

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**EGE BÖLGESİNDEKİ BAĞLARDA
PETRİ VE KAV HASTALIĞINA
NEDEN OLAN FUNGAL ETMENLERİN
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI
VE MÜCADELESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Dilek POYRAZ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ersin ONOĞUR

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 501.03.01

Sunuş Tarihi: 18.10.2012

Bornova - İZMİR

2012

Dilek Poyraz tarafından **Doktora** tezi olarak sunulan “**Ege Bölgesindeki Bağlarda Petri ve Kav Hastalığına Neden Olan Fungal Etmenlerin Moleküler Yöntemlerle Saptanması ve Mücadelesi Üzerine Araştırmalar**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 18/10/2012 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

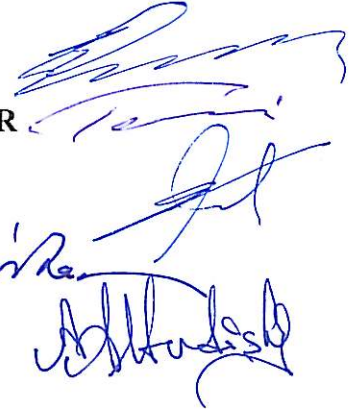
Jüri Başkanı : Prof. Dr. Ersin ONOĞUR

Raportör Üye : Prof. Dr. Pervin KINAY TEKSÜR

Üye : Prof. Dr. Bahattin TANYOLAÇ

Üye : Prof. Dr. Emin ONAN

Üye : Prof. Dr. Ahmet ALTINDİŞLİ



ÖZET**EGE BÖLGESİNDEKİ BAĞLARDA PETRİ VE KAV
HASTALIĞINA NEDEN OLAN FUNGAL ETMENLERİN
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI
VE MÜCADELESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

POYRAZ, Dilek

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ersin ONOĞUR

Eylül 2012, 101 sayfa

Bu çalışma, Ege Bölgesi Manisa, Denizli ve İzmir illerindeki fidanlıklar ile üretici bağlarında Kav ve Petri hastalıklarına yol açan fungal etmenleri klasik izolasyon ve moleküler yöntemler yardımıyla saptamak, bu etmenlerin kompleks hastalık tablosundaki rollerini belirlemek, Petri hastalığına yol açan etmenlerin kaynağını araştırmak, bu hastalıkların savaşımında sıcak su uygulamasının etmenlerin in vitro miseliyal gelişimine ve bulaşık asma çeliklerini etmenlerden arındırma üzerine etkisini saptamak amacıyla planlanmış ve 2009-2012 yılları arasında yürütülmüştür.

Çalışma, asma fidanlıklarından, genç ve yaşlı bağlardan alınan örneklerle dayalı olarak yürütülmüş, fidanlıklarda Petri hastalığına neden olan *Phaeoacremonium oleophilum* (Pm) ve *Phaeomoniella chlamydospora* (Pcl) etmenleri saptanmıştır. Genç asmalarda ağırlıklı olarak Petri hastalığının etmenleri Pm, Pcl ve ek olarak Kav hastalığı etmeni *Fomitiporia mediterranea* (Fom) saptanırken, yaşlı asmalarda ağırlıklı olarak Fom ve yanında Pm ve Pcl etmenlerinin varlığı belirlenmiştir.

Bu etmenlerin tanısı morfolojik özelliklerine göre ve PCR yöntemi yardımıyla yapılmıştır. PCR yöntemi yardımıyla moleküler tanılar; Pm için ITS4-ITS5 primerleri ile yapılmış ve 610 bp uzunluğunda bant elde edilmiş, Pcl için Pcl1-Pcl2 primerleri kullanılmış ve 325 bp uzunluğunda bant elde edilmiş, Fom

için ise ITS4-ITS5 primerleri kullanılmış ve 740 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir.

Asma fidanlarının Pm ve Pcl ile bulaşık olması bu fidanlıklardan temin edilen üretim materyalinin Petri hastalığının yayılmasından sorumlu olduğunu göstermiştir. Bu nedenle çalışmanın ikinci evresinde sıcak su uygulamasının temiz üretim materyali elde etmedeki yararı araştırılmıştır. Bu bağlamda önce sıcak su uygulamasının etmenlerin in vitro miseliyal gelişimine etkisi incelenmiş ve sıcaklık-süre kombinasyonlarında etmenlerin gelişme eşikleri belirlenmiştir. Bu kombinasyonların bulaşık asma çeliklerinin gelişmesine ve çelikleri etmenlerden arındırma etkisine bakıldığında, bazı kombinasyonlarda kontrole göre uygulama yapılmış çeliklerde etmenlerin bulunma oranı daha düşük olmuş, ancak çeliklerin gelişiminde gerileme saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Asma, *Vitis vinifera*, Petri hastalığı, Kav hastalığı, klasik ve moleküler tanı, *Phaeoacremonium oleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea*, sıcak su uygulaması.

ABSTRACT**A STUDY ON THE DETERMINATION OF CAUSAL FUNGAL AGENTS
OF PETRI AND ESCA DISEASES IN VINEYARDS OF AEGEAN
REGION BY MOLECULAR METHODS AND THEIR CONTROL**

POYRAZ, Dilek

PhD in Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Ersin ONOĞUR

September 2012, 101 pages

This study was carried out between the years of 2009-2012 in order to determine fungal agents that cause Esca and Petri diseases in grapevine nurseries and in vineyards of Manisa, Denizli and Izmir provinces of Aegean Region, with the help of classical and PCR techniques. It was planned to investigate the role and share of pathogens in complex disease symptoms, to find out the source of pathogens of Petri disease and also to observe the effect of hot water applications on the mycelial growth of causal agents *in vitro* and on the decontamination of infected cuttings.

The trunk, cane and leaf samples were taken from the grapevine nurseries, young and older vineyards. The isolations from nurseries revealed that the presence of *Phaeoacremonium oleophilum* (Pm) and *Phaeomoniella chlamydospora* (Pcl) as causal agents of Petri disease, based on their morphological characteristics. The samples from young vineyards were infected primarily with Pm, Pcl and secondly with *Fomitiporia mediterranea* (Fom), known as Esca pathogen, whereas the isolations from older vineyards indicated firstly the presence of Fom followed with Pm and Pcl.

The diagnosis of Petri and Esca pathogens was also confirmed by using molecular PCR method. The primers used for these diagnostics at molecular and obtained band lengths were 610 bp for Pm ITS4-ITS5 primers; 325 bp for Pcl Pcl1-Pcl2 primers and 740 bp for Fom ITS4-ITS5 primers.

VIII

The infection of vine samples with Pm and Pcl has indicated that the propagation material obtained from such nurseries might be responsible for the spread of Petri disease in the region. Therefore, in the second phase of the study, the benefit of hot water application in obtaining healthy grafting material was investigated. In this context, firstly in vitro effect of the hot water application on mycelial growth of the pathogens was examined and thresholds for the development on agar in combinations of temperature-time were determined. As the decontamination effect of hot water treatment in temperature-time combinations on vine cuttings studied, it was found that, the rate of presence of the pathogens in cuttings in some combinations were lower as compare to the control, however growth of hot water treated cuttings in pots were negatively effected.

Key words: Grapevine, *Vitis vinifera*, Petri disease, Esca, classical and molecular diagnosis, *Phaeoacremonium oleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea*, hot water treatment.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın seçiminde ve her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Ersin ONOĞUR'a teşekkür ederim. Çalışmalarım süresince tez izleme komitesi üyeleri olarak devamlı desteğini gördüğüm sayın Prof. Dr. Gülay TURHAN, sayın Prof. Dr. Bahattin TANYOLAÇ ve sayın Prof. Dr. Pervin KINAY TEKSÜR'e teşekkür ederim.

Bu çalışmayı TAGEM-BS-09/04-1/02-12 no'lu proje olarak destekleyen T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne ve çalışmalarımda bana sağlanan imkânlardan dolayı Bornova Zirai Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü'ne ve mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmamda bana referans olarak kullandığım fungal izolatları gönderen ve yardımlarını esirgemeyen Kaliforniya Üniversitesi'nden Dr.Akif Eskalen ve Dr.Jose Ramon Urbez-Torres'e teşekkür ederim.

Örneklerimin alınması aşamasında yardımlarından dolayı Manisa, Denizli ve İzmir İl ve İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Bitki Koruma Şube Müdürlükleri ve çalışanlarına, fidan örneklerinin alımında bana yardımcı olan fidanlık sahiplerine teşekkür ederim.

Çalışmamda bana yardımcı olan Uzm. Serpil ERİLMEZ ve Zir. Müh. E. İlhan BOZKURT'a ve son olarak çalışmam süresince her türlü desteğini esirgemeyen sevgili eşim ve oğluma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET	V
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR	IX
İÇİNDEKİLER.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XXI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XXV
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
2.1. Kav Hastalığı İle İlgili Çalışmalar	6
2.2. Petri Hastalığı ile İlgili Çalışmalar	11
3. MATERYAL VE METOT.....	21
3.1. Bitki Materyali.....	21
3.1.1. Fidanlıklardan materyal temini.....	21
3.1.2. Genç ve yaşlı asmalardan materyal temini	22
3.2. Metot.....	24

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.2.1. İzolasyon Çalışmaları	24
3.2.2. Tanılama Çalışmaları.....	24
3.2.3. Sıcak su uygulamasının etmenlerin miseliyal gelişimine etkisinin ve bulaşık asma çeliklerinin canlılıkları ile çelikleri etmenlerden arındırma üzerine etkisinin saptanması	29
4. BULGULAR	32
4.1. Asma Fidanı ve Omcalarda Hastalık Belirtileri	32
4.1.1. Asma fidanlarının gövdelerindeki hastalık belirtileri.....	32
4.1.2. Genç asmaların gövdelerindeki hastalık belirtileri.....	34
4.1.3. Yaşlı asmaların gövdelerindeki hastalık belirtileri.....	36
4.1.4. Yaprakta hastalık belirtileri	38
4.1.5. Üzüm danelerinde hastalık belirtileri	41
4.2. İzole Edilen Etmenlerin Morfolojik Özellikleri	41
4.2.1. <i>Phaeoacremonium oleophilum</i> 'un morfolojik özellikler	42
4.2.2. <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> 'nın morfolojik özellikleri.....	43
4.2.3. <i>Fomitiporia mediterranea</i> 'nın morfolojik özellikleri.....	44
4.3. Etmenlerin Moleküler Tanısı.....	44

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

4.3.1. <i>Phaeoacremonium oleophilum</i> ' un moleküler tanısı.....	44
4.3.2. <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> ' nın moleküler tanısı	45
4.3.3. <i>Fomitiporia mediterranea</i> ' nın moleküler tanısı	46
4.3.4. Etmenlerin moleküler tanılarının karşılaştırılması	46
4.4. Etmenlerin Fidanlıklarda ve Bağlarda Varlığı.....	47
4.4.1. Etmenlerin fidanlıklardaki varlığı.....	47
4.4.2. Etmenlerin genç asmalardaki varlığı	49
4.4.3. Etmenlerin yaşlı asmalardaki varlığı	50
4.5. Sıcak Su Uygulamasının Etmenlerin Miseliyal Gelişimine Etkisi ve Bulaşık Asma Çeliklerinin Canlılıkları ile Çelikleri Etmenlerden Arındırma Üzerine Etkisi	51
4.5.1. Sıcak su uygulamasının etmenlerin miseliyal gelişimine etkisi	52
4.5.2. Sıcak su uygulamasının bulaşık asma çeliklerinin canlılıklarına ve onları etmenlerden arındırma üzerine etkisi	57
5. TARTIŞMA.....	72
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	86
KAYNAKLAR DİZİNİ	88
ÖZGEÇMİŞ	101

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Fidanlıklardan tüplü asma fidan örneklerinin alınması (A) ve paketlenmesi (B).....	22
3.2 Hastalık belirtisi taşıyan asmalardan yaprak, ana gövde (A) ve en az 2 yaşındaki sürgün (B) örneklerinin alınması.....	23
3.3 İzolasyon çalışmalarının evreleri; A. Yüzeysel sterilizasyon, B. PDA içeren petrilere aktarma, C. 25°C’de karanlıkta inkubasyon	24
3.4 Morfolojik karakteristiklerine göre tanılama çalışmaları; A-B. Mikroskopta inceleme, C. Koloni gelişiminin görüntülenmesi.....	25
3.5 Moleküler yöntemlere göre tanılama çalışmaları; A. DNA izolasyonu, B. PCR-Thermal Cycler, C. Jel-Elektroforez.....	28
3.6 Sıcak su uygulamasının etmenlerin miseliyal gelişimi üzerine etkisini saptamaya yönelik çalışmalar; A. Hot Blok’ta sıcaklık- süre kombinasyonlarının uygulanması, B. Eppendorf tüpteki agar disklerinin MEAS içeren petrilere alınması, C. 25°C’de karanlıkta inkubasyon.	30
3.7 Sıcak Su Uygulamasının bulaşık asma çeliklerinin canlılıklarına ve onları etmenlerden arındırma üzerine etkisinin saptanmasına yönelik çalışmalar; A. Çeliklerin sıcak su banyosunda muamelesi, B. Çeliklerin saksılara dikimi, C. İklim odasında geliştirme.	31
4.1 Asma gövdesinin enine kesitindeki kısımların şematik görüntüsü.	32
4.2 Asma fidanlarının enine ve boyuna kesitlerindeki hastalık belirtileri (A-B-C-D-E-F: Açıklamalar metin içinde verilmiştir).	33

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3 Genç bağlarda ana gövdenin enine ve boyuna kesitlerindeki hastalık belirtileri (A-B-C-D: Açıklamalar metin içinde verilmiştir).	35
4.4 Yaşlı Bağlarda ana gövdenin enine ve boyuna kesitlerindeki hastalık belirtileri (A-B-C-D-E-F: Açıklamalar metin içinde verilmiştir).	37
4.5 Hasta asmaların yapraklarında belirtilerin gelişimi.	39
4.6 Hasta asmada yaprak belirtilerinin genel görünümü.	40
4.7 Asmada hastalık nedeniyle kuruma.	40
4.8 Üzüm danelerinde hastalık belirtileri.	41
4.9 <i>Phaeoacremonium oleophilum</i> 'un makroskopik ve mikroskopik görüntüsü (A. MEA ortamındaki koloni gelişimi, B. Konidiosporlar (100x büyütme), C-D. Konidioforlar ile konidiospor (20X ve 40X büyütme).	42
4.10 <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> 'nın makroskopik ve mikroskopik görüntüsü (A. MEA ortamındaki koloni gelişimi, B. Konidiosporlar (100X büyütme), C-D. Konidioforlar ve konidiosporlar (20X ve 40X büyütme).	43
4.11 <i>Fomitiporia mediterranea</i> 'nın makroskopik ve mikroskopik görüntüsü (A. MEA ortamındaki gelişimi, B. Miselyum (40X büyütme).	44
4.12 <i>Pm</i> etmenlerinin PCR elektroforez-jel görüntüsü. (L: 100bp'lik ladder, 1-12: Pm, 13: Pcl, 14: Fom, N: su kontrol)	45
4.13 Pcl etmenlerinin PCR elektroforez-jel görüntüsü. (L: 100bp'lik ladder, 1-5: Pcl, 6: Pm, 7: Fom, N: su kontrol).	45

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

4.14 Fom etmenlerinin PCR elektroforez-jel görüntüsü. (L: 100bp'lık ladder, 1-5: Fom , 6-7: Pm , 8-9: Pcl, N: su kontrol).	46
4.15 Pm, Pcl, Fom etmenlerinin PCR elektroforez-jel görüntüsü. (L: 100bp'lık ladder, 1-4: Pcl, 5-9: Pm, 10-13: Fom, N: su kontrol).	47
4.16 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerinin Pcl'nın koloni gelişimine % etkisi.	53
4.17 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerine göre Pm'un koloni gelişimine % etkisi.	54
4.18 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerine göre Fom'nın % koloni gelişimine % etkisi.	56
4.19 Sıcak su uygulaması yapılmamış (kontrol) asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A) ve kök gelişimleri (B).	58
4.20 45 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H).	59
4.21 45°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).	60
4.22 48°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).	61

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)ŞekilSayfa

- 4.23 49°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm)..... 62
- 4.24 50 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H)..... 63
- 4.25 50°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm)..... 63
- 4.26 51 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H)..... 64
- 4.27 51°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm)..... 65
- 4.28 52 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H)..... 66
- 4.29 52°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm)..... 66
- 4.30 53-54-55°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H)..... 67

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.31 53-54-55°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).....	68
4.32 Farklı sıcaklık ve sürelerde su içinde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 1 yıl sonraki canlı kalan çeliklerin durumu (A. Kontrol, B. 45 °C, C. 48 °C, D. 50 °C, E. 51 °C, F. 52 °C).....	71
5.1 Petri hastalığının asma fidanlarındaki enine (A-B) ve boyuna (C) kesitlerindeki belirtileri.....	73
5.2 Genç asmalarda Petri ve Kav hastalığının enine kesitlerindeki belirtileri A-B-C) (Luque et al., 2009; White, 2010; Andolfi et al., 2011).	74
5.3 Asmaların gövdelerinin enine kesitindeki Petri ve Kav hastalığına neden olan etmenlerin oluşturdukları belirti tiplerinin şematik görüntüsü (A-B-C-D-E) (Larignon, 1999).....	75
5.4 Yaşlı asmalarda Kav ve Petri hastalığının enine (A-B-D) ve boyuna (C) kesitlerindeki belirtiler (White, 2010).	76
5.5 Genç ve yaşlı asmalarda Kav ve Petri hastalığının yaprak belirtileri (A-B-C) (White, 2010).....	77
5.6 Genç ve yaşlı asmalarda Kav ve Petri hastalığının üzüm danelerindeki belirtileri (Rooney-Latham et al., 2005; Eskalen et al., 2005; Vasquez, 2012).....	78
5.7 Kav ve Petri hastalığına neden olan etmenlerin asmaya yerleştikleri sıra ve zamanı (Surico ,2001).....	81

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 2010 yılı İllere göre Ege Bölgesi'ndeki üzüm üretim alanları (da) ve üretim miktarları (ton).	2
3.1 2010 yılı Manisa, İzmir ve Denizli İlleri üzüm üretim alanları (da) ve Ege Bölgesi Üretimindeki payı (TÜİK, 2010).	21
3.2 İllere göre asma fidanı örneklerinin alındığı fidanlık sayısı-kodları ve bu fidanlıklardan alınan asma çeşitleri-kodları.	22
3.3 İl ve İlçelere göre genç ve yaşlı asmalardan alınan örnek sayıları.	23
3.4 PCR protokolü.	27
3.5 PCR master Mix (2x) protokolü.	27
3.6 Fungal etmenlere göre kullanılan primer ve PCR programları.	28
3.7 Sıcak su uygulamasında kullanılan sıcaklık (°C) ve süreler (dk).	29
4.1 Asma fidanlarının gövdelerindeki Şekil 4.2'deki hastalık belirtilerine göre izolasyon sonucunda elde edilen fungal etmenler.	34
4.2 Genç asmaların gövdelerindeki Şekil 4.2'de tarif edilen hastalık belirtilerinden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen fungal etmenler.	36
4.3 Yaşlı asmaların gövdelerindeki Şekil 4.3'de tarif edilen hastalık belirtilerinden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen fungal etmenler.	38
4.4 Fidanlıklar ve asma fidanı çeşitlerine göre saptanan fungal etmenler.	48
4.5 Genç asmalarda saptanan fungal etmenler	49

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.6 Yaşlı asmalarda saptanan fungal etmenler.	51
4.7 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerinin Pcl'nın koloni gelişimine % etkisi ve istatistiksel gruplandırma.	52
4.8 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerine göre Pm'un koloni gelişimine % etkisi ve istatistiki gruplandırma.	54
4.9 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerine göre Fom'nın koloni gelişimine % etkisi ve istatistiki gruplandırma.	56
4.10 Farklı sıcaklıktaki su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).....	58
4.11 Sıcak su ile muamele edilmemiş çeliklerin denemenin 30.gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri (cm)	59
4.12 45 °C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri	60
4.13 48 °C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri	61
4.14 49 °C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri	62
4.15 50°C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri	64

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.16 51°C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri	65
4.17 52°C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri	67
4.18 Farklı sıcaklıktaki su içinde farklı sürelerde tutulmuş 10 adet bulaşık asma çeliklerinde dikimden 30 gün sonra 10 adet yapılan izolasyonlar sonucunda saptanan hastalık etmenleri (adet).	69
4.19 Farklı sıcaklıktaki su içinde farklı sürelerde tutulmuş 5 adet bulaşık asma çeliklerinde dikimden 1 yıl sonra yapılan izolasyonlar sonucunda saptanan hastalık etmenleri (adet).	70
5.1 Asma fidanı ile genç ve yaşlı asmalarda saptanan fungal etmenler.	80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
°C	Derece santigrad
Bkz.	Bakınız
bp	Baz çifti (base pare)
BS	Bitki Sağlığı
cm	Santimetre
da	Dekar
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinukleosid trifosfat
DW	Destile water
Fom	<i>Fomitiporia mediterranea</i>
Fop	<i>Fomitiporia punctata</i>
g	Gram (ağırlık)
g	Nispi santrifugal kuvvet
ha	Hektar
L	Ladder (moleküler ağırlık standardı)
M	Molar
N	Negatif
MEA	Malt Extrakt Agar
MEAS	Streptomisin sülfat ilaveli malt ekstrakt agar
M.Ö.	Milattan Önce
ml	Mililitre

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

mM	Milimolar
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
Pcl	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction)
PDA	Patates dekstrozu agar
Pm	<i>Phaeoacremonium oleophilum</i>
Ph	<i>Phellinus igniarius</i>
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonu
RBA	Rose bengal agar
rpm	Dakikadaki devir sayısı (rotation per minute)
sn	Saniye
Ste	<i>Stereum hirsutum</i>
TAGEM	Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
TAE	Tris- acetate-EDTA
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviolet
V	Volt

1. GİRİŞ

Türkiye, bağcılık için dünyanın en elverişli iklim koşullarına sahip ülkelerinden birisidir. Asmanın (*Vitis vinifera* L.) gen merkezi olmasının yanı sıra çok eski tarihlere dayanan bir bağcılık kültürüne sahip olan Anadolu bağcılığının kökeni M.Ö. 2300 yıllarına dayanmaktadır.

Üzüm içerdiği yüksek şekerden dolayı, kalori değeri yüksek bir besin maddesidir. Ayrıca mineral maddelerden kalsiyum, potasyum, sodyum ve demir yönünden zengin olduğu gibi, bazı vitaminler (A, B1, B2, Niacin ve C vitaminleri) yönünden de önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Üzüm yaş olarak sofralık üretiminin yanı sıra, şarap, sirke, pekmez, kurutulmuş kek ve pastaların içerisinde, çerez olarak çeşitli şekillerde değerlendirilmektedir (Çelik vd., 1998).

Türkiye İstatistik Kurumunun 2010 verilerine göre ülkemiz, dünya ülkeleri arasında, bağ alanı yönünden 4.sırada (477.786 ha), üzüm üretimi yönünden ise 6. (4.255.000 ton) sıradadır. Üretilen 4.255.000 ton üzümün yaklaşık %40'ını sofralık çekirdekli üzüm, %13'ünü sofralık çekirdeksiz üzüm, %26'sını çekirdeksiz kuru üzüm, %10'unu çekirdekli kuru üzüm ve %11'ini şaraplık üzüm oluşturmaktadır. Ülkemiz dünyada en büyük çekirdeksiz kuru üzüm üreticisi ve ihracatçısı konumundadır. Dünyadaki çekirdeksiz kuru üzüm ihracatının % 40-45'ini gerçekleştiren Türkiye üzüm ihracatı ile ülke ekonomisi için önemli bir gelir kaynağını oluşturmaktadır.

Üzüm üretimi bakımından ülkemiz bölgelere göre değerlendirildiğinde ise, gerek alan (1.392.082 da), gerekse üretim (1.952.356 ton) açısından Ege Bölgesi ilk sırada yer almaktadır. İllere göre değerlendirildiğinde ise, Çizelge 1.1'de görüldüğü gibi hem alan (715.895 da) hem de üzüm üretimi (1.372.571 ton) yönünden Manisa ilk sırada yer almaktadır (TÜİK, 2010).

Çizelge 1.1 2010 yılı İllere göre Ege Bölgesi'ndeki üzüm üretim alanları (da) ve üretim miktarları (ton).

	Üretim Alan (dekar)	Üretim Miktarı(ton)
İzmir	123.260	104.230
Aydın	19.085	18.470
Denizli	445.775	381.949
Muğla	9.652	8.558
Manisa	715.895	1.372.571
Afyon	14.836	8.142
Kütahya	13.111	21.261
Uşak	50.468	37.175
Ege Bölgesi	1.392.082	1.952.356
Türkiye	4.777.856	4.255.000

Önemli bir tarım ürünü olan üzümün yetiştirilmesinden, depolanmasına ve işlenmesinden, pazarlamasına kadar olan süreçte önemli sorunları bulunmaktadır. Yetiştiricilik aşamasında ortaya çıkan sorunların başında hastalık ve zararlılar gelmektedir. Bu hastalıklar arasında; Külleme (*Erysiphe necator* Schwein.), Mildiyö (*Plasmopara viticola* Berl. & De Toni.), Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea* Pers.), Ölükol (*Phomopsis viticola* Sacc.), Antraknoz (*Elsinoe ampelina* Shear.), Kav (*Stereum hirsutum* Pers., *Phellinus igniarius* Quél., *Phaeoacremonium aleophilum* W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai., *Phaeomoniella chlamydospora* Crous & W. Gams) ve Eutypa (*Eutypa lata* Tul. & C. Tul) Hastalığı yer almaktadır (TAGEM, 2008).

“Esca” olarak da bilinen “Kav Hastalığı” Türkiye’de ilk defa P. Viala tarafından 1926 yılında İzmir (Smyrna) bağlarında saptanmıştır. Esca özellikle yaşlı bağlarda sorun olan, birkaç fungal etmenin birlikte neden olduğu bir hastalık olarak düşünülmüştür. İyriboz (1942) tarafından Kav hastalığının Ege Bölgesindeki varlığı ve hastalığa *Stereum hirsutum* ve *Phellinus (Fomes) igniarius* fungal etmenlerinin neden olduğu ilk defa kayda geçmiştir. Daha sonra Üzümeri (1947), yaşlı bağların zarar gören odun dokusunda *Stereum necator*, *S. hirsutum*, *Polyporus igniarius* ve *P. versicolor* adlı fungal etmenleri saptamıştır.

Ege Bölgesi bağlarında Kav hastalığı ile ilgili en son çalışma Erkan ve Larignon (1998) tarafından gerçekleştirilmiştir. Söz konusu araştırmada, Manisa ve İzmir bağlarından Kav hastalığının tipik belirtilerini taşıyan bitki örnekleri toplanmış ve örneklerin farklı kısımlarından yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen izolatların tanısı Fransa’da yapılmıştır. Sonuç olarak, Kav belirtileri gösteren asmalardan *Stereum hirsutum*, *Phellinus sp.*, *Phaeoacremonium oleophilum* ve *Phaeoacremonium chlamydosporum* saptanmıştır. Son iki fungusun Türkiye’deki varlığı ilk olarak bu araştırma ile ortaya konmuş, ancak bu etmenler Kav hastalığı ile ilişkilendirilmiş, Petri hastalığına yol açabildiklerine değinilmemiştir (Erkan, 2000). Bu yayının sonucu olarak, Zirai Mücadele Teknik Talimatlarında Kav Hastalığı’na neden olan etmenler arasında *Phaeoacremonium oleophilum* ve *Phaeoacremonium chlamydosporum* da yer almıştır.

İtalyan bitki patoloğu Lionello Petri tarafından 1912 yılında, İtalya’da yapılan çalışmada ise asma yapraklarında Kav belirtilerine benzer olan asmaların odun dokusundan yapılan izolasyonlar sonucunda *Phaeoacremonium* ve *Phaeomoniella* türlerinin varlığı saptanmıştır. Bu çalışmanın sonunda bu etmenlerin yol açtığı belirti tablosu, Kav’dan ayrı bir hastalık olarak araştırıcının adına izafeten, “Petri Hastalığı” altında tarif edilmiştir (Penn, 2001).

Son yıllarda yurt dışında yapılan birçok çalışmada, *Phaeoacremonium* ve *Phaeomoniella* türleri Kav hastalığının tipik yaprak belirtilerine benzer belirtileri gösteren genç asmaların odun dokusundan izole edilmiş ve bu etmenlerin yaşlı omcalsardaki Kav hastalığının etiolojisi içinde yer alıp almadıkları araştırılmıştır. Fidanlıklardan alınan örnekler üzerinde sürdürülen çalışmalarda, *Phaeoacremonium* ve *Phaeomoniella* türlerinin varlığı moleküler tanı yöntemleriyle ortaya konmuş ve sonuçta bu etmenlerin Kav’dan farklı olarak, Petri hastalığına yol açtıkları ortaya konmuştur. Bu çalışmalarda, Petri Hastalığının fidanlıkta ve bölgeler arasında yayılmasında bulaşık anaç ve çeliklerin ve dolayısıyla fidanların büyük rol oynadığı saptanmıştır (Scheck et al., 1998; Stamp, 2001; Retief et al., 2006; Aroca et al., 2006; Gimenez-Jaime et al., 2006).

İzmir ve Manisa Ticaret Borsası, İzmir Ticaret Odası, Ege İhracatçıları Birliği ve Manisa Bağcılık Araştırma İstasyonu temsilcilerinden bir komisyon oluşturularak 18.07-04.08.2011 tarihleri arasında çekirdeksiz kuru üzüm üretimi yapan Manisa, İzmir ve Denizli il ve ilçelerini dolaşmışlardır. Sonuçta “2011-2012 Ege Bölgesi Çekirdeksiz Kuru Üzüm Rekolte Tahmin Raporu” hazırlanmıştır. Bu raporda tüm bölgelerdeki bağlarda Kav Hastalığının yayılma eğiliminde olduğu, ciddi sorunlara yol açtığı ve bağın önemli hastalıkları arasında yer aldığı belirtilmiştir. Ancak bu raporlarda hastalık “Kav”- “Petri” olarak ayırt edilmemekte, sadece “Kav” olarak yer almaktadır.

Bornova Ziraî Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğüne, 2007 yılından günümüze kadar olan süre içerisinde Ege Bölgesindeki il ve ilçelerden gelen şikâyetler, örnekler ve arazi kontrolleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre neredeyse tüm yaşlı bağlarda Kav hastalığı yanında yeni tesis edilmiş genç bağlarda da benzer hastalık belirtilerine mutlaka rastlanmıştır. Buna paralel olarak, daha çok 10 yaşın üzerindeki bağlarda sorun olduğu bilinen “Kav Hastalığı” artık genç bağlarda da şikâyet konusu olmaktadır. Bu şikâyetler ve bulgular gittikçe artan bir sıklıkla dile getirilmektedir. Sonuç olarak, bu iki hastalık üzerinde ayırt edici, kapsamlı bir araştırma yapma gereksinimi doğmuştur.

Ülkemizde yapılan çalışmalar da incelendiğinde, 1947-1998 yılları arasında ve 1998 yılından günümüze kadar olan süreçte bu konu ile ilgili herhangi bir çalışmanın bulunmadığı dikkati çekmiştir.

Kav hastalığı’nın kimyasal mücadelesi talimatlarda yer almamakta, ancak hastalığın yayılmasını önlemek amacıyla alınabilecek kültürel önlemler ön plana çıkmaktadır (TAGEM, 2008). Petri hastalığına yönelik olarak henüz dış ülkelerde de kesinleşmiş bir mücadele protokolu mevcut olmamakla birlikte, asma anaç ve çeliklerinin sıcak su ile muamelesi, biyopreparat ve fungusit uygulamaları yoluyla mücadele olanakları araştırılmış ve elde edilen bulguların fidanlıklarda kullanılmasıyla yeni tesislerde önemli oranda başarı sağlandığı bildirilmiştir (Edwards et al., 2000; Rooney and Gubler, 2001b; Fourie and Halleen, 2006; Gramaje et al., 2008; Gramaje et al., 2009a ve 2009b).

