (Şekil 4.8). İnkübasyondan iki hafta sonra hiflerde ve makrokonidiler içinde zincirleşmiş klamidosporlar oluşturmuşlardır.



Şekil 4.8. *Fusarium culmorum* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium nygamai* L.W. Burgess & Trimboli**

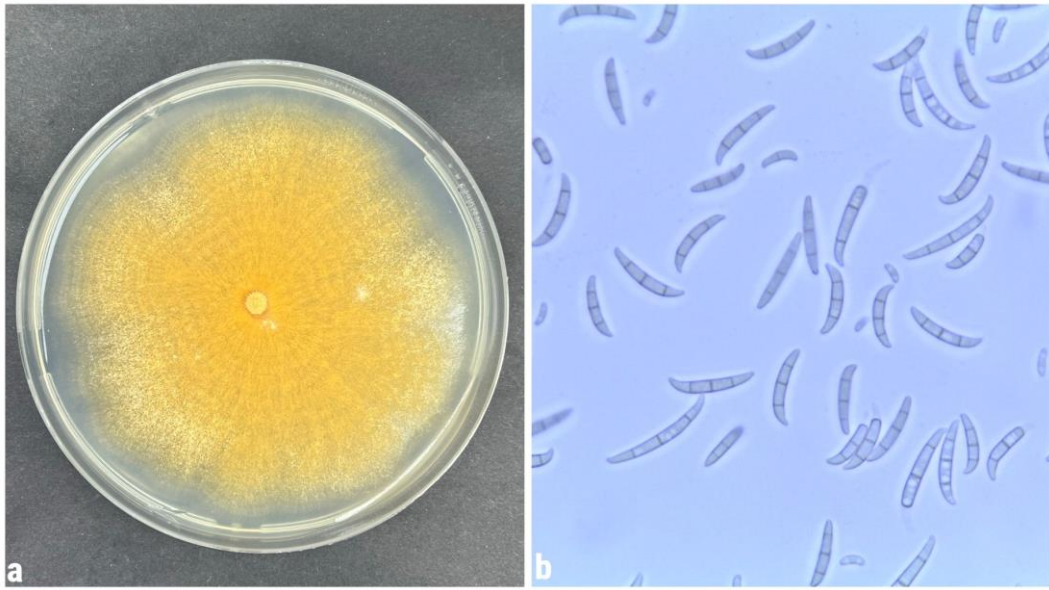
PDA üzerindeki *F. nygamai* miselinin hızla büyüyerek agar yüzeyine yayıldığı gözlemlenmiştir. Misel gelişimi başlangıçta doku olarak beyaz ve pamuksu görülmüştür. Olgunlaştıkça renkleri pembe, mor veya kırmızımsı kahverengiye dönüşmüştür (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. *Fusarium nygamai* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), zincir oluşumu (b).

***Fusarium redolens* Wollenweber**

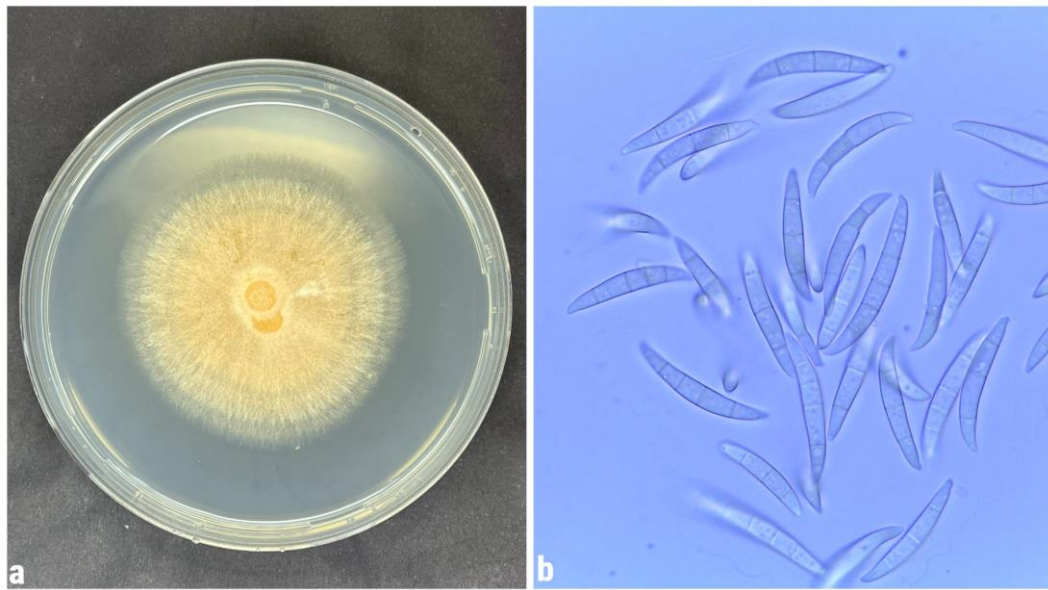
PDA'daki *F. redolens* misel gelişimi başlangıçta beyaz veya soluk krem renginde görülmüştür. Olgunlaştıkça rengi açık pembe ve açık turuncuya dönüşmüştür. Misel gelişimleri agarda bir miktar kahverengi pigmentasyon ile beyazdan pembeye değişen, nispeten düz bir havai miselyuma sahiptir. Makrokonidileri sağlam ve kalın duvarlı olup genellikle 3-5 septalıdır. *Fusarium redolens* tarafından üretilen makrokonidiler kancalı apeks hücrelere ve ayak şeklinde bazal hücrelere sahiptir. Makrokonidiler $46,0 \times 3,0$ μm boyutlarındaydılar (Şekil 4.10). Kültürde klamidospore oluşumu gözlenmiştir.



Şekil 4.10. *Fusarium redolens* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium oxysporum* Schlechtendahlemend. Snyder & Hansen**

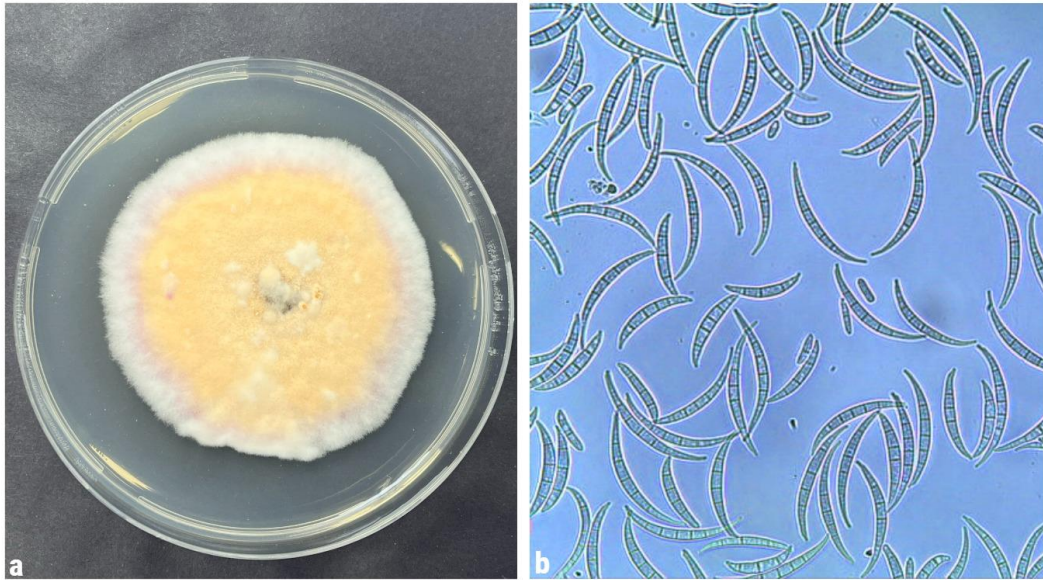
Fusarium oxysporum izolatları, PDA üzerinde geniş çeşitlilik gösteren koloni özelliklerine sahiptir. Miselyal gelişimin beyazdan soluk menekşe rengine kadar değişebildiği gözlemlenmiştir. Bazı izolatlarda merkezi bir spor kütleğinde soluk turuncu veya soluk mor makrokonidiler üretmiştir. *Fusarium oxysporum*, PDA üzerinde 0 ila 1 septalı bol miktarda mikrokonidi, uzunlukları ve genişlikleri sırasıyla 22,5-37,5 µm ve 2,5-4,5 µm olan kısa ila orta boyutta makrokonidiler de üretmiştir (Şekil 4.11). Üretilen makrokonidiler ince cidarlı ve 2-3 septalı ancak çoğu 3 septalı olarak görülmüştür.



Şekil 4.11. *Fusarium oxysporum* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium acuminatum* Ellis & Everhart**

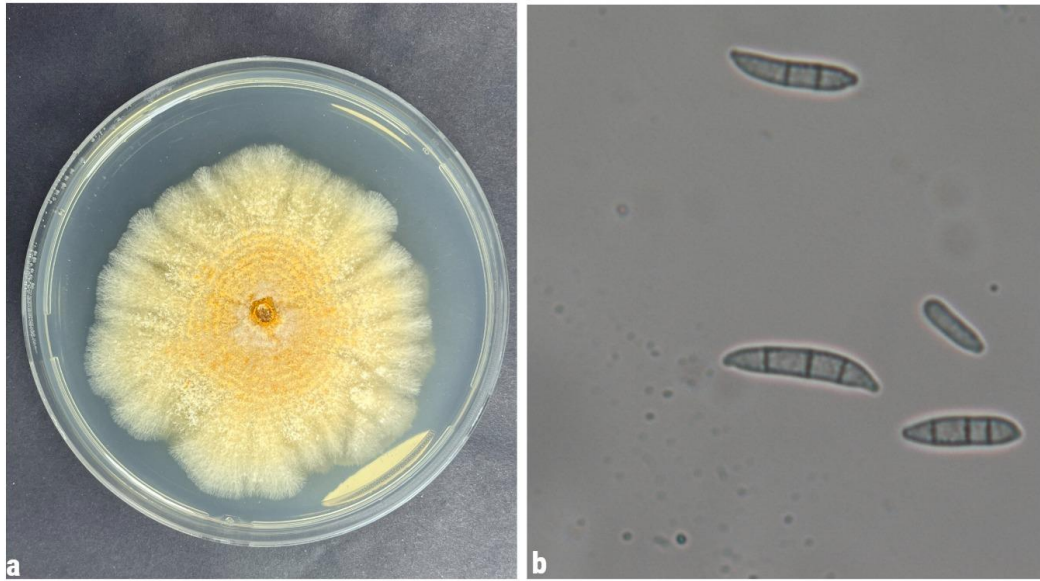
Fusarium acuminatum'un, bazı izolatlarda bol miktarda beyaz miselyum üreten, nispeten yavaş gelişen bir tür olduğu görülmüştür. PDA'da kırmızı pigmentler (bazen kahverengi) oluşturmuştur. *Fusarium acuminatum*, kalın cidarlı makrokonidiler üretmiştir. Bölme sayısı genellikle 5 olarak görülmüş ancak 3- ve 4- bölmeli makrokonidiler de üretmiştir ve bunların uzunlukları sırasıyla 24-58 µm, genişlikleri de 4-5,5 µm olarak görülmüştür. Üretilen makrokonidiler, orta derecede kavisli olup belirgin ayak şeklinde bazal hücreye; uzun, sivrililen apeks hücrelere sahip olup 3-5 septalı olarak görülmüşlerdir (Şekil 4.12). Mikrokonidiler 0-1 septalı olarak görülmüştür.



