

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



**KAZAKİSTAN BUĞDAY EKİLİŞ ALANLARINDA SORUN
OLUŞTURAN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL ETMENLERİN
TANISI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUĞBA BOZOĞLU

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Göksel ÖZER

BOLU, TEMMUZ - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

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

Jüri Üyeleri

İmza

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

.....

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

.....

Üye
Prof. Dr. Harun BAYRAKTAR
Ankara Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Teze ilişkin 18/08/2023 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 29 olarak tespit edilmiştir.

.....
TUĞBA BOZOĞLU

ÖZET

KAZAKİSTAN BUĞDAY EKİLİŞ ALANLARINDA SORUN OLUŞTURAN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL ETMENLERİN TANISI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUĞBA BOZOĞLU

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BİTKİ KORUMA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. GÖKSEL ÖZER)

BOLU, TEMMUZ - 2023

XIII + 63

Buğday en yaygın tarımsal alana sahip tarımsal üründür. Toprak kökenli hastalıklar buğday üretimini tehdit eden abiyotik ve biyotik stres faktörleri içerisinde önemli bir grubu oluşturmaktadır. Bu tez kapsamında, 2019 yılı yetiştirme sezonunda Kazakistan'ın orta, doğu ve güneydoğu bölgelerindeki 65 farklı tarladan toprak altı dokularında hastalık belirtileri içeren bitki örnekleri toplanmıştır. Buğday kök ve taç çürüklüğü belirtisi gösteren bitkilerde etiyolojik çalışmalar yürütülerek patojenik fungal ajanlar belirlenmiştir. Yürütülen çalışmalarda toplamda 1221 fungal izolat elde edilmiştir. Klasik tanımlama çalışmaları gerçekleştirilen izolatların tür teşhislerin doğrulanması amacıyla internal transcribed spacer (ITS) ve translation elongation factor-1 alpha (*EF1-α*) lokuslarına dayalı DNA sekans analizleri gerçekleştirilmiştir. *Bipolaris sorokiniana* (%44,80) ve *Fusarium acuminatum* (%20,39) incelenen alanların sırasıyla %86,15 ve %66,15'inde izole edilen baskın fungal türler olarak bulunmuştur. Bu etmenleri *F. equiseti* (%10,16) ve *Curvularia spicifera* (%7,62) takip etmiştir. *Fusarium culmorum* (%4,75), *F. oxysporum* (%4,10), *F. redolens* (%2,38), *Rhizoctonia solani* AG2-1 (%1,06), *Nigrospora oryzae* (%0,98), *C. inaequalis* (%0,90), *F. pseudograminearum* (%0,74), *F. flocciferum* (%0,74), *Macrophomina phaseolina* (%0,66), *F. cf. incarnatum* (%0,33) ve *F. torulosum* (%0,16). Toplamda %0,25 'ini temsil eden üç *Fusarium* izolatı literatürdeki herhangi bir türle uyuşmamıştır. *Triticum aestivum* cv. Seri 82 ile 16 türü temsil eden 74 izolat ile patojenik karakterizasyonlar gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara göre *Fusarium culmorum* ve *F. pseudograminearum*, *Fusarium* sp., *B. sorokiniana*, *R. solani*, *F. redolens*, *C. spicifera*, *C. inaequalis* ve *N. oryzae*'nin virulent olduğu tespit edilmişken, diğer türlerin ise patojenik olmadığı bulunmuştur. Çalışma bulguları, Kazakistan'da buğdayda patojenik ve simbiyotik olarak buğday bitkisinin taç ve kök dokularına kolonize olan çok çeşitli fungal türlerin varlığını göstermiştir. Çalışma, *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *Fusarium* sp., *B. sorokiniana*, *C. spicifera* ve *C. inaequalis* Kazakistan'da buğday tarımında hastalık oluşturduğuna ait ilk rapordur.

ANAHTAR KELİMELELER: *Triticum* spp.; Buğday hastalıkları, Taç ve kök çürüklüğü; Patojenisite

ABSTRACT

DIAGNOSIS OF SOIL-BORNE FUNGAL AGENTS THAT CAUSE PROBLEMS IN KAZAKHSTAN WHEAT CULTIVATION AREAS

MSC THESIS

TUĞBA BOZOĞLU

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

(SUPERVISOR: PROF. DR. GÖKSEL ÖZER)

BOLU, JULY 2023

XIII + 63

Wheat is the most common agricultural product among cultivated crops. Soil-borne diseases constitute an important group among abiotic and biotic stress factors that threaten wheat production. Diseased plant samples containing symptoms in underground tissues were collected from 65 different fields in the central, eastern and southeastern regions of Kazakhstan in the 2019 growing season. Pathogenic fungal agents were determined by conducting etiological studies on plants showing symptoms of wheat root and crown rot. A total of 1221 fungal isolates were obtained in the studies carried out. DNA sequence analyses based on internal transcribed spacer (ITS) and translation elongation factor-1 alpha (*EF1-α*) loci were performed to confirm the species identification of the isolates for which classical identification studies were conducted. *Bipolaris sorokiniana* (44.80%) and *Fusarium acuminatum* (20.39%) were the dominant fungal species isolated in 86.15% and 66.15% of the studied areas, respectively. These species were followed by *F. equiseti* (10.16%) and *Curvularia spicifera* (7.62%), *Fusarium culmorum* (4.75%), *F. oxysporum* (4.10%), *F. redolens* (2.38%), *Rhizoctonia solani* AG2-1 (1.06%), *Nigrospora oryzae* (0.98%), *C. inaequalis* (0.90%), *F. pseudograminearum* (0.74%), *F. flocciferum* (0.74%), *Macrophomina phaseolina* (0.66%), *F. cf. incarnatum* (0.33%) and *F. torulosum* (0.16%). Three *Fusarium* isolates, representing 0.25% of the total, did not match with any known species in the literature. Pathogenic characterizations of 74 isolates representing 16 species were performed with *Triticum aestivum* cv. Seri 82. According to the results, *Fusarium culmorum* and *F. pseudograminearum*, *Fusarium* sp., *B. sorokiniana*, *R. solani*, *F. redolens*, *C. spicifera*, *C. inaequalis* and *N. oryzae* were found to be virulent. In contrast, other species were found to be non-pathogenic. The study findings showed the presence of a wide variety of fungal species that pathogenically and symbiotically colonize the crown and root tissues of wheat in Kazakhstan. The study is the first report of *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *Fusarium* sp., *B. sorokiniana*, *C. spicifera*, and *C. inaequalis* on wheat in Kazakhstan.

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. Buğday bitkisinde kök çürüklüğü ve taç çürüklüğü hastalığı hakkında bilgi.....	7
2.2. Toprak kökenli fungal etmenlerin hayatta kalması ve yaşam döngüsü.....	7
2.3. Hastalık Yönetimi.....	9
2.4. Buğdayın kök ve taç çürüklüğü ile ilgili araştırmaların tarihçesi ve gözden geçirilmesi.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1. Materyal.....	16
3.1.1. Hastalıklı Bitki Materyalinin Temini	16
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Fungal İzolasyon.....	17
3.3. Morfolojik Karakterizasyon.....	18
3.4. Moleküler Karakterizasyon	19
3.4.1. Fungusların Geliştirilmesi	19
3.4.2. DNA İzolasyonu	19
3.4.3. PCR Reaksiyonu.....	19
3.4.4. Agaroz Jel Elektroforezi	21
3.4.5. Veri analizleri	22

3.5. Patonejisite Testi.....	23
4. BULGULAR	25
4.1. Morfolojik Karakterizasyon.....	28
4.2. Moleküler Karakterizasyon	46
4.2.1.DNA İzolasyonu	46
4.2.2.Sekans verileri ve filogenetik ağaç oluşturulması	46
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
7. KAYNAKLAR.....	57



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. 2010-2021 yılları Kazakistan buğday ekim alanı, üretimi ve verim değerleri.....	2
Şekil 3.1. Kök ve kökboğazı semptomları gösteren bitkilerin toprak altı kısımlarının su altında bekletilmesi ve kurutulması.....	16
Şekil 3.2. Temmuz 2019’da farklı tarımsal coğrafi bölgeleri ve örneklem alanlarını gösteren Kazakistan haritası.....	17
Şekil 3.3. İzolasyonu gerçekleştirilen fungal izolatların morfolojik gelişimleri	18
Şekil 3.4. Çalışmadaki elde edilen ITS ve <i>EF1-α</i> bölgelerine ait DNA bantların eldesi.....	21
Şekil 3.5. Patojenisite testi	24
Şekil 4.1. <i>Fusarium culmorum</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi (c,d).....	29
Şekil 4.2. <i>Fusarium pseudograminearum</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi (c,d).....	30
Şekil 4.3. <i>Fusarium redolens</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi ve mikrokonidi (c,d)	31
Şekil 4.4. <i>Fusarium oxysporum</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi ve monofialitler üzerindeki mikrokonidileri (c,d)	32
Şekil 4.5. <i>Fusarium equiseti</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi (c,d).....	33
Şekil 4.6. <i>Fusarium torulosum</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi (c,d).....	34
Şekil 4.7. <i>Fusarium acuminatum</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi (c,d).....	35
Şekil 4.8. <i>Fusarium flocciferum</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi (c,d).....	36
Şekil 4.9. <i>Fusarium cf. incarnatum</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi (c,d)	37
Şekil 4.10. <i>Rhizoctonia solani</i> AG2-1 PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki misel oluşumu (c,d)	38
Şekil 4.11. <i>Nigrospora oryzae</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki konidiospor ve spor başlıkları (c,d).....	39
Şekil 4.12. <i>Macrophomina phaseolina</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki mikrosklerotileri (c,d)	40
Şekil 4.13. <i>Bipolaris sorokiniana</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki konidileri (c,d).....	41
Şekil 4.14. <i>Curvularia inaequalis</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki konidileri (c,d).....	42
Şekil 4.15. <i>Curvularia spicifera</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki konidileri (c,d).....	43
Şekil 4.16. <i>Fusarium kazakhstanicum</i> PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki phialidler, makrokonidi ve monofialitler üzerindeki mikrokonidileri (c,1)	44

- Şekil 4.17.** *Fusarium* izolatlarının *EF1-α* dizileri kullanılarak filogenetik ağacı. IQ-TREE kullanılarak maksimum olasılığa ve MrBayes kullanılarak Bayes çıkarımına (BI) dayalı filogenetik ağaç, *Fusarium* izolatlarının *EF1-α* dizileri kullanılarak. Her düğümde, önyükleme değerleri (solda) ve arka olasılıklar (sağda) bulunur. Bu çalışmada referans ve dış grup olarak kullanılan diziler vurgulanmıştır. 47
- Şekil 4.18.** Bu çalışmadan elde edilen izolatların ITS sekanslarının birleşik veri setine ve GenBank'ta bulunan türlerin referans sekanslarına dayanan filogenetik analizler, farklı türlere ait izolatlar %100 bootstrap desteği ile ayrılmıştır. 48



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılacak primerlere ait bilgiler	20
Tablo 4.1. Kazakistan'ın çeşitli coğrafi bölgelerinden elde edilen buğday tacı/kök çürüklüğü ile ilişkili izolat sayısı ve izolasyon sıklığı	26
Tablo 4.2. Kazakistan'ın incelenen bölgelerinde çeşitli tarlalarda buğday tacı/kök çürüklüğü ile ilişkili fungal türlerinin dağılımı ve fungal türlerinin tarla insidansı.....	27
Tablo 4.3. Çalışmada tanımlanan fungal türlerinin patojenisite değerleri	49

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

g	: Gram
ng	: Nanogram
µl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
l	: Litre
cm	: Santimetre
mM	: Milimol
°C	: Santigrat Derece
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
bp	: Baz Çifti
km	: Kilometre
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FAOSTAT	: Birleşmiş Milletler Gıda Ve Tarım Örgütü
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDA	: Patates Dekstroz Agar
SNA	: Spezieller Nährstoffarmer Agar
sp.	: Tür
spp.	: Türler
TBE	: Tris Borate EDTA
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
ITS	: Internal Transcribed Spacer
<i>EF1-α</i>	: Translation elongation factor 1-α
<i>RPB2</i>	: RNA polymerase II beta subunit
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
<i>Taq</i>	: <i>Thermus aquaticus</i>
CR	: Taç çürüklüğü
FHB	: Fusarium başak yanıklığı
CRR	: Yaygın kök çürüklüğü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübesini esirgemeyen, yakın ilgi ve büyük desteğini gördüğüm mesleğimde ilerlememi sağlayan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Göksel ÖZER'e bana kattığı tüm değerler için teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca bilgi paylaşımında bulunduğum ve her zaman desteklerini hissettiğim Yüksek Ziraat Mühendisi Mehtap ALKAN ve Rabia YAĞMUR ile tez yazım aşamasında yardımını hep hissettiğim Araş. Gör. Sezim ZHOLDOSHBKOVA ve değerli laboratuvar çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan ve eğitimimdeki en büyük destekçilerim olan sevgili aileme en içten teşekkürlerimi, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Bu araştırma, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Geliştirme Birimi (Proje No: 2021.10.06.1495), CRP-BUĞDAY ve CIMMYT tarafından finanse edilmiştir.

1. GİRİŞ

Buğday (*Triticum* spp.), gramineae familyasının en önemli üyesi olarak bilinen, insan beslenmesinde önemli bir yeri olan kültür bitkileri arasında üretim ve ekiliş alanı bakımından dünyada ilk sırada olup, özellikle gelişmekte olan ülkelerde temel bir besin kaynağıdır (FAOSTAT, 2023). Buğday yüksek adaptasyon yeteneğine sahip bir serin iklim tahılıdır. Buğday tanesi besin maddesi, saklama ve işlenmesindeki kolaylıklar sebebi ile birçok ülkenin temel gıdası durumundadır.

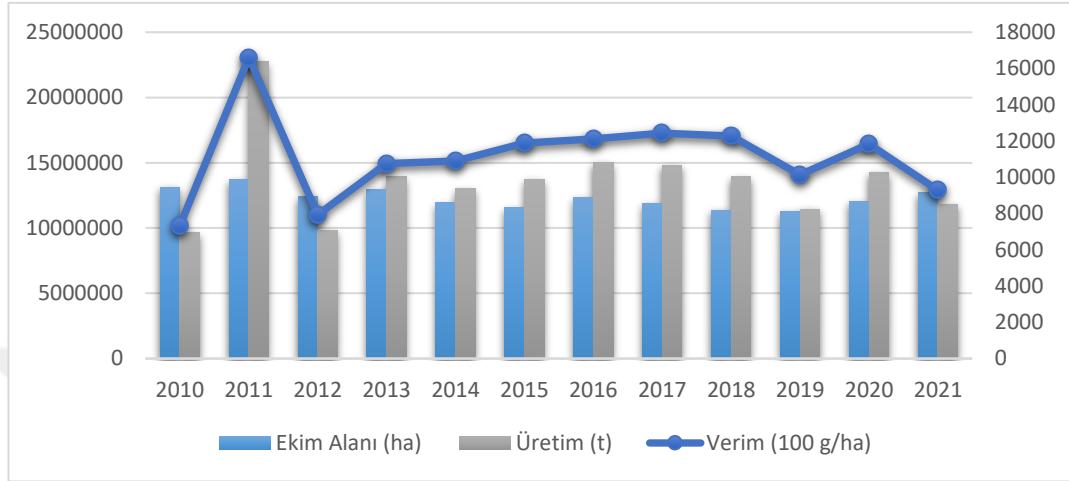
Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAOSTAT) 2021 yılı verilerine göre Çin, Hindistan, Amerika, Rusya, Avustralya, Kanada, Ukrayna, Türkiye ve Kazakistan gibi ülkeler buğday üretiminde dünyada önde gelen ülkeler arasında yer almaktadır. Buğdayın ekonomik önemi, üretim ve ticaretindeki büyüklüğünden kaynaklanmaktadır ve dünya genelinde ticaret hacmi yüksektir. Buğdayın fiyatı, dünya ekonomisinde önemli bir rol oynamaktadır ve tüketicilerin bu ürüne olan talebi, fiyat dalgalanmalarına yol açabilmektedir.

Buğdayın 10.000 yıldan daha fazla bir süre önce güneybatı Asya'da ortaya çıktığına ve Lübnan, Suriye, İsrail, Irak ve Türkiye'nin doğusunda hala yabani türlerin olduğuna inanılmaktadır (Sleper vd., 2006). Günümüzde dünya buğday üretiminin yaklaşık olarak %95'i ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), kalan %5'ini ise makarnalık buğday oluşturmaktadır (*T. turgidum* spp. *durum* (Desf) Husn.) (Shewry, 2009).

Orta Asya'da yer alan Kazakistan, Özbekistan, Kırgızistan, Tacikistan ve Türkmenistan'da buğday açık ara en önemli temel mahsuldür (Li vd., 2020). Kazakistan, 12,1 milyon hektarda üretilen 14,3 milyon tonluk buğday üretimi ile on dördüncü sırada yer almaktadır. Ancak biyotik ve abiyotik stres etkenleri nedeniyle Kazakistan'ın buğday verimi dünya ortalamasının çok gerisinde kalmaktadır (FAOSTAT, 2023). Bu nedenle, Kazakistan'ın ekili alanlarının %30'unu oluşturan buğdayın üretkenliği ve tane kalitesi ülkenin ekonomik kalkınma stratejileri için çok önemlidir (Li vd., 2020).

Dünya buğday üretim miktarı 2021 yılı toplam 221 milyon ha alanda 770 milyon ton üretim gerçekleştirilmiştir. 2021 yılında Kazakistan'da buğday bitkisinin yaklaşık 12,7 milyon ha ekiliş alanı, 11,81 milyon ton üretim ve 9,3 bin

t/ha verim olarak gerçekleşmiştir (Şekil 1.1). Son yıllarda Kazakistan'da buğday ekim alanlarının sürekli azalması, yağışlar, kuraklık gibi çevresel ve iklimsel faktörler buğdayın hem üretimini hem de ihracatını olumsuz etkilemektedir.



Şekil 1.1. 2010-2021 yılları Kazakistan buğday ekim alanı, üretimi ve verim değerleri

Dünya gıda üretimi, artan nüfusla birlikte dengede değildir. Bu duruma neden olan faktörler arasında kültür bitkilerinde üretimi ve verimi azaltan bitki hastalıkları önemli bir yer tutmaktadır. Ekinlerin yetiştirildiği her yerde tahıl hastalıkları görülmektedir. Buğday tarımını olumsuz yönde etkileyen ve önemli ürün kayıplarına neden olan birçok biyotik ve abiyotik faktör vardır. Bitkisel hastalıklar önlem alınmadığı takdirde, böcekler ve yabancı otların zararı ile her yıl dünya çapında bitkisel üretimde %31 ila 42'i arasında değişen kayıplara neden olmaktadır (Agrios, 2005). Kayıplar genellikle gelişmiş ülkelerde daha düşük ve gelişmekte olan ülkelerde ise daha yüksek olmaktadır.

Bitkinin normal olarak gelişip optimum verimi vermesi için sağlıklı bir kök sistemine sahip olması gerekmektedir. Kök ve kök boğazı hastalıkları elverişli koşullarda, bitkinin su ve besin iletim düzenini bozarak verimi etkilemektedir. Dünyada hububat ekim alanlarının hemen hemen hepsinde toprak kökenli patojenlerin neden olduğu hububat kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı görülebilmektedir. Bu hastalığa neden olan toprak kökenli fungus veya fungus benzeri patojenler tahıllarda verimi sınırlayan biyotik faktörlerin başında gelmektedir (Daamen vd., 1992). Dünyada tahıllarda kök ve kök boğazı ve taç

çürüklüğünün bölgelere ve hastalık etmenlerine bağlı olarak uygun koşullarda %50 veya daha fazla ürün kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Aktas vd., 1997; Cook, 1968; Hekimhan vd., 2004).

Taç çürüklüğü gibi toprak kaynaklı hastalıklar, özellikle tahıl bazı münavebelerin, marjinal yetiştirme koşullarının veya kültürel uygulamaların yaygın olduğu bölgelerde yaygın bir şekilde görülmektedir. Ekonomik önemlerine rağmen, bazı toprak kaynaklı hastalıklara çalışma zorluğu nedeniyle daha az dikkat edilmektedir (Wallwork, 2000). Tahıllar içerisinde toprak kaynaklı patojenler taç ve kök dokularını istila ederek besin ve su alımına müdahale olurlar ve ekonomik verim kayıplarına yol açmaktadır.

Biyotik hastalık etmenleri içerisinde tahıllar için en yaygın ve tahripkâr olanları fungal hastalık etmenleridir. Bu etmenlerden bazıları toprak altı kök ve taç çürüklüklerine, diğer bazıları ise toprak üstü aksamda hastalıklara neden olmaktadır. Buğdayın taç ve kök dokularına saldıran bir fungal kompleksi, dünyanın başlıca buğday üreten bölgelerinde ciddi bir soruna ve önemli verim düşüşlerine neden olmaktadır (Bockus vd., 2010; Gonzalez vd., 2000). Bu komplekste hâkim olan türlerin çoğu, kuru kışlık buğday üretim alanlarında yıllık ve bölgesel olarak değişebilse de tür kompleksinde birkaç fungal patojen rapor edilmiştir; *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker [teleomorf: *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur, syn. *Helminthosporium sativum* Pamm.], *Fusarium pseudograminearum* O'Donnell & T. Aoki (teleomorf: *Gibberella coronicola* T. Aoki & O'Donnell), *F. graminearum* Schwabe [teleomorf: *G. zae* (Schwein.) Petch], *F. culmorum* (W.G. Sm.) Sacc., *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. (teleomorf: *G. avenacea* R.J. Cook), *F. equiseti* (Corda) Sacc. (teleomorf: *G. intricans* Wollenw.), *F. oxysporum* Schltdl., *F. acuminatum* Ellis & Everh. (teleomorf: *G. acuminata* Wollenw.), *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett [syn. *F. nivale* (Fr.) Sorauer], *F. algeriense* Laraba & O'Donnell ve *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn [teleomorf: *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk] (Cook vd., 1991; Gonzalez vd., 2000; Hill, 1983; Laraba vd., 2017; Moya-Elizondo vd., 2011; Paulitz vd., 2002; Smiley, 2005; Smiley vd., 1996; Tunalı vd., 2008). Bu patojenler birer birer var olabilir; ancak genellikle aynı alanlarda ve hatta tek tek bitkilerde saptanabilmektedir (Paulitz vd., 2002).

Kazakistan genelinde biyotik stres faktörleri açısından yapılan çoğu rapor, tekrarlayan bir endişe kaynağı olan havadan bulaşan fungus kaynaklı yaprak

hastalıklarına odaklanmıştır. 2015-2018 yılları arasında Kazakistan'ın kuzey ve doğu bölgelerinde, biyotrofik fungal hastalık etmeni *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* tarafından neden olan buğday gövde pası (siyah pas) salgınları gözlemlenmiştir. Bu salgınlar yaklaşık bir milyon hektar buğdayı etkilemiş ve verimde önemli düşüşe, ayrıca düşük kalitede tahıl elde edilmesine neden olmuştur (Rsaliyev vd., 2018; 2020). Patojenin yayılışı Akmola ve Kostanay bölgelerinde ve ayrıca Doğu Kazakistan'da araştırılmıştır (Rsaliyev vd., 2020). Ayrıca, *Puccinia* cinsinin diğer yaygın temsilcisi *P. triticea*'nın (syn: *P. recondita* f. sp. *tritici*) Kuzey Kazakistan'ın Akmola bölgesindeki ilkbahar buğdayında 2000-2001 yıllarında gelişimi, ticari çeşitlerde %50-100 oranında yaprak pası (kahverengi pas) şiddetine neden olmuştur (Койшыбаев vd., 2018). Daha sonra, Kazakistan'ın güney ve güneydoğu bölgelerinden toplanan bir popülasyonda, çizgi pası veya sarı pasın nedeni olan *P. striiformis* f. sp. *tritici*'nin 46 patotipi belirlenmiştir (Kuttibayevich vd., 2019). Buğdayın verimini sınırlandıran hastalıklardan biri olan kahverengi lekeye neden olan patojen *Pyrenophora tritici-repentis*'in Kazakistan'da hızla yayıldığı bildirilmiştir (Kokhmetova vd., 2019). Ayrıca, Kuzey Kazakistan'dan toplanan 126 örnekte *P. tritici-repentis* izolatlarının yaygınlığı %43 olarak belirlenmiştir (Kokhmetova vd., 2017). *Cochliobolus sativus* tarafından (anamorf: *Bipolaris sorokiniana*) neden olan leke yanıklığı ve *Parastagonospora nodorum* tarafından (syn. *Septoria nodorum*, anamorf: *Stagonospora nodorum*) neden olan başak leke hastalığı (veya *Stagonospora nodorum* lekesi) de Kazakistan'da buğdayda önemli verim kayıplarına neden olan yaygın hastalıklar olarak bildirilmiştir (Gulyaeva vd., 2018; 2020). Ancak bu ifadeleri doğrulayan bilimsel bir rapor bulunamamıştır.