Türkiye’de, özellikle Ege Bölgesinde, Kav hastalığı yanında Petri hastalığının da var olduğunu ortaya koymak ve talimatlarda bu hastalığa ve mücadelesine de yer verilmesini sağlamak üzere planlanan ve yürütülen bu çalışmada;

- Ege Bölgesinde bağ yetiştiriciliğinin en çok yapıldığı **Manisa, Denizli ve İzmir** illerindeki özel ve resmi fidanlıklarda, üreticiye ait genç ve yaşlı bağlarda kompleks bir belirti tablosuna sahip Petri ve Kav hastalıklarının varlığını belirlemek, hastalık tablosuna iştirak eden fungal etmenlerin varlığını moleküler yöntemler kullanarak saptamak, böylelikle bu etmenlerin hastalık tablosundaki rollerini ve paylarını kesinleştirmek,
- Hastalığın fidanlıklardaki varlığını saptamak ve böylelikle bölgedeki yayılmanın nedenini ortaya koyabilmek,
- Hastalığın savaşımında **sıcak su uygulamasının** etmenlerin miseliyal gelişimine etkisini ve bulaşık asma çeliklerinin canlılıkları ile çelikleri etmenlerden arındırma üzerine etkisini saptamak ve fidanlıklarda uygulanması için veri elde etmek amaçlanmıştır.

Bu çalışma, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM-BS-09/04-1/02-12 no’lu proje olarak desteklenmiş ve Bornova Zirai Mücadele Araştırma İstasyon’unda yürütülmüştür.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kav Hastalığı ile İlgili Çalışmalar

“**Kav Hastalığı**” özellikle yaşlı bağlarda sorun olan “Black measles, Apoplexy, Esca, Folletage, White root, Esca proper, Vine decline, Sunstroke” gibi farklı isimlerle anılmaktadır (Mugnai et al., 1999). Türkiye’de asmalarda odun dokusunun kavlamasına neden olmasından dolayı “Kav” hastalığı adını almıştır. Yunancada ise “kav” anlamına gelmesinden dolayı “Esca” olarak adlandırılmıştır (Viala, 1926). Böylece Latin ve Yunan literatüründe bu isimle yer almış ve bütün dünya bu ismi kullanmıştır (Surico, 2000; Graniti, 2006).

Kav hastalığına neden olan fungal etmenler birden fazladır. Fransa ve Türkiye’de yapılan ilk çalışmalarda yaşlı bağlarda *Stereum hirsutum* (**Ste**) ve *Phellinus igniarius* (**Ph**) etmenleri saptanmıştır (Ravaz, 1898, 1909; Viala, 1926). Daha sonra Larignon and Dubos’ un (1997) yaptığı çalışmayla bu hastalığa neden olan fungal etmenlere *Fomitiporia punctata* (**Fop**) eklenmiştir.

Son yapılan çalışmalarda ise Kav hastalığına *Fomitiporia mediterranea* (**Fom**) fungal etmeninin tek başına neden olabildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte **Ste**’ un ise bu hastalıkta çok küçük bir rolünün olduğu da belirtilmiştir. (Fischer, 2002; Fischer and Kassemeyer, 2003; Fischer, 2006; Surico, 2009; White, 2010).

Sözü edilen bu etmenlerin taksonomideki yerleri, varsa eşeyli formları ve bazı sinonimleri www.indexfungorum.org’a göre aşağıda verilmiştir.

Etmenin adı	<i>Phellinus igniarius</i> (L.) Quél., <i>Enchir. fung.</i> (Pmr): 177 (1886)
Basionym	<i>Boletus igniarius</i> L. 1753
Eşeyli formu	-
Taksonomideki yeri	Hymenochaetaceae, Hymenochaetales, Incertae sedis, Agaricomycetes, Agaricomycotina, Basidiomycota, Fungi
Sinonimi	<i>Fomes igniarius</i> (L.) Cooke, <i>Grevillea</i> 14(no. 69): 18 (1885) <i>Polyporites igniarius</i> (L.) Heer, 68: 42 (1866) <i>Pyropolyporus igniarius</i> (L.) Murrill, <i>Bull. Torrey bot. Club</i> 30(2): 110 (1903))

Etmenin adı	<i>Stereum hirsutum</i> (Willd.) Pers., <i>Observ. mycol.</i> (Lipsiae) 2: 90 (1800) [1799]
Basionym	<i>Thelephora hirsuta</i> Willd. 1787
Eşeyli formu	-
Taksonomideki yeri	Stereaceae, Russulales, Incertae sedis, Agaricomycetes, Agaricomycotina, Basidiomycota, Fungi
Sinonimi	<i>Helvella acaulis</i> Pers., <i>Icon. Desc. Fung. Min. Cognit.</i> (Leipzig) 2: 20 (1800) <i>Stereum reflexum</i> (Bull.) Sacc., <i>Fl. ital. crypt.</i> , Hymeniales (Genoa) 1(15): 1148 (1916) <i>Thelephora hirsuta</i> Willd., <i>Fl. berol. prodr.</i> : 397 (1787) <i>Thelephora reflexa</i> (Bull.) Lam. & DC., <i>Fl. franç.</i> , Edn 3 (Pmris) 2: 105 (1805)

Etmenin adı	<i>Fomitiporia punctata</i> (Pilát) Murrill 1947
Eşeyli formu	-
Taksonomideki yeri	Hymenochaetaceae, Hymenochaetales, Incertae sedis, Agaricomycetes, Agaricomycotina, Basidiomycota, Fungi
Sinonimi	<i>Fomitiporella punctata</i> (Pilát) Teixeira, <i>Revista Brasileira de Botânica</i> 15(2): 126 (1992) <i>Phellinus punctatus</i> Pilát, <i>Atlas Champ. l'Europe</i> , Polyporaceae (Praha) 3(1): 530 (1942) <i>Polyporus punctatus</i> Fr., <i>Hymenomyc. eur.</i> (Upsaliae): 572 (1874) <i>Poria punctata</i> P. Karst., <i>Bidr. Känn. Finl. Nat. Folk</i> 37: 83 (1882)

Etmenin adı	<i>Fomitiporia mediterranea</i> M. Fisch., <i>Mycol. Progr.</i> 1(3): 321 (2002)
Eşeyli formu	-
Taksonomideki yeri	Hymenochaetaceae, Hymenochaetales, Incertae sedis, Agaricomycetes, Agaricomycotina, Basidiomycota, Fungi
Sinonimi	-

Kav Hastalığına neden olan etmenlerin Basidiomycota şubesinde yer almaları nedeniyle ayırıcı morfolojik tanıları zordur. Bu etmenlerin tanıları moleküler yöntemler kullanarak yapılmaktadır (Fischer, 2006; Fischer and Binder, 2004; Sanchez-Torres et al., 2008; White, 2010).

Kav Hastalığına yol açan etmenlerle ilgili moleküler çalışmalar aşağıda verilmiştir:

Fischer and Kassemeyer'in (2003) Almanya'da yaptığı çalışmada, **Fom** etmeninin moleküler tanısı ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak PCR ile yapılmıştır. PCR programı sırasıyla; 95 °C'de 1dk; 40 döngü 95 °C'de 1dk, 50

$^{\circ}\text{C}$ 'de 1dk ve 72°C 'de 1 dk; son olarak 72°C 'de 7 dk olacak şekilde uygulanmış ve 744 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir.

Cıccarone et al.'ının (2004) Güney İtalya'da yaptıkları çalışmada, yaşlı bağlardan elde ettikleri **Fom** etmeninin moleküler tanısını ITS4 ve ITS5 primerleri kullanılarak PCR ile yapılmıştır. PCR programı sırasıyla; 95°C 'de 2dk; 35 döngü 95°C 'de 1dk, 50°C 'de 1dk ve 72°C 'de 1 dk; son olarak 72°C 'de 7 dk olacak şekilde uygulanmış ve 726 bp bant uzunluğu ile *F. robusta*, 720 bp ile Fop ve 740 bp ile **Fom** etmenleri tanılanmıştır.

Pillotti et al.'ının (2005) yaptığı çalışmada, **Fom** etmeninin moleküler tanısı ITS4 ve ITS5 primerleri kullanılarak PCR ile yapılmıştır. PCR programı sırasıyla; 94°C 'de 2dk; 35 döngü 94°C 'de 1dk, 50°C 'de 45 sn ve 68°C 'de 1,25 dk; son olarak 68°C 'de 7 dk olacak şekilde uygulanmış ve 738-744 bp uzunluğu arasında bant elde edilmiştir.

Guglielmo et al.'nın (2007) yaptıkları çalışmada, **Ste** için Ste2R ve ITS3 primerleri ile (95°C 'de 5dak., 35 döngü 95°C 'de 45sn, 63°C 'de 45sn, 72°C 'de 45sn ve son olarak 72°C 'de 10 dak.) PCR programı uygulanmış ve 231-236 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. **Ph** için Hyme2R ve F115 primerleri ile (95°C 'de 5dak, 35 döngü 95°C 'de 45sn, 55°C 'de 45sn, 72°C 'de 45sn ve son olarak 72°C 'de 10 dak) PCR programı uygulanmış ve 111 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir.

Sanchez-Torres et al.'ının (2008) yaptıkları çalışmada, **Fom** ve **Ste**'un moleküler tanısı ITS 1 ve ITS4 primerleri kullanılarak PCR ile yapılmıştır. PCR programı sırasıyla; 94°C 'de 5dk, 30 döngü 94°C 'de 30sn, 52°C 'de 45sn, 72°C 'de 1dk ve son olarak 72°C 'de 10 dk olacak şekilde uygulanmış ve Fom için 752-750-749-740-755 bp uzunluğunda, Ste için 615-618-590-615-590 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir.

Kav hastalığının omcanın yaprak, dane ve odun dokusunda yol açtığı belirtiler aşağıda özetlenmiştir (Karaca, 1965; Onoğur, 1995; Pascoe, 1998; Mugnai et al., 1999; Morton, 1999; Larignon, 1999; Feliciano et al., 2004; Surico

et al., 2006; Surico, 2001; Peros et al., 2008) Surico, 2009; White, 2010; Kuntzmann, 2012; Lecomte et al., 2012).

Hastalık tablosunun ana nedeni patojenlerin ürettikleri lakkaz ve peroksidaz enzimlerinin asmanın odun dokusundaki lignini tahrip etmesi ve böylelikle su iletiminin sekteye uğraması sonucunda yeşil aksamda solgunluk, gelişme geriliği ve hatta kuruma belirtilerinin ortaya çıkmasıdır. Belirtiler asmanın tamamında veya yalnızca bir kısmında görülebilir. Hastalığın 2 belirti tipi vardır. Birincisinde hastalık kronik seyreder ve yapraklardaki belirtilerle kendisini belli eder. İkincisinde ise akut bir seyir vardır ve asma aniden ölür. Buna apoplexy (inme) adı verilir.

En yaygın ve tipik belirti yapraklarda görülür. Asmada önce gözlerin uyanmasında bir gecikme fark edilir. Belirtiler çiçeklenmeden sonra, yaz aylarında veya sonbahar başlangıcında, önce sürgünün alt kısmındaki yaşlı yapraklarda başlar, sonra tüm yapraklarda ortaya çıkar. Yapraklar doğal yeşilliğini yitirir ve zamanla sararır. Yapraklarda damar araları önce sararır, daha sonra kıvrıl kahverengi renge dönüşür. Damarlar nispeten yeşil kalır. Bu yapraklar kururlar ve vaktinden önce dökülürler.

Daneler üzerindeki belirtiler dane bağlama ile olgunlaşma arasındaki herhangi bir zamanda, tüm salkımda ya da dağınık olarak tanelerin yüzeyinde önce koyu mor noktalar şeklinde lekeler ortaya çıkar. Daha sonra bu lekeler birleşerek tüm daneyi kaplayabilir.

Yaprak ve danelerdeki bu belirtilere etmenlerin ürettikleri toksinler (pulluans, scytalone ve isosclerone) neden olmaktadır. Bu belirtileri sadece fungal etmenlerin varlığı değil, asmanın yaşı, çeşidi, üretim materyali, budama, yaraların korunması, iklim koşulları, toprak yapısı, sulama ve arazinin eğimi de etkilemektedir.

Hastalıklı asmaların gövde ve kalın dallarının enine kesitinde, merkezin çevresinde açık renkli yumuşak dokulu hastalıklı kısım, daha koyu renkli sert dokulu bir kuşakla çevrilmiş olduğu görülür. Yıldan yıla asmanın içi kavlar,

kavlama içten dışa doğru olur. Bazen çok sıcak yaz aylarında adeta yıldırım çarpmış gibi yaprakların birden bire solup kuruduğu, genç sürgünlerin bunu izlediği ve asmanın aniden öldüğü görülür.

Kav hastalığının yayılışında etmenlerin sporlarının havaya karışıp rüzgârlarla yayılarak yara yerlerinden giriş yaptıkları düşünülmektedir. Ancak epidemiyoloji çalışmalarının yetersizliğinden dolayı bu düşünce kanıtlanamamıştır. Yayılımda en büyük faktörün budama aletleri olduğu belirtilmiştir (Mugnai et al., 1999; Cortesi et al., 2000; Surico et al., 2000). Diğer yandan Reinsenzein et al. (2000)'nın yaptığı bazı çalışmalarda yayılımın böcek ve diğer zararlılarla olabildiği de bildirilmektedir. Edwards et al. (2001b)'ı ise kök ve bitki artıklarını içeren toprak kümeleri yoluyla da yayılımın mümkün olduğunu saptamışlardır.

Kav hastalığının mücadelesi epidemiyolojisi tam bilinmediğinden zordur. Geçmişte hastalık geleneksel ve ilkel yöntemlerle önlenmeye çalışılmıştır. Hala günümüzde kimi Akdeniz ülkelerinde bu metotlar kullanılmaktadır. Örneğin hasta asmanın gövdesini yararak araya bir taş parçası sıkıştırmak gibi. Bu yöntemde gövde içine giren güneş ışığı ve oksijenin etmenlerin gelişimini yavaşlattığı düşünülmektedir (Rumbos and Rumbou, 2001).

Kav hastalığının kimyasal mücadelesinde sodyum arseniyat tek etkili kimyasal olarak kullanılmıştır. Ancak bu kimyasalın kanserojenik ve toksik olduğu saptanarak 2001 yılında yasaklanmıştır. Günümüzde hastalığın etkili bir kimyasal mücadelesi yoktur.

Bu nedenle kültürel önlemler hastalıkla mücadelede öne çıkmaktadır. Hastalık daha çok yaşlı omcalarda görüldüğünden, çok yaşlı, verimden düşmüş hastalıklı omcaları söküp geri kalan artıkları yakmak ve toprağı birkaç yıl dinlendirdikten sonra yeniden dikim yapmak önemli bir çare olarak önerilmektedir. Özellikle kavlı omcaların bulunduğu bağlarda, hastalığın sağlıklı omcalara bulaşmasını önlenmek için budama aletlerinin dezenfekte edilmesi, hastalıklı olan omcalardan üretim materyali alınmaması ve budama vb. nedenlerle

büyük yaralar açılmaması, açıldıysa da bu yaraların kapatılması önerilmektedir (Mugnai et al., 1999; White, 2010).

2.2. Petri Hastalığı ile İlgili Çalışmalar

“**Petri Hastalığı**” özellikle genç bağlarda sorun olan “Young Esca, Young vine decline, Black goo disease, Slow dieback, Brown wood streaking” gibi farklı isimlerle anılmaktadır (Graniti et al., 2000). İlk olarak, 1912 yılında İtalyan bitki patoloğu Lionello Petri tarafından İtalya’da Amerikan asma anaçlarında yapılan çalışmayla fark edilen olan bu hastalığa araştırmacının isminden dolayı “Petri Hastalığı” ismi verilmiştir (Chiarappa, 1999; Penn, 2001).

Petri Hastalığına neden olan fungal etmenler; *Phaeoacremonium oleophilum* (**Pm**), *Phaeomoniella chlamydospora* (**Pcl**) ve *Phaeoacremonium* spp. (**Pa**)’dır (Crous et al., 1996; Mugnai et al., 1999; Crous and Gams, 2000; Graniti et al., 2000; Stamp, 2001; Rooney-Latham et al., 2001a; Gubler et al., 2004; Mostert et al 2005; Kakalikova et al., 2006; Romanazzi et al., 2009) olarak bildirilmektedir. Bu etmenlerin taksonomideki yerleri, varsa eşeyli formları ve bazı sinonimleri www.indexfungorum.org’ a göre aşağıda verilmiştir.

Etmenin adı	<i>Phaeoacremonium aleophilum</i> W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai, in Crous, Gams, Wingfield & Wyk, <i>Mycologia</i> 88(5): 791 (1996)
Eşeyli formu	<i>Togninia minima</i> (Tul. & C. Tul.) Berl., <i>Icon. fung.</i> (Abellini) 3: 9 (1900)
Taksonomideki yeri	Togniniaceae, Diaporthales, Sordariomycetidae, Sordariomycetes, Pezizomycotina, Ascomycota, Fungi
Sinonimi	<i>Calosphaeria minima</i> Tul. & C. Tul., <i>Select. fung. carpol.</i> (Paris) 2: 112 (1863) <i>Erostella minima</i> (Tul. & C. Tul.) Traverso, <i>J. Mycol.</i> 12(2): 48 (1906) <i>Longoa Pmniculata</i> Curzi, <i>Atti Ist. bot. R. Univ. Pmvia</i> , 3 Sér. 3(3): 204 (1927) <i>Pleurostoma minimum</i> (Tul. & C. Tul.) M.E. Barr, J.D. Rogers & Y.M. Ju, <i>Mycotaxon</i> 48: 534 (1993) <i>Togninia minima</i> (Tul. & C. Tul.) Berl., <i>Icon. fung.</i> (Abellini) 3: 9 (1900)

Etmenin adı	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai) Crous & W. Gams, <i>Phytopath. Mediterr.</i> 39(1): 114 (2000)
Eşeyli formu	-
Taksonomideki yeri	Herpotrichiellaceae, Chaetothyriales, Chaetothyriomycetidae, Eurotiomycetes, Pezizomycotina, Ascomycota, Fungi
Sinonimi	<i>Phaeoacremonium chlamydosporum</i> W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai, in Crous, Gams, Wingfield & Wyk, <i>Mycologia</i> 88(5): 792 (1996)

Petri Hastalığına neden olan etmenlerin tanıları morfolojik özelliklerine göre yapılabildiği gibi (Mostert et al, 2003; 2006a; 2006b) türler arasındaki benzerliklerden ötürü moleküler yöntemlere de başvurulmaktadır (Crous et al., 1996; Groenewald et al., 2000a; Tegli et al., 2000; Retief et al., 2005; Gramaje et al., 2009c). Petri Hastalığı ile ilgili moleküler çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Groenewald et al. (2000a), Güney Afrika ve Hollanda'daki bağlardan elde ettikleri **Pcl**'nin teşhisi için PCL1 ve PCL2 spesifik primerleri ile PCR (96°C'de 30sn, 30 döngü 96 °C'de 30sn, 68 °C'de 30sn, 75 °C'de 35sn ve son olarak 75 °C'de 5 dak.) sonucunda 325bp bant elde etmişlerdir.

Dupont et al. (2002), Batı Arjantin'deki bağlardan izole ettikleri **Pa** izolatlarının moleküler tanısını ITS ve β - tubulin markerlarını kullanarak yapmışlardır. ITS4 ve ITS5 primerleri kullanılarak yapılan PCR sonucunda *P. parasiticum*, *P. rubrigenum* ve *P. inflatipes* için 620 bp uzunluğunda bant; **Pm** için yaklaşık 610 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir.

Whiteman et al. (2002) tarafından, Yeni Zelanda'daki fidanlıklarda toprakta **Pcl**'nin varlığının belirlenmesi konusunda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri kullanarak Pcl ile bulaşık fidanlıklardan alınan toprak örneklerinden Pcl'nin DNA'sı izole edilmiş ve Pch1-Pch2 primerleri ile PCR'ı yapılmıştır. 360bp bant ile bu patojenin fidanlık topraklarında varlığı saptanmıştır. Ancak Pcl'nin topraktaki spor yoğunluğu DNA izolasyonunda farklılıklar ortaya çıkarmıştır.

Borie et al. (2002) tarafından, Fransa'daki bağlarda **Pcl** ve **Pm** fungal etmenlerin popülasyonlarının genetik farklılığını ortaya çıkarmak amacıyla Kav hastalığı belirtilerini taşıyan bağlardan izolatlar elde edilmiştir. Her iki fungus için de RAPD metodu kullanılarak genetik yapıları belirlenmiş ve aralarındaki genetik

farklılıklar ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmanın verileri, her iki fungusun da haplotiplerinin uzun mesafelerdeki coğrafik alanlara dağılabildiğini ve bu izolatların bir haplotipinin yapılan surveyler sonucu daha fazla hastalık oluşturduğunu göstermiştir.

Alves et al. (2004), İtalya, Portekiz, Güney Afrika ve Fransa kökenli **Pcl** ve **Pm** izolatlarının MSP-PCR (metilasyon spesifik PCR) ve rep-PCR (tekrarlı gen dışı palindromik) ile tanımlama yöntemlerinin diğer moleküler yöntemlere alternatif bir yol gösterici ya da tamamlayıcı olabileceğini ortaya koymuştur.

Barrie Overton et al. (2004), Petri hastalığına neden olan fungal etmenlerin tanısı için PCR' ın yanı sıra Real-time PCR moleküler yönteminin hızlı, güvenilir ve etkili bir metot olduğunu belirtmişler ve **Pcl** ve **Pm** etmenlerinin tanısı için Pmo1f+Pmo12r ve Pmc1f+Pmc2r spesifik primer çiftlerini bu metot için dizayn etmişlerdir.

Retief et al. (2005), Güney Afrika'daki bağlardan elde ettikleri **Pcl**'nin moleküler tanısını Pch1 ve Pch2 primerleri kullanılarak PCR ile yapmışlardır. PCR programı sırasıyla; 96°C'de 5dk, 40 döngü 94°C'de 30sn, 50 °C'de 30sn, 72°C'de 30sn ve son olarak 72 °C'de 7 dk olacak şekilde uygulanmış ve 360bp uzunluğunda bant elde edilmiştir.

Aroca and Raposa (2007), İspanya'daki fidanlıklardan elde ettikleri **Pm**'in moleküler tanısı için Pm1, Pm2 ve Pm3 primerlerini sentezleyerek PCR-RFLP metodunu kullanmışlardır.

Sanchez-Torres et al. (2008), **Pm** ve **Pcl**'nin moleküler tanısını ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak PCR ile yapmışlardır. PCR programı sırasıyla; 94°C'de 5dk, 30 döngü 94 °C'de 30sn, 52 °C'de 45sn, 72 °C'de 1dk ve son olarak 72 °C'de 10 dk olacak şekilde uygulanmıştır. **Pm** için 614-617 bp uzunluğunda, **Pcl** için 524-525-524 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir.

Haleem et al. (2011), Irak'taki bağlardan elde ettikleri **Pm** izolatlarının moleküler tanısını Pal₁F ve Pal₂R primerleri kullanılarak PCR ile yapmıştır. PCR

programı sırasıyla; 95°C’de 3dk, 30 döngü 95 °C’de 2dk, 64 °C’de 25sn, 72 °C’de 2dk ve son olarak 72 °C’de 10 dk olacak şekilde uygulanmış ve 400bp uzunluğunda bant elde edilmiştir.

Petri hastalığının belirtileri gelişme geriliği ve geriye doğru ölüm şeklinde daha çok genç bağlarda kendini göstermektedir. Yaprak ve danelerdeki belirtiler Kav hastalığının yaprak ve danedeki belirtilerine benzemektedir. Genç asma fidanlarında yaprak belirtileri ortaya çıkmamaktadır. Gövdenin odun dokusunda yer alan lignin, Kav etmenlerinde olduğu gibi lakkaz ve peroksidaz enzimleri ile değil, Petri etmenlerinin ürettikleri ksilanaz enzimi ile tahrip edilmektedir. Bu etmenlerin hifleri ksilem, parankima ve öz hücrelerinde yaşarlar ve yayılırlar. Konukçu-patojen interaksiyonu sonucunda oluşan tylosis ksilem borularının siyah-kahverengi renklenmesine ve tıkanmasına neden olmaktadır. Hastalıklı doku enine kesildiğinde bu kısımlar siyah noktacıklar şeklinde görülmekte ve bir birkaç dakika içinde boncuk şeklinde koyu amber-siyah renkli zambak akıntısı dikkati çekmektedir. Boyuna kesitler alındığında ise tıkanan ksilem boruları çizgiler halinde siyah nekrozlar olarak görülmektedir (Mugnai et al. 1999; Surico 2001; Penn, 2001; Foure and Hallenn, 2002; Long, 2005; Surico et al., 2006; White 2010).

Petri hastalığının yayılışı hastalıklı anaçlardan alınan üretim materyalleri ile olabilmektedir (Mugnai et al., 1999; Pascoe and Cottrall, 2000; Whiting et al., 2001; Eskalen et al., 2001a; Halleen et al., 2003; Rooney- Latham et al., 2006; Aroca et al., 2010). Ayrıca **Pcl** ve **Pm** etmenlerinin sporları havada bulunabilmektedir. Bununla ilgili olarak, İtalya’da yılın soğuk aylarında yağmurlardan sonra hastalıklı bağlarda yapılan çalışmada, havada ve su damlalarında vazelinli lamlarda dağınık halde etmenlerin sporları saptanmıştır (Quaglia et al., 2009). Kaliforniya’da ise yaz aylarında **Pm** ile enfekteli bağlarda üzümelerde havai sporlar ve askosporların varlığı saptanmıştır (Eskalen and Gubler, 2001b; Eskalen et al., 2004; Rooney- Latham et al., 2004). Ayrıca, asmanın gövdesinde oluşan çatlaklarda **Pcl**’nin piknitleri bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, **Pm** ve **Pcl** etmenleri hava, yağmur damlacıkları ve rüzgârla yayılabilmektedir. Özellikle bu yollarla yayılan sporlar budama yaralarından giriş yapmaktadır (Eskalen et al., 2007b). Budamada kullanılan aletler de yayılmada

önemli rol almaktadırlar (Edwards et al., 2001a; Gubler et al., 2004; Halleen et al., 2003).

Petri hastalığının mücadelesinde temel amaç fidanlıklarda temiz üretim materyalleri kullanmaktır. Bu nedenle temiz üretim materyaline yönelik mücadele yöntemleri üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalar arasında üretim materyallerine sıcak su uygulaması, kimyasal ve biyolojik fungusit uygulamaları yer almaktadır. Bu çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Avustralya’da Petri Hastalığı özellikle yeni bağlarda ciddi kayıplara neden olmaktadır. Bu bağlarda zayıf gelişim, sağlıklı sürgünler, geriye doğru ölümler ve meyve oluşumunda düşüslere **Pcl** ve **Pm** etmenleri yol açmış ve genç bağlarda enfeksiyonları engellemek için alınacak önlemler araştırılmıştır. Edwards et al. (2000), sıcak su uygulamasının (Hot water treatment (=HWT) 50°C 30dk) floksera, asma kök uru ve phytoplasma hastalıklarına karşı etkili olduğu düşüncesine dayanarak; bu uygulamanın **Pcl** ve **Pm** patojenleri için de etkililiği üzerine çalışma yapmışlardır. Sonuçta, dormant haldeki çeliklere HWT uygulamasının **Pcl**’nin kontrolünde etkili bir yol olduğu ortaya konmuş ve bu yöntem genç bağlarda Petri hastalığının gelişimini engellemiştir.

Groenewald et al. (2000b), Güney Afrika’nın farklı bölgelerindeki genç bağlardan elde ettikleri Petri hastalığı etmeni **Pcl**’ye karşı in-vitro’da 12 fungusitin etkisi üzerinde çalışmışlar ve fungusitlerin **Pcl**’nin miseliyal gelişimini %50 engelleyen dozu (EC₅₀ değerleri) hesaplanmıştır. Fungusitlerden benomyl, fenarimol, kresoxim-methyl, prochloraz manganase chloride ve tebuconazole’ün bu etmene karşı etkili ve EC₅₀ değerlerinin 0.01 ile 0.05 µg/ml arasında olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada elde edilen veriler, bu fungusitlere karşı lokal izolatların duyarlı olduğunu, bununla birlikte fungusitlere karşı patojen dayanıklılığının gelişimini izlemek gerektiğini göstermiştir.

Rooney-Latham and Gubler (2001b) tarafından Kaliforniya’da yaptıkları çalışmada, 51°C 30dk sıcak su uygulamasının dormant asma çelikleri üzerine etkisi saptanmıştır. Bu çalışmada dormant dönemde alınan çeliklere önce **Pcl** ve **Pm** inokule edilmiş daha sonra sıcak su uygulanmıştır. Bu uygulamadan sonra

yapılan izolasyonlarda 51°C 30dk sıcak su uygulamasın dormant çeliklerdeki **Pcl** ve **Pm**'u elemine edemediği ortaya konmuştur.

Jaspers (2001), Yeni Zelanda'daki anaç asmalardan elde ettiği 3 **Pcl** izolatına karşı in-vitro'da kontakt veya sistemik etkilere sahip 22 fungusitin etkinliği üzerinde çalışmıştır. Sonuç olarak sistemik fungusitlerin (cyproconazole, bitertanol, tebuconazole, fenarimol, myclobutanil, prochloraz, benomyl, carbendazim, thiophanate methyl, pyrimethanil ve cyprodinil/fludioxonil) bu etmene karşı daha etkili olduğu saptanmıştır.

Crous et al. (2001) asma fidanlardaki endofit fungal etmenleri sıcak su uygulaması ile elemine etmeyi amaçlamışlardır. Anaçlardan alınan 20-25 cm uzunluğunda 1-1,5 cm çapındaki çeliklere (50°C-30dk) sıcak su uygulanmış, daha sonra 30 dk soğuk suda bekletilerek dikimleri yapılmıştır. Fidanlar 6 ay sonra köklenip laboratuvarında izolasyonlar yapılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, bu uygulamanın diğer fungal etmenleri önemli oranda etkilemediği, ancak **Pcl** etmeninin daha az izole edildiğini göstermiştir. Sonuç olarak, sıcak su uygulamasının tek başına etkisinin düşük olduğu, bu nedenle biyolojik preparatlarla kombinasyon şeklinde uygulama yapılabileceği önerilmiştir.

Fourie and Halleen (2004)'nin Güney Afrika fidanlıklarında yaptıkları çalışmada, dormant dönemde çelik ya da aşı kalemlerine sıcak su uygulamasının **Pcl** and **Pa** etmenleri üzerine etkili olduğunu, ancak sıcak su uygulamasının yine aynı dönemde biyolojik (*Trichoderma*) veya kimyasal (benomyl) bir preparatla kombinasyonunun daha başarılı olduğunu bulmuşlardır.

Fourie and Halleen (2006) tarafından yapılan çalışmada, **Pcl** ve **Pm** etmenlerinin mücadelesinde sıcak su uygulaması yerine çelik ya da aşı kalemlerine biyolojik ve kimyasal preparatlar uygulanmıştır. Trichoflow-T (*Trichoderma harzianum*), Bio-sterilizer (hydrojen peroxide) ve Chinosol (8-hydroxyquinoline sulphate) uygulamaları değişken sonuçlar vermiş, Bronocide (alkol+su)'in ise iyi bir sterilant olduğu görülmüş fakat sağlıklı bitki sayısında önemli oranda düşüşler gözlenmiştir. Benomyl, Sporekill (didecyldimethylammonium chloride) ve captan uygulamaları ise etkili sonuç

vermiş, aşılama da negatif bir sonuç oluşmamış ve patojen oranı çelik ve aşı materyallerinde azalmıştır.

