

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
2019-YL-009

**EGE BÖLGESİ KİRAZ ALANLARINDAN ELDE
EDİLEN *Leucostoma* spp. İZOLATLARININ
VEJETATİF UYUM GRUPLARI ve
VİRÜLENSLİKLERİ**

Damla GÜL

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Ömer ERİNCİK

AYDIN

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Damla GÜL tarafından hazırlanan Ege Bölgesi Kiraz Alanlarından Elde Edilen *Leucostoma* spp. İzolatlarının Vejetatif Uyum Grupları Ve Virülenslikleri başlıklı tez, 11.01.2019 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof Dr. Ömer ERİNCİK	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Prof Dr. Serap AÇIKGÖZ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Prof Dr. Necip TOSUN	İzmir Ege Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu yüksek lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim KurulununSayılı kararıyla(tarih) tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY
Enstitü Müdürü

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

..../..../2019

Damla GÜL

ÖZET

Ege Bölgesi Kiraz Alanlarından Elde Edilen *Leucostoma* spp. İzolatlarının Vejetatif Uyum Grupları ve Virülenslikleri

Damla GÜL

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ömer ERİNCİK
2019 , 57 sayfa

Leucostoma Dal Kanseri hastalığı kiraz ağaçlarında ölümlere neden olan önemli hastalıklardan biridir. Hastalıkla mücadele yöntemlerinin sınırlı olması, son yıllarda kanser hastalıklarının mücadelesinde hypovirulent ırkların kullanıldığı biyolojik mücadeleyi gündeme getirmiştir. Hipovirülensliğin aynı vejetatif uyum grubu bireyler arasında hissel anastomoz ile doğal taşınmasıyla biyolojik kontrol sağlanmaktadır. Bu yüzden hypovirulent ırklar kullanılarak mücadele edilecek fungal patojenin vejetatif uyum gruplarının bilinmesi gerekmektedir. Bu nedenle çalışmanın amacı; 1)Ülkemizin kiraz yetiştiriciliği açısından en önemli bölgelerinden biri olan Ege Bölgesinden toplanan *Leucostoma* spp. izolatlarının ve gruplar yönünden değerlendirilmesi, 2)vc gruplar ile virülenslik arasındaki ilişkinin olup olmadığının ortaya konmasıdır. Çalışmada İzmir, Manisa, Afyonkarahisar, Denizli ve Aydın illerinde kanserli kiraz ağaçlarından elde edilmiş 80 adet *Leucostoma* spp. izolatının oat meal agar ortamında yanyana eşleştirme yöntemi ile vc grupları belirlenmiştir. Ayrıca vc gruplar ile virülenslik arasındaki ilişkinin olup olmadığının ortaya konması amacıyla, kiraz üzerinde kesilmiş dal testi yöntemi ile virülenslik testleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda her ilde *Leucostoma* spp.'nin birbiriyle vejetatif yönden uyuşan izolatlarının varlığı saptanmış ancak bazı izolatlar arasında dikkat çeken derecede bir uyuşmazlığın olduğu da gözlemlenmiştir. Virülenslik testlerinin sonuçlarına göre her ne kadar farklı vc gruplarından izolatlar arasında virülenslikleri yönünden farklılıklar olsa da elde edinilen bulgular ile kesin olarak virülenslik ve vc grupları arasında doğrudan bir ilişki olduğunu söylemek güçtür. Sonuç olarak *Leucostoma* spp. nin Ege Bölgesinde farklı vc gruplarının olduğu ve bu durum hipovirülensliğin yayılmasını etkileyebilecek bir faktör olup *Leucostoma* Kanserinin hipovirulent ırk temelli biyolojik mücadele çalışmalarında göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Leucostoma* spp., kiraz, vejetatif uyum grupları, virülenslik

ABSTRACT

Vegetative Compatibility Groups of *Leucostoma* spp. Isolates from Cherry Plantations in the Aegean Region and Their Virulence

Damla GÜL

M. Sc. Thesis, Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ömer ERİNCİK

2019, 57 pages

Leucostoma canker is one of the important diseases resulting deaths of cherry trees. Since the control measures of *Leucostoma* canker are limited, biological control mediated through hypovirulent strains in the control of canker disease has recently gained high interest. Biological control is achieved by the natural transmission of hypovirulence via hyphal anastomosis that only occurs between the individuals that are in the same vegetative compatibility (vc) group. Therefore, the objective of this study are: 1) evaluation of *Leucostoma* spp. isolates collected from the Aegean Region in terms of vc groups, 2) determination whether there is a relationship between vc groups and virulence of the isolates. In this study, vc groups of 80 *Leucostoma* spp. isolates obtained from cankered cherry trees in İzmir, Manisa, Afyonkarahisar, Denizli and Aydın provinces were determined by pairing them in each combination in oat meal agar medium. In addition, in order to determine whether there is a relationship between vc groups and virulence, virulence tests were performed on the cherry branch test. The results of vc test indicated that there were a quite number of isolates which were compatible each other in all provinces however a remarkable incompatibility between certain isolates was also observed. According to the results of the virulence test, in spite of the differences in virulence between the isolates from different vc groups, regarding the findings it is difficult to conclude that there is a direct relationship between the virulence and vc groups. In conclusion, *Leucostoma* spp. has diverse vc groups in the Aegean Region, and this is a factor that can affect the spread of hypovirulence should be considered in the hypovirulence based biological control studies of *Leucostoma* canker.

Key Words: *Leucostoma* spp., cherry, vegetative compatibility groups, virulence

ÖNSÖZ

Kiraz, başta Ege Bölgesi olmak üzere ülkemizin birçok yerinde yetişebilen ve ekonomik açıdan önemi yüksek meyve türlerinden birisidir. Kiraz ağaçlarında ölümlere sebep olan *Leucostoma* Kanseri nedeniyle kirazlarda ciddi verim kayıpları ortaya çıkmaktadır. Bu hastalık ile mücadele yöntemlerinin sınırlı olması sözkonusu olan verim kayıplarının önünde geçilememesine yol açmaktadır. Bu yüzden *Leucostoma* Kanseri ile mücadele de alternatif çözümlere ihtiyaç duyulmaktadır. Alternatif mücadele yöntemlerinden birisi etmenin hipovirüent ırklarının kullanılarak hastalığın şiddet düzeyinin düşürülmesinin hedeflendiği biyolojik mücadeledir. Bu mücadele yöntemine yönelik olarak yaptığımız çalışmada amacımız hipovirüensliğe neden olan mikovirüslerin doğada yayılmasında önemli bir faktör olduğu bilinen vejetatif uyum gruplarının *Leucostoma* spp. popülasyonlarında durumunun belirlenmesidir. Çalışmadan elde edilecek bulgular *Leucostoma* spp. popülasyonlarında hipovirüent ırklar kullanılarak yapılabilecek biyolojik mücadelenin başarı durumunun önceden anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Ayrıca çalışma bulguları ülkemiz koşullarında *Leucostoma* spp. 'nin biyolojisini anlamaya yönelik katkılarda sağlayacaktır.

Belirtmiş olduğum amaca yönelik tez konunun belirlenmesi, planlanması, araştırılması ve yürütülmesinin de ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlanmamı sağlayan, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle yapmış olduğum çalışmamı bilimsel temeller doğrultusunda şekillendiren danışmanım Sayın Prof. Dr. Ömer ERİNCİK'e, çalışmalarımında kullanmış olduğum izolatlarımın temini konusunda yardımcı olan Ziraat Yüksek Mühendisi Ethem YILMAZ'a teşekkür ediyorum.

Ayrıca yüksek lisans eğitimim dahil tüm eğitim öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi hiçbir desteğini benden esirgemeyen, beni kendi ayakları üzerinde durabilen bir birey olarak yetiştiren, her türlü konu da destekçim olan ve hayatımın her evresinde yanımda olduklarını hissettiren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez çalışması ZRF16025 no'lu proje kapsamında Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenmiştir.

Damla GÜL

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xix
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	13
2.1. <i>Leucostoma</i> Kanserinin Tarihçesi ve Yaygınlığı.....	13
2.2. Etmen.....	14
2.3.Epidemiyoloji.....	17
2.4. <i>Leucostoma</i> Kanseri ile Mücadele.....	18
2.5. <i>Leucostoma</i> spp. ve Vejetatif Uyum.....	21
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1.Materyal.....	23

3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. İzolatlar Arasında Vejetatif Uyum Gruplarının (VCG) Belirlenmesi	28
3.2.1.1.Oatmealagar ortamının hazırlanması.....	28
3.2.1.2. Vejetatif uyum grubu belirleme testleri.....	29
4.BULGULAR	33
4.1.Virülenslik Testleri.....	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	57

KISALTMALAR DİZİNİ

FAO	Food Agriculture Organization
PDA	Potato Dekstroz Agar
VCG	Vegetative Compatibility Groupings
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu



ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.1. Kiraz bahçelerinde sıklıkla karşılaşılan ağaç ve dal kurumları sonucu ortaya çıkan dal ve ağaç kayıpları (A,B).....7
- Şekil 1.2. *Leucostoma* Kanseri belirtileri: A) Yara yerlerinde oluşmuş kanser,B) Kabuk üzerinde görülen kahverengileşmeler, C-D) Gövde ve dal üzerinde çatlaklar, kabuk altı kahverengileşmeler ve zamklanmalar..... 9
- Şekil 3.1. *Leucostoma* spp. izolatlarının in vitro koşullarda PDA üzerinde gençleştirme çalışmaları..... 24
- Şekil 3.2. *Leucostoma* spp. izolatlarının in vitro koşullarda stok kültürlerden alınan parçalarla saflaştırma işlemleri. Stok kültürden misel parçalarının alınması (A,B), Bir *Leucostoma* spp.izolatının PDA 5 günlük (C) ve 21 günlük (D) koloni görünümü..... 25
- Şekil 3.3.İzolatlarının stok kültürlerinin oluşturulması: A) PDA da filtre kağıdına misel kolonizasyonu; B, C, D) Filtre kağıtlarında gelişen fungusun steril zarf içine alınması 27
- Şekil 3.4.Vejetatif uyum testlerinde kullanılmış oat meal besi ortamının hazırlanması işlemleri..... 28
- Şekil 3. 5. Vejetatif uyum testlerinde oatmeal agarda *Leucostoma* spp. izolatlarının eşleştirilmesi: A) Oatmeal agar ortamında yan yana yerleştirilmiş izolatlar. B) Besi ortamında aynı petri kabına maksimum 6 adet izolat gelecek şekilde eşleştirilmeler 29
- Şekil 3. 6. Vejetatif uyum testlerinde eşleştirilen izolatlar arasında ki reaksiyonlar: A) Vejetatif yönden uyumsuz olan *Leucostoma* spp.izolat çiftleri arasında baraj oluşumu (NC: uyumsuz ilişki); B) Vejetatif uyum sonucu kolonileri birleşmiş *Leucostoma* spp. izolat çiftleri (C: uyumlu ilişki)..... 30
- Şekil 3. 7. Farklı vejetatif uyum grubularında yer alan izolatların virülensliklerinin değerlendirildiği kesik dal testi 32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Kiraz meyvesinin mineral madde içeriği ve bulunma miktarları(Baytop,1984).....	2
Çizelge 1.2. 2017 yılında dünya da kiraz üretici ülkelerin üretim miktarı ve üretim payları(Anonim,2017).....	3
Çizelge 1.3. 2017 yılında ülkemizde kiraz üretilen bölgelerin üretim alanları,üretim miktarları ve üretim payları(Anonim,2018).....	5
Çizelge 1.4. 2017 yılında Ege Bölgesinde kiraz yetiştirilen illerin üretim alanları, toplam ağaç sayısı ve üretim miktarları (Anonim,2017).....	6
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılmış olan Leucostoma spp. izolatları ve illere göre dağılımı	26
Çizelge 3.2. Virülenslik testlerinde kullanılmış farklı vejetatif uyum gruplarından seçilmiş Leucostoma spp. izolatları	31
Çizelge 4.1. Denizli ilinden elde edilen Leucostoma spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı	33
Çizelge 4.2. Denizli ilinden elde edilen Leucostoma izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları.....	34
Çizelge 4.3.Aydın ilinden elde edilen Leucostoma spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı.	35
Çizelge 4.4. Aydın ilinden elde edilen Leucostoma spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları	36
Çizelge 4.5.İzmir ilinden elde edilen Leucostoma spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı.	37

- Çizelge 4.6.İzmir ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları 38
- Çizelge 4.7. Manisa ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı. 39
- Çizelge 4.8. Manisa ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları 39
- Çizelge 4.9. Afyonkarahisar ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı. 40
- Çizelge 4.10. Afyonkarahisar ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları.....41
- Çizelge 4.11. Farklı illeri temsilen seçilmiş *Leucostoma* spp. izolatları arasında vejetatif uyum grupları 42
- Çizelge 4.13.Farklı vejetatif uyum gruplarından seçilmiş *Leucostoma* spp. izolatlarının kiraz dalları üzerinde oluşturduğu lezyon uzunlukları 43
- Çizelge 4.14. Denizli ilinden elde edilmiş farklı vejetatif uyum gruplarından *Leucostoma* spp. izolatlarının kirazda oluşturduğu lezyon büyüklükleri..... 44

1.GİRİŞ

Kiraz, (*Prunus avium* L.) Rosales takımının, Rosaceae familyasının, Prunoideae alt familyasının *Prunus* cinsi içerisinde yer alan bir bitki türüdür (Öz, 1988). Anavatanının Hazar Denizi, Güney Kafkasya ve Kuzey Anadolu olduğu düşünülmektedir. Avrupa'ya yayılması tohumlarının kuşların ve hayvanların taşınımıyla Amerika'ya ise sömürgeciler tarafından götürüldüğü varsayılmaktadır. Modernize olarak ilk kiraz üretimi Pasifik kıyıları yakınındaki Oregon eyaletinde başlamıştır.

Kiraz, Türkiye meyve yetiştiriciliğinde önemli yeri olan türlerden biridir. Kiraz- vişne grubunda dünya üzerinde 119 türün bulunduğu bildirilmektedir (Özbek,1978). Bu türlerden 100 tanesi Himalayalar'ı da içine alan Doğu Asya'da, 14'ü Avrupa'da ve 5 tanesi de Kuzey Amerika'da yetişmektedir. Türkiye'de birçok farklı kiraz çeşidi yetiştirilmektedir. Ancak Türkiye'de yetişen ve dünyada 'Türk Kirazı' olarak gösterilen ve ihracatı en çok yapılan çeşit '0900 Ziraat' çeşididir. Toplam kiraz ihracatının %90'ını bu çeşit oluşturmaktadır. Dış pazar talebi doğrultusunda yurtdışında '0900 Ziraat' çeşidi dış görünüşü, albenisi iri meyveleri ve tadıyla dikkat çekmektedir.

Ülkemizde birçok bölgede yetiştirilme özelliğine sahip olan kirazın meyvesi rengi, aroması ve tadından dolayı tüketiciler tarafından talep gören ve keyifle tüketilmektedir (Tahhuşoğlu, 2007). En verimli hasat sonuçları yazların serin geçtiği, nisbi nemin yüksek olduğu, toprak özelliklerinin ise kolay işlenebilen kumlu-tınlı topraklardan alındığı gözlemlenmiştir (Davis, 1951). Sert geçen kış şartlarına dayanıklı bir bitki olmasına karşın, şiddetli kış soğuklarında genç dallarda ve tomurcuklarda zararlar meydana gelebilir. Bunun yanında gövde ve dallarda kabuk çatlamalarına neden olabileceği için -20 °C'nin altına düşen sıcaklıklarda yetiştiriciliğin yapılması önerilmemektedir (Bailey, 1963).