Bu bağlamda fungal hastalıklarının çoğu, gövde, yaprak ve çizgi paslar ile kahverengi leke, dünya genelinde buğday üretimine en ciddi tehditler arasındadır. Buğday üretim alanlarında kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan fungal etmenlerin yoğun ve karışık enfeksiyonlar şeklinde bulundukları tespit edilmiştir. Bu kompleks etmenler grubu, ülkeler arasında hatta bir ülkenin bölgeleri arasında farklılık gösterebilmektedir. Karışık enfeksiyonlar fungusların tek başına meydana getirdikleri enfeksiyonlara oranla çok daha şiddetli hastalıklara neden olabilmektedir. Bu durumda hastalık belirtilerine göre fungal patojenleri tanımlamak oldukça zordur. Bu nedenle hastalığa neden olan patojenlerin klasik yöntemler kullanılarak morfolojik özelliklerinin belirlenmesi ile moleküler

karakterizasyonlarının yapılması ve patojenitelerinin belirlenmesi gerekmektedir (Aktas vd., 1997).

Öte yandan, bilgilerimize göre, buğday kökü ve taç köküyle ilişkili fungal hastalık etmenleri ülkede hiç araştırılmamıştır. Bu tür hastalıklar için ilgili stratejilerin, yalnızca hava bitki kısımlarında fungal populasyonların varlığını sınırlamaya değil, aynı zamanda taç ve kök dokularındaki patojenlerin yanı sıra toprakta inokulum varlığını sınırlamaya odaklanması gerektiği anlamına gelir. Buğday tacı ve kök çürüklüğü salgınları için, tüm bu parametrelerin coğrafi ve zamansal değişkenliği ile fungal gelişiminin etkileşimi kritiktir. Hastalığın karmaşıklığının bir sonucu olarak, tahıl üreticileri ve bilim adamları yıllarca hastalığı yönetmek için mücadele etmektedirler (Pérez-Méndez vd., 2022). Hastalıkla mücadele etmek için, patojen biyolojisi ve popülasyonlarının yanı sıra hastalığın giderek artmasına neden olan epidemiyolojik faktörlerin tam olarak anlaşılması gerekir. Bu süreçteki ilk adım, özellikle bu veriler hastalık dağılım modellerinde gelecekteki değişiklikleri tahmin etmede faydalı olabileceğinden, bu fenomenle ilişkili buğday patojenlerinin dağılımı ve yaygınlığı hakkında veri toplamaktır.

Kazakistan'da buğdayın yer altı ve taç dokularındaki hastalıkların dağılımı ve sıklığı konusunda bilgi eksikliği vardır. Bu sebeple ülkenin Astana Eyaletinin çeşitli yerlerinden toplanan 500 buğday tohumu, bir agar plakası yöntemi kullanılarak mikoflora için analiz edilmiştir ve bir Petri kabı tahlilinde, *Nigrospora oryzae*'nin, buğdayın enfekteli hipokotillerinde lezyonlara neden olan bir tohum patojeni olduğu belirlenmiştir (Eken vd., 2016). Bu nedenle, ülkenin önemli buğday üretim alanlarında taç ve kök çürüklüğünden sorumlu fungal patojenlerin belirlenmesi ve belirlenen türlere ait izolatların duyarlı bir buğday çeşidi üzerinde patojenitelerinin test edilmesi amacıyla detaylı bir sörvey çalışması yapılmıştır.

Belirli bir konağa ait bitki patojenlerinin coğrafi dağılımının ve ciddiyetinin belirlenmesi, ileri araştırmalar için önemli bilgiler sağlayacak ve hastalık kontrol stratejilerini yönetme çabalarına bilgi sağlayacaktır. Kazakistan'da buğdayın yer altı ve taç dokularındaki hastalıkların yaygınlığı ve dağılımı hakkında bilgi mevcut değildir.

Bu nedenle, mevcut çalışmanın amacı: i) Kazakistan'ın ana buğday yetiştirme bölgelerinde buğdayın kök ve taç çürüklüğüne neden olan fungal

türlerinin, ITS ve *EF1-α* lokuslarının DNA dizilimi de dahil olmak üzere morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak belirlenmesi, ii) her bir türün dağılımını ve sıklığını belirlemek ve iii) buğday kökleri ve taçlarından elde edilen her bir fungal türün virölansını değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu çalışmada, ülkenin orta (Karağandı bölgesi), doğu (Doğu Kazakistan bölgesi) ve güneydoğu (Almatı bölgesi) bölgelerindeki ticari buğday tarlalarında taç ve kök çürüklüğü ile ilişkili patojen popülasyonlarının dağılımını değerlendirmek için detaylı bir anket çalışması yapılmıştır. Kazakistan'da geniş bir coğrafi aralıktaki çeşitli alanlardan patojen popülasyon dağılım verilerini gösteren ilk ayrıntılı sörvey çalışmasıdır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Buğday bitkisinde kök çürüklüğü ve taç çürüklüğü hastalığı hakkında bilgi

Buğday kök ve taç çürüklüğü hastalığı dünya çapında kuru tahıl üretiminin karşı karşıya olduğu önemli bir sorundur. Islak koşullar, taç çürüklüğüne neden olan toprak kökenli patojenler tarafından bitkilerin ilk enfeksiyonunu kolaylaştırır, ancak bitki olgunlaşmasına yakın kuru koşullar, bitkileri su stresine yatkın hale getirir ve ciddi hasara yol açmaktadır (Wallwork, 2000). Enfeksiyondan sonra, etkilenen bitkilerde su stresi, muhtemelen konukçu savunma mekanizmalarını bozarak kolonizasyon derecesini artırabilmektedir (Burgess vd., 2001).

Hastalık taç çürüklüğü, *Fusarium* taç çürüklüğü, kurak alan kök çürüklüğü, *Fusarium* kök çürüklüğü ve yaygın kök çürüklüğü gibi farklı yaygın isimlerle de bilinir (Paulitz vd., 2002). Taç çürümesine, aşağıdaki birçok fungal patojen kompleksi neden olur; *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. crookwellense* (Burg. Nels. ve Tous.), *M. nivale* ve *B. sorokiniana* (Aktaş vd., 1999; Bockus vd., 2010; Burgess vd., 2001; Cook, 1968; Fernandez vd., 2005; Paulitz vd., 2002; Smiley vd., 1996; Tunali vd., 2006). Bu patojenler tek başlarına ortaya çıkabilmektedir, ancak genellikle aynı tarlalarda ve hatta tek tek bitkilerde birlikte bulunurlar ve belirli bir yerde farklı patojenlerin baskınlığı yıldan yıla farklılık gösterebilmektedir (Smiley vd., 1996).

2.2. Toprak kökenli fungal etmenlerin hayatta kalması ve yaşam döngüsü

Fusarium taç çürüklüğüne (FCR) çok sayıda *Fusarium* türü neden olur, ancak FCR'ye neden olan türleri araştırmak için yapılan çeşitli araştırmalar, dünyanın birçok buğday yetiştirme bölgesinde en yaygın ve tahripkâr türlerin *F. culmorum* ve *F. pseudograminearum* olduğunu ortaya koymuştur. (Backhouse vd., 2004; Cook, 1981; Moya-Elizondo vd., 2011; Shikur Gebremariam vd., 2018; Smiley vd., 1996; Tunali vd., 2008). *Fusarium culmorum*, *F. pseudograminearum*'dan daha düşük sıcaklıkları tercih etse de kuru alanlardaki yaz sıcaklıkları her iki patojenin de yaygınlığını artırmaktadır. Bu türler sıklıkla enfekte bitkilerden izole edilmiştir, ancak çeşitli çalışmalarla FCR'nin karmaşık bir etiyolojisi gösterilmiştir (Backhouse vd., 2004; Fedel-Moen vd., 1987; Laraba

vd., 2017; Smiley vd., 1996).

Fusarium cinsinin üyeleri, askospor (eşeyli spor), konidia (eşeysiz spor) ve klamidospore üç tür spor üretebilir. *Fusarium* türlerinde sporlanma, eşeyli olarak perithecia'da oluşan askosporlar tarafından veya eşeysiz olarak sporodochia üzerinde oluşturulan konidiosporlar tarafından meydana gelebilir. *Fusarium culmorum* etmeninin sporlanması aseksüel olarak konidia tarafından gerçekleşmektedir (Cook, 1981a). Olumsuz koşullar altında konidia, fungusun kışı geçirmesine yardımcı olan dirençli sporlar olan klamidospore dönüşmektedir.

Fusarium taç çürüklüğü patojenleri, toprakta hif veya klamidospore olarak bitki artıkları ve organik madde üzerindeki olumsuz koşullarda hayatta kalmaktadır. Birkaç *Fusarium* türü, gövdeler, yapraklar ve çiçekler dahil olmak üzere farklı bitki kısımlarında kolonize olan havada taşınan konidia üretmektedir. *Fusarium pseudograminearum* ve *F. avenaceum* çoğunlukla bitki artıklarında miselyum olarak yaşamını sürdürmektedir (Cook, 1981b; Paulitz vd., 2002). *Fusarium culmorum*, bitki artıklarında miselyum olarak canlı kalır ve toprakta klamidospore olarak 2-4 yıl hayatta kalmaktadır (Bateman vd., 1998; Cook, 1980; Inglis vd., 1986). *Fusarium graminearum*, kışı konukçu dokuda özellikle buğday saplarında perithecia olarak geçirmektedir (Bockus vd., 2010). Alternatif konakçılar veya yabancı otlar, sezon dışı dönemde inokulum kaynağı olarak hizmet etmektedir (Postic vd., 2012). Inch vd., (2003) tarafından yapılan bir çalışmanın sonucu, yabancı otların birkaç *Fusarium* türünü barındırdığını ve Kanada, Manitoba'daki tahıl mahsullerinde *Fusarium* baş yanıklığına neden olduğunu göstermiştir.

Yaygın kök çürüklüğü (CRR) hastalığına neden olan sorumlu etmen *B. sorokiniana*, buğdayın kök patojeni olarak *Cochliobolus* anamorflarının en yaygın türüdür. *Bipolaris sorokiniana* alt yaprak kınlarında, taçta, taç altı internodlarda ve kök dokularında koyu renklenmelere neden olmasının yanı sıra benek lekesi, tohum siyah noktası, fide yanıklığı ve baş yanıklığına neden olur (Bakonyi vd., 1997). Buğdayda CRR'nin neden olduğu yıllık verim kayıplarının Kanada bozkırlarında %5,7 olduğu tahmin ediliyor ve duyarlı bir buğday çeşidi için Avustralya'da %13,9 ile %23,9 arasında değişmektedir (Ledingham vd., 1973; Wildermuth vd., 1992). Tahıllardaki CRR semptomlarının *Curvularia spicifera* (Bainier) Boedijn, *C. inaequalis* (Shear) Boedijn, *B. bicolor* (Mitra) Shoemaker

gibi farklı *Bipolaris* ve *Curvularia* türlerinin neden olduğu bilinmektedir (Bach vd., 2003; Gonzalez vd., 2000; Morejon vd., 2006).

Rhizoctonia spp. taç ve kök dokularına zarar verme nedeni ile daha az sıklıkla rapor edilmektedir. *Rhizoctonia* kök çürüklüğü hastalığı, *R. solani*'nin farklı anastomoz gruplarından (AG) kaynaklanır; Kanada, Türkiye ve ABD'de buğday bitkilerinin taç ve tohum köklerinde lezyonlara neden olan AG2-1, AG-3, AG-4, AG-5, AG-8 ve AG-11 izolatları olarak bulunmuştur (Broders vd., 2014; Jaaffar vd., 2016; Ogoshi vd., 1990; Ünal vd., 2015). Uzun vadeli tahıl monocrop üretiminde *Rhizoctonia* kök çürüklüğünün ciddiyetinde ve ihmal edilebilir seviyelere düşüşte bir azalma bulunmuştur (Lucas vd., 1993; MacNish, 1988; Yin vd., 2013).

2.3. Hastalık Yönetimi

Toprak kaynaklı hastalıkların yönetimi, tarımdaki en büyük zorluklardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Patojenin ve predispozisyona neden olan faktörlerin ekolojisine ilişkin bilgi ve anlayış, bir mahsulün potansiyel verimini düşürmeden toprak kaynaklı hastalıkların yönetimine yardımcı olmaktadır (Cook, 1980). Konukçu bitki direnci, kimyasal ve diğer agronomik uygulamaları içeren entegre yönetim uygulamaları, çoğu toprak kaynaklı hastalığın kontrolünde kullanılmaktadır. Taç çürüklüğü hastalığı insidansını azaltmak için kullanılan kontrol uygulamaları arasında yabancı otların ve konukçu bitkilerin kontrolü, ürün rotasyonu, bir dereceye kadar dirençli çeşitlerin kullanımı, istila edilmiş bitki kalıntısının parçalanması, sıg toprak kaynaklı aşılamaı önlemek için tohumlama, patojen içermeyen tohumların kullanımı, tohum muameleleri, gecikmiş ekim ve geç sezon su stresinden kaçınmak için uygun nitrojen uygulama oranlarının kullanılmasıdır (Bockus vd., 2010; Paulitz vd., 2002; Ray vd., 2010; Wallwork, 2000). Bununla birlikte, gecikmiş ekim ve optimize edilmiş nitrojen uygulaması, hastalığı yalnızca kısmen kontrol etmeye yardımcı olur (Cook, 1981b; Paulitz vd., 2002; Smiley vd., 1996). Kimyasallar kullanarak kök çürüklüğü patojenlerinin kontrolü bir seçenek değildir (Paulitz vd., 2002).

2.4. Buğdayın kök ve taç çürüklüğü ile ilgili araştırmaların tarihçesi ve gözden geçirilmesi

Buğdayda kök ve taç çürüklüğü ilk olarak 1951 yılında Avustralya'da

McKnight tarafından buğdayda kaydedilmiştir (Burgess vd., 2001). O zamandan beri hastalık Türkiye, Kuzey Afrika, Güney Afrika, Avustralya, ABD ve Kanada gibi dünyanın farklı bölgelerinden bildirilmektedir (Aktaş vd., 1999; Burgess vd., 2001; Fernandez vd., 2005; Nicol vd., 2001a; Saremi vd., 2007; Smiley vd., 1996). Farklı ülkelerde taç ve kök çürüklüğü ile ilgili araştırmalardan bazıları aşağıda özetlenmektedir.

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

Burgess vd. (1975) Avustralya'nın doğu buğday kuşağında, *Fusarium graminearum* bölgede buğdayın tepe çürüklüğü ile ilişkili baskın *Fusarium* cinsi olduğu bulunmuştur. Buğday sapı köklerinden birkaç *F. graminearum* izolatı elde edilmiş olmasına rağmen, izolatların çoğu *F. pseudograminearum* olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucu olarak, *F. graminearum*'un neden olduğu taç çürüklüğünün insidansı ve şiddetinin, bitkilerin nem stresinden etkilendiği alanlarda daha fazla olduğunu göstermiştir.

Smiley vd. (1996), 1993-1994 yılları arasında ABD'nin PNW eyaletinin Oregon ve Washington'daki 288 tarlada sörvey çalışması yapmışlardır. Elde edilen 19 türü temsil eden toplam 831 *Fusarium* izolatı ve benzer şekilde 19 türü temsil eden 487 *Fusarium* izolatı, sırasıyla 1993 ve 1994 yıllarında, buğday taçları ve alt taç boğumlarından elde edilmiştir. *Fusarium pseudograminearum* bölgedeki en baskın patojen olarak bulunmuş olup ve onu *F. culmorum* izlemiştir. *Fusarium avenaceum*'un 1993'te üçüncü en yaygın patojen olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, *Microdochium nivale* 1994'te en yaygın üçüncü türdür. *Bipolaris sorokiniana* ve *F. avenaceum* sırasıyla 1993 ve 1994 yıllarında en az görülen patojenlerdir. İzole edilen diğer *Fusarium* türleri, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. reticulatum*, *F. solani* ve *F. tricinctum* olarak belirlenmiştir.

Akinsanmi vd. (2004), buğday başak yanıklığı (FHB) ve kök boğazı çürüklüğü ile ilişkili *Fusarium* türlerini belirlemek için, 2001 yılında farklı ekim

geçmiş olan Güney Queensland ve Kuzey Yeni Güney Galler'deki buğday tarlalarından örnekler toplamışlardır. CR'nin daha yaygın olduğu tespit edilmiş, ancak FHB sadece Kuzey Yeni Güney Galler'de belirgin olup genellikle aynı tarlada CR ile birlikte meydana geldiği ortaya çıkmıştır. Farklı bitki parçalarından elde edilmiş mono konidial izolatlardan morfoloji ve türe özgü PCR testleri kullanılarak 20 farklı *Fusarium* türü tanımlanmıştır. *Fusarium pseudograminearum*'un tüm izolatların %48'ini oluşturduğu ve çoğunlukla kök boğazından elde edilmiş oldukları, *Fusarium graminearum*'un ise tüm izolatların %28'ini oluşturduğu ve başaktan elde edildiği tespit edilmiştir. Genel olarak, sap ve kök boğazından elde edilen izolatlar CR için daha agresif iken, bayrak yaprak boğumundan elde edilen izolatlar FHB için daha agresif bulunmuştur.

Backhouse vd. (2004), 1996 ve 1999 yılları arasında Doğu Avustralya Tahıl Kuşağı'ndan buğday ve arpa mahsullerinin taç çürüklüğü ile ilişkili *Fusarium* türlerini incelemiştir. *Fusarium pseudograminearum*, Queensland ve Yeni Güney Galler, Victoria ve Güney Avustralya'daki mahsullerden izole edilen en yaygın tür olarak belirlenmiştir. Victoria döneminin yüksek yağış alan (>500 mm) bölgesinden ve Güney Avustralya'nın Güneydoğu bölgesinden elde edilen izolatların %70'inden fazlası *F. culmorum* olarak bulunmuştur. *Fusarium culmorum*, Viktorya dönemi orta yağışlı (350-500 mm) bölgesindeki izolatların %18'ini ve Viktorya dönemi düşük yağışlı bölge ve Güney Avustralya'nın Orta-Kuzey bölgesindeki izolatların her birinden %7'sini oluşturuyordu. Daha az sıklıkla izole edilen diğer türler, *F. avenaceum*, *F. crookwellense* ve *F. graminearum* olarak belirlenmiştir.

Fernandez vd. (2005), Kanada Saskatchewan'da buğdayda *Fusarium* taç yanıklığından sorumlu olan *Fusarium* türlerinin çoğu, buğdayın internode yada taç bölgesinden izole edilmiştir. Bu nedenle, buğdayın taçlarının ve yer altı dokusunun duyarlılığını farklı kaynaklardan *Fusarium* türlerinin izolatlarıyla karşılaştırmak ilgi çekici olmaktadır. İlkbahar buğdayının başları, tohumları ve fideleri üzerinde kontrollü çevre patojenite testleri yapılmıştır. Genel olarak, *F. culmorum* ve *F. graminearum* en patojenik türlerdir, ancak *F. culmorum* daha patojenik bulunmuştur. *Fusarium equiseti* ve *F. poae* en az patojenik tür iken, *F. avenaceum* baş ve tohum testlerinde orta derecede patojeniteye sahipken fide testinde düşük patojeniteye sahiptir. Farklı kaynaklardan *Fusarium* türlerinin her birinin izolatları arasında başaklara ve yer altı bitki kısımlarına kadar benzer bir

patojenitesi vardır ve bu izolatların adaptasyon eksikliğini göstermektedir. Gözlemlerimiz, enfekteli tohum veya bitki artıkları üzerindeki veya içindeki *Fusarium* inokulumunun, toprak seviyesinde veya altındaki bitkileri enfekte edebileceğini ve bunun daha sonra sonraki mevsimlerde enfeksiyon için bir inokulum kaynağı haline gelebileceğini göstermektedir.

Smiley vd. (2005), çalışmasında, *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum*'un tohum çimlenmesi, bitki canlılığının azalması ve taç çürüklüğüne neden olma konusundaki agresifliklerini karşılaştırmak için araştırma yapmışlardır. İkisi sert kırmızı ilkbahar buğday çeşidi ve ikisi durum buğday çeşidi olmak üzere dört çeşide iki yıl boyunca üç türden her birinden beş izolat ile alan çalışması yapılarak, göreceli patojenisite durumları değerlendirilmiştir. Patojenisite testlerinde önemli farklılıklar tespit edilmiş olup, özellikle *F. culmorum* daha fazla çökerten hastalığına neden olurken, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum* daha fazla taç çürüklüğüne neden olmuştur. En büyük verim kayıpları *F. pseudograminearum* tarafından oluşturulmuştur.

Bentley vd. (2006) çalışmasında rastgele toplanan buğday taç çürüklüğü ve yedi çim türü ile ilişkili *Fusarium* türlerinin izolasyon sıklığını değerlendirmek için Yeni Zelanda'nın Güney Adası'nda bir araştırma yapmışlardır. Toplam 11 *Fusarium* türü buğday kök ve kök boğazından izole edilmiştir. Bilinen buğday patojenleri *F. culmorum* ve *F. pseudograminearum*'un olası izolatları buğday kök ve kök boğazından elde edilmiştir. *Fusarium culmorum*, tüm hastalıklı buğday köklerinin %16'sından izole edilirken, *F. pseudograminearum* sadece %1,5'inden izole edilmiştir. Amplifiye edilmiş fragment uzunluk polimorfizmi analizi, analiz edilen izolatlar arasında beş farklı kümeyi ortaya çıkarmıştır. Bu kümeler, translation elongation factor 1- α (*EF1- α*) geni dizisi temelinde dört patojenik türe, *F. pseudograminearum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense* ve *F. graminearum*'a karşılık gelmektedir.

Tunali vd. (2008), yaptıkları bu çalışma ile, Türkiye'nin tahıl üretilen bölgelerinde buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilişkili fungal türlerinin insidansını araştırmayı amaçlamıştır. Tarlaların %26'sından fazlasının genellikle kurak alan kök çürüklüğü kompleksi ile ilişkili bir veya daha fazla fungus türüne sahip olduğunu, en yaygın türün *F. culmorum* olduğunu (%14), ardından *B. sorokiniana* (%10) ve *F. pseudograminearum* (%2). *Gaeumannomyces graminis* ve *Pythium* spp. gibi yüksek yağış alan kök çürüklüğü kompleksinin bir parçası olarak kabul

edilen funguslar çok düşük frekanslarda bulunmuştur. (sırasıyla %2 ve %3). Tarlaların %22'sinde *Rhizoctonia* türleri tespit edilmiştir. Ek olarak, *F. oxysporum* ve *F. chlamydosporum* (%11), *F. sporotrichioides* (%10) ve *F. avenaceum* ve *F. solani* (%8) dahil olmak üzere, tahıllar için daha az veya patojenik olmadığı bilinen birkaç *Fusarium* türü yüksek frekanslarda bulunmuştur. Çalışma, türlerin araştırma alanındaki dağılımının çoğunlukla rastgele olduğu sonucuna varmıştır; bu da belirli bir türün buğday üzerindeki göreceli ekonomik öneminin, fungus patojenitesi, konukçu duyarlılığı ve mevsimsel koşullar gibi faktörlere bağlı olacağını göstermektedir. Genel olarak, çalışma, Türkiye'nin tahıl üretilen bölgelerinde buğdayın kök ve taç dokularıyla ilişkili çok çeşitli fungal türlerin olduğunu göstermektedir.

Araz vd. (2009), 2007-2008 üretim sezonunda Sakarya ilinin 4 ilçesinde buğdayın kök ve taç çürüklüğü hastalıklarını araştırmışlardır. Sakarya Tarımsal Araştırma Enstitüsü araştırma alanları ile Sakarya ili Hanlı, Esence, Esenler ve Kirazca köylerinden 44 adet hastalıklı buğday kökü toplanmıştır. *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. subglutinans*, *F. crookwellense*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *F. equiseti*, *F. acuminatum*, *F. sporotrichoides*, *Rhizoctonia* spp. ve *Alternaria* spp. morfolojik karakterler kullanılarak tanımlanmıştır. *Fusarium graminearum* ve *F. culmorum* sırasıyla 10 ve 5 buğday çeşidinden elde edilmiştir. Hem *F. graminearum* hem de *F. culmorum* izole edildikleri çeşitlerde patojen olarak bulunmuştur.

Shikur Gebremariam vd. (2018), Türkiye'de yaptığı çalışma ile 17 *Fusarium* türünü temsil eden toplam 339 fungal izolat tanımlamış olup, en yaygın olarak izole edilen tür *F. equiseti* olmuştur. Virü lent türler arasında, *F. culmorum* baskın tür olurken, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum*, incelenen çok az sayıda alandan izole edilmiştir. Patojenite testleri, test edilen 17 *Fusarium* türünden altısının değişen derecelerde taç çürüklüğüne neden olduğunu ortaya çıkarmıştır. *Fusarium culmorum*, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum* en agresifken, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. solani* ve diğer *Fusarium* türleri patojenik değildir. Bu sonuçlar, Türkiye'de buğday taç çürüklüğü ile ilişkili çok çeşitli *Fusarium* türlerinin varlığını göstermiştir.