Şekil 4.12. *Fusarium acuminatum* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium equiseti* (Corda) Saccardo**

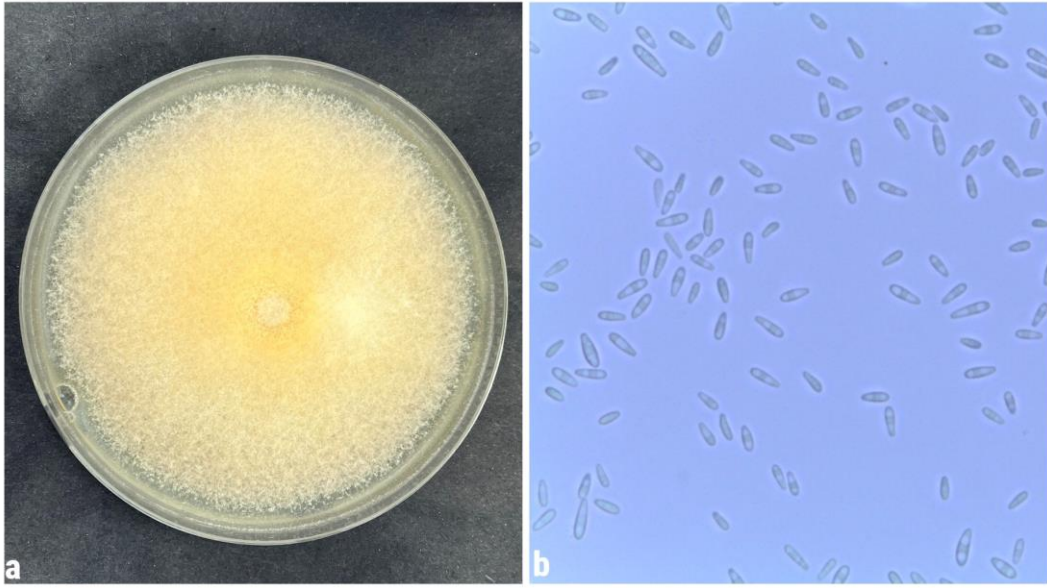
Fusarium equiseti kültürde başlangıçta beyaz olan, ancak yaşlandıkça kahverengiye dönüşen bol miktarda misel üretmiştir. Spor kütleleri soluk turuncudan koyu kahverengiye kadar olup açık-koyu döngüsüne tepki olarak halka şeklinde bölgeler gelişebilmektedir. PDA’da genellikle koyu kahverengi lekeler veya pigment benekleri oluşturmuştur. Kültürde turuncu sporodokyum içinde bol miktarda makrokonidiler oluşmuştur. Makrokonidiler ölçüm değerleri $41,8 \times 5,25$ μm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.13). Klamidosporları interkalar, tekli veya zincir şeklinde olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.13. *Fusarium equiseti* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg**

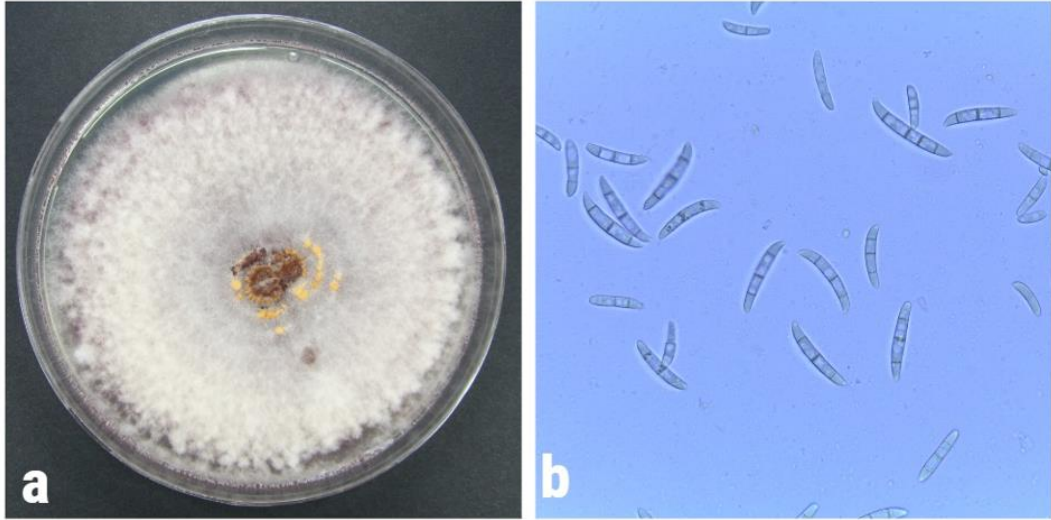
Fusarium proliferatum izolatları PDA üzerinde başlangıçta beyaz görülse de zamanla turuncu rengine dönüşmüştür. Makrokonidileri ince duvarlı, nispeten düz olup bölme sayısı genellikle 3 ila 5 bölme olarak görülmüştür. Uzunlukları sırasıyla 23,75-35 μm ve genişlikleri 2,5-3 μm olan ince cidarlı, ince makrokonidiler ürettikleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.14). Üretilen makrokonidiler, nispeten düz ve kavisli apeks hücreye sahiptir ve 3 ila 5 septalıdır.



Şekil 4.14. *Fusarium proliferatum* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium burgessii* M.H. Laurence, Summerell & E.C.Y. Liew**

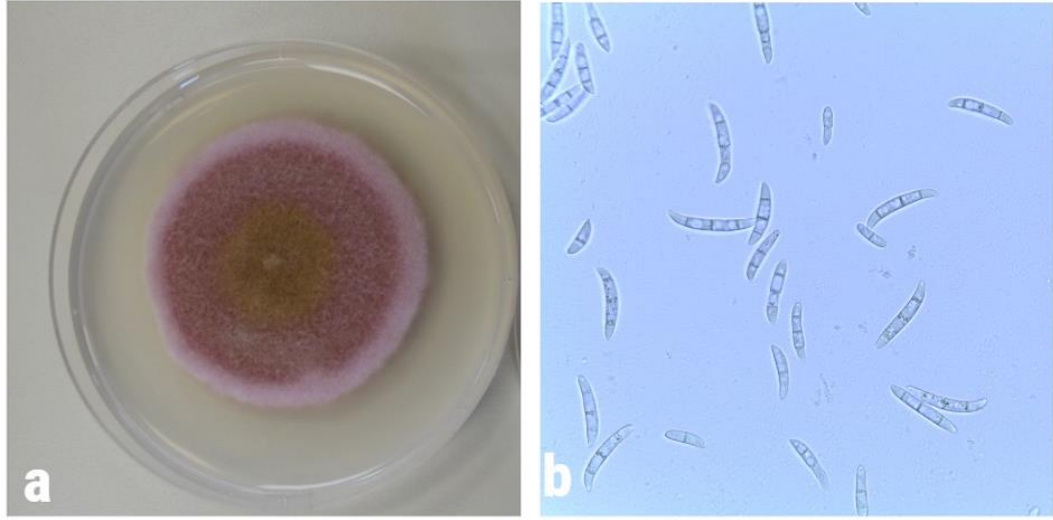
PDA'daki *F. burgessii* misel gelişimleri başlangıçta beyazımsı veya soluk pembe görülmüş ve daha sonra grimsi bir renk tonuna dönmüştür. Doku tipik olarak kabarık veya pamukludur ve koloni çapı, büyüme koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir. Etmen tipik olarak orak şeklinde, birkaç enine septaya sahip çok hücreli makrokonidiler üretmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. *Fusarium burgessii* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium tricinctum* (Corda) Saccardo**

Fusarium tricinctum kültürde hızlı gelişim göstermiştir ve başlangıçta beyaz olup, olgunlaşmasıyla birlikte pembe, kırmızı veya mor hale gelen bol miktarda yoğun miselyum oluşturduğu görülmüştür. Makrokonidileri yaygındır ve tipik olarak kavisli veya sivri apeks hücreye ve belirgin ayak hücrelerine sahip olup 3-5 bölmeli olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.16). Makrokonidilerin boyutları sırasıyla 22,5-42,5 µm uzunluk ve 2,5-4,8 µm genişlikte ölçülmüştür.



