

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Halil İbrahim KARA

**GAZİANTEP İLİ BAĞLARINDA BOTRYOSPHERA GERİYE
ÖLÜM HASTALIĞINA NEDEN OLAN TÜRLER İLE FUNGAL
ENDOFİTLER ARASINDA *in vitro* ANTAGONİSTİK İLİŞKİLERİN
SAPTANMASI**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2022

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GAZİANTEP İLİ BAĞLARINDA BOTRYOSPHERA GERİYE ÖLÜM HASTALIĞINA NEDEN OLAN TÜRLER İLE FUNGAL ENDOFİTLER ARASINDA *in vitro* ANTAGONİSTİK İLİŞKİLERİN SAPTANMASI

Halil İbrahim KARA

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL
Yıl: 2022, Sayfa: 53
Jüri : Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL
: Prof. Dr. Ali ERKILIÇ
: Doç. Dr. Mustafa KÜSEK

Son yıllarda Türkiye ve dünya bağlarında, asma gövde hastalıklarıyla sıkça karşılaşılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Gaziantep bağlarında Botryosphaeria Geriye Doğru Ölüm Hastalığı'na yol açan fungal patojenleri saptamak ve fungal endofitlerin bu patojenlerle antagonistik ilişkilerini araştırmaktır. Sörvey çalışması İslahiye, Nurdağı ve Şahinbey ilçelerinde bulunan 51 bağda, Eylül 2020'de yürütülmüş, hastalık çıkışı ve yaygınlığı ortaya konmuştur. Fungal izolatlar klasik ve moleküler yöntemlerle tanılanmıştır. Patojenisite testleri kontrollü koşullarda, tüplü asma fidanları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Patojenik ve endofitik türler arasındaki antagonistik ilişkiler PDA (patates dekstroz agar) besi yerinde ikili kültür testiyle belirlenmiştir. Sonuçlara göre, incelenen tüm bağlarda lokal kuruma, geriye doğru ölüm ve apopleksi belirtilerine rastlanmış, bölgedeki ortalama hastalık çıkışı %1.2 olarak hesaplanmıştır. Tanı çalışmaları ve patojenisite testleri bölgedeki bağların asma gövde hastalıklarıyla ilişkili *Biscogniauxia*, *Botryosphaeria*, *Cytospora*, *Diatrype*, *Diplodia*, *Eutypa*, *Neoscytalidium*, *Phaeoacremonium*, *Seimatosporium* ve *Kalmusia* türleri ile enfekteli olduğunu göstermiştir. *Acremonium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Entoleuca*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma*, *Quambalaria* ve *Sordaria* türlerinin endofitik karakterde olduğu bulunmuştur. İkili kültür testlerinde, *Penicillium fructuariae-cellae*'nin ortalama 3.3 – 22.7 mm'lik inhibisyon zonuyla çoğu asma gövde patojenlerine antagonistik olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, asma gövde hastalıklarının mücadelesinde yeni fungal biyokontrol etmenlerini geliştirmek için endofitik *Penicillium*'lara daha fazla dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Endofitik funguslar, Botryosphaeriaceae, Fungal Gövde Hastalıkları, *Penicillium fructuariae-cellae*

ABSTRACT

MSc THESIS

**DETERMINATION OF *in vitro* ANTAGONISTIC RELATIONSHIP
BETWEEN THE SPECIES CAUSING BOTRYOSPHERA DISEASE
AND FUNGAL ENDOPHYTES IN THE VINEYARDS OF
GAZIANTEP PROVINCE**

Halil İbrahim KARA

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

Supervisor : Assoc. Prof. Davut Soner AKGÜL
Year: 2022, Pages: 53
Jury : Assoc. Prof. Davut Soner AKGÜL
: Prof. Ali ERKILIÇ
: Assoc. Prof. Mustafa KÜSEK

In recent years, grapevine trunk diseases are frequently encountered in the vineyards of Türkiye and in the world. The aims of the study were to detect fungal pathogens causing Botryosphaeria Dieback Disease pathogens in the Gaziantep vineyards and to investigate antagonistic associations of fungal endophytes with fungal trunk pathogens. Survey study was conducted in 51 vineyards located in Şahinbey, Nurdağı and İslahiye counties in September 2020 and the disease prevalence and incidence were revealed. Fungal isolates were identified with classic and molecular methods. Pathogenicity tests were performed on potted grapevine plants in acclimatized conditions. The antagonistic associations between endophytic and pathogenic species were determined by dual culture test in PDA (potato dextrose agar) medium. According to results, local drying, dieback and apoplexy symptoms were observed in all the vineyards inspected and the mean disease incidence in the region was calculated as 1.2%. Identification studies and pathogenicity tests indicated that the vineyards located in the region were infected with the species; *Biscogniauxia*, *Botryosphaeria*, *Cytospora*, *Diatrype*, *Diplodia*, *Eutypa*, *Neoscytalidium*, *Phaeoacremonium*, *Seimatosporium* and *Kalmusia* being associated with grapevine trunk diseases. *Acremonium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Entoleuca*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma*, *Quambalaria* and *Sordaria* species were found to be endophytic characteristics. *Penicillium fructuariae-cellae* was found to be antagonistic (with average 3.3-22.7 mm inhibition zone) on most of the grapevine trunk pathogens in dual culture tests. These results suggest that more attention should be paid for endophytic *Penicillia* to improve novel fungal biological control agents for the management of grapevine trunk diseases.

Key Words: Endophytic Fungi, Botryosphaeriaceae, Fungal Trunk Disease, *Penicillium fructuariae-cellae*

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Asmalarda fungal gövde hastalıkları, son yıllarda ülkemizde ve dünyadaki bağ alanlarında artış gösteren önemli hastalıklardır. Bu hastalıklar 1800'li yılların sonundan itibaren bilinmesine karşın, asma sağlığına olan önemi ancak 1990'larda fark edilmeye başlanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar asmalarda fungal gövde hastalıklarının ekonomik açıdan zarar veren önemli hastalıklar olduğunu ortaya koymuştur. Bugün 34 farklı cinse bağlı 133 fungal türün asma gövde hastalıklarıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bu türlerin yaklaşık olarak %20'sini Botryosphaeriaceae familyasına ait türler oluşturmaktadır.

Asma üzerinde şimdiye kadar *Diplodia*, *Dothiorella*, *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Neoscytalidium*, *Phaeobotryosphaeria* ve *Spencermartinsia* cinslerine bağlı 26 farklı türün lokal kuruma, geriye ölüm ve odun nekrozyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Çoğunlukla asmanın odun dokularına kolonize olan bu türlerin mücadelesi oldukça güç olup, yerleşik enfeksiyonların tedavisi mümkün değildir. Dünya genelinde 2000'li yılların başında sodyum arsenit'in yasaklanmasıyla hastalık ortaya çıkmış ve buna alternatif olacak bir fungusit henüz bulunamamıştır. Bununla ilişkili olarak bitki patolojileri, hastalıkların biyolojik mücadelesini esas alan alternatif arayışlara yönelmişlerdir.

Endofitik mikroorganizmalar; bitki içerisinde var olan, yaşamının herhangi bir döneminde, bitkide herhangi bir hastalık belirtisi oluşturmayan ve bitkilerle birlikte yaşayan organizmalardır. Endofitik funguslar bitki içerisindeki diğer mikroorganizmalarla etkileşime girerek onların faaliyetlerini baskılayabilir ya da teşvik edebilirler. Asma fidanı üretiminde kullanılan kalem-çelik gibi vejetatif materyallerin sağlığı, tesis edilecek bağdaki asmaların ömrünü doğrudan etkiler. Dormant materyallerin patojenlerden arı ve yararlı endofitik flora yönünden zengin olması arzu edilmektedir. Yöresel veya standart üzüm çeşitlerinin ve aynı zamanda asma fidanlarının üretildiği bir bölgede bağların, fungal gövde patojenleri ve yararlı endofitler yönünden taranması önemlidir. Bu çalışmanın amaçları;

Gaziantep bağ alanlarında Botryosphaeriaceae türleri ve diğer fungal gövde patojenlerini saptamak ve elde edilen patojenlere karşı antagonistik potansiyeli olan endofitik fungusların *in vitro* etkinliğini belirlemektir.

Sörvey çalışması Gaziantep ili İslahiye, Nurdağı ve Şahinbey ilçeleri sınırlarındaki bağlarda, Eylül 2020’de yürütülmüştür. Toplam 51 bağın incelendiği sörvey çalışmasında ortalama 10 dekar büyüklüğündeki bağlara girilerek, sağlıklı omcalar ve asma gövde hastalıklarının belirtilerini (lokal kuruma, geriye ölüm, apopleksi, çizgili-nekrotik yapraklılık) gösteren omcalar sayılmıştır. Her bir bağdaki hastalık çıkışı (%); belirti gösteren omca sayısının, sayım yapılan tüm asmaların sayısına oranlanmasıyla hesaplanmıştır. İldeki ortalama hastalık çıkışına (%) ise, tüm bağlardaki hastalık çıkışının ortalaması alınarak ulaşılmıştır. Simptomatik asmaların 3-4 yıllık kalın dallarından, testere ya da budama makasıyla 10-15 cm uzunluğunda parçalar kesilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerden fungal izolasyonlar yapılmıştır. Elde edilen koloniler sayılmış ve türlerin izole edilme oranları bulunmuştur. Klasik tanı Crous ve Gams (2000); Barnett ve Hunter (2003); Mostert ve ark., (2006); Lawrence ve Travadon (2018) ve Zhang ve ark., (2021)’e göre yapılmış, bu tanıda koloni rengi, havai miselyum oluşturma özelliği, konidi ve konidiofor şekli, konidilerdeki uzantılar, büyüme hızı, piknidyum oluşumu ve pikniosporların şekli gibi hususlar incelenmiştir. Moleküler tanıda PCR ve gen sekanslama yöntemleri kullanılmıştır.

Tanısı yapılan fungal izolatlardan en az biri ile patojenisite testi yapılmıştır. Cardinal çeşidi asma kalemleri (yaklaşık 30 cm) dipten ve uçtan küt kesilmiş, uç kısma miseliyal agar diskleri inokule edilerek streç-film ile sarılmıştır. Kontrol olarak bırakılan kalemlere steril agar diskleri inokule edilmiştir. Kalemler 25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık / karanlık ve %85 nispi nem koşullarında köklendirilmiş ve fidanlar 3 ay süreyle büyütülmüştür. Bu süre sonunda inokule edilen kalemler bıçakla ortadan ikiye kesilerek odun dokuda oluşan lezyonların uzunlukları ölçülmüş ve fotoğraflanmıştır. Patojenisite testi ile endofit ya da

patojen olarak ayrıştırılan fungal izolatların birbirlerine karşı olası antagonistik etkileri, PDA besi yerinde ikili kültür testleriyle belirlenmiştir.

Gaziantep'in İslahiye, Şahinbey ve Şehitkamil ilçelerinde yürütülen sörveyde incelenen 51 bağın tamamında lokal kuruma ve geriye doğru ölüm belirtilerinin var olduğu tespit edilmiş, ildeki hastalık yaygınlığının %100, ortalama hastalık çıkışı %1.2 oranında olduğu bulunmuştur. Sörvey yapılan tüm bağlarda, cins düzeyinde yapılan sayımların ortalamasına göre; Petri hastalığı ve Esca sendromu etmenlerinden *Phaeoacremonium* %39.2'lik oranla en yaygın cins olarak bulunurken, bunu %35.3 ve %27.5 ile *Seimatosporium* ve *Botryosphaeriaceae* familyası türleri takip etmiştir. Bunlardan başka *Cytospora*, *Diaporthe*, *Diatrype*, *Eutypa*, *Macrophomina*, *Neoscytalidium* ve *Phaeomoniella* cinsi fungusların ildeki yaygınlığı %1.9-5.9 arasında değişim göstermiştir. Sörvey yapılan 51 bağın 20'sinde *Phaeoacremonium*, 18'inde *Seimatosporium* ve 14'ünde *Botryosphaeriaceae* cinsi funguslara rastlanmış, bu cinslerin bölgedeki en yaygın cinsler oldukları belirlenmiştir. İldeki bağ alanlarındaki fungal endofit çeşitliliğinin zengin olduğu saptanmış ve asmalardan *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Coniothyrium*, *Curvularia*, *Entoleuca*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Quambalaria*, ve *Sordaria* türleri izole edilmiştir. Bu funguslar içerisinde *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* ve *Aureobasidium* türleri sırasıyla %92.2, %66.6, %64.7 ve %50.9'luk oranla en sık rastlanan endofitik türler olmuştur.

Fungal izolatlardan bazıları dokularda, uzunlukları 13.5 ile 68.2 mm arasında değişen lezyonlar meydana getirmişlerdir. Bunlardan minimum lezyon *Macrophomina phaseolina* (HİK16), maksimum lezyon ise *Lasiodiplodia pseudotheobromae* (HİK36) türleriyle gerçekleşmiştir. Buna karşın endofitik türler kontrolden farklı uzunlukta lezyon oluşturmamış ve bunların patojen olmadıkları ispatlanmıştır.

Gaziantep bağlarından izole edilen fungal endofitlerden bazıları patojen fungusların gelişimini hiçbir şekilde inhibe edemezken, bazı türler patojen

fungusları açıkça engellemiştir. Denemeye alınan 8 endofitik izolat, uzunlukları 22.67 mm'ye varan engelleme zonu meydana getirmiştir. Miseliyal gelişimi engellemede en güçlü etkiyi *Penicillium fructuariae-cellae*, en zayıf etkiyi *Quambalaria cyanescens* göstermiştir. Denemedeki 16 patojenik izolattan 13'ü (%81.2), *P. fructuariae-cellae* tarafından en az 3.33 mm'lik engelleme mesafesiyle durdurulmuştur. Bunun yanında *Biscogniauxia mediterranea*, *Cytospora ribis*, *Diplodia seriata*, *Lasiodyplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina* ve *Neoscytalidium dimidiatum* gibi hızlı gelişen türler ise en az 10 mm'lik zon mesafesiyle engellenmişlerdir.

Gelecek çalışmalarda *P. fructuariae-cellae*'nin sera ve bağ koşullarındaki antagonistik performansının ve budama yaralarındaki tutunabilme olanaklarının incelenmesi gerekmektedir. Ulaşılabilecek sonuçlara göre, bu türün bağcılıkta ekonomik kayıplar sonuçlayan patojenlerin biyolojik mücadelesinde kullanılabilmesi mümkün olabilecektir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin boyunca bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bilgi, beceri ve tecrübelerini paylaşarak çalışmamın sonuçlandırılmasına katkı sağlayan tez çalışmamın her aşamasında sabırla yardımlarını esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL'e teşekkür ederim.

