

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özer ER

**OSMANİYE VE ÇEVRESİ BUĞDAY EKİM ALANLARINDA
FUSARIUM SAP ÇÜRÜKLÜĞÜ HASTALIĞININ DURUMU VE
HASTALIĞA NEDEN OLAN TÜRLERİN KLASİK VE
MOLEKÜLER TANISI**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2020

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OSMANİYE VE ÇEVRESİ BUĞDAY EKİM ALANLARINDA *FUSARIUM* SAP ÇÜRÜKLÜĞÜ HASTALIĞININ DURUMU VE HASTALIĞA NEDEN OLAN TÜRLERİN KLASİK VE MOLEKÜLER TANISI

Özer ER

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL
Yıl: 2020, Sayfa: 61
Jüri : Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL
: Prof. Dr. Ali ERKILIÇ
: Prof. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA

Bu çalışmada Osmaniye İli ve çevresi buğday ekim alanlarında, *Fusarium* Sap Çürüklüğü Hastalığı'nın oluşumu, hastalıkla ilişkili türlerin saptanması ve bu türlerin patojenisitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. 2018 yılında bölgede toplam 51 tarla incelenmiş ve bitki örnekleri toplanmıştır. *Fusarium* türleri ve diğer funguslar standart mikolojik prosedürlere göre izole edilmiş ve bunların tanısında klasik ve moleküler yöntemler takip edilmiştir. Patojenisite testleri 4.5 ay süreyle, açık alanda, saksılarda yürütülmüş, bitkilerin kök boğazındaki lezyonların oluşumuna göre izolatların virülenslikleri belirlenmiştir. Sonuçlara göre: hastalığın Osmaniye İli ve çevresinde yaygınlığı, çıkışı ve şiddetinin sırasıyla %100, %71 ve %31.7 olduğu bulunmuştur. Hastalık belirtisi gösteren bitkilerden 8 *Fusarium* türü (*F. acuminatum*, *F. algeriense*, *F. brachygibbosum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. incarnatum*, *F. nygamai* ve *F. pseudograminearum*) ve ayrıca *Septoriella hirta*, *Microdochium nivale*, *Rhizoctonia* sp ve diğer türler izole edilmiştir. Bu funguslar arasında en sık izole edilen türler; *Septoriella hirta* (%49.3), *Microdochium nivale* (%13.5), *Rhizoctonia* sp. (%13.1) ve *Fusarium acuminatum* (%13.0) türleri olmuştur. Patojenisite testi sonuçlarına göre en virulent *Fusarium* türleri %31.4, %21.1 ve %19.2'lik hastalık şiddeti ile *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* ve *F. incarnatum* türleri olmuştur. Buna karşın diğer *Fusarium* türleri ise %4.7 ile %7.8 oranlarında değişen hafif lezyonlar oluşturmuşlardır. *Fusarium*'lara ek olarak, *Septoriella hirta* ve *Microdochium nivale*'nin monokültür buğday yetiştirilen alanlarda dikkate alınması gereken iki önemli tür oldukları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Buğday, *Fusarium*, Kökboğazı Çürüklüğü, *Septoriella*, *Microdochium*

ABSTRACT

MSc THESIS

OCCURRENCE OF *FUSARIUM* FOOT ROT DISEASE IN WHEAT FIELDS OF OSMANIYE REGION AND CLASSICAL-MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE SPECIES CAUSING DISEASE

Özer ER

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Assoc. Prof. Davut Soner AKGÜL
Year: 2020, Pages: 61
Jury : Assoc. Prof. Davut Soner AKGÜL
: Prof. Ali ERKILIÇ
: Prof. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA

The aims of the study were to reveal the incidence of *Fusarium* Foot Rot Disease of wheat in the Osmaniye Province, to determine *Fusarium* species associated with disease and their pathogenicity. In 2018, totally 51 fields were inspected from the region and plant samples were collected. *Fusarium* species and the other fungi were isolated with standard mycological procedures and classical and molecular methods were followed at their identification. Pathogenicity tests were conducted in pots at outside conditions and the virulence of the isolates were determined by lesion occurrence on the crown of plants. According to results; the disease prevalence, average disease incidence and severity in the region were found to be 100%, 71% and 31.7% respectively. Eight *Fusarium* species (*F. acuminatum*, *F. algeriense*, *F. brachygibbosum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. incarnatum*, *F. nygamai* and *F. pseudograminearum*) and *Septoriella hirta*, *Microdochium nivale*, *Rhizoctonia* sp. and other important species were isolated from the symptomatic plants. Among these fungi, the most frequently isolated species were *Septoriella hirta* (49.3%), *Microdochium nivale* (13.5%), *Rhizoctonia* sp. (13.1%) and *Fusarium acuminatum* (13.0%). According to pathogenicity test results, the most virulent *Fusarium* species were *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* and *F. incarnatum* with 31.4%, 21.1% and 19.2% disease severity rates. In contrast, the other *Fusarium* species produced slight lesions changing %4.7 - %7.8 rates. In addition to *Fusaria*, *Septoriella hirta* and *Microdochium nivale* emerged as two important species to take into consideration in monoculture wheat growing areas.

Key Words: Wheat, *Fusarium*, Foot Rot, *Septoriella*, *Microdochium*

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Dünyada ve Türkiye'de buğday tarımı insan beslenmesindeki temel besinlerin hammaddesi olması açısından, diğer tarımsal ürünlere oranla ayrı bir önem arz etmektedir.

Buğday üretiminde hastalık ve zararlılardan meydana gelen kayıplar oldukça önemli bir sorundur. Bu anlamda buğday üretim alanlarında hastalığa neden olan toprak kökenli patojenler önemli bir grubu oluşturmakta ve buğdayda önemli derecede verim kaybına neden olmaktadır. *Fusarium* kök boğazı çürüklüğü dünya genelinde kuru alanlarda en fazla verim kaybına neden olan hastalıklardan biridir.

2008 yılından bu yana bölgemiz buğday ekim alanlarında *Fusarium* türleriyle ilgili herhangi bir çalışma yürütülmediği ve Osmaniye ili ve çevresindeki susuz tarım yapılan alanlardan yeterince örnek alınamadığından böyle bir çalışmaya gerek duyulmuştur. Hastalığın bölgedeki durumunu ortaya koymak için Osmaniye ili başta olmak üzere Ceyhan ilçe sınırlarından toplam 51 adet buğday tarlası incelenmiştir. Bu alanlar seçilirken daha çok sulama imkânının olmadığı bölgeler tercih edilmiştir.

Sörvey planına göre, bu bölge ve güzergahlarda homojen örnekleme mesafeleri bırakılarak, çiçeklenme döneminin hemen ardından ortalama 35-40 dekar büyüklükteki tarlalara girilmiş ve sonra, farklı noktalardan en az 100 bitki, kökleriyle birlikte sökülüştür. Bu bitkiler kök boğazının 25-30 cm yukarisından kesildikten sonra kese kağıtlarına konmuş ve kese kağıtlarının üzerine o tarlaya ait numara, ve tarlanın bulunduğu yer yazılarak bitkiler laboratuvara getirilmiştir. Araziden laboratuvara getirilen bitkilerdeki kardeşler birbirinden ayrılıp, kök ve kökboğazı kısımları çeşme suyu altında yıkanmış, kökboğazı ve sap kısımları yaprak kınlarından temizlenerek incelemeye alınmıştır. Bu şekilde her bir tarla için 100 kardeş incelenmiş ve değerlendirme esnasında Wildermuth ve McNamara (1994) tarafından geliştirilen hastalık değerlendirme skalası kullanılmıştır. Bu skalaya göre kök, kökboğazı ve ikinci nodyuma kadar olan bölge bir bütün olarak ele alındığında,

o bölgedeki renk değişimlerine göre bitkiler 0 ila 4 arasında skala değerleriyle nitelendirilmişlerdir. İnceleme sonrasında her bir bitki için elde edilen skala değerlerinden, örnekleme yapılan tarlaya ait hastalık çıkışı ve Tawsend-Heuberger formülüne göre de hastalık şiddeti hesaplanmıştır. Bu şekilde her bir tarla için hesaplanan hastalık çıkışı ve hastalık şiddeti değerlerinin ortalamaları alınarak, Osmaniye ili ve çevresi için ortalama değerler elde edilmiştir.

Sörvey yapılan alanlardaki her bir tarladan ayrı ayrı toplanarak, hastalık şiddeti yönünden incelenen bitkiler içerisinde, hastalık simptomlarının belirgin olarak görüldüğü farklı bitkilerden temel mikolojik yöntemlere göre izolasyonlar yapılmış, bunun sonucunda dokulardan gelişen fungal koloniler mikroskop altında cins düzeyinde ayırt edilerek, *Fusarium* cinsi funguslar saflaştırılmıştır. Sörvey çalışmalarından sonra, bölgedeki tüm örneklerden elde edilen *Fusarium* izolatlarının tür düzeyindeki ayrımları, morfolojik ve mikroskopik incelemelerle yapılmıştır. Morfolojik karakterlerin düzgün bir biçimde ortaya çıkması için, tüm kültürler ayrı ayrı Sentetik Nutrient Agar (SNA) ve PDA ortamlarında geliştirilerek incelenmiştir.

Moleküler tanıda ise morfolojik yönden farklı izolatlar seçilmiş, farklı olduğu düşünülen izolatlar alınmıştır. Bu izolatlar, PDA besi ortamında geliştirilip 10 günlük taze kültürlerinden miseller alınıp, DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Genomik DNA'daki ITS ve Elongation factor gen bölgeleri universal primerlerle çoğaltılmıştır. Bu primerlerle çoğaltılan bölgede daha dar bir bölgeyi yeniden çoğaltan (Nested ve PCR) ve daha doğru sonuçlar veren ikinci bir primer çifti (Fa+7/Ra+6II) kullanılarak tür tanısı yapılmıştır. Jel üzerinde varlığı görülen DNA örnekleri, hizmet alımı yoluyla sekanslatılmış, her bir gen bölgesi için nükleotid dizileri elde edilmiştir. Nükleotid dizileri Chromas yazılımıyla incelenmiş ve bu diziler NCBI Gen Bankasında kayıtlı olan diğer dizilerle karşılaştırılmıştır. BLAST analiziyle türlerin diğer türlerle benzerlik oranları belirlenmiştir.

Patojenisite testleri, Bitki Koruma Bölümü uygulama alanında, saksılarda yürütülmüş olup, kültür koleksiyonunda saklanan izolatlardan buğday inokulumu hazırlanmıştır. 15 cm²'lik saksılara toprak, kum ve çiftlik gübresi (1:1:1)

doldurularak ve tohum ekimiyle birlikte saksılara inokulum (her bir saksıya 10 gram) verilmiştir. Moleküler tanılama sonucunda, elde edilen tür sayısına göre, her bir türden 2 izolat ile patojenisite testi yürütülmüştür. Bitkiler, çiçeklenme dönemini geçip süt olum dönemine geldiklerinde, hastalık değerlendirme skalasına göre değerlendirilip, izolatların virülenslikleri ortaya koyulmuştur.

Tez çalışması kapsamında planlanan güzergahlardaki buğday ekim alanları, o bölgeyi temsil edecek mesafede olmuş ve ortalama 20-40 dekarlık tarlalar incelenmiştir. Kontrol edilen tarlaların tamamında hastalık görüldüğü için hastalık yaygınlığı %100, hastalık çıkışı %71, hastalık şiddeti ise %31 bulunmuştur. İzolasyonlar sonunda hastalıklı bitki dokuları etrafında gelişen funguslardan %49.3'ünün *Septoriella hirta*, %13.5'inin *Microdochium nivale*, %13.1'inin *Rhizoctonia* ve %13.0'inin ise *Fusarium acuminatum* olduğu belirlenmiştir.

Klasik tanıda, Booth (1970), Nelson ve ark. (1983), Burgess ve ark., (1994) ve Seifert (1996)'ın yazmış oldukları kaynaklara göre Osmaniye ve çevresindeki buğday ekim alanlarında 8 farklı *Fusarium* türünün tespit edildiği anlaşılmıştır. Bu türlerin *Fusarium acuminatum*, *Fusarium algeriense*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium incarnatum*, *Fusarium nygamai*, *Fusarium pseudograminearum* olduğu ve ayrıca *Septoriella hirta*, *Microdochium nivale*, *Rhizoctonia* sp. ve diğer önemdeki türler saptanmıştır. Çalışma kapsamında toplam 61 izolat incelenmiş ve en fazla bulunan türler %31.1 *Fusarium acuminatum*, %21.3 *Septoriella hirta*, %18 *Microdochium nivale* olmuştur.

Moleküler tanıda, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium algeriense*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium incarnatum*, *Fusarium nygamai*, *Fusarium pseudograminearum*, *Microdochium bolleyi*, *Microdochium nivale*, *Septoriella hirta* türlerinin tanısı %99 ile %100 oranlarla doğrulanmıştır.

Patojenisite testi sonucunda en virulent türlerin sırasıyla *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium incarnatum* türleri olduğu bulunmuş, bu türler buğday bitkileri üzerinde sırasıyla %31,4 - %21.1 ve %19.2

oranlarında hastalık şiddeti oluşturmışlardır. Kontrolle kıyaslandığında *Fusarium acuminatum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium brachygibbosum* ve *Fusarium nygamai* kayda değer bir virülenslik gösterememişlerdir.



TEŞEKKÜR

“Osmaniye ve Çevresi Buğday Ekim Alanlarında *Fusarium* Sap Çürüklüğü Hastalığının Durumu ve Hastalığa Neden Olan Türlerin Klasik ve Moleküler Tanısı” isimli tez çalışmasını bana veren, lisans dönemimden bu güne kadar mesleki eğitimimde büyük emeği olan çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. D. Soner AKGÜL’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince tecrübelerini paylaşmayı esirgemeyen saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Ali ERKILIÇ’a ve jüri üyesi hocam Prof. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA’ya çok teşekkür ederim.

Çalışmama destek olan Mikoloji Laboratuvarındaki arkadaşlarıma, projeyi parasal olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (Proje No: FYL-2018-10643) ve Yüksek Lisans eğitimime fırsat tanıyan Bitki Koruma Bölümü Başkanlığına teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında destek ve ilgilerini gördüğüm Ziraat Yüksek Mühendisi Musa Mutlu YALÇIN ve Ziraat Yüksek Mühendisi Haşim AKBAY’a içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her türlü fedakarlıktan kaçınmayan, sevgi ve destekleriyle bugünlere gelmemde çok büyük katkıları olan sevgili annem Sümer ER ve babam Hamit ER’e sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Buğday Kök Boğazı Çürüklüğünün Bölgedeki Yaygınlığı, Çıkışı ve Şiddetinin Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar.....	15
3.2. Hastalık Belirtisi Gösteren Bitkilerden Fungusların İzolasyonu	17
3.3. Fungal Etmenlerin Klasik ve Moleküler Tanısı.....	18
3.4. Patojenisite Testi.....	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Osmaniye ve Çevresinde Buğday Kök Boğazı Çürüklüğünün Yaygınlığı, Çıkışı ve Şiddetine Dair Sonuçlar	25
4.2. Hastalık Belirtisi Gösteren Bitkilerden İzole Edilen Funguslar	29
4.3. <i>Fusarium</i> Türlerinin Klasik ve Moleküler Tanısı.....	36
4.4. Patojenisite Testi Sonuçları	47
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	61



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Fungal izolatların moleküler tanısında kullanılan universal primerler ve PCR koşulları	20
Çizelge 4.1. Osmaniye ve çevresinde incelenen buğday ekim alanları ve bu alanlardaki hastalık çıkışı ve hastalık şiddeti yüzdeleri	25
Çizelge 4.2. Osmaniye ve çevresinde incelenen buğday ekim alanları ve bu alanlardan saptanan türlerin izole edilme oranları (%)	30



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Sörvey yapılan araziler.....	15
Şekil 3.2. Hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan skala değerleri ve lezyonlar.....	16
Şekil 3.3. Bitkilerden mikolojik izolasyon ve PDA’da gelişen fungal koloniler .	18
Şekil 3.4. PCR ürünlerinin boyanıp jele yüklenmesi	21
Şekil 3.5. Patojenisite testinde kullanılan buğday inokulumları	22
Şekil 3.6. Patojenisite testinde yetiştirilen bitkiler ve değerlendirme	23
Şekil 4.1. Osmaniye ve çevresindeki ilçelerde buğday kök ve kökboğazı çürüklük hastalığının çıkışı (%)	27
Şekil 4.2. Osmaniye ve çevresindeki ilçelerde buğday kök ve kökboğazı çürüklük hastalığının şiddeti (%)	28
Şekil 4.3. Osmaniye ve çevresindeki buğday ekim alanlarından izole edilen funguslar ve bölge genelindeki izole edilme oranları (%)	34
Şekil 4.4. <i>Fusarium</i> türlerinin PDA besi yerinde, 15 günlük inkübasyonu (25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık’ta) ile gelişen kültürleri; a) <i>F. acuminatum</i> , b) <i>F. algeriense</i> , c) <i>F. brachygibbosum</i> , d) <i>F. culmorum</i>	38
Şekil 4.5. <i>Microdochium nivale</i> ’nin PDA besi yerinde, 15 günlük inkübasyonu (25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık’ta) ile gelişen kolonisi ve konidileri	40
Şekil 4.6. <i>Septoriella hirta</i> ’nın PDA besi yerinde, 15 günlük inkübasyonu (25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık’ta) ile gelişen kolonisi.....	41
Şekil 4.7. Çalışmada tespit edilen <i>Fusarium</i> türlerinde makro-mikrokonidi ve klamidospore görüntüleri; a) <i>F. acuminatum</i> , b) <i>F. algeriense</i> , ...	41
Şekil 4.8. <i>Fusarium</i> türlerinin EF1-EF2 primer çifti ile elongation factor 1- α gen bölgesinin PCR’la çoğaltılmasıyla elde edilen DNA’ların	

	elektroforetik ayrımı. M: Marker (Thermo Scientific, Gene Ruler; her bir bant 100 bp), 180,184: <i>F. acuminatum</i> , 193: <i>F. algeriense</i> , 200 ve 226: <i>F. brachygibbosum</i> , 194 ve 227: <i>F. nygamai</i> , 221: <i>F. incarnatum</i> , 224 ve 225: <i>F. equiseti</i> , 233: <i>F. culmorum</i> , 234: <i>F. pseudograminearum</i>	43
Şekil 4 9.	Bazı <i>Fusarium</i> türlerinin Fa+7 – Ra+6 primer çifti ile elongation factor 1- α gen bölgesinin PCR’la çoğaltılmasıyla elde edilen DNA’ların elektroforetik ayrımı. M: Marker (Thermo Scientific, Gene Ruler; her bir bant 100 bp), 180,184: <i>F. acuminatum</i> , 193: <i>F. algeriense</i> , 194: <i>F. nygamai</i> , 200 ve 226: <i>F. brachygibbosum</i> , 221: <i>F. incarnatum</i> , 224: <i>F. equiseti</i> , 233: <i>F. culmorum</i> , 234: <i>F. pseudograminearum</i>	44
Şekil 4.10.	<i>Fusarium</i> izolatlarında, translation elongation factor (tef-1 α) gen bölgelerinin dizilenip hizalandıktan sonra elde edilen soy ağacı (MEGA 7 yazılımı ile maksimum benzerlik analizi, bootstrap değeri: 1000)	47
Şekil 4.11.	Patojenisite denemesi ile <i>F. pseudograminearum</i> izolatının oluşturduğu kök ve kökboğazı yanıklığı (Çeşit: Adana-99)	48
Şekil 4.12.	Çalışmada kullanılan izolatların Adana-99 çeşidi buğday bitkilerinde oluşturdıkları hastalık şiddeti seviyeleri (%).....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
ha	: Hektar
µl	: Mikrolitre
°C	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
CTAB	: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
dk	: Dakika
ITS	: Internal Transcribed Spacer
L	: Litre
LSD	: Least Significant Difference
mA	: miliamper
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
nm	: Nanometre
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDA	: Patates Dekroz Agar
rpm	: Revolutions Per Minute
sn	: Saniye
sp.	: Tür
spp.	: Türler
TAE	: Tris Asetat EDTA
UV	: Ultraviyole



1. GİRİŞ

Buğday üretimi ülkemizin her bölgesinde yapılmakta olup, tarla ürünleri içerisinde ekiliş alanı ve üretim miktarı bakımından ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizde 2019 yılında buğday ekim alanı 68.4 milyon dekar, buğday üretim miktarı ise 19 milyon tondur. Adana İli buğday ekim alanı 1.3 milyon dekar, buğday üretimi ise 502 bin ton olup, Osmaniye İli buğday ekim alanı 470 bin dekar, buğday üretimi ise 161 bin tondur (TÜİK,2019).

