

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Kamil SARP KAYA

**ANTEPFISTIĞINDA KARAZENK HASTALIĞINA NEDEN OLAN
Pseudocercospora pistacina'nın BİYOLOJİSİ, EPİDEMİYOLOJİSİ VE
MÜCADELESİNE YÖNELİK ÇALIŞMALAR**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2014

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTEPFISTIĞINDA KARAZENK HASTALIĞI ETMENİ
Pseudocercospora pistacina'nın BİYOLOJİSİ, EPİDEMİYOLOJİSİ VE
MÜCADELESİNE YÖNELİK ÇALIŞMALAR**

Kamil SARP KAYA

DOKTORA TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez 19/09/2014 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof . Dr. Ali ERKİLİÇ
DANIŞMAN

.....
Prof Dr. Yeşim AYSAN
ÜYE

.....
Prof. Dr. Şener KURT
ÜYE

.....
Doç. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr. D. Soner AKGÜL
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: ZF-2009-D09**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere
tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

**ANTEPFISTIĞINDA KARAZENK HASTALIĞINA NEDEN OLAN
Pseudocercospora pistacina'nın BİYOLOJİSİ, EPİDEMİYOLOJİSİ VE
MÜCADELESİNE YÖNELİK ÇALIŞMALAR**

Kamil SARP KAYA

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof . Dr. Ali ERKİLİÇ
Yıl: 2014, Sayfa: 127
Jüri : Prof . Dr. Ali ERKİLİÇ
: Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Prof Dr. Şener KURT
: Doç Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA
: Yrd. Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL

Antepfıstığında verimliliği kısıtlayan en önemli sorunlardan biri olan Karazenk hastalığı ile ilgili yürütülen bu çalışmada, öncelikle hastalık etmeni *Pseudocercospora pistacina* Crous, Quadv.& Sarpkaya olarak yeniden tanımlanmıştır. Hastalık yaygınlığının ülke genelinde 2009'da %47,5, 2010'da %42,5 ve 2011'de ise %55,2 olduğu belirlenmiş, üretimin yoğun olarak yapıldığı Gaziantep, Şanlıurfa ve Siirt illerinde hastalık yaygınlığının diğer illere göre daha düşük olarak tespit edilmiştir. Standart bazı antepfıstığı çeşitlerinin Karazenk hastalığına karşı reaksiyonlarının belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmalarda, dişi çeşitlerden Kırmızı ve Uzun çeşitlerinin sırasıyla %80,5 ve %78,9, erkek çeşitlerden ise Kaşka'nın %73,7 oranla, diğer çeşitlere göre hastalığa daha hassas oldukları belirlenmiştir. Patojenin *in vitro* infeksiyon koşullarının belirlenmesi çalışmalarında, yaprak ıslaklığı ve sıcaklığın hastalık için oldukça önemli olduğu, hastalık oluşumunda en az 12 saat yaprak ıslaklığının gerektiği belirlenmiştir. Bununla birlikte 24°C ve 30°C lerin hastalık oluşumunda en etkili sıcaklıklar olduğu tespit edilmiştir. Karazenk hastalığı mücadelesinde yaygın olarak kullanılan bazı fungusitlerin etkinlikleri ile ilgili yapılan çalışmalarda; koruyucu olarak kullanılan bakır oksiklorür ve dodine'in patojenin infeksiyonundan sonra etkinliklerinin düştüğünü, sistemik etkiye sahip propiconazole + difenoconazole içeren fungusitin ise ilk belirtilerin görüldüğü dönemlerde kullanılması durumunda dahi %77,5 oranında hastalık kontrolü sağladığı ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Pseudocercospora pistacina*, Karazenk, Antepfıstığı, Kimyasal Mücadele, Epidemiyoloji

ABSTRACT

PhD THESIS

STUDIES ON BIOLOGY, EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *Pseudocercospora pistacina* ON PISTACHIO

Kamil SARP KAYA

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

Supervisor : Prof. Dr. Ali ERKILIÇ
Year: 2014, Pages: 127
Jury : Prof . Dr. Ali ERKILIÇ
: Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Prof Dr. Şener KURT
: Assoc. Prof. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA
: Asst. Prof. Dr. Davut Soner AKGÜL

Leaf spot disease, called as “Karazenk”, is one of the most significant disease that effects yield in Pistachio production in Turkey. First of all, it was aimed to determine the causal agent of disease which was misnamed taxonomically and was renamed as *Pseudocercospora pistacina* Crous, Qadv. & Sarpkaya. Survey studies that were conducted in the years of 2009, 2010 and 2011 in Turkey revealed 47,5%, 42,5%, 55,2% of disease prevalence, respectively. The disease was seen less in Gaziantep, Şanlıurfa and Siirt, which are common producer provinces in Turkey, than the other regions. Studies focused to determine the reactions of Pistachio varieties to Karazenk disease shown that Kırmızı and Uzun varieties as females and Kaşka as male were more sensitive compared to other varieties with ratios of 80,5%, 78,9%, 73,7%, respectively. In studies conducted to define the in vitro infection conditions of the pathogen, leaf wetness was found to be highly effective and that at least 12 h leaf wetness was determined to be required for initial infection. On the other hand, it was observed that 24°C and 30°C were favored for disease progress. Some registered fungicides were also experimented in vitro and in vivo in this study. It was found that effects of copper oxychlorur and dodine, known as preservative fungicides, were ineffective if they were sprayed after the infection. However, propiconazole + difenoconazole, which have systemic effect, was effective to control the disease even if it was used after first symptom seen on the leaves.

Key Words: *Pseudocercospora pistacina*, Karazenk, Pistachio, Chemical Control, Epidemiology

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca, bilgi ve birikimleriyle her konuda yardımcı olan ve beni yönlendiren, değerli zamanını ayırarak çalışmayı sabır ve itina ile inceleyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ali ERKİLİÇ'a özellikle teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Bilimsel çalışma disiplini bana kazandıran, her zaman ve her koşulda bir konuya farklı bir bakış açısı ile bakılmasını gerektiğini bana aşıl原因an Prof. Dr. Canan CAN'a özellikle teşekkür etmek isterim.

Temel bilimsel eğitimi aldığım ve lisans düzeyinden başlayarak birçok şeyi öğrendiğim Sayın Prof. Dr. Namık Kemal KOÇ'a, tez jürimde yer alan ve her zaman soru(n)larımı sabırla dinleyerek beni yönlendiren Prof. Dr. Şener KURT'a, elektron mikroskopi çalışmalarıyla destek olan Prof. Dr. Soner SOYLU hocama, çalıştığım kurumda tüm mesai arkadaşlarım ile birlikte tezimin büyük bölümünde ciddi yardım ve emeklerini gördüğüm M. Agah AKTAN başta olmak üzere, H. Cem BİLİM, Abdulcebbar DENİZ ve Mehmet ÇITAK'a özel teşekkürlerimi belirtmek isterim.

Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından maddi desteklenen doktora çalışmamın, her yıl program değerlendirme toplantılarında değerli katkıları ile yönlendiren tüm grup üyesi Hocalarım ve Arkadaşlarıma da teşekkürü bir borç bilirim.

Eğitim hayatım boyunca, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen (rahmetli) ANNEM'e, BABAM'a, ablam Tuğba ATAK'a, diğer tüm aile bireylerim ile doktora çalışmamda sabırla beni motive eden abim Zübeyir SARP KAYA'ya teşekkür ederim.

Diğer yandan doktora eğitimim boyunca, her zaman yanımda olan, tüm aşamalarında her yönden destek olan ve yılmadan beni motive eden Değerli Eşim Çiğdem SARP KAYA'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
2.1. Antepfıstığı Üretimi ve Önemi	9
2.2. Fungus Dünyasında <i>Septoria</i> Cinsinin Yeri ve Önemi	11
2.3. Antepfıstığında <i>Septoria</i> Hastalıkları.....	13
2.4. Ülkemizde Karazenk Hastalığı Konusunda Yapılan Çalışmalar	17
2.5. Bitki Hastalıklarının Epidemiyolojisi Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	18
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Çalışma Alanları ve Hastalık Yaygınlığı Belirlenmesi.....	21
3.2. Patojenin İzolasyonu ve İzolatların Uzun Süreli Muhafazaları	22
3.3. Patojenin Tanımlanması ve Biyolojisi	23
3.3.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları.....	24
3.3.2. Elektron Mikroskopi Çalışmaları.....	25
3.3.3. Patojenin Biyolojisinin Belirlenmesi	26
3.4. Patojenisite Çalışmaları.....	26
3.5. <i>In vitro</i> 'da Patojenin Sporulasyonu, Miseliyal Gelişmesi, Piknidium Oluşumu ve Pikniospor Çimlenmesi Üzerine Etki Eden Faktörlerin Tespit Edilmesi	28
3.6. Bazı Fungisitlerin <i>In vitro</i> 'da <i>P. pistacina</i> Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	29
3.7. Fungisitlerin Antepfıstığı Fidanlarında İnfeksiyon Oluşumu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	30

3.8. Bazı Antepfıstığı Çeşitleri ile Yabani Bazı <i>Pistacia</i> Türlerinin Karazenk Hastalığına Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi.....	35
3.9. <i>In vitro</i> 'da Patojenin İnfeksiyon Koşullarının Belirlenmesi.....	38
3.10. İklimsel Veriler, Spor Miktarı ve İnfeksiyon Oluşumunun Saptanması.....	39
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	43
4.1. Hastalık Yaygınlığının Belirlenmesi.....	43
4.2. Patojenin İzolasyonu	51
4.3. Patojenin Tanımlanması ve Biyolojisi	53
4.4. Patojenisite Çalışmaları.....	62
4.5. <i>In vitro</i> 'da Miseliyal Gelişme, Piknidium oluşumu ve Pikniospor Çimlenmesi Üzerine Etki Eden Faktörlerin Tespit Edilmesi.....	65
4.6. Standart Bazı Antepfıstığı Çeşitlerinin Karazenk Hastalığına Karşı Reaksiyonları	68
4.7. Bazı Fungisitlerin <i>In vitro</i> 'da <i>P. pistacina</i> Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	74
4.8. Bazı Fungisitlerin Antepfıstığı Fidanlarında Karazenk Hastalığı İnfeksiyonları Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	79
4.9. <i>In vitro</i> 'da Patojenin İnfeksiyon Koşullarının Belirlenmesi	86
4.10. İklimsel Veriler, Spor Miktarı ve İnfeksiyon Oluşumunun Saptanması.....	94
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	101
KAYNAKLAR.....	107
ÖZGEÇMİŞ.....	119
EKLER.....	120

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	Çalışmanın Yürütüldüğü İller ve İlçeleri	21
Çizelge 3.2.	Karazenk Hastalığı Etmeninin İzolasyonunda Kullanılan Farklı Yöntemler	22
Çizelge 3.3.	Johansen Karışımlarının Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasallar ve Yüzde Karışıma Göre Kullanılan Miktarlar	25
Çizelge 3.4.	Fungisit Etkinlik Denemelerinde Kullanılan Kimyasallar ve Özellikleri	29
Çizelge 3.5.	<i>In vitro</i> Fungisit Etkinlik Denemelerinde Kullanılan Fungisitler ve Dozları (Ticari Preparat)	30
Çizelge 3.6.	Antepfıstığında Karazenk Hastalığı Değerlendirme Skalası (Anonim, 1996)	34
Çizelge 4.1.	Ülkemiz Antepfıstığı Üretim Alanlarında Karazenk Hastalığının 2009 Yılında Yapılan Sörveyler Sonucunda Belirlenen Yaygınlık Oranları (%).....	44
Çizelge 4.2.	Ülkemiz Antepfıstığı Üretim Alanlarında Karazenk Hastalığının 2010 Yılında Yapılan Sörveyler Sonucunda Belirlenen Yaygınlık Oranları (%).....	46
Çizelge 4.3.	Ülkemiz Antepfıstığı Üretim Alanlarında Karazenk Hastalığının 2011 Yılında Yapılan Sörveyler Sonucunda Belirlenen Yaygınlık Oranları (%).....	48
Çizelge 4.4.	Yıllara ve Bölgelere Hastalık Yaygınlığı (%)	49
Çizelge 4.5.	Karazenk Hastalığı Etmeninin İzolasyonunda Kullanılan Farklı Yöntemler Ve Elde Edilen Sonuçlar	52
Çizelge 4.6.	<i>P. pistacina</i> Pikniosporlarının En ve Boy Ölçümleri	65
Çizelge 4.7.	<i>P. pistacina</i> 'nın <i>In vitro</i> 'da Işıklanma Durumuna Göre Pikniospor Çimlenmeleri (%).....	67
Çizelge 4.8.	Farklı Besiyerlerinin ve Sıcaklığın <i>In vitro</i> 'da Pikniospor Çimlenmesi Üzerine Etkileri (%).....	70

Çizelge 4.9. Standart Bazı Antepfıstığı Çeşitlerinde Hastalık Şiddeti (%) (2011 ve 2012 yılı)	72
Çizelge 4.10. Farklı Uygulama Yöntemlerine Göre Farklı Etki Grubunundan Fungusitlerin Hastalık Gelişimini İnhibisyonu (Mayıs ve Eylül 2011).....	80
Çizelge 4.11. Farklı Yaprak Islaklık Süreleri ve Sıcaklıkların Antepfıstığı Fidanlarında P. pistacina İnfeksiyonu Üzerine Etkileri (2011 yılı)	87
Çizelge 4.12. Farklı Yaprak Islaklık Süreleri ve Sıcaklıkların AntepfıstığıFidanlarında P. pistacina İnfeksiyonu Üzerine Etkileri (2012 yılı)	89

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. Dünyada Ortalama Antepfıstığı Üretimini Ülkelere Göre (%) Dağılımı (2008-2012)	1
Şekil 1.2. Türkiye’de Antepfıstığı Ağaç Sayısının ve Üretim Miktarlarının Bölgelere Göre Dağılımı (%)	2
Şekil 1.3. Ülkemizde Antepfıstığı Üretim Alanları ve Yoğunluklarının Dağılımları	3
Şekil 1.4. Karazenk Hastalığının Antepfıstığı Bahçelerinde Yaptığı Zarar	5
Şekil 3.1. Miseliyal Kitlenin Bir Ataç Yardımıyla Tutturularak Yaprağa İnokulasyonu	27
Şekil 3.2. Spor Süspansiyonun Püskürtülerek Antepfıstığı Çöğürlerine Uygulanması ve İnfeksiyon İçin Polietilen Torbalarla Kapatılması	28
Şekil 3.3. İnokulasyon Öncesi Fidanlara Fungisit Uygulaması	32
Şekil 3.4. Hazırlanan Spor Süspansiyonunun Antepfıstığı Fidanlarına İnokulasyonu	32
Şekil 3.5. Fidanların Patojen İle İnokulasyondan Sonra Polietilen Torbalarla Kapatılması	33
Şekil 3.6. Konularına Göre Uygulama Yapılmış Fidanların Genel Görünümü	33
Şekil 3.7. Hazırlanan İnokulumun 25 Yaşlı Antepfıstığı Ağaçlarına İnokulasyonu	36
Şekil 3.8. İnokulasyon Sonrası Dalların Naylon Torbalarla Kapatılması	37
Şekil 3.9. Antepfıstığı Çöğürlerinin Yapraklarının Islatılması	38
Şekil 3.10. Belirlenen Süreler Sonunda Yaprakların Kurutulması	39
Şekil 3.11. Besni İlçesi Köseceli Köyü Üretici Bahçesinde Kurulan İklim İstasyonu, Spor Yakalama Tuzakları ve Tuzak Fidanlar.....	40
Şekil 3.12. Spor Yakalama Tuzağı, Polipropilen Çubuklar ve Taşıyıcı Kap	41
Şekil 4.1. Yıllara Göre Türkiye Geneli Hastalık Yaygınlık Ortalamaları (%).....	50
Şekil 4.2. Hazırlanan Spor Süspansiyonunda Patojenin Su Agar Ortamında Çimlenmesi	53

Şekil 4.3. Ülkemiz Antepfıstığı Alanlarında Karazenk Hastalığına Neden Olan <i>Septoria</i> Türleri (A: <i>S. pistacina</i> All. B: <i>S. pistaciarum</i> Carac.)	54
Şekil 4.4. Karazenk Hastalığının Yapraklarda Oluşturduğu Lekeler	56
Şekil 4.5. Karazenk Hastalığının Meyvelerde Oluşturduğu Lekeler.....	57
Şekil 4.6. <i>P. pistacina</i> 'nın Piknidium Yatakları (A: Işık mikroskobu 10x B: Elektron mikroskobu SEM).....	58
Şekil 4.7. <i>P. pistacina</i> 'nın Işık Mikroskobu Altında Konidioforları (40x).....	59
Şekil 4.8. <i>P. pistacina</i> 'nın Işık Mikroskobu Altında Konidiogen Hücreleri (100x)	59
Şekil 4.9. <i>P. pistacina</i> 'nın Elektron Mikroskobunda (SEM) Altında Konidileri (Pikniosporlar).....	60
Şekil 4.10. Kışın Dökülen Yapraklar Üzerinde <i>P. pistacina</i> 'nın Piknidiumları	63
Şekil 4.11. Antepfıstığı Yapraklarında <i>P. pistacina</i> 'nın Miselyumları İle Yürütülen Patojenisite Çalışması Sonucu	63
Şekil 4.12. Antepfıstığı Yapraklarında <i>P. pistacina</i> 'nın Piknisporları ile Gerçekleştirilen İnfeksiyonlar	64
Şekil 4.13. Antepfıstığı Yapraklarında <i>P. pistacina</i> Miselyumlarının Oluşturduğu Nekrozlar ve Pikniosporlar İle Gerçekleşen İnfeksiyonlar..	66
Şekil 4.14. <i>P. pistacina</i> 'nın Farklı Fotoperiyotlarda Gelişimi	67
Şekil 4.15. Farklı pH Derecelerinin <i>P. pistacina</i> 'nın % Pikniospor Çimlenmesine Etkisi	70
Şekil 4.16. Standart Erkek Antepfıstığı Çeşitlerinde Hastalık Şiddeti (A-Kaşka B- Atlı).	71
Şekil 4.17. Standart Dişi Antepfıstığı Çeşitlerinde Hastalık Şiddeti (A-Uzun B- Halebi).....	72
Şekil 4.18. Yeni Selekte Edilen Dişi Antepfıstığı Çeşitlerinden Barak Yıldızı (A) ve Tekin (B) Fidanlarında Hastalık Şiddeti	74
Şekil 4.19. Bakıroksiklorür'un <i>In vitro</i> 'da <i>P. pistacina</i> Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri	75
Şekil 4.20. Bakıroksiklorür'ün Farklı Dozlarının <i>In Vitro</i> 'da <i>P. pistacina</i> 'nın Spor Çimlenmesi Üzerine Etkileri	76

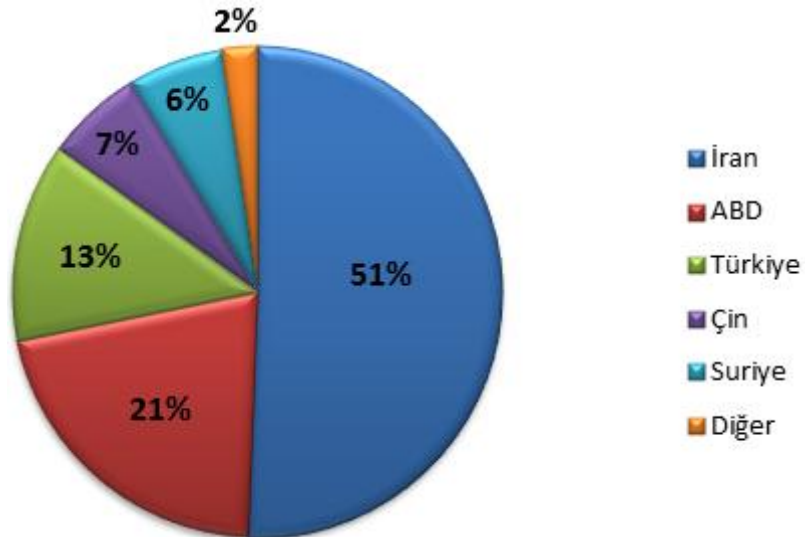
Şekil 4.21. Dodine'in <i>In vitro</i> 'da <i>P. pistacina</i> Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri.....	76
Şekil 4.22. Dodine'in Farklı Dozlarının <i>In Vitro</i> 'da <i>P. pistacina</i> 'nın Spor Çimlenmesi Üzerine Etkileri	77
Şekil 4.23. Propiconazole+Difenoconazole'ün <i>In vitro</i> 'da <i>P. pistacina</i> Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri.....	78
Şekil 4.24. Propiconazole+Difenoconazole'ün Farklı Dozlarının <i>In Vitro</i> 'da <i>P. pistacina</i> Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri.....	81
Şekil 4.25. Karazenk Hastalığında Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Fungisitlerin Farklı Uygulama Zamanlarına Göre Etkinlikleri (%).....	82
Şekil 4.26. Propiconazole + Difenoconazole'ün Farklı Uygulama Zamanlarına Göre Etkinliği (A: İnokulasyondan Bir Gün Önce, B: İnokulasyondan Bir Hafta Sonra, C: İlk Simptomlar Görüldüğünde, D: Kontrol)	83
Şekil 4.27. Bakır Oksiklorür'ün Farklı Uygulama Zamanlarına Göre Etkinliği (A: İnokulasyondan Bir Gün Önce, B: İnokulasyondan Bir Hafta Sonra, C: İlk Simptomlar Görüldüğünde, D: Kontrol)	84
Şekil 4.28. Dodine'in Farklı Uygulama Zamanlarına Göre Etkinliği (A: İnokulasyondan Bir Gün Önce, B: İnokulasyondan Bir Hafta Sonra, C: İlk Simptomlar Görüldüğünde, D: Kontrol).....	85
Şekil 4.29. Farklı Fungisitlerin Uygulamada Etkinlik Bakımından Karşılaştırılması (%)	88
Şekil 4.30. Yaprak Islaklık Sürelerine Göre Farklı Sıcaklıkların <i>P. pistacina</i> İnfeksiyonları Üzerine Etkileri (2011 Yılı).....	89
Şekil 4.31. Yaprak Islaklık Sürelerine Göre Farklı Sıcaklıkların <i>P. pistacina</i> İnfeksiyonları Üzerine Etkileri (2012 Yılı).....	90
Şekil 4.32. Farklı Yaprak Islaklık Sürelerinde ve 24°C Sıcaklıkta <i>P. pistacina</i> infeksiyonları	91
Şekil 4.33. Farklı Sıcaklıkların Antepfıstığı Fidanlarında Hastalık Şiddetine Etkileri.....	91
Şekil 4.34. 2009 Yılı Besni-Köseceli Lokasyonu Vejetasyon Dönemi İklim Verileri ve m ³ Havada Spor Uçuş Miktarları.....	95

Şekil 4.35. 2009 Yılı Köseceli Lokasyonu Spor Uçuşları İle Ortalama Sıcaklığın Aylara Göre Dağılımı.....	96
Şekil 4.36. 2009 Yılı Köseceli Lokasyonu Spor Uçuşları İle Nispi Nemin (%) Aylara Göre Dağılımı.....	96
Şekil 4.37. 2010 Yılı Besni-Köseceli Lokasyonu Vejetasyon Dönemi İklim Verileri ve m ³ Havada Spor Uçuş Miktarları	97
Şekil 4.38. 2010 Yılı Köseceli Lokasyonu Spor Uçuşları İle Ortalama Sıcaklığın Aylara Göre Dağılımı.....	98
Şekil 4.39. 2010 Yılı Köseceli Lokasyonu Spor Uçuşları İle Nispi Nemin (%) Aylara Göre Dağılımı.....	98
Şekil 4.40. Spor Yakalama Çubukları Üzerinde Yakalanmış P. pistacina'nın Pikniosporları	99

1. GİRİŞ

Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.), bileşiminde bulunan zengin maddeler nedeniyle, insan vücudunun besin gereksinimlerini karşılayabilecek önemli bir fonksiyonel gıdadır. Antepfıstığı gıda olarak kabuklu çerezlik tüketiminin yanı sıra şekerleme ve tatlı sanayinde (özellikle baklava içeriği olarak), dondurma yapımında kullanılmaktadır. Ayrıca, aroma katkısı olarak da çeşitli endüstriyel alanlarda geniş ölçüde kullanım alanı bulunmaktadır (Tokuşoğlu, 2007).

Antepfıstığı üretimi kuzey ve güney yarım kürelerinin 30-45⁰ paralellerinin uygun mikro iklimlerinde yapılmaktadır. Antepfıstığında gözlenen periyodisite, yıllara göre üretimde dalgalanmalara neden olmaktadır. Bu nedenle Dünya geneli üretim oranı, ortalama üretim miktarlarına bakılarak değerlendirilmektedir (Tekin ve ark., 2001). 2008-2012 yılları arası FAO verilerine göre İran'da 456.827 ton, ABD'de 191.259 ton ve Türkiye'de ise 118.382 ton üretim yapılmaktadır (FAO, 2014). Bu açıdan bakıldığında İran, ABD ve Türkiye antepfıstığı üretiminde söz sahibi ülkelerdir.



Şekil 1.1. Dünyada Ortalama Antepfıstığı Üretiminin Ülkelere Göre (%) Dağılımı (2008-2012)

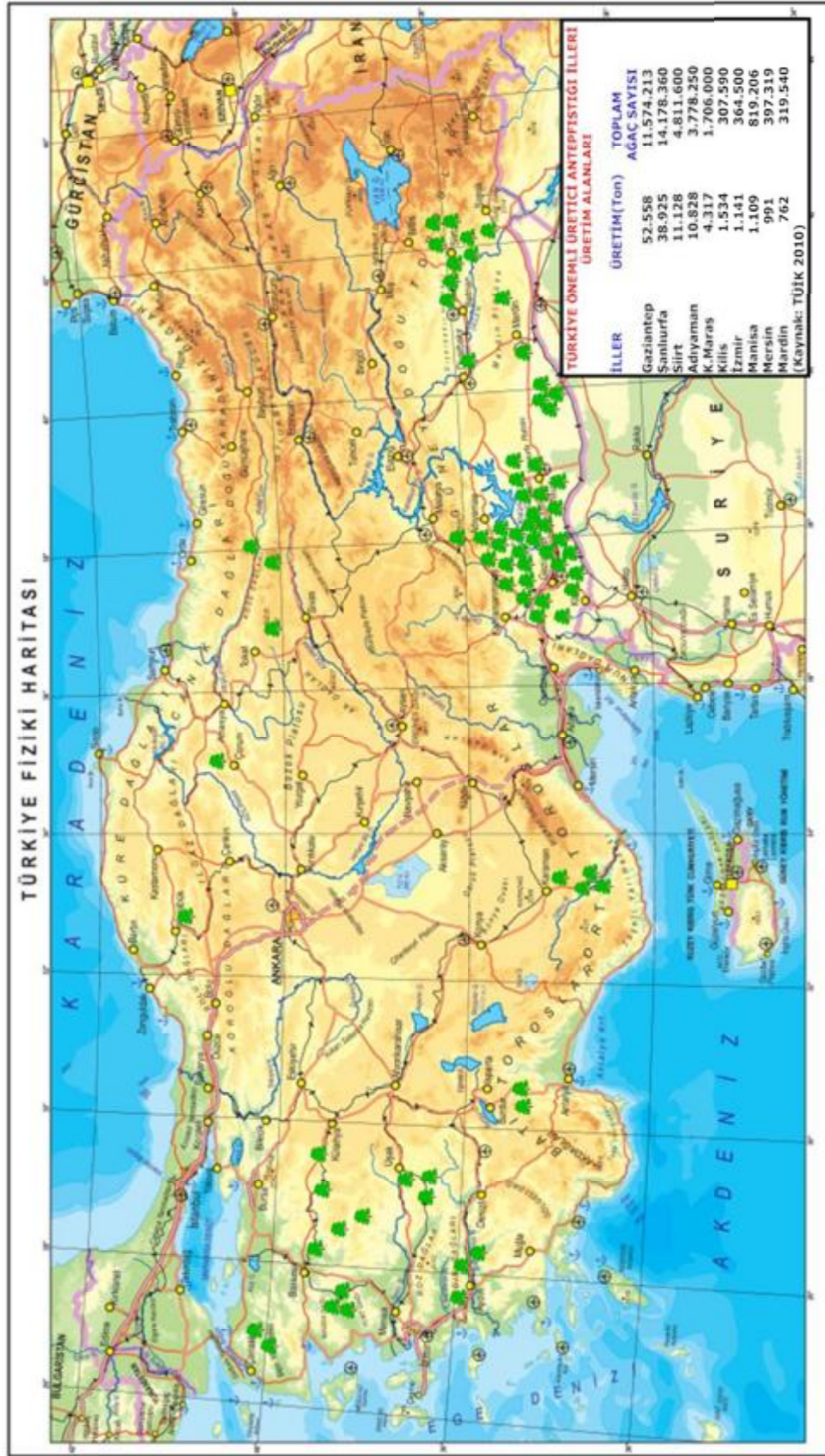
Türkiye'de antepfıstığı yetiştiriciliği, üretim şartları ve gelenekselliği ile birlikte ağırlıklı olarak Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yoğunlaşmıştır.

Yetiştiricilik geçmişine ve tarihe bakıldığında yüzyıllardır bölgede antepfıstığı üretiminin yapıldığı bilinmektedir. Arkeolojik kazılardan elde edilen bulgularda antepfıstığı tarihinin MÖ 7000 yıllarına kadar uzandığı saptanmıştır (Anonim, 2002). Güneydoğu Anadolu Bölgesi, antepfıstığı ağaç sayısının %90'ı, üretim alanının ise %92'si bu bölge tarafından gerçekleştirilmektedir (Şekil 1.2). Antepfıstığı ülkemizde yoğun olarak Fırat vadisinde, özellikle Nizip, Birecik, Oğuzeli, Karkamış, Halfeti, Araban, Bozova, Besni ve Pazarcık ilçelerinde yetiştirilmektedir. Bu üretim alanlarının ortak noktası Fırat nehridir. Bazı ova ve vadilerde üretim alanı farklı olsa da Fırat nehrinin 30-40 km doğu ve batısında antepfıstığı üretimi yoğunlaşmıştır (Arpacı,2013).



Şekil 1.2. Türkiye'de Antepfıstığı Ağaç Sayısı ve Üretiminin Bölgelere Göre Dağılımı (%)

Bununla birlikte Çiftçi Kayıt Sistemine dayalı istatistik verilerine bakıldığında ise ekonomik anlamda 42 ilde antepfıstığı yetiştiriciliğinin yapıldığı görülmektedir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Ülkemizde Antepfisiği Üretim Alanları ve Yoğunluklarının Dağılımları

Antepfıstığı üretiminde söz sahibi olan ülkeler arasında üretimi yapılan çeşitler bakımından farklılıklar bulunmaktadır. İran ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde "Yuvarlak Grup" meyveler ile Türkiye'de ise "Uzun Grup" meyveler ile üretim yapılmaktadır. Çerezlik tüketimde çok önemli faktör olan çıtılama aralığı yuvarlak meyvelerde daha fazladır. Diğer yandan uzun grubu meyvelerde ise bu aralık daha az veya kapalıdır. Bu nedenle Uzun grubu meyveler, aromasının daha fazla olması ve yeşil içlilikten dolayı şekerleme ve çikolata sanayinde yoğun olarak tercih edilmektedir (Bilgen, 1973; Tekin ve ark. 2001; Atlı ve ark. 2011; Açar ve ark. 2011; Arpacı ve Açar, 2012).

Yetiştiricilik şartları ve üretimi yapılan meyve grupları arasındaki farklılık, dünyada antepfıstığı üretimi yapılan ülkeler arasındaki hastalıklar açısından da önemli düzeyde farklılığı beraberinde getirmektedir.

Antepfıstığında verimliliği ve kaliteyi etkileyen önemli faktörler bulunmaktadır. Bu faktörlerin başında farklı biyotik etmenlerin yol açtığı hastalık ve zararlılar gelmektedir. IPGRI (The International Plant Genetic Resources Institute) tarafından yayınlanan "Descriptors for Pistachio" kitabında, Antepfıstığı'nda 69 fungal etmenin saptandığı, bunlardan 27'sinin ise ekonomik olarak sorun olan hastalıklar meydana getirdiği bildirilmektedir (Anonim, 1997).

Dünyada önemli üretici ülkelerden olan İran'da, *Phytophthora* spp. ve *Nematospora coryli* en yaygın hastalık etmenleri olarak bildirilmiştir (Sheibani, 1995). *Phytophthora* türlerinden ise *P. citrophthora* en yaygın bulunan tür olarak belirtilmiş, bununla birlikte *P. drechsleri*, *P. cryptogea* ve *P. nicotianae*'nin de antepfıstığında zamklanma ve taç çürüklüğüne neden olduğu bildirilmiştir (Benihashemi, 1995). Bununla birlikte gerek sulu şartlarda üretim yapılması ve gerekse de yuvarlak çeşitlerin çıtılak aralığının daha fazla olması nedeniyle *Aspergillus* türleri nedeniyle Aflatoksin problemi de en önemli sorun olarak belirtilmektedir (Suzangar ve ark., 1976; Emami ve ark., 1977; Mojthahedi ve ark., 1978; Mirabolfathy, 1981; Esmailpour ve ark., 2000; Moradi ve Ershad, 2000).

Michailides (2007)'e göre ABD'de en yaygın olarak görülen hastalıkların, *Botryosphaeria dothidea* tarafından neden olunan Salkım ve sürgün yanıklığı, *Verticillium dahliae* tarafından neden olunan *Verticillium* çürüklüğü, *Alternaria* spp.

tarafından neden olunan *Alternaria* geç yanıklık hastalığı ve *Botryotinia fuckeliana* (= *Botrytis cinerea*) tarafından neden olunan Çiçek ve sürgün yanıklığı hastalıklarının en yaygın ve en önemli hastalıklar olduğu bildirilmiştir.

Ülkemizde ise, yetiştiricilikte önemli ülkeler, İran ve ABD'den farklı olarak, *Septoria* spp.'nin neden olduğu Karazenk hastalığı, antepfıstığı hastalıklarının entegre mücadelesinde ana hastalık olarak belirlenmiştir (Anonim, 2011). Çünkü Karazenk hastalığı, yaprakların fotosentez yüzeyinin azalmasına ve zamanla kurummasına, dökülmesine, meyvelerin iç doldurmamasına etki etmekte olup, diğer yandan ağacı zayıflatarak, gelecek yıllardaki verimin düşmesine de neden olmaktadır (Şekil 1.4). Bu hastalık ilk kez 1952 yılında Bremer tarafından Aydın, İzmir, Ankara ve Gaziantep'te tespit edilmiştir (Alkan, 1953). Hastalığın Türkiye'den başka Yunanistan, Çekoslovakya, Fransa, Kıbrıs, İsrail, Suriye, Irak, Fas, Rusya, ABD (Teksas) gibi ülkelerde de yer yer yaygın olup bu ülkelerde de zararlar meydana getirdiği rapor edilmiştir (Dinç, 1983). Ancak, diğer önemli üretici ülkeler olan İran ve ABD'de *Septoria* Yaprak Lekesi hastalığının lokal olarak bazı alanlarda görüldüğü bildirilmiştir (Teviotdale ve ark. 2002).



Şekil 1.4. Karazenk Hastalığının Antepfıstığı Bahçelerinde Yaptığı Zarar

Ülkemizde Karazenk hastalığı etmeni olarak *Septoria pistacina*, *S. pistaciarum* ve *S. pistaciae* mikroorganizmaları gösterilmesine rağmen, etmen tür net olarak ortaya konamamıştır. Dinç (1983)'e göre antepfıstığında görülen Karazenk hastalığı etmeni *S. pistacina* olarak bildirilirken, Eskalen ve ark., (2001) tarafından ise etmen *S. pistaciarum* olarak kaydedilmiştir. Teknik talimatlarda ise *S. pistaciae*'nin Karazenk hastalığını oluşturduğu belirtilmiştir (Anonim, 2011). Bununla birlikte yetiştiriciliğin yapıldığı alanlarda hastalık etmeni organizmanın *Pistacia* cinsine bağlı türlerin hangilerinde görüldüğü, yani konukçularının hangi tür ya da türler olduğunun belirlenmesi, bölgelere göre hastalık yaygınlığı ve standart antepfıstığı çeşit reaksiyonları üzerinde yapılmış herhangi bir çalışma bildirilmemiştir. Ayrıca, son zamanlarda ıslah edilen yeni tip ve çeşitlerin Karazenk hastalığına duyarlılıkları bilinmemektedir.

Hastalığın epidemiyolojisi ile ilgili en kapsamlı çalışma Dinç ve ark., (1979) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada hastalık için en önemli kriterin, enfeksiyonların meydana geldiği Nisan-Haziran ayları arasındaki yağış miktarının olduğu belirtilmiştir. Tatlı ve ark., (1999) ise öngörülen bu yağış verilerinin bölgesel olarak erken uyarı tahmin sistemlerinde kullanılıp kullanılamayacağı üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Söz konusu çalışma, Adıyaman (Besni), Diyarbakır, Şanlıurfa (Merkez ve Birecik)'te yürütülmüş olup, Besni ve Birecik'te tahmin uyarı sisteminin uygulanamayacağını belirtmişlerdir. Ancak bunun detayları ve uygulanamama nedenleri araştırılmamıştır.

Hastalığın bölgede varlığı ve zararı uzun yıllardan beri bilinmektedir. Üretimde ciddi verim ve kalite kayıplarına neden olabilen bu hastalığa karşı, yıllardır konvansiyonel fungusitlerle mücadele edilmektedir. Süregelen kimyasal uygulamalar sonrası, hastalık etmeni fungusun kullanılan kimyasallara karşı geliştirdiği direnç mekanizması ya da bu kimyasalların etkinliği de net olarak bilinmemektedir.

Karazenk hastalığının kimyasal mücadelesinde karşılaşılan en önemli sorunlarından birisi de, kullanılacak ilacın ne zaman uygulanması gerektiğidir. Patojenin enfeksiyon periyodunun uzun sürmesinden dolayı, çoğu zaman uygulanan kimyasallar ya patojenin bitkiye girişinden önce veya enfeksiyon periyodunda uygulanmaktadır. Diğer taraftan etki mekanizmalarına göre sistemik ya da kontakt

etkili kimyasalların, uygulama zamanlarına göre etkinlikleri de tam olarak bilinmemektedir. Etkinlik sürelerine göre erken yapılan uygulamalarda kimyasal mücadele başarısı düşebilmektedir.

