T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fusarium culmorum'un FARKLI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE ZEARALENONE ÜRETİMİ VE HASTALIK ŞİDDETİYLE KORELASYONUNUN SAPTANMASI

Volkan IŞIK

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 25.09.2012

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Figen TÜRK

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

VOLKAN IŞIK tarafından **DOÇ. DR. FİGEN TÜRK** yönetiminde hazırlanan **"*Fusarium culmorum*'un FARKLI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE ZEARALENONE ÜRETİMİ VE HASTALIK ŞİDDETİYLE KORELASYONUNUN SAPTANMASI "** başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Figen TÜRK
Danışman

Prof. Dr. Savaş KORKMAZ
Jüri Üyesi

Yard.Doç. Dr. Altıngül PARLAK
Jüri Üyesi

Sıra No :
Tez Savunma Tarihi: 25/09/2012

Prof. Dr. İsmet KAYA
Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi ÇÖMÜ BAP tarafından 2011/50 no'lu proje ile desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Volkan IŞIK

TEŞEKKÜR

Tanıştığım günden itibaren işine ve öğrencilerine olan sevgisi, planlama ve uygulama konusundaki yeteneği ile bana örnek olan, yüksek lisans çalışmalarımda bilgisini, yardımlarını, desteklerini ve sabrını bir an olsun esirgemeyen saygı değer danışman hocam sayın Doç. Dr. Figen TÜRK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans dönemimde her türlü konuda desteklerini esirgemeyen Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyelerine teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımda yardımlarıyla büyük katkıda bulunan Ziraat Mühendisi Ramazan GENCER'e teşekkür ederim.

Yüksek lisansa başlamamda büyük etkisi olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Yüksek Biyolog Emine Bilir BAŞ'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarımda yardıyla katkıda bulunan Veteriner Hekim Cihan MUTLU, Gıda Mühendisi Orhan TURAN, Ziraat Mühendisi Uğur ÇİFTÇİ, Teknisyen Özen KOBAK ve İsmail SARIKAYA' ya teşekkür ederim.

Buğday temininde ve buğday ekimindeki yardımlarından dolayı Tarla Bitkileri Bölümü Öğretim Üyelerine ve Araştırma Görevlilerine teşekkür ederim.

İstatistik kısmındaki yardımlarından dolayı Tarla Bitkileri Bölümü Arş. Gör. Fatih KAHRIMAN'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında verdiği destek için sevgili eşim Sinem IŞIK'a teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen Anne ve Babama sonsuz teşekkür ederim.

Tezime çeşitli şekillerde katkıda bulunan ve ismi geçmeyen herkese ayrıca teşekkür ederim.

Volkan IŞIK

SİMGELER VE KISALTMALAR

DON	Deoxyninalenol
NIV	Nivalenol
FAO	Gıda ve tarım örgütü
ha	Hektar
ZEA	Zearalenone
Ppb	Milyarda bir
ppm	Milyonda bir
FHB	Fusarium başak yanıklığı
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kramatografi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
UV	Ultraviyole
ERG	Ergosterol
µg	Mikrogram
kg	Kilogram
FX	Fusarenon-X
HT-2	HT-2 toxin
T-2	T-2 toxin
APPI	Atmosferik basınç fotoğraf iyonizasyonu
LC	Sıvı kramatografi
ng	Nanogram
g	Gram
AUDPC	Hastalık gelişimi eğrisi altındaki bölge
TOVAG	Tarım, Ormancılık ve Veterinerlik Araştırma Destek Grubu
cm	Santimetre

ml	Mililitre
PDA	Patates dextrose agar
IAK	Immuno-affinite kolon
NaClO	Sodyum hipoklorid
mm	Milimetre
sn	Saniye
PBS	Fosfat Buffer
MeOH	Metanol
nm	Nanometre

ÖZET

Fusarium culmorum'un FARKLI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE ZEARALENONE ÜRETİMİ VE HASTALIK ŞİDDETİYLE KORELASYONUNUN SAPTANMASI

Volkan IŞIK
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. Figen TÜRK
29.09.2012, 44

Bu çalışma, 2009-2010 buğday yetiştirme döneminde Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Dardanos Araştırma ve Uygulama arazisinde yürütülmüştür. Bu çalışmada farklı buğday çeşitlerine inokule edilen ve buğdayda Fusarium başak yanıklığına (FHB), verim ve kalitenin azalmasına, tanelerde mikotoksin akümülasyouna sebep olan *Fusarium culmorum'un* farklı buğday çeşitleri arasında hastalık şiddeti açısından farklılıkları saptamak ve verime olan etkisini karşılaştırmak amaçlanmıştır. Ayrıca *F. culmorum* tarafından inokule edilen başaklarda oluşturdukları bir mikotoksin olan zearalenone (ZEA) üretimi karşılaştırılmıştır. Bu amaçla 23 buğday çeşidi kullanılmıştır. Başaklar çiçeklenme döneminde şırınga yöntemi ile *F.culmorum* izolatı ile inokule edilmiştir. Hastalık gelişimi 3 farklı zamanda ölçülmüş ve elde edilen veriler hastalık gelişimi altındaki bölge (AUDPC)'nin hesaplanmasında kullanılmıştır. *F. culmorum* ile inokule edilen buğday çeşitlerinin hastalık şiddetleri arasında istatistiki olarak fark olduğu saptanmıştır. Bin tane ağırlığı yönünden çeşitler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olduğu gözlenmiştir. ZEA birikimi yönünden ise çeşitler arasında belirgin farkların bulunduğu da görülmüştür. Ele alınan özellikler arasındaki ilişki incelendiğinde başak ağırlığı ile bin tane ağırlığı arasında pozitif, AUDPC ile başak ağırlığı ve bin tane ağırlığı arasında negatif yönde bir ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca ZEA ile AUDPC arasında da pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu çalışmadan *F. culmorum*'un farklı buğday çeşitlerinde farklı oranlarda hastalık şiddetine sebep olduğu ve verimi farklı oranlarda düşürdüğü, aynı zamanda ZEA akümülasyonunun hastalık şiddeti ile doğrudan ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Fusarium culmorum* izolatları, Buğday, Hastalık gelişimi, Başak Ağırlığı, Bin Tane Ağırlığı, ZEA.

ABSTRACT

ZEARALENONE PRODUCTION BY *Fusarium culmorum* IN WHEAT VARIETIES AND CORRELATION WITH DISEASE SEVERITY

Volkan IŞIK

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School

Plant Protection Thesis, Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Figen TÜRK

29.09.2012, 44

This study was conducted at the Dardanos Agricultural Research Station of Çanakkale Onsekiz Mart University in 2009-2010 wheat growing season. Fusarium head blight (FHB), caused by *Fusarium culmorum*, results in yield and quality reductions and mycotoxin accumulation. The aim of the research was to evaluate the reaction of the wheat genotypes to FHB and yield lose. The mycotoxin, zearalenone (ZEA) was also quantified in infected and control wheat seeds. Twenty three wheat genotypes were employed in the research. Flowering heads were inoculated with the suspension of *F. culmorum* using syringe method. Disease development was measured with a rular in three occasions, the data, then, were used to calculate the area under disease progress curve (AUDPC). It was found that there was a significant difference in means of disease severity amoung the wheat genotypes. It was also determined that a thousand seed weight and ZEA were different in different genotypes following inoculation with *F. culmorum*. A correlation analysis exhibited that there was a positive correlation between head weight and a thousand seed weight, however, a negative correlation was found between AUDPC and head weight, and AUDPC and a thousand seed weight. ZEA accumutalion was correlated positively with AUDPC. The results suggest that wheat genotypes respond to the *F. culmorum* infection differently; therefore, severe infection results severe yield loss and ZEA accumulation.

Keywords: *Fusarium culmorum*, Wheat, AUDPC, Head Weight, Thousand Kernel Weight, ZEA

İÇERİK

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ....ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI....iii
TEŞEKKÜR....iv
SİMGELER VE KISALTMALAR....v
ÖZET....vii
ABSTRACT....viii
BÖLÜM 1- GİRİŞ....1
BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR....5
BÖLÜM 3- MATERYAL VE YÖNTEM....13
3.1. Materyal....13
3.1.1. Kullanılan buğday çeşitleri....13
3.1.2. Patojen izolatı....13
3.2. Yöntem....13
3.2.1. Parselasyon....13
3.2.2. Sağlıklı başaklara *Fusarium culmorum*'un inokulasyonu....13
3.2.2.1. İnokulumunun hazırlanması....13
3.2.2.2. Başaklara fungusun inokulasyonu....14
3.2.3. Başaklarda hasatlık gelişiminin saptanması....15
3.2.3.1. Hastalık gelişiminin kantifikasyonu....15
3.2.3.2. *Fusarium culmorum*'un verim parametrelerine etkisinin hesaplanması....16
3.2.4. Enfekteli buğdayda zearalenone analizi....16
3.2.4.1. Örneklerin analiz için hazırlanması....16
3.2.4.2. İmmuno-affinite kolon temizleme....18
3.2.4.3. Hplc'nin standardizasyonu....19
3.2.4.4. Kalibrasyon grafiğinin oluşturulması ve kantifikasyon....19
3.2.5. İstatistiksel analizler....20
BÖLÜM 4- ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA....21
4.1. Buğday başak yanıklığı simptomları....21
4.2. İnfekteli başaklarda hastalığın gelişimi....22
4.3. *Fusarium culmorum*'un verim parametrelerine etkisi....25

4.4. Farklı çeşitlerde zea akümülasyonu 27
4.5. Korelasyon analizleri 30
BÖLÜM 5- SONUÇ VE ÖNERİLER **33**
KAYNAKLAR 35
Ekler I
Çizelgeler II
Şekiller III
Özgeçmiş IV

BÖLÜM 1
GİRİŞ

Hububatlar dünyada stratejik önemi en yüksek olan ürünler olup ilk çağlardan beri insanlar tarafından kültürü yapılarak üretilen bitkisel ürünlerdir. Hububatlar dünyada ve ülkemizde ekiliş alanı ve üretimi en fazla yapılan ürünlerdir. Beslenme açısından en önemli bitkisel ürünler olan hububat kapsamında buğday, mısır, pirinç, arpa, yulaf, çavdar, darılar ve diğer hububatlar yer almaktadır.

Ülkemizdeki iklimsel koşulların uygun olması hububat üretiminin çok geniş alanlarda yapılabilmesine olanak sağlamıştır. Ülkemizde üretimi yapılan hububatlar içerisinde en büyük paya buğday sahiptir. Bunu sırasıyla arpa, mısır ve çeltik izlemektedir. Ülkemizde üretimi yapılan başlıca tahılların 10 yıllık üretim ve ekim alanı miktarları Çizelge 1 ve Çizelge 2'de, dünyadaki durumu ise Çizelge 3'te verilmiştir. (http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?alt_id=45)

Çizelge 1: 2001- 2011 yılları Türkiye Tahıl ekim alanı

Türkiye Tahıl Ekim Alanı (Dekar)					
Yıllar	Toplam	Buğday	Arpa	Mısır	Çeltik
2001	139 073 550	93 500 000	36 400 000	5 500 000	590 000
2002	137 856 500	93 000 000	36 000 000	5 000 000	600 000
2003	134 136 000	91 000 000	34 000 000	5 600 000	650 000
2004	138 325 850	93 000 000	36 000 000	5 450 000	700 000
2005	138 932 410	92 500 000	36 500 000	6 000 000	850 000
2006	130 415 623	84 900 000	36 498 000	5 360 000	991 000
2007	124 030 395	80 977 000	34 280 165	5 175 000	939 000
2008	119 899 739	80 900 000	29 500 000	5 950 000	995 000
2009	120 677 087	81 000 000	30 100 000	5 920 000	967 541
2010	121 002 714	81 034 000	30 400 000	5 940 000	990 000
2011	119 034 352	80 960 000	28 688 331	5 890 000	994 000

Çizelge 2: 2001- 2011 yılları Türkiye Tahıl üretim miktarı

Türkiye Tahıl Üretimi (ton)					
Yıllar	Toplam	Buğday	Arpa	Mısır	Çeltik
2001	29 570 560	19 000 000	7 500 000	2 200 000	360 000
2002	30 830 650	19 500 000	8 300 000	2 100 000	360 000
2003	30 806 800	19 000 000	8 100 000	2 800 000	372 000
2004	34 153 910	21 000 000	9 000 000	3 000 000	490 000
2005	36 471 600	21 500 000	9 500 000	4 200 000	600 000
2006	34 642 986	20 010 000	9 551 000	3 811 000	696 000
2007	29 256 990	17 234 000	7 306 800	3 535 000	648 000
2008	29 287 281	17 782 000	5 923 000	4 274 000	753 325
2009	33 577 151	20 600 000	7 300 000	4 250 000	750 000
2010	32 772 550	19 674 000	7 250 000	4 310 000	860 000
2011	35 202 073	21 800 000	7 600 000	4 200 000	900 000

Kaynak: Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı

Çizelge 3. Tahılların dünyadaki durumu

Dünya Hububat Üretim Miktarı	
Yıllar	Milyon Ton
2002	1837,2
2003	1894,8
2004	2074,6
2005	2052,1
2006	2019,7
2007	2134,7
2008	2289
2009	2265,5
2010	2255,8
2011	2345,9

(http://www.fao.org/worldfoodsituation/wfs-home/csdb/en/)

Buğday üretimi biyotik (canlı) ve abiyotik (cansız) faktörlerden etkilenmektedir. Uygun olmayan iklimsel koşullar, elverişsiz toprak şartları, çevre kirliliği ve hatalı üretim yöntemleri vb. gibi faktörler abiyotik faktörleri oluşturmaktadır. Biyotik faktörler ise yabancı otlar, hastalık ve zararlılardır.

Biyotik hastalık etmenlerinden funguslar, buğdayın farklı aksamlarında önemli kayıplara sebep olup verim üzerine önemli etkiler yapmaktadır. Buğdayda meydana gelen başak hastalıkları fungusların neden olduğu en önemli hastalıklardan biridir. *Fusarium* spp. buğdayın yanı sıra çavdar, arpa yulaf ve mısır için de tehdit oluşturur ve hasatlarından sadece birkaç hafta önce etki edip bitkiyi tahrip etme potansiyeline sahiptir. CIMMYT (Uluslararası Mısır ve Buğday Geliştirme Merkezi) verilerine göre Fusarium Başak Yanıklığı (FHB: Fusarium head blight) bu denli yıkıcı olması nedeniyle tahıllarda en büyük sınırlayıcı faktör olarak görülmektedir. Dünya genelinde etkin olan *Fusarium* spp. etmenlerinin epidemilerinde iklim değişiklikleri ve yanlış kültürel uygulamaların da etkili olduğuna inanılmaktadır. Hastalık etmeninin ürün verimini ve kalitesini olumsuz etkilemesinin yanında albümin ve gluten gibi proteinlerin de miktarını azaltması dikkate değer diğer bir özelliktir. Ekonomik zarara neden olan en önemli türler; *Fusarium avenaceum, F. poae , F. nivale , F. graminearum ve F. culmorum'*dur (Parry ark., 1995). Dünya geneline bakıldığında başak yanıklığına neden olan en önemli etmen sıcak iklimlerde gelişen *F. graminearum* iken Avrupa'da ise serin iklimleri tercih eden *F. culmorum'* dur (Snijders, 1989).

F.culmorum (W.G. Smith Sacc.) ve *Fusarium graminearum* (Schwabe)'un neden olduğu FHB hastalığını dünyanın pek çok yerinde ve ülkemizde buğday tarımı yapılan alanlarda ürün kalitesini bozarak verimi olumsuz yönde etkileyen ekonomik öneme sahip hastalıklardan birisidir. FHB hastalığı , buğday ve diğer tahıl ürünlerinde ABD'nin orta kısmında 1993 yılında 1 milyar dolarlık zarara neden olurken, 1993-2001 yılları arasında ABD'nin toplam ekonomik kaybı sadece bu hastalık nedeniyle yaklaşık 8 milyar dolar olmuştur (Nganje ve ark., 2004). Dünyada bu hastalık daha çok doğu ve batı Avrupa, Rusya, Çin, Brezilya, Kuzey Amerika, Güney Amerika ve Asya'nın önemli buğday üretim alanlarında görülmektedir.