Buğday üretiminde hastalık ve zararlılar sonucu oluşan kayıplar oldukça önemli bir sorundur. Buğday ekim alanlarında hastalığa sebep olan toprak kökenli patojenler önemli bir grubu oluşturmakta ve buğday üretiminde önemli miktarda verim kaybına sebep olmaktadır (Wildermuth ve McNamara, 1994). Ülkemizde son zamanlarda yapılan araştırmalar kışlık olarak ekilen buğdaylarda toprak kökenli patojenler nedeniyle oluşan verim kaybının % 42-45 arasında olduğunu ortaya koymuştur (Hekimhan ve ark., 2005). Buğday ekim alanlarında mevcut olan fungal patojenlerin sebep olduğu hastalıklar; tohum ve başak hastalıkları, yaprak, kök, kökboğazı ve sap hastalıklarıdır.

Fusarium kök boğazı çürüklüğü dünya genelinde kuru alanlarda en fazla verim kaybına neden olan hastalıklardan biridir (Burgess ve ark., 2001; Backhouse ve ark., 2004). *Fusarium* cinsi içerisinde *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* (Grup 1), *Fusarium avenaceum*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium crookwellense*, *Fusarium poae* ve *Fusarium nivale*'nin hastalığa neden olan en önemli türler olduğu açıklanmıştır. *Fusarium graminearum* 'un Grup 1 ve 2 olarak isimlendirilmesinin nedeni; 1. grupta bulunan popülasyonların buğday, arpa ve yulafta kök, kök boğazı ve sap çürüklüğüne neden olmaları, 2. grupta olanların ise buğday başak yanıklığı ve mısırdaki sap ve koçan çürüklüğüne yol açmalarıdır (Wiese, 1987).

Patojenik olan türlerden bazıları konukçusunun olmadığı dönemleri hasad artıkları içerisinde miselyum, bazıları toprak ve bitki artıklarında klamidospor,

bazıları ise konukçu üzerinde peritesyumlar halinde ya da buğdaygiller familyasına ait yabancı otların köklerinde parazit halde geçirmektedirler. (Purss, 1969; Cook, 1970; Cook, 1980). Patojenin bitkiyi infekte etmesi buğday tohumlarının çimlenmeye başlaması ile başak oluşumuna kadar olan dönemde konidi, miselyum ve klamidosporelerle gerçekleşir. İnfeksiyonlar, çoğunlukla toprağa yakın kök boğazı bölgesi ya da kök boğazının hemen altındaki boğum aralarından başlamaktadır. Buğdayın fide döneminde başlayan düşük seviyelerdeki infeksiyonlardan bitkiler çok etkilenmemekte ve bitkiler normal gelişimine devam edebilmektedirler. Fakat sonraki dönemlerde artan su transpirasyonu ile beraber hızlı bir belirti gelişimi ortaya çıkmaktadır (Beddis ve Burgess, 1992). Hastalıklı bitkilerin kök, kök boğazı ve sap kısmında şeritler halinde uzayan veya tüm silindiri tamamen kaplamış kahverengi lezyonlar görülür. Bu lezyonlar çoğunlukla, bahsedilen bölgelerde görülmelerine rağmen infeksiyonun yoğunluğu ve hastalığın seyrine göre bazen yaprak kınları ve gövdede 4. hatta 5. boğuma kadar ilerleyebilir. Bazen çiçeklenme döneminde yaşanan su stresi ile bitkilerde beyaz başak oluşumu ve erken ölümler görülebilir. Bu belirtilerin görüldüğü bitkilerde, su taşımının normal bir şekilde sağlanamaması ve bunun sonucunda fizyolojik bozuklukların ortaya çıkmasıyla bitkiler normal yaşam süresinden daha kısa bir sürede ömrünü tamamlamakta ve verimde büyük miktarda azalmalar meydana gelmektedir. Hastalığın şiddetli olduğu bölgelerde verim azalışının zaman zaman % 50-70 düzeylerine ulaştığı belirlenmiştir (Cook, 1968; Booth, 1971; Hill ve ark., 1983; Mihatu-Grimm ve Forster, 1989; Smiley ve ark., 1996).

Hastalık dünyadaki buğday tarımı yapılan hemen her bölgede olduğu gibi ülkemizde de görülmektedir. Ekim nöbetine dahil edilmeyen buğday üretim alanlarında inokulum miktarının arttığı ve patojenlerin 2 yıl süreyle toprakta canlılığını sürdürebildiği bildirilmektedir (Inglis ve Cook, 1986). Tarım yapılan arazinin ekolojik ve coğrafi özellikleri, iklim ve toprak koşulları hastalığı ve verim seviyelerini etkileyen faktörlerdir. Bunlara ek olarak bölgedeki ürün deseni, hububat çeşitlerinin hastalığa toleransları, bitki besleme, toprak hazırlığı ve fungusit

kullanımı gibi faktörler hastalığın seyrinde etkili olmaktadır. Patojenler ile bulaşık alanlarda bitkilerin hastalığa yakalanma ihtimalleri yüksektir. Bu ihtimal topraktaki hastalığın seyri, toprak ve bitkideki su potansiyeli ile yakın ilişkilidir. Kök ve kökboğazından oluşan yırtılmalardan infeksiyon başlar, hava sıcaklığı ve yağışlar hastalığın seyrini belirler. Özellikle başak çıkışı ve çiçeklenme aşamasında hava sıcaklığı yüksek ve topraktaki su içeriğinin düşük olduğu durumlarda hastalığın çok şiddetli olabileceği bildirilmiştir (Cook, 1986; Beddis ve Burgess, 1992; Smiley ve Patterson, 1996).

Yetiştiriciliği yapılan buğday çeşitleri arasında günümüze kadar, *Fusarium* sap çürüklüğüne tam dayanıklı buğday çeşidi tespit edilmemiştir. Araştırmalarda dayanıklılığı incelenen buğday çeşitlerinde patojen infeksiyonunun önlenemediği, hastalık şiddeti ve oranının çeşitler arasında farklılık gösterdiği, tolerans düzeyi yüksek olanlarda sap çürüklüğü gelişiminin daha düşük olduğu bildirilmiştir (Klein ve ark., 1985). Buğday ekimi yapılan ve yaygın olarak *Fusarium* Sap Çürüklüğü Hastalığı'nın görüldüğü bir bölgedeki türlerin varlığını saptamak, hastalıkla mücadelede önemli katkılar sağlayabilir. Buğday bitkilerinin kök ve kökboğazından çok çeşitli *Fusarium* türü fungusla izole edilebilir. Ancak bu türlerin virülenslikleri birbirinden farklı olup, bazı türlerin hastalık oluşumundaki rolü oldukça sınırlıdır (Kee ve ark., 2019). Bunun yanında bazı türlerin, tohum ilaçlamalarında kullanılan fungusitlere duyarlılığı da değişiklik gösterebilir ve bu değişiklik hastalıkla mücadeleyi etkileyebilir. Bundan dolayıdır ki, hastalıkla mücadelede türlerin bulunma sıklığını belirlemek önemlidir. Osmaniye ili ve çevresinde yaygın olarak yetiştirilen buğdaylarda, kök ve köboğazı çürüklüğü hastalığıyla ilgili detaylı bir çalışma yapılmamıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada, bölgede sınırlı sayıda alan kontrol edilmiş ancak buğday tarımının yoğun yapıldığı ve sulama imkanı olmayan bölgelerde herhangi bir sorvey çalışmasına rastlanmamış olup böyle bir çalışmaya gerek duyulmuştur.

Buraya kadar bahsedilen bilgiler doğrultusunda bu Yüksek Lisans tez çalışması ile, Osmaniye ili ve çevresindeki buğday ekim alanlarında kök, kökboğazı

ve sap çürüklüğü hastalığının çıkışı, yaygınlık oranı ve hastalık şiddetinin ortaya konularak bu hastalığın etmenlerinden olan *Fusarium* türü fungusların ve bunların virülenslikleri saptanmaya çalışılmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Liddell (1985) tarafından yürütülen bir çalışmada buğdayda kökboğazı çürüklüğüne neden olan *Fusarium greminearum* grup 1, *Fusarium culmorum* ve *Fusarium crokwellense* türlerinin patojenisiteleri karşılaştırılmıştır. Patojen inokulasyonundan sonraki 115 gün içerisinde farklı zamanlarda buğday bitkilerinin kökboğazındaki kahverengi lezyon oluşumları gözlemlenmiş ve patojenik türlere göre hastalık oluşum sırası ortaya konulmuştur. İnokulasyondan 21 gün sonra hiçbir belirti ortaya çıkmamış bitkiler normal gelişimine devam etmiştir. Ancak 39 gün sonra yapılan değerlendirmede *Fusarium greminearum* grup 1 ile inokule edilmiş bitkilerin % 70’inde şiddetli kökboğazı lezyonu oluşurken, *Fusarium culmorum* ve *Fusarium crokwellense* ile inokule edilmiş olanların ancak % 50’sinde hastalık belirtileri gözlenmiştir. Bu sonuç *Fusarium greminearum* grup 1’in diğerlerine göre daha virulent olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Manka ve ark. (1985), Polanya buğday ekim alanlarından *Fusarium culmorum*, *Fusarium greminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium equiseti* türlerini izole etmişler ve bunların patojenisitelerini, ürettikleri mikotoksinlerle olan doğrusal ilişkilerini araştırmışlardır. Toplam 37 *Fusarium* izolatu ile yürütülen bu çalışmada en şiddetli hastalık oluşturan türlerin *Fusarium culmorum* ve *Fusarium graminearum* olduğu bulunurken, bu türlerin oldukça yüksek düzeyde deoxynivalenol ve 3-acetyl-deoxynivalenol ve zearalenone türlerini oluşturdıkları tespit edilmiştir. İzole edilen diğer türlerin virülenslikleri zayıf düzeyde olmuş ve bu türlerin oluşturdıkları mikotoksin miktarları da fazla olmamıştır. Bu türlerden *Fusarium solani*, *Fusarium equiseti* ve *Fusarium avenaceum* türleri buğday ve tritikalede şiddetli kökboğazı çürüklüğü oluşturmamışlardır.

Rossi ve ark. (1995) İtalya’nın kuzeybatısındaki buğday ekim alanlarında sap çürüklüğü hastalığının yaygın olduğunu belirtmişler ve 3 yıllık survey çalışması ile hastalığa neden olan türleri saptamışlardır. Kahverengi lezyonlu alanlardan

yaygın olarak izole edilen türlerin *Microdochium nivale*, *Drechslera sorokiniana*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Wojnowicia hirta*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme*, *Pythium* spp, *Fusarium crookwellense* oldukları tespit edilmiştir.

Geiser ve ark. (2004) buğdaylardan izole edilen birçok *Fusarium* türünün *Giberella fujikuroi*, *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium solani* tür kompleksleri içerisinde gruplandığını ve mikroskopik olarak bu türleri tanılamamanın oldukça karmaşık olduğunu bildirmişlerdir. Bu problemi çözmek için mutlaka moleküler biyoloji yöntemlerine başvurulması gerektiği ifade edilmiştir. Bu amaçla translation elongation factor 1-alpha (TEF) gen bölgesinden *Fusarium* cinslerine özgü primer çifti tasarlamışlar ve primer çiftinin türlerin ayrımını başarılı bir şekilde yapabildiğini bulmuşlardır. Tasarlanmış oldukları EF 22 kodlu reverse primer EF 1 forward primeri ile birlikte kullanıldığında birçok tür kompleksini başarı ile çözümlenmiştir.

Strausbaugh ve ark. (2004) tarafından Amerika'nın Idaho eyaletindeki arpa ve buğday ekim alanlarında 2001 ve 2002 yıllarında yürütülen bir çalışmada 81 buğday ve 52 arpa tarlası incelenmiş ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı ile ilişkili fungal patojenlerin tespiti yapılmıştır. *Bipolaris sorokiniana* ve *Fusarium culmorum*'un en yaygın izole edilen ve en virulent 2 fungus türü olduğu bulunmuştur. Bunun yanında *Rhizoctonia solani* ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*'nin de kök boğazı çürüklüğünde önemli bir paya sahip olduğu bildirilmiştir.

Tunalı ve ark. (2006) İç Anadolu'daki 32 farklı lokasyondan buğday kökboğazı çürüklüğü belirtileri gösteren örnekler almışlar ve toplam 51 *Fusarium* izolatu elde etmişlerdir. Toplam 51 izolattan 13 farklı *Fusarium* türü tespit edilmiş ve bu türlere ait izolatların patojenisitesi Pehlivan çeşidi kışlık buğdayda incelenmiştir. Elde edilen *Fusarium* izolatlarının *Fusarium culmorum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium verticilloides* türlerine ait olduğu tespit edilmiştir. Bu türler içerisinde

Fusarium culmorum, *Fusarium pseudograminearum* ve *Fusarium graminearum*'un virülensliği en yüksek türler olduğu bulunmuş ve bu türler bitki yaş ağırlığının azalmasına neden olmuştur. Diğer türler ise test edilen buğday çeşidinde kayda değer bir saldırganlık gösteremediğinden bunlar zayıf patojen olarak gruplandırılmışlardır.

Vogelgsang ve ark. (2008) 2004 ve 2006 yılları arasında İsviçre'de yürüttükleri bir çalışmada, *Fusarium poae* ve *Fusarium avenaceum* türlerine ait 6 izolatin 14 farklı buğday çeşidi üzerinde patojenisitelerini ve oluşturdukları mikotoksinleri belirlemişlerdir. Bu 2 türden *Fusarium avenaceum*, *Fusarium poae*'ye göre yüksek miktarda mikotoksin oluşturarak *Fusarium poae*'den daha saldırgan olduğu bulunmuş ve tarla koşullarında % 25'e varan seviyelerde ürün azalışı meydana getirmiştir.

Hsuan ve ark. (2011) Malezya'nın çeltik, şekerkamışı ve mısır yetiştirilen alanlarında 2008-2009 yıllarında yürüttükleri bir çalışmada *Gibberalla fujikuroi* tür kompleksi içerisinde bulunan *Fusarium* türlerinin tanısını yapmışlardır. Translation elongation factor 1- α (TEF-1 α) gen bölgesinin EF1 ve EF2 primerler kullanılarak çoğaltılmasıyla 5 farklı *Fusarium* türü tespit edilmiştir. Elde edilen 23 izolatin 1'i *Fusarium verticilloides*, 6'sı *Fusarium andiyazi*, 29'u *Fusarium sacchari*, 11'i *Fusarium fujikuroi* ve 9'unun ise *Fusarium proliferatum* olduğu tespit edilmiştir.

Kikot ve ark. (2011) tarafından yürütülen bir çalışmada Buenos Aires civarındaki Pampas buğday bölgesinden elde edilen 67 *Fusarium* izolatinın tanısı yapılmıştır. 2006 ve 2007 yıllarında yürütülen bu çalışmada türe spesifik PCR primerleri kullanılmış ve *Fusarium graminearum*, *Fusarium poae*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium avenaceum* türlerinin var olduğu tespit edilmiştir.

Pavlatova ve ark. (2011) Çek Cumhuriyeti'nde yürütmüş oldukları bir çalışmada, *Fusarium poae*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium lunulosporum*, *Fusarium venenatum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium lcyushuense*, *Fusarium langsethiae*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium torulosum*, *Fusarium flocciferum*, *Fusarium avenaceum* türlerinin tanısını DNA microaray yöntemiyle

tanılamışlardır. Özel problemlerin dahil edildiği PCR deneyinin bu türlerin ayırımında oldukça başarılı olduğu bildirilmiştir.

Tunalı ve ark. (2012) buğdayda kök boğazı çürüklüğü ve başak yanıklığına neden olan 3 farklı *Fusarium* türünün (*Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*) patojenik ve saprofitik performanslarını incelemişlerdir. 10 *Fusarium graminearum*, 13 *Fusarium pseudograminearum* ve 7 *Fusarium culmorum* izolatının DON üretme performansları ile patojenik ya da saprofitik olma durumları arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Çalışma sonunda izolatlardaki DON üretme performansları ile saldırganlık arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur. *Fusarium pseudograminearum*'un buğday kök boğazı bölgesindeki DON üretimi ve kök boğazı çürüklüğü oluşturma başarısı *Fusarium culmorum* ve *Fusarium graminearum*'a göre daha fazla olmuştur. Buna karşın *Fusarium pseudograminearum*'un başak yanıklığı oluşturma performansı diğer 2 türe göre daha düşük düzeyde kalmıştır.

İran'ın Golestan kentinde buğday kökboğazı çürüklüğüne neden olan *Fusarium* türlerini saptamak için yürütülen bir çalışmada 2010-2011 yılları içerisinde 344 *Fusarium* izolatı elde edilmiştir. Türe spesifik primerlerin kullanıldığı PCR çalışmalarında *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium croockwellense*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium poae*, *Fusarium lateritium*, *Fusarium proliferatum* ve *Fusarium subglutinans* türleri bulunmuştur. Bu bölgeden en yaygın olarak izole edilen türün % 48,2 ile *Fusarium graminearum* olduğu belirlenmiştir (Tizaki ve Sabbagh, 2012).

Çepni ve ark. (2013) İç Anadolu Bölgesi buğday, arpa ve mısır bitkilerinden izole ettikleri 39 *Fusarium* izolatını PCR RFLP metodu ile tanısını yapmışlardır. PCR çalışmaları ile bu türlerin *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium culmorum* ve *Fusarium graminearum* türleri olduğunu saptamışlardır. Denemeye alınan 14 restriksiyon endonükleaz enziminden sadece 3 tanesi başarılı olabilmiş ve bu türlerin ayırımına katkı sağlayabilmiştir. Çalışmada 9 farklı DNA markırı oluşturabilen en etkili enzimin PsT1 enzimi olduğu anlaşılmıştır.

Darvishnia (2013) İran'ın farklı bölgelerindeki buğdaygil bitkilerinden elde ettiği 1200 adet *Fusarium* izolatının tür ayrımını yapmış ve moleküler tanı çalışmalarında EF1 ve EF2 primerleri ile TEF-1a gen bölgesini çoğaltarak morfolojik tanıyı doğrulamıştır. Filogenetik analizler sonucunda 11 farklı *Fusarium* türü tespit edilmiş ve bu türlerin *Fusarium nygamai*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium solani*, *Fusarium tricinctum*, *Fusarium pallidroseum*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium pseudonygamai*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sporotrichioides* oldukları bulunmuştur.

Motallebi ve ark. (2015) İran, İtalya ve Suriye'den elde edilen *Fusarium culmorum* izolatlarını morfolojik olarak ve ayrıca türe spesifik primerler kullanarak moleküler biyoloji yöntemleriyle teşhis etmişlerdir. Bunun yanında izolatların hangi toksinleri oluşturduğuna yönelik moleküler çalışmalar yürütmüşlerdir. Çalışmada kullanılan tüm izolatların patojenik oldukları anlaşılmış ve buğday bitkileri üzerinde tipik kökboğazı çürüklüğü meydana getirmişlerdir. İtalyan ve İran izolatları bitkilerde ortalama % 19,1 ve % 18,7'lik hastalık şiddeti oluştururken, Suriye izolatları ortalama % 11,8'lik hastalık şiddeti oluşturmuşlardır. İran ve İtalyan *Fusarium culmorum* izolatlarının 3-acetyl-deoxynivalenol (3Ac-DON) profiline sahip olduğu ancak Suriye izolatının ise 3Ac-DON and nivalenol (NIV) toksinlerini ürettiği belirlenmiştir.