Gramaje et al. (2008) tarafından, Petri hastalığının mücadelesinde İspanya'daki bağ fidanlıklarında üretim materyallerine sıcak su uygulaması (HWT= 50°C 30dk.) yapılmış ve in-vitro' da **Pcl** ve **Pm** izolatlarına HWT'nin yüksek sıcaklıklarda etkisi araştırılmıştır. Bu etmenlerin misel içeren agar diskleri ve spor süspansiyonları ependorf tüplere aktararak 49, 50, 51, 52, 53 ve 54°C sıcaklıklardaki suda 30, 45 ve 60 dk sürelerde bekletilmiştir. Sonuçta bu patojenlerin kültür ortamındaki konidial ve koloni gelişimleri artan sıcaklıktaki su ve zaman kombinasyonlarında azalmıştır. **Pm** etmeni 54°C sıcaklığı tolere ederken, **Pcl** etmeni ise 53 °C sıcaklığı tolere etmiştir. Buna rağmen 51-52°C'nin üzerindeki uygulamalarda konidial çimlenme ve miseliyal gelişimi önemli ölçüde azaltmıştır. Bu sonuçlar 51 °C' nin üzerindeki sıcak su uygulamalarının fungal enfeksiyon oranını düşürdüğünü göstermektedir.

Gubler and Eskalen (2008) tarafından Petri hastalığına neden olan Pcl ve Pm etmenlerinin kontrolü için fidanlıklarda üretim materyallerine fungisit ve sıcak su uygulamaları yapılmıştır. Sonuçta Cabrio, Vangard, Lime Sülfür, Procure, Thram, switch, Rally, Topsin M. fungisitleri ve sıcak su uygulamaları fidanlardaki enfeksiyonu önemli oranda azaltmıştır.

Gramaje et al. (2009a) tarafından bağlarda Petri hastalığına neden olan fungal etmenlerin kontrolünde bazı fungisitlerin etkilerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, öncelikle miseliyal gelişim ve konidial çimlenme üzerine, daha sonra fidanlıkta fungisitleri çeliklere emdirme yöntemiyle fungisitlerin etkisi araştırılmıştır. In vitro çalışmalarda azoxystrobin, carbendazim ve tebuconazole' un **Pcl**'ya karşı, carbendazim ve didecyldimethylammonium chloride'nin **Pm**'un hem miseliyal gelişimi hem de konidial gelişimi üzerine etkili olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu veri ile in vitro'da **Pm**'un fungisitlere karşı duyarlı olduğu ilk kez ortaya konulmuştur. Fidanlıklarda yapılan çalışmada ise; didecyldimethylammonium chloride' in bir dezenfektan gibi asma çeliklerine emdirilmesi çok iyi etki göstermiştir. Carbendazim, cubiet ve hydroxyquinoline sulphate uygulamaları düşük etki göstermiştir. Bunun nedeninin de çeliklere

inokulasyonda yüksek konsantrasyonda inokulum uygulanması olduğu vurgulanmıştır. Bu sonuçlar asma fidanlıklarında **Pcl** ve **Pm**'un kontrolünde üretim materyallerine emdirme şeklinde carnedazim'in önerilebileceğini ortaya koymuştur.

Gramaje et al. (2009b) tarafından İspanya'da yapılan çalışmada, asma fidanlıklarındaki dormant asma çeliklerine önce vakum yöntemiyle **Pcl** ve **Pm**'a ait 10^6 konidi/ml oranındaki spor süspansiyonu inokule edilmiştir. Daha sonra 50, 51, 52, 53 ve 54 °C sıcaklık 30, 45 ve 60 dk sürelerde sıcak su uygulaması yapılmıştır ve re- izolasyon ile etmenlerin varlığı saptanmıştır. Bu çalışmada yüksek sıcaklıklardaki (53-54°C) uygulamalarda söz konusu etmenlerin elemine edildiği saptanmıştır.

Gramaje et al. (2010) tarafından, İspanya' daki farklı lokasyonlardaki bağlardan elde edilen içerisinde *Phaeoacremonium* türlerinin de olduğu 11 izolat'a karşı in-vitro'da sıcak su uygulamasının etkisi araştırılmıştır. *Phaeoacremonium* türlerinin konidial çimlenmeleri ve miseliyal gelişimleri 54 °C'de 60 dak uygulamasında tamamen engellenmiştir. Bu sonuçlar söz konusu etmenin sıcak su uygulaması ile kontrolünde sıcaklığın yükseltilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Bu çalışmalar dışında; Petri hastalığı etmenlerinin sporlarının yara yerlerinden giriş yaparak enfeksiyona neden olması gerçeğinden hareketle (Mutawila et al., 2011a; 2011b), yara yerlerini korumak amacıyla alternatif maddeler, kimyasal ve biyolojik fungusitlerle denemeler yapılmıştır. Bu çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Eskalen et al.'nın (2007a) Kaliforniya'da 2 farklı bölgede bağda Petri patojenlerine (**Pm** ve **Pcl**) karşı budama yaralarını korumayı amaçlayan çalışmasında, 5 fungusit denenmiştir. Bu fungusitlerden Topsin M, Biopaste, Garrison ve Cabrio etkili olmuş, **Pcl** etmenini sırasıyla %91, %91, %59 ve %85; **Pm** etmenini ise %96, %92; %46 ve %65 oranında kontrol etmişlerdir.

Rolshausen et al.'ın (2010) Kaliforniya'da farklı bölgelerdeki 2 bağda budama yaralarının odun dokusu hastalıklarına karşı korunması üzerine yaptıkları çalışmada, 9 patojene karşı 5 fungusitin etkisi saptanmıştır. Bu fungusitlerden Cabrio EG, Garrison, Bio-paste ve Topsin M, **Pcl** etmenini sırasıyla %66,%63, %85 ve %52 oranında; **Pm** etmenini ise %34, %43; %59 ve %57 oranında kontrol etmiştir.

Kotze et al.'nın (2011) *Bacillus subtilis* ve *Trichoderma* spp. biyolojik kontrol ajanları ile odun dokusu hastalıkları üzerine yaptıkları çalışmada, In vitro' da budamadan hemen sonra taze budama yaralarına benomyl ve *Trichoderma* preparatları uygulanmış, 6 gün sonra ise Pcl' nin de içinde bulunduğu 6 etmene ait spor süspansiyonu budama yaralarına inokule edilmiştir. İnokulasyondan 8 ay sonra PDA ortamına izolasyon yapılmıştır. Biyolojik kontrol ajanlarının etkisi benomyl' in etkisine göre benzer ya da daha etkili olmuş, **Pcl**' yi ,%76 oranında azaltmıştır.

Petri hastalığının mücadelesinde ayrıca hastalık ile bulaşık asmalardan aşı, kalem ve çelik gibi üretim materyalleri alınmaması, kuruyan omcaların sökölüp imha edilmesi, budamada kullanılan alet ekipmanların bir dezenfektana batırılarak bir omcadan diğerine geçilmesi, budama yaralarının uygun bir macunla kapatılması, budama artıkları imha edilmesi önerilmektedir (Mugnai et al., 1999; Surico et al., 2000).

Kav ve Petri Hastalığı ile ilgili olarak, araştırmacılar arasında **Esca “bir hastalık kompleksi mi?”**, yoksa **“hastalıkların kompleksi mi?”** diye iki teori üzerinde tartışılmaktadır. İlk başlarda birkaç fungal etmenin neden olduğu ve diğer faktörlerin de bir arada olabildiği bir hastalık kompleksi olarak düşünülmüştür. Ancak daha sonraki çalışmalarla en az iki hastalığın kompleksi olduğu kabul edilmiştir. Çünkü bu iki hastalığın yeşil aksam belirtileri benzemekte, ancak odun dokusunda beyaz çürüklük şeklinde kavlama ve kahverengi çizgi olmak üzere farklı 2 belirti tipi ortaya çıkmaktadır. Özellikle yaşlı asmalarda Kav hastalığına neden olan etmenlerin **Ste, Ph, Fop ve Fom**, özellikle genç asmalarda Petri hastalığına neden olan etmenlerin ise **Pa, Pm ve Pcl** olduğu saptanmıştır. Böylece “Esca” Kav ve Petri hastalığının bir arada

olabildiği bir hastalık kompleksi olarak kabul edilmiştir (Larignon and Dubos, 1997; Graniti et al., 2000; Serra, 2000; Surico, 2001; Surico, 2009; White, 2010). Buradan, Türkiye’de de “Esca” adı altında da bilinen hastalığın Kav ve Petri hastalıkları etmenlerini içerdiği ve mücadele önlemlerinin de buna göre düzenlenmesi gerektiği sonucuna varılmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyali

Ege Bölgesinde bağ yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı ve Çizelge 3.1’de üretim değerleri verilen Manisa, Denizli ve İzmir illeri çalışma alanı olarak seçildi. Bu illerdeki fidanlıklardan alınan asma fidanı örnekleri, genç ve yaşlı asmalardan alınan bitki örnekleri, bu örneklerin resimleri ve bunlardan elde edilen izolatlar ise çalışmanın ana materyalini oluşturdu.

Çizelge 3.1 2010 yılı Manisa, İzmir ve Denizli İlleri üzüm üretim alanları (da) ve Ege Bölgesi Üretimindeki payı (TÜİK, 2010).

YETİŞTİRME AMACI	MANİSA	İZMİR	DENİZLİ
Kurutmalık Çekirdeksiz	528.996	123.260	83.037
Kurutmalık Çekirdekli	1.050	19.085	36.120
Sofralık Çekirdeksiz	149.966	445.775	126.816
Sofralık Çekirdekli	26.776	9.652	99.279
Şaraphık	9.107	715.895	100.523
TOPLAM	715.895	14.836	445.775
Ege Bölgesi Üretimindeki % payı	51	13.111	32

3.1.1. Fidanlıklardan materyal temini

İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüklerine kayıtlı olmak koşuluyla; Çizelge 3.2’de belirtildiği gibi 4-5-6.05.2009 tarihlerinde Manisa ilinden 10 fidanlık ve Denizli ilinden 2 fidanlıktan olmak üzere toplam 12 fidanlıktan örnek alındı. Her bir fidanlıktan bölgede en çok üretimi yapılan 5 çeşitten (Yuvarlak Çekirdeksiz, Alphonse Lavaillée, Superior Seedless, Merlot ve Cabernet Sauvignon) 10’ar tane aşılı tüplü asma fidan örnekleri Şekil 3.1’de görüldüğü gibi alınarak laboratuvara getirildi. Bu örneklerin enine ve boyuna kesitleri alınarak

fotoğraf makinası ile görüntülendi. İzmir ilinde fidanlık bulunamadığından asma fidanı örneği alınamadı.

Çizelge 3.2 İllere göre asma fidanı örneklerinin alındığı fidanlık sayısı-kodları ve bu fidanlıklardan alınan asma çeşitleri-kodları.

İl	Fidanlık sayısı	Fidanlık kodları	Asma çeşitleri
Manisa	10	A-B- C- D- E- F- G- H- I- J	1: Yuvarlak Çekirdeksiz 2: Alphonse Lavaillée
Denizli	2	K- L	3: Superior Seedless 4: Merlot
İzmir	0	-	5: Cabernet



Şekil 3.1 Fidanlıklardan tüplü asma fidan örneklerinin alınması (A) ve paketlenmesi (B).

3.1.2. Genç ve yaşlı asmalardan materyal temini

Ege Bölgesinde en çok yetiştiriciliği yapılan Yuvarlak Çekirdeksiz üzüm çeşidiyle kurulmuş, 10 yaşından küçük (genç), 10-25 yaşında (yaşlı) ve büyüklüğü 10 da'dan küçük olmayan bağlardan Şekil 2'de görüldüğü gibi gövde ve hastalığın tipik yaprak belirtilerinin görüldüğü asmalardan yaprak, ana gövde ve en az 2 yaşındaki sürgün örnekleri alındı. Çizelge 3.3'te belirtildiği gibi, 05-06-07.08.2009 tarihinde Manisa ilinden 10'ar, 13-14.08.2009 tarihinde Denizli ilinden 6'şar ve 30-31.07.2009 tarihinde İzmir ilinden 4'er bağdan alınan örnekler laboratuvara getirildi. Örneklerdeki yaprak belirtileri ve enine-boyuna kesitleri alınarak odun dokusundaki belirtiler fotoğraf makinası ile görüntülendi. Bu

örnekler izolasyon çalışmalarında ve daha sonra moleküler tanılama çalışmalarında kullanmak üzere +4°C’de saklandı.

Çizelge 3.3 İl ve İlçelere göre genç ve yaşlı asmalardan alınan örnek sayıları.

İl	İlçe	Örnek sayısı		Toplam
		Genç Asma	Yaşlı Asma	
Manisa	Alaşehir	2	2	20
	Salihli	2	2	
	Saruhanlı	2	2	
	Merkez	1	1	
	Turgutlu	1	1	
	Sarıgöl	2	2	
Denizli	Buldan	2	2	12
	Çal	2	2	
	Sarayköy	2	2	
İzmir	Menemen	3	3	10
	Kemalpaşa	2	2	
Toplam		21	21	42

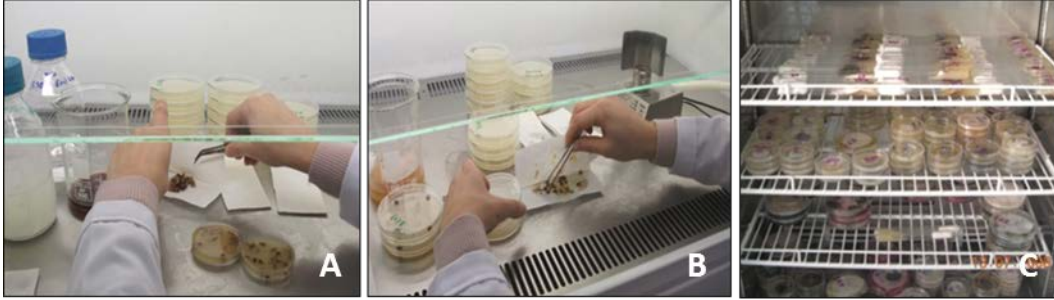


Şekil 3.2 Hastalık belirtisi taşıyan asmalardan yaprak, ana gövde (A) ve en az 2 yaşındaki sürgün (B) örneklerinin alınması.

3.2. METOT

3.2.1. İzolasyon Çalışmaları

Laboratuvara getirilen, asma fidanı ve hastalık belirtisi taşıyan asmaların ana gövde ve en az 2 yaşındaki sürgün örneklerinden enine ve boyuna kesitler alındı. Bu kesitlerden belirti görülen kısımları da kapsayacak şekilde yaklaşık 5 mm büyüklüğünde küçük parçalar çıkarıldı. Bu parçalar önce %70'lik etil alkol içerisinde 30 sn, sonrasında %3'lük kalsiyum hipoklorit içerisinde 15 sn bekletildi ve steril kurutma kağıtları üzerinde nemi alınarak yüzey sterilasyonu yapıldı. Son olarak bu parçalar, streptomisin sülfat ilaveli (100mg/l) malt ekstrakt agar (MEA), patato dextrose agar (PDA) ve rose bengal agar (RBA) içeren petrilere alınarak 20-25°C' de karanlıkta inkubasyona bırakıldı (Şekil 3.3). Gelişen kültürler tüplere aktararak daha sonraki çalışmalarda kullanmak üzere +4°C'de saklandı (Erkan ve Larignon, 1998).



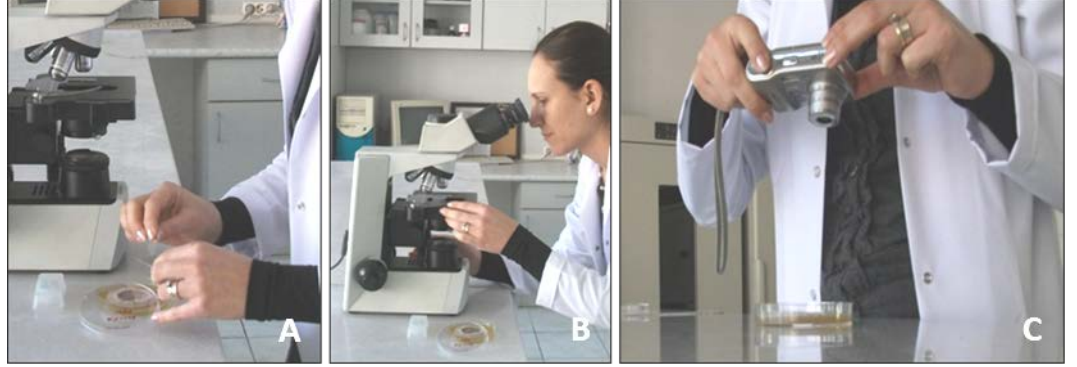
Şekil 3.3 İzolasyon çalışmalarının evreleri; A. Yüzeysel sterilizasyon, B. PDA içeren petrilere aktarma, C. 25°C'de karanlıkta inkubasyon

3.2.2. Tanılama Çalışmaları

3.2.2.1. Morfolojik karakteristiklerine göre tanılama

İzolasyon çalışmaları sonucu elde edilen fungal etmenlerin tanısı morfolojik ve mikroskopik özelliklerine göre, Kaliforniya Üniversitesi'nden Dr. Akif Eskalen ve Dr. Jose Ramon Urbez-Torres tarafından gönderilen tanılanmış referans izolatlar (**Pa/A₂**: *Phaeoacremonium oleophilum*, **Pc/Pc₄₅**: *Phaeomoniella chlamydospora*, **Fm**: *Fomitiporia mediterranea*) yardımıyla ve literatürle karşılaştırılarak yapıldı. Şekil 3.4'te görüldüğü gibi elde edilen fungal izolatların

mikroskopik ve morfolojik özellikleri kaydedildi ve fotoğraf makinası ile görüntülendi.



Şekil 3.4 Morfolojik karakteristiklerine göre tanılama çalışmaları; A-B. Mikroskopta inceleme, C. Koloni gelişiminin görüntülenmesi

3.2.2.2. Moleküler yöntemlere göre tanılama

Morfolojik özellikleri göz önüne alınarak ön tanısı yapılmış fungal kültürlerden ve hastalık belirtisi taşıyan bitkisel materyalden fungal DNA izole edildi. Elde edilen DNA' lar PCR ile tanılandı.

3.2.2.2.1. Kültürden fungal DNA izolasyonu

Fungal kültürlerin DNA izolasyonu Liu et al.'na (2000) göre yapıldı.

1,5 ml'lik eppendorf tüpe 500 µl lizis buffer (400 mM Tris-HCl [pH 8.0], 60 mM EDTA [pH 8.0], 150 mM NaCl, 1% sodyum dodesil sülfat) eklendi. Steril kürdan yardımıyla PDA ortamında geliştirilen 14 günlük fungal miselyum kazınarak tüpe konuldu ve parçalandı. Oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Üzerine 150 µl potasyum asetat (pH 4,8, 60 ml için, 5M potasyum asetat, 11,5 ml glasiyal asetik asit ve 28,5 ml DW) ilave edilerek vortexlendi. >10,000 X g'de 1 dk santrifüj edilerek üstteki sıvı kısım yeni bir eppendorf tüpe aktarıldı. >10,000 X g'de 1 dk santrifüj edilerek üstteki sıvı kısım tekrar yeni bir eppendorf tüpe aktarıldı ve üzerine yeterli miktarda isopropanol (=2-Propanol) ilave edildi ve alt üst edilerek karıştırıldı. >10,000 X g'de 2 dak. santrifüj edilerek üstteki sıvı kısım atıldı. Sonuçta ortaya çıkan DNA pellet 300 µl 70%'lik etil alkol ile yıkanarak

tekrar 10,000 X g'de 1 dk santrifüj edilerek üstteki sıvı kısım atıldı. DNA pellet kurutuldu. Elde edilen DNA 50 µl 1x Tris-EDTA ile çözündürülerek -20°C'de saklandı.

3.2.2.2.2. Bitkisel materyalden fungal DNA izolasyonu

Hastalık belirtilerini taşıyan bitki materyalinden fungal DNA izolasyonu Retief et al.'na (2005) göre yapıldı.

Bitki materyallerinden 2 cm büyüklüğünde küçük parçacıklar kesilerek, kabukları soyuldu. Bu odun dokusu parçacıkları sırasıyla; %70 etil alkolde 30 sn, % 3,5 sodyum hipokloritte 60 sn ve %70 etil alkolde 30 sn olacak şekilde yüzey sterilizasyonu yapıldı ve daha sonra kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

Hazırlanan bu parçacıklar sıvı azot ile muamele edilerek toz haline getirildi. Bu örnekten 0,5 g, 2 ml'lik eppendorf tüplere konuldu. İçerisine; 550µl CTAB ekstraksiyon buffer (% 2 CTAB (Hexadecyltrimethylammonium bromide), 200 mM Tris, pH 7.5; 1.4 M NaCl; 20 mM EDTA(Ethylenediaminetetraacetic acid), pH 8.0), 400µl chloroform: isoamylalcohol (24:1) ilave edilerek 1300x g 15 dk santrifüj edildi. Üst kısımda biriken sıvı yeni bir eppendorf tüpe aktarılarak, 50µl 7,5 M amonyum asetat solüsyonu (pH 7,0) ve 600ml soğuk isopropanol ilave edildi ve -20 °C'de 1 saat inkube edildi. Sonra örnekler 15800x g 10 dk santrifüj edildi. Üst kısımdaki sıvı kısım atılarak içerisine 1ml soğuk %70'lik etil alkol ilave edildi ve -20 °C'de 30 dk inkube edildi. İnkubasyondan sonra örnekler tekrar 15800x g 5dk santrifüj edilerek üstteki sıvı atıldı. Geride kalan DNA kitlesi bank üzerinde kurutularak 2 defa destile edilen 100 µl steril su içerisinde +4°C'de saklandı.

3.2.2.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR (Polymerase chain reaction) ya da polimeraz zincir reaksiyonu, kısaca moleküler biyolojide tüp içinde nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılması amacıyla yapılmaktadır. Kültürden ve bitkisel materyalden elde edilen fungal DNA kullanılarak PCR testleri yapıldı.

PCR uygulamasında ilk aşama reaksiyon karışımının (PCR-mix) hazırlanmasıdır. Bunun için 2 farklı protokol kullanıldı.

- a. PCR protokolu (Fermentas):** PCR'ı yapılan her bir örnek için toplam 25 µl olacak reaksiyon karışımı Çizelge 3.4'de verildiği gibi hazırlandı.

Çizelge 3.4 PCR protokolü.

Her bir örnek için	
10x Taq buffer	2.5 µl
2mM dNTP mix	2.5 µl
Forward primer	1 µl
Reverse primer	1 µl
0.625 unit Taq DNA polymerase	0.125 µl
2 mM MgCl ₂	4 µl
DNA	1 µl
Nülease free water	12.875 µl
Toplam	25 µl

- b. PCR master Mix (2x) protokolu (Fermentas):** PCR'ı yapılan her bir örnek için toplam 25 µl olacak reaksiyon karışımı Çizelge 3.5'de verildiği gibi hazırlandı.

Çizelge 3.5 PCR master Mix (2x) protokolü.

Her bir örnek için	
PCR Master Mix (2x)	12.5 µl
Forward primer	1 µl
Reverse primer	1 µl
DNA	1 µl
Nülease free water	9,5 µl
Toplam	25 µl

PCR uygulamasının ikinci aşamasında fungal etmenlere göre Çizelge 3.6'da verilen primerler ile hazırlanan reaksiyon karışımını içeren PCR tüpleri Şekil 3.5/B' de görülen Thermal Cycler (Eppendorf) cihazına yerleştirildi. PCR programları yüklenerek reaksiyon başlatıldı.

Phaeoacremonium oleophilum, *Phaeomoniella chlamydospora* ve *Fomitiporia mediterranea*'nın moleküler tanılaması Çizelge 8'te verilen primerler, PCR programları ve referanslara göre yapıldı.

Çizelge 3.6 Fungal etmenlere göre kullanılan primer ve PCR programları.

Fungal etmen adı	Primer	PCR Programı	Referans
<i>Phaeoacremonium oleophilum</i>	ITS4 (5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') ITS5 (5' GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')	94 °C'de 2 dk 35 döngü 94 °C'de 1 dk 58 °C'de 45 sn 68 °C'de 2.45 dk 68 °C'de 7 dk	Dupont, 2002
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	Pcl1 (5'- TAC ATG TGA CGT CTG AAC GG -3') Pcl2 (5'- AGG ACC ACC TCA GTG TAT GC -3')	96 °C'de 30 sn 30 döngü 96 °C'de 1 30 sn 68 °C'de 30 sn 75 °C'de 30 sn 75 °C'de 5 dk	Retief et al., 2005; Groenewald et al., 2000
<i>Fomitiporia mediterranea</i>	ITS4 (5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') ITS5 (5' GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')	94 °C'de 2 dk 35 döngü 94 °C'de 1 dk 50 °C'de 45 sn 68 °C'de 2.45 dk 68 °C'de 7 dk	Pilotti et al., 2005

PCR uygulamasının üçüncü ve son aşamasında ise elde edilen PCR ürünlerine %1.5 agaroz jelde ve TAE buffer içinde, Şekil 3.5/C' de görüldüğü gibi, 100 V' ta 1,5 saat elektroforez uygulandı ve sonra jeller etidium bromide ile boyanarak, UV ışık altında görüntülendi.



Şekil 3.5 Moleküler yöntemlere göre tanılama çalışmaları; A. DNA izolasyonu, B. PCR-Thermal Cycler, C. Jel-Elektroforez

3.2.3. Sıcak su uygulamasının etmenlerin miseliyal gelişimine etkisinin ve bulaşık asma çeliklerinin canlılıkları ile çelikleri etmenlerden arındırma üzerine etkisinin saptanması

Morfolojik karakteristikleri ve moleküler yöntemlere göre tanılması yapılan *Phaeoacremonium oleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora* ve *Fomitiporia mediterranea* etmenlerine karşı sıcak su uygulamasının etmenlerin miseliyal gelişimine etkisi, bulaşık asma çeliklerinin canlılıklarına ve onları etmenlerden arındırma üzerine etkisini saptamaya yönelik testler yapıldı.

3.2.3.1. Sıcak su uygulamasının miseliyal gelişimine etkisinin saptanması

Çalışma kapsamında elde edilen fungal etmenler PDA ortamında 25 °C’de 3–4 hafta inkübe edildi. Her bir etmen için, kolonilerden 4 adet, 4mm çapında misel+konidi içeren agar diskleri alınarak içerisinde 1ml steril saf su bulunan 1.5ml’lik eppendorf tüplere konuldu. Bu tüpler Çizelge 3.7’de verilen sıcaklık ve sürelerde Şekil 3.6-A’ da görülen hot blokta tutuldu. Uygulamalar her bir sıcaklık-süre kombinasyonu için 4 tekrarlı olacak şekilde yapıldı.

Çizelge 3.7 Sıcak su uygulamasında kullanılan sıcaklık (°C) ve süreler (dk).

Sıcaklık (°C)	45, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55
Süre (dk)	15, 30, 45, 60

Uygulamadan sonra eppendorf tüpteki agar diskleri steril filtre kağıdı üzerinde nemi alındıktan sonra %0.5g/l streptomisin sülfat içeren malt ekstrakt agar (MEAS) içeren petrilere aktararak 25 °C’de karanlıkta inkübe edildi (Şekil 3.6-B/C). Kontrol olarak, hiçbir işleminden geçirilmemiş agar diskleri MEAS ortamına aktararak, aynı koşullarda inkübe edildi. Üç hafta sonra miseliyal koloni gelişim çapları ölçüldü ve kontrol ile karşılaştırılarak % koloni gelişim oranları belirlendi. Bu oranlara göre % etki hesaplandı (Gramaje et al., 2008).

Elde edilen % etki değerleri, bilgisayar yardımı ile Tarist istatistik paket programında basit varyans analizine tabi tutularak, Duncan çoklu karşılaştırma yöntemine göre istatistiksel olarak değerlendirildi.



Şekil 3.6 Sıcak su uygulamasının etmenlerin miseliyal gelişimi üzerine etkisini saptamaya yönelik çalışmalar; A. Hot Blok'ta sıcaklık- süre kombinasyonlarının uygulanması, B. Eppendorf tüpteki agar disklerinin MEAS içeren petrilere alınması, C. 25°C'de karanlıkta inkubasyon.

3.2.3.2. Sıcak Su Uygulamasının bulaşık asma çeliklerinin canlılıklarına ve onları etmenlerden arındırma üzerine etkisinin saptanması

Manisa Merkez'de belirlenen yuvarlak çekirdeksiz üzüm çeşidi ile kurulan bir bağda hastalık ile bulaşık olduğu tanı çalışmalarında kesin olarak saptanan asmalar 02.08.2010 tarihinde işaretlendi. Bu asmalardan 12.01.2011 yılında budama zamanından önce çelikler alındı ve daha sonra kullanmak üzere $0\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'deki soğuk hava deposuna konuldu. Sıcak su uygulamasının bu asma çeliklerindeki var olduğu düşünülen etmenlerin canlılığı üzerine etkisini belirlemek üzere 13.07.2011 tarihinde çelikler Çizelge 3.7'de verilen sıcaklık-süre kombinasyonlarında, her bir tekerrürde 5 adet olacak şekilde 3 tekerrürlü olarak Şekil 3.7-A'da görülen sıcak su banyosunda muamele edildi ve paralel olarak uygulama yapılmayan hastalıklı ve sağlıklı çelikler kontrol olarak kullanıldı. Uygulama sonrasında bu çelikler içerisinde oda sıcaklığında su bulunan kaplarda 10 dk bekletildikten sonra 15cm boy x 28 cm enindeki ve 1/3 oranında perlit/kum içeren saksılara dikildi (Şekil 3.7-B) ve $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve %85-90 neme sahip olan iklim odasında gelişimleri 30 gün boyunca izlendi. Her 10 günde bir gözlerin uyanması ve sürgün gelişimleri kaydedildi. Bu süre sonunda her bir sıcaklık-süre kombinasyonu ile muamele edilmiş toplam 15 çelikten 10 tanesinde izolasyon

yapılarak hastalık etmenlerinin varlığı saptandı. Geriye kalan 5'er adet asma çeliği ise iklim odasında 1 yıl boyunca izlenmeye devam edildi (Şekil 3.7-C). Bu süre sonunda 20.07.2012 tarihinde bu fidanlar köklenerek laboratuvarda izolasyonu yapıldı ve etmenlerin varlığı saptandı.



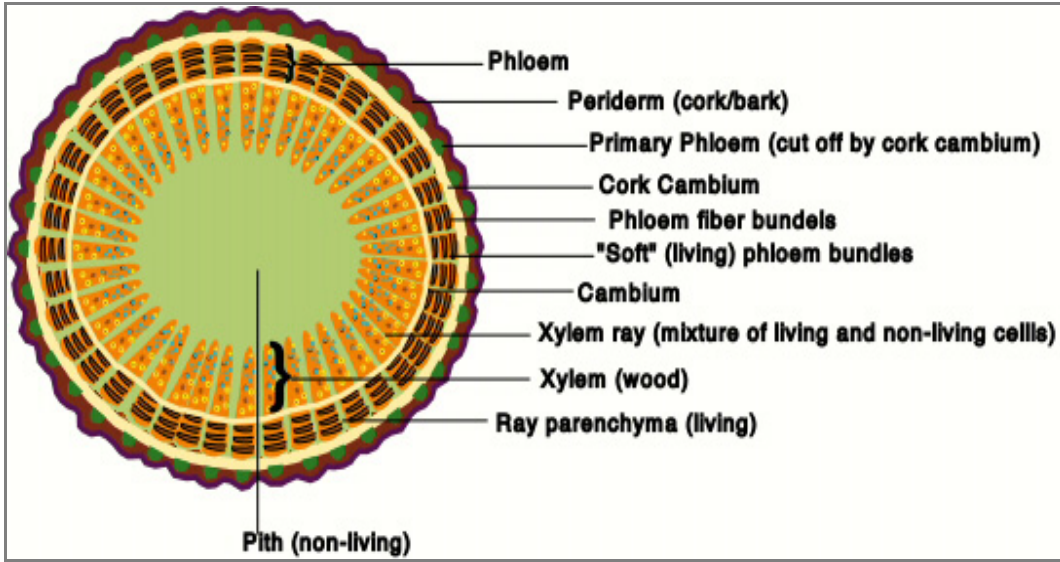
Şekil 3.7 Sıcak Su Uygulamasının bulaşık asma çeliklerinin canlılıklarına ve onları etmenlerden arındırma üzerine etkisinin saptanmasına yönelik çalışmalar; A. Çeliklerin sıcak su banyosunda muamelesi, B. Çeliklerin saksılara dikimi, C. İklim odasında geliştirme.