Değerlendirme aşaması için zaman ayırarak katkı ve önerilerde bulunan jüri üyesi hocalarım Prof. Dr. Ali ERKILIÇ ve Sayın Doç. Dr. Mustafa KÜSEK'e teşekkür ederim. Çalışmaların yürütülmesi için bölüm olanaklarını kullanma imkân sağlayan Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Başkanlığı'na, projeyi maddi yönden destekleyen Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve eğitim hayatım boyunca her anlamda beni destekleyerek bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan başta aileme ve tüm sevdiklerime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Hastalık Yaygınlığı ve Etiyolojisiyle İlgili Çalışmalar	5
2.2. HastalığınBiyolojik Mücadelesiyle İlgili Çalışmalar	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Sörvey Çalışması	15
3.2. Odunsu DokulardanFungusların İzolasyonu.....	16
3.3. Fungal İzolatların Klasik ve Moleküler Tanısı	17
3.4. Patojenisite Testi.....	19
3.5. İkili Kültür Testi ile Antagonizmin Belirlenmesi	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	23
4.1. Sörvey Sonuçları ve Hastalığın Bölgedeki Durumu	23
4.2. Fungal İzolasyon Sonuçları ve Elde Edilen Türler	25
4.3. Patojenisite Testi Sonuçları.....	34
4.4. İkili Kültür Testleriyle Fungal İzolatların Antagonistik Etkileşimleri.....	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	53



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Fungal izolatların moleküler tanısında kullanılan universal primerler	18
Çizelge 3.2. PCR için programlanan thermocycler koşulları.....	19
Çizelge 4.1. Gaziantep bağlarında lokal kuruma ve geriye doğru ölüm hastalığının görülme sıklığı (%).....	23
Çizelge 4.2. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili funguslar, yaygınlıkları ve izole edilme oranları (yaygınlık oranlarına göre sıralanmıştır).....	25
Çizelge 4.3. Gaziantep bağlarındaki endofitik funguslar, yaygınlıkları ve izole edilme oranları (yaygınlık oranlarına göre sıralanmıştır)	27
Çizelge 4.4. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenik funguslar ve GenBank kayıt numaraları	29
Çizelge 4.5. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenik funguslar ve GenBank kayıt numaraları	31
Çizelge 4.6. PDA besi yerinde patojen ve endofitler arasında, 15 günlük inkübasyonla oluşan engelleme mesafeleri (mm).....	38



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	Gaziantep ilinde, inceleme yapılan bağların bulunduğu noktalar	15
Şekil 3.2.	Asmalardan doku örnekleme ve 3-4 yıllık, nekrotik dokular	16
Şekil 3.3.	Patojenisite testinde kalemlerin inokulasyonu ve fidan torbalarına dikimi	20
Şekil 3.4.	Torf-perlit ortamında geliştirilen 3 aylık asma fidanları	20
Şekil 3.5.	İnokule edilen kalemlerde lezyon ölçümü.....	21
Şekil 3.6.	İkili kültür testinde agar disklerin (sol) ve spor süspansiyonunun inokulasyonu (sağ)	22
Şekil 4.1.	<i>Biscogniauxia mediterranea</i>	34
Şekil 4.2.	Fungal izolatların Cardinal çeşidi dormant asma kalemlerinde oluşturduğu lezyon uzunlukları (mm)	35
Şekil 4.3.	Endofitlerle asma gövde patojenleri arasındaki ortalama engelleme mesafeleri (mm)	39
Şekil 4.4.	<i>Penicillium fructuariae-cellae</i> 'nin bazı patojenlerin koloni gelişimini engellemesi	41



SİMGELER VE KISALTMALAR

cm	: Santimetre
mm	: Millimetre
%	: Yüzde
µl	: Mikrolitre
°C	: Santigrat derece
CTAB	: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
dk	: Dakika
EF1- α	: Translation Elongation Factor
Kg	: Kilogram
L	: Litre
LSD	: Least Significant Difference
LSU	: LargeSub-unit
mA	: Miliamper
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
nm	: Nanometre
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDA	: Patates Dekroz Agar
rpm	: Revolutions Per Minute
sn	: Saniye
sp.	: Tür
spp.	: Türler
TAE	: Tris Asetat EDTA
UV	: Ultraviyole
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit

ITS : Internal Transcribed Spacer



1. GİRİŞ

Asmalarda fungal gövde hastalıkları, son yıllarda ülkemizde ve dünyadaki bağ alanlarında artış gösteren önemli hastalıklardır. Bu hastalıklar 1800'lü yılların sonundan itibaren bilinmesine karşın, asma sağlığına olan önemi ancak 1990'larda fark edilmeye başlanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar asmalarda fungal gövde hastalıklarının ekonomik açıdan zarar veren önemli hastalıklar olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin; Güney Avustralya'daki Shiraz bağlarının %47'si bu hastalıklardan etkilenerek dekar başına 150 kg'lık ürün kaybı yaşandığı ve bunun dekara ortalama 280 Dolar'lık ekonomik kayba karşılık geldiği bulunmuştur (Wicks ve Davies 1999). Benzer şekilde, Fransa'daki bağların %12'sinin bu hastalıklar nedeniyle ekonomik olmaktan çıktığı ve bunun ülke tarımına yaklaşık bir milyar Euro'luk kayba yol açtığı belirlenmiştir (Lorch 2014).

Bugün 34 farklı cinse bağlı 133 fungal türün asma gövde hastalıklarıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Gramaje ve ark. 2018). Bu türlerin yaklaşık olarak %20'sini Botryosphaeriaceae familyasına ait türler oluşturmaktadır. Taksonomik olarak *Botryosphaeriaceae* familyası dünyada ilk kez 1918 yılında kurulmuştur. Pekçok bitkide bulunduğu gibi asmada bu familyanın var olan türlerinden biri (*Diplodia mutila*) 1964 yılında Kanada'da bulunmuş (Chamberlain ve ark., 1964), o tarihten bu yana farklı türler keşfedilmiştir. El-Goorani ve El-Meleigi (1972) Mısır'da *Lasiodiplodia theobromae*'yi lokal kuruma belirtisi gösteren omcalardan izole ederek patojenisitesini doğrulamış ve ülkedeki varlığını rapor etmişlerdir. Lehoczky (1974) tarafından Macaristan'da *Diplodia mutila* türü hem yetişkin asmalardan hem de fidanlıklardaki satışı hazır asmalardan izole edilerek patojenisitesi doğrulanmıştır. Macaristan'da o yıldan itibaren hastalığın adı siyah ölü kol olarak geçmeye başlamıştır. Bu hastalık daha sonraları Şili (Latorre ve ark., 1986), İtalya (Rovesti ve Montermini, 1987), Amerika Birleşik Devletleri (Leavitt, 1990), Brezilya (Filho ve ark., 1995), Fransa (Larignon ve Dubos, 1997), Portekiz (Phillips, 1998) ve Avustralya'da rapor edilmiştir. Ülkemiz bağlarında ise

Botryosphaeria Geriye Ölüm Hastalığı ilk kez Ege Bölgesi'nde saptanmıştır (Akgül ve ark., 2014).

Asma üzerinde şimdiye kadar *Diplodia*, *Dothiorella*, *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Neoscytalidium*, *Phaeobotryosphaeria* ve *Spencermartinsia* cinslerine bağlı 26 farklı türün lokal kuruma, geriye ölüm ve odun nekrozuyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Gramaje ve ark., 2018). Bu türler asmalarda latent halde bulunabildikleri gibi en hafif bir bitki stresi, bunları patojen formuna geçirebilmektedir. İnfekteli asmalarda ilkbahar mevsiminde uyanma bozuklukları, sürgünlerde geriye ölüm, gözler ve xylemde nekrozlar meydana gelebilir. Ancak yaygın belirti odun dokudaki kama şeklindeki kahverengi nekrozlardır. Doğada bu patojenlerin infeksiyonlarını takiben 1-2 yıl içinde hastalık belirtileri görülmekte olup daha çok 8 yaşından büyük asmalarda bariz bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda yapılan bazı araştırmalarda 3-5 yaşındaki sofralık üzüm bağlarında bu belirtilerin görülebileceği belirlenmiştir (Urbez-Torres ve ark., 2006).

Çoğunlukla asmanın odun dokularına kolonize olan bu türlerin mücadelesi oldukça güç olup, yerleşik enfeksiyonların tedavisi mümkün değildir. Dünya genelinde 2000'li yılların başında sodyum arsenit'in yasaklanmasıyla hastalık ortaya çıkmış ve buna ikame olacak alternatif bir fungusit henüz bulunamamıştır. Bununla ilişkili olarak bitki patoloğları, hastalıkların biyolojik mücadelesini esas alan alternatif arayışlara yönelmişlerdir.

Endofitik mikroorganizmalar; bitki içerisinde var olan, yaşamının herhangi bir döneminde, bitkide herhangi bir hastalık belirtisi oluşturmayan ve bitkilerle birlikte yaşayan organizmalardır (Schulz ve Boyle 2005). Çoğunlukla bakteri ve fungusların oluşturduğu bu organizmalar bitki içerisinde veya üzerinde büyürken, bitkilerin karbon kaynaklarını dengeli bir şekilde kullanırlar. Bu esnada bitki dokularını kolonize ederken çeşitli enzimler ve sekonder metabolitler üretirler. Bu ve buna benzer mekanizmalar bitki fizyolojisini olumlu ya da olumsuz yönde etkileyebilir. Ayrıca endofitik funguslar bitki içerisindeki diğer mikroorganizmalarla etkileşime girerek onların faaliyetlerini baskılayabilir ya da

teşvik edebilirler (Porras-Alfaro ve Bayman 2011). Hindistan’da yürütülen bir çalışma, asmalardan izole edilen *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botryosphaeria*, *Fusarium* ve *Xylaria* türlerine ait bazı endofitik izolatların fenolik bir bileşik olan resveratrol sentezlediklerini ortaya çıkarmıştır (Dwibedi ve Saxena 2019). Bu bileşik konukçu bitkiyi biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı koruyan ve ayrıca insan sağlığına yararı olan bir bileşiktir (Chong ve ark., 2009). Bitki iç dokularındaki fungal flora bitkinin yaşı, bitkinin farklı organları, çeşidi, bulunduğu bölgenin iklimi ve o bölgede takip edilen ürün yetiştirme yöntemlerine göre değişiklik gösterebilir. Hatta fungal endofitin izole edildiği fenolojik dönem dahi bu değişiklikte rol oynayabilir (Varanda ve ark., 2016).

Asma fidanı üretiminde kullanılan kalem-çelik gibi vejetatif materyallerin sağlığı, tesis edilecek bağdaki asmaların ömrünü doğrudan etkiler. Dormant materyallerin patojenlerden arı ve yararlı endofitik flora yönünden zengin olması arzu edilmektedir. Yöresel veya standart üzüm çeşitlerinin ve aynı zamanda asma fidanlarının üretildiği bir bölgede bağların, fungal gövde patojenleri ve yararlı endofitler yönünden taranması önemlidir. Türkiye İstatistik Kurumu’nun 2019 yılı verilerine göre Gaziantep ili, sahip olduğu bağ alanı ve üzüm üretim miktarı bakımından 7. sırada yer almakta ve bölgede sofralık ve kurutmalık üzüm yetiştirilmektedir (Anonim 2019). Bu ilde şimdiye kadar asma virüs ve viroidlerinin araştırıldığı bazı çalışmalar mevcut olmakla birlikte, asmalarda fungal gövde patojenleri ve bunların endofitik antagonistlerini ele alan bir çalışma henüz mevcut değildir. Bu nedenle Gaziantep bağ alanlarında bu tarzda bir çalışmaya gerek duyulmuştur.

Bu çalışmanın amaçları; Gaziantep bağ alanlarında Botryosphaeriaceae türleri ve diğer fungal gövde patojenlerini saptamak ve elde edilen patojenlere karşı antagonistik potansiyeli olan endofitik fungusların *in vitro* etkinliğini belirlemektir.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Asmada *Botryosphaeriaceae* familyasına bağlı türlerle yapılan çalışmalar yaklaşık 60 yıl öncesine dayanmaktadır. O tarihten bu yana türlerin taksonomisi, patojenisiteleri ve neden oldukları hastalığın mücadelesiyle ilgili pekçok çalışma yapılmış, tez konusuyla ilişkili olanlar özetlenmeye çalışılmıştır.

2.1. Hastalık Yaygınlığı ve Etiyolojisiyle İlgili Çalışmalar

Wood ve Wood (2005) Batı Avustralya'nın Carnarvon Bölgesi bağlarında *Botryosphaeria* Geriye Ölüm Hastalığı'nın oldukça yaygın olduğunu tespit etmişlerdir. *Botryosphaeria rhodina* ve *B. ribis* türlerinin saptandığı bu çalışmada, 1997-2004 yılları arasında ortalama hastalık çıkışı %0-40 arasında değiştiği bulunmuştur.

Urbez-Torres ve ark., (2006) tarafından yapılan bir çalışmada California eyaletindeki bağ alanlarında *Botryosphaeria* Geriye Ölüm Hastalığı'nın %89.2'lik yaygınlığa sahip olduğu bulunmuştur. Mikolojik çalışmalar bu bölgede *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum australe*, *N. luteum* ve *N. parvum* türlerinin var olduğunu ortaya koymuştur. Yaygınlık bakımından asma gövde hastalıklarıyla ilişkili diğer türlerden *Diaporthe ampelina*, *Eutypa lata* ve *Phaeoacremonium* türleri takip etmiştir.

Avustralya'nın iki farklı bölgesindeki bağlarda yapılan bir sorveyde *Botryosphaeriaceae* türlerinin varlığı incelenmiş ve bu bölgedeki asmaların *B. dothidea*, *Diplodia seriata*, *D. mutila*, *L. theobromae*, *Dothiorella viticola*, *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, *N. parvum* ve *N. ribis* ile infekteli oldukları saptanmıştır. Hastalık belirtisi göstermeyen dormant gözler, çiçek, koruk ve olgun meyvelerden yapılan izolasyonlarda bu patojenlerden en az biri veya daha fazlası tespit edilirken, *Botryosphaeriaceae* türlerinin asmada belirli bir dokuya özelleşmediği anlaşılmıştır (Wunderlich ve ark., 2008).

Meksika'nın Sonora ve Baja California bölgesi bağ alanlarında yapılan bir sörvey çalışmasında toplam 19 bağ incelenmiş ve kuruma belirtisi gösteren asmalardan doku örnekleri alınmıştır. Yapılan izolasyonlarda *Botryosphaeria* Geriye Ölüm Hastalığı'yla ilişkili *Diplodia seriata* ve *Lasiodyplodia theobromae* türleri saptanmıştır. Baja California'daki örneklerin %38'inde *D. seriata*, %16'sında *L. theobromae* türleri izole edilirken, Sonora'dakilerden yalnızca *L. theobromae* türü bulunmuştur (%80.5). Her iki bölgeden alınan nekrotik dokularda bu türlerin karışık infeksiyonlarına rastlanmamıştır (Urbez-Torres ve ark., 2008).

Avustralya'nın güney ve güneydoğusundaki toplam 91 bağda yürütülen sörvey çalışmasında *Botryosphaeria* Geriye Ölüm Hastalığı'nın yaygınlığı %98 olarak bulunmuştur. Laboratuvar çalışmalarında *Diplodia seriata*, *Diplodia mutila*, *Lasiodyplodia theobromae*, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum australe*, *Botryosphaeria dothidea*, *Dothiorella viticola* ve *Dothiorella iberica* türleri elde edilirken, bölgedeki kurumaların ağırlıklı olarak *Botryosphaericaeae* türlerinden kaynaklandığı belirlenmiştir (Pitt ve ark., 2010).

Qiu ve ark., (2011) Avustralya'nın doğusunda, ortalama hava sıcaklıklarının hayli yüksek olduğu Hunter Vadisi bağ alanlarında bir sörvey çalışması yürütmüşler ve bu bölgede lokal kuruma ve geriye ölüm belirtisi gösteren asmaları incelemişlerdir. Yaşları 16 ila 66 yıl arasında değişen asmalardan toplam 450 doku örneği alınmış ve bu örnekler laboratuvarında klasik ve moleküler tanı işlemlerine tâbi tutulmuştur. Çalışma sonunda, örnek alınan asmaların %36'sını *Botryosphaeriaceae*, %30'unun *Phaeoacremonium*, %22'sini *Greeneria uvicola*, %4'ününün *Phaeomoniella chlamydospora* ve %7'sini *Phomopsis viticola* ile enfekteli olduğunu tespit etmişlerdir. *Botryosphaeriaceae* familyası içerisinde en sık karşılaşılanlar sırasıyla *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*, *Botryosphaeria dothidea* ve *Lasiodyplodia theobromae* türleri olmuştur.

Çin'in 17 farklı eyaletindeki bağlarda *Botryosphaeriaceae* türlerinin araştırıldığı bir çalışmada 320 nekrotik doku toplanmıştır. İzolasyon çalışmalarıyla

bu dokuların 150'sinde *B. dothidea* türü izole edilmiş ve bu türün diğer türlere göre hayli yaygın olduğu bulunmuştur (Yan ve ark., 2012).

