




Derleme Makalesi / Review Article

Önemli Bir Arpa Patojeni: *Ramularia collo-cygni*

An Important Pathogen of Barley: Ramularia collo-cygni

Zeynep ASLAN¹ , Arzu ÇELİK OĞUZ^{2,*} , Aziz KARAKAYA³ 

^{1,2,3} Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Dışkapı, 06110, Ankara, Türkiye

 <https://doi.org/10.55007/dufed.1076555>

MAKALE BİLGİSİ

Makale Tarihi

Alınış, 21 Şubat 2022

Revize, 26 Nisan 2022

Kabul, 27 Nisan 2022

Online Yayınlama, 06 Mayıs 2022

Anahtar Kelimeler

Ramularia collo-cygni,
Ramularia yaprak lekesi hastalığı,
Arpa, *Hordeum vulgare*

ARTICLE INFO

Article History

Received, 21 February 2022

Revised, 26 April 2022

Accepted, 27 April 2022

Available Online, 06 May 2022

Keywords

Ramularia collo-cygni,
Ramularia leaf spot disease,
Barley, *Hordeum vulgare*

ÖZ

Ramularia collo-cygni, arpada (*Hordeum vulgare*) *Ramularia* yaprak lekesi hastalığına neden olan fungal bir etmendir. Nekrotik lekelenmeye ve erken yaprak yaşlanmasına neden olarak arpada yeşil yaprak alanı kaybına yol açmakta ve epidemiyolojisi durumunda %70'e varan verim kaybına neden olmaktadır. Hastalığın geç dönemde ortaya çıkması ve etmenin tanısının zorluğu nedeni ile yüz yıldan fazla süre önce tanımlanmış olmasına rağmen son yıllarda, arpanın önemli bir patojeni olarak kabul edilmiştir. Günümüzde dünya çapında meydana getirdiği epidemiler nedeni ile araştırmacılar tarafından oldukça ilgi görmektedir. Bu derleme, ülkemizde henüz tespiti yapılmamış olan bu fungal etmenin detaylı olarak biyolojisi, epidemiyolojisi, konukçu patojen ilişkilerini tanımlamakta ve mevcut kontrol stratejilerini özetlemektedir.

ABSTRACT

Ramularia collo-cygni is a fungal agent that causes *Ramularia* leaf spot disease on barley (*Hordeum vulgare*). It causes necrotic spotting and premature leaf aging, leading to loss of green leaf area in barley, and in case of an epidemic, it causes yield loss up to 70%. Although it was defined more than a hundred years ago due to the late emergence of the disease and the difficulty of diagnosis, it has been accepted as an important pathogen of barley in recent years. Today, it attracts a lot of attention by researchers due to the epidemics it creates around the world. This review describes in detail the biology, epidemiology, host-pathogen relationships of this fungal agent, which has not yet been detected in Turkey and summarizes the current control strategies.

*Sorumlu Yazar

E-posta Adresleri: zeynep.ankara@omu.edu.tr (Zeynep ASLAN), acelik@agri.ankara.edu.tr (Arzu ÇELİK OĞUZ), karakaya@agri.ankara.edu.tr (Aziz KARAKAYA)

1. GİRİŞ

Arpa (*Hordeum vulgare*), dünyada kültür bitkisi yetiştirme alanlarının yaklaşık %10' unu kaplayan ve en yaygın olarak yetiştirilen ürünlerden biridir [1]. Serin iklim tahılı olan arpanın 2 ve 6 sıralı botanik varyeteleri mevcuttur. Elverişsiz iklim ve toprak koşullarına dayanıklı, serin iklim tahılları içerisinde en çok kardeşlenen ve dünyanın birçok bölgesinde yetiştirilen bir tahıl ürünüdür [2].

Arpa, Anadolu'da binlerce yıldır ekimi yapılan en eski kültür bitkilerinden birisidir [3]. Dünyada Orta Asya, Ön Asya, Etiyopya ve Eritre arpanın gen merkezi bölgeleridir [3]. Ülkemiz arpanın önemli gen merkezlerindedir [4].

2019-2020 verilerine göre, Türkiye dünyada en fazla arpa ekim alanlarına sahip ülkeler arasında dördüncü, arpa üretiminde altıncı, arpa tüketiminde ise üçüncü sırada yer almaktadır. Arpa dünyada 2019/20 verilerine göre yaklaşık 52 milyon (51.655) ha alanda 156,253 milyon ton üretime ve ülkemizde 2018/19 verilerine göre yaklaşık 3 milyon (2.612) ha alanda 7,6 milyon ton üretime ve 268 kg/ha ortalama verime sahiptir. Türkiye'deki arpa üretiminin büyük çoğunluğu İç Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yapılmaktadır. 2019 yılında, Konya 1,1 milyon ton arpa üretimi ile birinci sırada yer alırken, Ankara 650 bin ton ile ikinci, Şanlıurfa ise 386 bin ton ile üçüncü sırada yer almıştır [5].

Arpa bitkisinde zarara neden olan abiyotik ve biyotik faktörler dünya çapında arpa üretimi için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır [6, 8]. Arpa bitkisinde verim ve kaliteyi etkileyen hastalıklardan birisi de *Ramularia collo-cygni* (*Rcc*) fungusunun neden olduğu *Ramularia* yaprak lekeli (RLS) hastalığıdır. Hastalık, sezon sonunda ortaya çıkan ve genellikle sarı hale ile çevrili, küçük nekrotik lezyonlarla karakterize edilen belirtilere sahiptir [9].

Hastalığın şiddetli olduğu durumlarda ürünün tane verimi ve kalitesi ciddi şekilde etkilenebilmektedir. Hastalığın arpa bitkisinde tane boyutunda küçülmeye neden olabileceği rapor edilmiştir [10]. Bunun yanı sıra malt kalitesini de etkilemektedir [11, 12]. Genel olarak, *Ramularia collo-cygni* arpa bitkisinde %20-35 arasında verim kaybına yol açmaktadır. Hassas çeşitlerde ise %70'e kadar verim kaybı rapor edilmiştir [13, 14].

Daha önce yalnızca Kuzey Avrupa'da ve Batı Avrupa'nın yağışlı kısımlarında sorun olarak görülen RLS, artık dünya çapında arpa üretimi için önemli bir tehdit olarak kabul edilmektedir [15]. 1893 yılında İtalya'da resmi olarak tanımlanmasından bu yana [16] RLS, çiftçilerden, agronomistlerden ve araştırmacılardan çok az ilgi görmüştür. Bunun başlıca nedeninin hastalığın arpa ağ benek hastalığına (*Pyrenophora teres*) veya abiyotik stresin neden olduğu fizyolojik yaprak lekeli belirtilerine benzer küçük nekrotik lekeler meydana getirdiğinden dolayı tanınmasındaki güçlük olduğu düşünülmektedir

[17, 18]. Ayrıca bu duruma fungusun izole edilmesi ve tanımlanmasındaki zorluklar da etkili olmuştur [19, 21]. Etmenin az dikkat çekmesinin bir başka nedeni ise fungusun yakın zamana kadar, yaprak fungusit uygulamaları ile etkin bir şekilde kontrol altına alınabilmekte olması olarak görülebilir. Ancak fungusun tek hedef yeri fungusitlere karşı dayanıklılık geliştirme yeteneği sonucu arpa üretim sektörü ciddi anlamda endişelenmeye başlamıştır [22].

Ramularia collo-cygni'nin tespiti için moleküler araştırmalarda görülen ilerlemeler ile patojenin epidemiyolojisi ve popülasyon biyolojisi üzerinde yapılan çalışmaların bu hastalık ile mücadelede önemli bir etkiye sahip olacağı düşünülmektedir [23, 24].

2. HASTALIK BELİRTİLERİ

Ramularia yaprak lekesi (RLS) hastalığının tipik belirtileri, dikdörtgen şekilli ve genellikle klorotik hale ile çevrili, kırmızımsı kahverengi renkte ve yaprağın her iki tarafında da görülebilen lekeler şeklindedir [25]. Bu lekeler çiçeklenme sonrası, büyüme döneminin sonlarında meydana gelmektedir [18].

Enfeksiyon genellikle genç yapraklar üzerine düşen konidial sporların çimlenmesi ile başlar. Fungus başarılı bir enfeksiyon için neme ihtiyaç duymaktadır [12]. Konukçunun penetrasyonu açık stomalar yoluyla, sporun yaprak yüzeyine tutunması ile başlayan ilk 24 saat içinde gerçekleşmektedir [19]. *Ramularia collo-cygni* bitkiyi kolonize ederken, fungus gelişimi hücreler arasında olur ve konukçu epidermal hücreleri bozulmaz [11]. Hastalık belirtileri, *Ramularia collo-cygni* sporulasyon olaylarıyla ilişkilendirilen mezofil dokusunun çökmesinden sonra ortaya çıkmaktadır [26].

Arpa bitkisi gelişiminin erken ve orta döneminde belirtiler yaprakta küçük, kahverenkli ve düzensiz, çıplak gözle görülebilen lekeler şeklinde kendini göstermektedir. Bu çok erken aşamada belirtilerin yüksek ışığın neden olduğu fizyolojik yaprak lekelerinden ayırt edilmesi oldukça zordur. Bununla birlikte, daha yüzeysel olan ve sadece yüksek ışığa maruz kalan yaprağın tek tarafında görülebilen fizyolojik yaprak lekelerinin aksine, *Ramularia* yaprak lekesi hem yaprağın üst hem de alt yüzeyinde görülebilmeleri ve kahverengi lezyonların uzunlamasına kenarlarının hale ile çevrili kalması ile ayırt edilebilmektedir. *Ramularia collo-cygni*'nin erken leke belirtisi tipik 2 mm x 0,5 mm boyutlarında dikdörtgen koyu kahverengi lezyonlardır. Lezyonların daha kısa olan tarafları daha düzensizdir. Kahverengi lezyonların ortasında kahverengi merkez vardır. Kahverengi dikdörtgen lezyonun tamamı sarı bir hale ile çevrilidir. İleri dönemde ise dikdörtgen şeklindeki lezyonlar yaprağın üst ve alt tarafında görünür, ancak yaprak hızla tüm yeşil yaprak alanını kaybeder ve başlangıçta sarıya dönen alanlar daha sonra tamamen ölür. Bu geriye doğru ölüm genellikle yaprak ucunda oluşmaya

başlar. Ölü yaprağın alt tarafında, *Ramularia collo-cygni*'nin yarı saydam sporları, yaprak üzerinde gelişmektedir. Yarı saydam sporlar, büyüteçli el merceği kullanılarak veya bazen çıplak gözle görülebilmektedir. Yetiştirme sezonu sonundaki nemli ve ıslak koşullar, ölü yapraklardaki *Ramularia* yaprak lekeleri lezyonlarının etrafında kırmızı bir renge yol açabilmektedir [27].

Arpa bitkisinde fide döneminde hastalık belirtilerinin ara sıra görülmesine rağmen, tipik belirtiler genellikle başaklanma dönemi sonrası görülmektedir. Bu nedenle *Ramularia* yaprak lekeleri hastalığı bir geç mevsim hastalığı olarak kabul edilir [12]. Bitkiler çiçeklenmeye başladığında (Zadoks büyüme aşaması: 61-69), üst yapraklarda *Ramularia* yaprak lekeleri belirtileri ortaya çıkmaya başlayabilir. Güneş ışığına maruz kalmak, belirtilerin gelişmesine yol açan önemli bir stres faktörüdür. Bu nedenle *Ramularia* yaprak lekeleri görülme sıklığı, en üst iki yaprakta daha yüksektir [27]. Çiçeklenme süreci aynı zamanda bitkinin başak ve tane gelişimi için daha fazla kaynak sağlaması için besin rezervlerini yapraklardan uzaklaştırdığı önemli bir doğal stres faktörüdür. Sınırlı gübre girdisine sahip ürünlerde, özellikle düşük nitrojenli maltlık arpa olarak yetiştirilen bitkilerde, yemlik arpa mahsullerinden daha erken *Ramularia* yaprak lekeleri belirtileri görülebilmektedir. Ayrıca erken olgunlaşan çeşitler, geç olgunlaşan çeşitlerden daha erken belirti gösterir. Patogenin hastalık belirtisinin gelişmeden önce gizli (belirti göstermeyen) bir endofitik faza sahip olduğu ve daha sonra konukçu gelişim aşamasına ve muhtemelen ışık yoğunluğuna bağlı olarak nekrotrofiye doğru kaydığı düşünülmektedir [9, 18]. Belirti ve spor gelişiminin vejetatif evreden generatif evreye geçiş sırasında daha belirgin olduğu görülmüştür [9]. Bazı durumlarda *Ramularia collo-cygni* arpada hastalık belirtisi göstermeksizin hayat döngüsünü tamamlayabilmektedir [26]. Hastalığın belirtisiz evreden, belirtili hale geçiş aşaması ise hala tam olarak anlaşılmamış olup bu durumun bitkinin gelişim aşamasına ve ışık koşullarına bağlı olabileceği bildirilmiştir [18, 26].

Ramularia yaprak lekeleri lezyonları ayrıca arpa bitkisi kılçıklarında, saplarında ve yaprak kınında da görülmektedir. Koyu kahverengi dikdörtgen lezyonlar yaprak belirtileri ile karşılaştırıldığında daha küçük olup aynı zamanda sarı bir hale ile çevrilidirler. Kılçıklar ve yaprak kını öldükten sonra lezyonlar görünür kalmaya devam etmektedir [28].

Ramularia collo-cygni'nin yaşam döngüsü için moleküler teşhise dayalı araştırmalar sonucu, patojenin bitkilerde sistemik ve asemptomatik olarak geliştiği, mevsime ve arpa çeşidine bağlı olarak görsel belirtiler olmadan bile tespit edilebileceği rapor edilmiştir [23].

3. FUNGUSUN TAKSONOMİDEKİ YERİ VE HAYAT DÖNGÜSÜ

Ramularia yaprak lekeli hastalığına neden olan patojen fungus literatürde önceleri *Ophiocladium hordei* Cavara [16], *Ovularia hordei* (Cavara) Sprague [29] ve *Ramularia hordeicola* Braun [30] olarak isimlendirilmiş ancak daha sonra fungus konidoforlarının kuğu benzeri olması nedeniyle (collum=boyun, cygnus=kuğu) *Ramularia collo-cygni* [19] olarak adlandırılmıştır.

Ramularia collo-cygni'nin sınıflandırılması geçmişte birçok tartışmaya konu olmuş olup genom çalışmaları ile Ascomycete şubesinin Dothideomycetes sınıfında, Mycosphaerellaceae familyası Capnodiales takımında yer aldığı doğrulanmıştır [31]. Fungusun eşeyli dönemi henüz rapor edilmemiştir [32]. *Zymoseptoria tritici* veya *Dothistroma septosporum* gibi yakından ilişkili diğer funguslardan farklı olarak, *R. collo-cygni*, endofitik fungusların çeşitli özelliklerini de göstermektedir [33, 34].