Önceki yıllar da yapılan çalışmalardan anlaşılacağı üzere ülkemizde antepfıstığında Karazenk hastalığı ile ilgili olarak yeterli, net ve tatmin edici bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, öncelikli olarak Karazenk hastalığına neden olan etmen/etmenlerin tanımlanması, ülkemizde yetiştirilen çeşitlerin hastalığa karşı reaksiyonlarının belirlenmesi, hastalığın kimyasal mücadelesinde fungusit etkinliğinin araştırılması, etmenin biyolojisinin ve infeksiyon koşullarının saptanması ve böylece epidemiyolojisi açısından bazı kriterlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Antepfıstığı Üretimi ve Önemi

Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.), *Anacardiaceae* familyasına bağlı olup, Batı Asya ve Ortadoğu kökenlidir (Woodroof, 1967; Tous ve Ferguson, 1996).

Antepfıstığının anavatanı, kültür çeşitlerinin oluşum ve gelişim merkezi ve en önemli gen kaynağı, Küçük Asya, Kafkasya, İran ve Türkmenistan'ın yüksek kısımlarını içine alan Yakın Doğu bölgesidir. Birçok yabancı *Pistacia* türlerinin doğal ve yaygın olarak bulunduğu Orta Asya gen merkezinde antepfıstığı yetiştiriciliği günümüze kadar önemli bir gelişme gösterememiştir. Türkmenistan'ın Afganistan ve İran sınırında bulunan Bahtız Doğal Koruma Alanında 800 yıllık erkek ve dişi antepfıstığı ağaçlarına rastlanılmıştır (Açar ve Arpacı, 2011).

Dünya da sert kabuklu meyveler üretimine bakıldığında antepfıstığı; kaju fıstığı (%31), badem (%27), ceviz (%22) ve findıktan (%10) sonra % 8'lik oranla 5. sırada yer alır. Antepfıstığı üretimi batı Asya'dan doğuya kadar uzanır. Caruso (2005) tarafından bildirildiğine göre tarihi çağlardan bu yana antepfıstığı dünya da tüketilmekte ve değerli bir ürün olarak bilinmektedir. Hatta dini inanışlarda da değerli bir meyve olarak görülmüş ve İncil'de (Genesis-Yaratılış 43:11) bu durum anlatılmıştır. Tarihi süreçte Roma İmparatorluğu'nun yükselişi döneminde Akdeniz ülkeleri temel olmak kaydıyla İran, Irak, Türkiye, Yunanistan, Tunus ve İtalya'da üretim yaygınlaşmıştır (Fabbri ve Valenti, 1998; Kaşka, 2005). 20. yy da ise Kaliforniya ve Arizona'da yoğun üretim başlamış (Michailides ve ark. 1995), Avustralya (Facelli ve ark. 2005) ve Güney Afrika (Jooste, 2000) gibi ülkelerde de yetiştirilmeye başlanmıştır.

Türkiye'de antepfıstığı yetiştiriciliği iki şekilde yapılmaktadır. Birincisi *Pistacia* türlerinin bulunduğu alanların aşılama ile antepfıstığı üretimine kazandırılması, ikincisi ise plantasyon oluşturulan antepfıstığı bahçeleridir. Yabancı antepfıstığı türlerinden *Pistacia terebinthus*, *Pistacia khinjuk*, *Pistacia atlantica* ve *Pistacia palaestina* yaygın olarak Anadolu'da bulunmaktadır ve aşılansak kültür antepfıstığı bahçelerine dönüştürülmektedir (Arpacı, 2013).

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde iklim ve toprak yapısı antepfıstığının ekonomik olarak yetişmesine uygundur. Bu bölgede antepfıstığı yetiştiriciliği için çok büyük potansiyel vardır. Yıllık yağış 200-550 mm arasında değişmekte, güneye doğru gittikçe yağış azalmakta, bazı yıllar 200 mm' ye kadar düşmektedir. Bölgede 200 yıllık antepfıstığı bahçelerine ya da 650 yıllık yabanilere rastlanılmaktadır. Yağışın az olduğu yıllarda antepfıstığı ağaçları kendini korurken diğer tarım ürünleri daha büyük zarar görmektedir (Arpacı, 2013).

Antepfıstığı ilk olarak Eti'lerin yerleştikleri Güney Anadolu'da kültüre alınmış ve M.S. birinci yüzyılda Suriye valisi Vitellus tarafından Roma'ya götürüldüğü Plinius tarafından bildirilmiştir. Antepfıstığı buradan Afrika ve diğer Avrupa ülkelerine yayılmış ve daha o çağlarda kral sofralarına girmiş olması, iyi kültür çeşitlerinin bulunduğunu ve meyve değerinin bilindiğini göstermektedir (Özbek, 1978). Ülkemizde yapılan arkeolojik kazı çalışmalarında milattan en az 7 bin yıl öncesine ait antepfıstığı fosillerine rastlandığı ve bu meyvenin daha o dönemlerde insanlar tarafından tüketildiği belirtilmektedir (Ak, 2008).

Özbek (1978), 1940'lı yıllara kadar antepfıstığının Şam fıstığı olarak bilindiğini, Şam'da üretim yapılmamasına rağmen ticaretinin buradan yapılması nedeniyle adının yanlış olarak kullanıldığını, Gaziantep bölgesinde üretim yoğunluğu ve kültürünün eski olması nedeniyle ilk defa kendisinin antepfıstığı adını kullandığını, ondan sonra da derslerde ve kitaplarda bu adın kullanıldığını, böylece antepfıstığı adının tuttuğunu, Şam fıstığı adının unutulduğunu belirtmektedir.

Ülkemizin antepfıstığı üretiminin son 50 yılda geldiği nokta değerlendirildiğinde 1961 yılında 5280 ton olan üretim, düzenli artışlarla 2012 yılında 150 bin tona ulaşmıştır (FAO, 2012). Yıllık olarak izlendiğinde periyodisite, kuraklık veya düşük sıcaklıklar nedeniyle inişli çıkışlı üretim gerçekleşse de 10 yıllık dilimler halinde bakıldığında her 10 yılda %80'e yakın artış görülmektedir (Arpacı, 2013).

Ülkemiz antepfıstığı üretiminde Araştırma kurumları ve Üniversitelerde yapılan çalışmalar neticesinde tüplü fidan üretimi teknikleri (Arpacı ve ark., 1999) belirlenerek özel sektörde yaygın halde üretilmeye başlanmıştır. Bunun neticesinde antepfıstığında öteden beri bilinen geç meyveye başlama, bakım tekniklerinin de

uygulanması ile kısmen kısaltılmıştır. Tüplü fidan sonbaharda dikildiğinde hem arazide tutma oranı yüksek olmakta hem de birinci yılda ya da ikinci yılda aşılama başarılı olabilmekte (Arpacı ve Ak, 1999), çeşitlere bağlı olarak aşılama sonrası 2-5 yıl içinde ekonomik verim alınmaya başlamaktadır (Bilgen, 1973; Tekin ve ark. 2001; Atlı ve ark., 2011; Açar ve ark., 2011; Arpacı ve ark., 2012).

Ülkemizin değişik bölgelerinde *Pistacia* türlerinin asırlık ağaçlarına rastlamak mümkün olmaktadır. İzmir, Urla ve Çeşme’de taç genişliği 15 m’ye varan atlantik sakızı ağaçlarına rastlanıldığı gibi, Mersin’in Mut ilçesi, Adana’nın Karaisalı ilçesi, Denizli ve Muğla’da 100 yıllık veya daha fazla yaşlarda atlantik sakızlarına da rastlanmaktadır. Kahramanmaraş’ın Pazarcık ve Türkoğlu ilçelerinde, Sivas’ın Suşehri ve Giresun’un Şebinkarahisar ilçesinin Kelkit vadisinde bazı köylerde melengiç ve hibrit diyebileceğimiz atlantik sakızı (*Pistacia atlantica* Desf.) veya buttum (*Pistacia khinjuk* Stocks) ağaçlarına veya bunların melezleri ağaçlara rastlanılmaktadır. Gaziantep merkez Arı- Battal vadisinde 200 yıllık kültür ağaçlarına ve bahçelerine rastlanmaktadır. Bu bahçelerden yaklaşık 180-200 yıldan beri ürün alındığı bilinmektedir (Arpacı ve Açar, 2012).

Ülkemizde antepfıstığı üretim alanı ve üretim miktarı Ek 1’de verilmiştir (TÜİK, 2012).

2.2. Fungus Dünyasında *Septoria* Cinsinin Yeri ve Önemi:

Tarihsel olarak *Septoria* cinsi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında, fungusun adı ilk kez 1819 yılında Fries tarafından “*Septaria*” olarak kullanılmış, genusun tip türü olarak ise *S. ulmi* Fr. kaydedilmiştir. 1825 yılında yine aynı araştırmacı tarafından *Septaria* cinsi “*Septoria*” olarak değiştirilmiştir. 1832 yılında *Septoria* cinsinin özellikleri, Fries tarafından ortaya konmuş ve bu guruba giren fungusların sporlarının bölmeli, iğ şeklinde, beyzbol topu gibi, şeffaf, çekirdeğinin yuvarlak ve siyah renkli “cirrhi” denilen yapılarının olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *Septoria* sporların “perithecia” olarak isimlendirdiği spor yatağı içinde ya da serbest olarak salındığını belirtmiştir. Daha sonraki yıllarda *Septoria* cinsine benzer birçok fungus türü bulunmuş ve bu durum taksonomide karışıklıklara yol açmıştır. 1884

yılında Saccardo, oluşan bu karışıklığı düzeltmek için birbirine benzeyen *Septoria*, *Rhabdosporum* ve *Phloeospora* cinslerini ve karakteristiklerini, Scolecosporeae familyası altında incelemiştir. Zaman içerisinde bazı bilim adamları tarafından bu konuda farklı sınıflandırmalar devam etmiş, ancak 1964 yılında toplanan “The Special Committee for Fungi” Saccardo’nun yapmış olduğu morfolojik tanımlamayı kabul etmiştir. Morfolojik taksonomi açısından, 1980 yılında Sutton tarafından toplanan birçok koleksiyon üzerinde yapılan detaylı çalışmada *Septoria* cinsinin özellikleri aşağıdaki şekilde belirlenmiştir: “Miselyumları dallı, bölmeli, batık ve açık kahverengindedir. Konidiomataları piknidial, batık, ayrı ya da toplu fakat birleşmemiş, globose (yuvarlağımsı), papillate (uçları bulunan) ya da değil, kahverengi, kalın duvarlı, duvar yapısı; açık kahverengi, köşeli, sıklıkla duvar içi yapısı daha küçük hücrelerden oluşan, açıklık etrafındaki hücreleri daha kalın duvarlı ve koyu renklidir. Ostiole (açıklık) tek, dairesel, merkezi, bazen papillate’dır. Konidioforları yoktur. Konidiogen hücreler holoblastic, belirli ya da belirsiz sınırlı sayıda karşılıklı dallanma gösteren, her bir lokus geniş, düz, kalınlaşmamış izleri bulunan, ayrık, şeffaf, düzgün, ampuliform, doliiform ya da lageniform'lardan kısa silindirik şekle kadar değişen yapıdadır. Konidi ise şeffaf, çok bölmeli, filiform, düzgün şekillidir.” (Priest, 2006).

Fungusun sadece morfolojik özelliklere göre sınıflandırma yetersiz kaldığından fungusların farklı özellikleri kullanılarak sorunların çözümlenmesine yönelik çalışmalar sürdürülmüştür. Durbin (1966), *Septoria* türlerini protein yapılarına göre sınıflandırma yaparak *S. avenae*, *S. nodorum* ve *S. tritici*’yi birbirlerinden ayırmıştır. Yine Tyrell (1969), biyokimyasal metotlarla sınıflandırmayı önermiş, Hall (1969) ise DNA yapılarına göre fungusların sınıflandırılabilceğini rapor etmiştir. Oldukça kısıtlı bir yöntemle ve sadece mayalarda kullanılagelen yöntemler yerine Micales ve ark. (1986) yılında enzim farklılıklarına bakılarak türlerin birbirinden ayrılabilceğini ortaya koymuş ve Bonde ve ark. (1991)’de ABD ve Avustralya’da *Septoria citri* Pass.’yi bu yöntemlere göre tanımlamışlardır. McDonald ve Martinez (1990), DNA yöntemlerine göre *S. tritici*’nin populasyon analizlerini yapmışlardır. Goodwin ve Ziesmann, (2001) *Septoria* türlerinin filogenetik analizlerini ribozomal DNA’da ITS (Internal Transcribed Spacer)

bölgelerine göre yapmışlar ve morfolojik yapılarına göre anamorf ve telemorf dönemleri arasında bir ilişkinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Yeni teknolojilerin yaygın kullanımları ile son zamanlarda filogenetiğe dayalı taksonomik çalışmalar artmıştır. Özellikle Capnodiales takımına giren fungusların eşeyli ve eşeysiz dönemlerine göre detaylı çalışmalar yapılmıştır. Goodwin ve Ziesmann (2001), *Mycosphaerella* türlerinde, Crous ve ark. (2009), ise tüm Capnodiales takımı türlerinde çok detaylı çalışmalarla, önceki bilgilerin aksine özellikle bu grup içerisinde yeniden bir taksonomik sınıflandırmanın gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Bu konuda yapılan çalışmalar halen devam etmektedir.

Şimdiye kadar tespit edilmiş ve farklı şekillerde sinonimleri bulunan yaklaşık 3.000 türü ile *Septoria* cinsi, fungus aleminde önemli bir yere sahiptir (Priest, 2006). Bununla birlikte ismine doğru olarak yapılan doğru teşhislerde, bazı araştırmacılara göre 1.000 (Kirk ve ark., 2001), bazılarında ise 2.000 (Sutton, 1980) *Septoria* türünün olduğu bildirilmektedir. *Septoria* cinsine giren türler, çok geniş gruptan bitkilerde, yaprak ve meyve lekelerine neden olan en geniş bitki patojeni gruplarından birisidir (Halliday, 1989).

2.3. Antepfıstığında *Septoria* Hastalıkları

Antepfıstığında *Septoria* yaprak leke hastalığı ile ilgili kayıtlar genelde hastalığın tespiti ve tanımlanmasına yönelik olup, birkaç çalışma haricinde fungusun biyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır.

Desmazières (1842), Kuzey Fransa'da *Pistacia vera*'larda *Septoria* türlerini ilk kez tanımlamış ve *S. pistaciae* olarak isimlendirmiştir. Aynı yılda Lévillé (1842), Kırım'da bir *Pistacia* sp. türünde yaprak lekeleri gözlemlemiş ve bunun tanımlanmasını yaparak etmen türün *Dothidea pistaciae* olduğunu bildirmiştir. Daha sonra Cooke (1884), Lévillé tarafından *D. pistaciace* olarak bildirilen etmeni *Septoria* cinsine taşımıştır. Kaynaklardan, Cooke'un Desmazières tarafından yapılan isimlendirmeden haberinin olmadığı anlaşılmaktadır.

Allescher (1901), yılında, ikili isimlendirmede *S. pistaciae* (Lév.) nin adını *S. pistacina* olarak değiştirmiş ve bu türün Desmazières (1842), tarafından belirlenen *S. pistaciae*'den farklı olduğunu göstermeye çalışmıştır.

Petrak (1924), *Pistacia lentiscus* L. yapraklarında incelediği yaprak lekelerini *Phleospora pistaciae* Petrak olarak isimlendirmiş, bu fungusun *S. pistaciae* Desm. nin sinonimi olduğu, Index of Fungi kitabında ise bu fungusların aslında birbirlerinin kombinasyonu olduğunu belirtmiştir.

Caracciolo (1934), yılında Sicilya'daki antepfıstığı yapraklarında yaygın olarak görülen lekeleri üçüncü *Septoria* türü olarak tespit etmiş ve bunu *S. pistaciarum* Carac. olarak adlandırmıştır.

Kültür antepfıstığının Avrupa'da yaygın olarak üretimi yapılan İtalya ve Yunanistan'da yaprak leke hastalıklarının özellikle yağmurlu sezonlarda ciddi verim kayıplarına neden olduğu yönünde gözlemsel birçok kayıt bulunmasına rağmen, bu konuda en detaylı çalışma ilk kez Yunanistan'da Chitzanidis tarafından ele alınmıştır. Araştırmacı üretimi yapılan kültür antepfıstığı ağaçlarında yaprak lekelerine neden olan iki *Septoria* türünü detaylı olarak incelemiş ve etmenleri birbirleriyle ve herbaryum örnekleriyle karşılaştırmıştır. İnfeksiyon oluşumu, piknidiumların yapısı, piknidiospor ve diğer özellikler detaylı olarak bu çalışmada ele alınmıştır (Chitzanidis, 1956)..

Diğer taraftan aynı araştırmacı tarafından *S. pistacina* ve *S. pistaciarum*'un ilk eşeyssel dimorfizmini belirleyerek, çalışmasını detaylandırmış ve türlerin telemorflarını *Mycosphaerella pistacina* ve *M. pistaciarum* olarak isimlendirmiştir. Buna göre; kışı geçiren yapraklarda perithecia bulunmakta, askus salkım şeklinde üretilmekte ve buralardan iki hücreli, şeffaf askosporlar salınmakta ve bu özellikleriyle *Mycosphaerella* Johansen (= *Sphaerella* (Fr.) Rabenh.) cinsine girmektedir. Bununla birlikte bu çalışmada, teşhis kriterleri ve morfolojik ölçümler her iki tür içinde detaylı olarak verilmiştir.

Antepfıstığında görülen yaprak leke hastalığının biyolojisi ile yapılan diğer bir detaylı çalışma Rieuf (1964), tarafından yapılmıştır. Fas'ta bulunan antepfıstığı ağaçlarında görülen yaprak leke hastalığı türleri; *Septoria pistacina* (= *Mycosphaerella pistacina*), *S. pistaciarum* (= *M. pistaciarum*), *S. pistaciae*

(=*Phleospora pistaciae*) ve *S. gasparrini* olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, antepfıstığında ilk kez belirtilen *S. gasparrini* ile ilgili hiçbir detay verilmemiştir. Aynı araştırmacının daha önce yapmış olduğu çalışmada, spor yatağının aservulus olarak belirtilmesinden dolayı *Cylindrosporium pistaciae* Rieuf olarak belirtilen türün, aslında spor yatağının piknidium olmasından dolayı *S. pistacina* All. olarak değiştirilmesi gerektiği de bu çalışma ile ayrıca belirtilmiştir.

Dünya da önemli üretici ülkeler, İran, ABD ve Türkiye’de Septoria yaprak leke hastalığı ile ilgili kayıtlar farklılık göstermektedir. Ülkemizde ilk kayıtlar Bremer (1954), tarafından belirtilmiş olmakla beraber, ABD’de 1964 yılında Maas ve ark. (1971), İran’da ise 2009 yılında Aghajani ve ark. (2009), yapılmıştır. Bu farklılığın nedeni, İran ve ABD’de üretimi yapılan çeşitler ve yetiştiricilik koşulları ile ülkemizdeki çeşit ve yetiştiricilik şartlarının farklılığından kaynaklanmış olduğu söylenebilir.

Maas ve ark. (1971), ABD’de Teksas’ta bir deneme bahçesinde *S. pistaciarum*’un gözlemlendiğini, hastalığın genellikle yağışlı geçen ilkbahar ve bunu takip eden kuru yaz vejetasyon mevsiminde Kerman çeşidinde oldukça önemli sorunlara neden olduğunu *P. atlantica*, *P. chienensis* ve *P. terebinthus*’ta ise orta düzeyde görüldüğünü bildirmiştir.

Young ve Michailides (1989), 1986 yılında ilk kez Arizona’da antepfıstığı ağacı yapraklarında hastalığın orta düzeyde infeksiyonlar yaptığını, hastalığın sadece yağışlı dönemlerde oluştuğunu, “Kerman” dişi çeşidi ile “Peters” erkek çeşidinde görüldüğünü; 1988 yılında ise güney Arizona’da 800 ha lık bir alanda oldukça yaygın olduğunu, ancak hastalığın sadece *P. vera* L. yapraklarında olduğunu, *P. atlantica* Desf. ve *P. terebinthus* L.’ta ise görülmediğini rapor etmiştir. Bu çalışma ile yaprak üzerinde görülen yaprak lekelerinin simptomatolojik yapıları ve fungusun morfolojik kriterleri detaylı olarak belirtilmiştir.

Michailides (1991), ise ABD’de antepfıstığı üretiminin yaygın olarak yapıldığı Kaliforniya’da Septoria Yaprak Lekesi hastalığı infeksiyonlarını ilk kez gözlemlenmiştir.

Aghajani ve ark., (2009), İran’da Golestan bölgesinde 2008 yılında Septoria Yaprak Leke hastalığının şiddetli olarak görüldüğünü belirtmişler, yaprak yüzeyi ve

yaprak saplarının yoğun piknidiumlarla kaplı olduğunu gözlemlemişler ve etmen organizmayı *S. pistacina* All. olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmayla İran'da Septoria Yaprak Leke hastalığının ilk kez görüldüğü rapor edilmiştir. Ancak bu çalışmada, fungusun kültüre alındığı, fakat besiyerinde sporulasyonun oluşmadığı belirtilmiş, diğer taraftan fungusun eşeyssel dönemiyle ilgili herhangi bir bildirimde bulunmamışlardır.

Haggag (2006), Mısır-Rhafah bölgesinde, 8 yaşlı antepfıstığı ağaçlarının yaklaşık %60'ında yaprak lekeleri tespit etmiş ve yürüttüğü detaylı çalışmada hastalık etmenin *S. pistaciae* Desm. olduğunu belirleyerek bunu Mısır'da ilk rapor olarak yayınlamışlardır.

Ahmad ve ark., (2011), Jammu ve Kashmir eyaletlerinde yetiştirilen antepfıstığı ağaçlarında 2010 yılı Mayıs-Haziran döneminde yapraklarda gözlenen lekeler üzerinde yapılan detaylı incelemelerde, söz konusu durumun *S. pistaciarum* Carac. tarafından neden olduğunu belirtmişler ve bunu ilk rapor olarak yayınlamışlardır.

Hindistan'da, Bhardwaj ve Sharma (1994), tarafından yürütülen bir diğer çalışmada ise *Pistacia integerrima* Stew.'da *S. pistaciae* Desm.'nin varlığından söz edilmektedir.

Andrianova ve Minter (2004), antepfıstığı ve *Pistacia* cinsine giren diğer türlerde yaprak lekesine neden olan *S. pistaciae* Desm.'yi geniş olarak ele almış ve fungusu tanımlamışlardır.

Yaprak leke hastalıkları dünyanın farklı yerlerinde birçok *Pistacia* türünde bildirilmiş olup, bunlar tarih içerisinde farklı şekillerde isimlendirilmiş ve gruplandırılmışlardır. Bununla birlikte son olarak (Crous ve ark., 2013) tarafından antepfıstığında Septoria benzeri yaprak ve meyve hastalıkları ile ilgili yapılan detaylı çalışmada etmenler yeniden isimlendirilmiştir. Buna göre, gerek moleküler ve gerekse morfolojik olarak *S. pistacina*, Mycosphaerellaceae familyası içindeki diğer cinslerle karşılaştırıldığında *Pseudocercospora* cinsi ile yüksek homoloji vermiştir. Bu nedenle *Septoria* cinsinde değerlendirilemeyeceği belirtilmiş ve fungusun *Pseudocercospora pistacina* Crous, Quad.&Sarpkaya olarak adlandırılması sonucuna ulaşılmıştır. *Pseudocercospora* cinsi funguslar, tipik olarak yaprak ve meyvelerde

sporodochia oluşturuyor olmalarına rağmen, aynı araştırmacılar piknidium oluşturan *P. pistacina*'yı bu cinse dahil ederek cins özelliklerini genişletmişlerdir.

2.4. Ülkemizde Karazenk Hastalığı Konusunda Yapılan Çalışmalar

Ülkemiz antepfıstığı için dünya da gen merkezlerinden biridir ve halihazırda dünya antepfıstığı üretiminde 3. sırada yer almaktadır. Bununla birlikte, Septoria yaprak lekesi ya da ülkemizde bilinen adıyla “Karazenk” hastalığının zarar yaptığı yıllardır bilinmektedir. Ancak, ülkemizdeki varlığı ilk kez 1952 yılında Bremer tarafından ortaya konmuştur (Dinç, 1983). Bremer tarafından yapılan surveyde, antepfıstığında iki önemli hastalık etmeninin zarar yaptığı, bunların pas ve leke hastalıkları olduğu belirtilmektedir. *S. pistaciae* tarafından neden olunan hastalığın Gaziantep ve çevresinde bazı yıllar önemli zararlar verdiği bildirilmiştir. Survey raporu şeklinde Leke hastalığının önemli etmeni *S. pistaciae* olarak belirtilmiş, *Mycosphaerella* grubundan *S. pistaciarum* ve *Astromella pistaciarum* funguslarının ise daha az yaygın olduğu rapor edilmiştir (Bremer, 1954).

İleri ve Ayfer (1954), antepfıstığında gözlenen yaprak lekelerini 4 yıl süreyle incelemişler ve hastalık etmeninin *Phleospora pistacia* olduğunu belirtmişlerdir. Hastalığın infeksiyon koşulları ile ilgili yapılan bu ilk çalışmada, hastalığa etki eden faktörlerden en önemlisinin yağış olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra hastalık mücadelesinde ilk uygulamalar bu çalışmayla yapılmıştır.

Ülkemizde Septoria Yaprak Lekesi ya da Karazenk hastalığı ile ilgili en detaylı çalışma Dinç ve ark. (1979) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmaya göre ülkemizde antepfıstığının yoğun olarak üretiminin yapıldığı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yaygın olarak görülen türün *Septoria pistacina* All. olduğu kaydedilmiştir. Bununla birlikte *S. pistaciarum* Carac.'da antepfıstığında çok nadir olarak tespit edilmiş, etmenin varlığı ve tanımlanması *P. terebinthus* L.'da görülen lekelerden yapılmıştır. Yine bu çalışmada fungusun biyolojisi detaylı olarak ele alınmış, etmen mikroorganizmanın kışı yere dökülen yapraklar üzerinde geçirdiğini ve yazın tekrarlayan sekonder infeksiyonların görüldüğünü bildirmişlerdir. Hastalık mücadelesinde fungusit denemeleri ve mücadele zamanı gibi konular da bu

çalışmada yer almaktadır. Hastalığın epidemiyoloji yıllarında zararının %3 ile %100 arasında değiştiği, meyvelerin fıs (boş meyve) kalmasına neden olduğu ve ayrıca ağacı zayıf düşürerek gelecek yıllardaki mahsul veriminin düşmesine neden olduğu bu çalışmada rapor edilmiştir.

Eskalen ve ark. (2001), Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde antepfıstığı ağaçlarında görülen fungal hastalıklar ile yaptıkları çalışmada *Septoria yaprak lekeli hastalığı* etmeninin *S. pistaciarum* Carac. (= *Mycosphaerella pistaciarum* Chit.) olduğunu belirtmişlerdir. Fungusun kışı pseudothecia'larda, yere düşen yapraklarda geçirdiği ve baharda ilk infeksiyonların askosporlar tarafından gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Tatlı ve ark. (1999), antepfıstığında Karazenk hastalığının infeksiyon koşullarını ve tahmin uyarı sisteminin uygulanabilirliği ile ilgili yaptıkları çalışmada, hastalık oluşumunda yağış ve sıcaklığın önemli olduğunu belirtmişlerdir. Bazı bölgelerde erken uyarı-tahmin sisteminin uygulanamayacağını, askospor infeksiyonlarında 15-17°C sıcaklık ve 10 saatlik yaprak ıslaklığının, pikniospor infeksiyonlarında ise 15-22°C sıcaklık ve 6 saat yaprak ıslaklığından itibaren oluştuğu, her iki infeksiyonda da 18 saatlik yaprak ıslaklığında maksimum lezyon sayısının gözlemlendiği bildirilmiştir.

2.5. Bitki Hastalıklarının Epidemiyolojisi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Bitki hastalıklarının oluşması temel olarak (i) uygun konukçu, (ii) patojen, (iii) uygun çevre koşulları ve bu işlemleri yöneten (iv) insan faktörünün bir arada olmasına bağlıdır. Bununla birlikte bitki hastalıklarının oluşmasında çevre faktörlerinden sıcaklık ve nem oldukça önemlidir. İnfeksiyon periyodu iklim faktörlerine ve fungus biyolojisine bağlı olduğundan bitki hastalıklarının oluşumunun tahmin edilmesi çalışmaları uzun yıllardır devam etmektedir (Agrios, 2005).

Septoria tritici Rob. ex Desm. (telemorf= *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroter, in Cohn) tarafından neden olunan *Septoria Yaprak Leke Hastalığı*, tüm dünya da buğdaylarda (*Triticum aestivum*) verim kaybına neden olan önemli bir

hastalıktır (Shipton ve ark., 1971; Eyal, 1981; Eyal ve ark., 1987). Hastalığın şiddeti; yetiştirilen çeşidin duyarlılığına, inokulum uygunluğuna, üretimde uygulanan kültürel pratiklere ve uygun çevre koşullarına (serin hava, yüksek nem ve sık seyreden yağışlar) bağlıdır. İklim faktörlerinden özellikle yağış, fungal gelişime, spor üretiminin zamanına ve miktarına etki ettiği gibi, fungus sporlarının salınımına, ve yayılımına etki ederek hastalık oluşumunda çok önemli rol oynar ve bazı durumlarda hastalığın epidemiyolojisinde ise buğdaylarda en yüksek riskin olduğu dönem, bayrak yaprak oluşuktan sonraki dönemdir. Sporların dağılımı ve infeksiyonu açısından bu dönem ikincil infeksiyonların oluşması bakımından da oldukça önemlidir (Cordo ve ark., 1999). Aynı araştırmacılar tarafından Arjantin’de buğdaylarda yapılan çalışmada; vejetasyon dönemi içerisindeki 6 aylık dönemde, spor yayılımının olduğu dönemlerin belirlenmesi, iklim faktörleri ile bunların ilişkilendirilmesi ve fungusun salınım mesafelerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, sıcaklık, nem ve yağış süresi ile hastalık oluşumu arasında önemli ilişkilerin bulunduğu ve bu değerlerin hastalık modellemesinde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Septoria Yaprak Leke Hastalığının epidemiyolojisi ile ilgili dünya da birçok çalışma bulunmaktadır ve bunlar detaylı olarak Shaw (1999) da belirtilmiştir. Buna göre, hastalığın epidemiyolojisinde eşeyli dönemin aynı sezon içerisinde hastalık oluşturmasında önemli olduğu fakat sadece iklim faktörlerinden sadece yağmurun hastalık oluşumunda etkili olmadığı, birçok faktörün bir arada bulunması gerektiği ve özellikle fungusun askosporları ile tohumla taşınan bir etmen olduğu ortaya konulmuştur.

Mathias (2008) ve Cunfer (1999) buğdaylarda Septoria yaprak lekesi hastalığının epidemiyolojisi ile ilgili yürüttükleri çalışmada yaprak ıslaklık süresi, yağış ve sıcaklığa göre hastalık uyarısı sağlayan bir model geliştirmişlerdir. Buna göre, farklı yaprak ıslaklık süreleri ya da %85’ten yüksek nem koşulları ile sıcaklığa göre hastalığın zayıf, normal ve şiddetli infeksiyonu detaylı olarak gösterilmiştir.

Antepfıstığı çeşit ve türlerinin Karazenk hastalığına karşı reaksiyonlarının belirlenmesi ile alakalı şimdiye kadar herhangi bir çalışma bulunmamakla birlikte, (Dinç, 1983) tarafından yabancı *Pistacia* türlerinin hastalığa karşı dayanıklı, erkek

çeşitlerin ise oldukça dayanıklı olduğu bildirilmiştir. Hastalığın önemli diğer yetiştirici ülkelerde yaygın olarak görülmemesi nedeniyle, dünya da üretimi yapılan antepfıstığı çeşitlerinin hastalığa karşı reaksiyonları bilinmemektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışma Alanları ve Hastalık Yaygınlığı Belirlenmesi

Antepfıstığı üretiminin yoğun olarak gerçekleştirildiği, başta Güneydoğu Anadolu bölgesi olmak üzere Akdeniz, Ege ve Orta Anadolu Bölgeleri'nde hastalık etmeni türlerin ve yaygınlık durumlarının belirlenmesi amacıyla örneklemeler gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın yürütüldüğü iller ve ilçeleri Çizelge 3.1. 'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmanın Yürütüldüğü İller ve İlçeleri

Çalışma Alanı İller	İlçeleri
Gaziantep	Araban, Karkamış, Nizip, Oğuzeli, Yavuzeli, Şehitkamil, Şahinbey
Şanlıurfa	Merkez, Birecik, Halfeti, Bozova, Suruç
Adıyaman	Besni, Gerger, Kahta, Tut
Kilis	Merkez, Musabeyli, Polateli
Kahramanmaraş	Pazarcık
Siirt	Merkez
Batman	Merkez
Mardin	Merkez, Midyat
Mersin	Mut, Silifke
Manisa	Merkez (Yunt dağı)
Aydın	Merkez, Yenipazar, Sultanhisar, Germencik
Denizli	Güney
Uşak	Merkez
Kütahya	Emet
Sivas	Suşehri

Hastalığın ülke genelinde yaygınlığının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, öncelikle illere göre antepfıstığı üretim yoğunluğu belirlenmiş ve sorveyler buna göre planlanmıştır.

Çalışma kapsamında belirlenen alanlarda Karazenk hastalığının görüldüğü Haziran-Eylül ayları arasında sorveyler düzenlenmiştir.

Sörvey ve hastalık yaygınlığının belirlenmesinde Erkılıç ve ark. (1999) tarafından geliştirilen yöntem izlenmiştir. Sörvey planına göre, 50 da'a kadar 10 ağaç, 100 da'a kadar 20 ağaç ve 100 da'dan büyük bahçelerden 30 ağaç örneklenmiştir. Ağacın kuzey, güney, batı ve doğu doğrultusunda dört farklı yönde, ağaç tacında 1m² alandaki infekteli yaprak ve meyveler incelenmiş, simptomatolojik olarak var/yok olarak kayıtlar alınmıştır.

3.2. Patojenin İzolasyonu ve İzolatların Uzun Süreli Muhafazaları

Karazenk hastalığına neden olan patojenin izolasyonun sağlanması amacıyla çok farklı yöntemler kullanılmış ve bunların detayları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Karazenk Hastalığı Etmeninin İzolasyonunda Kullanılan Farklı Yöntemler

Yöntem No	Kullanılan Yöntem	Sterilizasyon İşlemi
1	Yapraktan/Meyveden 0,5-1 cm ² 'lik lezyonlu bölgeyi içeren kesit alımı	- Ön yıkama - %70 Ethanol'e daldırma - 2 kez distile suda çalkalama - %5'lik NaOCl'de 1 dak. bekletme - 2 kez distile suda çalkalama - 3-4 saat kurutma
2	Yapraktan/Meyveden 0,5-1 cm ² 'lik lezyonlu bölgeyi içeren kesit alımı	- Ön yıkama - %5'lik NaOCl - 2 kez distile suda çalkalama - 3-4 saat kurutma
3	Yapraktan/Meyveden 0,5-1 cm ² 'lik lezyonlu bölgeyi içeren kesit alımı	- %3'lik NaOCl - 2 kez distile suda çalkalama - 3-4 saat kurutma
4	Yapraktan/Meyveden 0,2-0,5 cm ² 'lik lezyonlu bölgeyi içeren kesit alımı	- %3'lik NaOCl - 2 kez distile suda çalkalama - 3-4 saat kurutma
5	Tek spor izolasyon yöntemi ve spor süspansiyonu hazırlanması	- Ön yıkama - %70 Ethanol spreyi

Yöntem 5, Kurt ve Tok (2006)'a göre yapılmıştır. Bunun için yapraktaki piknidium yatakları 10 ml steril distile su içerisine kazanmıştır. Elde edilen spor süspansiyonu 1/10 sulandırılarak 2-3x10⁶ konidi elde edilinceye kadar sulandırmaya

devam edilerek final süspansiyon hazırlanmış ve sonrasında her petriye 30-40 µl eklenip, drigalski spatülü ile besiyerine yayılmıştır.

In vitro çalışmalarda besiyeri olarak PDA (Patates Dekstroz Agar), MEA (Malt Ekstrakt Agar), YMA (Yeast Malt Agar), Antepfıstığı Yaprak ve Meyveleri Glikoz Agar, Agarla yarı katılaştırılmış çeşitli meyve ve sebze suları (TAT®), CHA (Cherry Decoction Agar), OA (Oatmeal Agar), Agaroz ve Su Agar kullanılmıştır. Besiyerlerinin içerikleri Ek 2’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Kültür ortamlarında bulaşıklıkları önlemek amacıyla streptomisin sülfat, ampisilin tuzu, penisilin gibi antibiyotikler kullanılmıştır. Bununla birlikte fitopatoloji laboratuvarlarında kullanılan rutin araç-gereç ve ekipmanlar çalışmalarda kullanılmıştır.

Çalışmalarda kullanılan *P. pistacina* izolatlarının uzun süreli muhafazalarında iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bunların ilkinde, Correll ve ark., (1986) tarafından geliştirilen filtre kağıdı üzerinde saklama yöntemine göre modifiye edilerek yapılmıştır. Bunun için PDA ortamında tek spor izolasyonu ile hissel gelişimi sağlanan her bir kültür için, 7 cm çapında steril Whatman No.3 filtre kağıtları PDA üzerine yerleştirilmiştir. Daha sonra fungal materyallerin kağıt üzerinde (yaklaşık 4 hafta) kolonize olması sağlanmış ve kağıt diskler PDA yüzeyinden alınarak boş bir Petri kabında hava yardımı ile kurutulmaya bırakılmışlardır. Üç gün sonra tamamen kuruyan kağıtlar Peever ve ark., (1999)’na göre steril edilen 75x115 mm lik zarflara yerleştirilerek -20 °C’de depolanmışlardır.

İkinci yöntemde ise, tek spor olarak çoğaltılan örnekler PDA ortamında gelişen kolonilerin uç büyüme noktalarından 3-5 küçük parça alınıp ependorf tüplerde gliserol stok (EK 3) içine konularak -80 °C’de saklanmıştır (Dikilitaş, 2011).