Yörük ve ark. (2016) Orta Karadeniz, Marmara, İç Anadolu ve İç Ege'deki buğday, arpa ve mısır tarlalarında kök boğazı çürüklüğü ya da başak yanıklığı gösteren bitkilerden örnekler almışlar ve bu örneklerdeki *Fusarium culmorum* ve *Fusarium graminearum* izolatlarını incelemişlerdir. 2006 ve 2015 yılları arasında yürütülen bu çalışmada 37 *Fusarium culmorum* ve 21 *Fusarium graminearum* izolatı elde edilmiş; bunların toksin üretme profilleri çeşitli moleküler biyoloji yöntemleri ile analiz edilmiştir. İzolatların tür düzeyindeki tanısı, türe spesifik markırlarla yapılmış ayrıca PCR ve RT PCR yöntemleriyle *Fusarium* türlerinin 3 farklı kemotipi (3-AcDON, 15-AcDON ve NIV) belirlenmiştir. Çalışma sonunda *Fusarium*

izolatlarının tri 13 geni ile ilişkili DON (Deoksinivalenol) üreticisi olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu *Fusarium* izolatlarının 3 farklı kemotipte olduğu belirlenmiştir.

Ortega ve ark. (2016) tarafından yürütülen bir çalışmada Arjantin'deki bir lokasyonda 2009-2011 yılları arasında buğday kökboğazı çürüklüğü etmenlerinden *Fusarium graminearum* izolatları elde edilmiştir. 68 farklı *Fusarium graminearum* izolatının ISSR moleküler markırları ile DON (deoksinivalenol) oluşturma seviyeleri incelenmiştir. İzolatların % 95'i aynı tipte ISSR markırları oluştururken % 5'i farklı tipte markır meydana getirmiştir. Tüm izolatlarda DON kodlayan genin var olduğu saptanırken toksin seviyesi yönünden kıyaslandığında yüksek düzeyde değişkenlik görülmüştür.

İran'ın Golestan kentinde yürütülen bir çalışmada *Fusarium* başak yanıklığına neden olan *Fusarium* türleri moleküler yöntemlerle teşhis edilmiş ve ayrıca patojenistede önmlü rol oynayan toksin profilleri ortaya koyulmuştur. İzolasyon çalışmaları sonunda elde edilen türlerin 24'ünün *Fusarium graminearum*, 6'sının *Fusarium proliferatum*, 4'ünün *Fusarium culmorum*, 3'er izolatın *Fusarium subglutinans*, 1'er izolatın ise *Fusarium asiaticum* ve *Fusarium meridionale* türleri olduğu saptanmıştır. *Fusarium* izolatları arasında nivalenol üretiminin en yaygın olduğu, bunu sırasıyla 3 acetyl deoxynivalenol (3-ADON) and 15-acetyl deoxynivalenol (15-ADON) üretiminin takip ettiği belirlenmiş, bu toksinlerin patojenisitede oldukça önemli bir paya sahip oldukları vurgulanmıştır (Khaledi ve ark., 2016).

Fusarium culmorum ve *Fusarium pseudograminearum* dünya genelinde buğday kök boğazı çürüklüğüne yol açan 2 önemli *Fusarium* türüdür. Farklı inokulasyon metodlarının en etkili olanın belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, fide daldırması, kök boğazına süspansiyonu enjeksiyonu ve buğday inokulumu verilmesi olmak üzere 3 farklı yöntem denenmiştir. Bu yöntemler içerisinde en etkili yöntemin fide daldırması olduğu saptanmış daha sonra bunu buğday inokulumu ve kökboğazına spor süspansiyonu enjeksiyonu olduğu anlaşılmıştır. Sonuç olarak her

2 *Fusarium* türünün de buğdaydaki patojenisiteleri doğrulanmıştır (Erginbaş-Orakcı ve ark., 2016).

Sakr (2017) 4 farklı *Fusarium* türünün (*Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, *Fusarium verticilloides* ve *Fusarium equiseti*) Suriye’de yetiştirilen 6 farklı buğday çeşidi üzerindeki başak yanıklığı hastalığının oluşumuna etkisini incelemiştir. Kontrollü koşullarda yürütülen bu çalışmada başak yanıklığı hastalığının şiddeti ve başaklarda *Fusarium*’un yayılışı ele alınmış ve sonuçlar yüzde olarak ortaya konulmuştur. Bu türlerden hazırlanan spor süspansiyonu başak oluşumundan 10-14 gün sonra başaklara püskürtülmüş ve simpton oluşumu 21 gün sonra değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonunda test edilen 6 farklı buğday çeşidinden hiçbirinde hastalık oluşumu tamamen engellenememiştir. Hastalık şiddeti seviyeleri türlere göre farklılık gösterebilir 4 farklı *Fusarium* türünün patojenik özellikte oldukları anlaşılmıştır. *Fusarium* izolatları buğday başaklarında % 33,2 ile % 45,5 arasında değişen oranlarda hastalık şiddeti meydana getirmiştir. Bu çalışma sonunda buğdaylardan izole edilen çoğu *Fusarium* türünün hastalık oluşumunda az ya da çok etkisinin olduğunu göstermiştir.

Wang ve ark. (2017) Tayvan’daki buğday ekim alanlarında 195 adet *Fusarium* izolatu elde etmişler ve bunları moleküler biyoloji yöntemleriyle teşhis etmişlerdir. Bu türlerin *Fusarium asiaticum*, *Fusarium graminearum* ve *Fusarium meridionale* türleri olduğu bulunurken, bunlar içerisinde en yaygın türün % 98’lik oranla *Fusarium asiaticum* olduğu tespit edilmiştir. *Fusarium asiaticum*’un Tayvan’da baskın tür olduğu vurgulanırken bu türün 15-ADON genotipine sahip olduğu belirlenmiştir.

Konya, Ankara, Eskişehir, Kayseri, Nevşehir, Aksaray, Yozgat, Kırşehir ve Kırıkkale illerinde buğdat ekim alanlarında 2011 ve 2012 yıllarında yürütülen bir çalışmada 2770 buğday tarlasındaki *Fusarium* kökboğazı çürüklüğü hastalığının durumu incelenmiştir. Çalışma sonunda 668 adet *Fusarium* izolatu elde edilmiş ve 18 farklı tür bulunmuştur. ITS primerleri ile yapılan PCR çalışmaları ile bu izolatların *Fusarium acuminatum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium*

brachygibbosum, *Fusarium cerealis*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium incarnatum*, *Fusarium lacertarum*, *Fusarium longipes*, *Fusarium nivale* (*Microdochium nivale*), *Fusarium oxysporum*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium redolens*, *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichioides* ve *Fusarium tricinctum* oldukları tespit edilmiştir. Bu bölgelerden izole edilen en yaygın türün ise *Fusarium nivale* olduğu bulunmuştur (Ünal ve ark., 2017).

Gebremariam ve ark. (2018) tarafından 2013 yılında yürütülen bir çalışmada, Ege, Karadeniz, İç Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde buğday kökboğazı çürüklüğü hastalığını incelemişler ve 200 farklı noktadan hastalıklı bitki türlerini toplayarak *Fusarium* türlerini tanılamışlardır. İzolasyon çalışmaları sonunda 339 adet *Fusarium* izolatu elde edilmiş ve izolatların moleküler tanısında translation elongation factor 1-alpha (TCFL- α) gen bölgesi EF1 ve EF2 primerleri ile çoğaltılmıştır. Çalışma sonunda *Fusarium culmorum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium hostae*, *Fusarium redolens*, *Fusarium avanaceum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium torulosum*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium flocciferum*, *Fusarium solani*, *Fusarium incarnatum*, *Fusarium tricinctum* ve *Fusarium reticulatum* türlerini kapsayan 17 farklı *Fusarium* türü tespit edilmiş, örnek alınan bölgelerden izolasyon oranı en yüksek olan türün % 13,6 ile *Fusarium culmorum* olduğu bulunmuştur. Bu çalışma Türkiye'deki buğday kökboğazı çürüklüğüne neden olan türlerin oldukça fazla sayıda olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Kang ve ark. (2019) yapmış oldukları bir çalışmada *Fusarium pseudograminearum*'un önemli bir toksin üreten tür olduğunu belirtmiş, toksin üreten genlerin modifiye edilerek patojenin saldırganlığının azaltılabileceğini bildirmiştir. Bir takım kimyasallarla elde edilen mutantlar, çimlenmekte olan buğday fideliklerine inokule edildiklerinde saldırgan tiplere göre hiç hastalık oluşturmamıştır.

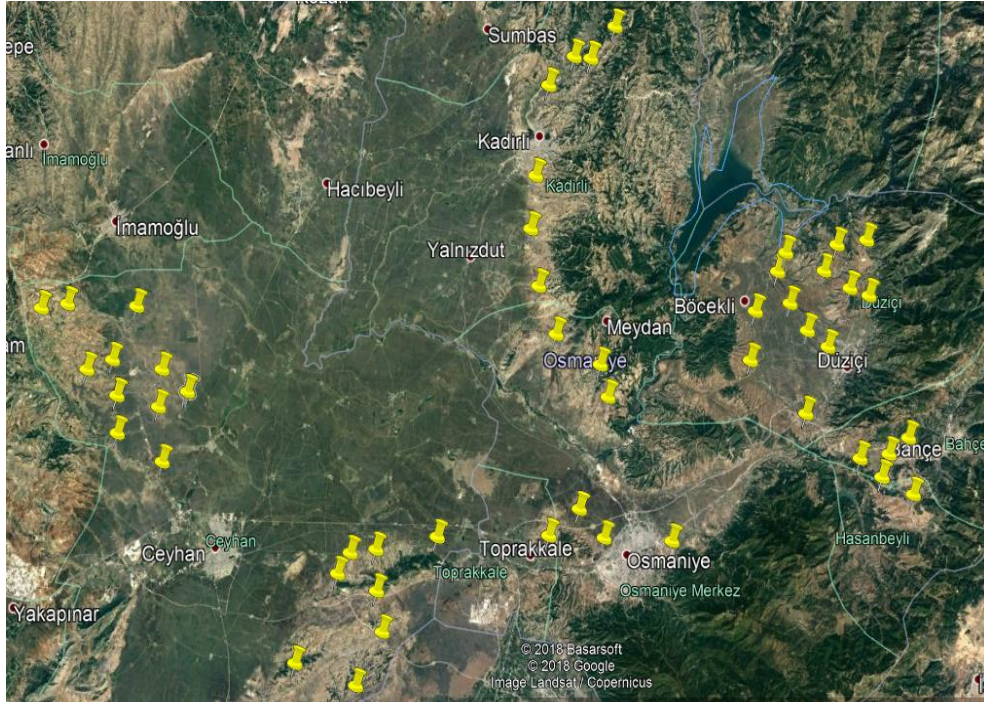
Abdallah-Nekache ve ark. (2019) Cezayir'deki 46 ilde 2014-2015 yıllarında yapmış oldukları bir çalışmada 389 buğday tarlasında sürvey çalışması yürütmüşler ve kök boğazı çürüklüğü ile ilişkili *Fusarium* türlerini saptamışlardır. Çalışma sonunda izole edilen türlerin % 68'inin *Fusarium culmorum*, % 10'unun *Fusarium pseudograminearum*, % 3'ünün *Fusarium verticilloides*, % 2'sinin *Fusarium avenaceum*, % 13'ünün *Microdochium majus* ve % 4'ünün ise *Microdochium nivale* olduğu tespit edilmiştir. 30 farklı *Fusarium* izolatu ile yapılan patojenisite çalışmalarıyla *Fusarium culmorum* ve *Fusarium pseudograminearum*'un en virulent iki tür olduğu belirlenmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Buğday Kök Boğazı Çürüklüğünün Bölgedeki Yaygınlığı, Çıkışı ve Şiddetinin Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar

Sörvey çalışması 2018 yılı buğday üretim sezonunda yapılmış, 4 Nisan 2018’de, fenolojik olarak buğdayın çiçeklenme dönemi tamamlandığında araziye çıkılmıştır. Hastalığın Osmaniye ve çevresindeki durumunu ortaya koymak için il merkezinden ortalama 60 km uzaklığa kadar olan ilçelerdeki (Bahçe, Ceyhan, Düziçi, Hasanbeyli, Kadirli, Osmaniye Merkez) buğday ekim alanları (toplam 51 tarla) incelenmiştir. Arazi çıkışları önceki araştırmalardaki sörvey alanları dikkate alınarak planlanmış, daha çok kuru tarım yapılan bölgelerde ve daha önce incelenmemiş buğday üretim bölgeleri seçilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Sörvey yapılan araziler

Planlanan güzergahlardaki buğday ekim alanları, o bölgeyi temsil edecek mesafede olmuş ve ortalama 20-40 dekarlık tarlalar incelenmiştir. Tarlanın farklı noktalarından en az 100 bitki kökleriyle beraber sökülmüş ve dipten 30 cm uzunlukta kesilerek kese kağıtlarına koyulmuştur. Alınan örneğin bulunduğu yerleşim biriminin adı not edildikten sonra bu örnekler laboratuvara getirilmiştir. Buğday bitkilerinin kökleri, akan çeşme suyu altında yıkanarak kök boğazındaki kuru yapraklar temizlenmiş ve her bitkinin kök ve kökboğazındaki hastalık belirtileri Wildermuth ve McNamara (1994)'da belirtilen skalaya göre (0-4 skalası) değerlendirilmiştir. Buna göre kökten 2. boğuma kadar olan kısım dikkate alındığında 0: sağlıklı bitki, kök boğazında kahverengileşme yok, 1: Lezyonlar alanı %25'ten az, 2: Lezyon alanı %26-50 arasında, 3: Lezyon alanı %51-75 arasında ve 4: Lezyon alanı %75'in üzerinde... şeklinde, her bitki bir skala puanı almıştır (Şekil 3.2). Bu puanlar Townsend-Heuberger formülüne göre işlenmiş ve o tarlaya ait yüzde hastalık şiddeti hesaplanmıştır (Townsend ve Heuberger 1943).



Şekil 3.2. Hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan skala değerleri ve lezyonlar

Bir tarladaki hastalık çıkışı; incelenen 100 bitki içinde hastalık belirtisi gösterenlerin sayısına göre, hastalık yaygınlığı; bölgede inceleme yapılan tüm tarlalardan hastalığın görüldüğü tarlaların sayısına göre hesaplanmıştır. Bölgedeki yüzde hastalık çıkışı ve hastalık şiddeti değeri ise tüm tarlaların ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

3.2. Hastalık Belirtisi Gösteren Bitkilerden Fungusların İzolasyonu

Kök ve kök boğazında lezyon görülen buğday bitkilerinden standart mikolojik yöntemlere göre izolasyonlar yapılmıştır. Çeşme suyu altında iyice yıkanan simptomatik kısımlar kağıt havlu ile kurulandıktan sonra, içerisinde 1:1 hacimde çamaşır suyu (en az %5 aktif klor) ve steril saf su bulunan beherde 3 dakika süreyle yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Bu dokular 2 kez steril saf su ile durulanıp steril kağıt havlu ile kurutulmuş ve bir süre sonra streptomisin-sülfat (150 mg/L) içeren PDA (Patates Dekstrozu Agar: Merck) besi yerine ekilmiştir (Şekil 3.3). Her bir petri kabına 7 doku ekildikten sonra bu dokular 25°C sıcaklık ve 12 saat aydınlık/karanlık koşullarda 5 gün inkübe edilmiştir. Her bir tarla için 10 petri kabı kullanılmıştır. Bu süre sonunda, bir tarlada morfolojik olarak farklı özellikteki fungal koloniler yeni besi yerine saflaştırılmış ancak dokuların bulunduğu petri kapları inkübasyona devam etmiştir (Şekil 3.3). Saflaştırılan izolatlar daha sonra kullanılmak üzere %30'luk gliserol/saf su bulunan steril plastik tüplerde +4°C'de saklanmıştır. Üç hafta sonra dokulardaki fungal koloniler morfolojik ve mikropkobik özelliklerine göre sayılarak kaydedilmiştir. Her bir fungal türdeki koloni sayısının, petri kaplarındaki toplam doku sayısına oranlanmasıyla o tarladaki izole edilme oranı bulunmuştur. Bölgedeki türlerin izole edilme oranları ise tüm tarlaların ortalaması alınarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.3. Bitkilerden mikolojik izolasyon ve PDA’da gelişen fungal koloniler

3.3. Fungal Etmenlerin Klasik ve Moleküler Tanısı

Fusarium türlerini klasik yöntemlerle tanılamak için daha önce saflaştırılan izolatlar öncelikle PDA (Merck) besi yerine ekilmiş ve 25°C’de 15 gün süreyle, 12 saat karanlık/aydınlık ortamda inkübe edilip koloni özellikleri kaydedilmiştir. Koloniler üst ve alt yüzeyden fotoğraflandıktan sonra mikroskopik özellikler detaylıca incelenmiş ve fotoğraflanmıştır (Olympus BX-51® ışık mikroskobu). Klasik tanıda koloni rengi, havai miselyum oluşumu, büyüme hızı, konidi şekli, klamidospor oluşumu gibi özellikler irdelenmiştir. PDA besi yerinde spor oluşturmeyen izolatlar ise Sentetik Nutrient Agar (SNA: KH_2PO_4 : 1.0 g, KNO_3 : 1.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0.5 g, KCl: 0.5 g, glikoz: 0.2 g, sakkaroz: 0.2 g, agar: 15 g, distile su: 1 L, pH: 6.8) besi yerinde 10 gün süreyle büyütülükten sonra incelenmiştir (Seifert, 1996).

Fusarium türlerinin moleküler tanısına DNA ekstraksiyonu ile başlanmış ve bu işlemde Ma ve Dai (2009)’nin yöntemi takip edilmiştir. Öncelikle tanısı yapılacak izolatların PDA’da geliştirilmiş miselyumlarından, steril bisturi ile 50-60 mg alınıp

ezme poşetlerine koyulmuş ve mekanik homojenizatörle (Bioreba®) iyice ezilmiştir. Poşetlere 600-650 µl hacimde %2'lik CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) buffer (2 gr CTAB, 10 ml 1M Tris-HCl, 28 ml 5M NaCl, 4 ml 0.5M EDTA çözeltileri 50 ml steril saf su) eklenmiştir. Poşetlerdeki süspansiyon 1.5 ml'lik plastik santrifüj tüplerine koyulmuş, içine 2 µl mercaptoethanol damlatılmış ve 30 saniye vorteks cihazıyla karıştırılmıştır. Tüplerdeki süspansiyonlar 65°C'de kuru blok ısıtıcı ile 1 saat ısıtılmış ardından 650 µl chloroform isoamylalkol (24:1) ilave edilmiştir. Daha sonra 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip içinden 200 µl süpernatant çekildikten sonra tekrar chloroform isoamylalkol (200 µl) ile karıştırılmış ve aynı hızda ikinci kez santrifüj edilmiştir. Tüplerdeki süpernatanttan 120 µl alınarak yeni tüplere aktarılmış ve üzerine 80 µl isopropil alkol eklenerek 5-6 kez karıştırılmıştır. Alkolün DNA'ya bağlanıp çökmesi için tüpler -20°C'de yarım saat bekletildikten sonra son santrifüjleme (14000 rpm'de 15 dk.) yapılmış ve içindeki tüm sıvı atılmıştır. Tüplerin dibinde çöktürülen DNA %70'lik etanol ile yıkandıktan sonra 10 dakika kurutulmuş, son olarak pellet 50 µl TE (Tris-EDTA) ile çözdürülerek -20°C'de saklanmıştır.