Crous ve arkadaşları [35], *Ramularia* anamorflu üç tür dahil 46 *Mycosphaerella* türünden ITS-1, ITS-2 ve 5.8S DNA dizisi verileri üzerinde gerçekleştirilen filogenetik analiz çalışması sonucunda, yalnızca *R. collo-cygni*'nin diğer tipik *Ramularia* türleri ile bir araya gelmediğini ve *R. collo-cygni*'nin teleomorfunun, muhtemelen bir *Mycosphaerella* türü olabileceğini bildirmişlerdir. Ardından Braun [36], arpa yaprakları üzerinde *R. collo-cygni*'nin asteromella benzeri yapılarının varlığını bildirmiştir ve bu yapıların fungusun mikrosporidial durumunu temsil edebileceğini bildirmiştir. Daha sonra Salamatı ve Reitan [9], *R. collo-cygni*'nin asteromella aşamasını fungusun *in vitro* kültürlerinden elde etmeyi başarmış ve bu gözlemler Crous ve ark. [35] ve Braun'un [36] hipotezi olan *R. collo cygni*'nin teleomorf aşamasının muhtemelen bir *Mycosphaerella* türü olduğuna dair önerileri desteklemiştir.

R. collo-cygni konidisi, çoğu bitki patojeni fungus sporları ile benzer olarak, yaprak yüzeyinde gelişimi ve çimlenmesi için neme ihtiyaç duymaktadır. Huss [37], yaprak yüzeylerindeki çığın, konidial çimlenmeyi ve daha sonraki gelişmeyi tetiklemek için yeterli olduğunu rapor etmiştir. Uygun bir konukçunun yapraklarında fungusun çimlenme ve misel büyümesi hızlıdır ve 24 saat içinde açık stoma yoluyla yaprağa giriş yapabilmektedir [19]. Sutton ve Waller [19] *Rcc*'nin ilk olarak yaprağın içine girdikten sonra hücreler arasında geliştiğini ve mezofil dokusunu kolonize eden dallı hifler oluşturduğunu öne sürse de çalışmada bu ifadeyi destekleyen hiçbir kanıt sunulmamıştır. Stabentheiner ve arkadaşları [38], tarladan doğal olarak enfekteli örneklerin mezofil tabakasında fungus hiflerinin varlığını tespit etmiştir, ancak bu hiflerin özellikle *Rcc* hifleri olduğu doğrulanmamıştır. Bu nedenle, endofitikten nekrotrofik büyümeye geçişle sonuçlanan biyolojik olaylar belirsizliğini korumaktadır. Nyman ve arkadaşları [39], bitkide genç *Rcc* hiflerinin stomaya doğru gelişmesini gözlemlemiş olsa da patojenin stoma gözeneklerinin varlığını nasıl tespit ettiği belirsizliğini korumaktadır [38]. Stoma penetrasyonunu takiben, hastalık etmeninin yaprak yüzeylerinde kolonize olan ve stomaları birbirine

bağlayan, tipik olarak enfeksiyon bölgesinin üzerine uzanan bir epifitik hif ağı kurduğu tespit edilmiştir [40].

Kontrollü koşullar altında, RLS'nin ilk belirtilerinin 7 gün sonra ortaya çıktığı rapor edilmiştir [41]. Yaprak üzerinde oluşan kahverengi ile siyahımsı kahverengi lekeler, 1-2 mm uzunluğundadır. Birbirine yakın olan yaprak lekeleri; birleşerek daha büyük koyu alanlar oluşturabilirler. Yaprak lekeleri ortaya çıktıktan sonra, genellikle yaprak ucundan ve kenar boşluklarından başlayarak klorotik ve daha sonra nekrotik alanlar oluşmaktadır [37]. Bunlar RLS'nin tipik belirtileridir ve tarla koşullarında yazlık ve kışlık arpalarda, genellikle başaklanmadan sonra ortaya çıkmaktadır. Fungus sporulasyonu sadece nekrotik dokuda meydana gelir ve konidioforlar stromalardan ortaya çıkmaktadır. Her bir konidioforun uç kısmı son derece kavisli olup apikal bölgede beş adede kadar konidi üretilmektedir [19].

Ağır şekilde enfekte olmuş bir yaprağın 50.000'e kadar konidi üretebileceği tahmin edilmektedir [37]. Arpada *Ramularia collo-cygni* için birincil inokulum kaynağı enfekteli tohumlardır [26, 42]. Diğer inokulum kaynağı enfekteli arpa ve tahıl gruplarından (yulaf, buğday, çavdar) ve yabancı otlardan salınan havadaki konidileridir. Frei ve ark. [24] kışı kışlık arpalarda geçiren *Ramularia collo-cygni*'nin yazlık arpa için enfeksiyon kaynağı olduğunu belirtmiştir. En önemli inokulum kaynaklarından biri olan tohum üzerinde etmenin, fungus görsel olarak tespit edilemese de, varlığı moleküler tanı testleri kullanılarak doğrulanabilmektedir.

Tohum ticareti ve/veya tohum hareketi ile de *Ramularia collo-cygni* popülasyonları yeni bölgelere dağılabilmekte ve bu yolla virüent izolatlar veya fungusitlere dirençli olabilen popülasyonlar da farklı bölgelere yayılabilmektedir.

Sezonun sonlarında gelişen ve muhtemelen ikincil inokulum kaynağı olarak işlev görebilen asteromella aşaması *Ramularia collo-cygni*'nin ikincil bir spor türünü tanımlamaktadır [9]. Bu yapının fungusda spermogonial evreden ziyade cinsel rekombinasyon bölgesi olabileceği öne sürülmesine rağmen işlevi tam olarak belirlenmemiştir [14, 43]. Bu yapılar ayrıca *in vitro* kültürlerden ve arpa anızından da rapor edilmiştir [43, 44]. Bu ikinci spor organının hastalık salgını üzerindeki önemi tam olarak anlaşılmasına rağmen bunlar anızdaki ikincil sporların bir sonraki yılda arpa bitkisini enfekte edebilecek potansiyel bir inokulum kaynağıdır. Ayrıca, bu yapılar patojenin eşeyli olarak çoğalması için potansiyel taşımakta olup bunun da iklim değişikliklerine ve fungusit kullanımına uyum sağlayabilecek yeni ırkların oluşumuna yol açabileceği öne sürülmektedir [27].

Asemptomatik veya görünmez faz denilen evrede ise *Ramularia* yaprak lekesi hastalığının belirgin hastalık belirtileri gözlenmez. Hastalığın bu aşamasında *Ramularia collo-cygni*, bir endofit olarak bitki içinde büyür, gelişir ve yeni yapraklara geçer. Bu belirtisiz aşama boyunca fungusun bitki

üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Simptomatik veya görünen fazda ise yapraklar değişik stresler sonucu ölmeye başladığında, yaprak içindeki fungus simptom gelişimine katkıda bulunan ve rubellinler olarak tanımlanan bitkide yaprak nekrozuna neden olup fotosentetik alanı azaltan fitotoksinleri üretmektedir [45].

Yaprak ıslaklığı, sporların dağılımında ve havadaki sporların arpa bitkisine bulaşmasında önemli bir faktördür. İlkbaharda yaprak ıslaklığının süresinin çiçeklenmeden sonra ortaya çıkan *Ramularia* yaprak lekesi belirtilerinin şiddeti ile bağlantılı olduğu ortaya konulmuştur. Bu gözlemin, *Ramularia* yaprak lekesinin potansiyel riskini tahmin etmek için bir yöntem olarak kullanılabilceği düşünülmektedir. *Ramularia* yaprak lekesi ile enfekteli yapraklardan salınan sporlar, ikincil enfeksiyonları meydana getirebilirler. *Ramularia collo-cygni* sporlarının havadaki dağılımı yaprak ıslaklığına bağlıdır ve bu yağıştan daha önemlidir. Sporlar, birkaç saatlik uzun bir yaprak ıslaklığı süresinden 24-48 saat sonra havaya dağılırlar. Bu hava ile taşınan sporlar yaprakların ikincil enfeksiyonuna yol açabilir ve stomalardan konukçuyu enfekte ederler. Arpa tohumlarının ise öncelikle havadaki sporlardan mı yoksa bitkilerin içinde gelişen fungusdan mı enfekte olduğu hala bilinmemektedir [27].

R. collo-cygni'yi geleneksel izolasyon yöntemleriyle izole etmek genellikle zordur. İzolasyonla ilgili en büyük sorun etmenin yüzey sterilizasyonu için yaygın olarak kullanılan klor ve etanole duyarlılığıdır. İzolasyonla ilgili diğer bir sorun ise *R. collo-cygni*'nin konukçusundan ayrıldıktan kısa bir süre sonra izole edilmesi gerekliliğidir. Belirtilerin erken görüldüğü evrede genç yapraklardan yapılan izolasyon, hızlı büyüyen saprofitlerin daha az saldırısına uğradığı için başarılı izolasyon şansını artıracaktır [9]. *R. collo-cygni* yapay besi ortamlarında gelişebilmektedir ancak funguslar için kullanılan çoğu agar ortamında yavaş büyümektedir. Koloni rengi, üzerinde yetiştirildiği ortama bağlı olarak değişmektedir. Koloninin rengi Vogel-Johnson Agar (VJA) ve Plate Count Agar (PCA)' da beyazımsı sarıdır (açık somon), Malt agar (MA) üzerinde gri, VJA + 10 mg/l maltoz üzerinde kırmızı, Sabouraud agar (SA) üzerinde pembe beyaz ve arpa yaprağı ekstresi agar üzerinde menekşe renginde gelişmektedir. Yapay besi ortamında gelişen kolonilerin etrafındaki kırmızımsı/mor/koyu mavi bileşenlerin, kültürler aşırı ışıkla aydınlatıldığında (pencere tarafından güneş ışığına yakın yerleştirilmiş kültürler), koloniler beslenme konusunda rekabet ettiğinde ve bir davetsiz misafire tepki olarak (örneğin, bakteri bulaşığı) üretildiği düşünülmektedir [9].

Konidioforların uzunluğu ve spor boyutu etmenin büyüme ortamına göre değişmektedir. Kültür ortamında gelişen konidioforlar genellikle arpa yaprakları üzerinde oluşan konidioforlardan daha incedir. Karanlıkta geliştirilen kültürlerde sporulasyon hemen hemen hiç yoktur ve eski kültürlerde de (4 haftadan daha eski) sporlanmaya rastlanmamaktadır. 20°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda sporlar birkaç

dakika içinde ve oda sıcaklığında (22-25°C) yaklaşık bir saatte çimlenmektedir. Hastalığın etiyolojisi hakkında önemli tartışmalar vardır. Bununla birlikte, RLS belirtileri, büyüme mevsiminin başlarında tarla koşullarında arpada görülmeye başlasa bile [46], *R. collo-cygni*, arpanın geç mevsim patojeni olarak bilinir ve tipik RLS belirtileri başağın ortaya çıkmasından sonra yaprak yüzeyinde görülmektedir [17, 47, 48]. Sap gelişmesi sırasında, *R. collo-cygni* ölü alt yapraklarda saprofit olarak yaşayabilmektedir [37]. Bununla birlikte, bitkide sistemik ve asemptomatik olarak geliştiğine dair kanıtlar da vardır [9,49] ve bu da moleküler tespit yöntemleriyle doğrulanmıştır [23, 28]. Bu koşullarda, simptom gelişimi ve fungus sporulasyonunun, bitkinin vejetatif büyümeden üreme safhasına geçişi ile tetiklendiği görülmektedir [9]. Konukçu genetik faktörleri ve çevre şartlarının *Ramularia* yaprak lekeli hastalığının ortaya çıkmasında önemli rollerinin olduğu düşünülmektedir [50-55].

Arpa dokusunda fungusun saptanması için moleküler tabanlı yöntemlerin geliştirilmesi, patojenin yaşam döngüsünün, özellikle de hastalık etiyolojisinde tohum kaynaklı enfeksiyonun öneminin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır [23, 24, 28, 42, 56]. Araştırmalar, *Rcc*'nin muhtemelen eşeyli olarak üreyebildiğini ileri sürse de [32]; yine de bu organizmanın enfeksiyon süreci ve biyolojisi ile ilgili birçok bilinmeyen vardır.

Patojenin dağılımını ve erken tespitini daha iyi anlamak için, bitki dokularında *Rcc*'nin saptanması için farklı moleküler biyoanalitik metotlar geliştirilmiştir [14, 23, 24, 28, 56, 57].

Rcc'nin geleneksel tanımlama yöntemleri, yaprak yüzeyindeki konidioforların mikroskopik tanımlanmasına dayanmaktadır. Ancak, konidi oluşumu, enfeksiyon sürecinin nispeten geç bir aşamasını temsil ettiği için doğal olarak enfekte olmuş yapraklarda taramalı elektron mikroskobu ile [38] ve floresan etiketli transgenik *Rcc* izolatları [40] kullanılarak yapılan çalışmalar, *Rcc*'nin enfeksiyon sürecine ilişkin değerli bilgiler sağlamıştır. *Ramularia collo-cygni*'nin enfeksiyon biyolojisi üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, GFP veya DsRed raportör markörlerini ifade eden iki transgenik *Rcc* izolatının tarla enfeksiyonu süreci bitkide *Rcc*'nin ilerlemesini izlemek için ışık mikroskobu ile görüntülenmiştir. Stomaların enfeksiyonu ile başlayan sürecin mezofil dokusunda simptomsuz gelişimin ardından fungusun hücreler arası kolonizasyonu ile sonuçlandığı görülmüştür. Nekrotrofi aşamasına geçiş, konukçu kloroplastlarının parçalanması ve fungusun konidiofor kümelerinin oluşumu ile ilişkili olarak bulunmuştur [26]. Özellikle GFP ve DsRed etiketli *Rcc* izolatlarının kullanımı ile bitkide canlı hücre görüntüleme tekniklerinde nemli koşullar altında yaprak yüzeyinde çimlenen konidi ile başlayarak, enfeksiyon döngüsünün derinlemesine analizi gerçekleştirilebilmiş olup bu tekniğin hastalığın biyolojisini karakterize etmek için büyük bir potansiyele sahip olduğu görülmüştür.

4. KONUKÇU SINIRI VE DAĞILIMI

Ramularia collo-cygni'nin, esas olarak bir arpa patojeni olmasına rağmen, arpanın yanı sıra, buğday, yulaf, çavdar ve mısır gibi diğer tahıl ürünlerinde de hastalık oluşturduğu rapor edilmiştir [37]. RLS belirtileri çavdarda düzenli olarak ortaya çıkarken, buğdayda sadece uygun koşullar altında gelişmiştir. Ayrıca, bazı çeşitlerde karakteristik hastalık belirtileri geliştirebilmesine rağmen, mısır bitkisinde etmenin enfeksiyonunun simptomsuz olduğu belirtilmiştir [37].

Fungus *Elymus repens*, *Hordeum murinum*, *Echinochloa crus-galli* ve *Apera spica-venti* gibi yabancı ot türlerinden de tanımlanmış olup bunlar bir sonraki yılda arpa bitkisi için potansiyel olarak önemli inokulum kaynakları olarak bilinmektedir [58]. Bununla birlikte, birincil enfeksiyon kaynağının ise enfekteli tohum olduğu düşünülmektedir [42]. Yeni Zelanda'da, *Rcc*'nin varlığı, *Agrostis* spp., *Bromus cartharticus* ve *Glyceria fluitans* gibi birkaç bitki türünden [59], İsviçre'den arpa, buğday, yulaf ve çavdarın yanı sıra *Lolium perenne* ve *Agropyron repens*'den rapor edilmiştir [20]. Ayrıca Peraldi ve ark. [55], fungusun model bitki *Brachypodium distachyon*'u da enfekte edebileceği göstermişlerdir. *R. collo-cygni* aynı zamanda farklı çim türleri tohumlarını da enfekte edebilmektedir. Ancak bu alternatif konukçuların RLS epidemiyolojisinde oynadığı rol henüz belirsizliğini korumaktadır [14, 60].

