

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BUĞDAYDA *Fusarium culmorum* KEMOTİPLERİNİN
PATOJENİTE VE ZEARELANONE ÜRETİMİ AÇISINDAN
KARŞILAŞTIRILMASI

Ramazan GENCER
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tezin Sunulduğu Tarih: **31/01/2012**

Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Figen TÜRK

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

RAMAZAN GENCER tarafından **DOÇ. DR. FİGEN TÜRK** yönetiminde hazırlanan “**BUĞDAYDA *Fusarium culmorum* KEMOTİPLERİNİN PATOJENİTE VE ZEARALENONE ÜRETİMİ AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI**”

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

Prof. Dr. Harun BAYTEKİN

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 31/01/2012

Prof. Dr. İsmet KAYA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

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.

Ramazan GENCER

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansta geçirdiğim süre zarfında benden yardımlarını, desteklerini ve sabrını bir an olsun esirgemeyen saygı değer danışman hocam sayın Doç. Dr. Figen TÜRK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisansta geçirdiğim süre zarfında benden desteklerini esirgemeyen Bitki Koruma Bölümü öğretim üyelerine teşekkür ederim. Tezime katkılarından dolayı tez jüri üyeleri Prof. Dr. Savaş KORKMAZ ve Prof. Dr. Harun BAYTEKİN'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın bazı kısımlarında bana büyük yardımları dokunan arkadaşlarım Ziraat Mühendisi Volkan IŞIK, Ziraat Mühendisi Serkan PEHLİVAN ve Ziraat Fakültesi lisans öğrencileri Tuğba TOÇAN, Burçin GÖLCÜK, Gökhan BAŞTUĞ, İsmail ATAY, Seyda GÖKDAĞ, Özge ÖZKAÇAR, Mustafa AY, Nebi AKTÜRK, Sinem YAĞBASAN ve Keziban KÜÇÜKEKİZ'e teşekkürü bir borç bilirim.

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.

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

Hayatımın her anında kendilerinin yanımda olduğunu hissettiren ve anlayışlarından dolayı haklarımı hiçbir zaman ödeyemeyeceğim biricik aileme minnettarım.

Ramazan GENCER

SİMGELER VE KISALTMALAR

DON	Deoxynivalenol
3-AcDON	3-Acetyldeoxynivalenol
15-AcDON	15-Acetyldeoxynivalenol
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 kromatografi
GC	Gaz kromatografisi
MS	Kütle spektrometresi
DAS	Diacetoxyscirpenol
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
UV	Ultraviyole
ERG	Ergosterol
µg	Mikrogram
kg	Kilogram
FX	Fusarenon-X
HT-2	HT-2 toksin
T-2	T-2 toksin
APPI	Atmosferik basınç fotoğraf iyonizasyonu
LC	Sıvı kromatografi

ng	Nanogram
g	Gram
AUDPC	Hastalık gelişimi eğrisi altındaki bölge
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
TOVAG	Tarım, Ormancılık ve Veterinerlik Araştırma Destek Grubu
cm	Santimetre
ml	Mililitre
PDA	Patates dextrose agar
IAK	Immuno-affinite kolon
NaOCl	Sodyum hipoklorid
mm	Milimetre
sn	Saniye
PBS	Fosfat Buffer
MeOH	Metanol
nm	Nanometre
MDS	Çok boyutlu ölçeklendirme
TLC	İnce tabaka kromatografisi

ÖZET

BUĞDAYDA *Fusarium culmorum* KEMOTİPLERİNİN PATOJENİTE VE ZEARELANONE ÜRETİMİ AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

Ramazan GENCER

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Figen TÜRK

31/01/2012, 49

Bu çalışma, 2010-2011 buğday yetiştirme döneminde Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Dardanos Araştırma ve Uygulama arazisinde yürütülmüştür. Bu çalışmada buğdaya inokule edilen ve buğdayda *Fusarium* başak yanıklığına (FHB), verim ve kalitenin azalmasına, danelerde mikotoksin akümülyasyona sebep olan *Fusarium culmorum* kemotipleri arasında hastalık şiddeti açısından farklılıkları saptamak ve verime olan etkisini karşılaştırmak amaçlanmıştır. Ayrıca inokule edilen izolatların başaklarda oluşturdukları bir mikotoksin olan zearalenone (ZEA) üretimi karşılaştırılmıştır. Bu amaçla iki buğday çeşidi (Golia ve Ceyhan) ve 16 *F. culmorum* izolatı kullanılmıştır. Çiçeklenme dönemindeki başaklar şırınga yöntemi ile inokule edilmiştir. Hastalık gelişimi 3 farklı zamanda ölçülmüş ve elde edilen veriler hastalık gelişimi altındaki bölge (AUDPC)'nin hesaplanmasında kullanılmıştır. *F. culmorum* izolatlarının her iki buğday çeşidinde de sebep oldukları hastalık şiddeti arasında istatistiki olarak fark olduğu saptanmıştır. Bin dane ağırlığı yönünden izolatlar ve çeşitler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir. ZEA birikimi yönünden ise izolatlar ve çeşitler arasında belli bir yönde ilişki görülmemiştir. Ele alınan özellikler arasındaki ilişki incelendiğinde başak ağırlığı ile bin dane ağırlığı arasında pozitif, AUDPC ile başak ağırlığı ve bin dane ağırlığı arasında negatif yönde bir ilişki olduğu saptanmıştır. ZEA ile diğer özellikler arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmadan *F. culmorum* izolatlarının buğdayda farklı oranlarda hastalık şiddetine sebep olduğu ve verimi farklı oranlarda düşürdüğü, fakat ZEA akümülyasyonunun hastalık şiddeti ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

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

ABSTRACT

COMPARİSON OF *Fusarium culmorum* CHEMOTYPES REGARDING TO PATHOGENICITY AND ZEARELANONE PRODUCTION AT WHEAT

Ramazan GENCER

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School

Plant Protection Thesis, Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Figen TÜRK

31/01/2012, 49

This study was conducted at the Dardanos Agricultural Research Station of Çanakkale Onsekiz Mart University in 2010-2011 wheat growing season. *Fusarium* head blight (FHB), caused by *Fusarium culmorum*, results in yield and quality reductions and mycotoxin accumulation. The aggressiveness among the *F. culmorum* chemotypes and reduction on yield was evaluated. Two wheat varieties (Golia and Ceyhan) and 16 isolates of the fungus were employed in the research. In addition, the mycotoxin, zearalenone (ZEA), contents in the infected kernels were also compared. The wheat heads was inoculated by a syringe during anthesis. Head blight severity was assessed 3 times and the data was used to calculate the area under disease progress curve (AUDPC). Significant variation in aggressiveness of isolates of *F. culmorum* was observed in both wheat varieties tested. The isolates of *F. culmorum* reduced significantly thousand kernel weights (TKW) at different levels in both varieties. No interaction was found between ZEA accumulation and isolates or wheat varieties. There was a positive correlation between head weight and TKW, but negative correlation between AUDPC and head weight or TKW. No correlation was found between ZEA and any other parameters assessed. We concluded that the isolates of *F. culmorum* differed in aggressiveness and reduced yield at different levels; ZEA accumulation was, however, not correlated with the disease severity.

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.....	7
2.1. Tahıllarda <i>Fusarium</i> spp.’nin Sebep Olduğu Başak Yanıklığı Hastalığı.....	7
2.2. Tahıllarda <i>Fusarium</i> spp.’nin Sebep Olduğu Mikotoksinler	8
2.3. Buğdayda <i>Fusarium culmorum</i>’un Akümüle Ettiği Mikotoksinler ...	10
BÖLÜM 3- MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Kullanılan Buğday Çeşitleri.....	15
3.1.2. Kullanılan Fungal İzolatlar.....	15
3.1.3. <i>Fusarium culmorum</i>’un Tür Teşhisi	16
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Denemenin Kurulması.....	16
3.2.2. Başaklara <i>Fusarium culmorum</i>’un İnokulasyonu	16
3.2.2.1. <i>Fusarium culmorum</i> İnokulumunun Hazırlanması	16
3.2.2.2. İnokulasyon Zamanı ve Yöntemi.....	17
3.2.3. Buğday Bitkilerinde Hastalık Gelişiminin Saptanması.....	18
3.2.3.1. Hastalık Gelişiminin İzlenmesi	18
3.2.3.2. <i>Fusarium culmorum</i> İzolatlarının Verim Parametrelerine Etkisinin Hesaplanması	19
3.2.4. Enfekteli Buğday Örneklerinin Zearalenone Analizi.....	19
3.2.4.1. Örneklerin Zearalenone Analizi için Hazırlanması.....	19
3.2.4.2. İmmuno-Affinite Kolon Temizleme.....	20
3.2.4.3. HPLC’nin Standardizasyonu.....	20
3.2.4.4. Kalibrasyon Grafiğinin Oluşturulması ve Kantifikasyon ...	21

3.2.5. İstatistiksel Analizler	21
BÖLÜM 4- ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	22
4.1. Bulgular	22
4.1.1. <i>Fusarium culmorum</i> ile İnokulasyon Sonucu Başaklarda Oluşan Simptomlar	22
4.1.2. Hastalık Gelişiminin Değerlendirilmesi	22
4.1.3. <i>Fusarium culmorum</i> 'un Verim Parametrelerine Etkisi	27
4.1.4. <i>Fusarium culmorum</i> 'un ZEA Üretimine Etkisi	31
4.1.5. Korelasyon Analizleri	34
4.2. Tartışma	34
BÖLÜM 5- SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	40
Ekler.....	I
Çizelgeler	II
Şekiller	III
Özgeçmiş	IV

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tahıllar, ekiliş alanı ve üretimi en yüksek olan tarımsal ürünlerdir. Yeryüzünün işlenen topraklarının yarısında tahıl yetiştiriciliği yapılmaktadır. Tahılların hem insan hem de hayvan beslenmesinde ve çeşitli endüstriyel alanlarda kullanılmasından dolayı, 1,4 milyar hektarlık dünya tarım topraklarının büyük bir kısmının tahıllara ayrıldığı görülmektedir (Kün, 1996).

Başlıca tahıllardan olan buğday ve çeltikten daha çok insan beslenmesinde yararlanılırken, mısır ve arpa ise daha çok hayvan yemi olarak ya da farklı şekillerde değerlendirilmektedir. Başlıca tahılların ülkemizdeki ve dünyadaki durumu, Çizelge 1’ de ifade edildiği gibi, tahıl ekim alanlarındaki en büyük pay dünyada ve ülkemizde buğdaya aittir. Dünyada ekim alanı yönünden ilk iki sırayı sırası ile buğday ve mısır alırken ülkemizde ise buğday ve arpa üretimi ilk iki sırayı almaktadır. Ülkemizde en fazla üretim buğdaya aittir (Anonim, 2010).

Çizelge 1. Başlıca tahılların dünyada ve ülkemizdeki durumu (FAO, 2010).

BAŞLICA TAHILLAR	DÜNYA		TÜRKİYE	
	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)
BUĞDAY	216,775,462	651,397,902	8,053,670	19,660,000
MISIR	161,821,251	844,358,253	593,552	4,310,000
ÇELTİK	153,650,582	672,021,180	98,966	860,000
ARPA	47,536,419	123,695,392	2,999,800	7,240,000

Diğer tarımsal ürünlerde olduğu gibi buğday üretiminde de, üretimi sınırlayan faktörler olduğu görülmektedir. Bu sorunlardan başlıcaları hastalık, zararlı ve yabancı otlardan kaynaklanan sorunlardır. Kök ve kök boğazı, başak ve yaprak hastalıklarına sebep olan fungal etmenler, bazı yıllarda önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Başak hastalıkları arasında özellikle son yıllarda önem kazanan hastalıklardan biri *Fusarium* başak yanıklığı (FHB) hastalığıdır. *Fusarium* cinsi fungusların verimi %50’ye kadar düşürebildiği belirtilmiştir (Cook, 1968). FHB’ye birçok *Fusarium* türü sebep olmaktadır. Bunlardan en önemlileri *Fusarium avenaceum*, *F. poae*, *F. nivale*, *F. graminearum* ve *F. culmorum*’dur (Parry ve ark., 1995). *Fusarium* başak yanıklığına dünyada daha çok *F. graminearum*’un neden olduğu açıklanmasına rağmen Avrupa’da bu hastalığa daha çok *F. culmorum*’un neden olduğu bildirilmektedir. *F. graminearum*’a daha

çok sıcak iklimlerde sıklıkla rastlanırken, *F. culmorum* daha çok serin iklimlerde görülmektedir (Snijders, 1989).

F. culmorum ve *F. graminearum* (*Gibberella zae*) tahıllarda Fusarium kök boğazı çürüklüğü kompleksinin bir bölümünü oluşturur. Çürüklük kurak koşullarda daha yıkıcı hale gelebilir. *F. culmorum*, buğdayda başak yanıklığına da sebep olur. İnfeksiyondan sonra tek veya birkaç başakçık ve hatta bazen tüm başak hastalanabilir. Zayıf fotosentez zayıf dane oluşumunu sonuçlar ve dane ağırlığını önemli oranda azaltır. Başaklar veya bunların bir kısmı nemli koşullarda pembe renkli, gevşek miselyumlarla kaplanır, daneler buruşuk, beyaz ve bazen pembe renklidir (Parry ve ark., 1995).

Fungus, toprakta bitki artıkları üzerinde ya kladispor olarak veya rekabetçi toprak saprofiti olarak, konukçusu olmadan uzun yıllar yaşayabilir (Parry ve ark.,1994). Bir önceki yıl herhangi bir konukçusunun kültürünün yapılması inokulum miktarını arttıracığından ekilecek tahıl için potansiyel bir tehdit oluşturacaktır. Tohum infeksiyonu fide hastalığını sonuçlar (Hewett, 1983). Kök infeksiyonu, kök boğazı infeksiyonunun oluşumunu sağlar. Başak infeksiyonunun fungusun sistemik gelişmesinden kaynaklanmadığı düşünülmektedir.