Fungal izolatların moleküler tanısında ITS (Internal Transcribed Spacer) ve EF (Elongation Factor) gen bölgeleri PCR (Polymerase Chain Reactions) ile çoğaltılmıştır. ITS bölgelerinin çoğaltılması için universal primer çiftlerinden ITS4-ITS5 kullanılmış (White ve ark. 1990) ve tüm izolatların kimlikleri ilk olarak bu primer çiftiyle anlaşılmaya çalışılmıştır. Ancak *Fusarium* türlerinin moleküler tanısı sadece ITS primerleriyle mümkün olmadığından bu cinsin tanısı için tasarlanmış primerlerle nested PCR yapılmıştır. Öncelikle *Fusarium* cinsi fungusları diğerlerinden ayırabilen EF1-EF2 primerleriyle genomik DNA çoğaltılmıştır (Geiser ve ark. 2004). Ancak bu bölgenin uzunluğu kimi zaman 1000 bp'yi aştığından, bu bölge içinden tasarlanmış ve daha hassas ayırım yapabilen ikinci bir primer çiftiyle (Fa+7 – Ra+6), PCR ürünüden yeniden PCR yapılmıştır (Karlsson ve ark. 2016). PCR karışımı 200 µl'lik tüplerde hazırlanmış her bir izolat için bir tüpe 2.5 µl 10X Green Buffer, 1 µl dNTPs, 0.125 µl Taq Polimeraz (tamamı Thermo Scientific®

marka) 0.5 µl forward ve reverse primer (10 pikomol) ve 19.375 µl PCR suyu koyulmuştur. Son olarak tüplere her izolatın genomic DNA'sından 1.5 µl eklenerek karıştırılmış ve thermocycler cihazına yerleştirilmiştir. Çizelge 3.1'de verilen bilgilere göre PCR işlemi tamamlanmış ve jel elektroforez işlemine hazır hale getirilmiştir.

Çizelge 3.1. Fungal izolatların moleküler tanısında kullanılan universal primerler ve PCR koşulları

Gen Bölgesi	Primer Çiftleri
ITS (White ve ark. 1990)	ITS4 TCCTCCGCTTATTGATATGC
	ITS5 GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG
PCR Koşulları	
İlk denatürasyon 95°C: 3 dk, 35 kez: 95°C'de 1 dk, 52°C: 1 dk, 72°C: 1 dk ve son döngü 72°C: 10 dk.	
Elongation Factor (Geiser ve ark. 2004)	EF1 ATGGGTAAGGARGACAAGAC
	EF2 GGARGTACCAGTSATCATG
PCR Koşulları	
İlk denatürasyon 95°C: 3 dk, 40 kez: 95°C: 1 dk, 53°C: 75 sn, 72°C: 90 sn ve son döngü: 72°C: 10 dk	
Elongation Factor (Karlsson ve ark. 2016)	Fa+7 AACGTCGTCGTCATCGGCCACGTCGACTCT
	Ra+6 ACATACCAATGACGGTGACATAGTAGCG
PCR Koşulları	
İlk denatürasyon 95°C: 3 dk, 35 kez: 95°C: 1 dk, 65°C: 1 dk, 72°C: 1 dk ve son döngü: 72°C: 10 dk	

PCR sonucu hedef gen bölgelerinin başarılı bir şekilde çoğaltılıp çoğaltılamadığı jel elektroforez sistemi ile kontrol edilmiştir. Bunun için öncelikle 1xTAE (Tris Asetat EDTA) buffer ile %1.5'luk agaroz (Sigma aldrich) pişirilerek kasete dökülmüş ve jelin donması beklenmiştir. Jel donduktan sonra tarak çıkarılmış, elektroforez tankına yerleştirilmiş ve oluşan kuyucuklara PCR ürünleri yüklenmiştir

(Şekil 3.4). PCR ürünlerinde var olduğu düşünülen DNA'nın boyanması SYBR Green I® (Lonza) belirteci ile yapılmıştır. Jele yüklenen ürünler 55V gerilim ve 250 mA'lık doğru akım (DC) altında 2.5 saat yürütüldükten sonra UV aydınlatıcı üzerinde 320 nm dalga boyunda görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır.



Şekil 3.4. PCR ürünlerinin boyanıp jele yüklenmesi

Agaroz jel elektroforez ile PCR süreci tamamlanan izolatların hedef DNA bölgesindeki nükleotid dizilimleri hizmet alımıyla sekanslatılmış ve elde edilen diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılmış (nükleotid BLAST) ve referanslara olan benzerlik oranlarına göre türlerin tanısı tamamlanmıştır. *Fusarium* haricindeki bazı izolatların moleküler tanısı sadece ITS dizileriyle yapılmıştır. Gen sekanslama işlemi, arşive stoklanan tüm izolatlar için yapılmamıştır. Tüm izolatların fotoğraf arşivi detaylı incelendikten sonra morfolojik olarak birbiriyle aynı izolatlar gruplandırılmış bunlardan birkaç temsili izolat seçilerek sekansa gönderilmiştir. Son aşamada hedef gen bölgelerinin

dizilimleri NCBI gen bankasına kaydedildikten sonra kayıt numarası alınıp tür teşhisi teyit edilmiştir.

3.4. Patojenisite Testi

Klasik ve moleküler tanı işlemleriyle tür sayısı ortaya çıktıktan sonra her bir türden en az bir izolat ile patojenisite testine geçilmiştir. Bu teste alınacak izolatların kitlesel olarak çoğaltılması için buğday inokulumu hazırlanmıştır (Akgül ve Erkılıç, 2016). Ekmeklik buğday tohumları çeşme suyunda pişirilerek süzölmüş ve gazete kağıtına serilerek ıslaklığı giderilmiştir. Bu tohumlarla, cam şişeler yarısına kadar doldurulmuş, ağzı pamuk ve alüminyum folyo ile kapatıldıktan sonra 121°C’de 15 dakika süreyle 2 kez otoklav edilmiştir. Fungal izolatlara ait kültürler 1 hafta süreyle PDA besi yerinde geliştirilmiş ve buğday daneleri üzerinde çoğaltılmaya hazır hale getirilmiştir. PDA besi yerinden steril mantar delici yardımıyla miseliyal diskler kesilmiş ve her bir şişeye 5-6 adet disk atılarak steril buğday daneleri inokule edilmiştir. Şişeler 15 gün süreyle 25 °C’de karanlık koşullarda inkübe edilmiş ve 2-3 gün arayla karıştırılarak steril kabinde havalandırılmıştır. Şişelerde kolonize olmuş buğday daneleri kullanılmak üzere hazır hale gelmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.5. Patojenisite testinde kullanılan buğday inokulumları

Patojenisite testi 15 cm çaplı saksılarda açık alanda (Bitki Koruma Bölümü, Araştırma ve Uygulama Alanı) yapılmıştır. Saksılara tarla toprağı, çiftlik gübresi ve kum karışımı (hepsinden eşit hacimde) doldurularak Adana 99 çeşidi ekmeklik buğday tohumları ekilmiş (her saksıya 15 adet) ve tohum yatağına her saksı için 10 gram fungal inokulum karıştırılmıştır. Kontrol olarak ayrılan saksılara yalnızca tohum ekilmiş, inokulum verilmemiştir. Deneme 15 Kasım 2018 tarihinde tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve bitkiler 4.5 ay süreyle açıkta yetiştirilmiştir. Sapa kalkma döneminde her saksıya birer gram amonyum sülfat (%21 azot) gübresi verilmiştir. Bitkiler 26 Mart 2019'da bulundukları saksılardan sökülerek kökleri çeşme suyunda yıkanmış, kök boğazındaki dokular temizlendikten sonra oluşan lezyonlara göre 0-4 skalasıyla (Wildermuth ve McNamara, 1994) değerlendirilmiştir (Şekil 3.6). Skala değerleri Townsend-Heuberger formülüne göre işlenmiş ve her saksı için (15 bitkiden) yüzde hastalık şiddeti hesaplanmıştır. Bu değerlere varyans analizi uygulandıktan sonra ortalamalar arasındaki farklar LSD testine göre %5'lik hata payı ile ortaya konmuş ve istatistiksel grupların oluşmasıyla türlerin patojenisiteleri belirlenmiştir.



Şekil 3.6. Patojenisite testinde yetiştirilen bitkiler ve değerlendirme



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Osmaniye ve Çevresinde Buğday Kök Boğazı Çürüklüğünün Yaygınlığı, Çıkışı ve Şiddetine Dair Sonuçlar

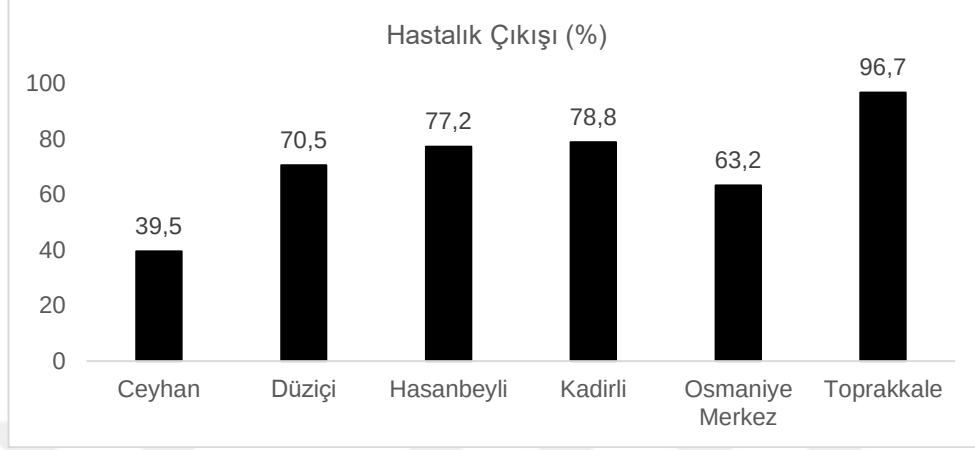
Sörvey çalışmasında (2018) Osmaniye merkez ve çevresindeki buğday ekim alanları incelenmiştir. Farklı köylereki buğday tarlalarında (toplam 51 tarla) hastalık çıkışı ve hastalık şiddeti hesaplanmış, sonuçlar Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Bunun yanında çevre ilçelerde hastalığın durumunu özetlemek için köylerdeki verilerin ortalamaları alınıp ilçelerdeki hastalık çıkışı ve hastalık şiddeti hesaplanmış, sonuçlar Şekil 4.1 ve 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Osmaniye ve çevresinde incelenen buğday ekim alanları ve bu alanlardaki hastalık çıkışı ve hastalık şiddeti yüzdeleri

İl veya İlçe		Köyler	Hastalık Çıkışı (%)	Hastalık Şiddeti (%)
1	Ceyhan	Isırganlı	23	7.3
2		Soysallı 1	41	14.3
3		Başören	58	18.3
4		Gümüşdere	69	23.8
5		Sağkaya	36	10.3
6		Soysallı 2	26	8.5
7		Tumlu	5	1.3
8		Tatlıkuyu 1	35	9.5
9		Tatlıkuyu 2	38	15.0
10		Kıvrıklı	30	9.0
11		Azizli	19	5.0
12		İmran	72	28.3
13		Soğukpınar	81	27.5
14		Hamdilli	3	0.8
15		Dokuztekne	20	5.5
16		Sarımazı 1	16	4.3
17		Sarımazı 2	37	10.5
18		Kurtpınarı	43	12.8
19		Mercimek	98	87.8

Çizelge 4.1 (devamı)

	İl veya İlçe	Köyler	Hastalık Çıkışı (%)	Hastalık Şiddeti (%)
20	Düziçi	Düziçi Merkez 1	90	31.8
21		Gökçayır	65	23.0
22		Çotlu	96	45.3
23		Elbeyli	92	42.5
24		Bayındırlı	76	25.3
25		Böcekli	86	31.3
26		Bostanlar	53	18.3
27		Hacıbişler	65	20.8
28		Alibozlu	66	18.8
29		Gökçayır 2	73	24.3
30		Düziçi Merkez 2	32	8.3
31		Yazlamazlı	58	21.5
32		Oluklu	64	20.0
33	Hasanbeyli Merkez	Hasanbeyli 1	87	38.0
34		Hasanbeyli 2	96	52.0
35		Hasanbeyli 3	80	32.5
36		Hasanbeyli 4	29	7.8
37	Bahçe	Bahçe Merkez	94	45.8
38	Kadirli	Cıgıcık	99	59.0
39		Mezretli	62	18.3
40		Kadirli Merkez 1	96	43.5
41		Kadirli Merkez 2	66	22.8
42		Karakütük 1	54	21.0
43		Karakütük 2	96	53.5
44	Osmaniye Merkez	Osmaniye Merkez	93	42.0
45		Kazmaca 1	45	12.3
46		Kazmaca 2	37	9.5
47		Kırmacılı	41	10.8
48		Köyyeri	100	65.0
49	Toprakkale	Toprakkale 1	94	42.5
50		Toprakkale 2	100	51.5
51		Toprakkale 3	96	54.8
		Genel Ortalama	71	31.7

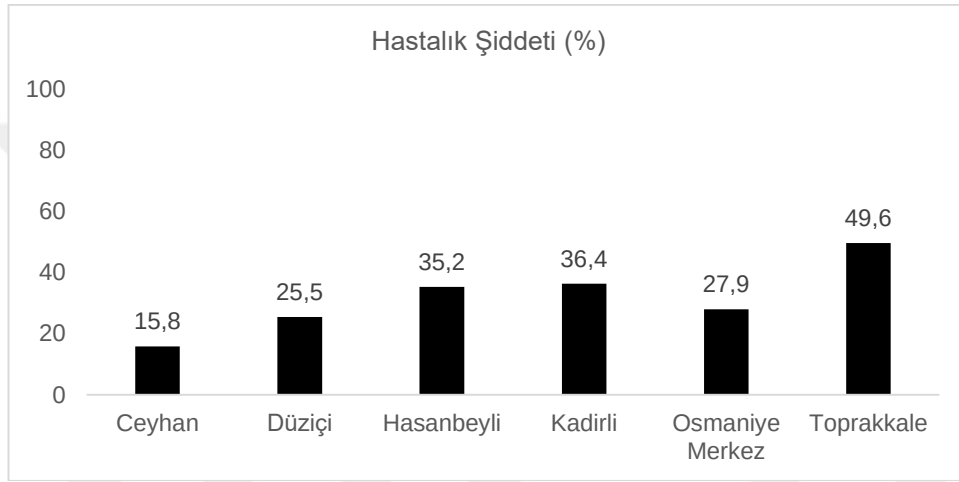


Şekil 4.1. Osmaniye ve çevresindeki ilçelerde buğday kök ve kökboğazı çürüklük hastalığının çıkışı (%)

Bundan başka tüm alanlardaki hastalık çıkışı ve hastalık şiddeti yüzdelerinin ortalaması alınarak bölgedeki durum ortaya konmuştur. Çizelge 4.1’de yer alan sonuçlar, incelenen tüm tarlalarda bu hastalığın bulunduğunu göstermektedir. En düşük hastalık çıkışı %3’lük oranla Ceyhan’ın Hamdilli Kasabası’nda, en yüksek çıkış ise %100’lük oran ile Osmaniye merkeze bağlı Köyyeri Mahallesi ve Toprakkale Merkez’de görülmüştür. Buna göre Osmaniye ve çevresindeki buğday ekim alanlarında hastalık yaygınlığının %100 olduğu bulunmuştur. Örnek alınan tüm tarlalardaki hastalık çıkışı yüzdelerinin ortalaması alınarak, 2018 yılında bölgedeki hastalık çıkışının %71 olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte ilçeler bazında en yüksek hastalık çıkışı %96.7’lik ortalama ile Toprakkale’de, en düşük hastalık çıkışı %39.5’lik ortalama ile Ceyhan’da gerçekleşmiştir (Şekil 4.1). Tüm ilçelerdeki minimum ve maksimum hastalık çıkışı yüzdeleri incelendiğinde; Ceyhan’da %3-98, Düziçi’nde %32-96, Hasanbeyli’de %29-96, Kadirli’de %54-99, Osmaniye Merkez’de %37-100 ve Toprakkale’de %94-100 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.1).

İncelenen bölgedeki hastalık şiddeti değerleri ele alındığında en düşük hastalık şiddeti Ceyhan’ın Hamdilli Beldesi’ndeki (%0.8), en yüksek hastalık şiddeti

ise Ceyhan'ın Mercimek Beldesi'ndeki bir tarlada (%87.8) gerçekleşmiştir (Çizelge 4.1). İlçelerdeki genel durum incelendiğinde ortalama hastalık şiddeti yüzdeleri en düşükten yükseğe doğru; Ceyhan (%15.8), Düziçi (%25.5), Hasanbeyli (%35.2), Kadirli (%36.4), Osmaniye Merkez (%27.9) ve Toprakkale'de (%49.6) hesaplanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Osmaniye ve çevresindeki ilçelerde buğday kök ve kökboğazı çürüklük hastalığının şiddeti (%)

Bunlara ek olarak tüm tarlalardaki hastalık şiddeti yüzdelerinin ortalaması alınarak, 2018 yılında bölgedeki hastalık şiddetinin %31.7 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Osmaniye ve çevresindeki kökboğazı çürüklüğünün çıkışı ve şiddetiyle ilgili oranlar birlikte incelendiğinde, hastalık çıkışı ile hastalık şiddeti yüzdeleri arasında doğrusal bir ilişki görülmüş, genelde hastalık çıkışının yüksek olduğu alanlarda hastalık şiddeti de yüksek bulunmuştur. Örneğin Ceyhan'daki ortalama hastalık çıkışı %39.5, ortalama hastalık şiddeti %15.8 iken, Toprakkale'de bu değerler sırasıyla %96.7 ve %49.6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).

Uçkun ve Yıldız (2004) İzmir, Aydın ve Denizli illerindeki 167 farklı buğday tarlasında yapmış oldukları incelemelerde, kök ve kökboğazı çürüklük hastalığına tüm alanlarda rastlamışlardır (%100). Bu alanlardaki hastalık çıkışı

ortalaması %58.3 ve hastalık şiddeti ortalaması %25.1 olarak bulunmuştur. Akgül ve Erkılıç (2007) Çukurova Bölgesi'nde yürüttükleri bir sorvey çalışmasında, buğday ekim alanlarının tamamında bu hastalığın varlığını saptamışlardır. Toplam 135 tarlada yapılan incelemeler, bölgedeki ortalama hastalık çıkışının %52.0, hastalık şiddetinin ise %10.8 olduğunu göstermiştir. Hekimhan ve Boyraz (2011) tarafından yapılan bir diğer çalışmada da Trakya Bölgesi Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerindeki buğday ekim alanlarının tamamında (%100) bu hastalığa rastlandığı bildirilmiştir. Ortalama değerler üzerinden Edirne'deki hastalık çıkışı %85, Tekirdağ'da %73 ve Kırklareli'nde %75 oranında bulunmuştur. Bu illerdeki hastalık şiddeti yüzdeleri ise sırasıyla %37, %29 ve %30 olarak hesaplanmıştır. Karadeniz (2014)'in bildirdiğine göre; Konya'nın Ereğli ilçesi civarındaki buğday ekim alanlarında, kök ve kökboğazı çürüklüğünün yaygınlığı, çıkışı ve hastalık şiddeti yüzdelerinin sırasıyla %100, %34.7 ve %13.3 olarak hesaplanmıştır. Osmaniye ve çevresindeki buğday ekim alanlarında elde ettiğimiz sonuçlar Ege, Trakya, Konya Ovası ve Çukurova Bölgesi'ndekilerle paralellik göstermektedir. Nitekim diğer bölgelerde olduğu gibi, Osmaniye ve çevresinde de buğday ekim alanlarında bu hastalığın yaygınlığı %100'dür. Ancak hastalık çıkışı ve hastalık şiddetinin Akgül ve Erkılıç (2007)'in saptadığı oranlardan yüksek olduğu görülmüştür. Bu olay monokültür buğday tarımının yapıldığı yerlerde hastalığın arttığına işaret etmektedir.