Kiraz meyvesinin oldukça geniş bir kullanım alanı mevcuttur. Yetiştirilme dönemi açısından hasat zamanı haziran sonu olduğu için diğer meyvelerden farklıdır ve o dönemde yetiştirilen meyvelerin sayısı az olduğundan dolayı sofralık tüketimi artmaktadır. Kiraz içeriğinde bulundurduğu mineral ve vitaminler açısından insan beslenmesinde önemli yer tutmaktadır (Baytop, 1984). Özellikle potasyum ve C vitamini yönünden zengin bir meyvedir (Çizelge 1.1). Kiraz meyvesinden yapılan reçel, marmelat ve meyve suyu gibi işlenmiş ürünlerin tüketiminde de önemli yeri

vardır. Kiraz sadece insanların tükettiği bir meyve değil aynı zamanda kiraz ağacının odun dokusu mobilya sanayisinde de çok yoğun olmasa da kullanılmaktadır. Ayrıca kiraz alternatif tıp olarak adlandırdığımız sektörde de kendine bir yer edinmiş olup meyve saplarında bulunan potasyum tuzları ve tanen ile bu sapların kaynatılmasıyla çeşitli hastalıklarda ilaç kullanımı olmadan doğal yollardan iyileşme sağlamaktadır.

Çizelge 1.1. Kiraz meyvesinin mineral madde içeriği ve bulunma miktarları (100 g)
(Baytop, 1984)

Maddeler	Miktar (mg)	Maddeler	Miktar (mg)
Su	83,6 g	Demir	0,45
Protein	0,8 g	Kobalt	0,5
Yağ	0,5 g	Bakır	0,1
Karbonhidrat	14 g	Fosfor	25
Mineral Madde	0,6 g	Klor	61
Sodyum	1,83 mg	Karoten	0,3
Potasyum	227 mg	B ₁ Vitamin	0,03
Magnezyum	0,8 mg	B ₂ Vitamin	0,03
Kalsiyum	16 mg	Nikotinamid	0,25
Manganez	0,03 mg	B ₆ Vitamin	0,04
		C Vitamin	10,5

FAO'nun 2016 yılı istatistik verilerine göre kirazın dünyada toplam üretim alanı 4.164.452 da ve toplam meyve üretiminde 2.443.407 ton olarak bildirilmiştir (Anonim, 2016). Dünya da kiraz üretiminde söz sahibi olan dört ülke vardır. Türkiye sahip olduğu 85.401 ha kiraz üretim alanı ve 627.132 ton üretim miktarı ile birinci sırada yer almaktadır. Türkiye bu üretim miktarı ile dünyadaki %25,6 'lık kiraz üretim payına sahiptir. Türkiye'yi %16,2'lik üretim payı ile Amerika takip etmektedir. Bu sıra İran, Özbekistan ve Şili olarak devam etmektedir (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. 2017 yılında dünyada kiraz üretici ülkelerin üretim miktarı ve üretim payları (Anonim, 2017).

Ülkeler	Ekim Alanı (ha)	Üretim miktarı(ton)	Üretim miktarı payı(%)
Türkiye	85.401	627.132	25,6
Amerika	36.540	398.140	16,2
İran	10.970	180.000	7,3
Özbekistan	10.808	136.609	5,5
Şili	25.109	126.642	5,1
İtalya	30.103	118.259	4,8
İspanya	27.592	114.433	4,6
Diğer ülkeler	414.179	742.192	30,9
Dünya(Toplam)	4.164.452	2.443.407	

Ülkemizin birçok bölgesinde kiraz yetiştiriciliği yapılmaktadır (Çizelge 1.3.). TÜİK 2017 yılı verilerine göre Ege Bölgesi 27.556.643 da kiraz üretim alanı ile 3. sırada yer almasına rağmen, 212.808 tonluk üretim miktarı ve % 33,9' luk pay ile birinci sırada bulunmaktadır (Anonim, 2017) . İç Anadolu Bölgesi 77.860.586 da'lık en yüksek üretim alanına sahip olduğu halde üretim miktarına baktığımız da Ege Bölgesinin neredeyse yarısı kadar bir üretim payına sahiptir. Türkiye'deki toplam 7

bölge arasında en düşük üretim alanına sahip bölge Marmara Bölgesi olmasına rağmen üretim miktarı ve yüzdelik payına baktığımızda 4. sırada yer almaktadır. Ege Bölgesinde kiraz üretim miktarının diğer bölgelere göre daha yüksek olmasında bu bölgenin sahip olduğu uygun iklim koşulları ve toprak özellikleri önemli rol oynamaktadır. Ayrıca bölgede uzun yıllardan beri kiraz yetiştiriciliğinin yapıyor olması nedeniyle de meyve veren ağaç sayısı diğer bölgelere göre oldukça yüksektir. Üretimin en düşük olduğu bölge %1.8'lik pay ile Güney Doğu Anadolu Bölgesidir (Çizelge1.3) (Anonim, 2017).

Çizelge 1.3. 2017 yılında ülkemizde kiraz üretilen bölgelerin üretim alanları, üretim miktarları ve üretim payları (Anonim, 2018).

Bölgeler	Üretim alanı(da)	Üretim alanı payı (%)	Üretim miktarı (ton)	Üretim mik. payı (%)
Ege	27.556.643	11,7	212.808	33,9
Marmara	23.787.319	10,1	99.495	15,8
Akdeniz	22.735.907	9,7	100.573	16,03
Karadeniz	27.626.058	11,8	72.447	11,5
İç Anadolu	77.860.365	33,2	115.692	18,4
Güneydoğu Anadolu	29.666.365	12,6	11.287	1,8
Doğu Anadolu	24.598.719	10,5	14.830	2,3

En yüksek üretime sahip olan Ege Bölgesinde 2017 yılında Afyonkarahisar 4.582.558 da üretim alanı ile birinci sırada yer almasına rağmen İzmir ilinin 3.286.132 da üretim alanı ile birinci sırada olan Afyonkarahisar ilinin 68.509 tonluk üretim miktarıyla önüne geçmektedir (Çizelge1.4) (Anonim 2018). Yine kiraz üretim alanına sahip illerimiz olan Aydın ve Denizli'ye baktığımızda sırasıyla üretim alanları 3.657.947 ve 3.508.048 da ile İzmir'in önünde yer almaktadır. Ancak bu üretim alanları İzmir'e göre daha yüksek üretim miktarı ile verim sağlamaya yetmemektedir. Ağaç sayısı olarak baktığımız da İzmir 3.874.000 adet ile en çok ağaca sahip il olarak karşımıza çıkmaktadır (Çizelge 1.4). Eski yıllara baktığımız da İzmir'e göre daha fazla ağaç sayısına sahip illerin ilerleyen yıllar da daha yüksek üretim miktarına sahip olacağı düşünülmüş olsa da bahçelerin o zamanlar yeni kurulmuş olması, meyve vermeyen ağaç sayısının yüksek olması bu illerin istenilen üretim miktarına ulaşamamasına neden olmuştur. Muğla ilinde ise 2.303.383 da alanlık üretim alanı ile Uşak iline göre daha çok üretim alanına sahip olmasına rağmen, sırasıyla 2.757 ve 2.852 ton üretim miktarıyla Ege Bölgesinde ki en düşük üretim miktarına sahip olan ilimiz Muğla'dır (Çizelge1.4.).

Çizelge 1.4. 2017 yılında Ege Bölgesinde kiraz yetiştirilen illerin üretim alanları, toplam ağaç sayısı ve üretim miktarları (Anonim, 2018).

İller	Üretim Alanı (da)	Ağaç Sayısı	Üretim Miktarı (ton)
İzmir	32.861.325	3.874.000	68509
Afyonkarahisar	45.825.581	740.459	35813
Aydın	36.579.478	267.050	5239
Denizli	35.080.489	963.596	21803
Manisa	3.184.844	3.341.580	43638
Muğla	23.033.836	103.360	2757
Uşak	2.072.873	105.255	2852
Kütahya	3.185.497	1.454.983	32192

Kiraz üretiminin de diğer ülkelerde olduğu gibi Türkiye’de de birçok hastalık ve zararlılar önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Karaca vd., 1972; Gökçe vd., 1998; Spotts vd., 1990). Dal veya tüm ağaç kurumaları bu ürün kayıplarının en önemli nedenlerinden biridir (Şekil 1.1). Ağaçlarda meydana gelen kurumalar, hastalık ve zararlıların dışında çeşitli doğa olaylarından, yapılan aşuların uyumsuz olmasından da kaynaklanabilmektedir (Karaca vd., 1972; Gökçe vd., 2011).



Şekil 1.1. Kiraz bahçelerinde sıklıkla karşılaşılan ağaç ve dal kurumaları sonucu ortaya çıkan dal ve ağaç kayıpları (A, B).

Dünyadaki kiraz üretiminde en önemli hastalıklardan biri *Leucostoma* Kanseri (*Cytospora* kanseri)'dir (Ogawa vd., 1995). Hastalık farklı familyalardan çeşitli konukçular da geriye doğru ölüme ve kansere neden olmaktadır. Bu hastalık nedeniyle dünya çapında ciddi ticari ve ekolojik hasara, önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Adams vd., 2005; Adams vd., 2006). Hildebrand (1947)'in New York'da şeftali ağaçlarında yapmış olduğu bir çalışmada, şeftali ağaçlarının %90 oranında kanser etmeni ile bulaşık olduğunu bildirmiştir. James ve Davidson (1972) yaptıkları bir çalışma da ise toplam 2000 şeftali ağacının %98'inde hastalık tespit etmişlerdir. Bu hastalıktan dolayı yıl içerisinde ağaçların %9'u geri dönüşü olmadan ölürken %10'u kademeli dal kayıpları, bunun sonunda da verim ve ürün kaybı şeklinde ortaya çıkmıştır.

Ülkemizde *Leucostoma* Kanserinin varlığı şeftali, kayısı, erik, badem, kiraz, ve farklı taş çekirdekli meyve türlerinde bildirilmiş ancak hastalığın neden olduğu verim kayıpları konusunda herhangi bir rapor yayınlanmamıştır (Kural ve Erdiller, 1995; Çeliker ve Kural, 2007; Yılmaz, 2013; Çalış ve Yanar, 2015). Doğu Anadolu Bölgesinde kayısılarda bahçelerin %90'unda *Leucostoma* Kanseri gözlemlenmiştir (Kural ve Erdiller, 1995). Ege Bölgesinde Aydın, Manisa, İzmir, Denizli ve Afyonkarahisar illeri kiraz alanlarında bir çok bahçenin *Leucostoma* spp. ile bulaşık olduğu belirtilmiştir (Yılmaz, 2013).

Etmen budama sırasında oluşan yaralardan, kış donlarında oluşan kabuktaki çatlaklarından, dökülen yaprak yerlerinden ve meyve saplarında meydana gelen yaralardan giriş yapar (Şekil 1.2A) (Ogawa vd., 1995). Hastalığın ortaya çıkma belirtileri, anadal ve yan dallarda kanser şeklinde, daha ince dallarda yer yer kurumalar ve geriye doğru ölüm şeklindedir. Hastalık ile enfekteli olan kabuk bölgesinde kahverengileşme görülür (Şekil 1.2B) ve kabuk çöker. Etmen, bitkide oluşan yaraların etrafında kallus dokusu meydana getirir (Şekil 1.2A, D). Kallus dokusunun etrafında bu hastalık için tipik bir belirti olmasa da yara etrafında kallus dokusu ve zamk akıntısı oluşur ve kanser görünümü gözle görülür şekilde dikkat çeker (Biggs, 1989; Ogawa vd., 1995; Anonim, 2008) (Şekil 1.2C, D). Kanserli kabuk kazındığında alta kahverengi nekrotik doku vardır (Şekil 1.2C, D). Patojen enfeksiyondan 4-5 hafta sonra enfekteli bölgedeki ölü dokuda piknitlerini oluşturur (Ogawa vd., 1995). Boyutları 1-2 mm, şekli konik yapıda olan piknitler olgunlaştıktan sonra üst kabuk dokusunu yırtarak, nemli havalarda kırmızımsı renkte ipliksi görünümdeki konidiospor kitlelerini ortaya çıkartır. Bu konidiosporların çıkışı yıl boyunca devam etse de yoğun olarak ilkbahar-sonbahar dönemlerinde olmaktadır. Bulaşmalar sonucu ilkbahar döneminde oluşan kısa ama daha çökük olan bazı kanserler yine aynı vejetasyon döneminde iyileşerek kapanabilir. Daha

tehlikeli ve geri dönüşü olmayan zarar veren kanserler genelde sonbahar ve kış dönemlerinde oluşur. Sıcaklığın yükselmeye başladığı dönemler de hastalık, dal veya gövde çevresini tamamen sardığı anda enfeksiyon bölgesinin üstünde kalan kısmı aniden soldurur ve bu kısım kurumaya başlar. Çok sayıda meyve veren ağaçlarda kurumalara yol açtığı için dünyada da olduğu gibi ülkemizde de önemli ürün kayıplarına ve maddi kayıplara neden olmaktadır (Anonim, 2008).



Şekil 1.2. *Leucostoma* Kanseri belirtileri: A) Yara yerlerinde oluşmuş kanser, B) Kabuk üzerinde görülen kahverengileşmeler, C-D) Gövde ve dal üzerinde çatlaklar, kabuk altı kahverengileşmeler ve zamklanmalar.

Tüm dünyada olduğu Türkiye’de de Leucostoma kanseri ile mücadele yöntemleri oldukça sınırlıdır (Anonim, 2008). Hastalık etmeni bir yara paraziti olduğundan daha çok yara yönetimine ve kültürel önlemlere önem verilmektedir (Ogawa vd., 1995; Biggs ve Grove, 2005). Hastalıklı dokuların sağlıklı dokuyu da içerecek şekilde uzaklaştırılıp imha edilmesi hastalıkla mücadelede sıklıkla önerilmektedir. Ancak bu yöntem hastalığı tamamen ortadan kaldırmaya yetmemektedir. Bu hastalığın mücadelesinde özellikle gövde enfeksiyonlarında ağacın tamamının kesilmesi gerekebilmektedir, fakat çoğu üretici bu uygulamayı gerçekleştirmek istememektedir. Bu durum hastalığın mücadelesini engellemekte ve bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalığın kimyasal mücadelesi de yara yerine uygulanan dezenfektan ve koruyucu fungusitlerle sınırlı kalmakta etkin bir kimyasal mücadele programı bulunmamaktadır. Yukarıda sözü edilen nedenlerden dolayı Leucostoma Kanserinin mücadelesinde alternatif yöntemlere ihtiyaç vardır.

Son yıllarda kanser hastalıklarının en tahripkar olanlarından olan kestane kanserinin biyolojik mücadelesi kapsamında hipovirüent ırkların kullanımı ile yapılan biyolojik mücadele önem kazanmıştır (Milgroom ve Cortesi, 2004). Hipovirüent ırklar, dsRNA özellikli hipovirüslerin patojen fungusu enfekte etmesi sonucu saldırganlığı azalmış özel ırklardır (Nuss, 1992). Bu bireylerde saldırganlığın azalması hipovirüenslik olarak adlandırılır. Hipovirüensliğe neden olan hipovirüsler fungusun sitoplazmasında bulunmakta olup bir bireyden diğerine bulaşarak saldırgan ırkları da enfekte ederek hipovirüente dönüşmelerine neden olmaktadır (Nuss, 1992). Bu yolla ölümcül kanserleri de hipovirüente dönüştürerek kanserin tedavisini sağlamaktadırlar. Hipovirüensliğe neden olan mikovirüslerin çoğunluğunun sitoplazmik olması nedeniyle bir fungal bireyden diğerine geçerek hipovirüensliği yaymaları sadece anastomosis adı verilen hif birleşmesi ile olmaktadır (Pearson vd., 2009). Virüslerin bu şekilde olan taşınma şekline yatay taşınım adı verilmektedir. Mikovirüslerin çoğunda protein kılıfı bulunmamaktadır ve bu nedenle doğal yollarla hücreyi dışardan enfekte edememektedirler. Virüs ile enfekteli bir fungal birey tür içinde uyumlu olduğu bir bireyle hif temasında bulunduğu temas bölgesinde hif kaynaşması olmakta ve böylece iki birey arasında sitoplazmik ve genetik alış-veriş meydana gelmektedir. Bu durum birçok fungal türün hayatta kalmasında, özellikle eşyili üremesi sınırlı olan ya da olmayan türlerde paraseksüel üreme ile gen aktarımı ile genetik çeşitliliğin ortaya çıkmasında da önemli rol oynamaktadır. Hipovirüensliğe neden olan mikovirüsler sitoplazmik olmaları nedeniyle anastomosis sırasında meydana

gelen sitoplazmik değişim ile bir bireyden diğerine geçme fırsatı bulurlar. Bu nedenle fungal bireyler arasında anastomosis oluşumunu sınırlayan vejetatif uyuşmazlık mekanizmaları sıklıkla görülmektedir (Anagnostakis,1986; Liu ve Milgroom,1994).