FHB hastalığı dünyanın pek çok yerinde nemli koşullarda tahılların çiçeklenme ve tane dolum dönemlerinde görülmektedir. Patojen buğdayı döllenme esnasında veya döllenmeden kısa bir süre sonra enfekte etmektedir. Akinsanmi ve ark. (2004), *F. graminearum*'un tarla koşullarında % 14 oranında buğday başaklarını hastalandırdığını rapor etmiştir. Etmen tohumla taşınabilmekte ve ekim nöbeti uygulanmayan yerlerde özellikle çiçeklenme döneminden sonra aşırı yağışın olması durumunda önemli verim kayıplarına neden olmaktadır (Anonim, 2002).

FHB hastalığı'na neden olan funguslar tarafından enfekteli taneler küçük ve buruşuk olmakta, bu taneler enfeksiyon nedeniyle çimlenme güçlerini kaybetmektedirler. Enfekteli taneler üzerinde gelişen funguslar, sekonder metobolitlerden olan mikotoksinleri üretirler (Bahrii ve Shaner, 1994). Mikotoksin üreten funguslar, çevrede yaygın olarak bulunur ve kültür bitkilerinin gelişme dönemlerinde, taşınma ve depolanma sırasında tarımsal ürünlere bulaşır. Uygun koşullar bulunduğu taktirde mikotoksin üretimi gerçekleşir.

Fusarium türleri tarafından en yaygın olarak üretilen toksinler; Trichothecene (Deoxynivalenol, Nivalenol, T -2 Toxin, HT-2 Toxin, Diacetoxyscirpenol), Fumonisine, Moniliformin ve Zearalenone (ZEA)'dir. Bu toksinler canlılarda bağışıklık ve sinir sistemini olumsuz yönde etkiler, karaciğer ve böbrek hastalıklarına, kas spazmı ve kusmaya, kansere hatta ölümlere dahi neden olurlar. Toksinler depolanmış ürünlerde yıllarca bozulmadan kalabilen metobolitlerdir.

ZEA, dünyanın her yerinde bulunabilen *Fusarium*'ların oluşturduğu östrojenik bir mikotoksindir. Öncelikle tahıllarda ve bitkisel kökenli ürünlerde bulunur (Christensen ve

ark., 1965). *F. culmorum, F. graminearum* ve *F. equiseti, F. tricinctum* dahil birkaç *Fusarium* türü tarafından üretilen bir mikotoksindir (Caldwell ve ark., 1970). ZEA, tahıllara tarlada bulaşır fakat uygun olmayan depolama şartları (yüksek ısı ve nem) ZEA salgılanmasını arttırır (Gross ve Robb, 1975). Bu türler tahılları kolonize ederler ve genellikle serin, nemli mevsimlerde ve hasat döneminde gelişirler. ZEA hayvanlar üzerinde hormonal etkilere sahip bir östrojendir ve bu özelliğinden dolayı döl verimi bozukluklarına ve hiperestrogenizm'e neden olmaktadır (Mirocha ve ark., 1968; Long ve ark., 1982).

Bu çalışmanın amacı farklı buğday çeşitlerinin başak yanıklığına sebep olan *F. culmorum'a* karşı reaksiyonlarının saptanması, verime etkisi, enfekteli tanelerde ZEA oranının kantifikasyonu ve çeşit reaksiyonu ile ZEA konsantrasyonu arasında bir korelasyon olup olmadığının araştırılmasıdır.

BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Dünya'da FHB'a sebep olan *Fusarium* daha çok *F. graminearum olmakla beraber, F.culmorum, F. nivale, F. avenecaum'un* da neden olduğu bilinmektedir. Avrupa'da ise genellikle bu hastalığa neden olan etmen *F. culmorum* olarak belirlenmiştir. Sıcak iklim koşullarına sahip bölgelerde *F. graminearum* gelişirken, serin yerlerde *F. culmorum* daha yaygın olarak görülmektedir (Snidjers, 1989). Bu iki hastalık etmeninin dışında diğer bazı *Fusarium* türlerinin de buğdayda FHB'a neden olduğu saptanmıştır (Wang ve Miller, 1988).

FHB Hastalığı'na neden olan *Fusarium* türleri Ireta ve Gilchrist (1994)'in bildirdiğine göre ilk olarak 1891 yılında ABD'de (Artur, 1891), daha sonra da 1902 yılında Japonya'da rapor edilmiştir. FHB hastalığı nemli, ılıman iklim koşullarına sahip bölgelerde örneğin, kuzey Avrupa, Çin ve Japonya'da epidemi düzeyinde rapor edilirken, kuzey Afrika kıyılarında, ABD'nin güney kısmında ve güney Kanada'da, güney Amerika'da özellikle Brezilya, Arjantin, Paraguay ve Uruguay'da (Arthur, 1891) tespit edilmiştir. Ülkemizde ise FHB hastalığı ilk kez 1993 yılında belirlenmiştir (Aktaş ve Tunalı, 1993).

F. culmorum (W.G.Smith), buğdayda FHB'a neden olan etmenlerdendir ve laboratuvar koşullarında üretilebilmektedir. Laboratuar koşullarında 25^0C sıcaklıkta PDA ortamı üzerinde karmen kırmızımsı bir misel tabakası oluşturduğu araştırmalar sonucu tespit edilmiştir. Sporodochia oluşumu sık görülmektedir. *F. culmorum*'un monofialidler oluşturduğu, bu fialidlerin genellikle 3,5-5µmX15- 20µm uzunluğunda olduğunu belirlemişlerdir. *F. culmorum*'un sadece makrokonidiler oluşturduğu, bu konidilerin kalın duvarlı kısa ventral ve dorsal yüzeyde kıvrımlara sahip olduğu, genellikle bunların 5 septalı olup 5-7.5x31-50 µm uzunluğunda olduğu, oluşan makrokonidilerin *F. graminearum*'un konidilerinde olduğu gibi ayak hücrelerine sahip olduğu saptanmıştır. Klamidosporların genel olarak yaygın olmadığı ve çoğunlukla hiflerin ortasında bulunduğu, klamidosporların oval şekilde, tek ya da zincir halinde bulunduğu ve 9-12µX10-14µ uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. *F.culmorum*'un tarla koşullarında perithecium oluşturup oluşturmadıklarının bilinmediği ayrıca *F. culmorum* kültür ortamı üzerinde nispeten stabil olmasına rağmen mutantların oluşabileceği, bu nedenle araştırmalarda tek spor izolasyonlarının yapılması gerektiği bildirilmiştir (Booth, 1977; Gerlach ve Nirenberg, 1982; Nelson ve ark., 1983).

Fusarium türlerinin FHB'a neden olurken farklı tipte enfeksiyonlar yapabildiği belirlenmiştir. Bu enfeksiyon tipleri; sporodochiaların üretmiş olduğu makrokonidilerle (*F. culmorum* ve diğer türler), perithecium içindeki askosporlarla (örn *F. graminearum*), bitki artıklarında yada toprakta canlılığını koruyan klamidosporlarla (*Fusarium* spp.), buğday bitki artıkları üzerinde canlı kalan misellerle (*Fusarium* spp.) bitki artıklarında yada enfekteli taneler üzerinde bulunan makrokonidilerle (*Fusarium* spp.) olmaktadır.

Hastalık etmenleri tarafından ilk enfeksiyon askospor yada makrokonidiler tarafından çiçek ve anterler üzerinde oluşmaktadır. Makrokonidiler 16-36°C sıcaklıklar arasında oluşurken optimum gelişme sıcaklığı 32°C, peritheciumlar ise 13-33°C sıcaklık arasında oluşurken, optimium gelişme sıcaklığı 25-28°C olarak belirlenmiştir. Perithecium ve askosporların oluşumu için UV ışınları oldukça önemli olup, yaklaşık bu değer 390 nm olarak saptanmıştır (Andersen, 1948; Teich ve Nelson, 1984; Reis, 1989).

FHB'a sebep olan birçok *Fusarium* spp. makrokonidilerin konukçu dokusu üzerinde çimlendiği ve enfeksiyon çivisini oluşturduğu, enfeksiyon çivisini oluştururken nemli bitki yüzeyine yapıştığı, bitkiye giriş yapmadan önce kutikula üzerinde kolonize olduğu, stomalardan giriş yaptıktan sonra intracellular olarak çoğaldığı, enfeksiyondan 48 saat sonra stomaların arasında yaprak yüzeyinde makrokonidilerin yoğun bir şekilde geliştiği gözlemlenmiştir. Bunu takiben, dokularda gözle görülebilen bir pörsümenin olduğu tespit edilmiştir (Teich ve Nelson, 1984; Reis, 1989).

Fusarium hastalık etmeninin buğday çiçeklerini enfekte ettiğini ve uygun koşullar bulana kadar fakültatif saprofit olarak yaşadıkları Andersen (1948) bildirilmiştir. İnokulasyonun gerçekleşmesi için rüzgar ve yağmura ihtiyaç olduğunu ve etmenin uygun koşulları bulduğunda aktif duruma geçtiğini tespit etmiştir. Strange ve ark. (1974), buğday anterlerinin amonyum bileşikleri olan kolin ve betain ürettiğini, bu bileşiklerin buğday çiçeklerinde patojenin gelişmesini teşvik ettiğini tespit etmişlerdir. Bu bileşiklerin normal koşullarda buğday bitkisinde bulunduğunu, ancak enfeksiyondan sonra konsantrasyonunda artışlar olduğunu saptamışlardır.

Bazı araştırmacılar, etmen tarafından enfekte edilen bitki dokularının kısa zamanda klorofil kaybına uğradığını tespit etmişlerdir. Hastalanan çiçek organlarının (özellikle dış kavuzlar) hafifçe koyulaşıp ve yağlımsı bir görünüm aldığını, pembe renkte sporlar

oluştuğunu ve yüksek nem içeren koşullarda ise fungusların koyulaşarak siyah renge dönüştüğü belirlenmiştir (Teich ve Nelson, 1984; Reis 1989).

Wilcoxson ve ark. (1992), yaptıkları bir araştırmada bütün küçük taneli tahılların bu hastalıktan etkilendiğini tespit etmişlerdir. Hastalık şiddetli olduğunda % 50'den fazla verim kaybı ile birlikte tane kalitesinde belirgin bir azalma olduğunu gözlemişlerdir. *Fusarium* tarafından enfekteli tanelerde buruşukluk, protein miktarında azalma ve böylece tane kalitesinde azalmanın olduğunu ortaya koymuşlardır. Yapılan analizler sonucunda % 5'ten fazla hastalıklı tane bulunan ürünlerin insan ve hayvan sağlığına zararlı olabileceğini belirlemişlerdir.

Ülkemizde de Buğday Başak Yanıklığı Hastalığı buğday tarlalarında rapor edilmiştir. Ankara ili buğday ekim alanlarında, *F. culmorum, F. graminierum, F. acuminatum, F. heteropsporium* türleri tespit edilirken (Çavuşcuoğlu ve Hancıoğlu, 1995), Sakarya yöresinde *F. graminierum, F. moniliforme, F. culmorum, F. sporodotricoides, F. triticana, F. heterosporium* ve *F. avenacearum*'un buğday başak yanıklığına neden olduğu ve en yaygın şekilde *F. graminierum*'un görüldüğü belirtilmiştir (Aktaş ve Tunalı, 1993; Anonim, 2001).

Konya ve çevresinde 1993-1998 yılları arasında *F. culmorum* yoğun bir şekilde saptanmış ve 2000-2001 yıları arasında Konya ilinde FHB'den dolayı meydana gelen ürün kaybının % 31 oranında olduğu bildirilmiştir (Anonim, 2001). Aktaş ve ark.(1996), Marmara Bölgesinde *F. graminearum*'un *F. culmorum*'dan daha yoğun olarak görüldüğünü ve Türkiye'nin kuzey Anadolu bölgesinde FHB'nin epidemiye neden olduğunu rapor etmişlerdir. Orta Anadolu Bölgesi'nde ise *F. Culmorum, F. graminearum*'a göre daha yaygın olarak görülmüştür (Aktaş ve ark., 1999).

Adana ve çevresinde 2001-2002 yıllarında 282.494 hektar alanda buğday ekimi yapılmış ve tüm çeşitlerde özellikle Kadirli, Kozan ve İmamoğlu ilçelerinde buğdayda *F. culmorum* ve *F. graminearum* yoğun bir şekilde saptanmıştır. Ticari buğday çeşitleri arasında bu hastalığa karşı dayanıklı çeşitler bulunmamaktadır. Bu nedenle bu hastalığın önümüzdeki yıllarda buğday yetiştiriciliğinde önemli sorunlar oluşturabileceği düşünülmektedir (Anonim, 2002).

Bazı *Fusarium* türleri mikotoksin diye adlandırılan sekonder metabolit sentezlerler. Mikotoksinler düşük molekül ağırlığına sahip olup, hücre metabolizmasında protein

sentezini engellerler. Bunun yanı sıra mikotoksinler, hücre membranına zarar vererek hücrenin lizise uğramasına neden olurlar. Hayvanlarda bulunan alyuvar kan hücrelerine toksik etki yaparak bu hücrelerin zarar görmesine neden olurlar (Wilcoxson ve ark., 1992, Nelson ve ark., 1993).

Sekonder metobolitler normalde hücrenin biyokimyasında ihtiyaç duyulmayan kimyasallardır. Bunlar türe özgüdür, örneğin *F. graminearum* (ve *F. culmorum* başta olmak üzere diğer bazı *Fusarium* türleri) deoxynivalenol (DON) toksini üretirken *F. moniliforme* fumonisinleri üretmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda *Fusarium* türlerinin meydana getirdiği toksinler arasında zearalenone (ZEA), deoxynivalenol (vomitoxin, DON), T-2 toksini, HT-2 toksini, diacetoxyescirpenol, 8- hydroxycalonectrin, 3-acetildeoxynivalenol, 15-acetildeoxynivalenol, dihydroxycalo nectrin, fusarin C, fumonisin ve nivalenol (NIV) olarak belirlenmiş olup, en çok bilinen sekonder metobolitin trichothecene mikotoksini ve fumonisin olduğu saptanmıştır (Miller ve Arnison, 1986; Nelson ve ark., 1993).

Dünyada FHB Hastalığı'nı kontrol altına almak, toksin üretimini azaltmak için çeşitli çalışmalar yürütülmektedir (Badea ve ark., 1997; Yang ve ark., 1998; Mietaner ve ark., 2001; Buerstmayr ve ark., 2002; Mesterhazy ve ark., 2005). Alınan önlemlerle hastalığın yayılması kısmen engellenmeye çalışılsa da günümüzde hastalığın vereceği zararı azaltmak için uygulanan kültürel ve kimyasal mücadele yöntemleri ile hastalık etmeni *Fusarium* türleri tarafından üretilen toksinleri önlemek mümkün olamamaktadır.

Hastalığın bitkiyi topraktan enfeksiyonunu engellemek için doğrudan kimyasal mücadele yöntemi bilinmemektedir. Tohum ilaçlaması ile fungusun tohumla taşınması önlenebilmekte, ancak topraktan gelecek inokulum önlenememektedir. Özellikle FHB'a karşı fungisitler kullanarak mücadele etmek buğdayda başaklanma ve çiçeklenmenin aynı dönemde olmamasından dolayı oldukça zor ve çok pratik değildir (Wilcoxson ve ark., 1992). Ayrıca kimyasal mücadelede yapılan yanlışlıklar, bunun sonucu olarak ortaya çıkan çevre kirliği, dayanıklılık, doğal dengenin bozulması, insan ve hayvan sağlığına olumsuz etkiler gibi, son günlerde insanlığın en güncel sorunları arasında yer alan olumsuzlukların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Anılan nedenlerden dolayı buğdayda sözkonusu hastalığın bilinen mücadele yöntemleri ile tamamen kontrol altına alınması oldukça zor olup en etkin çözümün hastalığa dayanıklı çeşit veya çeşitlerin geliştirilmesi olarak görülmektedir (Wilcoxson ve ark., 1992; Anonim, 2002).

Yapılan çalışmalarda dayanıklı çeşitlerde duyarlı çeşitlere göre daha düşük oranda DON toksin seviyesi tespit edilmiştir (Mesterhazy ve ark; 1999). Bu nedenle, FHB'a karşı dayanıklı çeşitlerin yetiştiriciliğinin yapılması hem ekolojik hem de ekonomik sorunların çözümünde yardımcı olacaktır. FHB'a dayanıklı bitkilerde, dayanıklılık genlerinin varlığı bilinmesine rağmen, bunların klasik ıslah çalışmalarında kullanılması oldukça zor, pahalı ve uzun sürmektedir (Goral ve Arseniuk, 1997).