Şekil 4.16. *Fusarium tricinctum* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

***Fusarium algeriense* Laraba & O'Donnell**

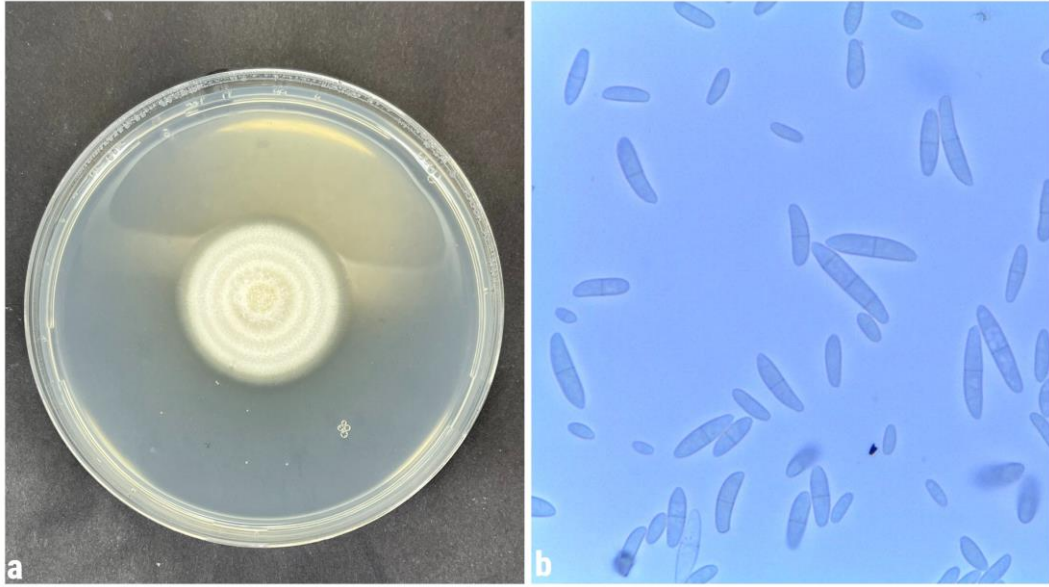
Fusarium algeriense misel gelişimi PDA'da 12 saatlik bir fotoperiyod sonrasında başlangıçta beyaz veya soluk bej renkte oluşmuş, zamanla mor veya lavanta rengine dönmüştür (Şekil 4.17). Misel yapısı pamuksu veya kabarık bir dokuya sahiptir. Makrokonidileri çoğunlukla 3-4 septalı olup ve klamidosporları yoktur.



Şekil 4.17. *Fusarium algeriense* kültürünün PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

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

PDA üzerindeki *F. solani* misel gelişimlerinin başlangıçta beyaz renkte ve pamuksu bir dokuya sahip olduğu görülmüştür. Olgunlaştıkça misel rengi pembe, turuncu veya kahverengi tonlarına dönüşmüştür. *Fusarium solani*' nin PDA'daki tek hücreli sporları genellikle koloninin yüzeyine dağılmış küçük noktalar veya benekler olarak görülmüştür. Hem makrokonidiler hem de mikrokonidiler üretmiştir. Makrokonidiler büyük, çok hücreli, orak şeklinde ve genellikle 3-5 bölmeli olup 3.85-5.0 µm eninde ve 15.0-28.5 µm uzunluğunda ölçülere sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.18). Mikrokonidilerin ise küçük, tek hücreli ve bol miktarda üretildiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.18. *Fusarium solani* PDA üzerindeki misel gelişimi (a), makrokonidileri (b).

4.2. Moleküler Karakterizasyon

4.2.1. DNA İzolasyonu, Sekans Verileri ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması

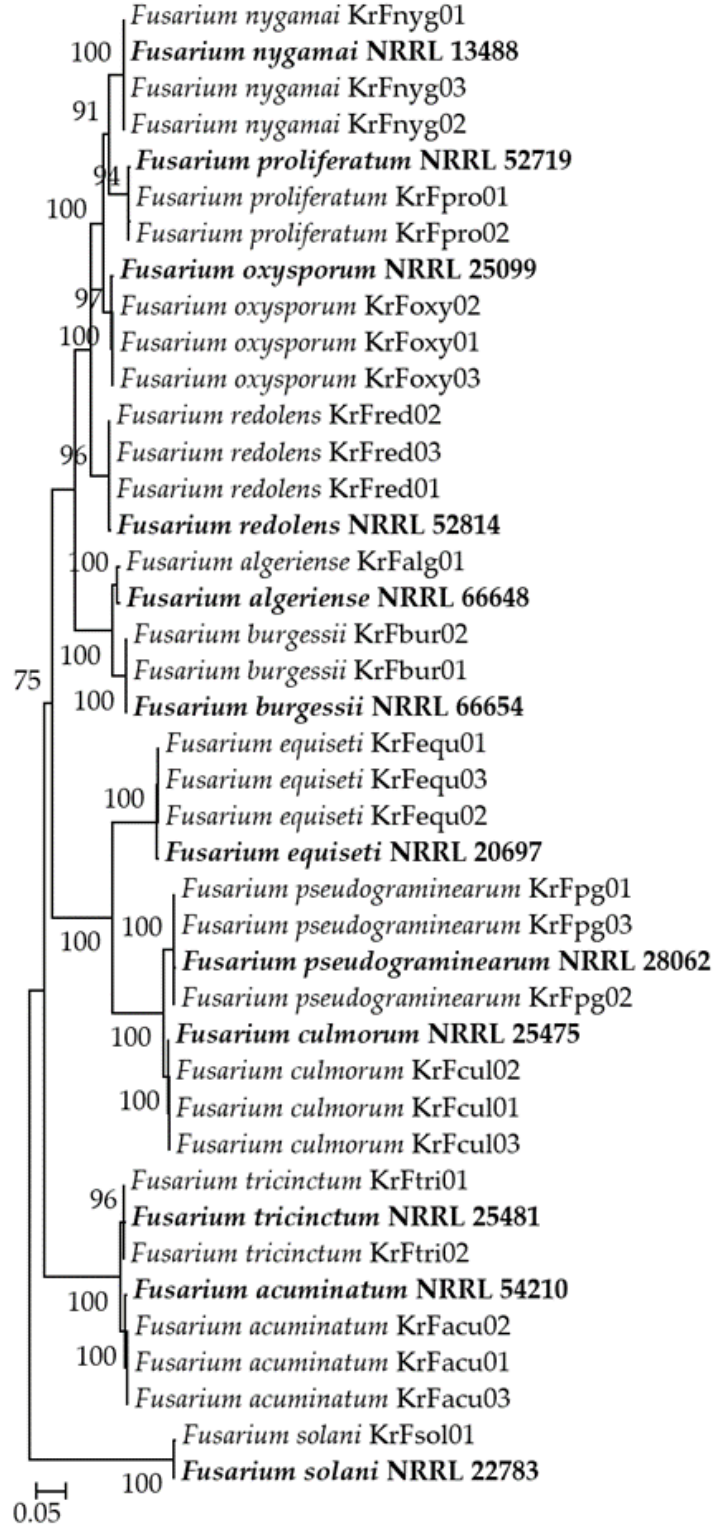
PCR amplifikasyonu sonucu rDNA'nın ITS bölgesi ile *TEF1* ve *RPB2* bölgeleri çoğaltılarak sırasıyla 557- 591 ve 700-750 bp arasında değişen DNA fragmanları üretmiştir. *RPB2* gen bölgesinin sekansı uç bölgeleri temizlendikten sonra 902 bp olarak NCBI GenBank veri tabanına girilmiştir. Bu üç lokusa dayanan BLASTn sorguları, tüm izolatların sekanslarının GenBank veri tabanındaki türlerle %99-100 benzerlik olduğunu göstermiştir. Elde edilen tüm sekanslar, (Tablo 4.3)'de listelenen erişim numaraları ile GenBank'ta kaydedilmiştir.

Tablo 4.3. Bu çalışmada elde edilen temsili izolatların GenBank Erişim numaraları

Türler	GenBank Erişim numaraları			
	İzolat Kodu	ITS	<i>TEF1</i>	<i>RPB2</i>
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	KrBsor01	OP709681	-	-
	KrBsor02	OP709682	-	-
	KrBsor03	OP709683	-	-
<i>Curvularia inaequalis</i>	KrCina01	OP709684	-	-
	KrCina02	OP709685	-	-
	KrCina03	OP709686	-	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	KrMpha01	OP709678	-	-
	KrMpha02	OP709679	-	-
	KrMpha03	OP709680	-	-
<i>Microdochium bollleyi</i>	KrMbol03	OP709687	-	-
	KrMbol03	OP709688	-	-
	KrMbol03	OP709689	-	-
<i>Microdochium nivale</i>	KrMniv01	OP709690	-	-
	KrMniv01	OP709691	-	-
	KrMniv01	OP709692	-	-
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	KrFpg01	-	OP688131	OP688160
	KrFpg02	-	OP688132	OP688161
	KrFpg03	-	OP688133	OP688162
<i>Fusarium culmorum</i>	KrFcul01	-	OP688134	OP688163
	KrFcul02	-	OP688135	OP688164
	KrFcul03	-	OP688136	OP688165

<i>Fusarium nygamai</i>	KrFnyg01	-	OP688137	OP688166
	KrFnyg02	-	OP688138	OP688167
	KrFnyg03	-	OP688139	OP688168
<i>Fusarium redolens</i>	KrFred01	-	OP688140	OP688169
	KrFred01	-	OP688141	OP688170
	KrFred01	-	OP688142	OP688171
<i>Fusarium oxysporum</i>	KrFoxy01	-	OP688143	OP688172
	KrFoxy01	-	OP688144	OP688173
	KrFoxy01	-	OP688145	OP688174
<i>Fusarium acuminatum</i>	KrFacu01	-	OP688146	OP688175
	KrFacu01	-	OP688147	OP688176
	KrFacu01	-	OP688148	OP688177
<i>Fusarium equiseti</i>	KrFequ01	-	OP688149	OP688178
	KrFequ01	-	OP688150	OP688179
	KrFequ01	-	OP688151	OP688180
<i>Fusarium proliferatum</i>	KrFpro02	-	OP688152	OP688181
	KrFpro02	-	OP688153	OP688182
<i>Fusarium burgessii</i>	KrFbur01	-	OP688154	OP688183
	KrFbur01	-	OP688155	OP688184
<i>Fusarium tricinctum</i>	KrFtri01	-	OP688156	OP688185
	KrFtri01	-	OP688157	OP688186
<i>Fusarium algeriense</i>	KrFalg01	-	OP688158	OP688187
<i>Fusarium solani</i>	KrFsol01	-	OP688159	OP688188

Bu çalışmadan elde edilen izolatların ITS ve ile *TEF1* sekanslarının birleşik veri setine ve GenBank'ta bulunan türlerin referans sekanslarına dayanan filogenetik analizler, farklı türlere ait izolatlar %100 bootstrap desteği ile ayrılmıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. *Fusarium* izolatlarının *TEF1* ve *RPB2* dizileri kullanılarak filogenetik analizi IQ-TREE kullanılarak maksimum olasılığa dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada referans ve dış grup olarak kullanılan diziler vurgulanmıştır.