4.2. Hastalık Belirtisi Gösteren Bitkilerden İzole Edilen Funguslar

Tez çalışması ile incelenen 51 buğday tarlasındaki mikolojik izolasyonlarla, 7 farklı fungal cinse (*Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Microdochium*, *Rhizoctonia* ve *Septoriella*) bağlı 14 tür izole edilmiş, bu türlerin her bir tarladaki izole edilme oranları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Osmaniye ve çevresinde incelenen buğday ekim alanları ve bu alanlardan saptanan türlerin izole edilme oranları (%)

Köyler		<i>A. niger</i>	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. algeriense</i>	<i>F. brachygibbosum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. equiseti</i>	<i>F. incarnatum</i>	<i>F. nygamai</i>	<i>F. pseudograminearum</i>	<i>M. nivale</i>	<i>Rhizoctonia</i> sp.	<i>S. hirta</i>
30	1 Isırganlı	-	-	2,9	5,7	-	-	-	-	-	-	-	65,7	-	22,9
	2 Soysallı	-	-	-	5,7	2,8	-	-	-	-	-	-	34,3	5,7	42,9
	3 Başören	-	-	-	22,9	-	-	-	-	-	-	-	11,4	5,7	48,6
	4 Gümüşdere	-	-	-	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	2,8	94,3
	5 Sağkaya	-	-	-	11,4	-	-	-	2,8	-	-	-	14,3	54,3	8,6
	6 Soysallı	-	-	-	8,6	2,8	-	-	-	-	2,8	-	-	31,4	45,7
	7 Tumlu	-	-	-	-	-	5,7	2,8	-	-	2,8	-	20,0	28,6	28,6
	8 Tatlıkuyu	-	-	-	2,8	2,8	-	-	-	-	-	-	17,1	31,4	37,1
	9 Tatlıkuyu	-	-	-	2,8	-	-	-	8,5	-	-	-	14,3	40,0	25,7
	10 Kıvrıklı	-	-	-	-	5,7	-	-	5,7	-	-	-	8,5	28,5	34,3
	11 Azizli	-	-	-	8,5	2,8	-	-	-	-	-	-	5,7	20,0	57,1
	12 İmran	-	-	-	2,8	-	-	-	-	-	-	-	-	8,6	85,7
	13 Soğukpınar	-	-	-	11,4	-	-	-	-	-	-	-	2,8	-	91,4
	14 Hamdilli	-	-	2,8	5,7	-	-	-	14,3	-	-	-	8,7	40,0	2,8
	15 Dokuztekne	-	-	-	11,4	2,8	-	-	-	-	-	-	22,8	22,8	20,0
	16 Sarımaçı	-	-	-	28,6	-	-	-	5,7	-	-	-	8,5	17,1	22,8
	17 Sarımaçı	-	-	-	25,7	-	-	-	-	-	-	-	20,0	25,7	20,0
	18 Kurtpınarı	-	-	-	2,8	-	-	-	2,8	-	-	-	37,1	31,4	20,0

Çizelge 4.2 (devamı) Osmaniye ve çevresinde incelenen buğday ekim alanları ve bu alanlardan saptanan türlerin izole edilme oranları (%)

Köyler	<i>A. niger</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. algeriense</i>	<i>F. brachygybbosum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. equiseti</i>	<i>F. incarnatum</i>	<i>F. nygamai</i>	<i>F. pseudograminearum</i>	<i>M. nivale</i>	<i>Rhizoctonia sp.</i>	<i>S. hirta</i>
19 Mercimek	-	-	-	2,8	-	-	20	-	-	-	-	5,7	-	71,4
20 Toprakkale 1	-	-	-	5,7	2,8	-	-	-	-	-	-	5,7	-	91,4
21 Toprakkale 2	-	-	-	14,3	-	-	-	-	-	-	-	11,4	8,5	65,7
22 Toprakkale 3	-	-	-	57,1	-	-	-	2,8	-	-	-	8,5	5,6	25,7
23 Osmaniye Mrk.	-	-	-	5,6	-	-	-	-	-	-	-	17,1	-	82,9
24 Kazmaca 1	-	-	-	2,8	-	-	-	2,8	-	20,0	-	11,4	22,8	14,3
25 Kazmaca 2	-	-	-	2,8	-	-	2,8	-	-	2,8	-	60,0	-	25,7
26 Kırmacılı	-	-	-	11,4	-	-	-	20,0	-	20,0	-	5,7	20,0	22,8
27 Köyyeri	-	-	-	-	-	-	-	2,8	-	-	-	2,8	5,6	94,2
28 Cıgıcık	-	-	-	8,5	-	-	-	-	-	-	-	11,4	-	94,2
29 Mezretli	-	-	2,8	8,6	-	-	-	-	-	-	-	31,4	14,2	40,0
30 Kadirli 1	-	-	-	8,5	-	-	-	-	-	-	-	5,7	8,5	80,0
31 Kadirli 2	5,7	-	-	8,5	-	-	2,8	-	-	-	-	28,5	11,4	20,0
32 Karakütük 1	5,7	-	-	11,4	-	-	5,7	-	-	-	-	28,5	28,5	5,7
33 Karakütük 2	-	-	-	20,0	-	-	-	5,7	-	8,5	-	28,5	17,1	5,7
34 Hasanbeyli 1	5,7	-	-	20,0	-	-	-	-	-	-	-	17,1	-	51,4
35 Hasanbeyli 2	-	5,7	-	2,8	-	-	-	-	-	-	-	11,4	5,7	65,7
36 Hasanbeyli 3	-	-	-	20,0	-	-	17,1	-	-	-	-	8,5	2,8	48,5

Çizelge 4.2 (devamı) Osmaniye ve çevresinde incelenen buğday ekim alanları ve bu alanlardan saptanan türlerin izole edilme oranları (%)

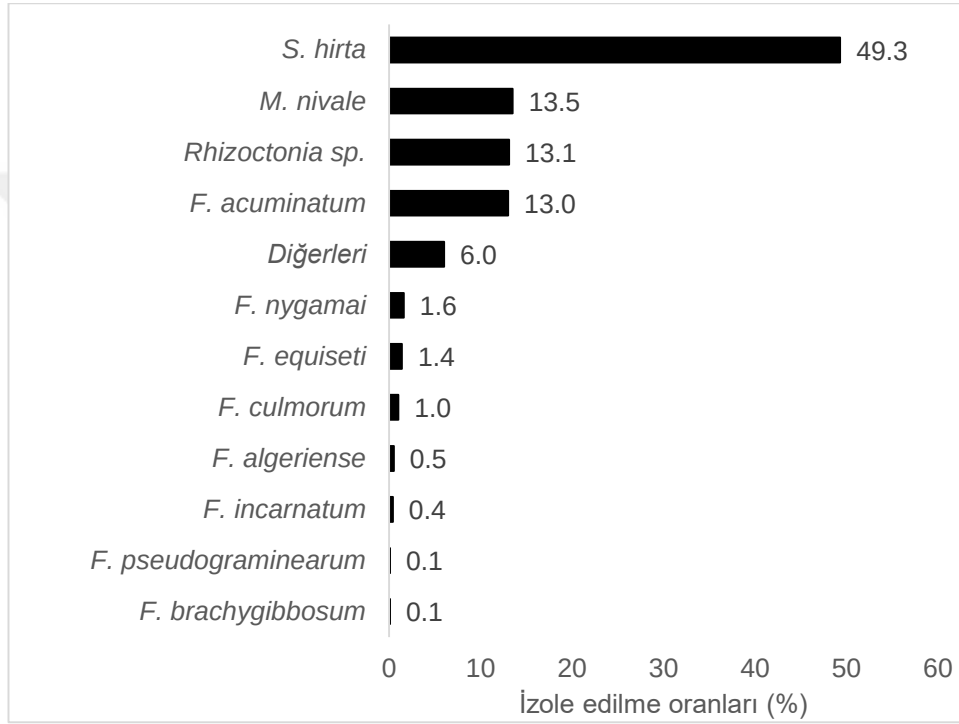
Köyler	<i>A. niger</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. algeriense</i>	<i>F. brachygibbosum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. equiseti</i>	<i>F. incarnatum</i>	<i>F. nygamai</i>	<i>F. pseudograminearum</i>	<i>M. nivale</i>	<i>Rhizoctonia sp.</i>	<i>S. hirta</i>
37 Hasanbeyli 4	-	-	-	5,7	-	-	-	-	22,9	-	-	2,8	11,4	48,5
38 Bahçe	-	-	-	11,4	-	-	-	-	-	-	-	-	2,8	85,7
39 Düziçi Mrk. 1	-	-	-	42,8	-	-	-	-	-	-	2,8	22,8	-	25,7
40 Gökçayır	-	-	-	5,7	-	-	-	-	-	8,5	-	8,5	-	68,5
41 Çotlu	-	-	-	20,0	-	-	-	-	-	-	-	8,6	14,3	48,5
42 Elbeyli	-	-	-	19,7	-	-	-	-	-	-	-	8,6	8,6	54,3
43 Bayındırlı	-	-	-	14,3	-	-	-	-	-	-	-	-	2,8	94,0
44 Böcekli	-	-	-	8,5	-	-	-	-	-	-	-	-	8,5	82,9
45 Bostanlar	-	-	-	8,5	-	-	-	-	-	8,5	-	11,4	5,7	62,9
46 Hacıbişler	-	-	-	31,4	-	-	-	-	-	5,7	-	-	5,7	65,7
47 Aliboşlu	-	-	-	14,3	-	-	-	-	-	-	-	2,8	8,6	85,7
48 Gökçayır 2	-	-	-	37,1	2,8	-	-	-	-	-	-	14,3	22,8	8,6
49 Düziçi Mrk. 2	-	-	-	5,7	-	-	-	-	-	-	-	17,1	11,4	60,0
50 Yazlamazlı	-	-	-	57,1	-	-	-	-	-	-	-	-	20,0	20,0
51 Oluklu	-	-	-	5,7	-	-	-	-	-	2,8	-	-	2,8	88,6

Çalışmanın amaçlarına paralel olarak *Fusarium* cinsi funguslar tür düzeyinde tanımlanmış, bu türlerin; *F. acuminatum*, *F. algeriense*, *F. brachygibbosum*, *F. culmorum*, *F. incarnatum*, *F. nygamai* ve *F. pseudograminearum* oldukları bulunmuştur. Bunlardan başka *Aspergillus niger*, *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Microdochium nivale* ve *Septoriella hirta* türleri, kök ve kökboğazından izole edilen diğer türlerdir. Bölgede bulunan *Fusarium* türleri arasında en yaygın türün *F. acuminatum* olduğu belirlenmiş, bu tür 51 tarlanın 48'inden izole edilmiştir (%94.1 yaygınlık oranı ile). Bunu takip eden diğer *Fusarium* türlerinin sırasıyla *F. equiseti* (%21.6), *F. nygamai* (%19.6), *F. algeriense* (%15.7) ve *F. brachygibbosum* (%1.9), *F. incarnatum* (%1.9) ve *F. pseudograminearum* (%1.9) olduğu belirlenmiştir. Tez çalışması kapsamında izole edilen önemli türlerden biri de *Microdochium nivale* olmuştur. Daha önceleri *Fusarium nivale* olarak isimlendirilen bu türün bölgede oldukça yaygın olduğu bulunmuş ve yaygınlık oranı %82.4 olarak hesaplanmıştır. Bir diğer yaygın tür ise *Septoriella hirta* olup çalışmanın yapıldığı bütün alanlardan izole edilmiştir (yaygınlık oranı %100).

Sörvey yapılan bölgedeki ortalama izole edilme oranları incelendiğinde, *Fusarium* cinsi fungusların %0.1 ile %13 arasında değişen oranlarda payı bulunduğu ortaya konmuştur. Bu türlerden *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. nygamai* ve *F. acuminatum*'un izole edilen tüm türler içerisindeki payının %1'den fazla, diğer *Fusarium* türlerinin (*F. algeriense*, *F. incarnatum*, *F. pseudograminearum*, *F. brachygibbosum*) ise %1'den az olduğu tespit edilmiştir. *Rhizoctonia* sp., *Microdochium nivale* ve *Septoriella hirta*'nın payları ise sırasıyla %13.1, %13.5 ve %49.3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.3).

Liddel (2003)'in bildirdiğine göre Buğday Başak Yanıklığı ile Sap Çürüklüğü Hastalıkları'na neden olan *Fusarium* türleri arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Çoğunlukla *Fusarium graminearum*, *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* türleri başak yanıklığına neden olsa da bunlar aynı zamanda kök ve kökboğazı çürüklüğüne de neden olurlar. Bu türlerin yanında *F. crookwellense*, *F.*

equiseti, *F. scirpi*, *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. tricinctum*, *F. sporotrichioides* ve *Microdochium nivale*'nin de kök ve kökboğazı çürüklüğünde payı bulunmaktadır. Çalışmada elde ettiğimiz *Fusarium* türlerinin çoğu Liddell (2003)'in bulgularıyla paraleldir.



Şekil 4.3. Osmaniye ve çevresindeki buğday ekim alanlarından izole edilen funguslar ve bölge genelindeki izole edilme oranları (%)

Bentley ve ark., (2006) Trakya, Marmara, Batı Karadeniz ve İç Anadolu'da yapmış oldukları bir sörvey çalışmasında 15 farklı *Fusarium* türünü (*F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. acuminatum*, *F. armeniacum*, *F. culmorum*, *F. torulasum*, *F. avenaceum*, *F. proliferatum*, *F. reticulatum*, *F. compactum*, *F. pseudograminearum*, *F. crookwellense*, *F. solani*, *F. polyphialidicum*) klasik tanı ile ortaya koymuşlardır. Bu türlerden *F. culmorum* ve *F. pseudograminearum* haricindekileri saprofit olarak nitelendirmişler, çalışmanın yapıldığı yıl için buğday sap çürüklüğünün o bölgelerde

ciddi bir tehdit olmadığını belirtmişlerdir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda *F. algeriense*, *F. brachygibbosum*, *F. incarnatum* ve *F. nygamai* türlerinin de buğdayda kökboğazı çürüklüğüyle ilişkili oldukları belirtilmektedir. Ünal ve ark., (2017) İç Anadolu Bölgesi buğday ekim alanlarında yaptıkları sörvey çalışmasında *Fusarium acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. brachygibbosum*, *F. cerealis*, *F. chlamyosporum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. incarnatum*, *F. lacertarum*, *F. longipes*, *F. nivale* (*Microdochium nivale*), *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. redolens*, *F. solani*, *F. sporotrichioides* ve *F. tricinctum* türlerini izole etmişler ve değişen oranlarda bunların patojen olduklarını belirlemişlerdir. Xu ve ark., (2018) Çin'in kuzeyindeki 104 farklı buğday ekim alanından izole ettikleri patojenlerden en yaygın olanların *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium pseudograminearum*, *Rhizoctonia cerealis* ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* türü funguslar olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmadaki farklı bölgelerin *Fusarium* türü profillerine göre; iki bölgedeki baskın türün *F. pseudograminearum* olduğu bulunurken diğer iki bölgedeki türlerin ağırlıklı olarak *F. culmorum* ve *F. acuminatum* türleri olduğu saptanmıştır. Bu çalışmadaki bulguların aksine Osmaniye ve çevresinde *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum* düşük oranda izole edilmiştir. Ancak *F. acuminatum*'un bölgedeki tarlaların %94.1'inden izole edilmesi Xu ve arkadaşlarının sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Tez çalışmasıyla izole edilen yaygın ve ilginç türlerden biri de *Septoriella hirta* olmuştur. Sprague (1950) bu türü buğday ekim alanlarında yaygın, ekonomik yönden önemli, sekonder bir patojen olarak nitelendirmiştir. Özellikle yağmurlu ve rüzgarlı geçen buğday üretim sezonlarında *S. hirta* infeksiyonlarının bitkileri predispozisyona soktuğu, erken çökmeye ve dane kalitesinde azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Johnston ve ark., 2014). Çalışmanın yapıldığı 2018 yılında, Osmaniye ve çevresindeki yüksek yağış miktarı da bu fungusun oldukça sık izole edilmesini (%49.3) desteklemektedir.

4.3. *Fusarium* Türlerinin Klasik ve Moleküler Tanısı

Fusarium türlerinin ve diğer olası patojenik fungus türlerinin klasik yöntemlerle tanısı, moleküler tanı yöntemleriyle eş zamanlı olarak yürütülmüştür. *Fusarium* türleri tanılanırken Booth (1971), Nelson ve ark., (1983), Seifert (1996) ve Leslie ve Summerell (2006)'den yararlanılmıştır. Çalışmadan elde edilen türlerin öne çıkan bazı morfolojik özellikleri aşağıda detaylandırılmıştır.

Fusarium acuminatum Ellis & Everhart; PDA üzerinde yoğun, sık dokulu ve yavaş gelişen bir miselyum yapısına sahiptir. Besi yerinde 25°C sıcaklık ve 15 günlük inkübasyonla ortalama koloni çapı 65 mm'ye ulaşmıştır. İnkübasyon koşullarındaki 12 saatlik gün ışığı kaynaklı aydınlatma ile koloni zemini koyu kırmızı (Şekil 4.4a), koloni üst yüzeyi ise kırmızımsı beyaz bir renk oluşturmuştur. Mikrokonidiler hafif kavisli, genelde bölmesiz, bazen 1-2 bölmelidir (Şekil 4.7a).

Fusarium algeriense Laraba & O'Donnell; PDA besisi yerinde 25°C sıcaklık ve 12 saat'lik aydınlık rejimiyle hızlı bir gelişim göstermiş ve 1 haftada Petri kabını tamamen kaplamıştır. Kolonilerin üstten görünümü kahverengimsi beyaz renkte, Petri kabının tersi yönünden ise kahverengimsi kırmızı bir renk almıştır (Şekil 4.4b). Klamidospor oluşumu gözlenmemiştir. Mikrokonidilerin yoğun, genelde bölmesiz, ovalimsi görünümde, makrokonidilerin ise ortalama 2-3 bölmeli olduğu (Şekil 4.7b) gözlenmiştir (Laraba ve ark., 2017).

Fusarium brachygibbosum Padwick; Yukarıda bahsedilen inkübasyon koşullarıyla koloni renginin üstten bakıldığında kremsi pembe, alttan ise kırmızımsı pembe renkte olduğu görülmüştür (Şekil 4.4c). Yoğun klamidospor oluşturan bu tür (Şekil 4.7c) besisi yerinde spor oluşturmamış, bu türün tanısı moleküler yöntemlerin sonuçlarına dayandırılmıştır.

Fusarium culmorum (W.G. Smith) Saccardo; Kalın ve kısa makrokonidi yapısıyla göze çarpmış ve makrokonidilerin 3-4 septalı olduğu görülmüştür (Şekil 4.7d). Mikrokonidiye rastlanmamıştır. PDA besisi yerinde yukarıda belirtilen koşullarda inkübe edilmesiyle 4-5 günde Petri kabını kaplamış, yoğun, kapağa temas

eden bir havai miselyum oluşturmuştur. Koloni rengi üstten kırmızımsı beyaz, alttan bakıldığında ise kırmızı renktedir (Şekil 4.4d).