Funguslarda vejetatif uyum genetik bir mekanizma ile yönetilmekte ve fungus türüne bağlı olarak vvejetatif uyum (vc) grup sayısı farklılıklar gösterebilmektedir. Örneğin Avrupa'da *Cryphonectria parasitica*'nın 74'n üzerinde tanımlanmış vc grubu vardır. Aynı fungusun Amerika ve Asya lkelerinde daha yüksek sayıda vc grubu bulunmaktadır (Milgroom ve Cortesi, 2004). *Rhizoctonia solani* de ise vc grup sayısı 14, *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* ve *F. oxysporum* f.sp. *niveum*'da 4 ile sınırlıdır (Leslie, 1993). Hipovirlensliğin kullanıldığı biyolojik mücadelede başarı vc grup sayısının az olmasına bağlıdır. Vc grup çeşitliliğinin düşük olduğu populasyonlarda anastomosis olasılığı fazla olup bu durum hipovirslerin bir bireyden diğerine geçme olasılığını yükseltmektedir (Milgroom ve Cortesi, 2004). Aksi durumda vc grup çeşitliliğine bağlı olarak anastomosis olasılığı düşmekte ve biyolojik mücadelenin başarı şansı azalabilmektedir. Bu nedenle hipovirlent ırkların kullanıldığı biyolojik mücadele çalışmalarına başlamadan önce patojenin bir popülasyon içerisindeki vc grup çeşitliliğinin bilinmesi önemlidir.

Daha önce yapılmış olan bazı çalışmalarda *L. personii* populasyonları içerisinde hypovirulent izolatların varlığına rastlanmıştır (Hammar vd., 1989; Jensen vd., 1995; Adams vd., 1990). Hammar vd., (1989)' nın yaptığı çalışmada *L. personii* izolatının sitoplazmasında dsRNA tespit etmiş ve bu dsRNA nın hipovirlensliğe neden olduğu bildirilmiştir. Jensen ve Adams (1995) ABD'nin Kuzey Carolina eyaletinde ki şeftali bahçelerinden elde ettikleri hipovirlent *L. personii* izolatının sitoplazmasından dsRNA izole etmişler ve bu izolatın kanser oluşumunda hipovirlent özelliğinin olduğu gözlemlenmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da *Leucostoma* spp. izolatlarında dsRNA nın varlığı bildirilmiştir. İlk olarak Ege Bölgesinde kiraz alanlarından elde edilmiş 6 *Leucostoma* spp. izolatında dsRNA saptanmıştır (Töngüşlü ve Açıkgöz, 2015). Bu çalışmayı takiben Hosseinalizadeh vd. (2017) de Türkiye'de 50 *Leucostoma* spp. izolatı üzerinde yaptıkları çalışmada 5 adet dsRNA varlığını bildirmişlerdir.

Yurdişında daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiş olan hipovirlent *Leucostoma* spp. izolatlarının varlığı dikkate alındığında, lkemiz *Leucostoma* spp. populasyonları içerisinde saptanmış bu dsRNA'ların hastalığın biyolojik mücadelesinde kullanılma olasılıkları bulunmaktadır. Gelecekte söz konusu olan bu dsRNA'ların tanısı, hipovirülenslik ile ilişkisi ve biyolojik mücadelede kullanım

olanakları mutlaka açıklığa kavuşturulacaktır. Ancak hipovirüslük temelli biyolojik mücadelenin başarılı olmasında en önemli faktörlerden biri olan fungal etmenin ve grup çeşitliliği de öncelikli olarak ele alınması gereken konulardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yukarıda da belirtildiği üzere hipovirüslüğe neden olan mikovirüslerin doğada yayılması fungal populasyonlarında ve grup çeşitliliği ile doğrudan ilişkilidir (Liu ve Milgroom, 1994). Ancak *Leucostoma* türlerinde ve gruplar üzerinde yapılmış çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nin Michigan eyaletinde 24 izolat arasında 13 farklı ve grup ile 65 izolat arasında 23 farklı ve grubun varlığı bildirilmiştir (Adams vd., 1990). Yine ABD'nin Michigan eyaletinde yapılan bir başka çalışmada da *L. persoonii* izolatları arasında yapılan vejetatif uyum testleri sonucunda %95 oranında vejetatif uyumsuzluk bulunmuştur (Wang vd., 1998). Ülkemizde ise *Leucostoma* spp. etmenlerinin vejetatif uyum gruplarının belirlenmesi üzerinde yapılmış çalışma yoktur. Bu nedenle bu çalışmanın amacı Ege Bölgesinden *Leucostoma* Dal Kanseri kiraz ağaçlarından toplanan *Leucostoma* spp. izolatlarının ve gruplarının belirlenmesi ve ve gruplar ile virüslük arasındaki ilişkinin olup olmadığının ortaya konmasıdır.

2.KAYNAK ÖZETLERİ

2.1.*Leucostoma* Kanserinin Tarihçesi ve Yaygınlığı

Biggs (1989)'e atfen sert çekirdekli meyve türlerinde *Leucostoma* Kanseri ilk defa Stewart vd. tarafından 1900 yılında New York'un batısındaki şeftali ağaçları üzerinde saptanmıştır. Bunu takip eden yıllarda hastalığın varlığı Kuzey Amerika kıtasının farklı bölgelerinde de rapor edilmiştir. ABD'nin Missouri eyaletindeki şeftali ağaçlarında (Rolfs,1909) ve Kanada'nın Güney Ontario eyaletinde yine şeftali ağaçlarında (Gussow,1912) hastalığın görüldüğü bildirilmiştir.

Hastalığın zaman içerisinde kıtada yaygınlığını arttırdığı ve ciddi ağaç kayıplarına neden olduğu rapor edilmiştir. Hildebrand (1947)'in ABD'nin New York eyaletinde yaptığı sörvey çalışmalarında 2-3 yıllık şeftali ağaçlarının %80'den fazlasında *Leucostoma* kanserinin varlığına rastlandığı ve ağaç başına en az 1-2 kanser bulunduğunu bildirmiştir. James ve Davidson (1971) Ontario eyaletinde yaptıkları çalışmada sörvey alanlarında ağaçların %98'inde *Leucostoma* kanseri tespit edilmiş meydana gelen ağaç ölümleri ve dal kurumaları ile yüksek verim kayıplarının ortaya çıktığı belirtilmiştir. Luepschen vd. (1979)'nin ABD'nin Colorado eyaletinde yaptıkları çalışmada şeftali ağaçlarının %65'in de *Leucostoma* Kanserinin varlığını bildirmişlerdir. Spotts vd. (1990)'nin yaptıkları bir şekilde Amerikan'nın Oregon Eyaleti'nin Orta Kolombiya bölgesindeki kiraz ağaçlarının %38 oranında *Leucostoma* Kanseri ya da Bakteriyel Kanser ile bulaşık olduğu rapor edilmiştir. Çalışmanın ilk dört yılında *Leucostoma* Kanseri ortalama %5 oranında bulunurken beşinci yılda bu oran %18'e çıkmış ve *Leucostoma* Kanseri sonucu ölen ağaç oranı ise %16 olarak belirtilmiştir. Pokharel ve Larsen (2009)'ın Colorado'da ki sert çekirdekli meyve alanlarında yaptıkları çalışmada hastalık şiddetinden kaynaklanan kayıpların tahmin ettikleri %15-20'in 2-3 katı daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada 700'den fazla meyve ağacının bulunduğu meyve bahçesinde 3. yılda kiraz ağaçlarının %30'unun kaybedildiği ve *Leucostoma* spp. ile enfekteli olan ağaç sayısının 3 yılda %15'ten %70'e yükseldiğini bildirmişlerdir.

Geçmişte hastalık ABD'nin dışında diğer ülkelerde farklı konukçular üzerinde de görülmüştür (Hayova ve Minter,1998). Arasında Türkiye'nin de bulunduğu birçok

Avrupa ülkesinde hastalığın şeftali, kiraz ve kayısılarda yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (Hayova ve Minter,1998; Biggs ve Grove,2005).

Türkiye’de farklı bölgelerde yapılan sınırlı sayıda çalışma ile *Leucostoma* Kanserinin yaygınlığı ortaya koyulmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalarda Doğu Anadolu Bölgesi’nde Malatya ve Elazığ illerinde kayısılarda *Leucostoma* kanserinin önemli bir hastalık olduğu ve bahçelerin %90’ında ve ağaçların %36’sında *Leucostoma* Kanserinin bulunduğu bildirilmiştir (Kural ve Erdiller, 1995). Yine Doğu Anadolu Bölgesinde yapılan diğer bir çalışmada ise taş çekirdekli meyve türleri üzerinde *Leucostoma* Kanserinin yaygınlık oranı Erzincan’da %38,1 ve Gümüşhane’de %13,3 olarak belirlenmiştir (Gökçe vd. 1998). Ege Bölgesi’nde kiraz, şeftali ve erik ağaçlarında *Leucostoma* kanserinin varlığı bildirilmiştir (Çeliker ve Kural, 2007). Aynı bölgede farklı illerde ki kirazlardan elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının kültürel ve patojenik özelliklerinin belirlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada ise İzmir, Manisa, Afyonkarahisar, Denizli ve Aydın illerinde *Leucostoma* Kanserinin varlığı tespit edilmiştir (Yılmaz, 2013). Tokat ilinde de bulunan kiraz ve vişne bahçelerinden toplanan odun dokusu örneklerinde ölümlere neden olan *Leucostoma* spp. etmeninin yol açtığı Dal Kanseri olabileceğini bildirilmiştir (Çalış ve Yanar, 2015).

2.2. Etmen

Sert çekirdekli meyve ağaçlarında *Leucostoma* kanseri Ascomycota şubesinde, Sordariomycetes sınıfında, Diaporthales takımında, Valsaceae familyasında bulunan birbirine çok benzeyen üç farklı fungus türü tarafından oluşturulmaktadır. Bunlar; *Leucostoma persoonii*, *L. cincta* ve *L. parapersoonii*’dir (Ogawa vd., 1995; Adams vd., 2002).

Leucostoma spp. heterotallik bir fungus olup doğada eşeyli üremesi snırlı olan funguslardandır. Bu nedenle bu türlerden *L. persoonii* ve *L. cincta* eşeyli formları bilinmediği dönemlerde anamorf bir cins olan *Cytospora* içerisinde adlandırılmıştır. Hatta hastalık bu anamorf isminden dolayı Sitospora kanseri adıyla bilinmektedir. *Cytospora* cinsi 60’dan fazla odunsu bitki türünde konukçusu olan ve 500’den fazla anamorf tür içeren taksonomisi epeyce karışık bir cinstir (Gunter, 1934; Grove, 1935; Gvritshvili, 1982). Bunun nedeni *Cytospora*’nın aynı tür içinde bile koşullara göre spor ve vejetatif yapılarının farklılık göstermesidir (Spielman, 1985). Teleomorf Diaporthales takımının taksonomisi 1917 yılında von Höhnelt tarafından

tekrar düzenlenmiş ve çeşitli morfolojik özelliklerde türler barındırmasına rağmen o güne kadar tek cins olarak adlandırılan *Valsa* cinsi *Leucostoma* ve *Valsa* olarak farklı iki cins adı altında ayrılmıştır (Biggs, 1997). Günümüzde *Cytospora* cinsi *Valsa* Fr., *Leucostoma* (Nitschke) Höhn., *Valsella* Fuckel ve *Valse utypella* Höhn. teleomorf formlarını içerir.

Leucostoma persoonii ve *L.cincta* 18. yy sonlarından beri farklı isimler adı altında varlığı bilinen fitopatojen fungus türleridir. Literatür de en çok kullanılan *Cytospora leucostoma* (Pers.) Sacc. 1881 yılında Pier Andreo Saccardo tarafından adlandırılmıştır. Etmenin anamorf formu için 1917 yılında başka bir isim öne sürülmüştür. Franz Xave Rudolf van Höhnel, *Leucocytospora leucostoma* (Pers.) Höhn ismini bu etmen için önerdikten neredeyse 10 yıl sonra etmenin günümüzde kullanılan ismi olan *Leucostoma persoonii* (Nitschke) Höhn ismini teklif etmiştir (Ogawa vd., 1995; Biggs,1997).

Leucostoma cincta türü ilk olarak 1817 yılında Fries tarafından kullanılmış ve *Sphaeria cincta* Fr. olarak isimlendirilmiştir. 1849 yılında tekrar Fries tarafından telemorf form olan *Valsa* cinsi üzerinde çalışmalar devam etmiş ve *Valsa cincta* (Fr) Fries olarak değiştirilmiştir. *Cytospora cincta* Sacc. ismi ise 1884 yılında Saccarda tarafından yapılan çalışmaların sonunda tanımlanmıştır. Höhnel *Leucocytospora cincta* ismini etmenin ikinci anamorf adlandırması olması için öngöründe bulunmuştur. Günümüzde kullanılan *Leucostoma cincta* (Fr.) Höhn ismi Höhnel tarafından isimlendirilmiş ve 1928 yılından beri halen kullanılmaktadır (Ogawa vd., 1995; Biggs, 1997).

Leucostoma Kanseri etmeninin sonucusu olan *Leucostoma parapersoonii* 2002 yılında Adams, G.C, Surve-Iyer, R.S, Lezzoni, A.F. tarafından yaptıkları çalışmada belirlenmiş ve *Leucostoma parapersoonii* adıyla literatüre geçirilmiştir. Bu *Leucostoma* türü sadece Kaliforniya ve Michigan'da ki şeftali bahçelerinden toplanan şeftalilerde tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda *Leucostoma persoonii*'ye benzer özellikleri olduğu gözlemlense de, farklı olan ayırt edici özellikleriyle, ayrı bir tür oluşturduğu belirtilmiştir (Adams vd.,2002).

Willison (1936), kanserli şeftali dokularından izole ettiği izolatlar üzerinde yaptığı çalışmada günümüzde *Leucostoma persoonii* adıyla kullandığımız tür olan *Valsa*

leucostoma'nın havai miseller ve kahverengi renkte koloni ve koyu renkte piknitler oluşturduğu ve olgunlaşan piknitlerden oluşan konidi çıkışlarının cirruslar yoluyla olduğunu bildirmiştir. Günümüzde *L. cincta* olarak bilinen diğer tür olan *Valsa cincta* ise *Valsa leucostoma*'nın koyu renkli misellerine göre tam tersi beyaz ve yeşilimsi kadife formunda miselyal koloniler ile açık renkli piknitler oluşturduğu bildirilmiştir. Bu türün piknitlerinden cirrus çıkışının nadir olduğu belirtilmiştir.

Leucostoma spp. kanserli dallar üzerinde 2-3 hafta içerisinde dışı siyah içi grimsi kahverengi piknidyal stromaya oluşturur (Adams vd., 2005). Bitkinin kabuk dokusu üzerinde toplu iğne başı kadar bir şişkinlik şeklinde oluşan stroma, doku yırtıldığında uçtaki disk kısmı gözle görülür hale gelir. Stroma içerisinde piknitlerin olgunlaşması ile birlikte nemli havalarda içerisinde binlerce konidinin olduğu kızıl yada turuncu renkli cirrus adı veriler uzun kıvrık yapılar görülür. *L. cincta*'nın piknitleri 1-3 mm çapında olup nadiren cirrus oluşturmaktadır. *L. personii* de piknitler *L. cincta*'ya göre daha küçük olup 1 mm ve altında çapa sahiptirler ve olgunlaştıklarında bolca cirrus meydana getirirler. Tüm türlerde konidiler şeffaf ve 5-10 x 1-2 µm boyutlarındadır (Ogawa, 1995).