3.3. Patojenin Tanımlanması ve Biyolojisi

Karazenk hastalığına neden olan etmen mikroorganizmanın belirlenmesi amacıyla ilk olarak morfolojik özellikler esas alınarak tanımlama çalışmaları yürütülmüştür. Bu amaçla, yaprak ve meyve üzerindeki lekelerin karakteristikleri;

spor yataklarının yapısı; etmen fungus sporunun yapısı, boyu, eni; teşhis karakterleri olarak spor taşıyan hücrelerin yapısı (Shin ve Sameva, 2004; Priest, 2006; Andrianova ve Minter, 2004) incelenmiştir. Bunun için stereomikroskop (Leica™), ışık mikroskobu (Nikon™ Eclypse E-200) ve Elektron mikroskobu çalışmaları yürütülmüştür.

Dokuların incelenmesi amacıyla preparatlar hazırlanmış, ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu incelemeleri için ise ayrı ayrı yöntemler kullanılmıştır.

Bununla birlikte fungusun tanılanması amacıyla yaprak örnekleri Hollanda'da CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures) Fungal Biodiversity Center'a gönderilerek moleküler yöntemle dayalı tanılama sağlanmıştır.

3.3.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları

Fungus sporlarının incelenmesinde spor yataklarından kazınan sporlar, lamalar üzerinde hazırlanan preparatlarla incelenmiş ve oküler mikrometre ile 100 sporun en ve boyları ölçülmüştür.

Işık mikroskobunda dokuların incelenmesi amacıyla preparatlar Açar (2004)'a göre hazırlanmıştır. Buna göre; alınan taze yaprak örnekleri öncelikle preparat hazırlanıncaya kadar FPA 70 fiksasyon çözeltisinde bekletilmişlerdir. Bunun için FPA 70 (1 L) çözeltisi; 900 ml %70'lik Etil Alkol üzerine 50 ml Formaldehit ve 50 ml Propiyonik asit eklenerek hazırlanmıştır.

FPA 70'den çıkarılan yaprak örnekleri, içerisinde hastalık lezyonları içerecek şekilde 0,5-1 cm² ölçülerinde küçültülmüş ve sırasıyla %70, %85, %95 ve %100'lük Johansen karışımları içinde bekletilmiştir. Stösser ve ark. (1985)'na göre, Johansen karışımları Çizelge 3.3'teki gibi hazırlanmıştır.

Çizelge 3.3. Johansen Karışımlarının Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasallar ve Yüzde Karışıma Göre Kullanılan Miktarlar

Johansen Karışımları (%)	Saf Su (ml)	%96'lık Etil Alkol (ml)	Tersiyer Bütil Alkol (ml)
70	300	500	200
85	150	500	350
95	--	450	550
100	--	200	800

Önceden alınarak FPA 70 solüsyonunda fikse edilen örnekler her bir Johansen karışımında 2 saat bekletilmiştir. Johansen karışımı (%100'lük) içerisinde bekletme süresinin son yarım saatinde vakum pompası kullanılarak örneklerin havası alınmıştır. Daha sonra örnekler, etüvde 60-65°C'de eritilen ve plastik petri kutularına alınan parafin içerisine yerleştirilmiştir. Etüv içerisinde 2-3 gün boyunca bekletilen örnekler, bu sürenin sonunda etüv dışına alınarak buz üzerinde parafinin donması sağlanmıştır. Bundan sonra örneklerin etrafındaki fazla parafin kesilip ayrılmış ve örnekler 1 cm³'lük tahta bloklar üzerine monte edilmiştir. Bu örneklerden rotasyon mikrotom (Leica) ile 20 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu şekilde lamların üzerine yerleştirilen örneklerden hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu altında incelenmiştir.

Hazırlanan bu preparatlarla fungusun spor yatağı yapısı incelenmiş ve spor yatağının en geniş olarak belirlendiği yerlerden oküler mikrometre ile ölçümler yapılmıştır.

3.3.2. Elektron Mikroskopi Çalışmaları

Elektron mikroskopi çalışmaları SEM (Scanning Electron Microscope)'de yürütülmüştür. Bunun için örneklerden Soylu ve ark. (2006)'na göre preparat hazırlanmıştır. Yapraklar öncelikle içerisinde spor yataklarını içerecek şekilde 1 cm² boyutlara kadar küçültülmüştür. Sonrasında fiksasyonun sağlanması için %2,5'lük Gluteraldehide çözeltisinde oda sıcaklığında 2 saat süreyle bekletilmişlerdir. Bu

işlem sonrası 0,2 M Phosphate-buffer (pH:7,2) çözeltisinde 10 ar dakika süreyle 2 kez yıkanmıştır.

Fiksasyon aşaması tamamlanan örnekler, 30 ar dakika süreyle %70, %80, %90 ve %100'lük aseton çözeltilerinde bekletilerek dehidrasyon sağlanmıştır.

Dehidrasyon sonrası örnekler, kurutma cihazında (Polaron CPD 7501) karbondioksit gazı ile (CO₂) kritik kurutma noktası dikkate alınarak kurutulmuşlardır.

Son aşamada örnekler, çift taraflı karbon bant içeren stublara yerleştirilmiş ve yüksek vakum çemberi (Polaron CPD 7501)'nde sputter coater system de altın/paladyum ile kaplanmıştır.

Bu şekilde hazırlanan preparatlar 10 ve 30 kV'da SEM'de (JEOL JSM 5500) incelenmiştir.

3.3.3 Patojenin Biyolojisinin Belirlenmesi

Karazenk hastalığına etmen fungusun doğal koşullarda biyolojisinin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmalarda eşeyli ve eşeysiz dönemlerinin olup olmadığı, kışı ne şekilde ve nasıl geçirdiği, ilk infeksiyonların nasıl meydana geldiği incelenmiştir. Bu amaçla hastalıkla bulaşık olduğu bilinen Adıyaman ili Besni ilçesi Köseceli köyünde bulunan bir bahçeden vejetasyon boyunca ağaçlardan yeşil yapraklarda, vejetasyon dönemi sonunda yere düşen yapraklardan tüm yıl boyunca her ay düzenli olarak örnekler alınarak incelenmiştir.

3.4. Patojenisite Çalışmaları

Patojenisite çalışmaları 1-2 yaşlı antepfıstığı çöğürlerinde yürütülmüş ve bu amaçla üç farklı yöntem kullanılmıştır.

Birinci yöntemde, PDA'da 2 ay süre ile geliştirilen kültürlerden 1 cm²'lik diskler alınıp yaprakların üzerine konulmuştur. Ayrıca nemin muhafaza edilmesi amacıyla söz konusu kültür diskleri 3 cm²'lik whatman kağıtları ile çevrilmiş ve yaprağa bir ataç yardımıyla tutturularak bir piset yardımıyla 48 saat süreyle ıslak

tutulmuşlardır. Belirtilen sürenin sonunda şeffaf bantlarla fungal disklerin yaprakta kalması sağlanmıştır. Bu şekilde çöğürler karanlık şartlarda ve 24°C sıcaklıktaki iklim odalarında inkübe edilmişlerdir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Miseliyal Kitlenin Bir Ataç Yardımıyla Tutturulmuş Yapraklara İnokulasyonu

İkinci yöntemde ise, bir önceki sezondan infekteli yapraklar üzerindeki piknidium yatakları kazınarak spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Tu ve Poysa (1990)'a göre spor süspansiyonların yoğunlukları $2-3 \times 10^6$ konsantrasyona ayarlandıktan sonra antepfıstığı çöğürlerinin yapraklarına tamamen ıslanıncaya kadar (yaklaşık 15-20 ml) püskürtülmüştür. Fidanlar bir polietilen torba ile 48 saat kapalı tutulmuş ve sıcaklığı 24 °C ye ayarlanmış, karanlık iklim odalarında inkübe edilmişlerdir. 48 saat sonunda polietilen torbaları açılan çöğürlerin yapraklarında 30 gün süreyle inkübasyon sonrası gözlemler ve değerlendirmeler yapılmıştır.

Üçüncü yöntemde ise birinci ve ikinci yöntem kombine edilmiş, miselyal diskler yapraklara şeffaf bir bantla yerleştirildikten sonra hazırlanan spor süspansiyonu püskürtülmüş ve 48 saat süreyle bitkiler polietilen torba ile kapalı tutulmuşlardır.



Şekil 3.2. Spor Süspansiyonun Püskürtülerek Antepfıstığı Çöğürlerine Uygulanması ve İnfeksiyon İçin Polietilen Torbalarla Kapatılması

3.5. *In vitro*'da Patojenin Sporulasyonu, Miseliyal Gelişmesi, Piknidium Oluşumu ve Pikniospor Çimlenmesi Üzerine Etki Eden Faktörlerin Tespit Edilmesi

İzole edilen etmen sporlarında miseliyal gelişimin sağlanması amacıyla çeşitli ortamlar (PDA, CDA ve MEA), pH (4-8 arası), sıcaklık (17 - 28°C), farklı aydınlık/karanlık fotoperiyotları gibi şartlar denemeye alınarak inkübasyon sağlanmıştır.

In vitro'da sporulasyonun sağlanması amacıyla, YMA (Yeast Malt Agar), Antepfıstığı Yaprak ve Meyveleri Glikoz Agar, Agarla yarı katılaştırılmış çeşitli meyve ve sebze suları (TAT®), CHA (Cherry Decoction Agar), OA (Oatmeal Agar), Agaroz ve Su Agar ortamları üzerine ekimler yapılmıştır.

Bununla birlikte farklı ışık kaynaklarının çimlenme ve miseliyal gelişim üzerine etkilerinin belirlenmesi için, soğuk floresan, mor ışık (50 Hz güçte ışık veren 4 ampul altında) ve karanlık şartlarda inkübasyonlar yapılmıştır (Smith ve Onions, 1994; Dikilitaş ve ark. 2011).

Çalışmalarda her deneme konusu 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 3 petri olacak şekilde kurulmuştur. Ayrıca her deneme 3 kez tekrar edilmiştir. Deneme sonrasında 30. gün sonunda elde edilen sonuçlara göre çimlenme değerleri hesaplanmıştır. Ortalamalar öncelikle açılı transformasyonu ile düzeltilerek popülasyonun normal dağılıma uygun hale gelmesi sağlanmış ve Tesadüf Parselleri Deneme Desenine

deneme kurulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklılıklar, LSD çoklu karşılaştırma testleri ile ortalamalar arasındaki farklar tespit edilmiştir.

3.6. Bazı Fungisitlerin *In vitro* da *P. pistacina* Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında fungusit etkinlik denemelerinde kullanılan kimyasallar Çizelge 3.4.'de özellikleri verilen fungusitlerden oluşmuştur.

Çizelge 3.4. Fungisit Etkinlik Denemelerinde Kullanılan Kimyasallar ve Özellikleri

Etkili Madde Grubu	Etkili Madde	Ticari İsim	Firma Adı
Alifatik Nitrojenler	Dodine %65	Korprex 65 WP	KORUMA
Bakırlılar	%50 Metalik Bakıra eşdeğer Bakıroksiklorür	Bakır WP	KORUMA
Triazololler	Difeneconazole 150 g/L + Propiconazole 150 g/L	Armure 300 EC	SYNGENTA

Fungisitlerin *in vitro* etkinliklerinin belirlenmesi çalışmalarında yüksek virülensliğe sahip olan izolat (27 BS 020) kullanılmıştır. Patojenin *in vitro* sporulasyonu sağlanamadığından, besiyerinde kısa sürede çimlenen izolat virulent olarak kabul edilmiştir.

Kültür besiyeri olarak hazırlanan PDA otoklavda steril edildikten sonra, su banyosunda 45°C'de soğumaya bırakılmıştır. Petrilere dökülmeden önce belirlenen Çizelge 3.5'te belirtilen fungusit dozları ilave edilmiştir. Her doz için 4 petri kullanılmış ve bunların paralelinde hiçbir fungusit eklenmeyen 4 petri kontrol uygulaması ile kültür ortamları hazırlanmıştır.

Fungisitlerin konidial çimlenme üzerine etkilerinin belirlenmesi çalışmaları Mostert ve ark. (2000)'e göre yapılmıştır. Buna göre, yapraktan kazınan

pikniosporlar, çeşitli sulandırmalarla yoğunluğu 1×10^5 spor konsantrasyonuna ayarlanmış ve her petriye 40 µl spor süspansiyonu verilmiş ve steril drigalski spatülü ile petriye yayılmıştır. 24°C’de ve karanlık şartlarda 30 gün süreyle inkübe edilmiştir. Belirtilen şartlarda sağlanan inkübasyon sonrasında, her petri içinde 3 farklı alanda toplam 30 spor incelenerek çimlenme durumları gözlenmiştir. Sporların çimlenme durumlarına göre sayımlar yapıp yüzde çimlenme belirlenmiştir. Deneme üç kez tekrarlanmış ve dozlara göre yüzde etkiler Abbott formülüne göre hesaplanmıştır (Abbott, 1925). Sayımlar sonrasındaki verilerin istatistik analizinde, yüzde etki değerlerinin açı transformasyonu ile düzeltilip, Korelasyon ve Regresyon analizleri yapılmıştır.

Çizelge 3.5. *In vitro* Fungisit Etkinlik Denemelerinde Kullanılan Fungisitler ve Dozları (Ticari Preparat)

Bakır Oksiklorür (gr/100 L)	Dodine 65 WP (gr/100 L)	Propiconazole+ Difenoconazole (150 g/L+150 g/L) (ml/100 L)
1	0,1	0,1
10	1	1
20	5	2
50	10	5
100	20	10
200	50	20
500	100	50

3.7. Fungisitlerin Antepfıstığı Fidanlarında İnfeksiyon Oluşumu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Antepfıstığında Karazenk hastalığına karşı kullanılan fungusitlerin etkinliğinin denemesi amacıyla, üreticiler tarafından yaygın olarak kullanılan 3 fungusit seçilmiştir. Karazenk hastalığında ilaçlama programı Antepfıstığı vejetasyon dönemine göre belirlenmektedir. Uygulamalar çoğu zaman infeksiyonlardan önce, infeksiyon periyodunda ya da simptomlar oluşuktan sonra yapılmaktadır. Denemede

fungisitlerin etki mekanizmaları da dikkate alınarak 3 farklı yöntemle uygulamalar yapılmıştır. Bunlar;

- Ø **İnokulasyondan 1 Gün Önce:** Antepfıstığı fidanlarına fungusitler uygulanmış (Şekil 3.3), 1 gün sonra spor süspansiyonu verilmiştir.
- Ø **İnokulasyondan 1 Hafta Sonra (İnkübasyon Periyodunda):** Antepfıstığı fidanlarına öncelikle spor süspansiyonu uygulanmış, 1 hafta sonrasında inkübasyon periyodu içerisinde fungusit uygulaması yapılmıştır.
- Ø **İlk Simptomlar Görüldüğünde:** Antepfıstığı fidanlarına öncelikle spor süspansiyonu uygulanmış, denemedeki tüm fidanlarda belirtilen semptomlar oluştuğundan sonra (inokulasyondan 30 gün sonra) fungusit uygulaması yapılmıştır.

Denemede 2 yaşlı antepfıstığı çöğürleri kullanılmış, spor süspansiyonu *in vitro*'da hızlı çimlendiği gözlenen ve buna göre virulent olduğu belirlenen Köseceli izolatından (02 BS 020) elde edilmiştir. Antepfıstığı yapraklarında bulunan pikniosporların suya geçmesi için yapraklar 2 lt saf su içerisinde 1 saat bekletilmiştir. Spor yoğunluğu Neubauer lamında ölçülmüş ve 5×10^6 yoğunluğa ayarlanmıştır. Uygulamalar 300 ml'lik el püskürtücüleri ile yapraklar tamamen ıslanmaya kadar yapılmış (Şekil 3.4), sonrasında infeksiyonun gerçekleşmesi için 55x60 cm büyüklüğündeki polietilen torbalar ile kapatılmıştır (Şekil 3.5 ve Şekil 3.6)..



Şekil 3.3. İnokulasyon Öncesi Fidanlara Fungisit Uygulaması



Şekil 3.4. Hazırlanan Spor Süspansiyonunun Antepfıstığı Fidanlarına İnokulasyonu



Şekil 3.5. Fidanların Patojen İle İnokulasyondan Sonra Polietilen Torbalarla Kapatılması



Şekil 3.6. Konularına Göre Uygulama Yapılmış Fidanların Genel Görünümü

Fungisitler, ruhsat dozlarına göre hazırlanmış ve tüm yaprak yüzeyi ıslanincaya kadar ortalama 10-15 ml olacak şekilde püskürtülmüştür. Deneme, tesadüf parsellerinde, bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her konu için sadece distile su püskürtülen kontrol uygulaması yapılmıştır. İlk uygulama; 30 Mayıs 2011 tarihinde, ikinci uygulama; 14 Eylül 2011 tarihinde gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmeler uygulamadan 45 gün sonunda, Tarım Bakanlığı Standart İlaç Deneme Metotlarına göre 0-5 dereceli bir skalaya göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. Antepfıstığında Karazenk Hastalığı Değerlendirme Skalası (Anonim, 1996)

İndeks	Hastalık Oranı
0	Hiç Leke Yok
1	Yaprağın 1/5 i lekelerle kaplı
2	Yaprağın 1/4 ü lekelerle kaplı
3	Yaprağın 1/2 si lekelerle kaplı
4	Yaprağın 3/4 ü lekelerle kaplı
5	Yaprağın 3/4 ünden fazlası lekelerle kaplı

Elde edilen sonuçlara Abbott formülü (Abbott, 1925) uygulanarak yüzde etki hesaplanmıştır.

$$\text{Yüzde Etki} = (A-B) / A \times 100$$

A: Kontrolde Hastalık Şiddeti

B: Uygulamada Hastalık Şiddeti

Uygulama şekli ve uygulanan fungusitlerin yüzde etkilerine ANOVA testi uygulanmış ve ortalama değerler arasındaki farklılıklar LSD çoklu karşılaştırma testleri ile karşılaştırılmıştır.

3.8. Bazı Antepfıstığı Çeşitleri ile Yabani Bazı Pistacia Türlerinin Karazenk Hastalığına Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi

Antepfıstığı çeşitlerinde hastalık şiddetini belirleme çalışmaları 25 yaşlı Uzun, Kırmızı, Ohadi, Siirt, Halebi dişi çeşitlerinde ve 25 yaşlı Kaşka, Atlı ve Uygur erkek çeşitlerinde yürütülmüştür. Ayrıca fidanlarda hastalık şiddeti aşılı 2 yaşlı Uzun, Kırmızı, Siirt, Tekin ve Barak yıldızı çeşitlerinde çalışılmıştır.

Etmenin yabani Antepfıstığı türlerinde hastalık oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla, Gaziantep Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Gen Kaynakları parsellerinde bulunan 15 yaşlı, *Pistacia terebinthus* L., *P. khinjuk* Stocks, *P. atlantica* Desf. ve *P. integerrima* Ste.&Brandis türleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır.

P. pistacina'nın bazı antepfıstığı çeşitleri ve bazı *Pistacia* türlerinde hastalığa karşı reaksiyonlarının belirlenmesi çalışmaları 2 yaşlı, tüplü ve aşılı fidanlar ile Gaziantep Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü gen kaynakları parsellerinde bulunan ağaçlarda yürütülmüştür.

Fidanlarda yürütülen çalışmalar, Uzun, Kırmızı, Halebi ve Siirt standart dişi çeşitleri ile yeni selekte edilip tescil edilen Barak Yıldızı ve Tekin dişi çeşitlerinde yürütülmüştür.

Standart bazı antepfıstığı çeşitlerinin Karazenk hastalığına karşı reaksiyonlarının belirlenmesi amacıyla, 35-45 yaşlı standart erkek (Kaşka, Atlı, Uygur) ve dişi (Uzun, Kırmızı, Halebi, Siirt, Ohadi) çeşitlerde yapay inokulasyonlar yapılmıştır. Bu amaçla, inokulum kaynağı olarak *P. pistacina*'nın *in vitro* çalışmalara göre besiyerinde hızlı gelişen 02 BS 020 kod numaralı izolat kullanılmıştır. Uygulama öncesinde bir önceki sene *P. pistacina* piknidiumlarının yoğun olarak bulunduğu yapraklardan alınan pikniosporlarda, YMA (Yeast Malt Extract Agar) üzerinde *in vitro* canlılık testi yapılmıştır. Spor süspansiyonun hazırlanmasında infekteli yapraklar distile su içerisinde 30 dakika bekletilerek pikniosporların suya geçmesi sağlanmıştır. Sonrasında yapraklar süzülerek uzaklaştırılmış ve mikroskop altında Neubauer lamı üzerinde yoğunluk $2-3 \times 10^6$ spor/ml (Cordo ve ark., 1999)'ye ayarlanmıştır.

Ağaçlar üzerinde Kuzey, Doğu, Güney ve Batı yönlerde 3 yaşlı dallar işaretlenmiş ve her dalın 0,5 m²'lik kısmına 150 ml spor süspansiyonu spreyle edilmiştir (Şekil 3.7). Sonrasında dallar 72x95 cm ölçülerindeki polietilen torbalarla kapatılarak 2 gün süreyle kapalı inokulasyon sağlanmıştır (Şekil 3.8).

Konulara ve çeşitlere göre gözlemler her yöneyden 5 bileşik yaprak üzerinde yapılmıştır. Çalışmada her yöney bir tekrür olarak ele alınmış ve zamanlara göre uygulamalar farklı ağaçlar üzerinde yapılmıştır. Kontrol olarak her ağaçta seçilen 3 yaşlı bir dal üzerindeki yapraklarda gözlemler yapılmıştır.



Şekil 3.7. Hazırlanan İnokulumun 25 Yaşlı Antepfıstığı Ağaçlarına İnokulasyonu



Şekil 3.8. İnokulasyon Sonrası Dalların Naylon Torbalarla Kapatılması

Gözlemler ilk uygulama tarihine göre 30, 60, 90 ve 120. gün sonunda yapılmış, diğer uygulama tarihlerindeki gözlem günleri buna göre ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Bununla beraber yabani *Pistacia* türlerinde hastalık reaksiyonları denemeleri, Gaziantep Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Gen Kaynakları Parsellerinde bulunan 15 yaşlı *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, *P. atlantica* ve *P. integerrima* ağaçları üzerinde kurulmuştur.

Araştırma çalışmaları fidanlarda 3 tekerrürlü olarak ve her fidan bir tekerrür olacak şekilde, ağaçlarda ise her ağaç bir tekerrür kabul edilerek 4 tekerrürlü olacak şekilde planlanmıştır. Gözlemler ve değerlendirmeler fidanlarda 30, 60 ve 90 gün süreyle; ağaçlarda ise 30, 60, 90 ve 120 gün süreyle alınmış ve Çizelge 3.3'te belirtilen skala değerlerine göre kaydedilmiştir. Denemeler 2011 ve 2012 yıllarında 2 kez tekrar edilmiştir.

Hastalık şiddetinin hesaplanmasında Tawsend-Heuberger yöntemi kullanılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılık LSD testi ile karşılaştırılmıştır.

3.9. *In vitro* da Patojenin İnfeksiyon Koşullarının Belirlenmesi

İnokulum yoğunluğunu tespit etmek amacıyla Kurt ve Tok (2006) tarafından yapılan çalışmadan modifiye edilerek, yapılan ön denemelerde virüent bir izolatın 10^2 , 10^4 , 1×10^6 , 2×10^6 , 1×10^7 ve 2×10^7 ml^{-1} spor süspansiyonları inokule edilmiş, her bir çöğür yapraklı alanın tamamı naylon torba ile kapatılmıştır. Bu şekilde en uygun inokulasyon yoğunluğu tespit edildikten sonra, laboratuvar koşullarında sıcaklık ve yaprak ıslaklık süresi patojenin bitkiyi infekte etmesine etkisi belirlenmiştir. Bu amaçla Timmer ve ark., (1998) tarafından Minneola tangelolarda *Alternaria alternata* f.sp. *citri* için geliştirilen yöntem modifiye edilerek, 18, 24 ve 30°C olmak üzere 3 ayrı sıcaklık ve 2, 6, 12, 24 ve 48 saat yaprak ıslaklık süresi baz alınmıştır.

Her bir sıcaklık ve yaprak ıslaklık süresi için 3 adet 1 yaşlı çöğürleri kullanılmış ve tüm çöğür yaprakları tamamen ıslatılarak sıcaklığı ayarlanmış iklim odalarında inkübe edilmişlerdir. Yaprak ıslaklığını sağlamak amacıyla her saat başı bir el spreyi ile su püskürtülmüştür (Şekil 3.9). Yaprak ıslaklık sürelerine göre, inkübasyon süreleri sonunda yaprak yüzeyindeki ıslaklık kurutulup iklim odalarında inkübasyona devam edilmiştir. Kontrol uygulamalarında, her bir yaprak ıslaklık süresi konusu için bir fidanda inokulum yerine distile su püskürtülmüş, belirtilen sürelerle göre su püskürtülmüştür (Şekil 3.10).



Şekil 3.9. Antepfıstığı Çöğürlerinin Yapraklarının Islatılması



Şekil 3.10. Belirlenen Süreler Sonunda Yaprakların Kurutulması

Belirtilen bu koşullarda inkübasyonu sağlanan çöğürlerde 30, 60 ve 90. gün sonrasında gözlemler yapılmıştır. 3.2.1’de verilen skala değerine göre değerlendirmeler alınarak, her bir çöğürde Tawsend-Heuberger yöntemine göre % hastalık şiddeti belirlenmiştir.

Yapılan uygulamalardaki ortalamalar arasındaki farklılığın tespiti amacıyla ANOVA testi uygulanmış, en uygun infeksiyon koşulunu sağlayan yaprak ıslaklık süresi ve sıcaklığı belirlemek amacıyla regresyon analizleri yapılmıştır.

3.10. İklimsel Veriler, Spor Miktarı ve İnfeksiyon Oluşumunun Saptanması

İklimsel veriler, spor miktarı ve infeksiyon koşullarının belirlenmesi amacıyla çalışmalar Adıyaman ili Besni ilçesi Köseceli köyünde bir üretici bahçesi ile Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü deneme bahçelerinde yürütülmüştür. Söz konusu alanlara 12V bir adaptör ile 220V şehir ceryanına bağlanmış ve kesintisiz olarak çalışabilmesi sağlanan spor yakalama tuzağı olarak Rotorod

Sampler® (Model 20) kullanılmıştır. Spor yakalama tuzağında; 1,65 x 1,55 x 32,00 mm ölçülerinde iki adet polipropilen çubuk, örneklerin muhafazasında çubukların yerleştirildiği taşıma kutusu bulunmaktadır.

İklimsel verilerin elde edilmesinde, Adıyaman ili, Besni İlçesi, Köseceli Beldesinde üretici bahçesinde MICROMETOS™ (Model: MCR300), Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Merkez İşletme bahçesinde ise IMETOS™ (Model: SMT200) iklim cihazları kullanılmıştır.

Doğal şartlarda *P. pistacina* sporlarının iklimsel durumlara göre uçuşları ve biyolojisini takip etmek amacıyla yukarıda belirtilen alanlara spor yakalama tuzakları, ilk belirtilen oluşum zamanlarının belirlenmesi amacıyla tuzak bitki olarak kullanılan ve haftalık değiştirilen 5 adet antepfıstığı çöğürü, meteorolojik verileri almak üzere ise birer data logger yerleştirilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Besni İlçesi Köseceli Köyü Üretici Bahçesinde Kurulan İklim İstasyonu, Spor Yakalama Tuzakları ve Tuzak Fidanlar

Hava sıcaklığı, nisbi nem, yaprak ıslaklığı ve yağış ile ilgili olan veriler 12 dakika aralıklarla cihaza kaydedilmiştir. Belirli zamanlarda veriler bilgisayara aktarılmıştır. Yıl boyunca toplanan bu veriler minimum, maksimum ve ortalama hava sıcaklığı ve nisbi nemi (%), günlük yaprak ıslaklığı süresi (saat) ve toplam yağış miktarını (mm) gösterecek şekilde düzenlenmiştir.

Bahçelerde spor uçuşlarını saptamak amacıyla yerleştirilen spor tuzakları ile günlük olarak spor uçuşları belirlenmiştir. Söz konusu spor tuzağı (Rotorod Sampler), 12V bir adaptör ile 220 V şehir cereyanına bağlanmış ve kesintisiz olarak çalışabilmesi sağlanmıştır. Günlük olarak spor tuzağı üzerindeki çubuklar (Şekil 3.12) değiştirilmiş ve bu çubuklar mikroskop altında incelenerek pikniospor içerikleri belirlenmiştir.



Şekil 3.12. Spor Yakalama Tuzağı, Polipropilen Çubuklar ve Taşıyıcı Kap

Rotorod Sampler Model 20, 24 saatlik çalışma süresince bir çubuk üzerinde $31,2 \text{ m}^3$ 'lük havada bulunan sporları toplayabilmektedir. Çubukların mikroskopta incelenmesi sırasında bir çubuğun %80'lik bölümü lamel ile kapatıldığından hesaplamalar bunun üzerinden yapılabilmiş ve sonuçta 24 saatlik süre içerisinde her m^3 havadaki spor miktarları hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Hastalık Yaygınlığının Belirlenmesi

Karazenk hastalığının ülke genelinde yaygınlığının belirlenmesi çalışmaları, 2009 ve 2011 yılları arasında yürütülmüştür. Çalışmanın yürütüldüğü illerde, üretim alanları dikkate alınarak ilçeler düzeyinde hastalık yaygınlığı belirlendikten sonra ortalamalar alınarak il genelinde hastalık yaygınlığı hesaplanmıştır.

2009 yılında ülke genelinde 10 il, bu illere bağlı 32 ilçede ve toplam 286 bahçede incelemeler yapılmıştır. Çalışmanın yürütüldüğü iller düzeyinde en fazla hastalık yaygınlığının %75,6 ile Aydın ilinde ve en düşük hastalık yaygınlığının %20,0 ile Şanlıurfa ilinde olduğu belirlenmiştir.

Antepfıstığı üretiminde önemli illerden Gaziantep ilinde, inceleme yapılan toplam 88 bahçede, ortalama il genelinde hastalık yaygınlığı %28,5 olarak tespit edilmiştir. Buna göre hastalık yaygınlığı en fazla %46,0 ile Araban ilçesinde olurken, en düşük yaygınlık oranı %13,3'lük oran ile Karkamış ilçesinde görülmüştür. Diğer önemli üretici il olarak Şanlıurfa ilinde en fazla hastalık yaygınlığının %42,6 ile Siverek ilçesinde ve en düşük ise %7,1 ile Birecik ilçesinde olduğu görülmüştür.

Kahramanmaraş ilinde hastalık yaygınlığına bakıldığında, il genelinde hastalık yaygınlığının %36,3 olduğu, Pazarcık ilçesinde bu oranın % 48,1 ve Merkez'de ise % 24,5 olduğu; Kilis ilinde il genelinde hastalık yaygınlığı %27,0 olarak, Merkez'de %32,1 ve Elbeyli ilçesinde % 21,9; Adıyaman iline bakıldığında il genelinde hastalık yaygınlığı %29,3 olarak belirlenmiş, Gölbaşı ilçesinde bu oranın %34,0 ve Besni ilçesinde ise %24,6 olduğu belirlenmiştir.

Siirt'te, il genelinde hastalık yaygınlığının %40,0 olduğu ve en fazla yaygınlığın %47,1 ile Eruh ilçesinde, en düşük yaygınlığın % 30,3 ile Merkez'de görüldüğü tespit edilmiştir.

Aydın'da il düzeyinde en yüksek hastalık yaygınlığının %85,0 ile Germencik ilçesinde ve en düşük olarak %63,3 ile Sultanhisar ilçesinde olduğu görülmüştür. Diğer taraftan Manisa'da il genelinde hastalık yaygınlığı %49,4 olarak belirlenmiş ve bu oranların en fazla % 40,3 ile Merkez'de, en düşük olarak ise %58,5 ile Selendi

ilçesinde; Mersin ilinde hastalık yaygınlığının il genelinde %58,5 olduğu, Mut ilçesinde hastalık yaygınlığı % 55,0 ve Silifke ilçesinde %62,0 ve Diyarbakır Merkez’de ise %51,2 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. İller ve İlçelere Göre Yürütülen Hastalık Yaygınlığı Çalışmaları (2009 Yılı)

İller	İlçeler	Gözlem Yapılan Bahçe Sayısı	İncelenen Ağaç sayısı	Hastalık Yaygınlığı (%)	Hastalık Yaygınlığı İl Ortalaması (%)
Gaziantep	Araban	10	1.400	46,0	28,5
	Yavuzeli	12	150	38,3	
	Şahinbey	8	1.400	27,5	
	Şehitkamil	10	5.300	36,0	
	Nizip	23	22.860	22,6	
	Karkamış	15	12.000	13,3	
	Oğuzeli	10	6.000	16,0	
Şanlıurfa	Merkez	7	7.800	20,0	20,0
	Birecik	14	21.300	7,1	
	Halfeti	6	15.300	13,3	
	Hilvan	7	7.300	28,6	
	Bozova	7	3.870	8,6	
	Siverek	2	850	42,6	
Kahramanmaraş	Pazarcık	13	2.340	48,1	36,3
	Merkez	3	530	24,5	
Kilis	Merkez	7	2.350	32,1	27,0
	Elbeyli	13	4.500	21,9	
Adıyaman	Besni	21	7.860	24,6	29,3
	Gölbaşı	7	650	34,0	
Siirt	Merkez	13	1.800	30,3	40,0
	Eruh	3	210	47,1	
	Aydınlı	17	2.400	36,6	
	Kurtalan	4	800	46,0	
Aydın	Yenipazar	3	1.300	74,0	75,6
	Sultanhisar	4	760	63,3	
	Germencik	1	60	85,0	
	Merkez	1	50	80,0	
Manisa	Merkez (Yunt dağı)	10	1.400	40,3	49,4
	Selendi	7	650	58,5	
Mersin	Mut	17	940	55,0	58,5
	Silifke	9	340	62,0	
Diyarbakır	Merkez	2	110	51,2	51,2
TOPLAM	-	286	134.580	-	-

2010 yılında yürütülen çalışmalarda ülke genelinde 13 ilde ve bu illere bağlı 36 ilçede hastalık yaygınlığı çalışmaları yürütülmüş, 372 bahçede toplam 135.095 ağaçta kontroller yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en fazla hastalık yaygınlığının %69,1 ile Aydın ilinde ve en düşük %24,0 ile Siirt ilinde olduğu belirlenmiştir.

İller düzeyinde bakıldığında, antepfıstığı üretiminin yoğun olarak yapıldığı Gaziantep'te, il genelinde hastalık yaygınlığı %29,1 olarak hesaplanmış ve en fazla hastalık yaygınlığının %35,4 ile Yavuzeli ilçesinde, en düşük ise %21,4 ile Karkamış ilçesinde olduğu tespit edilmiştir.

Antepfıstığı üretiminde söz sahibi illerden olan Şanlıurfa'da, il genelinde hastalık yaygınlığı %25,0 olarak belirlenmiş ve ilçeler düzeyinde Karazenk hastalığının en yaygın olduğu ilçenin %40,0 ile Siverek, en düşük ise %17,1 ile Merkez ilçede olduğu tespit edilmiştir.

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde diğer illere bakıldığında Kilis ilinde hastalık yaygınlığı %29,5 olarak tespit edilirken, en fazla yaygınlığın %32,0 ile Merkez'de, en düşük ise %25,6 ile Musabeyli ilçesinde olduğu görülmüştür. Adıyaman'da il genelinde hastalık yaygınlığının %29,2 olduğu ve en fazla yaygınlığın %37,6 ile Besni ilçesinde, en düşük ise %25,7 ile Gölbaşı ilçesinde olduğu belirlenmiştir. Siirt ili Merkez ilçesinde hastalık yaygınlığının %29,0, Aydınlar ilçesinde %19,0 olduğu ve il genelinde hastalık yaygınlığının %24,0 olduğu belirlenmiştir. Mardin ilinde ise Kızıltepe ilçesinde yürütülen çalışmalarda hastalık yaygınlığı %40,0 olarak tespit edilmiştir.

Ege bölgesinde yürütülen çalışmalarda, Aydın'da il genelinde hastalık yaygınlığının %69,1 ve en fazla yaygınlığın %72,4 ile Germencik ilçesinde, en düşük ise %64,9 ile Yenipazar ilçesinde olduğu; Manisa ilinde il genelinde hastalık yaygınlığının %37,8, en fazla yaygınlığın Merkez (Yunt dağı) bölgesinde, en düşük %32,1 ile Demirci ilçesinde olduğu; Denizli'de hastalık yaygınlığının %60,0; Uşak ilinde %45,0 ve Kütahya'da %64 olduğu tespit edilmiştir.

Akdeniz Bölgesi'nde Kahramanmaraş'ta sadece Pazarcık ilçesinde çalışmalar yürütülmüş ve hastalık yaygınlığının %28,0 olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan Mersin ilinde il genelinde hastalık yaygınlığı %57,6 olarak belirlenmiş ve bu

oranların Mut ilçesinde %64,8, Silifke ilçesinde ise %50,4 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. İller ve İlçelere Göre Yürütülen Hastalık Yaygınlığı Çalışmaları (2010 Yılı)

İller	İlçeler	Gözlem Yapılan Bahçe Sayısı	Kontrol Yapılan Ağaç sayısı	Hastalık Yaygınlığı (%)	Hastalık Yaygınlığı İl Ortalaması (%)
Gaziantep	Araban	14	770	34,3	29,1
	Yavuzeli	13	3.500	35,4	
	Şahinbey	18	3.480	24,4	
	Şehitkamil	23	3.200	33,9	
	Nizip	50	14.700	26,0	
	Karkamış	29	18.900	21,4	
	Oğuzeli	24	8.400	28,3	
Şanlıurfa	Merkez	7	6.400	17,1	25,0
	Birecik	15	22.680	21,3	
	Halfeti	3	8.670	20,0	
	Hilvan	12	3.600	28,3	
	Bozova	8	2.600	23,0	
	Siverek	2	850	40,0	
Kahramanmaraş	Pazarcık	20	3.680	28,0	28,0
Kilis	Merkez	4	2.000	32,0	29,5
	Elbeyli	8	5.230	30,1	
	Musabeyli	5	1.680	25,6	
	Polateli	4	1.240	30,3	
Adıyaman	Besni	25	9.330	37,6	29,2
	Gölbaşı	7	540	25,7	
	Kahta	3	2.300	26,7	
	Gerger	3	50	26,7	
Siirt	Merkez	2	850	29,0	24,0
	Aydınlı	3	1.570	19,0	
Aydın	Yenipazar	7	1.150	64,9	69,1
	Germencik	2	85	72,4	
	Merkez	2	50	70,0	
Manisa	Merkez (Yunt dağı)	9	1.400	46,4	37,8
	Demirci	6	1.830	32,1	
	Selendi	3	650	34,9	
Mersin	Mut	15	830	64,8	57,6
	Silifke	2	270	50,4	
Denizli	Güney	9	1.300	60,0	60,0
Uşak	Karahallı	4	460	45,0	45,0
Kütahya	Simav	5	450	64,0	64,0
Mardin	Kızıltepe	6	400	40,0	40,0
TOPLAM	-	372	135.095	-	-

2011 yılında yürütölen çalışmalarda ölkö genelinde 10 ilde, bu ilçelere bağlı 32 ilçede hastalık yaygınlığı çalışmaları yürütölmüştür. Toplam 300 bahçede 140.240 ağaçta yapılan kontroller yapılmıştır. Buna göre ölkö genelinde en fazla hastalık yaygınlığının %83,1 ile Mersin ilinde, en düşük ise %22,2 ile Batman'da olduğu tespit edilmiştir.