FHB buğday, arpa ve diğer tahıllarda çok yıkıcı olduğundan dünya çapında ekonomik açıdan büyük bir öneme sahiptir. Son 25 yıldır kuzey Amerika'da FHB epidemileri sık görülmektedir. ABD ve Kanada'da 1990'larda yaklaşık 4 milyar dolar ekonomik zarara neden olmuştur (McMullen ve ark., 1997; Windels, 2000). Asya, Avrupa ve Güney Afrika'daki son FHB salgınları dünya gıda arzını tehdit etmektedir (Goswami ve Kistler, 2004).

Bazı fungus türleri mikotoksin diye adlandırılan sekonder metabolitler sentezlerler. Mikotoksinler insan ve hayvanlarda mikotoksikoz denilen zehirlenmelere yol açan küçük moleküllü maddelerdir (Pier, 1973). Tarihte ilk mikotoksikoz olayı St Antony's fire olarak da bilinen ergotizmdir (Steyn ve Stander, 1999). Bu hastalık kangren, kramp ve halüsinasyonlara neden olmaktadır (Demain, 1999). Bu hastalığın çıktığı yıllarda mikotoksinler henüz bilinmiyordu. Rusya'da 1940'larda ölümcül hastalıklar çıkmış ve bunun nedenin toksik bileşikler olduğu o zaman ortaya koyulamamıştır. İleriki zamanlarda hastalıkların nedeninin aslında T-2 toksin olduğu anlaşılmıştır. 1961'de İngiltere'de binlerce hindinin ölümüyle sonuçlanan ve Hindi-X hastalığı olarak tanımlanan hastalığın sebebinin aflatoksinler olduğu anlaşılmıştır. Böylece aflatoksinlerin sadece depolama sorunu olmayıp kanserojen ve immun sisteme etkilerinden dolayı mikotoksin problemi

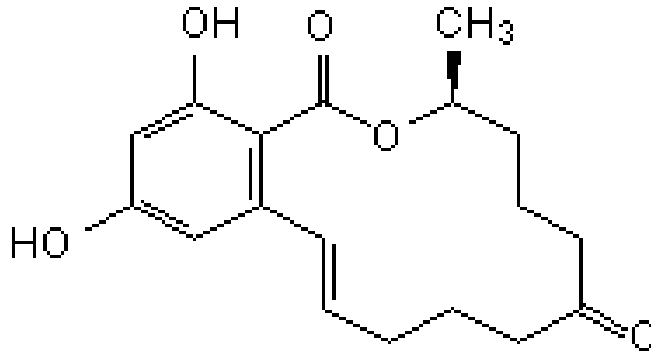
birçok bilimin (mikrobiyoloji, ziraat, genetik, veteriner vb.) igilendiği bir sorun olarak görülmeye başlamıştır (Richard, 2007).

Mikotoksinler, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* türleri başta olmak üzere birkaç cinse ait funguslar tarafından üretilir (Soyoz ve Özçelik, 2002; Tanker ve ark., 1995). En sık karşılaşılan mikotoksinler aflatoxin, zearalenone (ZEA), nivalenol (NIV), deoxynivalenol (DON), T-2, HT-2, Diacetoxyscirpenol (DAS), ocratoxin, patulin ve fumonisindir (Huwig ve ark., 2001). Her bir mikotoksin bir veya birkaç spesifik fungus türü tarafından üretilir. Örneğin, aflatoksinler *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* tarafından oluşturulurken (Daradimos ve ark., 2000; Cavin ve ark., 1998), fumonisinler *F. moniliforme* ve *F. proliferatum* gibi funguslar tarafından üretilirler (Pitt, 2000; Sadler ve ark., 2001).

Kimyasal yapılarının çok farklı olmasından dolayı mikotoksinler çok değişik toksik etkilere sebep olurlar (Nelson ve ark., 1993). İnsanlarda ve hayvanlarda hastalıklara ve ölümlere yol açarlar (Bennet ve Klich, 2003). Mikotoksinler akut veya kronik etki gösterebilir. Akut etkiler bulaşık olan üründe mikotoksinin çok yoğun olarak bulunması sonucu ortaya çıkar. Kronik etkiler ise daha çok düşük konsantrasyonlarda uzun süreli tüketim sonucu ortaya çıkar ve insan sağlığını tehdit etmeye başlar, kanser vb. hastalıklara yol açar (James, 1985). En yaygın mikotoksinlerin bazıları kanserojen ve genotoksiktir veya böbrek, ciğer veya immun sistemini hedef alır. Bazıları ise östrojeniktir yani hormonal bir etki göstererek bulaşık olan bitki materyaliyle beslenildiğinde memelilerde üreme sorunlarına sebep olur (Fink Grermels, 1999).

Tahıllarda mikotoksin oluşturan birçok *Fusarium* türü mevcuttur. Bu türler ZEA, NIV, DON, 3-AcDON, 15-AcDON, T-2, HT-2, DAS, Fusarenone-X (FX), Moniliformin vb. mikotoksinleri üretirler (Bottalico ve Perrone, 2002).

ZEA, dünyanın her yerinde bulunabilen *Fusarium*'ların oluşturduğu östrojenik bir mikotoksindir. Kimyasal yapısı Şekil 1'de verilmiştir. 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 artırır (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).



Şekil 1. Zearalenone'un kimyasal yapısı.

ZEA'nın en büyük etkisi üreme sisteminde görülür. Avustralya'da ZEA'nın geniş getiren hayvanlarda kısırlığa sebep olduğu bildirilmektedir (Reed ve Moore, 2009). Domuzlarda ZEA'nın hiperestrogenizm'e sebep olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada 25, 50 ve 100 ppm %95 saflaştırılmış ZEA içeren yemlerle beslenen gebe domuzlarda erken doğum, yavru atma, normalden küçük ve canlı ağırlığı düşük yavrular meydana geldiği belirtilmiştir (Chang ve ark., 1979). Benzer etkiler sığır ve koyunlarda da gözlenmiştir (El Nezami ve ark., 2002). ZEA'nın insanlarda kanserojen etkisi ile ilgili herhangi bir veri bulunmamaktadır (Yazar ve Omurtag, 2008).

Fusarium mikotoksinlerinin sıcakkanlılıklara olan toksik etkilerinin ortaya çıkmasından ve bu mikotoksinlerin tahıl ve tahıl ürünlerinde oluşması nedeniyle çoğu ülkede yasal düzenlemeler getirilmiştir. Avrupa birliği 1881/2006 nolu komisyon kararı ile mikotoksinlerin gıda maddelerindeki tolere edilebilir limitlerini belirlemiştir (Anonim, 2006). Türkiye de Avrupa birliği uyum çerçevesinde, 2008/26 nolu "Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ" ile mikotoksinlerin yasal limitlerini belirlemiştir (Anonim, 2008). Bu limitler Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. ZEA'nın Avrupa Birliği (EC, No. 1881/2006) ve Türkiye'deki (2008/26 nolu tebliğ) tolere edilebilir yasal limitleri

GIDA MADDESİ	MAKSİMUM LİMİT (µg/kg)
İşlenmemiş tahıllar (mısır hariç)	100
İşlenmemiş mısır (ıslak öğütülecekler hariç)	350
Doğrudan tüketime sunulan tahıllar, doğrudan insan tüketimine sunulan tahıl unları, kepek (son ürün olarak) ve embriyo	75
Rafine mısır yağı	400
Ekmek (hafif fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar (mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar hariç)	50
Doğrudan insan tüketimine sunulan mısır, mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar	100
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	20
500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği veya mısırdan elde edilen pelleter ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri	200
500 mikrondan küçük veya eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük veya eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri	300

ZEA'ya neredeyse bütün tarımsal ürünlerde rastlanmıştır. Bu toksinin en fazla görüldüğü ürünler ise buğday (Vrabcheva ve ark., 1996; González-Osnaya ve Farrés, 2011), buğday unu (Schollenberger ve ark., 2002), ekmek (Aziz ve ark., 1997), buğday unundan yapılmış bisküviler (Tanaka ve ark., 2010), mısır bazlı yiyecekler (Cerveró ve ark., 2007) ve hayvan yemleridir (Valcheva ve Valchev, 2007).

B tipi tricotesenlere bağlı olarak, farklı kemotipler tanımlanmıştır. *F. culmorum* arasında NIV kemotipi nivalenol ve 4A-NIV; DON kemotipi DON ile birlikte 3-AcDON veya DON ile birlikte 15-AcDON üretirler (Miller ve Greenhalgh, 1991). 15-AcDON ve 3-AcDON, DON'un alt türevleridir.

Bu çalışmada amaç, daha önce Çanakkale, Balıkesir ve Tekirdağ illerinden toplanan *F. culmorum*' un deoxynivalenol (DON), 3-AcDON, 15-AcDON ve nivalenol (NIV) üreten kemotiplerinin buğdayda hastalıklara karşı genellikle direnç gösteren çeşit olan Golia (Mert-Türk, kişisel gözlemler) ile geniş ekim alanına sahip Ceyhan buğday çeşitlerinde verime etkisini araştırmaktır. Ayrıca bu çalışma sonucu *F. culmorum* kemotiplerinin her iki buğday çeşidinde hastalık gelişimini saptamak ayrıca hastalıklı danelerde ZEA miktarını kantifiye etmek diğer amaçlar arasında yer almıştır. Hastalık gelişimi ile ZEA arasında korelasyon olup olmadığı da saptanmıştır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Tahıllarda *Fusarium* spp.’nin Sebep Olduğu Başak Yanıklığı Hastalığı

Tahıllarda başak yanıklığına (*Fusarium* head blight, FHB) sebep olan en yaygın türler *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* ve *F. nivale*'dir. Avrupa'da FHB'ye neden olan etmen *F. culmorum*'dur. Dünyada ise bu etmen *F. graminearum*'dur. Bu türlerin coğrafik dağılımı iklimle bağlantılıdır. Dünyanın ılıman bölgelerinde *F. graminearum* ana tür olarak gözlenmekte iken daha soğuk bölgelerde *F. culmorum* daha yaygın olarak görülmektedir (Snijders, 1989). Amerika'nın kuzeyinde yapılan bir çalışmada *F. graminearum* ve *F. culmorum*'un hastalığa neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca *F. graminearum*'un *F. culmorum*'a göre 3-4°C yüksek sıcaklıklarda daha etkili olduğu bulunmuştur (Sitton ve Cook, 1981).

F. graminearum ve *F. culmorum*'un FHB'a sebep olan dominant türler arasında en patojenik olduğu bir çok çalışma ile rapor edilmiştir (Stack ve McMullen, 1985; Wong ve ark., 1992). *F. avenaceum* ile başaklara yapılan inokulasyondan sonra da şiddetli FHB semptomlarının oluştuğu rapor edilmiştir (Parry ve ark., 1985).

Locke ve ark. (1987) İngiltere'deki kışlık olarak ekilen buğday tarlalarında *Fusarium* türlerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında %82,5 *F. nivale*, %11,6 *F. avenaceum*, %5,7 *F. culmorum* ve %0,1 *F. poae* saptamışlardır.

FHB ile ilgili çalışmalar dünyanın bir çok yerinde yapılmaktadır. Şiddetli FHB danelerde hastalık semptomu görünümü ortaya çıkarmaktadır. İnfekteli daneler normalden daha küçük, buruşuk ve beyazdan uçuk pembeye değişen renklerde olmaktadır (Abramson, 1987). İnfekteli daneler enfeksiyon nedeniyle çimlenme güçlerini kaybetmekte ve bu taneler üzerinde gelişen funguslar mikotoksinleri üretmektedirler (Bai ve Shaner, 1994).

FHB, küçük daneli tahıl üretimi yapılan her yerde mevcuttur. FHB epidemileri özellikle çiçeklenme döneminde ılık ve nemli havalarda ortaya çıkabilmektedir. Hastalığın hasattan sonra, özellikle de depolama esnasında yayılmaya devam etmesi, en önemli sorunlardan biri olarak ortaya çıkmaktadır (Wilcoxon ve ark., 1992). Dünya çapında tahıllarda FHB oluşumuna sebep olan 17 *Fusarium* türü rapor edilmiştir, fakat bunlar arasında beş tür çok yaygın olarak bulunmaktadır: *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. poae* ve *F. nivale*. FHB'in, *Fusarium* türleri tarafından oluşturulan hastalık kompleksinin bir bölümü olduğu düşünülmektedir. FHB'tan sorumlu türlerin çoğunluğu çökerten, kök ve kökboğazı çürüklüğüne de sebep olmasına rağmen, her üç hastalığın epidemiyolojik ilişkisi henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Parry ve ark., 1995).

Son zamanlarda FHB'nin Avrupa ve Kuzey Amerika'da epidemik boyutlara ulaştığı ve böylece fazla miktarda ürün kaybı ile danelerde oluşturdukları mikotoksinlerden dolayı kalitenin düştüğü bildirilmektedir (Windels, 2000). Çin'de de benzer epidemilerin son yıllarda sıklıkla tekrarladığı açıklanmaktadır (Chen ve ark., 2000).

Ülkemizde ise FHB hastalığı ilk kez 1993 yılında belirlenmiştir (Aktaş ve Tunalı, 1993). Muratçavuşoğlu ve Hancıoğlu (1995) Ankara ili buğday ekim alanlarında yaptıkları çalışmada, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. acuminatum*, *F. heterosporium* türlerini tespit etmişlerdir. Marmara Bölgesinde *F. graminearum* *F. culmorum*'a göre daha yaygın bulunmuştur (Aktaş ve ark., 1996). Orta Anadolu Bölgesinde *F. culmorum* *F. graminearum*'a göre daha yaygın bulunmuştur (Aktaş ve ark., 1999). Tunalı ve ark. (2000) Çanakkale ve Balıkesir illerinde yaptıkları sörveyde topladıkları buğday başaklarından *F. poae*, *F. culmorum*, *F. heterosporum* ve *F. sporotrichioides* izole etmişlerdir.

Sakarya ilinde yapılan bir sörveyde 44 buğday örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerden *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. subglutinans*, *F. crookwellense*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. dimerum*, *F. solani*, *F. equiseti*, *F. acuminatum*, *F. sporotrichioides*, *Rhizoctonia* spp. ve *Alternaria* spp. belirlenmiştir. 10 buğday çeşidinden *F. graminearum*, 5 buğday çeşidinden *F. culmorum* elde edilmiştir (Araz ve ark., 2009).