Peritesyumun oluşması hem canlı hem de ölü bitki dokularında oluşan peritesyal stromanın içinde meydana gelmekte ancak bu oluşum 2-3 yıl gibi oldukça uzun bir zaman alabilmektedir. *L. cincta*'nın peritesyal stromaları yuvarlak kolayca farkedilebilen 1,6-2,8 mm çapında siyah renklidir. Her bir peritesyal stromada 10-30 adet siyah ostiol merkezi bir piknidyum çevresinde halka oluşturacak şekilde oluşurlar. Çap boyutları 200-350 µm olan peritesyumlar; 45-80 x 12 µm boyutlarında yukarı doğru genişleyen askusları barındırırlar. Askosporlar 15-30 x 4-8 µm boyutlarında olup morfolojik yapıları şeffaf, bölmesiz ve kıvrıktır. *L. personii*'nin ise peritesyal stroması yuvarlak ve beyaz olup 2,0-3,0 mm çapında büyüklüğe sahiptir. Oluşum şekli ve stromadaki yeri *L. cincta* ile benzerlik gösterir. *L. personii*'nin askus ve askosporları *L. cincta*'ya göre daha küçüktür. Askusları 35-45 x 7-8 µm boyutlarında yukarı doğru genişleyen aynı zamanda uçlardan basıktır. Askosporlar 10-18 x 2-5 µm boyutlarında olup morfolojik yapısı bölmesiz, kıvrık ve şeffaftır. Bugüne kadar sadece ABD'de rapor edilmiş olan *Leucostoma parapersoonii* türü ise beyazdan turuncu sarıya kadar değişen renklerde çapı 3mm'ye varan yuvarlak peritesyal stromalar oluşturmaktadır. Stroma içerisinde her bir diskte 5-14 adet siyah renkte ostiol barındırır. Peritesyum diğer türlere göre daha büyük olup 500-600 µm çapında küreseldir. Askuslar 36-53x5-7 µm boyutlarında üste doğru genişleyen ve üstten basıktır. Askosporlar 11-13 x 2-1,6 µm boyutlarında,

kıvrık ve şeffaftır. Piknityal stroma 2x1,5 mm çapında disk kısmı gri ya da siyah renkli tüylü görünümlü aynı duvarı paylaşan içerisinde konidilerin oluştuğu birden fazla odacık içerir. Konidiler şeffaf kıvrık 5-7x 1-1,5 µm boyutlarındadır (Ogawa vd., 1995; Adams vd., 2002).

2.3.Epidemiyoloji

Leucostoma spp. konukçuya yaralardan ve ölü dokulardan giriş yapmaktadır. Mekanik yolla yada kış donları sonucu açılmış yaralar etmen için en önemli giriş yerleridir. Şeftalilerde özellikle bir yıllık sürgünler üzerindeki boğum yerlerinde yaprak dökümü sonrasında açılan yaralar da etmen tarafından girişte kullanılmaktadır. Bunun dışında budama yerlerinde oluşan yaralarda yeni enfeksiyonların oluşması için önemlidir. Etmenin konidileri hastalığın epidemiyolojisinde askosporlara göre çok daha önemli görev almaktadır (Bernard ve English, 1976; Tekauz, 1972). Bernard ve English (1976)'in çalışmasına göre ise konidiler hastalığın erken evresinde oluşmaya başlar ve kanser gelişimi süresince devam eder, askospor evresi genellikle ölen dallarda ki ölü dokular üzerinde hastalığın 2. yada 3. yılında oluşur. Yine aynı araştırmacılara göre yağmur sonrası ağaçtan çıkan konidi sayısı yaklaşık olarak 61 milyon iken askospor sayısı 13 milyon civarındadır. Benzer bir şekilde Tekauz (1972) *Leucostoma* spp. piknitinde 10.000 üzerinde konidi oluştuğunu ve hastalığın yayılmasında en önemli inokulum kaynağının konidiler olduğunu bildirmiştir. Konidiler kanserli konukçu dokuları üzerinde genelde ilkbahar ve sonbahar aylarında üretilirler ancak yağışlar devam ederse yıl boyunca konidi çıkışı görülebilir. Konidiler cirrhüs içerisinde olduğu sürece olumsuz kurak hava şartlarına karşı dayanıklıdır ancak cirrhüs su ile dağıldıktan sonra konidiler kurak koşullarda 6 saat sonunda canlılıklarını yitirirler. Konidilerin yayılması yağışlı havalarda sıçrayan yağmur damlaları ile olur. Ancak bu yayılma, aynı ağaçta başka bir dal ya da yakın mesafedeki komşu ağaç ile sınırlı olup kısa mesafeler içerisinde olur. Etmen eşeyli ürettiği durumlarda askospor oluşumu ilkbahar ve sonbaharda gerçekleşir. Peritesyumlardan basınçla fırlatılan askosporlar atmosferde serbest kalırlar ve hava hareketleriyle uzak mesafelere taşınarak konidilere göre daha uzak mesafelerde bulunan ağaçları enfekte edebilirler.

Leucostoma kanseri taş çekirdekli meyve türlerinde yaygın olarak görülen bir hastalıktır. Ancak yaygınlığı ve hastalığın şiddeti yani virülensliği coğrafik ve iklimsel koşullara , konukçunun türüne bağlı olarak değiştiği yapılan çalışmalarda

bildirilmiştir. Willison (1936) Kanada'nın Ontario Eyaleti'nin Niagara Yarımadasında ki şeftalilerde yaptığı çalışmada *L. cincta*'nın *L. persoonii*'ye oranla konukçuda daha fazla bulunduğunu bildirmiştir. Wensley (1964) etmenlerin virülenslikleriyle ilgili yaptığı çalışmada *L. persoonii*'nin 15°C'nin üzerinde ki sıcaklıklarda, *L. cincta* ise 15°C'nin altında ki sıcaklıklarda daha virülens olduğunu raporlamıştır. Bertnard ve English (1976) Kaliforniya'deki eriklerde yaptıkları çalışmada *L. persoonii*, *L. cincta*'ya göre daha yaygın olduğunu ve hastalık gelişim hızının yaz dönemlerinde daha çok olduğunu belirtmiştir. Barakat vd. (1995)'nin ABD'de Washington eyaletinde kirazda *Leucostoma cincta*'nın epidemiyolojisi üzerinde çalışmalarda kiraz dalları üzerinde oluşan *L. cincta* piknitlerinden test edilen 2°C'den 28°C'ye kadar olan sıcaklıklarda konidi çıkışı olmuştur. Konidi çıkışı en fazla 20°C'de saptanmıştır. Kurumuş birçok cırrhus içerisinde yaz aylarında çok sayıda konidi canlı kalabilmiştir. Askosporlar test edilen 10°C'den 28°C'ye kadar olan sıcaklıklarda çimlenmiştir. Konidiler ise 5°C'den 28°C'ye kadar olan sıcaklıklarda çimlenmiş ancak çimlenme için gerekli inkübasyon süresi sıcaklığa göre değişmiştir.

2.4. *Leucostoma* Kanseri ile Mücadele

Leucostoma Kanseri kontrolünde etkili bir mücadele yönteminin olmaması nedeniyle stratejik olarak entegre mücadele ön plana çıkmaktadır. Hastalık etmeni bir yara paraziti olduğundan daha çok yara yönetimine, kültürel önlemlere ve optimum ağaç gelişim koşullarının yaratılmasına yönelik uygulamalar önerilmektedir (Ogawa vd., 1995; Biggs ve Grove, 2005, Anonim, 2008). Hastalıktan ari fidan kullanımı, genç ağaçların strese maruz bırakılmaması, ağaçların geniş taç oluşturacak şekilde budama ile terbiye edilmesi, hasta ve ölmüş dalların budanarak uzaklaştırılması hastalığın kontrolüne yardım eden kültürel uygulamalar olarak kabul edilmektedir. Bunun haricinde budama sonrası açılan yaraların hijyenine yönelik uygulamalar, don zararının ve güneş yanıklığını minimuma indirmesi, odun dokusunda zararlı böcekler ile mücadele, aşırı azot kullanımında sakınmak gibi yara yönetimine yönelik uygulamaların faydalı olduğu bildirilmektedir. Hastalığın kimyasal mücadelesi oldukça sınırlı olup hastalıklı dokuların sağlıklı dokuyu da içerecek şekilde kesilip imha edilmesi ve sonrasında yara yerinin dezenfekte edilerek koruyucu fungusit uygulaması önerilmektedir. Ancak bu yöntem kanserin çok ilerlediği durumlarda sonuç vermemektedir.

Geçmişte *Leucostoma* Kanserinin mücadelesinde alternatif yöntem olarak hipovirulent ırkların kullanıldığı biyolojik mücadele de gündeme gelmiştir. Daha önce yapılmış olan bazı çalışmalarda *L. personii* populasyonları içerisinde hypovirulent izolatların varlığına rastlanmıştır (Hammar vd., 1989; Jensen vd., 1995; Adams vd., 1990). Hammar vd., (1989)' sitoplazmasında dsRNA tespit edilmiş bir *L. personii* izolatının açık renkli koloniye sahip olduğu, daha az yoğunlukta misel geliştirdiği ve piknit oluşturamadığını bildirmiştir. Jensen ve Adams (1995) ABD'nin Kuzey Carolina eyaletinde ki şeftali bahçelerinden elde ettikleri hipovirulent *L. personii* izolatının sitoplazmasından dsRNA izole etmişler ve bu izolatın kanser oluşumunda hipovirulent özelliğini koruduğunu tespit etmişlerdir. Ancak her iki çalışmada da hastalığın biyolojik mücadelesinde hipovirulent izolatların kullanımına yönelik bir aşamayı gerçekleştirememişlerdir (Hammar vd., 1989; Jensen vd., 1995). Snyder vd. (1989) nin ABD de yaptıkları bir çalışmada anormal morfolojik yapı gösteren dsRNA enfekteli bir *L. personii* izolatının hücre yapısı elektron mikroskopunda incelenmesi sonucu DsRNA içeren izolatın kapsitle çevrelenmiş virüs benzeri partiküller barındırdığı ve fungus mitokondirilerinde deformasyon, hücre içi vesikül oluşumunda artma ve organellerde bir araya toplanma gözlemlenmiştir. Ülkemizde Ege Bölgesinde kiraz ağaçlarından elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarında dsRNA varlığı araştırılmış ilk ekstraksiyon işlemlerinde dsRNA varlığı saptanmıştır ancak aynı izolatlarla tekrar yapılan ikinci testlerde pozitif sonuçlar alınamamıştır (Töngüşlü ve Açıkgöz, 2015). Ardından aynı bölgeden elde edilmiş daha fazla sayıda *Leucostoma* spp. izolatında dsRNA taraması yapılmış ve 5 adet izolatın dsRNA ile enfekteli olduğu bulunmuştur (Hosseinizadeh vd., 2017). Ülkemizde *Leucostoma* spp.'de hypovirülenslik çalışmalarına devam edilmesi planlanmaktadır. Şüphesiz bu planların oluşturulmasında kestane kanserini ile yapılan hipovirülenslik temelli biyolojik mücadele çalışmalarından elde edilen başarılı sonuçlar önemli yer tutmaktadır. Bilindiği üzere CHV1 virüsünün neden olduğu hipovirülenslik ile ülkemiz dahil Avrupa'da bir çok ülkede Kestane Kanseri başarılı bir şekilde kontrol edilebilmektedir (Choi ve Nuss, 1992; Erincik vd., 2018).

Hipovirulent ırkların sitoplazmasında ki dsRNA virüsleri bir fungal bireyden diğerine sadece "anastomosis" yoluyla yayılabilmektedir. Ancak funguslarda anastomosis oluşumu vejetatif olarak uyumlu olan bireyler arasında gerçekleşmektedir (Leslie, 1993; Liu ve Milgroom, 1994). Vejetatif yönden uyumlu bireyler, hif uçlarının birbirlerine temas ettikleri noktadan tutunurlar. Ardından

temas noktasında hidrolitik enzimler yoluyla hücre duvarı parçalanır (Glass vd., 2000). Daha sonra iki hif arasında yeni bir duvar ve hücre zarı oluşumu meydana gelmektedir. Bu durumda kaynaşma olmakta ve ardından sitoplazmik alışveriş gerçekleşmektedir. Sitoplazmik alışveriş sırasında mikovirüs, plazmid ve transposon gibi hücre içi zararlı elementlerin de geçiş yaptığı bilinmektedir. Vejetatif uyumsuzluğun nedeni tam olarak anlaşılmasa da hücre içi bu zararlı elementlerin engellenmesine yönelik bir mekanizma olabileceği yönünde görüşlerde bulunmaktadır. Vejetatif uyumsuzluğun genetik mekanizması üzerine çalışmalar bazı fungus türleri üzerinde yapılmıştır. Funguslarda vejetatif uyumsuzluğu yöneten tek ya da çoklu *het* ya da *vic* lokus bölgeleri bulunmaktadır. Yapılan genetik çalışmalarda bazı funguslarda *het* ya da *vic* lokus bölgeleri çalışılmıştır. Örneğin *Nerosporacrassa*'da 11 lokus, *Podospora anserina*'da 9, *Aspergillus nidulans* 8 adet, *Cryphonectria parasitica* da 6 (ya da 7) adet lokusun varlığı bildirilmiştir (Glass vd., 2000). Ayrıca her bir lokus birden fazla allele sahip olabilmekte allel farklılıklarına bağlı olarak da uyumsuzluk meydana gelebilmektedir. Bu durumda vc grup grubu çeşitliliği daha yüksek sayılara çıkmaktadır. Bir çok fungusta vc grupları birden fazla sayıda gen bölgesi ile yönetilmekte ve bu genlerin farklı kombinasyonları farklı vc grupların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bir fungus türünde mevcut vc grup sayısı gen ve bu bölgelerdeki allel sayılarına bağlı olarak değişmektedir (Saupe vd. 2000). Örneğin Cortesi and Milgroom (1998)' a göre kestane kanseri etmeni *C. parasitica* da vejetatif uyum 2 alleli 6 *vic* geni tarafından yönetilmekte ve bu alleli 6 genin kombinasyonu 64 farklı vc grubun ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bir çok fungus türünde yapılan çalışmalar ile farklı popülasyonlarında vc grupları karakterize edilmiş ve tanımlanarak adlandırılmıştır ancak vejetatif uyumsuzluk (*vic*) geni bölgeleri ile ilgili çalışmalar bir kaç fungus türü ile sınırlı kalmıştır. Kestane kanserinin biyolojik mücadelesinde vc grup çeşitliliği hipovirülensliğin yayılmasında son derece önemli rol oynamaktadır. Vc grup sayısının düşük olduğu yerlerde hipovirülenslik daha kolay yayılmakta aksi durumda anastomosis olasılığı düştüğü için biyolojik mücadele başarısız olmaktadır (Anagnostakis,1986; Liu ve Milgroom,1994).

2.5. *Leucostoma* spp. ve Vejetatif Uyum

Geçmişte *Lecostoma* türlerinin vejetatif uyum grupları üzerinde çok az sayıda çalışma yürütülmüştür. Dünyada *Leucostoma* spp.'de vejetatif uyum grupları üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Adams vd., (1990) ABD'nin Michigan eyaletinde iki farklı şeftali bahçesinden toplanan *L. personii* izolatlarında hypovirülensliğin yayılmasında önemli olan vc grubu çeşitliliğini belirlemişlerdir. Çalışmada birinci bahçeden 24 izolat arasında 13 farklı vc grubu, ikinci bahçede ise 65 izolat arasında 23 farklı vc grubu bulunmuşlardır. Elde edilen bu sonuçlar ile *L. personii* de vc grup çeşitliliğinin oldukça yüksek olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca aynı çalışmada tek askospor izolatlarında vc çeşitliliği çok daha yüksek olarak saptanmış ve patojenin eşeyli üremesinin vc grup sayısını arttıracığı yönünde bilgilendirme yapılmıştır.

Wang vd., (1998) tarafından yapılan bir çalışmada Michigan eyaletinde şeftali alanlarından elde ettikleri *L. personii* izolatları arasında yapılan vc grup belirleme testleri sonucunda %95 oranında vejetatif uyumsuzluk bulunmuştur. Çalışma sonucunda Michigan eyaletinde *Leucostoma* spp.'nin genetik çeşitliliğinin yüksek olduğu ve bu durumda patojen fungusun bölgede eşeyli üremesiyle ilgili olabileceği belirtilmiştir.

Proffer ve Jones (1989) ABD'de Michigan eyaletinde yaptıkları bir çalışmada elmadan topladıkları *L. cincta* izolatlarında vc grup çeşitliliğini araştırmışlardır. Kırk sekiz farklı ağaçtan topladıkları 72 izolat arasında 21 vc grubu saptamışlardır. Bahçe başına en az 5 vc grubunun olduğunu ve farklı bahçelerden elde edilen izolatların farklı vc gruplarını oluşturduğunu belirlemişlerdir.