Avusturya, İngiltere, İrlanda, İsviçre, Danimarka, Fransa, Almanya, İspanya, İskoçya, Çek Cumhuriyeti dahil olmak üzere Avrupa ülkelerinden ve ayrıca Kuzey ve Güney Amerika ülkelerinden (Arjantin, Şili, Kolombiya, Meksika), Yeni Zelanda, Estonya, İzlanda, Polonya, Rusya ve Slovakya'dan hastalık rapor edilmiştir [14, 18, 61, 62, 63]. Norveç veya Şili gibi birkaç ülke, geçen yüzyılın başlarında *R. collo-cygni*'yi tespit etmesine rağmen, RLS salgınlarının çoğu son 20 yılda rapor edilmiştir, bu da kısmen RLS belirtilerini tanımlamanın zorluğu ve hastalığın doğru bir şekilde teşhis edilmemesi ile açıklanabilmektedir [60]. Bu duruma başka bir örnek ise İngiltere'de 19. yüzyılın ortalarından kalma arpa doku örneklerinde *R. collo-cygni* DNA'sına rastlanmasıdır. Ancak hastalığın ilk resmi tespiti İngiltere'den 1998'de rapor edilmiştir. O güne kadar olan hastalık belirtilerinin yanlış teşhis ile fark edilmediği düşünülmektedir [64]. Pek çok durumda, RLS varlığının teşhisi, karakteristik fungus yapılarının ve hastalık belirtilerinin doğru tanımlanmasına dayansa da [44, 65, 66], moleküler tanı araçlarının kullanımı, *R. collo-cygni*'nin tohum örneklerinde bulunduğunu ve bazen ciddi salgınlara neden olmadan konukçuda yayıldığını göstermiştir [10, 67]. Günümüzde kullanılan moleküler tanı teknikleri ile de daha fazla ülkeden RLS hastalığının rapor edileceği düşünülmektedir [60].

Dünyanın dört bir yanından toplanan tohum örneklerinde moleküler bulgulardan elde edilen kanıtlar, fungusun, hastalık düzeylerinin düşük olduğu yerlerde bile, dünya çapında arpa yetiştirme bölgelerinde çok yaygın olduğunu göstermektedir. Bu hastalığın küresel yayılmasını ve ortaya çıkmasını

daha iyi anlamak için tohum kaynaklı uzun mesafeli dağılımın önemi, açık bir soru olmaya devam etmektedir [14].

5. EPİDEMİYOLOJİSİ

Farklı araştırmalarda arpa tohumlarından yapılan örneklemelerde *R. collo-cygni* DNA'sına rastlanmıştır. Fungusun tohum kaynaklı taşınabilmesi hastalığın epidemiyolojisinde oldukça önemlidir [14]. *R. collo-cygni*'nin arpa tohumlarında lemma katmanında mevcut olduğu ve perikarp ve embriyoda daha düşük miktarda olduğu rapor edilmiştir [57]. Fungal yaşam döngüsünde tohum kaynaklı bir aşamanın doğrulanması *R. collo-cygni*'nin biyolojisinin ve hastalığın bir alanda ve küresel ölçekte yayılmasının daha iyi anlaşılmasına yol açmıştır [23, 28]. Fungus, konukçu içerisinde asemptomatik olarak gelişirken, tohumlardan fideye (vertikal taşınma) geçebilmektedir [42]. Almanya'da yapılan bir çalışmada, ciddi şekilde enfekte olmuş bir arpa tarlasından hasat edilen tohumlar test edilmiş ve yüksek oranda asemptomatik enfeksiyon bulunmuştur. Tohumlar, harici inokulum olmadan kontrollü koşullarda yetiştirildiğinde yapraklarında da fungus tespit edilmiştir [14]. *Ramularia* yaprak lekeli belirtileri, su basması gibi belirli koşullarda büyüme mevsiminin başlarında ölmekte olan yapraklarda görülebilmektedir [11], ancak RLS belirtileri genellikle çiçeklenme sonrası ortaya çıkmaktadır [18]. Büyüme mevsiminin sonlarında RLS belirtileri, sap, kılçık ve taneler dahil olmak üzere bitkinin tüm kısımlarında gelişebilmektedir [21]. Anız ve çürümüş doku üzerinde ikincil spor yapıları gözlenmiştir, ancak bunların fideler için ikincil inokulum kaynağı olarak rolü hala net değildir [9]. *R. collo-cygni*'nin yaşam döngüsü son 15 yılda daha iyi anlaşılmıştır, ancak fungusun yaşam döngüsündeki farklı evrelerin hastalık epidemiyolojisi üzerindeki etkisi hala tartışılmaktadır. Tohum kaynaklı aşama, fungusun küresel ölçekte hareketini açıklamaya yardımcı olduysa da fungusun konukçular arasındaki ve bitki içerisindeki hareketi hala belirsizliğini korumaktadır [27].

Estonya'da iki kışlık arpa çeşidinde *Rcc*'nin doğal enfeksiyonunu izlemek ve moleküler bazlı testle fungus enfeksiyonunu takip etmek için yapılan bir çalışmada erken büyüme aşamalarında hastalık belirtileri ortaya çıkmadan önce arpa yapraklarında fungal patojenin varlığı tespit edilebilmiştir. Test edilen iki çeşidin tarla koşullarında *Rcc* enfeksiyonuna tepkisi farklı bulunmuş olup bu da *Rcc*'nin gelişimi ve yayılmasında genotip-çevre etkileşiminin olduğunu göstermiştir [68].

R. collo-cygni'nin biyolojisindeki havayla taşınan sporların önemi hala tartışmalı bir konu olsa da araştırmacılar fungusun spor hareketi ile hastalık salgınları arasında yakın bir ilişki bulmuşlardır. Bu bulgular, kışlık arpalardan meydana gelen spor yayılımının yazlık arpalarda hastalık seviyelerine katkıda bulunduğunu göstermiştir [69, 70]. Bununla birlikte, *R. collo-cygni* salgınlarının tohum kaynaklı enfeksiyondan geliştiğini ve sezon sonunda spor hareketinin hastalık salgınlarını etkilemediğini ve

enfekteli tohumdan gelişen bitki dokusu içerisine hareketini gösteren bir dizi çalışma mevcuttur [39, 42, 71].

Salamati ve Reitan [9], *R. collo-cygni* için asteromella aşaması olarak tanımlanan ikincil bir spor tipinin gelişimini göstermiştir. Bu yapılar ayrıca *in vitro* kültürlerden ve arpa anızından da bildirilmiştir [43, 44]. Bu yapının fungusun cinsel rekombinasyon bölgesi olabileceği öne sürülmesine rağmen işlevi tam olarak belirlenmemiştir [43]. Cinsel evresinin belirlenmesinin, bu organizmanın sınıflandırılmasına büyük ölçüde yardımcı olacağı düşünülmektedir.

R. collo-cygni, buğday ve yulaf gibi başlıca mahsullerin yanı sıra birçok yabancı ot türü de dahil olmak üzere diğer birçok bitki türünü de enfekte edebilir. Mäe ve ark. [68], yabancı otların inokulum kaynağı olabileceğini öne sürmüştür, ancak bu alternatif konukçuların RLS epidemiyolojisindeki rolü tam olarak belirlenmemiştir.

Çevre koşullarındaki değişikliklerin de RLS epidemiyolojisinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Formayer ve ark. [72], yüksek nem seviyesinin RLS salgınları için hayati önem taşıdığını, ışık radyasyonu yoğunluğunun ise çok az öneme sahip olduğunu bildirmiştir. Makepeace ve ark. [53], ışık yoğunluğunun RLS şiddetine aracılık etmede önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Makepeace [73] tarafından yapılan çalışma, inokulumdan önce ışık yoğunluğunun RLS üzerinde önemli bir etki yaptığını göstermiştir. İnokulumdan önce düşük ışık koşulları altında yetiştirilen bitkiler, yüksek ışık altında yetiştirilenlere göre daha az RLS belirtileri sergilemiştir. Bununla birlikte, bitkiler inokule edildikten sonra artan ışık yoğunluğu daha az RLS belirtilerine yol açmış, bu da *R. collo-cygni* tarafından üretilen toksinler için ışığın gerekli olmasına rağmen, aşırı yüksek ışık yoğunluklarının olumsuz bir etki yapabileceğini düşündürmüştür [73].

Bunun yanı sıra, gölge altında yetiştirilen bitkilerin, doğal ışıkta yetiştirilen bitkilerden daha az *Ramularia* yaprak lekeli belirtileri ürettiği rapor edilmiştir. Ancak bitkide ışık faktörünün kısıtlanması hem mahsul verimini hem de tahıl kalitesini düşürecektir [27].

Bazı araştırmacılar çevre koşullarının RLS gelişimi üzerindeki önemini vurgulamışlardır. Havis ve ark. [74], İskoçya'da beş farklı yerde ekilen 16 yazlık arpa çeşidindeki belirti farklılıklarının farklı çevresel koşullardan kaynaklandığını öne sürmüştür. İnokulum öncesi yüksek ışık seviyelerine maruz kalma, kontrollü koşullar altında farklı arpa çeşitlerinde ve *Brachypodium distachyon*'da RLS belirtilerini artırmış olup bu durum çevresel koşullar ile hastalık ekspresyonu arasındaki ilişkiyi göstermektedir [53, 55]. Marik ve ark. [75], Çek Cumhuriyeti'nde yaptıkları çalışmada, başaklanma evresindeki kuvvetli yağışların daha tipik belirti oluşturduğunu ve çiçeklenme sonrası yüksek sıcaklıklar ve düşük yağış rejiminin hastalık şiddetini azattığını rapor etmişlerdir. Havis ve ark. [25], İngiltere'de

büyüme mevsimi boyunca yüksek yağış ve sıcaklıkların yazlık arpalarda RLS seviyesini arttırdığını vurgulamışlardır. McGrann ve Brown [76], su birikintilerinin RLS şiddetinin artmasına neden olduğunu belirtmiştir. Fungus yaşam döngüsünde endofitik aşamaya sahip olduğundan çevre ile hastalık ifadesi arasındaki ilişki yavaş yavaş aydınlatılmakta ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır [77].

R. collo-cygni için tohum kaynaklı bir aşamanın varlığı, arpa ekimi üzerinde ciddi etkilere sahiptir, çünkü fungus, belirti göstermeden ekimi yapılacak tohumların çoğunda mevcut olabilir [23]. Bununla birlikte, tohum kaynaklı bulaşma arpa bitkileri için ne kadar önemli olursa olsun, yulaf, buğday, çavdar ve ayrık otu (*Elymus repens*) gibi diğer otsu konukçular da dahil olmak üzere bu patojen için bir dizi başka olası inokulum kaynağı olabileceğini unutmamak gerekir [9, 37].

RLS belirtilerinin abiyotik stresten kaynaklanan fizyolojik yaprak lekeleri [78] ve *Pyrenophora teres* gibi patojenlerin neden olduğu belirtilerle kolayca karıştırılabileceği belirtilmiştir [17]. Bazı araştırmacıların İsviçre'de tarla koşullarında yaptıkları deneylerde *R. collo-cygni*'nin hiçbir zaman nekrotik yaprak lekelenmesinin tek nedeni olmadığı gözlemlenmiştir [24]. Bu çalışmada, çoğu nekrotik yaprak lekelenmesi fizyolojik yaprak lekelerine atfedilmiştir. Bu tür raporlar, nekrotik yaprak lekesi belirtileri gösteren bitki materyalindeki fungusu tespit etmek için güvenilir araçlara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

RLS salgınlarının tahmini ve kontrolü oldukça sorunludur. Bitkilerde, vejetatif büyüme sırasında yaşanan yapraklarda veya strese giren bitkilerde belirtiler ve spor üretimi görülebilmektedir [10, 42, 79, 80] ancak belirtilerin büyük çoğunluğu çiçeklenme sonrası ortaya çıkmaktadır (Zadoks büyüme aşaması (ZGS) 70) [81]. Bu evre hastalığın tanımlanması ve RLS kontrolünde fungusit uygulaması için çok geçtir. İskoçya'daki bir bölgeden alınan meteorolojik veriler ışığında spor bantlarından alınan *Ramularia collo-cygni* DNA seviyelerinin qPCR analizinden elde edilen sonuçlar, temmuz ayında uzun süreli yaprak yüzeyi ıslaklığı seviyeleri ile spor dağılımı arasında önemli bir korelasyon olduğunu vurgulamıştır [74]. Ortam sıcaklığı 5°C'den 15°C'ye yükseldiğinde spor salımında bir artış gözlemlenmiş, bu da sıcaklığın önemli bir faktör olduğunu göstermiştir [82]. Sıcaklığın yanı sıra yüksek nem seviyesinin RLS salgınları için çok önemli olduğu, radyasyon yoğunluğunun ise önemsiz olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca çiçeklenme sonrası daha yüksek sıcaklıkların ve daha düşük yağışın hastalık seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir [72].

Salamati ve Reitan [9], Norveç'te yazlık arpa genotiplerinde haziran ayı başında (ZGS 30/31), RLS hastalık seviyeleri ile bağıl nem arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Kışlık ve yazlık arpa genotiplerinde ZGS 30/31'deki yaprak yüzey ıslaklığı ile RLS şiddeti arasında benzer bir

ilişki İskoçya'da da gözlenmiştir ve bu, RLS epidemiyolojisinde bu büyüme aşamasında yaprak yüzeyi ıslaklığının önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir [83].

6. KONUKÇU-PATOJEN ETKİLEŞİMİ

Arpa bitkisinde *R. collo-cygni* enfeksiyonu ile ilişkili verim kayıpları önemlidir [84, 85]. Harvey [46], hastalık şiddeti ile tane verimi arasındaki ilişkinin doğrusal olmadığını, düşük enfeksiyon seviyelerinin de tane verimi üzerinde oldukça olumsuz etki yapabildiğini belirtmiştir. Enfeksiyonun verim üzerindeki bu orantısız etkisi, hastalık ile mücadelenin önemini artırmaktadır. Hem yazlık hem de kışlık bazı arpa çeşitlerinde *R. collo-cygni*'ye orta derecede dayanıklı arpa genotiplerinin bulunmasına rağmen, çoğu arpa genotipinin patojene duyarlı olduğu rapor edilmiştir [86].

R. collo-cygni'nin asemptomatik gelişim aşamasında konukçunun hücre içi boşlukları fungus tarafından kolonize edilmektedir. Bu gelişim aşamasında, *R. collo-cygni* enerjisini, şeker metabolizmasında yer alan fungal genlerin ekspresyonundaki artışla, apoplastik ortamda bulunan besin maddelerinden almaktadır. Ayrıca asemptomatik faz sırasında, konukçu bitkide odunlaşma ve hücre duvarı takviyesinde yer alan genlerin artan ekspresyonu ve fotosentezle ilgili genlerin ekspresyonunda düşüş regülasyonu rapor edilmiştir. Ancak enfekteli arpa bitkileri ve enfekte olmayanlar arasında fizyolojik düzeyde fotosentez verimliliğinde farklılık gözlenmemiştir [87].

Fungus, konukçu tarafından tanınmasını önlemek için lizin motifi (LysM) içeren efektörler de dahil olmak üzere farklı efektörler salgılayabilmektedir [87]. LysM içeren efektörler, konukçu reseptörleri tarafından fungus kitininin tanınmasını önleyen, patojenle ilişkili moleküler model (PAMP) olarak bilinen, konukçudaki PAMP ile tetiklenen bağışıklık (PTI) mekanizması üzerinde etkili olmaktadır [88]. LysM alanlarını içeren proteinler, buğday yaprak lekesi etmeni *Z. tritici* ve domates yaprak küfü hastalığı etmeni *Cladosporium fulvum* dahil olmak üzere *R. collo-cygni* ile yakından ilişkili birkaç fungus türünde de tanımlanmıştır [89, 90].