Gaziantep'te il genelinde 88 bahçede incelemeler yapılmış, il genelinde hastalık yaygınlığının %53,8, ilçeler düzeyinde ise en fazla hastalığın %61,7 ile Araban'da, en düşük %45,0 ile Oğuzeli ilçesinde olduğu belirlenmiştir. şanlıurfa'da toplam 101 bahçede çalışmalar yürütölmüş, il genelinde hastalık yaygınlığının %34,6, ilçelere göre en fazla hastalık yaygınlığının %48,0 ile Siverek'te ve en düşük ise %25,5 ile Merkez ilçesinde olduğu görölmüştür.

Diğer illere bakıldığında Kilis'te il genelinde hastalık yaygınlığının %42,9 ve Karazenk hastalığının en fazla yaygın olduğunun ilçenin %59,9 ile Polateli, en düşük ise %31,6 ile Merkez ile olduğu belirlenmiştir. Adıyaman'da hastalık yaygınlığının ortalama %73,4 ve en fazla oranının %85,0 ile Gölbaşı ilçesinde, en düşük oranının ise %59,0 ile Gerger'de olduğu görölmüştür. Batman il genelinde Karazenk hastalığının %22,2 oranında yaygın olduğu, ilçelere en fazla hastalık yaygınlığının %24,5 ile Kozluk ilçesinde ve en düşük ise %19,8 ile Merkez ilçesinde olduğu belirlenmiştir. Mersin ilinde Aydıncık ilçesinde yürütölen çalışmalarda hastalık yaygınlığının %83,1; Siirt'te Kurtalan ilçesinde %36,7; Kahramanmaraş ili Pazarcık ilçesinde %53,0, Mardin'de Kızıltepe ilçesinde %25,7 ve Sivas ili Merkez ilçesinde bu oranının %56,3 olduğu tespit edilmiştir (izelge 4.3).

Çizelge 4.3. İller ve İlçelere Göre Yürütülen Hastalık Yaygınlığı Çalışmaları (2011 Yılı)

İller	İlçeler	Gözlem Yapılan Bahçe Sayısı	Kontrol Yapılan Ağaç sayısı	Hastalık Yaygınlığı (%)	Hastalık Yaygınlığı İl Ortalaması (%)
Gaziantep	Araban	12	230	61,7	53,8
	Yavuzeli	9	580	60,0	
	Şahinbey	14	4.620	51,4	
	Şehitkamil	10	860	52,0	
	Nizip	16	27.600	53,8	
	Karkamış	19	8.640	52,6	
	Oğuzeli	8	16.540	45,0	
Şanlıurfa	Merkez	11	3.870	25,5	34,6
	Birecik	24	27.890	29,2	
	Halfeti	15	2.440	33,3	
	Hilvan	12	8.780	45,0	
	Bozova	18	4.800	27,8	
	Suruç	11	4.100	36,4	
	Akçakale	5	200	32,0	
	Siverek	5	850	48,0	
Kilis	Merkez	5	4.690	31,6	42,9
	Elbeyli	5	3.790	36,7	
	Musabeyli	2	1.700	43,4	
	Polateli	2	1.400	59,9	
Adıyaman	Besni	6	6.500	82,0	73,4
	Gölbası	2	250	85,0	
	Kahta	7	2.300	75,0	
	Tut	4	500	66,0	
	Gerger	4	50	59,0	
Mersin	Aydıncık	13	230	83,1	83,1
Siirt	Kurtalan	6	800	36,7	36,7
Kahramanmaraş	Pazarcık	23	4.420	53,0	53,0
Mardin	Kızıltepe	7	400	25,7	25,7
Batman	Gercüş	4	260	22,3	22,2
	Kozluk	3	200	24,5	
	Merkez	2	640	19,8	
Sivas	Merkez	16	110	56,3	56,3
TOPLAM	-	300	140.240	-	-

Karazenk hastalığının ülke genelinde bölgelere ve yıllara göre yaygınlık durumları ile ilgili yapılan hesaplamalarda, Güneydoğu Anadolu Bölgesinde hastalık yaygınlığı 2009 yılında %32,7, 2010 yılında %29,5 ve 2011 yılında ise %41,3 olarak belirlenmiştir. Akdeniz Bölgesi'nde hastalık yaygınlığı 2009 yılında %47,4, 2010 yılında %42,8 ve 2011 yılında ise %68,1 olarak tespit edilmiştir. Ege Bölgesi'nde yürütülen hastalık yaygınlığı belirlenmesi çalışmaları 2009 ve 2010 yıllarında yürütülmüş ve elde edilen oranların sırasıyla %62,5 ve %55,2 olduğu görülmüştür. Orta Anadolu Bölgesi'nde ise çalışmalar sadece 2011 yılında yürütülmüş ve hastalık yaygınlığının %56,3 olduğu belirlenmiştir. Antepfıstığı üretiminin yoğun olarak yapıldığı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde tüm yıllar itibariyle hastalık yaygınlığının diğer bölgelere göre daha düşük olduğu gözlenmektedir. Bununla birlikte 2009 ve 2010 yıllarında en fazla hastalık yaygınlığı Ege Bölgesi antepfıstığı üretim alanlarında görülürken, 2011 yılında ise en fazla yaygınlık Akdeniz Bölgesi'nde tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

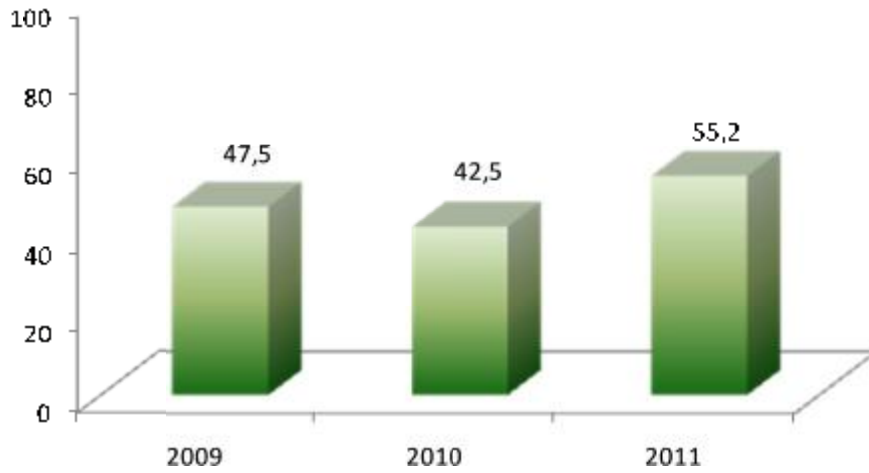
Çizelge 4.4. Yıllara ve Bölgelere Hastalık Yaygınlığı (%)

BÖLGELER	HASTALIK YAYGINLIĞI (%)		
	2009 YILI	2010 YILI	2011 YILI
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	32,7	29,5	41,3
Akdeniz Bölgesi	47,4	42,8	68,1
Ege Bölgesi	62,5	55,2	-
Orta Anadolu Bölgesi	-	-	56,3

Ülkemiz genelinde antepfıstığı üretimi yoğun olarak Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde gerçekleşmekte ve yetiştiricilik kapama bahçelerde yapılmaktadır. Antepfıstığı üreticiler açısından temel geçim kaynağı durumundadır. Dolayısıyla bölge çiftçisi, antepfıstığında kültürel işlemleri yerine getirmeye çalışarak verimliliği korumaya çalışmakta, hastalık ve zararlılarla mücadele etmektedir. Diğer taraftan üretim yapılan diğer alanlarda ve özellikle Ege ve Akdeniz Bölgesi illerinde ise kapama bahçe sayısı oldukça az, üretim genellikle yabancı *Pistacia* ların aşılınması şeklinde sürdürülmektedir. Bu bölgelerin çiftçileri açısından antepfıstığı genellikle

temel geçim kaynağı olmadığından hastalık ve zararlılarla mücadele çalışmaları ihmal edilebilmektedir. Buna bağlı olarak bu bölgelerde, Karazenk hastalık yaygınlığının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Bölgelere bakılmaksızın, yıllar itibariyle hastalık yaygınlığı ortalamalarına bakıldığında, Karazenk hastalığının ülke genelinde 2009 yılında %47,5, 2010 yılında %42,5 ve 2011 yılında ise %55,2 oranında olduğu görülmektedir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Yıllara Göre Türkiye Geneli Hastalık Yaygınlık Ortalamaları (%)

Antepfıstığı mutlak periyodisite gösteren bir üründür ve yıllar itibariyle verimde artışlar/düşüşler görülmektedir. Antepfıstığı çiftçisi, ürünün yok veya az olduğu yıllarda mücadele uygulamalarını ihmal edebilmekte ve dolayısıyla hastalık yaygınlığı değişebilmektedir.

Karazenk hastalığının ülkemiz antepfıstığı üretimi için önemi biliniyor olmasına karşın, hastalığın ülkemizdeki durumu ile ilgili şimdiye kadar herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Elde edilen sonuçlar ülkemizde Karazenk hastalığının yaygınlığı ile ilgili yapılan ilk çalışma durumundadır.

4.2. Patojenin İzolasyonu

Karazenk hastalığı etmeninin yapraktan veya meyveden izolasyonunda temel olarak iki farklı yöntem kullanılmıştır. Çizelge 4.5'te belirtilen 1, 2, 3 ve 4 numaralı yöntemlerde yaprak veya meyvelerden çeşitli ölçülerde, içerisinde lezyonlu bölgeyi içerecek şekilde dokular alınarak farklı sterilizasyon işlemlerine tabi tutulmuşlardır. Yöntem 1'de bitki dokuları akan çeşme suyu altın ön yıkamaya tabi tutulduktan sonra %70'lik ethanol muamele edilmiş, sonrasında %5'lik NaOCl (Sodyum hipoklorit)'de bekletilmiş; Yöntem 2'de akan çeşmede ön yıkama sonrası dokular %5'lik NaOCl'de bekletilmiş ve Yöntem 3'de ise dokular direk olarak %3'lük NaOCl'de bekletilmişlerdir. Yöntem 4'de alınan eksplant büyüklüğü küçültülmüş ve Yöntem 3'de belirtilen sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Yöntem 5'te ise lezyonlu bölgelerden kazınan piknidiumlardaki piknisporlarla spor süspansiyonları hazırlanmış ve besiyerlerine ekim yapılarak kültür sağlanmıştır.

Çizelge 4.5'te belirtilen yöntemlere göre sterilizasyon sonrasında besiyeri olarak PDA (Patates Dekstroz Agar), MEA (Malt Ekstrakt Agar), YMA (Yeast Malt Agar), Antepfıstığı Yaprak ve Meyveleri Glikoz Agar, Agarla yarı katılaştırılmış çeşitli meyve ve sebze suları (TAT[®]), CHA (Cherry Decoction Agar), OA (Oatmeal Agar), Agaroz ve Su Agar kullanılmıştır.

Kullanılan tüm besiyerleri içerisinde en iyi piknispor çimlenmesi ve miseloyal gelişim PDA'dan elde edilmiştir.

Genel olarak fungusun kültür ortamlarında gelişimi çok yavaş olduğundan dolayı yapraktan yapılan izolasyonlarda çok fazla kontaminasyonlarla karşılaşmış ve başarı sağlanamamıştır.

Çizelge 4.5. Karazenk hastalığı etmeninin izolasyonunda kullanılan farklı yöntemler ve elde edilen sonuçlar

Yöntem No	Kullanılan Yöntem	Sterilizasyon İşlemi	Besiyeri	Sonuç
1	Yapraktan/Meyveden 0,5-1 cm ² 'lik lezyonlu bölgeyi içeren kesit alımı	- Ön yıkama - %70 Ethanol'e daldırma - 2 kez distile suda çalkalama - %5'lik NaOCl'de 1 dak. bekletme - 2 kez distile suda çalkalama - 3-4 saat kurutma	PDA	Doku ölümleri
2	Yapraktan/Meyveden 0,5-1 cm ² 'lik lezyonlu bölgeyi içeren kesit alımı	- Ön yıkama - %5'lik NaOCl - 2 kez distile suda çalkalama - 3-4 saat kurutma	PDA	Doku ölümleri ve Kontaminasyon
3	Yapraktan/Meyveden 0,5-1 cm ² 'lik lezyonlu bölgeyi içeren kesit alımı	- %3'lik NaOCl - 2 kez distile suda çalkalama - 3-4 saat kurutma	PDA	Aşırı kontaminasyon
4	Yapraktan/Meyveden 0,2-0,5 cm ² 'lik lezyonlu bölgeyi içeren kesit alımı	- %3'lik NaOCl - 2 kez distile suda çalkalama - 3-4 saat kurutma	PDA	Kontaminasyon
5	Tek spor izolasyon yöntemi ve spor süspansiyonu hazırlanması	- Ön yıkama - %70 Ethanol spreyi	PDA	Başarılı izolasyon

Yöntem 1'de lezyonlu dokuyu içeren bitki dokularına yapılan sterilizasyon işlemi fazla olduğundan doku ölümleri meydana gelmiş ve izolasyon sağlanamamıştır. Yöntem 2'de ise sterilizasyon işlemi azaltılmış olmasına rağmen doku ölümleri azaltılmış, ancak bu kez de kontaminasyonlar artmıştır. Yöntem 3'de ise NaOCl oranı düşürülerek izolasyonlar sağlanmaya çalışılmış, ancak çok fazla kontaminasyon olduğu gözlenmiştir. Yöntem 4'te eksplant boyutu küçültülerek izolasyonlar yapılmış olmasına rağmen, etmen fungusun kültürde yavaş gelişmesinden dolayı hızlı gelişen kontaminantlar nedeniyle izolasyonlarda başarı sağlanamamıştır.

Spor süspansiyonu hazırlanarak yapılan tek spor izolasyon yönteminde ise (Yöntem 5), yaprak/meyve dokuları ön yıkamadan geçirilip, %70'lik etanol yüzeysel sprey edilmiş ve kuruduktan sonra hazırlanan $2-3 \times 10^6$ pikniospor yoğunluğundaki

spor süspansiyonları hazırlanmıştır. PDA besiyerine yapılan ekimlerden ise en iyi izolasyonlar sağlanmıştır. Bununla birlikte kontaminasyonlar da oldukça dŐk seviyede olmuŐtur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Hazırlanan Spor Süspansiyonunda Patojenin Su Agar Ortamında imlenmesi

4.3. Patojenin Tanımlanması ve Biyolojisi

AntepfıŐtıėında Karazenk hastalığına neden olan etmen türler daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda *Septoria pistacina* All., *S. pistaciarum* Carac. ve *S. pistaciae* Desm. olarak bildirilmiştir. Bna karŐılık yürütülen çalışmalarda ülkemizde yaygın olarak bulunan türün *Septoria pistacina* All. olduğu (Şekil 4.3.a) ve sadece Ege bölgesi antepfıŐtıėı alanlarında ise *S. pistaciarum* Carac.'un bulunduğu (Şekil 4.3.b) gözlenmiştir.



Şekil 4.3. Ülkemiz antepfıstığı alanlarında Karazenk hastalığına neden olan *Septoria* türleri (A: *S. pistacina* All. B: *S. pistaciarum* Carac.)

Bununla birlikte elde edilen örnekler teşhis amacıyla Hollanda'da CBS (The Centraalbureau voor Schimmelcultures) Fungal Biodiversity Merkezine gönderilmiş ve yaygın olarak görülen *Septoria pistacina* ile ilgili taksonomik olarak detaylı çalışmaların yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır. Fungusun yapısı moleküler ve morfolojik yönden incelenmiş ve elde edilen sonuçlar yayınlanmıştır. Buna göre Crous ve ark., (2013), *Mycosphaerellaceae* familyası içerisinde birçok cinsle yapılan birlikte değerlendirmede, etmen organizmanın *Septoria* cinsi içerisinde yer alamayacağı, genetik olarak *Pseudocercospora* cinsi ile yüksek homoloji gösterdiği ve bu nedenle etmenin bu cinse dahil edilerek tür isminin de *Pseudocercospora pistacina* (Allesch.) Crous, Quaedvlieg&Sarpkaya olduğu rapor edilmiştir.

Karazenk hastalığının morfolojik yapısı stereo mikroskop, ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu detaylı olarak incelenmiş ve karakteristikleri ise aşağıda belirtilmiştir:

- Ø Yaprak lekeleri: Karazenk hastalığının yapraklarda oluşturduğu lekeler kahverengindedir. Bu lekeler ayrıca köşelidir. Lezyonlar başlangıçta ayrı ayrı lekeler halinde bulunurken, hastalığın yaprak dokusunda ilerlemesiyle birleşerek daha büyük lekeler meydana getirebilirler. Diğer yandan lekeler, yaprak damarları ile sınırlandırılmıştır. Ayrıca bu lezyonlarda bir arada

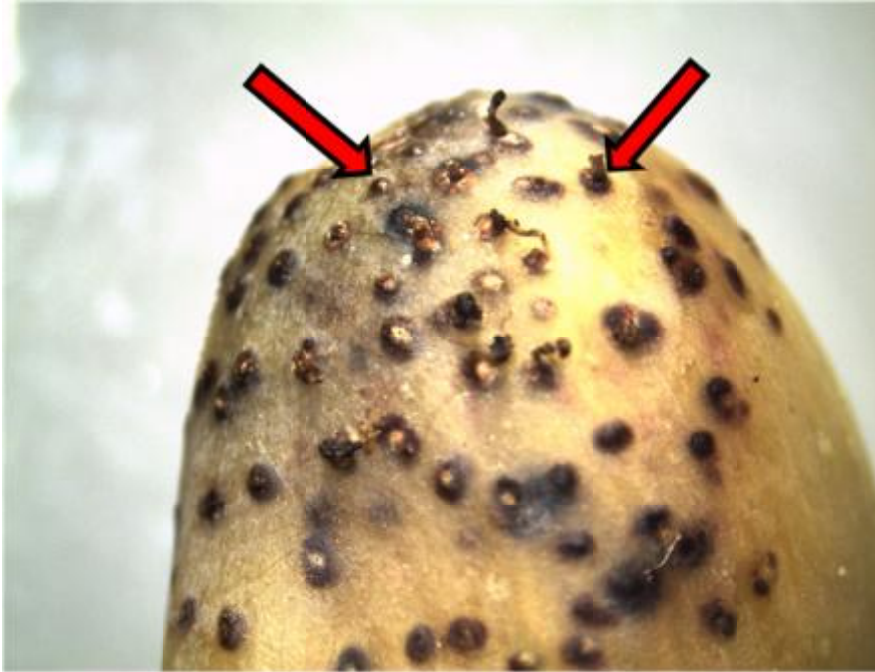
bulunan, yarı gömük halde çok sayıda spor yatağı bulunur. Lekelerin büyüklükleri 30 mm uzunluğunda ve 3-6 mm çapındadır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Karazenk Hastalığının Yapraklarda Oluşturduğu Lekeler

Ø Meyve lekeleri: Hastalığın meyvede oluşturduğu lekeler griden açık kahverengine kadar değişmektedir. Meyve lekeleri genellikle birleşerek daha

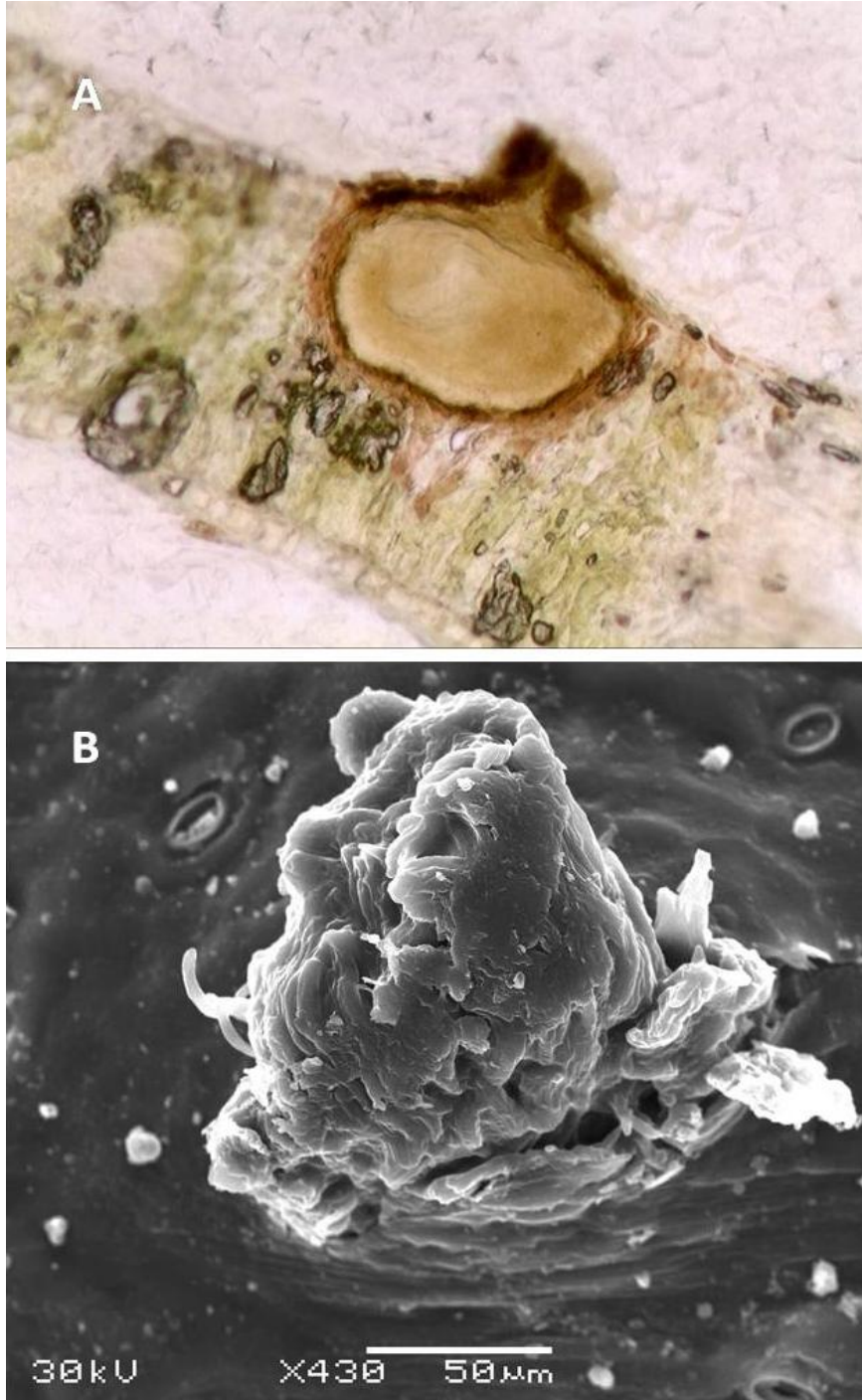
büyük lekeler oluşturmakta, belirgin kırmızımsı bir kenarla çevrilmiştir. Meyve lekeleri 1-4 mm çapındadır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Karazenk Hastalığının Meyvelerde Oluşturduğu Lekeler

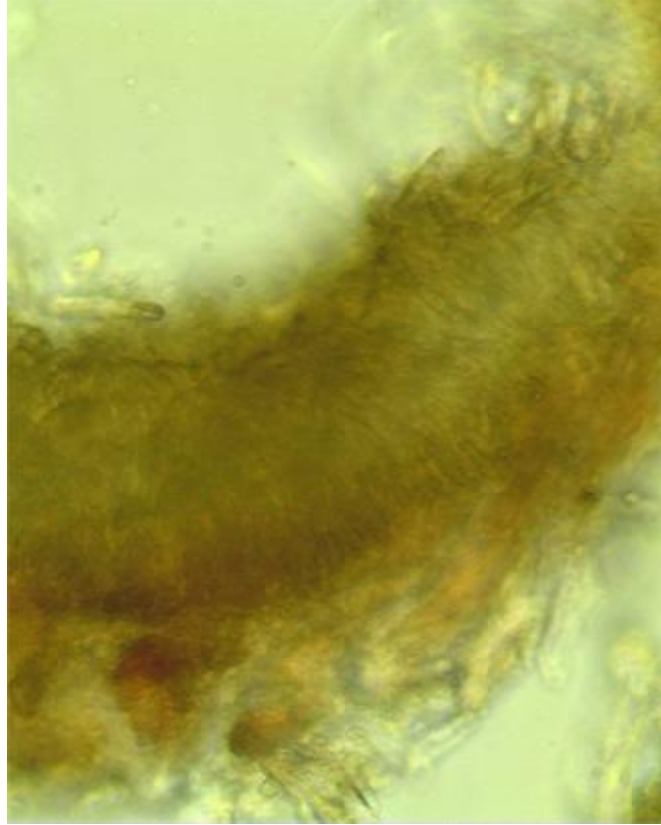
- Ø Spor yatakları (konidiomata): Fungusun spor yatakları olan piknidiumlar, yaprakta epidermis dokusuna yarı yarıya gömülmüş bir haldedir ve şekilsel

olarak yuvarlak ya da üstten hafif basık haldedir. Piknidium 300 μm çapında ve geniş bir merkezi açıklığa sahiptir. Piknidium duvarları 10-20 μm kalınlığında ve 3-6 katmanlıdır (Şekil 4.5).



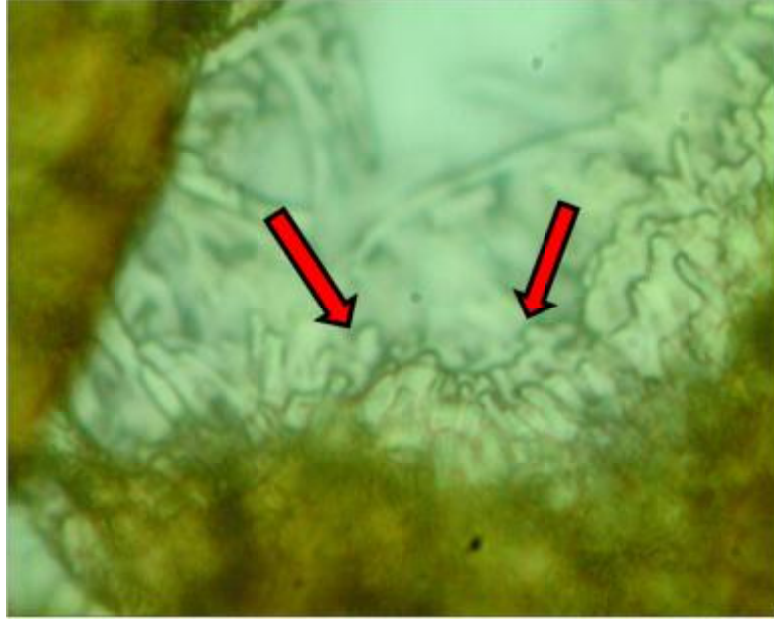
Şekil 4.5. *P. pistacina*'nın Piknidium Yatakları (A: Işık mikroskobu 10x B: Elektron mikroskobu)

Piknidiumlar iç kısmında konidileri taşıyan konidioforlar yarı silindirik, açık kahverengi, 0-3 bölmeli, dallanmıŐ yada dallanmamıŐ halde, 10-30 x 3-5 μm ölçülerindedir (Crous ve ark., 2013) (Şekil 4.6).



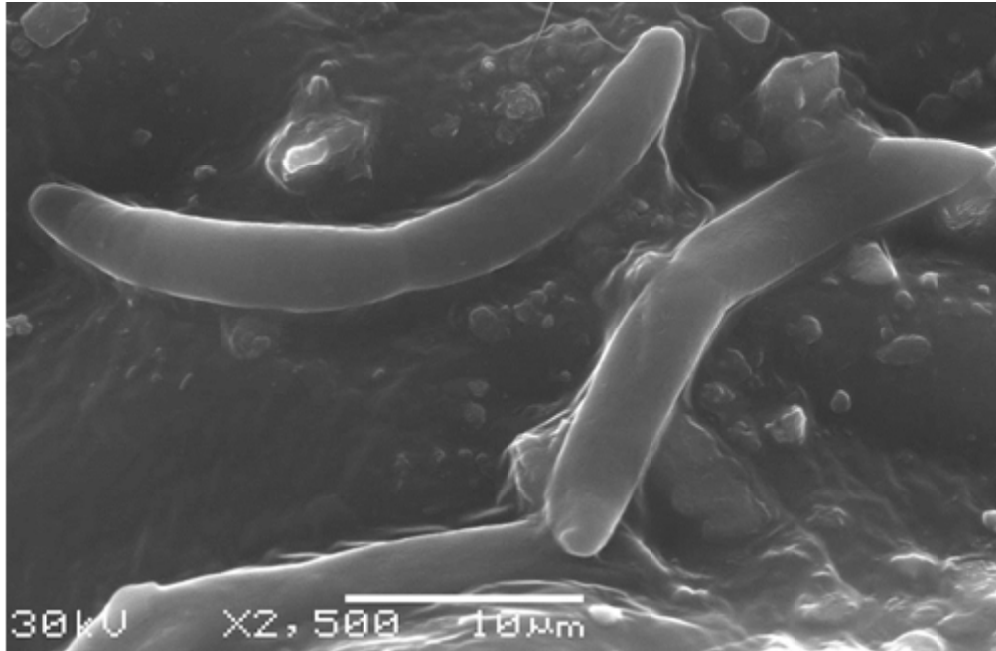
Şekil 4.6. *P. pistacina*'nın IŞık Mikroskobu Altında Konidioforları (40x)

nemli bir teşhis kriteri olarak konidiogen hücreler, terminal ve sublateral, açık kahverengi, yarı silindirikten doliiforma kadar değişen yapılarda, 6-15 x 2,5-4 μm ölçülerinde, u kısımdan sürekli çoğalabilmektedir (Crous ve ark. 2013) (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *P. pistacina*'nın Işık Mikroskobu Altında Konidiogen Hücreleri (100x)

Ø Konidiler: *P. pistacina* konidileri “piknispor” dur. Piknisporlar açık kahverenginde, yarı silindirik, eğri, ortadan 1 bölmeli, iki ucuda yuvarlağımsı ve düz olmayıp, orak şeklinde bir eğikliği vardır (Şekil 4.8). Spor ölçüleri 26,40-59,50µm uzunluğunda ve 2,20-7,14 µm enindedir (Çizelge 4.5).



Şekil 4.8. *P. pistacina*'nın Elektron Mikroskobunda (SEM) Altında Konidileri (Piknisporlar)

Çizelge 4.5. *P. pistacina* Pikniosporlarının En ve Boy Ölçümleri

	Maksimum			Maksimum		
	Ortalama	Minimum	Standart Hata	Ortalama	Minimum	Standart Hata
	Boy (µm)	Ölçüler (µm)		En (µm)	Ölçüler (µm)	
Piknispor	36,89	59,50 26,40	±0,58	3,85	7,14 2,20	±0,10

Karazenk hastalığının doğal koşullarda biyolojisinin belirlenmesi amacıyla, yıl boyunca yaprak örnekleri alınarak incelenmiş ancak, patojenin yıl boyunca yapraklar üzerinde piknidiumlarda pikniospor olarak hayatını geçirdiği, gerek yeşil yapraklar ve gerekse de yere düşen kurumuş yapraklar üzerinde herhangi bir morfolojik değişiklik göstermediği görülmüştür. Patojen kışı yere düşen yapraklar üzerindeki piknidiumlarda pikniospor olarak geçirmekte (Şekil 4.9) ve ilkbaharda vejetasyon başlangıcı ile ilk infeksiyonların pikniosporlar aracılığı ile yapıldığı gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ülkemiz koşullarında *P. pistacina*'nın telemorfik dönemi tespit edilememiştir.

Şekil 4.9. Kışın Dökülen Yapraklar Üzerinde *P. pistacina*'nın Piknidiumları

Chitzanidis (1956), antepfıstığında görülen *Septoria* türleri ve bunların telemorfik dönemlerini ele almış olduğu çalışmada, *S. pistacina* piknidium ölçülerini 96-160 x 160-240 µm olarak belirtmiş ve ostiole açıklığının en fazla 70 µm olduğunu rapor etmiştir. Piknisor ölçülerinin ise 31,8-47,7 x 3,6-4,8 µm olduğu ve her zaman tek bölmeli olduğu bildirilmiştir. Şimdiye kadar eşeyssel döneminin belirlendiği tek çalışma olarak, perithecium ölçülerinin 90-112 µm x 80-106 µm olduğu, perithecium içindeki askus sayısının 20 olduğu, askus boyutlarının 44,8-54,4 µm x 12,8- 14,4 µm olduğu, askospor boyutlarının ise 26,2-40 µm x 3,2-4,8 µm olduğu bildirilmiştir. Ancak bu doktora çalışması kapsamında birçok gözlemler ve incelemeler yapılmış olmasına rağmen, hastalık etmeni fungusun eşeyssel dönemi belirlenememiştir.

Rieuf (1964)'un yürütmüş olduğu çalışmada *S. pistacina*'nın eşeyssel döneminin tespit edilemediği ve fungusun piknidium boyutlarının 90-160 x 150-220 µm olduğu, pikniospor boyutlarının ise 30-50 x 2-3 µm olduğu rapor edilmiştir.

Ülkemiz şartlarında ise en kapsamlı çalışmalar Dinç (1983) tarafından yürütülmüştür. Buna göre araştırmacı antepfıstığında Karazenk hastalığı etmeni olarak iki farklı tür; *S. pistacina* ve *S. pistaciarum*'un morfolojik deskripsiyonunu geniş olarak ele almıştır. Yaprak lekelerini; siyahımsı, koyukahverengi, nispeten geniş bir alana (1-2 cm) yayılmış olarak belirtmiştir. Bununla beraber aynı araştırmacı, piknidium boyutlarının 95-162 x 148-236 µm olduğunu ve pikniosporların eğri, orak şeklinde ve daima tek bölmeli olduğunu, boyutlarının ise 2,9-4,2 x 30,5-43 µm olduğunu rapor etmiştir.

Antepfıstığında Karazenk hastalığı etmeninin tespiti ve isimlendirilmesi konusunda tarihsel süreç içerisinde çok fazla karışıklıklar yaşanmıştır. Fungus ilk kez Leveillé (1842) tarafından *Dothidea pistaciae* olarak, Cooke (1884) tarafından ise *Septoria pistaciae* (Lév.) Cooke olarak isimlendirilmiştir. Aslında aynı olan iki fungusun farklı olarak isimlendirilmesi her iki araştırmacının taksonomik olarak farklı düşünceye sahip olmalarından kaynaklanmıştır. Allescher (1901) ise ilk kez fungusu *S. pistacina* olarak tanımlamış ve Saccardo (1901) *S. pistacina* ve *S. pistaciae*'nin farklı türler olduğu belirtilmiştir. Antepfıstığında yaprak lekelerine neden olan diğer bir hastalık etmeni *S. pistaciarum*, Caracciolo (1934) tarafından tanımlanmış,

böylece 3 farklı *Septoria* türünün antepfıstığı yapraklarında hastalık oluşturduğu tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması ile birlikte ülkemiz şartlarında antepfıstığında Karazenk hastalığının biyolojisi ile ilgili yapılan detaylı çalışmada, yukarıda da belirtildiği üzere, hastalık etmeninin *Septoria* türlerinden oldukça farklı olduğu tespit edilmiş ve patojenik tür *Pseudocercospora pistacina* olarak tanımlanmıştır.

4.4. Patojenisite Çalışmaları

Çalışmadan elde edilen izolatların patojenisitelerinin gerçekleştirilmesi amacıyla 1-2 yaşlı antepfıstığı çöğürleri kullanılmıştır. Patojenin kültür şartlarında sporulasyonu elde edilemediği için farklı iki yöntemle patojenisite sağlanmaya çalışılmıştır.

In vitro'da besiyerlerinde 2 ay süre ile geliştirilen kültürlerden alınan miselyal disk yaprak üzerine yerleştirilerek 3 cm²'lik whatman kağıtları ile kapatılıp bir ataç yardımıyla yaprağa tutturulup, 48 saat süreyle ıslatılmıştır. Belirtilen sürenin sonunda şeffaf bantlarla fungal disklerin yaprakta kalması sağlanmıştır. Bu şekilde 24°C'de ve karanlık şartlarda iklim odalarında inkübe edilen çöğürlerde 30 gün sonra kontroller yapılmıştır.

İnkübasyon sonrası yapılan incelemelerde miselyal disklerin yerleştirildiği bölgelerde nekrozların oluştuğu, ancak infeksiyonun gerçekleşmediği gözlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Antepfıstığı Yapraklarında *P. pistacina*'nın Miselyumları İle Yürütülen Patojenisite Çalışması Sonucu

Kullanılan ikinci yöntemde ise infekteli yaprakların piknidiumlarının kazınarak elde edilen $2-3 \times 10^6$ konsantrasyonundaki spor süspansiyonu püskürtülerek patojenisite gerçekleştirilmeye çalışılmıştır. Püskürtme sonrası 48 saat süre ile çöğürler polietilen torbalarla kapalı tutulmuş, belirtilen süre sonunda torbalar açılarak bitkiler 30 gün süreyle, 24°C 'de ve karanlık şartlarda inkübe edilmişlerdir.