Leucostoma spp. ile yakın olan diğer Diaporthales üyeleri üzerinde yapılan çalışmalarda da bu grup üyelerinde vc grup çeşitliliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Smit vd., (1997)'i *Diaporthe ambigua*' da bir bahçeden elde edilen 340 adet tek askospordan elde edilen izolatlar arasında 189 farklı vc grup belirlenmiştir. Proffer ve Hart (1988) tarafından ABD de Michigan ve Colorado da 121 mavi ladin ağacından elde ettikleri 487 *Leucocytophora kunzei* izolatı arasında 36 farklı vc grubunun varlığını bildirmişlerdir. Meijer vd. (1994)'nin yaptıkları bir çalışmada ise 34 farklı lokasyondan elde ettikleri 134 *Phomopsis subordinaria* izolatı arasında 89 vc grup saptamışlardır. Bu konuda çalışan araştırmacılar,

Diaporthales takımında görülen bu durumun çoğunlukla eşeyli üreme ile *vic* genlerinin farklı rekombinasyonundan kaynaklanmış olabileceğini öne sürmektedirler. Ancak bu konuda kesin kaniya bu fungusların biyolojilerinin ve genetik yapılarının daha kapsamlı çalışılması ile ulaşılabacaktır.



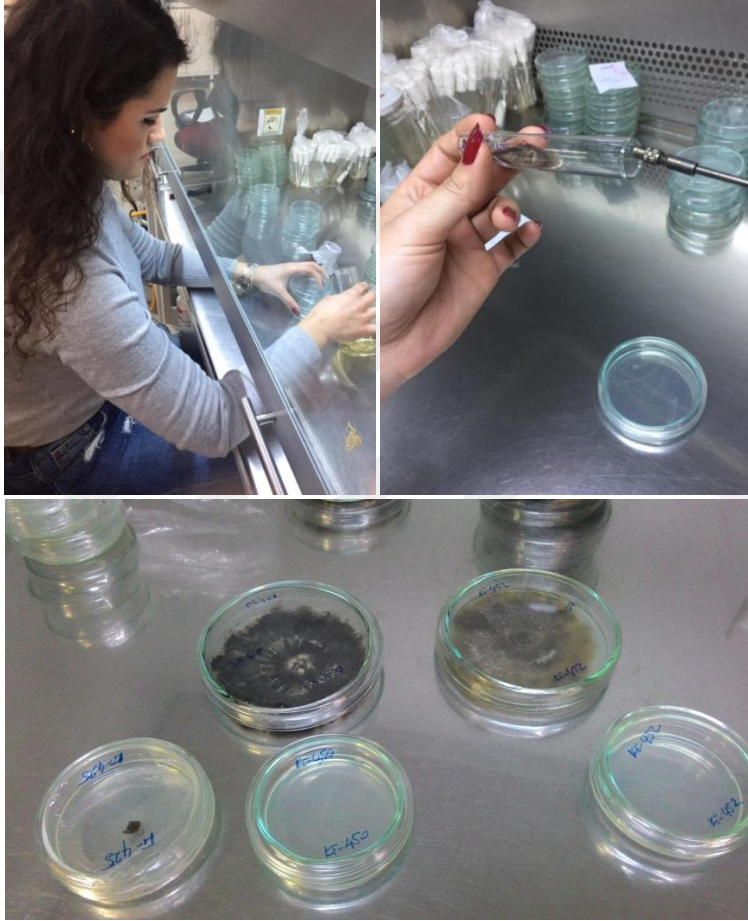
3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Materyal

Daha önce Kurumumuzda tamamlanan bir yüksek lisans çalışmasında (Yılmaz, 2013) Ege Bölgesinin İzmir, Afyonkarahisar, Denizli, Manisa ve Aydın illerinden kiraz üretim alanına sahip ilçelerinden toplanan toplam 503 adet izolatin olduğu setten 80 adet *Leucostoma* spp. izolatu çalışmada kullanılmıştır. Çalışmada vejetatif uyum grupları belirleme testlerinde besi ortamı olarak oatmeal agar kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji laboratuvarında +4°C'de cam tüpler içerisinde eğik agar ortamında muhafaza edilen *Leucostoma* spp. izolatlari patates dekstrozu agar (PDA) ortamında gençleştirmeye alınmışlardır (Şekil 3.1). İzolatlardan bazıları *Penicillium* spp. ve diğer bazı funguslar ile bulaşık gelişmişlerdir. Yapılan saflaştırma işlemlerinin ardından (Şekil 3.2) bazı izolatlari saf kültürleri elde edilirken izolatlari bir kısmı bulaşık funguslardan arındırılmayıp çalışma dışında bırakılmışlardır. Saflaştırma işlemlerinin ardından elde edilen 80 adet *Leucostoma* spp. izolatu ile bilgiler Çizelge 3.1'de verilmiştir. Çalışmada Denizli ilinden 18 *Leucostoma* izolatu, İzmir ilinden 20, Aydın ilinden 15, Afyonkarahisar ilinden 13 ve Manisa ilinden 11 izolat yer almıştır.



Şekil 3.1. *Leucostoma spp.* izolatlarının in vitro koşullarda PDA üzerinde gençleştirme çalışmaları

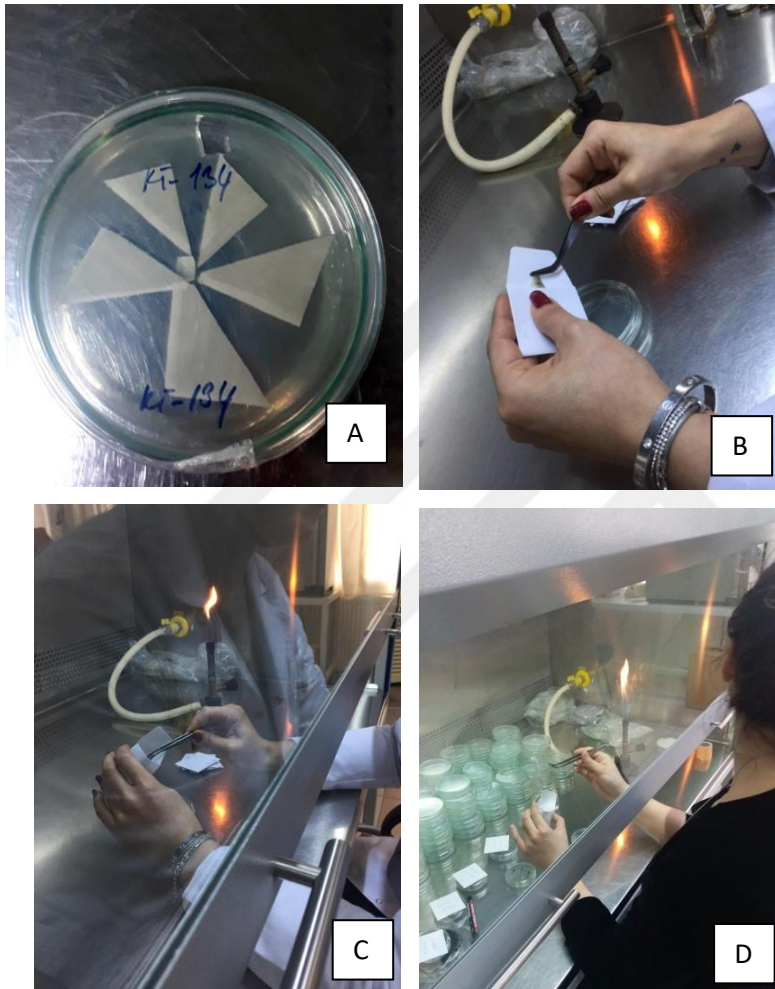


Şekil 3.2. *Leucostoma* spp. izolatlarının in vitro koşullarda stok kültürlerden alınan parçalarla saflaştırma işlemleri. Stok kültürlerden misel parçalarının alınması (A, B), Bir *Leucostoma* spp. izolatının PDA 5 günlük (C) ve 21 günlük (D) koloni görünümü

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılmış olan *Leucostoma* spp. izolatları ve illere göre dağılımı

İller	İzolatlar
Afyonkarahisar	Ki-460, Ki-468, Ki-457, Ki-454, Ki-452 Ki-443, Ki-444, Ki-483, Ki-450, Ki-446 Ki-455, Ki-475, Ki-425
Aydın	Ki-249, Ki-778, Ki-211, Ki-212B, Ki-777, Ki-212C, Ki-266, Ki-229, Ki-245, Ki-235, Ki-219, Ki-239, Ki-214, Ki-271, Ki-250
Denizli	Ki-85, Ki-87, Ki-90, Ki-112B, Ki-14, Ki-91, Ki-119, Ki-5, Ki-121, Ki-61, Ki-110, Ki-110C, Ki-110B, Ki-42, Ki-44, Ki- 49A, Ki-112, Ki-39
İzmir	Ki-801, Ki-809, Ki-807, Ki-296, Ki-282, Ki-284, Ki-391, Ki-Piknit1, Ki-279, Ki-291, Ki-283, Ki-293, Ki-134, Ki-159, Ki-409, Ki-405, Ki-156, Ki-157, Ki-164, Ki-401
Manisa	Ki-335, Ki-325, Ki-342, Ki-322, Ki-384, Ki-358, Ki-387, Ki-346, Ki-173, Ki-176, Ki-337

Saflaştırma işlemlerinin ardından çalışmada kullanılacak *Leucostoma* spp. izolatlarının filtre kağıdında yeni stok kültürleri oluşturulmuştur (Fong vd., 2000). Bunun için ilk olarak PDA ortamı üzerine 2x2x1 cm boyutlarında üçgen şeklinde kesilmiş steril filtre kağıtları yerleştirilmiş ve ardından ortamlar *Leucostoma* spp. izolatı ile inokule edilmiştir. Daha sonra izolatlar sıcaklığı 24°C ayarlanmış inkübatörde gelişmeye bırakılmış ve filtre kağıtları tamamen fungus miselleri ile kolonize oluncaya kadar beklenmiştir. Kolonizasyonun tamamlanan izolatların filtre kağıtları toplanarak steril petriker içerisine yerleştirilmiş ve sonrasında petriker 24°C sıcaklığa ayarlanmış inkübatör içerisinde kurumaya alınmıştır. Toplam 10 günlük bir kurutma sürecinin ardından filtre kağıtları steril zarf içerisine alınarak -20 C de saklamaya alınmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *Leucostoma* spp. izolatlarının stok kültürlerinin oluşturulması: A)PDA da filtre kağıdına misel kolonizasyonu; B, C, D) Filtre kağıtlarında gelişen fungusun steril zarf içine alınması.

3.2.1. İzolatlar Arasında Vejetatif Uyum (VC) Gruplarının Belirlenmesi

3.2.1.1. Oat meal agar ortamının hazırlanması

Çizelge 3.1.'de belirtilen 80 *Leucostoma* spp. izolatının vejetatif uyum grup belirleme testleri daha önce literatür bilgilerinin yanısıra ön çalışmalarımızdan elde edilen bulgular gözönünde bulundurularak oatmeal agar ortamında gerçekleştirilmiştir (Schnaad vd., 2001). Oatmeal agar ortamının hazırlanmasında 20 gr yulaf 1 lt suda 20 dakika kaynatılmış ve ardından sıvı kısım 2 katlı tülbent bezinden geçirilmiştir. Süzme işleminin ardından elde edilen sıvı kısım 1 litreye tamamlandıktan sonra 15 gr /lt agar ilave edilmiş ve ardından 121°C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası ortamın 50° C ye kadar soğuması beklenmiş ve ardından petri başına 15 ml olacak şekilde 9 cm'lik cam petrilere dökülmüştür. Petrilere iki gün steril kabinde bekletilerek ortam yüzeyinin kuruması sağlanmış böylece petrilere denemede kullanılmaya hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.4.)

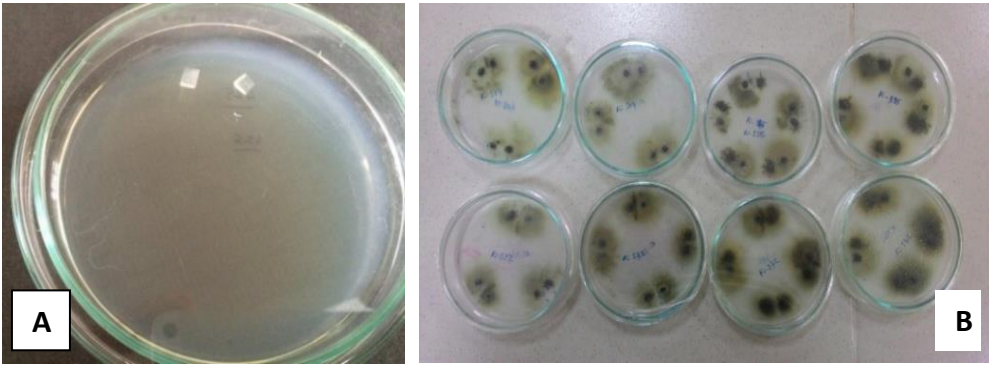


Şekil 3.4. Vejetatif uyum testlerinde kullanılmış oatmeal besi ortamının hazırlanması işlemleri.

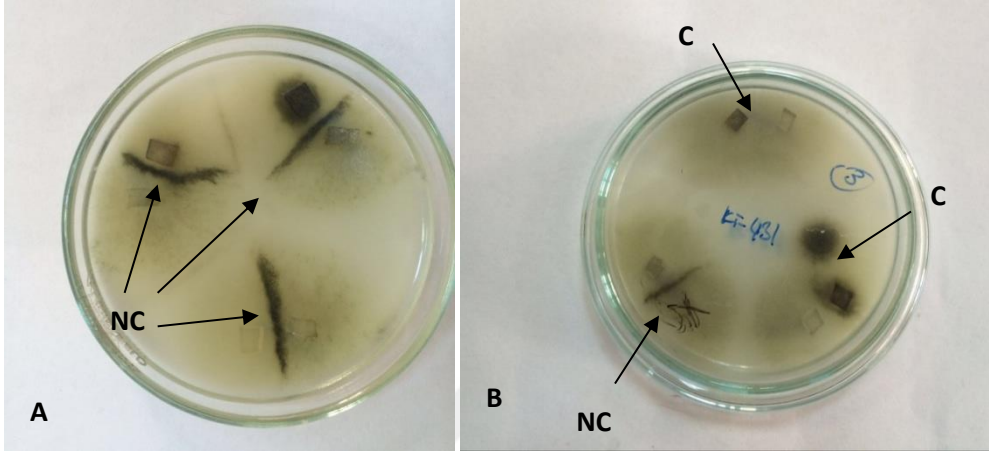
3.2.1.2. Vejetatif Uyum Grubu Belirleme Testleri

Leucostoma spp. izolatlarının vejetatif uyum grubu belirleme testleri, oatmeal agar ortamı üzerinde birbirleri ile eşleştirilmesi sonucu izolat kolonileri aralarında gelişen baraj oluşumuna göre belirlenmiştir. Denemede içerisinde oatmeal agar ortamı bulunan 9 cm'lik petri kâşları kullanılmıştır. Eşleştirme işleminde 3-4 günlük *Leucostoma* spp. izolatlarının genç kısımlarından alınan 3x3 mm boyutlarındaki miselyal agar parçaları kullanılmıştır. İzolata ait agar parçası petri kabının kenar kısmından 1 cm iç kısmına ve eşleştirilecek diğer izolatın agar parçası ise 4 mm lik bir mesafe ile yanına yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Bir petri kabında maksimum 6 eşleştirme yapılmıştır. Eşleştirme petri kâşları 14 gün boyunca sıcaklığı 24°C'ye ayarlanmış inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda eşleştirilen koloniler arasında barajın oluşup oluşmadığına göre değerlendirmeler yapılmıştır (Şekil 3.5). İki koloni arasında baraj oluşumu olmayıp iki koloninin birleştiği durumda izolatlar aynı vejetatif uyum grubunda eğer iki koloni birleşmeyip aralarında çizgi şeklinde baraj oluşumu varsa iki izolatın farklı vejetatif uyum gruplarında oldukları kabul edilmiştir (Şekil 3.6).

Eşleştirmelerde her bir ile ait izolatlar önce kendi aralarında eşleştirilmiştir. Daha sonra her bir ilden temsili olarak seçilen vejetatif uyum grupları arasında eşleştirmelere devam edilmiştir.