Yeni Zelanda'nın kuzeyindeki 43 farklı bağda yapılan incelemelerde kuruma ve geriye ölüm belirtisi gösteren asmaların %68'in *Botryosphaeriaceae* türlerinde en az biri ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Toplam 238 nekrotik dokunun incelendiği laboratuvar çalışmalarında toplam 336 izolat elde edilmiştir. Moleküler tanı çalışmalarıyla toplam 9 farklı *Botryosphaeriaceae* türünün elde edildiği saptanırken bunların %34'ünü *Neofusicoccum parvum*, %18'ini *Diplodia mutila*, %16'sını *D. seriata*, %14'ünü *N. luteum*, %11'ini *N. australe*, %3'ünü *N. ribis*, %2'sini *Dothiorella iberica* ve geriye kalan %2'sini ise *Botryosphaeria dothidea* ve *Dothiorella sarmentorum* türleri oluşturmuştur (Baskarathevan ve ark., 2012).

Correia ve ark., (2013) Brezilya'nın doğusunda 2010 yılında yürüttükleri bir çalışmada asma fidanlıkları ve yetişkin bağlardaki fungal kökenli kurumaları incelemişlerdir. Ortalama 60 farklı doku örneğinden yapılan izolasyonlarda, fungal gövde hastalıklarına neden olan çok sayıda patojenik tür izole edilmiştir. Ağırlıklı olarak *Botryosphaeriaceae* türü funguslardan; *Botryosphaeria mamane*, *L. theobromae*, *L. crassispora*, *L. parva*, *L. pseudotheobromae*, *Neofusicoccum parvum* türleri bulunmuş ve bunlardan *L. theobromae* ve *N. parvum*'un diğerlerine oranla daha sık izole edildiği bildirilmiştir. Bunlardan başka *Campylocarpon fasciculare*, *C. pseudofasciculare*, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum* ve *Phaeoacremonium parasiticum* türleri de saptanmış ve bu türlerin Karabacak Hastalığı ve Esca Sendromu ile ilişkili türler olduğu belirlenmiştir.

Uruguay'daki bir çalışmada *Botryosphaeria* Geriye Ölüm belirtisi gösteren asmalar ve herhangi bir belirtinin görülmediği anaçlıklardaki tür kompozisyonu incelenmiştir. Filogenetik analizler ve klasik tanı çalışmaları ile *Neofusicoccum parvum*, *N. kwambonambiense*, *N. australe* ve *Lasiodiplodia theobromae* türlerinin

ülkedeki varlığı saptanırken, bu türlerin hem simptomatik asmalar hem de asimptomatik çeliklerden izole edildikleri vurgulanmıştır (Abreo ve ark., 2013).

Mohammadi ve ark., (2013) İran'ın farklı bölgelerinde, yaşları 4-35 arasında değişen 41 bağda sörvey çalışmaları yapmışlar ve lokal kuruma ve geriye ölüm belirtisi gösteren asmaları incelemişlerdir. Nekrotik dokulardan yapılan izolasyonlarda 15 *Diplodia seriata* ve 12 *Neofusicoccum parvum* izolatu elde edilmiştir. Bunlardan başka aynı asmalardan *Phaeoconiella chlamydospora* ve *Phaeoacremonium aleophilum* türleri de saptanmış ve patojenisite testine alınan tüm türlerin hayli virulent oldukları belirlenmiştir.

Akgül ve ark., (2015) Ege Bölgesi Sultani Çekirdeksiz bağ alanlarında asma gövde hastalıklarını inceledikleri çalışmalarında, lokal kuruma ve geriye ölüm belirtisi gösteren omca oranının %2.0-4.2 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Mikolojik çalışmalar sonucunda *Botryosphaeria Geriye Ölüm Hastalığı*'yla ilişkili 4 farklı tür (*B. dothidea*, *D. seriata*, *L. theobromae* ve *N. parvum*) tespit edilmiştir. Bu türler ortalama %1.3-19.7 arasında değişen oranlarda izole edilmişlerdir.

İtalya'nın Foggia Bölgesi bağ alanlarında 2012-2013 yıllarında yürütülen bir sörvey çalışmasında, *Botryosphaeria Geriye Ölüm Hastalığı*'nın görülme sıklığı %5.2-23.8 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada 60 *Botryosphaeria*-benzeri izolat elde edilirken bunların %84'ünü *Diplodia seriata*, %4.2'sini *Neofusicoccum parvum*, %2.7'sini *Lasiodiplodia theobromae*, %2.3'ünü *B. dothidea* ve %2.1'ini *L. citricola* türleri oluşturmuştur. Geriye kalan %4.2'lik oranın *D. corticola*, *D. mutila*, *Dothiorella iberica* ve *Dothiorella sarmentorum* türlerine ait olduğu belirlenmiştir (Carlucci ve ark., 2015).

Tarsus (Mersin) ilçesindeki bağ alanlarında 2018 yılında yapılan bir sörveyde, toplam 50 bağ incelenmiş, lokal kuruma ve geriye ölüm belirtilerinin açıkça görüldüğü bağların oranı %14 olarak bulunmuştur. Laboratuvar çalışmaları sonucunda toplam 21 *Botryosphaeriaceae* türü fungus izolatu elde edilirken, bunların %61.9'unu *Diplodia seriata*, %23'8'ini *Lasiodiplodia pseudotheobromae*,

%4.8'ini *L. theobromae* ve %14.3'ünü ise *Neofusicoccum parvum* türleri oluşturmuştur (Güler ve Akgül, 2020).

2.2. Hastalığın Biyolojik Mücadelesiyle İlgili Çalışmalar

Brezilya'da yapılan bir çalışmada *Vitis labrusca* türü asmadan izole edilen çok sayıda endofitik fungusun inhibe edici etkisi, *in vitro*'da bir kök patojeni olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *herbemontis*'e karşı incelenmiştir. *Aporospora*, *Aureobasidium*, *Bjerkandera*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Epicoccum*, *Flavodon*, *Fusarium*, *Guignardia*, *Lenzites*, *Paraphaeosphaeria*, *Phanerochaete*, *Phyllosticta*, *Pleurotus*, *Preussia*, *Tinctoporellus* ve *Xylaria* cinsi endofitlerin saptandığı çalışmada, izolatların %52'si potansiyel antagonistler olarak ön plana çıkmıştır. Bunlardan bazı *Colletotrichum gloeosporioides* ve *Flavodon flavus* izolatları %77'nin üzerinde baskılayıcı etki göstermiştir (Brum ve ark., 2012).

Varanda ve ark. (2016) Portekiz'de Syrah, Cabernet Sauvignon ve Aragonez çeşitleriyle kurulu, geleneksel ve organik yetiştiricilik yapılan iki farklı modelde, asmalardaki fungal endofitleri incelemişlerdir. Toplam 12 farklı bağdan yapılan izolasyonlarda 10 farklı cinse bağlı (*Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Epicoccum*, *Gloeotinia*, *Nigrospora* ve *Penicillium*) 16 farklı türde endofitik fungus elde edilmiştir. Organik tarım yapılan bağlardaki endofitik çeşitlilik, geleneksel tarım yapılanlara göre daha zengin bulunmuş, bunun sebebinin ise kullanılan kimyasallarla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür.

Pinto ve ark., (2018) asmalardan izole ettikleri bazı endofitik *Aureobasidium pullulans* izolatlarının bitkiyi kolonize etme şekli ve *Diplodia seriata*'yı *in vitro*'da engelleme potansiyelini araştırmışlardır. Yapraktan izole edilen *A. pullulans*'ın, daha sonra yapılan inokulasyonla, bitki köklerini de kolonize edebildiği ve yaprak dokularına kadar ulaştığı görülmüştür. Bu endofit çeşitli antibiyotikler üreterek çeşitli oranlarla, *D. seriata*'nin hifsel gelişimini de azaltmıştır. En güçlü *A. pullulans* izolatı (F98.1) yapay besi yerinde %33.4'lük engelleme sergilemiştir. Bununla birlikte farklı virülenslikteki *D. seriata*

izolatlarının *A. pullulans*'tan etkilenme oranları da farklılık göstermiştir. En virüent *D. seriata* izolatı (Ds99.7), en güçlü *A. pullulans* izolatından ancak %7.9'luk bir etkiyle engellenebilmiştir. Bu olayda hem antagonist hem de patojenik izolatlar arasında önemli farklılıkların bulunabileceği gösterilmiştir.

Portekiz'de yürütülen bir çalışmada Cabernet Sauvignon çeşidi asmaların tek yıllık odunsu sürgünlerindeki fungal mikrobiyom, yeni nesil sekanslama teknolojisiyle incelenmiştir. Fungal endofitlerden *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Cladosporium* sp. ve *Aureobasidium pullulans* türlerinin sürgünlerde en yaygın bulunan endofitler olduğu belirlenmiştir. Bunların asma fidanlarına birlikte inokule edilmesiyle, bir gövde patojeni olan *Phaeomoniella chlamydospora*'nın kolonizasyonunu önemli ölçüde (kontrole göre 12 kat) azalttığı bulunmuştur (Del Frari ve ark., 2019).

Dwibedi ve Saxena (2019) Hindistan'ın farklı bölgelerindeki Merlot, Syrah, Pinot Noir ve Muscat çeşidi asmalardan yaprak ve gövde örnekleri olarak endofitik fungal florayı incelemişlerdir. Toplam 145 fungal izolatın elde edildiği çalışmada ağırlıklı olarak *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botryosphaeria*, *Fusarium* ve *Xylaria* türü funguslar elde edilirken bunlardan 44'ünün çeşitli fenolik bileşikler sentezledikleri fark edilmiştir. Çalışmanın detaylandırılmasıyla bu türdeki funguslara ait 13 izolatın sıvı besi yerinde resveratrol ürettikleri saptanmış, en yüksek resveratrol sentezinin *Fusarium equiseti*'nin bir izolatından (199VVLPM) elde edilmiştir. Bu çalışma endofitik türlerin patojenlerin inhibisyonundan başka aynı zamanda bitki fenoliklerine de katkıda bulunduğunu vurgulamıştır.

Görür ve Akgül (2019) Tarsus, Tokat ve Manisa'dan, Prima çeşidi asma kalemlerindeki kültüre alınabilir endofitik fungal florayı belirlemişler, bunların *Neofusicoccum parvum*'un koloni gelişimine antagonistik etkilerini ortaya koymuşlardır. Her üç bölgeden ağırlıklı olarak *Alternaria alternata*, *Acremonium*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Geosmithia* sp. Ve *Quambalaria cyanescens* türleri, bunların yanında bir adet *Trichoderma atroviride* izole edilmiştir. İkili kültür testinde *T. atroviride* izolatı *N. parvum*'un miselial

gelişimini %69 oranında engellerken, diğer izolatların engelleme oranı %9.0-31.1 arasında değişim göstermiştir.

Carro-Huerga ve ark., (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, Tempranillo çeşidi asmaların gövdesinden izole edilen *Trichoderma* izolatlarının, Kav Hastalığı etmenlerinden *Phaeoacremonium minimum*'a karşı antagonistik etkinliği araştırılmıştır. İkili kültürde etkili bulunan *Trichoderma* izolatu ve patojen fungus matkapla açılmış yaralardan asma fidanlarına inokule edilmiştir. Yaklaşık 12 hafta sonra yapılan değerlendirmede, *Trichoderma* izolatının xylem boruları ve odun dokuları kolonize edebildiği tespit edilmiştir. Bu izolat *P. minimum*'a karşı yer rekabeti, hifsel sarılış ve sporların patojen hiflerine tutunuşu gibi mekanizmalarla hastalık oluşumunu azaltmıştır.

Fransa'nın Bordeaux kentinde yapılan bir araştırmada orman kenarındaki bağlar ve orman ağaçlarındaki *Botryosphaeriaceae* türleri ve fungal endofit çeşitliliği incelenmiştir. Standart izolasyon ve tanı çalışmalarıyla patojenik özellikte *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia corticola*, *D. intermedia*, *D. mutila*, *D. sapinea*, *D. seriata*, *Eutypa lata*, *Lasiodiplodia vitis* ve *Neofusicoccum parvum* türleri saptanırken, endofitik funguslardan *Alternaria* sp., *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium* sp., *Epicoccum nigrum* ve *Phoma* türlerinin ağırlıklı olduğu bulunmuştur. Yeni nesil sekanslama teknolojisi ile alınan sonuçlara göre, bağlardaki toplam *Botryosphaeriaceae* tür sayısının orman ağaçlarındakilere oranla daha fazla olduğu, buna karşın orman ağaçlarındaki endofit türlerin bağlardan elde edilenlere göre daha zengin olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar bağlardaki hastalık yönetiminin asma mikrobiyomunu önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymuştur (Laurent ve ark., 2020).

Almeida ve ark.,(2020) Portekiz'in Alentejo Bölgesi'ndeki 3 farklı bağda, asmaların kök, petiol ve odunsu gövdelerindeki endofitik ve patojenik florayı ve bunların arasındaki interaksiyonları incelemiştir. Toplam 39 farklı türün saptandığı laboratuvar çalışmalarında, 9 türün (*Truncatella angustata*, *Cytospra acaciae*, *Diplodia pseudoseriata*, *Neofusicoccum parvum*, *Stereum armeniacum*,

Hormonema viticola, *Phialophora fastigiata*, *Diaporthe* sp. ve *Pestalotiopsis* sp.) asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenler, geriye kalanların ise endofitik türler olduğu bulunmuştur. İkili kültür çalışmaları *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Clonostachys rosea*, *Epicoccum nigrum*, *Trichoderma* ve *Penicillium* türlerinin *in vitro*'da patojenik fungusları %30.7-62.6 arasında değişen oranlarda engelledikleri belirlenmiştir.

Deyett ve Rolshausen (2020) Kaliforniya'daki bir bağda bulunan asmaların toprak, rizosfer, kök endosferi, kordon, kalem ve bitki özsuyundaki mikrobiyomu detaylı olarak incelemişler. Elde edilen fungal mikrobiyomun ağırlıklı olarak (%80) Ascomycota şubesi üyeleri olduğunu saptamışlardır. *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mortierella* cinsleri yaygın olarak bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca rizosferden saptanan türlerin %28'inin daha sonra bitkinin toprak üstünde bulunan mikoflorayı oluşturduğu belirlenmiş, böylece endofitik türlerin çeşitli yollarla bitkiye giriş yapabildiği doğrulanmıştır.

Silva-Valderrama ve ark. (2021) Şili'deki ticari Cabernet Sauvignon ve Chardonnay bağlarındaki asmaların rizosferik funguslar ve gövdelerindeki endofitik türlerin asma gövde hastalıklarıyla ilişkili türlerle etkileşimlerini incelemişlerdir. Toplam 378 izolatin elde edildiği çalışmada *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Clonostachys rosea*, *Epicoccum nigrum*, *Purpureocillium lilacinum* ve *Trichoderma* türleri *in vitro*'da patojenik *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum* ve *Phaeoconiella chlamydospora*'ya karşı antagonistik kabiliyetleri test edilmiştir. Endofitik türlerden *Clonostachys rosea* ve *Trichoderma*'nın bazı izolatları patojen fungusların gelişimini kaydadeğer oranda (%98.2-100) baskılamıştır. *C. rosea*'daki bu etkinin geliştiği ortama metabolitler salgılama, hifsel parazitizm ve yer rekabetinden kaynaklandığı ispatlanmıştır.