İnkübasyon süresi sonunda yapılan gözlemlerde, hazırlanan spor süspansiyonu ile başarılı bir şekilde infeksiyonların olduğu görülmüştür (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Antepfıstığı Yapraklarında *P. pistacina*'nın Piknisporları ile Gerçekleştirilen İnfeksiyonlar

Birinci ve ikinci yöntemin birleştirilerek yapılan patojenisite çalışmalarında da infeksiyonlar sağlanmış, ancak miselyal diskin yerleştirildiği bölgelerde dokuların nekroze olduğu, bununla birlikte yaprağın diğer alanlarında ise infeksiyonların gerçekleştiği gözlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Antepfıstığı Yapraklarında *P. pistacina* Miselyumlarının Oluşturduğu Nekrozlar ve Pikniosporlar İle Gerçekleşen İnfeksiyonlar

Antepfıstığında yürütülen patojenisite çalışmaları sonucunda, *P. pistacina* antepfıstığı yapraklarında infeksiyonları piknisporları ile gerçekleştirdiği ve miselyumlarının infeksiyon oluşturmadığı sonucuna varılmıştır.

Karazenk hastalığı etmeni *P. pistacina*'nın patojenisite koşulları ile ilgili şimdiye kadar yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır ve bu yönüyle elde edilen sonuçlar bilimsel literatür açısından ilk olma niteliğindedir.

4.5. *In vitro*'da Miselyal Gelişme, Piknidium oluşumu ve Pikniospor Çimlenmesi Üzerine Etki Eden Faktörlerin Tespit Edilmesi

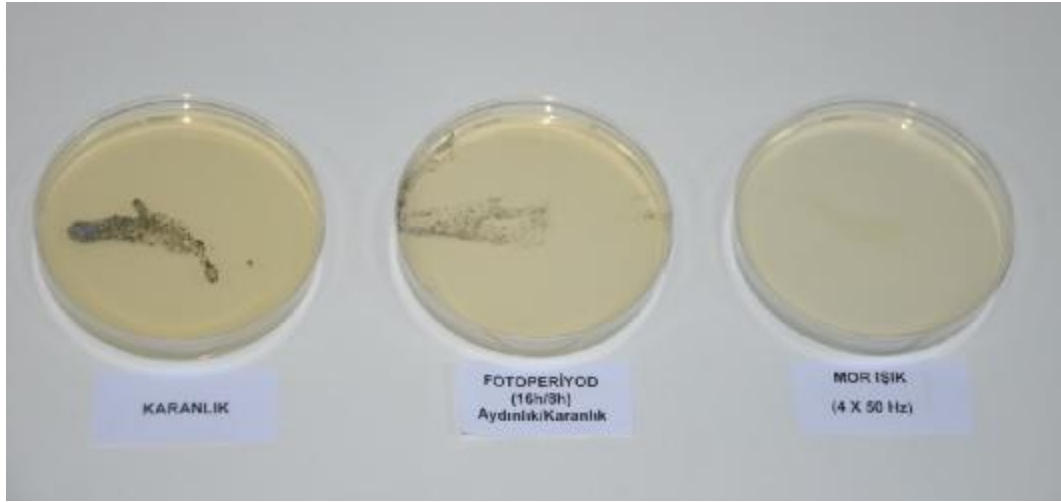
Çalışmada elde edilen izolatların *in vitro* çimlenme ve miselyal gelişmelerine etki eden faktörlerin tespit edilmesinde öncelikle 24°C sabit sıcaklıkta, ışıklanma durumunun etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla; soğuk floresan, mor ışık (50 Hz elektrik veren 4 ampul altında) ve karanlık şartlarda inkübasyonlar yapılmıştır (Smith ve Onions, 1994; Dikilitaş, 2011).

30. gün sonunda uygulama konularına göre çimlenen ve çimlenmeyen şekilde % değerler alınarak değerlendirmeler yapılmıştır. Buna göre *P. pistacina* pikniosporları *in vitro*'da en iyi karanlık şartlarda çimlenmiş (%81,5), 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta çimlenme oranı %51,9 olarak tespit edilmiş ve en az çimlenme oranının mor ışık altında olduğu (%14,8) gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *P. pistacina*'nın *In vitro*'da Işıklanma Durumuna Göre Pikniospor Çimlenmeleri (%)

İŞIKLANMA DÜZEYLERİ	% PİKNIOSPOR ÇİMLENMESİ
Fotoperiyot (16 sa Aydınlık/8 sa Karanlık)	51,9a
Karanlık	81,5a
Mor Işık (4 x 50 Hz mor ışık altında)	14,8b
LSD	6,38

Elde edilen sonuçların analizinde *P. pistacina* pikniosporlarının en uygun Karanlık şartlarda çimlendikleri ve miselyal gelişim gösterdikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. *P. pistacina*'nın Farklı Fotoperiyotlarda Gelişimi

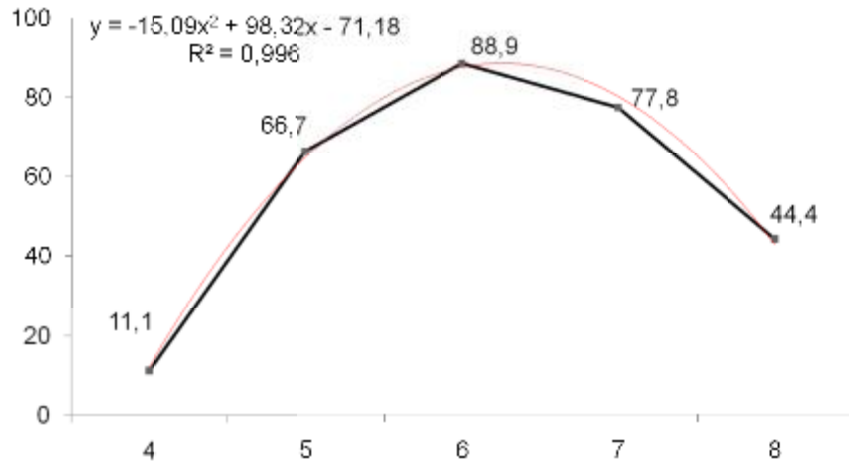
İzole edilen *P. pistacina* sporlarının çimlenme ve miselyal gelişimlerine etki eden çeşitli ortamlar (PDA, CDA ve MEA) ve farklı sıcaklıklar (17, 20, 24, 28 °C) denemeye alınarak inkübasyon sağlanmıştır. Denemede her bir kombinasyon 3 tekrardan ve her tekrar 3 petri olmak üzere toplam 9 petriden oluşmuştur. 30 günlük inkübasyon sonrası fungus sporlarının *in vitro* çimlenmesinde etkili olan besiyerleri ve sıcaklıklar da bu çalışmayla belirlenmiştir.

Sadece besiyerleri göz önüne alındığında *in vitro* piknispor çimlenmesinde en etkili kültür ortamının Patates Dekstroz Agar (PDA) olduğu, piknispor çimlenme oranlarının en fazla 24°C'de (%96,3) ve en düşük oranın ise 17°C'de olduğu (%14,8) gözlenmiştir. Czapek-Dox Agar (CDA) besiyerinde 17°C'de hiç çimlenme olmazken, 20°C'de %29,6, 24°C'de %55,6 ve 28°C'de ise %40,7 piknispor çimlenmesi tespit edilmiştir. Malt Ekstrakt Agar (MEA)'da ise en fazla çimlenme oranının 24°C'de (%63,0), en düşük çimlenme oranının ise 17°C'de olduğu belirlenmiştir. Piknispor çimlenmesi üzerine, sadece sıcaklıkların etkilerine bakıldığında ise tüm besiyerlerinde en etkili sıcaklığın 24°C olduğu, fungusun 20-28°C'ler arasında başarılı bir şekilde izole edilebileceği sonucuna varılmıştır. *In vitro* da piknispor çimlenmesine etki eden temel faktörlerden besiyerleri ve sıcaklığın etkilerinin birlikte değerlendirildiğinde ise, en uygun çimlenme ve dolayısıyla izolasyonun PDA ortamında ve 24°C'de olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Farklı Besiyerlerinin ve Sıcaklığın *In vitro*'da Pikniospor Çimlenmesi Üzerine Etkileri (%)

BESİYERLERİ	SICAKLIKLAR			
	17°C	20°C	24°C	28°C
Patates Dekstroz Agar (PDA)	14,8	51,9	96,3	55,6
Czapek-Dox Agar (CDA)	0	29,6	55,6	40,7
Malt Ekstrakt Agar (MEA)	14,8	48,1	63,0	37,0

P. pistacina'nın *in vitro* kültüründe pikniopor çimlenmesi üzerine farklı pH'ların etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada besiyeri olarak PDA kullanılmış ve en fazla çimlenmenin pH 6'da, en az çimlenmenin ise pH 4'te olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan pH ile pikniopor çimlenmesi arasında polinomiyal bir ilişki tespit edilmiş pH 4'ten pH 6'ya kadar çimlenmede bir artış, bu değerden sonra ise çimlenme oranında düşüş olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.14).

Şekil 4.14. Patates Dekstroz Agar'da *P. pistacina*'nın % Pikniospor Çimlenmesi ile Farklı pH Dereceleri Arasındaki İlişki

P. pistacina'nın *in vitro* sporulasyonu amacıyla çok farklı ortamlar Yeast Malt Ekstrakt Agar (YMA), Antepfıstığı Yaprak ve Meyveleri Glikoz Agar, Agarla yarı katılaştırılmış çeşitli meyve ve sebze suları (TAT®), CHA (Cherry Decoction Agar), OA (Oatmeal Agar) ve Su Agar denenmiş, tüm ışıklandırma şartlarında inkübasyonlar yapılmış ancak hiçbir şartta sporulasyon sağlanamamıştır.

Chitzanidis (1956), *Septoria pistacina*'nın kültüre alınmasında PDA, Havuç Dekstroz Agar ve Yulaf Unu Agar ve Agarla yarı katılaştırılmış antepfıstığı yaprak parçalarını içeren besiyerlerini kullanmıştır. Kullanılan bu ortamlarda fungusun çimlenmesini ve miselyal gelişimi sağlanmış, fungus gelişiminin oda koşullarında nispeten yavaş olduğunu, besiyerlerinde fungusun ancak 15 gün sonra gözle görülebildiğini ve fungusun çok yavaş gelişim gösterdiğini belirtmiştir. Bununla birlikte yapmış olduğu 4 yıllık kültür çalışmalarında fungusun besiyerlerinde hiçbir şekilde piknidium oluşturmadığını sadece çok uzun süreli birkaç kültüre iki kez piknidium benzeri yapıların oluştuğunu belirtmiştir.

Aynı şekilde Aghajani ve ark. (2009), İran'da antepfıstığında *S. pistacina* tarafından neden olunan *Septoria* yaprak lekesi hastalığı'nın ilk kez kaydetmişlerdir. Bununla birlikte aynı araştırmacılar, fungusu PDA üzerinde 25°C'de ve karanlık şartlarda kültüre alarak gelişimini sağlamışlar, ancak kültür şartlarında fungusun hiçbir şekilde piknidium oluşturmadığını ve sporulasyonunun sağlanamadığını belirtmişlerdir.

Crous ve ark. (2013) yılında antepfıstığında *Septoria* benzeri patojenlerin oluşturduğu yaprak ve meyve leke hastalıklarının geniş olarak ele alınıp incelendiği çalışmada, etmenin kültür ortamlarında hiçbir şekilde sporulasyonunun sağlanamadığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen bulgularla şimdiye kadar yapılan çalışmalar arasında benzerlik görülmekte ve fungusun çimlenmesinin ve miselyal gelişiminin en iyi şekilde, karanlık şartlarda, pH 6'da, 24°C'de ve PDA üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan *P. pistacina*'nın denemeye alınan tüm şartlarda piknit oluşturmadığı gözlenmiştir.

4.6. Standart Bazı Antepfıstığı Çeşitlerinin Karazenk Hastalığına Karşı Reaksiyonları

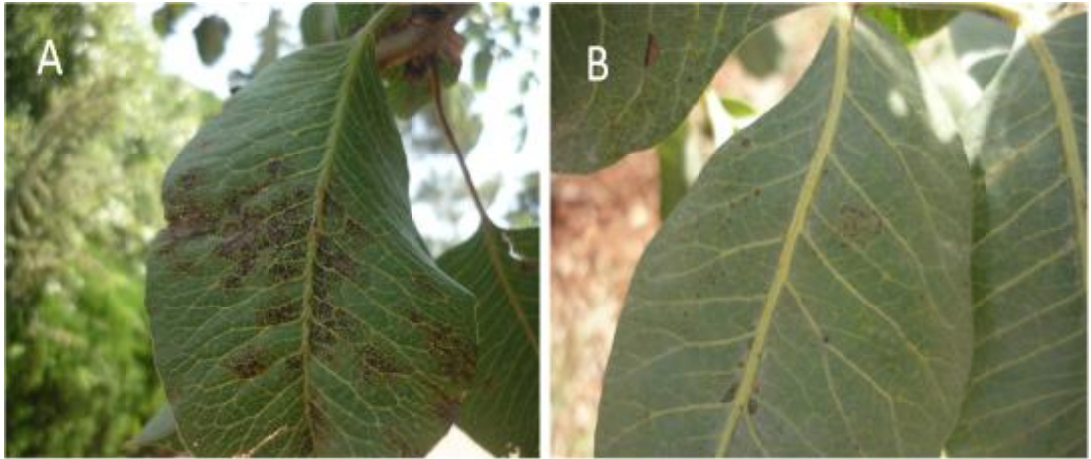
Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Gen kaynakları parsellerinde bulunan ağaçlarda yürütülen hastalık reaksiyonu çalışmaları, 30 yaşlı ve Uzun, Kırmızı, Ohadi, Halebi ve Siirt dişi çeşitleri ile Atlı, Uygur ve Kaşka erkek çeşitlerinde yürütülmüştür.

2011 yılında yapılan deneme, tam yapraklanmanın olduğu 09.05.2011 tarihinde, 2012 yılında yapılan deneme ise 17.05.2012 tarihinde kurulmuştur. 120 gün sonunda yaprak ve meyvelerdeki hastalık gelişimi skala değerlerine göre değerlendirilmiş ve her ağaç başına hastalık şiddeti hesaplanmıştır.

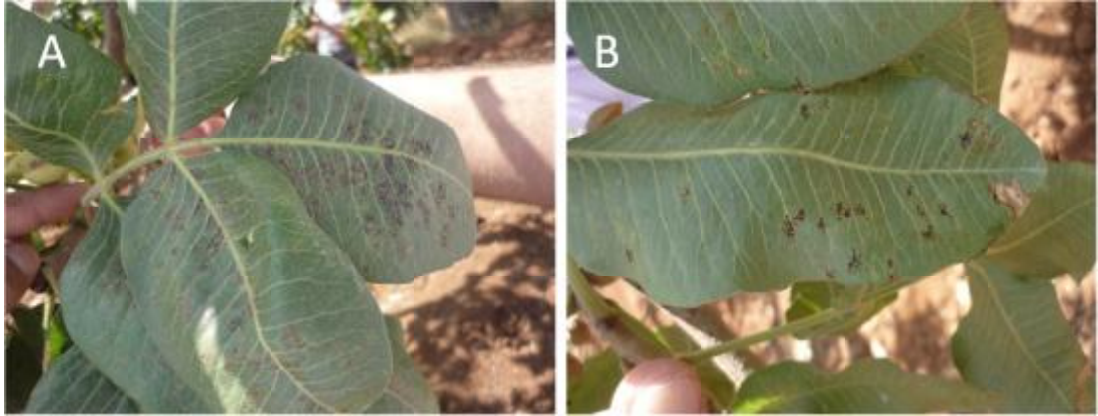
2011 yılında yürütülen çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, cinsiyet gözetmeksizin yapılan değerlendirmelerde farklı antepfıstığı çeşitlerinin Karazenk hastalığına karşı reaksiyonları %42,7 ile %75,1 arasında değişiklik göstermiştir. Erkek çeşitler arasında en yüksek hastalık şiddeti Kaşka çeşidinde (%75,1) (Şekil 4.15.A), dişi çeşitler arasında ise en yüksek hastalık şiddeti %74,9'luk oranla Uzun çeşidinde (Şekil 4.16.A) görülmüş olmasına rağmen istatistiki olarak Kaşka, Uzun (dişi) ve Kırmızı (dişi) çeşitleri aynı grup içerisinde yer almışlardır. Diğer taraftan en düşük hastalık şiddeti Atlı (erkek) çeşidinde (Şekil 4.15.B) görülürken (%42,7), istatistiki anlamda Halebi (dişi) (Şekil 4.16.B) ve Uygur (erkek) çeşitleri sırasıyla %45,7 ve %48,5'lük hastalık şiddetleriyle aynı grup içerisinde yer almışlardır. 2012 yılında yürütülen çalışmalarda elde edilen sonuçlara bakıldığında, erkek çeşitler arasında en yüksek hastalık şiddeti Kaşka çeşidinde (%72,3), en düşük ise Atlı çeşidinde görülmüştür (%43,6). Dişi çeşitler arasında da Karazenk hastalığına duyarlılık açısından farklılıklar olduğu belirlenmiş ve en yüksek hastalık şiddetinin %86,7 ile Kırmızı çeşidinde, en düşük ise %53,6 ile Halebi çeşidinde olduğu görülmüştür. İstatistiki anlamda hastalığa karşı en duyarlı çeşit Kırmızı (dişi) olarak belirlenmiş, ancak Uzun (dişi) ve Kaşka (erkek) çeşitleri sırasıyla %83,7 ve %72,3 hastalık şiddetiyle Kırmızı ile aynı grup içerisinde yer almıştır. Diğer taraftan hastalık şiddeti en düşük Atlı (erkek) çeşidinde görülmüş olmasına rağmen, Halebi (dişi) ve Uygur (erkek) çeşitleri Atlı ile istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Standart Bazı Antepfıstığı Çeşitlerinde Hastalık Şiddeti (%) (2011 ve 2012 yılı)

ÇEŞİTLER	CİNSİYETİ	2011 Yılı Hastalık Şiddeti (%)	2012 Yılı Hastalık Şiddeti (%)
Kaşka	Erkek	75,1a	72,3a
Atlı	Erkek	42,7b	43,6b
Uygur	Erkek	48,5b	50,4b
Uzun	Dişi	74,1a	83,7a
Kırmızı	Dişi	74,9a	86,1a
Halebi	Dişi	45,7b	53,6b
Ohadi	Dişi	61,3ab	65,2ab
Siirt	Dişi	56,4ab	64,3ab
LSD		6,34	5,57
CV		0,07	0,09



Şekil 4.15. Standart Erkek Antepfıstığı Çeşitlerinde Hastalık Şiddeti (A-Kaşka B-Atlı)



Şekil 4.16. Standart Dişi Antepfıstığı Çeşitlerinde Hastalık Şiddeti (A-Uzun B-Halebi)

Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü tarafından son zamanlarda geliştirilen iki adet yeni antepfıstığı çeşidi bulunmaktadır. Meyve kalite değerleri (çıtılama oranı, randıman, meyve iriliği, açık kabuk rengi) ve verimlilik yönünden diğer standart çeşitlerden üstün özellikler gösteren Tekin ve erkencilik bakımından Barak yıldızı çeşitleri (Aktuğ Tahtacı ve Gözel, 2011), son yıllarda bölgede üretimine başlanmış önemli çeşitlerdir.

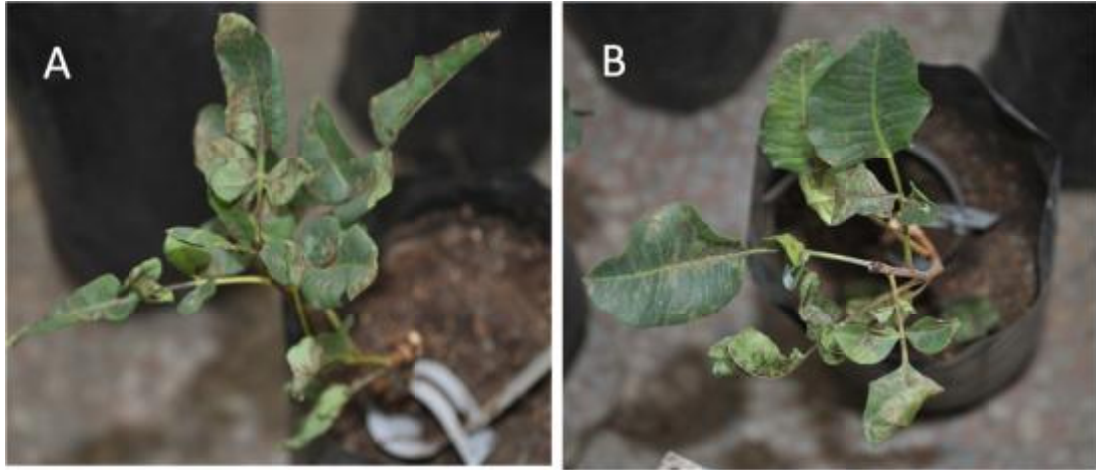
Yeni geliştirilen bu çeşitlerin Karazenk hastalığına karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışma, aşılı 1 yaşlı fidanlarda yürütülmüştür. İnokulum kaynağı olarak *P. pistacina*'nın 02 BS 020 nolu izolat kullanılmış ve sera şartlarında yapılan inkübasyon sonrası 90. günde skala değerlerine göre değerlendirmeler yapılmış ve hastalık şiddetleri hesaplanmıştır. Çalışma 2 yıl tekrar edilmiştir.

2011 yılında yürütülen çalışmada, Kırmızı çeşidine akraba olan Barak yıldızı ve Siirt çeşidine akraba olan Tekin çeşidinde, hastalık şiddetleri sırasıyla %84,5 ve %66,7 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte Barak yıldızı çeşidinde hastalık şiddeti akraba gurubu Uzun ve Kırmızı'dan, Tekin çeşidinde ise akraba olduğu Siirt çeşidinden daha yüksek çıkmıştır. 2012 yılında yapılan çalışmada en yüksek hastalık şiddeti Barak yıldızı çeşidinde (%76,7) görülmüş (Şekil 4.17.a), ancak istatistiki olarak Kırmızı çeşidi (%75,6) ile aynı grupta yer alarak en duyarlı gurubu oluşturmuşlardır. Diğer taraftan Siirt çeşidinde (%42,2) hastalık şiddeti en düşük

olarak gözlenmiş, yeni geliştirilen Tekin çeşidinde (Şekil 4.17.b) ise hastalık şiddeti %58,9 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Standart Bazı Antepfıstığı Çeşitleri Fidanlarının Karazenk Hastalığına Duyarlılıkları

ÇEŞİTLER	CİNSİYETİ	2011 Yılı Hastalık Şiddeti (%)	2012 Yılı Hastalık Şiddeti (%)
Uzun	Dişi	71,1ab	66,7Ab
Kırmızı	Dişi	71,1ab	75,6Ab
Barak Yıldızı	Dişi	84,5ab	76,7Ab
Siirt	Dişi	48,9c	42,2C
Tekin	Dişi	66,7b	58,9B
LSD		6,92	6,66
CV		0,12	0,13



Şekil 4.17. Yeni Selekte Edilen Dişi Antepfıstığı Çeşitlerinden Barak Yıldızı (a) ve Tekin Fidanlarında Hastalık Şiddeti

Antepfıstığında şimdiye kadar standart çeşitlerin Karazenk hastalığına duyarlılıkları ile herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Dinç (1983), gözlemsel olarak dişi çeşitlerin erkek çeşitlere göre hastalığa daha hassas olduğunu bildirmiş, yabancıların ise daha dayanıklı olduğunu bildirmiştir.

Dünyada ise *P. pistacina*'nın neden olduğu yaprak lekeli hastalığına karşı çeşitlerin duyarlılıkları ile herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte dünyada önemli üretici ülke konumundaki Amerika Birleşik Devletleri'nde antepfıstığı üretim alanlarında ana hastalık etmeni durumundaki *Botryosphaeria dothidea* tarafından neden olunan Sürgün ve Salkım yanıklığı hastalığına karşı birçok dişi çeşidin oldukça hassas olduğu, erkek çeşitlerden ise selekte edilen bazı tiplerin (02-16, 02-18) Peters tozlayıcı çeşidinden daha duyarlı oldukları belirtilmiştir. Yine ABD'de antepfıstığında çok ciddi zararlar yapan *Verticillium dahliae*'ye karşı *Pistacia integerrima* cv. Pioneer Gold çeşidinin dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Uzun yıllar yürütülen ıslah çalışmalarında elde edilen UCB-1 (*P. atlantica* x *P. integerrima*) çeşidinin ise Pioneer Gold'a göre *V. dahliae*'ye karşı daha az dayanıklı olduğu da ayrıca bildirilmiştir (Teviotdale ve ark. 2002). Dünyada en önemli antepfıstığı üreticisi ülke konumundaki İran'da ise antepfıstığı hastalıklarına karşı çeşit reaksiyonları ile ilgili herhangi bir kayda rastlanmamıştır.

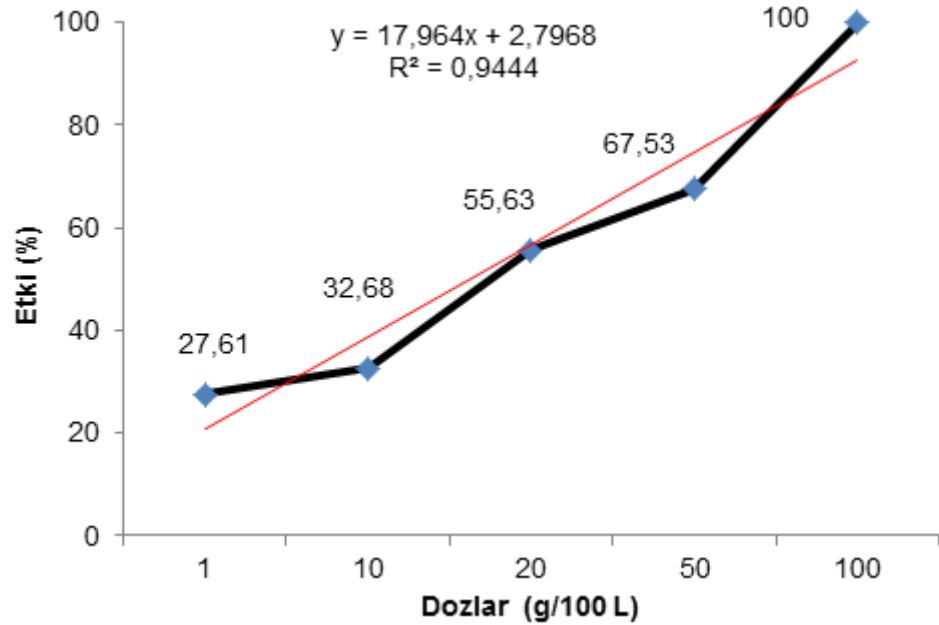
Antepfıstığı *Pistacia* cinsine bağlıdır ve *Pistacia* cinsi içerisinde bulunan 11 yabancı tür antepfıstığına anaç olma özellikleri ile yaygın olarak kullanılmaktadır. Tez çalışması kapsamında Türkiye'de *Pistacia* cinsine bağlı yabancı türlerin hiçbirisinde *Pseudocercospora pistacina*'nın neden olduğu yaprak lekelerine rastlanmamıştır. Bununla birlikte Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü gen kaynakları parsellerinde bulunan 15 yaşlı *Pistacia terebinthus*, *P. khinjuk*, *P. atlantica*, *P. terebinthus* ve *P. integerrima* ağaçlarına çeşit reaksiyonlarına benzer şekilde inokulasyonlar yapılmış, ancak hiçbir türde hastalık gelişimi gözlenmemiştir. Bu çalışma sonrasında *Pistacia* cinsinde bulunan yabancı türlerde Karazenk hastalığının görülmediği ve hiçbir şekilde enfeksiyon oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Young ve Michailides (1989), hastalığın sadece *P. vera* L. yapraklarında olduğunu, *P. atlantica* Desf. ve *P. terebinthus* L.'ta ise görülmediğini rapor etmiştir. Dinç (1983) tarafından belirtilen yabancıların daha dayanıklı olduğu ile bilginin ise bu çalışma ile değiştiği söylenebilir.

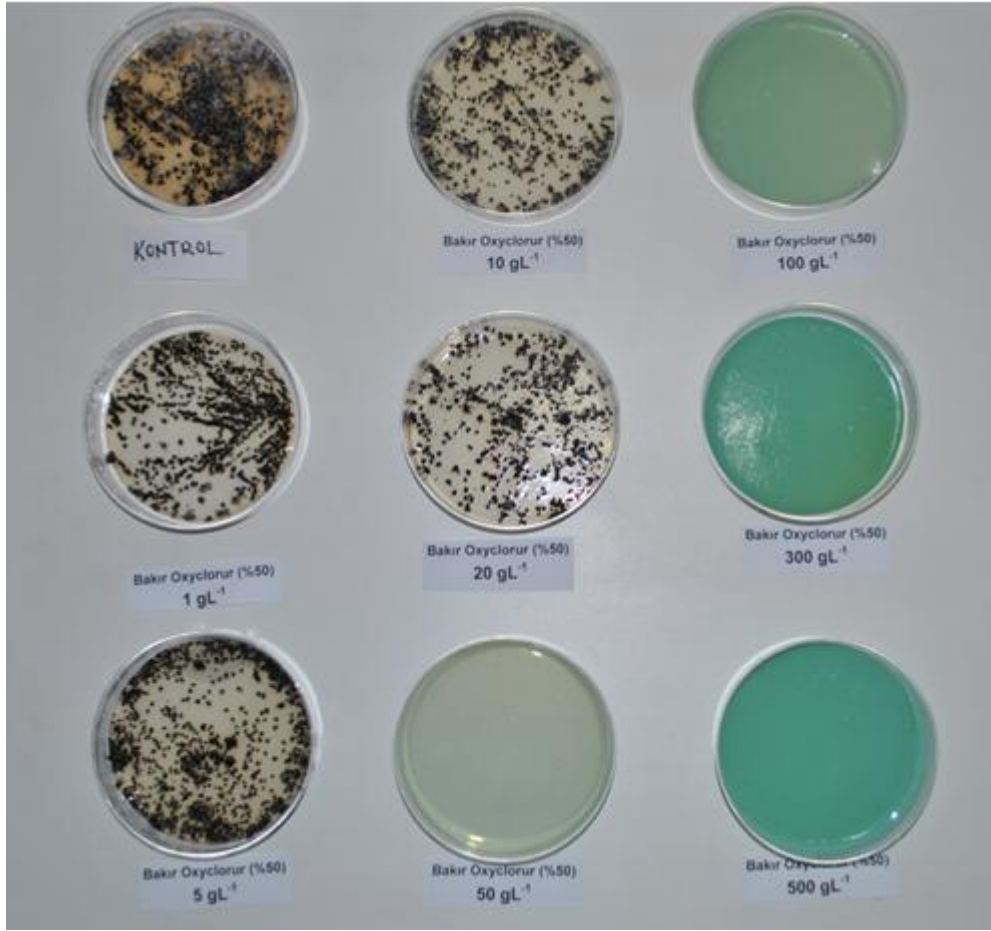
4.7. Bazı Fungisitlerin *In vitro*'da *P. pistacina* Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Karazenk hastalığının kimyasal mücadelesinde ruhsat almış ve GAP bölgesinde yaygın olarak kullanılan bakıroksiklorür (Bakırox™), dodine (Korprex™) ve propiconazole + difenoconazole (Armure™) gibi bazı fungusitlerin *in vitro*'da *P. pistacina*'nın konidial çimlenmeye etkisi araştırılmıştır. Hastalığın kontrolünde ruhsat alınmış dozlar maksimum düzeyde kabul edilerek (Çizelge 3.4) fungus sporlarının çimlenmesini inhibe eden dozlar belirlenmeye çalışılmıştır.

Bakıroksiklorür ile ilgili yapılan denemede, fungusit dozları ile konidial çimlenme arasında doğrusal bir ilişkinin bulunduğu, en düşük doz olarak alınan 1 gr/100 L su dozunda fungus çimlenmesi %27,61 oranında inhibe edilmiş, bakırox dozların artışına bağlı olarak % etki de artmış ve 100 gr/100 L su dozunda fungus çimlenmesi tamamen engellenmiştir (Şekil 4.19 ve Şekil 4.20).

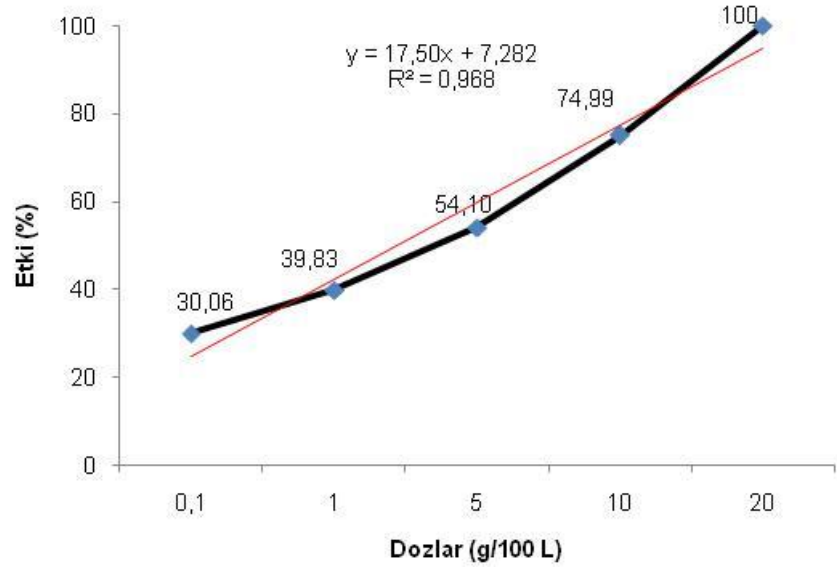


Şekil 4.19. Bakıroksiklorür'un *In vitro*'da *P. pistacina* Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri

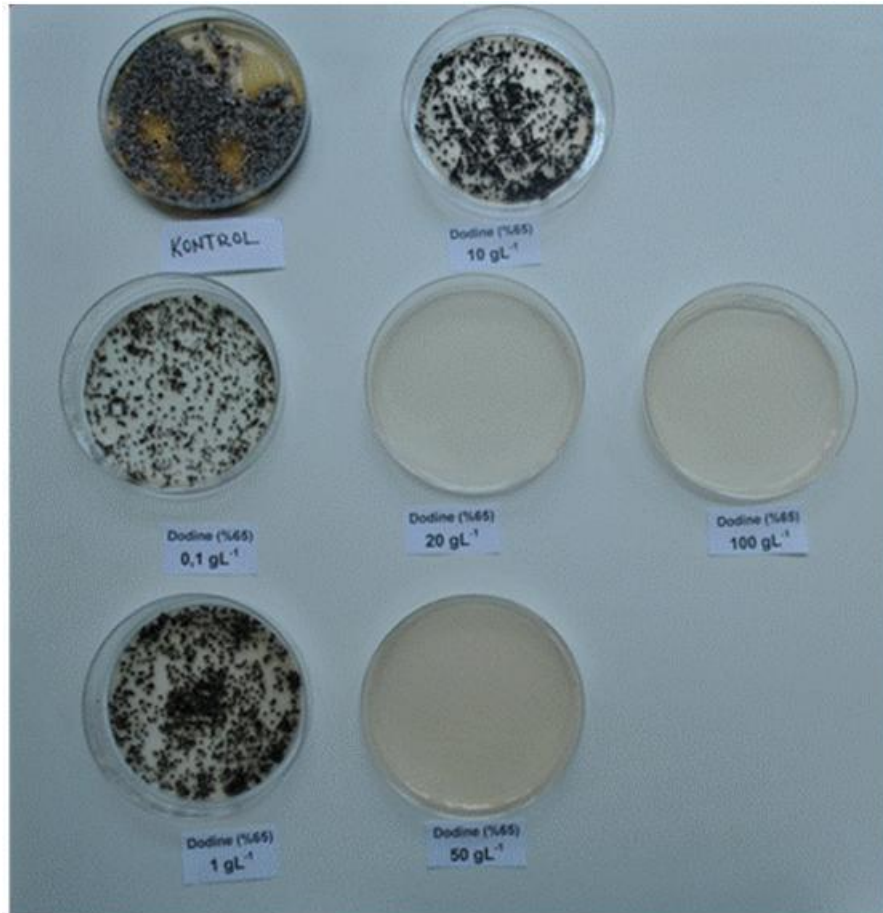


Şekil 4.20. Bakıroksiklorür'ün Farklı Dozlarının *In Vitro*'da *P. pistacina*'nın Spor Çimlenmesi Üzerine Etkileri

Hastalık mücadelesinde uzun yıllardır kullanılan, konvansiyonel fungusitlerden dodine ile yapılan denemelerde en düşük doz olarak 0,1 g/100 L su dozunda fungus çimlenmesi üzerine etkililik %30,06 olarak bulunmuş, dozların artışına bağlı olarak % inhibisyon oranı da artmış, 10 g/100 L su dozunda fungus çimlenmesi %74,99 oranında inhibe edilmiş ve denemeye alınan 20 g/100 L su dozundan itibaren ise çimlenmenin tamamen engellendiği belirlenmiştir. Fungisit dozları ile yüzde etki arasında yüksek korelasyon ve doğrusal bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.21 ve Şekil 4.22).