4.3. Patojenisite Testi

Kırgızistan'ın kışlık buğday ve arpa yetiştiriciliği yapılan bölgelerinde 30 tarladan toplanan semptomatik buğday ve arpa örneklerinden toprak kökenli toplamda 598 fungal izolat izole edilmiştir. Türlerin morfolojik ve moleküler araçlara göre sınıflandırılması sonucunda 317 *Fusarium* spp., 243 *B. sorokiniana*, 19 *C. spicifera*, 11 *M. phaseolina*, 5 *M. bolleyi* ve 3 *M. nivale* tespit edilmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen tüm isolatları, Seri-82 buğday fidelerinde kron ve seminal köklerin nekrozu ve renk değişikliği, fide yanması ve bodur fideler gibi tipik semptomlara neden olduğu ve seminal köklerde renk değişikliği gözlenmiştir. Patojenite testleri, *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum* isolatlarının eşit derecede virulent patojenler olduğunun kanıtlamıştır ($P < 0,05$) ve ortalama taç çürüklüğü şiddetinin sırasıyla 3,55 ve 3,42 olduğunu ortaya koymuştur

Tablo 4.4). Her iki türün çeşitli izolatları, bazı saksılarda tüm bitkilerin ölmesiyle birlikte önemli hasara neden olmuştur. *Bipolaris sorokiniana* ise kronlar kökler üzerinde orta derecede virü lent olduğu gözlenmişken, *Fusarium* sp. ile benzer seviyelerde nekroz veya çürümeye neden olmuştur. Benzer şekilde *F. algeriense* ve *F. redolens* izolatları ortalama taç çürüklüğü şiddeti göstermiştir ve orta derecede virü lent bulunmuştur, ancak yukarıda bahsedilen türler kadar şiddetli değildir. Bununla birlikte, *C. inaequalis* izolatları sadece hafif derecede virü lent bulunmuştur ve ortalama taç çürüklüğü şiddeti 1,67 olan aşılınmış bitkilerin birkaç kronunda ve seminal köklerinde hafif renk bozulmasına neden olmuştur. *Fusarium acuminatum*, *F. oxysporum*, ve *F. equiseti*, *F. nygamai*, *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. burgessi*, *F. tricinctum* ile *M. phaseolina* buğday fideleri üzerinde patojenik değildir ve kontrol bitkilerinden önemli bir fark göstermemiştir.

Tablo 4.4. Çalışmada tanımlanan fungal türlerinin patojenite değerleri

Türler	İzolat sayısı	Ortalama hastalık skoru	Ortalama hastalık şiddeti (%)***	Hastalandırma kabiliyeti****
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	3	3,67±0,49a**	73,33	HV
<i>Fusarium culmorum</i>	3	3,62 ± 0,51a	72,33	HV
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	3	2,78 ± 0,39b	55,50	MV
<i>Fusarium redolens</i>	3	2,23 ± 0,28c	44,67	MV
<i>Fusarium algeriense</i>	1	2,22 ± 0,21bd	44,50	MV
<i>Curvularia inaequalis</i>	3	1,67 ± 0,26de	33,33	MV
<i>Fusarium nygamai</i>	3	1,43 ± 0,23e	—	NP
<i>Fusarium solani</i>	1	1,42 ± 0,27e	—	NP
<i>Microdochium bolleyi</i>	3	1,42 ± 0,37e	—	NP
<i>Fusarium oxysporum</i>	3	1,40 ± 0,15e	—	NP
<i>Fusarium proliferatum</i>	2	1,39 ± 0,21e	—	NP
<i>Macrophomina phaseolina</i>	3	1,37 ± 0,24e	—	NP
<i>Microdochium nivale</i>	3	1,32 ± 0,26e	—	NP
<i>Fusarium burgessii</i>	2	1,29 ± 0,15e	—	NP
<i>Fusarium tricinctum</i>	2	1,28 ± 0,18e	—	NP
<i>Fusarium acuminatum</i>	3	1,26 ± 0,23e	—	NP
<i>Fusarium equiseti</i>	3	1,25 ± 0,16e	—	NP

Tablo satırları, hastalık şiddeti puanlarına göre en yüksekten en düşüğe doğru sıralanmıştır. *Tüm izolatlara ait değerlerin ortalamasından standart sapma; **Aynı harfle bağlanmayan düzeyler, $P = 0.05$ 'te Tukey'nin HSD'sine dayalı olarak izolatlar arasında önemli ölçüde farklıdır; ***Ortalama hastalık ortalama skor değerleri kontrol grubu ile aynı grupta olan türler için hastalık şiddeti hesaplanmamıştır; ****HV: Yüksek derecede virülent MV: Orta derecede virülent MiV: hafif derecede virülent NP: patojenik değil.

5. TARTIŞMA

Buğday, dünya çapında çeşitli coğrafi bölgelerde, ortamlarda ve üretim sistemlerinde yetiştirilmektedir. Dünyada 65. en büyük buğday üreticisi olan Kırgızistan'da, buğdayın toprak altı ve taç dokularında fungal enfeksiyonlarının varlığı ve dağılımı hakkında hiçbir araştırma yapılmamıştır. Bu çalışmada, Kuzey Kırgızistan'da buğday taç çürüklüğü ile ilişkili patojenlere ilişkin sistematik bir araştırmanın bulguları sunulmaktadır. *Bipolaris sorokiniana*, yüksek tarla insidansı (%86,67) ve köklerden ve taçlardan izolasyon sıklığı (%40,64) ile ülkenin bu bölgesinde buğdayın birincil patojeni olarak tanımlanmıştır. Sonuçlar ayrıca, *Fusarium* taç çürüklüğünün bu alanda yaygın olarak dağıldığını ve buğday saplarının tabanında 12 *Fusarium* türünün varlığını göstermiştir. Örnekleme bölgelerinin çoğunda en yaygın olan iki tür *F. acuminatum* ve *F. culmorum*'dur. *Fusarium acuminatum* izolasyon sıklığı sadece %21,57 olmasına rağmen, incelenen alanların %70,00'inde bulunmuştur. Bu yüksek oranlar Colorado ve Wyoming'de (Hill, 1983), Mississippi (Gonzalez vd., 2000), Montana (Moya-Elizondo vd., 2011), Batı Kanada (Fernandez vd., 2014), Kuzey Çin (Bockus vd., 2010), Kuzey Dakota (Shrestha vd., 2021) ve Kazakistan (Bozoğlu vd., 2022) bulunanlarla karşılaştırılabilir. Benzer şekilde *F. culmorum* %11,04 izolasyon sıklığı ile incelenen alanların %46,67'sinde tespit edilmiştir. Bu çalışmada tarla insidansı ve izolasyon sıklığında üçüncü sırada yer alan *F. culmorum*, çeşitli buğday yetiştirme bölgelerinde yapılan çok sayıda araştırmada en yaygın ve yıkıcı *Fusarium* türlerinin ana bileşeni olarak tanımlanmıştır (Abdallah-Nekache vd., 2019; Backhouse vd., 2004; Cook, 1981; Gebremariam vd., 2018; Moya-Elizondo vd., 2011; Pettitt vd., 2003; Shrestha vd., 2021; Smiley vd., 1996; Tunalı vd., 2008). *Fusarium nygamai*, Bişkek'teki sekiz ve Sokulluk'taki bir tarladan toplanan 44 izolatla, incelenen alanların %30,00'ünü temsil etmiş ve %7,36'lık bir izolasyon sıklığıyla, bir diğer yaygın *Fusarium* türü olmuştur. *Fusarium nygamai* daha önce ılıman ve sıcak iklimlerde depolanan buğday örneklerinden izole edilmiş (Chehri vd., 2010) ve İran'da buğday kök ve gövde dokularında en yaygın *Fusarium* türlerinden biri olduğu bulunmuştur (Chehri, 2011). Ayrıca Irak'ın Basra vilayetindeki buğday köklerinden de izole edilmiştir (Minati, 2020). Tarla insidansı ve izolasyon sıklığı açısından beşinci sırada yer alan *F. equiseti*, Azerbaycan'da buğdayda taç ve kök çürüklüğü ile ilişkili baskın bir fungus olarak rapor edilmiştir

(Özer vd., 2020), Kuzey Dakota (Shrestha vd., 2021), Saskatchewan (Fernandez vd., 2004), Mississippi (Gonzalez vd., 2000) , İtalya (Rossi vd., 1995), Kanada (Fernandez vd., 2014) ve Türkiye, (Bentley vd., 2006; Gebremariam vd., 2018)'de gerçekleştirilen çalışmalar bu da bulgularımızı doğrulamaktadır. Örneklem alanlarının sırasıyla %30,00 ve %23,33'ünde *F. oxysporum* ve *M. phaseolina* %3,18 ve %1,84'lük izolasyon oranlarıyla bulunmuştur. Batı Kanada'dan da yüksek oranda *F. oxysporum* izolasyonu bildirilmiştir Fernandez vd. (2014), Sırbistan Jevtić vd. (2019) ve Kazakistanda Bozoğlu vd. (2022) yürütülen çalışmaların sonucu gözlemlerimizle tutarlıdır. *Macrophomina phaseolina*'nın semptomatik buğday kökleri üzerindeki tek raporu, %3,08 tarla insidansının rapor edildiği Kazakistan'dan elde edilmiştir. Bozoğlu vd. (2022) *F. pseudograminearum*'un nispeten düşük saha insidansı (%16.67) ve izolasyon sıklığı (%2.84), Avustralya'da taç ve kök çürüklüğü fungusları için daha önce bildirilenlerden farklıdır. Akinsanmi vd. (2004), Kuzey Amerika Smiley vd. (2005) ve Türkiye Gebremariam vd. (2018) incelenen bölgelerdeki soğuk hava sıcaklıklarıyla ilgili olabileceğini göstermiş ve *F. culmorum*'un serin ve yarı kurak iklimleri tercih ettiği düşünülürken, *F. pseudograminearum*'un biraz daha sıcak iklimleri tercih ettiği düşünülmektedir (Cook, 1981). Örneğin, Kuzey Dakota'da daha soğuk yıllar, daha sıcak yıllara göre daha yüksek *F. culmorum* izolasyon oranları üretirken, daha sıcak yıllar daha yüksek *F. pseudograminearum* izolasyon oranları üretmiştir (Shrestha vd., 2021). Daha önce Kanada'da bir buğday patojeni olarak tanımlanan *F. redolens* izolatları (Esmaeili Taheri vd., 2011), Türkiye (Gebremariam vd., 2016) ve Kazakistan (Bozoğlu vd., 2022)'da örneklenen tarlaların %13.33'ünde bulunmuştur. *Cochliobolus*'un bir anamorfı olan *C. inaequalis* izolatları Sokulluk bölgesinde iki, Kara-Balta'da bir tarlada saptanmıştır. Bu tür Azerbaycan'da (Özer vd., 2020) ve Kazakistan'da (Bozoğlu vd., 2022) da bulunmuş olup mevcut sonuçlarla tutarlıdır. Bu sonuçlar, *F. nygamai*, *F. redolens* ve *C. inaequalis*'in dağılımının, çevresel adaptasyonlarına atfedilebileceğini düşündürmektedir. Daha seyrek görülen fungus türleri arasında *M. bolleyi*, *M. nivale*, *F. proliferatum*, *F. burgessii*, *F. tricinctum*, *F. solani* ve *F. algeriense* yer alır. *F. burgessii* dışında, bu türler dünyanın her yerinde sıklıkla buğday taç ve gövde dokularından izole edilmektedir. Örneğin, *M. bolleyi*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* ve *F. tricinctum* ile birlikte New York'ta ayak ve taç çürüklüğünden etkilenen kışlık buğdaydan en sık izole edilen türdür (Kane vd.,