2.2. Tahıllarda *Fusarium* spp.'nin Sebep Olduğu Mikotoksinler

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 metobolitlere normalde hücrenin biyokimyasında ihtiyaç duyulmaz. Bunlar türe özgüdür, örneğin *F. graminearum* 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, diacetoxycirpenol, 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).

İki farklı *F. graminearum* izolatının 36 farklı tritikale çeşidi üzerinde hastalık gelişimi ve DON miktarını hesaplamak amacıyla 2 yıllık çalışma yapılmıştır. Hazırlanan spor süspansiyonu sprey şeklinde başaklara inoküle edilmiştir. Çalışmanın sonucunda bütün tritikale çeşitleri hastalıktan farklı şekillerde etkilenmiştir. Her iki izolatın çeşitler üzerindeki etkisinin farklı olduğu ve verim azalışının %25-50 arasında değiştiği saptanmıştır. İzolatların çeşitler üzerindeki etkisinin yıldan yıla değiştiği, hastalık şiddeti ile ve danelerde DON oluşumu arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı gözlenmiştir (Maier ve Oettler, 1996).

F. graminearum ve *F. culmorum* türleri coğrafik dağılımlarına göre DON yada NIV toksini üretmektedirler. Hart ve Schabenberger (1998), *F. graminearum* ile enfekteli buğday başaklarında DON toksinini tespit etmek amacıyla rastgele toplanan buğday danelerinden toksin analizi yapmışlardır. Her bir örnekten alınan 50 gr buğday unundan yapılan analiz sonuçlarına göre analiz yapılan toplam örneğin %95'inde 1µg/g DON saptamışlardır.

Yapılan bir çalışmada yapay besi ortamında 15 *F. graminearum* izolatının hepsinin 0,2-249 ppm DON, 15 izolatın 14'ünün 0,4-44,6 ppm 15-AcDON mikotoksini ürettiği bulunmuştur (Gilbert ve ark., 2001).

Mesterházy (2002), yaptığı çalışmada *F. graminearum* ve *F. culmorum*'un sebep olduğu hastalık şiddetinin DON ve NIV üretme kapasitesine bağlı olduğunu bulmuştur. Yüksek saldırı yeteneğine sahip bir izolatın yüksek oranda toksin üretme yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur. Dayanıklı genotiplerde DON birikimi sifıra yakın çıkarken duyarlı genotiplerde yüksek bulunmuştur.

FHB'nin *Fusarium* izolatlarının ürettiği olduğu trikotesen toksini ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada 6 farklı tahıl türü ve 2 farklı *F. graminearum* ırkı kullanılmıştır. *F. graminearum* ırklarından bir tanesi trikotesen toksini üretirken diğeri ise mutasyona uğratılmış ve toksin üretmemektedir. Çalışma sonucunda trikotesen üreten ırkın daha agresif olduğu, fakat bunun daha çok kültür bitkisinin türüne bağlı olduğu belirtilmiştir (Langevin ve ark., 2004).

Ülkemizden de tahıllarda *Fusarium* mikotoksinleri ile ilgili çalışmalar rapor edilmiştir. Tunalı ve ark. (2006) tarafından, Marmara bölgesinde yapılan sörveyde *Fusarium*'dan zarar görmüş daneler ile DON konsantrasyonu arasında 2002 ve 2004 yılında bir korelasyon olduğu bulunmuştur. DON seviyesi iki yıllık çalışmada 0.01 ila 22.3 ppm arasında bulunmuştur.

T-2 toksin analizi için HPLC ile yapılan çalışmada tahılların %23.5'inin, kuru baklagillerin ise % 31.2'sinin bulaşık olduğu saptanmıştır (Omurtag ve Yazıcıoğlu, 2001). Omurtag ve Beyoğlu (2003), rastgele topladıkları tahıl ve kuru baklagillerde HPLC yöntemi ile yaptıkları analiz sonucunda tahılların %8.82'sinin DON ile bulaşık olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışma sonucuna göre kuru baklagillerde DON'a rastlanmamıştır. Omurtag ve ark. (2007), yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) ve gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemiyle yaptıkları bir çalışmada, tahıl ve kuru baklagillerde diacetoxyscirpenol (DAS, anguidine) içeriğini araştırmışlardır. Test edilen hiçbir örnekte DAS'a rastlanmamıştır.

Uçkun ve Yıldız (2007), Güney Marmara Bölgesinde, mısır alanlarında sap ve koçan çürüklüğü etmeni *Fusarium* türleri arasında *F. moniliforme*'nin en yaygın tür, *F. graminearum*'un ise ikinci tür olarak önem arz ettiğini saptamışlardır. Bazı hastalıklı bitki örneklerinde fumonisin ve DON oranı AB ve ABD'nin yayınladıkları limitlerin üstünde olduğu bulunmuştur.

Yazar ve Omurtag (2008), yaptıkları çalışmalarında *Fusarium* mikotoksinlerinin tahıllarda ve tahıl ürünlerinde yaygın olarak bulunduğunu belirtmişlerdir. ZEA, fumonisin ve trikotesen mikotoksinlerinin insan ve hayvan sağlığı için tehlikeli olduğunu bildirmişlerdir.

2.3. Buğdayda *Fusarium culmorum*'un Akümüle Ettiği Mikotoksinler

F. culmorum tarafından oluşan başak yanıklığı ile danedeki toksin birikimi ve verim düşüşü arasındaki ilişki hakkında bilgi veren çalışmada 10 kışlık buğday genotipine *F. culmorum*'un 3 Hollanda izolatu (IPO 39-01, IPO 348-01 ve IPO 436-01) inoküle edilmiştir. Tohum örneklerinden çeşitli trikotesen mikotoksinleri ve zearalenone analiz edilmiştir. DON konsantrasyonu 0-48 µg/kg arasında değişmiştir. 3-AcDON, nivalenol, fusarenon-X ve zearalenone tespit edememişlerdir. İzolatlar ve genotipler arasında başak yanıklığı ve danedeki DON birikimi yönünden ilişki gözlemlenmiştir. Her bir izolat için DON birikimi ile verim düşüşü arasında yüksek korelasyonlar bulunmuştur. Analiz yolu ile DON ve dane ağırlığı arasında bir ilişki saptanmıştır. Oldukça yüksek virüent izolat tarafından infeksiyon dane sayısı bakımından verimi düşürmüştür. Orta derecede virüent olduğu saptanan izolat tarafından meydana gelen infeksiyonların dane ağırlığı verimlerinin nispeten daha az düşürdüğü görülmüştür (Snijders ve Perkowski, 1990).

Hollanda'da 1984/1985 yıllarında tahıl hasatında toplanan 29 örnekte DON, NIV ve ZEA birikimine bakılmıştır. Sırası ile ortalama mikotoksin birikimi 221, 123 ve 61 µg/kg

olarak bulunmuştur. En yüksek mikotoksin birikimleri ise yine sırası ile 3198, 1875 ve 677 µg/kg olarak bulunmuştur (Tanaka ve ark., 1990).

Kışlık 29 çavdar hibritlerinde çiçeklenme döneminde yapay inokulasyon ile *F. culmorum* mikotoksinleri (DON, ZEA ve 3-AcDON) ile ergosterol (ERG) oluşumunu araştırmak için yapılan çalışmada, hibritlerde başak yanıklığı dereceleri ile başak başına dane ağırlıkları arasında önemli genotipik farklılıklar ortaya çıkarılmıştır. DON içeriğinin 0.72 – 28 µg/kg, 3-AcDON içeriğinin 0,1 – 3.4 µg/kg arasında değiştiğini bulmuşlardır. Başak başına dane ağırlıkları ve başak yanıklığı dereceleri ile DON ve 3-AcDON birikimi arasındaki korelasyon katsayısı önemli bulunmamıştır. On hibritte *Fusarium* ile bulaşık dane oranı ile başak başına dane ağırlığı arasında yakın ilişki bulunmuştur; fakat DON ve 3-AcDON birikimi arasında önemli korelasyon bulunmamıştır. Diğer 19 hibrit için ZEA ve ERG birikiminin sırası ile 0.02- 0.15 µg/kg ve 42.9 – 135.4 µg/kg arasında değiştiğini gözlemişlerdir. ERG birikimi ile başak başına dane ağırlığı, DON, 3-AcDON ve ZEA birikimi arasındaki korelasyonları önemli bulmuşlardır. ERG – DON arasındaki oran 3.6 ile 14.4 arasında değişmektedir. Toplam 29 çavdar hibritinde *F. culmorum* ile yapay inokulasyon sonucu DON ve 3-AcDON birikimi yüksek miktarda olduğunu görmüşler ve kayda değer farklılıklar tespit etmişlerdir (Perkowski ve ark., 1995).

Bulgaristan’da ilkbahar ve yaz aylarının yağmurlu geçtiği 1995 yılında buğday hasatından sonra toplanan 140 örnekte ZEA, DON, 3-AcDON, 15-AcDON, T-2 ve DAS varlığı araştırılmıştır. ZEA ve DON yoğun bir şekilde bulunmuştur. ZEA ve DON miktarı sırası ile 17 ve 180 µg/kg olarak bulunmuştur. Maksimum konsantrasyonları ise 120 ve 1800 µg/kg olarak bulunmuştur (Vrabcheva ve ark., 1996).

Schollenberger ve ark. (1999) Güneybatı Almanya’da piyasada bulunan tahıl bazlı gıdalarda *Fusarium* toksinlerini araştırmışlardır. Toplanan 237 örnekte DON, HT-2, T-2, 3-AcDON, 15-AcDON ve NIV sırası ile ortalama 103, 16, 14, 17, 24 ve 109 µg/kg olarak bulunmuştur.

1999 yılının ilk 6 ayında Almanya’nın güneybatısında fabrika ve gıda depolarının bulunduğu bir yerden 60 tane buğday unu örneği alınmıştır. Alınan örneklerden ZEA, DON, NIV, 3-AcDON, 15-AcDON, HT-2, T-2 ve Fusarenon-X, alfa zearalenol ve beta zearalenol birikimleri tayin edilmiştir. Miktarı ve yoğunluğu açısından en baskın DON bulunmuştur. DON’un arkasından ZEA ve NIV gelmektedir. Fusarenon-X, alfa zearalenol ve beta zearalenol’e örneklerde rastlanmamıştır (Schollenberger ve ark., 2002).

Tóth ve ark. (2004), 37 *F. culmorum* izolatında mikotoksin üretme yeteneklerini araştırdıkları çalışmalarında 30 izolatın DON ve 3-AcDON, 7 izolatın ise NIV ve

Fusarenon X ürettiğini bulmuşlardır. İngiltere ve Galler'den toplanan *F. culmorum* örnekleri ile yapılan başka bir çalışmada ise yine DON ve NIV üreten izolatlar belirlenmiştir (Jennings ve ark., 2004).

Bulgaristan'da yapılan bir çalışmada kombine yemlerdeki temel tahıl bileşenleri olan mısır, buğday, arpa ve yulafta ZEA ve DON varlığı değerlendirilmiştir. 2003' ten 2005' e kadar stok ürünlerden 104 mısır, 103 buğday, 39 arpa ve 35 yulaf olmak üzere toplam 281 örnek değerlendirmişlerdir. Mikotoksin varlığını yulaf için bazı yıllar değerlendirmişler ve daha elverişli sonuçların mısır, buğday ve arpadan elde edilen sonuçlar olduğunu belirtmişlerdir. Ortalama ZEA konsantrasyonlarını mısırdaki 398-838 µg/kg, buğdayda 450-884 µg/kg, arpada 320-378 µg/kg ve yulafta 250-350 µg/kg arasında bulmuşlardır. Ortalama DON konsantrasyonlarını mısırdaki 237-372 µg/kg, buğdayda 336-678 µg/kg, arpada 250-333 µg/kg arasında ve yulafta 250 µg/kg olarak bulmuşlardır (Valcheva ve Valchev, 2007).

Vancčo ve ark. (2007) Slovakya'da sertifikalı arpa çeşitlerinin *Fusarium* başak yanıklığı (FHB) ve DON konsantrasyonları hakkındaki bilgileri veren çalışmalarında 2004 ve 2005 yıllarında tekrarlanan tarla testleri ile 32 yazlık arpa çeşidinin *F. culmorum*'un tek çiçek inokulasyonu ve sprey inokulasyonu ile oluşan *Fusarium* başak yanıklığına (FHB) karşı dirençlerini değerlendirmişlerdir. Deneme yıllarındaki hava koşullarının başak yanıklığı gelişimi ve DON üretiminde büyük ölçüde etkili olduğunu görmüşlerdir. Aynı zamanda kültürler her 2 yılda da *Fusarium* infeksiyonu ile hastalık gelişimi eğrisi altındaki bölge (AUDPC) ve DON içeriği yönünden benzer tepki gösterdiğini bulmuşlardır. Sprey inokulasyonun güçlü bir infeksiyona yol açtığını görmüşlerdir. Brise ve Celinka çeşitlerinde AUDPC değeri yönünden büyük farklılıklar gözlemişlerdir ve Kompakt ve Madonna çeşitlerinde düşük reaksiyon bulmuşlardır. Kompakt ve Tolar çeşitlerinin FHB' a en dayanıklı olduklarını bulmuşlardır. İzlenen her 2 yılda da en düşük DON miktarını Ludan çeşidinde gözlemişlerdir. Kültürler ile yüksek infeksiyon düşük DON içeriği ve FHB'na dayanıklılık ve DON oluşumu arasında düşük pozitif ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır.

Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada, ülkede kayıtlı kışlık buğday çeşitlerinin *F. culmorum* ile infeksiyonları sonucu mikotoksin birikimine karşı gösterdikleri dirençleri saptamak amacıyla ardışık 3 yıl (2004, 2005 ve 2006) tarla denemeleri yapılmıştır. DON ve ZEA içeriğine ilişkin bilgiler ile simptom skorları ve FHB'dan kaynaklanan bin dane ağırlığı kayıpları ile desteklemişlerdir. En yüksek DON üretiminin yüksek sıcaklık ve yüksek nemli geçen 2006 infeksiyon döneminde olduğu saptanmıştır. 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 geçici çeşitlere göre daha düşük DON birikimi gösterdiğini gözlemişler, fakat diğer özellikler üzerinde ZEA birikimi dahil olmak üzere genotip erkenciliğinin pek önemli olmadığını görmüşlerdir (Chrprová 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 gözleendiği 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 (thricothecene 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 oluşturdıkları 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 (Suproniene 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 çalışma kapsamında daha önce yapılan arazi çalışmalarında *Fusarium culmorum*'a ve daha birçok hastalık etmenine karşı toleranslı olduğu saptanmış olan Golia ile bölgede geniş ekim alanlarına sahip Ceyhan buğday çeşitleri kullanılmıştır. Golia ekmeklik, yarı sert, kırmızı daneli, kılçıklı ve kısa boylu bir çeşittir. Ceyhan ise ekmeklik, sert, beyaz daneli, kılçıklı ve orta boylu bir çeşittir.

3.1.2. Kullanılan Fungal İzolatlar

Buğdayda başak yanıklığına sebep olan *F. culmorum*'un kemotipleri Doç. Dr. Figen TÜRK'ün yürütücülüğünü yaptığı, TÜBİTAK projesi (TÜBİTAK-TOVAG-109O830) kapsamında elde edilmiştir. Çalışmada *F. culmorum*'un Çanakkale, Tekirdağ ve Balıkesir'den toplanan 16 izolatu kullanılmıştır. İzolatların tür teşhisleri önce morfolojik karakterlere göre, daha sonra ise türe özgü moleküler markörler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yoluyla saptanmıştır. Kullanılan izolatların kod adı ile kemotipleri Çizelge 3' de verilmiştir.

Çizelge 3. Kullanılan *Fusarium culmorum* izolatları ve orijinleri

İzolat No	Kemotip	Orijin
M-103a	DON	Şarköy, Tekirdağ
L-201a	DON	Biga, Çanakkale
D-807a	DON	Burhaniye, Balıkesir
B-045	DON	Ezine, Çanakkale
T-107	DON	Çorlu, Tekirdağ
B-211	DON	Gelibolu, Çanakkale
B-094	3-AcDON	Ezine, Çanakkale
B-002	3-AcDON	Ezine, Çanakkale
B-174	3-AcDON	Eceabat, Çanakkale
L-606a	3-AcDON	Eceabat, Çanakkale
B-044	15-AcDON	Ezine, Çanakkale
N-2-D-5	15-AcDON	Çorlu, Tekirdağ
K-502b	15-AcDON	Lapseki, Çanakkale
B-083	15-AcDON	Ezine, Çanakkale
N-905	NIV	Gönen, Balıkesir
Fg4	NIV	İngiltere

3.1.3. *Fusarium culmorum*'un Tür Teşhisi

F. culmorum'un morfolojik tür teşhisi Leslie (2006)'e göre yapılmıştır. İzolatlar PDA ve karanfil agar ortamındaki (CLA) morfolojik gelişimlerine göre teşhis edilmiştir. CLA ortamı için genç karanfil yaprakları kullanılmıştır. Yapraklar steril saf suda bir kaç kez çalkalandıktan sonra, bir alüminyum folyo üzerine küçük parçalar halinde (2 mm) kesilmiş ve ince bir tabaka şeklinde yayılmıştır. 70°C'ye ayarlanmış etüvde 2 saat kadar kurutulduktan sonra, steril petri kaplarına aktarılmış ve ek 1 saatlik bir süre etüvde kurumaya bırakılmıştır. Parçacıklar etüvden alındıktan sonra UV kabin içinde 15-30 dakika kadar tutulmuş ve daha sonra kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir. Her petriye 7-10 parçacık karanfil yaprağı eklenmiş ve üzerine otoklav edilmiş su agarı dökülmüştür (20 gr agar / L saf su). Petriler oda sıcaklığında birkaç gün tutulduktan sonra bulaşık olan petriler uzaklaştırılmış, temiz olanlar teşhis çalışmaları için kullanılmıştır.

Moleküler teşhiste ise FC01 primeri kullanılmıştır (FC01F-ATG GTG AAC TCG TCG TGG C; FC01R-CCC TTC TTA CGC CAA TCT CG). Tüm aşamalar Nicholson ve ark. (2004)'a göre yapılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Denemenin Kurulması

Deneme Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Dardanos Araştırma ve Uygulama arazisinde tesadüf blokları deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak 2010-2011 üretim döneminde kurulmuştur. Ekim parsel mibzeri ile gerçekleştirilmiş ve parsel genişliği 1m, parsel uzunluğu 7m ve sıra arası mesafe ise 12.5cm olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2.2. Başaklara *Fusarium culmorum*'un İnokulasyonu

3.2.2.1. *Fusarium culmorum* İnokulumunun Hazırlanması

İnokulasyon için PDA'da geliştirilen 3-4 haftalık fungal kültürler kullanılmıştır. İnokulasyondan hemen önce gelişen fungal kültürlerin üzerine 10 ml kadar steril saf su eklenmiş ve bir baget yardımıyla yavaşça sporların suya geçmesi sağlanmıştır. PDA üzerindeki fungal materyal 2 kat ince tülbentten geçirilmiş, işlem ikinci kez tekrarlanmıştır. Elde edilen spor süspansiyonu 5×10^5 konidi/ml'ye ayarlanmış ve 1 damla Tween 20 eklenmiştir (Miedaner ve ark., 2003). İnokulumun bulunduğu şişeler, inokulasyondan önce ve inokulasyon çalışmaları süresince içinde buz tabletleri bulunan bir piknik buzluğunda muhafaza edilmiştir. Hazırlanan inokulum 3-4 saat içerisinde kullanılmıştır.

3.2.2.2. İnokulasyon Zamanı ve Yöntemi

İnokulasyon, buğdayın çiçeklenme döneminde yapılmıştır (Şekil 2A). İnokulasyon için başağın %50' sinin çiçeklenmiş olduğu başaklar seçilmiştir (Chrprová ve ark., 2007). İnokulasyon yapılacak başaklar inokulasyondan bir gün önce başak saplarına renkli ipler bağlanarak işaretlenmiştir. Herhangi bir karışıklık olmaması için her bir izolatta farklı renkte ipler tercih edilmiştir.

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 (Şekil 2B). Bu aşamada epidermisin zarar görmemesi için dikkat edilmiştir. Başakların sarsılarak spor süspansiyonunun dağılmaması için özen gösterilmiştir. Nemin korunması için inokule edilen başaklara polietilen torba geçirilmiş, alttan sapa zarar vermeyecek şekilde bağlanmıştır (Şekil 2C). Enfeksiyon oluşumunu teşvik etmek için gerekli nemi sağlayan polietilen torbalar 48 saat sonra uzaklaştırılmıştır (Şekil 2D).



Şekil 2. Buğday başaklarının *Fusarium culmorum* ile inokulasyonu. (A) İnokulasyona hazır çiçekli başak; (B) Şırınga ile başaklara inokulasyon; (C) Enfeksiyon oluşumunu teşvik etmek için gerekli nemi sağlayan polietilen torbaların bağlanması; (D) İnokule edilmiş bir parsel.

3.2.3. Buğday Bitkilerinde Hastalık Gelişiminin Saptanması

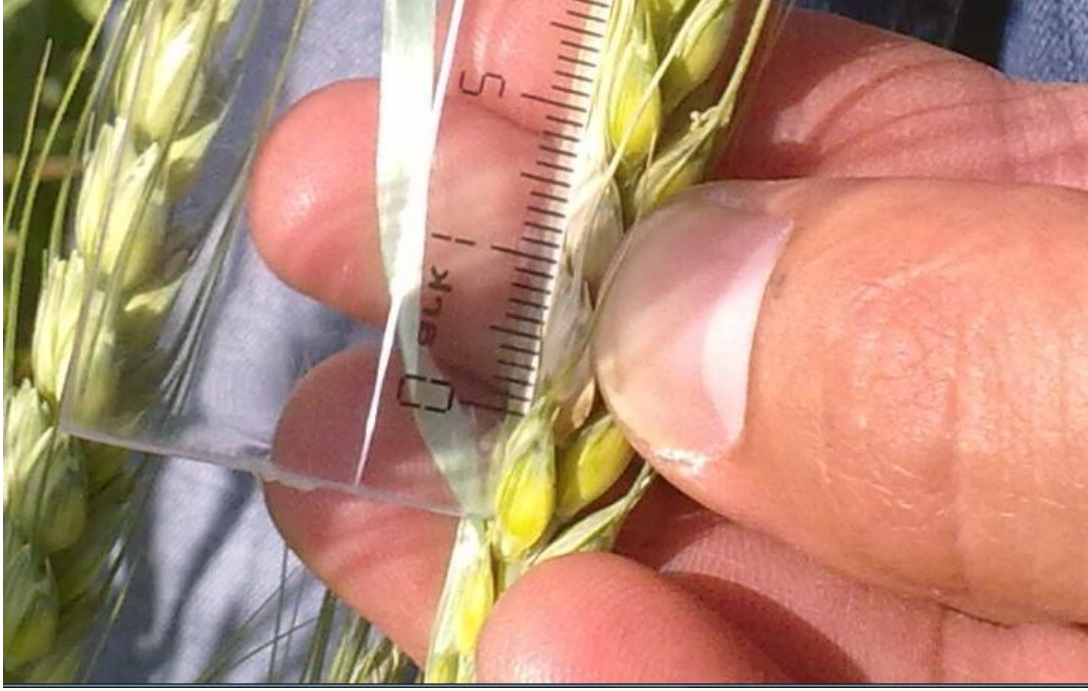
3.2.3.1. Hastalık Gelişiminin İzlenmesi

İnokulasyondan 2-3 gün sonra ilk hastalık belirtileri görülmeye başlanmıştır. Hastalık belirtileri inokulasyon noktasında daha sonraki dönemlerde ise diğer başakçıklara yayılan sararma ve kahverengileşme şeklinde kendini göstermiştir. İşaretlenmiş ve inokule edilmiş bu başaklarda inokulasyondan sonra 7, 14 ve 21. günlerde üç kez gözlem yapılmıştır. İnokulasyondan sonra günlük gözlemlerin yanı sıra, hastalık gelişimini hesaplamak amacıyla, inokulasyondan sonra 7, 14 ve 21. günlerde, hastalık belirtisi gösteren alanların cetvelle mm cinsinden ölçümü yapılmıştır (Şekil 3). Hastalık gelişimine ek olarak, inokule edilen başağın da ölçümü yapılmış, hastalıklı alanın başak boyuna oranı alınarak hastalık gelişimi % olarak değerlendirilmiştir (Miedaner 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:

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

Y_1 , Y_2 ve Y_3 lezyon uzunluğu (inokulasyondan sırasıyla 7, 14 ve 21 gün sonra); t_1 , t_2 ve t_3 ölçümün yapıldığı günleri ifade etmektedir.



Şekil 3. *Fusarium culmorum* ile inokulasyonun ardından başakta oluşan simptom uzunluğunun ölçümü.

3.2.3.2. *Fusarium culmorum* İzolatlarının Verim Parametrelerine Etkisinin Hesaplanması

İnokule edilen ve kontrol parsellerindeki başaklar buğdaylar yeterli olgunluğa ulaştığında başağın 10 cm altındaki saptan kesilmiş ve kağıt torbalara etiketlenerek konulmuştur. Bol hava alan rutubetsiz bir alanda 15 gün kadar kurutulmuştur.

Hastalıklı ve kontrol başakları başakların hemen altından kesilerek tartılmıştır.

Başaklar tartıldıktan sonra hastalıklı ve kontrol başaklar ayrı ayrı daneleri ayrılarak kese kağıtlarına numaralandırılarak konulmuştur. Her parselden alınan danelerden rastgele 4 defa 100'er adet buğday danesi sayılmış hassas terazi kullanılarak tartılmıştır. Daha sonra ortalamaları alınarak, 10 ile çarpılmış böylece örneklerin bin dane ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.2.4. Enfekteli Buğday Örneklerinin Zearalenone Analizi

3.2.4.1. Örneklerin Zearalenone Analizi için Hazırlanması

Hastalıklı ve kontrol başaklarından elde edilen danelerde ZEA akümüasyonu tayin edilmiştir.

Yöntem, analiz numunesinin asetonitril/su ile ekstraksiyonu, ZEA'ya 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 daneleri, 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 el blendırında yapılmıştır. Öğütme işlemi sırasında örnekler arası bulaşıklık olmaması amacıyla her parselden elde edilen daneler için blendır % 10'luk NaOCl çözeltisi ile temizlenerek kullanılmıştır.

Kullanılan buğday örnekleri danelerin öğütülerek un haline getirilmesi ve analize alınması aşamasına kadar buzdolabında (2 – 6 °C'de) saklanmıştır.

Yirmi beş gram buğday örneği tartılarak blendır 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) süzülerek immuno-affinite kolon safhasına geçilmiştir.

3.2.4.2. İmmuno-Affinite Kolon Temizleme

Yirmi beş ml numune ekstarktı (1 g örneği temsil eder) yaklaşık 3-6 ml/dakika (1-2 damla /sn) hızla ZEA IAK'dan geçirilmiştir.

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

Kolon 10 ml PBS'ten (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 zearalenone'un vialine geçmesi sağlanmıştır. Yine 2-3 ml hava geçirilerek kolonda asetonitril kalmaması sağlanmıştır. Viale 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.

3.2.4.3. HPLC'nin Standardizasyonu

Standart zearalenone'un konsantrasyonu 8-10 µg/ml olacak şekilde HPLC saflıkta MeOH ile seyreltilmiştir. Hazırlanan stok çözeltinin spektrofotometrede 274 nm dalga boyu civarında görülen maksimum absorpsiyon 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 25, 250, 500, 1000 ve 1250 ng/ml (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 edilir.

$$C_{\text{smp}} [\text{ng/ml}] = a(\text{sinyal}_{\text{smp}} [\text{birim}]) + b$$

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

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

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: Ekstraktan alınan hacim (ml),

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

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

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

3.2.5. İstatistiksel 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.