Birçok bitki türünde klasik ıslah yöntemlerinin sonuç vermediği durumlarda *in vitro* doku ve hücre kültürü tekniklerindeki gelişmeler mutasyon ve *in vitro* seleksiyonla somaklonal varyasyondan yararlanarak değişik stres faktörlerine (soğuk, sıcak, kuraklık, toksin, tuzluluk, herbisit) karşı dayanıklı hücre hatlarının seçiminde yeni olanaklar sağlamıştır. Buna bağlı olarak son yıllarda *in vitro* seleksiyon teknikleri klasik ıslah çalışmaları dışında yeni araştırma konularının ortaya çıkmasına da neden olmuştur (Kasem ve ark., 1996; Bai ve ark., 2001). *In vitro* seleksiyon teknikleriyle dayanıklı bireylerin seçimi tamamen laboratuvar koşullarında daha güvenilir ve kısa zamanda gerçekleştirmek mümkün olmaktadır.

Bazı fungal patojenlerin üretmiş olduğu mikotoksinler stres faktörü olarak *in vitro* veya *in vivo*'da kullanılmak suretiyle hastalığa dayanıklı bitki veya hücrelerin seleksiyonu mümkün olmaktadır. Bazı duyarlı hücreler seleksiyon aşamasında dayanıklı hücreler tarafından korunabilmekte ve duyarlı olan bu hücrelerden bitki regenerasyonu olabilmektedir. *In vitro* teknikleri bitki regenerasyonu çalışmalarında bu gibi dezavantajlara sahip olsa da, seleksiyon çalışmalarında somaklonal ve epigenetik varyasyonların adaptasyonlarını mümkün hale getirdiği için avantajlara sahiptir.

Patojen faktörü olarak toksinler *in vitro'*da kullanılmak suretiyle çok kısa zamanda FHB'a dayanıklı hücre hatları ve bu hücre hatlarından da hastalığa dayanıklı bitkiler elde edilebilmiştir (Bruins ve ark., 1993; Kasem ve ark., 1996; Yang ve ark., 1998). Yapılan bu çalışma ile buğday yetiştiriciliğinin önemli sorunları arasında yer alan FHB'a karşı dayanıklı veya tolerant yeni çeşitler geliştirmek amacıyla bazı buğday çeşitlerinin embriyogenik kallusları kullanılarak *in vitro* seleksiyonla yeni hatlar elde etme olanakları araştırılmıştır. Bu bağlamda tarla koşullarından izole edilen *Fusarium* tür ve izolatları ve *in vitro* seleksiyon sonucu elde edilen bitkiler RAPD-PCR yöntemiyle moleküler analizlere tabii tutulmuş, farklılıklar ortaya konulmuştur.

F. culmorum ile ZEA ilişkisi ile ilgili literatürde çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Aşağıda *F. culmorum* ile ZEA ve/ya diğer mikotoksinler ile ilgili çalışmalar özetlenmiştir.

Snijders ve Perkowski (1990)'nin 10 kışlık buğday çeşidi ile *F. culmorum*'un 3 izolatı ile yapılan patojenite testlerinde, virülensliği yüksek olan izolatların verimde ciddi bir düşüşe sebep olduğu, orta derecede virülent olanların ise bir öncekine kıyasla daha az oranda verimi düşürdüğü bulunmuştur. Mikotoksin analizinde ise DON oluşumu ile virülenslik arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada ZEA tespit edilememiştir.

Schade-Schütze ve ark. (2000)'nın yaptığı patojenite testlerinde, kullanılan 27 izolatın verimi % 14 ile % 61 oranında düşürdüğü saptanmıştır. Ayrıca DON üreten kemotiplerin NIV üreten kemotiplerden daha virulent olduğunu bulmuşlardır.

Perkowski ve ark. (1995), kışlık çavdarı çiçeklenme döneminde *F. culmorum* izolatı ile inokule etmiş ve başaklarda DON, ZEA ve 3-AcDON oluşumunu araştırmışlardır. Hibritlerde başak yanıklığı şiddeti ile başak başına tane ağırlıkları arasında önemli genotipik farklılıklar olduğu ortaya çıkarılmıştır, fakat hastalık şiddeti ile mikotoksin miktarı arasında ilişki olmadığını saptamışlardır.

Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada, ülkede kayıtlı kışlık buğday çeşitlerinin *F. culmorum* ile infeksiyonları sonucu mikotoksin birikimine karşı gösterdikleri dirençleri saptamak amacıyla 3 yıl süre ile (2004, 2005 ve 2006) tarla denemeleri yapılmıştır. DON ve ZEA içeriğine ilişkin bilgiler ile hastalıktan kaynaklanan kayıplarda kayıt altına alınmıştır. En yüksek DON üretimini yüksek sıcaklık ve yüksek nemli geçen yılda tespit edilmiştir. Rheia, Banquet, Ludwig, Rapsodia, Dromos ve Globus isimli varyetelerinin ortalama DON içeriği düşük olmakla birlikte, yıllar arasında yüksek bir dalgalanma olduğunu saptamışlardır. Buna ek olarak, DON ve ZEA içeriği arasında pozitif bir korelasyon olduğunu tespit etmişler ve hastalık şiddeti ile DON birikimi arasında istatistiksel olarak önemli korelasyonlar olduğunu bulmuşlardır. Tüm yıllarda erkenci çeşitlerin geççi çeşitlere göre daha düşük DON birikimi gösterdiğini gözlemişler, fakat diğer özellikler üzerinde ZEA birikimi dahil olmak üzere genotipik erkenciliğinin pek önemli olmadığını görmüşlerdir (Chrpová ve ark., 2007).

Gromadzka ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada ZEA, ZEA türevleri ve ZEA biyotransformasyonunun özellikleri ile ilgili bilgi toplamaya ve özetlemeye çalışmışlardır.

ZAE'nin toksisitesi ve oluşumu ile ilgili verileri, ZEA'nın tanılanması ve ölçülmesinde kullanılan analitik yöntemlerle karşılaştırmışlardır. ZEA etkisinin artışı ile ilişkili riskleri anlamamız ve bilinçlenmemiz gerektiğini ve bazı ülkelerdeki belirli ticari mallarda tavsiye edilen limitlerin ayarlanması gerektiğini önermişlerdir.

Tanaka ve ark. (2010), Japonya'da piyasada satılan buğdaydan yapılan bisküvilerde NIV, DON, HT-2, T-2 ve ZEA'nın varlığı ile ilgili çalışma yapmıştır. NIV, DON, fusarenon-X (FX), 3-AcDON, HT-2 toxin (HT-2), T-2 toxin (T-2) ve ZEA mikotoksinlerinin eş zamanlı tespiti için hızlı ve duyarlı bir yöntem kullanmışlardır. Örnekler atmosferik basınç fotoğraf iyonizasyonu (APPI) ile LC/MS' de analiz edilmişlerdir. NIV, DON, HT-2, T-2 ve ZEA mikotoksinlerinin kontaminasyonlarının ortalamaları sırası ile 3.1, 23, 0.7, 0.1 ve 4.2 µg/kg olarak tespit etmişlerdir. Toplam 120 tane örnekte çoklu toksin gözlendiği halde FX ve 3-AcDON tespit edilememiştir. Bu toksinlerin meydana gelme oranlarını % 41 NIV, % 98 DON, % 19 HT-2, % 11 T-2, % 2 ZEA olarak bulmuşlardır. Buğdaydan yapılan geleneksel bisküvi ve bebek maması için yapılan bisküviler arasında mikotoksin meydana gelme oranları ve konsantrasyonları açısından önemli farklılıklar bulunmamıştır.

Meksika'da toplam 30 buğday örneğinde *Fusarium* çalışılmıştır. Örneklerden önce Tri5 (thrichothecene için) ve PKS4 genlerinin bulunup bulunmadığını test etmek için PCR kullanılmış ve sırasıyla % 16.7 ve % 23.3 oranında bulaşıklık olduğu saptanmıştır. Daha sonra aynı örneklerden yapılan ekstraksiyon sonucunda HPLC yöntemiyle DON ve ZEA'nın varlığı araştırılmış ve örneklerin sırasıyla % 51.2 ve % 71.4 oranında bulaşık olduğu saptanmıştır (González-Osnaya ve Farrés, 2011).

Litvanya'da organik tarım yapılan çiftliklerde, FHB'a sebep olan *Fusarium* türlerini ve oluşturdukları mikotoksinleri saptamak amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada organik tarım yapılan çiftliklerin hemen hepsinin *F. culmorum* ve *F. graminearum*'un da bulunduğu *Fusarium* türleri ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Yapılan örneklemelerde hemen hemen tüm örneklerin DON, ZEA ve T-2 toksinleri ile düşük konsantrasyonlarda da olsa bulaşık olduğu saptanmıştır (Supronienе ve ark., 2011).

Omurtag ve Beyoğlu (2003), ticari olarak satılan tahıl ve baklagillerde yaptığı çalışma sonucunda test edilen 68 tahıl örneği içinde 8'inin DON ile bulaşık olduğunu, örneklenen 15 baklagil örneğinde ise hiçbir bulaşıklığın olmadığını tespit etmiştir.

Türkiye'de 1997-1998 yıllarında Marmara bölgesinde yapılan bir çalışmada *F. culmorum* ve *F. graminearum*'un önemli ürün kayıplarına sebep olduğu ve DON üreterek üründe kalitenin düşmesine sebep olduğu bulunmuştur. 39 yerli ve yabancı buğday çeşidiyle yapılan patojenite çalışmalarında çeşitlerin *F. culmorum* ve *F. graminearum*'a toleranslarında istatistiki olarak fark bulunduğu ve FHB varlığı ile DON üretimi arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır (Tunalı ve ark., 2006).

BÖLÜM 3
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan buğday çeşitleri

Bu çalışmada 23 buğday çeşidi kullanılmıştır. Kullanılan buğday çeşitlerinin tohumları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümünden temin edilmiştir. Ekimden önce herhangi bir tohum ilaçlaması yapılmamıştır.

3.1.2. Patojen izolatı

F. culmorum'un virülensliği daha önce laboratuarımızda tespit edilmiş bir izolatı kullanılmıştır. İzolatın zearalenone (ZEA) üreten bir kemotip olduğu saptanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Parselasyon

Deneme 24 Kasım 2009 tarihinde Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Araştırma ve Deneme parsellerinde tesadüf blokları deneme desenine göre düzenlenerek kurulmuştur. Buğday çeşitleri parsel genişliği 1 m, parsel uzunluğu 7 metre, sıra arası 12,5 cm olmak üzere, 3 sıra üzerine ekim yapılmıştır.

3.2.2. Sağlıklı başaklara *Fusarium culmorum*'un inokulasyonu

3.2.2.1. Fungal inokulumun hazırlanması

F. culmorum izolatları PDA içeren petrilere aktarılmış ve 3-4 hafta 25 ± 2^0C'de inkübe edilmiştir. İnokulasyondan hemen önce gelişen fungal kültürlerin üzerine 10 ml kadar steril saf su eklenerek baget yardımıyla sporların steril suya geçmesi sağlanmıştır. PDA üzerindeki fungal materyal 2 kat ince tülbentten geçirilmiş, işlem ikinci kez tekrarlanmıştır. Elde edilen spor süspansiyonu $5X10^5$ konidi/ml'ye ayarlanmış ve 1 damla Tween 20 eklenmiştir (Mietaner ve ark., 2003). İnokulum için hazırlanan süspansiyonlar soğuk zincir oluşturacak şekilde hazırlanan soğutucular içerisinde inokulasyon çalışmaları süresince soğuk bir ortamda saklanmıştır. İnokulasyon için hazırlanan süspansiyon 3-4 saat içerisinde bitkilere aktarılarak çalışmanın bu aşaması tamamlanmıştır.

3.2.2.2. Başaklara fungusun inokulasyonu

İnokulasyon, buğdayın çiçeklenme döneminde yapılmıştır (Şekil 1). İnokulasyon için başağın % 50' si çiçeklenmiş başaklar seçilmiştir (Chrpová ve ark., 2007). İnokulasyon yapılacak başaklar, inokulasyondan bir gün önce başak saplarına renkli ipler bağlanarak işaretlenmiştir.

İnokulasyonda şırınga yöntemi kullanılmıştır (Bekele, 1985). Çiçeklenme aşamasında olan 30 başağın (her parsel için) tam ortasındaki 2 başakçığa (ön ve arkadaki) yaklaşık 10'ar µl spor süspansiyonu şırınga edilmiştir. Bu aşamada epidermisin zarar görmemesine ve başakların sarsılarak spor süspansiyonunun dağılmaması için özen gösterilmiştir. Nemin korunması için inokule edilen başaklara polietilen torba geçirilmiş, alttan sapa zarar vermeyecek şekilde bağlanmıştır. Enfeksiyon oluşumunu teşvik etmek için gerekli nemi sağlayan polietilen torbalar 48 saat sonra uzaklaştırılmıştır.



Şekil 1. *Fusarium culmorum*'un çiçeklenme döneminde şırınga ile başaklara inokulasyonu.

Buğday çeşitlerinin çiçeklenme dönemleri farklı olduğundan inokulasyonlar üç farklı zamanda yapılmıştır. Çeşitlere göre inokulasyon zamanları Çizelge 4'de verilmiştir.

Çizelge 4. Çiçeklenme dönemleri farklı olan buğday çeşitlerinin *F. culmorum* ile inokulasyon tarihleri.

İnokulasyon tarihleri ve kullanılan buğday çeşitleri		
29.04.2010	04.05.2010	08.05.2010
Golia	Guadalupe	Syrena odeskaya
Yunak	BBDV 13	Serpico
Tosunbey	Tekirdağ	Gelibolu
Saggitario	Kate A1	Trakya BDV12
	Flamura	Konya
	Dropia	Trakya BVD7
	Edirne	Tina
	Selimiye	Studnica
	Aksel	
	BBVS7	
	Prostor	

3.2.3. Başaklarda Hasatlık Gelişiminin Saptanması

3.2.3.1. Hastalık gelişiminin kantifikasyonu

İnokulasyondan 2-3 gün sonra ilk hastalık simptomları görülmeye başlanmıştır. Hastalık öncelikle başak kısmında, daha sonraki aşamada ise buğdayın aşağı aksamına doğru yayılım göstermiştir. Bu yayılım öncelikle başakçıkta meydana gelen renk değişimi daha sonraki aşamada ise kahverengileşme şeklinde gözlenmiştir. İşaretlenmiş ve inokule edilmiş bu başaklarda inokulasyondan sonra 10. , 14. ve 21. günlerde üç kez gözlem yapılmıştır. İnokulasyondan sonra günlük gözlemlerin yanı sıra, hastalık gelişimini hesaplamak amacıyla, inokulasyondan sonra 10. , 14. ve 21. günlerde, hastalık belirtisi gösteren alanların cetvelle mm cinsinden ölçümü yapılmıştır. Hastalık gelişimine ek olarak, inokule edilen başağın da ölçümü yapılmış, hastalıklı alanın başak boyuna oranı alınarak hastalık gelişimi % olarak değerlendirilmiştir (Mietaner ve ark., 2003).

Üç ayrı zamanda elde edilen veriler Hastalık Gelişimi Eğrisi Altındaki Bölge (Area Under Disease Progress Curve; AUDPC) hesaplanmasında kullanılmıştır. AUDPC'nin hesaplanabilmesi için Shaner and Finney (1977)' in önerdiği aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$AUDPC = \frac{[(Y_1+Y_2)](t_2-t_1)]}{2} + \frac{[([(Y_2+Y_3)](t_3-t_2)]}{2}$$

Y_1, Y_2 ve Y_3 lezyon uzunluğu (inokulasyondan sırasıyla 10, 14 ve 21 gün sonra); t_1, t_2 ve t_3 ölçümün yapıldığı günleri ifade etmektedir.

3.2.3.2. *Fusarium culmorum*'un verim parametrelerine etkisinin hesaplanması

Fusarium culmorum'un verim parametrelerine etkisinin hesaplanması amacı ile inokule edilen başaklar hasat zamanında sap uzunluğu 10 cm olacak şekilde kesilerek 15 gün boyunca nemin düşük olduğu bir alanda kurutulmuştur.

Başak ağırlığı tespiti amacı ile başaklar sapla birleştikleri yerden kesilip ağırlıkları not edilmiştir.