4. BULGULAR

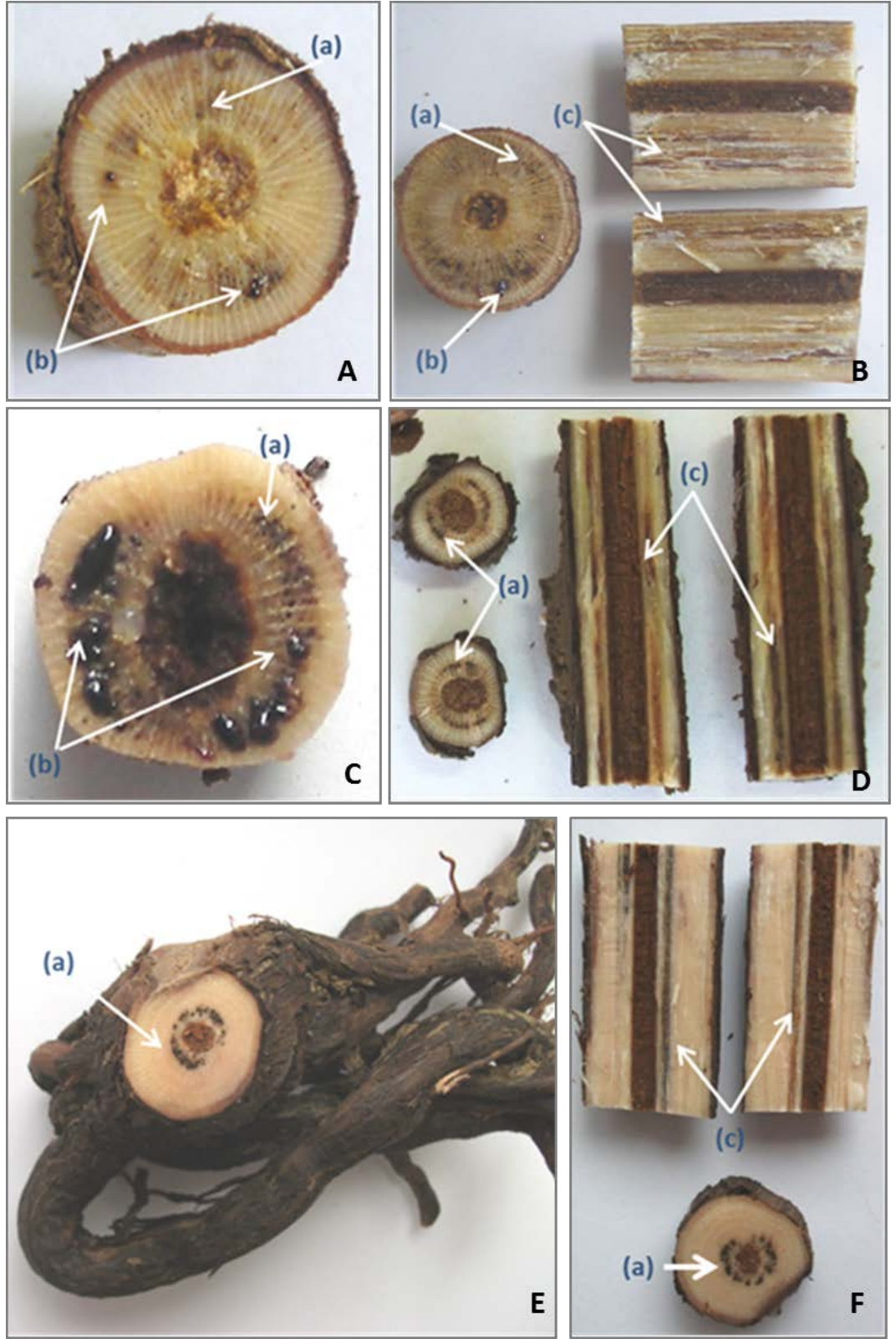
4.1. Asma Fidanı ve Omcalarda Hastalık Belirtileri

4.1.1. Asma fidanlarının gövdelerindeki hastalık belirtileri

Fidanlıklardan alınan (Bkz. Bölüm 3.1.1) asma fidanı örnekleri laboratuvara getirilerek gövdelerinden bağ makasıyla enine ve boyuna kesitler alındı. Ortaya çıkan belirtiler Martinson' dan (2011) alınan Şekil 4.1'deki asma gövdesinin enine kesitindeki kısımlar dikkate alınarak Şekil 4.2'de görüntülendi ve belirtiler tarif edildi.



Şekil 4.1 Asma gövdesinin enine kesitindeki kısımların şematik görüntüsü.



Şekil 4.2 Asma fidanlarının enine ve boyuna kesitlerindeki hastalık belirtileri (A-B-C-D-E-F: Açıklamalar metin içinde verilmiştir).

Fidanlardan alınan enine kesitlerde ilk anda ksilem dokularında tylosis oluşumuna işaret eden siyah noktacıklar **(a)** görüldü. Birkaç dakika içinde bu siyah noktacıklardan boncuk şeklinde koyu amber-siyah renğinde sıvı **(b)** çıkışı oldu. Enine kesitte siyah noktacıklar şeklinde görülen belirtilerin olduğu kısımlardan boyuna kesitler alındığında bu noktacıkların ksilemde boylamasına çizgi çizgi siyah nekrozlar **(c)** şeklinde olduğu görüldü (Şekil 4.2).

Yukarıda tarif edilen belirtileri taşıyan kısımlardan yapılan izolasyon sonuçları Çizelge 4.1’de verildi. İzolasyonlarda PDA, MEA ve RBA ortamları (Bkz. Bölüm 3.2.1) kullanılmıştır.

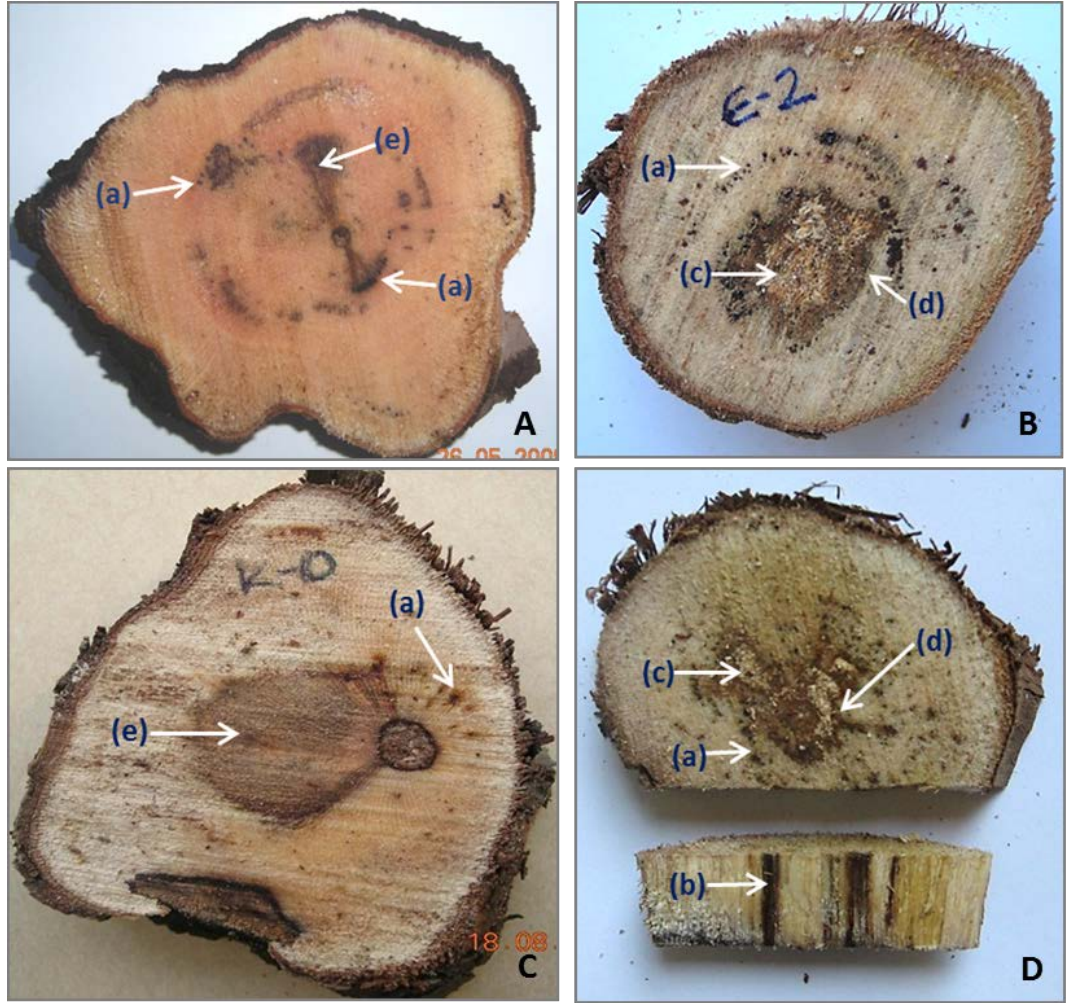
Çizelge 4.1 Asma fidanlarının gövdelerindeki Şekil 4.2’ deki hastalık belirtilerine göre izolasyon sonucunda elde edilen fungal etmenler.

Fungal Etmenler	Belirti Tipleri		
	a	b	c
<i>Phaeomoniella chlamydospora (Pcl)</i>	+	+	+
<i>Phaeoacremonium oleophilum (Pm)</i>	+	+	+
<i>Fomitiporia mediterranea (Fom)</i>	-	-	-
<i>Fomitiporia punctata (Fop)</i>	-	-	-
<i>Phellinus igniarius (Ph)</i>	-	-	-
<i>Stereum hirsutum (Ste)</i>	-	-	-

Görüldüğü gibi asma fidanlarında Petri hastalığına neden olan etmenler olan Pm ve Pcl izole edildi ve bu bulgu Türkiye’deki fidanlıklar için ilk kayıt oldu. Kav hastalığına neden olan etmenler ise (Fom, Fop, Ph ve Ste) asma fidanlarından izole edilmedi.

4.1.2. Genç asmaların gövdelerindeki hastalık belirtileri

Yuvarlak Çekirdeksiz üzüm çeşidi genç asmalardan alınan (Bkz. Bölüm 3.1.2) asma ana gövde örnekleri laboratuvara getirilerek enine ve boyuna kesitler alındı. Ortaya çıkan belirtiler Şekil 4.3’deki gibi görüntülendi.



Şekil 4.3 Genç bağlarda ana gövdenin enine ve boyuna kesitlerindeki hastalık belirtileri (A-B-C-D: Açıklamalar metin içinde verilmiştir).

Genç asmalardan alınan ana gövde örneklerinin enine kesitleri alındığında, fidanlardaki belirtilerde olduğu gibi, enfekteli ksilem demetlerinde siyah noktacıklar görüldü ve bunlardan birkaç dakika içinde boncuk şeklinde koyu amber-siyah renğinde sıvı çıkışı oldu **(a)**. Örneklerden boyuna kesitler alındığında ise, noktacıkların ksilemde çizgisel siyah nekrozlar şeklinde görüldüğü saptandı **(b)**. Bazı genç asmalarda ise, öz kısmının etrafındaki ksilem dokusunda beyaz çürüklük şeklinde açık renkli, yumuşak dokulu kavlamış bir kısım **(c)** olduğu ve bu kısmın koyu renkli, sert dokulu bir kuşak ile **(d)** çevrilmiş olduğu görüldü. Bu belirtilere ek olarak, yine ksilem dokusunda koyu renkli nekrotik alanlar **(e)** da görüldü (Şekil 4.3). Bu kısımlardan yapılan izolasyon sonuçları Çizelge 4.2’de verildi.

Çizelge 4.2 Genç asmaların gövdelerindeki Şekil 4.2’de tarif edilen hastalık belirtilerinden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen fungal etmenler.

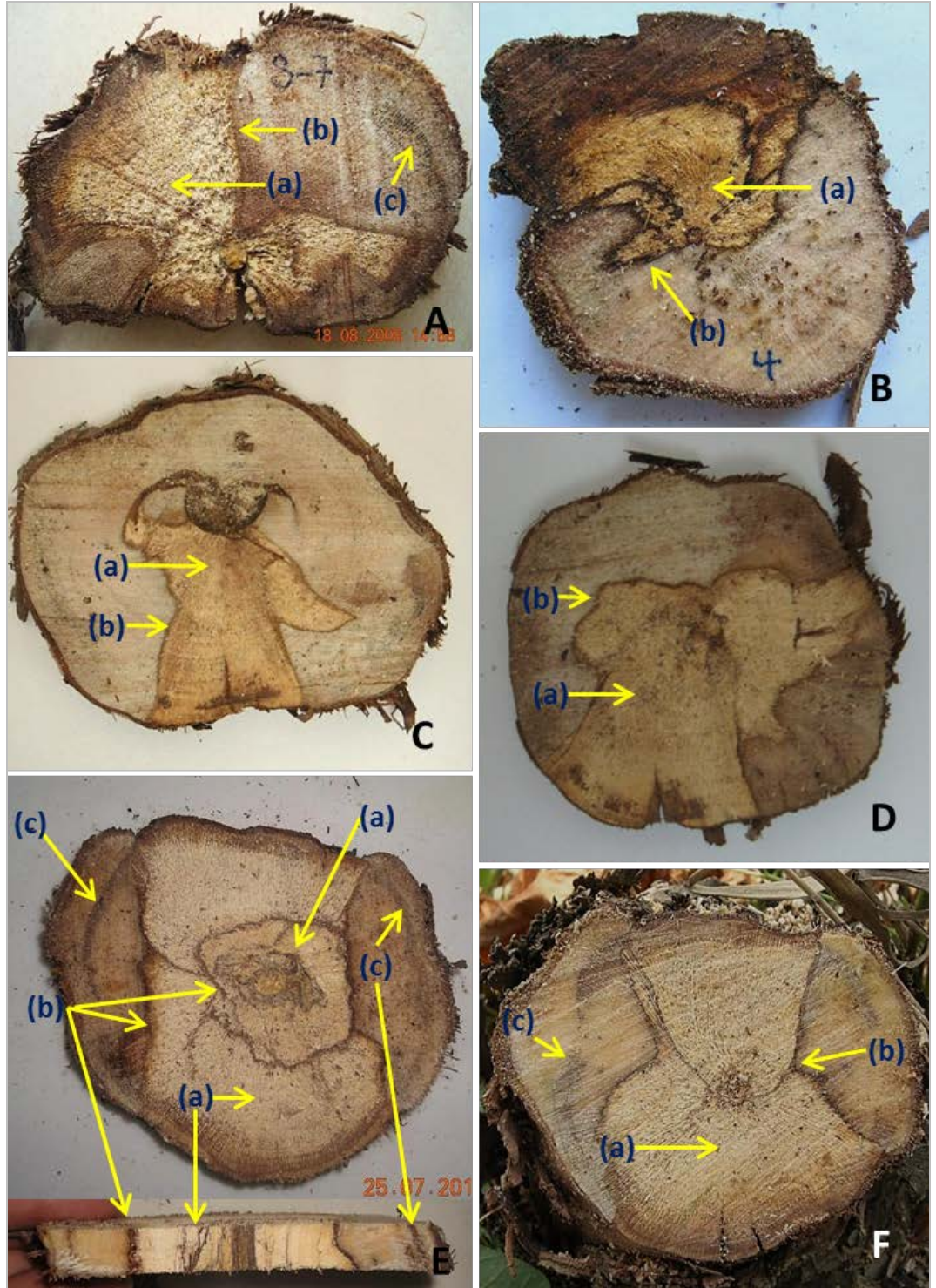
Fungal Etmenler	Belirti Tipleri				
	a	b	c	d	e
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> (Pcl)	+	+	-	-	-
<i>Phaeoacremonium oleophilum</i> (Pm)	+	+	-	+	+
<i>Fomitiporia mediterranea</i> (Fom)	-	-	+	+	-
<i>Fomitiporia punctata</i> (Fop)	-	-	-	-	-
<i>Phellinus igniarius</i> (Ph)	-	-	-	-	-
<i>Stereum hirsutum</i> (Ste)	-	-	-	-	-

Görüldüğü gibi genç asmalarda Petri hastalığına neden olan etmenlerin (Pcl, Pm) yanı sıra Kav hastalığına neden olan etmenlerden Fom ‘da izole edildi. Bu veri Türkiye’de *Fomitiporia mediterranea*’nın varlığı açısından ilk kayıt oldu. Diğer 2 fungal etmene ise rastlanmadı. Bunun yanında diğer odun patojenleri olan *Phomopsis viticola* ve *Eutypa lata* da izole edildi.

Bu bulgulara göre Pcl “a” ve “b” tipi belirti vererek, Pm ise bu belirtilere ek olarak “d” ve “e” tipi belirtilere yol açmakta ve asmanın ksilem dokusuna yerleşmektedirler. Fom, “c” ve “d” tipi belirtilere yol açarak ksilem dokusu ve öz kısmına yerleşmektedir.

4.1.3. Yaşlı asmaların gövdelerindeki hastalık belirtileri

Yuvarlak Çekirdeksiz üzüm çeşidi yaşlı asmalardan alınan (Bkz. Bölüm 3.1.2) ana gövde örnekleri laboratuvara getirilerek yine enine ve boyuna kesitler alındı. Ortaya çıkan belirtiler Şekil 4.4’deki gibi görüntülendi.



Şekil 4.4 Yaşlı Bağlarda ana gövdenin enine ve boyuna kesitlerindeki hastalık belirtileri (A-B-C-D-E-F: Açıklamalar metin içinde verilmiştir).

Bu örneklerden alınan enine kesitlerde öz kısmı ile birlikte ksilem dokusunda yumuşak dokulu, kavlamış, açık renkli, bir beyaz çürüklük (a), bu kısmın çevresinde ise koyu renkli, sert dokulu bir kuşak halkası olduğu görüldü (b). Bu belirtiler yanında, yine ksilem dokusunda koyu renkli nekrotik alanlar (c)

görüldü (Şekil 4.4). Tarif edilen kısımlardan yapılan izolasyon sonuçları Çizelge 4.3’ de verildi.

Çizelge 4.3 Yaşlı asmaların gövdelerindeki Şekil 4.3’de tarif edilen hastalık belirtilerinden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen fungal etmenler.

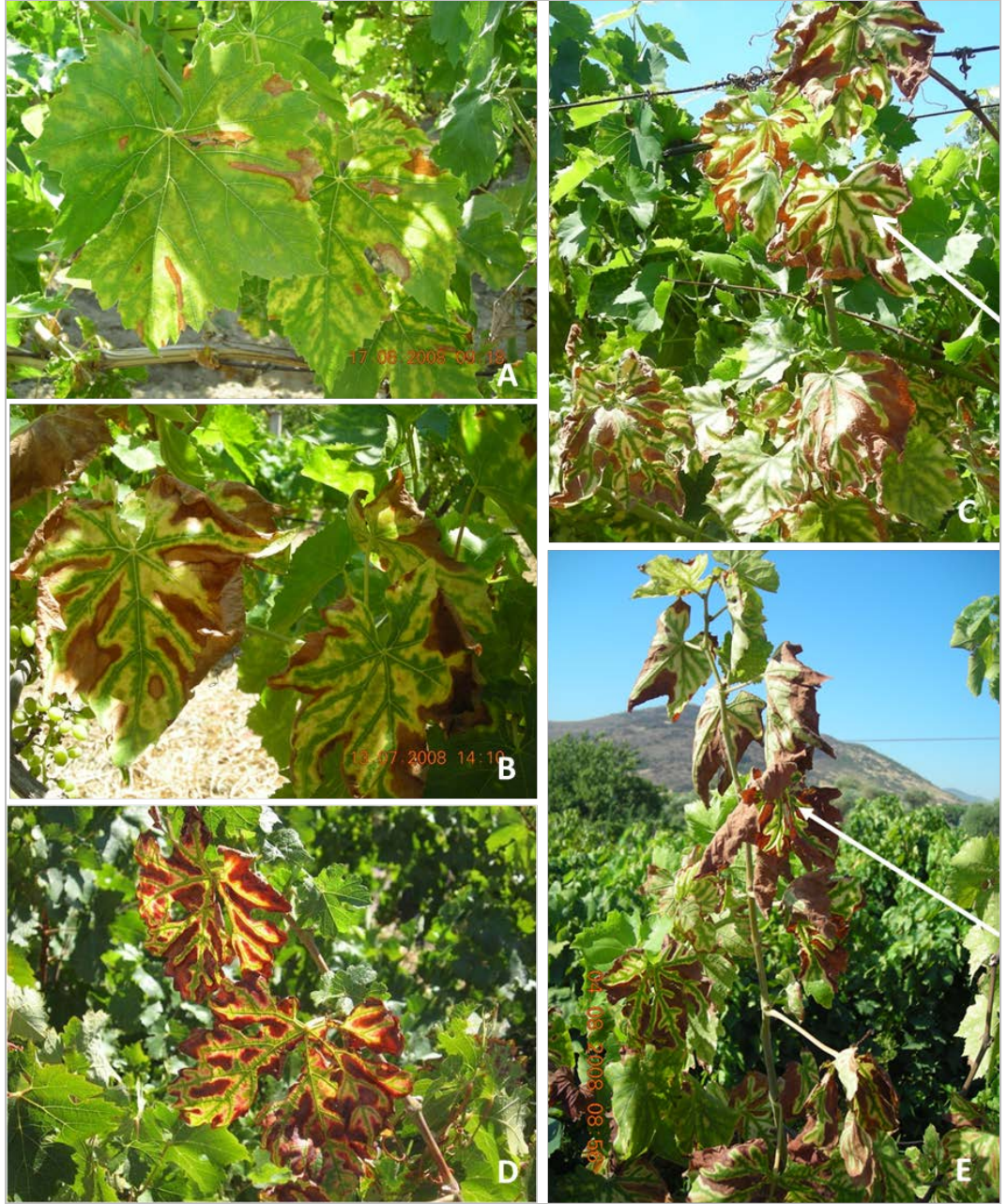
Fungal Etmenler	Belirti Tipleri		
	a	b	c
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> (Pcl)	-	-	+
<i>Phaeoacremonium oleophilum</i> (Pm)	-	+	+
<i>Fomitiporia mediterranea</i> (Fom)	+	+	-
<i>Fomitiporia punctata</i> (Fop)	-	-	-
<i>Phellinus igniarius</i> (Ph)	-	-	-
<i>Stereum hirsutum</i> (Ste)	-	-	-

Görüldüğü gibi yaşlı asmalarda Petri hastalığına neden olan etmenler (Pcl, Pm) ve Kav hastalığına neden olan etmenlerden Fom izole edilmiştir. Bu veri Türkiye’de *Fomitiporia mediterranea*’nın varlığı açısından ilk kayıt olmuştur.

Bu bulgulara göre, Pcl “c” tipi belirti vererek, Pm ise bu belirtiyek ek olarak “b” tipi belirtiyek yol açarak asmanın ksilem dokusuna yerleşmektedirler. Fom ise “a” ve “b” tipi belirti vererek ksilem dokusuna ve öz kısmına yerleşmektedir.

4.1.4. Yaprakta hastalık belirtileri

Yuvarlak Çekirdeksiz üzüm çeşidi yaşlı asmalardan gövde örneklerinin alınması sırasında Temmuz- Ağustos aylarında görüntülenen yaprak belirtileri Şekil 4.5 ve 4.6’de verildi.



Şekil 4.5 Hasta asmaların yapraklarında belirtilerin gelişimi.

Yapraklarda; damar aralarında önce klorotik açılmalar (A), daha sonra bu lekelerin birleşerek sarımsı kahverengi (B-C) veya kırmızı kahverengi renklerde (D-E) nekroze oldukları ve yaprakların su kaybı sonucu kurudukları görüldü (Şekil 4.5). Yaprak belirtilerinin asmada genel olarak görünümü Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de verildi. Son şekilde hastalık nedeniyle özellikle sıcak yaz günlerinde asma yeşil aksamının yıldırım çarpmış gibi kuruduğu saptandı.



Şekil 4.6 Hasta asmada yaprak belirtilerinin genel görünümü.



Şekil 4.7 Asmada hastalık nedeniyle kuruma.

4.1.5. Üzüm danelerinde hastalık belirtileri

Yuvarlak Çekirdeksiz üzüm çeşidi yaşlı asmalardan gövde örneklerinin alınması sırasında Temmuz- Ağustos aylarında üzüm danelerinde görülen belirtiler Şekil 4.7’de verildi.



Şekil 4.8 Üzüm danelerinde hastalık belirtileri.

Hasta omcaların salkımlarındaki üzüm danelerinin yüzeyinde koyu mor, nokta şeklinde lekeler görüldü ve bu lekelerin salkımın tüm danelerini kapladığı saptandı. Bu danelerin tadına bakıldığında daha tatlı ama danenin kabuk kısmında buruk bir tat hissedildi.

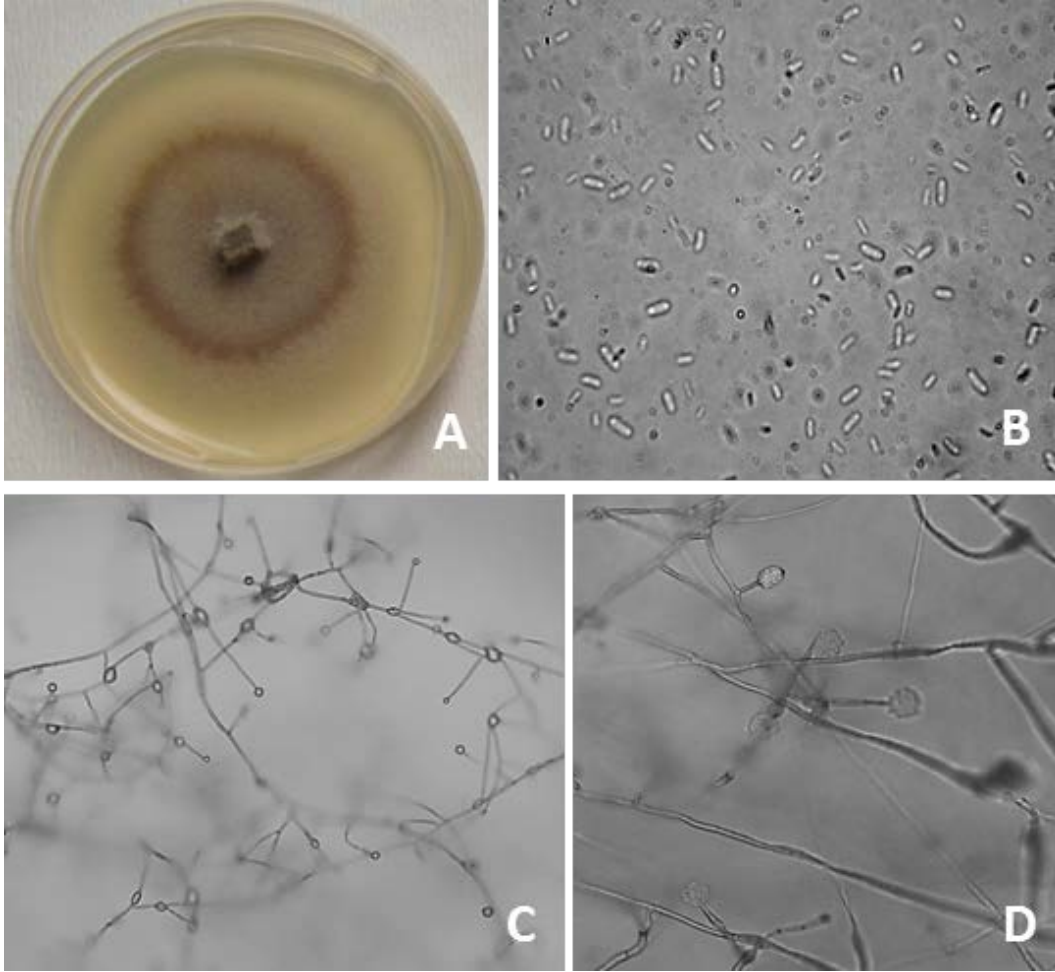
4.2. İzole Edilen Etmenlerin Morfolojik Özellikleri

Asma fidanları, genç ve yaşlı asmalardan alınan örneklerden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen fungusların bölüm 3.2.2.1’de belirtildiği gibi morfolojik karakteristiklerine göre tanıları yapıldı. Tanısı yapılan etmenlerin makroskobik ve mikroskobik özellikleri aşağıda verildi.

4.2.1. *Phaeoacremonium oleophilum*'un morfolojik özellikler

Makroskobik Özellikler: Koloniler ortama yapışık, hifler havai, grimsi kahverengi renkte, yavaş gelişir (Şekil 4.9 /A).

Mikroskobik Özellikler: Hifler; bölmeli ve dallı, açık kahverengi renkte, 1.5-4.0 μm genişliğinde. Konidiler; elips dikdörtgen şeklinde, kenarları oval ve 3.0-5.5 x 1.5-2.0 μm boyutlarında, renksiz (Şekil 4.9/B), klamidospor yok.

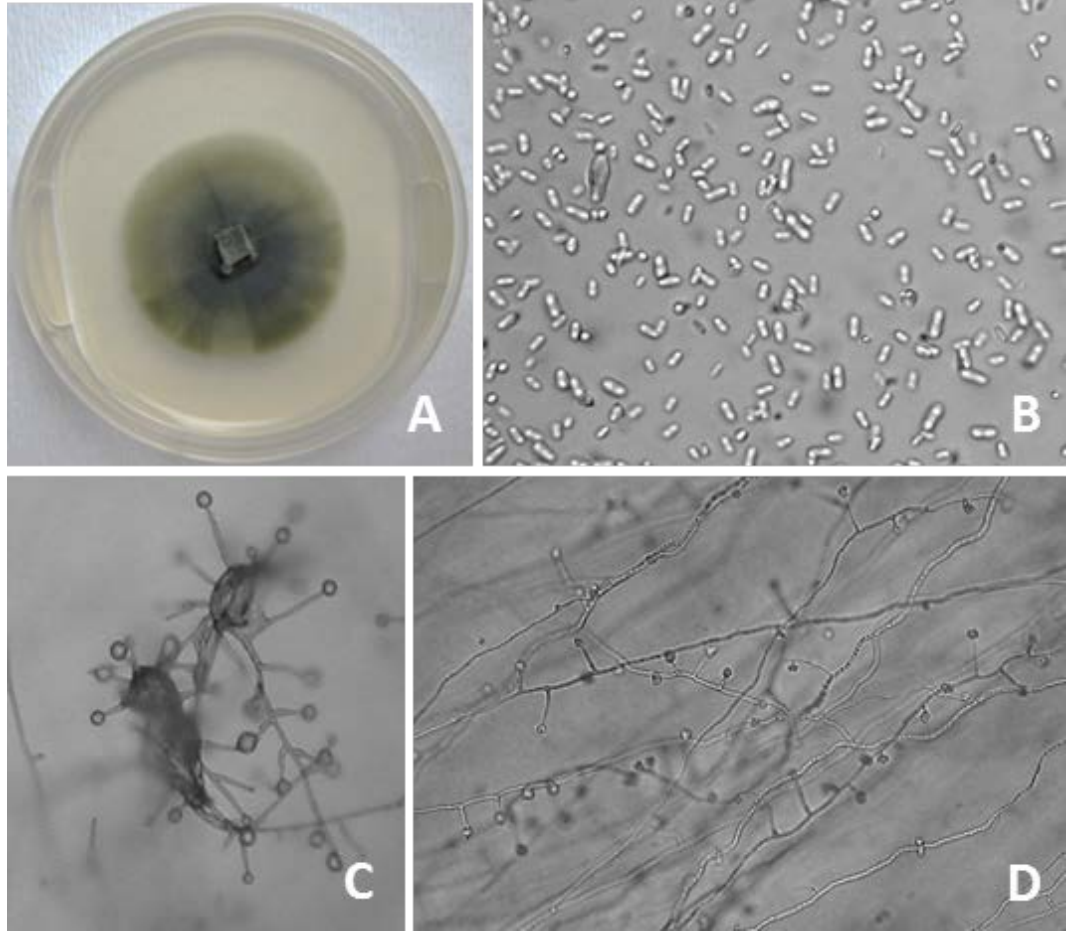


Şekil 4.9 *Phaeoacremonium oleophilum*' un makroskobik ve mikroskobik görüntüsü (A. MEA ortamındaki koloni gelişimi, B. Konidiosporlar (100x büyütme), C-D. Konidioforlar ile konidiospor (20X ve 40X büyütme).