1987). Kanada, Saskatchewan’da *M. bolleyi*, ikinci en yüksek izolasyon yüzdesi ile yaygın ve makarnalık buğdayın renksiz tepe dokusundan izole edilmiş ve *B. sorokiniana*’dan sonra en yüksek ikinci tarla sayısında bulunmuştur (Fernandez vd., 2004). Aynı tür, Mississippi’deki yumuşak kırmızı kışlık buğdayın kökünden ve tepesinden de izole edilmiştir (Gonzalez vd., 2000). Eskiden *F. nivale* olarak bilinen *M. nivale*, Birleşik Krallık’ta renksiz taç dokularından, yaprak kınlarından, kök boğazlarından ve ekmek ve/veya durum buğdayı köklerinden izole edilmiştir (Pettitt vd., 2003) , ayrıca Türkiye (Tunali vd., 2008), Litvanya (Jonavičienė vd., 2016), Cezayir (Abdallah-Nekache vd., 2019; Bouaicha vd., 2022) ve Çin’de (Xu vd., 2022) de tespit edilmiştir. Önceki kök çürüklüğü hastalığı araştırmaları, Meksika’da *F. proliferatum* izolasyonunun düşük sıklıkta olduğunu bulmuştur (Leyva-Mir vd., 2017), Türkiye (Gebremariam vd., 2018; Tunali vd., 2008), Çin (Bockus vd., 2010), Azerbaycan (Özer vd., 2020) ve İran (Dehghanpour-Farashah vd., 2020), araştırmamıza benzer şekildedir. *Fusarium tricinctum*, New York’ta buğday köklerinden ve taçlarından izole edilmiştir (Kane vd., 1987) ve Türkiye (Gebremariam vd., 2018; Tunali vd., 2008) ve Almanya’da kök boğazlarında tespit edilen türlerdendir (Tillmann vd., 2017). *Fusarium burgessii*’nin buğday köklerinde veya taçlarında Kırgızistan için ilk kez bulunmuştur.

Genel olarak, burada sunulan patojenite sonuçları, dünya çapında buğday yetiştirilen bölgelerde yürütülen diğer çalışmaların sonuçları ile tutarlıdır. Tüm türler arasında, *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum* en agresif türler olarak tespit edilmiş olup bu durum önceki raporlar ile uyumludur (Akinsanmi vd., 2004; Bozoğlu vd., 2022; Dyer vd., 2009; Fernandez vd., 2005; Gebremariam vd., 2018; Kazan vd., 2018; Özer vd., 2020; Smiley vd., 2005; Zhou vd., 2019). Bunu takiben *B. sorokiniana*, *F. redolens* ve *F. algeriense*’nin Seri 82 ekmeklik buğday çeşidinin taç ve köklerinde orta derecede virulent olduğu tespit edilmiştir. *Bipolaris sorokiniana* ise diğerlerinden daha agresiftir. *Bipolaris sorokiniana*, dünyadaki en zararlı buğday patojenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Acharya vd., 2011; Al-Sadi, 2021; Bockus vd., 2010; Bozoğlu vd., 2022; Kumar vd., 2002; Özer, vd., 2020). *Fusarium redolens*, *F. algeriense* kadar virulenttir ama *C. inaequalis*’ten daha yüksek virülensliğe sahiptir. (Esmaeili Taheri vd., 2011; Gebremariam vd., 2018; Bozoğlu vd., 2022). Daha önce *F. algeriense*, Cezayir’de makarnalık buğdayda patojen olarak bulunmuştur (Laraba vd., 2017) ve Azerbaycan’da ekmeklik buğday (Özer vd., 2020) ve Kırgızistan’da önceki araştırmalarla tutarlı

olarak, daha az ölçüde ve hafif derecede virulent bir patojen olmasına rağmen, taç ve kök çürüklüğü ile de ilişkilendirilmiştir (Bozoğlu vd., 2022; Özer, vd., 2020).

Araştırma kapsamında kalan fungus türleri - *F. nygamai*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. burgessii*, *F. tricinctum*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *M. bolleyi*, *M. nivale* ve *M. phaseolina* - buğday fidelerinde patojenik değildir. Burada sunulan patojenik olmayan türlere ilişkin bulgular, buğday üreten ülkelerde yürütülen diğer çalışmalardan elde edilenlerle bir ölçüde tutarlıdır. Örneğin, *F. nygamai*, elde edilen *Fusarium* türleri arasında en düşük hastalık şiddetiyle *Fusarium* kök çürüklüğüne neden olmuştur (Minati, 2020). Kazakistan'da *M. phaseolina* ayrıca patojenik olmayan bir tür olarak tanımlanmıştır (Bozoğlu vd., 2022). Bizim bulgularımıza benzer başka bir çalışmada, *F. oxysporum* ve *F. solani* izolatlarının Alsen ve ND652 buğday genotipleri üzerinde non-patojenik olduğu ve her iki türün de enfekteli kök örneklerinin ölü dokularından izole edilen sekonder istilacılar olduğu düşünülmüştür (Shrestha vd., 2021). Fungal izolasyon için kök çürüğü örneklerinin dış tabakası kaldırıldığında *F. oxysporum* izolasyon sıklığı yarı yarıya azalmıştır. Sonuç olarak yazarlar, kök çürüklüğü hastalığıyla gerçekten ilişkili olan fungus türlerini izole etmek ve ikincil istilacıların olasılığını azaltmak için patojen izolasyonu sırasında enfekte olmuş dokunun dış tabakasının çıkarılmasını önermişlerdir. Öte yandan, aynı çalışmada, *F. acuminatum*, *F. equiseti* ve *F. redolens*, iki buğday genotipinin (ND652 ve Alsen) fidelerinde enfeksiyonlara neden olarak patojenik bulunmuştur (Shrestha vd., 2021). Araştırmamıza benzer şekilde Türkiye'de yapılan çalışmada *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. solani*, *F. tricinctum*, *F. acuminatum* ve *F. proliferatum* makarnalık buğdayda patojenik olarak bulunmamıştır (Gebremariam vd., 2018). Bu raporların aksine, Mısır'da en yaygın olarak ekilen yazlık buğday çeşidi Sakha 69'un kökleri *M. phaseolina* tarafından çürütülmüştür ve bazı *F. oxysporum* izolatları bitkileri öldürme yeteneğine sahiptir (Fouly vd., 1996). İran'da *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* ve *F. solani* en yüksek hastalık indeksine sahipken, *F. equiseti* en düşük taç ve kök çürüklüğü şiddetine sahip bulunmuştur (Dehghanpour-Farashah vd., 2020). Test tüpü kültürlerinde, *F. acuminatum*, *F. solani*, *F. equiseti* ve *M. bolleyi*, taç ve seminal köklerde hafif ila orta derecede turuncu ila açık kahverengi renk değişikliğine neden olmuştur (Gonzalez vd., 2000). Serada *F. acuminatum* fide boyunu, çıkışını, kök ve sürgün kuru ağırlıklarını azaltmıştır. Bazı çalışmalarda *M. bolleyi* kök yaş ve kuru ağırlığını, bitki çıkışını ve sürgün kuru ağırlığını azaltmıştır

(Gonzalez vd., 2000). *Fusarium tricinctum* ve *M. bolleyi* aşılmasının etkileri, elde edilen diğer türlere kıyasla sera deneylerinde daha az şiddetlidir, ancak yüksek *F. tricinctum* aşılama seviyelerinde büyüme ve verimde azalmalar gözlemlenmiştir (Kane vd., 1987). Arazi çalışmalarında *M. bolleyi* ve *F. tricinctum*'un buğday büyümesi veya verimi üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır (Kane vd., 1987). Avustralya'da laboratuvar koşullarında *F. acuminatum*, *F. tricinctum*, *F. proliferatum* ve *F. pseudograminearum*'un taç çürüklüğü hastalığına neden olduğu bulunmuştur (Akinsanmi vd., 2004). *Microdochium bolleyi* ayrıca tahıl sapı bazı patojenler için bir biyokontrol ajanı olarak önerilmiştir (Douglas vd., 1994) (Matusinsky ve Sedláková, 2022). Sonuç olarak, bu patojenik olmayan *Fusarium* türünün buğday sapı tabanlarını son zamanlarda kolonize etmesi, ancak hastalığa neden olmaması muhtemeldir. Buğday tacı, yaprakları ve başları üzerinde yapılan patojenite testleri, hem makarnalık hem de ekmeklik buğday taçlarından geri kazanılan *M. nivale* izolatlarının, makarnalık buğday taçlarında, yapraklarında ve başlarında enfeksiyona neden olabildiğini ortaya çıkarmış ve bu, bu türün konukçu olmayan uzmanlaşmasına işaret etmektedir (Bouaicha vd., 2022). Demirci vd. (2003) kışlık buğdayda taç ve kök çürüklüğünün nedenini araştırdıkları çalışmada *M. nivale*'nin sera koşullarında en virulent patojen olduğunu, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum* ve *F. solani*'nin ise sadece hafif derecede virulent olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca *M. nivale* izolatlarının Türkiye (Tunali vd., 2008), Litvanya (Jonavičienė vd., 2016), Cezayir (Bouaicha vd., 2022) ve Çin'de (F. Xu vd., 2022) buğdayda patojenik olduğu ve kök çürüklüğü/taç çürüklüğü/fide yanıklığına neden olduğu saptanmıştır. *Fusarium proliferatum*, Meksika, Bajío'da buğdayda kök çürümesine neden olan iki ana türden biri olarak tespit edilmiştir (Leyva-Mir vd., 2017). Bulgularımıza benzer şekilde, aynı tür Türkiye (Gebremariam vd., 2018; Tunali vd., 2008), Çin (Bockus vd., 2010) ve Azerbaycan'da da (Özer vd., 2020) saptanmıştır.