Başak ağırlıkları tartıldıktan sonra 1000 dane ağırlığı tespiti amacıyla daneler ayıklanarak kese kâğıtlarında numara ve isimleri yazılarak saklanmıştır. Ekim yapılan her parselden alınan tanelerden rastgele 4 defa 100'er adet buğday tanesi sayılmış hassas terazi kullanılarak tartılmıştır. Buğday tanelerinin 4 tekrarlı tartımı alınmış bununda ortalaması alınarak 10 ile çarpılmıştır. Böylece buğday örneklerinin 100 tane ağırlıkları hesaplanmıştır. Daha sonra ortalamaları alınarak, 10 ile çarpılmış böylece örneklerin bin tane ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.2.4. Enfekteli Buğdayda Zearalenone Analizi

3.2.4.1. Örneklerin analiz için hazırlanması

Hastalıklı ve kontrol başaklarından elde edilen tanelerde ZEA akümülasyonu tayin edilmiştir.Yöntem, analiz numunesinin, metanol/su ile ekstraksiyonu, ZEA'a spesifik monoklonal antikorlar içeren immuno-affinite kolon (IAK)' la temizleme (clean-up), ZEA' nın asetonitril ile kolondan elüsyonu ve floresan dedektörlü ters faz sıvı kromatografi ile tayin edilmesine dayanmaktadır (De Saeger ve ark., 2003).

Laboratuara getirilen buğday taneleri, göz açıklığı 0,8 mm-1 mm olan elekten geçecek şekilde öğütülmüştür. Un haline getirilen buğday örnekleri plastik saklama kaplarına üzerlerine isimleri yazılarak ayrılmıştır.

Öğütme işlemi blenderda yapılmıştır. Öğütme işlemi sırasında örnekler arası bulaşıklık olmaması amacıyla her parselden elde edilen taneler için blendır % 10'luk NaOCl çözeltisi ile temizlenerek kullanılmıştır.

Analizi yapılacak buğday tanelerin öğütülerek un haline getirilmesi ve analize alınması aşamasına kadar buzdolabında (2 – 6 °C' de) saklanmıştır.

Yirmi beş gram buğday örneği tartılarak blender kabına alınmış, 125 ml asetonitril+su (75+25) (v+v) karışımı eklenmiştir. Örnekler 2 dakika süre ile blendırda yüksek hızda karıştırılmış, ekstrakt filtre kâğıdından (whatman no: 4) süzülmüştür.

Süzüntüden 20 ml alınarak fosfat buffer (PBS) ile balon jojede 100 ml 'ye tamamlanır ve immuno-affinite kolon safhasına geçilir.



Şekil 2. Buğday örneklerinin extraksiyon aşamaları. A; Homojenize edilen buğdaylarda tartım işlemi, B; Blendır kabına alınan numune extraksiyon sıvısı ile karıştırılması, C;Örneğin filtre kağıdından süzme.

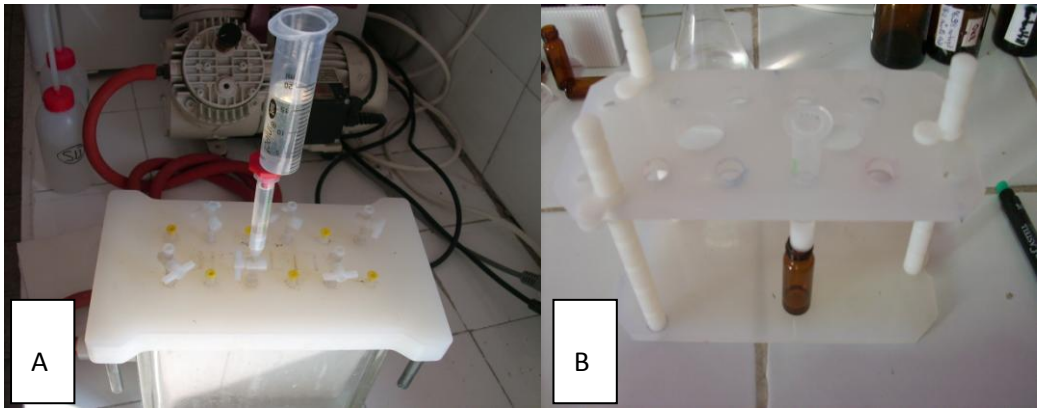
3.2.4.2. İmmunoaffinite kolon temizleme

Yirmi beş ml numune ekstraktı (1 g örneği temsil eder) yaklaşık 3-6 ml/dakika (1-2 damla /sn) hızla IAK' dan geçirilerek numune extraktı içerisindeki ZEA'nın tutunması sağlanmıştır.

Ekstarkttan sonra kolondan 2-3 ml hava geçirilerek içerisinde bulunan tüm numune extraktının IAK' dan geçirilmesi sağlanmıştır. Kolondan her yeni solüsyon veya hava geçirileceğinde, şırınga kolondan ayrılıp pistonu çıkarıldıktan sonra tekrar şırınga kolona geri takılarak İAK' un slika jel tabakasının zarar görmesi engellenmiştir.

Kolon 10 ml PBS' den (fosfat buffer) geçirilerek (2 damla/sn) yıkanmış, ardından 2-3 ml hava geçirilerek içerisinde bulunan PBS' in kolondan geçirilmesi ve enjeksiyon sıvısının içeriğini etkilememesi sağlanmıştır.

Kolon manifolddan ayrılarak vial üzerine yerleştirilmiştir. 1.5 ml HPLC saflıkta asetonitril ile ZEA IAK'dan çözülerek 4 ml'lik amber renkli viale alınmıştır. Yine 2-3 ml hava geçirilerek kolonda asetonitril kalmaması sağlanmıştır. Eluata 1,5 ml ultra saf su ilave edilmiştir. Böylece 3 kat seyreltilmiş olarak bulunan 3 ml sıvı enjeksiyona hazır hale getirilmiştir. Ardından örnek 0,2 µl' lik filtreden geçirilerek HPLC enjeksiyona hazır hale getirilmiştir. Şekil 3'te ZEA'nın immuno affinity kolon ve HPLC cihazına enjeksiyonu için immuno affinity kolonda tutunan ZEA'nın 4 ml'lik viale çözücü solvent ile aktarımı gösterilmektedir.



Şekil 3. İmmuno affinity kolon ve çözücü solvent ile vialde toplama aşaması. A; İAK safhası, B; ZEA'nın viale aktarımı

4.3. HPLC'nin standardizasyonu

Standart zearalenone'un konsantrasyonu 8-10 µg/ml olacak şekilde HPLC saflıkta asetonitril ile seyreltilmiştir. Hazırlanan stok çözeltinin spektrofotometrede 274 nm dalga boyu civarında görülen maksimum absorbans ölçümü yapılarak konsantrasyonu hesaplanmıştır (Fazekas ve Tar 2001).

3.2.4.4. Kalibrasyon grafiğinin oluşturulması ve kantifikasyon

Kalibrasyon grafiğinin oluşturulması amacı ile 5 farklı konsantrasyonda hazırlanan standart maddeler 3 defa HPLC'ye enjekte edilmiştir. Kalibrasyon grafiğinin hazırlanmasında 1, 5, 10, 25, 50 ve 100 µg/kg (ppb) içeriklere sahip olarak hazırlanan standart ZEA kullanılmıştır. Analiz sonunda her bir enjeksiyondan sonra elde edilen alanlarda yapılan hesaplama ile kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Kalibrasyon grafiği amacı ile hazırlanan ZEA içeren standart maddelerden elde edilen alanlar ile doğrusal regresyon ($y = ax + b$) hesaplanmıştır.

Kalibrasyon grafiği (fonksiyonu), ölçülen solüsyonun konsantrasyonunu hesaplamak için doğrusal regresyonla elde edmektedir.

$$C_{smp}\,[ng/ml] = a(sinyal_{smp}\,[birim]) + b$$

Hastalıklı ve kontrol tanelerinde bulunan ZEA'nın miktar tayininde aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır:

$$ZEA(ng/g) = \frac{(C_{smp})(S)(E)(D)}{(W)(Ve)(V_{IAK})}$$

Burada;

W (weight): Analiz için alınan örnek miktarı (g),

S (solvent): Ekstraksiyon solventi hacmi (ml),

E (elution): IAK' dan elüsyondan sonra elde edilen son hacim (HPLC enjeksiyonundan önce) (ml),

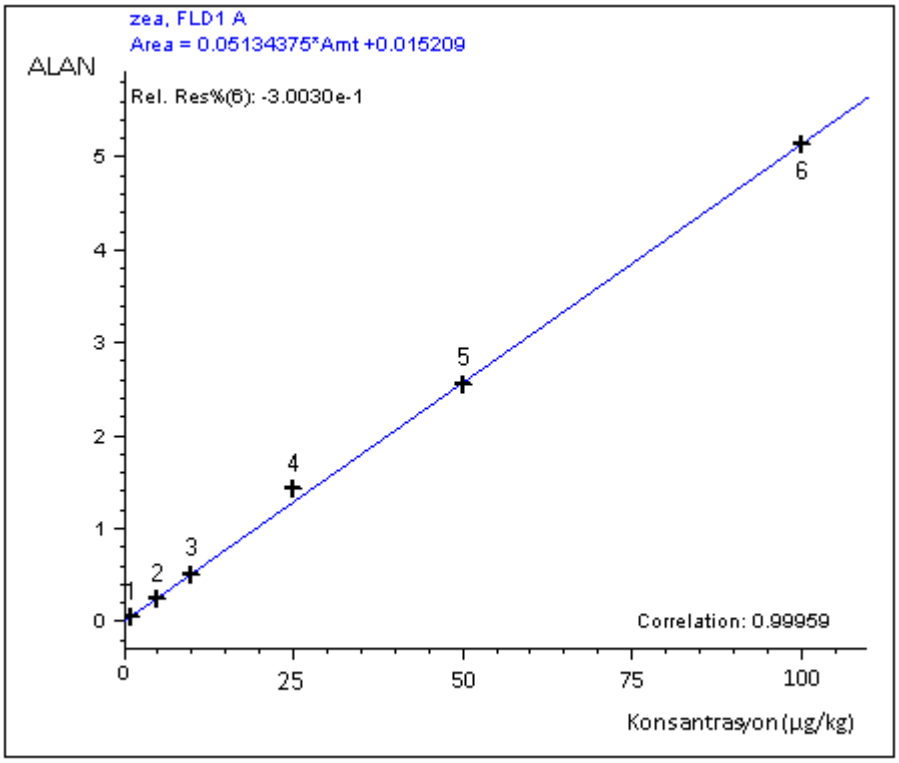
D (dilution): PBS (veya su) ile seyreltildikten sonraki hacim (ml),

Ve: Ekstrakttan alınan hacim (ml),

V_{IAK}: IAK' dan geçirilen numune ekstraktı (ml),

C_{smp}: Doğrusal regresyonla hesaplanan ZEA konsantrasyonu (ng/ml),

$sinyal_{smp}$: Ölçülen son solüsyondan elde edilen ZEA pikinin sinyali.



Şekil 4. ZEA kalibrasyon grafiği

3.2.5. İstatistiki analizler

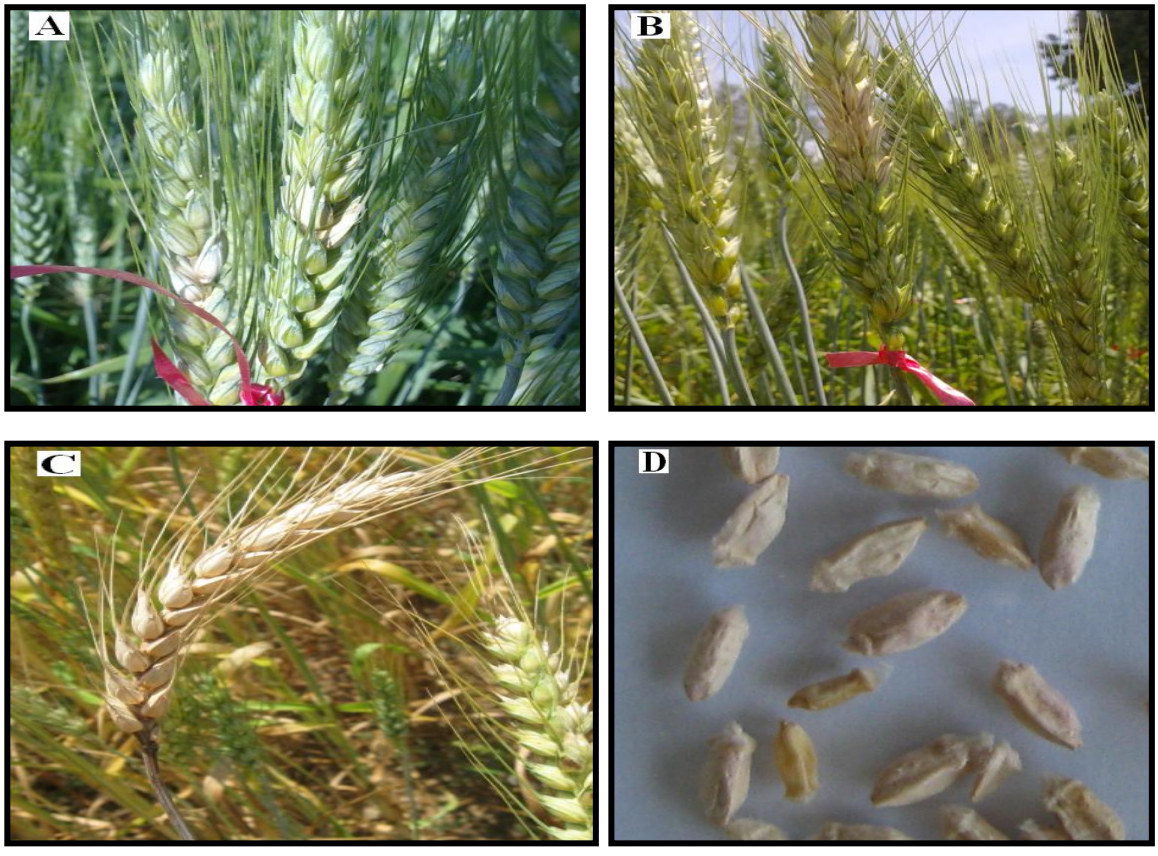
Araştırmadan elde edilen veriler SAS V8 istatistik paket programı kullanılarak analiz edilmiştir (SAS Ins. 1999). Varyans analizleri PROC GLM komutu kullanılarak gerçekleştirilmiş ve analiz sonucunda önemli bulunan varyans unsurlarının düzeylerini karşılaştırmak amacıyla asgari önemli fark (LSD) testinden faydalanılmıştır.

İncelenen özellikler arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla Pearson korelasyon katsayıları PROC CORR komutu ile tespit edilmiştir.

BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Buğday başak yanıklığı simptomları

Çiçeklenme döneminde *F. culmorum* ile inokule edilen başaklarda ilk hastalık belirtileri inokulasyondan 2-4 gün sonra ortaya çıkmaya başlamıştır. İlk belirtiler inokulasyonun yapıldığı başakçıkta klorotik lekelenmeler şeklinde gözlenmiş olup, daha sonra diğer başakçıklara yayılmalar göstermiştir. İnokulasyondan 7-10 gün sonra inokulasyon noktasının alt ve üst kısımlarına doğru yayıldığı ve genellikle başağın % 50'sini kapladığı gözlenmiştir. Daha sonraki günlerde ise hastalığın tüm başağı sardığı ve "ak başak" belirtisini oluşturduğu gözlenmiştir. İnokulasyondan 3 hafta sonra ise genellikle hastalığın sapa doğru yayıldığı ve bu bölgelerde kahverengi yanıklar oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. *F.culmorum* ile inokule edilen buğday başaklarında başak uyuzu belirtileri. A; 10. gün simptom gözlemi, B; 14. gün simptom gözlemi, C; 21. gün simptom gözlemi, D; Hastalıklı çeşitlerin dane görünümü.

4.2. İnfekteli başaklarda hastalığın gelişimi

Başaklarda 10., 14. ve 21. günlerde yapılan başak boyu ve başakta gözlenen simptom uzunluğu ölçümleri ile buğday başaklarındaki % hastalık gelişim oranı tespit edilmiştir. Hastalık gelişiminin başak boyuna oranı ve bunun % değerinin alınması ile yapılmıştır.

Yunak, Saggittario, Tosunbey ve Golia çeşitlerinde 10. gün hastalık gelişimi ölçülememiştir. Bu yüzden değerlendirmelerde bu parametreler göz ardı edilmiştir.