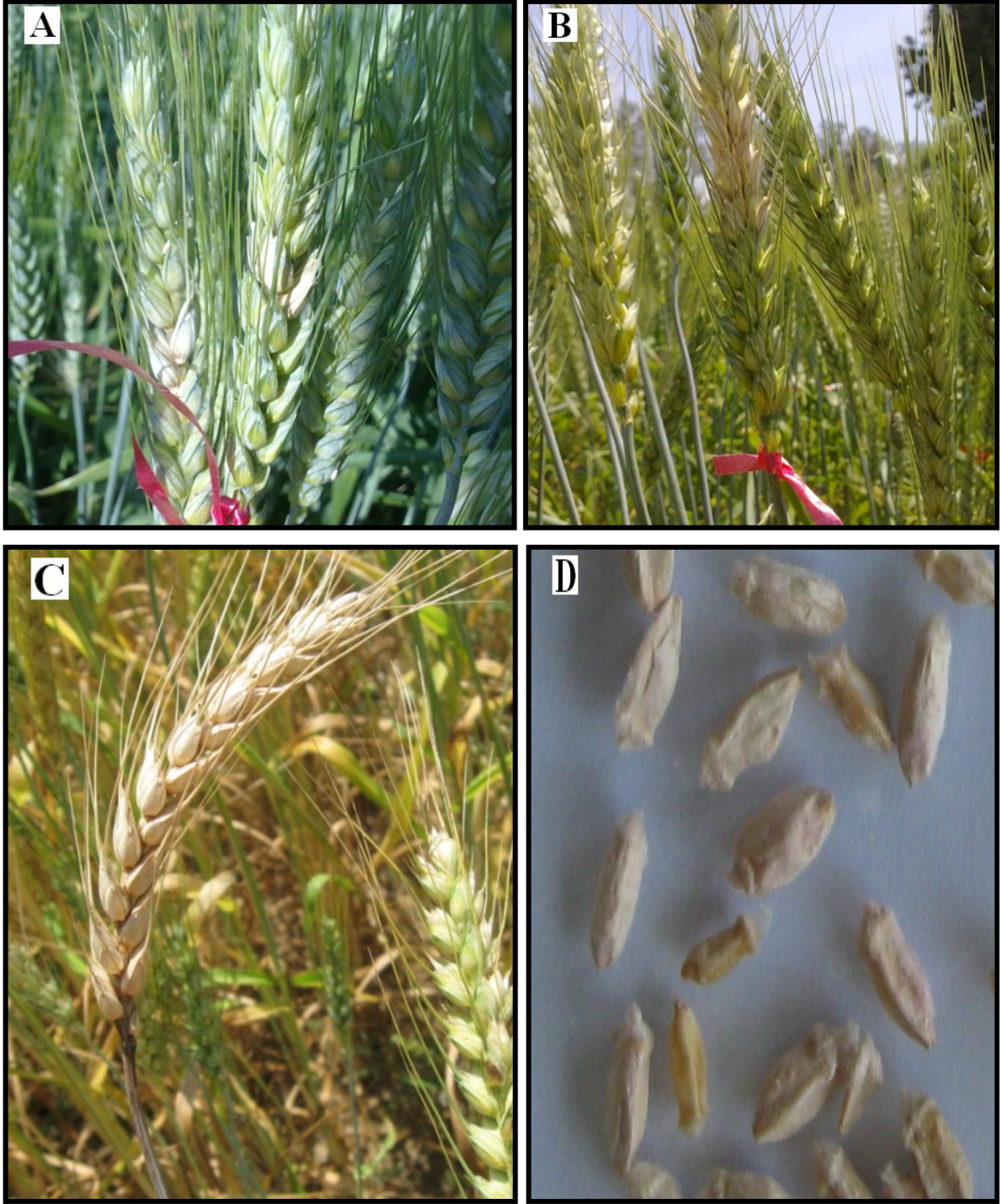
BÖLÜM 4**ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1. Bulgular****4.1.1 *Fusarium culmorum* ile İnokulasyon Sonucu Başakta Oluşan Simptomlar**

Çiçeklenme aşamasında buğday başaklarına başakların tam ortasındaki 2 çiçeğe şırınga yöntemi ile spor süspansiyonu şırınga edilen başaklarda hastalık belirtileri inokulasyondan 2-3 gün sonra görülmeye başlanmıştır. Hastalık belirtileri inokulasyon yapılan başakçığın ortasında ilk önce sarımsı leke şeklinde görülmüş ve sırası ile önce inokule edilen başakçığı, daha sonra hastalığın ilerlemesine bağlı olarak tüm başağı kaplamıştır (Şekil 4A ve B). İnokule edilen başakların bir kısmında hastalık 2 haftada tüm başağı kaplarken, bazı başaklarda hastalığın tüm başağı kaplaması 3-4 haftayı almıştır. Hastalık sadece başaklarla sınırlı kalmamış, başaklar tamamen yanıklık görünümünü alınca hastalık başak saplarına doğru ilerlemiştir (Şekil 4C). Başak saplarında aşağıya doğru koyu kahverengi renk değişimi şeklinde kendini göstermiştir.

Hastalıklı başaklardan elde edilen danelerin hem genel görüntüsü ve hem de rengi sağlıklı olanlarından farklı olmuştur. İnfekteli danelerin buruşuk, beyazımsı, pembemsi ve bazen kırmızımsı renk aldığı gözlenmiştir (Şekil 4D).

4.1.2 Hastalık Gelişiminin Değerlendirilmesi

İnokulasyon sonucu, inokule edilen başakların çoğunluğunun hastalandığı görülmüştür. Ceyhan buğday çeşidinde yapılan inokulasyon sonucunda, kullanılan toplam 16 izolatin 12'si inokule edilen başaklarda %100 oranında enfeksiyona sebep olmuştur. İki izolatta enfeksiyon oranı % 98,9, bir izolatta % 97,8, bir izolatta ise % 95,6 olmuştur. Golia çeşidine yapılan inokulasyonda yine 12 izolat % 100, 2 izolat % 97,8, 1 izolat % 96,7 ve 1 izolat da % 92,2 hastalık oluşturabilmiştir (Çizelge 4).



Şekil 4. *Fusarium culmorum* ile infekteli buğday başaklarında oluşan hastalık belirtileri. (A) İlk enfeksiyonlar, inokulasyonun yapıldığı başakçıkta görülmekte; B) daha sonra başağın alt ve üst kısımlarına doğru yavaş bir şekilde gelişim göstermektedir; (C) Daha ileri dönemlerde hastalık tüm başağı kaplar ve enfeksiyon başak sapına doğru ilerler; (D) Danede hastalık görünümü.

Çizelge 4. *Fusarium culmorum* ile inokulasyon sonucu inokule edilen başaklarda, hastalanan başak yüzdesi

<i>F. culmorum</i> izolatları	Buğday Çeşitleri	
	Ceyhan	Golia
M -103a	100,0	100,0
L-201a	100,0	100,0
D-807a	100,0	100,0
B-045	100,0	100,0
T-107	100,0	100,0
B-211	95,6	97,8
B-094	100,0	100,0
B-002	97,8	97,8
B-174	100,0	92,2
L-606a	98,9	100,0
B-044	100,0	100,0
N-2-D-5	100,0	100,0
K-502b	100,0	100,0
B-083	100,0	96,7
N-905	98,9	100,0
Fg4	100,0	100,0

Çalışmada kullanılan 16 *F. culmorum* izolatının, kullanılan iki buğday çeşidindeki hastalık gelişimi arasında istatistiki olarak fark olduğu saptanmıştır. İstatistik sonuçları Ek 1’de verilmiştir. Ceyhan buğday çeşidine farklı izolatların inokule edilmesi sonucu hastalığın ilk başlarda yavaş, fakat daha sonra daha hızlı seyrettiği gözlenmiştir. B-211 izolatının infeksiyon alanı, inokulasyondan 7 gün sonra başağın % 6,7’sini kaplarken, B-044 nolu izolat ise başağın % 18’ini sarmıştır. İnokulasyondan 14 gün sonra yapılan gözlemlerde genellikle hastalığın çok hızlı ilerlediği gözlenmiştir. Örneğin D-807a izolatı bu süre içerisinde başağın % 93.5’ini kaplamış olup oldukça hızlı bir gelişim göstermiştir. Aynı izolatın infeksiyon bölgesi inokulasyondan sonra 21. gün başağın % 98’ini kaplamıştır. Diğer izolatların hastalık şiddeti biri birinden farklı olsa da, özellikle inokulasyondan sonra başağın büyük bir kısmına hastalığın yayıldığı tespit edilmiştir (Çizelge 5).

Her ne kadar hastalığın gelişimi izolat ve çeşit interaksyonuna bağlı olarak gelişse de genel olarak Golia buğday çeşidinde hastalığın seyri daha yavaş olmuştur. Örneğin inokulasyondan 7 gün sonra D-807a izolatının Golia buğday çeşidinde, başağın %15'inin sararmasına yol açan enfeksiyona sebep olduğu saptanmıştır. Bunun yanında hastalık gelişiminin en az olduğu izolatın B-174 olduğu saptanmıştır. İnokulasyondan 14. ve 21. gün sonra yapılan ölçümlerde de izolatların hastalık gelişimine olan etkisinde farklılıklar olduğu saptanmıştır. Örneğin T-107 izolatının, inokulasyondan 14 gün sonra başağın % 55'ini hastalandırdığı, buna karşın yine aynı süre içinde B-211 izolatının başağın %19'unu kapladığı saptanmıştır. T-107 izolatı inokulasyondan 21 gün sonra başağın %94'ünü hastalandırmıştır. B-211 tarafından inokulasyondan sonra hastalığın ilerlemesinin ancak başağın % 28'i kadar olduğu saptanmıştır (Çizelge 5).

Çizelge 5. *Fusarium culmorum* izolatlarının iki farklı buğday çeşidine inokulasyonundan sonra 7, 14 ve 21. günlerdeki hastalık gelişimi (Değerler enfeksiyon alanının başak boyuna oranlanarak %'si şeklinde verilmiştir)

<i>F. culmorum</i> izolatları	Hastalık Gelişimi					
	7. Gün		14. Gün		21. Gün	
	Ceyhan	Golia	Ceyhan	Golia	Ceyhan	Golia
M-103a	14,91 BCa*	14,84 Aa	70,11 C-Ea	28,73 C-Fb	88,19 B-Da	58,54 Bb
L-201a	13,21 CDb	15,23 Aa	61,56 EFa	27,86 EFb	86,25 Da	46,28 C-Eb
D-807a	13,75 B-Da	15,18 Aa	93,52 Aa	42,34 Bb	98,23 Aa	62,74 Bb
B-045	13,00 CDb	15,04 Aa	76,91 BCa	47,27 Bb	94,55 ABa	64,12 Bb
T-107	12,99 C-Da	14,45 Aa	84,16 ABa	55,09 Ab	93,37 A-Ca	94,35 Aa
B-211	6,57 Ha	10,22 B-Da	32,64 Ha	19,70 GHb	62,57 FGa	28,25 Fb
B-094	12,19 D-Ea	11,62 Ba	73,61 CDa	33,70 CDb	96,45 Aa	63,95 Bb
B-002	7,46 G-Ha	8,11 Ea	42,63 Ga	31,50 C-Ea	83,03 DEa	49,42 CDb
B-174	8,10 F-Ha	8,09 Ea	32,91 GHa	20,15 GHa	62,00 FGa	42,29 DEb
L-606a	6,28 Hb	8,26 D-Ea	24,44 Ha	18,13 Hb	58,49 Ga	39,48 Ea
B-044	18,27 Aa	11,45 Ba	84,72 ABa	30,81 C-Eb	96,77 Aa	60,90 Bb
N-2-D-5	10,43 E-Fa	8,7 C-Ea	70,66 C-Ea	28,45 D-Fb	87,27 CDa	50,99 Cb
K-502b	12,16 D-Ea	9,39 C-Eb	65,33 D-Fa	30,71 C-Eb	85,37 DEa	49,26 CDb
B-083	16,16 ABa	10,42 BCb	74,21 CDa	34,10 Cb	94,26 ABa	61,23 Bb
N-905	12,50 C-Ea	9,97 B-Ea	57,90 Fa	24,87 FGb	78,99 Ea	45,79 C-Eb
Fg4	9,42 F-Ga	8,76 C-Ea	31,77 Ha	20,10 GHa	64,97 Fa	41,05 Eb
Ortalama	11,71	11,13	61,07 a	30,84 b	83,17 a	53,67 b

*Büyük harfler bir çeşit içinde izolatlar arasındaki farkları, küçük harfler ise bir izolat için iki çeşit arasındaki farkı gösterir. Farklı harfler istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir.

Hastalık gelişimi eğrisi altındaki bölge olarak da tanımlanan AUDPC, herhangi bir hastalık yoğunluğunun farklı zamanlarda alınan verileri karşılaştırarak, zamana bağlı olarak kantitatif bir özeti 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.

Kullanılan iki çeşit açısından değerlendirildiğinde AUDPC değerlerinin çeşitlere göre farklılık gösterdiği görülmüştür (Çizelge 6). Kullanılan tüm izolatlar birlikte değerlendirildiğinde, iki çeşitten Ceyhan'da AUDPC değeri ortalama 108.5 iken, Golia'da ise istatistiki olarak farklı olup, ortalama sadece 63.3 olmuştur. Çizelge 5'te verilen farklı üç zamanda yapılan ölçümlerde hastalığın gelişiminin Ceyhan çeşidinde hızlı, Golia'da ise daha yavaş ilerlediği gözlenmiştir.

Bir çeşit içinde izolat bazında AUDPC değeri açısından karşılaştırma yapıldığında, hastalık şiddetinin izolatlar arasında istatistiki açıdan önemli olduğu saptanmıştır. İstatistik sonuçları Ek 2'de verilmiştir. Örneğin Ceyhan buğday çeşidine inokule edildiğinde, D-807a ve B-044 izolatlarının AUDPC değerlerinin diğer izolatlarla kıyaslandığında yüksek olduğu (sırasıyla 149,5 ve 142,2), dolayısıyla hastalık şiddetinin de buna bağlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. B-211, B-174, L606a, Fg4 izolatlarının ise AUDPC değerleri diğer izolatlarla kıyaslandığında oldukça düşük olduğu saptanmıştır (56.8-68,9).