Blundell ve ark., (2021) Kaliforniya Davis'teki bir bağda (*V. vinifera*, Chenin Blanc) hem sağlıklı hem de asma gövde hastalıklarının belirtilerini gösteren omcaların öz suyundaki bakteriyel ve fungal florayı incelemişlerdir. Endofitik antagonistlerin inhibe edici etkileri hem ikili kültür hem de uçucu antibiyotik

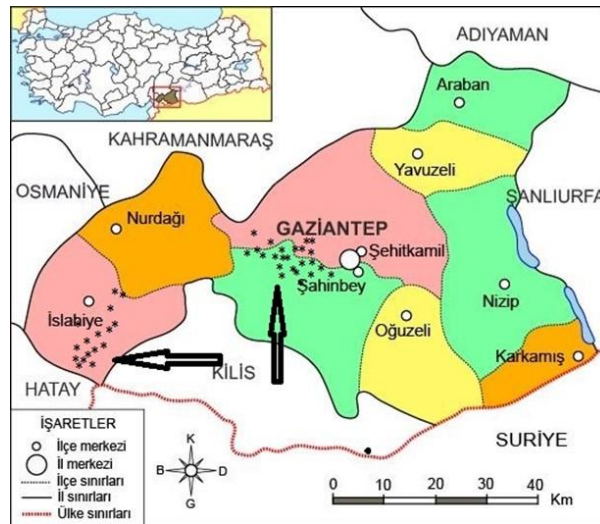
testleriyle incelenmiştir. Fungal endofitlerden *Aureobasidium pullulans*'ın çoğu izolatu etkisiz bulunmuştur. Ancak iki izolat *Neofusicoccum parvum*, *Eutypa lata* ve *Diaporthe ampelina*'nın gelişimine antagonistik özellik göstermezken, *Diplodia seriata*'yı inhibe etmiştir. Bundan başka *Trichoderma* ve *Bacillus* izolatları bu patojenlerin gelişimini kaydadeğer oranda engellemiştir. *Trichoderma* izolatları *E. lata*'nın miseloyal gelişimini %64, *N. parvum*'unkini ise %73 oranında inhibe etmiştir. Benzer şekilde *Bacillus* izolatları yapay besi yerinde *E. lata*'yı %20, *N. parvum*'u ise %40 oranında inhibe edebilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Sörvey Çalışması

Sörvey çalışması Gaziantep ili İslahiye, Şahinbey ve Şehitkamil ilçelerindeki bağlarda (Şekil 3.1), Eylül 2020’de yürütülmüştür. Toplam 51 bağın incelendiği sörvey çalışmasında ortalama 10 dekar büyüklüğündeki bağlara girilerek, sağlıklı omcalar ve asma gövde hastalıklarının belirtilerini (lokal kuruma, geriye ölüm, apopleksi, çizgili-nekrotik yapraklılık) gösteren omcalar sayılmıştır. Telli ya da guyot terbiye tipi (yer bağı) fark etmeksizin, iki kenardan dörder ve ortadan dört sıra olmak üzere hem sağlam hem de simptomatik asmaların tamamının sayısı kaydedilmiştir (Akgül ve ark., 2015). Bölgedeki asma gövde hastalıklarının yaygınlığı (%); belirti görülen bağ sayısının, kontrol edilen toplam bağ sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur. Her bir bağdaki hastalık çıkışı (%); belirti gösteren omca sayısının, sayım yapılan tüm asmaların sayısına oranlanmasıyla hesaplanmıştır. İldeki ortalama hastalık çıkışına (%) ise, tüm bağlardaki hastalık çıkışının ortalaması alınarak ulaşılmıştır.



Şekil 3.1. Gaziantep ilinde, inceleme yapılan bağların bulunduğu noktalar (* işareti ile gösterilmiştir)

Nedensel patojenleri belirlemek amacıyla simptomatik asmaların 3-4 yıllık kalın dallarından, testere ya da budama makasıyla 10-15 cm uzunluğunda parçalar kesilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Asmalardan doku örnekleme ve 3-4 yıllık, nekrotik dokular

Bu parçalar kağıt torbalara konularak arazinin bulunduğu yer, asmanın çeşidi ve örnekleme tarihlerinin not edildiği etiket yapıştırılmış. Buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. İzolasyon yapıncaya kadar örnekler +4°C'de saklanmıştır.

3.2. Odunsu Dokulardan Fungusların İzolasyonu

Laboratuvara getirilen örneklerden fungal izolasyon yapmak için odun parçalarındaki kabuklar soyulmuş ve çeşme suyu ile yıkanmıştır. Kağıt havluyla kurutulan dokular budama makasıyla 3-4 cm'lik parçalara bölünerek, en az %5 aktif klor içeren sodyum hipoklorid (Hypo: Koruma Temizlik A.Ş.) çözeltisi ile 3 dakika süreyle dezenfekte edilmiştir (1:1 su ve hypo). Ardından iki kez steril distile su ile durulanan bu dokular, steril kurutma kağıtlarında 4-5 dakika kurutulmuş ve nekrotik alanlardan steril budama makasıyla 3-4 mm'lik parçalar kesilmiştir. Bu parçalar, litrede 250 mg streptomycin-sülfat bulunan PDA (Patates Dekstroz Agar)

besi yerinde kültüre alınmış (her bağ için 10 Petri kabı, her Petri kabına 7 doku) ve 25°C sıcaklık, 12 saat karanlık/aydınlık koşullarda 10 gün süreyle inkübe edilmiştir. Petri kapları günlük olarak kontrol edilerek, gelişen kolonilerden miseliyal agar parçacıkları alınmış ve saf koloniler elde edilmiştir. Bu kolonilere arşiv kayıt numaraları verilmiş, koloni görünümü ve mikroskopik özellikleri fotoğraflanmış ve ardından kağıt kültüre alınarak -20°C'de muhafaza edilmişlerdir. Morfolojik özellikler ve bazı mikroskopik görüntülere göre, funguslar familya, cins veya tür düzeyinde sayılarak not edilmiştir. Fungusların her bağdaki izole edilme oranı; 10 Petri kabındaki koloni sayısının, toplam doku sayısına (70) oranlanmasıyla bulunmuştur. Fungal cins veya türlerin bölgedeki izole edilme oranı; toplam izole edilme oranının, sörvey yapılan bağ sayısına (51) bölünmesiyle hesaplanmıştır.

3.3. Fungal İzolatların Klasik ve Moleküler Tanısı

Klasik tanı Crous ve Gams (2000); Barnett ve Hunter (2003); Mostertve ark., (2016); Lawrence ve Travadon (2018) ve Zhang ve ark., (2021)'e göre yapılmıştır. Bu tanıda koloni rengi, havai miselyum oluşturma özelliği, konidi ve konidiofor şekli, konidilerdeki uzantılar, büyüme hızı, piknidyum oluşumu ve pikniosporların şekli gibi hususlar incelenmiştir.

Moleküler tanı PCR, gen sekanslama ve web tabanlı standart nükleotid BLAST (Basic LocalAlignmentSearchTool®) taramasıyla gerçekleştirilmiştir. Bu tanı için ilk olarak, saf kültür halinde gelişen miselyumlardan DNA izolasyonu yapılmıştır (O'Donnell ve ark., 1998). Steril bisturi ile PDA yüzeyinde gelişen miselyum kazınarak (yaklaşık 50-60 mg) ezme poşetlerine koyulmuştur. El tipi homojenizatör yardımıyla, poşetin dışından, hifler mekanik olarak ezilmiş ve poşete 650 ml 2X CTAB (CetylTrimethylAmmoniumBromide: Merck) buffer eklenmiştir. Homojenize edilen süspansiyon, 1.5 ml'lik steril santrifüj tüplerine alınmış ve ardından 2 µl hacminde 2-mercaptoethanol (Merck) eklenerek vortex ile karıştırılmıştır. Tüpler 65°C'lik kuru-blok ısıtıcıda (BioSan TDB-100®, Litvanya)

1 saat süreyle inkübe edilmiştir. Ardından her tüpe 500 µl kloroform isoamyl-alkol (24:1) eklenerek 30 saniye karıştırılmıştır. Tüpler 14000 rpm hızda 10 dakika santrifüj edilmiş, üst katmandaki süspansiyondan 200 µl alınarak yeni tüplere transfer edilmiştir. Bu süspansiyona eşit hacimde yeniden kloroform isoamyl-alkol eklenerek karıştırılmış, aynı hız ve sürede yeniden santrifüj edilmiştir. Üst katmandan alınan 120 µl'lik süspansiyon yeni tüplere alınıp, üzerine soğuk isopropanol (2-propanol) eklenmiştir. Sonra tüpler -20°C'de 30 dakika tutulup, 15 dakika süreyle 14000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Tüplerdeki sıvı kısım atıldıktan sonra %70'lik soğuk etanol ile yıkanmış ve DNA pelleti 10 dakika, steril kabinde kurutulmuştur. Bu pelletler 50-60 µl PCR suyu ile sulandırılmış ve PCR aşamasına kadar -20°C'de saklanmıştır.

Genomik DNA üzerindeki en az bir, en fazla üç gen bölgesi; rRNA ITS (Internal Transcribed Spacer) ve LSU (Large Sub-unit) bölgeleri, TEF1- α (translation Elongation Factor 1- α) ve beta-tubulin bölgeleri, Çizelge 3.1'deki primer çiftleriyle çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.1. Fungal izolatların moleküler tanısında kullanılan universal primerler

Primerler	Baz Dizilimleri (5'→3')	Referans
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	(White ve ark., 1990)
ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	
LR0R	ACCCGCTGAACTTAAGC	(Vilgalys ve Hester, 1990)
LR5	TCCTGAGGGAAACTTCG	
EF1-728F	CATCGAGAAGTTCGAGAAGG	(Glass ve Donaldson, 1995)
EF1-986R	TACTTGAAGGAACCCTTACC	
Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC	(Glass ve Donaldson, 1995)
Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC	

Thermocycler cihazı (Simpli-Amp A24811: AppliedBiosys., Thermoscientific™) Çizelge 3.2'de belirtilen PCR koşullarına göre programlanmıştır.

Çizelge 3.2. PCR için programlanan thermocycler koşulları

PCR Aşamaları	ITS4/ITS5 ve EF1-728F/EF1-986R		Bt2a/Bt2b		LR0R/LR5	
	Sıcaklık ve Süre	Döngü Sayısı	Sıcaklık ve Süre	Döngü Sayısı	Sıcaklık ve Süre	Döngü Sayısı
Ön denatürasyon	95°C - 3 dk	1	95°C - 3 dk	1	95°C - 3 dk	1
Çoğaltım	95°C - 1 dk	35	95°C - 1 dk	35	95°C - 1 dk	35
	52°C - 1 dk		58°C - 1 dk		50°C - 75 sn	
	72°C - 1 dk		72°C - 1 dk		72°C - 1 dk	
Son uzama	72°C - 10 dk	1	72°C - 10 dk	1	72°C - 10 dk	1

PCR sonunda elde edilen ürünler %1.5'lük agaroz jelde (Intivitrogen™), 55 Volt gerilim, 250 mA akım şiddeti altında 2 saat ayrıştırılmış ve UV ışık altında (320 nm dalga boyu) görüntülenmiştir.

İzolatların nükleotid dizilimleri sanger gen dizileme yöntemiyle elde edilmiş, bu işlem hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir (MacroGen Co., Güney Kore). Dizileme sonrası alınan elektronik dosyalar, ChromasLite™ (Technesium) yazılımıyla kontrol edilmiş ve nükleotid dizilimleri web tabanlı BLASTn taramasıyla NCBI (National Center for Biotechnology Information, ABD) Gen Bankası'ndaki dizilerle karşılaştırılmıştır. Benzerlik oranlarına göre en az %99 benzerlikteki izolatlar, kendisine karşılık gelen türe göre tanılanmıştır. Farklı gen bölgelerine ait nükleotid dizilimleri NCBI GenBank'a kaydedilerek erişim numarası alınmıştır.

3.4. Patojenisite Testi

Tanısı yapılan fungal izolatlardan en az biri ile patojenisite testi yapılmıştır. Kültürler 8-10 gün süreyle PDA ortamında geliştirildikten sonra, steril cork-borrer ile 5 mm'lik miseliyal agar diskleri kesilmiştir. Dormant halde, 2-3 göz bulunan Cardinal çeşidi asma kalemleri (yaklaşık 30 cm) dipten ve uçtan küt kesilmiş, uç kısma miseliyal agar diskleri inokule edilerek streç-film ile sarılmıştır

(Ayres ve ark., 2011). Kontrol olarak bırakılan kalemlere steril agar diskleri inokule edilmiştir. Bu kalemler, içerisinde torf, perlit karışımı (2:1 oranında) bulunan 1 litrelik plastik fidan torbalarına dikilmişlerdir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Patojenisite testinde kalemlerin inokulasyonu ve fidan torbalarına dikimi

Kalemler 25°C sıcaklık, 12 saat aydınlık / karanlık ve %85 nispi nem koşullarında köklendirilmiş ve fidanlar 3 ay süreyle geliştirilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Torf-perlit ortamında geliştirilen 3 aylık asma fidanları

Bu süre sonunda inokule edilen kalemler bıçakla ortadan ikiye kesilerek odun dokuda oluşan lezyonların uzunlukları ölçülmüş ve fotoğraflanmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. İnokule edilen kalemlerde lezyon ölçümü

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 6 tekerrürlü olarak kurulmuş, her fidan bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. Lezyon uzunluklarına varyans analizi uygulanmış, ortalamalar arasındaki farklar %5'lik hata payı ile LSD testine göre değerlendirilmiştir. Kontroldeki kalemlerin uç kısmında, oksidasyona bağlı renk değişimi dikkate alınarak, bu tarzda lezyon oluşturan izolatlar endofit olarak değerlendirilmiştir.

3.5. İkili Kültür Testi ile Antagonizmin Belirlenmesi

Patojenisite testi ile endofit ya da patojen olarak ayrıştırılan fungal izolatların birbirlerine karşı olası antagonistik etkileri, PDA besi yerinde ikili kültür testleriyle belirlenmiştir. Endofit ve patojenlerin 5 mm'lik miseliyal agar diskleri, Petri kabının kenarından birer santimetre uzaklığa, karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. *Penicillium*, *Aspergillus* gibi yoğun sporlu endofitler PDA'ya spor süspansiyonu halinde inokule edilmişlerdir (Şekil 3.6). Bu izolatların konidiyal süspansiyonları (10^9 spor/ml) 1.5 ml'lik steril-plastik santrifüj tüplerinde, 1 ml steril distile suda bir damla tween 20 emülsiyonu eklenerek hazırlanmıştır. Süspansiyon vortex ile homojenize edildikten sonra 10 µl alınarak Petri kabının kenarından 1 cm uzaklığa, damla şeklinde inokule edilmiştir.



Şekil 3.6. İkili kültür testinde agar disklerin (sol) ve spor süspansiyonunun inokulasyonu (sağ)

Patojenik ve endofitik izolatların gelişim hızlarına göre, yavaş gelişen izolat inokule edildikten 3-4 gün sonra, karşısına hızlı gelişen izolat yerleştirilmiştir. Aynı hızda gelişenler Petri kabına aynı gün yerleştirilmişlerdir. Ayrıca patojen izolatların teksel olarak inokule edildikleri Petri kapları kontrol olarak bırakılmıştır. Bu kültürler 25°C sıcaklık ve 12 saat aydınlık / karanlık koşullarda en az 10-25 gün süreyle inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda iki koloni arasında inhibisyon zonu oluşmuşsa bu uzunluk milimetre cinsinden ölçülerek kaydedilmiş, fotoğraflanmış ve bariz zon oluşturan izolatlar antagonist olarak değerlendirilmiştir. İkili kültür testleri tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş, her bir Petri kabı bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. İnhibisyon mesafelerine varyans analizi uygulanmış, ortalamalar arasındaki farklar %5'lik hata payı ile LSD testine göre değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sörvey Sonuçları ve Hastalığın Bölgedeki Durumu

Gaziantep'in İslahiye, Şahinbey ve Şehitkamil ilçelerinde yürütülen sörvey sonuçları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. İncelenen 51 bağın tamamında lokal kuruma ve geriye doğru ölüm belirtilerinin var olduğu tespit edilmiş, ildeki hastalık yaygınlığının %100, ortalama hastalık görülme sıklığının %1.2 oranında olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Gaziantep bağlarında lokal kuruma ve geriye doğru ölüm hastalığının görülme sıklığı (%)

No	İlçeler	Köyler	Çeşit	Hastalık Çıkışı (%)
1		Yeniköy	Dimişki	0.5
2		Yeniköy	Dimişki	0.9
3		Yeniköy	Dimişki	1.4
4		Yeniköy	Hatunparmağı	0.9
5		Yeniköy	Hatunparmağı	0.7
6		Yeniköy	Hatunparmağı	1.0
7		Yeniköy	Hatunparmağı	2.2
8		Yeniköy	Horoz Karası	1.4
9		Yeniköy	Horoz Karası	0.9
10		Yeniköy	Horoz Karası	0.8
11		Şerikanlı	Hatunparmağı	0.3
12	İslahiye	Şerikanlı	Hatunparmağı	0.5
13		Şerikanlı	Hatunparmağı	0.8
14		Şerikanlı	Hatunparmağı	0.7
15		Şerikanlı	Hatunparmağı	3.0
16		Şerikanlı	Hatunparmağı	0.7
17		Şerikanlı	Hatunparmağı	1.3
18		Şerikanlı	Hatunparmağı	0.2
19		Şerikanlı	Horoz Karası	0.4
20		Şerikanlı	Hatunparmağı	0.3
21		Şerikanlı	Hatunparmağı	2.2
22		Şerikanlı	Hatunparmağı	0.9
23		Şerikanlı	Hatunparmağı	1.4
24		Şerikanlı	Hatunparmağı	0.3

Çizelge 4.2. Gaziantep bağlarında lokal kuruma ve geriye doğru ölüm hastalığının görülme sıklığı (%) devamı...