Şekil 3.5. Vejetatif uyum testlerinde oat meal agarda *Leucostoma* spp. izolatlarının eşleştirilmesi. A) Oatmeal agar ortamında yan yana yerleştirilmiş izolatlar. B) Besi ortamında aynı petri kabına maksimum 6 adet izolat gelecek şekilde eşleştirilmeler.



Şekil 3.6. Vejetatif uyum testlerinde eşleştirilen izolatlar arasındaki reaksiyonlar: A) vejetatif yönden uyumsuz olan *Leucostoma* spp. izolat çiftleri arasında baraj oluşumu (NC: uyumsuz ilişki); B) Vejetatif uyum sonucu kolonileri birleşmiş *Leucostoma* spp. izolat çiftleri (C:uyumlu ilişki)

3.2.1.3. Virülenslik testleri

Her bir ilden en fazla izolat sayısına sahip iki VC grubundan seçilen *Leucostoma* spp. izolatları ile virülenslik testleri yürütülmüştür. Buna göre Denizli ilinden 6 izolatı olan Grup I'den, 2 izolatı olan Grup II'den, Aydın ilinden dört izolatı olan Grup I'den, 3 izolatı olan Grup II'den, İzmir ilinden 4 izolatı olan Grup I'den 3 izolatı olan Grup II'den, Manisa ilinden 3 izolatı olan Grup I'den 3 izolatı olan Grup II'den ve Afyon ilinden 4 izolatı olan Grup I'den ve iki izolatı olan Grup II'den birer izolat rastgele seçilmiştir. Ayrıca Denizli ilinden aynı vejetatif uyum grubunu temsil edecek şekilde birden fazla *Leucostoma* spp. izolatı da vc grup içi virülenslik farklılığını ortaya koymak amacıyla virülenslik testlerine tabi tutulmuştur. Seçilen izolatlar Çizelge 3.2'de gösterilmektedir. Virülenslik testleri, etmene karşı duyarlı olduğu bilinen Napolyon (0900 Ziraat) kiraz çeşidine ait kesilmiş kiraz dalları üzerinde iklim odası koşullarında yürütülmüştür (Scorza ve Pusey, 1984). Denemede 3-4 cm çapında kalınlığa sahip 20 cm uzunluğunda 1 yıllık sürgünler kullanılmıştır. Dallar ilk olarak %2'lik sodyum hipoklorit içerisinde 1,5 dakika bekletilerek yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuş ve ardında steril saf su ile durulandıktan sonra steril kağıtlar arasında kurutulmuşlardır. Kabuk dokusu üzerinde mantar delici ile 6 mm çapında yaralar açılmış ve yara yerinin üzerine *Leucostoma* izolatlarının PDA da geliştirilmiş 4 günlük kolonilerinden alınan bir disk, misel kısmı alta gelecek şekilde yerleştirilerek dallar inoküle edilmiştir. Kontrol dallarına sadece steril agarlı disk

yerleştirilmiştir. İnokulasyon noktası şerit parafilm ile sarıldıktan sonra, su kaybını önlemek amacıyla dalların tepe kısımları erimiş haldeki parafine daldırılarak yara yerinin kapanması sağlanmıştır. Dallar dip kısımlarından içerisinde nemlendirilmiş perlit bulunan saksılara batırılmış ve üzerlerine nemlendirilmiş şeffaf plastik torba geçirilerek kapatılmıştır (Şekil 3.7.). Saksılar koşulları 24°C ve 14 saat ışık 10 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış iklim odasına yerleştirilerek inkübasyona bırakılmışlardır. Her bir izolat için dört kesilmiş dal kullanılmış ve her bir kesilmiş dal bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. İnokulasyonun 7. gününde saksıların üzerindeki plastik poşetler kaldırılmış ve inkübasyona üç hafta daha devam edilmiştir. Hastalık değerlendirmelerinde inokulasyon yeri ve kanserli alanın kabuk dokusu bistüri ile kazındıktan sonra kararan bölgenin uzunluğu cetvelle ölçülmüştür. İzolatların oluşturdukları kanser boyutları göz önünde bulundurularak izolatlar birbirleri ile karşılaştırılmış ve saldırganlık dereceleri ortaya konmuştur.

Virülenslik testinde elde edilen lezyon büyüklüklerine ait veriler SPSS programında tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve $p < 0,05$ göre ortalama değerler arasındaki farklar önemli bulunmuştur. Her bir izolata ait ortalama lezyon uzunluğu Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre gruplandırılmıştır (SPSS, 2009).

Çizelge 3.2 Virülenslik testlerinde kullanılmış farklı vejetatif uyum gruplarından seçilmiş *Leucostoma* spp. izolatları.

İzolat	İl	Izolat	İl
İller Arası		İl İçi	
Ki-212C	Aydın	Ki-112	Denizli
Ki-401	İzmir	Ki-42	Denizli
Ki-475	Afyonkarahisar	Ki-61	Denizli
Ki-110B	Denizli	Ki-110B	Denizli
Ki-173	Manisa	Ki-85	Denizli
Ki-44	Denizli	Ki-90	Denizli
Ki-157	İzmir	Ki-49A	Denizli
Ki-457	Afyonkarahisar	Ki-44	Denizli
Ki-358	Manisa	Ki-119	Denizli
Ki-239	Aydın	Ki-5	Denizli
		Ki-14	Denizli



Şekil 3.7. Farklı vejetatif uyum grublarında yer alan izolatların virülensliklerinin değerlendirildiği kesik dal testi.

4.BULGULAR

Denizli ilinde test edilen toplam 13 adet *Leucostoma* izolatu oat meal agarda birbiri ile eşleştirilerek yanyana geliştirilmiş ve eşleşen kolonilerden aralarında baraj oluşturmayanlar aynı vejetatif uyum grubunda baraj oluşturmayanlar ise farklı vejetatif uyum grubunda kabul edilmiştir (Şekil 4.1, Çizelge 4.2). Test sonucunda izolatlar 6 farklı vejetatif uyum grubuna ayrılmıştır. Altı izolat (Ki-42, Ki-44, Ki-5, Ki-85, Ki-14 ve Ki-119) aralarında uyum göstermiş ve oluşturdukları grup D01 olarak adlandırılmıştır (Çizelge 4.1). Aralarında uyum bulunan Ki-110 ve Ki-110B izolatları D02 ve Ki-90 ile Ki-112-B ise D03 grubunu oluşturmuştur. Geri kalan 3 izolat (Ki-49A, Ki-112C ve Ki-61) hiçbir izolat ile vejetatif olarak uyum sağlamayarak her biri ayrı grup (D04, D05 ve D06) oluşturmuştur.

Çizelge4.1. Denizli ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı.

GRUP	İZOLAT
D01*	Ki-42, Ki-44, Ki-5, Ki-85, Ki-14, Ki-119
D02	Ki-110, Ki-110B
D03	Ki-90, Ki-112B
D04	Ki-49A
D05	Ki-112C
D06	Ki-61

*D01: Denizli iline ait vc gruplarının isimlendirmesi

Çizelge 4.2. Denizli ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları.

	Ki-14	Ki-44	Ki-5	Ki-85	Ki-14	Ki-119	Ki-110	Ki-110B	Ki-90	Ki-112B	Ki-49A	Ki-112	Ki-61
Ki-14		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Ki-44			-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Ki-5				-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Ki-85					-	-	+	+	+	+	+	+	+
Ki-14						-	+	+	+	+	+	+	+
Ki-119							+	+	+	+	+	+	+
Ki-110								-	+	+	+	+	+
Ki-110B									+	+	+	+	+
Ki-90										-	+	+	+
Ki-112B											+	+	+
Ki-49A												+	+
Ki-112													+
Ki-61													

- Koloniler arasında baraj yok, vejetatif yönden uyumlu

+ Koloniler arasında baraj var, vejetatif yönden uyumsuz

Vejetatif uyum testinde Aydın ilinden toplam 12 adet *Leucostoma* spp. izolatu vejetatif uyum yönünden 6 gruba ayrılmıştır (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4). Dört izolat (Ki-211, Ki-212B, Ki-235 ve Ki-239) aralarında uyum göstererek Grup A01'de, 3 izolat (Ki-214, Ki-212C, Ki-245), A02'de ve 2 izolat (Ki-271, Ki-266) A03'de yer almıştır. Geri kalan 3 izolat (Ki-229, Ki-250 ve Ki-219) hiçbir izolat ile uyum sağlamayarak her biri ayrı vejetatif uyum grubu (A04, A05 ve A06) oluşturmuştur.

Çizelge 4.3. Aydın ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum gruplar yönünden dağılımı

GRUP	İZOLAT
A01*	Ki-211, Ki-212B, Ki-235, Ki-239
A02	Ki-214, Ki-212C, Ki-245
A03	Ki-271, Ki-266
A04	Ki-229
A05	Ki-250
A06	Ki-219

*A01: Aydın iline ait ve grubu isimlendirmesi

Çizelge 4.4. Aydın ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları

	Ki-211	Ki-212B	Ki-235	Ki-239	Ki-214	Ki-212C	Ki-245	Ki-271	Ki-266	Ki-229	Ki-250	Ki-219
Ki-211		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ki-212B			-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ki-235				-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ki-239					+	+	+	+	+	+	+	+
Ki-214						-	-	+	+	+	+	+
Ki-212C							-	+	+	+	+	+
Ki-245								+	+	+	+	+
Ki-271									-	+	+	+
Ki-266										-	+	+
Ki-229											+	+
Ki-250												+
Ki-219												

- Koloniler arasında baraj yok, vejetatif yönden uyumlu
 + Koloniler arasında baraj var, vejetatif yönden uyumsuz

İzmir ilinden 12 adet *Leucostoma* spp. izolatu vejetatif uyum yönünden 6 gruba ayrılmıştır (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6). Dört izolat (Ki-Pi1, Ki-157, Ki-291, Ki-164) aralarında uyum göstererek Grup I01'de, 3 izolat (Ki-156, Ki-401, Ki-293) I02'de ve 2 izolat (Ki-284, Ki-134) I03'de yer almıştır. Geri kalan 3 izolat (Ki-279, Ki-283 ve Ki-282) hiç bir izolat ile uyum sağlamayarak her biri ayrı vc grubu (I04, I05 ve I06) oluşturmuştur.

Çizelge 4.5. İzmir ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı.

GRUP	İZOLAT
I01*	Ki-Pi1, Ki-157, Ki-291, Ki-164
I02	Ki-156, Ki-401, Ki-293
I03	Ki-284, Ki-134
I04	Ki-279
I05	Ki-283
I06	Ki-282

*I01: İzmir iline ait VCG isimlendirmesi

Çizelge 4.6. İzmir ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları

	Ki-Piknit 1	Ki-157	Ki-291	Ki-164	Ki-156	Ki-401	Ki-293	Ki-284	Ki-134	Ki-279	Ki-283	Ki-282
Ki-Piknit 1		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ki-157			-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ki-291				-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ki-164					+	+	+	+	+	+	+	+
Ki-156						-	-	+	+	+	+	+
Ki-401							-	+	+	+	+	+
Ki-293								+	+	+	+	+
Ki-284									-	+	+	+
Ki-134										+	+	+
Ki-279											+	+
Ki-283												+
Ki-282												

- Koloniler arasında baraj yok, vejetatif yönden uyumlu

+ Koloniler arasında baraj var, vejetatif yönden uyumsuz

Manisa ilinde 7 adet *Leucostoma* spp. izolatu vejetatif uyum yönünden 3 gruba ayrılmıştır Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8). Üç izolat (Ki-384, Ki-188, Ki-358) aralarında uyum göstererek Grup M01’de, 3 izolat (Ki-173, Ki-176, Ki-346) M02’de ve 1 izolat (Ki-387) M03’de yer almıştır.

Çizelge 4.7. Manisa ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı.

GRUP	İZOLAT
M01*	Ki-384, Ki-188, Ki-358
M02	Ki-173, Ki-176, Ki-346
M03	Ki-387

*M01: Manisa iline ait VCG isimlendirmesi

Çizelge 4.8. Manisa ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları

	Ki-384	Ki-188	Ki-358	Ki-173	Ki-176	Ki-346	Ki-387
Ki-384		-	-	+	+	+	+
Ki-188			-	+	+	+	+
Ki-358				+	+	+	+
Ki-173					-	-	+
Ki-176						-	+
Ki-346							+
Ki-387							

-Koloniler arasında baraj yok, vejetatif yönden uyumlu.

+Koloniler arasında baraj var, vejetatif yönden uyumsuz

Afyonkarahisar ilinden 11 adet *Leucostoma* spp. izolatu vejetatif uyum yönünden 6 gruba ayrılmıştır (Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10). Dört izolat (Ki-444, Ki-450, Ki-475, Ki-468) aralarında uyum göstererek Grup AF01'de, 2 izolat (Ki-457, Ki-443) AF02'de ve 2 izolat (Ki-446, Ki-425) AF03'de yer almıştır. Geri kalan 3 izolat (Ki-460, Ki-455 ve Ki-463) hiç bir izolat ile uyum sağlamayarak her biri ayrı ve grubu (AF04, AF05 ve AF06) oluşturmuştur.

Çizelge 4.9.Afyonkarahisar ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum grupları yönünden dağılımı.

GRUP	İZOLAT
AF01*	Ki-444, Ki-450, Ki-475, Ki-468
AF02	Ki-457, Ki-443
AF03	Ki-446, Ki-425
AF04	Ki-460
AF05	Ki-455
AF06	Ki-463

*AF01: Afyonkarahisar iline ait VCG isimlendirmesi

Çizelge 4.10. Afyonkarahisar ilinden elde edilen *Leucostoma* spp. izolatlarının vejetatif uyum testi eşleştirmeleri sonucunda verdikleri vejetatif uyum reaksiyonları

	Ki-444	Ki-450	Ki-475	Ki-468	Ki-457	Ki-443	Ki-446	Ki-425	Ki-460	Ki-455	Ki-463
Ki-444		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Ki-450			-	-	+	+	+	+	+	+	+
Ki-475				-	+	+	+	+	+	+	+
Ki-468					+	+	+	+	+	+	+
Ki-457						-	+	+	+	+	+
Ki-443							+	+	+	+	+
Ki-446								-	+	+	+
Ki-425									+	+	+
Ki-460										+	+
Ki-455											+
Ki-463											

-Koloniler arasında baraj yok, vejetatif yönden uyumlu
 +Koloniler arasında baraj var, vejetatif yönden uyumsuz

Farklı illeri temsilen bazı vc gruplarından seçilmiş izolatların vejetatif uyum testlerinde aralarında eşleştirilmeleri sonucu beş farklı vc grubu ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.11). Aydın ili ve İzmir ilinden seçilen iki izolat haricinde diğer illerden seçilen izolatların hiçbirisi birbirisi ile uyumlu bulunmamıştır.

Çizelge 4.11. Farklı illeri temsilen seçilmiş *Leucostoma* spp. izolatları arasında vejetatif uyum grupları

GRUP	İZOLAT
İA01*	Ki-156(<i>İzmir</i>), Ki-239(<i>Aydın</i>)
İA02	Ki-450(<i>Afyon</i>),
İA03	Ki-384(<i>Manisa</i>)
İA04	Ki-42(<i>Denizli</i>)
İA05	Ki-112C(<i>Denizli</i>)

*İA01: Toplam iller arasından rastgele seçilmiş izolatlara ait iller arası vc grup isimlendirmesi

4.1. Virülenslik Testleri

Her bir ilden en yüksek izolat sayısına sahip iki vc grubundan seçilen izolatlarla yapılan virülenslik testleri sonucunda test edilen izolatların farklı virülensliklere sahip oldukları görülmüştür (Çizelge 4.13). Aydın ilinden A01 vc grubunda yer alan Ki-239 izolatı, meydana getirdiği ortalama 101,8 mm lezyon uzunluğu ile en yüksek virülensliğe sahip olurken aynı ilden A02 vc grubunda yer alan Ki-212C izolatı oluşturduğu 16,5 mm uzunluğundaki lezyon ile en düşük virülensliğe sahip izolat olarak bulunmuştur. Yine benzer bir şekilde Manisa ilinden M01 vc grubunda yer alan Ki-358 izolatı 78,3 mm uzunluğunda lezyon oluştururken M02 vc grubunda yer alan Ki-173 izolatı 49,5 mm uzunluğunda lezyon oluşturmuş ve sahip oldukları virülenslik dereceleri ile bu izolatlar ayrı gruplarda yer almıştır. Benzer ilişki diğer tüm illerden seçilen izolatlarda da görülmüştür. Afyon ilinden AF02 grubunda yer alan Ki-457 izolatı ile AF01 grubunda yer alan Ki-475 izolatı, İzmir ilinden I01 grubunda yer alan Ki-157 izolatı ile I02 grubundan Ki-401 izolatı, Denizli ilinden D01 grubundan Ki-44 ile D02 grubundan K-110-B izolatı istatistiksel olarak farklı virülenslik gruplarında yer almıştır.