Golia çeşidi ile yapılan inokulasyon çalışmaları sonucunda da, AUDPC değerlerinin izolatlar arasında farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Golia'da en hızlı hastalık gelişimine sebep olan izolatın T-107 olduğu saptanmıştır (AUDPC değeri 109,5). Hastalık gelişiminin en yavaş ilerlediği izolat ise 38,9 AUDPC değeri ile B-211 olmuştur (Çizelge 6).

Çizelge 6. *Fusarium culmorum*'un farklı izolatları ile iki farklı buğday çeşidine yapılan inokulasyondan sonra başaklarda gelişen, hastalık gelişimi eğrisi altındaki bölgenin (AUDPC) karşılaştırılması

<i>F. culmorum</i> izolatları	Buğday Çeşitleri	
	Ceyhan	Golia
M-103a	121,67 D-Fa*	65,43 C-Eb
L-201a	111,29 FGa	58,62 EFb
D-807a	149,51 Aa	81,30 Bb
B-045	130,69 CDa	86,85 Bb
T-107	137,34 BCa	109,50 Ab
B-211	67,21 IJa	38,94 Gb
B-094	127,93 C-Ea	71,49 Cb
B-002	87,88 Ha	60,27 DEb
B-174	67,97 Ia	45,34 Gb
L-606a	56,83 Ja	42,00 Gb
B-044	142,24 ABa	66,99 C-Db
N-2-D-5	119,51 EFa	58,3 EFb
K-502b	114,09 FGa	60,04 D-Fb
B-083	129,43 C-Ea	69,93 Cb
N-905	103,64 Ga	52,75 Fb
Fg4	68,97 Ia	45,01 Gb
Ortalama	108,51 a	63,3 b

*Büyük harfler bir çeşit içinde izolatlar arasındaki farkları, küçük harfler ise bir izolat için iki çeşit arasındaki farkı gösterir. Farklı harfler istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir.

4.1.3. *Fusarium culmorum*'un Verim Parametrelerine Etkisi

F. culmorum ile inokule edilen başaklar, olgunlaştıktan sonra el ile hasat edilmiş ve başak ağırlığı tartılmıştır. Başak ağırlığı kontrol parsellerinde dahi, buğday çeşitleri arasında farklılık gösterdiğinden, sonuçların daha iyi yorumlanabilmesi için ağırlıklar nispi ağırlığa dönüştürüldükten sonra varyans analizine tabi tutulmuştur. Nispi ağırlık, elde edilen ağırlığın kontrol parseline bölünmesi ile elde edilmiştir.

Başak ağırlığı açısından değerlendirildiğinde çeşit etkisinin ve izolat etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır. İstatistik sonuçları Ek 2'de verilmiştir. Başak ağırlığı en çok D-807a ve T-107 izolatları tarafından negatif yönde etkilenmiştir (Şekil 5). B-211 ve L-606a izolatları ise başak ağırlığını diğer izolatlarla kıyasla daha az etkilemiştir

(Çizelge 7). Çeşitler arasındaki başak ağırlığı değişiminde Ceyhan çeşidinin Golia çeşidine göre daha fazla etkilendiği görülmüştür (Çizelge 7).



Şekil 5. *F. culmorum*'un T-107 izolatının Golia buğday çeşidinde oluşturduğu hastalık belirtileri (solda sağlıklı, sağda hastalıklı başak).

Çizelge 7. İki buğday çeşidinin *Fusarium culmorum* izolatları ile inokulasyonundan sonra başak ağırlıklarında meydana gelen farklılıkların karşılaştırılması

<i>F. culmorum</i> izolatları	Buğday Çeşitleri				Ortalama
	Ceyhan		Golia		
Kontrol	2,68*	1,00**	2,28	1,00	
M-103a	1,60	0,6	1,75	0,77	0,68 C***
L-201a	1,68	0,63	1,69	0,74	0,68 C
D-807a	1,35	0,5	1,45	0,63	0,57 F
B-045	1,50	0,56	1,61	0,71	0,63 DE
T-107	1,44	0,53	1,42	0,62	0,58 F
B-211	2,01	0,75	1,88	0,82	0,79 A
B-094	1,42	0,53	1,59	0,7	0,61 EF
B-002	1,80	0,67	1,66	0,73	0,70 BC
B-174	1,71	0,63	1,82	0,79	0,71 BC
L-606a	2,01	0,75	1,80	0,79	0,77 A
B-044	1,39	0,52	1,48	0,65	0,59 EF
N-2-D-5	1,78	0,67	1,66	0,72	0,70 BC
K-502b	1,65	0,62	1,68	0,74	0,68 CD
B-083	1,46	0,54	1,55	0,68	0,61 EF
N-905	1,59	0,59	1,70	0,74	0,67 CD
Fg4	1,95	0,73	1,73	0,75	0,74 AB
Ortalama	1,65	0,61 b	1,65	0,72 a	0,67

*Gerçek ağırlık (gr), ** nispi ağırlık

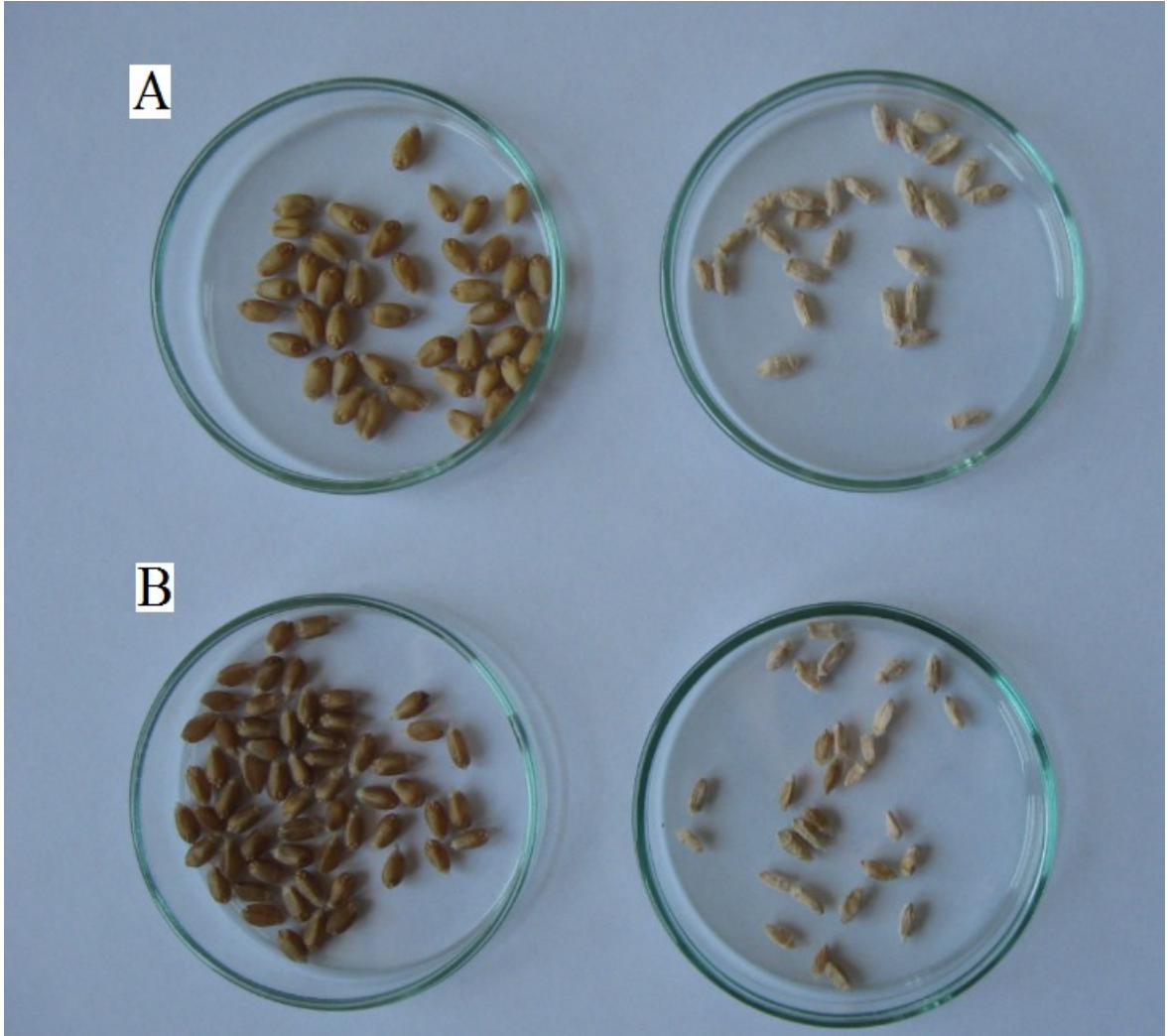
***Büyük harfler izolatlar arasındaki farkları gösterir. Farklı harfler istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir.

Bin dane ağırlığı inokule edilmeyen kontrol parsellerinde, Ceyhan çeşidinde 46,32 g iken, Golia'da 38,38 bulunmuştur. Kontrol parsellerinde bin dane ağırlığının çeşitler arasında farklı olmasından dolayı ağırlık, nispi ağırlığa dönüştürülmüş ve bu şekilde varyans analizine tabi bırakılmıştır.

Yapılan varyans analizi sonucunda bin dane ağırlığının azalmasında çeşit, izolat ve Çeşit*İzolatın birlikte etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır. İstatistik sonuçları Ek 2'de verilmiştir. Ceyhan buğday çeşidinde B-211 ve B-174 izolatları ile inokule edilen parsellerdeki bin dane ağırlığı, diğerlerine kıyasla daha yüksek çıkmıştır. Bin dane ağırlığı en çok D-807a izolatı tarafından olumsuz yönde etkilenmiştir (Çizelge 8).

Golia çeşidinin nispi ağırlık olarak değerlendirildiğinde daha az etkilendiği görülmektedir. Golia çeşidinin bin dane ağırlığı en fazla B-094 izolatı tarafından negatif yönde etkilenmiştir (Şekil 6). Aynı çeşitte bin dane ağırlığını en az etkileyen izolatın L-

606a olduğu bulunmuştur. Tüm izolatların Ceyhan çeşidinde Golia ile kıyaslandığında bin dane ağırlığını önemli oranda düşürdüğü saptanmıştır (Çizelge 8).



Şekil 6. *F. culmorum*'un B-094 izolatının Ceyhan (A) ve Golia (B) buğday çeşitlerine inokulasyonundan sonra danelerde oluşan hastalık belirtileri (solda sağlıklı, sağda hastalıklı daneler).

Çizelge 8. İki buğday çeşidinin *Fusarium culmorum* izolatları ile inokulasyonu sonucu bin dane ağırlıklarında meydana gelen farklılıkların karşılaştırılması

<i>F. culmorum</i> izolatları	Buğday Çeşitleri			
	Ceyhan		Golia	
Kontrol (-)	46,32*	1,00**	38,38	1,00
M-103a	10,82	0,23 EFb***	23,47	0,61 Fa
L-201a	11,88	0,26 Eb	26,58	0,69 Da
D-807a	8,21	0,18 Hb	22,90	0,60 Fa
B-045	9,32	0,20 GHb	24,83	0,65 Ea
T-107	10,12	0,22 FGb	22,78	0,59 Fa
B-211	20,54	0,44 Ab	27,22	0,71 CDa
B-094	9,43	0,20 Gb	19,29	0,50 Ha
B-002	16,48	0,35 Db	20,61	0,54 Ga
B-174	20,43	0,44 ABb	28,46	0,74 BCa
L-606a	19,00	0,41 Cb	30,31	0,79 Aa
B-044	10,69	0,23 Fb	23,33	0,61 Fa
N-2-D-5	16,96	0,37 Db	29,43	0,77 ABa
K-502b	10,87	0,23 EFb	24,72	0,64 Ea
B-083	10,02	0,22 FGb	23,19	0,60 Fa
N-905	10,28	0,22 FGb	26,65	0,69 Da
Fg4	19,11	0,42 BCb	23,34	0,61 Fa
Ortalama	13,38	0,29 b	24,82	0,65 a

*Gerçek ağırlık (gr), ** nispi ağırlık

***Büyük harfler bir çeşit içinde izolatlar arasındaki farkları, küçük harfler ise bir izolat için iki çeşit arasındaki farkı gösterir. Farklı harfler istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir.