Başaklarda infeksiyon noktasından başlayarak, zamana bağlı olarak başağın tümüne doğru yayılma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. İnokulasyondan 10 gün sonra yapılan ilk ölçümlerde çeşide göre başağın % 19 ile 59'un hastalandığı gözlenmiştir (Çizelge 5). Bu oranlar hastalık etmeninin doku içindeki yayılma hızı ile bağlantılıdır. Yine 14 gün sonra yapılan ölçümlerde, hastalığın yayılmasının daha da arttığı ve bazı çeşitlerde bu oranın başağın % 91'ini dahi kapladığı saptanmıştır. Örneğin Studnica gibi bazı çeşitlerin 10. gün yapılan ölçümlerinde hastalığın başağın sadece % 19'unu kapladığı, 14. gün yapılan ölçümlerde biraz daha yayılarak başağın % 35'ini kapladığı görülmüştür. Oysa Kate-A1'de hastalığın hızla yayıldığı gözlenmiştir. Hastalık 10 günde başağın % 42'sini kaplarken, 14. gün yapılan ölçümlerde başağın % 91'ini kaplamıştır. Üçüncü ölçümler inokulasyondan 21 gün sonra yapılmış olup, çeşite bağlı olarak, başakların % 35- 100'ünün hastalandığı gözlenmiştir.

Farklı çeşitlerin inokulasyon zamanları farklı günlere geldiğinden ve bir grup ölçümlerin inokulasyon dönemiyle çakışmasından dolayı bazı çeşitlerde 10. gün sonuçları alınamamıştır. Yunak, Sagittario, Tosunbey ve Golia çeşitlerine ait 10. gün ölçümleri mevcut olmayıp, 14. ve 21. gün sonuçlarına göre yorum yapılmıştır. Bu çeşitler içinde Golia'da hastalık gelişimi oldukça yavaş seyretmiş olup, inokulasyondan 21. gün sonra dahi hastalığın başağın sadece % 35'ini kapladığı saptanmıştır. Diğer çeşitler içerisinde Yunak ve Tosunbey çeşitlerinde, Golia'nın aksine, çok daha hızlı bir gelişim saptanmıştır. Örneğin Tosunbey'de inokulasyondan 21 gün sonra hastalık belirtilerinin başağın % 99'unu kapladığı görülmüştür.

Hastalık gelişimi eğrisi altındaki bölge olarak da tanımlanan AUDPC, herhangi bir hastalık yoğunluğunun farklı zamanlarda alınan verileri karşılaştırarak, zamana bağlı olarak kantitatif bir özetini verir (Jeger ve Viljanen-Rollinson, 2001). Bu çalışmada da,

inokulasyondan sonra 3 farklı sabit dönemde alınan verileri (Çizelge 5), daha özet bir biçimde sunmak amacıyla AUDPC hesaplanmıştır. Burada hastalık şiddetini ve hastalığın gelişim hızını tahmin etmek amaçlanmıştır.

Çizelge 5. *F.culmorum* inokulasyonundan 10., 14. ve 21. günlerdeki hastalık gelişimi

Buğday Çeşitleri	Hastalık Gelişimi*			
	10. gün	14. gün	21. gün	AUDPC
Yunak	X	57,80 F-G	97,93 A-C	622,87 I-J
Guadalup	40,53 B-D**	57,17 G-H	68,13 G	647,67 I-J
Flamura	35,73 D	73,20 B-E	94,90 A-D	835,87 C-G
Sagittario	X	36,23 I	83,33 D-F	478,33 L
Gelibolu	43,53 B-D	62,43 E-G	94,03 A-D	784,83 E-H
Edirne	52,87 A-B	82,63 A-B	98,03 A-C	926,27 A-C
Prostor	43,33 B-D	75,23 B-C	89,80 B-D	838,13 B-G
Dropia	35,53 D	69,23 C-F	95,17 A-C	814,73 D-G
BBVD7	46,70 B-D	83,73 A-B	99,77 A-B	929,70 A-B
Selimiye	41,80 B-D	76,03 B-C	94,63 A-D	859,47 B-E
Tina	46,27 B-D	63,27 D-G	87,90 C-E	769,03 F-G
Tekirdağ	47,00 A-D	81,17 A-B	99,20 A-C	913,73 A-C
Studnica	19,80 E	35,47 I	74,60 F-G	523,20 K-L
Tosunbey	X	52,67 G-H	99,03 A-C	606,87 J-K
Sodeska	48,43 A-C	56,63 G-H	94,33 A-D	761,53 G-H
TBVD7	59,50 A	74,47 B-D	97,57 A-C	889,10 A-D
BBVD13	47,30 A-D	84,23 A-B	91,57 A-D	900,43 A-D
Konya	36,10 C-D	53,53 G-H	88,97 B-D	704,37 H-I
TBVD12	52,60 A-B	73,73 B-E	94,57 A-D	862,83 B-E
Golia	X	15,17 J	35,60 H	203,20 M
Kate-A1	42,27 B-D	91,33 A	100,00 A	974,10 A
Aksel	36,53 C-D	83,77 A-B	96,03 A-C	899,67 A-D
Serpico	44,17 B-D	45,67 H-I	76,50 E-G	623,33 I-J

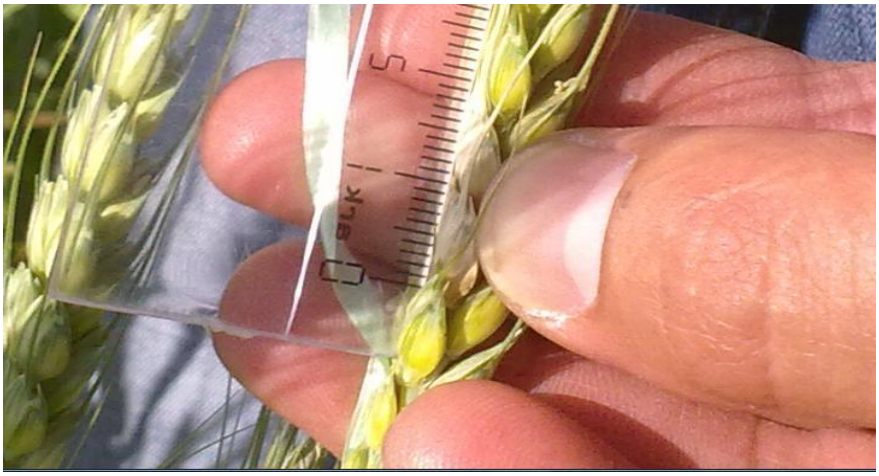
X; ölçüm yapılmamış parselleri göstermektedir.

*Değerler infeksiyon alanının başak boyuna oranlanarak %'si şeklinde verilmiştir.

**Farklı harfler istatistiki olarak çeşitlerin hastalığa tepkisi açısından farklı olduğunu göstermektedir. ($P \leq 0.05$)

Hastalığın inokulasyonu takiben başaklarda gelişimi bu çalışmada olduğu gibi başka çalışmalarda da izlenmiştir. Bu çalışmada hastalığın gelişimi inokulasyondan sonra 10, 14 ve 21. günler alınmasına rağmen, bazı çalışmalarda ilk gözlemin inokulasyondan 14 gün sonra yapıldığı görülmektedir, takip eden ölçümlerin ise 21 ve 28. gün olarak alındığı görülmektedir (Chrpová ve ark., 2007; Chrpová ve ark., 2010). Bazı çalışmalarda simptom

alanı cetvel ile ölçülmüştür. Benzer çalışmalarda 1-9 skalasının da kullanıldığı bilinmektedir (Perkowski ve ark., 1995; Chrpová ve ark., 2007). Bazı çalışmalarda ise hastalıklı başakçık sayısının toplam başakçık sayısına oranlanmasıyla da gözlem yapılmıştır (Miedener ve ark., 2003). Her üç metod da inokulasyondan sonra hastalığın zaman içinde inokulasyon noktasından başlayarak başağın tamamına yayıldığını gösteren kantitatif verileri ortaya çıkartmıştır.



Şekil 6. *F.culmorum* inokule edilen buğday başaklarında simptom uzunluğu ölçümü.

AUDPC açısından değerlendirildiğinde çeşitler arasında istatistiki olarak fark olduğu saptanmıştır (Ek 1). Yüksek AUDPC değeri yüksek hastalık oluşumunu, düşük AUDPC ise düşük hastalık oluşumunu ifade etmektedir. Üç farklı zamanda yapılan ölçümlerde, hastalığın hızlı yayıldığı Kate-A1 çeşidinde AUDPC değeri 974 iken, Golia'da 203,20 olmuştur.

AUDPC değeri zaman içinde bir hastalığın gelişiminin özetini verir ve birçok çalışmada rapor edilmiş bir yöntemdir (Buerstmayr ve ark., 1999; Jeger ve Viljanen-Rollinson, 2001; Steiner ve ark., 2004). Bu çalışmada AUDPC, 3 farklı zamanda yapılmış olan gözlemlerin daha iyi yorumlanmasını sağlamıştır. Yüksek AUDPC hastalık şiddetinin yüksek, düşük AUDPC ise hastalık şiddetinin düşük olduğunu göstermektedir.

Ittu ve ark. (2000), farklı *F. graminearum* izolatlarının farklı buğday çeşitlerinde farklı virülensliğe sahip olduğunu göstermiştir. Kullanılan 3 farklı *F. graminearum* izolatının 6 buğday çeşitinde oluşturdukları hastalık şiddetinin farklı olduğu, bir çeşitte oldukça virülent olan bir izolatın başka bir buğday çeşidinde aynı oranda hastalık oluşturamadığı rapor edilmiştir. Fakat bunun tam aksine yine aynı tür ile yapılan başka bir

çalışmada, izolatların virülenslikleri arasında bir interaksiyon bulunmadığı gibi, izolat-çeşit arasında da bir ilişkinin olmadığı rapor edilmiştir (Gilbert ve ark., 2001).

4.3. *Fusarium culmorum*'un verim parametrelerine etkisi

Başak ağırlığı ve bin tane ağırlığı açısından değerlendirildiğinde çeşit etkisinin ve izolat etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır (Ek 2). İnokule edilmeyen kontrol parsellerinde başak ağırlıklarının tüm çeşitlerde farklı olduğu saptanmıştır. (Çizelge 4).

Çizelge 6. *Fusarium culmorum* ile inokule edilen çeşitlerin hasattan sonra başak ağırlıkları ile bin tane ağırlıklarının karşılaştırılması

Buğday Çeşiti	Başak Ağırlığı			Bin Dane Ağırlığı		
	Kontrol	FHB	% Kayıp	Kontrol	FHB	% Kayıp
Yunak	3,68 Aa	0,78 F-Ib	79	43,33 A-Ba	17,33 E-Gb	60
Guadalup	3,64 Aa	1,18 B-Cb	68	34,90 I-Ja	23,40 B-Cb	33
Flamura	3,50 A-Ba	0,78 F-Ib	78	45,47 Aa	15,2 F-Hb	67
Sagittario	3,50 A-Ba	0,99 C-Eb	72	40,67 B-Fa	17,93 D-Fb	56
Gelibolu	3,40 A-Da	0,81 E-Hb	76	40,90 B-Ea	17,27 E-Gb	58
Edirne	3,38 A-Da	0,93 E-Fb	72	40,87 B-Fa	15,33 F-Hb	62
Prostor	3,35 A-Da	0,72 G-Ib	79	38,33 E-Ga	21,87 C-Db	43
Dropia	3,32 A-Da	0,79 F-Ib	76	42,80 A-Ca	15,57 F-Hb	64
BBVD7	3,32 A-Da	0,80 E-Hb	76	42,43 B-Da	10,37 I-Jb	76
Selimiye	3,31 A-Da	0,86 E-Hb	74	42,77 A-Ca	13,47 G-Hb	69
Tina	3,24 A-Da	0,99 C-Eb	69	39,57 E-Fa	20,80 C-Eb	47
Tekirdağ	3,21 A-Da	0,89 D-Gb	72	43,33 A-Ba	13,87 F-Ib	68
Studnica	3,08 B-Da	1,37 A-Bb	56	32,47 Ja	26,30 Bb	19
Tosunbey	3,06 B-Da	0,88 E-Gb	71	40,43 C-Fa	12,23 H-Ib	70
Sodeska	3,04 B-Da	0,67 H-Ib	78	40,90 B-Ea	14,87 F-Hb	64
TBVD7	3,04 B-Da	0,71 G-Ib	77	40,10 C-Fa	12,30 H-Ib	69
BBVD13	3,01 B-Ea	0,91 D-Gb	70	38,00 F-Ha	14,17 F-Ib	63
Konya	2,98 C-Ea	1,08 C-Db	64	40,13 C-FE	24,87 B-Cb	38
TBVD12	2,97D-Ea	0,79 F-Ib	73	41,67 B-Da	12,97 H-Ib	69
Golia	2,95 D-Ea	1,40 Aa	53	34,77 I-Ja	32,90 Aa	5
Kate-A1	2,94 D-Ea	0,76 F-Ib	74	35,23 H-Ja	7,47 Jb	79
Aksel	2,52 Ea	0,59 Ib	77	36,33 H-Ia	15,33 F-Hb	58
Serpico	X	1,41 A	X	X	22,97 B-C	X

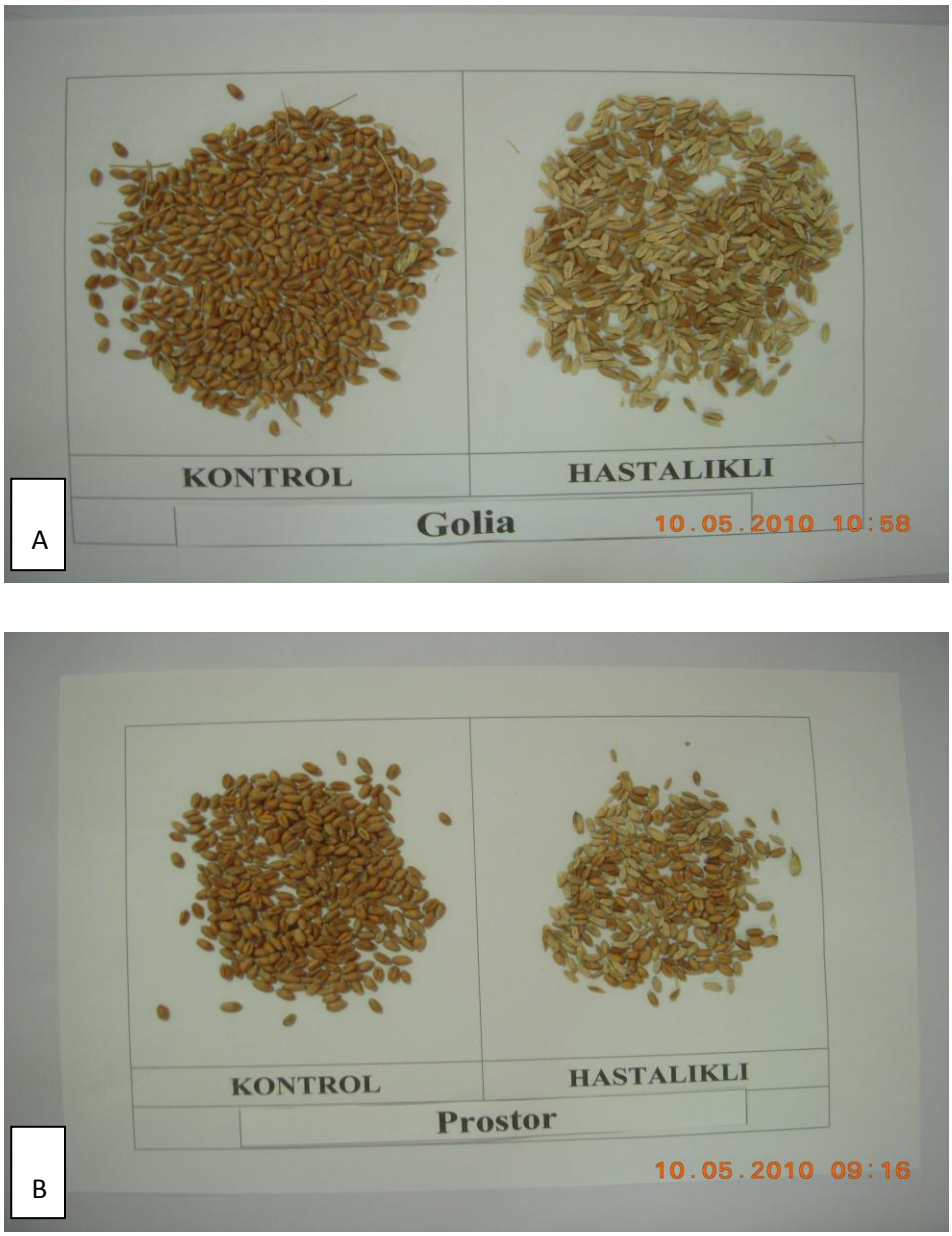
*Büyük harfler çeşitler arasındaki farkları, küçük harfler ise kontrol ile FHB arasındaki farkı ifade etmektedir. Farklı harfler istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir. ($P \leq 0.05$)

FHB infeksiyonundan dolayı başak ağırlıklarında meydana gelen azalma istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek2). Hastalık inokule edilen buğday çeşitleri ile kontrol

çeşitleri arasında başak ağırlıklarında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Buğday çeşitlerinin başak ağırlıklarının, FHB ‘ye gösterdikleri tepkiye göre farklı oldukları gözlenmiştir. Hastalık bulaştırılan buğday çeşitlerinde başak ağırlığındaki kayıplar % 79 düzeylerine çıkarken kimi çeşitte ise % 53 lerde kalmıştır.