No	İlçeler	Köyler	Çeşit	Hastalık Çıkışı (%)
25		Yeniköy	Hatunparmağı	0.5
26		Yeniköy	Hatunparmağı	1.0
27		Yeniköy	Horoz Karası	0.4
28	İslahiye	Yeniköy	Hatunparmağı	0.6
29		Yeniköy	Hatunparmağı	0.3
30		Yeniköy	Hatunparmağı	0.9
31		Yeniköy	Hatunparmağı	1.5
ilçe ortalaması				0.9
32		Serince	Dımışkı	6.7
33		Serince	Dımışkı	3.8
34		Serince	Dımışkı	0.9
35		Çörekli	Dökülgen	2.4
36		Çörekli	Urumu	3.1
37		Çörekli	Horoz Karası	2.0
38		Çörekli	Dımışkı	1.2
39		Çörekli	Dımışkı	0.4
40	Şahinbey	Çörekli	Dımışkı	0.4
41		Çörekli	Dımışkı	0.6
42		Çörekli	Dımışkı	1.8
43		Çörekli	Dımışkı	0.5
44		Serince	Horoz Karası	0.3
45		Serince	Horoz Karası	1.3
46		Serince	Dımışkı	0.5
47		Serince	Dımışkı	0.8
48		Durantaş	Dımışkı	1.0
49		Durantaş	Dımışkı	3.1
ilçe ortalaması				1.7
50	Şehitkamil	Cerityapanı	Dımışkı	0.2
51		Cerityapanı	Dımışkı	0.5
ilçe ortalaması				0.4
Gaziantep ili ortalaması				Ort: 1.2

Bağlardaki hastalık çıkışı en düşük %0.3 en yüksek %6.7 oranları arasında gerçekleşmiştir. Şehitkamil’de ortalama hastalık çıkışı %0.4, İslahiye’de %0.9 ve Şahinbey’de %1.7 olarak hesaplanmıştır. Ege Bölgesi Sultani Çekirdeksiz bağlarındaki benzer bir çalışmada, lokal kuruma ve geriye doğru ölüm belirtisi gösteren asmalar %4.2’lik oranla en yüksek Menemen ilçesinde görülmüş, bu

belirtilerin bölgedeki ortalaması %2.5 olarak hesaplanmıştır. Danacı ve ark. (2016) tarafından Adana ve Mersin bağlarında yapılmış bir ön çalışmada, lokal kuruma ve geriye doğru ölüm belirtilerinin %3.2, Esca sendromuyla ilişkili çizgili yaprak nekrozunun %1.4 ve apopleksi belirtisinin ise %0.8 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Her iki bölgede de saptanan oranlar Gaziantep iline göre daha yüksektir.

4.2. Fungal İzolasyon Sonuçları ve Elde Edilen Türler

Nekrotik dokulardan yapılan fungal izolasyonların değerlendirilmesi 20 gün sonra yapılmış, Crous ve Gams (2000); Barnett ve Hunter (2003); Mostert ve ark., (2016); Lawrence ve Travadon (2018) ve Zhang ve ark., (2021)'te belirtilen hususlara göre izolatların klasik tanısı tamamlanmıştır. Gaziantep ilindeki bağlarda *Botryosphaeriaceae* türleriyle birlikte asma gövde hastalıklarıyla ilişkili diğer türlere de rastlanmıştır. Sörvey yapılan tüm bağlarda, cins düzeyinde yapılan sayımların ortalamasına göre elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili funguslar, yaygınlıkları ve izole edilme oranları (yaygınlık oranlarına göre sıralanmıştır)

Cins ve Türler	Rastlanan Bağ Sayısı	Yaygınlık (%)	İzole Edilme Oranı (%)
<i>Phaeoacremonium</i> sp.	20	39.2	9.5
<i>Seimatosporium</i> sp.	18	35.3	10.1
<i>Botryosphaeriaceae</i>	14	27.5	26.5
<i>Diatrype stigma</i>	3	5.9	51.7
<i>Diaporthe ampelina</i>	2	3.9	15.3
<i>Neoscytalidium</i> sp.	2	3.9	69.4
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	2	3.9	4.1
<i>Cytospora</i> sp.	1	1.9	2.0
<i>Eutypa lata</i>	1	1.9	4.1
<i>Macrophomina phaseolina</i>	1	1.9	100.0

Petri hastalığı ve Esca sendromu etmenlerinden *Phaeoacremonium* %39.2'lik oranla en yaygın cins olarak bulunurken, bunu %35.3 ve %27.5 ile *Seimatosporium* ve *Botryosphaeriaceae* familyası türleri takip etmiştir. Bunlardan başka *Cytospora*, *Diaporthe*, *Diatrype*, *Eutypa*, *Macrophomina*, *Neoscytalidium* ve *Phaeomoniella* cinsi fungusların ildeki yaygınlığı %1.9-5.9 arasında değişim göstermiştir. Sörvey yapılan 51 bağın 20'sinde *Phaeoacremonium*, 18'inde *Seimatosporium* ve 14'ünde *Botryosphaeriaceae* cinsi funguslara rastlanmıştır, bu cinslerin bölgedeki en yaygın cinsler oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.2). *Phaeoacremonium* türlerinin yaygınlığı %39.2 olarak hesaplanırsa da bunlar ancak %9.5'lik bir oranla izole edilebilmişlerdir. Yine *M. phaseolina*'nın izole edilme oranı çok yüksek olmasına (%100) karşın Gaziantep'in sadece bir bağında saptanabilmiştir.

Benzer şekilde Gaziantep bağ alanlarından izole edilen endofitik funguslar, bunların izole edilme oranları ve yaygınlıkları Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. İldeki bağ alanlarındaki fungal endofit çeşitliliğinin zengin olduğu saptanmış ve asmalardan *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrimum*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Coniothyrium*, *Curvularia*, *Entoleuca*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Quambalaria*, ve *Sordaria* türleri izole edilmiştir. Bu funguslar içerisinde *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* ve *Aureobasidium* türleri sırasıyla %92.2, %66.6, %64.7 ve %50.9'luk oranla en sık rastlanan endofitik türler olmuştur. Geri kalan türlerin ildeki yaygınlığı %50'nin altında kalmıştır. En yaygın durumdaki *Penicillium* türlerinin ortalama izole edilme oranı %28.6 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Gaziantep'teki fungal endofitlerin yaygınlığı ile izole edilme oranlarının birbiriyle paralel seyrettiği söylenebilir.

Çizelge 4.4. Gaziantep bağlarındaki endofitik funguslar, yaygınlıkları ve izole edilme oranları (yaygınlık oranlarına göre sıralanmıştır)

Fungal Cinsler	İzole edilen Bağ Sayısı	Yaygınlık (%)	İzole Edilme Oranı (%)
<i>Penicillium</i>	47	92.2	28.6
<i>Aspergillus</i>	35	66.6	23.2
<i>Alternaria</i>	33	64.7	10.9
<i>Aureobasidium</i>	26	50.9	8.6
<i>Cladosporium</i>	26	50.9	5.9
<i>Acremonium</i>	25	49.0	8.4
<i>Quambalaria</i>	19	37.3	9.8
<i>Phoma</i>	10	19.6	8.4
<i>Fusarium</i>	7	13.7	7.3
<i>Entoleuca</i>	6	11.8	7.5
<i>Epicoccum</i>	1	1.9	2.0
<i>Sordaria</i>	1	1.9	4.1

Ege Bölgesi'nde yapılan bir çalışmada Sultani Çekirdeksiz asmalarındaki nekrotik dokularda en sık izole edilen patojen cins *Diaporthe* (=Phomopsis) olmuştur (Akgül ve ark., 2015). Ancak Gaziantep'te asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenlerden *Phaeoacremonium* türleri daha yaygın durumda olup, bu bölge için başat durumda olduğu söylenebilir. Tarsus'ta yapılan bir çalışmada ise Botryosphaeriaceae türlerinin en sık izole edilen funguslar olduğu saptanmıştır (Güler ve Akgül, 2020). Avustralya'nın güney ve güneydoğusundaki toplam 91 bağda yürütülen bir sorvey çalışmasında Botryosphaeria Geriye Ölüm Hastalığı'nın yaygınlığı %98 olarak bulunmuştur. Laboratuvar çalışmalarında *Diplodia seriata*, *Diplodia mutila*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum australe*, *Botryosphaeria dothidea*, *Dothiorella viticola* ve *Dothiorella iberica* türleri elde edilirken, bölgedeki kurumaların ağırlıklı olarak Botryosphaeriaceae türlerinden kaynaklandığı belirlenmiştir (Pitt ve ark., 2010).

Gaziantep'ten izole edilen asma gövde hastalıklarıyla ilişkili türlerin ve endofitik fungusların moleküler tanısı NCBI-BLAST analiziyle doğrulanmış ve izolatların Gen Bankası'na kaydı yapılmıştır (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). Fungal izolatlardan *Biscogniauxia mediterranea* (CUZF3HIK), *Cytospora ribis* (CUZF4HIK), *Diplodia sapinea* (CUZF12HIK) ve *Macrophomina phaseolina*

(CUZF16HIK) türlerine şimdiye kadar Türkiye bağlarında rastlanmamış olup, Türkiye fungal florası için yeni bir kayıt niteliğindedir. *Diplodia seriata*, *Botryosphaeria dothidea*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae* ve *Neoscytalidium dimidiatum* türlerinin Türkiye'deki varlıkları daha önceki çalışmalarda saptanmıştır (Akgül ve ark., 2014; Güler ve Akgül, 2020; Oksal ve ark., 2019). *Diatrypaceae* familyasından *Diatrype stigma*, Pestalotioid türlerden *Seimatosporium vitis*, *S. vitifusiforme* ve Dothideomycetes sınıfından *Kalmusia variispora* türleri daha önce Tarsus, Manisa ve Tokat yöresi bağ alanlarında saptanmıştır (Akgül ve ark., 2021a ve 2021b). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar Gaziantep bağ alanlarında bulduğumuz sonuçlara benzerlik göstermektedir. Mohammadi ve ark., (2013) İran'ın farklı bölgelerinde, nekrotik dokulardan 15 *Diplodia seriata* ve 12 *Neofusicoccum parvum* izolatu elde edilmiştir. Bunlardan başka aynı asmalardan *Phaeomoniella chlamydospora* ve *Phaeoacremonium aleophilum* türleri de saptanmıştır. Gaziantep bağlarında *Neofusicoccum parvum*'a rastlanmamış olması Avustralya ve İran'da yapılmış çalışmalardan farklılık göstermektedir.

Çizelge 4.5. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenik funguslar ve GenBank kayıt numaraları

İzolat Kodu	Tür Adı	İzole edildiği yer	Asma çeşidi	GenBank Erişim Numaraları			
				ITS	EF1- α	LSU	BT
CUZF01HIK	<i>Diaporthe ampelina</i>	Şerikanlı, İslahiye	Horozkarası	OM980241	ON032499	-	-
CUZF02HIK	<i>Diaporthe ampelina</i>	"	Hatunparmağı	OM980242	ON032500	-	-
CUZF03HIK	<i>Biscogniauxia mediterranea</i>	Serince, Şahinbey	Dımışkı	OM980243	ON032501	-	-
CUZF04HIK	<i>Cytospora ribis</i>	Çörekli, Şahinbey	Dımışkı	OM980244		-	-
CUZF05HIK	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	Serince, Şahinbey	Horozkarası	OM980245	ON032502	-	-
CUZF06HIK	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	"	"	OM980246	ON032503	-	-
CUZF07HIK	<i>Diplodia seriata</i>	"	"	OM980247	ON032504	-	-
CUZF08HIK	<i>Diplodia seriata</i>	Yeniköy, İslahiye	Dımışkı	OM980248	ON032505	-	-
29 CUZF09HIK	<i>Diplodia seriata</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980249	ON032506	-	-
CUZF10HIK	<i>Diplodia seriata</i>	Yeniköy, İslahiye	Horozkarası	OM980250	ON032507	-	-
CUZF11HIK	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980251	ON032508	-	-
CUZF12HIK	<i>Diplodia sapinea</i>	"	Hatunparmağı	OM980252	ON032509	-	-
CUZF13HIK	<i>Diplodia seriata</i>	"	"	OM980253	ON032510	-	-
CUZF14HIK	<i>Lasioidiplodia pseudotheobromae</i>	Çörekli, Şahinbey	Urumu	OM980254	ON032511	-	ON054871
CUZF15HIK	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	Durantaş, Şahinbey	Dımışkı	OM980255	ON032512	-	-
CUZF16HIK	<i>Macrophomina phaseolina</i>	"	Hatunparmağı	OM980256	ON032513	-	-
CUZF17HIK	<i>Diplodia seriata</i>	Çörekli, Şahinbey	Dımışkı	OM980257	-	-	-

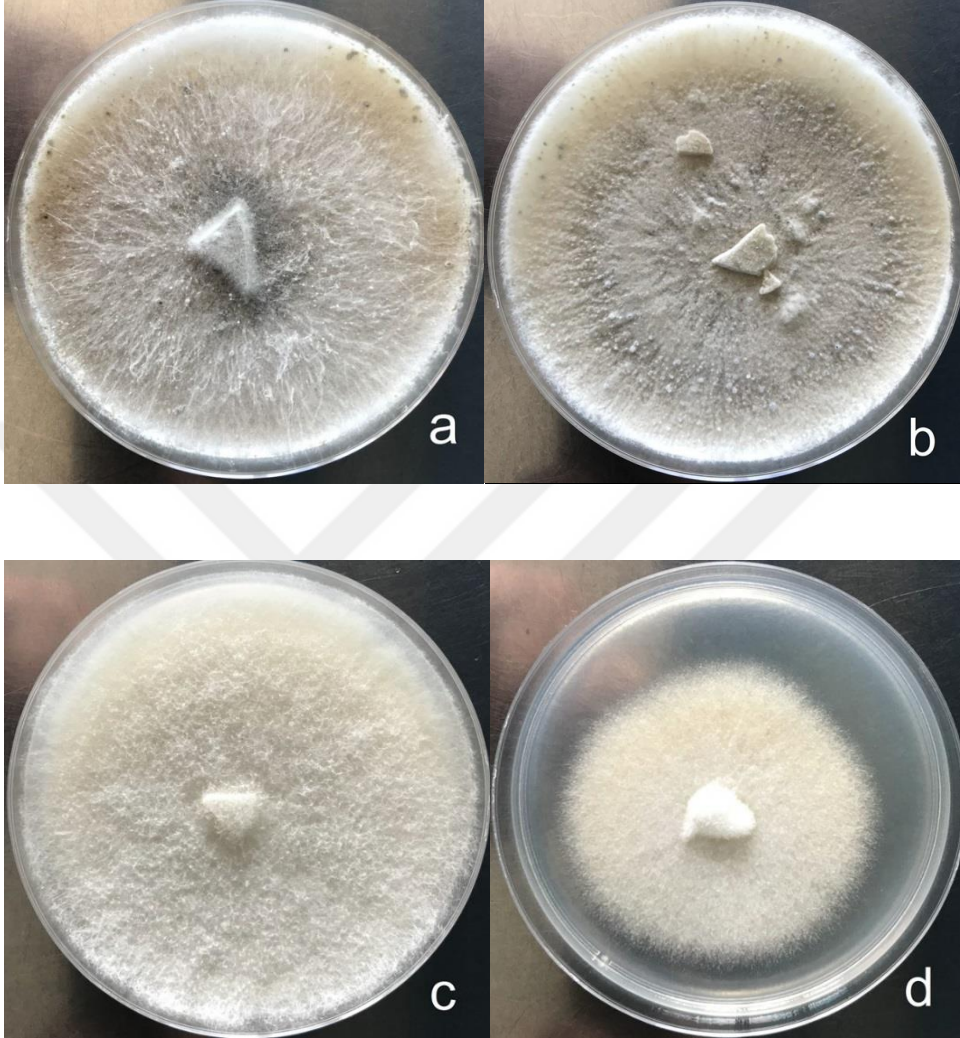
Çizelge 4.4. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenik funguslar ve GenBank kayıt numaraları