Xu vd. (2018) yaptıkları çalışmada 2013-2016 yılları arasında Kuzey Çin Ovası'ndaki 104 tarladan alınan kış buğdayı (*T. aestivum*) kök ve taç çürüklüğü ile ilişkili patojen fungusların dağılım sıklığını belirlemişlerdir. Tanımlanan dört

en önemli tür *B. sorokiniana* (%24,0 köklerden; %33,7 gövdeden), *F. pseudograminearum* (%14,9 köklerden; %27,8 gövdeden), *R. cerealis* (%1,7 köklerden; %4,4 gövdeden) ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (%9,8 köklerden; %4,4 gövdeden) olarak saptanmıştır. *Fusarium pseudograminearum*, *F. graminearum*, *F. acuminatum* ve *R. cerealis* görülme sıklığı bölgeler arasında önemli derecede farklılık gösterirken, diğer türlerin dağılımı ve tarım bölgeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Buğdayın kök ve taç dokularından, alanların %93'ünden fazlasında iki veya daha fazla kök ve taç çürüklüğü türü izole edilmiştir. *Fusarium* spp. ve *B. sorokiniana* fungal etmenlerinin aynı tarlada (65,4%) veya aynı bitkide (11,6%) birlikte bulunma oranı, diğer türlerin kombinasyonlarından daha yaygın olduğu tespit edilmiştir.

Zhou vd. (2019), çalışmasında Çin'in Huanghuai buğday yetiştirme alanlarında *Fusarium* taç çürüklüğüne neden olan patojenlerin dağılımını ve çeşitliliğini araştırmayı amaçlamıştır. Araştırmacılar, 2013-2016 yılları arasında bölgedeki yedi ilden buğday örnekleri toplayıp morfolojik ve moleküler tanımlama yöntemlerini kullanarak 1196 izolatı 9 farklı *Fusarium* türü tanımlamışlar. Bu türler arasında en baskın olanı *F. pseudograminearum*'dur. Araştırmacılar ayrıca *F. sinensis*'i hastalıklı örneklerden izole etmişler ve buğdaya karşı virülansını test etmişlerdir. *Fusarium pseudograminearum*'da tür içi farklılaşmanın var olduğunu buldular ve *EF-1 α* geninin dizi analizi, bu türün 194 izolatının, sırasıyla Avustralya ve Çin'den gelen fungal izolatlar ile yakından ilişkili iki farklı grupta farklılaştığını ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, Çin de *Fusarium* taç çürüklüğü için hastalık izlemeyi ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesini kolaylaştırmak için kullanılabilir olduğunu göstermiştir.

Özer vd. (2020) yaptıkları çalışmada, Azerbaycan'da buğdayın taç ve kök çürüklüğü ile ilişkili fungal türleri tespit etmeyi ve değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Türe özgü PCR metodu ile ITS ve *EF1- α* lokuslarının DNA dizilimi dahil olmak üzere morfolojik ve moleküler araçlar kullanılarak toplam 630 fungal patojen izole edilip tanımlanmıştır. Çalışma ile, Azerbaycan'da *F. culmorum*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. pseudograminearum*, *F. graminearum*, *F. incarnatum*, *F. avenaceum*, *F. hostae* dahil olmak üzere, buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilişkili fungal türleri ortaya çıkarmış olup, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. algeriense* ve *F. brachygibbosum*'un yanı sıra *B. sorokiniana*, *C. spicifera*, *Exserohilum pedicellatum*, *Nigrospora oryzae* ve *Rhizoctonia* spp. *F.*

culmorum, *F. pseudograminearum* ve *F. graminearum* en agresif patojenler iken, *C. inaequalis*, *E. pedicellatum* ve *N. oryzae* zayıf agresif olduğunu saptamışlardır.

Özer vd. (2023) yaptıkları çalışmada Kırgızistan'ın kuzeyindeki üç ana buğday üretim bölgesinde buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilişkili fungal türleri araştırmışlardır. Semptomatik dokulardan toplam 598 fungus izolatu, kültürlerin ve konidiaların morfolojik özellikleri ile nükleer ribozomal DNA'nın internal transcribed spacer (ITS) bölgesi, translation elongation factor 1- α (*EF1- α*) ve RNA polimeraz II beta alt birim (*RPB2*) genlerinin dizi analizi kullanılarak tanımlanmıştır. Her bir fungusun izole edildiği alanların yüzdesi ve izolasyon seviyelerinin oranı belirlenmiştir. Yaygın kök çürüklüğü etmeni *Bipolaris sorokiniana*, izlenen alanların %86,67'sinde tespit edilmiş olup izolasyon sıklığı %40,64 olarak bulunmuştur. *Fusarium* spp. tüm izolatların %53,01'ini oluşturmuş ve 12 farklı tür içermekte olduğu anlaşılmıştır. En yaygın tanımlanan *Fusarium* türü, izlenen bölgelerin %70'inden izole edilen ve izolasyon sıklığı %21,57 olan *F. acuminatum*'dur. Bu türü, %23'ten fazla saha insidansına sahip olan *F. culmorum*, *F. nygamai*, *F. oxysporum* ve *F. equiseti* takip etmiştir. Hassas *Triticum aestivum* cv. Seri 82 üzerinde gerçekleştirilen patojenisite çalışmaları, *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum* izolatlarının eşit olarak en virulent patojenler olduğunu göstermiştir. Orta derecede virulent olan *B. sorokiniana* yaygınlığından dolayı buğday kültürü için ciddi bir tehdit oluşturduğu düşünülmektedir. Buğday üretim bölgelerinde, *F. culmorum* dışındaki *Fusarium* türleri, *F. acuminatum*, *F. nygamai*, *F. oxysporum* ve *F. equiseti* türlerinin patojenik olmadığı ancak *F. redolens*, *F. algeriense* ve *F. pseudograminearum* gibi daha az rastlanılan türlerin virulent olduğu belirlenmiştir. Üç farklı alanda bulunan *Curvularia inaequalis* hafif derecede virulent olmasına karşın *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. burgessii* ve *F. tricinctum* ile birlikte *Microdochium bolleyi*, *M. nivale* ve *Macrophomina phaseolina* türlerinin patojenik olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışma, Kırgızistan'da buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilişkili patojenlerin göreceli önemi ve dağılımı hakkındaki en detaylı rapor olmaktadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

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

3.1.1. Hastalıklı Bitki Materyalinin Temini

Hastalıklı bitki örnekleri Kazakistan'ın buğday üretim alanlarında gerçekleştirilmiş sörveylerden elde edilmiştir. Bu kapsamda seçilmiş olan 65 tarlayı temsil eden hastalıklı bitkiler hasada yakın ve hasat zamanında örneklendirilerek toplanmıştır. Her bir tarlayı temsil eden örnek rastgele seçilmiş 20 bitkiden oluşmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kök ve kökboğazı semptomları gösteren bitkilerin toprak altı kısımlarının su altında bekletilmesi ve kurutulması

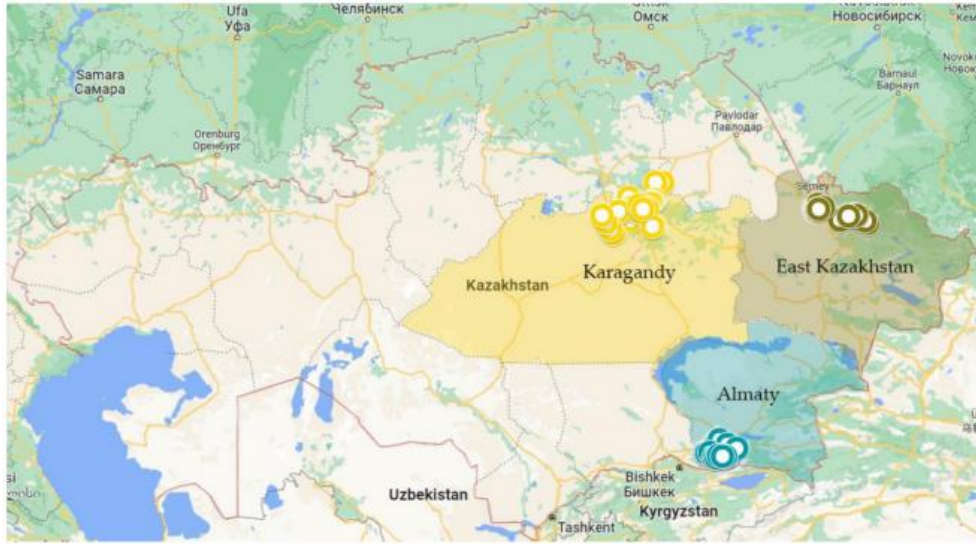
Bu araştırmada kapsamında yürütölmüş çalışmalar özetle buğday ekiliş alanlarından toplanmış kök ve kökboğazı semptomları gösteren hastalıklı bitki örneklerinden izolatlarının izolasyonunu, izolasyonu gerçekleştirilen izolatların

tür teşhisi ve tanımlanan türlerin patojenisite çalışmaları yer almaktadır. Yürütülen çalışmaların metotları aşağıda detaylı olarak açıklanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fungal İzolasyon

2019 yazında 65 buğday tarlasından (Karağandı'dan 26, Doğu Kazakistan'dan 18 ve Almatı bölgelerinden 21 olmak üzere) tipik taç ve kök çürüklüğü semptomlarına sahip bitki örnekleri, mahsulün olgunluk aşamasında ve hasat zamanında toplanmıştır (Şekil 3.2). İncelenen alanlar, aralarında 5-15 km mesafe olacak şekilde rastgele olarak seçilmiştir. 5 hektarlık bir alandan, 20-30 semptomatik buğday bitkisi zikzak şeklinde rastgele örneklenmiş, her bitki birbirinden 20 m uzakta olacak ve kâğıt torbalara yerleştirilmiştir. Örnekler laboratuvara getirilerek ve fungal izolasyona kadar 4°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.2. Temmuz 2019'da farklı tarımsal coğrafi bölgeleri ve örnekleme alanlarını gösteren Kazakistan haritası

Toplanan bitkiler, gövde tabanının yaklaşık 25 cm yukarısından kesilmiştir. Saplarda lezyon olup olmadığı incelenmeden önce, taç, kök ve gövde taban dokuları, toprak parçacıklarını uzaklaştırmak için 15 dakika musluk suyu altında iyice yıkanmıştır. Numune alınan bitkilerin küçük nekrotik ve renksiz taç, alt taç ve kök dokuları 1 dakika boyunca %1 sodyum hipoklorit solüsyonu ile yüzeysel olarak dezenfekte edilerek steril suyla durulanıp, kurutulmuştur. Kuruyan kesitler 1 cm boyunda kesitler alınarak ve 1/5 kuvvetinde patates dekstroza agar (PDA;

Merck, Darmstadt, Almanya) besiyerine aşılama işlemi yapılmıştır (Doğranmış patates yumrularından (40 g) alınarak, 15 dakika suda kaynatılmıştır, dekstroz (4 g) ve agar (15 g) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, ABD) ilave edilip ve ardından otoklav ile sterilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bakteriyel kontaminasyonu önlemek için streptomisin (0,1 g/l) ve kloramfenikol (0,05 g/l) ile güçlendirilmiştir) ilave edilmiştir).



Şekil 3.3. İzolasyonu gerçekleştirilen fungal izolatların morfolojik gelişimleri

Kesitlerden izole edilen Petri kaplarındaki muhtemel fungal kolonileri, yeni tam güçlü PDA (200 g doğranmış patates yumruları, 20 g dekstroz ve 15 g agar) besiyerinde alt kültürlenmiştir ve beş günlük inkübasyondan sonra hif ucu veya tek spor izolasyon yöntemi kullanılarak saflaştırılmıştır.

İzolatlar 23°C’de karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. *Fusarium* benzeri koloniler ayrıca Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA) besiyerine (1 g KH₂PO₄, 1 g KNO₃, 0,5 g MgSO₄.7H₂O, 0,5 g KCl, 0,2 g dekstroz, 0,2 g süktroz, 20 g agar, 1 L’ye kadar damıtılmış su) aktarılmıştır. Konidi ve klamidospore üretimini arttırmak için 23°C’de 10 gün inkübe edilmiştir (Leslie vd., 2006). Çalışmalar sırasında tüm izolatlar 4°C’de inkübe edilmiştir ve uzun süreli saklama için -80°C’de %15 gliserol:su içeren tüplerde saklanmıştır.

3.3. Morfolojik Karakterizasyon

Petri kaplarındaki muhtemel fungal gelişmeler binoküler mikroskop yardımı ile incelenmiş ve *Fusarium* spp. ve *Bipolaris* spp. benzeri fungal izolatlardan hif ucu alınarak tam kuvvetli PDA içeren ortamlara aktararak saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen izolatların morfolojik özellikler, Leica DM1000 mikroskobu (Leica Microsystems, Wetzlar, Almanya) ve Leica LAS EZ yazılımıyla 400× büyütmede (Leslie vd., 2008) kriterleri dikkate alınarak tanımlanmışlardır. Siyah pigmentli fungal izolatlar (Ellis, 1971) ve (Sivanesan,

1987) anahtarı kullanılarak diğer türler ise *Macrophomina* sp., (Holliday vd., 1970) açıklamasını kullanılarak tanımlanmıştır.

3.4. Moleküler Karakterizasyon

3.4.1. Fungusların Geliştirilmesi

Fungal izolatları, morfolojik ve kültürel özellikler (mikroskopik özellikler, koloni görünümü ve pigmentasyon) ve geleneksel tür tanımlama anahtarları, *Fusarium* spp. için teşhis anahtarları (Laraba vd., 2017; Laurence vd., 2011; Leslie, 2006), *Bipolaris* spp., *Curvularia* spp. için (Sivanesan, 1987a), *Macrophomina* spp. için (Holliday vd., 1970) ve *Microdochium* spp. (Glynn vd., 2005) göre morfolojik karakterizasyonları yapılmıştır. Bazı *Fusarium* izolatlarının morfolojiye dayanarak tür düzeyinde tanımlanması zor olmuştur; bu nedenle tüm tür tanımlı izolatlar bilinmeyen türlerle birlikte moleküler karakterizasyona tabi tutulmuştur. Tüm izolatlar çalışmalar sırasında PDA plakalarında 4°C’de saklanmıştır.

3.4.2. DNA İzolasyonu

Genomik DNA, üreticinin talimatlarına göre bir DNeasy Kan ve Doku Kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak izole edilmiştir. 22°C’de inkübe edilmiş 7 günlük kültürlerinin yüzeyleri hafifçe kazınarak sporlu fungal miseller toplanmıştır ve sıvı nitrojen içinde toz haline getirilmiştir. Şablon DNA, 50-100 mg fungal tozundan özümlelmıştır ve 1×TE tamponunda (1 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 8.0) çözündürülmüştür. DNA konsantrasyonu, bir DS-11 FX Serisi spektrofotometre (Denovix Inc., Wilmington, DE, ABD) kullanılarak A260/A280 oranıyla spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Daha ileri analizlerden önce, DNA özütü 20 ng/μl’ye seyreltilmiş ve -20°C’de saklanmıştır.

3.4.3. PCR Reaksiyonu

Fusarium türlerinin translation elongation factor 1- α (*EF1- α*) primeri kullanılarak ve diğer izolatlar için ribozomal DNA’nın internal transcribed spacer (ITS) bölgesi, sırasıyla EF1/EF2 (O’Donnell, vd., 1998) ve ITS1/ITS4 (White vd., 1990), primer setleri kullanılarak amplifiye edilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılacak primerlere ait bilgiler

Kodu	Sekans 5'-3'	Amplifikasyon Koşulları	Referans
EF-1	ATG GGT AAG GA(A/G) GAC AAG AC	94°C 3 d; 94°C 60 s, 54°C 45s, 72°C 60 s, 35 döngü ve 72°C 10 d	O'Donnell vd., 1998
EF-2	GGA (G/A) GT ACC AGT (G/C)AT CAT GTT		
ITS-1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	94°C 3 d; 94°C 30 s, 52°C 60s, 72°C 60s 35 döngü ve 72° C 10 d	White vd., 1990
ITS-4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		

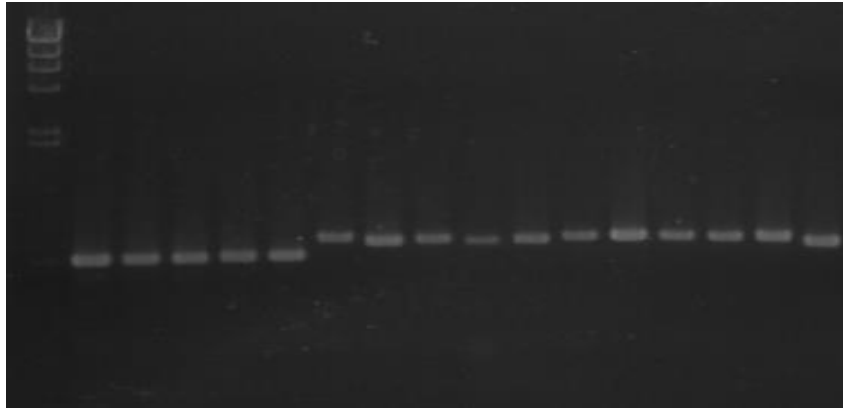
ITS bölgesini amplifikasyonu için termal cycler programı şu şekildedir: 94°C'de ilk denatürasyon adımı için 3 dakika, ardından 94°C'de 30 saniye, 52°C'de 60 saniye ve 72°C'de 1 dakika ile 35 döngü ve 72°C'de 10 dakikalık bir uzatma ile sonlanmıştır. *EF1-α* lokusunun amplifikasyonu için, 94°C'de 3 dakikalık bir başlangıç denatürasyon aşamasını ve ardından 94°C'de 1 dakikalık, 54°C'de 45 s ve 72°C'de 1 dakikalık 35 döngüyü içermiştir. 72°C'de 10 dakikalık son uzatma ile reaksiyon sonlanmıştır. PCR karışımı, 1×PCR reaksiyon tamponu, 1,5 birim Ampliqon TEMPase Hot Start DNA polimeraz (Berntsen, Rdovre, Danimarka), her primerden 0,4 uM, her dNTP'den 0,2 mM, 10 ng şablon DNA ve steril milli-Q su içerecek şekilde 50 µl'lık bir reaksiyon karışımında gerçekleştirilmiştir. Amplifiye edilmiş DNA fragmanları, üretici talimatlarına göre Wizard SV Gel ve PCR Temizleme Sistemi (Promega, Madison, WI, ABD) ile saflaştırılarak ve ticari bir şirket (Macrogen Inc., Seoul, Kore) tarafından çift yönlü sekanslamaya tabi tutulmuştur. Diziler, DNASTAR yazılımının 7.1.0 sürümünün (DNASTAR Inc., Madison, WI, USA) MegAlign modülü ile okunmuştur ve düzenlenmiştir. NCBI GenBank nükleotid veri tabanında (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) saklanmıştır. Dizi homoloji araştırmaları, mevcut en yakın referans dizilerini belirlemek için NCBI GenBank'ın nükleotid veri tabanına karşı Temel Yerel Hizalama Arama Aracı (BLAST: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.4. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünleri 0,5×Tris-borate-EDTA (TBE) tampon solüsyonunda %1'lik agaroz jel içerisinde 100 volt 60 dakika elektroforetik ayrıma tabi tutulmuşlardır. %1 agaroz jeli hazırlamak için 160 ml 0,5×TBE'ye 1,6 g agaroz ilave edilmiştir. Karışım mikrodalgada yaklaşık 2 dakika kadar ısıtılmıştır. Çözelti elle tutabilecek sıcaklığa uygun olana kadar soğuması için bekletilmiştir. Daha sonra jel tepsisine dökülmüştür. Jelin hazırlanmasında son adım olan oyukları açmak için ise tarak koyulmuş ve jelin donması beklenmiştir.

Jelin kuyucukları içine 10 µl PCR ürünü yüklenmiştir. İçerisinde TBE tampon çözeltisi bulunan elektroforez tankına jel yerleştirilmiştir. Elektrik akımı sağlamak için bir güç kaynağına bağlanmıştır ve bu elektrik akımı negatif yüklü DNA'nın pozitif yüklü katoda doğru hareket etmesini sağlayarak DNA'ların bu yöndeki hareketini başlatmıştır.

Yaklaşık 1 saat sonra, jel dikkatlice çıkarılmış ve 15-20 dakika etidyum bromide içeren solüsyonda bekletilmiş ve bir G:BOX F3 jel görüntüleme sistemi (Cambridge, UK: İngiltere) yardımı ile jelin fotoğrafı çekilmiştir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Çalışmadaki elde edilen ITS ve *EF1-α* bölgelerine ait DNA bantlarının eldesi

Elektroforez sonucu bantların varlığı anlaşılan pcr ürünlerinin geri kalan 20 µl'si sekans bilgilerinin elde edilmesi amacı ile ticari bir şirket olan Macrogen'e (Macrogen Inc., Seoul, Kore) gönderilmiştir. Sekans tek yönlü okuma sağlanarak, *EF1-α* ve ITS1 primeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ham sekans dataları MEGA X (Kumar vd., 2018) programı kullanılarak işlenmiş ve National

Center for Biotechnology Information (NCBI)'ın GenBank'ta bulunan diğer sekanslarla benzerliklerinin karşılaştırmak için BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) analizi kullanılmıştır. Yine NCBI'nin BankIt (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/WebSub>) aracı kullanılarak elde edilen sekanslar GenBank veri tabanına sunularak erişim numaraları alınmıştır.

Elde edilen sekanslar ClustalW program kullanılarak alignment analizi gerçekleştirilmiştir Thompson vd., (1994). *Fusarium* türlerine ait izolatlara ait sekanslar ile GenBank'tan elde edilen referans izolatların sekansları ile MEGA X programı kullanılarak filogenetik ağacı Neighbor-joining dendrogramı Tamura vd., (1993) modeli kullanılarak 1000 bootstrap tekrarı ile çizilmiştir.

3.4.5. Veri analizleri

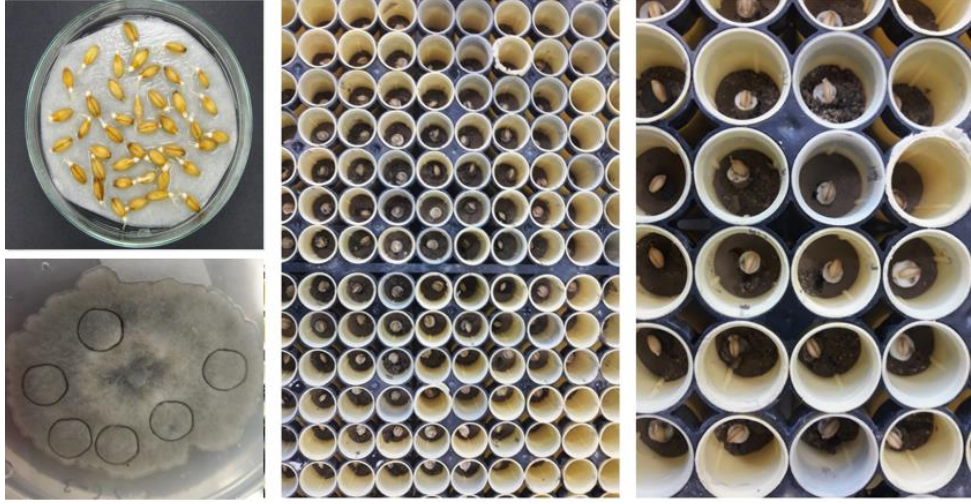
DNA dizileri düzenlenmiş ve konsensüs dizileri, hesaplama platformlarında MEGA X: Moleküler Evrimsel Genetik Analizi kullanılarak manuel olarak hesaplanmıştır. Tüm diziler, BLASTn algoritması kullanılarak Ulusal Biyoteknolojik Bilgi Merkezi olan GenBank veri tabanı ile karşılaştırılmış olup ve her tür için temsili izolatlar GenBank'ta biriktirilmiştir. *Fusarium* izolatları ve diğer izolatlar, sırasıyla *EF1- α* ve ITS dizilerine dayalı olarak filogenetik olarak ayrı ayrı analiz edilmiştir. Ek referans dizileri ile bu çalışmadan elde edilen izolatlar ve GenBank veri tabanından alınan 2 dış grup, MAFFT v.7 çevrimiçi arayüzünde (<http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) kullanılarak hizalanmıştır. Varsayılan ayarlar MEGA X ile manuel olarak düzenlenmiştir. *EF1- α* ve ITS veri setinin bir Maksimum likelihood (ML) ağacı, ultra hızlı önyüklemeli IQ-TREE 1.6.7 komut satırı sürümü kullanılarak ayrıca çıkarılıp 1000 tekrar ile uygulanmıştır. Filogenetik analiz ayrıca Bayes yöntemi kullanılarak MrBayes 3.2.7 kullanılarak hesaplanmıştır. Analizler CIPRES Science Gateway V 3.3 üzerinde uygulanmıştır (<https://www.phylo.org/>). Elde edilen ağaçlar, FigTree v1.4.2 yazılımında analiz edilerek düzenlenmiştir. *Fusarium ventricosum* izolatı CBS 748.79'un (KM231924) *EF1-a* dizisi ve *Phytophthora infestans* izolatı CBS 120920'nin (MF680417) ITS dizisi, konsensüs ağaçlarının üretimini kolaylaştırmak için dış gruplar olarak eklenmiştir.