Kontrol ve FHB ile bulaştırılan buğday çeşitleri arasındaki en dayanıklı çeşit Golia olmuştur. Kontrol çeşidi ile arasında % 53 oranında kayıp yaşanmasına rağmen en dayanıklı çeşit olarak görünmektedir. Bunu % 56 ile Studnica izlemiştir. Başak ağırlığında en fazla kayıp yaşanan çeşit olarak Yunak ve Prostor görülmektedir. Bu genotiplerin FHB hastalığına dirençleri diğer çeşitlere göre daha az olmuş, hassasiyetleri diğerlerine göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu çeşitlerde yaşanan kayıp % 79 oranında olduğu saptanmıştır.

Kontrol parseli ve hastalık inokule edilen çeşitlerin bin dane ağırlıklarında da ciddi farklılıklar bulunmuştur. Bu oran en düşük % 5 olurken en yüksek kayıp % 79 oranında meydana gelmiştir. Serpico çeşidinin kontrol verisi olmadığından değerlendirme dışı bırakılmıştır. Golia buğday çeşidi başak ağırlığında olduğu gibi en dayanıklı çeşit olmuş ve hastalıktan kaynaklanan kayıp % 5 düzeyinde kalmıştır. Bunu en yakın takip eden çeşit ise % 19 ile Studnica olmuştur. Bin dane miktarında en fazla kayıp yaşanan ise Kate A-1 olmuştur. Kate A-1 çeşitinde kayıp % 79 oranında tespit edilmiştir. Şekil 7 ‘de kontrol ve hastalıklı buğday çeşitlerinin tane görünümleri verilmiştir.



Şekil 7. F.culmorum ile enfekteli buğday tanelerinin kontrolle kıyaslaması. A; Golia'ya ait kontrol ve hastalıklı dane görünümü, B; Prostor'a ait kontrol ve hastalıklı dane görünümü.

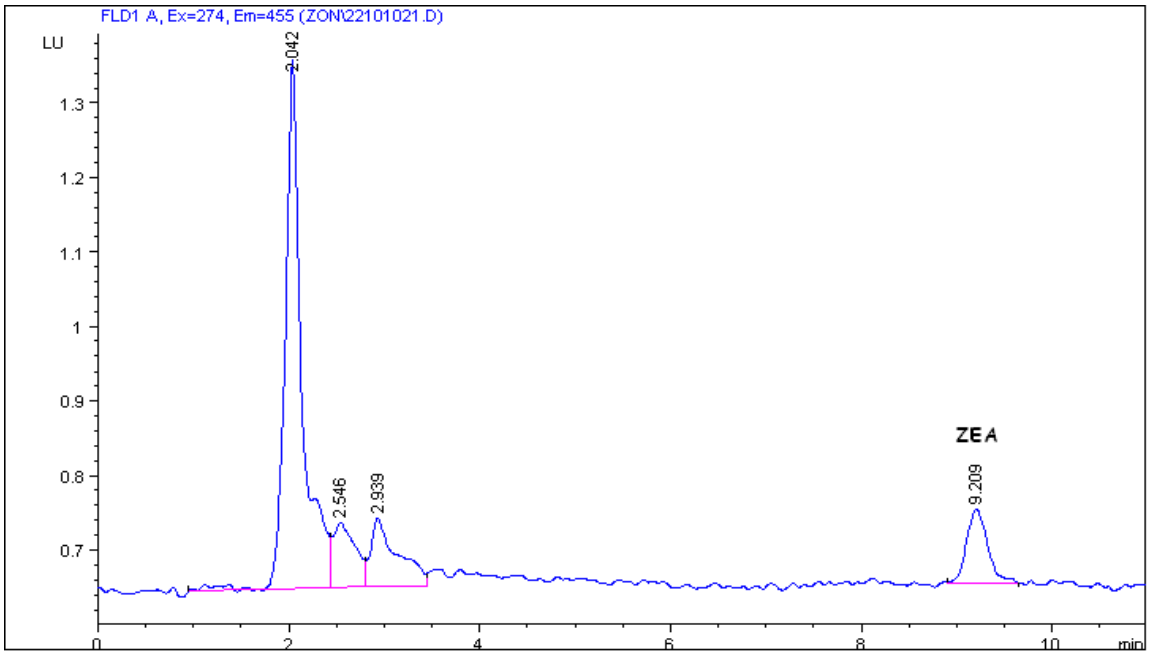
4.4. Farklı çeşitlerde ZEA akümülasyonu

Buğdaylarda FHB hastalığı bulaştırılan buğday çeşitlerinde oluşan ZEA miktarının saptanması amacıyla FLD detektöre sahip HPLC cihazı kullanılmıştır. İnfekteli tanelerde oluşan ZEA miktarı Rbiopharm firmasının geliştirdiği "EASİ-EXTRACT ZEARALENONE for sample clean-up prior to dedection of zearalenone using HPLC

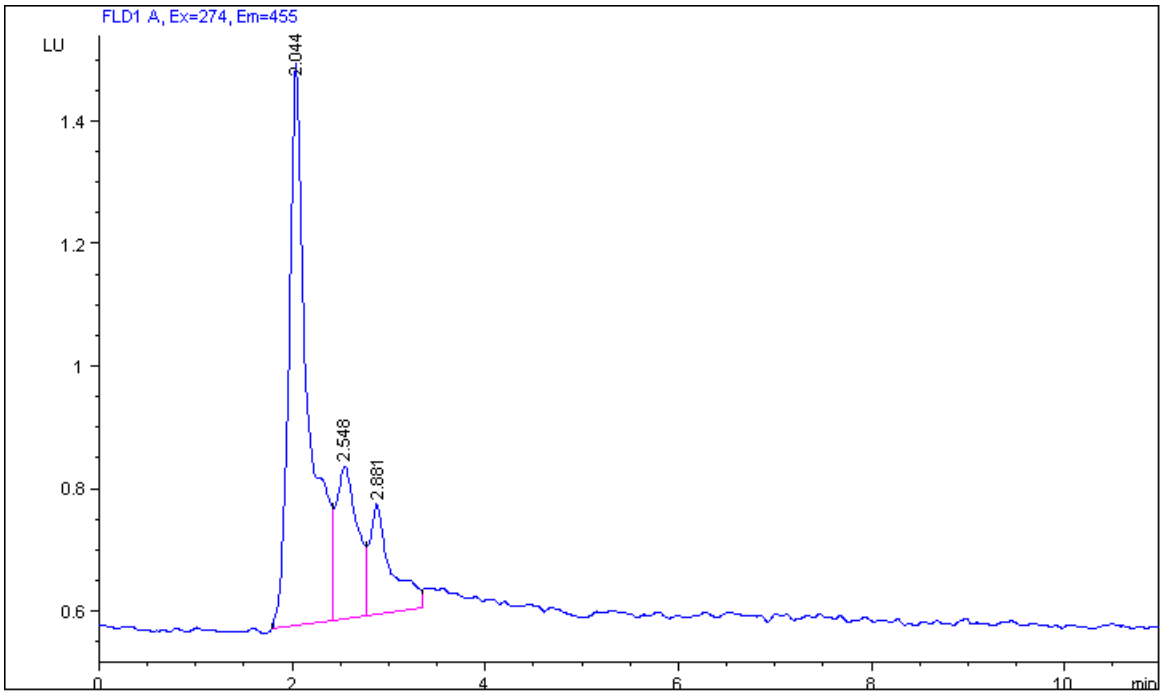
analysis, Product Code: RP91/RP90N Version: RP91/V12/26.10.10" metodu kullanılarak tespit edilmiştir.

Gün içerisinde analiz başlanmadan önce ZEA piklerinin kromotogramda geliş zamanı kontrol edilir. Geliş zamanları kullılan mobil faz karakterine göre değişiklik gösterebilir. Bu yüzden gün içerisinde verilen standart madde ile geliş zamanı tespit edilir ve bu geliş zamanında oluşan pikler ZEA olarak kabul edilir. ZEA pikleri ortalama 6-10. dakikalar arasında kromotogramda görülmektedir.

İnfekte edilen ve kontrol parselinden elde edilen ürünler blendırda öğütülerek homojenize edilmiştir. İnfekteli ve sağlıklı kontrol tanelerden elde edilen ekstraktlar HPLC'e enjekte edildikten sonra, kontrol tanelerin ZEA içermediği, sadece hastalıklı olan tanelerde ZEA'nın akümüle olduğu gözlenmiştir. Şekil 8'de FHB ile enfekteli buğday tanelerinde ZEA oluşumunu gösteren kromatogram verilmiştir. Örnek olarak TBVD 7 çeşiti kullanılmıştır. Şekil 9 'da ise FHB ile infekteli olmasına rağmen ZEA oluşumu gözlenmeyen Golia çeşitinin kromotogramı verilmiştir.



Şekil 8. TBVD 7 çeşidinin ZEA analizinden elde edilen kromotogram



Şekil 9. Golia çeşidinin ZEA analizinden elde edilen kromotogram

F. culmorum ile enfekteli tanelerde ZEA miktarı çeşitlere göre istatistiki olarak önemli farklılıklar göstermiştir (Ek1). Çeşitlerin çoğunda ZEA birikimi gerçekleşirken, Golia çeşidinde tespit edilebilir miktarda ZEA oluşmamıştır. ZEA birikiminin saptanabildiği en düşük oran yaklaşık 7 µg/kg ile Edirne ve Aksel çeşitlerindedir. En yüksek ZEA birikimi BBDV7 ve TBVD7 çeşitlerinde görülmüştür (Çizelge 7).

Çizelge 7. *F. culmorum* ile enfekteli farklı buğday çeşitlerine ait buğday taneleri ZEA konsantrasyonları (µg/kg).

Buğday çeşiti	ZEA (µg/kg)
Yunak	36,03 C-D
Guadalup	13,80 F-I
Flamura	9,27 G- H
Sagittario	16,90 F-H
Gelibolu	39,50 C
Edirne	7,90 I-J
Prostor	16,47 F-H
Dropia	17,70 F-G
BBVD7	87,17 A
Selimiye	19,97 E-F
Tina	65,50 B
Tekirdağ	31,20 C-D
Studnica	19,77 E-F
Tosunbey	10,23 G-I
Sodeska	27,73 D-E
TBVD7	80,43 A
BBVD13	8,83 H-I
Konya	30,97 D
TBVD12	10,60 G-I
Golia	0,00 J
Kate-A1	10,33 G-I
Aksel	7,73 I-J
Serpico	12,40 F-I

4.5. Korelasyon Analizleri

F. culmorum infekte edilen buğday çeşitlerinde araştırılan parametreler açısından korelasyon olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Korelasyon analizine üç farklı dönemde ölçümleri yapılan hastalık gelişimleri, AUDPC, bin tane ağırlığı, başak ağırlığı ve ZEA verileri dahil edilmiştir.

Başak ağırlığı ile bin tane ağırlığı arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (Çizelge 8). Hastalık etmeninin taneleri iyi dolmamasına, küçük ve buruşuk olmasına sebep olmaktadır. Bin tane ağırlığında meydana gelen azalma direk olarak başak ağırlığını da etkilemiştir.

Çizelge 8. Denemede incelenen özellikler ile ilgili korelasyon katsayıları ve önem düzeyleri.

	BDA	HG10	HG14	HG21	ZEA	AUDPC
Başak	0.68999***	-0,34439**	-0,65095***	-0,69054***	-0,19791	-0,651***
BDA		-0,41441**	-0,73765***	-0,77829***	-0,205	-0,735***
HG10			0,43591***	0,23278	0,2734*	0,4976***
HG14				0,72607***	0,1768	0,9651***
HG21					0,2802*	0,8034***
ZEA						0,2526*

P≤0,05* P≤0,01** P≤0,001***

Başak: Başak ağırlığı, HG10: 10. Gündeki Hastalık gelişimi, HG14: 14. Gündeki Hastalık gelişimi, HG21: 21. Gündeki Hastalık gelişimi, BDA: Bin tane ağırlığı, ZEA: Zearalenone

F. culmorum ile inokulasyon sonucunda üç farklı zamanda yapılan ölçümlerde, 10. gün, 14. gün ve 21. gün hastalık gelişimlerinde pozitif olarak ($P \leq 0,001$) korelasyon içinde olduğu saptanmıştır. Hastalık gelişimi zamanla bir artış göstermiştir ve ilgili zamanlara ait veriler Çizelge 5'te verilmiştir. Her üç zamanda yapılan ölçümler ile elde edilen AUDPC değeri arasında da pozitif bir korelasyon bulunmuştur.

AUDPC hastalık gelişiminin bir özetini vermektedir. Yüksek AUDPC değeri hastalığın hızlı yayıldığını, küçük değer ise hastalığın yavaş ilerlediğini ifade etmektedir. Yapılan korelasyon analizinde bin tane ağırlığı ile AUDPC ve başak ağırlığı ile AUDPC arasında negatif bir ilişki saptanmıştır. Bu sonuç hastalık şiddetinin yüksek olduğu çeşitlerde verimin düştüğüne işaret etmektedir.

ZEA açısından değerlendirildiğinde, bin tane ağırlığı ile ZEA ve başak ağırlığı ile ZEA arasında negatif bir ilişki olduğu saptanmıştır. Hastalığın şiddeti ile bağlantılı olarak, tanelerdeki kolonizasyondan kaynaklanan verimdeki düşüş, yüksek ZEA ile bağlantılı bulunmuştur. AUDPC ile ZEA, 10. gün hastalık gelişimi ile ZEA ve 21. gün hastalık gelişimi ile ZEA arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur.

F. culmorum bir başka mikotoksin olan DON da üretebilen bir fungal türdür. DON analizinin yapıldığı bazı çalışmalarda DON ile test edilen izolatların virülensliği arasında pozitif bir korelasyon olduğu bazı çalışmalarla saptanmıştır (Perkowski ve ark., 1995; Gang ve ark., 1998; Wanyoike ve ark., 2002; Tunalı ve ark., 2006). Mesterházy ve Bartok (1992) yaptıkları bir çalışmada bir buğday çeşidinin *Fusarium* başak yanıklığına olan dayanıklılığı potansiyel mikotoksin kontaminasyon ile korelasyon içinde olabileceğini,

fakat istisnaların da olduğunu, yani yüksek mikotoksin üretimi zayıf hastalık görünümü veya tam tersinin de olabileceğinin hatırlanması gerektiğini vurgulamıştır.

Yukarıdaki raporların aksine, bazı izolat-çeşit interaksiyonunda, Ebi buğday çeşidinde az oranda hastalık görünümüne rağmen, yüksek oranda DON ve ZEA üretiminin gerçekleştiği (Šip ve ark., 2007), bunun tam tersi olarak Apache buğday çeşidinin DON ve ZEA oluşumuna karşı yüksek oranda dirençli olmasına karşın, orta derece hastalık simptomlarının ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Bai, 2004). Başka bir çalışmada 35 buğday çeşidinde yapılan bir çalışmada, *F. culmorum* ile inokulasyondan sonra DON içeriği hastalık şiddeti arasında korelasyon olmasına rağmen, ZEA açısından bir korelasyonun olmadığı saptanmıştır (Chrpová ve ark., 2007). Yukarıda değinilen çalışmalar dışında, literatürde *F. culmorum* izolatlarının virülenslikleri ile ZEA üretimi arasındaki ilişkinin rapor edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Türk Gıda kodeksi belirli bulaşanların maksimum limitleri ile ilgili tebliğde tahıllarda belirlenen limit değerler 20-400 µg/kg arasında değişmektedir. Buğdayda belirlenen maksimum ZEA limit değeri tebliğe göre 75 µg/kg'dır. İşlenmemiş mısır ve mısır harici buğdaygillerde sınır sırasıyla 350 µg/kg ve 100 µg/kg'dır. Mısır unu hariç diğer unlarda 75 µg/kg'dir. Ekmek, bisküvi ve kahvaltılık tahıllarda 50 µg/kg, bebek ve çocuk yiyeceği olarak satılan ürünlerde ise 20 µg/kg'dır. Bu deneme kapsamında elde edilen ZEA miktarı örneğin her gün tüketilen ekmekte bazı izolatlar tarafından her iki çeşitte de tolerans limitinin üzerinde gözlenmiştir (Anonim, 2009).

BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada *F.culmorum*'un farklı buğday çeşitlerinde zearalenone üretimi ve hastalık şiddetiyle korelasyonu saptanmaya çalışılmıştır. Çalışmamız 23 farklı buğday çeşiti ile yürütülmüştür. Yapılan çalışmalarda bin dane ağırlığı, başak ağırlığı, zearalenone miktarı, AUDPC testi, 10. , 14. ve 21. günlerdeki simptom uzunluğu parametrelerinde çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda parametrelerin birbiri arasındaki korelasyonu tespit edilmiştir.

F.culmorumun tarafından üretilen ZEA içeriğine bağlı olarak farklı buğday çeşitlerinde oldukça belirgin farklılıklar tespit edilmiştir. Bazı buğday çeşitlerinde *F.culmorumun* ile infekte edilmesine karşın hassasiyet düşük olmasının yanı sıra bazı buğday çeşitlerinde ki hassasiyet seviyesinin çok yüksek olduğu gözlenmiştir. Farklı buğday çeşitlerinde yapılan bu çalışma ile Çanakkale ve civar bölgelerde yetiştirilecek buğday çeşitlerin seçiminde önemli katkılar sağlayacaktır.

F.culmorum ile infekte edilen ve hastalık gelişimi gözlenen farklı buğday çeşitlerinin verim parametrelerinde oldukça önemli farklar tespit edilmiştir. Çeşitler içerisinde hastalık gelişimine bağlı olarak tane ağırlığında ve buna bağlı olarak başak ağırlığında ciddi farklılıklar gözlenmiştir. Başak ağırlığı ve buna bağlı olarak bin dane ağırlıklarının, ZEA varlığına göre değişimi çalışmamızda alınan en önemli sonuçlardan birisidir. ZEA varlığına göre başak ağırlığı ve bin dane ağırlıkları orantılı bir değişim göstermiştir. Zearalenone miktarı ise FHB hastalığının düzeyi ile ilgili olduğuda gözlenmiştir. Tüm veriler bir araya getirildiğinde başak ağırlığı, bin tane ağırlığı, hastalık gelişimi ve ZEA oluşumu arasında korelasyon tespit edilmiştir.

Çeşitler arasında ki dayanıklılık mekanizmasıda elde edilen verilerde oldukça belirgin bir şekilde görülmektedir. Bazı buğday çeşitlerinde hastalık çok yüksek seviyelere çıkarken bazılarında ise çok düşük seviyede kaldığı gözlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda FHB hastalığının farklı buğday çeşitlerinde gösterdiği etkiler tespit edilmiştir. Bu çalışma ile buğday çeşitlerinin gösterdiği dirençleri istatistiki anlamda değerlendirip bölgemizde yetiştirilen buğday çeşitlerinin FHB hastalığına dayanıklılıkları ve hassasiyetleri ortaya konmuştur. FHB hastalığının varlığının bölgede bulunan buğdaylara ne miktarlarda zarar vereceğide bu çalışma yardımı ile kolayca anlaşılabilmektedir.

FHB hastalığının etkisiyle oluşan ZEA ‘nın zararlarıda son derece önemlidir. Direk toksin olmaktan çok hormon benzeri kimyasal yapı gösterir. Küflü yemlerde oluşabilecek ZEA hayvan bünyesinde seri östrojenik etkileri görülmektedir. Buda “ÖSTROJENİZM” adı verilen hastalığa neden olmaktadır. Bu hastalığın hayvanlardaki üreme sistemini bozmasıda oldukça önemli ekonomik kayıplara neden olabilmektedir.

Buğday ekim alanlarının ve üretim düzeyinin, diğer bitkisel ürünlere göre çokluğu ve beslenmedeki yeri düşünüldüğü zaman FHB hastalığı son derece ciddi sorunlara neden olabilir. FHB hastalığı bölgemizde olduğu gibi birçok alanda kolayca görülebilecek hastalıklardan biridir. Buğday ekimi yapılan alanlarda FHB hastalığı oldukça fazla ürün kaybına neden olmakta ve buda dünya ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkileyen sonuçların çıkmasına olanak sağlamaktadır. Buğdaylarda FHB hastalığının ürünlerde kalite bozukluklarına neden olması ekonomik anlamda, beraberinde sentezlediği ZEA toksinide insan ve hayvan sağlık açısından ciddi sorunları beraberinde getirmektedir.

Dünyada en fazla üretimi yapılan bitki olan buğday, insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yerde bulunmaktadır. Başak yanıklığı buğdaylarda görülen ve ciddi bir şekilde verim kaybına neden olan bir hastalıktır. Bunun yanında verim kaybına neden olurken ürettiği mikotoksinler ilede son derece riskli bir hal almaktadır. Buğdaylarda meydana gelen verim kayıplarının azaltıp ZEA oluşumunun önüne geçilebilmesi için buğdayların buğday başak yanıklığından korumak gerekmektedir. Bunun içinde sürekli yeni çalışmalar ortaya koymak gerekmektedir. Bu çalışma yöntemi ve sonuçları ile yapılacak yeni çalışmalara kaynak teşkil edebilecek niteliktedir.

KAYNAKLAR

Abramson D., Clear R.M. ve Nowicki T.W., 1987. *Fusarium* Species and Trichothecene Mycotoxins in Suspect Samples of 1985 Manitoba Wheat. *Canadian Journal of Plant Science,* 67 (3): 611 -619.

Aktaş H. ve Tunalı B., 1993. Konya ilinde Buğdayın Bazı Hastalık Sorunları ve Çözüm Yolları. *1. Konya'da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Semp*. 12-14 Mayıs 1993, Konya. 247-255.

Aktaş H., Bostancıoğlu H., Tunalı B. ve Bayram E., 1996. Sakarya Yöresinde Buğday Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğüne Neden Olan Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi ve Bu Etmenlerin Buğday Yetiştirme Teknikleri ile İlişkileri Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni,* 36: 151-167.

Aktaş H.E., Kınacı E., Yıldırım A.F., Sayın L. ve 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*, Konya. 392-403.

Anonim, 2008. *Türk gıda kodeksi*, 29 Aralık 2011, http://www.kkgm.gov.tr/TGK/Teblig /2008-26.html.

Anonim, 2006. *European Union Commission Regulation*, 29 Aralık 2011, http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20100701:EN:PDF.

Anonim, 2010. *Food and Agricultural Organization Statistical Databases*, 29 Aralık 2011, http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor.

Araz A., Bayram M.E. ve Babaroğlu E.N., 2009. Sakarya İlinde Bazı Buğday Çeşitlerinde Kök Ve Kök Boğazı Hastalıklarına Neden Olan Etmenlerin Belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 49 (1): 31-43.

Aziz N.H., Attia E.S.A. ve Farag S.A., 1997. Effects of Gamma-Irradiation on the Natural Occurrence of *Fusarium culmorum* Mycotoxins in Wheat, Flour and Bread. *Molecular Nutrition and Food Research,* 41 (1): 34-37.

Bai G.H. ve Shaner G., 1994. Scab of Wheat: Prospect for Control. *Plant Dis*., 78: 760-766.

Bai G.H., 2004. Management and Resistance in Wheat and Barley to *Fusarium* Head Blight. *Annual Review of Phytopathology*, 42: 135-161.

Bekele G.T., 1985. Head Scab Screening Methods Used at CIMMYT. *In Wheats for More Tropical Environments, a Proceedings of the İnternational Symposium.* CIMMYT, Mexico City.169-173.

Bennet J.W. ve Klich M., 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (3): 497-516.

Botallico A. ve Perrone G., 2002. Toxigenic *Fusarium* Species and Mycotoxins Associated with Head Blight in Small-Grain Cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108 (7): 611-624.

Buerstmayr H., Lemmens M., Berlakovich S. ve Ruckenbauer P., 1999. Combining Ability of Resistance to Head Blight Caused by *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) in the F1 of a Seven Parent Diallel of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 110: 199-206.

Cavin C., Holzhauser D., Constable A., Huggett A.C. ve Schilter B., 1998. The Coffee-Specific Diterpenes Cafestol and Kahweol Protect Against Aflatoxin B1-Induced Genotoxicity Through a Dual Mechanism. *Carcinogenesis*, 19 (8): 369-1375.

Caldwell R.W., Tuite J., Stob M. ve Baldwin R., 1970. Zearalenone Pruduction by *Fusarium* Species. *Applied Microbiology*, 20 (1): 31-34.

Cerveró M.C., Castillo M.Á., Montes R. ve Hernández E., 2007. Determination of Trichothecenes, Zearalenone and Zearalenols in Commercially Available Corn-Based Foods in Spain. *Rev. Iberoam Micol*., 24: 52-55.

Chang K., Kurtz H.J. ve Mirocha C.J., 1979. Effects of the Mycotoxin Zearalenone on Swine Reproduction. *American Journal of Veterinary Research*, 40 (9): 1260-1267.

Chen L.F., Bai G.H. ve. Desjardins A.E., 2000. Recent Advances in Wheat Head Scab Research in China. In: Raupp, W.J. Ed. *Proceedings of the International Symposium on Wheat Improvement for Scab Resistance*. Suzhou and Nanjing, P.R. China. 258-273.

Christensen C.M., Nelson G.H. ve Mirojha C.J., 1965. Effect on the White Rat Uterus of a Toxic Substance Isolated from *Fusarium*. *Applied Microbiology*, 13 (5): 653-659.

Chrpová J., Šíp V., Matějová E. ve Sýkorová S., 2007. Resistance of Winter Wheat Varieties Registered in the Czech Republic to Mycotoxin Accumulation in Grain Following Inoculation with *Fusarium culmorum*. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 43 (2): 44-52.

Chrpová J., Šíp V., Štočková L., Milec Z. ve Bobková L., 2010. Resistance of Winter Wheat Varieties Registered in the Czech Republic to Fusarium Head Blight in Relation to the Presence of Specific Rht Alleles. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46 (3): 122-134.

Cook R.J., 1968. *Fusarium* Root and Foot Rot of Cereals in the Pasific Northwest. *Phytopathology*, 58: 1-126.

Daradimos E., Marcaki P. ve Koupparis M., 2000. Evaluation and Validation of Two Fluorometric HPLC Methods for the Determination of Aflatoxin B1 in Olive Oil, *Food and Additives Contaminants*., 17 (1): 65-73.

Demain A.L., 1999. Pharmaceutically Active Secondary Metabolites of Microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52 (4): 455-463.

De Saeger S., Sibanda L. ve Van Peteghem C., 2003. Analysis of Zearalenone and α-Zearalenol in Animal Feed Using High-Performance Liquid Chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 487 (2): 137-143.

El Nezami H., Polychronaki N., Salminen S. ve Mykkanen H., 2002. Binding Rather Than Metobolism May Explain the Interaction of Two Food-Graid *Lactobacillus* Strains with Zearalenone and Its Derivative α-Zearalenol. *Applied and Enviromental Microbiology*, 68 (7): 3545-3549.

Fazekas B. and Tar A., 2001. Determination of Zearalenone Content in Cereal and Feedstuff Immunoaffinity Column Coupled with Liquid Chromatography. *Journal of AOAC International*, 84 (5): 1453-1460.

Fink Grernmels J., 1999. Mycotoxins: Their İmplications for Human and Animal health. *Veterinary Quarterly*, 21 (4): 115-120.

Gaffoor I., Brown D.W., Plattner R., Proctor R.H., Qi W. ve Trail F., 2005. Functional Analysis of the Polyketide Synthase Genes in the Filamentous Fungus *Gibberella zeae* (anamorph *Fusarium graminearum*). *Eukaryot Cell*, 4 (11): 1926-1933.

Gang G.T., Mietaner T., Schuhmacher U., Schollenberger M. ve Geiger H.H., 1998. Deoxynivalenol and Nivalenol Production by *Fusarium culmorum* Isolates Differing in Aggressiveness Toward Winter Rye. *Phytopathology*, 88 (9): 879-884.

Gilbert J., Abramson D., McCallum S. ve Clear R., 2001. Comparison of Canadian *Fusarium graminearum* Isolates for Aggressiveness, Vegetative Compatibility, and Production of Ergosterol and Mycotoxins. *Mycopathologia*, 153: 209–215.

González-Osnaya L. ve Farrés A., 2011. Deoxynivalenol and Zearalenone in *Fusarium*-Contaminated Wheat in Mexico City. *Food Additives and Contaminants*: Part B, 4 (1): 71-78.

Goswami R.S. ve Kistler H.C., 2004. Heading for a Disaster: *Fusarium graminearum* on Cereal Crops. *Molecular Plant Pathology*, 5: 515-525.

Gromadzka K., Waskiewicz A., Chelkowski J. ve Golinski P., 2008. Zearalenone and its Metabolites: Occurrence, Detection, Toxicity and Guidelines. *World Mycotoxin Journal*, 1 (2): 209-220.

Gross V.J. ve Robb J., 1975. Zearalenone Production in Barley. *Annals of Applied Biology*, 80 (2): 211-216.

Hart L. P. ve Schabenger O., 1998. Variability of Vomitoxin in Truckloads of Wheat in a Wheat Scab Epidemic Year. *Plant Disease*, 82: 625-630.

Hewett P.D., 1983. Seed-Borne *Gerlachia nivalis (Fusarium nivale)* and Reduced Establishment of Winter Wheat. *Transactions of the British Mycological Society*, 80: 185-186.

Huwig A., Freimund S., Kappeli O. ve Dutler H., 2001. Mycotoxin Detoxification of Animal Feed by Different Adsorbants, *Toxicology Letters*, 122: 179-188.

Ittu M., Grabarkiewicz-Szczesna J., Kostecki M., Golinski P., 2000. Deoxynivalenol Accumulation and Other Scab Symptoms in Six Romanian Wheat Genotypes Inoculated with *Fusarium graminearum. Mycotoxin Research*, 16 (1): 15-22.

James R.C., 1985. General Principles of Toxicology. In: Williams, P.L ve Burson, J.L, Eds. *Industrial Toxicology*. Van Nostrant Reinhold, New York, N.Y. 7-6.

Jeger M.J. ve Viljanen-Rollinson S.L.H., 2001. The Use of the Area Under the Disease-Progress Curve (AUDPC) to Assess Quantitative Disease Resistance in Crop Cultivars. *Theor Appl Genet*, 102 (1): 32-40.

Jennings P., Coates M.E., Turner J.A., Chandler E.A. ve Nicholson P., 2004. Determination of Deoxynivalenol and Nivalenol Chemotypes of *Fusarium culmorum* Isolates from England and Wales by PCR Assay. *Plant Pathology*, 53: 182-190.

Kün E., 1996. *Tahıllar (Serin iklim Tahılları)*(3). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. 322 s.

Langevin F., Eudes F. ve Comeau A., 2004. Effect of Trichothecene Produced by *F. graminearum* During Fusarium Head Blight Development In Six Cereal Species. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 735-746.

Leslie J.F., 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK. 158-159.

Locke T., Moon L.M. ve Evans J., 1987. Survey of Benomyl Resistance in *Fusarium* Species on Winter Wheat in England and Wales in 1986. *Plant Pathology*, 36 (4): 589-593.

Long G.G., Diekman M., Tuite J.F., Shannon G.M. ve Vesonder R.F., 1982. Effect of *Fusarium roseum* Corn Culture Containing zearalenone on Early Pregnancy in Swine. *American Journal of Veterinary Research*, 43 (9): 1599-1603.

Maier F.J. ve Oettler G., 1996. Genetic Variation for Head Blight Resistance in Triticale Caused by *Fusarium graminearum* Isolates of Different Deoxynivalenol Production. *Euphytica*, 89 (3): 387-394.

McMullen M., Jones R. ve Gallenberg D., 1997. Scab of Wheat and Barley: a Re-Emerging Disease of Devastating İmpact. *Plant Disease*, 81: 1340-1348.