Fusarium culmorum'un yüksek tarla insidansı ve izolasyon sıklığı ve incelenen alanlarda *F. pseudograminearum*, *F. tricinctum* ve *M. nivale*'nin varlığı, taneye kadar yayılan *Fusarium* baş yanıklığı ile sonuçlanıyorsa özellikle önemli olabilir. Hasat, tahılı mikotoksinlerle kirletiyor (Abdallah-Nekache vd., 2019; Karlsson vd., 2021; Scherm vd., 2013; Temirbekova vd., 2022; Wagacha vd., 2007). *Bipolaris sorokiniana*, kökler, taçlar, gövdeler, yapraklar ve çekirdekler gibi tüm buğday organlarına saldıran, yaygın kök çürüklüğü, leke lekeli, fide yanıklığı

ve kara nokta gibi buğday hastalıklarının ajanıdır (Al-Sadi, 2021). Daha sıcak yetiştirme alanlarında, fungus önemli verim kayıplarına neden olan en ciddi yaprak hastalığı kısıtlamalarından birisi olmaktadır (Kumar vd., 2002). Bu hastalıkların her biri farklı şekilde yönetildiğinden, bir kontrol stratejisi geliştirirken bu türlerin varlığı dikkate alınmalıdır.

Fungusların doğru bir tür teşhisi, filogenetik analizlerin yanı sıra morfolojik ve multilokus analizlere dayanan doğru çok fazlı tanımlama yaklaşımları gerektirir. Tanımlama, onu konakçı aralığı, coğrafi dağılımı ve toksin üretme yeteneği ile ilgili bilgilere dayanmaktadır (O'Donnell vd., 2021). Bu, özellikle, kesin olmayan ve/veya yanlış tanımlamaların kamu bilgisini aşındırdığı hakemli hastalık raporlarının yayınlanması söz konusu olduğunda önemlidir. Translation elongation factor 1 α (O'Donnell, Cigelnik, vd., 1998) ve *RPB2* genleri (O'Donnell vd., 2000) *Fusarium* türlerinin filogenetik analizlerinde en sık kullanılan genler olup bu çalışmada da tercih edilmiştir. Kullanılmakta olan *TEF1*, cins için fiilen bir barkod görevi görmektedir, ancak çok sayıda başka gen de kullanılmıştır (Geiser vd., 2020; Li vd., 2022; Lin vd., 2022; Liu vd., 2022; O'Donnell vd., 2021). Her lokusun sıralama analizi ve iki genomik lokusun filogenetik analizi kullanılarak, mevcut araştırmadaki tüm *Fusarium* izolatları doğru bir şekilde tanımlanmıştır. Bu, %98 ila 100 arasında değişen bir benzerlik değeri ile desteklendiği üzere, her tür ilişkili izolatlarıyla kümelenen, buğday kökleri ve taçlarında bulunan çeşitli fungus türlerini hızla ayırt etmek için yöntemler sağlamıştır. Filogenetik olarak bilgilendirici iki gen olan *TEF1* ve *RPB2*'nin, tüm *Fusarium* türlerinde tür seviyesinde veya buna yakın bir şekilde çözüldüğü bildirilmiştir (O'Donnell vd., 2021). Bazı çelişkili raporlar da vardır. Örneğin, *TEF1* dizilerindeki belirsizlik keşfedilmiş, bu da bu bölgedeki farklılıkların *Fusarium* türlerini birbirinden kesin olarak ayırt etmesini sınırlandırmaktadır (Costa vd., 2022). *TEF1*'de önceden keşfedilen bir SNP polimorfizmine ek olarak (Suga vd., 2014), filogenetik veriler, *RPB2*'de fumonisin üreten ve üretmeyen suşlar arasında bir polimorfizmi ortaya çıkarmıştır (Suga vd., 2019).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma Kuzey Kırgızistan'ın ana buğday yetiştirme bölgelerinde buğdayın taç ve kök çürüklüğünden sorumlu funguslara ilişkin ilk kapsamlı çalışmadır. Toplamda 17 fungus türünün izolatlarını tanımlamak için morfolojik ve ITS, *TEF1* ve *RPB2* lokuslarının sekans analizine dayalı moleküler yöntemler kullanılmıştır. En yaygın olarak izole edilen tür olan *B. sorokiniana*, orta derecede virülenttir. İkinci en sık izole edilen fungus *F. acuminatum*'du, bunu *F. culmorum*, *F. nygamai*, *F. oxysporum* ve *F. equiseti* takip etmiş ve bunların tümünün %23'ün üzerinde bir saha insidansına sahip olduğu anlaşılmıştır. *Fusarium culmorum* dışında kalan türler patojenik olmadığı anlaşılmış olup incelenen yerlerde buğday üretimi için önemli bir tehdit oluşturmamıştır. Bununla birlikte, *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* ile birlikte oldukça virulent olduğu görülmüş, ancak *F. pseudograminearum* nispeten seyrek olarak tespit edilmiştir. Seyrek olmalarına rağmen, *F. redolens* ve *F. algeriense* türleri orta derecede virulenttir ve *C. inaequalis* hafif derecede agresif bir patojendir. Diğer fungus türleri arasında *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *M. bolleyi*, *M. nivale*, *F. proliferatum*, *F. burgessii*, *F. tricinctum* ve *F. solani* yer alır, ancak bunlar hassas ekmeklik buğday çeşidi Seri 82'de patojenik reaksiyon vermemiştir. Bu fungusların bazılarının buğdaydaki patojenitesine ilişkin önceki raporlar tutarsız olup, farklı çeşitler üzerinde ek patojenite testlerine ve diğer patojenlerle kombine aşılama duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır. *Fusarium proliferatum*, *F. burgessii*, *F. tricinctum* ve *F. solani*, ancak ekmeklik buğday çeşidi Seri 82 fidelerinde patojenik bulunmamıştır. Bu fungusların bazılarının buğdaydaki patojenitesine ilişkin önceki raporlar tutarsız olup, farklı çeşitler üzerinde ek patojenite testlerine ve diğer patojenlerle kombine aşılama duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır. *Fusarium burgessii*, *F. tricinctum* ve *F. solani*, ancak ekmeklik buğday çeşidi Seri 82 fidelerinde patojen değildir. Bu fungusların bazılarının buğdaydaki patojenitesine ilişkin önceki raporlar tutarsız olup, farklı çeşitler üzerinde ek patojenite testlerine ve diğer patojenlerle kombine aşılama duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır.

Fusarium algeriense hariç, bazıları patojenik olan, buğday üzerindeki tüm fungus türlerinin ilk raporudur. Bu çalışmanın sonuçları, taç ve kök çürüklüğü patojenlerinin, Kırgızistan'ın kuzeyindeki buğday yetiştirme alanlarında yaygın olduğunu göstermektedir. Bu, ülkenin buğday yetiştiren diğer bölgelerinde taç ve

kök hastalıkları ile ilişkili değişen patojen kompozisyonlarını açıklamak için benzer çalışmalara ihtiyaç olduğu anlamına gelir. Bu araştırma, patojen türleri kontrol altında tutmak için Kırgızistan'daki çeşitli tarımsal bölgelerde buğdayda kök ve taç çürüklüğü funguslarının yönetimine yönelik kılavuzların oluşturulmasına katkıda bulunacaktır.

Çalışma sonuçlarına göre Kırgızistan'ın buğday arazilerinden elde edilmiş *Bipolaris*, *Fusarium*, *Curvularia*, ve *Microdochium* türlerinin izolasyonu morfolojik ve genetik karakterizasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Morfolojik teşhis, izolatlardan elde edilen genomik DNA'ların ITS ve *TEF1* ve *RPB2* sekans analizleri ile doğrulanması ve referans izolatlar ile elde edilen izolatların arasındaki akrabalık ilişkisinin filogenetik haritalama ile ortaya konmuştur. Türlerin buğdayı hastalandırma dereceleri arasındaki farkın klasik hastalık reaksiyon testleri ile ortaya konmuştur. Bu türler içerisinde hassaslığı ile bilinen buğday çeşidi üzerinde gerçekleştirilen patojenisite çalışmaları en agresif türün *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* ve *B. sorokiniana* olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmada en yaygın ve en agresif bulunan *B. sorokiniana* ve *Fusarium* türlerini temsil eden izolatlar ile gerçekleştirilen patojenisite çalışmaları özellikle patojen grubun buğday tarımı için daha tahripkâr olduğunu ortaya koymuştur.

Çalışmanın sonuçları Kırgızistan topraklarında gerçekleştirilecek olan daha kapsamlı çalışmalarla doğrulanmalı ve diğer toprak kökenli patojenlerde dikkate alınarak karşılaşılabilecek bu hastalıklara karşı entegre bir mücadele stratejisinin belirlenmesi önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında APA atıf sistemi kullanılmıştır.)