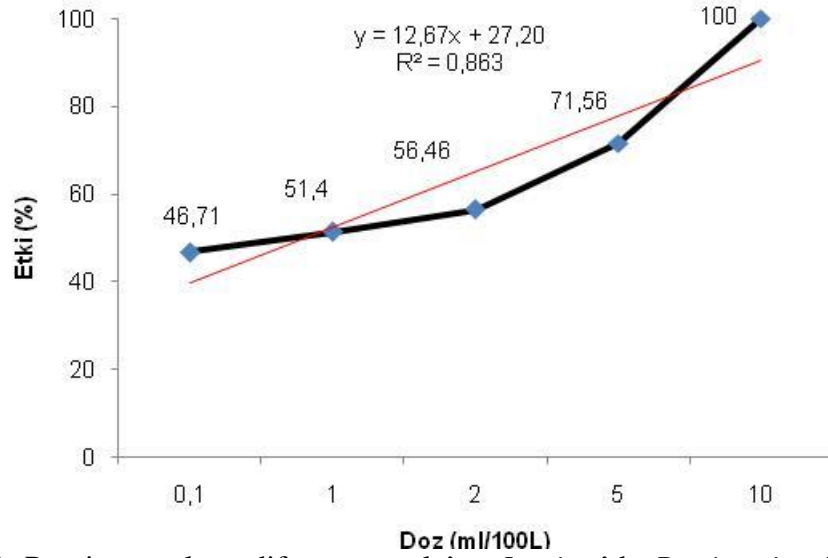


Şekil 4.21. Dodine'in *In vitro*'da *P. pistacina* Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri

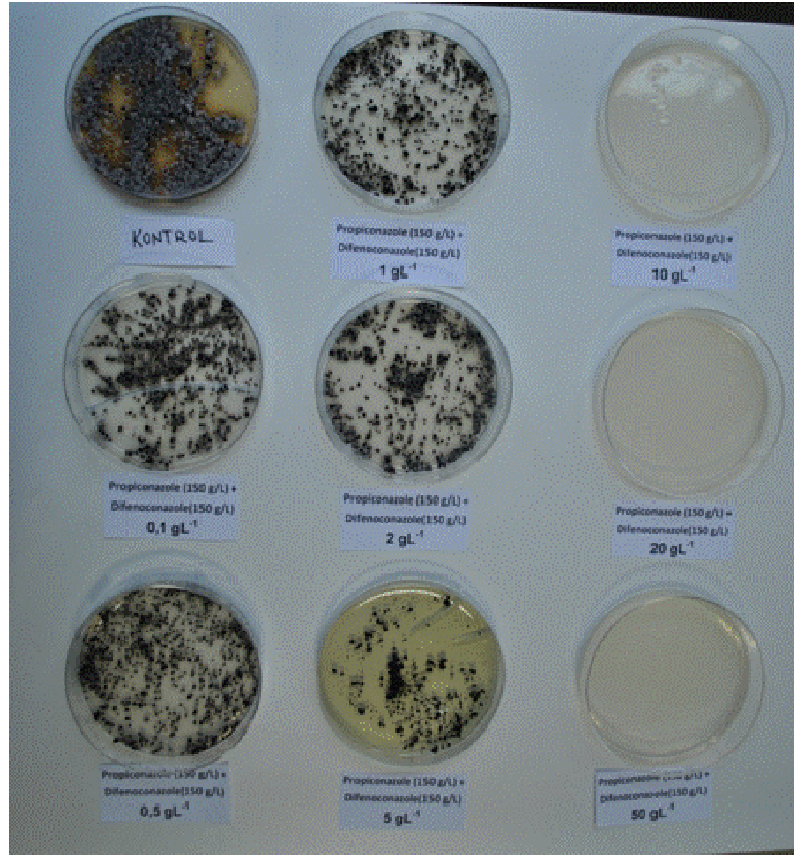


Şekil 4.22. Dodine'in Farklı Dozlarının *In Vitro*'da *P. pistacina*'nın Spor Çimlenmesi Üzerine Etkileri

Triazole grubundan olan ve sistemik etkiye sahip propiconazole + difenoconazole ile yapılan denemelerde ise en düşük doz olarak 0,1 ml/100 L su dozunda etkinlik %46,71 olarak bulunurken, 5 ml/100 L su dozunda etkinliğin %71,56 olduğu belirlenmiş ve 10 ml/100 L su dozundan itibaren ise çimlenmenin tamamen inhibe edildiği görülmüştür (Şekil 4.23 ve Şekil 4.24).



Şekil 4.23. Propiconazole + difenoconazole'ün *In vitro*'da *P. pistacina* Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri



Şekil 4.24. Propiconazole + difenoconazole'ün Farklı Dozlarının *In Vitro*' da *P. pistacina* Sporlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri

Karazenk hastalığının kontrolünde ruhsat almış birçok fungusit bulunmaktadır (Anonim, 2009). Koruyucu amaçlı olarak kullanılan fungusitlerin yanı sıra, son zamanlarda tedavi edici olarak bazı kimyasallar da antepfıstığı alanlarında kullanılmaya başlanmıştır. Hastalığın kontrolünde koruyucu kimyasallar antepfıstığı vejetasyonuna göre çimlenmeyi takiben meyveler buğday danesi iriliğinde iken kullanılması önerilmiştir (Dinç, 1983). Diğer taraftan son zamanlarda ruhsat almış ve sistemik etkiye sahip Triazole grubundan çift etkili maddeye sahip Armure™'un hastalık kontrolünde tedavi edici etkiye sahip olduğu gözlemlenmektedir.

Şimdiye kadar Karazenk hastalığının kontrolünde kullanılan fungusitlerle ilgili *in vitro*'da herhangi bir etkinlik çalışması bulunmamaktadır. Yürütülen bu çalışma ile ilgili *P. pistacina* sporlarının çimlenmesini *in vitro*'da inhibe eden fungusit dozları tespit edilmiştir.

4.8. Bazı Fungisitlerin Antepfıstığı Fidanlarında Karazenk Hastalığı İnfeksiyonları Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Antepfıstığında Karazenk hastalığına karşı kullanılan fungusitlerin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla, üreticiler tarafından hastalık mücadelesinde yaygın olarak kullanılan 3 fungusit seçilmiştir.

Karazenk hastalığında ilaçlama programı antepfıstığı vejetasyon dönemine göre belirlenmektedir. Uygulamalar çoğu zaman infeksiyonlardan önce, infeksiyon periyodunda ya da semptomlar oluşuktan sonra yapılmaktadır. Denemede fungusitlerin etki mekanizmaları da dikkate alınarak 3 farklı zamanda olacak şekilde; Önce (İnokulasyondan bir gün önce), İnkübasyon (İnokulasyondan bir hafta sonra) ve Semptom (İlk semptomlar görüldüğünde) uygulanmıştır. Denemeler, 2011 yılında Mayıs ve Eylül aylarında olmak üzere iki farklı dönemde kurulmuştur.

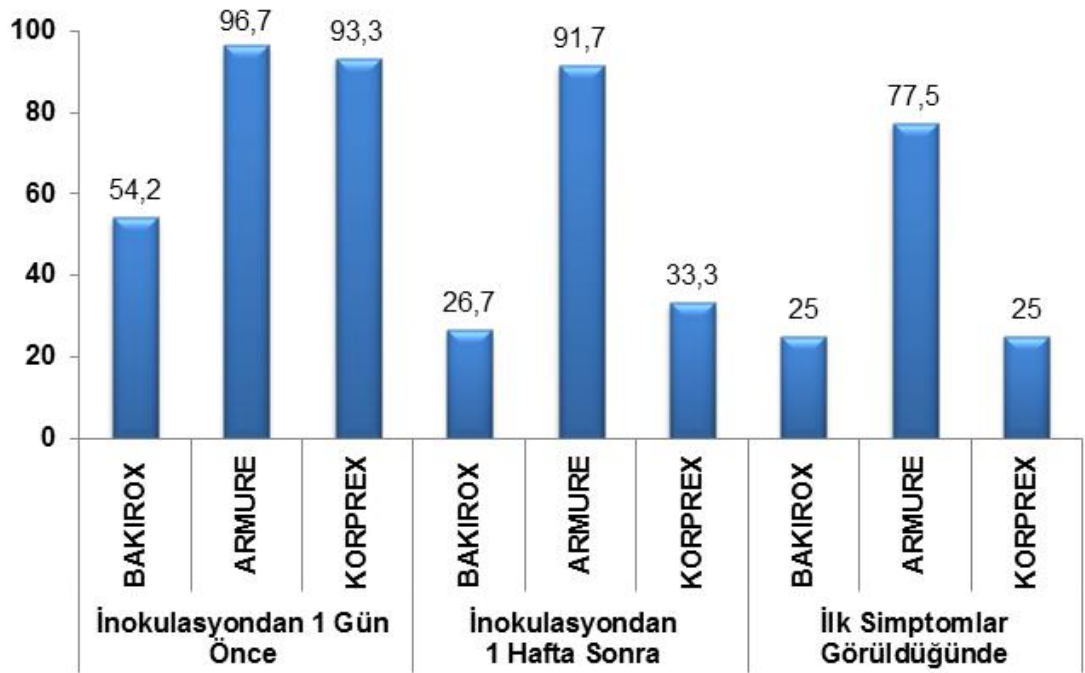
Mayıs döneminde kurulan denemenin sonuçlarına göre en etkin uygulamanın %93'lük oranla propiconazole + difenoconazole (PD)'nin inokulasyon öncesi yapılan uygulamada, en düşük etkinlikteki uygulama Bakır oksiklorür (%16,7) ve Dodine (%16,7) etkili maddeli fungusitlerin semptom oluşumundan sonra yapılan uygulamalarda, görülmüştür. Bununla birlikte yapılan istatistik analizlerinde PD'nin önce, inkübasyon ve semptom uygulamaları ile dodine'in önce uygulamalarının aynı grupta yer aldıkları görülmüştür.

Eylül döneminde kurulan denemede, en yüksek fungusit etkinliği PD'nin önce ve inkübasyon dönemleri ile dodine'nin önce uygulamalarında %100 olarak elde edilmiştir. Fungisitlerin uygulama zamanlarına göre en düşük etkinlik ise bakıroksiklorür ve dodine'in inkübasyon periyotları ve semptom sanrası yapılan uygulamalarında %33,3 olarak belirlenmiştir. Yapılan istatistik analizlerde ise PD'nin önce, inkübasyon ve semptom uygulamaları ile dodine'nin önce uygulamaları aynı grup içinde yer almıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Farklı Uygulama Yöntemlerine Göre Farklı Etki Grubundan Fungusitlerin Hastalık Gelişimini İnhibisyonu (Mayıs ve Eylül 2011)

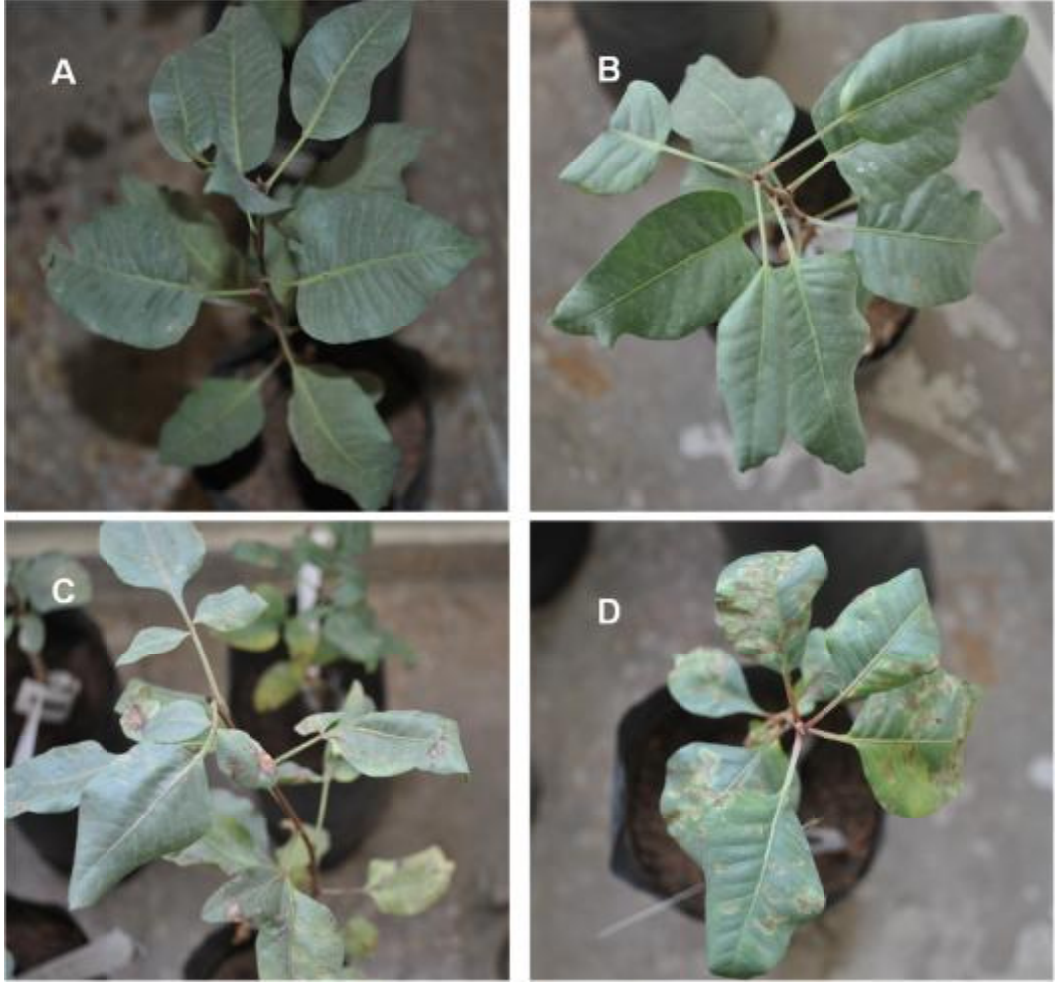
FUNGUSİT UYGULAMA ŞEKLİ	KULLANILAN FUNGUSİTLER		Mayıs Ayı % etki	Eylül Ayı % etki
	Etkili Madde	Ticari İsim		
İnokulasyondan 1 Gün Önce	Bakır Oksiklorür %50	Bakırox	42b	66,7ab
	Propiconazole 150 g/l + Difenaconazole 150 g/l	Armure 300 EC	93a	100a
	Dodine %65	Korprex	86,7a	100a
İnokulasyondan 1 Hafta Sonra	Bakır Oksiklorür %50	Bakırox	20b	33,3b
	Propiconazole 150 g/l + Difenaconazole 150 g/l	Armure 300 EC	83,3a	100a
	Dodine %65	Korprex	33,3b	33,3b
İlk Simptomlar Görüldüğünde	Bakır Oksiklorür %50	Bakırox	16,7b	33,3b
	Propiconazole 150 g/l + Difenaconazole 150 g/l	Armure 300 EC	80a	75a
	Dodine %65	Korprex	16,7b	33,3b
LSD			13,60	9,27

İki kez tekrarlanan uygulamalardan elde edilen % etkinlik değerlerinin ortalamaları alındığında; fungusitlerin *P. pistacina*'nın bitkiye penetrasyonundan önce yapılan uygulamaların en etkin, hastalık belirtileri oluşuktan sonra yapılan uygulamaların en düşük etkinliğe sahip oldukları görülmüştür. Fungus inokulasyonundan önce yapılan uygulamalarında en etkili fungusitin %96,7'lik oranla PD, en düşük etkili fungusitin ise %54,2'lik oranla Bakıroksiklorür olduğu gözlenmiştir. *P. pistacina* sporlarının inkübasyon periyodunda yapılan fungusit uygulamalarında PD'nin diğer fungusitlere göre oldukça etkili olduğu gözlenmiştir. Fidanlarda ilk belirtilerin görülmesinden sonra yapılan fungusit uygulamalarında ise PD nin etkinliği %77,5 olarak belirlenmiş, Bakır ve Dodine'in ise etkinlikleri %25 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.25).

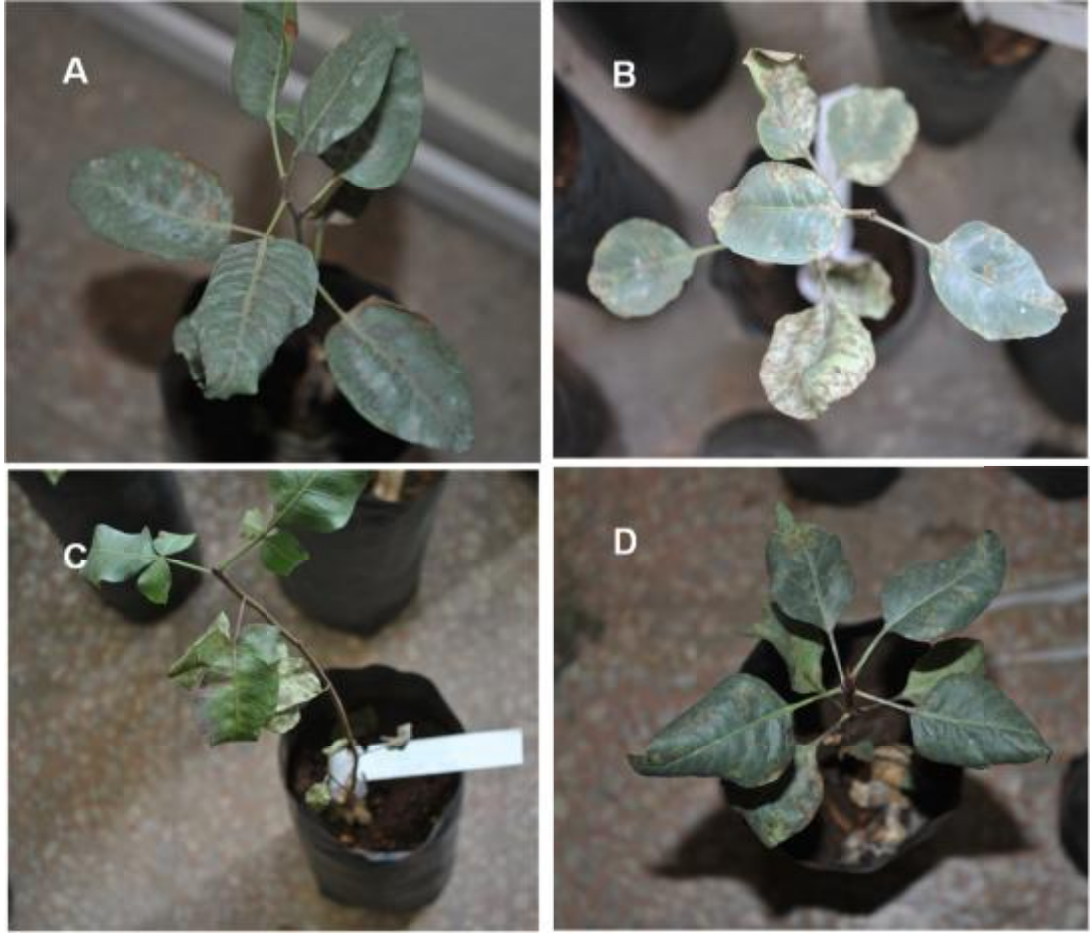


Şekil 4.25. Karazenk Hastalığında Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Fungisitlerin Farklı Uygulama Zamanlarına Göre Etkinlikleri (%)

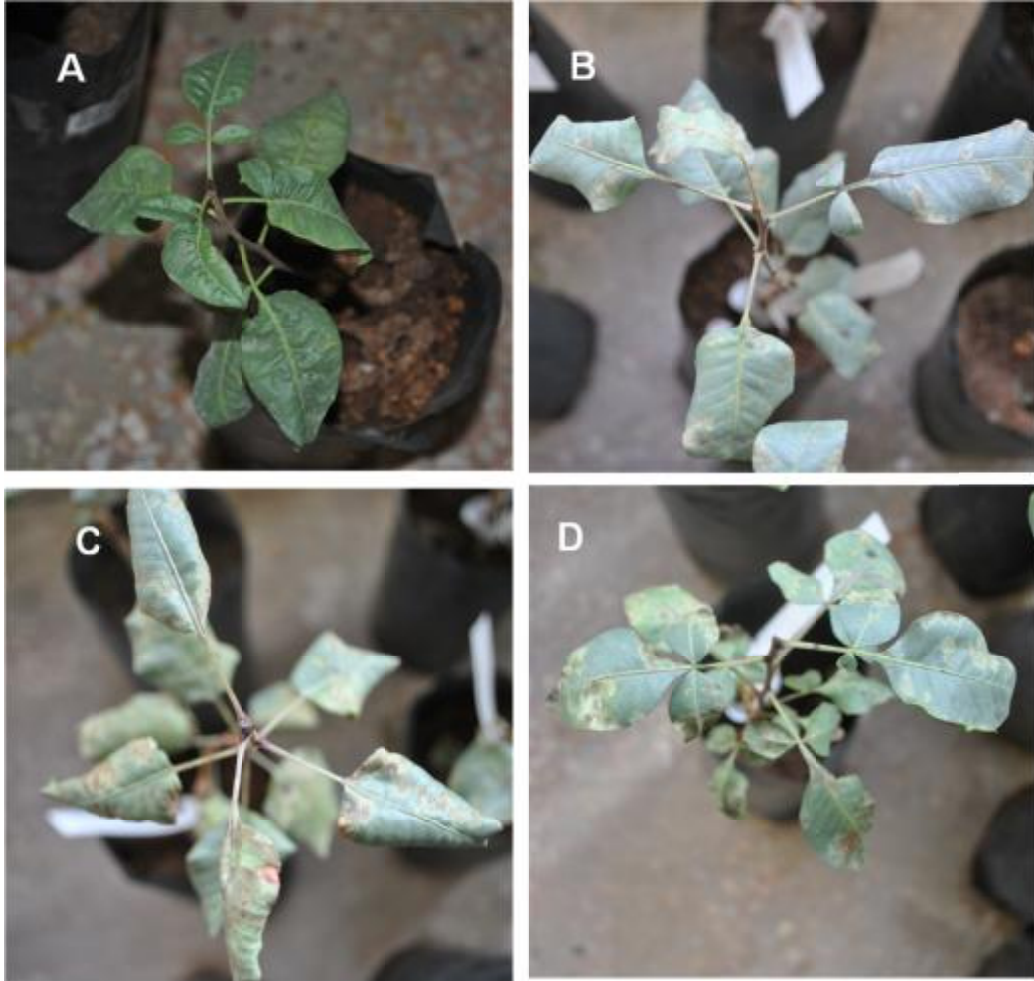
Farklı dönemlerde yapılan uygulamalarda bakıroksiklorür, dodine ve PD'nin farklı etkinlikler gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 4.26, Şekil 4.27 ve Şekil 4.28).



Şekil 4.26. Propiconazole + difenoconazole'ün Farklı Uygulama Zamanlarına Göre Etkinliği (A: İnokulasyondan Bir Gün Önce, B: İnokulasyondan Bir Hafta Sonra, C: İlk Simptomlar Görüldüğünde, D: Kontrol)

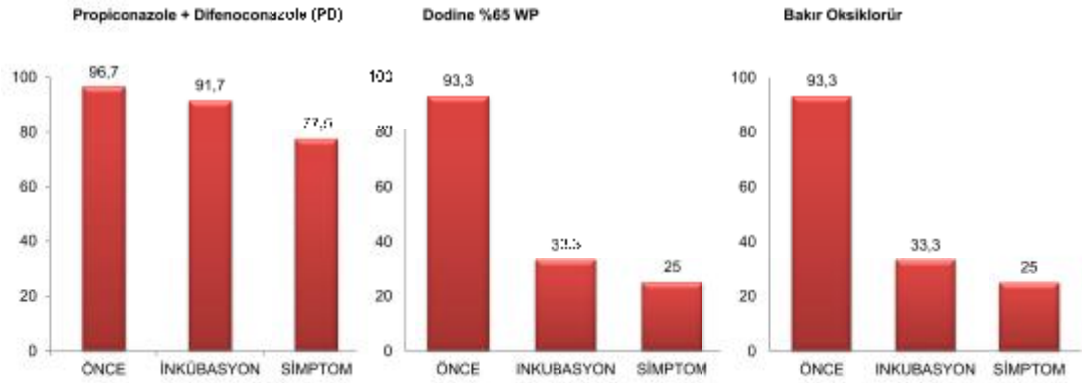


Şekil 4.27. Bakır Oksiklorür'ün Farklı Uygulama Zamanlarına Göre Etkinliği
(A: İnokulasyondan Bir Gün Önce, B: İnokulasyondan Bir Hafta Sonra,
C: İlk Semptomlar Görüldüğünde, D: Kontrol)



Şekil 4.28. Dodine'in Farklı Uygulama Zamanlarına Göre Etkinliği
(A: İnokulasyondan Bir Gün Önce, B: İnokulasyondan Bir Hafta Sonra,
C: İlk Simptomlar Görüldüğünde, D: Kontrol)

Denemede kullanılan fungusitlerin uygulama zamanlarına göre elde edilen % etkinlik deneme sonuçlarına göre PD'nin sistemik etki göstermesine paralel olarak yapraklarda ilk belirtilerin görülmesinden sonra yapılan uygulamalarda %77,5 etkin olduğu belirlenmiştir. Bakıroksiklorür ve dodine'de ise infeksiyon öncesi yapılan uygulamalarda, inkübasyon periyodu ve simptom sonrası uygulamalarına göre 2 kat daha etkin olduğu söylenebilir (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. Farklı Fungisitlerin Uygulamada Etkinlik Bakımından Karşılaştırılması (%)

Antepfıstığında görülen Karazenk hastalığına karşı mücadelede ruhsatlı birçok fungusit bulunmaktadır (Anonim 2009). Hastalığa karşı mücadelede koruyucu mücadele yöntemlerinin uygulanması gerektiği ve antepfıstığı vejetasyonuna göre çiçeklerde döllenmeyi takiben meyveler buğday iriliği aldığı dönemin mücadele zamanı olduğu belirtilmiş, yağışların devam etmesi durumunda ikinci ve diğer uygulamaların yapılması gerektiği bildirilmiştir (Dinç, 1983; Anonim, 1995).

Hastalığa neden olan fungusun infeksiyon periyodu uzun sürmektedir (Chitzanidis, 1956; Dinç, 1983). Bu nedenle sadece vejetasyona dayalı olarak uygulanan kimyasalın, fungusun bitkiye girişinden önce yada sonra mı uygulandığı durumu net olarak bilinmemektedir. Bu durum fungusitlerin hastalık kontrolünü etkilemekte ve başarıyı düşürebilmektedir.

Bu amaç doğrultusunda yürütülen denemelerde koruyucu amaçla kullanılan fungusitlerin (Bakıroksiklorür, dodine) etkinliklerinin, fungus bitkiye penetre olmadan önce yüksek olduğu; ancak fungus bitkiye girdikten sonra hastalık kontrolünde başarılarının oldukça düştüğünü göstermektedir. Diğer taraftan sistemik etkiye sahip propiconazole + difenoconazole'ün, fungus bitki dokusuna girmeden önce ve sonra oldukça etkili olduğu görülmüştür. Bu durumda propiconazole + difenoconazole'ün hastalık kontrolünde koruyucu ve tedavi edici etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Antepfıstığında yaprak lekelerine neden olan Septoria türleri Akdeniz ülkelerine yaygın olarak görülmektedir (Michailides, 2007; Teviotdale ver ak. 2002).

Hastalığın kontrolünde bakır sülfat uygulamalarının uzun yıllardır birçok Akdeniz ülkesinde yaygın olarak kullanılmakta olduğu bildirilmiştir (Hallage, 1927; Pupillo ve Di Caro, 1952; Sarjanni, 1935; Dinç, 1983).

Ülkemiz şartlarında Karazenk (*Septoria* yaprak lekesi) hastalığı olarak isimlendirilen hastalığın kontrolü ile ilgili en detaylı çalışmalar Dinç (1983) tarafından yürütülmüş ve antepfıstığı vejetasyonuna karşı mücadele zamanı bildirilmiştir.

Bununla birlikte Call ve Matheron (2000)'ün ABD'de *S. pistaciarum*'un kontrolü amacıyla yürüttükleri çalışmada trifloxystrobin, azoxystrobin, propiconazole ve bakır hidroksit etkili maddeli kimyasalları kullanmışlar; trifloxystrobin'i hastalık kontrolünde en etkili kimyasal olarak belirlemişlerdir. Diğer taraftan denemeye alınan diğer kimyasalların da kontrol grubuna göre hastalık şiddetini düşürdüğünü gözlemlemişlerdir.

4.9. *In vitro*'da Patojenin İnfeksiyon Koşullarının Belirlenmesi

Antepfıstığında *P. pistacina*'nın infeksiyon koşullarını belirlemek amacıyla 2 yaşlı antepfıstığı çöğürlerinde farklı yaprak ıslaklık süreleri (2, 6, 12, 24, 48 saat) ve sıcaklıklar (18°C, 24°C, 30°C) denenmiştir. 2011 yılında yapılan uygulamaların sonuçları 30, 60 ve 90 gün sonunda gözlemlenerek 0-5 skalasında değerlendirilmiş ve hastalık şiddetleri hesaplanmıştır.

Antepfıstığı fidanlarının 2 ve 6 saat süreyle yapraklarının ıslatılması ve 18,24 ve 30°C sıcaklıkta inkübasyonu sonucunda hiçbir hastalık gelişimi gözlenmemiştir.

12 saat yaprak yüzeyi ıslaklığında, farklı sıcaklıklarda inkübe edilen fidanlarda hastalık şiddetleri farklılık göstermiştir. Buna göre, 18°C sıcaklıkta 30 ve 60. gün gözlemlerinde herhangi bir hastalık oluşumu gözlemlenmemiş, ancak 90 gün sonra gözlemlerde hastalık şiddeti % 6,7 olarak tespit edilmiştir. 24°C'de ise hastalık şiddeti sırasıyla % 13,3, % 33,3 ve % 53,3 olarak; 30°C'de ise hastalık şiddetinin sırasıyla % 33,3, % 46,7 ve % 66,7 olduğu tespit edilmiştir.

24 saat yaprak yüzeyi ıslaklığında, 30. gün gözlemlerinde 18°C ve 30°C sıcaklıklarda hastalık gelişimi gözlemlenmemiş ancak, 24°C inkübasyon şartlarında

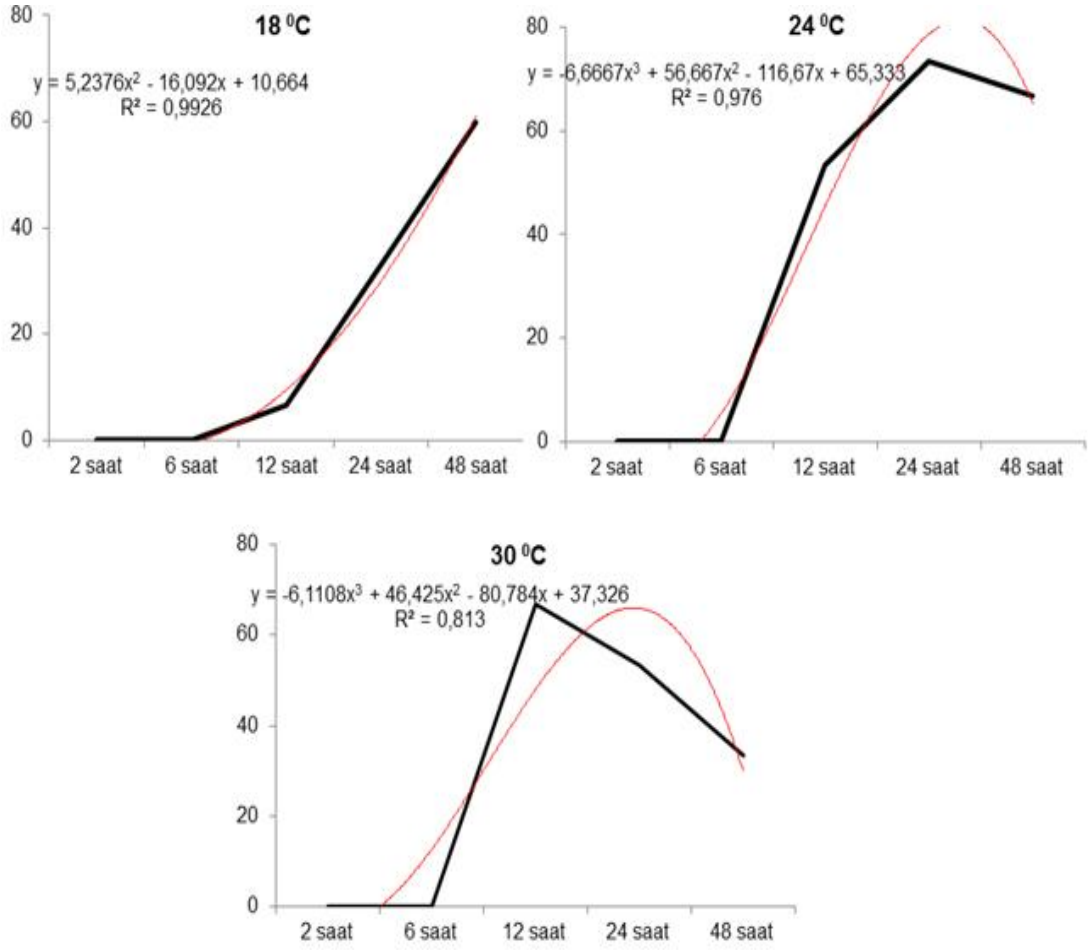
ise hastalık şiddeti %13,3 olarak tespit edilmiştir. 90 gün sonunda ise en yüksek hastalık şiddeti 24°C de inkübe edilen fidanlarda %73,3 olarak belirlenmiştir.

48 saat yaprak yüzeyi ıslaklığı sonuçlarına bakıldığında 30. gün sonunda 30°C sıcaklıkta herhangi bir hastalık gelişimi olmamış, 18°C ve 24°C sıcaklıklarda hastalık şiddeti sırasıyla %13,3 ve %33,3 olarak tespit edilmiştir. 90 gün sonunda en yüksek hastalık şiddeti 24°C de inkübe edilen fidanlarda %66,7 olarak belirlenirken 18°C ve 30°C sıcaklıklarda sırasıyla %60 ve %33,3 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Farklı Yaprak Islaklık Süreleri ve Sıcaklıkların Antepfıstığı Fidanlarında *P. pistacina* İnfeksiyonu Üzerine Etkileri (2011 yılı)

Yaprak Islaklık Süreleri (Saat)	İnkübasyon Sıcaklıkları (°C)	Günlere göre Hastalık Şiddeti (%)		
		30. Gün	60. Gün	90. Gün
12	18	0	0	6,7d
	24	13,3b	33,3	53,3b
	30	33,3a	46,7	66,7ab
24	18	0	13,3	33,3c
	24	13,3b	53,3	73,3a
	30	0	33,3	53,3b
48	18	13,3b	40	60ab
	24	33,3a	46,7	66,7ab
	30	0	13,3	33,3c
LSD				7,55

2011 yılında yürütülen çalışmalarda antepfıstığında Karazenk hastalığı oluşumu ile yaprak ıslaklık süreleri arasında, denemeye alınan tüm sıcaklıklarda polinomial düzeyde yüksek ilişki olduğu görülmüştür (Şekil 4.30).



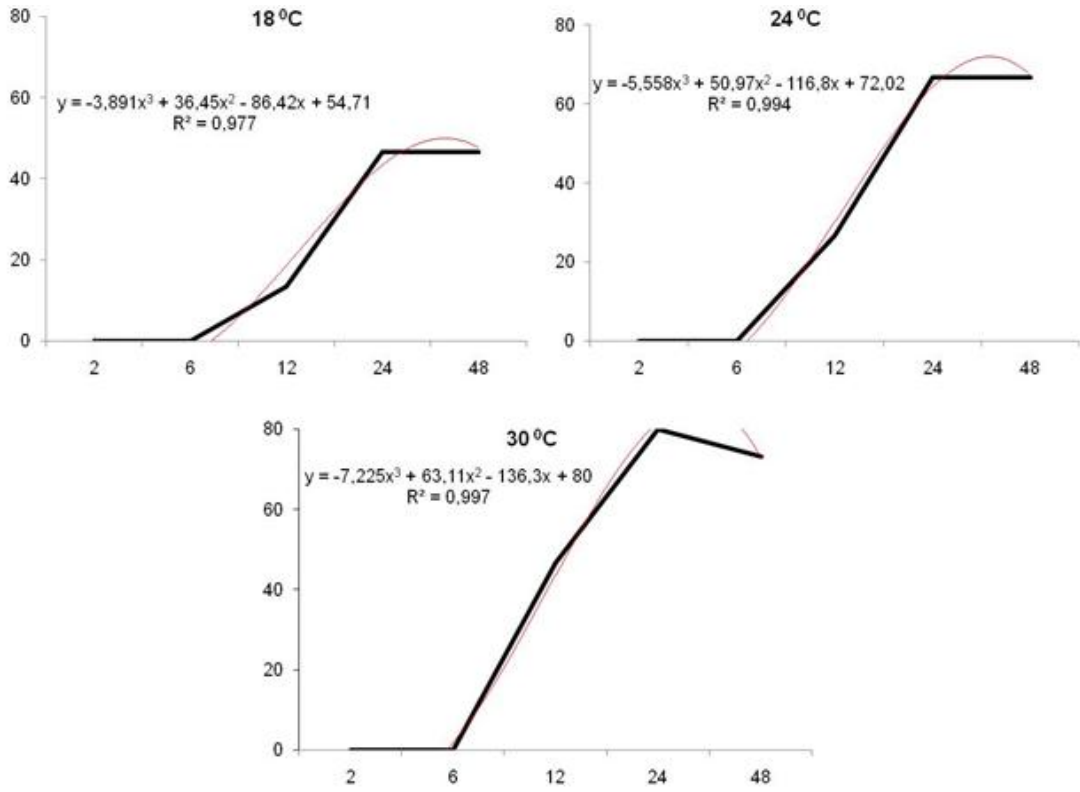
Şekil 4.30. Yaprak Islaklık Sürelerine Göre Farklı Sıcaklıkların *P. pistacina* İnfeksiyonları Üzerine Etkileri (2011 Yılı)

2012 yılında kurulan denemeden elde edilen sonuçlarda da 2 ve 6 saat yaprak ıslaklık sürelerinde ve denemeye alınan tüm sıcaklıklarda herhangi bir hastalık oluşumu görülmemiştir. Diğer taraftan 90 gün sonunda yapılan değerlendirmelerde en yüksek hastalık şiddeti 48 saat süreyle yaprağın ıslak kalması ve 30°C'deki inkübasyonda, en düşük hastalık şiddeti ise 12 saat süreyle yaprakların ıslak kalması ve 18°C'deki inkübasyonda gözlenmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Farklı Yaprak Islaklık Süreleri ve Sıcaklıkların Antepfıstığı Fidanlarında *P. pistacina* İnfeksiyonu Üzerine Etkileri (2012 yılı)

Yaprak Islaklık Süreleri (Saat)	İnkübasyon Sıcaklıkları (°C)	Günlere göre Hastalık Şiddeti (%)		
		30. Gün	60. Gün	90. Gün
12	18	0	0	13,3cd
	24	6,7	6,7	26,7c
	30	6,7	20,0	46,7b
24	18	6,7	26,7	46,7b
	24	20,0	33,3	66,7a
	30	26,7	53,3	80,0a
48	18	6,7	26,7	46,7b
	24	26,7	40,0	66,7a
	30	33,3	53,3	73,3a
LSD				13,34

2012 yılı sonuçları değerlendirildiğinde, denemeye alınan tüm sıcaklık değerlerinde yaprak ıslaklık süreleri ile infeksiyon oluşumu arasında polinomial düzeyde yüksek derecede bir ilişkinin olduğu, *P. pistacina*'nin infeksiyon oluşturması için antepfıstığı yapraklarının en az 12 saat süreyle ıslak kalması gerektiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte 12 saat yaprak ıslaklık süresinin üzerinde hastalık oluşumunda sıcaklıkların etkili olduğu, en fazla hastalığın 24°C'de olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.31).