3.5. Patonejisite Testi

Buğday tohumlarının %1'lik NaOCI çözeltisi (v/v) ile yüzey dezenfeksiyonunu yapmak üzere geçen süreyi (1, 2 ve 3 dakika) kontrol etmek için bir ön deneme gerçekleştirilmiştir. Bu sürelerin hepsinde buğday tohumları çimlenmeye başlamıştır. Bu nedenle, buğday tohumlarının yüzey dezenfeksiyonu için 3 dakika boyunca %1'lik NaOCI çözeltisi kullanılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış olan tohumlar iki kez sterilize edilmiş olan damıtılmış su içinde durulanmış ve steril filtre kâğıdı üzerinde kurutulmuştur. Tohumlar daha sonra steril damıtılmış suyla doyurulmuş bir filtre kâğıdı Petri kabına yerleştirilmiştir ve çimlenme için 3-4 gün boyunca 25°C'lik bir sıcaklıkta bir etüvde tutulmuştur.

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

Patojenisite testi için buğday fideleri steril saksılarda 5:4:1 kum, toprak ve organik madde (v/v/v) karışımı kullanılarak yetiştirilmiştir. Toprak karışımı bulunan saksıların üzerine yaklaşık 7 günlük kültürlerden alınan 0,5 santimetre çapındaki miselyal diskler koyulmuştur. Agar disklerin üzerine tek bir tohum yerleştirilmiştir ve ince bir toprak karışımıyla kapatılmıştır (Şekil 3.5.). Bitkiler, 16 saat suni ışık koşullarında ve 25°C gündüz ve 15°C gece sıcaklıklarında %60-80 bağıl nem koşullarında büyüme odasında tutulmuştur Mitter vd., (2006), Bitkiler gerektiğinde sulanarak test süresince tekrarlanmıştır.



Şekil 3.5. Patojenisite testi

Aşılama işleminden dokuz hafta sonra bitkiler topraktan yıkanmıştır. Taç ve ana kök boğazındaki tipik esmerleşme/çürüme yüzdesine dayalı olarak (Nicol ve ark., 2001)'in ((Wildermuth vd., 1994)'dan modifiye edilmiştir) 1-5 skalası (1: %1-9 Dayanıklı, 2: %10-29 Orta dayanıklı, 3: %30-69 Orta hassas, 4: %70-89 Hassas, 5: %90-99 Çok hassas) kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.6.)



Şekil 3.6. Çalışmada elde edilen patojenite skalası

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

4. BULGULAR

2019 yılı yetiştirme sezonunda Kazakistan'ın buğday yetiştirilen bölgelerindeki 65 tarladan toplanan semptomatik buğday örneklerinden 1221 fungal izolat elde edilmiştir. Morfolojik ve moleküler araçlar kullanılarak yapılan tür sınıflandırması sonucunda *B. sorokiniana*'nın 547, *Fusarium* spp.'nin 537, *C. spicifera*'nın 93, *Rhizoctonia solani* AG2-1'in 13, *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch'nin 12, *C. inaequalis*'in 11'i ve *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid'in 8'i teşhis edilmiştir.

Tanımlanan tüm kültürler, *Fusarium* spp. için tanımlama anahtarlarına dayalı olarak ilgili fungus cinsi ve türlerinin genel morfolojik ve kültürel özelliklerine (kültürlerin rengi, boyutu, varlığı ve şekli, konidia, konidiofor, septa ve sklerotia) göre belirlenmiştir (Laraba vd., 2017; Laurence vd., 2011; Leslie vd., (2006), *Bipolaris* spp., *Curvularia* spp. Sivanesan (1987) ve *Macrophomina* sp. Holliday vd., (1970) teşhis anahtarları ile uyumlu bulunmuştur.

Hastalıklı bitki örnekleri Kazakistan'ın buğday üretim alanlarında gerçekleştirilmiş sürveylerden elde edilmiştir. Bu kapsamda seçilmiş olan 65 tarlayı temsil eden hastalıklı bitkiler hasada yakın ve hasat zamanında örneklendirilerek alınmıştır. Her bir tarlayı temsil eden örnek rastgele seçilmiş 20 bitkiden oluşmaktadır.

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

Türler*	Buğday bitkilerin elde edilen izolat sayısı ve sörvey alanında ki bulunma yoğunluğu (%)							
	Karağandı		Doğu Kazakistan		Almatı		Toplam	
	N	IF	N	IF	N	IF	N	IF
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	222	43,61	136	43,31	189	47,49	547	44,80
<i>Fusarium acuminatum</i>	158	31,04	39	12,42	52	13,07	249	20,39
<i>Fusarium equiseti</i>	26	5,11	48	15,29	50	12,56	124	10,16
<i>Curvularia spicifera</i>	62	12,18	17	5,41	14	3,52	93	7,62
<i>Fusarium culmorum</i>	14	2,75	22	7,01	22	5,53	58	4,75
<i>Fusarium oxysporum</i>	5	0,98	21	6,69	24	6,03	50	4,10
<i>Fusarium redolens</i>	4	0,79	19	6,05	6	1,51	29	2,38
<i>Rhizoctonia solani</i> AG2-1	1	0,20	4	1,27	8	2,01	13	1,06
<i>Nigrospora oryzae</i>	3	0,59	3	0,96	6	1,51	12	0,98
<i>Curvularia inaequalis</i>	6	1,18	2	0,64	3	0,75	11	0,90
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	2	0,39	2	0,64	5	1,26	9	0,74
<i>Fusarium flocciferum</i>	0	0,00	0	0,00	9	2,26	9	0,74
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0	0,00	0	0,00	8	2,01	8	0,66
<i>Fusarium cf. incarnatum</i>	4	0,79	0	0,00	0	0,00	4	0,33
<i>Fusarium sp.</i>	1	0,20	0	0,00	2	0,50	3	0,25
<i>Fusarium torulosum</i>	1	0,20	1	0,32	0	0,00	2	0,16
Toplam	509	100	314	100	398	100	1221	100

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

İncelenen üç bölgede, *Cochliobolus sativus*'un anamorfı olan *B. sorokiniana* en sık bulunan tür (%43,31 ile %47,49) ve en yüksek saha insidansına (%72,22 ile %96,15) sahip olup, izolatların %44,80'ini ve incelenen 'tarlaların' %86,15'ini oluşturmuştur.

Fusarium spp. toplam izolat sayısının %43,98'ini oluşturmuş olup ve açıklamalar ve DNA dizileme ile karşılaştırılarak 10 *Fusarium* türüne sınıflandırılmıştır. *Fusarium* spp.'nin *EF1-α* gen dizileri izolatların uzunluğu 636 ile 693 bp arasında değişmektedir ve GenBank veri tabanında karşılık gelen *Fusarium* türleri (*Fusarium* sp. hariç) ile %100 özdeşlik eşleşmesi vardır. *Fusarium acuminatum* ve *F. equiseti*, *Fusarium* türlerinin %46,37'sini ve %23,09'unu oluşturan en yaygın *Fusarium* türleri olarak saptanmıştır. Bu izolatları sırasıyla %10,80 ve %9,31 ile *F. culmorum* ve *F. oxysporum* izlemiştir *Fusarium redolens* (Wollenw), *F. pseudograminearum*, *F. flocciferum* (Corda), *F. cf. incarnatum* (Subraman. & Rao) ve *Fusarium* sp. sırasıyla %5,40, 1,68, 1,68,

0,74 ve %0,56 sıklıklarıyla daha az yaygın bulunurken, *F. torulosum* (Berk. & M.A. Curtis) Nirenberg en az baskın olarak bulunmuştur (%0,37) ve bir alanda iki izolat tanımlanabilmiştir. Karağandı'dan ve Doğu Kazakistan'dan bir tarlada *F. flocciferum* (%4,62 insidans) dışında, *Fusarium* sp. (%3,08 insidans) ve *F. cf. incarnatum* (%3,08 insidans), diğer *Fusarium* türleri araştırmadaki üç bölgenin her birinde bulunabilir, ancak tek tek türlerin insidansı bu bölgeler arasında değişiklik göstermiştir. Tek tek türlere göre, tarlaların %66,15'inde *F. acuminatum*, %41,54'ünde *F. oxysporum*, %35,38'inde *F. equiseti*, %18,46'sında *F. culmorum*, %9,23'ünde *F. redolens* ve *F. pseudograminearum* %7,69 olarak bulunmuştur.

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

Türler*	İzolatların elde edildikleri tarla sayısı ve türlerin bulundukları tarla oranları							
	Karağandı		Doğu Kazakistan		Almatı		Toplam	
	N	FI	N	FI	N	FI	N	FI
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	25	96,15	13	72,22	18	85,71	56	86,15
<i>Fusarium acuminatum</i>	24	92,31	7	38,89	12	57,14	43	66,15
<i>Fusarium oxysporum</i>	5	19,23	10	55,56	12	57,14	27	41,54
<i>Fusarium equiseti</i>	7	26,92	8	44,44	8	38,10	23	35,38
<i>Curvularia spicifera</i>	11	42,31	4	22,22	3	14,29	18	27,69
<i>Fusarium culmorum</i>	4	15,38	4	22,22	4	19,05	12	18,46
<i>Rhizoctonia solani</i> AG2-1	1	3,85	3	16,67	4	19,05	8	12,31
<i>Fusarium redolens</i>	2	7,69	2	11,11	2	9,52	6	9,23
<i>Nigrospora oryzae</i>	2	7,69	2	11,11	2	9,52	6	9,23
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	1	3,85	1	5,56	3	14,29	5	7,69
<i>Curvularia inaequalis</i>	3	11,54	1	5,56	1	4,76	5	7,69
<i>Fusarium flocciferum</i>	0	0,00	0	0,00	3	14,29	3	4,62
<i>Fusarium torulosum</i>	1	3,85	1	5,56	0	0,00	2	3,08
<i>Fusarium</i> sp.	1	3,85	0	0,00	1	4,76	2	3,08
<i>Fusarium</i> cf. <i>incarnatum</i>	2	7,69	0	0,00	0	0,00	2	3,08
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0	0,00	0	0,00	2	9,52	2	3,08

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

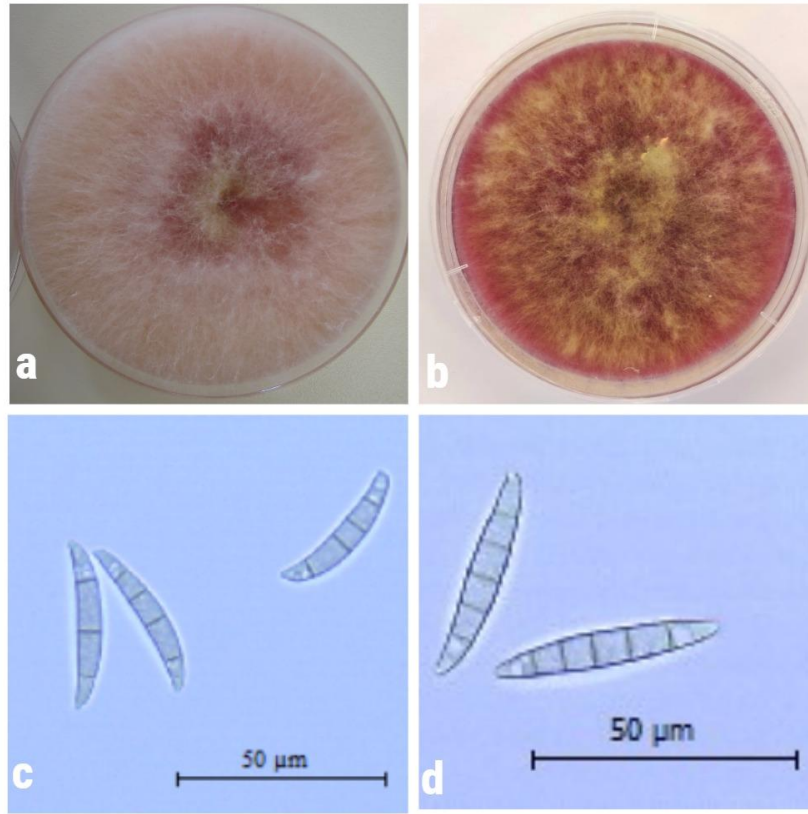
Diğer *Cochliobolus* anamorfları, *C. spicifera* ve *C. inaequalis* elde edilen izolatların sırasıyla %7,62 ve %0,90'ında ve örneklenen alanların %27,69 ve %7,69'unda bulunmuştur. *Nigrospora oryzae* ve *M. phaseolina* incelenen alanların sırasıyla %9,23 ve %3,08'inden izole edilmiştir. Çeşitli fungal türlerin

sıklıkla tek bir tarlada bir arada bulunduğu görülmüştür. Örneğin, incelenen 65 alanın sırasıyla %86,15 ve %66,15'inde 547 *B. sorokiniana* izolatu ve 249 *F. acuminatum* izolatu tanımlanmıştır. Re-izolasyon ile elde edilen türlerin izolasyon sıklığı ve alan insidansı bölgeye göre değişiklik göstermiştir. Örneğin, Karağandı'da, tüm *Cochliobolus* anamorfları ve *F. acuminatum*, Doğu Kazakistan ve Almaty'dakinden daha sık izole edilmiştir ve saha insidansı daha yüksektir.

4.1.Morfolojik Karakterizasyon

SNA'da geliştirilen funguslardan yapılan izolasyon sonucu elde edilen *Fusarium* türlerinin morfolojik teşhisi *Fusarium* spp. sporları lam ve lamel preperatları arasına konularak 400× büyütmede mikroskop altında incelenmiş ve hem oluşturdukları makrokonidilerin boyutları, hücresel yapıları, bölme sayıları gibi özelliklerine bakılarak hem de PDA besi yerinde oluşturduğu pigmentasyonu, misel özelliklerine bakılarak Leslie ve Summerell (2006)'e göre tür düzeyinde gerçekleştirilmiştir.

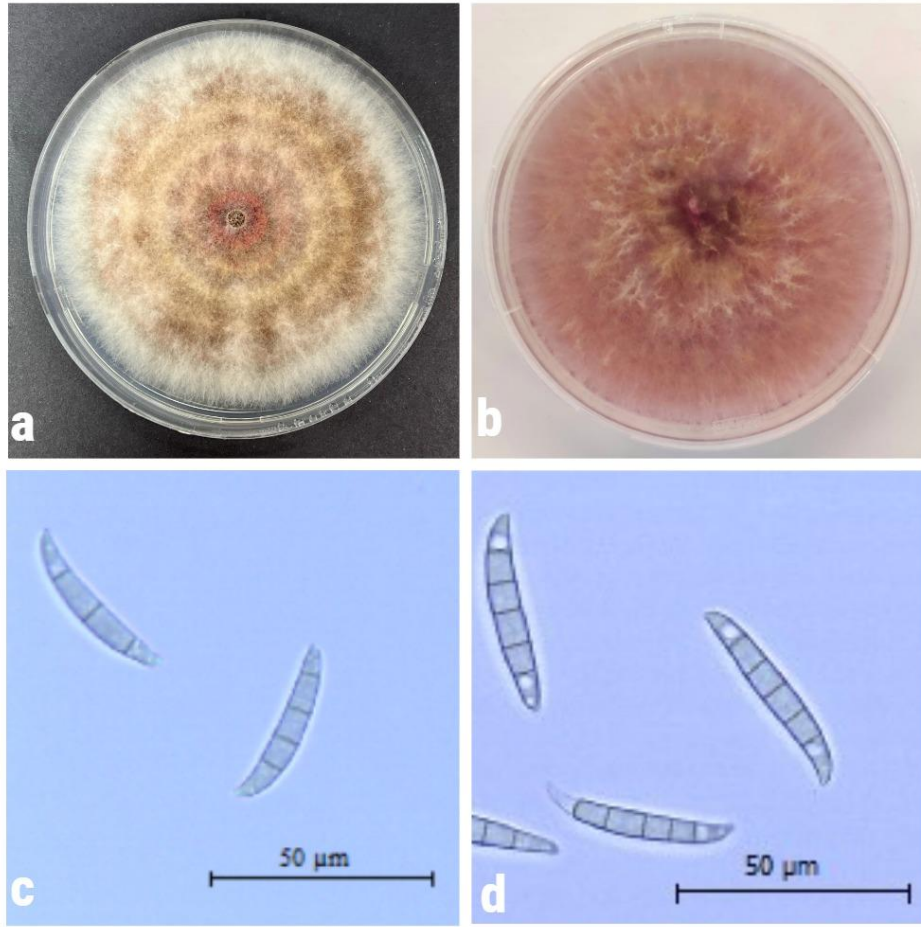
***Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Saccardo**



Şekil 4.1. *Fusarium culmorum* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi (c,d)

Neredeyse her *Fusarium culmorum* izolatu (58), PDA’da benzer kültür özellikleri sergilemişlerdir. Başlangıçta soluk turuncu olan ancak yaşla birlikte kahverengi ile koyu kahverengiye dönüşen büyük bir merkezi spor kütlelerinde bol miktarda sporodochia üreterek hızla gelişmiştir. *Fusarium culmorum*, bir hafta içinde Petri kabını tamamen kaplayan bol miktarda beyaz misel oluşturarak ve PDA’da karmin kırmızısı pigment üretmiştir. İzolatlar, şekil olarak oldukça tekdüze olan makrokonidialar ürettir. Makrokonidia orta noktasında en geniştir (5-8) ve biraz kavislidir, uzunlukları (38-50) µm arasında değişmektedir. *Fusarium culmorum*, çoğu 4 bölmeli olmak üzere 3 ila 4 bölmeli kalın duvarlı makrokonidialar üretmiştir. Üretilen makrokonidia, ayak şeklinde belirgin bir bazal hücreden yoksundur, ancak çentikli bazal hücrelere ve yuvarlak, küt apikal hücrelere sahiptir. *Fusarium culmorum*, SNA üzerinde inkübasyondan iki hafta sonra hiflerde ve makrokonidialar zincirlenmiş klamidosporeler oluşturmuştur. SNA’da mikrokonidi oluşturmamıştır.

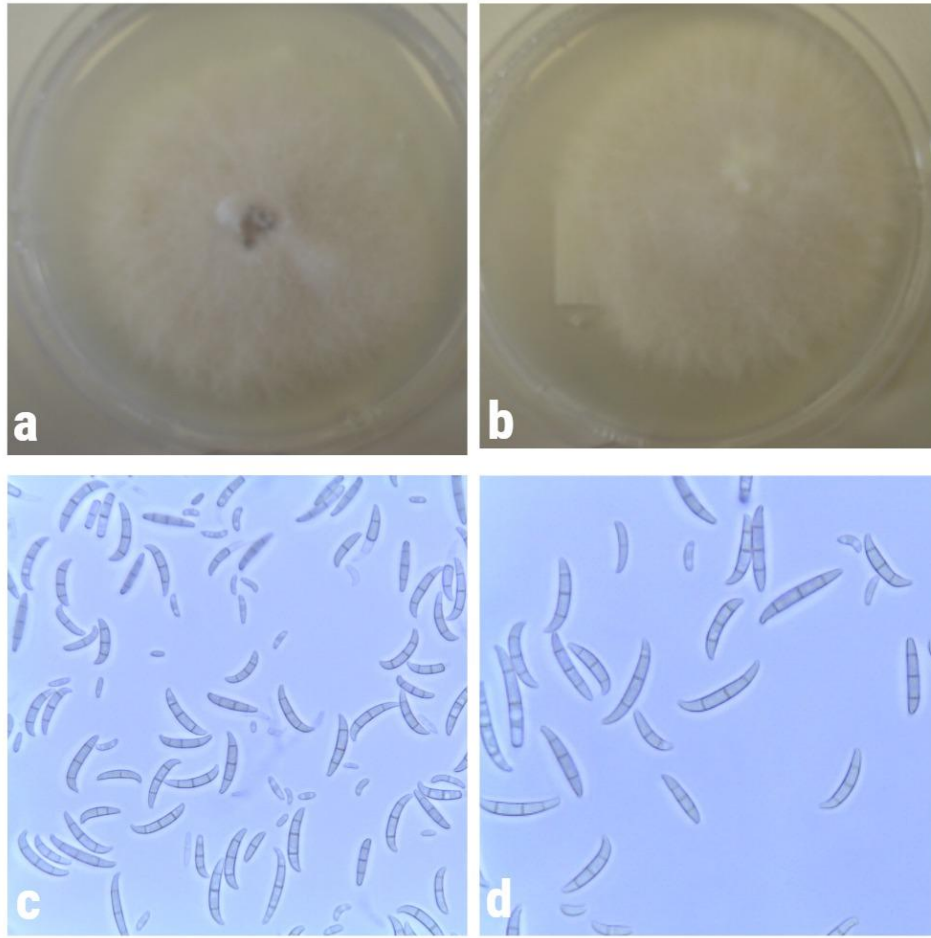
Fusarium pseudograminearum Aoki & O'Donnel



Şekil 4.2. *Fusarium pseudograminearum* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA' daki makrokonidi (c,d)

Fusarium pseudograminearum izolatu (9), PDA'da hızla gelişim sergilemişlerdir. İzolatlar, bol miktarda beyazdan sarıya ve kırmızıya misel oluşturdular. PDA'da kırmızı pigmentler oluşturdular. *Fusarium pseudograminearum*, ayak şeklinde bazal hücreler ve kıvrık apikal hücreler ile neredeyse düz ila orta derecede kavisli olan orta ila uzun nispeten (45-60), ince (5-7) makrokonidia üretmiştir. Makrokonidia 5 ila 6 septalıdır ve bunların çoğu 5 septa içermektedir.

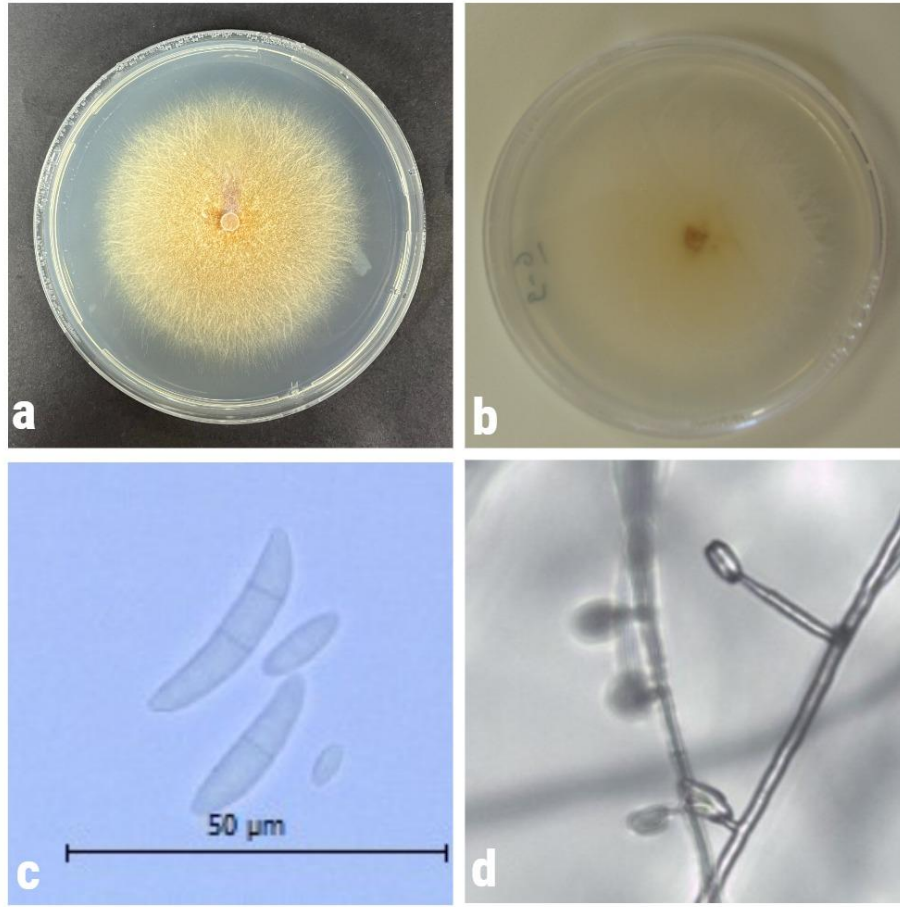
***Fusarium redolens* Wollenweber**



Şekil 4.3. *Fusarium redolens* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi ve mikrokonidi (c,d)

Fusarium redolens izolatları (29), Seyrek beyaz miselyum üretmişlerdir. Çoğu PDA’da pigment oluşturmaya da çok azı çok açık kahverengi pigment üretmiştir. Sağlam ve kalın duvarlı makrokonidia üretmişlerdir. Üretilen makrokonidia kancalı apikal hücrelere ve ayak şeklinde bazal hücrelere sahiptir ve çoğu 5 ayrı olmak üzere 3 ila 5 septadan oluşmaktadır. İzolatlar sırasıyla 35-50 µm uzunluk ve 4-5 µm genişliğe sahip kalın duvarlı makrokonidia üretmişlerdir.