- Abdallah-Nekache, N., Laraba, I., Ducos, C., Barreau, C., Bouznad, Z., & Boureghda, H. (2019). Occurrence of *Fusarium* head blight and *Fusarium* crown rot in Algerian wheat: identification of associated species and assessment of aggressiveness. *European Journal of Plant Pathology*, 154(3), 499-512.
- Acharya, K., Dutta, A. K., & Pradhan, P. (2011). '*Bipolaris sorokiniana*'(Sacc.) Shoem.: The most destructive wheat fungal pathogen in the warmer areas. *Australian Journal of Crop Science*, 5(9), 1064-1071.
- Akinsanmi, O. A., Mitter, V., Simpfendorfer, S., Backhouse, D., & Chakraborty, S. (2004). Identity and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from wheat fields in Queensland and northern New South Wales. *Australian Journal of Agricultural Research*, 55(1), 97-107.
- Alahmad, S., Simpfendorfer, S., Bentley, A. R., & Hickey, L. T. (2018). Crown rot of wheat in Australia: *Fusarium pseudograminearum* taxonomy, population biology and disease management. *Australasian Plant Pathology*, 47, 285-299.
- Al-Sadi, A. M. (2021). *Bipolaris sorokiniana*-induced black point, common root rot, and spot blotch diseases of wheat: A review. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 584899.
- Anderson, W. K., & Garlinge, J. R. (2000). *The wheat book: principles and practice*.
- Backhouse, D., Abubakar, A. A., Burgess, L. W., Dennisc, J. I., Hollaway, G. J., Wildermuth, G. B., ... & Henry, F. J. (2004). Survey of *Fusarium* species associated with crown rot of wheat and barley in eastern Australia. *Australasian Plant Pathology*, 33, 255-261.
- Bentley, A. R., Cromey, M. G., Farrokhi-Nejad, R., Leslie, J. F., Summerell, B. A., & Burgess, L. W. (2006). *Fusarium* crown and root rot pathogens associated with wheat and grass stem bases on the South Island of New Zealand. *Australasian Plant Pathology*, 35, 495-502.
- Bockus, W. W., Bowden, R. L., Hunger, R. M., Murray, T. D., & Smiley, R. W. (2010). Compendium of wheat diseases and pests (No. Ed. 3). *American Phytopathological Society*.
- Bouaicha, O., Laraba, I., & Boureghda, H. (2022). Identification, in vitro growth and pathogenicity of *Microdochium* spp. associated with wheat crown rot in Algeria. *Journal of Plant Pathology*, 104(4), 1431-1442.

- Bozoğlu, T., Derviş, S., Imren, M., Amer, M., Özdemir, F., Paulitz, T. C., Morgounov, A., Dababat, A. A., & Özer, G. (2022). Fungal Pathogens Associated with Crown and Root Rot of Wheat in Central, Eastern, and Southeastern Kazakhstan. *Journal of Fungi*, 8(5).
- Chehri, K. (2011). Occurrence of *Fusarium* species associated with economically important agricultural crops in Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 5(24), 4043-4048.
- Chehri, K., Salleh, B., Yli-Mattila, T., Soleimani, M. J., & Yousefi, A. R. (2010). Occurrence, pathogenicity and distribution of *Fusarium* spp. in stored wheat seeds Kermanshah Province, Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(24), 1178-1186.
- Cook, R. J. (1981). *Fusarium* diseases of wheat and other small grains in North America. *Fusarium Diseases, Biology, and Taxonomy*, 39-52.
- Cook, R. J. (2010). *Fusarium* root, crown, and foot rots and associated seedling diseases. *Compendium of Wheat Diseases and Pests*, 3, 37-39.
- Cook, R. James. (1968). *Fusarium* root and foot rot of cereals in Pacific Northwest. *Phytopathology*, 58(2), 127.
- Costa, M. M., Saleh, A. A., Melo, M. P., Guimarães, E. A., Esele, J. P., Zeller, K. A., Summerell, B. A., Pfenning, L. H., & Leslie, J. F. (2022). *Fusarium mirum* sp. nov, intertwining *Fusarium madaense* and *Fusarium andiyazi*, pathogens of tropical grasses. *Fungal Biology*, 126(3), 250-266.
- Dehghanpour-Farashah, S., Taheri, P., & Falahati-Rastegar, M. (2020). Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp., the causal agent of wheat crown and root rot in Iran. *Journal of Plant Pathology*, 102(1), 143-154.
- Demirci, E., & Dane, E. (2003). Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. from stem bases of winter wheat in Erzurum, Turkey. *Phytoparasitica*, 31(2), 170-173.
- Douglas, L. I., & Deacon, J. W. (1994). Strain Variation in Tolerance of Water Stress by *Idriella* (*Microdochium*) *bolleyi*, a Biocontrol Agent of Cereal Root and Stem Base Pathogens. *Biocontrol Science and Technology*, 4(2), 239-249.
- Dyer, A. T., Johnston, R. H., Hogg, A. C., & Johnston, J. A. (2009). Comparison of pathogenicity of the *Fusarium* crown rot (FCR) complex (*F. culmorum*, *F. pseudograminearum* and *F. graminearum*) on hard red spring and durum wheat. *European Journal of Plant Pathology*, 125(3), 387-395.
- Ellis, M. B. (1971). Dematiaceous hyphomycetes. *Dematiaceous Hyphomycetes*.
- Eslahi, M. R. (2012). Fungi associated with root and crown rot of wheat in Khuzestan province, Iran. *Journal of Crop Protection*, 1(2), 107-113.

- Esmaeili Taheri, A., Hamel, C., Gan, Y., & Vujanovic, V. (2011). First report of *Fusarium redolens* from Saskatchewan and its comparative pathogenicity. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 33(4), 559-564.
- Fernandez, M. R., & Chen, Y. (2005). Pathogenicity of *Fusarium* species on different plant parts of spring wheat under controlled conditions. *Plant Disease*, 89(2), 164-169.
- Fernandez, M. R., & Conner, R. L. (2011). *Root and Crown Rot of Wheat* (Vol. 4).
- Fernandez, M. R., Fox, S. L., Hucl, P., Singh, A. K., & Stevenson, F. C. (2014). Root rot severity and fungal populations in spring common, durum and spelt wheat, and Kamut grown under organic management in western Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, 94(5), 937-946.
- Fernandez, M. R., & Jefferson, P. G. (2004). Fungal populations in roots and crowns of common and durum wheat in Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 26(3), 325-334.
- Fouly, H. M., Pedersen, W. L., Wilkinson, H. T., & Abd El-Kader, M. M. (1996). Wheat root rotting fungi in the “old” and “new” agricultural lands of Egypt. *Plant Disease*, 80(11), 1298-1300.
- Garadagi, S. M. (1976). Resistance to yellow rust in some wheat varieties. *Azarb Elmi-Tadigat Akincil Inst Asarlar Temat Macmuasi*, 16, 117-119.
- Gebremariam, E. S., Dababat, A. A., Erginbas-Orakci, G., Karakaya, A., Poudyal, D. S., & Paulitz, T. C. (2016). First report of *Fusarium hostae* causing crown rot on wheat (*Triticum* spp.) in Turkey. *Plant Disease*, 100(1), 216.
- Geiser, D. M., Al-Hatmi, A. M. S., Aoki, T., Arie, T., Balmas, V., Barnes, I., Bergstrom, G. C., Bhattacharyya, M. K., Blomquist, C. L., Bowden, R. L., Brankovics, B., Brown, D. W., Burgess, L. W., Bushley, K., Busman, M., Cano-Lira, J. F., Carrillo, J. D., Chang, H.-X., Chen, C.-Y., ... Zhang, X. (2020). Phylogenomic Analysis of a 55.1-kb 19-Gene Dataset Resolves a Monophyletic *Fusarium* that Includes the *Fusarium solani* Species Complex. *Phytopathology*, 111(7), 1064-1079.
- Glynn, N. C., Hare, M. C., Parry, D. W., & Edwards, S. G. (2005). Phylogenetic analysis of *EF-1* alpha gene sequences from isolates of *Microdochium nivale* leads to elevation of varieties majus and nivale to species status. *Mycological Research*, 109(8), 872-880.
- Gonzalez, M. S., & Trevathan, L. E. (2000). Identity and pathogenicity of fungi associated with root and crown rot of soft red winter wheat grown on the Upper Coastal Plain Land Resource Area of Mississippi. *Journal of Phytopathology*, 148(2), 77-85.

- Holliday, P., & Punithalingam, E. (1970). *Macrophomina phaseolina*. [Descriptions of Fungi and Bacteria]. *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, 28.
- Jevtić, R., Stošić, N., Župunski, V., Lalošević, M., & Orbović, B. (2019). Variability of stem-base infestation and coexistence of *Fusarium* spp. causing crown rot of winter wheat in Serbia. *The Plant Pathology Journal*, 35(6), 553.
- Jonavičienė, A., Supronienė, S., & Semaškienė, R. (2016). *Microdochium nivale* ir *M. Majus* – Vasarinių javų daigų puvinų sukėlėjai. *Zemdirbyste*, 103(4), 363-368.
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P., & Schulman, A. H. (2010a). iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121, 1419-1430.
- Kane, R. T., Smiley, R. W., & Sorrells, M. E. (1987). Relative pathogenicity of selected *Fusarium* species and *Microdochium bolleyi* to winter wheat in New York. *Plant Disease*, 71(2), 177-181.
- Karlsson, I., Persson, P., & Friberg, H. (2021). Fusarium Head Blight From a Microbiome Perspective. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 12). *Frontiers*, 12, 628373.
- Kazan, K., & Gardiner, D. M. (2018). Fusarium crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in cereal crops: recent progress and future prospects. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1547-1562.
- Kumar, J., Schäfer, P., Hückelhoven, R., Langen, G., Baltruschat, H., Stein, E., ... & Kogel, K. H. (2002). *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular plant pathology*, 3(4), 185-195.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Laraba, I., Keddad, A., Bouregghda, H., Abdallah, N., Vaughan, M. M., Proctor, R. H., Busman, M., & O'Donnell, K. (2017). *Fusarium algeriense*, sp. nov., a novel toxigenic crown rot pathogen of durum wheat from Algeria is nested in the *Fusarium burgessii* species complex. *Mycologia*, 109(6), 935-950.
- Laurence, M. H., Summerell, B. A., Burgess, L. W., & Liew, E. C. Y. (2011). *Fusarium burgessii* sp. nov. representing a novel lineage in the genus *Fusarium*. *Fungal Diversity*, 49, 101-112.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *Fusarium* laboratory workshops - A recent history. *Mycotoxin Research*, 22(2), 73-74.