İzolat Kodu	Tür Adı	İzole edildiği yer	Asma çeşidi	GenBank Erişim Numaraları			
				ITS	EF1- α	LSU	BT
CUZF19HIK	<i>Diatrype stigma</i>	"	"	OM980258	-	ON025569	-
CUZF20HIK	<i>Eutypa lata</i>	Yeniköy, İslahiye	Hatunparmağı	OM980259	-	-	ON054872
CUZF21HIK	<i>Eutypa lata</i>	"	"	OM980260	-	-	ON054873
CUZF31HIK	<i>Kalmusia variispora</i>	"	"	OM980261	-	ON025570	ON054874
CUZF34HIK	<i>Seimatosporium vitifusiforme</i>	Cerityapanı, Ş.kamil	Dimişki	OM980262	ON032514	ON025571	-
CUZF36HIK	<i>L. pseudotheobromae</i>	Yeniköy, İslahiye	Horozkarası	OM980263	-	-	ON054875
CUZF38HIK	<i>Kalmusia variispora</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980264	-	ON025572	-
CUZF51HIK	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	"	"	OM980265	ON032515	-	-
CUZF52HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980266	ON032516	ON025573	-
CUZF54HIK	<i>Phaeoacremonium minimum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980267	ON032517	-	-
CUZF55HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980268	ON032518	ON025574	-
CUZF56HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	"	"	OM980269	-	ON025575	-
CUZF57HK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Yeniköy, İslahiye	"	OM980270	-	ON025576	-
CUZF60HK	<i>Seimatosporium vitifusiforme</i>	Serince, Şahinbey	Horozkarası	OM980271	ON032519	ON025577	-
CUZF63HIK	<i>Kalmusia variispora</i>	Durantaş, Şahinbey	Dimişki	OM980272	-	ON025578	-
CUZF65HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Şerikanlı, İslahiye	"	OM980273	ON032520	ON025579	-
CUZF68HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Yeniköy, İslahiye	"	OM980274	-	ON025580	-

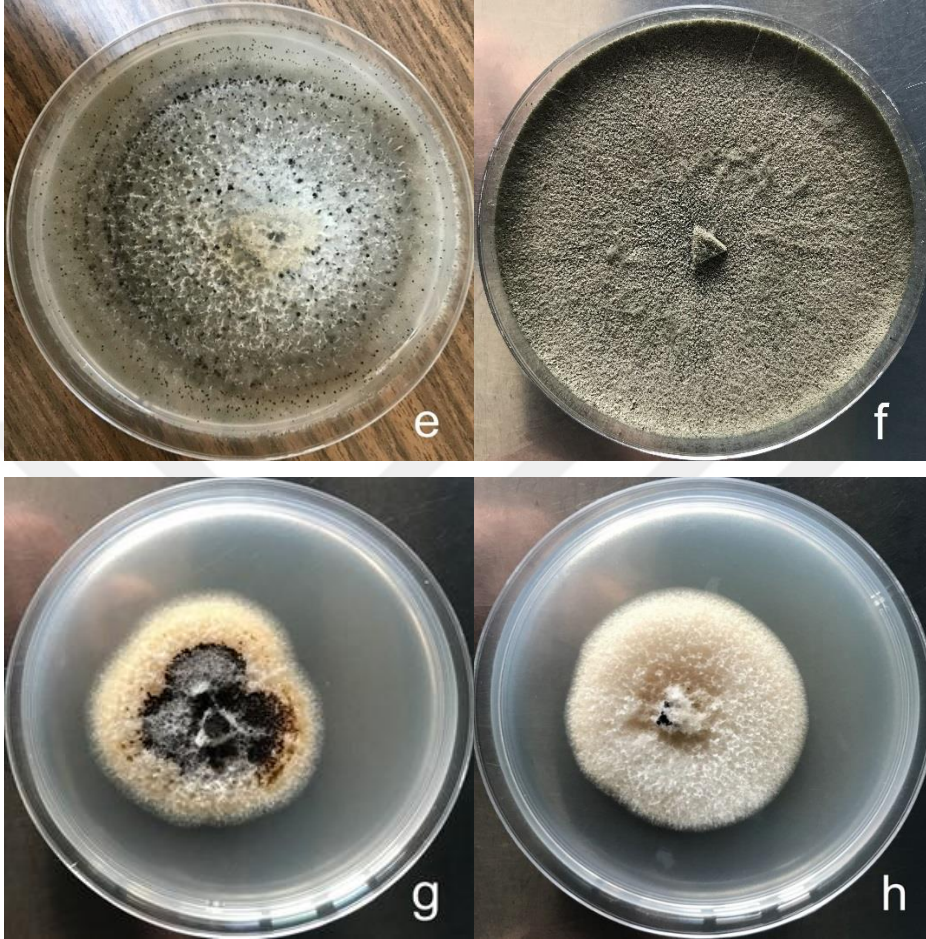
Çizelge 4.6. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenik funguslar ve GenBank kayıt numaraları

İzolat Kodu	Tür Adı	İzole Edildiği		ITS
		Lokasyon	Asma çeşidi	
CUZF24HIK	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Çörekli, Şahinbey	Dımışkı	OM980649
CUZF26HIK	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980650
CUZF27HIK	<i>Curvularia spicifera</i>	Durantaş, Şahinbey	Dımışkı	OM980651
CUZF28HIK	<i>Fusarium acuminatum</i>	Cerityapanı, Şehitkamil	Dımışkı	OM980652
CUZF29HIK	<i>Alternaria infectoria</i>	Yeniköy, İslahiye	Horozkarası	OM980653
CUZF30HIK	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980654
CUZF32HIK	<i>Fusarium equiseti</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980655
CUZF35HIK	<i>Arthrinium sp.</i>	Cerityapanı, Şehitkamil	Dımışkı	OM980656
CUZF37HIK	<i>Nigrospora sphaerica</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980657
CUZF39HIK	<i>Penicillium fructuariae-cellae</i>	Yeniköy, İslahiye	Dımışkı	OM980658
CUZF40HIK	<i>Aspergillus terreus</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980659
CUZF41HIK	<i>Penicillium fructuariae-cellae</i>	Yeniköy, İslahiye	Dımışkı	OM980660
31 CUZF42HIK	<i>Penicillium sizovae</i>	Yeniköy, İslahiye	Hatunparmağı	OM980661
CUZF43HIK	<i>Quambalaria cyanescens</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980662
CUZF44HIK	<i>Aspergillus flavus</i>	Çörekli, Şahinbey	Dökülgen	OM980663
CUZF45HIK	<i>Aspergillus niger</i>	Serince, Şahinbey	Dımışkı	OM980664
CUZF46HIK	<i>Aspergillus niger</i>	Çörekli, Şahinbey	Dımışkı	OM980665
CUZF47HIK	<i>Penicillium glabrum</i>	Yeniköy, İslahiye	Dımışkı	OM980666
CUZF48HIK	<i>Penicillium glabrum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980667
CUZF49HIK	<i>Coniothyrium ferrarisianum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980668
CUZF50HIK	<i>Curvularia spicifera</i>	Durantaş, Şahinbey	Dımışkı	OM980669
CUZF59HIK	<i>Fusarium proliferatum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980670

Endofitik fungal florayla ilişkili olarak Gaziantep'ten izole edilen türler, Yağcı (2021) tarafından saptanan Tokat yöresi türleriyle benzerlik göstermektedir. Ancak *Athelia bombacina*, *Neosetophoma clematidis*, *Oidiodendron cerealis*, *Paraconiothrium fuckelii*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Penicillium commune*, *Phoma tropica*, *Sarocaulium strictum* gibi farklı türler Gaziantep'te bulunamamıştır. Bunun, patojenlerin izole edildikleri dokuların farklı olmasından ve yöre farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yağcı ve ark., (2021)'nin çalışmasındaki fungal endofitler dormant asma kalemlerinden elde edilmiştir. Nitekim Deyett ve Rolshausen (2020) asmadaki endofitik floranın organlara göre değişiklik gösterdiğini saptamış, yetişkin bir asmadaki endofit içeriğinin %28'inin rizosfer florasından geçtiğini bulmuşlardır. Görür ve Akgül (2019)'ün çalışmasında ise Manisa, Mersin ve Tokat'ta üretilmiş asma kalemlerindeki endofitik fungal flora incelenmiş, *Acremonium* spp., *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporoides*, *Penicillium* spp. ve *Quambalaria cyanescens* türleri her üç ilde ortak olarak bulunan funguslar olarak öne çıkmıştır. Gaziantep bağlarında saptanan endofit florası da bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. İlde ve yurdumuzda rastlanan patojenik türlere ait koloni resimleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *Biscogniauxia mediterranea* (a), *Cytospora ribis* (b), *Diatrype stigma* (c), *Eutypa lata* (d)'nin PDA besi yerindeki koloni görüntüleri

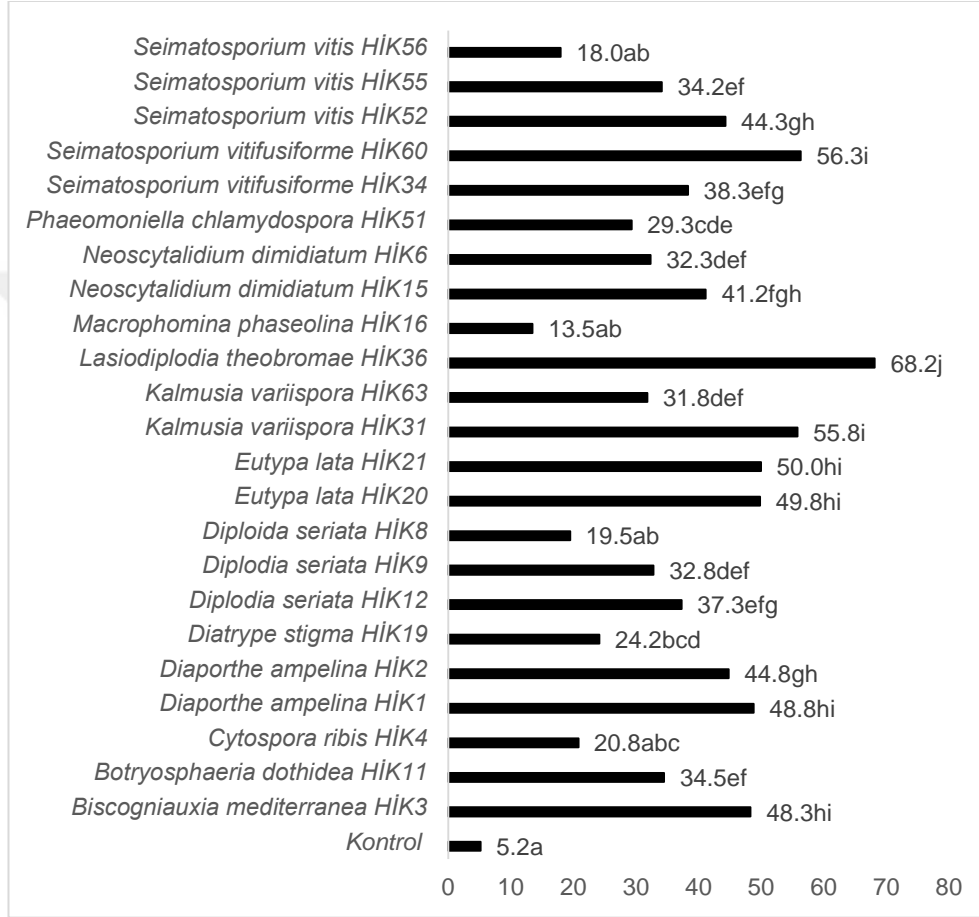


Şekil 4.1 (devamı) *Kalmusia variispora* (e), *Neoscytalidium dimidiatum* (f), *Seimatosporium vitis* (g), *S. vitifusiformenin* (h) PDA besi yerindeki koloni görüntüleri

4.3. Patogenisite Testi Sonuçları

Fungal izolatların patojenisitesiyle ilgili sonuçlar Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Dokularda, uzunlukları 13.5 ile 68.2 mm arasında değişen lezyonlar meydana gelmiştir (Şekil 4.2). Bunlardan minimum lezyon *Macrophomina phaseolina* (HİK16), maksimum lezyon ise *Lasiodiplodia pseudotheobromae* (HİK36) türleriyle gerçekleşmiştir. *Seimatosporium* ve *Kalmusia* türleri izolatları

arasında büyük bir varyasyon görülmüş, izolatların lezyon uzunlukları ardışık olarak sıralanmamıştır.



Şekil 4.2. Fungal izolatların Cardinal çeşidi dormant asma kalemlerinde oluşturduğu lezyon uzunlukları (mm)

Diatrypaceae türlerinden *Eutypa lata* ve *Diatrype stigma*'nın virülensliği karşılaştırıldığında, *E. lata*'nın daha saldırgan olduğu tespit edilmiştir. Tüm izolatların oluşturdukları lezyon uzunlukları arasında kontrole göre istatistiksel farklar meydana gelmiş ve bunların patojenisiteleri doğrulanmıştır. Buna karşın endofitik türler kontroldene farklı uzunlukta lezyon oluşturmamış ve bunların

patojen olmadıkları ispatlanmıştır. Botryosphaeriaceae türlerinin saldırganlığıyla ilgili yürütülen çalışmalarda *Lasiodiplodia* ve *Neofusicoccum* türlerinin en saldırgan, *Botryosphaeria* ve *Diplodia* türlerinin bunlardan daha az saldırgan, *Dothiorella* ve *Spencermartinsia* türlerinin ise en düşük derecede saldırgan oldukları belirlenmiştir (Urbez-Torres ve Gubler, 2009). Rolshausen ve ark., (2013) tarafından yapılan patojenisite testinde ortalama lezyon uzunluğu 20 haftada 13.5 mm'ye ulaşabilmiştir. Bu sonuç patojenisite testinde ulaştığımız sonuca göre düşük seviyededir. Ancak bu tez çalışmasında iki farklı *Neoscytalidium dimidiatum* izolatının oluşturduğu lezyonlar 12 haftada 32.3 ve 41.2 mm'ye ulaşmış ve bu süre için oldukça saldırgan olduğu saptanmıştır. Fungusların farklı ülkeler ve farklı habitatlardaki virülensliği farklılık gösterebilir. Ayrıca patojenisite testinin yürütüldüğü koşullar ve asma çeşitlerinin duyarlılıkları birbirinden farklı olabilir. Bu gibi nedenlerle lezyon uzunlukları arasındaki varyasyonların görülmesi doğal bir durumdur. Benzer şekilde bu çalışmadaki *Seimatosporium* türlerinin virülenslikleri arasında önemli varyasyon görülmüştür. Lawrence ve Travadon (2018)'un *Seimatosporium* izolatlarının virülensliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, matkapla spor süspansiyonu tekniği ile Pinot Noir çeşidinde 11 aylık inkübasyon sonucu, bu türlerin 8 ila 13 mm'lik lezyon oluşturduklarını bulmuşlardır. Çalışmada kullandığımız inokulasyon yöntemi ve fidanların yetiştirildiği koşulların farklılığından dolayı Lawrence ve Travadon (2018)'un izolatlarına göre farklılık gösterdiği düşünülmektedir.