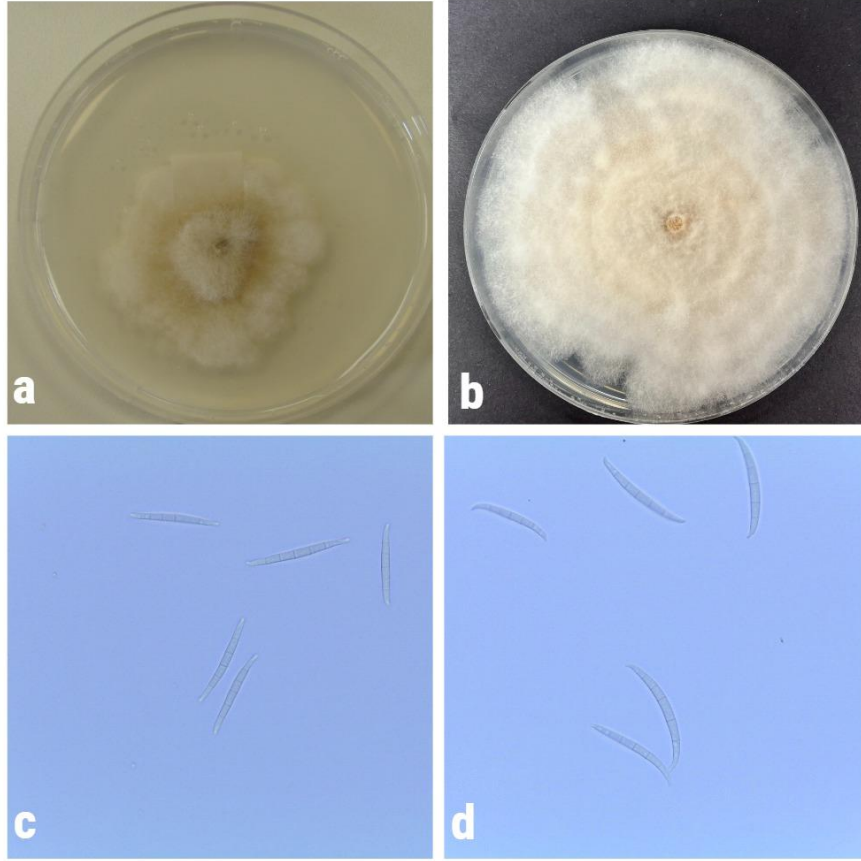
***Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen**



Şekil 4.4. *Fusarium oxysporum* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonidi ve monofialitler üzerindeki mikrokonidileri (c,d)

Fusarium oxysporum izolatları (50), PDA’da çok çeşitli koloni özellikleri göstermişlerdir. Mycelia, seyrek veya bol olabilir ve beyazdan soluk menekşe rengine kadar değişebilir. Bazı izolatlarda merkezi bir spor kütesinde bol soluk turuncu veya soluk mor makrokonidialar üretilmiştir. İzolatların çoğu bol miktarda soluk veya kırmızı renkli sporodochia üretir; ancak bazı izolatlarda sporodochia seyrek olabilir veya hiç olmayabilir. *Fusarium oxysporum* izolatları, SNA’da kısa fiyalidler üzerinde 0 ila 1 bölme olan bol miktarda mikrokonidia üretmiştir.

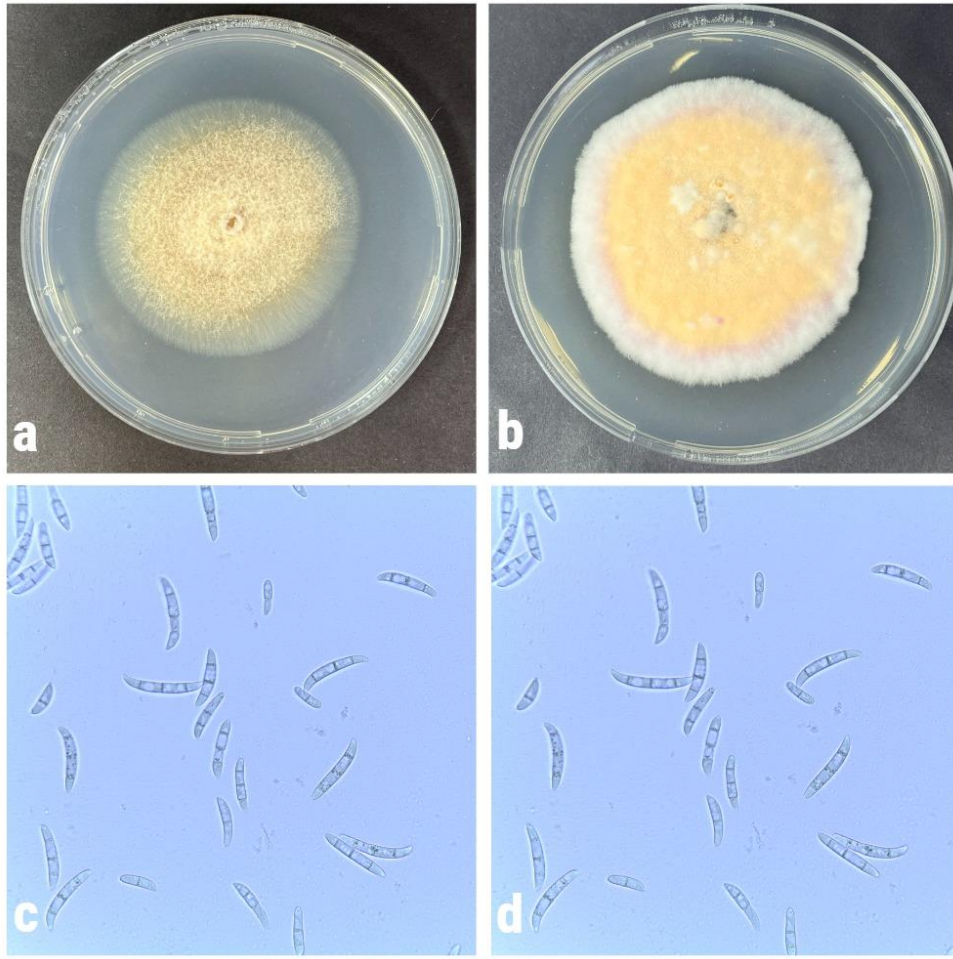
***Fusarium equiseti* (Corda) Saccardo**



Şekil 4.5. *Fusarium equiseti* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA' daki makrokonidi (c,d)

Fusarium equiseti izolatları (124), başlangıçta beyaz olan, ancak yaşlandıkça kahverengiye dönüşen bol miktarda miselyum içerirler. Sporodochia, merkezi bir spor kütesinde oluşabilir, ancak miselyum tarafından gizlenebildikleri için belirgin olmayabilirler. Spor kütesi soluk turuncudan koyu kahverengiye kadar olabilir ve açık-koyu olarak halka şeklinde bölgeler gelişebilir. Bu tür, koloninin agarla temas ettiği yerde soluk kahverengi ile koyu kahverengi bir pigment oluştururlar. Agarda genellikle koyu kahverengi lekeler veya pigment benekleri oluşur. Sporodochia'dan elde edilen makrokonidyumlar genellikle şekil ve boyut olarak tekdüzedir. *Fusarium equiseti*, belirgin bir şekilde ayak şeklinde bir bazal hücre ve sivrilmiş uzun apikal hücre ile güçlü dorsiventral eğriliğe sahip, kalın duvarlı 5 ila 7 bölmeli makrokonidia üretmişlerdir.

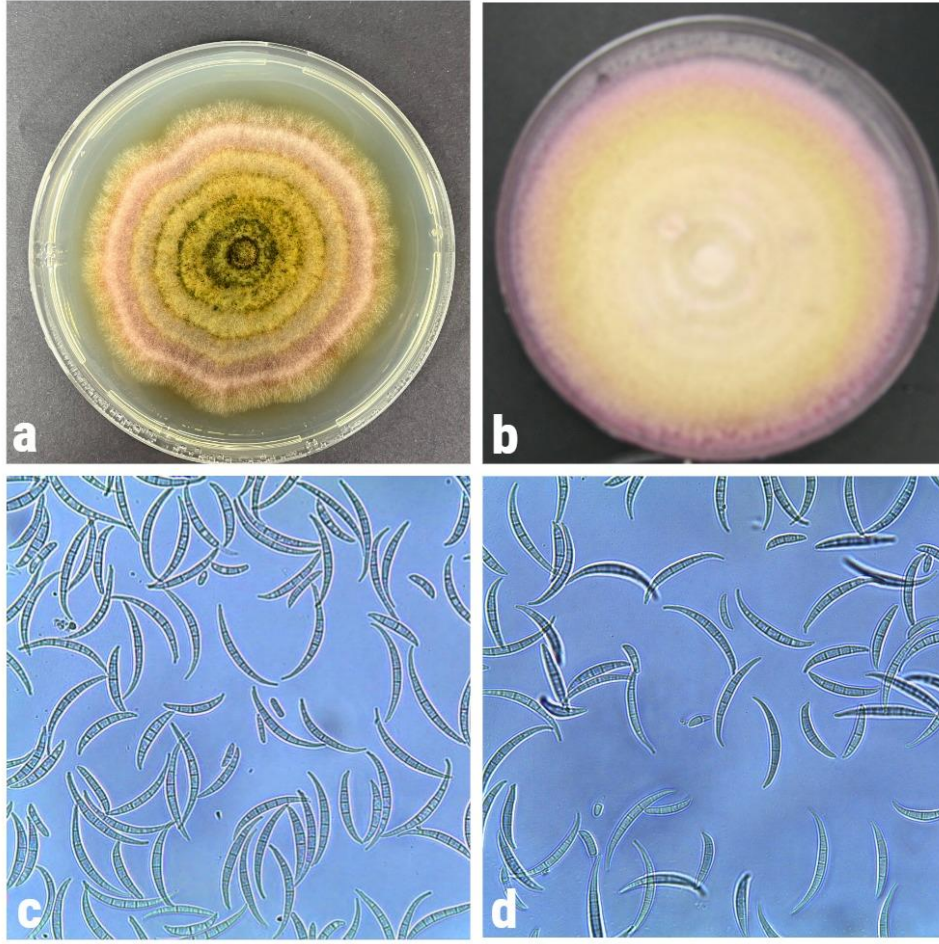
***Fusarium torulosum* (Berkeley & Curtis) Nirenberg**



Şekil 4.6. *Fusarium torulosum* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA' daki makrokonidi (c,d)

Fusarium torulosum izolatları (2), başlangıçta beyaz miselyum ile yavaş gelişmektedir, yaşla birlikte pigmente oluyor ve dar eşmerkezli halkalar halinde görünebiliyor. Agarda yaygın olarak turuncu ile kırmızı pigmentler üretilmiştir, ancak sarı, beyaz veya kahverengi pigmentler de oluşabilir. Makrokonidia ayak şeklinde bazal hücrelere ve sivri apikal hücrelere sahiptir ve çoğu 5 bölmeli olmak üzere 3 ila 5 septalıdır.

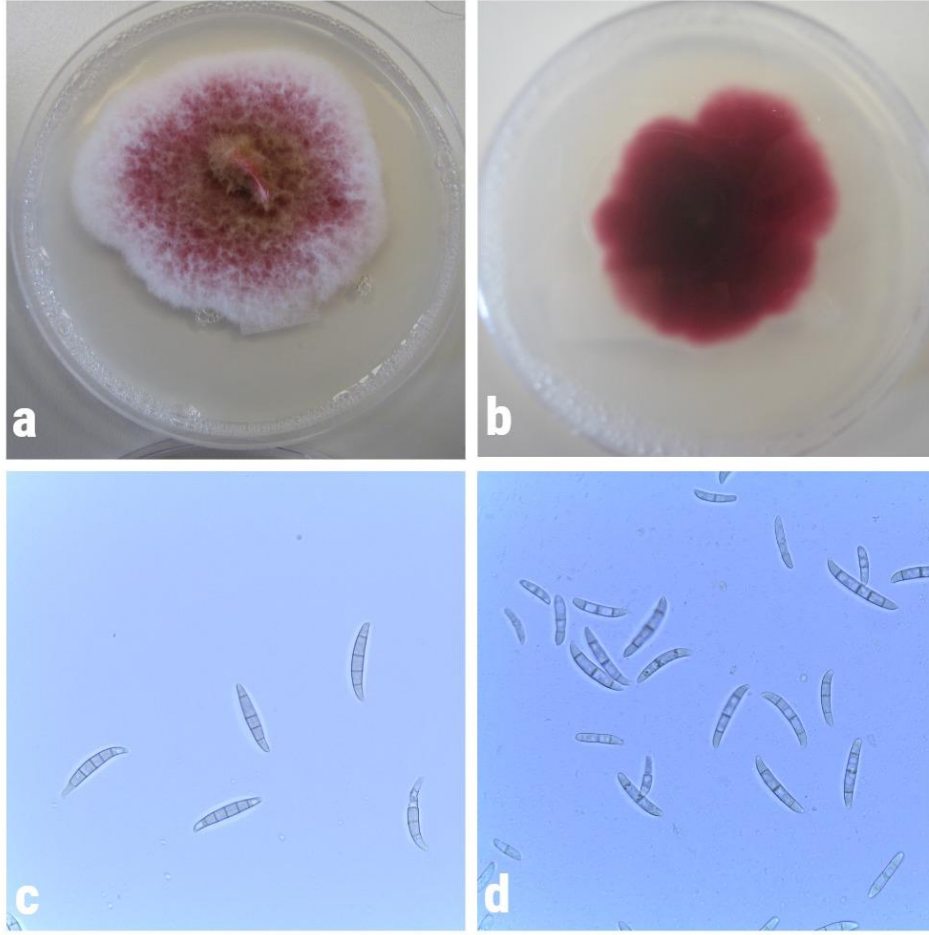
***Fusarium acuminatum* Ellis & Everhart**



Şekil 4.7. *Fusarium acuminatum* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA’ daki makrokonodi (c,d)

Fusarium acuminatum izolatları (249), çoğu izolat bol miktarda pigment içeren miselyum üretmiştir. İzolatların çoğu, bol miktarda bulunan gül ile bordo flokoz miselyumu üretirken, diğerleri çevrede grimsi olan gül ile bordo flokoz miselyum üretmişlerdir. Sporodochia, koloninin merkezinde küçük bir merkezi spor kütle halinde oluşur ve soluk turuncu ile koyu kahverengidir. Üretilen makrokonidialar, belirgin ayak şekilli bazal hücre ve uzun tepe halkalı hücre ile orta derecede kavislidir ve 3 ile 5 septadan oluşmaktadırlar.

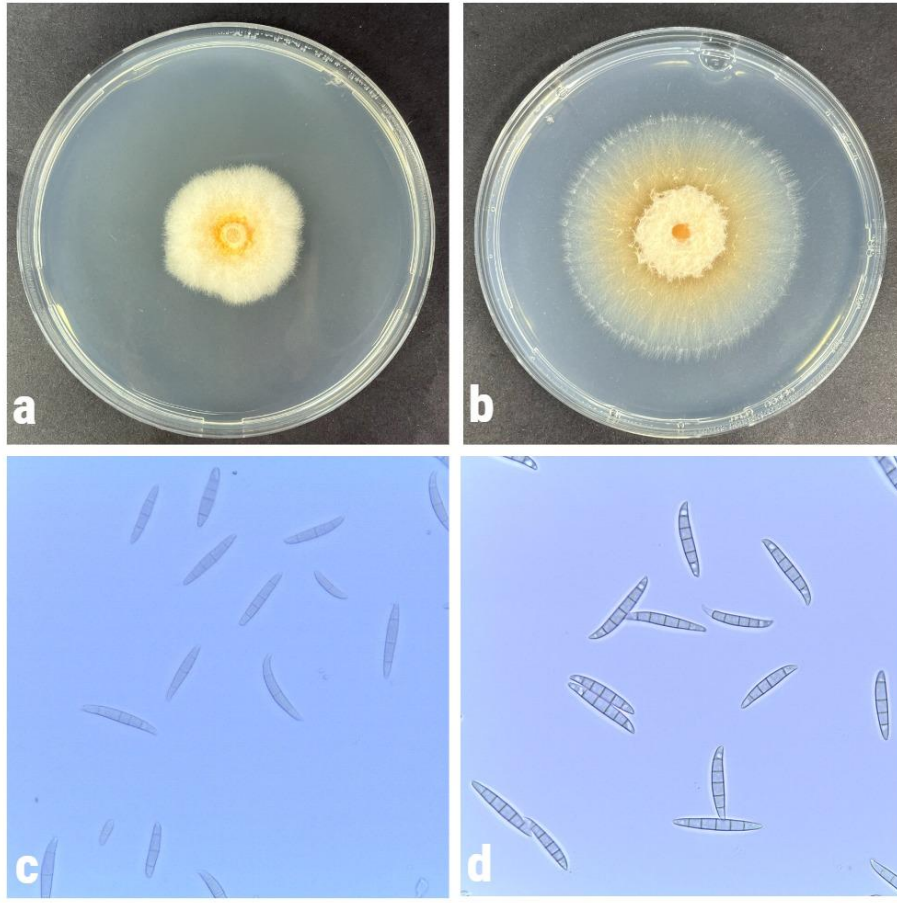
Fusarium flocciferum Corda



Şekil 4.8. *Fusarium flocciferum* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA' daki makrokonidi (c,d)

Tüm *Fusarium flocciferum* izolatları (2), PDA'da neredeyse benzer koloni özellikleri göstermiştir. Merkezde sarı, çevrede beyaz olan seyrek miselyum oluşturdular ve PDA'da kırmızımsı kahverengi pigment üretmişlerdir. *Fusarium flocciferum* izolatları, ayak şekilli bazal hücreli, kavisli 3 ila 5 bölmeli makrokonidia üretmişlerdir.

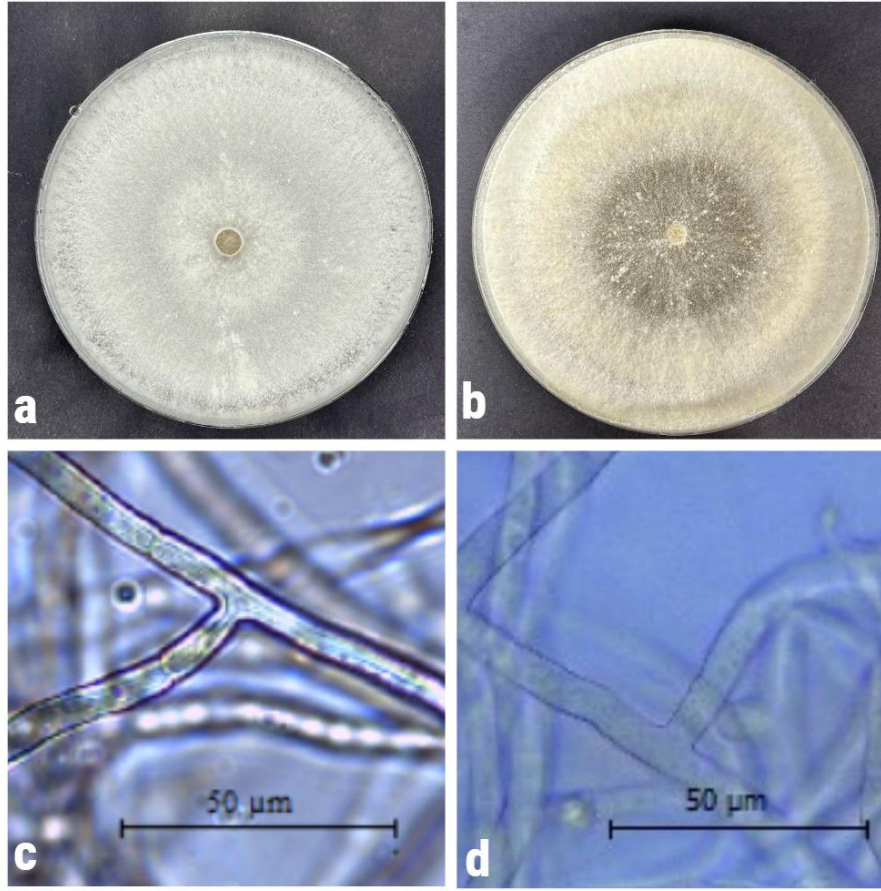
***Fusarium cf. incarnatum* (Subraman. & Rao)**



Şekil 4.9. *Fusarium cf. incarnatum* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), SNA' daki makrokonidi (c,d)

Fusarium cf. incarnatum izolatu (4), PDA'da koloni özelliklerinde farklılıklar göstermiştir. İzolatlardan ikisi bol miktarda açık turuncu hava miselyumu üretmiştir ve PDA'da açık turuncu pigment üretmişlerdir İzolatlardan ikisi merkezde sarı, çevrede krem renkli miselyum oluşturmuştur. Üretilen makrokonidialar 3 ila 5 septalıdır.

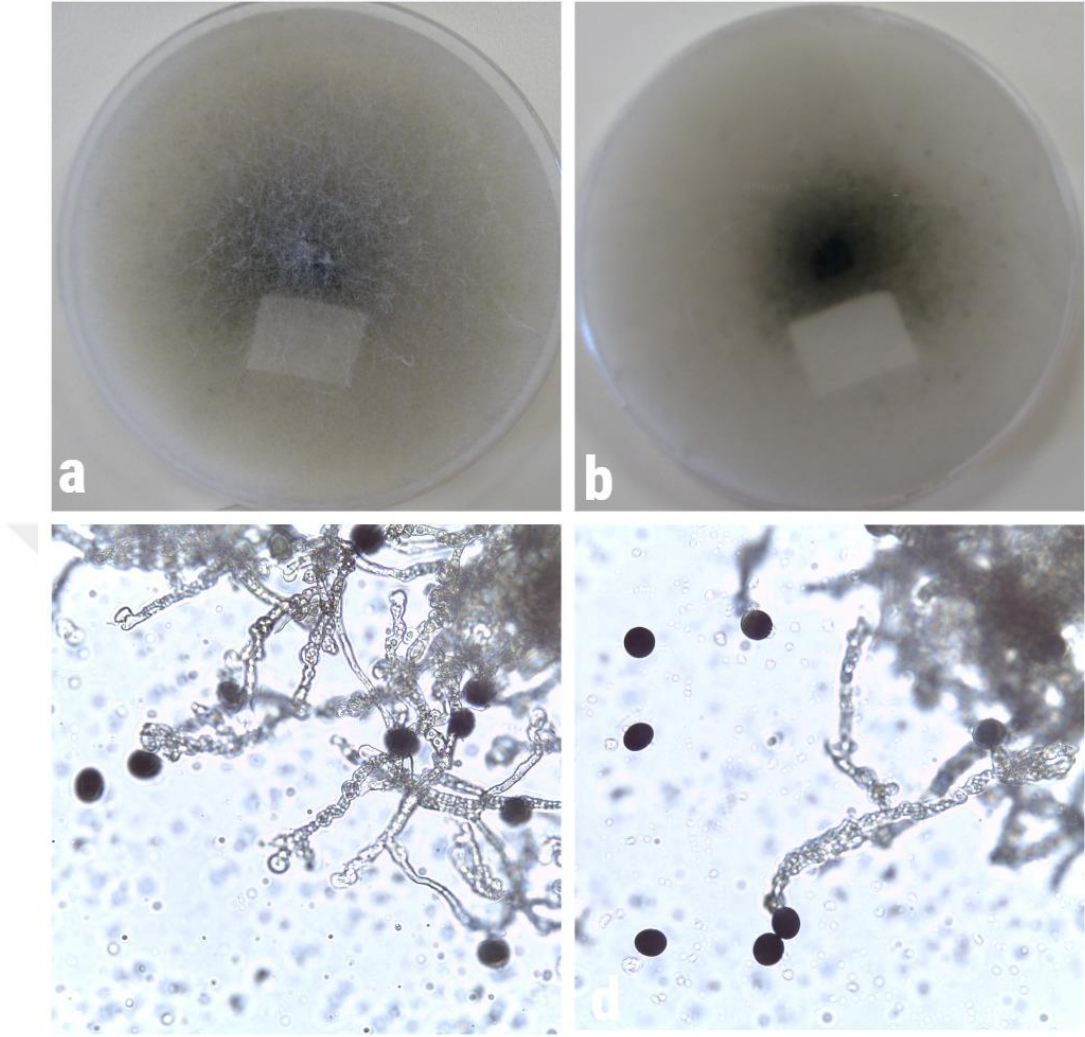
***Rhizoctonia solani* AG2-1 Kühn**



Şekil 4.10. *Rhizoctonia solani* AG2-1 PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki misel oluşumu (c,d)

Rhizoctonia solani AG2-1 izolatları (13), miselleri dik açı oluşturacak şekilde yan dallar oluşturduğu gözlenmiştir. Yan dallar boğumun neredeyse yanında birer bölme bulunur. Miseller gençken seyrek bölmelidir, vakuollü ve renksizdir. Miseller olgunlaştıkça sarımtırak bir görünüm alır ve yaşlandıkça koyu kahverengi renkte görünür.