RLS hastalığı belirtilerinin görünümü, fungusun yaşam biçimindeki endofitikten nekrotrofiye geçişi yansıtmaktadır. Yaşam döngüsündeki değişikliğin nedeni belirsizliğini korumaktadır. Bu geçiş, ortam koşullardaki ani değişiklikler, yüksek ışık yoğunluğu, su veya çiçeklenme dönemindeki streslerden etkilenmektedir [53, 69, 76].

Antioksidan sistemin bozulması gibi çiçeklenme sırasında bitkilerde meydana gelen değişikliklerin, *R. collo-cygni*'nin nekrotrofik büyümesini tetikleyen bir sinyal görevi gördüğü düşünülmektedir [69]. McGrann ve ark. [50] tarafından konukçu genotipindeki semptom gelişiminde

Mildew Locus O (*Mlo*) mutasyonunun rolünün RLS şiddetine aracılık ettiği vurgulanmıştır. *Mlo* mutasyonunu taşıyan konukçular küllemeye karşı tam direnç gösterirken, *R. collo-cygni* dahil diğer patojenlere karşı duyarlılık göstermektedirler [50, 91]. Arpa ıslah programları, Avrupa'da kullanılan arpa çeşitlerinin %70'inden fazlasının *Mlo* mutasyonu taşımasından dolayı külleme kontrolü için *Mlo* aracılı dirence büyük ölçüde güvenmektedirler. Görülen RLS epidemisi, küllemeye dayanıklı *mlo* geni taşıyan çeşitlerin yoğun kullanımını takiben ortaya çıkmıştır [92].

RLS hastalığına karşı henüz arpa genotipleri arasında önemli bir dayanıklılık kaynağı tespit edilmemiştir. Hassas bir arpa çeşidinin virulent bir *R. collo-cygni* izolatu tarafından enfeksiyonu ile konukçu-patojen transkriptom çalışmasının geniş entegre genom analizi sonucu *R. collo-cygni* genlerinin büyük oranda bitkide eksprese olduğu ve bunların çoğunun da enfeksiyon aşamasıyla yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Bitki yüzeyinden apoplastik kolonizasyona geçiş, hücre duvarını bozan genlerin aşağı regülasyonu, besin alımının yukarı regülasyonu ve oksidatif strese dayanıklılık ile ilişkili bulunmuştur. İkincil metabolitlerin üretiminin fungus içinde dinamik olarak düzenlendiği, *R. collo-cygni*'nin enfeksiyon aşamasına göre çok çeşitli toksik bileşikler ürettiği gösterilmiştir. Arpa bitkisinde erken aşamada, asemptomatik enfeksiyon ve kolonizasyon evrelerinde *R. collo-cygni*'ye karşı bir savunma yanıtı tespit edilmiştir. Etilen sinyalinin, jasmonik asit sinyalinin ve fenilpropanoid ve flavonoid yollarının aktivasyonunun, nekrotrofik patojenlere bir yanıtın göstergesi olarak yüksek düzeyde indüklendiği bulunmuştur. Hastalık gelişiminin yaprak yaşlanmasının başlangıcında bulunanlara benzer gen ekspresyon yapılarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Hem arpa hem de *R. collo-cygni* transkript profillerini birleştiren bu analizler, her iki organizmadaki karmaşık transkripsiyon programlarının aktivasyonunu göstermiştir [87]. Bilinen birçok Dothideomycetes patojeni gibi, *Rcc* toksik ikincil metabolitlere sahiptir [93]. Belirti oluşumundan sorumlu mekanizma hala belirsiz olsa da uzun süredir konukçudaki toksik ikincil metabolitlerin fungus tarafından salınmasının bir sonucu olduğu varsayılmıştır. Bu hipotez, enfekteli arpa yapraklarındaki rubellin toksinlerinin keşfedilmesiyle güçlenmiştir [94]. Rubellinler, ışığa ve konsantrasyona bağlı bir şekilde hücre ölümünü uyarın, konukçuya özgü olmayan toksinlerdir [45]. Toksinin tam etki şekli belirsizliğini korumaktadır, ancak *in vitro* bir çalışma ile hücresel hasar ve hastalık belirtilerinin yaygın bir nedeni olarak, ışıkla aktive edilen rubellinler tarafından reaktif oksijen türlerinin (ROS=reactive oxygen species) üretiminin olduğu rapor edilmiştir [45]. Ayrıca, *R. collo-cygni* tarafından enfekteli yapraklarda ROS hidrojen peroksit (H₂O₂) tespit edilmiş olup bu da RLS simptom gelişimi ile konukçudaki rubellinlerin serbest bırakılması arasındaki bağlantıyı desteklemektedir [74].

Rubellin biyosentezinden sorumlu olduğu varsayılan çekirdek genin ekspresyonunun simptom gelişiminden önce en yüksek seviyede olduğu, belirtiler ortaya çıktığında ise zamanla azaldığı rapor

edilmiştir [95]. Ancak, RLS simptomlarının gelişimi ile rubellin salınımı ve konukçudaki etki arasında nedensel bir bağlantı henüz bulunamamıştır. Rubellin biyosentezi yolundaki spesifik genleri hedeflemek için bir yöntem geliştirmek, bu metabolitin *R. collo-cygni* biyolojisindeki rolünü değerlendirmek için gereklidir.

R. collo-cygni'nin genomunda kodlanan birkaç ikincil metabolit biyosentetik kümesi dışında, bugüne kadar başka hiçbir bileşik tanımlanmamıştır. Bununla birlikte, *R. collo-cygni*, *Pyrenophora teres* gibi diğer arpa patojenleri ile rekabet halinde *in vitro* ortamında yetiştirildiğinde ise özellikle belirgin olan pembe eksüdatların gözlemlenmesi, fungusun büyümesinde ve/veya konukçu kolonizasyonunda farklı roller oynayabilecek diğer ikincil metabolitlerin üretilebileceğini göstermiştir [95]. Bu çalışmada, *R. collo-cygni*'nin pancar yapraklarında kloroza neden olduğu bilinen *Phoma betae* tarafından üretilen, fitotoksin ailesi olan betaenonlar da dahil olmak üzere, diğer ikincil metabolitlerin biyosentezinde yer alan birkaç gen kümesini içerdiği rapor edilmiş ve metabolitlerin simptom gelişiminde etkili olabileceği bildirilmiştir [96]. Diğer ikincil metabolitlerin ve bunların *R. collo-cygni*'nin biyolojisindeki ilgili rollerinin tanımlanmasının *R. collo-cygni* ve konukçu arasındaki etkileşimleri daha iyi anlamaya yardımcı olacağı düşünülmektedir [60].

Makepeace [73], kontrollü koşullar altında fide döneminin yetişkin bitki dönemine göre *R. collo-cygni*'ye daha dayanıklı olduğunu bulmuştur. Bu veriler, fide ve yetişkin bitki dönemlerinde *R. collo-cygni*'ye dayanıklılıkta rol oynayan farklı genler olduğunu veya bazı dayanıklılık genlerinin yalnızca belli koşullar altında ifade edildiğini göstermektedir [73]. Tarla koşullarında gerçekleştirilen tarama testlerinde [86, 97] *R. collo-cygni*'ye karşı olası dayanıklılık kaynaklarının tespiti, dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi için iyi işaretler olsa da bu sürecin başlangıç aşamasında olduğu patojen ile mücadelenin halen fungusit uygulamaları ile sağlanabildiği bildirilmiştir [98].

7. TOKSİN ÜRETİMİ

Sutton ve Waller [19], *Ramularia collo-cygni* üzerine yaptıkları çalışmalarda, fungus hiflerinin yakınındaki mezofil hücrelerinin renk değiştirme reaksiyonunun bir toksin üretiminden kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir. Yapay besi ortamı üzerinde gelişen *R. collo-cygni* miselyumu renklidir ve renk, yetiştirildiği ortama bağlı olarak değişmektedir [9, 19]. Miselyumun mor renginden dolayı *R. collo-cygni*'nin birkaç *Cercospora* türü tarafından üretilen cercosporine benzer fotoaktif polisiklik aromatik toksinler üretebileceği düşünülmektedir [45].

R. collo-cygni'nin rubellinler adı verilen metabolit grubu (rubellin A, B, C ve D) ürettiği bilinmektedir. Rubellin D, tipik *Ramularia* yaprak lekesi belirtilerinin oluşumuyla ve yaprak ölümüyle

yakından ilişkilidir. Fungus tarafından rubellin D oluşumunun genel sonucu, yaygın ve erken yaprak ölümüdür. Alt yapraklarda üst yapraklara göre daha fazla fungus sporu bulunmasına rağmen, belirtiler genellikle üst yapraklarda görülmektedir. Bu, fungus tarafından üretilen rubellin D'nin reaktif oksijen türlerinin üretimini tetiklemek için ışıkla etkinleştirilmesi nedeniyle oluşmaktadır. Bir model çalışmada, rubellin D arpa yapraklarına uygulandığında, ışığa ve konsantrasyona bağlı nekroza neden olduğu, ışığa bağlı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini tetikleyerek fotodinamik aktivite sergilediği ve a-linolenik asidin peroksidasyonuna yol açtığı bildirilmiştir [45]. Ayrıca yaprak klorozu ve nekrozuna yol açan yağ asidi peroksidasyonunu tetiklediği gösterilmiştir [99], ancak arpada *R. collo-cygni*'nin hastalandırmadaki/patojenisitedeki spesifik rolü bilinmemektedir. Bu çalışmalar rubellin D'ye ek olarak, *R. collo-cygni*'nin rubellin A, B, C ve E'yi de üretebileceğini göstermiştir [94, 99, 100]. A-linolenik asidin peroksidasyonunu uyarma yeteneği açısından rubellin A en büyük aktiviteyi sergilerken, rubellin E etkisiz bulunmuştur [100]. Bitkide çözünmeyen rubellin B'nin üretilmesi ve daha sonra bitkide daha fazla çözünürlüğe sahip olan daha polar rubellin D'ye dönüştürülmesi muhtemeldir [99]. Enfekteli bitki dokusundaki rubellinin çoğunun rubellin B olduğu tahmin edilmektedir [94].

Heiser ve ark. [45], *R. collo-cygni*'nin Czapek Dox yapay besi ortamında fungusun çeşitli renk bileşenleri ürettiğini bulmuşlardır. Bu renk bileşenlerinin bir grup antrakinin metabolitine atfedildiğini ve esas olarak rubellin B ve D'den oluştuğunu rapor etmişlerdir. Heiser ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada [99], *R. collo-cygni*'nin fotodinamik olarak aktif toksinler (rubellinler) ürettiği ve doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu ve pigmentlerin kooksidasyonunu indüklediği sonucuna varılmıştır. Miethbauer ve ark. [94], genç kültürlerdeki turuncu rengin ise rubellin B tarafından üretildiğini öne sürmüştür.

Rubellinlerin, *R. collo-cygni* tarafından konukçu doku enfeksiyonuna dahil olma olasılığı, Miethbauer ve ark. [94], tarafından kabul edilmemiş ve konukçunun spesifik olmayan toksinlere ev sahipliği yaptıkları düşünülmüştür. Heiser ve ark. [99] bunların patojenisite faktörleri olarak düşünülebileceklerini öne sürmüşlerdir. Fungus tarafından rubellin üretiminin konukçuda oksidatif strese neden olduğu ve bunun da yaprak lekelerinin oluşumunda rol oynadığı öne sürülmektedir. Fungus daha sonra konukçudaki nekrotik dokuyu kolonize ederken, rubellinlerin sürekli üretimi yaprak nekrozunu hızlandırmaktadır. Yeşil yaprak alanının kaybı, düşük fotosentez oranları ile birleştiğinde, muhtemelen tarla koşullarında gözlenen erken olgunlaşmaya neden olmaktadır. Ayrıca Heiser ve ark. [99], rubellin D'nin sadece arpada değil bütün yapraklarında da belirtilere neden olan ve konukçuya özgü olmayan bir fitotoksin olduğunu kanıtlamışlardır.

8. FUNGUSUN POPÜLASYON GENETİĞİ

Ramularia collo-cygni'nin genetik çeşitliliği ve popülasyon genetiği hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Patojenin ilk taslak genomu 2016'da yayınlanmış ve düşük sayıda hücre duvarını parçalayan enzimler ve büyük miktarda ikincil metabolit grupları rapor edilmiştir. Bu bulgular kısmen *R. collo-cygni*'nin hayat döngüsü ile açıklanabilmektedir [31].

Kuzey [101] ve Orta [102] Avrupa'dan *R. collo-cygni* izolatlarının amplifiye edilmiş parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda fungus popülasyonlarında genetik çeşitlilik bulunmuştur. Almanya, İsviçre, Çek Cumhuriyeti ve Slovak Cumhuriyeti'nden elde edilen izolatların analizi ile de bu bulgular desteklenmiştir [102]. Basit sekans tekrar markörleri (SSRs) kullanarak *R. collo-cygni* popülasyonlarının genetik yapısının analizinde genetik varyasyonun olduğu, büyüme mevsimi boyunca eşeyli üreme olasılığının yüksek olduğu ve üretim alanları boyunca geniş spor dağılımı potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir [103]. Fungusun eşeyli döneminin ve çiftleşme tipi sisteminin doğrulanmasının popülasyon dinamikleri hakkında daha fazla bilgi sağlayacağı düşünülmektedir.

R. collo-cygni izolatlarındaki genetik çeşitliliği daha detaylı ele almak için dört *R. collo-cygni* korunmuş geninin (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, β -tubulin, E2 ubiquitin- konjugasyon proteini ve bir thioesterase ailesi proteini) sekans analizinin kullanıldığı çalışmada, sekanslar, coğrafik olarak farklı (İskoçya (yedi izolat), Almanya (beş izolat), Danimarka (iki izolat), Rusya (bir izolat) ve Yeni Zelanda'dan (bir izolat) *R. collo-cygni* izolatlarının yanı sıra yulaf, *Triticum* ve buğday da dahil olmak üzere arpa dışındaki konukçulardan gelen izolatlardan amplifiye edilmiştir ve fungusun genetik çeşitliliğe sahip olduğu ortaya konmuştur [14].

Coğrafik olarak uzak iki popülasyonun genetik yapısını incelemek için Çek Cumhuriyeti (örnek sayısı = 30) ve İngiltere'den (örnek sayısı= 60) elde edilen örnekler 10 adet polimorfik microsatellite (SSR) markörleri ile test edilmiş ve her iki popülasyonda da multilokus genotipik çeşitlilik çok yüksek olarak bulunmuştur. Genetik varyasyonun yüksek oluşu da cinsel üremenin *Rcc*'nin yaşam döngüsünün önemli bir bileşeni olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca çalışmadan elde edilen sonuçlar, *Rcc*'nin fungusitlere karşı direnç geliştirmek ve konukçu direnç genlerini kırmak için yüksek bir evrimsel potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Araştırmacılar tarafından sadece fungusit uygulamalarına dayanmayan entegre hastalık yönetim sisteminin geliştirilmesi tavsiye edilmiştir [87].