Çizelge 4.13. Farklı vejetatif uyum gruplarından seçilmiş *Leucostoma* spp. izolatlarının kiraz dalları üzerinde oluşturduğu lezyon uzunlukları

İzolat	Vc Grubu	Ortalama Lezyon Uzunluğu (mm)
Ki-212C	A02	16,5 d*
Ki-401	I02	22,5 d
Ki-475	AF01	27,8 d
Ki-110B	D02	32,8 d
Ki-173	M02	49,5 c
Ki-44	D01	54,3 c
Ki-157	I01	60,5 c
Ki-457	AF02	65,0 bc
Ki-358	M01	78,3 b
Ki-239	A01	101,8 a

*Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre sütun içerisinde aynı harf ile temsil edilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak aralarında fark yoktur ($p < 0.05$).

Vejetatif uyum grup içi virülenslik farklılığını ortaya koymak amacıyla virülenslik testine tabi tutulan Denizli ili izolatlarının virülenslik değerleri Çizelge 4.14'te verilmiştir. Virülenslik testlerinde aynı vc grubundan (D01) dört izolat (Ki-14, Ki-5, Ki-119 ve Ki44) en yüksek virülensliği sahip olmuştur. Bu izolatların oluşturdukları lezyon uzunluğu 143,3-54,3 mm arasında değişmiştir. Ancak aynı vc grubundan Ki-42 izolatı 19,7 mm lezyon uzunluğu ile en düşük virülensliğe sahip izolatlar arasında kalmıştır. Bu bulgular ile izolatların virülenslik derecelerinin ait oldukları vc grupları ile ilişkisi varmış gibi görünse de virülensliği etkileyen çok sayıda faktör gözönünde bulundurulduğunda bu durumun açıklığa kavuşturulması için etmenin genetik yapısı üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çizelge 4.14. Denizli ilinden elde edilmiş farklı vejetatif uyum gruplarından *Leucostoma* spp. izolatlarının kirazda oluşturduğu lezyon büyüklükleri

İzolat	Vc Grubu	Lezyon Uzunluğu (mm)
Ki-112	D05	17,7 f*
Ki-42	D01	19,7 f
Ki-61	D06	27,8 ef
Ki-110B	D02	32,8 def
Ki-85	D01	37,8 def
Ki-90	D03	48,0 cde
Ki-49A	D04	52,6 cd
Ki-44	D01	54,3 cd
Ki-119	D01	69,8 bc
Ki-5	D01	78,3 b
Ki-14	D01	143,3 a

*Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre sütun içerisinde aynı harf ile temsil edilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak aralarında fark yoktur ($p < 0.05$)

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Ege bölgesi, kiraz yetiştiriciliği açısından Türkiye'deki en önemli bölgelerden biridir. Kiraz yetiştirilen alanlar da üreticinin karşılaştığı ekonomik boyutta en tahripkar olan hastalıklardan biri *Leucostoma* spp.'nin neden olduğu Leucostoma Kanseridir. Hastalık ağaçlarda sürgün, dal ve tüm ağaç kurumalarına neden olmaktadır. Özellikle eski bahçelerde yoğun olarak ortaya çıkan bu kurumalar verimde ciddi azalmalara yol açmaktadır. Tüm ağacın ölmesi durumunda ağacın yeniden yetiştirilmesi çok uzun zaman almaktadır. Bu hastalıkla mücadele yöntemleri genelde ağaçların hastalıkla bulaşmasının önüne geçilmesi esasına dayanmakta halihazırda bulaşık olan ağaçların tedavi edilmesi için yapılabilecek uygulamaların sınırlı olması nedeniyle hastalığın kontrol edilmesinde zorluklar yaşanmaktadır. Geçmişte hastalığın kimyasal mücadelesi üzerine yapılan çalışmalarda hem kontak hem de sistemik etkili fungusitler invitro ve tarla koşullarında test edilmiş ancak petri koşullarında çoğu fungusit etkili bulunurken tarla koşullarında çok az sayıda fungusit lezyon gelişimi üzerine azaltıcı etki göstermiştir (Dhanvantari,1968; Northover, 1976; Biggs vd., 1994; Miller, vd. 2018). Yapılan ilk çalışmalarda benomyl ve captafol hastalığa karşı etkili bulunmuş ancak bu iki fungusitte insan sağlığına olan olumsuz etkileri nedeniyle birçok ülkede yasaklanmıştır. Bakırlı bazı ilaçların ve dinitro-o-cresol ise fitotoksik olduğu hastalığın şiddetini arttırdığı bildirilmiştir (Northover, 1976; Miller, vd., 2018). Kimyasal mücadelenin başarısız olmasında hastalığa neden olan etmen fungusların ağacın kabuk dokusu içinde yaşaması nedeniyle uygulanan fungusitlerin patojene ulaşamamasıyla ilişkilendirilmiştir.

Leucostoma Kanserine kimyasal mücadelenin sınırlı etki göstermesi araştırmacıları alternatif mücadele yöntemlerinden biri olan biyolojik kontrol üzerine çalışmaya yönlendirmiştir. Kanser hastalıklarının mücadelesinde biyolojik mücadelenin en başarılı sonuçlar verdiği hastalık kestanenin en tahripkar hastalığı olan kestane kanseridir (Milgroom ve Cortesi, 2004). Kestane kanseri etmeni *Cryphonectria parasitica*'nın *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV1) isimli bir dsRNA mikovirüsü ile

enfekteli olan hipovirüent ırklarının kullanıldığı biyolojik mücadele birçok Avrupa ülkesinde hastalığın en etkin kontrolünü sağlamaktadır (Choi ve Nuss, 1992; Heinigier ve Rigling, 1999; Nuss, 2005). Kestane kanserinin haricinde birçok fungal patojende de çeşitli mikovirüs türleri tespit edilmiş ve hipovirüenslikle ilişkilendirilmiştir (Nuss, 2005). Geçmişte Leucostoma Kanseri etmenleri üzerinde de dsRNA virüslerinin varolduğu ve bunlardan bazılarının etmen üzerinde hipovirüensliğe neden olduğu bildirilmiştir (Hammar vd., 1989; Jensen ve Adams, 1995). Ancak bu konudaki çalışmalar ABD de yürütülmüş bir kaç araştırma ile sınırlı olup kestane kanserinde olduğu gibi pratiğe aktarılacak aşamaya getirilmemiştir. Bu konudaki eksikliğin giderilmesi için Leucostoma Kanserine neden olan etmenlerde dsRNA taramasının yanısıra, bu etmenlerin populasyon yapılarının biyolojik mücadele için uygun olup olmadığının bilinmesi önemlidir. Hipovirüensliğe neden olan dsRNA mikovirüsleri sitoplazmik olup doğada bir bireyden diğerine yayılmaları bireyler arasında hif birleşmesi olarak adlandırılan anastomosis ile olmaktadır. Ancak anastomosis oluşumu doğada bireyler arasında sınırlı olarak gerçekleşmekte olup sadece vejetatif uyum gösteren bireyler arasında meydana gelmektedir. Mikolojik çalışmalarda fungal türler vejetatif uyum reaksiyonlarına göre gruplandırılmakta aralarında anastomosis oluşturan bireyler aynı vejetatif uyum grubu içerisinde yer alırken anastomosis oluşturmayanlar farklı gruplara yerleştirilmektedirler (Glass vd., 2000). Fungal türlerde vejetatif uyum grup sayıları değişkenlik göstermektedir. Bir populasyonda vejetatif uyum grup sayısı düşük olduğunda anastomosis olasılığı yüksek olmakta ve mikovirüslerin bireyler arasında yayılması daha hızlı gerçekleşmektedir. Tersisi durumda ise anastomosis olasılığı düşmekte ve mikovirüslerin yayılması yavaşlamaktadır. Birçok ülkede kestane kanseri ile hipovirüent ırkların kullanıldığı mücadelede başarı şansını önceden tahmin etmek için uygulama yapılacak alanlarda etmen fungus *Cryphonectria parasitica*'nın vc grupları öncelikli olarak çalışılan konular olmuştur (Milgroom ve Cortesi, 2004). Amerika Birleşik Devletleri başta olmak üzere *C. parasitica*'nın vc gruplarının çok olduğu ülkelerde kestane alanlarında yapılan hipovirüent ırk uygulamalarında biyolojik mücadele başarısız olmuştur (Heinigier ve Rigling, 1999; Milgroom ve Cortesi, 2004).

Geçmişte *Leucostoma* spp. vejetatif uyum (vc) grupları yönünde sınırlı da olsa bir kaç populasyonda çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda *Leucostoma* spp.'de vc grup sayısının yüksek olduğu bildirilmiştir (Adams vd., 1990; Wang vd., 1998). *Leucostoma* spp.'ye akraba olan birçok Diaporthales fungusunda vc grup sayısının yüksek olduğunu gösteren raporlar çoğunluktadır. Bir çok fungus türünde vejetatif uyum birden fazla vejetatif uyumsuzluk genlerinin (*vic* genleri) bulunduğu çoklu gen bölgeleri ile yönetilmektedir. Bu *vic* genlerinin allel sayıları ve bunların farklı kombinasyonları fungus türünde vc grup sayısını belirlemektedir. *Leucostoma* spp. de *vic* gen ve bu genlerin allelik özellikleri hakkında bilgi bulunmamaktadır. Kestane Kanseri etmeni *C. parasitica*'da iki allelli 6 *vic* geni 64 farklı vc grubunun ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Cortesi ve Milgroom, 1998). *Leucostoma* spp. *vic* genleri bilinmediği için böyle bir sayı belirlenmemektedir. Ülkemizde *Leucostoma* spp. izolatlarında dsRNA'nın varlığı bulunmuş ancak vc grup varlığı ve sayıları konusunda çalışmalar yapılmamıştır. Bu nedenle ülkemizde *Leucostoma* spp.'de saptanan bu dsRNA'nın populasyon içerisinde yayılması ve biyolojik mücadeledeki potansiyeli hakkında fikir yürütmek mümkün değildir. Bu çalışma literatürdeki bu eksikliği gidermek ve *Leucostoma* spp. de vejetatif uyum gruplarını belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

Bu çalışmada Ege Bölgesi kiraz alanlarından elde edilmiş 80 adet *Leucostoma* spp. izolatının vejetatif uyum grupları belirlenmiştir. Çalışmada Denizli, Aydın, Manisa, İzmir ve Afyonkarahisar'dan toplanan izolatlar kendi aralarında vejetatif uyum yönünden oat meal agar ortamında birebir eşleştirilerek miselyal koloni gelişimine bırakılmışlardır. Eşleştirmeler sonucunda vejetatif uyum sonucu miselyal kolonileri birbiri ile birleşen izolat çiftlerinin yanısıra vejetatif uyumsuzluk sonucu kolonileri birleşmeyerek aralarında baraj oluşumu gözlemlenen çiftlere de rastlanmıştır. Her bir ilde aralarında uyum gösteren izolatlar bulunurken birbiri ile eşleşmeyen izolatlar da belirlenmiştir. Denizli, İzmir, Aydın ve Afyonkarahisar illerinde 6'şar vc grubu, Manisa ilinde ise 3 vc grubu belirlenmiştir. Ayrıca illeri temsilen seçilen farklı vc grubuna ait izolatlar arasında da vejetatif uyumsuzluk bulunmuştur. Bu sonuçlar bize Ege Bölgesinde *Leucostoma* spp. içerisinde bir vc grup çeşitliliğinin olduğunu göstermektedir. Ancak bu çeşitliliğin yine de çok yüksek bir seviyede olduğu söylenemez. Bu konuda ABD'de sınırlı sayıda yapılan çalışmalarda daha yüksek seviyede vc grup çeşitliliği rapor edilmiştir. Michigan eyaletinde Adams vd., (1990) tarafından yapılmış bir çalışma da 2 farklı şeftali bahçesinden toplanmış *L. personii* izolatlarında bahçenin birinde 24 izolat arasında 13 farklı vc grubu, diğer bahçeden

ise 65 izolat arasında 23 vc grubunun varlığı bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre *L. personii* de vc grup çeşitliliği oldukça yüksek olarak değerlendirilmiştir. Yine Adams vd., (1990) eşeyli üremenin vc grup çeşitliliğine eşeyli üremenin etkisi araştırmak amacıyla peritesyumlardan elde edilmiş tek askospor izolatlarında vc grup çeşitliliğini incelemişlerdir. Sonuç olarak tek askospor izolatlar arasında daha yüksek bir vc grup çeşitlilik elde edilmesi bu patojenin eşeyli üremesinin vc grup sayısının artmasına neden olduğu öne sürülmüştür. Yine aynı eyalette Wang vd. (1998) tarafından *L. personii* üzerinde yapılmış olan diğer bir çalışmada da izolatlar arasında %95 oranında vejetatif uyumsuzluk bulunmuş ve neredeyse her izolatin kendi başına ayrı vc grubu oluşturduğu bildirilmiştir. Ortaya çıkan bu yüksek vc grup çeşitliliğin nedeni bölgede etmenin eşeyli üremesiyle ilgili olabileceği öne sürülmüştür. Bizim çalışmamızda kullanılan izolatlar çok geniş bir alanı temsil etmekte olup sözü edilen çalışmalarda olduğu bahçe bazında çeşitliliğin durumunu yansıtmamaktadır. Bu çalışmada daha çok ön çalışma niteliğinde *Leucostoma* spp. nin Ege Bölgesindeki vc grup yönünden genel durumunu ortaya çıkarmaktadır. Doğa da hipovirülensliğin yayılmasını asıl etkileyecek durum bahçe bazında yada küçük ölçeklerdeki vc grup çeşitliliğidir. Bu çalışmaya ilave olarak küçük ölçekte yapılacak çalışmalar ile ihtiyaç olunan bilgilerin elde edilmesi gerekmektedir.

Leucostoma spp. izolatu heterotallik bir fungus olup her coğrafya da eşeyli ürememektedir (Adams vd., 2002). Heterotallik funguslarda genetik çeşitliliğin artması iki eşey tipinin bir popülasyon içerisinde mevcut olması sonucu eşleşerek recombinant bireylerin meydana gelmesi ile olmaktadır. Eğer popülasyon içinde bu durum gerçekleşmez patojende eşeyli üreme olmazsa genetik çeşitlilik sınırlı kalmaktadır. Ancak yapılan çalışmalar sonucunda Amerika da fungusun eşeyli ürediği bilinmektedir (Wang vd. 1998). Amerika da yapılan çalışmalarda fungusunun genetik çeşitliliğinin fazla çıkmasının sebebinin etmenin bu coğrafyada eşeyli olarak üremesinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Türkiye de henüz etmenin eşeyli üreme durumunu ortaya koyacak çalışma yürütülmemiştir. Çalışmada elde edilen vc grup çeşitliliğin yüksek olması eşeyli üremeden kaynaklı olabileceğini düşündürtse de bunun kesin olarak ortaya konması için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır. Vejetatif yönden uyuşan izolatların coğrafik dağılımları dolaylı olarak etmenin biyolojisi hakkında fikir sahibi olamamızı sağlasa da kesin bulgular için küçük örnekleme alanlarında çalışmaların yürütülmesine daha doğru sonuçlar

verecektir. Çalışmada Ege Bölgesi iller bazında geniş alanları içerecek şekilde yürütülmüştür.