- Leslie, John F, & Summerell, B. A. (2008). *The Fusarium laboratory manual*.
- Leyva-Mir, S. G., Vega-Portillo, H. E., Villaseñor-Mir, H. E., Tlapal-Bolaños, B., Vargas-Hernández, M., Camacho-Tapia, M., & Tovar-Pedraza, J. M. (2017). Characterization of *Fusarium* species causing root rot of wheat in the Bajío, Mexico. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, Ex Agro-Ciencia*, 33(2), 142-151.
- Li, Y. Y., Wang, M. M., Groenewald, M., Li, A. H., Guo, Y. T., Wu, F., Zhang, B. Q., Tanaka, E., Wang, Q. M., Bai, F. Y., & Begerow, D. (2022). Proposal of Two New Combinations, Twenty New Species, Four New Genera, One New Family, and One New Order for the Anamorphic Basidiomycetous Yeast Species in Ustilaginomycotina. *Frontiers in Microbiology*, 12.
- Li, Z., Fang, G., Chen, Y., Duan, W., & Mukanov, Y. (2020). Agricultural water demands in Central Asia under 1.5 °C and 2.0 °C global warming. *Agricultural Water Management*, 231.
- Lin, L., Pan, M., Tian, C., & Fan, X. (2022). Fungal Richness of *Cytospora* Species Associated with Willow Canker Disease in China. *Journal of Fungi*, 8(4).
- Liu, Q., Wingfield, M. J., Duong, T. A., Wingfield, B. D., & Chen, S. (2022). Diversity and Distribution of *Calonectria* Species from Plantation and Forest Soils in Fujian Province, China. *Journal of Fungi*, 8(8), 811.
- Liu, Y. J., Whelen, S., & Hall, B. D. (1999). Phylogenetic Relationships Among Ascomycetes: Evidence from an RNA Polymerase II Subunit. *Molecular biology and evolution*, 16(12), 1799-1808.
- Matušinsky, P., Sedláková, B., & Bleša, D. (2022). Compatible interaction of *Brachypodium distachyon* and endophytic fungus *Microdochium bolleyi*. *PloS one*, 17(3), e0265357.
- Minati, M. H. (2020). First record of nine *Fusarium* spp. causing root rot on wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iraq. *AIP Conference Proceedings*, 2290.
- Mitter, V., Zhang, M. C., Liu, C. J., Ghosh, R., Ghosh, M., & Chakraborty, S. (2006). A high-throughput glasshouse bioassay to detect crown rot resistance in wheat germplasm. *Plant Pathology*, 55(3), 433-441.
- Moya-Elizondo, E. A., Rew, L. J., Jacobsen, B. J., Hogg, A. C., & Dyer, A. T. (2011). Distribution and prevalence of *Fusarium* crown rot and common root rot pathogens of wheat in Montana. *Plant Disease*, 95(9), 1099–1108.
- Moya-Elizondo, E., Arismendi, N., Castro, M. P., & Doussoulin, H. (2015). Distribution and prevalence of crown rot pathogens affecting wheat crops in Southern Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 75(1), 78-84.

- Nicol, J. M., Rivoal, R., Trethowan, R. M., Van Ginkel, M., Mergoum, M., & Singh, R. P. (2001). CIMMYT's approach to identify and use resistance to nematodes and soil-borne fungi, in developing superior wheat germplasm. *Wheat in a Global Environment: Proceedings of the 6th International Wheat Conference, 5–9 June 2000, Budapest, Hungary*(pp. 381-389). Springer Netherlands.
- O'Donnell, K., Nirenberg, H. I., Aoki, T., & Cigelnik, E. (2000). A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience*, 41(1), 61-78.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E., & Nirenberg, H. I. (1998). Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90(3), 465-493.
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., & Ploetz, R. C. (1998). 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*, 95(5), 2044-2049.
- O'Donnell, K., Whitaker, B. K., Laraba, I., Proctor, R. H., Brown, D. W., Broders, K., Kim, H.-S., McCormick, S. P., Busman, M., Aoki, T., Torres-Cruz, T. J., & Geiser, D. M. (2021). DNA Sequence-Based Identification of *Fusarium*: A Work in Progress. *Plant Disease*, 106(6), 1597-1609.
- Özer, G., Imren, M., Alkan, M., Paulitz, T. C., Bayraktar, H., Palacioğlu, G., Mehdiyev, I., Muminjanov, H., & Dababat, A. A. (2020). Molecular and pathogenic characterization of *Cochliobolus* anamorphs associated with common root rot of wheat in Azerbaijan. *Phytopathologia Mediterranea*, 59(1), 147-158.
- Özer, G., Paulitz, T. C., Imren, M., Alkan, M., Muminjanov, H., & Dababat, A. A. (2020). Identity and Pathogenicity of Fungi Associated with Crown and Root Rot of Dryland Winter Wheat in Azerbaijan. *Plant Disease*, 104(8), 2149-2157.
- Park, S., Lim, C. H., Kim, S. J., Isaev, E., Choi, S. E., Lee, S. D., & Lee, W. K. (2021). Assessing climate change impact on cropland suitability in kyrgyzstan: Where are potential high-quality cropland and the way to the future. *Agronomy*, 11(8).
- Paulitz, T. C., Smiley, R. W., & Cook, R. J. (2002). Insights into the prevalence and management of soilborne cereal pathogens under direct seeding in the Pacific Northwest, U.S.A. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24(4), 416-428.
- Pérez-Méndez, N., Miguel-Rojas, C., Jimenez-Berni, J. A., Gomez-Candon, D., Pérez-de-Luque, A., Fereres, E., ... & Sillero, J. C. (2021). Plant breeding and management

- strategies to minimize the impact of water scarcity and biotic stress in cereal crops under Mediterranean conditions. *Agronomy*, 12(1), 75.
- Pettitt, T., Xu, X., & Parry, D. (2003). Association of *Fusarium* species in the wheat stem rot complex. *European journal of plant pathology*, 109, 769-774.
- Poole, G. J., Harries, M., Hüberli, D., Miyan, S., MacLeod, W. J., Lawes, R., & McKay, A. (2015). Predicting cereal root disease in Western Australia using soil DNA and environmental parameters. *Phytopathology*, 105(8), 1069-1079.
- Reeb, V., Lutzoni, F., & Roux, C. (2004). Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32(3), 1036-1060.
- Rossi, V., Cervi, C., Chiusa, G., & Languasco, L. (1995). Fungi associated with foot rots on winter wheat in northwest Italy. *Journal of Phytopathology*, 143(2), 115-119.
- Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. (2013). *Fusarium culmorum*: Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular Plant Pathology*, 14(4), 323-341.
- Shikur Gebremariam, E., Sharma-Poudyal, D., Paulitz, T. C., Erginbas-Orakci, G., Karakaya, A., & Dababat, A. A. (2018). Identity and pathogenicity of *Fusarium* species associated with crown rot on wheat (*Triticum* spp.) in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 150(2), 387-399.
- Shrestha, S., Poudel, R. S., & Zhong, S. (2021). Identification of Fungal Species Associated with Crown and Root Rots of Wheat and Evaluation of Plant Reactions to the Pathogens in North Dakota. *Plant Disease*, 105(11), 3564-3572.
- Sivanesan, A. (1987). *Graminicolous species of Bipolaris, Curvularia, Drechslera, Exserohilum and their teleomorphs*. CAB International.
- Smiley, R. W., Gourlie, J. A., Easley, S. A., & Patterson, L. M. (2005). Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. *Plant Disease*, 89(9), 949-957.
- Smiley, R. W., & Patterson, L.-M. (1996). Pathogenic fungi associated with *Fusarium* foot rot of winter wheat in the semiarid Pacific Northwest. *Plant Disease*, 80(8), 944-949.
- Suga, H., Arai, M., Fukasawa, E., Motohashi, K., Nakagawa, H., Tateishi, H., Fuji, S., Shimizu, M., Kageyama, K., & Hyakumachi, M. (2019). Genetic differentiation associated with fumonisin and gibberellin production in Japanese *Fusarium fujikuroi*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(1), e02414-18.

- Suga, H., Kitajima, M., Nagumo, R., Tsukiboshi, T., Uegaki, R., Nakajima, T., Kushiro, M., Nakagawa, H., Shimizu, M., & Kageyama, K. (2014). A single nucleotide polymorphism in the translation elongation factor 1 α gene correlates with the ability to produce fumonisin in Japanese *Fusarium fujikuroi*. *Fungal Biology*, 118(4), 402-412.
- Snyder's, P. C. N. (1983). Fungi associated with common root rot of winter wheat in Colorado and Wyoming. *Plant Disease*, 795.
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512-526.
- Temirbekova, S. K., Kulikov, I. M., Ashirbekov, M. Z., Afanasyeva, Y. V., Beloshapkina, O. O., Tyryshkin, L. G., Zuev, E. V., Kirakosyan, R. N., Glinushkin, A. P., Potapova, E. S., & Rebouh, N. Y. (2022). Evaluation of Wheat Resistance to Snow Mold Caused by *Microdochium nivale* (Fr) Samuels and I.C. Hallett under Abiotic Stress Influence in the Central Non-Black Earth Region of Russia. *Plants*, 11(5).
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673-4680.
- Tillmann, M., von Tiedemann, A., & Winter, M. (2017). Crop rotation effects on incidence and diversity of *Fusarium* species colonizing stem bases and grains of winter wheat. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 124(2), 121-130.
- Tunali, B., Nicol, J. M., Hodson, D., Uçkun, Z., Büyük, O., Erdurmuş, D., Hekimhan, H., Aktaş, H., Akbudak, M. A., & Bağcı, S. A. (2008). Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. *Plant Disease*, 92(9), 1299–1306.
- Wagacha, J. M., & Muthomi, J. W. (2007). *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection*, 26(7), 877-85.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 18(1), 315–322.
- Xu, F., Shi, R. J., Zhang, J. J., Song, Y. L., Liu, L. L., Han, Z. H., ... & Li, L. J. (2022). First report of *Microdochium nivale* and *M. majus* causing brown foot rot of wheat in China. *Plant Disease*, 106(5), 1523.

- Xu, F., Yang, G., Wang, J., Song, Y., Liu, L., Zhao, K., ... & Han, Z. (2018). Spatial distribution of root and crown rot fungi associated with winter wheat in the North China Plain and its relationship with climate variables. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1054.
- Zhou, H., He, X., Wang, S., Ma, Q., Sun, B., Ding, S., Chen, L., Zhang, M., & Li, H. (2019). Diversity of the *Fusarium* pathogens associated with crown rot in the Huanghuai wheat-growing region of China. *Environmental Microbiology*, 21(8), 2740-2754.
- Ziyaev, Z. M., Sharma, R. C., Nazari, K., Morgounov, A. I., Amanov, A. A., Ziyadullaev, Z. F., Khalikulov, Z. I., & Alikulov, S. M. (2011). Improving wheat stripe rust resistance in Central Asia and the Caucasus. *Euphytica*, 179(1), 197-207.