Birden çok coğrafik konumdan ve çeşitli konukçulardan 19 *R. collo-cygni* izolatının genomlarının sekanslandığı bir çalışmada nükleotid polimorfizm analizleri, *R. collo-cygni* izolatlarında

çok az coğrafik veya konukçuya özgü farklılaşma olduğunu ortaya koymuş olup dünya çapında genetik çeşitlilik rapor edilmiştir. Rekombinasyon sinyallerini tespit etmek için kullanılan iki farklı yöntemde dünya genelinde eşeyli üremenin *R. collo-cygni* popülasyonunda gerçekleştiğini veya gerçekleşebileceğini gösteren bulgular elde edilmiştir. Geçmiş popülasyonların veri rekombinasyonları analizinde, arpanın evcilleştirilmesi sırasında *R. collo-cygni*'nin etkili popülasyon büyüklüğünün azaldığı ve ardından tarımın yaygınlaşmasıyla popülasyonunun büyüdüğü belirlenmiştir [104].

Bu araştırmalarla ortaya konan *R. collo-cygni*'deki yüksek seviyedeki genotipik çeşitlilik, fungus popülasyonları içinde cinsel rekombinasyona işaret edebilmektedir [101], ancak klonal soylar da rapor edildiğinden hem eşeysiz hem de eşeyli üremeyi içeren karma bir üreme yöntemi muhtemeldir [102]. Bu nedenle, *R. collo-cygni*'nin yüksek bir evrim potansiyeline sahip olduğu ve farklı kontrol önlemlerine hızlı bir şekilde uyum sağlayabileceği düşünülmektedir.

9. MÜCADELESİ

Ramularia yaprak lekeli hastalığının arpa bitkisinde mücadelesi genellikle fungusit uygulamaları ile sağlanmaktadır [18, 79, 105]. Quinone harici inhibitörler (QoI'ler), demethylation inhibitörleri (DMI'lar) ve succinate dehydrogenase inhibitörleri (SDHI'ler), farklı tahıl patojenlerini kontrol etmek için sıklıkla kullanılan üç ana fungusit sınıfını temsil etmektedir. Strobilurin bazlı fungusitler (quinone harici inhibitörler [QoI]) başlangıçta RLS kontrolü için en iyi kimyasal çözümlerden biri olarak düşünülse de hızla gelişen fungusite duyarlılık kaybı birçok ülkeye yayılmıştır. QoI'ye karşı direncin, buğday patojeni *Mycosphaerella graminicola*'da da mevcut olduğu rapor edilmiştir [106]. Fountaine ve Fraaije [64], İngiltere'de RLS kontrolü için kullanılan QoI fungusitlerinin etkinliğindeki hızlı düşüşün *R. collo-cygni* popülasyonlarında yaygın olan sitokrom b genindeki G143 nokta mutasyonunun bir sonucu olduğunu bulmuştur. Ayrıca, 2007'de İskoçya ve Danimarka'dan toplanan izolatların DNA'sında da mutasyon saptanmıştır. Matusinsky ve ark. [107] tarafından 2009 yılında Çek Cumhuriyeti'nde 12 lokasyondan 302 *R. collo-cygni* izolatu toplanmış ve izolatların %47'sinde bu mutasyon tespit edilmiştir. G143a mutasyonunun sıklığı, arpanın yaprak hastalıklarına karşı strobilurin fungusitlerinin uygulama sıklığına bağlıdır. Strobilurin kullanımının daha dikkatli bir şekilde düzenlendiği Norveç'te bile izolatlar arasında yüzde elliye yakın mutasyon bulunmuştur. Bunun yanı sıra *R. collo-cygni* popülasyonunda 2014 yılından bu yana artan frekanslarla SDHI'lerin hedef genlerinde çeşitli mutasyonlar tespit edilmiştir (B-H266Y / R, B-T267I, B-I268V, C-N87S, C-H146R, C-H153R ve diğerleri) [108]. Arjantin ve Uruguay'daki RLS kontrol programlarında ise hala strobilurinler kullanılmaya devam edilmektedir. Nitekim, Uruguay'daki arazi denemeleri, azoxystrobin'in chlorothalonil ile kombinasyon halinde

kullanımının (chlorothalonil ile karşılaştırıldığında) RLS'nin kontrolünü arttırdığını göstermiştir [109]. RLS'nin kimyasal kontrolü, farklı etki yerine sahip ürünlerin kullanımına dayanmaktadır [110].

Farklı araştırmalarda RLS kontrolünde sentetik fungusitlerin potansiyeli görülmüştür [111]. Ancak 2017 yılında, patojen popülasyonunun sterol biyosentezinde iki ana fungusit sınıfına (succinate dehydrogenase inhibitörlerine ve demethylation inhibitörlerine) olan duyarlılığını etkileyen bir değişim gözlenmiştir. Günümüzde bu kimyasalların artık İngiltere ve Almanya'da fungusa karşı tamamen etkisiz olduğu kabul edilmektedir. İsviçre'de çok bölgeyi hedefleyen chlorothalonil, genellikle bir SDHI veya demethylation inhibitörü ile karışımı halinde RLS tedavilerinin bel kemiği olarak kullanılmaktadır. Çoklu hedef yerine sahip chlorothalonil farklı ülkelerde etkili olmaya ve kullanılmaya devam etmiştir ancak kurbağalar ve balıklar için yüksek riskli grupta olduğundan dolayı 20 Mayıs 2020'den itibaren Avrupa'da kullanımı kaldırılmıştır (Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu, 2018). Arpa yetiştiricileri açısından RLS kontrolünde fungusitlere karşı direnç geliştirme ve fungusun uyum sağlama kabiliyeti nedeniyle, herhangi bir yeni fungusit grubunun kendi başına uzun vadeli bir çözüm sağlamanın olası olmadığı düşünülmektedir [60].

Fungisitın uygulanma zamanı, fungusitin etkinliğinde önemli rol oynamaktadır. Uruguay'da yapılan denemelerde, arpanın üç büyüme evresindeki (ZGS 33, 38 ve 47'deki uygulamalar) üç fungusit uygulaması ile RLS kontrolünde başarı sağlanmıştır [109]. Bazı çalışmalarda ise ZGS 49 büyüme evresindeki fungusit uygulamalarının iyi etki gösterdiği bildirilmiş olup Arjantin'deki ticari denemelerden elde edilen raporlar, en iyi hastalık kontrolünün, erken sap uzamasında (ZGS 32 büyüme evresinde) uygulanan strobilurin, DMI ve SDHI karışımları ile elde edilebileceğini göstermiştir [14]. Erreguerena ve ark., [112], ZGS 30 ile ZGS 49 arasına bir azoxystrobin + isopyrazam karışımı uygulayarak RLS kontrolünde bir çerçeve oluşturmuşlardır. ZGS 49 büyüme evresi uygulamalarını İsviçre'de ve Almanya'da Hess ve ark. [79], İngiltere'de Havis ve ark. [83] RLS kontrolü için önermişlerdir. Bununla birlikte, büyüme mevsiminde fungusitlerin seçimi ve zamanlaması, mahsuldeki hastalık oranına ve şiddetine bağlı olacaktır [113].

Konukçu bitkideki savunma reaksiyonlarından elisitörler bitkinin doğal savunma mekanizmalarını kullanarak geniş spektrumlu hastalık kontrolü sunabilmektedir. Bu bileşiklerin RLS'ye karşı test edildiği bir çalışmada tek başına bir kontrol yöntemi olarak rol almasa da erken uygulandığında (ZGS 24 ardından düşük dozda ZGS 31 ve ZGS 39'da) RLS de önemli bir azalma sağladığı gösterilmiştir [18]. Havis ve ark. [114]. RLS için entegre bir kontrol stratejisinin bir parçası olarak elisitörlerin kullanma potansiyellerinin olmasına rağmen, elisitör kombinasyonları ve RLS etkisi arasındaki etkileşim dolayısı ile bu bileşiklerin ticari kullanım için tavsiye edilmeden önce daha fazla araştırılması gerektiği vurgulanmıştır [115].

R. collo-cygni'nin tohum uygulamaları ile kontrolü birçok ülkede farklı araştırmacılar tarafından incelenmiştir, İskoçya'da yapılan araştırmalar, ticari tohumlara triazoxide ve tebuconazole uygulamasının hassas çeşitlerde RLS'yi azaltabileceğini göstermiştir [116]. Ancak, bu etki her mevsimde aynı olmamıştır ve *R. collo-cygni*'nin bitki parçalarında moleküler analizi sonucu bu kimyasalların arpadaki fungus hareketi üzerinde de çok az etkisinin olduğu gösterilmiştir [116]. Bunun yanı sıra sıcak su muamelesinin fungal DNA seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir [116], ancak bu uygulamada da embriyoya zarar vermekten kaçınmanın çok zor olduğu saptanmıştır [70]. İki tohum fungusit uygulaması ve bir buhar tohum muamelesi yapılan bir çalışmada da başarılı bir RLS kontrolü elde edilememiştir [116]. Bununla birlikte, SDHI's + triticonazole ile tohum muamelelerinin tohumlarda ve çimlenmiş bitkilerde fungus DNA'sını azalttığı rapor edilmiştir [67].

RLS'yi kontrol etmek için entegre zararlı yönetimi (IPM) çözümlerinin potansiyeli hakkında çok az şey bilinmektedir. RLS'ye dayanıklılık gösteren ticari arpa çeşidi yoktur, ancak bazı çeşitler enfeksiyona karşı diğerlerinden daha toleranslı görülebilmektedir. Kimyasal içermeyen kontrol tekniklerinin etkisinin belirlenebilmesi için, buğday, yulaf ve çavdar dahil olmak üzere birçok konukçuyu enfekte edebilmesine rağmen sadece arpada tipik belirtiler üreten bu fungusun biyolojisinin ve epidemiyolojisinin daha iyi anlaşılması gerekmektedir [117]. Fungus ve konukçusu arpa arasındaki etkileşimin daha iyi anlaşılmasının RLS'ye yönelik gelecekteki IPM çözümlerinin geliştirilmesinde anahtar olacağı düşünülmektedir. Enfekteli arpa bitkilerinin ve konukçu olan yabancıotların ortadan kaldırılmasının etkili bir kültürel kontrol yöntemi olduğu ifade edilmiştir [118].

RLS hastalığından kaynaklanan kayıplarla mücadele etmek için, Avrupa Birliği (2009) tarafından tanımlanan Entegre Zararlı Yönetimi (IPM)'nin belirli kısımlarının RLS'nin kontrolü için uygun bir çözüm sunup sunmadığı araştırılmaktadır. Bu konuda önleme ve koruma, izleme, karar verme, kimyasal olmayan yöntemler, fungusit seçimi, azaltılmış fungusit kullanımı ve anti-direnç ilkeleri içeren stratejiler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Fungusun hastalık oluşturmasını tetiklemekten sorumlu moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılması, ıslah hedeflerinin belirlenmesinde yardımcı olabilecektir. Bazı çeşitlerin hastalığa karşı diğerlerinden daha az semptom gösterdiği görülmüştür ancak bu sonuçlar, çevrenin hastalık semptomu oluşumu üzerindeki önemli etkisi nedeniyle güvenilir bulunmamaktadır. RLS'ye karşı dayanıklı bitki testlemesi çalışmaları arttırılmalıdır, çünkü deneme verileri, yaprak ve tohum dokusunda nispeten yüksek miktarlarda patojen fungusun DNA'sına sahip olmasına rağmen, bazı çeşitlerin *R. collo-cygni*'ye bağlı nekrotik lezyonların oluşumunu baskılayabileceğini göstermiştir. Bu tür çeşitlerin abiyotik stresle başa çıkma yeteneği, nekrotrofik büyümeyi tetikleyen sinyali bastırarak patojeni endofitik aşamada tutabilmektedir. Enfekte olmuş bitki kalıntılarında hastalık inokulumunu azaltan uygulamalar, bir sonraki yetiştirme döneminde hastalığın

ortaya çıkışını azaltsa da bazı tarımsal uygulamaların RLS üzerinde sahip olabileceği potansiyel etkiyi bilmek de önemlidir. Bu tür uygulamalar, ürün rotasyonunu ve enfekteli mahsul artıklarınının (anız, çöp) hasattan sonra toprak yüzeyinden uzaklaştırılmasını içermekte olup bunların her ikisinde de ikincil spor yapılarının etkili bir şekilde ortadan kaldırılabileceği düşünülmektedir. Fungusun yayılımı için tohum kaynaklı aşamanın varlığı ile mücadelede *R. collo-cygni*'den arındırılmış tohum kullanımı geçerli bir çözüm olacaktır. Bununla birlikte, arpa tohumunun küresel ticareti ve Avrupa tohum stoklarında tespit edilen yüksek sıklıktaki *R. collo-cygni* enfeksiyonu, bu mücadele yöntemi üzerinde olumsuz etki oluşturmaktadır [42]. Hastalık belirtilerinin görünür hale gelmesinden önce hastalık tespiti sadece moleküler yöntemlerle mümkün olduğundan, RLS'den kaynaklanan riski tahmin etmek için bir karar destek sistemi kurma çabaları denenmiştir. Bununla birlikte, bu girişimler, çeşitli çevresel stres kombinasyonlarının hastalık gelişimi üzerindeki baskın etkisinden dolayı büyük ölçüde başarısız olmuştur [25].

Yetiştiricilerin RLS kontrol stratejilerini genel hastalık yönetimi stratejilerine entegre etmeleri önemlidir [79, 105]. Kullanılan fungusitler genellikle semptom ekspresyonundan önce uygulanmaktadır. Bu nedenle risk tahmini yönetim araçlarının iyi bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir [119]. Bu model, optimum fungusit uygulama tarihinden çok önce, ZGS 31 büyüme evresinde bitkideki çevresel koşullara dayalı olarak RLS şiddet riskinin ölçülmesine dayanmaktadır. RLS'nin son 10 yıldaki hızlı yükselişi, bazı fungusit bileşiklerinin etkinliğinin azalması ile fungusun yüksek adaptif potansiyelini, yönetim uygulamalarının katkısını (özellikle ihmal edilen direnç yönetimi) ve epidemiyolojik bilgiyi çevreleyen belirsizliğin devam ettiğini göstermektedir.

9.1 Genetik ve Hastalık ile Mücadelede Bitki Islahının Rolü

RLS'nin 1990'ların sonlarında pek çok ılıman bölgede ekonomik olarak önemli bir arpa hastalığı haline gelmesinden kısa bir süre sonra, farklı arpa çeşitlerinin hastalığa duyarlı olduğu görülmüştür. 1999 yılında Yeni Zelanda'da arpa denemeleri *R. collo-cygni* tarafından ağır bir epidemiyeye maruz kalmış ve iki çeşidin özellikle hastalığa oldukça hassas olduğu gözlenmiştir [120]. 2013 yılında Uruguay'da gerçekleşen epidemide ise, ekilen çeşitlerin %100'ü RLS'ye hassas veya orta derecede hassas olarak bulunmuştur [109]. Dayanıklı çeşit kullanımının Danimarka'da RLS mücadelesine katkıda bulunma potansiyeli fark edilmiş ve yazlık ve kışlık çeşitlerinden oluşan geniş bir genotip paneli hastalığa karşı test edilmeye başlanmıştır [47, 85, 86]. Litvanya [121], İngiltere [122] ve Slovakya'da [61] da çeşitler ve ıslah hatları arasında dayanıklılık bakımından önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Çek Cumhuriyeti'nde [75] kışlık arpa çeşitlerinin RLS duyarlılığında önemli farklılıklar tespit edilirken, yazlık çeşitler arasında daha sınırlı bir varyasyon bulunmuştur [123]. Tüm bu durumlarda, dayanıklı ve

hassas çeşitler arasında net bir bölünme olmaması RLS direncinde niceliksel bir varyasyon olduğunu düşündürmektedir.