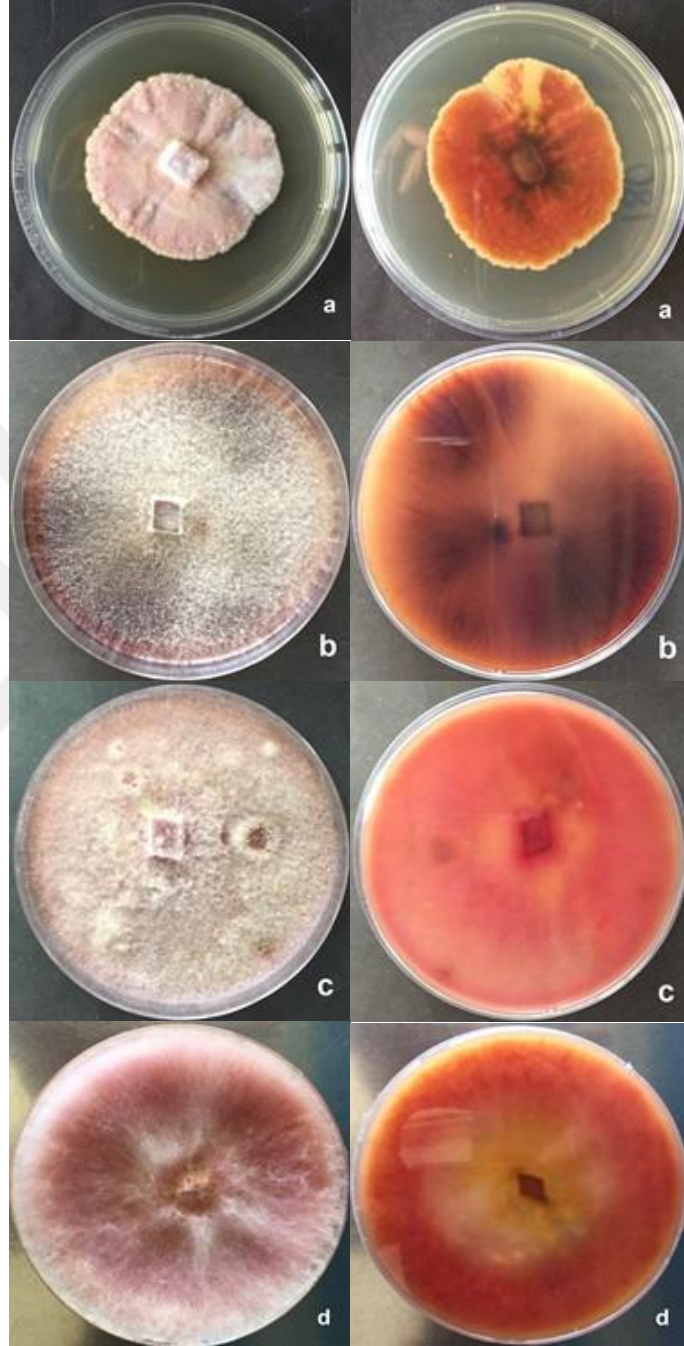
Fusarium equiseti (Corda) Saccardo; Bu tür PDA besi yerinde kremi beyaz (üstten görünüm), alttan bakıldığında ise krem rengi bir görünüme ulaşmıştır. Miselyum havai, dalgalı bir görünümde, koloni kenarları girintili-çıkıntılıdır (Şekil 4.4e). Mikrokonidi oluşumunun yoğun, apikal hücrenin ise kavisli olduğu görülmüştür (Şekil 4.7e).

Fusarium incarnatum Subraman. & Rao, J.; PDA besi yerinde havai gelişen, dalgalı ve tozlu bir görünüm oluşturmuştur (Şekil 4.4f). Miselyum 10 günde tüm petriyi kaplamıştır. Sporulasyonun oldukça yoğun olduğu, bol miktarda makro ve mikrokonidi ürettiği görülmüştür. Koloni rengi üstten beyazımsı krem, alttan ise kahverengimsi krem renktedir. Mikrokonidiler; genelde bölmesiz, ovalimsi, makrokonidiler; 2-3 bölmeli boğumlu bir görünümde (Şekil 4.7f).

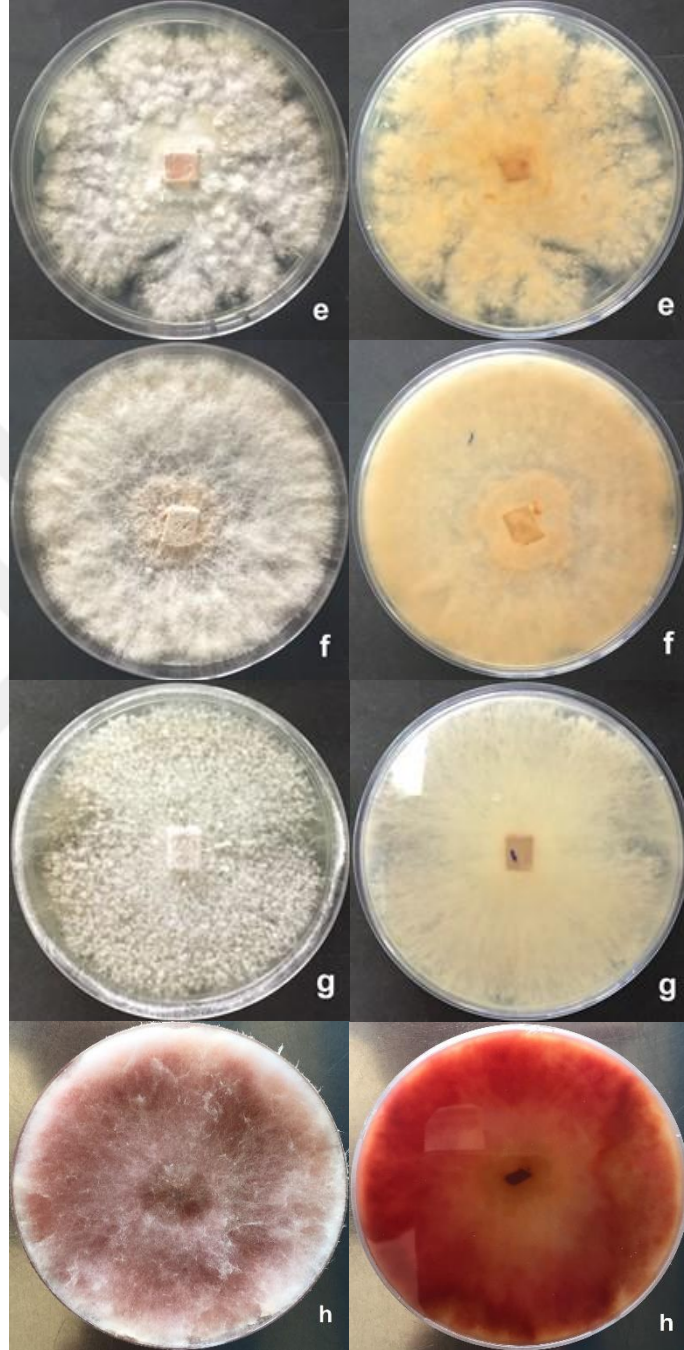
Fusarium nygamai L.W. Burgess & Trimboli; Miselyum gelişme hızı yüksek olup 7 günde tüm petri kabını kaplamaktadır. Kolonideki baskın renk genellikle beyaz, koloniye alttan bakıldığında beyazımsı krem renktedir (Şekil 4.4g). Mikrokonidiler bol miktarda üretilmekte olup genellikle 0-3 bölmelidir (Şekil 4.7g).

Fusarium pseudograminearum Aoki & O'Donell; PDA besi yerinde yoğun bir havai miselyum oluşturmuş, 25 °C sıcaklıkta petri kabını 5-6 günde kaplamıştır. Koloni rengi üstten bakıldığında beyazımsı kırmızı, alttan ise koyu kırmızı renktedir (Şekil 4.4h). Mikroskopik incelemelerde mikrokonidi gözlenmemiştir. Makrokonidiler uzun, ince ve 5-6 bölmelidir (Şekil 4.7h).

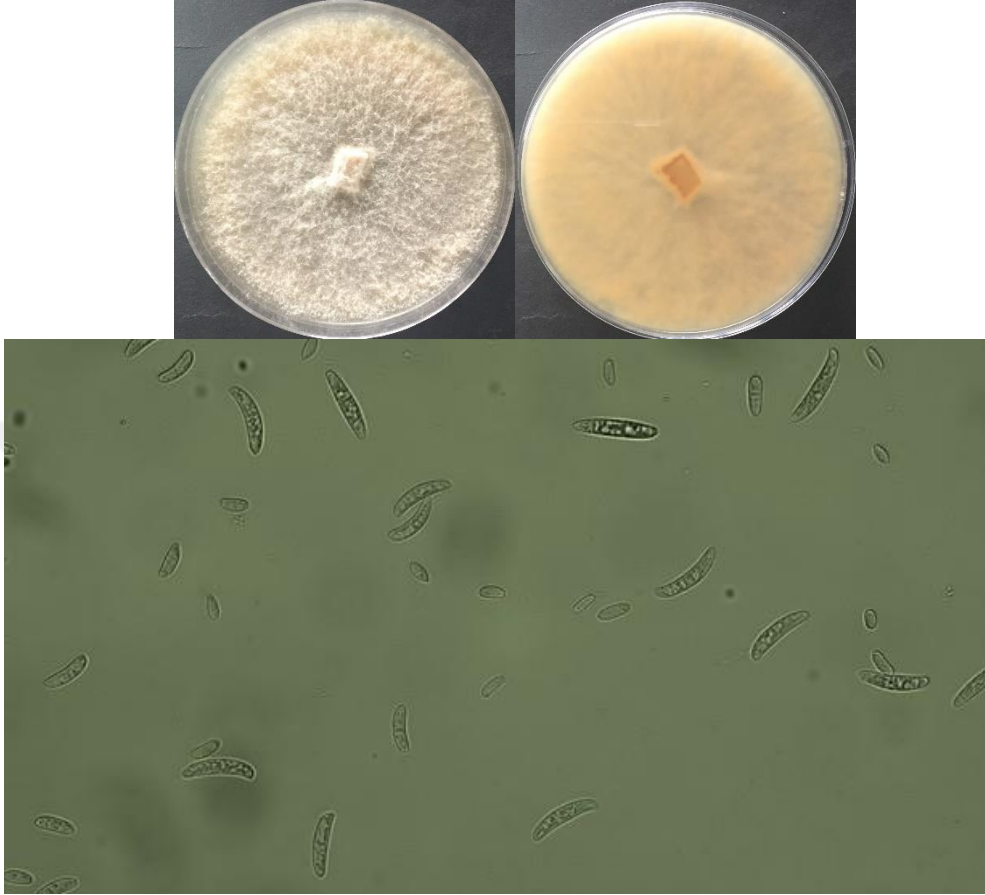
Microdochium nivale (Fr.) Samuels & I.C. Hallett; PDA besi yerinde sarımsı beyaz renkte havai miselyum oluşturmuştur. Koloninin tersten görünümü kremrengi sarıdır. Miselyumun kendine özgü bir örüntüsü mevcut olup yoğun havai bir gelişim gözlenmemiştir. Makrokonidiler hafif kavisli, uçları yuvarlak, mikrokonidiler ise bölmesizdir (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. *Fusarium* türlerinin PDA besi yerinde, 15 günlük inkübasyonu (25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık'ta) ile gelişen kültürleri; a) *F. acuminatum*, b) *F. algeriense*, c) *F. brachygibbosum*, d) *F. culmorum*

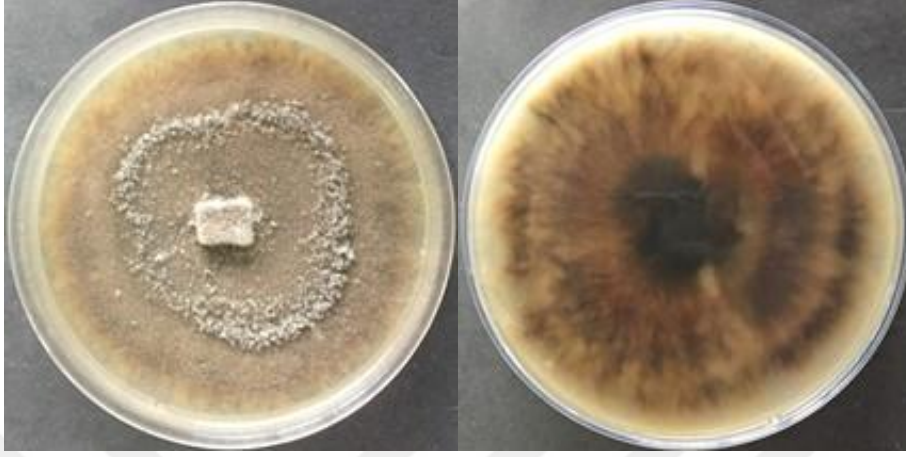


Şekil 4.4. (devam) *Fusarium* türlerinin PDA besi yerinde, 15 günlük inkübasyonu (25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık'ta) ile gelişen kültürleri; e) *F. equiseti*, f) *F. incarnatum*, g) *F. nygamai*, h) *F. pseudograminearum*

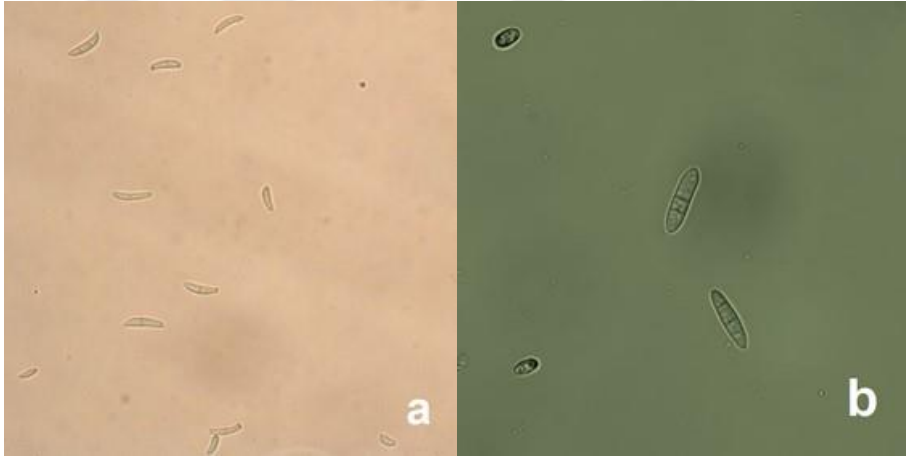


Şekil 4.5. *Microdochium nivale*'nin PDA besi yerinde, 15 günlük inkübasyonu (25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık'ta) ile gelişen kolonisi ve konidileri

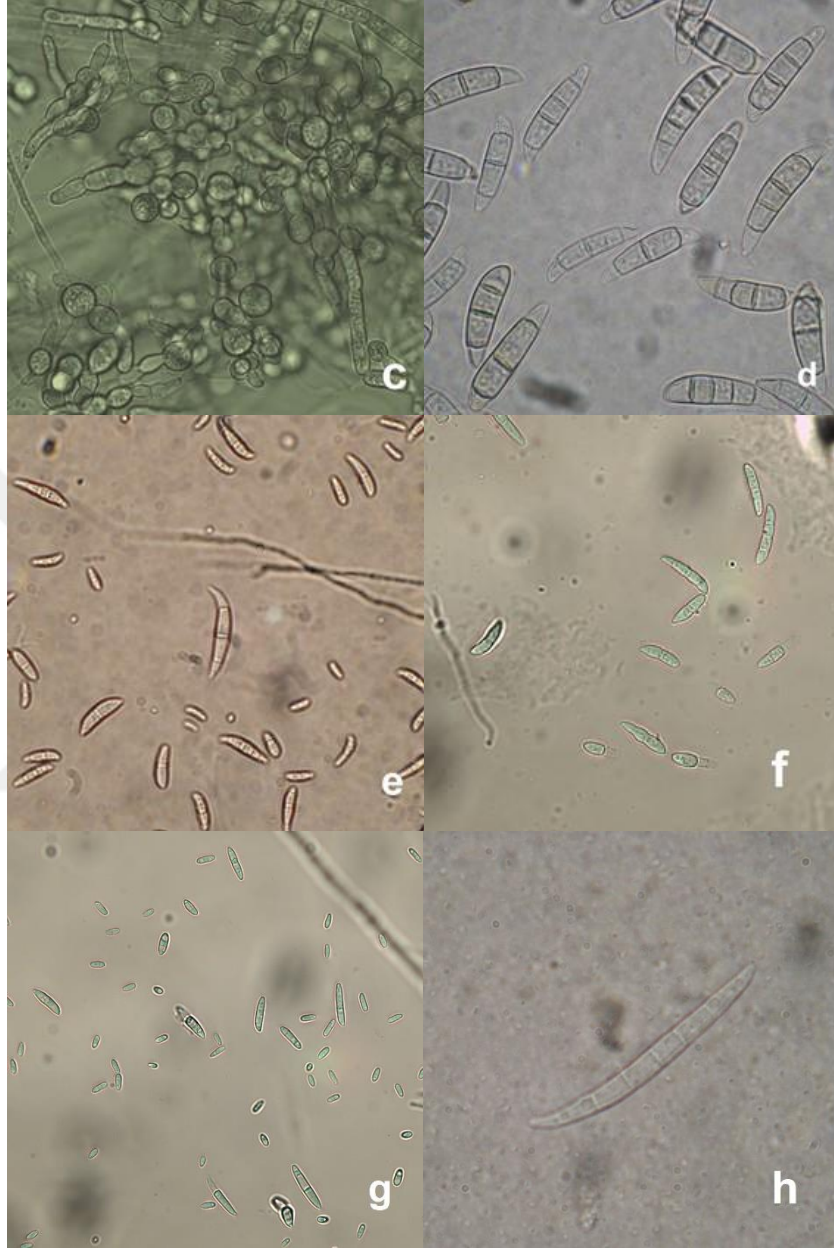
Septoriella hirta (Sacc.) M. Hern.-Restr. & Crous; PDA besi yerinde kahverengimsi yeşil renkte koloni oluşturmuştur. Miselyum, *Fusarium* türlerine oranla yüzeysel olup, petri kabının merkezinde dairesel bir havai miselyum meydana getirmektedir. Koloni büyüme hızı 25°C sıcaklıkta ve karanlık koşullarda 10 günde 90 mm'ye ulaşmıştır. Koloniye tersten bakıldığında miselyumun ışınal bir tarzda büyüdüğü görülmüştür (Şekil 4.6). PDA besi ortamında spor oluşumu meydana gelmemiş olup özel inkübasyon koşullarına gerek duymaktadır. Bu türün teşhisinde öncelikli olarak moleküler yöntemler ön plana çıkmıştır.