Mesterházy A., 2002. Role of Deoxynivalenol in Aggressiveness of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* and in resistance to *Fusarium* Head Blight. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 675-684.

Mesterházy Á. ve Bartók T., 1992. Resistance and Pathogenicity Influencing Toxin (DON) Contamination of Wheat Varieties Following Fusarium infection. In: Arseniuk, E. ve Góral, T. *Proceedings of the Third European Fusarium Seminar (*özel baskı*)*. Plant Breeding, Acclimatization and Seed Production, 37 (II): 9-16.

Mietaner T., Schneider B. ve Geiger H.H., 2003. Deoxynivalenol (DON) Content and Fusarium Head Blight Resistance in Segregating Populations of Winter Rye and Winter Wheat. *Crop Science*, 43 (2): 519-526.

Miller J.D. ve Arnison P.G., 1986. Degradation of deoxynivalenol by suspension cultures of the Fusarium head blight resistant wheat cultivar Frontana. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 8: 147-150.

Miller J.D. ve Greenhalgh R., 1991. Trichothecene Chemotypes of Three *Fusarium* Species. *Mycologia*, 83 (2): 121-130.

Mirocha C.J., Harrison J., Nichols A.A. ve McClinctock M., 1968. Detection of a Fungal Estrogen (F-2) in Hay Associated with Infertility in Dairy Cattle. *Applied Microbiology*, 16 (5): 797-798.

Mirocha C.J., Hui Y., Evans C.K., Kolaczkowski E. ve Dill-Macky R., 1997. Chemistry and Physiology of Deoxynivalenol in Pathogenesis. *Cereal Research Communications*, 25: 309-313.

Muratçavuşoğlu N. ve Hancıoğlu Ö., 1995. Ankara ili Buğday Ekim Alanlarında Kök ve Kök Boğazı Hastalıklarına Neden Olan *Fusarium* Türlerinin Tespiti Üzerine Araştırmalar. *VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi,* Adana. 174-177.

Muthomi J.W., Ndung'u J.K., Gathumbi J.K., Mutitu E.W. ve Wagacha J.M., 2008. The Occurrence of *Fusarium* Species and Mycotoxins in Kenyan Wheat. *Crop protection,* 27 (8): 1215-1219.

Nelson P.E., Desjardins A.E. ve Plattner R.D., 1993. Fumonisins, Mycotoxins Produced by *Fusarium* Species: Biology, Chemistry and Significance. *Annu. Rev. Phytopathol*., 31: 233-252.

Nicholson P., Simpson D.R., Wilson A.H., Chandler E. ve Thomsett M., 2004. Detection and Differentiation of Trichothecene and Enniatin-Producing *Fusarium* Species on Small-Grain Cereals. *European Journal of Plant Pathology,* 110: 503-514.

Ohlinger R., Adler A., Krautler O. ve Lew H., 2004. Occurrence of Toxigenic Fungi and Related Mycotoxins in Cereals, Feed and Food in Austria. In: Logrieco, A. ve Visconti, A., Eds. *An Overview on Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Europe*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. 1-10.

Omurtag G.Z., Tozan A., Sirkecioğlu O., Kumbaracı V. ve Rollas S., 2007 . Occurrence of Diacetoxyscirpenol (Anguidine) in Processed Cereals and Pulses in Turkey by HPLC. *Food Control,* 18 (8): 970-974.

Omurtag G.Z. ve Beyoğlu D., 2003. Occurrence of Deoxynivalenol (Vomitoxin) in Processed Cereals and Pulses in Turkey. *Food Additives and Contaminants*, 20 (4): 405-409.

Omurtag G.Z. ve Yazıcıoğlu D., 2001. Occurrence of T-2 Toxin in Processed Cereals and Pulses in Turkey Determined by HPLC and TLC. *Food Additives and Contaminants*, 18 (9): 844-849.

Parry D.W., Bayles R.A. ve Priestley R.H., 1985. Resistance of Winter Wheat Varieties to Ear Blight Caused by *Fusarium avenaceum* and *F. culmorum.* Tests of Agrochemicals and Cultivars. *6,* A Supplement to *Annals of Applied Biology,* 106: 164-165.

Parry D.W., Pettitt T.R., Jenkinson P. ve Lees A.K., 1994. The Cereal *Fusarium* Complex. In: Blakeman, P. & Williamson, B., eds. *Ecology of Plant Pathogens*. Wallingford, UK: CAB International, 301-320.

Parry D.W., Jenkinson P. ve McLeod L., 1995. *Fusarium* Ear Blight (scab) in Small Grain Cereals-A Review. *Plant Pathology*, 44: 207-238.

Perkowski J., Mietaner T., Geiger H.H., Müller H.M. ve Chelkowski J., 1995. Occurrence of Deoxynivalenol (DON), 3-Acetyl-DON, Zearalenone and Ergosterol in Winter Rye Inoculated with *Fusarium culmorum*. *Cereal Chemistry*, 72 (2): 205-209.

Pier A. C., 1.973. An Overview of the Mycotoxicoses of Domestic Animals. *J. Amer. Vet. Med. Assoc*., 163: 1259-1261.

Pitt J.I., 2000. Toxigenic Fungi: Which Are Important. *Medical Mycology*, 38 (1): 17-22.

Reed K.F.M. ve Moore D.D., 2009. A Preliminary Survey of Zearalenone and other Mycotoxins in Australian Silage and Pasture. *Animal Production Science*, 49 (8): 696-703.

Richard J.L., 2007. Some Major Mycotoxins and Their Mycotoxicoses-An Overview. *İnternational Journal of Food Microbiology*, 119: 3-10.

Sadler T.W., Merrill A.H., Stevens V.L., Sullards M.C., Wang E. ve Wang P., 2002. Prevention of Fumonisin B1-Induced Neural Tube Defects by Folic Acid. *Teratology*, 66 (4): 169-176.

SAS 1999. SAS V8 User Manual, SAS Institute, Cary NC.

Schollenberger M., Suchy S., Jara H.T., Drochner W. ve Müller H.M., 1999. A survey of *Fusarium* toxins in Cereal-Based Foods Marketed in an Area of Southwest Germany. *Mycopathologia*, 147 (1): 49-57.

Schollenberger M., Jara H.T., Suchy S., Drochner W. ve Müller H.M., 2002. Fusarium Toxins in Wheat Flour Collected in an Area in Southwest Germany. *İnternational Journal of Food Microbiology*, 72 (1-2): 85-89.

Shaner G. ve Finney R.E., 1977. The Effect of Nitrogen Fertilization on the Expression of Slow-Mildewing in Knox Wheat. *Phytopathology*, 67: 1051-1056.

Šip V., Chrpová J., Leišova L., Sykorova S., Kučera L. ve Ovesna J., 2007. Effects of Genotype, Environment and Fungicide Treatment on Development of Fusarium Head Blight and Accumulation of DON in Winter Wheat Grain. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 43: 16-31.

Sitton J.W. ve Cook R.J., 1981. Comparative Morphology and Survival of Chlamydospores of *Fusarium roseum* 'Culmorum' and 'Graminearum'. *Phytopathology*, 71: 85-90.

Soyöz M. ve Özçelik N., 2002. Okratoksin A'nın Toksik Etkileri ve Eliminasyonu. *Türkiye klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 22 (4): 421-427.

Snijders C.H.A., 1989. Current Status Of Breeding Wheat for Fusarium Head Blight Resistant and Mycotoxin Problem In The Netherlands. In: Kohli, M. M. Ed. *Taller Sobre La Fusariosis De La Espiga En America Del Sur*. Mexico, D.F., CIMMYT. 141-144.

Snijders C.H.A. ve Perkowski J., 1990. Effects of Head Blight Caused by *Fusarium culmorum* on Toxin Content and Weight of Wheat Kernels. *Phytopathology,* 80: 566-570.

Stack R.W. ve McMullen M.P., 1985. Head Blighting Potential of *Fusarium* Species Associated with Spring Wheat Heads. *Canadian Journal of Plant Pathology,* 7: 79-82.

Steiner B., Lemmens M., Griesser M., Scholz U., Schondelmaier J. ve Buerstmayr H., 2004. Molecular Mapping of Resistance to *Fusarium* Head Blight in the Spring Wheat Cultivar Frontana. *Theor. Appl. Genet*., 109: 215-224.

Steyn P.S. ve Stander M.A., 1999. Mycotoxins as Causal Factors of Diseases in Humans. *Toxin Reviews*, 18: 229-243.

Suproniene S., Mankeviciene A., Kadziene G., Feiziene D., Feiza V., Semaskiene R. ve Dabkevicius Z., 2011. The Effect of Different Tillage-Fertilization Practices on the Mycoflora of Wheat Grains. *Agricultural and Food Science*, 20: 315-326.

Tanaka T., Yamamoto S., Hasegawa A., Aoki N., Besling J.R., Sugiura Y. ve Ueno Y., 1990. A Survey of the Natural Occurrence of *Fusarium* Mycotoxins, Deoxynivalenol, Nivalenol and Zearalenone, in Cereals Harvested in the Netherlands. *Mycopathologia,* 110 (1): 19-22.

Tanaka H., Sugita-Konishi Y., Takino M., Tanaka T., Toriba A. ve Hayakawa K., 2010. A Survey of the Occurrence of *Fusarium* Mycotoxins in Biscuits in Japan by Using LC/MS. *Journal of Health Science*, 56 (2): 188-194.

Tanker M., Soner O., Şahin A.A., Kaya S., Ayanoğlu Dülger G., Ersoy Ö., Omurtag, G.Z. ve Yurdun T., 1995 Aflatoksinler ve Besinlerle Sağlığımız Üzerinde Oluşturabileceği Tehlikeler, *Eczacı Dergisi*, 16: 14-18.

Tóth B., Mesterházy Á., Nicholson P., Téren J. ve Varga J., 2004. Mycotoxin Production and Molecular Variability of European and American Isolates of *Fusarium culmorum*. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 587-599.

Tunalı B., Aktaş H. ve Araz A., 2000. Determination of Microflora in Infested Seed Lots with Head Blight and Detection of DON Production by ELISA. *6th European*

Fusarium Seminar & Third Cost 835 Workshop of Agriculturally Important Toxigenic Fungi, p. 74.

Tunalı B., Büyük O., Erdurmuş D., Ozseven I. ve Demirci A., 2006. Fusarium Head Blight and Deoxynivalenol Accumulation of Wheat in Marmara Region and Reactions of Wheat Cultivars and Lines to *F. graminearum* and *F.culmorum*. *J. Plant Pathol*., 5(2): 150-156.

Uçkun Z. ve Yıldız M., 2007. Güney Marmara Bölgesi Mısır Alanlarında Sap ve Koçan Çürüklüğüne Neden Olan *Fusarium* Türleri, Oluşturdukları Mikotoksinler ve Başlıca Türlere Karşı Dayanıklılık Kaynaklarının Saptanması. *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi*, 27-29 Ağustos. s. 133.

Valcheva A. ve Valchev G., 2007. The Fusariotoxins Zearalenon and Deoxinivalenol as Natural Contaminators of Some Basic Cereal Components in the Production of Combined Feed. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 99-104.

Vancčo B., Šliková S., Šudyova V. ve Šrobárová A., 2007. Response to *Fusarium culmorum* Inoculation in Barley. *Biologia*, 62 (1): 56-61.

Varga J., Toth B., Mesterhazy A., Teren J. ve Fezekas B., 2004. Mycotoxigenic Fungi and Mycotoxins in Foods and Feeds in Hungary. In: Logrieco, A. ve Visconti, A., Eds. *An Overview on Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Europe*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. 123-139.

Vrabcheva T., Geßler R., Usleber E. ve Märtlbauer E., 1996. First Survey on the Natural Occurrence of *Fusarium* Mycotoxins in Bulgarian Wheat. *Mycopathologia*, 136 (1): 47-52.

Wanyoike M.W., Walker F. ve Buchenauer H., 2002. Relationship Between Virulence, Fungal Biomass and Mycotoxin Production by *Fusarium graminearum* in Winter Wheat Head Blight. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 109 (6): 589-600.

Wilcoxson R.D., Busch R.H. ve Ozmon E.A., 1992. Fusarium Head Blight Resistance in Spring Wheat Cultivars. *Plant Disease*, 76 (7): 658-661.

Windels C.E., 2000. Economic and Social İmpact of *Fusarium* Head Blight: Changing Farms and Rural Communities in the Northern Great Plains. *Phytopathology*, 90 (1): 17-21.

Wong L.S.L., Tekauz A., Leisle D., Abramson D. ve McKenzie R.I.H., 1992. Prevalence, Distribution and Importance of *Fusarium* Head Blight in Wheat in Manitoba. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 14: 233-238.

Yazar S. ve Omurtag G.Z., 2008. Fumonisins, Trichothecenes and Zearalenone in Cereals. *International Journal of Molecular Sciences*, 9: 2062-2090.

Schade-Schütze, A., Muthomi, J., Oerke, E.C. and Dehne ,HW. 2000. Yield reduction and mycotoxin contamination of wheat due to *Fusarium culmorum*. Mycotoxin Research, 16, (1): 34-37.

EKLER

EK 1. *Fusarium culmorum*'un farklı izolatları ile inokulasyon sonucunda AUDPC, ve ZEA değerlerine ait kareler ortalaması ve önem düzeyleri

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	AUDPC	ZEA
Tek	2	9043.775	32.96406
Çeşit	21	100825.401***	1620.4942***
Hata	44	3145.022	26.85951

P≤0,001***

EK 2. Başakların *Fusarium culmorum* ile inokulasyon sonucunda başak ağırlığı ve bin tane ağırlığına ait kareler ortalaması ve önem düzeyleri

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Başak ağırlığı	Bin Dane Ağırlığı
Tek	2	0.3575138**	5,37942
Çeşit	22	0.6542024***	113.07174***
Uygulama	1	158.8***	14816.04355***
Çeşit X Uygulama	22	1.05339***	228.12673***
Hata	90	0,0589256	5.44424***

P≤0,001***

ÇİZELGELER

Sayfa No

Çizelge 1. 2001-2011 yılları Türkiye tahıl ekim alanı.....1
Çizelge 2. 2001-2011 yılları Türkiye tahıl üretim miktarı.....2
Çizelge 3. Tahılların dünyadaki durumu 3
Çizelge 4. Çiçeklenme dönemleri farklı olan buğday çeşitlerinin *F. culmorum* ile inokulasyon tarihleri 15
Çizelge 5. *F.culmorum* inokulasyonundan 10, 14 ve 21. günlerdeki hastalık gelişimi.....23
Çizelge 6. *Fusarium culmorum* ile inokule edilen çeşitlerin hasattan sonra başak ağırlıkları ile bin tane ağırlıklarının karşılaştırılması.. 25
Çizelge 7.*F.Culmorum* ile enfekteli farklı buğday çeşitlerine ait buğday tanelerinin ZEA konsantrasyonları (µg/kg).....30
Çizelge 8. Denemede incelenen özellikler ile ilgili korelasyon katsayıları ve önem düzeyleri 31

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1. *F.culmorum*'un çiçeklenme döneminde şırınga ile başaklara inokulasyonu …....14
Şekil 2. Buğday örneklerinin extraksiyon aşaması ...…….….17
Şekil 3. İAK ve çözücü solvent ile vialde toplama aşaması…... 18
Şekil 4. *ZEA* kalibrasyon grafiği…….……...……..……....20
Şekil 5. *F.culmorum* ile inokule edilen buğday başaklarında başak uyuzu belirtileri 21
Şekil 6. *F.culmorum* inokule edilen buğday başaklarında simptom uzunluğu ölçümü…...24
Şekil 7. *F.culmorum* ile enfekteli buğday tanelerinin kontrolle kıyaslaması …….……27
Şekil 8. TBVD 7 çeşidinin ZEA analizinden elde edilen kromotogram……..28
Şekil 9. Golia çeşidinin ZEA analizinden elde edilen kromotogram……...29

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Volkan IŞIK

Doğum Yeri: KARATAŞ/ADANA

Doğum Tarihi: 30/10/1981

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çukurova Üniversitesi / Bitkisel Üretim Bölümü

Bildiği Yabancı Diller :

İLETİŞİM

E-posta Adresi : volcaaano@hotmail.com

BİLİMSEL FAALİYETLER

1. 2008-2010 -Farklı Isıl İşlemlerin ve Depolama Sürelerinin Ezine Peynirinde Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Etkilerinin Araştırılması, ÇANAKKALE