Araştırmacılar tarafından arpada *Mlo* direncinin varlığı ile arpanın RLS'ye duyarlılığı arasında bir korelasyon fark edilmiştir. Külleme (*Blumeria graminis*) kontrolünde arpadaki *Mlo* geni oldukça önemlidir. Özellikle *Mlo-11* ve *Mlo-9* allelleri, Avrupa'da yazlık arpa yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır [124]. *Mlo-11* geni RLS'ye karşı artan duyarlılıkla ilişkili olarak bulunmuştur [50]. Danimarka'da 75 arpa çeşidinin kullanıldığı denemelerde RLS'ye en hassas 13 çeşitten 1'i dışında hepsi *Mlo* direncine sahipken, daha dayanıklı 18 çeşidin tamamında *Mlo* direnci bulunamamıştır [86]. Bu çalışmalardan *Mlo*'nun etkisi hakkında sonuç çıkarmanın zorluğu ise diğer faktörlerin RLS seviyelerini etkilemiş olabileceğidir. Danimarka'daki çok sayıda doğal olarak enfekte olmuş alanlardan elde edilen RLS hastalığı seviyelerinde, deneme alanları arasındaki varyasyonun üçte ikisi, çeşitlerin diğer hastalıklara duyarlılığı da dahil olmak üzere diğer faktörlerle açıklanırken, RLS'ye duyarlı çeşitler arasındaki varyasyon, varyasyonun kalan üçte birini oluşturmuştur. Diğer faktörler ortadan kaldırıldıktan sonra, *Mlo* varlığı ile doğal enfeksiyondan kaynaklanan RLS'ye yüksek duyarlılık arasında güçlü bir ilişki ortaya konmuştur. Bu sonuç *in vitro* denemelerle de tekrarlanmıştır [125].

Bu sonuçlar aynı zamanda *Mlo* külleme direncinin RLS'yi etkileme mekanizması hakkındaki soruları da gündeme getirmiştir. İnokulasyondan önce yüksek ışık seviyelerinin yaprak belirtisi oluşumuna yardımcı olduğu rapor edilmiştir [53]. Kontrollü ortamda gerçekleştirilen denemelerde inokulasyondan önceki en yüksek iki ışık yoğunluğu seviyesi, *Mlo* ve *mlo-5* taşıyan hatlarda RLS semptomlarını arttırmıştır. Özellikle *mlo-5* genine sahip hatlarda artış çok daha fazla bulunmuştur. İnokulasyon öncesi en düşük ışık seviyesinde ise belirtiler genel olarak daha düşük bulunmuştur. *Mlo* ve *mlo-5* hatları arasında düşük ışık seviyesinde önemli ölçüde farklılık görülmemiştir [54].

RLS dayanıklılığı için ıslah, neredeyse tamamen fenotipik seçime dayanmaya devam etmektedir. *Mlo*'dan etkilenmeyen çeşitler arasındaki varyasyonların varlığı, bu özelliği kontrol eden başka genlerin de olması gerektiğini göstermektedir. Farklı çeşitler üzerinde RLS skorlarının sürekli bir dağılıma sahip olduğu göz önüne alındığında, büyük olasılıkla, *Mlo*'nun dışında, dayanıklılığın poligenik olması ve arpa genomu boyunca dağılmış birçok genin her birinin hastalık üzerinde küçük bir etkiye sahip olması muhtemeldir. Her genin bireysel etkisi küçük olabilse de daha düşük hastalık seviyeleri için sürekli seçim ve büyük bir kümülatif etkiye sahip gen kombinasyonları taşıyan çeşitler üretilmelidir. Bunun yanı sıra çevresel değişimin dayanıklılık seleksiyonu üzerindeki etkisi daha iyi anlaşılmalıdır [50].

Farklı lokasyonlarda arpa çeşitlerinin veya üreme hatlarının dayanıklılığında genotip-çevre etkileşiminin de önemi vardır [85, 86, 125, 126]. Değişik yerlerde saha denemelerinin yapılması faydalı olabilecektir.

R. collo-cygni'nin fide dönemi testlemeleri için bir yöntem mevcut olsa da [53], fide aşamasındaki seleksiyon tarla denemelerinde kullanmak için yeterli olmayabilmektedir. Power × Braemar popülasyonunun fide dönemi testlemesi tarla denemelerine göre daha hassas [50] tarlada orta derecede dirençli olan 'Decanter' çeşidi [122], fide dönemi testlemelerinde daha hassas olarak bulunmuştur [53].

Enfeksiyonun erken evresinde güvenilir *Rcc* tespit yöntemleri bulmak ve olası *Rcc* bulaşma yollarını ortaya çıkarmak gerekmektedir. *Rcc* için fungusun doğru teşhis edilebilmesi ve tarlalarda fungusit uygulamasının doğru zamanlamasının enfeksiyonun kontrolüne yardımcı olacağı düşünülmektedir [68]. Bunun yanı sıra günümüzde RLS dayanıklılığı için ıslah konusunda en verimli yaklaşım, kısmi dayanıklılık kaynakları olarak çeşitli germplazmları kullanarak, *R. collo-cygni* tarafından yüksek doğal enfeksiyon seviyelerine sahip yerlerde popülasyonlar üzerinde denemeler yaparak, RLS'ye karşı dayanıklı bitki çeşitleri seçebilmektir.

10. SONUÇ

Son yıllarda, yüksek verimli çeşitlerin yetiştirilmesi, toprak gübrenmesi, sulama ve bitki patojenlerinin, böceklerin ve yabancı otların kimyasal ürünlerle etkili bir şekilde kontrol edilmesi gibi çeşitli faktörlerin etkisi ile tarımda hızlı bir yoğunlaşma yaşanmıştır [6, 127]. Biyotik stres faktörlerinin etkili kimyasal kontrolü, bitkilerdeki verim kayıplarını önemli ölçüde azaltmıştır [6]. Bitki türlerinin dar genetik değişkenliği ise, yeni bitki hastalıklarının adaptasyonu ve ortaya çıkması için uygun bir ortam oluşturmuştur [128]. Günümüzde hem konukçu direnç genlerinin üstesinden gelen patojenlerin evrimi hem de kimyasal kontrol ürünlerine karşı olan duyarlılık kayıpları ile mücadele edilmektedir [129].

RLS artık dünyanın tüm ılıman bölgelerinde arpa üretimi için önemli bir tehdit haline gelmiştir. Hastalığa dayanıklı arpa çeşitlerinin olmaması, bu hastalığın kontrolünü daha da zorlaştırmaktadır. Bunun yanı sıra fungusun biyolojisi ve arpa ile olan etkileşimi tam olarak anlaşılammıştır. Gelecekteki araştırmalar ile, patojen ve konukçu bitki arasındaki etkileşimin anlaşılması, küresel olarak *R. collo-cygni* popülasyonunun yapısının değerlendirilmesi, RLS'ye karşı IPM çözümlerinin geliştirilmesi ve bu patojenin son yıllarda arpa üretimi için önemli bir tehdit haline gelmesindeki potansiyel nedenlerin belirlenmesi konularının aydınlatılması beklenmektedir [60].

Son 15 yılda *R. collo-cygni*, arpanın önemli bir patojeni olarak kabul edilmiştir. Popülasyonlar, demografik geçmişleriyle ilişkili karakteristik genetik işaretler sergileyebilmektedirler [130, 131]. Bir demografik geçmişin saptanması, *R. collo-cygni*'nin son zamanlarda ortaya çıkışını açıklamaya yardımcı olabilir. Arpa çeşitlerinin abiyotik streslere karşı artan duyarlılığı ve diğer yaprak patojenleri ile olan rekabetin azalmasıyla birlikte, *R. collo-cygni*'nin öneminin arttığı düşünülmektedir [9]. Fungusun *in vitro* ortamda yavaş gelişen doğası ve sporulasyon evresi başlayana kadar bitkilerde fark edilmeden kalabileceği gerçeği de etkili kontrol yöntemleri geliştirmeyi zorlaştırmaktadır. Bunun yanı sıra fungusit uygulaması ve dayanıklı çeşitler gibi kontrol önlemleri de dahil olmak üzere patojen popülasyonlarının değişen ortamlara uyum sağlama kapasitesini tahmin edebilmek için evrimsel potansiyellerini anlamak da önemlidir [132]. Bu organizmanın genetik çeşitliliği hakkında bilgiler sağlamak ve bu çeşitliliğin fungus evrimini nasıl etkilediğini anlamak için çok sayıda coğrafik konumdan ve arpa dışındaki konukçulardan elde edilen *R. collo-cygni* izolatlarının genom sekansları ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır [14].

Tohum iletimi yoluyla olası küresel yayılmanın, rekombinasyonun, klonal yayılmanın tartışılması ve konukçuya özelleşmenin olmaması ile önemi giderek artan bu hastalığın küresel salgınları ile nasıl mücadele edilebileceğine dair yaklaşımlar önemsenmelidir. Bununla birlikte, moleküler tespit yöntemleri gibi *R. collo-cygni*'nin tespiti için hızlı ve güvenilir yöntemlerin kullanılması, arpa bitkilerinde patojeni tespit etmeyi kolaylaştıracak ve epidemiyolojisi hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlayacaktır. *R. collo-cygni*, birçok arpa yetiştirme bölgesinde çeşitli fungusit gruplarına uyum sağladığından, bu patojenin gelecekteki kontrolü için yeni yaklaşımların benimsenmesi, dayanıklı arpa çeşitlerinin seçilmesi ve tohum hijyen standartlarının iyileştirilmesine odaklanılmalıdır [108].

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmektedirler.

YAZARLARIN KATKILARI

Zeynep ASLAN: Yazma-orijinal taslak hazırlama, veri toplama, verinin düzenlenmesi, inceleme, yazma-gözden geçirme ve düzenleme. Arzu ÇELİK OĞUZ: Kavramsallaştırma, gözetim ve liderlik sorumluluğu, verinin düzenlenmesi yazma-gözden geçirme ve düzenleme, doğrulama, inceleme ve doğrulama. Aziz KARAKAYA: verinin düzenlenmesi, yazma-gözden geçirme ve düzenleme, doğrulama, inceleme ve doğrulama.

KAYNAKLAR

- [1] B. Leff, N. Ramankutty, and J. A. Foley, 'Geographic distribution of major crops across the World,' *Global Biogeochemical Cycles*, vol. 18, no. 1, pp. 1-33, 2004.
- [2] D. E. Mathre, 'Compendium of Barley Disease,' *American Phytopathological Society (APS) Press*. St. Paul, MN 1982.
- [3] E. Kün, 'Tahıllar-1 Serin İklim Tahılları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları,' Yayın No:1451. Ankara, s. 332, 1996.
- [4] G. Mızrak ve K. Yalvaç, 'Genetiği Değiştirilmiş (Aktarma Genli) Organizmalar,' Rapor, Eylül, Ankara, 2011. Web Sitesi: <http://xn--grbzmzrak-q9ac25d.com/Yayinlarim/GdoRaporuEkitap.pdf>
- [5] Anonim, T.C Tarım ve Orman Bakanlığı, Arpa, Temmuz-2020, Tarım Ürünleri PiyasaRaporu, WebSitesi: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF>. Erişim Tarihi: 20.05.2021.
- [6] E. C. Oerke and H. W. Dehne, 'Safeguarding production losses in major crops and the role of crop protection,' *Crop Protection*, vol. 23, no. 4, pp. 275-285, 2004.
- [7] A. C. Newton, A. J. Flavell, T. S. George, P. Leat, B. Mullholland, L. Ramsay, C. Revoredo-Giha, J. Russell, B. J. Steffenson, J. S. Swanston, W. T. B. Thomas, R. Waugh, P. J. White, and I. J. Bingham, 'Crops that feed the world 4. Barley: a resilient crop? Strengths and weaknesses in the context of food security,' *Food Security*, vol. 3, no. 2, pp. 141-178, 2011.
- [8] S. Savary, L. Willocquet, and S. J. Pethybridge, P. Esker, N. McRoberts, A. Nelson, 'The global burden of pathogens and pests on major food crops,' *Nature Ecology & Evolution*, vol.3, no.3, pp. 430-439, 2019.
- [9] S. Salamati and L. Reitan, 'Ramularia collo-cygni on spring barley, an overview of its biology and epidemiology,' Proceedings 1st European Ramularia Workshop, Göttingen, Germany, pp. 19-35, 2006.
- [10] S. Pereyra, 'Herramientas disponibles para el manejo de dos enfermedades relevantes de la pasada zafra: Fusariosis de la espiga en trigo y Ramularia en cebada,' *Actividades Difusion INIA*, vol. 720, pp.33-41, 2013.
- [11] G. R. McGrann and N. D. Havis, 'Ramularia leaf spot: a newly important threat to barley production,' *Outlooks on Pest Management*, vol. 28, no. 2, pp. 65-69, 2017.
- [12] G. Fox and C. D. Li, 'Achieving sustainable cultivation of barley,' Burleigh Dodds Science Publishing Limited, pp. 505, 2020.
- [13] H. O. Pinnschmidt and L. N. Jørgensen, 'Yield effects of Ramularia leaf spot on spring barley,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 57-66, 2009.
- [14] N. D. Havis, J. K. M. Brown, G. Clemente, P. Frei, M. Jedryczka, J. Kaczmarek, M. Kaczmarek, P. Matusinsky, G. R. D. McGrann, S. Pereyra, M. Piotrowska, H. Sghyer, A. Tellier, and M. Hess, 'Ramularia collo-cygni-an emerging pathogen of barley crops,' *Phytopathology*, vol. 105, no. 7, pp. 895-904, 2015.
- [15] S. J. P. Oxley and N. D. Havis, 'Development of Ramularia collo-cygni on spring barley and its impact on yield', In: Crop Protection in Northern Britain, pp. 147-152, 2004.
- [16] F. Cavara, 'Über einige parasitische Pilze auf dem Getreide,' *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten*, vol. 3, no. 1, pp. 16-26, 1893.