Şekil 4.6. *Septoriella hirta*'nın PDA besi yerinde, 15 günlük inkübasyonu (25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık'ta) ile gelişen kolonisi

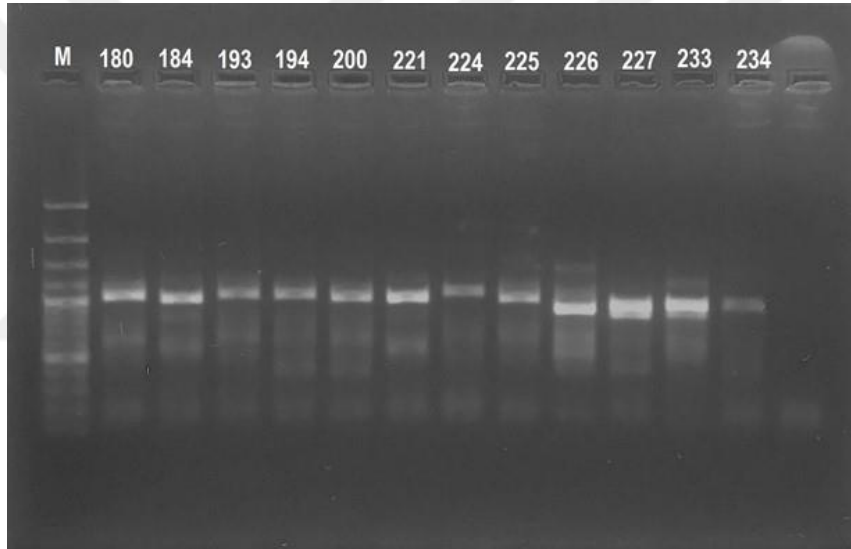


Şekil 4.7. Çalışmada tespit edilen *Fusarium* türlerinde makro-mikrokonidi ve klamidospor görüntüleri; a) *F. acuminatum*, b) *F. algeriense*,



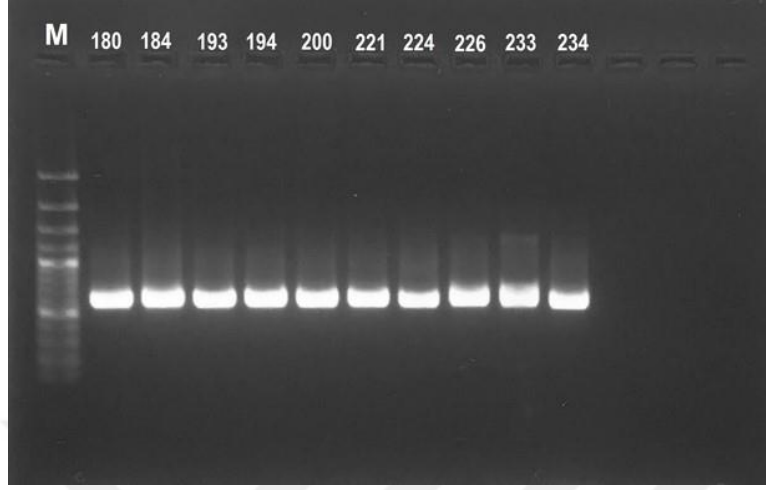
Şekil 4.7 (devam) Çalışmada tespit edilen *Fusarium* türlerinde makro-mikrokonidi ve klamidospor görüntüleri; c) *F. brachygibbosum*, d) *F. culmorum*, e) *F. equiseti*, f) *F. incarnatum*, g) *F. nygamai*, h) *F. pseudograminearum*

Fusarium türlerinin moleküler tanısında sadece elongation factor 1- α gen bölgesinden elde edilen sekanslar kullanılmış, ITS bölgesinin sekans analizleri yapılmamıştır. Birçok tür kompleksi ve kriptik türlerin var olduğu *Fusarium* cinsi funguslarda, ITS gen bölgesinin sekans analizi yalnız başına yeterli olmamakta ve net olmayan sonuçlar elde edilmektedir. Çalışmada, elongation factor 1- α gen bölgesi için EF1 - EF2 üniversal primer çiftiyle yapılan PCR ve agaroz jel elektroforezi ile yaklaşık 1000-1050 bp büyüklüğünde DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *Fusarium* türlerinin EF1-EF2 primer çifti ile elongation factor 1- α gen bölgesinin PCR'la çoğaltılmasıyla elde edilen DNA'ların elektroforetik ayrımı. M: Marker (Thermo Scientific, Gene Ruler; her bir bant 100 bp), 180,184: *F. acuminatum*, 193: *F. algeriense*, 200 ve 226: *F. brachygibbosum*, 194 ve 227: *F. nygamai*, 221: *F. incarnatum*, 224 ve 225: *F. equiseti*, 233: *F. culmorum*, 234: *F. pseudograminearum*

Daha sonra PCR ürünlerinin kalıp DNA olarak kullanılmasıyla yeniden PCR yapılmış, bu işlemde Fa+7 – Fa+6 primer çifti kullanılmış ve jel elektroforez işlemiyle yaklaşık 700 bp'lik DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4 9. Bazı *Fusarium* türlerinin Fa+7 – Ra+6 primer çifti ile elongation factor 1- α gen bölgesinin PCR’la çoğaltılmasıyla elde edilen DNA’ların elektroforetik ayrımı. M: Marker (Thermo Scientific, Gene Ruler; her bir bant 100 bp), 180,184: *F. acuminatum*, 193: *F. algeriense*, 194: *F. nygamai*, 200 ve 226: *F. brachygibbosum*, 221: *F. incarnatum*, 224: *F. equiseti*, 233: *F. culmorum*, 234: *F. pseudograminearum*

Bu işlemin ardından PCR ürünlerinin gen dizileme sonuçlarının alınmasıyla yapılan BLAST analizi ile türlerin tanısı tamamlanmış, NCBI gen bankasına kaydedilerek doğrulanmıştır (Çizelge 4.3).

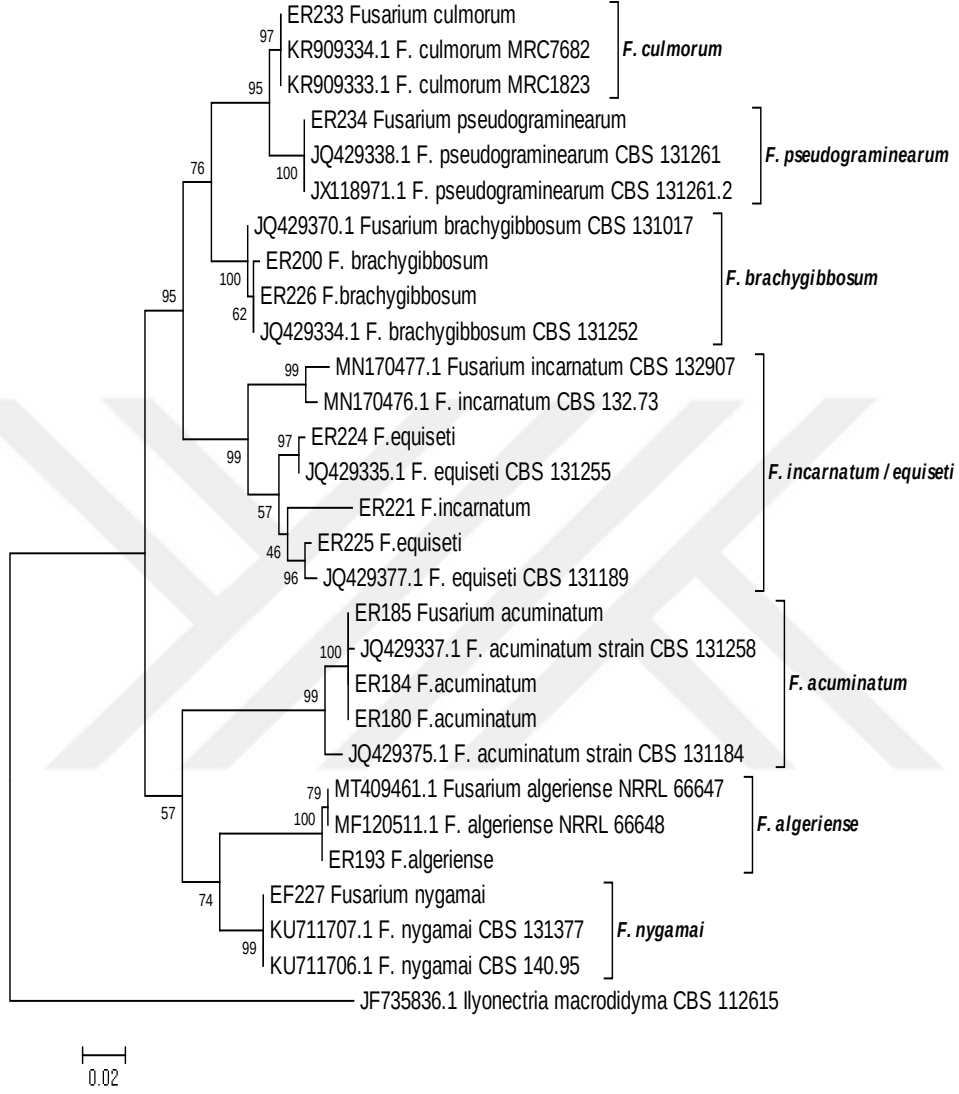
Çizelge 4.3 Çalışmadan elde edilen bazı izolatların NCBI Gen Bank kayıt numaraları

İzolat No	Fungal Türler	NCBI GenBank Kayıt No	
		ITS	EF-1α
ER180	<i>Fusarium acuminatum</i>	-	MT947695
ER184	<i>Fusarium acuminatum</i>	-	MT947696
ER185	<i>Fusarium acuminatum</i>	-	MT947697
ER193	<i>Fusarium algeriense</i>	-	MT947698
ER194	<i>Fusarium nygamai</i>	-	MT947699
ER200	<i>Fusarium brachygibbosum</i>	-	MT947700
ER221	<i>Fusarium incarnatum</i>	-	MT947701
ER224	<i>Fusarium equiseti</i>	-	MT947702
ER225	<i>Fusarium equiseti</i>	-	MT947703
ER226	<i>Fusarium brachygibbosum</i>	-	MT947704
ER227	<i>Fusarium nygamai</i>	-	MT947705
ER233	<i>Fusarium culmorum</i>	-	MT947706
ER234	<i>Fusarium pseudograminearum</i>	-	MT947707
ER237	<i>Microdochium nivale</i>	MT941442	-
ER239	<i>Microdochium nivale</i>	MT941443	-
ER240	<i>Microdochium nivale</i>	MT941444	-
ER205	<i>Septoriella hirta</i>	MT941438	-
ER206	<i>Septoriella hirta</i>	MT941439	-
ER211	<i>Septoriella hirta</i>	MT941440	-
ER214	<i>Septoriella hirta</i>	MT941441	-

Fusarium türlerinin tanısı ayrıca filogenetik olarak da doğrulanmıştır. MEGA 7 yazılımı ile çizilen soy ağacına göre 8 farklı *Fusarium* türü, gen bankasından alınan referans izolatlarla yakın akrabalık göstermiş ve bu türler ait oldukları yerlerde gruplanmışlardır (Şekil 4.10). Ancak *Fusarium incarnatum* ve *F. equiseti* türlerinin yer aldığı grupta bu türler birbirinden net olarak ayrılamamıştır. Örneğin ER221 numaralı *F. incarnatum* izolatı ER225 ve CBS131189 numaralı *F. equiseti* izolatları ile yakın akrabalık (bootstrap değerleri %70'ten düşük) göstermiştir. Bu durumda iki türün ayrımı için morfolojik tanı özelliklerine başvurulmuştur. *F. equiseti* PDA besi yerinde oluşturduğu dalgalı havai miselyumu ve ayak hücresi belirgin ve yoğun olmayan makrokonidileri ile *F. incarnatum* ise yoğun makrokonidi oluşumundan kaynaklanan tozlu görünümdeki havai miselyumu

ile ayırt edilebilmiştir. Bu olay, morfolojik tanının önemini ve her zaman için dikkate alınması gereken bir tanı özelliği olduğunu doğrulamıştır.

Lombard ve ark., (2019) *Fusarium* cinsi fungusların taksonomisinin oldukça karmaşıklığını ve bu cins içerisinde ayrımı zor olan bazı tür komplekslerinin (*F. oxysporum*, *F. incarnatum* / *equiseti*, *F. fujikuroi*, *F. sambucinum* ve *F. solani*) var olduğunu vurgulamışlardır. Tür kompleksi; içerisinde birbirine çok benzeyen türlerden ibaret bir grup olup, bu grubun içerisindeki tüm türleri temsil eden model bir tür bulunmaktadır. Çalışmamızda *F. incarnatum* ve *F. equiseti* türlerinin filogenetik ayrımındaki yetersizlik, bu iki türün aynı tür kompleksinde olmasından dolayıdır.

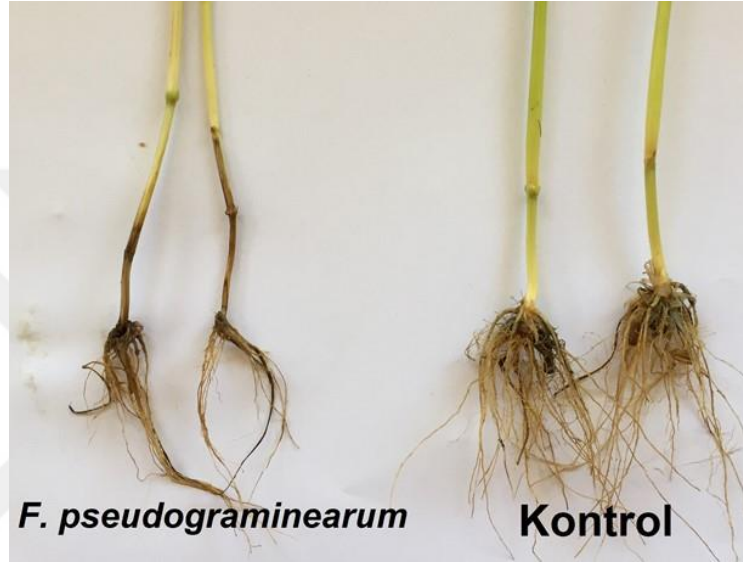


Şekil 4.10. *Fusarium* izolatlarında, translation elongation factor (*tef-1α*) gen bölgelerinin dizilenip hizalandıktan sonra elde edilen soy ağacı (MEGA 7 yazılımı ile maksimum benzerlik analizi, bootstrap değeri: 1000)

4.4. Patojenisite Testi Sonuçları

Tez çalışmasına konu olan *Fusarium* cinsi fungusların izolatları doğal koşullarda, 4.5 aylık bir süre sonunda, bitkilerde düşük ya da yüksek seviyede

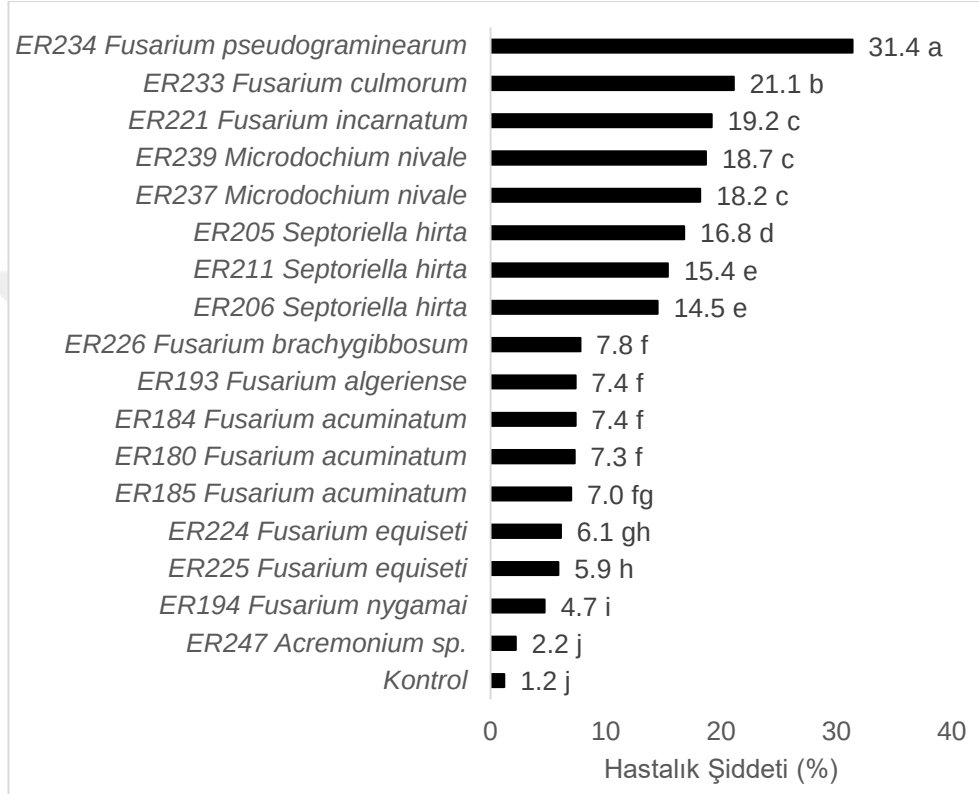
hastalık belirtileri meydana getirmişlerdir. Bu türler içerisinde virülensliği en yüksek olan üç türün *Fusarium pseudograminearum* (Şekil 4.11), *F. culmorum* ve *F. incarnatum* türleri olduğu tespit edilmiş bunlar sırasıyla %31.4, %21.1 ve %19.2'lik hastalık şiddeti oluşturmuşlardır (Şekil 4.12).



Şekil 4.11. Patojenisite denemesi ile *F. pseudograminearum* izolatının oluşturduğu kök ve kökboğazı yanıklığı (Çeşit: Adana-99)

Bu türleri müteakiben *Microdochium nivale* türü de bitkilerde yüksek şiddette hastalık oluşumuna yol açmış ve patojenisite testinde kullanılan iki izolatın hastalık şiddeti yüzdeleri; %18.2 ve %18.7 olarak hesaplanmıştır. Buğday ekim alanlarında sekonder patojen olarak nitelendirilen *Septoriella hirta*, patojenisite testinde orta şiddette (%14.5-16.8) hastalık oluşumuna yol açmıştır. Şekil 4.12'de görüleceği gibi diğer *Fusarium* türleri bitkilerde zayıf düzeyde (%4.7 ile %7.8 arasında değişen oranlarda) hastalık belirtisi meydana getirmişlerdir. Patojenisite denemesinin ardından yapılan re-izolasyonlarda, inokule edilen izolatlar %65-82 arasında değişen oranlarda yeniden izole edilmiş ve test sonlandırılmıştır. Bu teste dahil edilen türlerin istatistiksel açıdan farklı virülensliğe sahip olduğu görülmüştür.

Özellikle *Fusarium* türleri içerisindeki virülenslik, kullanılan izolata ve türe göre farklılık göstermiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.12. Çalışmada kullanılan izolatların Adana-99 çeşidi buğday bitkilerinde oluşturdukları hastalık şiddeti seviyeleri (%)

Bu olayda türlerin genetik ve buna bağlı olarak biyokimyasal özelliklerinin etkili olduğu düşünülmektedir. Yli-Mattila (2010) hububatta *Fusarium* türlerinin neden olduğu kök ve kökboğazı çürüklüğünde izolatlar tarafından üretilen mikotoksinlerin, önemli birer virülenslik faktörü olduğunu belirtmişlerdir. Trichotecene grubundaki mikotoksinler (doxynivalenole, nivalenol, zearalenone vb.) hem *Fusarium* türlerinin hastalık oluşturmada (ökaryotlardaki protein sentezini inhibe ederek) hem de gıda maddelerinin bozulmasında rol oynarlar (Van der Lee ve ark., 2015). İran'ın farklı bölgelerindeki buğday ekim alanlarında,

hastalık belirtisi gösteren bitkilerden yapılan izolasyonlarla, farklı *Fusarium* türleri ve bunların izolatlarındaki toksin profilleri ve bazı enzimlerin patojenisitedeki rolleri araştırılmıştır (Dehghanpour-Farashah ve ark., 2019). Bu araştırmanın sonuçlarına göre, tez çalışmasından elde ettiğimiz ortak türlerin (*F. acuminatum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. pseudograminearum*) virülenslikleri incelendiğinde, *F. acuminatum* ve *F. equiseti* türlerinin düşük, *F. culmorum* ve *F. pseudograminearum*'un ise yüksek şiddette hastalık oluşturdıkları görülmüştür. Şiddetli hastalık oluşturan türler *in vitro*'da hem yoğun miktarda mikotoksin hem de hücre duvarını yıkan enzimler üretmişlerdir. Buna karşın *F. acuminatum* ve *F. equiseti* türlerinin sadece poliketide-synthase enzimini üretme yeteneğinde oldukları anlaşılmıştır. Patojenisite testlerinde tür ve izolatlar arasındaki virülenslik farklarının bu olaylarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Laraba ve ark., (2017) *Fusarium algeriense*'nin taksonomik durumu ve virülensliğiyle ilgili yaptıkları bir çalışmada, bu türün *F. burgessii* tür kompleksi içerisinde yer aldığını, yeni bir toksigenik tür olduğunu saptamışlar ancak *F. culmorum*'a göre virülensliğinin düşük seviyede olduğunu bildirmişlerdir. Nitekim patojenisite testi sonuçlarımıza göre *F. algeriense* izolatı, bitkiler üzerinde düşük şiddette hastalık oluşumu meydana getirmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile Osmaniye ve çevresindeki buğday ekim alanlarında *Fusarium* Kök ve Kökboğazı Çürüklüğü'nün oldukça yaygın ve önemli bir problem olduğu anlaşılmıştır. Bölgedeki ortalama hastalık çıkışının %71 ve hastalık şiddetinin %31 oranında olması bu görüşü doğrulamaktadır. Daha önce Çukurova Bölgesi'nde yapılan benzer bir çalışmada bu oranların Çukurova Bölgesine göre oldukça yüksek olduğu söylenebilir. Osmaniye'ye bağlı Hasanbeyli, Bahçe ve Düziçi gibi bölgelerde ekili alanların büyük çoğunluğunun eğimli olması, sulama olanağının bulunmaması ve hububata alternatif diğer ürünlerin yaygın yetiştirilememesi gibi nedenlerin hastalık şiddetini arttırdığı düşünülebilir.