4.2.2. *Phaeomoniella chlamydospora*' nın morfolojik özellikleri

Makroskobik Özellikler: Koloniler ortama yapışık, seyrek şekilde havai hifler, koyu zeytin yeşili renkte, yavaş gelişir (Şekil 4.10/A).

Mikroskobik Özellikler: Hifler; bölmeli ve dallı, yeşil renkte, 2.0-5.0 μm genişliğinde. Konidiler; elips dikdörtgen şeklinde, kenarları oval ve 2.5-5.0 x 1.5-2.0 μm boyutlarında, renksiz (Şekil 4.10/B), klamidospor nadiren oluşur.

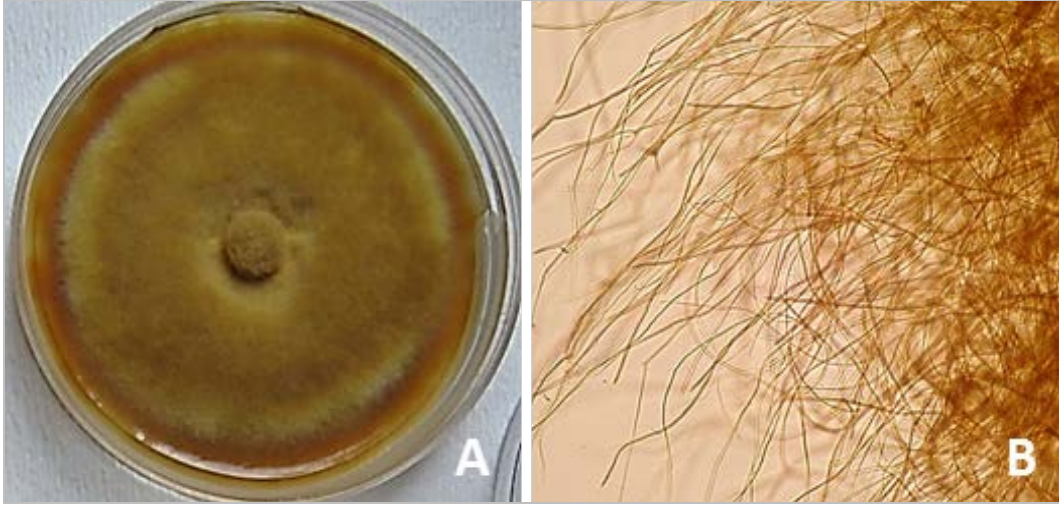


Şekil 4.10 *Phaeomoniella chlamydospora*'nın makroskobik ve mikroskobik görüntüsü (A. MEA ortamındaki koloni gelişimi, B. Konidiosporlar (100X büyütme), C-D. Konidioforlar ve konidiosporlar (20X ve 40X büyütmede).

4.2.3. *Fomitiporia mediterranea*'nın morfolojik özellikleri

Makroskobik Özellikler: Koloniler pamuksu, havai hifler, turuncu-kahverengi renkte, yukarıda belirtilen etmenlere göre daha hızlı gelişme (Şekil 4.11/A).

Mikroskobik Özellikler: Hifler; bölmeli ve dallı, turuncu- kahverengi renkte, 1.6-4 µm genişliğinde, konidi yok (Şekil 4.11/B).



Şekil 4.11 *Fomitiporia mediterranea*'nın makroskobik ve mikroskobik görüntüsü (A. MEA ortamındaki gelişimi, B. Miselyum (40X büyütme).

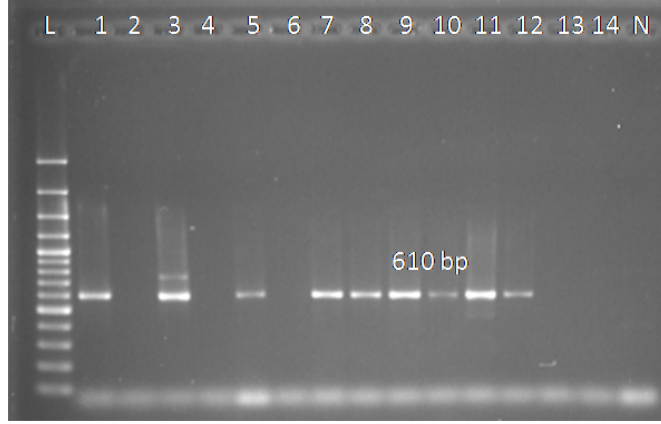
4.3. Etmenlerin Moleküler Tanısı

Yukarıda, makroskobik ve mikroskobik özellikleri göz önüne alınarak tanısı yapılmış etmenlerin temsili olarak seçilen izolatlarından ve hastalık belirtisi taşıyan asma fidanı, genç ve yaşlı asmaların gövde örneklerinden fungal DNA izole edildi ve moleküler tanıları yapıldı (Bkz. Bölüm 3.2.2.2).

4.3.1. *Phaeoacremonium oleophilum*'un moleküler tanısı

Pm 'un moleküler tanısı Dupont et al.'na (2002) göre Çizelge 8'te verilen ITS4-ITS5 primerleri ve PCR programları ile yapıldı. Yapılan PCR sonucunda elektroforez-jel görüntüsünde 610 bp uzunluğunda bant elde edildi. Elde edilen elektroforez-jel görüntüsü Şekil 4.12'de verildi. Bu şekilde; 1-12 no'lu örnekler

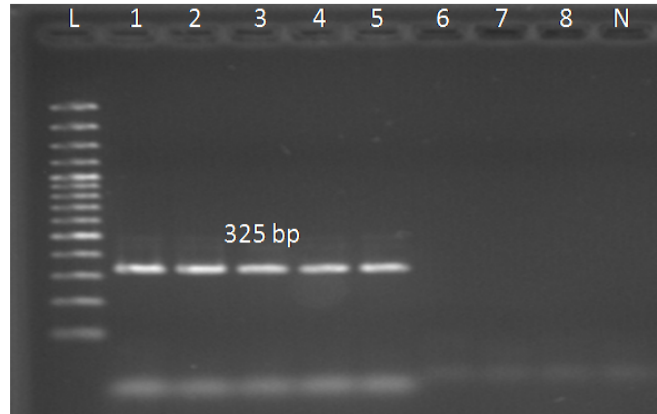
Pm izolatlarının, negatif kontrol olarak ise 13 no'lu örnek Pcl, 14 no'lu örnek Fom ve son olarak ta su kontrol'ün PCR sonuçları görülmektedir.



Şekil 4.12 *Pm* etmenlerinin PCR elektroforez-jel görüntüsü. (L: 100bp'lik ladder, 1-12: Pm, 13: Pcl, 14: Fom, N: su kontrol)

4.3.2. *Phaeomoniella chlamydospora'* nın moleküler tanısı

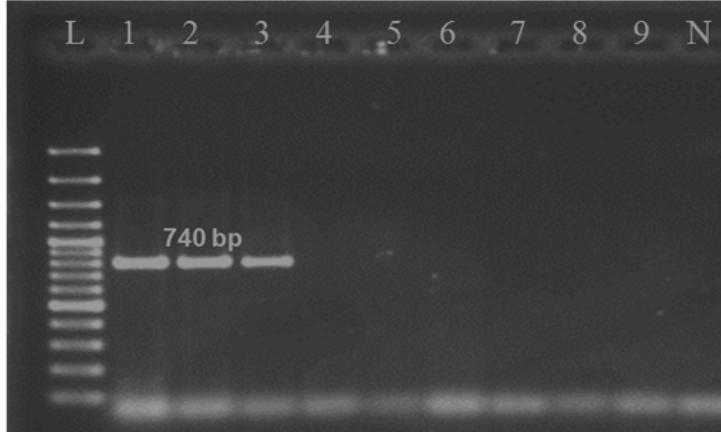
Pcl' nın moleküler tanısı Retief et al. (2005) ve Groenewald et al.'na (2000) göre Çizelge 8'te verilen Pcl1-Pcl2 primerleri ve PCR programları ile yapıldı. Yapılan PCR sonucunda elektroforez-jel görüntüsünde 325 bp uzunluğunda bant elde edildi ve elektroforez-jel görüntüsü Şekil 4.13'de verildi. Bu şekilde; 1-5 no'lu örnekler Pcl izolatlarının, negatif kontrol olarak ise 6 no'lu örnek Pm, 7 no'lu örnek Fom ve son olarak ta su kontrol'ün PCR sonuçları görülmektedir.



Şekil 4.13 *Pcl* etmenlerinin PCR elektroforez-jel görüntüsü. (L: 100bp'lik ladder, 1-5: Pcl, 6: Pm, 7: Fom, N: su kontrol).

4.3.3. *Fomitiporia mediterranea*'nın moleküler tanısı

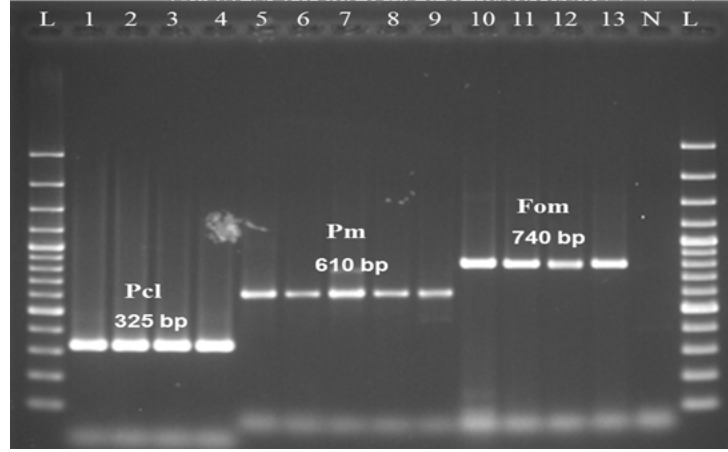
F. mediterranea'nin moleküler tanısı Pilotti et al.'na (2005) göre Çizelge 8'te verilen ITS4-ITS5 primerleri ve PCR programları ile yapıldı. Yapılan PCR sonucunda elektroforez-jel görüntüsünde 740 bp uzunluğunda bant elde edildi. Elde edilen elektroforez-jel görüntüsü Şekil 4.14'de verildi. Bu şekilde; 1-5 no'lu örnekler Fom izolatlarının, negatif kontrol olarak ise 6-7 no'lu örnek Pm, 8-9 no'lu örnek Fom ve son olarak ta su kontrolün PCR sonuçları görülmektedir.



Şekil 4.14 Fom etmenlerinin PCR elektroforez-jel görüntüsü. (L: 100bp'lik ladder, 1-5: Fom , 6-7: Pm , 8-9: Pcl, N: su kontrol).

4.3.4. Etmenlerin moleküler tanıların karşılaştırılması

Moleküler tanısı yapılan *Phaeoacremonium oleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea* etmenlerinin PCR bulgularında elde edilen bant uzunlukları arasındaki farklılıkları görmek amacıyla Şekil 4.15'de elektroforez-jel görüntüleri bir arada verildi. Bu şekilde; 1-4 no'lu örnekler Pcl izolatlarının, 5-9 no'lu örnek Pm, 10-13 no' lu örnek Fom ve son olarak ta su kontrolün PCR sonuçları görülmektedir.



Şekil 4.15 Pm, Pcl, Fom etmenlerinin PCR elektroforez-jel görüntüsü. (L: 100bp'lik ladder, 1-4: Pcl, 5-9: Pm, 10-13: Fom, N: su kontrol).

4.4. Etmenlerin Fidanlıklarda ve Bağlarda Varlığı

Araştırmaya konu olan ve farklı asma çeşitlerini bulunduran fidanlıklardan, genç ve yaşlı bağlardan alınan örneklerden izolasyonlar yapıldı. Elde edilen izolatların tanısı yapılarak etmenlerin fidanlıklardaki ve bağlardaki varlığı saptandı (Bkz. Bölüm 3.1; 3.2.1; 3.2.2; 3.2.3).

4.4.1. Etmenlerin fidanlıklardaki varlığı

Manisa ve Denizli'deki fidanlıklardan alınan örneklerden yapılan izolasyonlar sonucunda saptanan etmenler fidanlıklar ve çeşitler bazında Çizelge 4.4'de verildi.

Çizelge 4.4 Fidanlıklar ve asma fidanı çeşitlerine göre saptanan fungal etmenler.

Fidanlık ¹	Çeşit ²	Fidanlıklardan Elde Edilen Fungal Etmenler ³					
		Pm	Pcl	Fom	Ste	Fop	Ph
A	1	X	-	-	-	-	-
	3	X	X	-	-	-	-
B	2	X	-	-	-	-	-
	4	-	X	-	-	-	-
	5	-	X	-	-	-	-
C	2	X	-	-	-	-	-
	4	-	X	-	-	-	-
	5	-	X	-	-	-	-
D	1	-	X	-	-	-	-
	3	X	X	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-	-
F	2	-	X	-	-	-	-
	5	X	X	-	-	-	-
G	2	-	X	-	-	-	-
H	3	X	X	-	-	-	-
I	1	-	X	-	-	-	-
	5	X	-	-	-	-	-
j	3	-	X	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-
L	1	-	X	-	-	-	-

¹A-B-C-D-E-F-G-H-I-J: Manisa ilindeki örnek alınan fidanlıkların kodları.

K-L: Denizli ilindeki örnek alınan fidanlıkların kodları.

²1: Yuvarlak Çekirdeksiz

2: Alphonse Lavaillee

3: Superior Seedless

4: Merlot

5: Cabernet Sauvignon

³Pcl: *Phaeomoniella chlamydospora*

Pm: *Phaeoacremonium oleophilum*

Fom: *Fomitiporia mediterranea*

Ste: *Stereum hirsutum*

Fop: *Fomitiporia punctata*

Ph: *Phellinus igniarius*

Çizelge 4.4 incelendiğinde; Manisa (E) ve Denizli (K) ilindeki 1'er fidanlık dışında diğer fidanlıklarda Petri hastalığına yol açan Pcl ve/veya Pm'un mevcut olduğu saptandı. Pcl'nın fidanlıklarda daha yaygın olduğu belirlenirken, çeşitler arasında bu etmenlere göre belirli bir davranış farkı ortaya çıkmadı. Bu

fidanlıklardan Kav hastalığına neden olan etmenlerinin (Fom, Fop, Ste, Ph) izole edilmemesi diğer önemli bir bulgu oldu.

4.4.2. Etmenlerin genç asmalardaki varlığı

Manisa, İzmir ve Denizli il ve ilçelerinin Yuvarlak Çekirdeksiz üzüm çeşidi ile kurulu genç bağlarından alınan toplam 21 asma örneğinden (Bkz. Çizelge 3.3) gerçekleştirilen izolasyonlar sonucunda saptanan etmenler Çizelge 4.5’te verildi.

Çizelge 4.5 Genç asmalarda saptanan fungal etmenler

İller	Örnek No	Genç Asmalardan Elde Edilen Fungal Etmenler ¹					
		Pm	Pcl	Fom	Ste	Fop	Ph
Manisa	1	-	X	-	-	-	-
	2	X	X	-	-	-	-
	3	X	X	X	-	-	-
	4	-	X	-	-	-	-
	5	X	-	-	-	-	-
	6	-	X	-	-	-	-
	7	X	-	-	-	-	-
	8	X	X	X	-	-	-
	9	X	X	-	-	-	-
	10	-	X	-	-	-	-
İzmir	1	X	-	X	-	-	-
	2	X	X	-	-	-	-
	3	-	X	-	-	-	-
	4	X	X	-	-	-	-
	5	X	X	X	-	-	-
Denizli	1	-	X	-	-	-	-
	2	X	-	-	-	-	-
	3	X	X	-	-	-	-
	4	-	X	-	-	-	-
	5	-	X	-	-	-	-
	6	X	X	X	-	-	-

¹Pcl: *Phaeomoniella chlamydospora*

Pm: *Phaeoacremonium oleophilum*

Fom: *Fomitiporia mediterranea*

Ste: *Stereum hirsutum*

Fop: *Fomitiporia punctata*

Ph: *Phellinus igniarius*

Yapılan izolasyonlar sonucunda, her üç ilin genç bağlarında, Pcl daha yaygın olmak üzere, Pcl, Pm ve Fom'un mevcut olduğu belirlendi. Toplam 21 örneğin 8'inin sadece Pcl ile, 3'ünün sadece Pm ile, 5'inin Pcl+Pm ile, 4'ünün Pcl+ Pm+ Fom ile ve 1'inin Pm+Fom ile bulaşık olduğu belirlendi. Diğer yandan, genç bağlarda fidanlıkarda saptanan Pcl ve Pm etmenlerinin yanı sıra Fom etmeninin de belirti tablosuna iştirak ettiği görüldü. Ste, Ph ve Fop etmeninin örnekleme yapılan bağlarda saptanmamış olması bir diğer önemli bulgu oldu.

4.4.3. Etmenlerin yaşlı asmalardaki varlığı

Manisa, İzmir ve Denizli il ve ilçelerinin tipik hastalık belirtilerini taşıyan yuvarlak çekirdeksiz üzüm çeşidi ile kurulu yaşlı bağlardan alınan toplam 21 asma örneğinden (Bkz. Çizelge 3.3) gerçekleştirilen izolasyonlar sonucunda saptanan etmenler Çizelge 4.6'da verildi.

Çizelge 4.6 incelendiğinde; ziyaret edilen ve örnek alınan yaşlı bağların tümünde Fom etmeni saptanırken, Pcl ve Pm' un da mevcut olduğu görüldü. Bu örneklerin 5'i Pcl+Fom, 6'sı Pm+Fom, 3'ü Pcl+Pm+Fom, 7'si sadece Fom ile bulaşık bulundu. Buradan, Fom etmeninin yaşlı bağlarda genel "Kav" tablosundan sorumlu olduğu ortaya çıktı. Ste, Ph, Fop etmenlerinin örnekleme yapılan yaşlı bağlarda da saptanmamış olması önemli bir bulgu oldu.

Çizelge 4.6 Yaşlı asmalarda saptanan fungal etmenler.

İller	Örnek No	Yaşlı Asmalardan Elde Edilen Fungal Etmenler ¹					
		Pm	Pcl	Fom	Ste	Fop	Ph
Manisa	1	-	X	X	-	-	-
	2	X	-	X	-	-	-
	3	-	X	X	-	-	-
	4	X	-	X	-	-	-
	5	X	-	X	-	-	-
	6	-	X	X	-	-	-
	7	-	X	X	-	-	-
	8	X	-	X	-	-	-
	9	X	-	X	-	-	-
	10	-	-	X	-	-	-
İzmir	1	X	X	X	-	-	-
	2	-	-	X	-	-	-
	3	-	-	X	-	-	-
	4	X	-	X	-	-	-
	5	-	X	X	-	-	-
Denizli	1	-	-	X	-	-	-
	2	X	X	X	-	-	-
	3	-	-	X	-	-	-
	4	X	X	X	-	-	-
	5	-	-	X	-	-	-
	6	-	-	X	-	-	-

¹Pcl: *Phaeomoniella chlamydospora*
Pm: *Phaeoacremonium oleophilum*
Fom: *Fomitiporia mediterranea*

Ste: *Stereum hirsutum*
Fop: *Fomitiporia punctata*
Ph: *Phellinus igniarius*

4.5. Sıcak Su Uygulamasının Etmenlerin Miseliyal Gelişimine Etkisi ve Bulaşık Asma Çeliklerinin Canlılıkları ile Çelikleri Etmenlerden Arındırma Üzerine Etkisi

Bu bölümde, 45-55°C'ler arasında farklı basamaklardaki sıcak suyun farklı uygulama sürelerinde *Phaeoacremonium oleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora* ve *Fomitiporia mediterranea*'ya karşı savaşımında kullanılabilirliğinin belirlenmesi açısından yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular verildi.

4.5.1. Sıcak su uygulamasının etmenlerin miseliyal gelişimine etkisi

Sıcak su uygulamasının, söz konusu etmenlerin miseliyal gelişimi üzerine etkisi Bölüm 3.2.3.1’de belirtildiği gibi koloni çapı (mm) üzerinden saptandı. Elde edilen bulgular kontrole göre hesaplanan % koloni gelişim oranları üzerinden ilgili çizelge ve grafiklerde verildi.

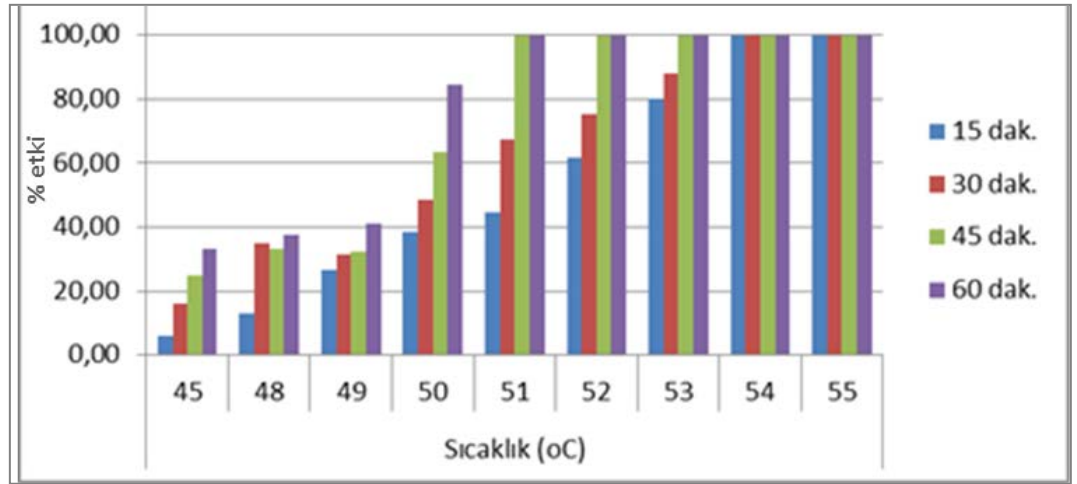
4.5.1.1. Sıcak su uygulamasının *Phaeomoniella chlamydospora*’nın miseliyal gelişimine etkisi

Sıcak su uygulamasının zaman dilimlerinde Pcl’nın miseliyal gelişimi üzerine % etkisi ve yapılan istatistiki değerlendirme sonuçlarına göre oluşan gruplar Çizelge 4.7 ve Şekil 4.16’da verildi.

Çizelge 4.7 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerinin Pcl’nın koloni gelişimine % etkisi ve istatistiksel gruplandırma.

<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> (Pcl)		Süre							
		15		30		45		60	
		koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki
Sıcaklık (°C)	45	27,50	5,98 a*	24,50	16,24 a*	22,00	24,79 a*	19,50	33,33 a*
	48	25,50	12,82 a	19,00	35,04 b	19,50	33,33 a	18,25	37,61 a
	49	21,50	26,49 b	20,00	31,62 b	19,75	32,48 a	17,25	41,03 a
	50	18,00	38,46 bc	15,00	48,72 c	10,75	63,25 b	4,50	84,62 b
	51	16,25	44,44 c	9,50	67,52 d	0,00	100 c	0,00	100 c
	52	11,25	61,53 d	7,25	75,21 de	0,00	100 c	0,00	100 c
	53	5,75	80,34 e	3,50	88,03 ef	0,00	100 c	0,00	100 c
	54	0,00	100 f	0,00	100 f	0,00	100 c	0,00	100 c
	55	0,00	100 f	0,00	100 f	0,00	100 c	0,00	100 c
	Kontrol	29,25	-	29,25	-	29,25	-	29,25	-

*Her bir sütun içinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan sürenin sıcaklıklara göre bir farkı yoktur (P=0,01 Duncan testi)



Şekil 4.16 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerinin Pcl' nın koloni gelişimine % etkisi.

Bu verilere göre;

45°C'de 30 dk sıcak su uygulamasının Pcl'nın koloni gelişimine % etkisi %16.24 iken sıcaklık ve süre arttıkça etki de paralel olarak arttı.

50°C'de; 30 dk'da %48.72 oldu, 60 dk uygulamasında ise %84.62'ye ulaştı.

Bu oran 51°C'de; 30 dk'da %67.52 iken yine süre arttıkça paralel olarak etkinin arttığı, 45 ve 60 dk'da ise etkinin %100 olduğu görüldü.

52°C'de; 30 dk'da %75.21 olarak saptanan etkinin yine süre arttıkça %100'e ulaştığı görüldü.

53°C'de; 30 dk'da %88.03 olarak saptanan etkinin 45 ve 60 dk'da ise etkinin %100 olduğu görüldü

54 ve 55 °C'lik sıcaklıklarda ise tüm uygulama sürelerinde %100 etki görüldü.

Bu bulgulara göre, Pcl'nın yükselen su sıcaklıklarında zamana karşı gelişiminin gittikçe azaldığı, etkinin de arttığı görüldü. Bu oranın 51-52 ve 53°C'de; 45. dk'dan itibaren %100'e ulaştığı görüldü. 54 ve 55 °C'lik sıcaklıklarda ise tüm uygulama sürelerinde %100 etki görüldü. Ancak 53 °C'de dahi kontrole göre yaklaşık % 20 oranında bir gelişme gösterebildiği belirlendi.

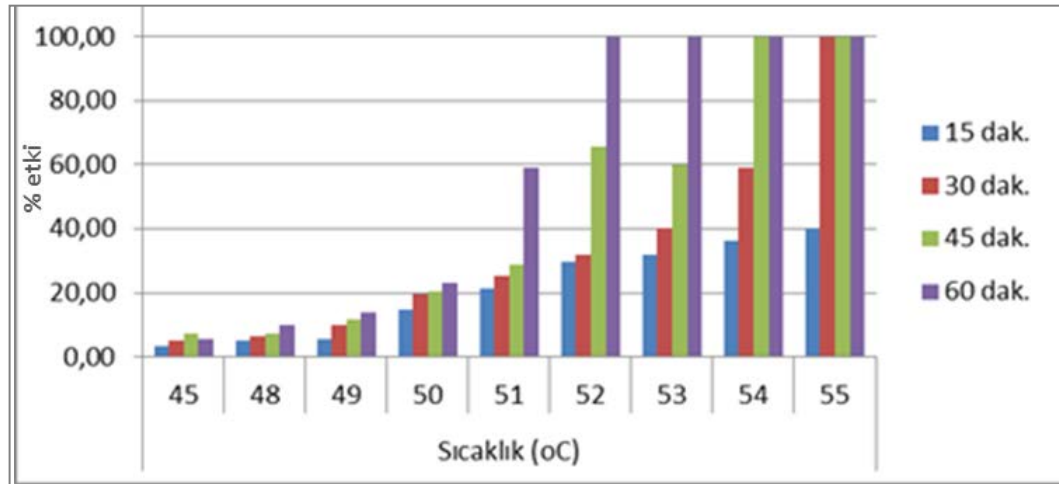
4.5.1.2. Sıcak su uygulamasının *Phaeoacremonium oleophilum*'un miseliyal gelişimine etkisi

Sıcak su uygulamasının zaman dilimlerinde Pm'un miseliyal gelişimi üzerine % etkisi ve yapılan istatistiki değerlendirme sonuçlarına göre oluşan gruplar Çizelge 4.8 ve Şekil 4.17'de verildi.

Çizelge 4.8 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerine göre Pm' un koloni gelişimine %etkisi ve istatistiki gruplandırma.

<i>Phaeoacremonium oleophilum</i> (Pa)		Süre							
		15		30		45		60	
		koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki
Sıcaklık (°C)	45	29,50	3,28 a*	29,00	4,92 a*	28,25	7,38 a*	28,75	5,74 a*
	48	29,00	4,92 a	28,50	6,56 a	28,25	7,38 a	27,50	9,84 a
	49	28,75	5,74 a	27,50	9,84 ab	27,00	11,48 ab	26,25	13,93 bc
	50	26,00	14,75 ab	24,50	19,67 bc	24,25	20,49 bc	23,50	22,95 c
	51	24,00	21,31 bc	22,75	25,41 c	21,75	28,69 c	12,50	59,02 d
	52	21,50	29,51 bcd	20,75	31,97 cd	10,50	65,57 d	0,00	100 e
	53	20,75	31,97 de	18,25	40,16 de	12,25	59,84 d	0,00	100 e
	54	19,50	36,07 de	12,50	59,02 e	0,00	100 e	0,00	100 e
	55	18,25	40,16 f	0,00	100 f	0,00	100 e	0,00	100 e
	Kontrol	30,50	-	30,50	-	30,50	-	30,50	-

* Her bir aynı sütun içinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan sürenin sıcaklıklara göre bir farkı yoktur (P=0,01 Duncan testi).



Şekil 4.17 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerine göre Pm'un koloni gelişimine % etkisi.

Bu verilere göre;

45°C'de 30 dk sıcak su uygulamasının Pm' un koloni gelişimine % etkisi %4.92 iken sıcaklık ve süre arttıkça etki de paralel olarak arttı.

50°C'de; 30 dk'da %19.67 oldu, 60 dk uygulamasında ise %22.95'e ulaştı.

Bu oran 51°C'de; 30 dk'da %25.41 iken yine süre arttıkça paralel olarak etkinin arttığı görüldü.

52°C'de; 30 dk'da %31.97 olarak saptanan etkinin 60 dk'da %100'e ulaştığı görüldü.

53°C'de; 30 dk'da %40.16 olarak saptanan etkinin 60 dk' da ise %100 olduğu görüldü

54°C'de; 30 dk'da %59.02 olarak saptanan etkinin 45 ve 60 dk' da ise %100 olduğu görüldü

55 °C ise 30-45 ve 60 dk uygulama sürelerinde %100 etki görüldü.

Bu bulgulara göre, Pm' un 54-55 °C'de dahi kontrole göre yaklaşık % 60 oranında bir gelişme gösterebildiği ancak uygulama süresi arttıkça koloni gelişiminin olmadığı ve etkinin arttığı belirlendi. Bu oranın 52 ve 53°C'de; 60. dk'da %100'e ulaştığı görüldü. 54 °C'de 45.dk'dan itibaren, 55 °C' de ise 30. dk'dan itibaren %100 olduğu görüldü.