- [17] E. Sachs, P. Greif, D. Amelung, and H. Huss, 'Ramularia collo-cygni-a rediscovered pathogen of barley in Europe,' *Mitteilungen-Biologischen Bundesanstalt Fur Land Und Forstwirtschaft*, vol. 357, pp. 96-96, 1998.
- [18] D. R. Walters, N. D. Havis, and S. J. Oxley, 'Ramularia collo-cygni: the biology of an emerging pathogen of barley,' *FEMS Microbiology Letters*, vol. 279, no.1, pp. 1-7, 2008.
- [19] B. C. Sutton and J. M. Waller, 'Taxonomy of Ophiocladium hordei, causing leaf lesions on triticale and other Gramineae,' *Transactions of the British Mycological Society*, vol. 90, no. 1, pp. 55-61, 1988.
- [20] P. Frei and D. Gindrat, 'Le champignon *Ramularia collo-cygni* provoque une forme de grillures sur les feuilles d'orge d'automne et de graminées adventices,' *Revue Suisse D Agriculture*, vol. 6, pp. 229-234, 2000.
- [21] E. Sachs, 'A 'new' leaf spot disease of barley caused by *Ramularia collo-cygni*: description, diagnosis and comparison with other leaf spots,' In: Yahyaoui AH, Brader L, Tekauz A, Wallwork H, Steffenson B (eds), *Proceeding of the Second International Workshop on Barley Leaf Blights*, Aleppo, Syria, pp. 365-369, 2002
- [22] M. J. Piotrowska, J. M. Fountaine, R. A. Ennos, M. Kaczmarek, and F. J. Burnett, 'Characterisation of *Ramularia collo-cygni* laboratory mutants resistant to succinate dehydrogenase inhibitors,' *Pest Management Science*, vol. 73, no. 6, pp. 1187-1196, 2017.
- [23] N. D. Havis, S. J. P. Oxley, S. R. Piper, and S. R. H. Langrell, 'Rapid nested PCR-based detection of *Ramularia collo-cygni* direct from barley,' *FEMS Microbiology Letters*, vol. 256, no. 2, pp. 217-223, 2006a.
- [24] P. Frei, K. Gindro, H. Richter, and S. Schürch, 'Direct-PCR detection and epidemiology of *Ramularia collo-cygni* associated with barley necrotic leaf spot,' *Journal of Phytopathology*, vol. 155, no. 5, pp. 281-288, 2007.
- [25] N. D. Havis, N. Evans, and G. Hughes, 'Development of UK wide risk forecast 17 for *Ramularia* leaf spot in barley,' *Project Report No. PR600*, 2018.
- [26] M. Kaczmarek, M. J. Piotrowska, J. M. Fountaine, K. Gorniak, G. R. D. McGrann, A. Armstrong, K. M. Wright, A. C. Newton, and N. D. Havis, 'Infection strategy of *Ramularia collo-cygni* and development of ramularia leaf spot on barley and alternative graminaceous hosts,' *Plant Pathology*, vol. 66, no. 1, pp. 45-55, 2017.
- [27] S. Oxley, N. Havis, A. Evans, S. Waterhouse, and L. Tonguç, 'A guide to the recognition and understanding of *Ramularia* and other leaf spots of barley,' *BASF and SAC*, pp. 62, 2012.
- [28] N. D. Havis, M. Pastok, S. Pyzalski, and S. J. P. Oxley, 'Investigating the life cycle of *Ramularia collo-cygni*,' In: *The Dundee Conference, Crop Protection in Northern Britain*, Dundee, UK, pp. 219-224, 2006b.
- [29] R. Sprague, 'Additions to the Fungi Imperfecti on grasses in the United States,' *Mycologia*, vol. 38, no. 1, pp. 52-64, 1946.
- [30] U. Braun, 'A monograph of *Cercospora*, *Ramularia* and related genera,' *Phytopathogenic Hyphomycetes*, vol. 2, 1998.
- [31] G. R. McGrann, A. Andongabo, E. Sjökvist, U. Trivedi, F. Dussart, M. Kaczmarek, A. Mackenzie, J. M. Fountaine, J. M. G. Taylor, L. J. Paterson, K. Gorniak, F. Burnett, K. Kanyuka, K. E. Hammond-Kosack, J. J. Rudd, M. Blaxter, and N. D. Havis, 'The genome of the emerging barley pathogen *Ramularia collo-cygni*,' *BMC Genomics*, vol. 17, no. 1, pp. 1-17, 2016.

- [32] M. J. Piotrowska, R. A. Ennos, J. M. Fountaine, F. J. Burnett, M. Kaczmarek, and P. N. Hoebe, 'Development and use of microsatellite markers to study diversity, reproduction and population genetic structure of the cereal pathogen *Ramularia collo-cygni*,' *Fungal Genetics and Biology*, vol. 87, pp. 64-71, 2016.
- [33] M. S. Kabir, R. J. Ganley, and R. E. Bradshaw, 'The hemibiotrophic lifestyle of the fungal pine pathogen *Dothistroma septosporum*,' *Forest Pathology*, vol. 45, no. 3, pp. 190-202, 2015.
- [34] A. M. Tiley, S. J. Karki, and A. Feechan, '*Zymoseptoria tritici*,' eLS, 1-8, 2018, <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0027948>.
- [35] P. W. Crous, A. Aptroot, J-C. Kang, U. Braun, and M. J. Wingfield, 'The genus *Mycosphaerella* and its anamorphs', *Studies in Mycology*, vol. 45, pp. 107-121, 2000.
- [36] U. Braun, '*Ramularia collo-cygni* (Ramularia leaf blight of barley)-taxonomy and phylogeny,' Proceedings of the 2nd International Workshop on Barley Leaf Blights, ICARDA-Aleppo, pp. 343-350, 2004.
- [37] H. Huss, 'The biology of *Ramularia collo-cygni*,' In: Yahyaoui AH, Brader L, Tekauz A, Wallwork H, Steffenson B (eds), Proceedings of the Second International Workshop on Barley Leaf Blights, Aleppo, Syria, pp. 321-328, 2004.
- [38] E. Stabenheiner, T. Minihofer, and H. Huss, 'Infection of barley by *Ramularia collo cygni*: scanning electron microscopic investigations', *Mycopathologia*, vol. 168, no. 3, 135, 2009.
- [39] M. Nyman, N. D. Havis, and S.J.P. Oxley, 'Importance of seed-borne infection of *Ramularia collo-cygni*,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 91-96, 2009.
- [40] A. Thirugnanasambandam, K. M. Wright, N. D. Havis, S. C. Whisson, and A. C. Newton, 'Agrobacterium-mediated transformation of the barley pathogen *Ramularia collo-cygni* with fluorescent marker tags and live tissue imaging of infection development', *Plant Pathology*, vol. 60, no. 5, pp. 929-937, 2011.
- [41] H. Huss and E. Sachs, 'Ramularia-Blattflecken-oder-Sprenkelkrankheit der Gerste', *Der Pflanzenarzt*, vol. 51, 1998.
- [42] N. D. Havis, M. Kaczmarek, and J. M. Fountaine, '*Ramularia collo-cygni*-a rapidly developing problem', In: The Dundee Conference, Crop Protection in Northern Britain, Dundee, UK, pp. 95-100, 2014.
- [43] M. Kaczmarek, J. Fountaine, A. Newton, N. Read, and N. Havis, 'The life history of *Ramularia collo-cygni*,' In: 27th Fungal Genetics Conference, Asilomar, CA, 2013, Online publication, Available: www.fgsc.net/27thFGC/FungalProgramBook2013.Pdf.
- [44] M. Khier, M. Carmona, E. Sachs, R. Delhey, S. Frayssinet, and D. Barreto, 'Salpicado necrotico, nueva enfermedad de la cebada en Argentina causada por *Ramularia collo-cygni*,' Resumenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Cordoba, Argentina, 2002.
- [45] I. Heiser, E. Sachs, and B. Liebermann, 'Photodynamic oxygen activation by rubellin D, a phytotoxin produced by *Ramularia collo-cygni*,' *Physiological and Molecular Plant Pathology*, vol. 62, no. 1, pp. 29-36, 2003.
- [46] I. C. Harvey, 'Epidemiology and control of leaf and awn spot of barley caused by *Ramularia collo cygni*,' *New Zealand Plant Protection*, vol. 55, pp. 331-335, 2002.
- [47] H. O. Pinnschmidt and M. S. Hovmøller, 'Ramularia, a new disease of barley—a review of present knowledge,' DJF rapport, vol. 89, pp. 313-321, 2003.

- [48] S. J. P. Oxley, N. D. Havis, K. G. Sutherland, and M. Nuttall, 'Development of a rationale to identify the causal agent of necrotic lesions in spring barley and to identify control mechanisms,' HGCA Project Report No: 282. HGCA Publications, London, UK. 2002.
- [49] N. D. Havis, M. Nyman, and S. J. P. Oxley, 'Evidence for seed transmission and symptomless growth of *Ramularia collo-cygni* in barley (*Hordeum vulgare*),' *Plant Pathology*, vol. 63, no. 4, pp. 929-936, 2004.
- [50] G. R. McGrann, A. Stavrinides, J. Russell, M. M. Corbitt, A. Booth, L. Chartrain, W. T. B. Thomas, and J. K. M. Brown, 'A trade off between mlo resistance to powdery mildew and increased susceptibility of barley to a newly important disease, *Ramularia* leaf spot,' *Journal of Experimental Botany*, vol. 65, no. 4, pp. 1025-1037, 2014.
- [51] G. R. McGrann, A. Steed, C. Burt, P. Nicholson, and J. K. M. Brown, 'Differential effects of lesion mimic mutants in barley on disease development by facultative pathogens,' *Journal of Experimental Botany*, vol. 66, no. 11, pp. 3417-3428, 2015a.
- [52] G. R. D. McGrann, A. Steed, C. Burt, R. Goddard, C. Lachaux, A. Bansal, M. Corbitt, K. Gorniak, P. Nicholson, and J. K. M. Brown, 'Contribution of the drought tolerance related stress-responsive NAC 1 transcription factor to resistance of barley to *Ramularia* leaf spot,' *Molecular Plant Pathology*, vol. 16, no. 2, pp. 201-209, 2015b.
- [53] J. C. Makepeace, N. D. Havis, J. I. Burke, S. J. P. Oxley, and J. K. M. Brown, 'A method of inoculating barley seedlings with *Ramularia collo-cygni*,' *Plant Pathology*, vol. 57, no. 6, pp. 991-999, 2008.
- [54] J. K. M. Brown and J. C. Makepeace, 'The effect of genetic variation in barley on responses to *Ramularia collo-cygni*,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 43-47, 2009.
- [55] A. Peraldi, L. L. Griffe, C. Burt, G. R. D. McGrann, and P. Nicholson, '*Brachypodium distachyon* exhibits compatible interactions with *Oculimacula* spp. and *Ramularia collo-cygni*, providing the first pathosystem model to study eyespot and ramularia leaf spot diseases,' *Plant Pathology*, vol. 63, no. 3, pp. 554-562, 2014.
- [56] J. M. G. Taylor, L. J. Paterson, and N. D. Havis, 'A quantitative real-time PCR assay for the detection of *Ramularia collo-cygni* from barley (*Hordeum vulgare*),' *Letters in Applied Microbiology*, vol. 50, no. 5, pp. 493-499, 2010.
- [57] P. Matusinsky, L. Leisova-Svobodova, J. Gubis, M. Hudcovicova, L. Klčova, M. Gubisova, P. Marik, L. Tvaruzek, and V. Minarikova, 'Impact of the seed-borne stage of *Ramularia collo-cygni* in barley seed,' *Journal of Plant Pathology*, vol. 93, pp. 679-689, 2011.
- [58] P. Frei, '*Ramularia collo-cygni*: cultivation, storage, and artificial infection of barley and weed grasses under controlled conditions,' In: Yahyaoui AH, Brader L, Tekauz A, Wallwork H, Steffenson B (eds), Proceedings of the Second International Workshop on Barley Leaf Blights, Aleppo, Syria, pp. 351-354, 2004.
- [59] M. G. Cromey, I. C. Harvey, J. E. Sheridan, and N. Grbavag, 'Occurrence, importance and control of *Ramularia collo-cygni* in New Zealand', In Proceedings of the Second International Workshop on Barley Leaf Blights, pp. 7-11, 2002.
- [60] F. Dussart, H. E. Creissen, and N. D. Havis, '*Ramularia collo-cygni*-an enemy in waiting,' In eLS, pp. 1-8, 2020, doi.org/10.1002/9780470015902.a0028896.
- [61] J. Gubiš and M. Hudcovicova, L. Klčová, 'First report of *Ramularia collo-cygni* in Slovakia,' *Journal of Plant Pathology*, vol. 90, no. 1, pp. 149, 2008.

- [62] O. S. Afanasenko, N. D. Havis, L. A. Bespalova vd., 'Ramularia leaf spot is a new barley disease in Russia,' *Plant Protection Quarantine*, vol. 1, pp. 11-13, 2012.
- [63] P. Sooväli, M. Tikhonova, and P. Matušinsky, 'First report of Ramularia leaf spot caused by *Ramularia collo-cygni* on leaves and seeds of barley in Estonia,' *Plant Disease*, vol. 98, no. 7, pp. 997-997, 2014.
- [64] J. M. Fountaine and B. A. Fraaije, 'Development of QoI resistant alleles in populations of *Ramularia collo-cygni*,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 123-126, 2009.
- [65] M. A. Carmona, M. M. Scandiani, A. N. Formento, and A. y Luque, 'Epidemias de *Ramularia collo-cygi*, organismo causal dei salpicado necrotico de la cebada,' In: Campana 2012-2013 Revista Cultivos Invernales en SD de Aapresid, Online publication, Cultivos Invernales, pp. 44-47, 2013.
- [66] S. Stewart, 'Manchado necrótico en cebada,' *Actividades Difusion INIA*, vol. 254, pp. 47-49, 2001.
- [67] G. Clemente, S. Quintana, N. Aguirre, A. Rosso, N. Cordi, and N. D. Havis, 'State of art of *Ramularia collo-cygni*(leaf spot of barley) in Argentina and detection and quantification of *R. Collo cygni* by real-time PCR in barley plantlets and seeds treated with fungicide,' In: Proc. 11th Conf. Eur. Found, Plant Pathol, Poland, 2014.
- [68] A. Mäe, P. Sooväli, and L. Põllumaa, '*Ramularia collo-cygni*: a new pathogen spreading in barley fields in Estonia,' *Agricultural and Food Science*, vol. 27, no. 2, pp. 138-145, 2018.
- [69] A. Schützendübel, M. Stadler, D. Wallner, and A. Von Tiedemann, 'A hypothesis on physiological alterations during plant ontogenesis governing susceptibility of winter barley to ramularia leaf spot', *Plant Pathology*, vol. 57, no. 3, pp. 518-526, 2008.
- [70] N. Zamani-Noor, 'Studies on Ramularia leaf spots on barley—Resistance phenotyping, epidemiology and pathogenicity,' Ph.D. thesis, Georg-August University Göttingen, Germany, 2011.
- [71] N. Zamani-Noor, A. Schützendübel, B. Koopmann, and A. von Tiedemann, 'Epidemiology and pathogenicity of *Ramularia collo-cygni* associated with barley necrotic leaf spot disease,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 41-42, 2009.
- [72] H. Formayer, H. Huss, and H. Kromb-Kolb, 'Influence of climatic factors on theformation of symptoms of *Ramularia collo-cygni*,' In: Yahyaoui AH, Brader L, Tekauz A, Wallwork H, Steffenson B (eds), Proceeding of the Second International Workshop on Barley Leaf Blights, Aleppo, Syria, pp. 329–330, 2004.
- [73] J. C. Makepeace, 'The effect of the mlo mildew resistance gene on spotting diseases of barley,' Doctoral dissertation, University of East Anglia, 2006.
- [74] N. D. Havis, J. M. G. Taylor, M. Nyman, and S. J. P. Oxley, 'Epidemiology of *Ramularia collo cygni*,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 1-7, 2009b.
- [75] P. Marik, Z. Snejdar, and P. Matusinsky, 'Expression of resistance to Ramularia leaf spot in winter barley cultivars grown in conditions of the Czech Republic,' *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, vol. 47, no. 1, pp. 37-40, 2011.
- [76] G. R. McGrann and J. K. Brown, 'The role of reactive oxygen in the development of Ramularia leaf spot disease in barley seedlings,' *Annals of Botany*, vol. 121, no. 3, pp. 415-430, 2018.