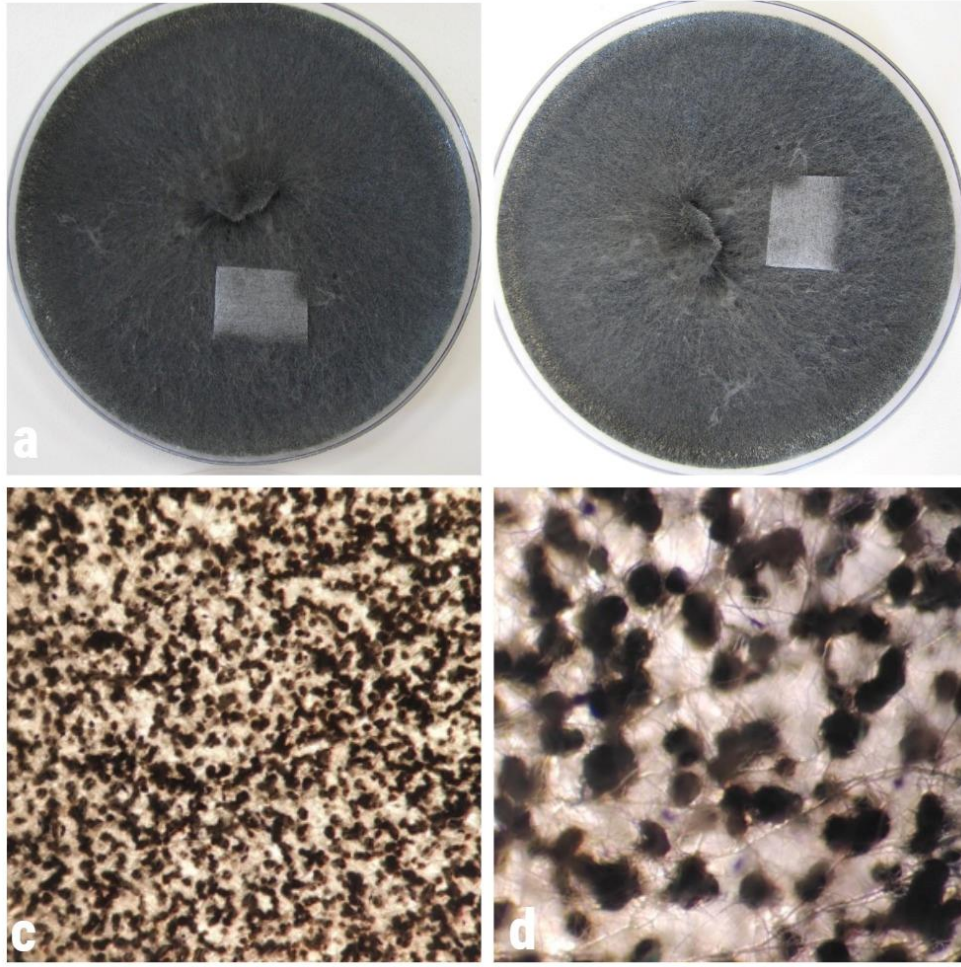
Nigrospora oryzae (Berk.& Broome) Petch



Şekil 4.11. *Nigrospora oryzae* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki konidiospor ve spor başlıkları (c,d)

Nigrospora oryzae izolatlarının (12), miselleri başlangıçta beyaz renkte iken griden siyaha dönüşmüştür. Konidia tek hücreli, siyah, eliptik ve 10 ila 15 um çapında bulunmuştur. İzolatların morfolojik özellikleri *Nigrospora oryzae* (Ellis, 1971) ile benzer şekilde tanımlanmıştır.

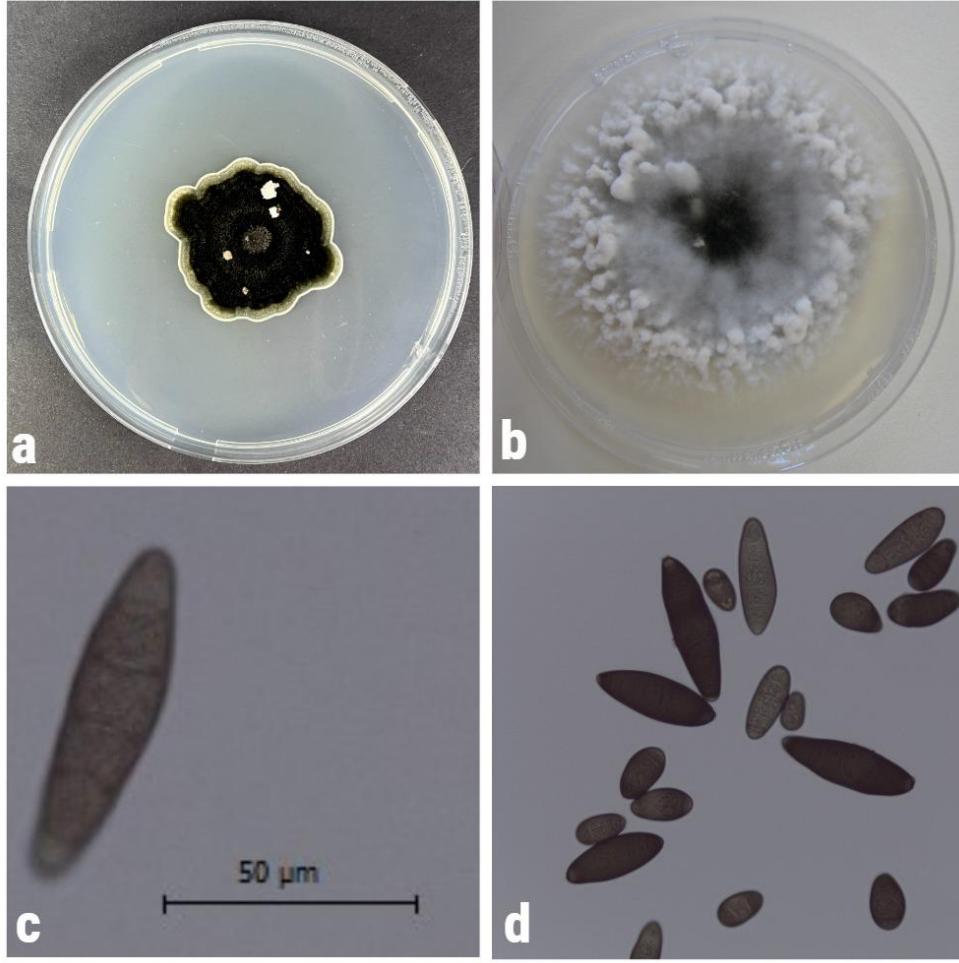
Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid



Şekil 4.12. *Macrophomina phaseolina* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki mikrosklerotileri (c,d)

Macrophomina phaseolina izolatları (8), ince cidarlı hiyalin hifler veya açık kahverengi ile koyu kahverengi hifler ile karakterize edilmiştir. Genç hifler renksiz, fazlaca dallanır ve her bir dal ana dala paraleldir. Etmenin kültür gelişimi genç aşamada açık kahverengiyken olgunlaştıkça koyulaşmıştır. Yaşlanan hiflerin görüntüsü değişiklik gösterir ve bu hiflerin ince bölmeleri ve dik dalları vardır. Hifler üzerinde mikrosklerotlar oluşur. Hifin kompakt bir kütlesi olan mikrosklerotlar 95-260×80-190 µm aralığında değişen, farklı boyutlarda, küresel, oval veya dikdörtgen şeklinde parlak, siyah renkte gözlemlenmiştir. (Ashby, 1927; Goidanich, 1947).

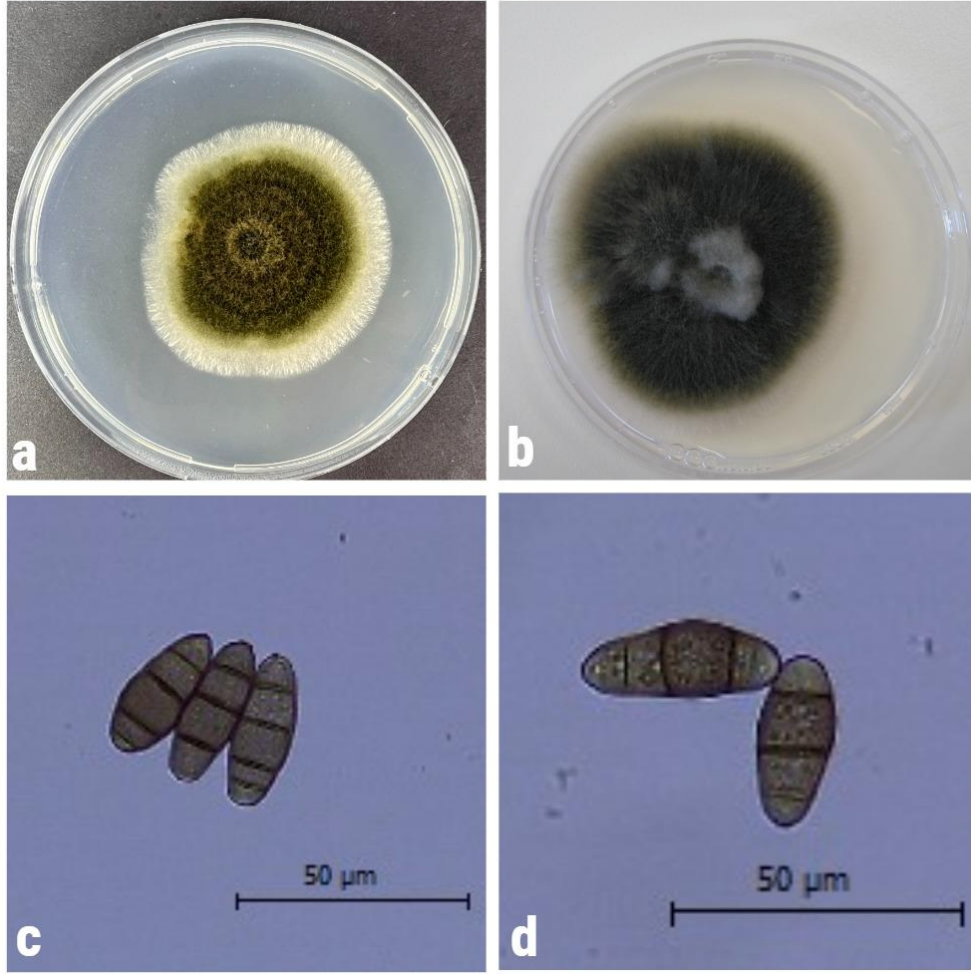
***Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker**



Şekil 4.13. *Bipolaris sorokiniana* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki konidileri (c,d)

Bipolaris sorokiniana izolatlarının çoğu (547), PDA ortamında kültür gelişimi bakımından başlangıçta beyaz ve soluk renkli olup, zamanla yavaş yavaş koyulaşarak zeytin-kahverengi veya grimsi-kahverengiye dönmüşlerdir. Konidileri birkaç hücreli, kahverengi renkte olup, eliptik, düz veya kıvrıktır şeklindedir. Konidilerin $15,8-32 \times 60-118$ µm boyutlarında olup, genellikle 3-10 bölmeli, uçları oval veya silindirik şeklinde olduğu görülmüştür. Konidioforları koyu kahverengi, kısa ve çoğunlukla tek veya gruplar halindedir.

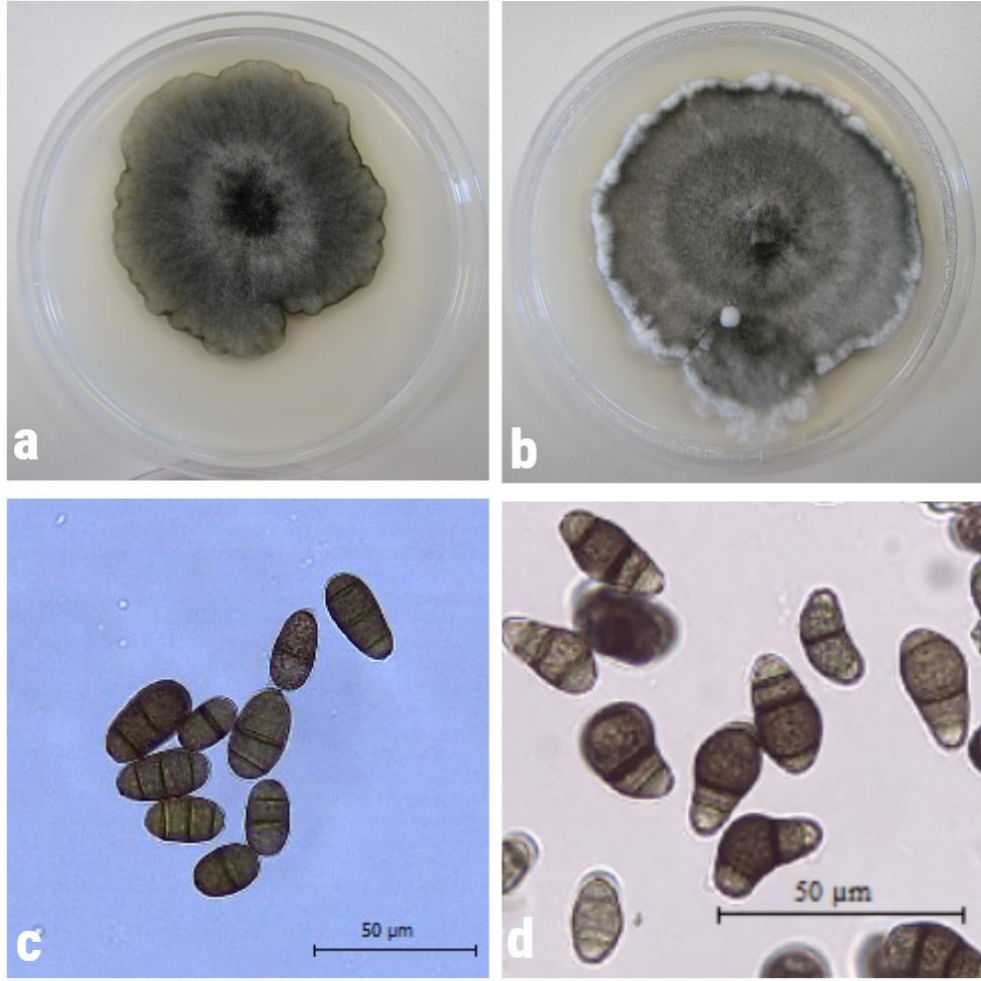
***Curvularia inaequalis* (Shear) Boedijn**



Şekil 4.14. *Curvularia inaequalis* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki konidileri (c,d)

Curvularia inaequalis izolatlarının (11), miselleri başlangıçta beyaz veya soluk olup, olgunlaştıkça hızla koyulaşarak kahverengi veya siyah renkte gözlemlenmişlerdir. Miseller yaşlandıkça ise kadifemsi bir dokuda, koyu yeşil ile grimsi siyah renklerinde görülmüşlerdir. İzolatların konidi şekilleri çoğunlukla düz veya hafif kavisli, renkleri ise soluk kahverengidir. Konidiler 3-4 bölmeli ve $23-36 \times 8-12 \mu\text{m}$ boyutlarında görülmüş olup, izolatların bu morfolojik özellikleri, *Curvularia inaequalis*’in (Shear) tanımlarıyla eşleşmektedir.

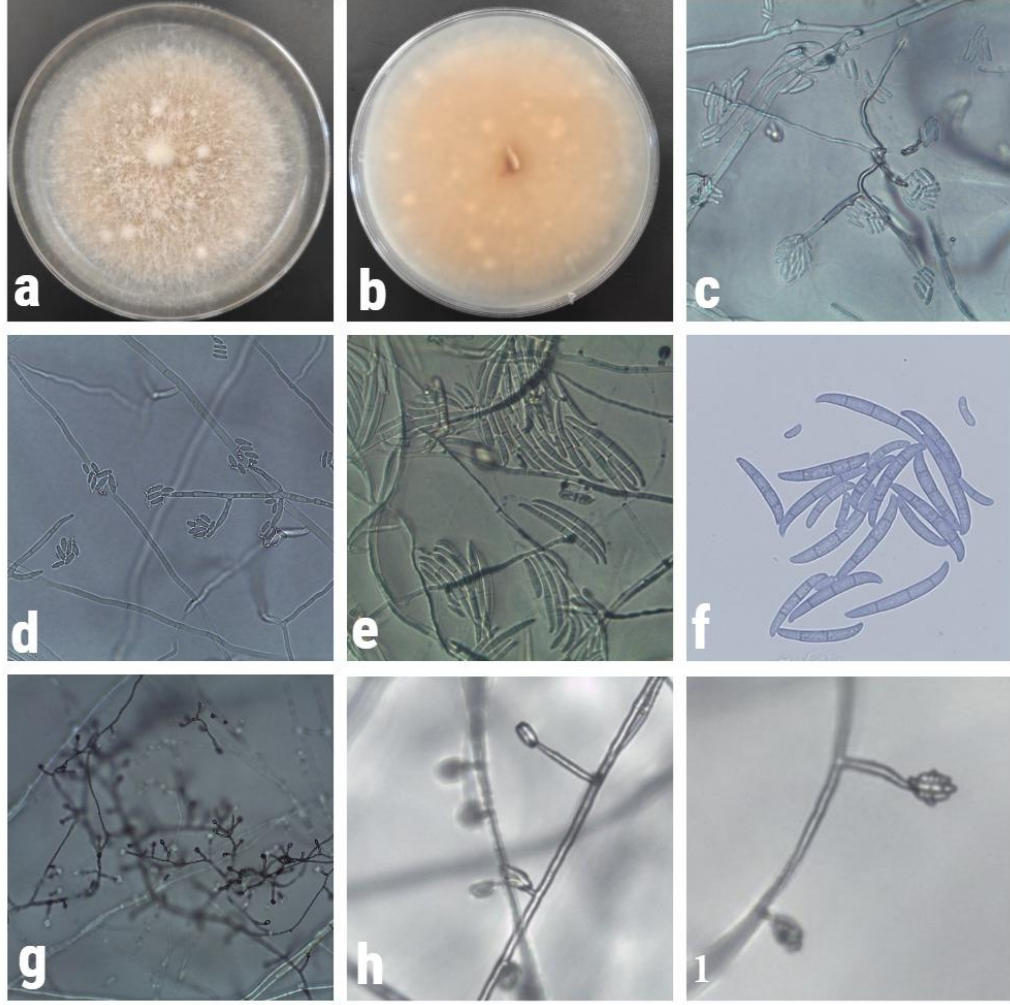
***Curvularia spicifera* (Bain) Subram.**



Şekil 4.15. *Curvularia spicifera* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki konidileri (c,d)

Curvularia spicifera izolatlarının (93), miselleri başlangıçta beyaz veya soluk olup, olgunlaştıkça hızla koyulaşarak kahverengi veya koyu yeşilimsi bir renk almışlardır. *Curvularia spicifera*’nın konidi şekilleri çoğunlukla düz veya hafif kavisli, renkleri ise soluk kahverengidir. Konidiler 2-3 bölmeli ve 19-26×9-12 µm boyutlarında görülmüş olup, izolatların bu morfolojik özellikleri, *Curvularia spicifera*’nın (Bain) Subram tanımlarıyla eşleşmektedir.

Fusarium sp. (*Fusarium kazakhstanicum* Akhmetova, D., Özer, G., Knapp, Kovács & Molnár)



Şekil 4.16. *Fusarium kazakhstanicum* PDA üzerindeki koloni pigmentasyonu (a,b), PDA’ daki phialidleri, makrokonidi ve monofialitler üzerindeki mikrokonidileri (c,i)

Fusarium kazakhstanicum izolatları (3), PDA besiyerinde beyaz, bej veya somon balığı koloni rengi oluşturmuştur. Havai miselyum bol veya seyrek, gevşek veya yoğun şekildedir. Işık döngüsü altında SNA’da sporlanma, soluk turuncu sporodochia yaklaşık 3 hafta sonra değişen koyu/flüoresan beyaz ve tüm izolatlar tarafından üretilen soluk turuncu ila beyaz krem sporodochia üretimi görülmüştür. Aerial monophialides elipsoid, silindirik, hiflerden yanal olarak çıkmıştır. Konidia hiyalin, hilal şeklinde, ince cidarlı, hafif kavisli, 1–5 bölmeli, çoğunlukla 3 bölmeli, ölçüm: 1 bölmeli ($n = 50$) $(18-23-32(-38,5) \times (3,5-5-7(-8,5) \mu\text{m}$ toplam aralık, $27,8 \pm 5 \times 5,7 \pm 0,9 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 2 bölmeli ($n = 20$) $(27-$

)35–46 (–49) $\times$ (4–)5–7(–8,5) μm toplam aralık, $40,6 \pm 5,2 \times 6,2 \pm 1 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 3 bölmeli ($n = 150$) (35–)44–58(–72) $\times$ (5–)5,7–7(–9) μm toplam aralık, $41,8 \pm 6,9 \times 6,5 \pm 0,8 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 4 bölmeli ($n = 50$) (46–)52–68(–77) $\times$ (6–)6,4–7,8(–8,5) μm toplam aralık, $59,9 \pm 7,8 \times 7,2 \pm 0,7 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 5 bölümlü ($n = 10$) (56–)57–80(– 89,5) $\times$ (6–)7–8(–8,5) μm toplam aralık, $68,7 \pm 11,7 \times 7,5 \pm 0,6 \mu\text{m}$ ortalamalarına sahiptir. Sporodochial konidia, ince, düz ila hafif kıvrık, apikal hücre ve farklı bazal ayak hücresi ile tipik olarak 3 veya 4 bölmelidir. ölçüm: 1 bölmeli ($n = 24$) (24,5–)28–37(–43) $\times$ (4,6)5–6,2(–6,5) μm toplam aralık, $32,2 \pm 4,9 \times 5,7 \pm 0,6 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 2 bölmeli ($n = 16$) (29)33–48(–59,5) $\times$ (4,5–)6,7–8(–8,5) μm toplam aralık, $40,7 \pm 7,2 \times 6,9 \pm 1,2 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 3 bölmeli ($n = 147$) (34,5–)42–56(–66,5) $\times$ (5–)6,3–8(–10) μm toplam aralık, $48,9 \pm 7 \times 7,1 \pm 0,9 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 4 bölmeli ($n = 76$) (52–)56–67,6(–75) $\times$ (5–)6,6–8,4(–10) μm toplam aralık, $61,8 \pm 5,9 \times 7,5 \pm 0,9 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 5 bölmeli ($n = 4$) (58–)68–73(–90,5) $\times$ (6,5–)7–8(–9) μm toplam aralık, $72,1 \times 7,6 \mu\text{m}$ ortalamasına sahiptir. Mikrokonidia 0- veya ara sıra 1-bölmeli, elipsoidal veya fusiform monofialidler görülmüştür. Ölçüm: 0-bölmeli ($n = 210$) (7–)10–15(–20) $\times$ (2,5–)3,8–5,5(–7) μm toplam aralık, $12,6 \pm 2,8 \times 4,6 \pm 0,8 \mu\text{m}$ ortalama $\pm$ SD; 1 bölmeli ($n = 14$) (14,5–)15,3–17,5(–21) $\times$ (4–)5–6(–6,5) μm toplam aralık, $16,9 \pm 1,7 \times 5,4 \pm 0,8 \mu\text{m}$ ortalamasına sahiptir.