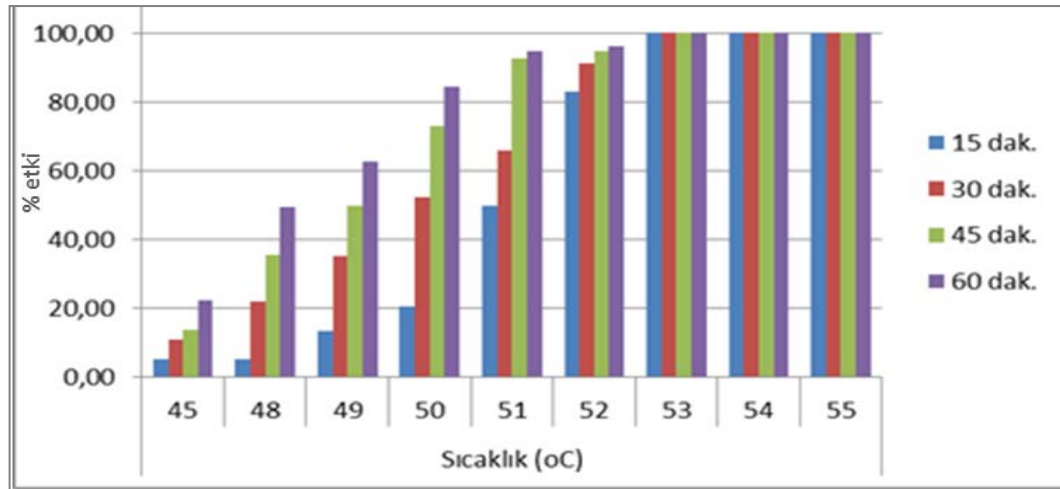
4.5.1.3. Sıcak Su Uygulamasının *Fomitiporia mediterranea'* nın Miseliyal Gelişimine Etkisi

Sıcak su uygulamasının zaman dilimlerinde Fom'nın miseliyal gelişimi üzerine % etkisi ve yapılan istatistiki değerlendirme sonuçlarına göre oluşan gruplar Çizelge 4.9 ve Şekil 4.18'de verildi.

Çizelge 4.9 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerine göre Fom'nın koloni gelişimine % etkisi ve istatistiki gruplandırma.

<i>Fomitiporia mediterranea</i> (Fom)		Süre							
		15		30		45		60	
		koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki	koloni gelişim (mm)	%etki
Sıcaklık (°C)	45	50,00	5,21 a*	47,00	10,9 a*	45,50	13,74 a*	41,00	22,27 a*
	48	50,00	5,21 a	41,25	21,8 ab	34,00	35,55 b	26,75	49,29 b
	49	45,75	13,27 ab	34,25	35,07 b	26,50	49,76 c	19,75	62,56 b
	50	42,00	20,38 b	25,25	52,13 c	14,25	72,99 d	8,25	84,36 c
	51	26,50	49,76 c	18,00	65,88 c	4,00	92,42 e	2,75	94,79 cd
	52	9,00	82,94 d	4,75	91 d	2,75	94,79 e	2,00	96,21 cd
	53	0,00	100 d	0,00	100 d	0,00	100 e	0,00	100 d
	54	0,00	100 d	0,00	100 d	0,00	100 e	0,00	100 d
	55	0,00	100 d	0,00	100 d	0,00	100 e	0,00	100 d
	Kontrol	52,75	-	52,75	-	52,75	-	52,75	-

*Her bir sütun içinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan sürenin sıcaklıklara göre bir farkı yoktur (P=0,01 Duncan testi)



Şekil 4.18 Farklı sıcaklık ve uygulama sürelerine göre Fom'nın % koloni gelişimine % etkisi.

Bu verilere göre;

45°C'de 30 dk sıcak su uygulamasının Fom'nın koloni gelişimine % etkisi %10.9 iken sıcaklık ve süre arttıkça etki de paralel olarak arttı.

50°C'de; 30 dk'da %52.13 oldu, 60 dk uygulamasında ise %84.36'ya ulaştı.

Bu oran 51°C'de; 30 dk' da %65.88 iken yine süre arttıkça paralel olarak etkinin arttığı, 60 dk'da ise etkinin %94.79 olduğu görüldü.

52°C’de; 30 dk’da %91.00 olarak saptanan etkinin 60 dk’da % 96.21 olduğu görüldü.

53,54 ve 55 °C’lik sıcaklıklarda ise tüm uygulama sürelerinde %100 etki görüldü.

Bu bulgulara göre, Fom’nın yükselen su sıcaklıklarında zamana karşı gelişiminin gittikçe azaldığı, 53-54 ve 55 °C’de ise koloni gelişiminin olmadığı görüldü. Yani Fom’a karşı sıcak su uygulamasında artan sürelerde etkinin de arttığı görüldü. Bu oranın 53-54 ve 55 °C’de tüm uygulama sürelerinde %100’e ulaştığı görüldü.

4.5.2. Sıcak su uygulamasının bulaşık asma çeliklerinin canlılıklarına ve onları etmenlerden arındırma üzerine etkisi

Bu bölümde, sıcak su-uygulama süresi kombinasyonlarının bulaşık asma çeliklerinin gelişimlerine ve onları etmenlerden arındırma üzerine etkisini saptamaya yönelik testlerden elde edilen bulgular verildi.

4.5.2.1. Sıcak su uygulamasının bulaşık asma çeliklerinin gelişimleri üzerine etkisi

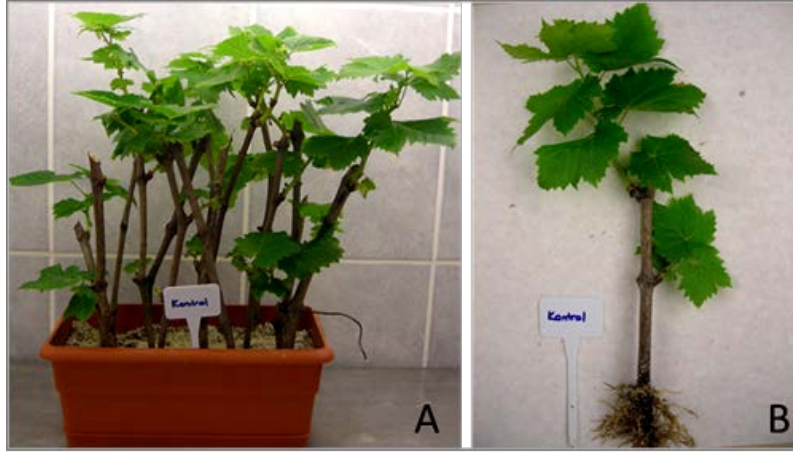
Sıcak su uygulamasının bulaşık asma çeliklerinin gelişimleri üzerine etkisi Bölüm 3.2.3.2’de belirtildiği gibi saptandı. Elde edilen bulgular toplu olarak Çizelge 4.10’da, detaylı olarak ise her bir sıcaklık basamağına göre 30. gün sonundaki durumları dikkate alınarak izleyen çizelge ve şekillerde verildi.

Çizelge 4.10 Farklı sıcaklıktaki su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).

Süre (dak.)	Gün	Sıcaklık (°C)																	
		45		48		49		50		51		52		53		54		55	
		X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
15	10	8	3,7	7	3	9	2,5	8	4,1	7	5,3	1	3,5	0	0	0	0	0	0
	20	9	5	8	5,3	10	3	10	6,4	10	6,4	6	3,4	0	0	0	0	0	0
	30	14	7,1	12	6,8	14	6,4	13	8,5	13	8,6	6	6	0	0	0	0	0	0
30	10	3	1,5	5	2	5	2,4	4	2,1	10	2,8	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	9	3,6	11	3	7	4,2	7	3,2	10	2,8	2	0,5	0	0	0	0	0	0
	30	9	3,9	11	4	13	5	9	3,1	14	4,4	4	1	0	0	0	0	0	0
45	10	10	4,6	8	3	8	3,4	2	1	2	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	10	5,3	9	4,5	10	4	10	2,8	2	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	11	6,2	10	5,2	12	4,5	10	4,8	2	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
60	10	7	2,4	3	2,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	10	4	5	4,6	7	2	7	2	2	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	12	6,4	6	7,2	8	3	7	2,9	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
K	10	14	6,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	15	8,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	15	9,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

X: Uyanmış çelik sayısı(adet); Y: Ortalama Sürgün uzunluğu (cm)

KONTROL



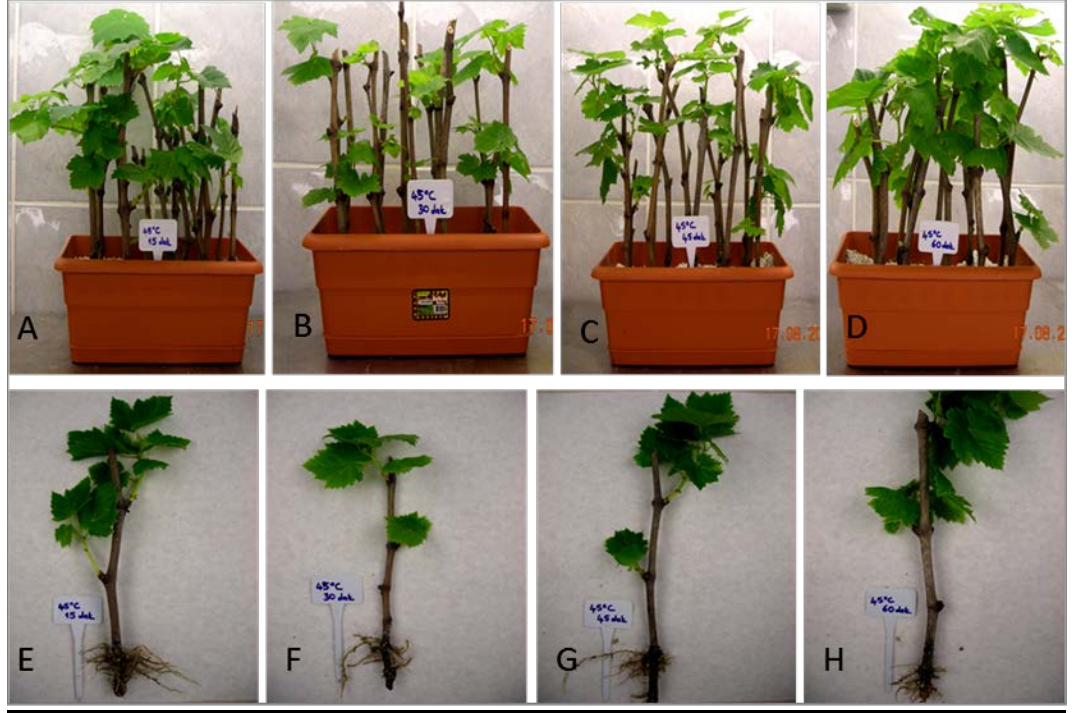
Şekil 4.19 Sıcak su uygulaması yapılmamış (kontrol) asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A) ve kök gelişimleri (B).

Çizelge 4.11 Sıcak su ile muamele edilmemiş çeliklerin denemenin 30.gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri (cm)

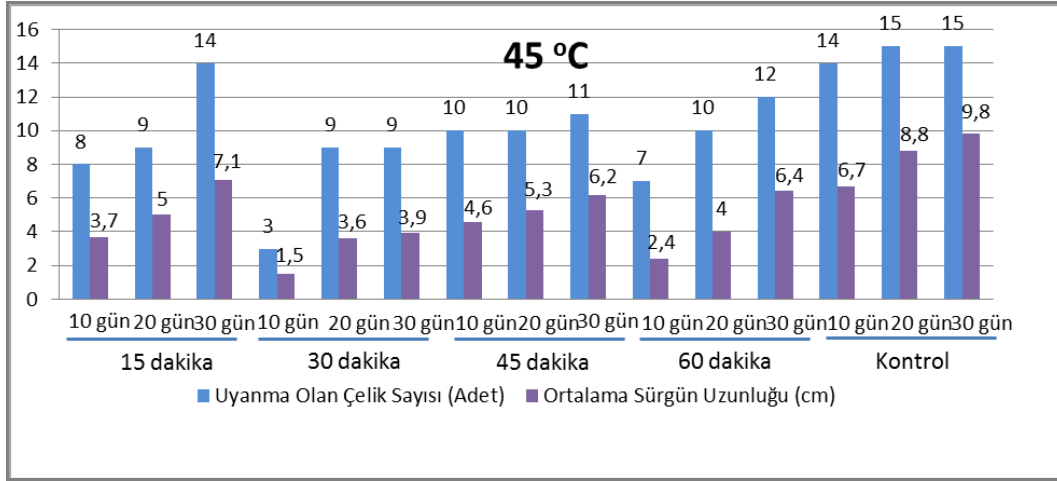
Toplam çelik sayısı	Uyanan çelik sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Kök gelişimi
15	15	9,8	+

Bu verilere göre, 10.günde sıcak su uygulanmayan toplam 15 çelikten 14'ü uyandı ve ortalama sürgün uzunluğu 6,7 cm olarak ölçüldü, bunu takiben 20. günde çeliklerin tamamı uyandı ve sürgün uzunlukları 8,8 cm, 30. günde ise 9,8 cm oldu.

45°C



Şekil 4.20 45 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H).

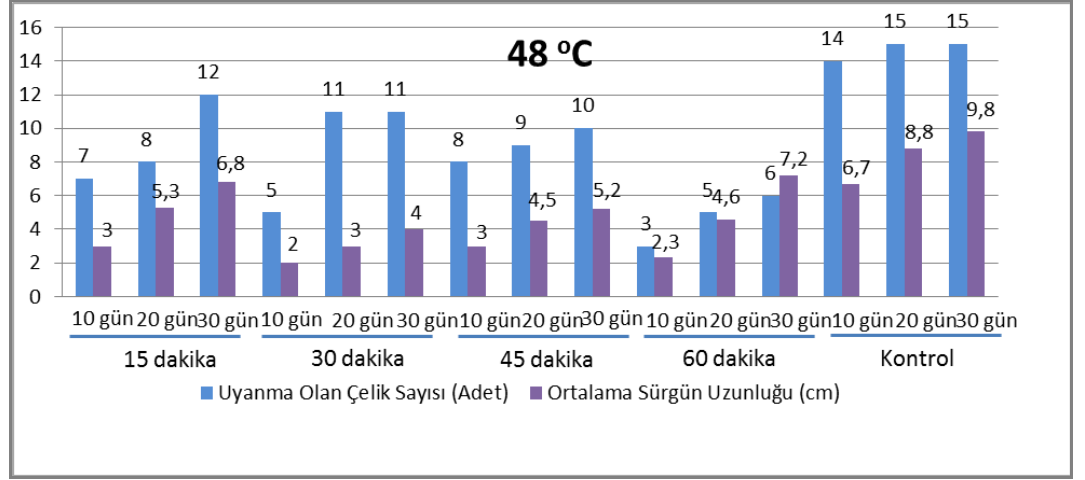


Şekil 4.21 45°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).

Çizelge 4.12 45 °C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri

Süre (dk)	Toplam çelik sayısı	Uyanan çelik sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Kök gelişimi
15	15	14	7,1	+
30	15	9	3,9	+
45	15	11	6,2	+
60	15	12	6,4	+

Bu bulgulara göre, 45 °C’de farklı sürelerde sıcak su uygulaması uyanan çelik sayısı, ortalama sürgün uzunluğu ve kök gelişimleri açısından dikkati çeken bir fark yaratmadı.

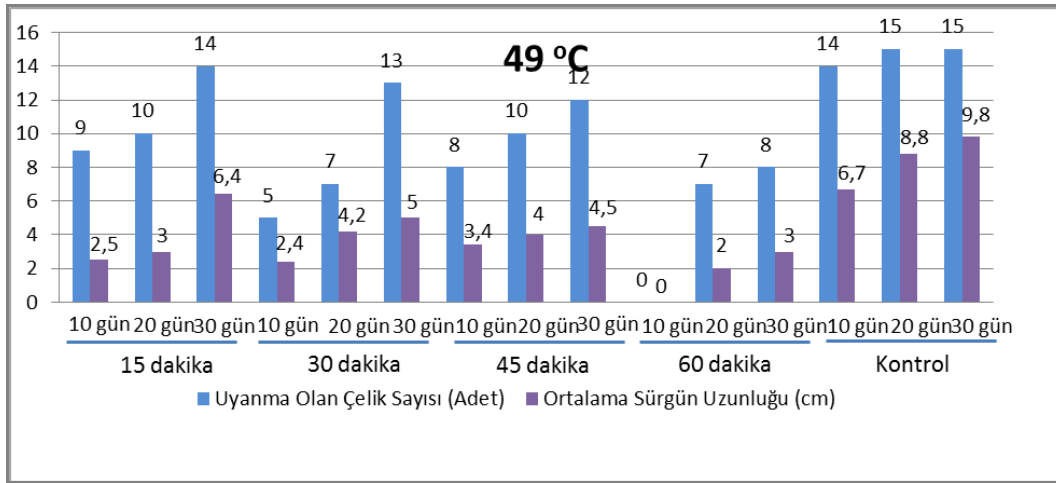
48°C

Şekil 4.22 **48°C** sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).

Çizelge 4.13 **48 °C** suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri

Süre (dk)	Toplam çelik sayısı	Uyanan çelik sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Kök gelişimi
15	15	12	6,8	+
30	15	11	4	+
45	15	10	5,2	+
60	15	6	7,2	-

Bu bulgulara göre, 48 °C’de genel olarak uygulama süresi arttıkça uyanan çelik sayısı ve ortalama sürgün uzunluğu gittikçe azaldı, 60 dk uygulamasında kök gelişimi olmadı.

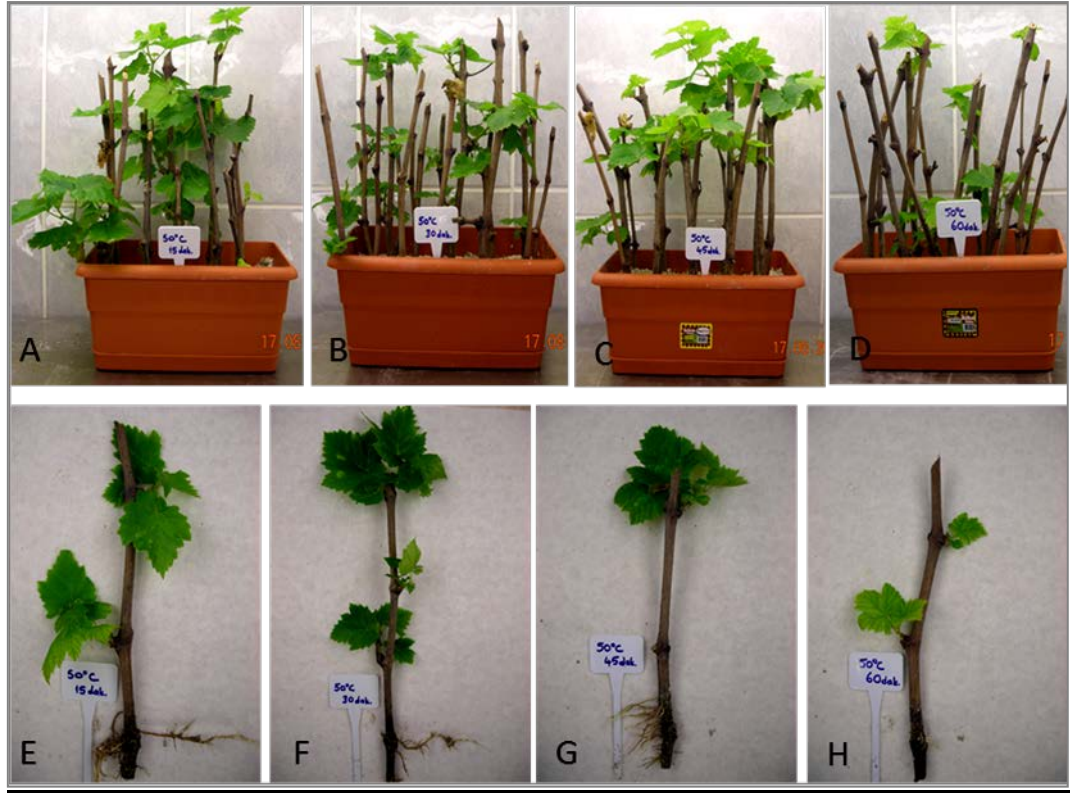
49°C

Şekil 4.23 49°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).

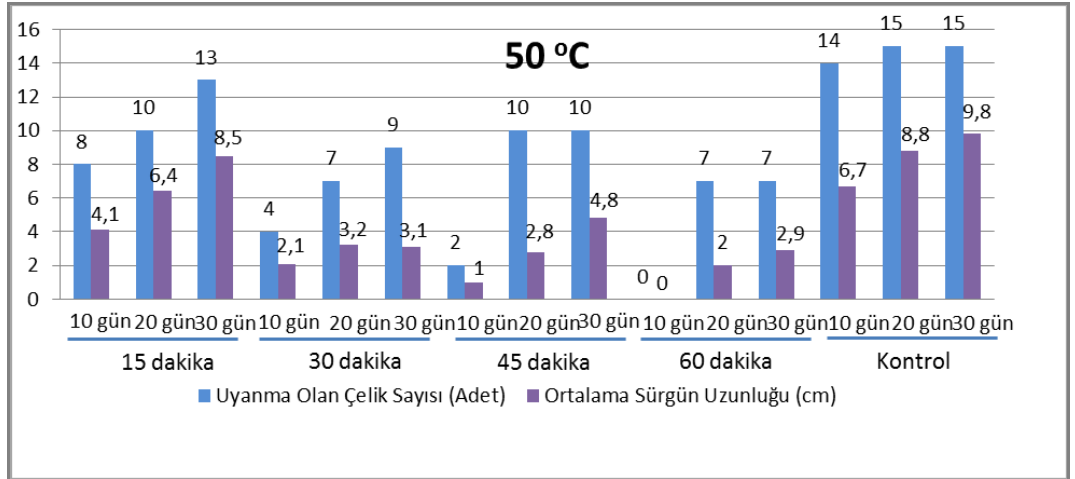
Çizelge 4.14 49 °C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri

Süre (dk)	Toplam çelik sayısı	Uyanan çelik sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Kök gelişimi
15	15	14	6,4	+
30	15	13	5	+
45	15	12	4,5	+
60	15	8	3	-

Bu bulgulara göre, 49 °C’de genel olarak uygulama süresi arttıkça uyanan çelik sayısı ve ortalama sürgün uzunluğu gittikçe azaldı, 60 dk uygulamasında kök gelişimi olmadı.

50°C

Şekil 4.24 50 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H).



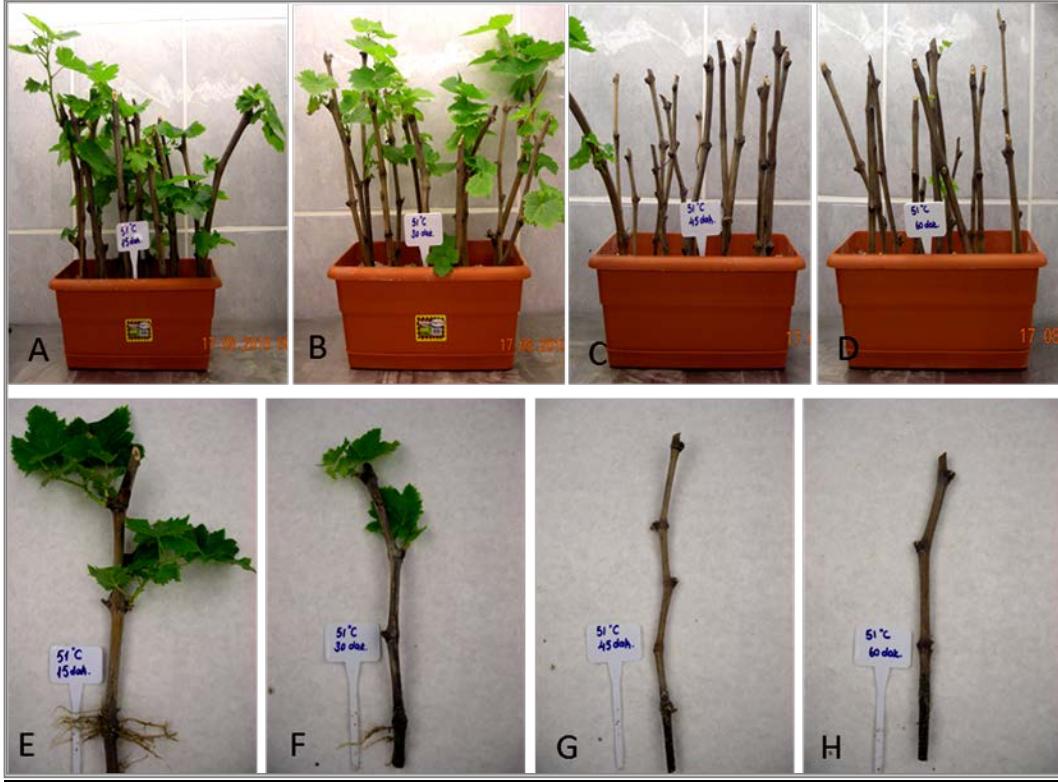
Şekil 4.25 50°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).

Çizelge 4.15 50°C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri

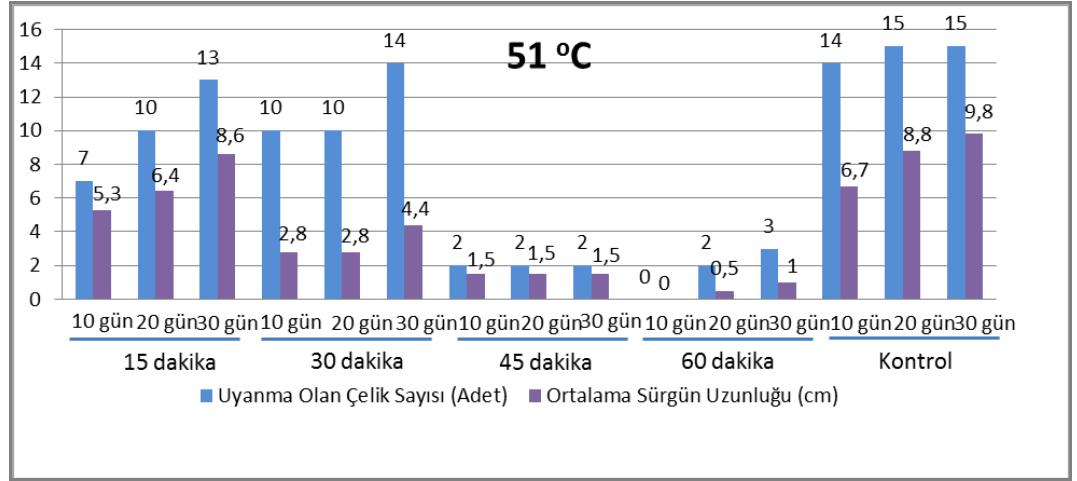
Süre (dk)	Toplam çelik sayısı	Uyanan çelik sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Kök gelişimi
15	15	13	8,5	+
30	15	9	3,1	+
45	15	10	4,8	+
60	15	7	2,9	-

Bu bulgulara göre, 50 °C’de genel olarak uygulama süresi arttıkça uyanan çelik sayısı ve ortalama sürgün uzunluğu gittikçe azaldı, 60 dk uygulamasında kök gelişimi olmadı.

51°C



Şekil 4.26 51 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H).



Şekil 4.27 51°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).

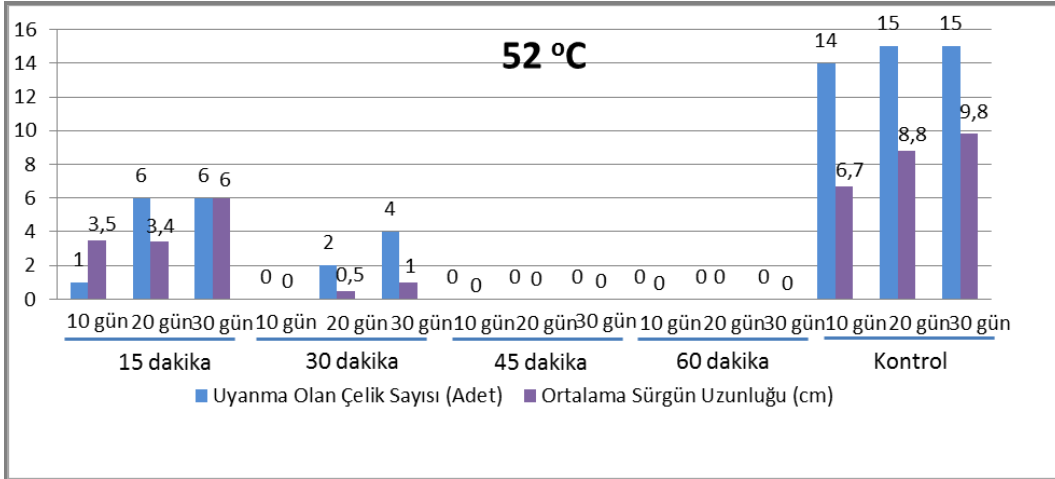
Çizelge 4.16 51°C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri

Süre (dk)	Toplam çelik sayısı	Uyanan çelik sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Kök gelişimi
15	15	13	8,6	+
30	15	14	4,4	+
45	15	2	1,5	-
60	15	3	1	-

Bu bulgulara göre, 51 °C'de 45 dk'lık süreden itibaren uyanan çelik sayısı ve ortalama sürgün uzunluğu aniden azaldı ve kök gelişimi olmadı.

52°C

Şekil 4.28 52 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H).



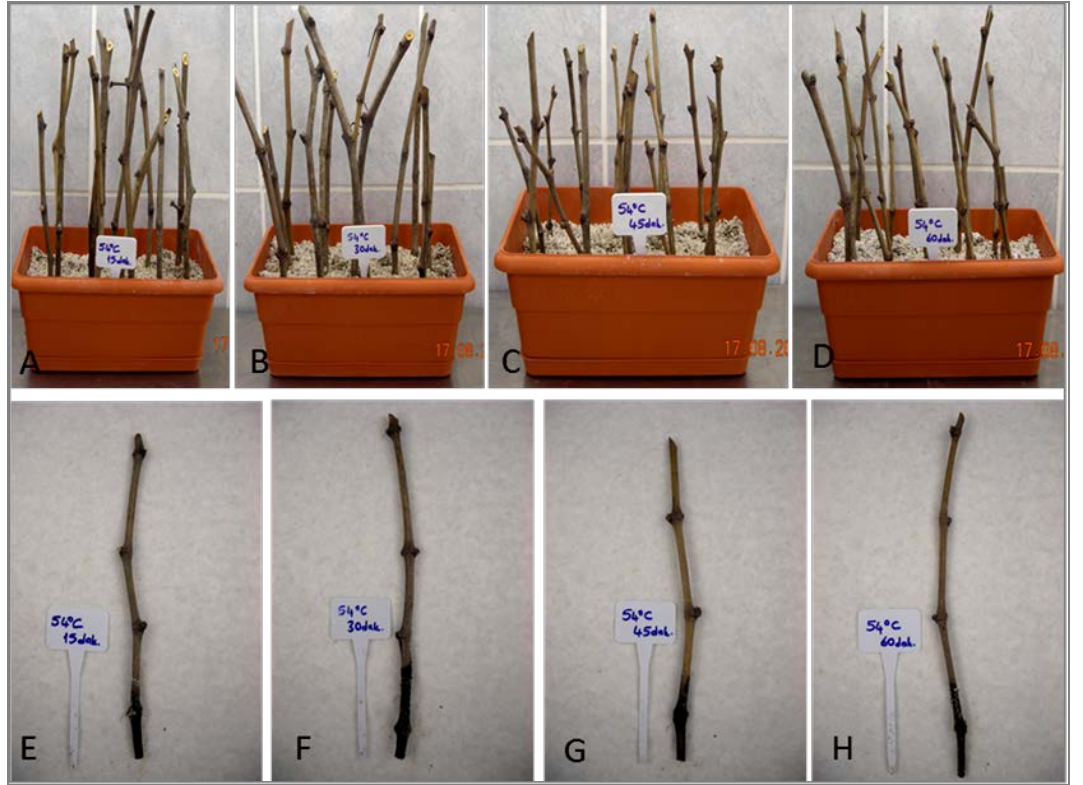
Şekil 4.29 52°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).