- [77] A. C. Newton, B. D. Fitt, S. D. Atkins, D. R. Walters, and T. J. Daniell, 'Pathogenesis, parasitism and mutualism in the trophic space of microbe-plant interactions,' *Trends in Microbiology*, vol. 18, no. 8, pp. 365-373, 2010.
- [78] Y. X. Wu and A. von Tiedemann, 'Evidence for oxidative stress involved in physiological leaf spot formation in winter and spring barley,' *Phytopathology*, vol. 92, no. 2, pp. 145-155, 2002.
- [79] M. Hess, R. Habeker, M. Kick, M. Martin, and H. Hausladen, 'Occurrence of the late leaf spot complex of barley and its consequences on optimized disease control,' *Gesunde Pflanzen*, vol. 59, no. 2, pp. 47-54, 2007.
- [80] H. Huss, 'The biology of *Ramularia collo-cygni*,' In Proc. Second Int. Workshop Barley Leaf Blights, Aleppo, Syria pp. 321-328, 2002.
- [81] J. C. Zadoks, T. T. Chang, and C. F. Konzak, 'A decimal code for the growth stages of cereals,' *Weed Research*, vol. 14, no. 6, pp. 415-421, 1974.
- [82] C. Toscano-Underwood, J. S. West, B. D. Fitt, A. D. Todd, and M. Jedryczka, 'Development of *phoma* lesion on oilseed rape leaves inoculated with ascospores of A-group or B-group *Leptosphaeria maculans* (stem canker) at different temperatures and wetness durations,' *Plant Pathology*, vol. 50, no. 1, pp. 28-41, 2001.
- [83] N. D. Havis, S. J. P. Oxley, F. J. Burnett, and G. Hughes, 'Epidemiology of *Ramularia collo cygni*,' In: The Dundee Conference Crop Protection in Northern Britain, Dundee, UK, pp. 119-124, 2012.
- [84] H. Huss, H. Mayrhofer, and E. Ingolic, '*Ramularia collo-cygni* Sutton and Waller (Fungi imperfecti), ein wirtschaftlich beeunter Parasit der gerste in det Steiermark,' *Mitt Naturwiss Ver Steiermark*, vol. 122, pp. 87-95, 1992.
- [85] H. O. Pinnschmidt and M. S. Hovmøller, 'Resistance against net blotch, scald and *Ramularia* of barley,' *DJF Rapport*, vol. 98, pp. 61-71, 2004.
- [86] H. O. Pinnschmidt, S. A. Sindberg, and J. Willas, 'Expression of resistance of barley varieties to *Ramularia* leaf spot and the status of the disease in Denmark,' In: Proc. First Eur. *Ramularia* Workshop, Göttingen, Germany, pp. 85-93, 2006.
- [87] E. Sjøkvist, R. Lemcke, M. Kamble, F. Turner, M. Blaxter, N. H. D. Havis, M. F. Lyngkjær, and S. Radutoiu, 'Dissection of *Ramularia* leaf spot disease by integrated analysis of barley and *Ramularia collo-cygni* transcriptome responses,' *Molecular Plant-Microbe Interactions*, vol. 32, no. 2, pp. 176-193, 2019.
- [88] D. Godfrey and J. P. Rathjen, 'Recognition and response in plant PAMP-triggered immunity,' *Els*, 2012.
- [89] M. D. Bolton, H. P. Van Esse, J. H. Vossen, R. de Jonge, I. Stergiopoulos, I. J. E. Stulemeijer, G. C. M. van der Berg, O. Borrás-Hidalgo, H. L. Dekker, C. G. De Koster, P. J. G. M. de Wit, M. H. A. J. Joosten, and B. P. H. J. Thomma, 'The novel *Cladosporium fulvum* lysin motif effector Ecp6 is a virulence factor with orthologues in other fungal species,' *Molecular Microbiology*, vol. 69, no. 1, pp. 119-136, 2008.
- [90] W-S. Lee, J. J. Rudd, K. E. Hammond-Kosack, and K. Kanyuka, '*Mycosphaerella graminicola* LysM effector-mediated stealth pathogenesis subverts recognition through both CERK1 and CEBiP homologues in wheat,' *Molecular Plant-Microbe Interactions*, vol. 27, no. 3, pp. 236-243, 2014.

- [91] J. C. Makepeace, S. J. P. Oxley, N. D. Havis, R. Hackett, J. I. Burke, and J. K. M. Brown, 'Associations between fungal and abiotic leaf spotting and the presence of mlo alleles in barley,' *Plant Pathology*, vol. 56, no. 6, pp. 934-942, 2007.
- [92] A. Dreiseitl, 'Frequency of powdery mildew resistances in spring barley cultivars in Czech variety trials,' *Plant Protection Science*, vol. 48, no. 1, pp. 17-20, 2012.
- [93] M. J. Muria-Gonzalez, Y. H. Chooi, S. Breen, and P. S. Solomon, 'The past, present and future of secondary metabolite research in the Dothideomycetes,' *Molecular Plant Pathology*, vol. 16, no. 1, pp. 92-107, 2015.
- [94] S. Miethbauer, I. Heiser, and B. Liebermann, 'The phytopathogenic fungus *Ramularia collo-cygni* produces biologically active rubellins on infected barley leaves,' *Journal of Phytopathology*, vol. 151, no. 11-12, pp. 665-668, 2003.
- [95] F. Dussart, R. Douglas, E. Sjökvist, P. N. Hoebe, S. H. Spoel, and G. R. D. McGrann, 'Genome-based discovery of polyketide derived secondary metabolism pathways in the barley pathogen *Ramularia collo cygni*,' *Molecular Plant-Microbe Interactions*, vol. 31, no. 9, pp. 962-975, 2018a.
- [96] A. Ichihara, H. Oikawa, K. Hayashi, S. Sakamura, A. Furusaki, and T. Matsumoto, 'Structures of betaenones A and B, novel phytotoxins from *Phoma betae* Fr,' *Journal of the American Chemical Society*, vol. 105, no. 9, pp. 2907-2908, 1983.
- [97] H. Bistrich, J. Breun, G. Emmert, A. Fleck, H. Jaiser, H. Kempe, and M. Lemmens, 'Screening for leaf spot resistance-results and impact on practical breeding,' In Proceedings of 1st European Ramularia Workshop, Germany, Göttingen. pp. 83-84, 2006.
- [98] S. Oxley, N. Havis, and R. Hackett, 'Impact of fungicides and varietal resistance on *Ramularia collo-cygni* in spring barley,' In: Proceedings 1st European Ramularia Workshop, Germany, Göttingen, pp. 103-112, 2006.
- [99] I. Heiser, M. Heß, K. U. Schmidtke, U. Vogler, S. Miethbauer, and B. Liebermann, 'Fatty acid peroxidation by rubellin B, C and D, phytotoxins produced by *Ramularia collo-cygni*,' *Physiological and Molecular Plant Pathology*, vol. 64, no. 3, pp. 135-143, 2004.
- [100] S. Miethbauer, S. Haase, K. U. Schmidtke, W. Günther, I. Heiser, and B. Liebermann, 'Biosynthesis of photodynamically active rubellins and structure elucidation of new anthraquinone derivatives produced by *Ramularia collo-cygni*,' *Phytochemistry*, vol. 67, no. 12, pp. 1206-1213, 2006.
- [101] H. L. Hjortshøj, A. R. Ravnshøj, M. Nyman, J. Orabi, G. Backes, H. Pinnschmidt, N. Havis, J. Stougaard, and E. Stukenbrock, 'High levels of genetic and genotypic diversity in field populations of the barley pathogen *Ramularia collo cygni*,' *European Journal of Plant Pathology*, vol. 136, no. 1, pp. 51-60, 2013.
- [102] L. Leisova-Svobodova, P. Matusinsky, and L. Kucera, 'Variability of the *Ramularia collo-cygni* population in Central Europe,' *Journal of Phytopathology*, vol. 160, no. 11/12, pp. 701-709, 2012.
- [103] A. Piotrowska-Niczyporuk and A. Bajguz, 'The effect of natural and synthetic auxins on the growth, metabolite content and antioxidant response of green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae),' *Plant Growth Regulation*, vol. 73, no. 1, pp. 57-66, 2014.
- [104] R. Stam, H. Sghyer, A. Tellier, M. Hess, and R. Hückelhoven, 'The current epidemic of the barley pathogen *Ramularia collo-cygni* derives from a population expansion and shows global admixture,' *Phytopathology*, vol. 109, no. 12, pp. 2161-2168, 2019.

- [105] M. Hess, S. Weigand, and H. Hausladen, 'Studying the epidemics of *Ramularia collo-cygni* in Germany and Austria with different diagnostic tools; development of field diagnostics and implications for integrated disease control,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 9-16, 2009.
- [106] B. A. Fraaije, H. J. Cools, J. Fountaine, D. J. Lovell, J. Motteram, J. S. West, and J. A. Lucas, 'Role of ascospores in further spread of QoI-resistant cytochrome b alleles (G143A) in field populations of *Mycosphaerella graminicola*,' *Phytopathology*, vol. 95, no. 8, pp. 933-941, 2005.
- [107] P. Matusinsky, L. Svobodova-Leisova, P. Mariks, L. Tvaruzek, L. Stemberkova, M. Hanusova, V. Minarikova, M. Vysohlidova, and T. Spitzer, 'Frequency of a mutant allele of cytochrome b conferring resistance to Ool fungicides in the Czech population of *Ramularia collo-cygni*,' *Journal of Plant Diseases and Protection*, vol. 117, no. 6, pp. 248-252, 2010.
- [108] A. Rehfus, P. Matusinsky, D. Strobel, R. Bryson, and G. Stammler, 'Mutations in target genes of succinate dehydrogenase inhibitors and demethylation inhibitors in *Ramularia collo-cygni* in Europe,' *Journal of Plant Diseases and Protection*, vol. 126, no. 5, pp. 447-459, 2019.
- [109] S. A. Pereyra, J. P. Viera, and N. Havis, 'Managing *Ramularia* leaf spot of barley in Uruguay,' In: Proc. APS-CPS Joint Meeting, Minneapolis, MN, Poster-297, 2014.
- [110] FRAC, *Mode of Action of Fungicides*. (2014). Erişim Tarihi: 04.04.2021. Online publication. <http://www.frac.info/publications/downloads>.
- [111] D. R. Walters, N. D. Havis, C. Sablou, and D. J. Walsh, 'Possible trade-off associated with the use of a combination of resistance elicitors,' *Physiological and Molecular Plant Pathology*, vol. 75, no. 4, pp. 188-192, 2011.
- [112] I. A. Erreguerena, F. J. Quiroz, M. R. A. Montoya, C. A. Maringolo, N. Lazzaro, and F. Gimenez, 'Ventana de protección para el control químico de *Ramularia collo-cygni* y *Rhynchosporium secalis* en cebada en el sudeste bonaerense,' *Resúmenes III Cong. Argentino Fitopatol. San Miguel de Tucumán, Argentina*, 2014.
- [113] M. Hess, H. Sghyer, H. Hausladen, and S. Weigand, 'Studying the epidemiology of *Ramularia collo-cygni* for the improvement of an Integrated Pest Management system in a changing climate,' In: Proc. 11th Conf. Eur. Found. Plant Pathol, Poland, 2014.
- [114] N. D. Havis, L. Paterson, J. M. G. Taylor, and D. R. Walters, 'Use of resistance elicitors to control *Ramularia collo-cygni* in spring barley,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 127-132, 2009a.
- [115] D. R. Walters, A. Avrova, I. J. Bingham, F. J. Burnett, J. Fountaine, N. D. Havis, S. P. Hoad, G. Hughes, M. Looseley, S. J. P. Oxley, A. Renwick, C. F. E Topp, and A. C. Newton, 'Control of foliar diseases in barley: towards an integrated approach,' *European Journal of Plant Pathology*, vol. 133, no. 1, pp. 33-73, 2012.
- [116] N. D. Havis, M. Nyman, and S. J. P. Oxley, 'Potential of seed treatment to control *Ramularia collo-cygni* in barley,' In: The Dundee Conference, Crop Protection in Northern Britain, Dundee, UK, pp. 97-102, 2010.
- [117] M. Kaczmarek, M. J. Piotrowska, J. M. Fountaine, K. Gorniak, G. R. D. McGrann, A. Armstrong, K. M. Wright, A. C. Newton, and N. D. Havis, 'Infection strategy of *Ramularia collo-cygni* and development of ramularia leaf spot on barley and alternative graminaceous hosts,' *Plant Pathology*, vol. 66, no. 1, pp. 45-55, 2017.

- [118] B. Korić, Z. Tomić, M. Šimala, and T. M. Milek, 'Ramularia leaf spot on barley in the Republic of Croatia,' Zbornik predavanj in referatov 9. Slovenskega Posvetovanja o Varstvu Rastlin, Nova Gorica, Slovenije, pp. 273-279, 2009.
- [119] N. D. Havis, F. Burnett, G. Hughes, and T. Yoxall, 'Development of a risk forecast model for the barley disease Ramularia leaf spot,' In: Proc. Future IPM Eur. Conf. Riva del Garda, Italy, 2013.
- [120] J. E. Sheridan, 'Cereal diseases 1999-2000 (including pea diseases and gooseberry mildew) disease survey and disease control in the Wairarapa, New Zealand,' Mycology and Plant Pathology Report, 37. 2000.
- [121] A. Leistrumaite and Z. Liatukas, 'Resistance of spring barley cultivars to the new disease Ramularia leaf spot, caused by *Ramularia collo-cygni*,' *Agronomy Research*, vol. 4, pp. 251-255, 2006.
- [122] S. J. P. Oxley, J. K. M. Brown, and N. D. Havis, 'Impact and interactions of *Ramularia collo-cygni* and oxidative stress in barley,' Project Report No. 431, 2008.
- [123] P. Matušinsky, M. Hanusová, L. Stemberková, P. Mařík, V. Minaříková, L. Tvarůžek, I. Langer, and T. Spitzer, 'Response of spring barley cultivars to Ramularia leaf spot in conditions of the Czech Republic,' *Cereal Research Communications*, vol. 41, no. 1, pp. 126-132, 2013.
- [124] I. H. Jørgensen, 'Discovery, characterization and exploitation of Mlo powdery mildew resistance in barley,' *Euphytica*, vol. 63, no. 1, pp. 141-152, 1992.
- [125] H. O. Pinnschmidt and S. A. Sindberg, 'Assessing Ramularia leaf spot resistance of spring barley cultivars in the presence of other diseases,' *Aspects of Applied Biology*, vol. 92, pp. 71-80, 2009.
- [126] R. L. Hjortshøj, 'Improving resistance to Ramularia leaf spot in barley,' Ph.D. thesis, Aarhus University, Denmark, 2012.
- [127] D. Tilman, 'Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices,' *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 96, no. 11, pp. 5995-6000, 1999.
- [128] E. H. Stukenbrock and B. A. McDonald, 'The origins of plant pathogens in agroecosystems,' *Annual Review of Phytopathology*, vol. 46, pp. 75-100, 2008.
- [129] D. W. Hollomon and K. J. Brent, 'Combating plant diseases—the Darwin connection,' *Pest Management Science*, vol. 65, no. 11, pp. 1156-1163, 2009.
- [130] J. M. Cornuet and G. Luikart, 'Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data' *Genetics*, vol. 144, no. 4, pp. 2001-2014, 1996.
- [131] J. Wakeley, *Coalescent theory: an introduction*. Roberts and Company, Greenwood Village, No. 575: 519.2 WAK, 2009.
- [132] B. A. McDonald and C. Linde, 'Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance,' *Annual Review of Phytopathology*, vol. 40, no. 1, pp. 349-379, 2002.