4.4. İkili Kültür Testleriyle Fungal İzolatların Antagonistik Etkileşimleri

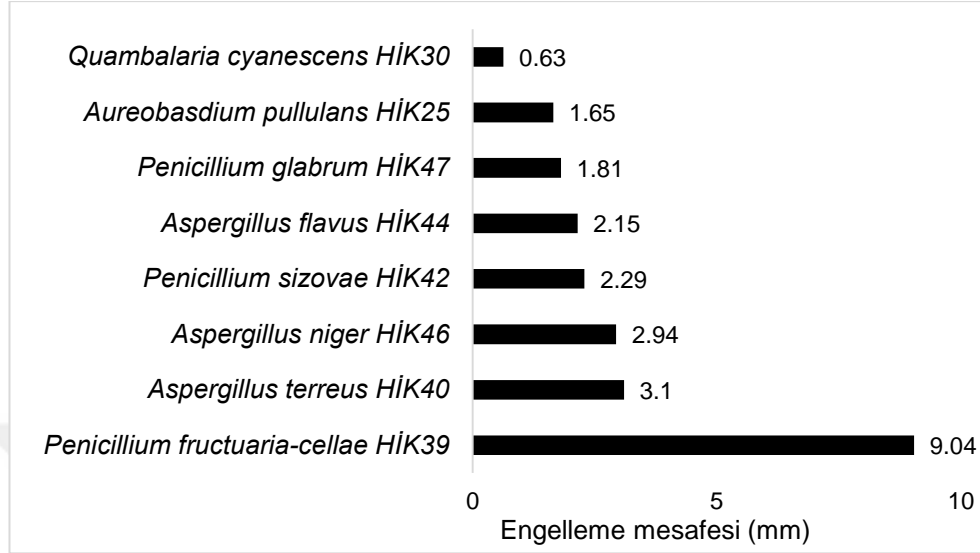
Gaziantep bağlarından izole edilen fungal endofitlerle patojenik funguslar arasındaki etkileşim Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Endofitik türlerden bazıları patojen fungusların gelişimini hiçbir şekilde inhibe edemezken, bazı türler patojen fungusları açıkça engellemiştir. Denemeye alınan 8 izolat içerisinde bir izolat (HİK39), uzunlukları 22.67 mm'ye varan engelleme zonu meydana getirmiştir. Miseliyal gelişimi engellemede en güçlü etkiyi *Penicillium fructuariae-cellae*, en

zayıf etkiyi *Quambalaria cyanescens* göstermiştir. Denemedeki 16 patojenik izolattan 13'ü (%81.2), *P. fructuariae-cellae* tarafından en az 3.33 mm'lik engelleme mesafesiyle durdurulmuştur. Bunun yanında *Biscogniauxia mediterranea*, *Cytospora ribis*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina* ve *Neoscytalidium dimidiatum* gibi hızlı gelişen türler ise en az 10 mm'lik zon mesafesiyle engellenmişlerdir. Buna karşın en etkili tür olan *P. fructuariae-cellae*, *Diatrype stigma*, *Kalmusia variispora* ve *Phaeoacremonium minimum* gibi patojenlerin büyümesini hiçbir şekilde engelleyememiştir. Denemedeki diğer endofitik funguslar *P. fructuariae-cellae* türü kadar etkili olamamış, engelleme mesafeleri en fazla 8 mm'ye ulaşabilmiştir. Endofitik izolatlardaki etkililik, engelleme mesafelerinin ortalaması alınarak değerlendirildiğinde, *P. fructuariae-cellae* 9.04 mm'lik ortalama ile en ümitvar tür olarak öne çıkmıştır (Şekil 4.3). Bu türü takip eden *Aspergillus terreus*'un ortalama engelleme mesafesi ise 3.1 mm olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. PDA besi yerinde patojen ve endofitler arasında, 15 günlük inkübasyonla oluşan engelleme mesafeleri (mm)

Patojenik İzolatlar	Endofitik İzolatlar							
	Af (HİK44)	An (HİK46)	Ap (HİK25)	At (HİK40)	Pfc (HİK39)	Pg (HİK47)	Ps (HİK42)	Qc (HİK30)
<i>Biscogniauxia mediterranea</i> (HİK3)	0.0 a	0.0a	0.0 a	0.0 a	22.67 h	0.0 a	0.0 a	0.0 a
<i>Botryosphaeria dothidea</i> (HİK11)	2.33 c	2.67bc	2.0 cd	3.0 bcd	7.67 bcd	2.0 c	2.33 c	0.0 a
<i>Cytospora ribis</i> (HİK4)	6.33 d	2.0b	3.33 e	3.67 cd	11.67 def	2.0 c	6.33 d	0.0 a
<i>Diaporthe ampelina</i> (HİK1)	3.0 c	2.33bc	3.67 e	4.33 de	4.67 b	4.67 e	3.0 c	0.0 a
<i>Diatrype stigma</i> (HİK19)	0.0 a	0.0a	0.0 a	2.0 bc	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
<i>Diplodia seriata</i> (HİK12)	3.0 c	4.0 de	4.0 e	6.33 f	15.0 fg	2.0 c	3.0 c	0.0 a
<i>Diplodia seriata</i> (HİK7)	0.0 a	3.0 cd	0.0 a	1.67 ab	10.0 de	0.0 a	0.0 a	0.0 a
<i>Eutypa lata</i> (HİK21)	2.0 bc	3.0 cd	0.0 a	6.0 ef	7.33 bcd	4.67 e	2.0 bc	0.0 a
<i>Kalmusia variispora</i> (HİK31)	2.0 bc	0.0 a	0.0 a	2.0 bc	0.0 a	2.0 c	2.0 bc	0.0 a
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> (HİK14)	0.0 a	0.0 a	0.0 a	2.0 bc	18.67 gh	0.0 a	0.0 a	0.0 a
<i>Macrophomina phaseolina</i> (HİK16)	0.0 a	3.33 cd	0.0 a	4.67 def	14.33 ef	0.0 a	0.0 a	0.0 a
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i> (HİK5)	3.0 c	5.0 e	1.0 b	0.0 a	15.0 fg	0.0 a	3.0 c	0.0 a
<i>Phaeoacremonium minimum</i> (HİK54)	1.0 ab	1.3 ab	2.33 d	2.0 bc	0.0 a	1.33 b	1.0 ab	0.0 a
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> (HİK51)	0.0 a	0.0 a	1.33 bc	3.33 bcd	3.33 ab	0.0 a	0.0 a	0.0 a
<i>Seimatosporium vitifusiforme</i> (HİK60)	6.0 d	2.67 bc	5.0 f	4.0 d	9.33 cd	3.33 d	6.0 d	5.67 c
<i>Seimatosporium vitis</i> (HİK52)	8.0 e	5.0 e	3.67 e	4.67 def	5.0 bc	7.0 f	8.0 e	4.33 b
Ortalama	2.15	2.94	1.65	3.1	9.04	1.81	2.29	0.63

*Sütunlar içerisinde farklı harf içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır. Af: *Aspergillus flavus*, An: *Asp. niger*, Ap: *Aureobasidium pullulans*, At: *Asp. terreus*, Bm: *Biscogniauxia mediterranea*, Bd: *Botryosphaeria dothidea*, Cr: *Cytospora ribis*, Da: *Diaporthe ampelina*, Dst: *Diplodia seriata*, El: *Eutypa lata*, Kv: *Kalmusia variispora*, Lps: *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, Mp: *Macrophomina phaseolina*, Nd: *Neoscytalidium dimidiatum*, Pmn: *Phaeoacremonium minimum*, Pc: *Phaeomoniella chlamydospora*, Pfc: *Penicillium fructuariae-cellae*, Pg: *Pen. glabrum*, Ps: *Pen.sizovae*, Qc: *Quambalaria cyanescens*, Sv: *Seimatosporium vitifusiforme*, Sv: *Seimatosporium vitis*

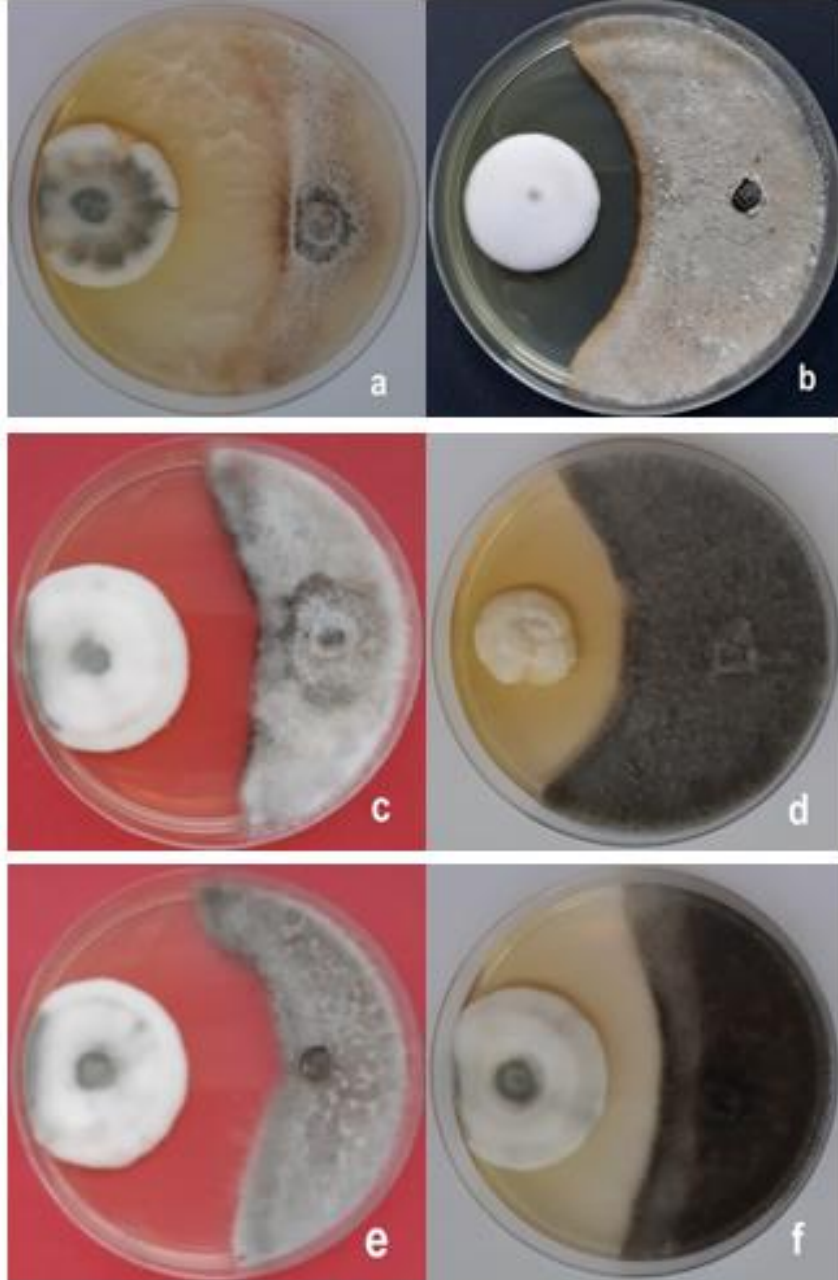


Şekil 4.3. Endofitlerle asma gövde patojenleri arasındaki ortalama engelleme mesafeleri (mm)

P. fructuariae-cellae'nin ikili kültürdeki baskılayıcı etkisi çoğu türde devam etmiş ancak *Biscogniauxia mediterranea*'nin hifleri 28 gün sonra zayıf bir şekilde büyümeye devam etmiştir (Şekil 4).

Almeida ve ark., (2020) Portekiz'in Alentejo Bölgesi'ndeki bağlardan izole ettikleri fungal endofitleri, asma gövde hastalıklarıyla ilişkili türlere karşı *in vitro*'da denemişlerdir. İkili kültür çalışmalarında *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Clonostachys rosea*, *Epicoccum nigrum*, *Trichoderma* ve *Penicillium* türleri patojenik fungusları %30.7-62.6 arasında değişen oranlarda engellemiştir. Blundell ve ark., (2021) Kaliforniya Davis'teki bir bağda hem sağlıklı hem de asma gövde hastalıklarının belirtilerini gösteren omcaların öz suyundaki bakteriyel ve fungal florayı incelemişler, endofitik antagonistlerin inhibe edici etkileri hem ikili kültür hem de uçucu antibiyotik testleriyle araştırılmıştır. Fungal endofitlerden *Aureobasidium pullulans*'ın çoğu izolatu etkisiz bulunmuştur. Ancak bu türün iki izolatu *Neofusicoccum parvum*, *Eutypa lata* ve *Diaporthe ampelina*'nın gelişimine antagonistik özellik göstermezken, *Diplodia seriata*'yı inhibe etmiştir. Bu sonuçlar,

elde ettiğimiz sonuçlarla birebir aynı olmasa da, farklı bölgelerde değişik patojenler ve antagonistler bulunabileceği ve etki bakımından aynı türün izolatlarında dahi farklılık görülebileceğini doğrulamaktadır. Mevcut çalışmada *Penicillium fructuariae-cellae* türü, Dımışkı çeşidi asmaların gövdelerinden izole edilmiş ve ilginç bir şekilde çoğu patojen fungusa etkili bulunmuştur. Oysa Lorenzini ve ark., (2019) bu türü pörsümüş üzüm salkımlarından izole etmiş ve bunu salkım çürüklüğü patojenlerine dahil ederek detaylı tanısını yapmışlardır. *P. fructuariae-cellae* türünün daha detaylı bir şekilde incelenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.



Şekil 4.4. *Penicillium fructuariae-cellae*'nin bazı patojenlerin koloni gelişimini engellemesi; a) *Biscogniauxia mediterranea*, b) *Cytospora ribis*, c) *Diplodia seriata*, d) *Neoscytalidium dimidiatum*, e) *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, f) *Macrophomina phaseolina*



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile Gaziantep ili bağlarında Botryosphaeriaceae familyası üyeleri ve diğer fungal gövde patojenlerinin oldukça yaygın oldukları bulunmuştur. Bağlardaki hastalık belirtisi gösteren omcaların ortalama sıklığı %1.2 gibi düşük bir oranda olsa da, bölgenin fungal patojenlerce zengin olduğu ortaya konulmuştur. Bölgede saptanan patojenlerden *Seimatosporium* türleri, *Kalmusia variispora* ve *Biscogniauxia mediterranea*'nin varlığı ilk kez bu tez çalışmasıyla ortaya çıkmıştır. Gaziantep bağlarındaki endofitik floranın da oldukça zengin olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu bağların yaş ortalamasının yüksek olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Asmalardan izole edilen endofitik funguslardan *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinden bazılarının antagonistik özellik gösterdiği bulunmuştur. Özellikle *Penicillium fructuariae-cellae*'nin *in vitro* antagonistik özelliği kayda değer niteliktedir. Gelecek çalışmalarda *P. fructuariae-cellae*'nin sera ve bağ koşullarındaki antagonistik performansının ve budama yaralarındaki tutunabilme olanaklarının incelenmesi gerekmektedir. Bundan başka *Penicillium* ve *Aspergillus* türlerinin antagonistik özellikleri daha detaylı bir şekilde araştırılmalıdır. Ulaşılabilecek sonuçlara göre, bu türün bağcılıkta ekonomik kayıpları sonuçlayan patojenlerin biyolojik mücadelesinde kullanılabilmesi mümkün olabilecektir.