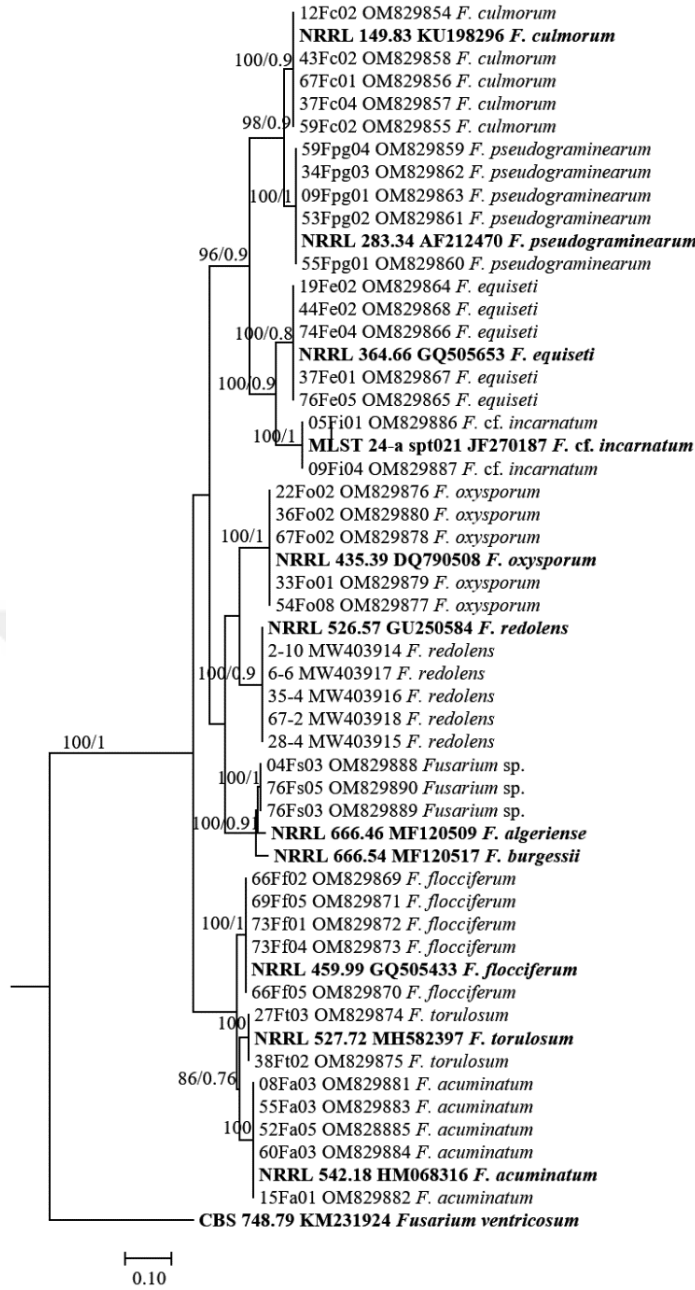
4.2. Moleküler Karakterizasyon

4.2.1. DNA İzolasyonu

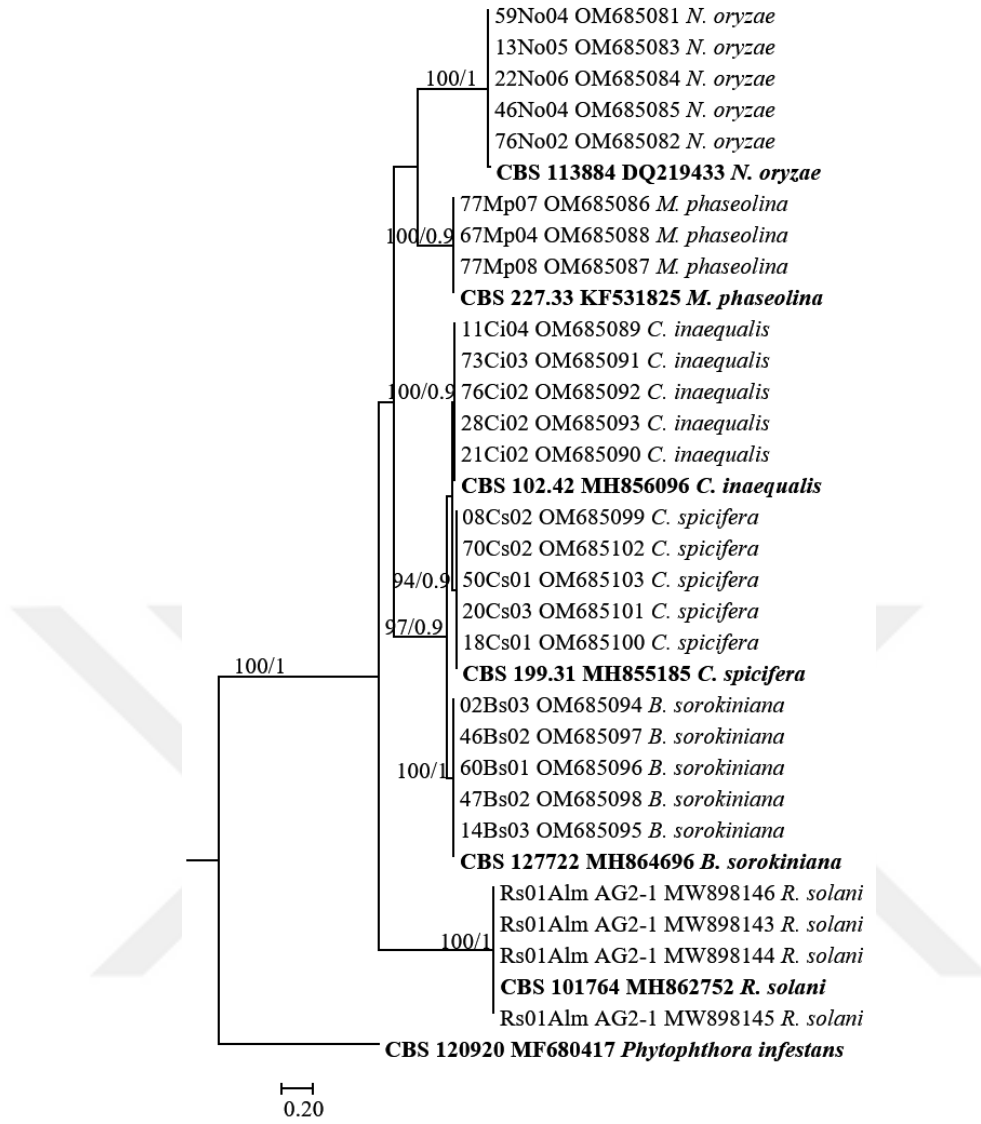
4.2.2. Sekans verileri ve filogenetik ağaç oluşturulması

İzolatların ITS'sine dayalı BLASTn sorguları, izolat dizilerinin GenBank veri tabanındaki karşılık gelen türlerinkilerle %99-100 aynı olduğunu göstermiştir. Diziler, Şekil 4.18.'te gösterilen erişim numaraları altında GenBank'ta depolanmıştır. Çalışılan izolatların ITS dizilerine ve *B. sorokiniana*, *C. spicifera*, *C. inaequalis*, *M. phaseolina* ve *N. oryzae*'nin referans dizilerine dayalı filogenetik analizler GenBank'ta mevcut olan aynı türe ait izolatların dendrogramda net bir şekilde ayrıldığını göstermiştir (Şekil 4.18). *Cochliobolus* anamorflarının GAPDH sekansları da karşılık gelen türlerinkilerle %100 özdeşmektedir ve erişim numaraları OM937370-OM937384 arasında değişmektedir.

Sekiz saha örneğinden, morfolojik olarak benzer on üç *R. solani* izolatu tanımlanmıştır. rDNA'nın ITS bölgesinin dizilimi ile tanımlanan her bir alanı temsil eden izolatların anastomosis grubu tüm izolatlar *R. solani* AG2-1 olarak belirlenmiştir. İzolatların ITS dizileri BLAST algoritması kullanılarak analiz edilmiştir ve diziler GenBank'taki *R. solani* AG2-1 dizileri ile yüzde 100 aynıdır ve tüm izolatlar dendrogramda aynı anastomosis grubu ait izolatlarla kümelenmiştir.



Şekil 4.17. *Fusarium* izolatlarının *EF1-α* dizileri kullanılarak filogenetik ağacı. IQ-TREE kullanılarak maksimum olasılığa ve MrBayes kullanılarak Bayes çıkarımına (BI) dayalı filogenetik ağaç, *Fusarium* izolatlarının *EF1-α* dizileri kullanılarak. Her düğümde, önyükleme değerleri (solda) ve arka olasılıklar (sağda) bulunur. Bu çalışmada referans ve dış grup olarak kullanılan diziler vurgulanmıştır.



Şekil 4.18. Bu çalışmadan elde edilen izolatların ITS sekanslarının birleşik veri setine ve GenBank'ta bulunan türlerin referans sekanslarına dayanan filogenetik analizler, farklı türlere ait izolatlar %100 bootstrap desteği ile ayrılmıştır.

4.3. Patojenisite Testi

Kazakistan'ın kışlık buğday ekilişi yapılan bölgelerinden 65 tarladan toplanan semptomatik buğday örneklerinden toprak kökenli toplamda 1221 fungal izolat izole edilmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen tüm izolatlardan her türü temsili izolatlar seçilerek, hassaslığı ile bilinen Seri 82 buğday çeşidi kullanılarak kron ve seminal köklerin nekrozu ve renk değişikliği, fide yanması ve bodur fideler gibi tipik semptomlara neden olduğu gözlenmiştir. Patojenisite testleri, *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum* izolatlarının eşit derecede agresif patojenler

olduğunu ($P < 0,05$) ve sırasıyla 3,55 ve 3,42'lik bir ortalama taç çürümesi şiddetine sahip olduğunu ortaya koyulmuştur (Tablo 4.3.). Her iki türün birkaç izolatu, bazı saksılarda tüm bitkilerin ölmesiyle önemli hasara neden olmuştur. Öte yandan *B. sorokiniana*, kronlarda ve köklerde orta derecede virulent olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, *R. solani* AG2-1 ve *F. redolens* izolatları, 2'den fazla ortalama taç çürüklüğü şiddeti göstermiştir ve orta derecede virulentliğe sahiptir ancak yukarıda belirtilen türler kadar şiddetli değildir. Bununla birlikte, *C. spicifera*, *C. inaequalis* ve *N. oryzae* izolatları, yalnızca hafif derecede virulenttir ve aşılanmış bitkilerin birkaç kronunda ve seminal köklerinde hafif renk bozulmasına neden olmuştur ve ortalama taç çürüklüğü şiddeti sırası ile 1,94, 1,60 saptanmıştır. *Fusarium acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. flocciferum*, *F. proliferatum*, *F. torulosum*, *F. cf. incarnatum* ve *F. equiseti* ve ayrıca *M. phaseolina* buğday fideleri üzerinde patojenik değil ve kontrol bitkilerinden önemli bir farklılık göstermemiştir.

Tablo 4.3. Çalışmada tanımlanan fungal türlerinin patojenisite değerleri

Türler	İzolat sayısı	Ortalama hastalık skoru*	Ortalama hastalık şiddeti (%)***	Hastalandırma kabiliyeti ****
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	5	3,55±0,60a**	71,09	HV
<i>Fusarium culmorum</i>	5	3,42±0,64a	68,37	HV
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	5	2,83±0,50b	56,60	MV
<i>Fusarium</i> sp.	3	2,25±0,61bc	44,98	MV
<i>Rhizoctonia solani</i> AG2-1	3	2,21±0,54c	44,12	MV
<i>Fusarium redolens</i>	4	2,20±0,41c	44,05	MV
<i>Curvularia spicifera</i>	5	1,94±0,56cd	38,87	MiV
<i>Curvularia inaequalis</i>	5	1,60±0,47de	32,04	MiV
<i>Nigrospora oryzae</i>	5	1,56±0,50de	31,24	MiV
<i>Fusarium acuminatum</i>	5	1,37±0,48e	–	NP
<i>Fusarium oxysporum</i>	5	1,36±0,52e	–	NP
<i>Fusarium flocciferum</i>	5	1,29±0,46e	–	NP
Control	5	1,28±0,41e	–	NP
<i>Macrophomina phaseolina</i>	5	1,26±0,43e	–	NP
<i>Fusarium torulosum</i>	2	1,19±0,29e	–	NP
<i>Fusarium</i> cf. <i>incarnatum</i>	2	1,19±0,29e	–	NP
<i>Fusarium equiseti</i>	5	1,18±0,37e	–	NP

Tablo satırları, hastalık şiddeti puanlarına göre en yüksekten en düşüğe doğru sıralanmıştır. *Tüm izolatlara ait değerlerin ortalamasından standart sapma; **Aynı harfle bağlanmayan düzeyler, $P = 0,05$ 'te Tukey'nin HSD'sine dayalı olarak izolatlar arasında önemli ölçüde farklıdır; ***Ortalama hastalık ortalama skor değerleri kontrol grubu ile aynı grupta olan türler için hastalık şiddeti hesaplanmamıştır; ****HV: Yüksek derecede virulent MV: Orta derecede virulent MiV: hafif derecede virulent NP: patojenik değil.

5. TARTIŞMA

Buğday, dünya çapında çeşitli coğrafi bölgelerde, ortamlarda ve üretim sistemlerinde yetiştirilmektedir. Kazakistan'da, buğdayın toprak altı ve taç dokularında fungal enfeksiyonlarının varlığı ve dağılımı hakkında hiçbir araştırma yapılmamıştır. Bu araştırmada, Kazakistan'ın buğday taç çürüklüğü ile ilişkili patojenlere ilişkin sistematik bir araştırmanın bulguları sunulmaktadır. Küresel gıda üretimi, endişe verici bir şekilde artan nüfus, sınırlı miktarda ekilebilir alan ve dünya buğday ticaretinde önemli olan ülkeler arasındaki çatışmalar tarafından tehdit edilmeye devam etmektedir. Buğday, dünyanın abiyotik ve biyotik bileşenlerini etkileyen hızlı iklim değişikliği nedeniyle ciddi şekilde tehdit altında kalmaktadır. (Adhikari vd., 2022). Bu zorluklardan bazılarını ele alma çabasıyla, dünyanın en büyük buğday üreten ülkelerinde bir dizi patojen türü barındıran buğday üzerindeki taç ve kök çürüklüğü patojenlerinin saha değerlendirmeleri düzenli olarak rapor edilmektedir (Smiley vd., 2005; Agrios, 1997) Ancak dünyanın en büyük on dördüncü buğday üreticisi olan Kazakistan, buğday kök ve taç çürüklüğü hastalıkları hakkında yeterli bilgiye sahip olmamaktadır.

Bitki patolojisinde ve ilgili disiplinlerde fungal bitki patojenlerinin tanımlanması, coğrafi dağılımı ve şiddeti kullanılarak çeşitli araştırma ve uygulama amaçları ve etkili kontrol yöntemlerinin oluşturulması takip edilmektedir. Bu nedenle, bu alanda daha fazla gelişme için temel bir adımı temsil etmektedir. Bu çalışma, Kazakistan'ın Karağandı, Doğu Kazakistan ve Almatı bölgelerinde buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilişkili patojenlerin kapsamlı bir araştırmasını sunan ilk çalışma olmaktadır. Hastalık, incelenen tüm alanlarda geniş bir dağılım göstermiştir ve *Cochliobolus* anamorfları (*B. sorokiniana*, *C. spicifera* ve *C. inaequalis*), *N. oryzae*, 10 *Fusarium* türü, *R. solani* AG2-1 ve *M. phaseolina* bulunmuştur. İzolatların morfolojik özellikleri ile ITS ve *EF1-α* dizilerine dayalı olarak tanımlanmıştır. Örnekleme alanlarının çoğunda en yaygın dört tür sırasıyla %86,15, %66,15, %41,54 ve %35,38 saha insidanslarıyla *B. sorokiniana*, *F. acuminatum*, *F. oxysporum* ve *F. equiseti* olarak bulunmuştur. İlk iki tür için izolasyon sıklığı sırası, en yüksek öneme sahip olan *B. sorokiniana* ve *F. acuminatum* ile, saha insidans değerlerine karşılık gelmiştir. *Fusarium equiseti*, *C. spicifera* ve *F. culmorum* ise *F. oxysporum*'dan daha yüksek izolasyon oranlarına sahip olduğu görülmüştür. Kök ve taç çürüklüğüne neden olan

etmenlerin baskın olduğuna dair çok sayıda Amerika Birleşik Devletleri (Moya-Elizondo, 2011; Smiley vd., 2005); Kanada (Fernandez vd., 2007), Şili (Moya-Elizondo vd., 2015), Avustralya (Alahmad vd., 2018), Türkiye (Bockus vd., 2010; Paulitz vd., 2002; Tunalı vd., 2008; Shikur vd., 2018), Çin (Xu vd., 2018; Zhou vd., 2019) ve Azerbaycan (Özer vd., 2020) rapor bulunmaktadır.

Genel olarak, burada verilen sonuçlar, dünyadaki buğday yetiştirilen bölgelerde yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. *Bipolaris sorokiniana*, yüksek saha insidansı (%86,15) ve köklerden ve taçlardan izolasyon sıklığı (%44,80) ile Kazakistan'da bu hastalık için ana patojen olarak kabul edilmektedir. Çalışılan tüm bölgelerde en yaygın tür olmasına rağmen, tarla insidansı agronomik bölgeye bağlı olarak değişmiştir. *Bipolaris sorokiniana* insidansı, Mathieson vd., (1990) ve (Acharya vd., 2011). bulgularının aksine, bitki Karagandı gibi soğuk toprakta yetiştirildiğinde %96,15'e kadar artmaktadır. Bu oranlar, dünyanın en büyük buğday üreticisi olan ve buğdayda kök ve taç çürüklüğünün baskın bir patojeni olarak tanımlandığı Çin'den bildirilen raporlara oldukça benzer bulunmuştur (tarla insidansı: %82,7 ve köklerden izolasyon sıklığı: %24 ve saplar %33,7) ve bu fungal patojenler aynı zamanda dünya çapında buğdayın en yıkıcı patojenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Acharya vd., 2011; Al-Sadi, 2021; Kumar vd., 2002). *Fusarium acuminatum*, *F. oxysporum* ve *F. equiseti* yüksek saha insidansına (%35,38 ila %66,15) ve izolasyon sıklığına (%4,10 ila %20,39) sahip bulunmuştur ve bu durum birkaç ülkede daha önce taç ve kök çürüklüğü fungal türleri için bildirilenlere benzer gözükmektedir. Colorado ve Wyoming'ın kuru kış buğdayı üreten bölgelerinde, yaygın kök çürüklüğü ile en sık ilişkili fungal patojenler, bulgularımızla eşleşen *B. sorokiniana* ve *F. acuminatum* olarak bildirilmiştir (Hill, 1983). Ancak, *B. sorokiniana* tek başına önemli bir şekilde hastalığa neden olurken, bitkiler her iki fungusla da aşılandığında *F. acuminatum*, *B. sorokiniana*'nın etkilerini önemli ölçüde artırmıştır (Fernandez vd., 1985). Batı Kanada'da en sık saptanan fungal patojenler *B. sorokiniana*, *F. equiseti*, *F. avenaceum*, *F. acuminatum* ve *F. oxysporum* olduğunu belirtmişlerdir (Fernandez vd., 2014). Türkiye'de en yaygın olarak izole edilen *Fusarium* türü, izole edilen tüm *Fusarium* türlerinin %36'sını oluşturan *F. equiseti*'dir (Shikur Gebremariam vd., 2018). Mississippi'de ayrıca *F. acuminatum* ve *F. equiseti* yüksek bir yaygınlığa sahip olmaktadır (Gonzalez vd., 2000). Bulgularımıza benzer şekilde, Sırbistan'dan yüksek oranda *F.*

oxysporum (%27,4) bildirilmiştir (Jevtić vd., 2019). Şaşırtıcı bir şekilde, *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum*'un nispeten düşük saha insidansı (%7,69 ve %18,46) ve izolasyon sıklığı (%0,74 ve %4,75), daha önce taç ve kök çürüklüğü fungal patojenleri için bildirilenlerden farklı bulunmuştur (Alahmad vd., 2018; Bockus vd., 2010; Dyer vd., 2009; Fernandez vd., 2011; Özer vd., 2020; Paulitz vd., 2002; Scherm vd., 2013; Xu vd., 2018b). Özellikle Avustralya (Akinsanmi vd., 2004), Kuzey Amerika (Smiley, 2005) ve Türkiye'de (Shikur Gebremariam vd., 2018) bu hastalıkla ilişkili en yaygın türlerin *F. pseudograminearum* olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, önceki raporlarda *F. culmorum* buğdayın ana patojen türü olarak tanımlanmıştır (Dyer vd., 2009; Smiley vd., 2005). Örnekleme yerlerindeki iklim ve çiftçilik uygulamalarındaki farklılıklar, coğrafi popülasyonlar arasındaki bu eşitsizliklerden sorumlu olabilmektedir. Örneğin, en yaygın iki *Fusarium* türü olan *F. acuminatum* ve *F. oxysporum*'un dağılım özelliği, *F. acuminatum*'un Karağandı'da incelenen tarlaların %92,31'inde bulunduğunu, *F. oxysporum*'un ise Doğu'da daha yaygın olduğunu göstermiştir. Yüzde elliyi aşan insidans oranları ile Kazakistan ve Almatı alanları. *Cochliobolus*'un diğer iki anamorfı (*C. spicifera* ve *C. inaequalis*) de *B. sorokiniana*'ya benzer şekilde Karağandı'da daha yaygın olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, bireysel türlerin dağılımının, belirli ortamlara adaptasyonları ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Backhouse vd., 2002; Dyer vd., 2009; Özer, vd., 2020).

Fusarium spp. Çalışmalar sırasında diğer araştırmacılar tarafından tanımlanamamıştır. Yeni bir tür olduğu düşünülmüştür ve doğrulanmıştır.

Fusarium sp. *EF1-α* dizilerine dayalı filogenetik analize göre izolatların, *F. algeriense* ve *F. burgessii*'yi içeren *F. burgessii* kompleksi içinde buğdayın yeni bir taç çürüklüğü patojeni olması muhtemeldir; ancak bu tezi doğrulamak için daha ayrıntılı morfolojik ve moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

17 fungal türe ait 74 izolatın patojenite sonuçları, farklı fungal patojenlerin neden olduğu buğday fidelerinde görsel renk değişikliği derecelerinde önemli farklılıklar olduğuna dair önceki bulguları doğrulamıştır. Dört *Fusarium* türü (*F. pseudograminearum*, *F. culmorum*, *Fusarium* sp. ve *F. redolens*), *B. sorokiniana*, *R. solani* AG2-1 ve incelenen tüm *Cochliobolus* anamorfları, *B. sorokiniana*, *C. spicifera* ve *C. inaequalis* ve *N. oryzae* taç, gövde tabanı ve kök nekrozuna veya çürümesine neden olma yeteneğine sahiptir. Tüm türler arasında, *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum*, daha önceki gözlemlerle tutarlı olarak,

fidelerin ölümüyle sonuçlanan en virulent patojen olarak bulunmuştur (Akınsanmi vd., 2004; Dyer vd., 2009; Fernandez vd., 2005; Kazan vd., 2018; Smiley, 2005; Zhou vd., 2019b). Yüksek görülme sıklıklarına ek olarak, iyi bilinen bir buğday patojeni olan *B. sorokiniana* izolatlarının yanı sıra *Fusarium* sp., *R. solani* AG2-1 ve *F. redolens*, orta derecede virulent olarak kabul edilmiştir. Ancak, *B. sorokiniana* diğerlerinden daha virulent olduğu belirlenmiştir. *Rhizoctonia solani* AG2-1'e ait izolatlar Kanada (Broders vd., 2014), Amerika Birleşik Devletleri (Jaaffar vd., 2016) ve Azerbaycan'da (Özer vd., 2019) yaygın olarak bulunmasına rağmen, bu araştırmaların çoğunda buğday fidelerinde sadece hafif kök çürüklüğüne neden olduğu bilinmektedir ve bu da bulgularımızı doğrulamaktadır. Bununla birlikte, bazı çelişkili raporlar da mevcuttur. Örneğin, Kanada'da buğday köklerinden sürekli olarak *R. solani* AG2-1 izole edilirken, bu AG izolatları tipik olarak buğdayda hastalığa neden olmamıştır (Melzer vd., 2016). *Fusarium redolens* ise yalnızca Kanada (Esmaili Taheri vd., 2011), Türkiye (Gebremariam vd., 2015) de bir buğday patojeni olarak tanımlanmıştır.

Diğer patojen türleri arasında, *C. spicifera*, *C. inaequalis* ve *N. oryzae*, buğdayın hafif derecede virulent patojenler olarak tanımlanmıştır. Bunların arasında, *C. spicifera* ve *C. inaequalis* de taç ve kök çürüklüğü ile ilişkili olarak izole edilmiştir, ancak daha az ölçüde, bu geçmiş bulgularla tutarlıdır (Gonzalez vd., 2000; Hill, 1983; Paulitz, vd., 2020; Specht vd., 1988). *Nigrospora* spp. daha önce Kanada ve Azerbaycan'da buğdayın renksiz alt taç boğum boğumlarından (Fernandez vd., 2014; Özer vd., 2020b) ve Kazakistan'da tohum mikoflorasından (Eken vd., 2016) *N. oryzae*'den düşük sıklıkta izole edilmiştir. Buğday tacı ve kök dokularından izole edilen bu türlerin buğday fideleri için patojen olduğu ilk kez keşfedilmiştir. Bu türler, virülans seviyeleri ne olursa olsun, patojenik farklılaşma nedeniyle güçlü patojenik türlere dönüşme potansiyeline sahiptir; bu nedenle, bu patojen türlerinin gelecekteki eğilimleri yakından izlenmelidir. Kontrol bitkilerinden, yedi *Fusarium* türü, *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. flocciferum*, *F. torulosum*, *F. cf. incarnatum* ve *F. equiseti* ve *M. phaseolina*, buğday patojenite çalışmalarından elde edilen önceki bulgularla tutarlı olarak patojen olmayan olarak kabul edilmiştir (Özer, vd., 2020b; Shikur Gebremariam vd., 2018; Smiley, 2005; Tunali, vd., 2008).

Bununla birlikte, birkaç araştırma, *F. acuminatum*, *F. equiseti* ve *F. oxysporum* izolatlarının buğdaya farklı seviyelerde patojenik tepki gösterdiğini

bulmuştur ve bu bizim bulgularımızla çelişmektedir (Gonzalez vd., 2000; Smiley vd.,1996).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile Kazakistan'ın ana buğday yetiştirme bölgelerinde yapılan, buğday tacı ve kök çürüklüğü ile ilişkili fungal türlerin ilk kapsamlı değerlendirmesidir. Bu çalışma kapsamında elde edilen fungal türleri, türe özgü PCR ve ITS ve *EF-1 α* lokuslarının DNA dizilimi gibi morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tür düzeyinde değerlendirilmiştir. Tüm türler arasında, *B. sorokiniana*, saha insidansı en yüksek olan, araştırılan tüm bölgelerde en sık izole edilen tür olmuştur; ancak orta derecede virulent bulunmuştur. Bu sırada ikinci sırada yer alan *F. acuminatum*, patojenik değildir. Çok daha düşük frekanslarda ve saha insidansında bulunmalarına rağmen, *F. pseudograminearum* ve *F. culmorum* en ve eşit derecede virulent patojenlerdir. Orta derecede virulent olan diğer patojenler *Fusarium* sp., *R. solani* AG2-1 ve *F. redolens* iken, *C. spicifera*, *C. inaequalis* ve *N. oryzae* hafif derecede virulenttir. Bir başka ilginç sonuç da ülkenin orta kesiminde (Karağandı bölgesi), tüm *Cochliobolus* anamorfları ve *F. acuminatum*'un saha insidansı ve izolasyon sıklığı daha yüksekken, doğu (Doğu Kazakistan bölgesi) ve güneydoğu (Almatı bölgesi) bölgelerinde, diğer tüm türler daha yüksek oranlara sahip olmaktadır. Kazakistan'da bu durumla ilgili fungal popülasyonları hakkında daha önce kapsamlı bir çalışma yapılmamıştır.