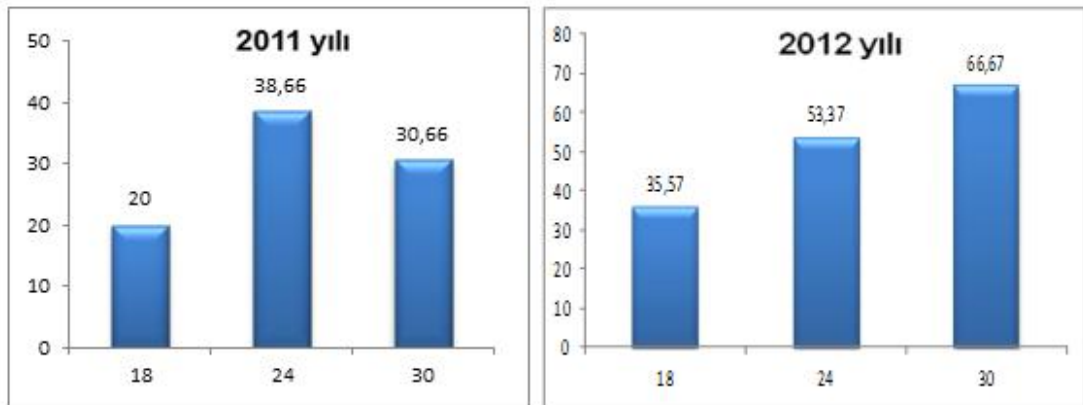
Şekil 4.31. Yaprak Islaklık Sürelerine Göre Farklı Sıcaklıkların *P. pistacina* İnfeksiyonları Üzerine Etkileri (2012 Yılı)

Elde edilen sonuçlara göre hastalık oluşumunda fidanların en az 12 saat süreyle ıslak kalmaları gerektiği belirlenmiş ve 24 °C’de hastalık oluşumunda oldukça önemli olduğu görülmüştür (Şekil 4.32) .



Şekil 4.32. Farklı Yaprak Islaklık Sürelerinde ve 24°C Sıcaklıkta *P. pistacina* enfeksiyonları

Yaprak ıslaklık sürelerine bakılmaksızın farklı sıcaklıkların hastalık oluşumuna etkisi açısından bakıldığında ise hastalık şiddetinin 2011 yılında en fazla 24°C'de, 2012 yılında ise en fazla hastalık şiddetinin 30°C olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. Farklı Sıcaklıkların (°C) Antepfıstığı Fidanlarında % Hastalık Şiddetine Etkileri

Mikrometeorolojik faktörler fungal patojenlerin epidemiyolojisinde en önemli unsurlardan bazılarıdır. Herhangi bir biyolojik süreçte sıcaklık epidemiyolojik aşamalarda en önemli etkiye sahiptir. Fitopatolojide sıcaklık değerlerinin hastalık modelleme üzerine en önemli etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Campbell ve Madden, 1990; Friesland ve Schrödter, 1988). Yağmur ve türbülans ise inokulumun serbest bırakılmasında ve dağılımında önemli bir faktöre sahiptir. Son zamanlarda solar radyasyonun da epidemiyolojik çalışmalarda önemli olduğu bulunmuş olmakla beraber etkisi üzerine bilgiler sınırlıdır (Campbell ve Madden, 1990; Friesland ve Schrödter, 1988). Bağıl nem ve yaprak ıslaklığı funguslarda inokulumun çoğaltılmasında ve taşınmasında önemlidir. Bağıl nem fiziksel olarak iyi açıklanmış olmasına rağmen yaprak ıslaklık süresi, bitkiye genel olarak bakıldığında farklılık gösterebilir, yani farklı organlarda farklı yaprak ıslaklık süreleri bulunabilir (Huber ve Gillespie, 1992).

Serbest ve bağıl nem hastalık epidemiyolojisinin özellikle infeksiyon ve sporulasyon süreçlerinde oldukça önemli etkiye sahiptir. Ingold (1978), spor salınımının su serbestliği ile çok yakından ilgili olduğunu rapor etmiştir.

Çok geniş tür spektrumuna sahip olan *Septoria* cinsi funguslarda da yaprak ıslaklığı ve sıcaklığın hastalık epidemiyolojisi üzerine etkileri geniş olarak araştırılmıştır. Tüm dünyada buğdayda önemli bir hastalık etmeni olan *Mycosphaerella graminicola* en fazla epidemiyolojik kriterleri araştırılan etmendir. Hastalığın epidemi yıllarında hemen hemen hiç ürün alınmamaktadır. Dünyada mevcut birçok kayıtle birlikte, iklim koşullarının ve özellikle sıcaklık ve yaprak ıslaklık süresi yada yağmurun hastalığın epidemi yapmasında önemli kriter olduğu belirlenmiştir. Shaner ve Finney 1976, yaptıkları gözlemlerde ABD’de hastalığın epidemi yapmasında, yağmur sıklığı ve sıcaklığın en önemli faktörler olduğunu tespit etmişlerdir.

Bununla ilgili birçok çalışma bulunmakla birlikte özellikle konidilerin dağılımında yağmurun oldukça önemli etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bunların arasında Chungu ve ark., 2001 yaptıkları çalışmada bazı ekmeklik buğday çeşitlerinde 22°C sıcaklık ve 48 ile 72 saat yaprak ıslaklık süresinin hastalık oluşumunda en önemli etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Soya fasulyesinde yaprak leke hastalığı oluşturan *S. glycines*'in sıcaklık ve yaprak ıslaklık süresinin hastalık şiddeti ve yaprak üzerindeki lezyon sayısında oldukça önemli etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Schuh ve Adamowicz (1993), yaptıkları çalışmada 15, 20, 25 ve 30°C sıcaklık ile 6 ile 36 saat arasında yaprak ıslaklık sürelerinin etkilerini incelemişlerdir. Hastalık değerlendirmesi 7,14 ve 21. günlerde yapılmış. 7. günde hastalık fazla oluşmamış, 14 ve 21. günlerde yapılan değerlendirmelerde sıcaklık ve yaprak ıslaklık süreleri arasında %85 oransal bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir. 24 ve 36 saat süreli yaprak ıslaklığında tüm sıcaklık sürelerinde hastalık gözlenmiş ancak 36 saat süreli yaprak ıslaklığında tüm sıcaklıklarda daha fazla hastalık oluşumu gözlenmiştir. Diğer taraftan sıcaklıklar ele alındığında, 25°C'de ve tüm yaprak ıslaklık sürelerinde diğer sıcaklık derecelerine göre daha fazla hastalık oluşumu gözlenmiştir. Aynı zamanda sıcaklığın hastalık oluşumunda oldukça önemli olduğu ve 15°C'de, 20°C'den daha fazla, 30°C'den ise daha az hastalık oluşumu gözlenmiştir. Bununla birlikte ilk enfeksiyonlarda düşük sıcaklıkların hastalık oluşumunda oldukça önemli olduğunu göstermiştir. Elde edilen sonuçlarla, yaprak ıslaklığının özellikle fungusun serbest kalması ve dağılımında oldukça önemli olduğu ve uygun sıcaklıklarda epidemi için temel faktörü oluşturduğu tespit edilmiştir.

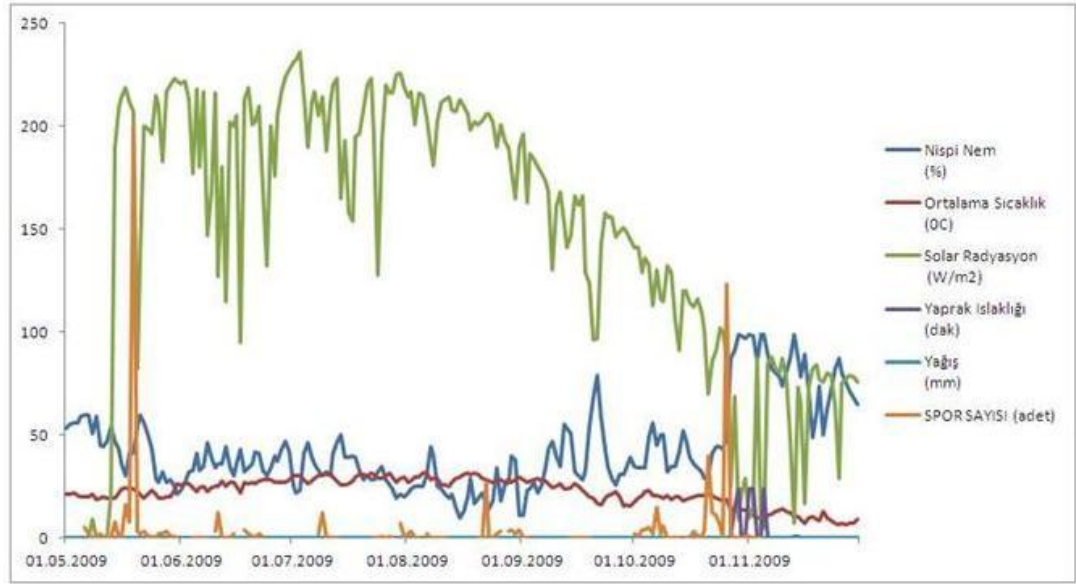
Mathieu ve Kushalappa (1993), Kerevizde (*Apium graveolens*) görülen yaprak leke hastalığı etmeni *Septoria apiicola*'nın enfeksiyon koşullarını belirlemek amacıyla; 20.000 konidi/ml konsantrasyonunda, 10, 15, 20, 25 ve 30°C sıcaklıklarda ve 12, 24, 48, 72 ve 96 saat yaprak ıslaklık sürelerini denemişlerdir. Yapraklardaki lezyon sayıları 25°C'ye kadar olan sıcaklıklarda artış göstermiş, sonrasında azalmıştır. Bununla birlikte artan yaprak ıslaklığı sürelerinde 25°C ve 30°C dereceler hariç tüm sıcaklık parametrelerinde lezyon sayısında artış gözlenmiştir. En fazla hastalık lezyonu 25°C sıcaklık ve 72 saat yaprak ıslaklık sürelerinde, en az ise aynı yaprak ıslaklık süresinde ve 10°C ve 30°C'lerde gözlenmiştir.

4.10. İklimsel Veriler, Spor Miktarı ve İnfeksiyon Oluşumunun Saptanması

İklimsel veriler ve spor miktarına göre Karazenk hastalığında infeksiyon oluşumunun belirlenmesi çalışmaları yoğun olarak üretim yapılan ve hastalığının sık olarak görüldüğü 2 farklı alanda (Gaziantep-Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Merkez İşletme ve Adıyaman-Besni, Köseceli Köyü) yürütülmüştür. Sabah ve akşam olmak üzere 12 saat aralıklarla çubuklar toplanmış ve sayımları yapılmıştır. İklim verileri ile m³ havadaki spor uçuşları ilişkilendirilmiştir. Ayrıca tuzak bitki olarak yerleştirilen 5 adet antepfıstığı çöğürü haftalık değiştirilerek, ilk belirtilerin oluşumu belirlenmeye çalışılmıştır.

Denemenin yürütüldüğü yıllarda ve her iki lokasyonda da tuzak bitkiler üzerinden hastalığın ilk oluşum zamanının belirlenmesi çalışmalarından herhangi bir sonuç elde edilememiştir. Dolayısıyla tuzak bitki yerleştirerek Karazenk hastalığının doğada infeksiyon oluşumunu saptamanın kullanılabilir bir yöntem olmadığı kanaatine varılmıştır.

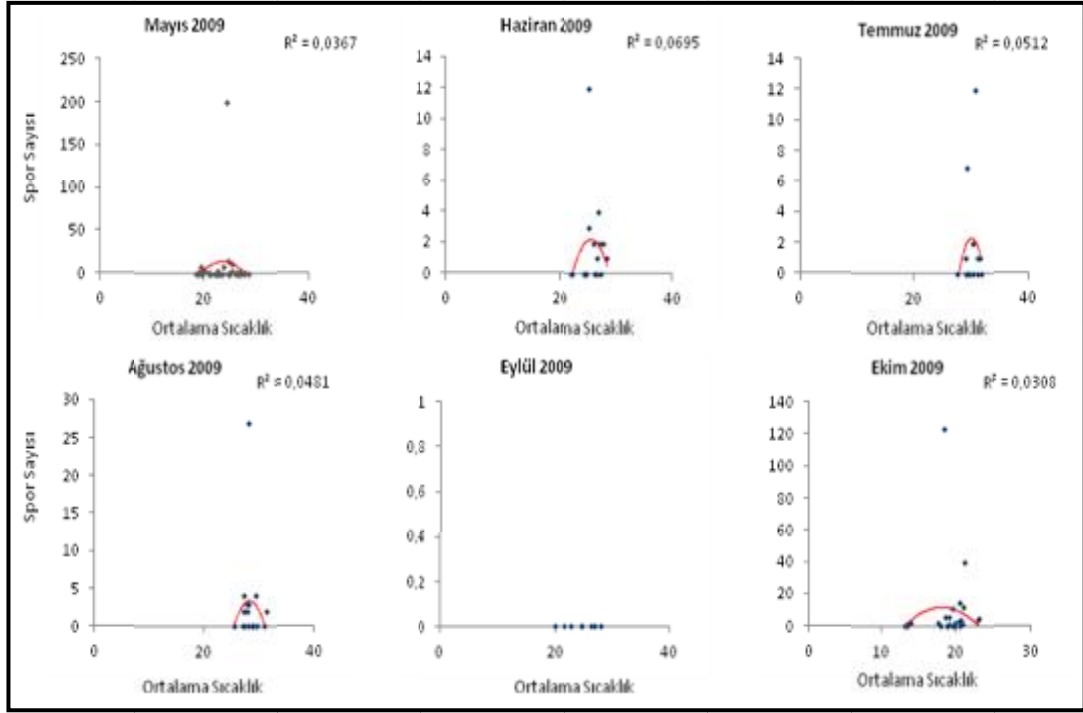
Köseceli lokasyonunda 2009 yılında, antepfıstığının vejetasyon döneminin başladığı Mayıs ayından itibaren iklimsel veriler ve m³ havadaki spor uçuşlarının genel görünümü Şekil 4.34'de verilmiştir. Buna göre ilk spor uçuşları, 06 Mayıs tarihinde başlamış, Mayıs ayının spor uçuşları yoğunlaşmış ve maksimum spor uçuşu 19 Mayıs tarihinde görülmüştür. Belirtiler oluşumuna dayalı gözlemlerde, Köseceli lokasyonunda Karazenk hastalığının ilk belirtileri 16 Mayıs tarihinde görülmüştür.



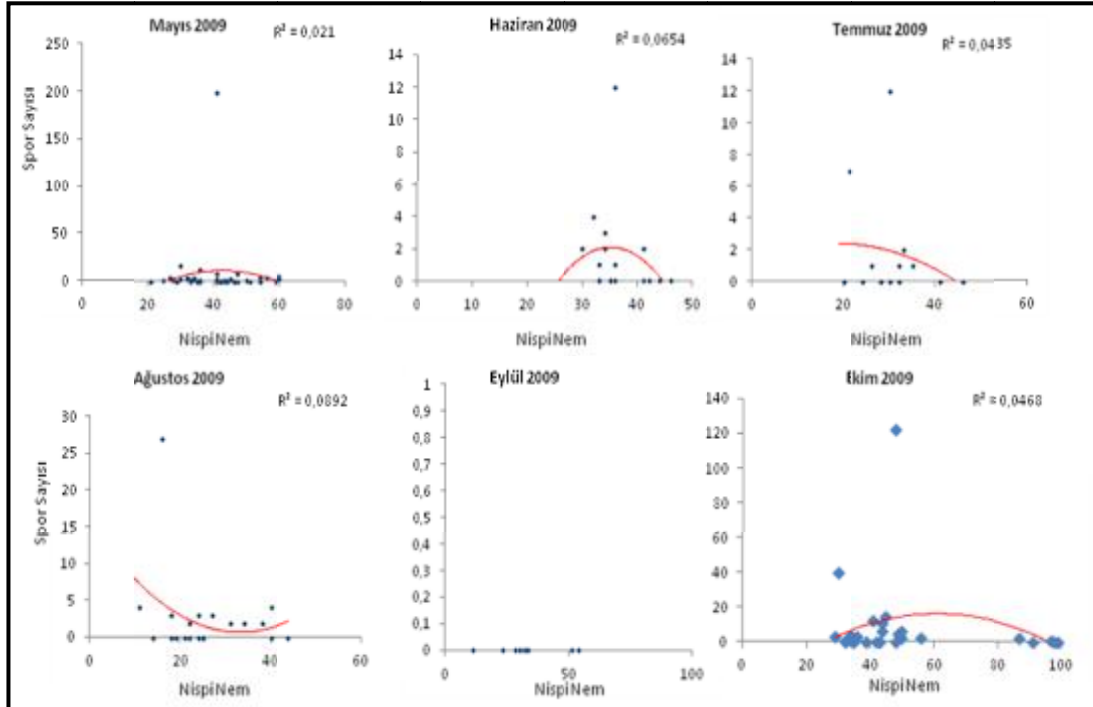
Şekil 4.34. 2009 Yılı Besni-Köseceli Lokasyonu Vejetasyon Dönemi İklim Verileri ve m³ Havada Spor Uçuş Miktarları

2009 yılında Köseceli lokasyonunda, vejetasyon dönemi boyunca spor uçuşları farklı yoğunluklarda devam etmiş, yaprakların dökülmesine paralel olarak en son spor uçuşları Ekim ayının sonlarında görülmüştür.

Hava sıcaklığına bağlı olarak spor uçuşları Şekil 4.35'de, nispi neme bağlı olarak spor uçuşları Şekil 4.36'da verilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde, vejetasyon dönemi boyunca hava sıcaklığı ve nispi nem ile spor uçuşları arasında herhangi bir ilişkinin bulunmadığı belirlenmiştir.

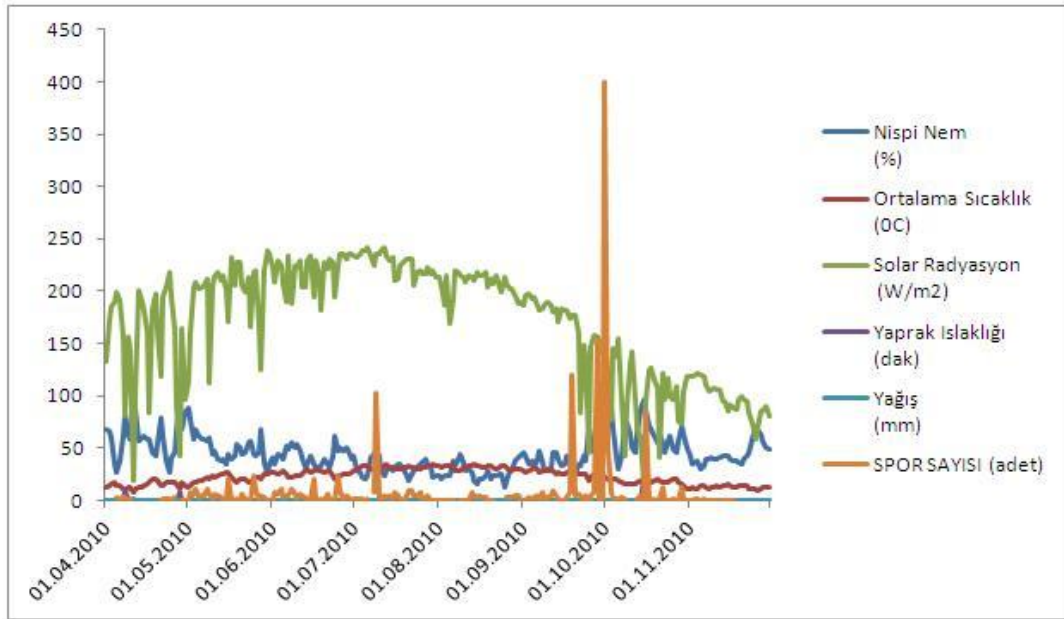


Şekil 4.35. 2009 Yılı Köseceli Lokasyonu Spor Uçuşları İle Ortalama Sıcaklığın Aylara Göre Dağılımı



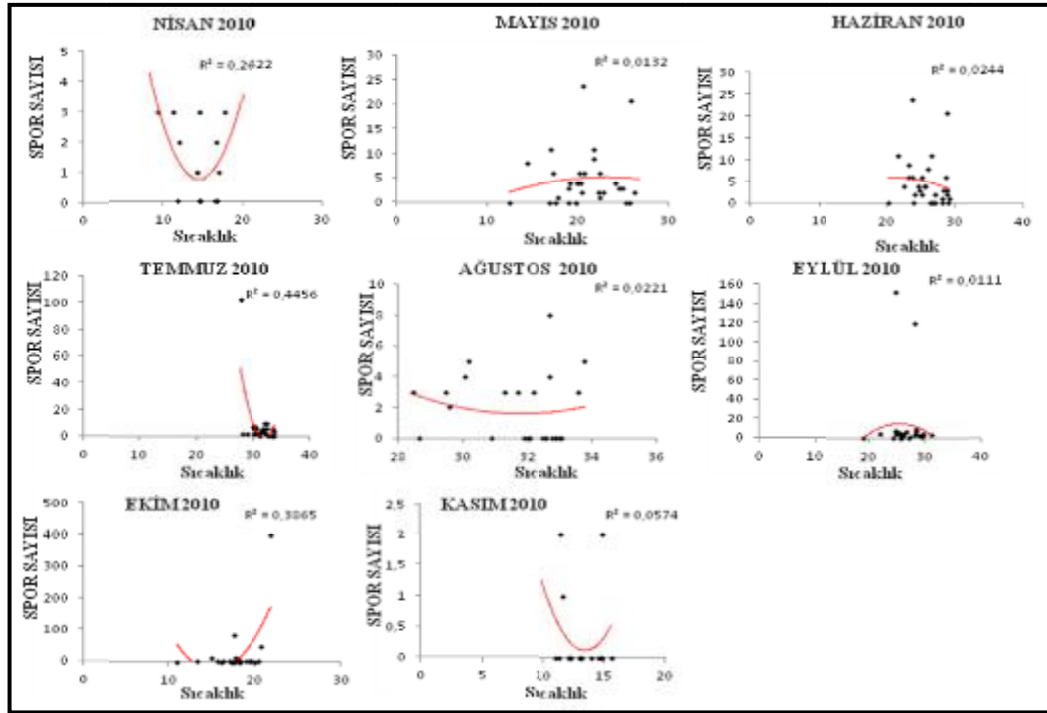
Şekil 4.36. 2009 Yılı Köseceli Lokasyonu Spor Uçuşları İle Nispi Nemin (%) Aylara Göre Dağılımı

2010 yılı Köseceli lokasyonunda gözlenen iklimsel verileri ile m^3 havadaki spor uçuşları arasındaki ilişki Şekil 4.37’de detaylı olarak verilmiştir. Köseceli lokasyonunda spor uçuşları ilk olarak Nisan ayında başlamış ve vejetasyon dönemi boyunca devam etmiştir. Sürekli spor uçuşları Mayıs ayının ilk haftasından itibaren başlamış, tüm ay boyunca devam etmiş ve Köseceli lokasyonunda gözlemsel olarak ilk belirtiler 01 Haziran tarihinde görülmüştür. Maksimum spor uçuşları vejetasyon başlangıcında 16 ve 25 Mayıs tarihlerinde görülmüş, vejetasyon sonunda ise 19 Eylül tarihinden itibaren spor uçuşları artmış ve en yoğun spor uçuşlarının 1 Ekim’de tarihinde olduğu tespit edilmiştir. Ekim ayının sonunda yapraklar dökülmesine rağmen Kasım ayında da yer yer spor uçuşlarının olduğu belirlenmiştir.

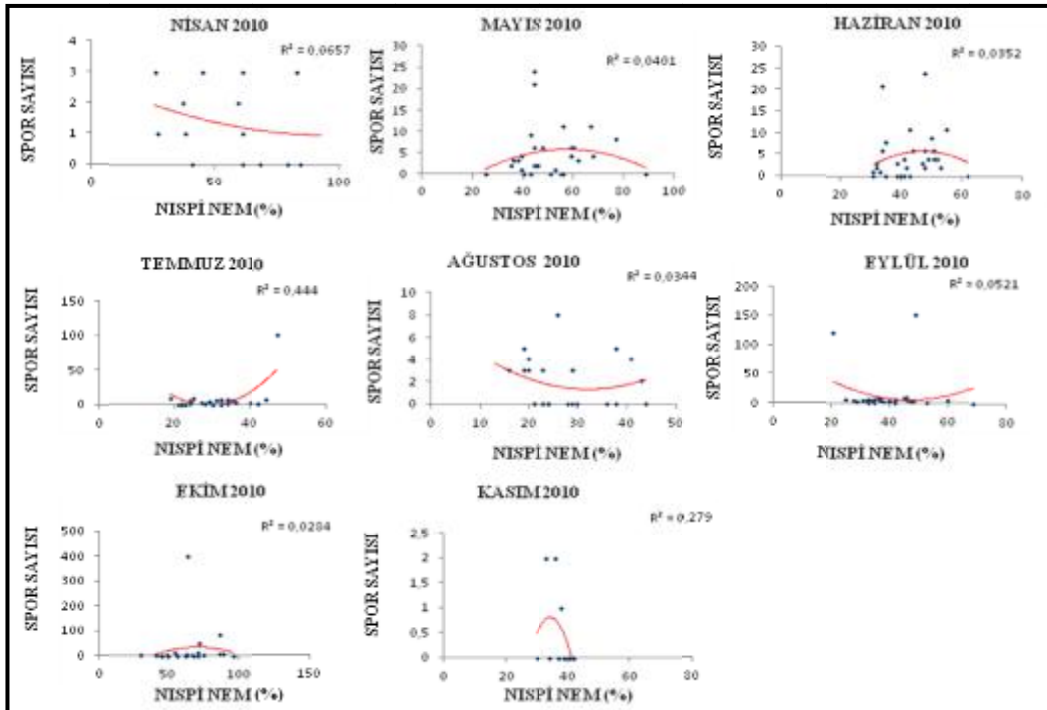


Şekil 4.37. 2010 Yılı Besni-Köseceli Lokasyonu Vejetasyon Dönemi İklim Verileri ve m^3 Havada Spor Uçuş Miktarları

Köseceli lokasyonunda 2010 yılında hava sıcaklığı ve nispi nem değerleri ile spor uçuşları arasındaki ilişki, sırasıyla Şekil 4.38 ve Şekil 4.39’te detaylandırılmıştır. Vejetasyon dönemi boyunca spor uçuşları ile hava sıcaklığı ve nispi nem arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı görülmüştür.

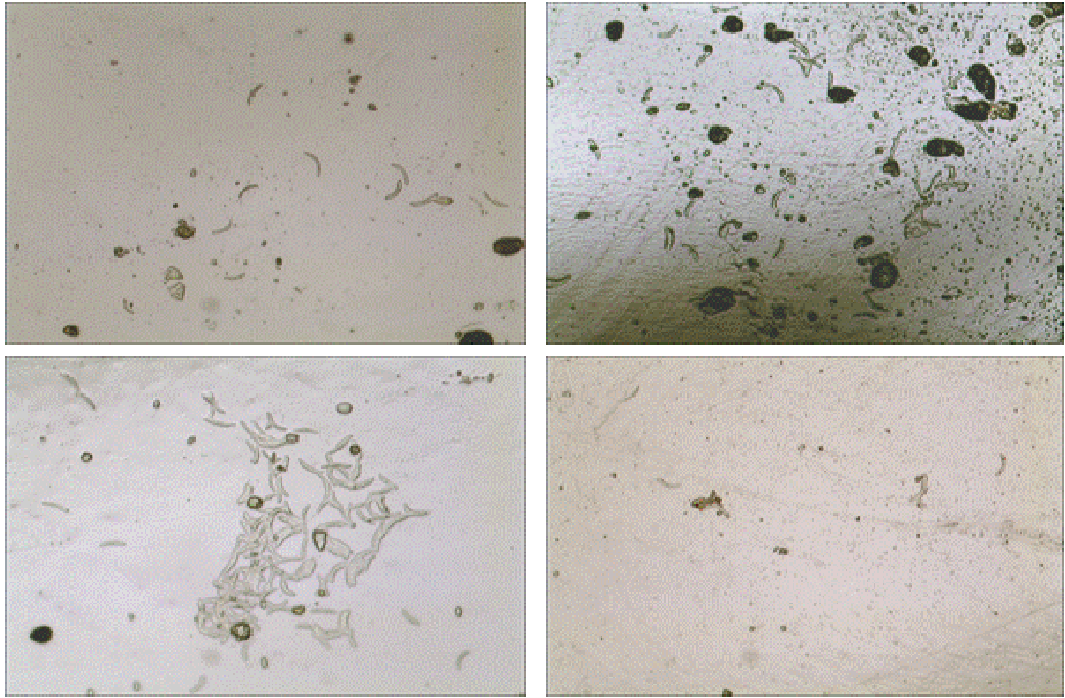


Şekil 4.38. 2010 Yılı Köseceli Lokasyonu Spor Uçuşları İle Ortalama Sıcaklığın Aylara Göre Dağılımı



Şekil 4.39. 2010 Yılı Köseceli Lokasyonu Spor Uçuşları İle Nispi Nemin (%) Aylara Göre Dağılımı

Enstitü lokasyonunda 2009 ve 2010 yıllarında m³ havadaki spor uçuşlarını belirlemek amacıyla çubuk sayımları yapılmış (Şekil 4.40) ve iklimsel veriler kayıt altına alınmıştır. Ancak, Köseceli lokasyonundan elde edilen verilerin analizinde herhangi bir ilişki tespit edilmediğinden, Enstitü lokasyonundan alınan verilerin analizleri yapılmamıştır. Bununla birlikte gözlemsel olarak Enstitü lokasyonunda ilk belirtiler 2009 yılında 17 Mayıs tarihinde, 2010 yılında ise 29 Mayıs tarihinde görülmüştür.



Şekil 4.40. Spor Yakalama Çubukları Üzerinde Yakalanmış *P. pistacina*'nın Pikniosporları

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarla Karazenk hastalığına neden olan etmen mikroorganizmalar ülkemizde *S. pistacina*, *S. pistaciarum*, ve *S. pistaciae* olarak belirtilmiş, ancak hangi türün ya da türlerin hastalıktan sorumlu olduğu net olarak ortaya konulmamıştır. Bu çalışma kapsamında öncelikle Karazenk hastalığına neden olan tür detaylı olarak ele alınmıştır. Ülkemizde yaygın olarak görülen tür *S. pistacina* olarak belirlenmiş olmasına rağmen, taksonomik incelemelerde fungusun *Pseudocercospora* cinsi ile yüksek homoloji gösterdiği ve bu nedenle bu grup içerisinde değerlendirilmesi gerektiği ortaya konmuştur. Dolayısıyla Karazenk hastalığına neden olan fungus yeniden isimlendirilerek *Pseudocercospora pistacina* Crous, Quadv. & Sarpkaya olarak kayıtlara geçmiştir.

Diğer taraftan ülkemizde özellikle Ege bölgesinde üretimi yapılan antepfıstığı ağaçlarında yaprak lekelerine neden olan fungusun *Septoria pistaciarum* Carac. tarafından neden olduğu belirlenmiş, ancak fungusun biyolojisi, mücadelesi gibi konular bu çalışma kapsamı dışında tutulmuştur.

Bununla birlikte ülke genelinde geniş çaplı yapılan survey çalışmalarında hastalığa neden olduğu bildirilen *S. pistaciae* Desm. tespit edilememiştir.

Bitki hastalıkları ile mücadelede en önemli kriter öncelikle etmen mikroorganizmanın tanımlanmasıdır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlardan Karazenk hastalığına neden olan fungusun tanımlanmasında sorunların olduğu görülmüştür. Bu çalışma ile ortaya konan en önemli sonuçlardan birisi etmen mikroorganizma net olarak ortaya konmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre mücadeleye esas olacak şekilde Karazenk hastalığına neden olan etmenin isminin *Pseudocercospora pistacina* olarak düzeltilmesi gerekmektedir. Daha önceden Karazenk (*Septoria* yaprak lekesi) hastalığına neden olduğu belirtilen *Septoria pistaciarum*'un ise farklı simptomlar oluşturduğu ve mücadelesine temel olacak çalışmaların yapılması gerektiği belirlenmiştir.

2. Daha önce yapılan çalışmalarda *Septoria* (= *Pseudocercospora*) *pistacina*'nın eşeysel döneminin varlığı bildirilmiş (*Mycosphaerella pistacina*) olmasına

rağmen, bu çalışma süresince fungusun eşeyssel dönemi tespit edilememiştir. Ayrıca fungus antepfıstığının vejetasyonuna göre ilkbaharda ilk infeksiyonları pikniosporlarla yapmaktadır.

Yürütülen patojenisite çalışmalarında da *P. pistacina*'nın miselyumları ile değil, pikniosporları ile infeksiyon gerçekleştirdiği sonucu elde edilmiştir.

Hastalığın mücadelesine esas olacak talimat, kitap, dergi, broşür vd. lerde fungusun biyolojisinde eşeyssel döneminin ülkemizde tespit edilemediği, fungusun ilk infeksiyonları ilkbaharda pikniosporlarla yaptığı belirtilmelidir.

3. *P. pistacina*'nın *in vitro*'da miseliyal gelişimi, piknidium oluşumu ve pikniospor çimlenmesi üzerine etki eden faktörlerin belirlenmesi ile ilgili çalışmalarda, fungusun *in vitro* da sporulasyonu denemeye alınan yöntemlerle başarılamamıştır. Yapılan önceki çalışmalarla da sporulasyonun sağlanamadığı belirtilmiştir.

Diğer taraftan fungusun miseliyal gelişiminin en iyi bir şekilde karanlık şartlarda sağlandığı belirlenmiştir. Denemeye alınan besiyerleri bakımından en iyi gelişimin PDA'da ve 24°C inkübasyonda sağlandığı tespit edilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlar bundan sonraki yapılacak çalışmalar için temel veriler olup, araştırmacılar tarafından kullanılabilir.

4. Karazenk hastalığının ülkemizdeki yaygınlığıyla ilgili şimdiye kadar herhangi bir kayıt mevcut değildir. Bu çalışma kapsamında, bölgelere göre tüm Türkiye'de hastalık yaygınlığı tespit edilmiştir. Ayrıca yıllar bazında da üç yıl süreyle çalışmalar devam etmiş, yıllara göre farklı alanlarda hastalık yaygınlığı tespit edilmiştir. Antepfıstığının yoğun olarak üretiminin yapıldığı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde hastalık yaygınlığı, Akdeniz ve Ege Bölgelerinde yapılan üretime göre genel olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bunun en önemli nedeni, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde antepfıstığının üreticiler açısından önemli bir gelir kaynağı olması, bu nedenle de mücadele uygulamalarının daha yoğun bir şekilde yapılmasıdır. Diğer taraftan, ekonomik olarak üretim yapılan diğer alanlarda antepfıstığı genel olarak üreticiler açısından temel geçim kaynağı değildir ve birçok kültürel işlemler gibi hastalığın kontrol tedbirleri ihmal edilmektedir.

Antepfıstığında gözlenen periyodisite, mücadele uygulamalarının yıllara göre farklılık göstermesine neden olmaktadır. Üreticiler genel olarak, ürünün var yılında kimyasal mücadele uygulamalarını yaparlarken, yok yılında genelde mücadele ihmal edilmektedir. Bu nedenle yıllara göre hastalık yaygınlığı farklılık göstermektedir.

Antepfıstığının yetiştirme alanları farklılık göstermektedir. Gaziantep'in Yavuzeli, Araban ilçeleri ile Adıyaman'ın Besni ve diğer ilçelerinde yabancı melengiç ağaçlarının antepfıstığına dönüştürülmesiyle üretim gerçekleştirilmektedir ve bahçelerin bulunduğu alanlar genellikle dağlık alanlardır. Üreticiler genellikle bu şartlarda sırt pülverizatörleri ile kimyasal uygulamalar yapmakta ve bu durumda mücadele başarısı oldukça düşmektedir. Yapılan gözlemlerde, bu alanlarda yapılan uygulamalarda ağaç başına düşen ilaçlı su miktarı oldukça düşüktür ve iyi bir kaplama sağlanmamaktadır.

Gaziantep ve Şanlıurfa'da düz alanlarda yer alan kapama bahçelerde mücadele uygulamaları daha modern aletlerle hidrolik veya yardımcı hava akımlı bahçe pülverizatörleri ile mücadele yapılmaktadır. Bu durum, kimyasal mücadelenin hastalık kontrolünde etkinliğini arttırmakta ve bu bölgelerde hastalık yaygınlığı daha az olarak görülmektedir.

5. Antepfıstığında Karazenk hastalığına neden olan *P. pistacina*, sadece kültür antepfıstığında yani *Pistacia vera*'da görülmektedir. Yürütülen survey çalışmalarında ülkemiz yabancı *Pistacia* türlerinde *P. pistacina* tarafından neden olunan yaprak lekelerine rastlanılmadığı gibi, *Pistacia* türlerine yapılan yapay inokulasyon çalışmalarında infeksiyon görülmemiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Pseudocercospora pistacina* sadece *Pistacia vera*'da görülmektedir.

Standart antepfıstığı çeşitlerinde yapılan hastalık reaksiyonları çalışmaları, hem erkek hem de dişi çeşitlerde yürütülmüştür. Erkek çeşitler arasında, Atlı ve Uygur çeşitlerinde hastalık şiddeti daha az olurken, Kaşka çeşidinin Karazenk hastalığına daha hassas olduğu gözlenmiştir.

Dişi çeşitlerde ise genel olarak "Uzun" grubu meyvelerin "Yuvarlak" grubu meyvelere göre hastalığa daha hassas oldukları belirlenmiştir. Çeşitler düzeyinde ise yapılan iki denemede de "Kırmızı" çeşidinin hastalığa karşı en hassas olduğu,

ülkemiz Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yaygın üretimi yapılan “Uzun” çeşidinin de Kırmızı çeşidi gibi hastalığa karşı hassas olduğu gözlemlenmiştir. Denemeye alınan diğer tüm dişi çeşitlerde de hastalık görülürken “Halebi” çeşidinin hastalığa karşı en az hassas çeşit olduğu belirlenmiştir.

Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü tarafından son yıllarda selekte edilen yeni çeşitler üzerinde de hastalık reaksiyonu yapılmış, çalışmalar aşılı fidanlar üzerinde yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre, erkencilik özelliği ile öne çıkan “Barak yıldızı” çeşidinin hastalığa oldukça hassas, verimliliği yüksek, yuvarlak gruptan olan “Tekin” çeşidinin ise Siirt çeşidine göre hastalığa daha hassas olduğu sonuçları elde edilmiştir.

Elde edilen sonuçların Antepfıstığı Çeşit Kataloglarında yer alması, üretim planlaması yapan üreticiler ve farklı çalışmalar yürütecek araştırmacılar tarafından kullanılması faydalı olacaktır.

6. Antepfıstığında Karazenk hastalığının kontrolü, yaygın olarak ve en etkili şekilde kimyasal mücadele yöntemleriyle sağlanmaktadır. Bununla birlikte hastalığa neden olan fungusun bitki dokusunda infeksiyon periyodu 15-30 gün arasında değişmektedir. Bitkinin vejetasyonuna göre yapılan kimyasal uygulamalarda bu nedenle etkinlik düşebilmektedir. Bu çalışma kapsamında hastalık mücadelesinde yaygın olarak kullanılan bazı fungusitler ele alınmış ve hastalığın infeksiyon periyoduna etkinlikleri araştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre konvansiyonel fungusitlerden bakıroksiklorür ve dodine, fungus bitki dokusuna penetre olmadan önce hastalık kontrolünde etkili olurken, infeksiyon periyodunda ve belirtiler görüldükten sonra etkinliklerinin oldukça düştüğü gözlemlenmiştir. Diğer taraftan Triazole grubundan sistemik etkiye sahip propiconazole+difenoconazole’ün fungusun gerek bitkiye penetrasyonundan önce ve gerekse infeksiyon periyodunda etkinliğinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Bitkide ilk belirtilerin görülmesi durumunda da etkinliğinin, denemede kullanılan diğer kimyasallara göre oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

Antepfıstığı tarımı ile uğraşan üreticiler açısından, pratik uygulamalarda hastalığın ilk belirtilerinin görülmesi durumunda bile kimyasal mücadele

yapılabilecektir. Özellikle hastalığın epidemiyolojisi açısından ele alındığında elde edilen sonuçlar oldukça önemlidir.

Üreticiler özellikle ürünün var yılında, hastalık kontrolünde bazen erken davranabilirken bazen de gecikebilmektedirler. Öte yandan karar verici durumundaki çiftçiler, kimyasal mücadelede etkili gördükleri ilaçları benimsemekte ve yıllarca vazgeçememektedirler. Özellikle fungusların geliştirebilecekleri direnç durumu göz önüne alınarak, etkili madde düzeyinde fungusitlerin değiştirilmesi önerilmektedir. Antepfıstığında Karazenk hastalığına karşı farklı fungusitlerin uygulanma durumları, elde edilen sonuçlara göre değerlendirilmelidir.

7. Bitki patojeni fungusların meydana getirdiği hastalıklarda en önemli konulardan birisi epidemiyolojiye etki eden mikrometeorolojik faktörlerin ortaya konmasıdır. Antepfıstığında *P. pistacina* tarafından neden olunan Karazenk hastalığı konusunda bazı iklimsel veriler ile hastalık çıkışı arasındaki ilişki araştırılmış ve kullanılabilirliği konuları çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır. *P. pistacina*'nın *in vitro* da infeksiyon koşullarının belirlenmesi, ilk kez bu çalışmayla detaylandırılmıştır. Buna göre Karazenk hastalığının oluşumunda, diğer birçok bitki hastalıklarında olduğu gibi en önemli faktörün yaprak ıslaklık süresi ve sıcaklık olduğu tespit edilmiştir. Buna göre hastalık oluşumunda denemeye alınan tüm sıcaklıklarda en az 12 saat süreyle yaprak ıslaklık süresinin gerektiği görülmüştür. Diğer taraftan ise hastalık oluşumunda en etkili sıcaklığın 24 °C ve 30 °C ler olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen *in vitro* bu değerler, hastalık açısından erken uyarı tahmin sistemleri üzerinde kullanılabilirliği açısından oldukça önemlidir. Karazenk hastalığının infeksiyon periyodunun uzunluğu ve mücadelede kullanılan kimyasalların etkinliğinin bu periyoda göre değişmesi göz önüne alındığında, özellikle üreticiler açısından elde edilen veriler oldukça önemlidir. *In vitro* elde edilen sonuçların, bundan sonraki yapılacak arazi gözlemleriyle desteklenerek, uygulanabilirliği konusu irdelenmeli ve antepfıstığında Karazenk hastalığı konusunda erken uyarı ve tahmin modelleri kurulmalıdır.

8. İklimsel veriler ile spor uçuşları ve spor miktarlarının infeksiyon oluşumu üzerine etkilerinin yürütüldüğü çalışmalarda herhangi bir ilişki elde edilememiştir.

KAYNAKLAR

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol., 18: 265-267.
- AÇAR, İ. ve S. ARPACI, 2011. Antepfıstığı. Türk Tarım Dergisi. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Dergisi.
- AÇAR, İ., 2004. Ceylanpınar'da Seçilmiş Tozlayıcı Antepfıstığı (*P. vera* L.) Tiplerinin Bazı Dişi Çeşitlerde Meyve Tutumu ve Meyve Kalitesi Üzerine Etkileri (DOKTORA TEZİ). ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana, 2004.
- AÇAR, İ., S. ARPACI., L. BİLGEL., A. SURUCU and B.E. AK., 2011. Adaptation of Some Pistachio Cultivars to Irrigated Conditions for Southeast of Turkey. 5th International Symposium on Pistachios and Almonds. Acta Horticulturae, v. 912, p. 313-319.
- AGHAJANI, M.A., AGHAPOUR, B. and MICHAILIDES, T.J., 2009. First Report of Septoria Leaf Spot of Pistachio in Iran. Australasian Plant Disease Notes, 4: 29–31.
- AGRIOS, G. N., 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elviesier Academic Press. London, UK. 530 p.
- AHMAD, S., KHAN, N.A. ve ASHRAF, S., 2011. First Report of Leaf Blight Caused by *Septoria pistaciarum* on *Pistacia vera* in India. J. of Plant Path., 93: 4.63-4.89.
- AK, B.E., 2008. Following Pistachio Footprints (*Pistacia vera* L.) Cultivation and Culture, Folklore and History, Tradition and Uses. Scripta Hort., v.7, p.105-111.
- AKTUĞ TAHTACI, S., ve GÖZEL, H., 2011. Antepfıstığında Geliştirilen Yeni Çeşitler. IV.Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 8 Ekim 2011, Şanlıurfa.
- ALKAN, B., 1953. Antepfıstığının Başlıca Hastalık ve Zararlıları. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yıllığı, v. 3-4, s: 209-211, Ankara,.

- ALLESCHER, A. (1901). Fungi Imperfecti: Hyalin-sporige Sphaerioideen. Dr L. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oestereich und der Schweiz 1(6): 961–1016.
- ANDRIANOVA, T.V. ve MINTER, D.W., 2004. *Septoria pistaciae*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. Set 159 No. 1586. 3 pp.
- ANONİM, 1995. Zirai Mücadele Teknik Talimatı. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Cilt 3, s. 194-196.
- ANONİM, 1996. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araş. Gen. Müd. Zirai Mücadele Standart İlaç Deneme Metotları. Cilt 2. s. 240, Ankara, 1996.
- ANONİM, 1997. Descriptors for Pistachio (*Pistacia vera* L.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 53 p.
- ANONİM, 2009. Ruhsatlı Bitki Koruma Ürünleri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Gıda Kontrol Gen. Müd. Yayınları, Ankara. 401 s.
- ANONİM, 2011. Antepfıstığı Entegre Mücadele Teknik Talimatı. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tar. Arş. ve Pol. Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Arş. Daire Başkanlığı, Ankara, 73 p.
- ARPACI S. ve İ. AÇAR., 2012. Antepfıstığı Alanlarında Anıt Ağaçlar. Antepfıstığı Araştırma Dergisi, v. 1, p. 24-26. Gaziantep.
- ARPACI, S., 2013. Anadolu'da Antepfıstığı Yetiştiriciliği. antepfıstığı Araştırma Dergisi, No:2, s. 2-7.
- ARPACI, S., S., KARADAĞ, Y. YÜKÇEKEN ve S.A. TAHTACI, 1999. Tüplü Antepfıstığı Fidan Üretimine Geliştirilmesi Üzerine Araştırmalar (Sonuç Raporu). Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü, 36 s.
- ARPACI, S. and B.E. AK, 1999. An Investigation on Determination of Transplanting Success and Growth in Some *Pistacia* spp. Seedling Transplanting in Field Conditions. XI. GREMPA Seminar Pistachios and Almonds. Cahier Options Mediterraneennes Volume 56, P. 209-214, Sanliurfa, Turkey.

- ATLI, H. S., Y. AYDIN, S. ARPACI, I. ACAR, S. KARADAG, L. BİLGEL, K. SARP KAYA, N. KAŞKA, S. KAFKAS, B.E. AK, 2011. Determination of Growth, Bearing, Yield and Some Quality Characteristics of Pistachio Cultivars Grafted on Different Rootstocks under Irrigated Conditions. 5th International Symposium on Pistachios and Almonds, 06-10 October 2009, Sanliurfa, Turkey. Acta Horticulturae, 912:289-294.
- BENIHASHEMI, Z., 1995. Identification of Phythophthora Species Associated With Pistachio Gummosis in Southern Iran. First International Symposium on Pistachio Nut. p. 349-352. September, 20-24, 1994, Turkey.
- BHARDWAJ, L.N. ve SHARMA, R.C., 1994. Some New Fungal Disease of Pistacia integerrima from Himachal Pradesh. Indian Forester, 120: 545-547.
- BİLGEN, A. M., 1973. Antep fıstığı. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Yayınları. Blotch of Wheat. Phytopathology, v.66, p. 781-785.
- BONDE, M.R., PETERSON, G.L., EMMETT, R.W. and MENGE, J.A., 1991. Isozyme Comparisons of Septoria Isolates Associated With Citrus in Australia and United States. Phytopathology, 81: 517-521.
- BREMER, H., 1954. Türkiye Fitopatolojisi (III). Bahçe Kùltürleri Hastalıkları. Zir. Vek. Neşr. 715. İstanbul Matbaası, Ankara.
- CALL, R.E. ve MATHERON, M. E. 2000. Fungicidal Performance in Managing Septoria Leaf Spot of Pistachio in Arizona. Citrus and Deciduous Fruit and Nut Research Report,” College of Agriculture and Life Sciences, the University of Arizona, 2000.
- CAMPBELL, C. and MADDEN, L. V. 1990. Monitoring Epidemics: Environment. In Introduction to Plant Disease Epidemiology. v.4, p. 43-73.
- CARACCIOLO, F., 1934. una Grave Septoriasi del Pistachio. Ball, Stud. Inform. R. Giord Colon Palermo. 13: 67-73.
- CHITZANIDIS, A., 1956. Species of Septoria on the leaves of *Pistacia vera* and Their Perfect States. Annales de l’Institut Phytopathologique Benaki, 10: 29–44.

- CHUNGU, C., GILBERT, J. and TOWNLEY-SMITH, F., 2001. *Septoria tritici* Blotch Development as Affected by Temperature Duration of Leaf Wetness Inoculum Concentration and Host. *Plant Disease*, v.85, n.4, p. 430-435.
- COOKE, M.C. (1884). Synopsis Pyrenomycetum (continued). *Grevillea*. 13: 41–45.
- CORDO, C.A., SIMÓN, M.R., PERELLÓ, A.E., and ALIPPI, H.E., 1999. Spore Dispersal of Leaf Blotch Pathogens of Wheat (*Mycosphaerella graminicola* and *Septoria tritici*). pages 98-101. *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research. Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop, September 1999, Mexico, CIMMYT.*
- CORRELL, J.C., PUHALLA, J.E. and SCHNEIDER, R.W. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* on the basis of colony size, virulence and vegetative compatibility. *Phytopathology*, 76: 396-400.
- CORTESI, P., and HILL, G. K. 1994. Simulation of grapevine downy mildew epidemics and control with P.R.O. model. Pages 74-81 in: *Proc. Int. Workshop Grapevine Downy Mildew Modeling.*
- CROUS, P. W., W. QUAEDVLIEG, K. SARP KAYA, C. CAN ve A. ERKILIÇ., 2013. *Septoria*-like Pathogens Causing Leaf and Fruit Spot of Pistachio. *IMA Fungus*, v. 4, no: 2, p. 187–199.
- CROUS, P.W., SUMMERELL, B.A. CARNEGIE, A.J. WINGFIELD, M.J. HUNTER G.C., BURGESS T.I. ANDIJC V. BARBER P.A., and GROENEWALD J.Z., 2009. Unravelling *Mycosphaerella*: do you believe in genera?, *Persoonia* 23: 99–118.
- CUNFER, B.M.1999. *Stagonospora* and *Septoria* Pathogens of Cereals: The Infection Process. pages 41-45. *A Compilation of Global Research: Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop, September 20-24, 1999, CIMMYT, Mexico*
- DESMAZIÉRES, J.B., 1842. Neuvième Notice Sur Quelques Plantes Cryptogames. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Série 2* 17: 91–118.

- DİKİLİTAŞ, M., KATIRCIOĞLU, Y.Z. ve ALTINOK, H. H., 2011. Fungus ve fungal materyallerin uzun dönem saklanması, Korunması ve geri kazanımı üzerine varılan son gelişme ve yöntemler. HR. U., Zir. Fak., Dergisi., v. 15(1), s: 55-69.
- DİNÇ, N., 1983. Antepfıstığı Hastalıkları ve Mücadele Usulleri. T.C. Tarım ve Orm. Bak.lığı, Zirai Müc. ve Zirai Karan. Gen. Müd.lüğü, Adana Böl. Zirai Müc. Arş. Ens. Müd.lüğü, Mesleki Eserler Serisi No:2, 92 s., Ankara.
- DİNÇ, N., O. GÖKSEDEF and K. TURAN, 1979. Gaziantep İli Antepfıstıklarında Zarar Yapan Karazenk Hastalığı (*Septoria pistacina* All.)'nın Bio-Ekolojisi ve Koruma Olanakları Üzerine Araştırmalar. Bit. Koruma Bült. Cilt. 19 No:1. Zir. Müc. ve Karan. Gen. Müd. Basımevi, Ankara.
- DURBIN, R.D., 1966. Comparative Gel-Electrophoretic Investigation of the Protein Patterns of *Septoria* species. Nature, 210: 1186-1187.
- ELLIS, M. A., MADDEN, L. V., and LALANCETTE, N. 1994. A disease forecasting program for grape downy mildew in Ohio. Pages 92-95 in: Proc. Int. Workshop Grapevine Downy Mildew Modeling,
- EMAMİ, A., SUZANGAR, M., and BARNETT, T.1977. Contaminaton of pistachio nuts with aflatoxin while on the trees and in storage. Zeszty problem owe postepow Nauk Rolniczych 189:135-140.
- ERKİLİÇ, A., Y. CANIHOŞ, M. BİÇİCİ, H. PALA ve E. CANIHOŞ, 1999. Çukurova'da Minneola Tangelolarda Alternaria Kahverengi Leke (*Alternaria alternata* f.sp. citri) Hastalığının Şiddetinin Belirlenmesi. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 23 (1999) Ek Sayı 3, 643-647.
- ESKALEN, A., M. KUSEK, L. DANIŞTI, and S. KARADAĞ., 2001. Fungal Diseases In Pistachio Trees in East-Mediterranean and Southeast Anatolian Regions. 11th GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds, Zaragoza, CHIEAM-IAMZ, p. 261-264.
- ESMAILPOUR, A., DEGHANI. H. and MIRDAMADIHA, F. 2000. effects of delay on harvesting and processing time on aflatoxin rate im pistachio. Proceeding of the 14th Iranian Plant Protection Congress, Isfahan, Iran. p.129.

- EYAL, Z., 1981. Integrated Control of Septoria Disease of Wheat. *Plant Dis.*, 65: 763-768.
- EYAL, Z., A.L. SCHAREN, M.J. PRESCOTT and M. van GINKEL., 1987. The Septoria Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. Mexico, D:F.: CIMMIYT.
- FABBRI, A. and C. Valenti, 1998. The Sicilian Pistachio Industry: An Overview, *Acta Horticulturae*, 470, 43–49,
- FACELLÌ, E, TAYLOR, C., SCOTT, E., FEGAN, M., HUYS, G., NOBLE, R., SWINGS, J., and SEDGELEY, M. 2005. Identification of The Casual Agent of Pistachio Dieback İn Australia. *European Journal Of Plant Pathology*, 112, 155-165
- FAO, 2014. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (Erişim Tarihi: 21 Mayıs 2014)
- FRIES, 1819. *Novit. Fl. Suec.* 78:18.
- FRIES, 1825. *Syst. Orb. Veg.* 119.
- FRIESLAND, H . and SCHRODTER, H., 1988. The Analysis of Weather Factors in Epidemiology. In *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology*, ed. J. Kranz, J. Rotem. Berlin: Springer, p. 115-134.
- GOODWIN, S.B. and ZIESMANN V.L., 2001. Phylogenetic Analyses of the ITS Region of Ribosomal DNA Reveal that *Septoria passerine* from Barley is Closely Related to the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola*, *Mycologia*, 93: 934-946.
- HAGGAG, W. M., 2006. First Report of *Septoria pistaciae* Causing Leaf Spot of Pistachio in Egypt. *Plant Dis.*, v. 90, n. 12, p. 1553.
- HALL, R., 1969. Molecular Approaches to Taxonomy of Fungi. *Bot, Rev.*, 35: 285-304.
- HALLAGE, M.R. 1927. Fungus diseases of the pistachio tree in Syria. *Internat. Bull. Plant Prot.* 1(3):38-39.
- HALLIDAY, P., 1989. *A Dictionary of Plant Pathology*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

- HUBER, L. and GILLESPIE, T.J., 1992. Modeling Leaf Wetness in Relation To Plant Disease Epidemiology. *Annu, Rev, Phytopathol.*, v.30, p. 553-77.
- INGOLD, C. T. 1978. Water and Spore Liberation. In *Water Deficits and Plant Growth: Water and Plant Disease*. v. 5, p. 9-40.
- İLERİ, M. ve M. AYFER., 1954. Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) Zararlı ve Hastalıkları. Adana Ziraî Mücadele Enstitüsü Yayınları, no: 11.
- JOOSTE, C. 2000. Pistachio's vervang kontantoeste (Pistachios replace cash crops) *Landbou weekblad* October 2000.
- KAÇAL, E. ve AKINCI YILDIRIM, F., 2011. Karalekeye Dayanıklı Elma Çeşit İslahındaki Gelişmeler. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 2011, 28 (2):14-26.
- KASKA N., 2005 Pistachio Nut Growing in Turkey, *Acta Horticulturae (ISHS)*, 419: 161-164.
- KASSENMEYER, H. H., 1994. Experience with electronic warning of downy mildew of grapevine. Pages 80-81 in: *Proc. Int. Workshop Grapevine Downy Mildew Modeling*.
- KIRK, P.M., CANNON, P.F., DAVID, J.C. and STALPERS, J.A., 2001. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*, 9th Edition. CAB International, Wallingford.
- KURT S. ve TOK, F., 2006. Influence of inoculum concentration, leaf age, temperature, and duration of leaf wetness on *Septoria* blight of parsley. *Crop Protection*, v. 25, p. 556-561.
- LALANCETTE, N., ELLIS, M. A., and MADDEN, L. V. 1988a. Development of an infection efficiency model for *Plasmopara viticola* on American grape based on temperature and duration of leaf wetness. *Phytopathology*, 78:794-800.
- LALANCETTE, N., MADDEN, L. V., and ELLIS, M. A. 1988b. A quantitative model for describing the sporulation of *Plasmopara viticola* on grape leaves. *Phytopathology* 78:1316-1321.
- LEVEILLÉ, J.H. (1842) *Observations médicales et énumérations des plantes recueillies en Tauride*. In: *Voyage dans la Russie meridionale et la Crimée* (Démidoff A, ed.) 2: 80–135. Paris:Ernes Boudier.

- MAAS, J.L., VAN DER ZWET, T., ve MADDEN, G. 1971. A severe Septoria leaf spot of pistachio nut trees new to the United States. *Plant Dis. Repr.* 55:72-76.
- MADDEN, L. V. and M. A. ELLIS, 2000. Evaluation of a Disease Warning System for Downy Mildew of Grapes. *Plant Disease*, Vol. 84, No. 5, p. 549-554.
- MAGERY, P., WACHTEL, M. F., WEIR, P. C., and SEEM, R. C., 1994. A computer-based simulator for rational management of grapevine downy mildew (*Plasmopara viticola*). Pages 82-91 in: *Proc. Int. Workshop Grapevine Downy Mildew Modeling*.
- MATHIAS H., 2008. Entwicklung einer anbauparameter und witterungsabhängigen Befallsprognose von *Septoria tritici*, CUVILLER VERLAG, Göttingen, 2008. (<http://info.metos.at/tiki/tiki-index.php?page=Septoria+tritici+Infection+Model&structure=Disease+models>. Erişim Tarihi 12 Mayıs 2014).
- MATHIEU, D and KUSHALAPPA, A.C., 1993. Effects of Temperature and Leaf Wetness Duration on the Infection of Celery by *Septoria apiicola*. *Phytopathology*, v.83, n.10, p. 1036-1040.
- MCDONALD, B.A. and MARTINEZ, J.P., 1990. DNA Restriction Fragment Length Polymorphisms among *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) Isolates Collected from a Single Wheat Field. *Phytopathology*, 80: 1368-1373.
- MICALES, J.A., BONDE, M.R. and PETERSON, G.L., 1986. The Use of Isozyme Analysis in Fungal Taxonomy and Genetics. *Mycotaxon*, 27: 405-449.
- MICHAILIDES T.J., D.P. MORGAN and M.A DOSTER, 1995. Diseases Of Pistachio in California And Their Significance, *Acta Horticulturae (ISHS)*, 419: 337-343.
- MICHAILIDES, T. J., 1991. First Report of Septoria Spot in California Pistachios. Page 93, *Ann. Rep. Calif. Pistachio Ind. Crop Year, 1990-91*.

- MICHAILIDES, T.,J.,2007. Pest Disease and Physiological Disorders Management, Above Ground Fungal Diseases. p.214-232., 2007. (<http://fruitsandnuts.ucdavis.edu/files/73707.pdf>-Erişim Tarihi, 16 Nisan 2012).
- MIRABOLFATHY,M.1981. Study of pistachio molds. Annual Report of Laboratory of Plant Pests and Diseases Research Institute, Rafsanjan, Iran
- MOJHAHEDI, H., DANESH, D., HAGHIGHİ, B. and BARNETT, R.1978. Post harvest pathology and mycotoxin contamination of Iranian pistachio nuts. *Phytopathology* 68:1800-1804
- MORADİ, M. and ERSHAD, J. 2000. Determination of density of the molds *Aspergillus* species in the Kerman pistachio orchards in different months of years. Proceeding of the 14 th Iranian Plant Protection Congress, Isfahan, Iran. P:128.
- ÖZBEK, S., 1978. Özel Meyvecilik, Ç.Ü. Zir. Fak. Yayınları, 1978, Adana.
- PARK, E. W., SEEM, R. C., GADOURY, D. M., and PEARSON, R. C. 1997. DMCAST: A prediction model for grape downy mildew development. *Vitic. Enol. Sci.*, 52:182-189.
- PARK, E. W., SEEM, R. C., PEARSON, R. C., and GADOURY, D. M. 1994. DMCAST: A forecasting model for grape downy mildew development. Pages 96-102 in: Proc. Int. Workshop Grapevine Downy Mildew Modeling.
- PEARSON, R. C. and GOHEEN, A. C., 1988. Compendium of Grape Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- PEEVER, T.L., CANIHOS, Y., OLSEN, L., IBAÑEZ, A., LIU Y-C and L.W. TIMMER, 1999. Population Genetic Structure and Host Specificity of *Alternaria* spp. Causing Brown Spot of Minneola Tangelo and Rough Lemon in Florida. *Phytopathology* 89:851–860.
- PETRAK, F., 1924. Mykologische Nötizen. VII, *Ann, Mycol*, 22: 1-182.
- PRIEST, M., 2006. Fungi of Australia, Septoria. Australian Biological Resources Study, Csiro Publishing. Australia, 268 s.
- PUPILLO, M., ve DI CARO, S. 1952. Alcune osservazioni sulle Septoria del Pistachio. *Ann. Sper. Agr. N.S.* 6(3):623-634.

- RIEUF, P., 1964. Septoriose du Pistachier sur *Pistacia vera* L. Revue Internationale des Produits Tropicaux et du Material Tropical. 41 (441-442): 2-3.
- SACCARDO (1901). Sylloge. XVI., p. 959.
- SARJANNI, J.A. 1935. Notes phytopathologiques; les septorioses du Pistachier. Ann. Inst. Phytopath. Benaki 1(3):67-76.
- SCHUH, W. and ADAMOWICZ, A., 1993. Influence of Assesment Time and Modelling Approach on the Relationship Between Temperature-Leaf Wetness Periods and Disease Parameters of *Septoria glycines* on Soybean. Phytopathology, vol.83, n.9, p. 941-948.
- SHANER, G. and FINNEY. R.E., 1976. Weather and Epidemics of Septoria Leaf
- SHAW, M.W., 1999. Epidemiology of *Mycosphaerella graminicola* and *Phaeosphaeria nodorum* : An Overview. pages 93-97. Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research. Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop, September 1999, Mexico, CIMMYT.
- SHEIBANI, A., 1995. Pistachio Production in Iran. First International Symposium on Pistachio Nut. p. 349-352. September, 20-24, 1994, Turkey.
- SHIN, H.D. ve SAMEVA, E.F., 2004. Septoria in Korea. National Institute of Agricultural Science and Technology, Korea, 183 s.
- SHIPTON, W.A., BOYD, W.J.R., ROSSIELLE, A. A. and SHEARER, B.I. 1971. The Common Septoria Disease of Wheat. Bot. Rev., 27: 231-262.
- SMITH, D. and ONIONS, A.H.S. 1994. The Preservation and Maintenance of Living Fungi, 2nd edn. IMI Technical Handbooks 2. CAB International, Wallingford, UK.
- SOYLU, E.M., SOYLU, S., and KURT, S., 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. Mycopathologia 161, 119–128.
- STÖSSER, R., KAŞKA, N., ANVARI, S.F. ve ETI, S., 1985. Bahçe Bitkilerinde Döllenme Biyolojisi Uygulamalı Kurs Notları. 18-22 Mart 1985, Adana (Yayınlanmamış).

- STRYZIK, S. 1983. Modele d'etat potential d'infection: Application a Plasmopara viticola. Association de Co-ordination Technique Agricole, Maison Nationale des Eleveurs, Paris. pp. 1-46.
- SUTTON, B.C., 1980. The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- SUZANGAR, M., MOJTAHEDI, H, EMAMI, A., DUNESH, D., Farivar, H. and Barnett, R. 1976. First and second stage aflatoxin contamination of pistachio nuts (Combination of 3 years study) Page 3 in I.U.P.A.C. Symposium on Mycotoxin in Food Stuffs, Sept, 15-18, Paris, France.
- ŞİRE, İ., 2011. Turunçgillerde Kahverengi Yaprak Leke Hastalığı Etmeni *Alternaria alternata* f.sp. *citri* İzolatlarına Karşı Turunçgil Tür ve Çeşitlerinin Reaksiyonlarının Belirlenmesi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lis. Tezi. 68 s.
- TATLI, F., KURAL İ. ve GÖKALP, K. 1999. Güneydoğu Anadalo Bölgesi'nde Antepfıstıklarında Karazenk (*Septoria pistacina* All.) Hastalığının Enfeksiyon Koşulları ve Tahmin Uyarı Sisteminin Uygulanabilirliği. GAP I. Tarım Kongresi, 26-28 Mayıs 1999, Şanlıurfa, T.C. Harran Üniv. Zir. Fak., 1. Cilt, s. 161-168.
- TEKİN, H., ARPACI, S., ATLI, H.S., AÇAR, İ., KARADAĞ, S., YÜKÇEKEN, ve YAMAN, A., 2001. Antepfıstığı Yetiştiriciliği Yayın No: 13: 65-66. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü, Gaziantep.
- TEVIOTDALE, B. L., MICHAILIDES, T. J. and PSCHIEDT, J. W., 2002. Compendium of Nut Crop Diseases In Temperate Zones. The Am. Phythopath. Soc. APS Press. p: 64-75.
- TIMMER, L.W., SOLEL, Z., GOTTWALD, T.R., IBÁÑEZ, A.M. and ZITKO, S.E. 1998. Environmental factors affecting production, release, and file populations of conidia of *Alternaria alternata*, the cause of brown spot of Citrus. *Phytopathology* 88:1218-1223.
- TOKUŞOĞLU, Ö., 2007. Yeşil Altın:Antepfıstığı Teknolojisi, Kimyası ve Kalite Kontrolü. 86 s. Gaziantep.

- TOUS J., and L. FERGUSON, 1996. Mediterranean Fruits. Pp 416-430. In: J. Janick (Ed.). Progress In New Crops. ASHS Press, Arlington, VA.
- TU, J.C. and POYSA, V., 1990. A Brushing Method of inoculation for Screening Tomato Seedlings for Resistance to *Septoria lycopersici*. Plant Disease, v. 74, no:4, p. 294-297.
- TÜİK, 2011. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim Tarihi: 12 Mayıs 2014).
- TYRELL, D., 1969. Biochemical Systematics and Fungi. Bot. Rev., 35: 305-316.
- VERCESI, A., CORTESI, P., ZERBETTO, F., and BISIACH, M. 1994. Evaluation of the EPI model for downy mildew of grapevine in Northern Italy. Pages 55-73 in: Proc. Int. Workshop Grapevine Downy Mildew Modeling.
- WOODROOF J.G., Pistachio Nuts. In: Tree Nuts, Production, Processing And Products. Vol II. (1967). The AVI Publishing Company, Incorporated. Westport, Connecticut.
- YOUNG, D. J. ve MICHAILIDES, T. J., 1989. First Report of Septoria Leaf Spot of Pistachio in Arizona. Plant Dis., 73: 775.

ÖZGEÇMİŞ

28/09/1974 yılında Ceyhan'da doğdu. İlk ve Orta eğitimini Tarsus'ta tamamladı. Lise öğrenimini ise İstanbul-Halkalı Ziraat Meslek Lisesi'nde tamamladıktan sonra 1992 yılında "Ziraat Teknisyeni" olarak Diyarbakır-Lice İlçe Tarım Müdürlüğü'ne atandı. 1995-2000 yılları arasında ise Tarsus İlçe Tarım Müdürlüğü'nde görev yaptı.

1996 yılında başladığı Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nden 2000 yılında mezun oldu.

2001 yılında "Ziraat Mühendisi" ünvanı ile Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne atandı.

2000-2003 yılları arasında Gaziantep Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilimdalında Yüksek Lisans çalışmasını yürüttü.

2005 yılında Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilimdalı Mikoloji Laboratuvarında Doktora çalışmasına başladı. Evli ve bir çocuk babasıdır.

EKLER

EK 1. TÜİK Verilerine Göre İllere Göre Antepfıstığı Üretimi (2012)

İller	Üretim (ton)	Meyve veren yaşta ağaç sayısı	Meyve vermeyen yaşta ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
Şanlıurfa	36.619	10.719.050	4.889.345	15.608.395
Gaziantep	36.853	10.452.302	1.386.311	11.838.613
Siirt	12.617	2.572.500	1.532.235	4.104.735
Adıyaman	9.263	3.202.560	886.728	4.089.288
Kahramanmaraş	4.892	808.500	267.800	1.076.300
Manisa	1.326	680.556	131.105	811.661
Çanakkale	780	379.576	19.640	399.216
Mersin	1.371	260.379	137.080	397.459
Muğla	180	187.060	203.235	390.295
İzmir	1.145	218.300	146.200	364.500
Mardin	1.319	159.410	149.706	309.116
Aydın	377	184.250	66.975	251.225
Kilis	1.331	197.500	6.750	204.250
Balıkesir	126	59.135	108.925	168.060
Denizli	592	148.845	7.990	156.835
Diyarbakır	702	89.232	63.433	152.665
Kütahya	291	49.700	49.820	99.520
Karaman	204	90.700	2.000	92.700
Malatya	235	52.220	750	52.970
Sivas	2	200	44.428	44.628
Konya	305	40.530	0	40.530
Ankara	19	16.900	15.000	31.900
Bitlis	38	14.900	9.750	24.650
Uşak	81	18.240	5.800	24.040
Elazığ	84	10.510	2.250	12.760
Çorum	57	11.800	860	12.660
Şırnak	40	10.141	1.358	11.499
Burdur	7	7.450	1.250	8.700
Tunceli	26	3.700	2.620	6.320
Hakkari	50	5.240	410	5.650
Eskişehir	33	4.335	505	4.840
Hatay	13	3.210	1.325	4.535
Bursa	16	4.100	200	4.300
Afyon	8	2.650	346	2.996
Antalya	20	1.940	1.010	2.950
Isparta	8	2.500	0	2.500
Karabük	29	2.200	0	2.200
Bilecik	3	1.350	0	1.350
Erzincan	1	360	0	360
Van	0	1	324	325
Nevşehir	2	100	150	250

EK 2.

BESİYERLERİ

PATATES DEKSTROZ AGAR

Patates Suyu	1000 ml (200 gr doğranmış patates parçaları 1 saat süreyle kaynatılıp süzülür)
Glukoz	20 g
Agar	15 g

yada

39 g/L dozunda hazır Patates Dekstroz Agar (Merck™) kullanılmıştır.

CZAPEK-DOX AGAR

Sukroz	30 g
NaNO ₃	3 g
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0,5 g
KCl	0,5 g
FeSO ₄ x 7H ₂ O	0,01 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Agar	13 g
Distile Su	1000 ml

Not: pH 7,2'ye ayarlanmıştır.

yada

39 g/L dozunda hazır Patates Dekstroz Agar (Merck™) kullanılmıştır

MALT EKSTRAKT AGAR (MEA)

Malt extract	30 g
Mycological peptone	5 g
Agar	15 g

Not: pH 7.6'ya ayarlanmıştır.

yada

39 g/L dozunda hazır Malt Ekstrakt Agar (Merck™) kullanılmıştır.

YEAST MALT EKSTRAKT AGAR (YMA)

Peptone	5 g
Yeast extract	3 g
Malt extract	3 g
Dextrose	10 g
Agar	20 g

Not: pH 6,2'ye ayarlanmıştır.

Kaynak : <http://www.dsmz.de/species/strains.htm>

ANTEPFISTIĞI YAPRAĞI GLİKOZ AGAR

Antepfistiği Yaprığı Suyu 1000 ml (200 gr doğranmış antepfistiği yaprakları 1 saat süreyle kaynatılıp süzülür)

Glukoz	20 g
Agar	20 g

AGARLA YARI KATILAŞTIRILMIŞ ÇEŞİTLİ MEYVE VE SEBZE SULARI

1- Yeşil Sebze-Meyve Suyu:

(<http://www.tat.com.tr/tr/tat-urun-ailisi/sebze-sulari/tat-yesil-sebze-ve-meyve-suyu/>)

2- Kırmızı Sebze-Meyve Suyu:

(<http://www.tat.com.tr/tr/tat-urun-ailisi/sebze-sulari/tat-kirmizi-sebze-ve-meyve-suyu/>)

3- Turuncu Sebze-Meyve Suyu:

(<http://www.tat.com.tr/tr/tat-urun-ailisi/sebze-sulari/tat-turuncu-sebze-meyve-suyu/>)

hazır olarak alınmış, pH 7,2 ye ayarlanmış ve 25 g Agar ile yarı katılaştırılmıştır.

CHERRY DECOCTION AGAR (CHA)

1 kg kiraz (çekirdeği ayıklanmış) 1 L suda 2 saat süreyle kaynatılır ve süzülür. Otoklavda 110°C’de 0.5 atm basınçta 30 dak süreyle steril edilir. 15 g agar, 800 ml distile suda 121°C’de 15 dak süreyle steril edilir. 200 ml kiraz ekstraktı eklenip iyice karıştırılır. Sonra 5 dak 102°C’de 0.1 atm basınçta tekrar steril edilir ve final pH 3.8-4.6 arasında ayarlanır.

Kaynak: <http://www.cbs.knaw.nl/index.php/food-mycology/101-mycological-media-for-food-and-indoor-fungi>

OATMEAL AGAR (Yulaf Unu AGAR) (OMA)

30 g yulaf gevreği 1 L suda 2 saat süreyle kaynatılıp süzülür. Süzüldükten sonra hacim 1 L ye ayarlanır. 15 g agar ilave edilir ve otoklavda 121°C’de 15 dak süreyle steril edilir.

Kaynak: <http://www.cbs.knaw.nl/index.php/food-mycology/101-mycological-media-for-food-and-indoor-fungi>

AGARUZ

%5'lik agaroz hazırlanarak otoklav edilip petrilere dökülür.

SU AGAR

1 L distile su içersine 20 g Agar ilave edilerek otoklav edilir.

EK 3.

Gliserol Stok Hazırlanması

Kültürlerin uzun süreli muhafazalarında Dikilitaş ve ark., (2011)'e göre; Fungus hücreleri steril % 10 (v/v)'luk gliserol içinde hazırlanır ve 0.5 ml aliquotlar halinde üzerleri hangi ırk olduğunu belirten silinmeyen cam yazar kalemlerle etiketlenmiş 2 ml'lik polypropylen kryotüplere aktarılır. Kryotüpler programlanabilir uygun bir soğutma hızında soğutulur. $-1^{\circ}\text{C dak}^{-1}$ soğutma hızı birçok fungus için uygundur. Ancak yine de %100'lük bir başarı sağlamayabilir. Soğutma hızı kritik nokta olan 5°C ila -50°C arasında kontrol edilmelidir. İlk aşamada soğutma hızı $-10^{\circ}\text{C dak}^{-1}$ olarak belirlenebilir.

Fungusun geri kazanımının ve işlemin sağlıklı yapıp yapılmadığının kontrolü için dondurma işleminden dört gün sonra kryotüplerin bir tanesi 37°C 'de bir su banyosunda ya da uygun bir soğutma programı olan bir büyüme çemberinde bekletilir.