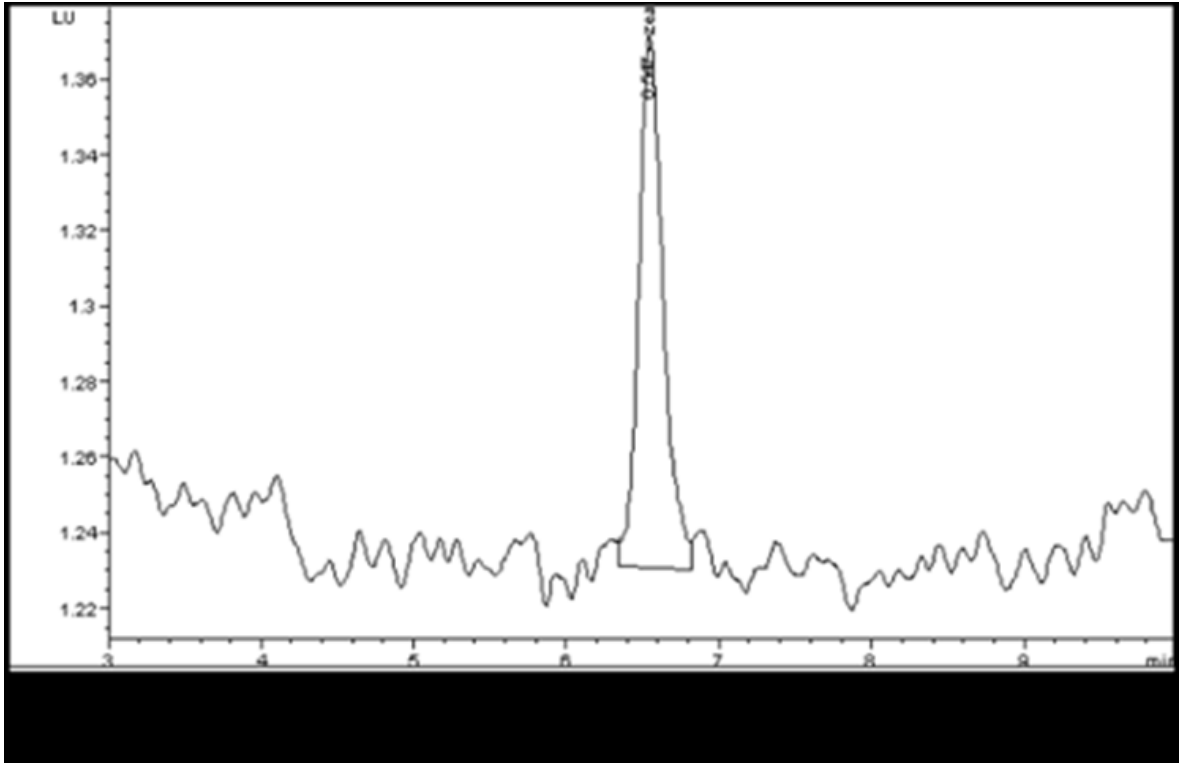
4.1.4. *Fusarium culmorum*'un ZEA Üretimine Etkisi

İnfekteli danelerde oluşan ZEA miktarının saptanması HPLC ile yapılmıştır. Öncelikle standart ZEA kolondan geçirilmiş ve ZEA'nın 6-7 dakika (retention time) arasında pik verdiği saptanmıştır. İnfekteli ve sağlıklı kontrol danelerden elde edilen ekstraktlar HPLC'e enjekte edildikten sonra, kontrol danelerin ZEA içermediği, sadece hastalıklı olan danelerde ZEA'nın akümüle olduğu gözlenmiştir. Şekil 7'de ZEA'nın var olduğu bir örneğin kromatogramı, Şekil 8'de ise *F. culmorum* ile inokule edilmemiş kontrol danelerin kromatogramı verilmiştir.

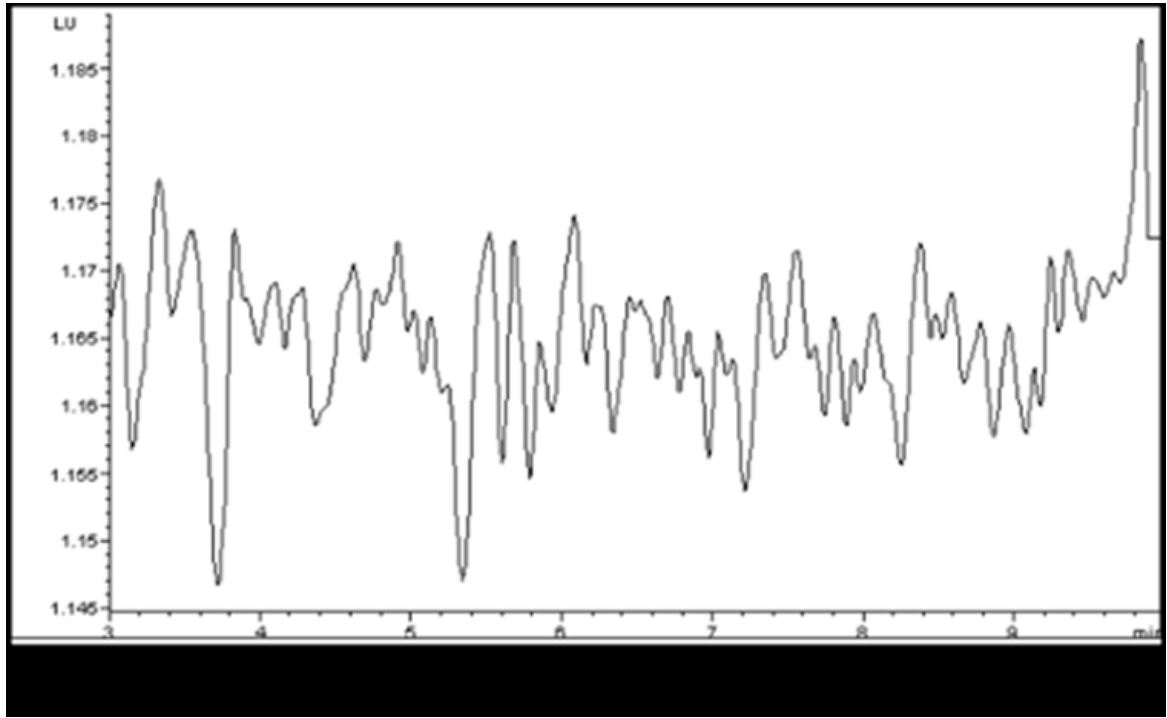
Genel olarak *F. culmorum* izolatlarının Ceyhan buğday çeşidinde oluşturduğu ZEA miktarı 21.7 µg/kg iken, Golia çeşidinde 12.6 µg/kg olarak bulunmuş ve bu farkın istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. İstatistik sonuçları Ek 2'de verilmiştir.

Ceyhan buğday çeşidinde ZEA miktarı en yüksek B-002 izolatu ile inokule edilen danelerde bulunmuştur. B-211 ve N-905 numaralı izolatların da yüksek oranda ZEA akümülyasyonuna sebep olduğu (sırasıyla 49.2 ve 47.8 µg/kg) tespit edilmiştir. En az ZEA üretiminin ise 7-8.1 µg/kg civarında olduğu saptanmıştır. *F. culmorum* izolatlarının Golia buğday çeşidinde ZEA üretiminin Ceyhanla kıyaslandığında düşük kaldığı görülmektedir. M-103a, L-201a ve B-211 izolatlarının buğdayda tespit edilebilir miktarda ZEA üretmediği, diğeri izolatların ise 6.7-12.4 µg/kg miktarında ZEA ürettiği saptanmıştır. Bir istisna olarak Golia çeşidinde Fg4 numaralı izolatu çok yüksek oranda (88.7) ZEA ürettiği görülmüştür (Çizelge 9).

F. culmorum izolatlarının her birinin farklı iki buğday çeşidinde oluşturduğu ZEA miktarları kıyaslandığında, bazı izolatların çeşit ne olursa olsun danelerde benzer miktarda ZEA akümülye ettiği, bazılarının ise farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Bu farklılıklar genellikle Ceyhan çeşidinde yüksek bulunmuşken (B-211, B-002 ve N-905), sadece Fg4 izolatu ürettiği ZEA Golia'da daha yüksek oranda bulunmuştur (Çizelge 9).



Şekil 7. *F. culmorum* ile inokule edilen buğday danelerinde ZEA'nın varlığını gösteren kromatogram.



Şekil 8. Kontrol buğday danelerinde ZEA'nın varlığını gösteren kromatogram.

Çizelge 9. *Fusarium culmorum*'un izolatları ile inokule edilen buğday başaklarında ZEA konsantrasyonları ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

<i>F. culmorum</i>	izolatları	Buğday Çeşitleri	
		Ceyhan ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Golia ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Kontrol (-)		0,00 Ha*	0,00 Fa
M-103a		13,49 EFa	0,00 Fb
L-201a		11,44 E-Ga	0,00 Fb
D-807a		7,07 Ga	9,43 B-Ea
B-045		7,26 Ga	12,39 Ba
T-107		13,40 EFa	10,63 B-Da
B-211		49,21 Ba	0,00 Fb
B-094		6,95 Ga	8,08 DEa
B-002		89,60 Aa	7,99 DEb
B-174		19,04 Da	11,59 BCa
L-606a		14,3 DEa	6,69 Eb
B-044		28,64 Ca	6,93 Eb
N-2-D-5		8,06 Ga	11,02 B-Da
K-502b		8,78 FGa	8,07 DEa
B-083		7,47 Ga	11,54 BCa
N-905		47,82 Ba	8,80 C-Eb
Fg4		14,52 DEb	88,66 Aa
Ortalama		21,69 a	12,61 b

*Büyük harfler bir çeşit içinde izolatlar arasındaki farkları, küçük harfler ise bir izolat için iki çeşit arasındaki farkı gösterir. Farklı harfler istatistik olarak farklı olduğunu göstermektedir.

4.1.5. Korelasyon Analizleri

F. culmorum'un 16 izolatu ve buğdayın iki çeşidi ile yapılan inokulasyonlar sonucunda gözlemlenen parametreler arasında korelasyon olup olmadığı araştırılmıştır. Korelasyon analizine bin dane ağırlığı, başak ağırlığı, AUDPC ve ZEA verileri dahil edilmiştir.

Yapılan korelasyon analizinde başak ağırlığı ile bin dane ağırlığı arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Başak ağırlığı ile AUDPC ve bin dane ağırlığı ile AUDPC arasında ise negatif bir ilişki olduğu saptanmıştır. İnfekteli danelerde oluşan ZEA miktarının başak ağırlığı, bin dane ağırlığı ve AUDPC ile aralarında herhangi bir korelasyon olmadığı saptanmıştır (Çizelge 10).

Çizelge 10. Denemede incelenen özellikler ile ilgili korelasyon katsayıları ve önem düzeyleri

	Başak A.	Bin Dane A.	AUDPC
Bin Dane A.	0.75199***		
AUDPC	-0.85136***	-0.85006***	
ZEA	0.03211	-0.13771	-0.06465

P≤0,05* P≤0,01** P≤0,001***

4.2. Tartışma

Şırınga yöntemiyle başak ekseninin tam ortasına bir başakçığa yapılan inokulasyon yöntemi oldukça başarılı bulunmuştur. Hastalığa yakalanma yüzdesi % 92.2 ile %100 arasında olmuştur. Bilindiği gibi *F. culmorum* büyük ve orak şekilli makrokonidilere sahiptir. Uygulama için şırıngaya doldurulan süspansiyon içindeki makrokonidiler, uygulama anında ince uçlu olan şırınganın iğnesini tıkayabilmektedir. Hastalanmayan başağın, tıkanan şırıngadan makrokonidi süspansiyonunun başağa enjekte olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Hastalığın inokulasyonu takiben başaklarda gelişimi bu çalışmada olduğu gibi başka çalışmalarda da izlenmiştir. Bu çalışmada hastalığın gelişimi inokulasyondan sonra 7, 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 (Chrporová ve ark., 2007; Chrporová ve ark., 2010). Bazı çalışmalarda semptom

alanı cetvel ile ölçülmüştür. Benzer çalışmalarda 1-9 skalasının da kullanıldığı bilinmektedir (Perkowski ve ark., 1995; Chrprová 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 yayıldığı görülmüştür.

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. Golia çeşidinde genellikle daha düşük AUDPC değerleri belirlenmiş ve genel ortalamanın 63.3 olduğu, Ceyhan çeşidinde ise ortalama AUDPC değerinin 108.51 olduğu saptanmıştır. AUDPC açısından değerlendirildiğinde, kullanılan izolatların Ceyhan buğday çeşidinde yüksek şiddette hastalık oluşturduğu, Golia buğday çeşidinin ise Ceyhan ile kıyaslandığında önemli oranda dayanıklı olduğu görülmektedir (Çizelge 6). Elde edilen farklı AUDPC değeri izolatlar arasında da farklılık olduğunu ortaya koymuştur. Bazı izolatların daha yüksek şiddette hastalık görünümüne sebep olduğu (Ceyhanda D-807a, Golia'da T-107), buna karşın bazılarının ise daha düşük şiddette hastalık oluşturduğu (Ceyhan'da L-606a, Golia'da B-211) görülmektedir. Farklı izolatların farklı buğday çeşitlerinde yüksek virülenliğe sahip olması daha önceki *F. graminearum* ile yapılan bir çalışmada da gösterilmiştir. Kullanılan 3 farklı *F. graminearum* izolatının 6 buğday genotipinde oluşturdukları hastalık şiddetinin farklı olduğu, bir genotipte oldukça virulent olan bir izolatın başka bir buğday çeşidinde aynı oranda hastalık oluşturamadığı rapor edilmiştir (Ittu ve ark., 2000). Fakat bunun tam aksine yine aynı tür ile yapılan başka bir çalışmada, izolatların virülenlikleri arasında bir interaksiyon bulunmadığı gibi, izolat-çeşit arasında da bir ilişkinin olmadığı rapor edilmiştir (Gilbert ve ark., 2001).

F. culmorum izolatları ile inokule edilen buğday başaklarının ve bin dane ağırlığının, kontrole kıyasla düşük olduğu görülmüştür. Kullanılan iki buğday çeşidinin başak ağırlıkları ile bin dane ağırlıkları sağlıklı parsellerde dahi farklı bulunmuştur. Bu yüzden belli bir izolatın her iki buğday çeşidinde meydana getirdiği verim kaybını istatistiki olarak karşılaştırabilmek için, gerçek ağırlıklar nispi ağırlığa çevrilmiştir. *F. culmorum* izolatlarının bin dane ağırlığı üzerindeki etkisinin izolatlar arasında farklılıklar olduğu görülmüştür.

Yüksek AUDPC değerine sahip olan izolatların inokule edilen başaklardaki bin dane ağırlığının da düştüğü görülmektedir. Yapılan korelasyon analizinde de her iki parametre arasında negatif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Bir izolatin şiddetli hastalık yapma yeteneği yüksek AUDPC ile ifade edildiğine göre, verimin düşmesi beklenen bir sonuçtur. Her iki çeşitte de bin dane ağırlığı ile başak ağırlığı arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar rapor edilen diğer çalışmalarda da gözlenmiştir (Mesterházy, 2002). Tunalı ve ark., (2006) yaptıkları bir çalışmada *Fusarium* başak yanıklığı sonrası bin dane ağırlıklarını 9,36-33,00g arasında bulmuşlardır. Başka bir çalışmada ise Snijders ve Perkowski (1990), bin dane ağırlığı kayıplarının önemli oranda olduğunu bulmuşlardır.