KAYNAKLAR

- Abreo, E., Martinez, S., Bettucci, L., and Lupo, S., 2013. Characterization of *Botryosphaeriaceae* Species Associated with Grapevines in Uruguay. *Australasian Plant Pathology*, 42 (3):241-249.
- Akgül, D. S., Savas, N. G., and Eskalen, A., 2014. First Report of Wood Canker Caused by *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum* and *Lasiodiplodia theobromae* on Grapevine in Turkey. *Plant Disease*, 98 (4):568.
- Akgül, D. S., Güngör S. N., Terek, T., Keykubat, B., Mayorquin, J. S., and Eskalen, A., 2015. Fungal Trunk Pathogens of Sultana Seedless Vineyards in Aegean Region of Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 54 (2): 380-393.
- Akgül, D. S., Yağcı, A., Kara, H.İ., Bülbül, İ., Özarslandan, M., Güngör Savaş, N., Yıldız, M. ve Cangı, R., 2021a. Türkiye Bağlarında Diatrypaceae Geriye Ölüm Hastalığıyla İlişkili *Diatrype stigma*'nın İlk Raporu. Türkiye 8. Bitki Koruma Kongresi, 24-28 Ağustos 2021, BOLU. 279s.
- Akgül, D. S., Kara, H.İ., Bülbül, İ., Özarslandan, M., 2021b. *Seimatosporium vitis*, *S. vitifusiforme* ve *Kalmusia variispora*: Türkiye'de Asma Gövde Hastalıklarıyla İlişkili Yeni Fungal Patojenler. Türkiye 8. Bitki Koruma Kongresi, 24-28 Ağustos 2021, BOLU. 215s.
- Almeida, B. de, A., Concas, J., Campos, M. D., Materatski, P., Varanda, C., Patanita, M., and Félix, M. D. R., 2020. Endophytic Fungi as Potential Biological Control Agents Against Grapevine Trunk Diseases in Alentejo Region. *Biology*, 9 (12):420.
- Alves, A., Barradas, C., Phillips, A. J., and Correia, A., 2013. Diversity of *Botryosphaeriaceae* Species Associated with Conifers in Portugal. *European Journal of Plant Pathology*, 135 (4):791-804.

- Anonim, 2019. Türkiye İstatistik Kurumu Resmi İnternet Sitesi. www.tuik.gov.tr. Erişim Tarihi: 25 Mart 2022.
- Ayres, M., Sosnowski, M., and Wicks, T., 2011. A Rapid Technique for Evaluating Treatments for *Eutypa dieback* Control. *Wine and Viticulture Journal*, 26 (6):50-53.
- Barnett, H. L., and Hunter, B. B., 2003. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th (ed.) Burgués. Publishing Company Minneapolis, 15.
- Baskarathevan, J., Jaspers, M. V., Jones, E. E., and Ridgway, H. J., 2012. Incidence and Distribution of Botryosphaeriaceous Species in New Zealand Vineyards. *European Journal of Plant Pathology*, 132 (4):549-560.
- Blundell, R., Arreguin, M., and Eskalen, A., 2021. *In vitro* Evaluation of Grapevine Endophytes, Epiphytes and sap Micro-Organisms for Potential use to Control Grapevine Trunk Disease Pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 60 (3):535-548.
- Brum, M. C. P., Araújo, W. L., Maki, C., and Azevedo, J. L., 2012. Endophytic Fungi from *Vitis labrusca* L. ('Niagara Rosada') and Its Potential for the Biological Control of *Fusarium oxysporum*. *Genet Mol Res*, 11 (4): 4187-4197.
- Cao, J., Sun, Z., Li, J., Zhu, Y., Yuan, Z., Zhang, Y., and Han, W., 2021. Microbe-Assisted Assembly of Ti3C2T x MXene on Fungi-Derived Nanoribbon Heterostructures for Ultrastable Sodium and Potassium Ion Storage. *ACS nano*, 15 (2): 3423-3433.
- Carlucci, A., Cibelli, F., Lops, F., and Raimondo, M. L., 2015. Characterization of *Botryosphaeriaceae* Species as Causal Agents of Trunk Diseases on Grapevines. *Plant disease*, 99 (12): 1678-1688.
- Carro-Huerga, G., Compant, S., Gorfer, M., Cardoza, R. E., Schmoll, M., Gutiérrez, S., and Casquero, P. A., 2020. Colonization of *Vitis vinifera* L. by the Endophyte *Trichoderma* sp. strain T154: Biocontrol Activity Against *Phaeoacremonium minimum*. *Frontiers in Plant Science*, 11: 1170.

- Chamberlain, G. C., Willison, R. S., Townshend, J. L., and Ronde, J. D., 1964. Two Fungi Associated with the Dead-arm Disease of Grapes. *Canadian Journal of Botany*, 42 (4): 351-355.
- Chong J., Poutaraud, A. and Hugueney, P., 2009. Metabolism and Roles of Stilbenes in Plants. *Plant Science*, 177: 143-155.
- Chun-jie, L. I., Zhi-biao, N., Chang-ji, Z., Chong-yue, Z, and Yan-hui, Z., 2009. Effects of Drunken Horse Grass Infected with Endophyte on Chinese Rabbit. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 11 (2): 84.
- Crous P.W. and Gams W., 2000. *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et comb. nov., a Causal Organism of Petri Grapevine Decline and Esca. *Phytopathologia Mediterranea*, 39: 112-118.
- Correia, K. C., Câmara, M. P. S., Barbosa, M. A. G., Sales Jr, R., Agusti-Brisach, C., Gramaje, D., and Michereff, S. J., 2013. Fungal Trunk Pathogens Associated with Table Grape Decline in North-eastern Brazil. *Phytopathologia Mediterranea*, 52 (2): 380-387.
- Danacı, B., Erkiş, A., Akgül, D.S. ve Awan, Q.N., 2016. Adana ve Mersin Bağlarında Asma Gövde Hastalıklarının Durumu ve Saptanan Fungal Türler. Türkiye 6. Bitki Koruma Kongresi, 5-8 Eylül 2016, KONYA. 492s.
- Del Frari, G., Cabral, A., Nascimento, T., Boavida Ferreira, R., and Oliveira, H. 2019. *Epicoccum layuense* a Potential Biological Control Agent of Esca-Associated Fungi in Grapevine. *PLoS One*, 14 (3): e0213273.
- Deyett, E., and Rolshausen, P. E., 2020. Endophytic Microbial Assemblage in Grapevine. *FEMS Microbiology Ecology*, 96 (5): fiae053.
- Dwibedi, V., and Saxena, S., 2019. Diversity and Phylogeny of Resveratrol-Producing Culturable Endophytic Fungi from *Vitis* Species in India. *3 Biotech*, 9 (5): 1-8.
- El-Goorani, M. A., and El-Meleigi, M. A., 1972. Dieback of Grapevine by *Botryodiplodia theobromae* Pat. in Egypt. *Phytopathologia Mediterranea*. 11: 210-211.

- Filho, O. P., Ribeiro, I. J. A., and Kuniyuki, H., 1995. Grapevine (*Vitis vinifera*) Stem Rot Caused by *Dothiorella* Anamorphic form of *Botryosphaeria dothidea*. *Summa Phytopathologia*, 21:40-42.
- Gramaje, D., Urbez-Torres, J. R., ve Sosnowski, M. R., 2018. Managing Grapevine Trunk Diseases with Respect to Etiology and Epidemiology: Current Strategies and Future Prospects. *Plant disease*, 102(1), 12-39.
- Glass, N.L. and Donaldson, G.C., 1995. Development of Primer Sets Designed for Use with the PCR to Amplify Conserved Genes from the Filamentous Ascomycetes. *Applied Environmental Microbiology*, 61:1323–1330.
- Goetz, R., and Mohammadi, M., 2013. Exploring Mechanisms of FGF Signalling Through the Lens of Structural Biology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 14 (3): 166-180.
- Görür, V., and Akgül, D. S., 2019. Fungicide Suspensions Combined with Hot-water Treatments Affect Endogenous *Neofusicoccum parvum* Infections and Endophytic Fungi in Dormant Grapevine Canes. *Phytopathologia Mediterranea*, 58 (3): 559-571.
- Güler, D., ve Akgül, D. S., 2020. Tarsus Bağ Alanlarında *Neofusicoccum parvum*'un Yaygınlığı ve Bazı Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Patojene Duyarlılıkları. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7 (3): 691-698.
- Larignon, P., Fulchic, R., Cere, L., and Dubos, B., 1997. Observations of Black Dead Arm in French Vineyards. *Phytopathologia Mediterranea*, 40:336-342.
- Latorre, B. A., and Toledo, M. V., 1984. Occurrence and Relative Susceptibility of Apple Cultivars to *Botryosphaeria canker* in Chile. *Plant disease*. 68:36-39.
- Latorre, A. V., Ortíz, M. R., Roman, M. R., and Soto, J. Z., 1986. Brief Description of the Effects on Health of the Earthquake of 3rd March 1985–Chile. *Disasters*, 10 (2): 125-140.

- Laurent, B., Marchand, M., Chancerel, E., Saint-Jean, G., Capdevielle, X., Poeydebat, C., and Desprez-Loustau, M. L., 2020. A Richer Community of Botryosphaeriaceae within a Less Diverse Community of Fungal Endophytes in Grapevines than in Adjacent Forest Trees Revealed by a Mixed Metabarcoding Strategy. *Phytobiomes Journal*, 4 (3):252-267.
- Lawrence, D. P., and Travadon, R., 2018. Novel *Seimatosporium* Species from Grapevine in Northern California and Their Interactions with Fungal Pathogens Involved in the Trunk-Disease Complex. *Plant Disease*, 102 (6):1081-1092.
- Leavitt, G. M. J., 1990. The Occurrence, Distribution, Effects and Control of *Botryodiplodia theobromae* on *Vitis vinifera* in California, Arizona and Northern Mexico, Ph.D. dissertation, University of California, Riverside, CA, USA.
- Lehoczky, J., 1974. Black Dead-Arm Disease of Grapevine Caused by *Botryosphaeria stevensii* Infection. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 9(3/4), 319-327.
- Lorch, W., 2014. Fatal Wood Diseases Affect 12 Percent of French Vineyards. [<http://www.wine-searcher.com/m/2014/10/fatal-wooddiseases-affect-12-percent-of-french-vineyards>]. Accessed 28 October 2015.
- Lorenzini, M., Cappello, M. S., Perrone, G., Logrieco, A., and Zapparoli, G., 2019. New records of *Penicillium* and *Aspergillus* from withered Grapes in Italy, and Description of *Penicillium fructuariae-cellae* sp. nov. *Phytopathologia Mediterranea*, 58 (2): 323-340.
- Mohammadi, H., Gramaje, D., Banihashemi, Z., and Armengol, J., 2013. Characterization of *Diplodia seriata* and *Neofusicoccum parvum* Associated with Grapevine Decline in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15 (3): 603-616.
- Mostert L., J. Z. Groenewald, R. C. Summerbell, W. Gams and P. W. Crous, 2006. Taxonomy and Pathology of *Togninia* (Diaporthales) and Its *Phaeoacremonium* Anamorphs. *Studies in Mycology*, 54:1-113.

- O'Donnell K., E. Cigelnik and H.I. Nirenberg, 1998. Molecular Systematics and Phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* Species Complex. *Mycologia*, 90 (3): 465-493.
- Oksal, E., Çelik, Y., and Özer, G., 2019. *Neoscytalidium dimidiatum* Causes Canker and Dieback on Grapevine in Turkey. *Australasian Plant Disease Notes*, 14 (1):1-3.
- Phillips, A. J. L., 1998. *Botryosphaeria dothidea* and other Fungi Associated with Excoriose and Dieback of Grapevines in Portugal. *Journal of Phytopathology*, 146:327-332.
- Pinto, C., Custódio, V., Nunes, M., Songy, A., Rabenoelina, F., Courteaux, B., and Fontaine, F., 2018. Understand the Potential Role of *Aureobasidium pullulans*, a Resident Microorganism from Grapevine, to Prevent the Infection Caused by *Diplodia seriata*. *Frontiers in Microbiology*, 9:3047.
- Pitt, W. M., Huang, R., Steel, C. C., and Savocchia, S., 2010. Identification, Distribution and Current Taxonomy of *Botryosphaeriaceae* Species Associated with Grapevine Decline in New South Wales and South Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16 (1):258-271.
- Porrás-Alfaro, A., and Bayman, P., 2011. Hidden Fungi, Emergent Properties: Endophytes and Microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*, 49: 291-315.
- Qiu, Y., Steel, C. C., Ash, G. J., and Savocchia, S., 2011. Survey of *Botryosphaeriaceae* Associated with Grapevine Decline in the Hunter Valley and Mudgee Grape Growing Regions of New South Wales. *Australasian Plant Pathology*, 40 (1):1-11.
- Rolshausen, P. E., Travadon, R. Gubler, W. D., Cadle-Davidson, L., and Baumgartner, K., 2013. Susceptibility of Cultivated and Wild *Vitis* spp. to Wood Infection by Fungal Trunk Pathogens. *Plant Disease*, 97 (12):1529-1536.

- Rovesti, L., and Montermini, A., 1987. A Grapevine Decline Caused by *Sphaeropsis malorum* Widespread in the Province of Reggio-Emilia. *Informatore fitopatologico*, 37:1-59.
- Savaş, N. G., Akgül, D. S., and Albaz, E. A., 2015. First Report of *Ilyonectria liriodendri* Associated with Black Foot Disease of Grapevine in Turkey. *Plant Disease*, 99 (12): 1855-1855.
- Schulz, B., and Boyle, C., 2005. The Endophytic Continuum. *Mycological Research*, 109 (6):661-686.
- Silva-Valderrama, I., Toapanta, D., Miccono, M. D. L. A., Lolas, M., Díaz, G. A., Cantu, D., and Castro, A., 2021. Biocontrol Potential of Grapevine Endophytic and Rhizospheric Fungi Against Trunk Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 11: 3311.
- Úrbez-Torres, J. R., Leavitt, G. M., Voegel, T., and Gubler W. D., 2006. Identification and Distribution of *Botryosphaeria* Species Associated with Grapevines Cankers in California. *Plant Disease*, 90:1490-1503.
- Úrbez-Torres, J. R., Leavitt, G. M., Guerrero, J. C., Guevara, J., and Gubler, W. D., 2008. Identification and Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the Causal Agents of Bot Canker Disease of Grapevines in Mexico. *Plant Disease*, 92 (4):519-529.
- Úrbez-Torres, J. R., and Gubler, W. D., 2009. Pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* Species Isolated from Grapevine Cankers in California. *Plant Disease*, 93 (6):584-592.
- Varanda, C. M. R., Oliveira, M., Materatski, P., Landum, M., Clara, M. I. E., and do Rosário Félix, M., 2016. Fungal Endophytic Communities Associated to the Phyllosphere of Grapevine Cultivars under Different Types of Management. *Fungal Biology*, 120 (12):1525-1536.
- Vilgalys, R. and Hester, M., 1990. Rapid Genetic Identification and Mapping of Enzymatically Amplified Ribosomal DNA from Several *Cryptococcus* Species. *Journal of Bacteriology*, 172 (8): 4238-4246.

- Wicks, T., and Davies, K., 1999. The effect of *Eutypa* on Grapevine yield. *Australian Grapegrower and Winemaker*, 406: 15-16.
- Wood, P. M., and Wood, C. E., 2005. Cane Dieback of Dawn Seedless Table Grapevines (*Vitis vinifera*) in Western Australia Caused by *Botryosphaeria rhodina*. *Australian Plant Pathology*, 34:393-395.
- Wunderlich, N., Steel, C., Ash, G., Raman, H., and Savocchia, S., 2008. Pathogenicity and Molecular Identification of *Botryosphaeria* spp. on *Vitis vinifera* in the Hunter Valley. In 9th International Congress of Plant Pathology, (pp. 184-184).
- White, T.J., T. Bruns, Lee, S. and Taylor, J., 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. Eds. M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Snisky & T.J. White, In: PCR protocols: a Guide to Methods and Applications. San Diego. Academic Press, 315–322s.
- Yağcı, A., 2021. Tokat Koşullarında Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinde Endofitik Fungusların Belirlenmesi ve Moleküler Yöntemle Karakterizasyonu. Tokat Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tokat. 117s.
- Yan, J., Xie, Y., Yao, S., Wang, Z., and Li, X., 2012. Characterization of *Botryosphaeria dothidea*, the Causal Agent of Grapevine Canker in China. *Australian Plant Pathology*, 41 (4):351-357.
- Zhang W., J.Z. Groenewald, L. Lombard, R.K. Schumacher, A.J.L. Phillips and Crous, P.W., 2021. Evaluating Species in Botryosphaeriales. *Persoonia*, 46: 63-115.

ÖZGEÇMİŞ

Halil İbrahim KARA, İlkorta ve lise öğrenimini Gaziantep'te tamamlamıştır. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde yükseköğrenime başlamış ve 2019 yılında Bitki Koruma Bölümünden mezun olmuştur. 2019 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Fitopatoloji alanında Yüksek Lisans eğitimine başlamıştır.