Çizelge 4.17 52°C suda farklı sürelerde (dk) tutulmuş asma çeliklerinin denemenin 30. gününde uyanma durumları ile sürgün ve kök gelişimleri

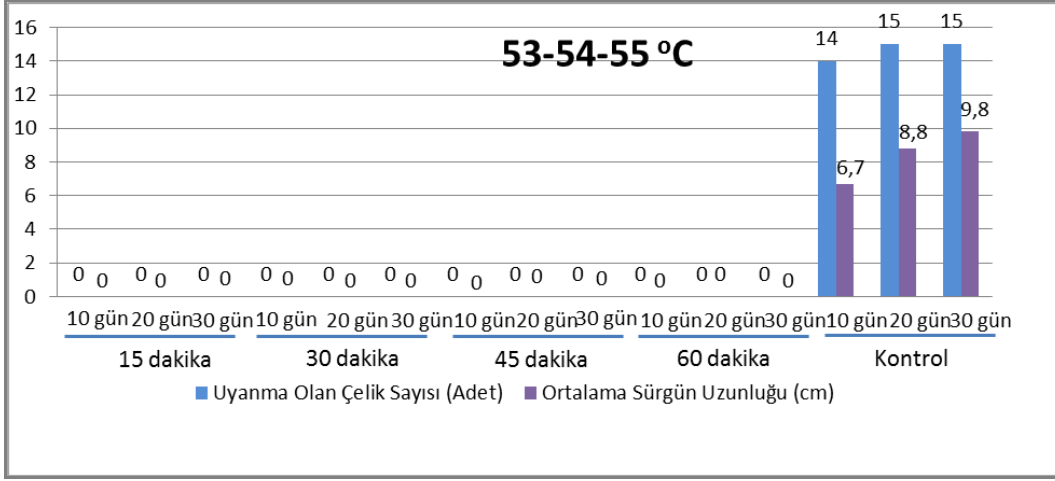
Süre (dk)	Toplam çelik sayısı	Uyanan çelik sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Kök gelişimi
15	15	6	6	-
30	15	4	1	-
45	15	0	0	-
60	15	0	0	-

Bu sonuçlara göre, 52 °C’de sıcak su uygulamasında kök gelişimi durdu, sürgün gelişimi ise azaldı ve 45 dk’dan itibaren ise hiç sürgün gelişimi olmadı. Bu veri çeliklerin 52 °C’de 45 ve 60 dk’da canlılıklarını yitirdiğini gösterdi.

53-54-55 °C



Şekil 4.30 53-54-55 °C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde (15,30,45,60 dk) tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 30 gün sonraki sürgün (A-B-C-D) ve kök gelişimleri (E-F-G-H).



Şekil 4.31 53-54-55°C sıcaklıkta su içinde farklı sürelerde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinden dikimden 10, 20 ve 30 gün sonra uyanma gösterenlerin sayıları (adet) ve sürgün uzunlukları (cm).

Denemenin daha yüksek sıcak su uygulama basamakları olan 53, 54 ve 55 °C’de tüm uygulama sürelerinde 30.gün sonunda dahi çeliklerde uyanma ve kök gelişimi olmadı. Buna göre, asma çeliklerin canlılık eşiği 52 °C’de 30 dk olarak belirlendi.

4.5.2.2. Sıcak su uygulamasının bulaşık asma çeliklerini etmenlerden arındırma üzerine etkisi

Sıcak su uygulamasının bulaşık asma çeliklerini etmenlerden arındırma üzerine etkisi Bölüm 3.2.3.2’de belirtildiği gibi dikimden 30 gün sonra 10 çelikte yapılan izolasyonlarla saptandı. Elde edilen bulgular ilgili Çizelge 4.16’da verildi.

Çizelge 4.18 Farklı sıcaklıktaki su içinde farklı sürelerde tutulmuş 10 adet bulaşık asma çeliklerinde dikimden 30 gün sonra 10 adet yapılan izolasyonlar sonucunda saptanan hastalık etmenleri (adet).

		Süre (Dakika)											
		15			30			45			60		
		Pcl*	Pm*	Pcl+Pm	Pcl	Pm	Pcl+Pm	Pcl	Pm	Pcl+Pm	Pcl	Pm	Pcl+Pm
Sıcaklık (°C)	45	4	-	3	5	-	1	3	3	-	-	5	1
	48	3	2	1	2	-	3	-	-	4	-	3	-
	49	1	-	5	1	1	3	-	-	-	-	-	-
	50	2	4	-	1	2	2	-	-	-	-	-	-
	51	2	3	2	2	3	-	-	-	-	-	-	-
	52	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontrol	Hastalıklı	2	-	5									
	Sağlıklı	-	-	-									

*Pm: *Phaeoacremonium oleophilum*, Pcl: *Phaeomoniella chlamydospora*

Bu verilere göre; sıcak su uygulaması yapılmayan toplam 10 çelikten 3 adedi temiz, 7' si ise Pm ve Pcl etmenleri ile enfekteli bulundu.

Sıcak su uygulamalarında ise, toplam 10 çelikten;

- 50°C /15 dk kombinasyonunda 6 çelik, 30 dk'da 5 çelik, 45 dk'da 4 çelik belirtilen etmenlerle enfekteli bulundu; 60 dk' da ise herhangi bir etmen izole edilmedi.
- 51°C/15 dk kombinasyonunda 7 çelik, 30 dk'da 5 çelik, 45 ve 60 dk'da ise herhangi bir etmen izole edilmedi.
- Çeliklerin canlılıklarını sürdürebildiği son sıcaklık derecesi olan 52°C'de ise, 15 dk'da 3 çelik belirtilen etmenlerle enfekteli bulunurken, 30, 45 ve 60 dakikalık uygulama sürelerinde herhangi bir etmen izole edilmedi.
- Çeliklerin canlılıklarını kaybettiği 53, 54 ve 55°C'de tüm uygulama sürelerinde herhangi bir etmen izole edilmedi.

Bu uygulamalardan geri kalan ve saksıda iklim odasında gelişmeye bırakılan 5'er çelikte sıcak su uygulamasından 1 yıl sonra yapılan değerlendirmeler ise Çizelge 4.19 ve Şekil 4.32'de verildi.

Çizelge 4.19 Farklı sıcaklıktaki su içinde farklı sürelerde tutulmuş 5 adet bulaşık asma çeliklerinde dikimden 1 yıl sonra yapılan izolasyonlar sonucunda saptanan hastalık etmenleri (adet).

		Süre (Dakika)											
		15			30			45			60		
		Pcl*	Pm*	Pcl+Pm	Pcl	Pm	Pcl+Pm	Pcl	Pm	Pcl+Pm	Pcl	Pm	Pcl+Pm
Sıcaklık (° C)	45	2	-	1	2	-	1	2	-	1	1	2	-
	48	1	-	-	1	-	1	-	2	-	-	3	-
	49	-	2	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-
	50	1	2	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-
	51	1	1	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	52	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontrol	Hastalıklı	3	-	-									
	Sağlıklı	-	-	-									

*Pm: *Phaeoacremonium oleophilum*, Pcl: *Phaeomoniella chlamydospora*

Bu verilere göre; sıcak su uygulaması yapılmayan toplam 5 çelikten 2 adedi temiz, 3' ü ise Pcl etmeni ile enfekteli bulundu.

Sıcak su uygulamalarında ise, toplam 5 çelikten;

- 50°C/15 dk kombinasyonunda 3 çelik, 30 dk' da 3 çelik, 45 ve 60 dk'da ise herhangi bir etmen izole edilmedi.
- 51°C/15 dk kombinasyonunda 3 çelik, 30 dk'da 2 çelik, 45 ve 60 dk'da ise herhangi bir etmen izole edilmedi.
- Çeliklerin canlılıklarını sürdürebildiği son sıcaklık derecesi olan 52°C'de ise, 15 dk'da 2 çelik belirtilen etmenlerle enfekteli

bulunurken, 30, 45 ve 60 dakikalık uygulama sürelerinde herhangi bir etmen izole edilmedi.

- Çeliklerin canlılıklarını kaybettiği 53, 54 ve 55°C'de tüm uygulama sürelerinde herhangi bir etmen izole edilmedi.



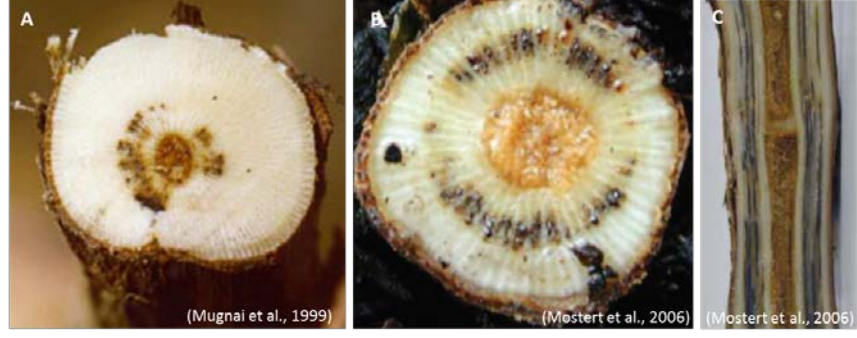
Şekil 4.32 Farklı sıcaklık ve sürelerde su içinde tutulmuş bulaşık asma çeliklerinin dikimden 1 yıl sonraki canlı kalan çeliklerin durumu (A. Kontrol, B. 45 °C, C. 48 °C, D. 50 °C, E. 51 °C, F. 52 °C).

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışması, Ege Bölgesi Manisa, Denizli ve İzmir illerindeki özel ve resmi fidanlıklar ile üretici bağlarında kompleks bir belirti tablosuna sahip Kav ve Petri hastalıklarına yol açan fungal etmenlerin varlığını klasik izolasyon ve moleküler yöntemleri kullanarak saptamak ve bu etmenlerin hastalık tablosundaki rollerini ve paylarını kesinleştirmek, Petri hastalığının yayılmasında fidanlıkların rolünü belirlemek, bu hastalıkların savaşımında sıcak su uygulamasının etmenlerin miseliyal gelişimine, bulaşık asma çeliklerinin gelişimlerine ve çelikleri bu etmenlerden arındırma üzerine etkisini saptamak amacıyla planlanmış ve yürütülmüştür.

Çalışmanın asma fidanlıkları ile genç ve yaşlı bağlarda yürütülen saha çalışmaları sırasında Esca ve Kav hastalıklarının tipik belirtileri araştırılmış ve belirtiler fotoğraflarla kaydedilmiştir. Alınan örnekler ise laboraturda kapsamlı olarak incelenmiştir.

Asma fidanlıklarından alınan bölgede en çok üretimi yapılan çeşitlere (Yuvarlak Çekirdeksiz, Alphonse Lavaillée, Superior Seedless, Merlot, Cabernet Sauvignon) ait örnekler üzerinde yapılan makroskobik gözlemlerde herhangi bir belirti gözlenmemiştir. Ancak fidanların gövdelerinden enine kesitler alındığında ksilem dokularında siyah noktacıklar ve bu noktacıkların birleşmesiyle de kahverengi- siyah çizgiler belirlenmiş, birkaç dakika içinde ise bu kısımlardan koyu amber-siyah renğinde sıvı çıkışı gözlenmiştir. Boyuna kesitlerde ise bu kısımların ksilemde boylamasına çizgi şeklinde nekrozlar şeklinde olduğu kaydedilmiştir (Bkz. Şekil 4.1). Bu belirtiler, Mugnai et al. (1999) ve Mostert et al., (2006a)'dan alınan ve Şekil 5.1'de verilen asma fidanlarındaki belirtiler ile paralellik göstermekte ve tarafımızdan yapılan belirti tarifleri de literatürle uyumluluk göstermektedir (Surico, 2001; Penn, 2001; Surico et al.,2006; White, 2010). Bu belirtiler Petri hastalığının tipik belirtileridir.



Şekil 5.1 Petri hastalığının asma fidanlarındaki enine (A-B) ve boyuna (C) kesitlerindeki belirtileri.

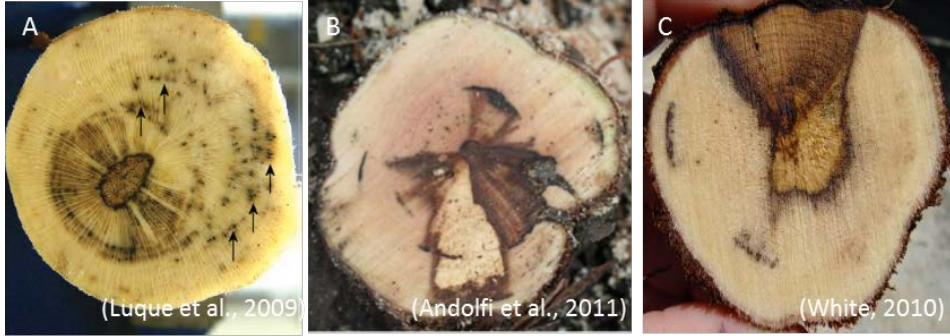
Asma fidanlarında yukarıda tarif edilen belirtileri taşıyan bu dokulardan yapılan izolasyonlar sonucunda Petri hastalığına neden olan *Phaeoacremonium oleophilum* (**Pm**) ve *Phaeomoniella chlamydospora* (**Pcl**) izole edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.1). Örnek alınan çeşitlere göre herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Söz konusu etmenlerin Ege Bölgesi' ndeki asma fidanlıklarındaki varlığı bu çalışma ile ortaya konmuş ve bu bulgu ülkemiz için ilk kayıt olmuştur. Burada ilginç olan bir diğer husus da, asma fidanlıklarından alınan örneklerde Petri hastalığı etmenleri saptanırken Kav hastalığı etmenlerinin saptanmamış olmasıdır. Diğer ülkelerde yapılan pek çok çalışmada da asma fidanlarında Petri hastalığı saptandığı ve hastalığın bölgeler arasında yayılmasında bulaşık aşı kalemi, çelik gibi üretim materyallerinin ve dolasıyla fidanların büyük rol oynadığı bildirilmektedir (Scheck et al., 1998; Stamp, 2001; Retief et al., 2006; Aroca et al., 2006; Gimenez-Jaime et al., 2006). Bu da, Petri hastalığına neden olan etmenlerin üretim materyallerinin temin edildiği 1-2 yıllık sürgünlere kadar ulaştığını, ancak Kav hastalığı etmenlerinin ana gövdede kaldığını göstermektedir.

Fidanlıklarda yapılan bu tespitlerden sonra Manisa, Denizli ve İzmir illerinde en çok yetiştiriciliği yapılan Yuvarlak Çekirdeksiz üzüm çeşidi ile kurulu genç ve yaşlı bağlarda çalışmalar devam etmiştir.

Genç bağların asmalarında yapılan örneklemelerde makroskobik gözlemler sırasında bazı asmalarda yaprak ve üzüm danelerinde hastalık belirtileri görülmüş, bu belirtilerin yaşlı bağlardaki asmalarda görülen belirtilere benzediği fark edilmiştir (Bkz, Şekil 4.5 ve 4.8). Genç asmalardan alınan gövde örneklerinin enine kesitlerinde ksilem dokularında siyah noktacıklar ve bu noktacıkların

birleşmesiyle oluşan çizgiler görülmüş, birkaç dakika içinde ise bu kısımlardan koyu amber-siyah renginde sıvı çıkışı gözlenmiştir. Boyuna kesitlerde ise bu kısımların ksilemde boylamasına çizgisel nekrozlar şeklinde devam ettiği belirlenmiştir. Anlaşılabacağı üzere, bu belirti tablosu fidanlarda gözlenen ve Petri hastalığına işaret eden belirti tablosu ile benzeşmektedir.

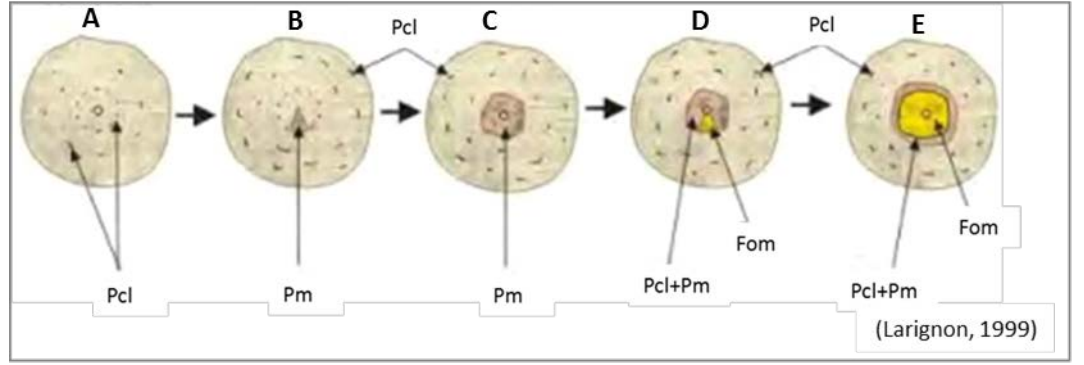
Genç asmalarda bu belirtilere ilaveten bazı örneklerin enine kesitlerinde ise öz kısmının etrafındaki ksilem dokusunda beyaz çürüklük şeklinde açık renkli, yumuşak dokulu, kavlamış bir kısım olduğu ve bu kısmın koyu renkli, sert dokulu bir kuşak ile çevrilmiş olduğu kaydedilmiştir (Bkz. Şekil 4.3). Bu belirtiler Luque et al. (2009), White (2010) ve Andolfi et al. (2011)'dan alınan ve Şekil 5.2'de verilen genç asmalardaki Petri ve Kav hastalığının belirtileri ile benzeşmekte ayrıca ve belirti tarifleri de literatürle uyumluluk göstermektedir (Morton, 1999; Larignon, 1999; Surico, 2001; Penn, 2001; Surico et al., 2006; White, 2010; Kuntzmann, 2012; Lecomte et al., 2012).



Şekil 5.2 Genç asmalarda Petri ve Kav hastalığının enine kesitlerindeki belirtileri A-B-C) (Luque et al., 2009; White, 2010; Andolfi et al., 2011).

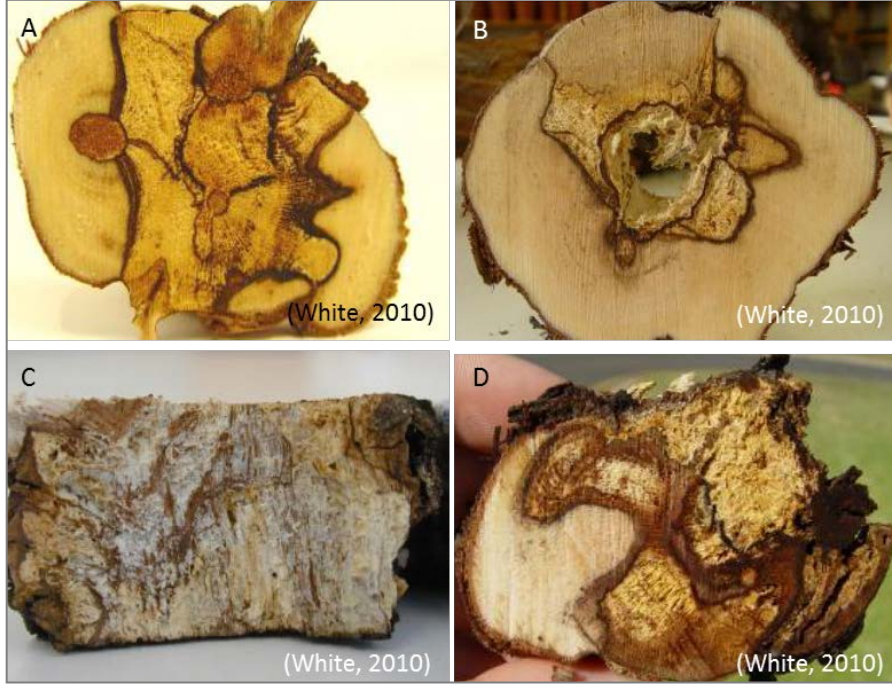
Genç asmalarda yukarıda tarif edilen belirtileri taşıyan bu dokulardan yapılan izolasyonlar sonucunda beyaz çürüklük gösteren kavlamış kısımdan ve bu kısmın etrafını çeviren koyu renkli, sert yapılı dokudan Kav hastalığına neden olan *Fomitiporia mediterranea* (**Fom**), diğer kısımlardan ise Petri hastalığına neden olan **Pm** ve **Pcl** izole edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.2). Elde edilen bulgular ve belirti tarifleri literatürle paralellik göstermektedir (Larignon, 1999; Luque et al., 2009; White, 2010).

Larignon (1999), asma gövdesinin enine kesiti olarak kabul ettiği şemada (Şekil 5.3), hastalık belirtilerini ve bu belirtilerden elde edilen etmenleri göstermiştir. Bu şemada sırasıyla asma ksilem dokusunda önce siyah noktacıklar şeklinde belirtiler ortaya çıktığı, sonra bu noktacıkların birleşmesiyle siyah çizgilerin belirdiği, bu belirtilere Pcl etmeninin neden olduğu, sonra ksilemden öz dokusuna kadar ilerleyen üçgen şeklinde koyu renkli nekrozların gözlemlendiği, bunu takiben nekrozun tamamen daire şeklini aldığı ve bu belirtilere Pm ile birlikte Pcl etmeninin de neden olduğu, daha sonraki şekillerde ise dokuda sarı renk ile gösterilmiş beyaz bir çürüklüğün meydana geldiği ve bu belirtiyeye Fom etmeninin yol açtığı gösterilmektedir.



Şekil 5.3 Asmaların gövdelerinin enine kesitindeki Petri ve Kav hastalığına neden olan etmenlerin oluşturdukları belirtiler tiplerinin şematik görüntüsü (A-B-C-D-E) (Larignon, 1999).

Yaşlı asmalardan alınan örneklerle ait makroskobik gözlemlerde yapraklarda tipik belirtiler görülürken üzüm danelerinde belirtilere nadiren rastlanmıştır. Bu asmaların gövde ve kollarından alınan enine kesitlerde öz kısmı ile birlikte ksilem dokusunda yumuşak dokulu, kavlamış, açık renkli bir beyaz çürüklük, bu kısmın çevresinde ise koyu renkli, sert dokulu bir kuşak halkası olduğu görülmüş, bu belirtiler yanında, yine ksilem dokusunda koyu renkli nekrotik alanlar saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.4). Bu belirtiler tablosu, White (2010)'dan alınan ve Şekil 5.4' de verilen yaşlı asmalardaki Petri ve Kav hastalığının belirtileri ile paralellik göstermekte ve belirtilerin tarifleri de literatürle uyumluluk içinde bulunmaktadır (Karaca, 1965; Onoğur, 1995; Mugnai et al., 1999; Morton, 1999; Larignon, 1999; Surico 2001; Penn, 2001; White, 2010).



Şekil 5.4 Yaşlı asmalarda Kav ve Petri hastalığının enine (A-B-D) ve boyuna (C) kesitlerindeki belirtiler (White, 2010).

Yaşlı asmalarda yukarıda tarif edilen belirtileri taşıyan bu dokulardan yapılan izolasyonlar sonucunda beyaz çürüklüğün olduğu kavlamış kısımdan Kav hastalığına neden olan **Fom**, bu kısmın etrafını çeviren koyu renkli, sert yapılı dokudan ise Petri hastalığına neden olan **Pm** ve **Pcl** izole edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.3). Ege Bölgesi bağlarında Erkan ve Larignon (1998) tarafından Kav hastalığı ile ilgili yapılan son çalışmada Kav hastalığının yaprak belirtilerinin görüldüğü yaşlı asmalardan **Ste**, **Ph**, **Pm** ve **Pcl** etmenleri saptanmış ve son iki etmen yapraktaki belirtilerin benzerliği nedeniyle Kav hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Ancak bu yayında Petri hastalığına değinilmemiştir.

Bu çalışmada ise, genç bağlardan alınan örneklerde ağırlıklı olarak Petri hastalığına neden olan etmenlerden **Pm** ve **Pcl** saptanırken, yaşlı bağ örneklerinde ise ağırlıklı olarak Kav hastalığı etmenlerinden **Fom** saptanmıştır. Erkan and Larignon'un (1998) yaşlı bağlarda saptadıkları **Ste** ve **Ph** etmenleri kendi çalışmamızda saptanmamıştır. **Ste** etmeninin saptanmamasının nedeni olarak bölgemizde Kav tablosunda bu etmenin önemli rolünün olmadığı akla gelmektedir. Ayrıca **Fom** etmeninin bu etmeni baskılaması da mümkün görülmektedir. **Ph** etmeninin ise bazı çalışmalarda isimlendirmesinin hatalı olduğu, bu etmenin aslında **Fom** olduğu, bazı yayınlarda ise bunun tam net olarak

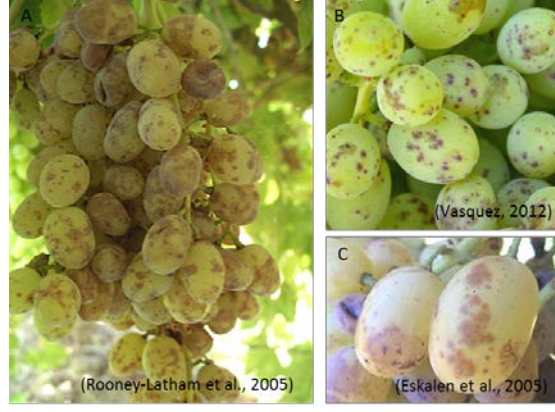
belirtilmediği görülmektedir (Fischer, 2002). Ancak son yapılan çalışmalarda, Şekil 5.2, 5.3 ve 5.4'deki belirtileri taşıyan genç ve yaşlı asmalarda **Fom**, **Pm** ve **Pcl** etmenlerine yer verilmektedir (Surico, 2000; Surico 2009; White, 2010). Bu yayınlarda **Ph** etmeninin adının geçmediği dikkati çekmektedir.

İncelediğimiz bağlarda Kav ve Petri hastalıklarının belirti tablosu yaprak damar aralarında önce klorotik açılmalar, daha sonra bu lekelerin birleşerek sarımsı kahverengi veya kırmızı kahverengi renklerde nekroze olmaları ve daha sonra yaprakların su kaybı sonucu kurumaları şeklinde ortaya çıkmaktadır (Bkz. Şekil 4.5). Bu belirtiler White (2010)'dan alınan ve Şekil 5.5'de görülen yaşlı asmalardaki Petri ve Kav hastalığının yaprak belirtileri ile paralellik göstermekte ve belirtilerin tarifleri de literatür kayıtlarına uymaktadır (Karaca, 1967; Onoğur, 1995; Mugnai et al., 1999; Morton, 1999; Larignon, 1999; Surico et al., 2006; White, 2010).



Şekil 5.5 Genç ve yaşlı asmalarda Kav ve Petri hastalığının yaprak belirtileri (A-B-C) (White, 2010).

İncelediğimiz bağlardaki hasta asmaların salkımlarındaki üzüm danelerinin yüzeyinde koyu mor, nokta şeklinde lekeler görülmüş ve bu lekelerin salkımın tüm tanelerini kaplayabildiği kaydedilmiştir (Bkz. Şekil 4.8). Bu tablodaki belirtiler, Rooney-Latham et al. (2005). Eskalen et al. (2005) ve Vasquez'den (2012) alınan ve Şekil 5.6'da verilen Petri ve Kav hastalığının üzüm danelerindeki belirtileri ile paralellik göstermekte ve belirtilerin tarifleri de literatüre uymaktadır (Karaca, 1967; Mugnai et al., 1999; Rooney-Latham et al., 2005; Eskalen et al., 2005; Vasquez, 2012; White, 2010).



Şekil 5.6 Genç ve yaşlı asmalarda Kav ve Petri hastalığının üzüm danelerindeki belirtileri (Rooney-Latham et al., 2005; Eskalen et al., 2005; Vasquez, 2012).

Görüldüğü gibi bu iki hastalığın yapraktaki ve üzüm danelerindeki belirtileri benzemekte, ancak odun dokusunda beyaz çürüklük şeklinde kavlama ve kahverengi çizgi olmak üzere farklı 2 belirti tipi ortaya çıkmaktadır. Bu belirti benzerliği ve etmenlerin bir arada olması nedeniyle, araştırmacılar arasında Esca “bir hastalık kompleksi mi?”, yoksa “hastalıkların kompleksi mi?” diye iki teori üzerinde farklı görüşler ortaya konmuştur. İlk başlarda, birkaç fungal etmenin neden olduğu ve diğer faktörlerin de bir arada olabildiği bir hastalık kompleksi olarak düşünülmüş, ancak daha sonraki çalışmalarla en az iki hastalığın kompleksi olduğu kabul edilmiştir. Böylece “Esca” Kav ve Petri hastalığının bir arada olabildiği bir hastalık kompleksi olarak kabul edilmiştir (Larignon and Dubos, 1997; Graniti et al., 2000; Surico, 2001; Surico 2009; White, 2010). Bu nedenle “Esca”, Kav ve Petri hastalıklarının birlikte anıldığı bir hastalık olarak literatürde yer almaktadır.

Kav ve Petri hastalıklarına neden olan fungal etmenlerin tanısı morfolojik olarak yapılabilmektedir. Ancak, türler arasındaki benzerliklerden dolayı ve daha kısa sürede kesin olarak tanılanabilmeleri amacıyla son yıllarda moleküler yöntemler ağırlık kazanmaktadır.

Bu çalışmada etmenlerin tanısını kıyaslama amacıyla hem morfolojik hem de moleküler yöntemlerle yapılmıştır. **Fom**, **Pm** ve **Pcl** etmenlerinin makroskobik ve mikroskobik özelliklerine göre tanısı, Kaliforniya Üniversitesi’nden Dr. Akif Eskalen ve Dr. Jose Ramon Urbez-Torres tarafından gönderilen tanılanmış referans izolatlar yardımıyla ve literatürle karşılaştırılarak yapılmıştır.

Pcl'nin makroskopik özellikleri; koloniler ortama yapışık, seyrek şekilde havai hifler, koyu zeytin yeşili renkte, yavaş gelişir. Mikroskopik özellikleri ise hifleri bölmeli ve dallı, yeşil renkte, 2.0-5.0 μm genişliğindedir. Konidileri elips dikdörtgen şeklinde, kenarları oval ve 1.5-5.0 x 1.0-2.0 μm boyutlarında, renksiz, klamidospore nadiren oluşur (Bkz. Şekil 4.9) (Crous and Gams, 2000; Fischer and Kassemeyer, 2003). Bu çalışmada ise makroskopik özellikler aynı olmakla birlikte konidilerin boyutları 2.5-5.0 x 1.5-2.0 μm saptanmıştır.

Pm'un makroskopik özellikleri; koloniler ortama yapışık, hifler havai, grimsi-kahverengi renkte, yavaş gelişir. Mikroskopik özellikleri ise hifleri bölmeli ve dallı, açık kahverengi renkte, 1.5-4.0 μm genişliğindedir. Konidiler; elips dikdörtgen şeklinde, kenarları oval ve 3.0-6.0 x 1.5-2.5 μm boyutlarında, renksiz, klamidospore yoktur (Bkz. Şekil 4.8) (Mostert et al, 2006b; Fischer and Kassemeyer, 2003). Bu çalışmada ise makroskopik özellikler aynı olmakla birlikte konidilerin boyutları 3.0-5.5 x 1.5-2.0 μm saptanmıştır.

Fom'nin makroskopik özellikleri; koloniler pamuksu, hifleri havai, turuncu-kahverengi renkte, yukarıda belirtilen etmenlere göre daha hızlı gelişir. Mikroskopik özellikleri ise hifler; bölmeli ve dallı, turuncu-kahverengi renkte, 1.5-5.5 μm genişliğindedir, konidi yoktur (Bkz. Şekil 4.10) (Fischer, 2002; Fischer and Kassemeyer, 2003). Bu çalışmada ise makroskopik özellikler aynı olmakla birlikte hiflerin genişliği 1.6- 4 μm saptanmıştır.

Bu etmenlerin moleküler tanısı ise ITS primerleri kullanılarak PCR yöntemi ile yapılmıştır. **Pm**'un moleküler tanısında Dupont et al. (2002)'a göre ITS4-ITS5 primerleri ile PCR yapılmış ve 610bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. **Pcl**'nin moleküler tanısında Retief et al. (2005) ve Groenewald et al. (2000a)'a göre Pcl1-Pcl2 primerleri ile PCR yapılmış ve 325 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. **Fom**'nin tanısında ise Pilotti et al. (2005)'a göre ITS4-ITS5 primerleri ile PCR yapılmış ve 740 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar referans alınan literatürde elde edilen bant uzunlukları ile benzerlik göstermiştir.