Sörvey yapılan alanlardan 8 farklı *Fusarium* türü izole edilmiş ve bunlardan bazı türlerin oldukça virulent oldukları belirlenmiştir. Literatür bilgilerine göre *Fusarium culmorum* ve *F. pseudograminearum* türlerinin oldukça virulent oldukları bilinmektedir. Ancak bu çalışmada *Fusarium incarnatum* türünün de yüksek düzeyde virulent olduğu anlaşılmıştır. Bu türün yaygın ve sporulasyonunun yüksek olması dikkat çekici bir husus olarak değerlendirilmektedir. Bundan dolayı buğdaylarda görülen bu hastalığa karşı yapılacak tohum ilacı ve benzeri uygulamalarda, *F. incarnatum* türünün de dikkate alınması önerilmektedir.

Tez çalışmasının bir bölümü olan *Fusarium* türlerinin tanısında moleküler biyoloji yöntemlerinin katkısı oldukça fazladır. Bu yöntemler özellikle sporulasyonu düşük olan türlerin hızlı tanısına büyük katkı sağlamaktadır. Ancak moleküler yöntemlerle yapılan teşhisin her zaman morfolojik yöntemlerle doğrulanması mutlaka gereklidir. Nitekim *Fusarium incarnatum* / *equiseti* tür kompleksinde yer alan *F. incarnatum* türünün tanısı, filogenetik analizlerde tam olarak netleştirilememiş ancak morfolojik ve mikroskopik özellikleri bu iki türün ayrımını kesin olarak ortaya koymuştur.

Bölgedeki semptomatik bitkilerden oldukça yaygın olarak izole edilen iki önemli fungus türünün *Septoriella hirta* ve *Microdochium nivale* oldukları

saptanmıştır. *S. hirta* daha çok predispozisyon halindeki bitkilerde sekonder patojen olarak nitelendirilmektedir. 2017-2018 buğday buğday üretim sezonunda gerçekleşen aşırı yağışlar sonucu Şubat ve Mart aylarında bir miktar gelişme gerilikleri ve bu alanlarda sararmalar gözlenmiştir. Topraktaki su fazlalığı ve köklerdeki oksijen yetersizliği gibi abiyotik nedenlerin *Septoriella hirta*'nın sekonder infeksiyonların yol açmış olabileceği düşünülmektedir. Nitekim bu türün bölge genelindeki ortalama izole edilme oranı %50'ye yakın seviyededir. Yine *Microdochium nivale*'deki yüksek izole edilme oranının da benzer nedenlerle gerçekleştiği söylenebilir.

Çalışma alanlarından izole edilen *Fusarium* türleri içerisinde, virülensliği düşük olan türlerin ağırlıkta olduğu görülmüştür. Ancak çalışma sonuçlarına göre hastalık şiddetinin birçok tarlada yüksek olması *Fusarium* türlerinin birbirlerine sinerjistik etki yaptığını akla getirmektedir. Bu olasılığı göz önünde bulundurarak daha sonra yapılacak benzer çalışmalarda (çeşit duyarlılığı, ilaç denemeleri vs.) birden fazla türün bir arada inokule edilmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak monokültür buğday ekiminin yaygın olarak yapıldığı alanlarda bu patojenlerle mücadelenin mutlak gerekli olduğu ve bunu yaparken de dayanıklı çeşitlerin tercih edilmesinin, tohumların etkili fungusitlerle ilaçlanmasının ve toprağa hasat artıklarının hızlı dekompozisyonunu teşvik edecek ilaveler yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdallah-Nekache, N., Laraba, I., Ducos, C., Barreau, C., Bouznad, Z., Bouregghda, 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* 154:499-512.
- Akgül, D.S. ve Erkılıç, A., 2016. Effect of wheat cultivars, fertilizers and fungicides on *Fusarium* foot rot disease of wheat. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 40, 101-108.
- Akgül, D.S. ve Erkılıç, A., 2007. Çukurova’da Buğday Kök ve Kökboğazı Çürüklüğünün Yaygınlığı ve Hastalıkta Rolü Olan *Fusarium* Türlerinin Saptanması. *Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, vol.22, pp.59-68.
- Backhouse, D., Abubakar, A.A., Burgess, L.W., Dennis, J.L., Holloway, G.J., Wildermuth, G.B., Wallwork, H., and Henry, F.J., 2004. Survey of *Fusarium* Species Associated with Crown Rot 85 of Wheat and Barley in Eastern Australia. *Australasian Plant Pathology*, 33(2) 255-261.
- Beddis, A., and Burgess, L.W., 1992. The Influence of Plant Water Stres on Infection and Colonization of Wheat Seedlings by *Fusarium graminearum* Group 1. *Phytopathology*, 82: 78-83.
- Bentley, A.R., Tunalı, B., Nicol, J.M., Burgess, L.W., Summerell, B.A., 2006. A survey of *Fusarium* species associated with wheat and grass stem bases in Northern Turkey. *Verlag Ferdinand Berger, Söhne Ges.m.b.h, Horn, Austria*, 163-177.
- Booth, C., 1971. The Genus *Fusarium*. Kew, England. Comonwealth Mycology Institute. 237p.
- Burgess, L. W., Backhouse, D., Summerell, B.A., and Swan, L.J., 2001. Crown Rot of Wheat. Pages: 271-294 in; *Fusarium* Paul E. Nelson Memorial Symposium. (B.A. Summerell, J.F. Leslie, D. Backhouse, W.L. Bryden, and L.W. Burgess, eds) American Phytopathological Society, St. Paul. MN.

- Burgess, L.W., Liddell, C.M., Summerell, B.A., 1988. Laboratory manual for *Fusarium* research. 2nd ed. University of Sydney, Australia, 156pp.
- Cook, R.J., 1968. *Fusarium* Root and Foot Rot of Cereals in the Pacific Northwest. *Phytopathology*, 58:1-126.
- Cook, R.J., 1970. Factors Affecting Saprophytic Colonization of Wheat Straw by *Fusarium roseum* f.sp. *cerealis* 'Culmorum'. *Phytopathology*, 60: 1672-1676.
- Cook, R.J., 1980. *Fusarium* Foot Rot of Wheat and Its Control in the Pacific Northwest. *Plant Disease*, 64: 1061-1066.
- Cook, R.J., 1986. Wheat Management Systems in the Pacific Northwest. *Plant Disease*, 70:894-898
- Çepni, E., Tunalı, B., Gürel, F., 2013. Genetic diversity and mating types of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* originating from different agro-ecological regions in Turkey. *Journal of Basic Microbiology* 53:686-694
- Darvishnia, M., 2013. Morphological and Phylogenetic Studies of *Fusarium* species in Iran. *Journal of Novel Applied Sciences* 2(4):1134-1142
- Dehghanpour-Farashah, S., Taheri, P., Falahati-Rastegar, M., 2019. Virulence factors of *Fusarium* spp., causing wheat crown and root rot in Iran. *Phytopathologia Mediterranea* 58(1): 115-125, 2019
- Erginbaş-Orakci, G., Poole, G., Nicol, J. M., Paulitz, T., Dababat, A. A., Campbell, K., 2016. Assessment of inoculation methods to identify resistance to *Fusarium* crown rot in wheat. *Journal of Plant Disease and Protection* 123:19-27.
- Gebremariam, E.S., Poudyal, D.S., Paulite, T.C., Orakçı, G.E., 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* 150:387-399.
- Geiser, D.M., Jimenez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, G.A., O'Donell, K., 2004. *Fusarium-ID* v.

- 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. European Journal of Plant Pathology 110, 473-479.
- Glass, N.L. and Donaldson, G.C., 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from the filamentous ascomycetes. Applied Environmental Microbiology, 61, 1323-1330.
- Gomez, K.A. and Gomez, A.A., 1984. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2nd ed. Wiley, New York. 680 pp.
- Hekimhan, H., Bağcı, S.A., Nicol, J., ve Tunalı, B., 2005. Kök ve K kboęazu   r kl ę  Hastalığı Etmenlerinin Bazı Kışlık Hububat Verimleri  zerine Etkileri. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi Bildirileri, Cilt:1, Sayfa: 201-206. 5-9 Eylül 2005 Antalya.
- Hekimhan, H., Boyraz, N., 2011. Trakya Bölgesi Buğday Ekiliş Alanlarında Fungal Kaynaklı Kök ve K kboęazu   r kl ę  Hastalıklarının Tespiti. Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi. 25 (3): (2011) 25-34
- Hill, J., Fernandez, J.A. and Mcshane, M.S., 1983. Fungi Associated with Common Root Rot of Winter Wheat in Coloroda and Wyoming. Plant Disease, 67:795-797
- Hsuan, H.M., Salleh, B., Zakaria, L., 2011. Molecular Identification of *Fusarium* Species in *Gibberella fujikuroi* Species Complex from Rice , Sugarcane and Maize from Peninsular Malaysia. International Journal of Molecular Sciences 12:6722-6732.
- Inglis, D.A. and Cook, R.J., 1986. Persistence of Chlamydospores of *Fusarium culmorum* in Wheat Field Soils of Eastern Washington. Phytopathology, 76: 1205-1208.
- Johnston, P.R., Seifert, K.A., Stone, J.K., Rossmann, A.Y., Marvanova, L., 2014. Recommendations on generic names competing for use in *Leotiomycetes* (*Ascomycota*). IMA Fungus 5: 91-120.

- Kang, R., Li, G., Zhang, P., Wang, L., Zhang, Y., Chen, L., Yuan, H., Ding, S., Li, H., 2019. Expression of *Fusarium pseudograminearum* FpNPS9 in wheat plant and its function in pathogenicity. *Current Genetios* <https://doi.org/10.1007/s00294019-01017-2>
- Karadeniz, İ., 2014. Konya Ereğli İlçesi ve Civarında Tahıllarda Kök ve Kökboğazı Çürüklüğünün Yaygınlığı ve Nedensel Etmenlerin Belirlenmesi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi. No: 4559
- Karlsson, I., Edel-Hermann, V., Gautheron, N., Durling, M.B., Kolseth, A.K., Steinberg, C., Persson, P. and Friberg, H., 2016. Genus-specific primers for study of *Fusarium* communities in field samples. *Applied and Environmental Microbiology* 82 (2): 491-501.
- Kee, Y.J., Zakaria, L. and Mohd, M.H., 2019. Morphology, phylogeny and pathogenicity of *Fusarium* species from *Sansevieria trifasciata* in Malaysia. *Plant Pathology*, 69: 442-454.
- Khaledi, N., Tahari, P., Rastegar, M., 2016. Identification, virulence factors characterization, pathogenicity and aggressiveness analysis of *Fusarium* spp., using wheat head blight in Iran. *European Journal of Plant Pathology* 147:817-918.
- Kikot, G., Moschini, R., Consob, V.F., Rojo, R., Salerno, G., Hours, R.A., Gasoni, L., Arambarri, A.M., Alconado, T.M., 2011. Occurrence of Different Species of *Fusarium* from Wheat in Relation to Disease Levels Predicted by a Weather-Based Model in Argentina Pampas Region. *Mycopathologia*: 171(2):139-140
- Klein, T.A., Liddell, C.M., Burgess, L.W. and Ellison, F.W., 1985. Glasshouse Test for Tolerance of Wheat to Crown Rot Caused by *Fusarium graminearum* Schwabe Group 1. Pages: 172-173 in: *Ecology and Management of Soil Borne Plant Pathogens*. C.A. Parker, A.D. Rovira, K.J. Moore, P.T.W. Wong and J.F. Kollmorgen, eds. APS Pres, St. Paul, M.N.

- 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.
- Leslie, F.J., Summerell A.B., 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, UK. P.388.
- Liddell, C.M., 1985. The Comparative Pathogenicity of *Fusarium graminearum* Group 1. *Fusarium culmorum* and *Fusarium crookwellense* as Crown, Foot and Root Rot Pathogens of Wheat. *Australasian Plant Pathology* 14:29-32.
- Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Cai, L. and Crous, P.W., 2019. Changing the game: resolving systematic issues in key *Fusarium* species complexes. *Persoonia*: 43: 1-2.
- Ma, Y.P. and Dai, S.L., 2009. Extraction from *Chrysanthemum* genome DNA high salt precipitation method CTAB. *Biotechnology Bulletin*, 7, 90-93.
- Manka, M., Visconti, A., Chelkowski, J., Bottalico, A., 1985. Pathogenicity of *Fusarium* Isolates from wheat, Rye and Triticale Towards Seedlings and their ability to produce trichothecenes and zearalenone. *Phytopathologische Zeitschrift Journal of Phytopathology*.
- Mihatu-Grimm, L., and Forster, R.L., 1989. Scab of Wheat and Barley in Southern Idaho and Evaluation of Seed Treatments for Eradication of *Fusarium* spp. *Plant Disease*, 86:143-150.
- Motallebi, P., Alkadri, D., Pisi, A., Nipoti, P., Tonti, S., Niknam, V., Hashemi, M., Prodi, A., 2015. Pathogenicity and mycotoxin chemotypes of Iranian *Fusarium culmorum* isolates on durum wheat, and comparisons with Italian and Syrian isolates. *Phytopathologia Mediterranea* 54(3):437-445
- Nelson, P.E., Tousson, T.A., and Marassas, W.F.O., 1983. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. 193 p. The Pennsylvania State University Press, University Park and London.

- Ortega, L.M., Dinolfo, M.I., Astoreca, A.L., Alberione, E.J., Stenglein, S.A., Alconada, T.M., 2016. Molecular and mycotoxin characterization of *Fusarium graminearum* isolates obtained from wheat at a single field in Argentina. *Mycological Progress* 15:1-8
- Pavlatova, L., Novotny, D., Hodek, J., Ovesna, J., 2011 Utilization of DNA microarrays for detection and identification of selected *Fusarium* species from the Czech Republic. *Czech Journal of Food Sciences* 29:93-101
- Purss, G.S., 1969. The Relationship Between Strains of *Fusarium graminearum* Causing Crown rot of Various Gramineous Hosts and Stalk Rot of Maize in Queensland. *Aust J. Agric. Res.* 20: 257-264.
- Rossi, V., Cervi, C., Chiusa, G., Languasco, L., 1995 Fungi Associated With Foot Rots on Winter Wheat in Northwest Italy *Journal of Phytopathology* 143:115-119.
- Sakr, N., 2017. Aggressiveness of four *Fusarium* head blight species on wheat cultivars. *Advances in Horticultural Science* 31(3):199-203
- Seifert, K., 1996. Fuskey, *Fusarium* Interactive Key, Electronic Production. pp:65, <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.htm>
- Smiley, R.W., and Patterson, L.M., 1996. Pathogenic Fungi Associated with *Fusarium* Foot Rot of Winter Wheat in the Semiarid Pacific Northwest. *Plant Disease*, 80:944-949.
- Sprague, R., 1950. Disease of cereals and grasses in North America. The Ronald Press Company, New York, USA.
- Strausbaugh, C.A., Bradley, C.A., Koehn, A.C., Forster, R.L., 2004. Survey of root diseases of wheat and barley in southeastern Idaho. *Canadian Journal of Plant Pathology* 26:167-176
- Tizaki, M.A., Sabbagh, S., K., 2012. Morphological and molecular identification of *Fusarium* head blight isolates from wheat in North of Iran. *Australian Journal of Crop Science* 6(9):1356-1361

- Townsend, G. R., Heuberger, J. V., 1943. Methods for Estimating Losses Caused by Diseases in Fungicide Experiments. *Plant Disease Report*. 24: 340–343.
- Tunalı, B., Nicol, J., Erel, F.Y., Altıparmak, G., 2006. Pathogenicity of Turkish crown and head scab isolates on steam bases on winter wheat under greenhouse conditions. *Plant Pathology Journal* 5(2):143-149.
- Tunalı, B., Obanor, F., Erginbaş, G., Westcott, R.A., Nicol, J., Chakraborty, S., 2012. Fitness of three *Fusarium* pathogens of wheat. *FEMS Microbiol Ecol* 81:596-609
- TÜİK, 2019. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Resmi İnternet Sitesi Verileri: <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim Tarihi: 19.09.2020)
- Ünal F., Dolar F.S., Tekiner, N., Yeğin, N.Z., 2017. Molecular identification, virulence and genetic diversity of *Fusarium* species on wheat. *Eurasian Journal of Agricultural Research*, 1 (2): 13-22.
- Uçkun, Z., Yıldız, M., 2004. Determination of root and crown rot diseases of wheat areas in İzmir, Aydın and Denizli provinces and the disease incidence. *Bitki Koruma Bülteni* 2004, 44 (1-4): 79-92.
- Van der Lee, T., Zhang, H., van Diepeningen, A., Waalwijk, C., 2015. Biogeography of *Fusarium graminearum* species complex and chemotypes: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A. Chem Anal Control Expo Risk Assess* 32: 453–460.
- Vogelgsang, S., Sulyok, M., Hecker, A., Jenny, E., Krska, R., Schuhmacher, R., Forrer, H.R., 2008. Toxigenicity and pathogenicity of *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum* on wheat. *European Journal of Plant Pathology* 122:265-276.
- Wang, C., Cheng, Y.H., 2017. Identification and trichothecene genotypes of *Fusarium graminearum* species complex from wheat in Taiwan. *Botanical Studies* 58:4-13.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA,

- Gelfand DH, Snisky JJ, White TJ, eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press, 315–322.
- Wiese, M.V., 1987. Compendium of Wheat Disease. 2nd ed. American Phytopathological Society, St. Paul MN. 53-55 pp.
- Wildermuth, G.B., Mcnamara, R.B., 1994. Testing Wheat Seedlings for Resistance to Crown Rot Caused by *Fusarium graminearum* Group 1. *Plant Disease* 78:949-953.
- Wildermuth, G.B., Mcnamara, R.B., and Quick, J.S., 2001. Crown Depth and Susceptibility to Crown Rot in Wheat. *Euphytica*, 122: 397-405.
- Xu, F., Yang G., Wang, J., Song, Y., Liu, L., Zhao, K., Li, Y. and 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, doi: 10.3389/fmicb.2018.01054.
- Yli-Mattila, T., 2010. Ecology and evolution of toxigenic *Fusarium* species in cereals in northern Europe and Asia. *Journal of Plant Pathology* 92: 7-18.
- Yörük, E., Turnalı, B., Kansu, B., Ölmez, F., Uz, G., Zümrüt, I. M., Sarıkaya, A., Meyva, G., 2016. Characterization of high-level deoxynivalenol producer *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* isolates caused head blight and crown rot diseases in Turkey. *Journal of Disease and Protection*, 123:177-186.

ÖZGEÇMİŞ

Özer ER, 1986 yılında Ceyhan’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Ceyhan’da tamamladı. 2010 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’nde lisans eğitimini tamamladı.

2011 yılında Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü (TİGEM) Tahirova Tarım İşletmesi Müdürlüğü’ne Ziraat Mühendisi olarak atanmış, burada Bitkisel Üretim Şube Şefi V. görevinde bulunmuştur. Haziran 2012’de Ceyhan Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü’nde Ziraat Mühendisi olarak ataması yapılmış, 2019 yılından itibaren aynı kurumda İlçe Müdürü olarak görevine devam etmektedir.