Proje kapsamındaki çalışma sonuçları uluslararası dergilerde yayınlanarak dünya literatürüne katkı sağlamıştır:

- Bozoğlu, T., Derviş, S., Imren, M., Amer, M., Özdemir, F., Paulitz, T. C., & Özer, G. (2022). Fungal pathogens associated with crown and root rot of wheat in central, eastern, and southeastern Kazakhstan. *Journal of Fungi*, 8(5), 417.
- Bozoğlu, T., Özer, G., Imren, M., Paulitz, T. C., & Dababat, A. A. (2021). First report of crown rot caused by *Fusarium redolens* on wheat in Kazakhstan. *Plant Disease*, 105(10), 3302.
- Özer, G., Imren, M., Bozoğlu, T., & Dababat, A. A. (2021). First report of *Rhizoctonia solani* AG2-1 on roots of wheat in Kazakhstan. *Plant Disease*, 105(11), 3744.

Ayrıca sonuçlarımız, Kazakistan'ın çeşitli agronomik bölgelerinde

buğdayda kök ve taç çürüklüğü fungal patojenlerinin yönetimi için kılavuzlar geliştirmede faydalı olacaktır. Ülkenin buğday yetiştiren diğer bölgelerinde taç ve kök hastalıkları ile ilişkili değişen patojen kompozisyonlarını açıklamak için benzer çalışmalara ihtiyaç olduğu anlamına gelmektedir. Bu araştırma, patojen türleri kontrol altında tutmak için Kazakistan'daki çeşitli tarımsal bölgelerde buğdayda kök ve taç çürüklüğü funguslarının yönetimine yönelik kılavuzların oluşturulmasına katkıda bulunacaktır.



7. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında APA atıf sistemi kullanılmıştır.)

- Acharya, K., Dutta, A. K., & Pradhan, P. (2011). 'Bipolaris sorokiniana'(Sacc.) Shoem.: The most destructive wheat fungal pathogen in the warmer areas. *Australian Journal of Crop Science*, 5(9), 1064-1071.
- Adhikari, S., Kumari, J., Jacob, S. R., Prasad, P., Gangwar, O. P., Lata, C., & Kumar, S. (2022). Landraces-potential treasure for sustainable wheat improvement. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 69(2), 499-523.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Elsevier.
- Akinsanmi, O. A., Mitter, V., Simpfendorfer, S., Backhouse, D., & Chakraborty, S. (2004). Identity and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from wheat fields in Queensland and northern New South Wales. *Australian Journal of Agricultural Research*, 55(1), 97-107.
- Al-Sadi, A. M. (2021). Bipolaris sorokiniana-induced black point, common root rot, and spot blotch diseases of wheat: A review. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 584899.
- Aktaş, H., Kınacı, E., Yıldırım, A. F., Sayın, L., & Kural, A. (1999). Konya yöresinde hububatta sorun olan kök ve kök boğazı çürüklüğü etmenlerinin hububatta verim komponentlerine etkileri ve mücadelesi üzerinde araştırmalar. *Orta Anadolu'da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu*, 8(11), 392-403.
- Aktas, H., Tunalı, B., Bostancıoğlu, H., & Bayram, E. (1997). Reaction of some wheat varieties and lines against to root and foot-rot disease agents in the field and laboratory conditions. *Journal of Turkish Phytopathology*, 26, 61-68.
- Alahmad, S., Simpfendorfer, S., Bentley, A. R., & Hickey, L. T. (2018). Crown rot of wheat in Australia: *Fusarium pseudograminearum* taxonomy, population biology and disease management. *Australasian Plant Pathology*, 47, 285-299.
- Araz, A., Bayram, M. E., & Babaroğlu, E. N. (2009). Sakarya ilinde bazı buğday çeşitlerinde kök ve kök boğazı hastalıklarına neden olan etmenlerin belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 49(1), 31-43.
- Bach, E. E., Barros, B. C., & Kimati, H. (2003). Induced Resistance against Bipolaris bicolor, *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici-repentis*'in Wheat Leaves by Xanthan Gum and Heat-Inactivated Conidial Suspension. *Journal of Phytopathology*, 151(7-8), 411-418.
- Backhouse, D., Abubakar, A. A., Burgess, L. W., Dennis, J. I., Hollaway, G. J., Wildermuth, G. B., Wallwork, H., & Henry, F. J. (2004). Survey of *Fusarium* species associated with crown rot of wheat and barley in eastern Australia. *Australasian Plant Pathology*, 33, 255-261.
- Backhouse, D., & Burgess, L. W. (2002). Climatic analysis of the distribution of *Fusarium graminearum*, *F. pseudograminearum* and *F. culmorum* on cereals in Australia. *Australasian Plant Pathology*, 31, 321-327.
- Bakonyi, J., Aponyi, I., & Fischl, G. (1997). Diseases caused by *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici-repentis* in Hungary. *Helminthosporium Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot*, 80-85.

- Bateman, G. L., Murray, G., Gutteridge, R. J., & Coşlkun, H. (1998). Effects of method of straw disposal and depth of cultivation on populations of *Fusarium* spp. in soil and on brown foot rot in continuous winter wheat. *Annals of Applied Biology*, 132(1), 35-47.
- Bentley, A. R., Crome, M. G., Farrokhi-Nejad, R., Leslie, J. F., Summerell, B. A., & Burgess, L. W. (2006). *Fusarium* crown and root rot pathogens associated with wheat and grass stem bases on the South Island of New Zealand. *Australasian Plant Pathology*, 35, 495-502.
- Bockus, W. W., Bowden, R. L., Hunger, R. M., Morrill, W. L., Murray, T. D., & Smiley, R. W. (2010). Compendium of wheat diseases and pests (No. Ed. 3). *American Phytopathological Society*.
- Broders, K. D., Parker, M. L., Melzer, M. S., & Boland, G. J. (2014). Phylogenetic diversity of *Rhizoctonia solani* associated with canola and wheat in Alberta, Manitoba, and Saskatchewan. *Plant Disease*, 98(12), 1695-1701.
- Burgess, L. W., Wearing, A. H., & Toussoun, T. A. (1975). Surveys of *Fusaria* associated with crown rot of wheat in eastern Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 26(5), 791-799.
- Burgess, Lester W., Backhouse, D., Summerell, B. A., & Swan, L. J. (2001). Crown rot of wheat. *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*, 271-294.
- Cook, R. J. (1981). *Fusarium* diseases of wheat and other small grains in North America. *Fusarium Diseases, Biology, and Taxonomy*, 39-52.
- Cook, R. James. (1968). *Fusarium* root and foot rot of cereals in Pacific Northwest. *Phytopathology*, 58(2), 127.
- Cook, R. James. (1980). *Fusarium* foot rot of wheat and its control in the Pacific Northwest. *Plant Dis*, 64(12), 1061-1066.
- Cook, R. James, & Haglund, W. A. (1991). Wheat yield depression associated with conservation tillage caused by root pathogens in the soil not phytotoxins from the straw. *Soil Biology and Biochemistry*, 23(12), 1125-1132.
- Daamen, R. A., Stubbs, R. W., & Stol, W. (1992). Surveys of cereal diseases and pests in the Netherlands. 4. Occurrence of powdery mildew and rusts in winter wheat. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98, 301-312.
- Dyer, A. T., Johnston, R. H., Hogg, A. C., & Johnston, J. A. (2009). Comparison of pathogenicity of the *Fusarium* crown rot (FCR) complex (*F. culmorum*, *F. pseudograminearum* and *F. graminearum*) on hard red spring and durum wheat. *European Journal of Plant Pathology*, 125, 387-395.
- Eken, C., Spanbayev, A., Tulegenova, Z., & Yechshzhanov, T. (2016). First report of *Nigrospora oryzae* on wheat in Kazakhstan. *Plant Disease*, 100(4), 861.
- Ellis, M. B. (1971). Dematiaceous hyphomycetes. *Dematiaceous Hyphomycetes*.
- Esmaeili Taheri, A., Hamel, C., Gan, Y., & Vujanovic, V. (2011). First report of *Fusarium redolens* from Saskatchewan and its comparative pathogenicity. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 33(4), 559-564.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT database. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Son erişim tarihi 01.06.2023
- Fedel-Moen, R., & Harris, J. R. (1987). Stratified distribution of *Fusarium* and *Bipolaris* on wheat and barley with dryland root rot in South Australia. *Plant Pathology*, 36(4), 447-454.

- Fernandez, M. R., Basnyat, P., & Zentner, R. P. (2007). Response of wheat root pathogens to crop management in eastern Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Science*, 87(4), 953-963.
- Fernandez, J. A., Wofford, D. S., & Horton, J. L. (1985). Augmentation of wheat common root rot by *Fusarium acuminatum*. *Mycopathologia*, 90, 177-179.
- Fernandez, M. R., & Chen, Y. (2005). Pathogenicity of *Fusarium* species on different plant parts of spring wheat under controlled conditions. *Plant Disease*, 89(2), 164-169.
- Fernandez, M. R., & Conner, R. L. (2011). Root and crown rot of wheat. *Prairie Soils Crops J*, 4, 151-157.
- Fernandez, M. R., Fox, S. L., Hucl, P., Singh, A. K., & Stevenson, F. C. (2014). Root rot severity and fungal populations in spring common, durum and spelt wheat, and Kamut grown under organic management in western Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, 94(5), 937-946.
- Gebremariam, E. S., Karakaya, A., Erginbas-Orakci, G., Dababat, A. A., Sharma-Poudyal, D., & Paulitz, T. C. (2015). First report of *Fusarium redolens* causing crown rot of wheat (*Triticum* spp.) in Turkey.
- Glynn, N. C., Hare, M. C., Parry, D. W., & Edwards, S. G. (2005). Phylogenetic analysis of *EF-1* alpha gene sequences from isolates of *Microdochium nivale* leads to elevation of varieties majus and nivale to species status. *Mycological Research*, 109(8), 872-880.
- Gonzalez, M. S., & Trevathan, L. E. (2000). Identity and pathogenicity of fungi associated with root and crown rot of soft red winter wheat grown on the upper coastal plain land resource area of Mississippi. *Journal of Phytopathology*, 148(2), 77-85.
- Gulyaeva, E. I., Kovalenko, N. M., Shamanin, V. P., Tyunin, V. A., Shreyder, E. R., Shaydayuk, E. L., & Morgounov, A. I. (2018). Population structure of leaf pathogens of common spring wheat in the West Asian regions of Russia and North Kazakhstan in 2017.
- Gulyaeva, E., Yusov, V., Rosova, M., Mal'chikov, P., Shaydayuk, E., Kovalenko, N., Wanyera, R., Morgounov, A., Yskakova, G., & Rsaliyev, A. (2020). Evaluation of resistance of spring durum wheat germplasm from Russia and Kazakhstan to fungal foliar pathogens. *Cereal Research Communications*, 48, 71-79.
- Hekimhan, H., Bagci, S. A., Nicol, J., Arisoy, R. Z., Taner, S., & Sahin, S. (2004). Dryland root rot: A major threat to winter cereal production under sub-optimal growing conditions. *4th International Crop Science Congress*, 27.
- Holliday, P., & Punithalingam, E. (1970). *Macrophomina phaseolina*. [Descriptions of Fungi and Bacteria]. *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, 28, 275.
- Inch, S., & Gilbert, J. (2003). The incidence of *Fusarium* species recovered from inflorescences of wild grasses in southern Manitoba. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 25(4), 379-383.
- Inglis, D. A., & Cook, R. J. (1986). Persistence of chlamydospores of *Fusarium culmorum* in wheat field soils of eastern Washington. *Phytopathology*, 76(11), 1205-1208.
- Jaaffar, A. K. M., Paulitz, T. C., Schroeder, K. L., Thomashow, L. S., & Weller, D. M. (2016). Molecular characterization, morphological characteristics, virulence, and geographic distribution of *Rhizoctonia* spp. in Washington state. *Phytopathology*, 106(5), 459-473.
- Jevtić, R., Stošić, N., Župunski, V., Lalošević, M., & Orbović, B. (2019). Variability of stem-base infestation and coexistence of *Fusarium* spp. causing crown rot of winter wheat in Serbia. *The Plant Pathology Journal*, 35(6), 553.

- Kazan, K., & Gardiner, D. M. (2018). Fusarium crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in cereal crops: recent progress and future prospects. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1547-1562.
- Kokhmetova, A., Kremneva, O., Volkova, G., Atishova, M., & Sapakhova, Z. (2017). Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot. *Journal of Plant Pathology*, 161-167.
- Kokhmetova, A. M., Atishova, M. N., Kumarbayeva, M. T., & Leonova, I. N. (2019). Phytopathological screening and molecular marker analysis of wheat germplasm from Kazakhstan and CIMMYT for resistance to tan spot. *Вавиловский Журнал Генетики и Селекции*, 23(7), 879-886.
- Kumar, J., Schäfer, P., Hückelhoven, R., Langen, G., Baltruschat, H., Stein, E., & Kogel, K. H. (2002). *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular plant pathology*, 3(4), 185-195.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547.
- Kuttibayevich, S. S., Slyamkhanovna, T. Z., Zharakovich, M. M., Tontaevna, Y. A., Mukashevna, T. O., Amirzhanovna, I. G., Klara, I., Gulnara, N., Dossym, B., & Faritovna, S. G. (2019). CLASSIFICATION OF WHEAT YELLOW RUST POPULATIONS IN THE CONDITIONS OF KAZAKHSTAN. *Научный Журнал «Вестник НАН РК»*, 1, 263-268.
- Laraba, I., Keddad, A., Bouregghda, H., Abdallah, N., Vaughan, M. M., Proctor, R. H., Busman, M., & O'Donnell, K. (2017). *Fusarium algeriense*, sp. nov., a novel toxigenic crown rot pathogen of durum wheat from Algeria is nested in the *Fusarium burgessii* species complex. *Mycologia*, 109(6), 935-950.
- Laurence, M. H., Summerell, B. A., Burgess, L. W., & Liew, E. C. Y. (2011). *Fusarium burgessii* sp. nov. representing a novel lineage in the genus *Fusarium*. *Fungal Diversity*, 49, 101-112.
- Ledingham, R. J., Atkinson, T. G., Horricks, J. S., Mills, J. T., Piening, L. J., & Tinline, R. D. (1973). Wheat losses due to common root rot in the prairie provinces of Canada, 1969-71. *Canadian Plant Disease Survey*, 53, 113-122.
- Leslie, John F, & Summerell, B. A. (2008). *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons.
- Li, Z., Fang, G., Chen, Y., Duan, W., & Mukanov, Y. (2020). Agricultural water demands in Central Asia under 1.5 °C and 2.0 °C global warming. *Agricultural Water Management*, 231.
- Lucas, P., Smiley, R. W., & Collins, H. P. (1993). Decline of Rhizoctonia root rot on wheat in soils infested with *Rhizoctonia solani* AG-8. *Phytopathology*, (83), 260-265.
- MacNish, G. C. (1988). Changes in take-all (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*), Rhizoctonia root rot (*Rhizoctonia solani*) and soil pH in continuous wheat with annual applications of nitrogenous fertiliser in Western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 28(3), 333-341.
- Mathieson, J. T., Rush, C. M., Bordovsky, D., Clark, L. E., & Jones, O. R. (1990). Effects of tillage on common root rot of wheat in Texas. *Plant Disease*, 74(12), 1006-1008.
- Melzer, M. S., Yu, H., Labun, T., Dickson, A., & Boland, G. J. (2016). Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. from field crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38(3), 367-374.

- Mitter, V., Zhang, M. C., Liu, C. J., Ghosh, R., Ghosh, M., & Chakraborty, S. (2006). A high-throughput glasshouse bioassay to detect crown rot resistance in wheat germplasm. *Plant Pathology*, 55(3), 433-441.
- Morejon, K. R., Moraes, M. H. D., & Bach, E. E. (2006). Identification of *Bipolaris bicolor* and *Bipolaris sorokiniana* on wheat seeds (*Triticum aestivum* L.) in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, 247-250.
- Moya-Elizondo, E., Arismendi, N., Castro, M. P., & Doussoulain, H. (2015). Distribution and prevalence of crown rot pathogens affecting wheat crops in southern Chile. *Chilean journal of agricultural research*, 75(1), 78-84.
- Moya-Elizondo, E. A., Rew, L. J., Jacobsen, B. J., Hogg, A. C., & Dyer, A. T. (2011). Distribution and prevalence of Fusarium crown rot and common root rot pathogens of wheat in Montana. *Plant Disease*, 95(9), 1099-1108.
- Nicol, J. M., Rivoal, R., Trethowan, R. M., Van Ginkel, M., Mergoum, M., & Singh, R. P. (2001). CIMMYT's approach to identify and use resistance to nematodes and soil-borne fungi, in developing superior wheat germplasm. *Wheat in a Global Environment: Proceedings of the 6th International Wheat Conference, 5-9 June 2000, Budapest, Hungary*, 381-389.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E., & Nirenberg, H. I. (1998). Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90(3), 465-493.
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., & Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(5), 2044-2049.
- Ogoshi, A., Cook, R. J., & Bassett, E. N. (1990). *Rhizoctonia* species and anastomosis groups causing root rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. *Phytopathology*, 80(9), 784-788.
- Özer, G., Göre, M. E., İmren, M., Khalilova, S., Muminjanov, H., & Dababat, A. A. (2019). First report of *Rhizoctonia solani* AG-4 HGII and AG-2-1 causing root rot of wheat in Azerbaijan. *Plant Disease*, 103(8), 2132.
- Özer, G., İmren, M., Paulitz, T. C., Bayraktar, H., Muminjanov, H., & Dababat, A. A. (2020). First report of crown rot caused by *Fusarium algeriense* on wheat in Azerbaijan. *Plant Disease*, 104(2), 582.
- Özer, G., Göksel, Paulitz, T. C., Imren, M., Alkan, M., Muminjanov, H., & Dababat, A. A. (2020b). Identity and pathogenicity of fungi associated with crown and root rot of dryland winter wheat in Azerbaijan. *Plant Disease*, 104(8), 2149-2157.
- Özer, G., Erper, İ., Yıldız, Ş., Bozoğlu, T., Zholdosbekova, S., Alkan, M., ... & Derviş, S. (2023). Fungal Pathogens Associated with Crown and Root Rot in Wheat-Growing Areas of Northern Kyrgyzstan. *Journal of Fungi*, 9(1), 124.
- Paulitz, T. C., Smiley, R. W., & Cook, R. J. (2002). Insights into the prevalence and management of soilborne cereal pathogens under direct seeding in the Pacific Northwest, USA. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24(4), 416-428.
- Pérez-Méndez, N., Miguel-Rojas, C., Jimenez-Berni, J. A., Gomez-Candon, D., Pérez-de-Luque, A., Ferreres, E., Catala-Forner, M., Villegas, D., & Sillero, J. C. (2022). Plant breeding and management strategies to minimize the impact of water scarcity and biotic stress in cereal crops under Mediterranean conditions. *Agronomy*, 12(1), 75.

- Postic, J., Cosic, J., Vrandecic, K., Jurkovic, D., Saleh, A. A., & Leslie, J. F. (2012). Diversity of *Fusarium* species isolated from weeds and plant debris in Croatia. *Journal of Phytopathology*, 160(2), 76-81.
- Ray, J. D., Burgess, T., & Lanoiselet, V. M. (2010). First record of *Neoscytalidium dimidiatum* and *N. novaehollandiae* on *Mangifera indica* and *N. dimidiatum* on *Ficus carica* in Australia. *Australasian Plant Disease Notes*, 5(1), 48-50.
- Rsaliyev, A. S., & Rsaliyev, S. S. (2018). Principal approaches and achievements in studying race composition of wheat stem rust. *Vavilovskij Zbrev~ Urnal Genetiki i Selekcii/Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 22(8), 967-977.
- Rsaliyev, A., Yskakova, G., Maulenbay, A., Zakarya, K., & Rsaliyev, S. (2020). Virulence and race structure of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Kazakhstan. *Plant Protection Science*, 56(4), 275-284.
- Saremi, H., Ammarellou, A., & Jafary, H. (2007). Incidence of crown rot disease of wheat caused by *Fusarium pseudograminearum* as a new soil born fungal species in northwest Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 10(20), 3606-3612.
- Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. (2013). *Fusarium culmorum*: Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular Plant Pathology*, 14(4), 323-341.
- Shewry, P. R. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60(6), 1537-1553.
- Shikur Gebremariam, E., Sharma-Poudyal, D., Paulitz, T. C., Erginbas-Orakci, G., Karakaya, A., & Dababat, A. A. (2018a). Identity and pathogenicity of *Fusarium* species associated with crown rot on wheat (*Triticum* spp.) in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 150, 387-399.
- Sivanesan, A. (1987). *Graminicolous species of Bipolaris, Curvularia, Drechslera, Exserohilum and their teleomorphs*. CAB International.
- Sleper, D. A., & Poehlman, J. M. (2006). *Breeding field crops*. (Issue Ed. 5). Blackwell publishing.
- Smiley, R. W. (2005). *Plant-parasitic nematodes affecting wheat yield in the Pacific Northwest*.
- Smiley, R. W., Gourlie, J. A., Easley, S. A., & Patterson, L. M. (2005). Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. *Plant Disease*, 89(9), 949-957.
- Smiley, R. W., & Patterson, L.-M. (1996). Pathogenic fungi associated with *Fusarium* foot rot of winter wheat in the semiarid Pacific Northwest. *Plant Disease*, 80(8), 944-949.
- Specht, L. P., & Rush, C. M. (1988). Fungi associated with root and foot rot of winter wheat and populations of *Cochliobolus sativus* in the Texas Panhandle. *Plant Disease*, 72(11), 959-963.
- Snyder's, P. C. N. (1983). Fungi associated with common root rot of winter wheat in Colorado and Wyoming. *Plant Disease*, 795.
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512-526.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting,

- position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673-4680.
- Tunali, B., Yildirim, A., Aime, M. C., & Hernández, J. R. (2006). First report of rust disease caused by *Uromyces galegae* on *Galega officinalis* in Turkey. *Plant Disease*, 90(4), 525.
- Tunali, Berna, Nicol, J. M., Hodson, D., Uçkun, Z., Büyük, O., Erdurmuş, D., Hekimhan, H., Aktaş, H., Akbudak, M. A., & Bağcı, S. A. (2008). Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. *Plant Disease*, 92(9), 1299-1306.
- Tunali, Berna, Nicol, J. M., Hodson, D., Uçkun, Z., Büyük, O., Erdurmuş, D., Hekimhan, H., Aktaş, H., Akbudak, M. A., & Bağcı, S. A. (2008). Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. *Plant Disease*, 92(9), 1299-1306.
- Ünal, F., Bayraktar, H., Yıldırım, A. F., Akan, K., & Dolar, F. S. (2015). Determination of *Rhizoctonia* species and anastomosis groups in wheat production areas in Kayseri, Kırşehir, Nevşehir and Aksaray provinces. *Bitki Koruma Bülteni*, 55(2), 107-122.
- Wallwork, H. (2000). *Cereal root and crown diseases*. Grains Research and Development Corporation.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 18(1), 315-322.
- Wildermuth, G. B., & McNamara, R. B. (1994). Testing wheat seedlings for resistance to crown rot caused by *Fusarium graminearum* Group 1. *Plant Disease*, 78(10), 949-953.
- Wildermuth, G. B., Tinline, R. D., & McNamara, R. B. (1992). Assessment of yield loss caused by common root rot in wheat cultivars in Queensland. *Australian Journal of Agricultural Research*, 43(1), 43-58.
- Xu, F., Yang, G., Wang, J., Song, Y., Liu, L., Zhao, K., Li, Y., & 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.
- Yin, C., Hulbert, S. H., Schroeder, K. L., Mavrodi, O., Mavrodi, D., Dhingra, A., Schillinger, W. F., & Paulitz, T. C. (2013). Role of bacterial communities in the natural suppression of *Rhizoctonia solani* bare patch disease of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 79(23), 7428-7438.
- Zhou, H., He, X., Wang, S., Ma, Q., Sun, B., Ding, S., Chen, L., Zhang, M., & Li, H. (2019). Diversity of the *Fusarium* pathogens associated with crown rot in the Huanghuai wheat-growing region of China. *Environmental Microbiology*, 21(8), 2740-2754.
- Койшыбаев, М., Чудинов, В. А., Бердагулов, М. А., Канафин, Б. К., & Федоренко, Е. Н. (2018). СЕЛЕКЦИЯ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ВИДАМ РЖАВЧИНЫ И СЕПТОРИОЗА В СЕВЕРНОМ КАЗАХСТАНЕ. *Генофонд и Селекция Растений*, 164-169.