Çalışmada ayrıca vc grup ve virülenslik ilişkileri de araştırılmıştır. Çalışmada bazı vc grupları temsilen seçilmiş *Leucostoma* spp. izolatları üzerinde virülenslik testleri yürütülmüştür. Testler sonucunda vc gruplar arasında virülenslik farklılıklarının olduğu belirlenmiştir. Çalışmada belli gruplarda yer alan izolatların daha virulent olduğu ortaya konmuştur. Ancak çalışmadan ortaya çıkan izolatlar arasındaki virülenslik farklılıklarının tek başına patojen fungusun vc grup özelliğinden kaynaklanmış olabileceğini söylemek mümkün değildir. Bu konuda daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak bu çalışmada Ege Bölgesi kiraz alanlarından elde edilmiş *Leucostoma* spp. izolatları arasında çok yüksek olmasa da belirgin bir seviyede vc grup çeşitliliğinin olduğu gözlemlenmiştir. Ancak bu çeşitlilik hipovirulent ırkların kullanıldığı biyolojik mücadeleyi olumsuz etkileyecek bir seviyede görünmemektedir. Ülkemizde daha önceki çalışmalarda dsRNA varlığı *Leucostoma* spp. izolatlarında saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgular ışığı altında dsRNA içeren bu izolatlar hipovirülenslik özellikler yönünde daha detaylı ele alınmalı ve bu izolatların biyolojik mücadelede kullanım olanakları araştırılmalıdır. Ayrıca vc grup çeşitliliğinin ölçeği değişen farklı örneklem alanlarında da çalışılması biyolojik mücadele için gerekli bilgilerin toplanması açısından daha faydalı olacaktır. Bilindiği üzere vc çeşitliliği fungal etmenin eşeyli üreme durumundan da etkilenmektedir. Bu nedenle gelecekte *Leucostoma* spp.'nin ülkemiz koşullarına biyolojisinin de çalışılması etmenin mevcut populasyon yapısının anlaşılması ve gelecekte oluşabilecek populasyon değişimlerinin tahmin ve takip edilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Adams, G. C., Surve-Iyer R.S., Iezzoni, A., 2002. Ribosomal DNA sequence divergence and group I introns with in *Leucostoma* species, *L. cinctum*, *L. persoonii* and *L. parapersoonii* sp. nov., ascomycetes that cause *Cytospora* canker of fruit trees. **Mycologia**, 94: 947-967.
- Adams G. C., Hammar, S. A., Proffer, T. 1990. Vegetative compatibility in *Leucostoma persoonii*. **Phytopathology**, 80: 287-291.
- Anagnostakis, S. L., 1982: Biological control of chestnut blight. **Science** 215, 466–471.
- Anagnostakis,S.L., Hau, B. Ve Kranz, J. (1986).Diversity of Vegetative compatibility groups of *Cryphonectria parasitica* in Connecticut and Europe. **Plant Disease**, 70,536-538.
- Anagnostakis, S.L. ve Kranz, J., 1987.Population dynamics of *Cryphonectriaparasitica* in a mixed- hardwood forest in Connecticut. **Phytopathology**, 77: 751- 754
- Anonim,2008. Türkiye Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Zirai Mücadele Teknik Talimatları Cilt:4 2008
- Anonim, 2016. www.Faostat.org. Erişim Tarihi: 25.11.2018
- Anonim, 2017. www.tuik.gov.tr Erişim Tarihi: 04.12.2018
- Anonim,2018. www.tuik.gov.tr Erişim Tarihi: 15.12.2018
- Adams, G.C., Wingifield, M.J., Common, R., Roux, J., 2005. Phylogenetic relationships and *Cytospora* species and related teleomorphs (Ascomycota, Diaporthales,Valsaceae) from *Eucalyptus*. **Studies in Mycology**, 52:1-144.
- Bailey, L.H., 1963. The Standard Cyclopedia of Horticulture.Vol.III, Mac Millan Comp., New York.
- Baytop, T., 1984. Türkiyede Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Ün. Ecz. Fak. Yay., No: 3255,İstanbul.
- Bayraktar, Ö.V., 2015. İzmir-Kemalpaşa Yöresinde Globalgap Uygulayan ve Uygulamayan Kiraz İşletmelerinin Teknik ve Ekonomik Yönünün

- Sürdürülebilir Tarım Açısından Değerlendirilmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İzmir.
- Bertnard, P.F., 1974. Cytospora canker of French Prune. Department of Plant Pathology, University of California, Ph. D. Dissertation, Davis, 133 pp.
- Bertnard ,P.F., English, H., 1976. Release and dispersal of conidia and ascospores of *Valsa leucostoma*. **Phytopathology**, 79: 627-630
- Biggs, A. R., 1989. Temporal changes in the infection court after wounding of peach bark and their association with cultivar variation in infection by *Leucostoma persoonii*. **Phytopathology**, 79: 627-630.
- Biggs, A. R., El-Kholi, M. M., and ElNeshawy, S. M. 1994. Effect of calcium salts on growth, pectic enzyme activity, and colonization of peach twigs by *Leucostoma persoonii*. **Plant Disease**, 78: 886-890.
- Biggs, A.R., 1997. *Leucostoma* canker of Stone Fruits, *Leucostoma persoonii* and *L. cincta*: Fruit Disease Focus. West Virginia University.
[http://www.caf.wvu.edu/kearneysville/disease_month/diseasefocussept.htm], Erişim tarihi: 01.08.2013.
- Biggs, A.R., Grove, G.G., 2005. *Leucostoma* canker of Stone Fruits. The Plant Health Instructor,
[http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/L_eucostoma_Canker.aspx] , Erişim Tarihi: 10.08.2017
- Biggs, A.R., Grove, G.G., 2005. *Leucostoma* canker of Stone Fruits. The Plant Health Instructor,
[http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/L_eucostoma_Canker.aspx] , Erişim Tarihi: 10.08.2017
- Biggs, A. R., 1989. Temporal changes in the infection court after wounding of peach bark and their association with cultivar variation in infection by *Leucostoma persoonii*. **Phytopathology**, 79: 627-630.
- Biggs, A.R., 1997. *Leucostoma* canker of Stone Fruits, *Leucostoma persoonii* and *L. cincta*: Fruit Disease Focus. West Virginia University.
[http://www.caf.wvu.edu/kearneysville/disease_month/diseasefocussept.htm], Erişim tarihi: 01.08.2013.

- Cortesi P., Milgroom M. G. 1998. Genetics of vegetative incompatibility in *Cryphonectria parasitica*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64:2988-2994.
- Choi G. H., Nuss D. L. 1992. Hypovirulence of chestnut blight fungus conferred by an infectious viral cDNA. *Science*, 257: 800–3.
- Çeliker, N.M., Kural, İ., 2007. Ege Bölgesinde özellikle kiraz ve diğer meyve ağaçlarında kurumaya neden olan Sitospora kanseri. **Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri**, Isparta.
- Dhanvantari, B. N. (1968). Effects of selected fungicides on germination of conidia of *Cytospora cincta* and *C. leucostoma* in vitro. *Canadian Journal of Plant Science*, 48(4), 401-404.
- Davis, P. H., 1951. *Flora of Turkey*. Vol. IV, Edinburg Univ. Press, Edinburg.
- Erincik, Ö., Açıkgöz, S., Döken, M. T., Yorgancı, S., Hosseinalizadeh, S., Mangil, E., Mersin, E. 2018. Aydın ilinde Kestane Kanserinin Biyolojik Mücadelesi. *Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi Bildiri Kitabı* pp. 34. 26-28 Ekim 2018. Aydın, Turkey.
- Fong, Y. K., Anuar, S., Lim, H. P., Tham, F. Y., and Sanderson, F. R. (2000). A modified filter paper technique for long-term preservation of some fungal cultures. *Mycologist*, 14(3), 127-130.
- Glass, N. L., Jacobson, D. J., & Shiu, P. K. (2000). The genetics of hyphal fusion and vegetative incompatibility in filamentous ascomycete fungi. **Annual review of genetics**, 34 (1), 165-186.
- Gökçe A. Y., Turak, S., Albayrak, S. ve Akbağ, R., 1998. Doğu Anadolu bölgesinde meyve ağaçlarında sorun olan fungal etmenlerin tespiti. **Bitki Koruma Bülteni** 2011, 51(1): 33-44
- Heiniger, U. ve Rigling, D., 1994. Biological control of chestnut blight in Europe. **Annual Review of Phytopathology**, 32:581-599.
- Hammar, S., Fulbright D.W., Adams G.C. 1989. Association of double-stranded RNA with low virulence in an isolate of *Leucostoma persoonii*. *Phytopathology* 79, 568-572.
- Hosseinalizadeh, S., Erincik, Ö., Açıkgöz, S. 2017. Investigation of Mycoviral dsRNAs in the Important Fungal Pathogens of Main Crops Grown in the

- Aegean Region of Turkey. Abstracts Book, s78, 3rd International Agriculture Congress, 14-18 Ağustos, Skopje, Republic of Macedonia.
- Hildebrand, E.M., 1947. Perennial Peach Canker and the Canker Complex in New York with Methods of Control. Cornell Univ. Agr. Expt. Sta. Memorandum 276:61.
- Hayova, V. P., Minter, D. W., 1998. *Leucostoma niveum*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria (137): Sheet 1362.
- Jensen C. J. P. ve Adams G. C. 1995. Nitrogen Metabolism of *Leucostoma persoonii* and *L. cincta* in Virulent and Hypovirulent Isolates. **Mycologia** 87(6): 864-875
- James, W.C., T.R., Davidson, 1971. Survey of peachcanker in the Niagara Peninsuladuring 1960-1970. **Canadian Plant Disease Survey**, 51:148-153.
- Karaca, İ, Bora, T., Özçağırın, R., 1972. Kemalpaşa Bölgesinde kiraz ağaçlarının kuruma sebepleri üzerine araştırmalar. **Türkiye Bilimsel Araştırmalar Kurumu, Tarım Ormanlık Araştırma Grubu Yayınları**, Sayı 13.
- Kural, İ., Erdiller, G., 1994. Kayısıda *Cytospora* Kanseri' (*Leucostoma cincta* (Fr) Hohn) nin Malatya ve Elazığ koşullarında gelişimi ve bazı kayısı çeşitlerinin duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi üzerinde çalışmalar. **VII. Türkiye Fitopatoloji Kongre Bildirileri**. (26-29 Eylül, 1995), p: 103-106, Adana.
- Leslie J. F. 1993. Fungal Vegetative Compatibility. **Annu. Rev. Phytopathol.** 1993. 31:127-50
- Liu, Y.C., ve Milgroom, M.G., 1994. Correlation between transmission of hypovirulence and the number of vegetative incompatibility (vic) locidifferent among isolates in a natural population of *Cryphonectria parasitica*. **Phytopathology**, 84:1126-1127.
- Luepschen, N.S., Hetherington, J.E., Stahl, F.J., Mowrer, K.E., 1979. *Cytospora* canker of peach trees in Colorado: survey of incidence, canker location and appernt infection courts. **Plant Dis. Rep.**, 63: 685-687.
- Meijer, G., Megnegneau, B., & Linders, E. G. (1994). Variability for isozyme, vegetative compatibility and RAPD markers in natural populations of *Phomopsis subordinaria*. *Mycological Research*, 98(3), 267-276.

- Miller, S. T., Otto, K., Sterle, D., Minas, I. S., & Stewart, J. E. (2018). Preventive Fungicidal Control of *Cytospora leucostoma* in Peach Orchards in Colorado. *Plant Disease*.
- Milgroom, M.G. Cortesi, P., 2004: Biological control of chestnut blight with hypovirulence: A critical analysis. *Ann. Rev. Phytopathology*, 42, 311–338.
- Northover, J. 1976. Protection of peach shoots against species of *Leucostoma* [persoonii, *Leucostoma cincta*] with benomyl and captafol [Fungal diseases]. *Phytopathology*, 66: 1125-1128.
- Nuss, D. L. (2005). Hypovirulence: mycoviruses at the fungal–plant interface. *Nature Reviews Microbiology*, 3(8), 632.
- Nuss, D. L., 1992. Biological control of chestnut blight: An example of virus-mediated attenuation of fungal pathogenesis. *Microbiological Review*, 561-576.
- Ogawa, J.M. , Zehr, E.I. , Bird, G.W. , Ritchie, D.F. , Uriu, K., Uyemoto, J.K., 1995. Compendium of Stone Fruit Diseases. APS Press, 978-0-89054-174-6. pp. 28-29.
- Öz, F., 1988. Kiraz ve Vişne, **TAV yayınları** , Yayın No:16, Yalova
- Özbek, S., 1978. Özel Meyvecilik (Kışın Yaprağını Döken Meyve Türleri). Ç.Ü. **Ziraat Fakültesi Yayınları**, No: 128, Ders kitabı: 11, Adana.
- Pearson, M. N., Beaver, R. E., Boine, B., & Arthur, K. (2009). Mycoviruses of filamentous fungi and their relevance to plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 10(1), 115-128.
- Proffer, T. J., & Hart, J. H. (1988). Vegetative compatibility groups in *Leucocytospora kunzei*. *Phytopathology*, 78(3), 256-260.
- Proffer TJ ve Jones AL. 1989. A new canker disease of apple caused by *Leucostoma cincta* and other fungi associated with cankers on apple in Michigan. *Plant Disease* 73, 508–14.
- Pokharel, R. R. and H. J. Larsen 2009. Incidence, severity and non-chemical management of *Cytospora* canker in stone fruits. Colorado State University, Western Colorado Research Center Annual report, 2008. TR 09-12:55-62.

- Rehber, E.,1999. Alternatif Tarım Üzerine Bir Tartışma. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi dergisi (1999) cilt: 8, say: 153-160.
- Scorza, R. and P.L. Pusey. 1984. A wound-freezing inoculation technique for evaluating resistance to *Cytospora leucostoma* in young peach trees, **Phytopathology** 74:569-572
- Smit, W. A., Wingfield, B. D., ve Wingfield, M. J. (1997). Vegetative incompatibility in *Diaporthe ambigua*. **Plant pathology**, 46(3), 366-372.
- SPSS, 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.
- Surve-Iyver R.S., Adams, G.C., Iezzoni, A.F. Jones, A.L., 1995. Isozyme detection and variation in *Leucostoma* species from *Prunus* and *Malus* **Mycologia**, 87: 471-482.
- Spielman, L.J., 1985. A monograph of *Valsa* on hardwoods in North America. **Can. J. Bot**, 87: 471-482.
- Spotts, R.A., Facteau, T.J., Cervantes, L.A., Chestnut, N.E., 1990. Incidence and control of *Cytospora* canker and bacterial canker in a young sweet cherry orchard in Oregon. **Plant Disease**, 74: 577-580.
- Spotts, R.A., Facteau, T.J., Cervantes, L.A., Chestnut, N.E., 1990. Incidence and control of *Cytospora* canker and bacterial canker in a young sweet cherry orchard in Oregon. **Plant Disease**, 74: 577-580.
- Snyder, B. A., Adams, G. C., & Fulbright, D. W. (1989). Association of a virus-like particle with a diseased isolate of *Leucostoma persoonii*. **Mycologia**, 241-247.
- Tahhuşoğlu, Ö., 2007. Hatay İlinde Yaş Sebze Meyve Dış Satımının Yapısı ve Geliştirme Olanakları. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Tekauz, A., 1972. The Role of Leaf Scar and Pruning Cut Infections in the Etiology and Epidemiology of Peach Canker Caused by *Leucostoma* Species. Univ. of Toronto, Ph. D. Thesis. 161 p., Canada.
- Töngüşlü, M. ve Açıkgoz, S. 2015. Investigation of virulence and presence of mikoviral dsrna on *Leucostoma* spp. isolates of the cherry production areas in the Aegean Region/Turkey. **Proceedings of Sixth International**

Scientific Agricultural Symposium. Jahorina, October 15-18, 2015 ss.626-631.

Yılmaz, E., 2013. Ege Bölgesinde Kirazlardan Elde Edilen *Leucostoma* Türlerine Ait İzolatların ve Patojenik Özelliklerinin Belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.

Wang D., Iezzoni, A.F., Adams, G.C., 1998. Genetic heterogeneity of *Leucostoma* species in Michigan peach orchards. **Phytopathology**, 88: 376–381.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Damla GÜL
Doğum Yeri ve Tarihi : Kırklareli / 06.07.1992

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi – Bitki Koruma Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü- Bitki Koruma Anabilim Dalı
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce
Almanca

İLETİŞİM

E-posta Adresi : damla.adu@gmail.com
Tarih :