ZEA tayini için en çok tercih edilen yöntemlerden biri olan HPLC yöntemi bu çalışmada da kullanılmıştır (Cerveró ve ark., 2007; Omurtag ve Beyoğlu, 2003). HPLC'nin yanı sıra TLC (Snijders ve Perkowski, 1990) ve ELISA yöntemi de kullanılmaktadır (Muthomi ve ark., 2008), fakat bu iki yöntemde miktar tayin edilememektedir. İzolatların oluşturdukları ZEA miktarları Golia'da 0-88 µg/kg, Ceyhan'da ise 7-89 µg/kg arasında değişmiştir (Çizelge 9). Fakat genel ortalamaya bakıldığında Ceyhan'da ortalama 21.7 µg/kg, Golia çeşidinde ise 12.6 µg/kg ZEA akümüle edildiği görülmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda buğdayda ZEA miktarları değişik seviyelerde çıkmıştır. ZEA miktarlarını Ohlinger ve ark., (2004) 20-240, Varga ve ark., (2004) 3,5–18 µg/kg arasında bulmuşlardır ve bu sonuçlar bu çalışmada elde edilenler ile benzerlik göstermektedir.

Ceyhan buğday çeşidinde test edilen tüm izolatların tespit edilebilir miktarda ZEA ürettiği görülmüştür. En yüksek miktar B-002 izolatu ile inokule edilen başaklardan elde edilmiştir. B-002 izolatinin AUDPC değeri 87'dir ve bu değer genel ortalamanın altındadır (108.5). En yüksek AUDPC'ye sahip izolat olan D-807a'nın ise oluşturduğu ZEA miktarı 7µg/kg (ortalama 21.69 µg/kg) olduğu görülmektedir.

Golia buğday çeşidine inokule edildikten sonra M-103a, L-201a ve B-211 numaralı izolatların danelerde tespit edilebilir miktarda ZEA akümüle edemedikleri görülmektedir. Bu izolatların inokulasyondan sonra başakta belli oranlarda hastalık belirtisi oluşturabildiği ve verimde de az da olsa düşüşe sebep olduğu görülmektedir (Çizelge 6, 7, 8). Bu sonuç infeksiyon oluşumu için konukçu dokularında ZEA'nın üretiminin spesifik olarak gerekli olmadığını göstermektedir. Fg4 izolatu da istisnai olarak tüm izolatlar içinde Golia'da en fazla ZEA akümüle eden izolat olmasına rağmen AUDPC değeri, ortalamanın altında bulunmuştur.

Her iki buğday çeşidine yapılan inokulasyonlarda yüksek virülensliğe sahip *F. culmorum* izolatlarının, daha yüksek oranda ZEA üretmediği görülmektedir. Yapılan

korelasyon analizinde ZEA'nın, analize alınan hiçbir parametre ile korale olmadığı görülmektedir. Bu sonuçlara bakarak, hastalık şiddeti ile bir mikotoksin olan ZEA arasında bir ilişki olmadığı, dolayısıyla ZEA'nın patogeneizde bir rolünün olamayabileceği düşünülmektedir.

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.

Başaklara inokulasyondan sonra DON'un ancak 48 saat sonra tespit edilebildiği saptanmıştır. Hastalık gelişiminde DON'un geç tespit edilebilmesi, ilk infeksiyon anında rol almadığını vurgulamaktadır (Mirocha ve ark., 1997). Gaffoor ve ark. (2005) yaptıkları bir çalışmada, *F. graminearum*'un buğdayı enfekte edebilmesi için ZEA'nın da gerekli olmadığını rapor etmiştir.

Yukarıdaki raporların aksine, bazı izolat-çesit 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 belirtilerinin 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 kodeksine göre bir tahıl ürününde, ürünün mahiyetine göre tolere edilebilir sınır 20-400 µg/kg arasında değişmektedir. İşlenmemiş mısır ve mısır harici buğdaygillerde sınır sırasıyla 350 µg/kg ve 100 µg/kg'dır. Mısır unu hariç diğer unlarda 75 µg/kg'dır. 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).

Aslında *Fusarium* mikotoksinleri açısından değerlendirildiğinde, tolere edilebilir değerlerin, diğer mikotoksinlerle kıyaslandığında çok yüksek olduğu görülmektedir. Örneğin aflatoksin açısından bakıldığında tolere edilebilir sınır, yiyecek türüne bağlı olmakla birlikte 0.025-15 µg/kg arasında değiştiği görülmektedir. Örneğin kuru meyve, fındık fıstık ve baharatta 10 µg/kg (afla B1’de ise 5 µg/kg), bebek mamalarında ise 0.1 µg/kg’dır (Anonim, 2009). Bu değerler ZEA ile kıyaslandığında oldukça düşük kalmaktadır. Fakat ZEA’nın daha çok tahıl ürünlerinde görülmesi ve hayvan yemi ve insan beslenmesinde günlük tüketim açısından değerlendirildiğinde tahılların büyük bir paya sahip olmasından dolayı ZEA’ya maruz kalma oranı da o denli artmaktadır.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikotoksin içeriği, dane verim kaybı ve infeksiyondan sonra dane kalitesinde dikkate değer miktarlarda meydana gelen azalma, pratikte şüphesiz önemli bir sonuç olarak ortaya çıkmaktadır. Çalışmada kullanılan iki buğday çeşidi genel olarak hastalığa karşı farklı reaksiyon vermiştir. Ceyhan çeşidinde hastalık daha şiddetli seyrederken, Golia çeşidinde daha az şiddette gözlenmiştir. Ceyhan buğday çeşidinde ZEA oranı daha yüksek iken, Golia'da oranın biraz daha düşük olduğu görülmüştür. Fakat her iki buğday çeşidinde de yüksek oranda oluşan ZEA miktarının hastalık şiddeti ile kıyaslandığında bir korelasyon içinde olmadığı görülmektedir. Bu çalışma göstermiştir ki, bir buğday çeşidinin *F. culmorum*'a karşı dayanıklı olması veya hastalıktan az etkilenmesi daha az ZEA oluşumu anlamına gelmemektedir. Dolayısıyla hastalığa karşı dayanıklı hat ıslah ederken, patojenite testi yeterli kalmamakta, dayanıklı fenotipe sahip çeşitlerin mikotoksin açısından da analizlerinin yapılması gerekmektedir. Bir çeşidin, *F. culmorum*'un enfeksiyonuna ek olarak ZEA üretimine karşı da yüksek direnç göstermesi amaca tam olarak hizmet edecektir.

Buğday dünyada en fazla üretimi yapılan bitkidir ve insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yeri olduğu için üzerinde sürekli çalışılmaktadır. Fusarium başak yanıklığı buğdayda görülen yaygın bir hastalıktır ve ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır. Ayrıca zararları ortaya konulan üretmiş olduğu mikotoksinleri önemli risk faktörüdür. Verim kayıplarının önüne geçmek ve mikotoksin zararına engel olmak için buğdayı Fusarium başak yanıklığından korumak gerekir. Bunun içinde sürekli yeni çalışmalar ortaya koymak gerekir. 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/Tebliğ/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 ilinde 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 International 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 Ruckebauer 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 Production 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 Pacific 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 Metabolism May Explain the Interaction of Two Food-Grade *Lactobacillus* Strains with Zearalenone and Its Derivative α -Zearalenol. *Applied and Environmental 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 Grermels J., 1999. Mycotoxins: Their Implications 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., Miedaner 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 Nostrand 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 Impact. *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.
- Miedaner 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 McClintock 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., Kolaczowski 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. Fumonisin, 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., Miedaner 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., 1973. 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. *International 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. *International 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.
- Šíp 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 Türlerle 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. Fumonisin, Trichothecenes and Zearalenone in Cereals.
International Journal of Molecular Sciences, 9: 2062-2090.

EKLER

EK 1. *Fusarium culmorum* ile inokulasyon sonucunda 7, 14 ve 21. günde gözlenen yanıklık belirtilerine ait kareler ortalaması ve önem düzeyleri

Kareler Ortalaması				
VK	SD	7. gün	14. gün	21. gün
Tekerrür	2	10,4640	89,6396	73,0358
İzolat	15	46,6338***	1391,4412***	1090,9527***
Çeşit	1	5,5344	21920,6815***	20896,0312***
Çeşit*İzolat	15	12,3565***	338,5104***	151,7809***
Hata	62	1,8987	22,2175	16,6098
Toplam	95			

P≤0,05* P≤0,01** P≤0,001***

EK 2. *Fusarium culmorum*'un farklı izolatları ile inokulasyon sonucunda AUDPC, başak ağırlığı, bin dane ağırlığı ve ZEA değerlerine ait kareler ortalaması ve önem düzeyleri

Kareler Ortalaması					
VK	SD	AUDPC	Başak A.	Bin Dane A.	ZEA
Tekerrür	2	232,3127	0,0070	0,0020	19,6266
İzolat	15	3160,3053***	0,0267***	0,0370***	1239,7973***
Çeşit	1	49065,5094***	0,2871***	3,0745***	1976,8980***
Çeşit*İzolat	15	509,0248***	0,0035	0,0110***	1574,6279***
Hata	62	32,8966	0,0020	0,0003	7,4360
Toplam	95				

P≤0,05* P≤0,01** P≤0,001***

ÇİZELGELER

	Sayfa No
Çizelge 1. Başlıca tahılların dünyada ve ülkemizdeki durumu.....	1
Çizelge 2. ZEA'nın Avrupa Birliği (EC, No. 1881/2006) ve Türkiye'deki (2008/26 nolu tebliğ) tolere edilebilir yasal limitleri.	5
Çizelge 3. Kullanılan <i>Fusarium culmorum</i> izolatları ve orijinleri.....	15
Çizelge 4. <i>Fusarium culmorum</i> ile inokulasyon sonucu inokule edilen başaklarda, hastalanan başak yüzdesi.	24
Çizelge 5. <i>Fusarium culmorum</i> izolatlarının iki farklı buğday çeşidine inokulasyonu sonucu 7., 14 ve 21. günlerdeki hastalık gelişimi.	25
Çizelge 6. <i>Fusarium culmorum</i> 'un farklı izolatları ile iki farklı buğday çeşidine yapılan inokulasyondan sonra başaklarda gelişen, hastalık gelişimi eğrisi altındaki bölgenin (AUDPC) karşılaştırılması	27
Çizelge 7. İki buğday çeşidinin <i>Fusarium culmorum</i> izolatları ile inokulasyonundan sonra başak ağırlıklarında meydana gelen farklılıkların karşılaştırılması.	29
Çizelge 8. İki buğday çeşidinin <i>Fusarium culmorum</i> izolatları ile inokulasyonu sonucu bin dane ağırlıklarında meydana gelen farklılıkların karşılaştırılması.	31
Çizelge 9. <i>Fusarium culmorum</i> 'un izolatları ile inokule edilen buğday başaklarında ZEA konsantrasyonları ($\mu\text{g}/\text{kg}$).....	33
Çizelge 10. Denemede incelenen özellikler ile ilgili korelasyon katsayıları ve önem düzeyleri.	34

ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 1. Zearalenone' un kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2. Buğday başaklarının <i>Fusarium culmorum</i> ile inokulasyonu	17
Şekil 3. <i>Fusarium culmorum</i> ile inokulasyonun ardından başakta oluşan semptom uzunluğunun ölçümü.	19
Şekil 4. <i>Fusarium culmorum</i> ile infekteli buğday başaklarında oluşan hastalık semptomları.	23
Şekil 5. <i>F. culmorum</i> 'un T-107 izolatının Golia buğday çeşidinde oluşturduğu hastalık belirtileri.....	28
Şekil 6. <i>F. culmorum</i> 'un B-094 izolatının Ceyhan (A) ve Golia (B) buğday çeşitlerine inokulasyonundan sonra danelerde oluşan hastalık semptomları.....	30
Şekil 7. <i>F. culmorum</i> ile inokule edilen buğday danelerinde ZEA'nın varlığını gösteren kromatogram	32
Şekil 8. Kontrol buğday danelerinde ZEA'nın varlığını gösteren kromatogram.....	33

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Ramazan GENCER

Doğum Yeri: Bucak/BURDUR

Doğum Tarihi: 18/02/1986

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi / Bitki Koruma Bölümü

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

İLETİŞİM

E-posta Adresi : ramazan_gencer@hotmail.com

BİLİMSEL FAALİYETLER

Doç. Dr. Figen TÜRK'ün yürütücülüğünü yaptığı, TÜBİTAK-TOVAG-109O830 nolu "Buğdayda Kök ve Kökboğazı Çürüklüğü ile Buğday Başak Yanıklığına Sebep Olan Başlıca Fusarium Türlerinin ve DON ile NIV Kemotiplerinin Batı Marmara Bölgesinde Yaygınlığının PCR ile Saptanması" başlıklı projede görev aldım.

Mert-Türk F., Kahrıman F., Gencer R. ve Egesel C.O., 2010. Fusarium Head Blight Affected the Yield but not the Total Protein Content of Winter Wheat. *Conference on "Impact of plant pathogens on food quality of agricultural crops and wine (Patholux)"*. November 22 and 23. Remich, Lüksemburg. p. 27.

Mert-Türk F. ve Gencer R., 2011. *Fusarium culmorum* İzolatları Arasında DON, 3-AcDON, 15-AcDON ve NIV Kemotiplerinin Dağılımlarının Saptanması. *Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi*, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş. s. 387.

Mert-Türk F. ve Gencer R., 2011. Çanakkale Buğday Alanlarında Görülen Fungal Hastalıklar ve Çıkış zamanları. *Çanakkale Tarımı Sempozyumu (Dünü, Bugünü ve Geleceği)*, 10-11 Ocak 2011, Çanakkale, 402-404.

Mert-Türk F., Gencer R. ve Kahrıman F., 2011. *Fusarium culmorum* Kültür Filtratının Buğday Tohumlarının Çimlenmesine Etkisinin Saptanması. *Çanakkale Tarımı Sempozyumu (Dünü, Bugünü ve Geleceği)*, 10-11 Ocak 2011, Çanakkale, 405-411.