Tez çalışmamızda elde ettiğimiz Petri ve Kav hastalığı etmenlerinin (Çizelge 5.1) ne zaman ve hangi sırayla asmaya yerleştikleri, gerek elde ettiğimiz

bulgular ve gerekse Surico (2001)'nın verdiği şemanın tarafımızdan modifiye edilmiş şekli yardımıyla Şekil 5.7'de açıklanmaya çalışılmıştır.

Çizelge 5.1 Asma fidanı ile genç ve yaşlı asmalarda saptanan fungal etmenler.

Fungal Etmenler	Asma Fidanı	Genç Asma	Yaşlı Asma	Üretim Materyali
<i>Phaeomoniella chlamydospora (Pcl)</i>	x	x	x	x
<i>Phaeoacremonium oleophilum (Pm)</i>	x	x	x	x
<i>Fomitiporia mediterranea (Fom)</i>	-	x	x	-
<i>Fomitiporia punctata (Fop)</i>	-	-	-	-
<i>Phellinus igniarius (Ph)</i>	-	-	-	-
<i>Stereum hirsutum (Ste)</i>	-	-	-	-

Bu verilere göre;

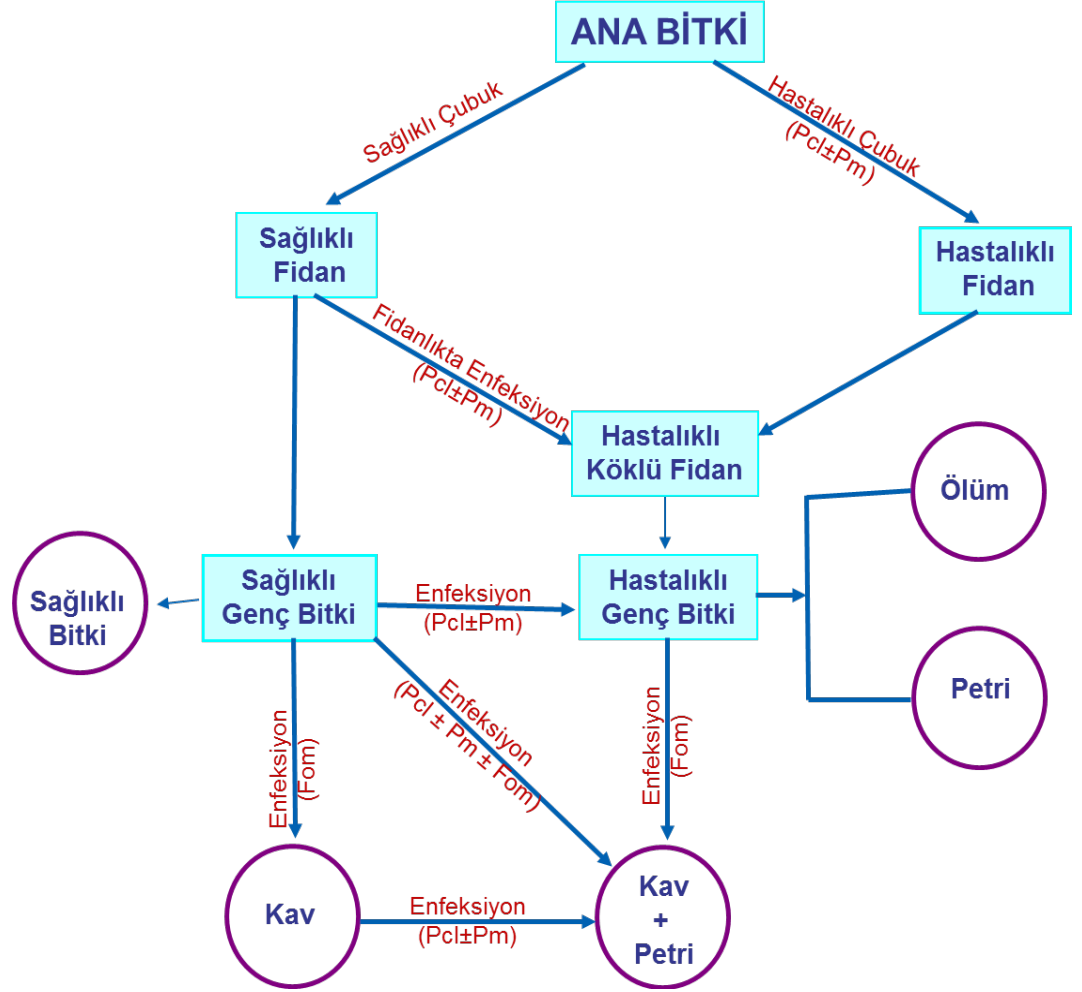
a. Petri hastalığı ana bitkiden alınan üretim materyali ile gelebilir. Sonuçta bağda gelişen fidan ve genç bitki hastalıklıdır. Bu bitki ya ölür ya da sadece Petri hastalığını taşıyarak ömrüne devam eder. Ancak bu arada Kav hastalığı da tabloya (Petri hastalığına) iştirak edebilir ve bitki iki hastalığı birlikte taşır.

b. Ana bitkiden alınan üretim materyali sağlıklıdır, ancak fidanlıkta Petri hastalığı ile karşılaşır. Bu fidan bağa dikildiğinde genç bitkide hastalık devam eder. Bu bitki ya ölür ya da sadece Petri hastalığını taşıyarak ömrüne devam eder. Ancak bu arada Kav hastalığı da tabloya (Petri hastalığına) iştirak edebilir ve bitki iki hastalığı birlikte taşır.

c. Ana bitkiden alınan üretim materyali sağlıklıdır, bundan üretilen fidan da sağlıklıdır, Ancak bağa dikilen fidan bağda Petri hastalığı ile karşılaşır. Bu bitki ya ölür ya da sadece Petri hastalığını taşıyarak ömrüne devam eder. Ancak bu arada Kav hastalığı da tabloya (Petri hastalığına) iştirak edebilir ve bitki iki hastalığı birlikte taşır.

d. Ana bitkiden alınan üretim materyali sağlıklıdır, bundan üretilen fidan ve bağdaki genç bitki de sağlıklıdır. Bu bitki ya sağlıklı olarak ömrüne devam eder ya da sonraki dönemde sadece Kav veya sadece Petri hastalığı ile karşılaşır ya da her ikisine de yakalanır.

Sonuç olarak; asma fidanlarında Petri hastalığı, genç asmalarda ağırlıklı olarak Petri hastalığı görülür, ancak Kav hastalığı da sonradan iştirak edebilir. Yaşlı asmalarda ise ağırlıklı olarak Kav hastalığı görülür ancak Petri hastalığı da sonradan budama yaralarından giriş yaparak tabloya iştirak edebilir. Sonuçta bu asmadaki hastalık toptan ESCA olarak adlandırılır, böylelikle ESCA iki hastalığın bir arada olduğu bir hastalık kompleksi olarak kabul edilir.



Şekil 5.7 Kav ve Petri hastalığına neden olan etmenlerin asmaya yerleştikleri sıra ve zamanı (Surico, 2001).

Kav hastalığının mücadelesi epidemiyolojisi tam bilinmediğinden zordur. Geçmişte hastalık geleneksel ve ilkel yöntemlerle önlenmeye çalışılmıştır (Rumbos and Rumbou, 2001). Kav hastalığının kimyasal mücadelesinde ise sodyum arseniyat tek etkili kimyasal olarak kullanılmıştır. Ancak bu kimyasalın kanserojenik ve toksik olduğu saptanarak 2001 yılında yasaklanmıştır. Günümüzde hastalığın etkili bir kimyasal mücadelesi yoktur. Bu nedenle kültürel

önlemler hastalıkla mücadelede öne çıkmaktadır (Mugnai et al., 1999; White, 2010).

Petri hastalığının mücadelesinde temel amaç fidanlık tesisinde ve fidan üretiminde işe temiz, sağlıklı anaç ve kalemle başlamaktır. Bu nedenle hastalıktan ari, temiz üretim materyali eldesine ilişkin yöntemler üzerinde çalışmalar yoğunlaşmaktadır. Bu çalışmalar arasında üretim materyaline sıcak su uygulaması, kimyasal ve biyolojik fungusit uygulamaları yer almaktadır (Edwards et al., 2000; Crous et al., 2001; Fourie and Halleen, 2006; Gramaje et al., 2010). Bu çalışmalar dışında; Petri hastalığı etmenlerinin sporlarının yara yerlerinden giriş yaparak enfeksiyona neden olması gerçeğinden hareketle (Mutawila et al., 2011a; 2011b), yara yerlerini korumak amacıyla alternatif maddeler, kimyasal ve biyolojik fungusitlerle de denemeler yapılmıştır. Bu mücadele yöntemleri dışında özellikle kültürel önlemlerin titizlikle uygulanmasına da yer verilmektedir (Mugnai et al., 1999; Surico et al., 2000).

Bu çalışmada sıcak su uygulamasının gerek fidanlarda ve gerekse genç ve yaşlı bağlarda varlıklarını saptadığımız *Phaeoacremonium oleophilum* (**Pm**) *Phaeomoniella chlamydospora* (**Pcl**) ve *Fomitiporia mediterranea* (**Fom**)'nın in vitro miseliyal gelişimine etkisi ile bu uygulamanın bulaşık asma çeliklerinin canlılıklarına ve çelikleri etmenlerden arındırma üzerine etkisi araştırılmıştır.

Elde ettiğimiz bulgulara göre, her üç etmenin de artan su sıcaklıklarında zamana karşı gelişimi gittikçe azalmakta, ancak **Pcl** etmeni 53 °C', 15 dakika sürede dahi kontrole göre yaklaşık % 20 oranında bir gelişme gösterebilmektedir. Bunu izleyen 30 dk./ 50, 51, 52 ve 53°C'deki uygulama basamaklarında bu etmenin gelişimi sırasıyla yaklaşık %49; %68, %75 ve %88 oranında etkilenmekte, daha yukarı kombinasyonlarda ise gelişme tamamen durmaktadır (Bkz. Çizelge 4.7). Gramaje et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada da **Pcl** etmeninin 53 °C sıcaklığı tolere edebildiği bildirilmektedir.

Pm etmeni 54-55 °C'de 15 dk sürede dahi kontrole göre yaklaşık % 60 oranında bir gelişme gösterebilmektedir. Bunu izleyen 30 dk/ 50, 51, 52, 53 ve 54°C'deki uygulama basamaklarında bu etmenin gelişimi sırasıyla yaklaşık %20,

%26, %32, %40, %59 oranında etkilenmekte, daha yukarı kombinasyonlarda ise gelişme tamamen durmaktadır (Bkz. Çizelge 4.8). Gramaje et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada da **Pm** 54 °C’ de 60 dk uygulamasında miseliyal gelişimleri tamamen engellediği bildirilmektedir.

Fom etmeni ise 52 °C’, 15 dakika sürede dahi kontrole göre yaklaşık % 17 oranında bir gelişme gösterebilmektedir. Bunu izleyen 30 dk/ 50, 51 ve 52 °C’deki uygulama basamaklarında bu etmenin gelişimi sırasıyla yaklaşık %52, %66 ve %91 oranında etkilenmekte, daha yukarı kombinasyonlarda ise gelişme tamamen durmaktadır (Bkz. Çizelge 4.9). Bu etmen ile ilgili bu konuda herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu sonuçlara göre, etmenlerin in vitro gelişmeleri belirli sıcaklık/süre kombinasyonlarından itibaren tamamen durmaktadır. Genel olarak bakıldığında etmenlerin gelişmesi 30-60 dk / 53-54 °C aralığında (bandında) durmaktadır. Elde edilen eşikler literatürle uyum içindedir. Ancak anılan eşiklerde gelişmesi duran etmenlerin tekrar besi ortamına alınıp optimal koşullarda gelişmeye terk edilmeleri halinde nasıl davranacakları çalışmamızda incelenmemiştir.

Dormant asma çeliklerinin gelişmeleri sıcak su/süre kombinasyonlarında incelendiğinde; 45 °C’de farklı sürelerde sıcak su uygulaması kontrole göre uyanan çelik sayısı, ortalama sürgün uzunluğu ve kök gelişimleri açısından dikkati çeken bir fark yaratmazken, belirli bir eşikten sonra kök ve sürgün gelişimlerinin yavaşladığı, daha üst seviyelerde ise gözlerin canlılığını yitirdiği ve kök gelişiminin zayıfladığı görülmüştür. Çeliklerde 52°C/30 dk kombinasyonunda çeliklerde az da olsa çeliklerde uyanma görülürken kök gelişimi olmamıştır, bu derecenin daha uzun süreleri olan 45 ve 60 dk’da çelikler canlılıklarını yitirmeye başlamakta, 53, 54, 55 °C/ 15, 30, 45, 60 dk süre kombinasyonlarında ise 30.gün sonunda dahi artık hiçbir gelişme göstermemektedirler (Bkz. Bölüm 4.5.2). Böylelikle, asma çeliklerinin canlılık eşiği 52 °C’de 30 dk olarak belirlenmiş olmaktadır.

Bu iki testten sonra, sıcak su/süre kombinasyonları etmenlerle bulaşık olduğu bilinen dormant çelikler üzerinde de uygulanmış ve böylelikle çelikleri

etmenlerden tamamen arındırabilecek veya en azından birisini bertaraf edebilecek uygun bir kombinasyon eldesi amaçlanmıştır. Kontrole göre sıcak su uygulaması yapılan çeliklerde etmenlerin bulunma oranı daha düşük olmuştur (Bkz. Çizelge 4.18 ve 4.19).

Sıcak su uygulaması yapılan ve yapılmayan 10'ar adet bulaşık asma çeliğinden dikimden 30 gün sonra izolasyonlar gerçekleştirilmiş ve uygulama yapılmamış toplam 10 çelikten 3 adedi temiz, 7'si ise **Pm** ve **Pcl** etmenleri ile enfekteli bulunmuştur. Sıcak su basamaklarından 50 ve 51 °C'de; 15 dk sürede sırasıyla 6 ve 7 çelik; 30 dk sürede sırasıyla 5'er çelik; 45 ve 60 dk' da ise herhangi bir etmen izole edilmemiştir. Bu sıcaklığın bir üst basamağında, 52 °C'de; 15 dk sürede 3 çelik belirtilen etmenlerle (**Pm** ve **Pcl**) enfekteli bulunurken, 30, 45 ve 60 dakikalık uygulama sürelerinde herhangi bir etmen izole edilmemiştir. Çeliklerin canlılıklarını kaybettiği 53, 54 ve 55°C'de tüm uygulama sürelerinde ise herhangi bir etmen izole edilmemiştir. Görüldüğü gibi; kontrole göre sıcak su uygulaması yapılan çeliklerde 30 gün sonunda yapılan izolasyon sonuçlarına göre etmenlerin bulunma oranı en düşük olan 50°C'de 45 dk, 51°C'de 45 dk ve 52 °C'de 15dk kombinasyonlarının uygulandığı çeliklerin dikimden sonraki gelişimlerinde problemler olmuştur. 50-51 °C/ 30 dk kombinasyonlarında ise **Pcl** %58, **Pm** in ise %43 oranında arındırıldığı görülmektedir. Buna göre; uyanan çelik sayısı, ortalama sürgün uzunluğu ve kök gelişimleri ile birlikte hastalık etmenlerinden arındırma oranlarına bakıldığında 50-51 °C/ 30 dk uygulamaları en uygun sıcaklık/süre kombinasyonudur.

Sıcak su uygulaması yapılan ve yapılmayan 5'er adet bulaşık asma çeliği iklim odası koşullarında 1 yıl süreyle saksılarda gelişmeye bırakılıp bu sürenin sonunda izolasyona tabi tutulduklarında, kontrolde toplam 5 çelikten 2 adedi temiz, 3'ü ise **Pcl** etmeni ile enfekteli bulunmuştur. Sıcak su basamaklarından 50 ve 51 °C'de; 15 dk sürede sırasıyla 3'er; 30 dk sürede sırasıyla 3 ve 2 çelik **Pm** ve **Pcl** etmenleri ile bulaşık bulunurken 45 dk ve 60 dk sürelerde ise herhangi bir etmen izole edilmemiştir. Bir üst sıcaklık basamağı olan 52 °C'de ise; 15 dk sürede 2 çelik belirtilen Pm etmeni ile enfekteli bulunurken, 30, 45 ve 60 dakikalık uygulama sürelerinde herhangi bir etmen izole edilmemiştir. Çeliklerin canlılıklarını kaybettiği 53, 54 ve 55°C'de, tüm uygulama sürelerinde ise herhangi

bir etmen izole edilmemiştir. Görüldüğü gibi; dormant asma çeliklerine sıcak su/süre kombinasyonlarının uygulaması sonunda dikimi yapılan bu çeliklerin 30 gün ve 1 yıl sonunda yapılan izolasyon sonuçları arasında paralellik söz konusudur. 50-51 °C/ 30dk kombinasyonlarında ise **Pcl** %66, **Pm**'un ise %33 oranında arındırıldığı görülmektedir. Buna göre; uyanan çelik sayısı, ortalama sürgün uzunluğu ve kök gelişimleri ile birlikte hastalık etmenlerinden arındırma oranlarına bakıldığında 50-51 °C/ 30 dk uygulamaları en uygun sıcaklık/süre kombinasyonudur.

Edwards et al. (2000) tarafından yapılan çalışmada 50°C/30dk sıcak su uygulamasının floksera, Asma Kök Uru ve Phytoplasma hastalıklarına karşı etkili olduğu düşüncesine dayanılarak, bu uygulamanın **Pcl** ve **Pm** patojenleri için de etkililiği araştırılmıştır. Söz konusu kombinasyon, dormant haldeki çeliklerdeki **Pcl**'nin kontrolünde etkili bulunmuş ve bu yöntem ile genç bağlarda Petri hastalığının gelişimi engellenmiştir.

Crous et al. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada ise, dormant asma çeliklerine 50°C/30dk kombinasyonunda sıcak su uygulanmış ve arkasından dikimleri yapılmıştır. Bu çeliklerden 6 ay sonra laboratuvar da izolasyon yapılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, bu kombinasyonun *Acremonium* sp., *Botryosphaeria* sp., *Cylindrocarpus* sp. ve *Phaeomoniella* sp. gibi fungal etmenleri önemli oranda etkilemediğini ortaya çıkarmıştır. Sonuç olarak, sıcak su uygulamasının tek başına etkisinin düşük olduğu, bu nedenle bu yöntemin biyolojik preparatlarla kombine edilerek uygulanması önerilmiştir.

Rooney-Latham and Gubler (2001b) tarafından Kaliforniya'da yapılan bir diğer çalışmada, 51°C/30 dk sıcak su uygulamasının dormant asma çelikleri üzerine etkisi saptanmıştır. Bu çalışmada dormant dönemde alınan çeliklere önce **Pcl** ve **Pm** inokule edilmiş, daha sonra sıcak su uygulanmıştır. Bu uygulamadan sonra yapılan izolasyonlarda 51°C'de 30dk sıcak su uygulamasının dormant çeliklerdeki **Pcl** ve **Pm**' u elemine edemediği ortaya konmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ege Bölgesi Manisa, Denizli ve İzmir illerindeki özel ve resmi fidanlıklar ile üretici bağlarında 2009-2012 yılları arasında yürütülen bu tez projesinde; fidanlıklarda Petri hastalığına neden olan *Phaeoacremonium oleophilum* (**Pm**) ve *Phaeomoniella chlamydospora* (**Pcl**) etmenleri saptanmıştır. Seçilen bağlardaki genç asmalarda ağırlıklı olarak Petri hastalığının etmenleri (**Pcl** ve **Pm**) izole edilirke, ek olarak belirti tablosuna Kav hastalığı etmenlerinden *Fomitiporia mediterranea* (**Fom**)'nın da katıldığı belirlenmiştir. Yaşlı asmalarda ise ağırlıklı olarak Kav hastalığı etmeni (**Fom**) ve ilave olarak Petri hastalığının etmenleri (**Pcl** ve **Pm**) saptanmıştır. Elde edilen fungal bulgular gerek morfolojik ve gerekse moleküler teknikler yardımıyla kesinleştirilmiş, ayrıca belirti tabloları da teze konarak hastalıkların görsel tanısına yardımcı olunmak istenmiştir. Bu bulgular Türkiye için ilk kayıt olma özelliğini taşımaktadır.

Tezde bu hastalıkların savaşımında sıcak su uygulamasının etmenlerin in vitro miseliyal gelişimine, bulaşık asma çeliklerinin canlılıklarına ve çelikleri etmenlerden arındırma üzerine etkisi de araştırılmıştır. Bu uygulama sonucu dormant çeliklerde etmenlerin bulunma oranı pozitif kontrole göre daha düşük olmuş, ancak etkili bulunan sıcaklık/süre kombinasyonlarında çeliklerin gelişmesi olumsuz olarak etkilenmiştir. Bu sonuç, sıcak su uygulamasının tek başına dormant, dikime hazır asma çeliklerinden etmenlerin elemine edilmesinde etkili olamayacağına, bu uygulamanın özellikle fungusit kullanımı ile desteklenmesi gerektiğine işaret etmektedir. Ümitvar olarak bulunan 50-51°C/ 30dk sıcaklık/süre kombinasyonu ile fungusitler kombine edilerek çalışmalar yapılmalıdır.

Elde edilen bu sonuçlara göre önerilerimiz aşağıda özetlenmiştir:

- Ege Bölgesinde daha çok yaşlı asmalarda sorun olduğu bilinen Kav hastalığının genç asmalarda yaygınlaşmasının nedeninin Petri hastalığı olduğu ortaya çıkmıştır. Genç asmaların gövdelerine de yerleşebilen Kav hastalığı çok yavaş ilerlediği için belirtileri ancak asma yaşlanınca ortaya çıkmaktadır. Genç asmaların yaprak ve üzüm danelerinde Kav hastalığının oluşturduğu belirtilere Petri hastalığı da yol açmaktadır. Gerek bu belirtiler ve gerekse odun dokusundaki

belirtilerin benzerliği veya kompleks görünümleri Petri hastalığının varlığını gizlemiş, Kav hastalığı ile ilişkilendirilmiş, hatta Kav hastalığı olarak anılmıştır. Türkiye’de Petri hastalığı henüz kayda geçmemiştir. Bu nedenle teknik elemanlara ve üreticilere Petri hastalığı ile ilgili eğitim verilmesi yararlı olacaktır.

- Bir diğ er husus da dünyada ve Türkiye’de “Esca” adının Kav hastalığı yerine kullanılmasıdır. Bu adın hem Petri ve hem de Kav hastalığına iş aret etmesi, literetürde yaygın olarak böyle anılması yararlı olacaktır.

- Fidanlıkların Petri hastalığı etmenleri ile bulaş ık olması bu hastalığın yayılmasının nedenini ortaya koymuştur. Fidanların bulaş ık olması aş ı kalemi, ç elik gibi üretim materyallerinin de bulaş ık olduğunu ve yayılmada büyük rol oynadığını göstermiştir. Bu nedenle fidanlıklarda temiz üretim materyali kullanılmalı, yeni bağ lar temiz fidanlarla kurulmalıdır. Ayrıca Petri hastalığı etmneleri **Pcl** ve **Pm** iç ve dış karantina listelerine dahil edilmelidir.

- Genç asmalarda Petri hastalığının yayılmasındaki bir baş ka neden ise budamalarda gereken titizliğin gösterilmemesi, budama alet- ekipmanlarının dezenfekte edilmemesi ve derin budama yaraları oluşturarak hastalığın yayılımına destek olunmasıdır. Bu nedenle budama yapılırken ş üpheli asmalar en sona bırakılmalıdır. Alet-ekipmanlar dezenfekte edildikten sonra budamada kullanılmalı ve budama yaraları bir dezenfektanla kapatılmalıdır.

- Petri hastalığı etmenlerinin budama yaralarından giriş ini engellemek amacıyla kimyasal veya biyolojik fungusitler, alternatif maddeler üzerinde araşt ırmalar yapılması ve sonuçların uygulamaya aktarılmasında yarar vardır.

- Yukarıda da değ inildiğ i gibi, Petri hastalığının mücadelesinde daha düşük su sıcaklıklarının uygulamalarının kimyasal veya biyolojik fungusitlerle kombine edilerek araşt ırılmasında yarar vardır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alves, A., Henriques, I., Fragoeiro, S., Santos, C., Phillips, A.J.L. and Correia, A.,** 2004, Applicability of rep-PCR Genomic Fingerprinting to Molecular Discrimination of Members of The Generea *Phaeoacremonium* and *Phaeomoniella*, Plant Pathology 53: 629-634.
- Andolfi, A., Mugnai, L., Luque, J., Surico, G., Cimmino, A. and Evidente, A.,** 2011, Phytotoxins Produced by Fungi Associated with Grapevine Trunk Diseases, Toxins, 3(12): 1569-1605.
- Aroca, A., Garcia-Figueres, F., Bracamonte, L. and Raposo, R.,** 2006, A Survey of Trunk Disease Pathogens within Rootstocks of Grapevines in Spain, European Journal of Plant Pathology, 115:195-202.
- Aroca, A. and Raposa, R.,** 2007, PCR-Based Strategy To Detect and Identify Species of *Phaeoacremonium* Causing Grapevine Disease, Applied and Environmental Microbiology, 73 (9): 2911–2918.
- Aroca, A., Gramaje, D., Armengol, J., García-Jiménez, J. and Raposo, R.,** 2010, Evaluation of the grapevine nursery propagation process as a source of *Phaeoacremonium* spp. and *Phaeomoniella chlamydospora* and occurrence of trunk disease pathogens in rootstock mother vines in Spain, European Journal of Plant Pathology, 126 (2): 165-174.
- Barrie Overton, E., Elwin Stewart, L., Xinshun, Qu., Nancy, Wenner G. and Barbara, Christ J.,** 2004, Qualitative real-time PCR SYBR^R Green detection of Petri Disease Fungi, Phytopathologia Mediterranea, 43: 403-410.
- Borie, B., Jacquiot, L., Jamaux-Despreaux, I., Larignon, P. and Peros, J.P.,** 2002, Genetic Diversity in Populations of The Fungi *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium oleophilum* on Grapevine in France, Plant Pathology 51: 85-96.
- Chiarappa, L.,** 1999, Observation on Grapevine Wood Alterations Following Wounding, Black Goo Symptoms and Occurrence of Grape Declines, International Ampelography Society: Fort Valley, Virginia, USA, 17p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chiarappa, L.**, 2000, Esca (black measles) of Grapevine, An Overview, *Phytopathologia Mediterranea*, 39 (1): 11-15.
- Ciccarone, C., Graniti, A., Schiaffino, A. and Marras, F.**, 2004, Molecular Analysis of *Fomitiporia mediterranea* Isolates from Esca-affected Grapevines in Southern Italy, *Phytopathologia Mediterranea*, 43: 268-272.
- Cortesi, P., Fischer, M. and Millgroom, M.G.**, 2000. Identification and spread of *Fomitiporia punctata* associated with wood decay of grapevine showingsymptoms of esca. *Ecology and Population Biology* 90(9): 967-972.
- Crous, P.W., Gams, W., Wingfield, M.J. and van Wyk, P.S.**, 1996, *Phaeoacremonium* gen. nov. associated with wilt and decline diseases of woody hosts and human infections, *Mycologia* 88 (5): 786-796.
- 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.
- Crous, P. W., Swart, L. and Coertze S.**, 2001, The Effect of Hot Water Treatment on Fungi Occuring in Apparently Healthy Grapevine Cuttings, *Phytopathologia Mediterranea* 40: 464-466.
- Çelik H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B. ve Söylemezoğlu, G.**, 1998, Genel Bağcılık, Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi:1.
- Dupont, J., Magnin, S., Césari, C. and Gatica, M.**, 2002, ITS and β -tubulin markers help delineate *Phaeoacremonium* species, and the occurrence of *P. parasiticum* in grapevine disease in Argentina, *Mycological Research* 106: 1143-1150.
- Edwards, J., Pascoe, I., Salib, S. and Laucart, N.**, 2000, Hot Water Treatment of grapevine Cuttings Reduces Incidens of *Phaeomoniella chlamydospora* in Young Vines, Co-opertive Research Centre for Viticulture, PO Box 154, Glen Osmond, South Australia 5064, Australia.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Edwards, J., Laukart, N. and Pascoe, I.**, 2001a, *In situ* sporulation of *Phaeomoniella chlamydospora* in the vineyard, *Phytopathologia Mediterranea* 40: 61-66.
- Edwards, J., Marchi, G. and Pascoe, I.G.**, 2001b, Young esca in Australia, *Phytopathologia Mediterranea* 40: 303-310.
- Erkan, M. and Larignon, P.**, 1998, Fungi associated with esca disease in grapevines in the Aegen Region, Turkey, *Journal Turkish Phytopathology*, 27 (2-3): 137-143.
- Erkan, M.**, 2000, A general approach for esca disease in the vineyards of Turkey, *Phytopathologia Mediterranea*, 39: 35-37.
- Eskalen, A., Douglas, Gubler, W. and Khan, A.**, 2001a, Rootstock susceptibility to *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp., *Phytopathology Mediterranean* 40: 433-438.
- Eskalen, A. and Gubler, W.D.**, 2001b, Association of Spores of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium inflatipes* and *Pm. oleophilum* with Grapevine Cordons in California, *Phytopathology Mediterranean* 40: 429-432.
- Eskalen, A., Rooney-Latham, S. and Gubler, W.D.**, 2004, Spore Release of *Phaeomoniella chlamydospora* Associated with Grapevine Cordons in California, *Phytopathology* 94: 28.
- Eskalen, A., Rooney-Latham, S. and Gubler, W.D.**, 2005, Occurrence of *Togninia fraxinopennsylvanica* on Esca Diseased Grapevines (*Vitis vinifera*) and Declining Ash Trees (*Fraxinus latifolia*) in California, *Plant Disease*, 89(5): 528.
- Eskalen, A., Rooney-Latham, S. and Gubler, W.D.**, 2007a, Protection of Grapevine Pruning Wounds against Esca and Young Esca Pathogens, *Phytopathology* 97: 33.
- Eskalen, A., Feliciano, A.J. and Gubler, W.D.**, 2007b, Susceptibility of Grapevine Pruning Wounds and Symptom Development in Response to Infection by *Phaeoacremonium oleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora*, *Plant Disease*, 91:1100-1104.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Feliciano, A.J., Eskalen, A. and Gubler, W. D.**, 2004, Differential Susceptibility of Three Grapevine Cultivars to *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora* in California, *Phytopathology Mediterranean*, 43: 66-69.
- Fischer, M.**, 2002, A new wood-decaying basidiomycete species associated with esca of grapevine: *Fomitiporia mediterranea* (Hymenochaetales), *Mycological Progress* 1(3): 315-324.
- Fischer, M. and Kassemeyer, H. M.**, 2003, Fungi associated with esca disease of grapevine in Germany, *Vitis* 42 (3): 109-116.
- Fischer, M. and Binder, M.**, 2004. Species recognition, geographic distribution and hostpathogen relationships: a case study in a group of lignicolous basidiomycetes, *Phellinus s.l.* *Mycologia* 96 (4): 799-811.
- Fischer, M.**, 2006, Biodiversity and Geographic Distribution of Basidiomycetes Causing Esca-Associated White Rot in Grapevine: A Worldwide Perspective, *Phytopathologia Mediterranea*, 45: 30-42.
- Fourie, P. H., Halleen, F. And Groenewald, M.**, Black Goo Decline of Grapevine: Current Understanding of This Mysterious Disease, <http://www.wynboer.co.za/> (Erişim Tarihi: 30.12.2008).
- Fourie, P.H. and Hallen, F.**, 2002, Investigation on The Occurrence of *Phaeomoniella chlamydospora* in Canes of Rootstock Mothervines, *Australasian Plant Pathology*, 31(4): 425-426.
- Fourie, P.H. and Hallen, F.**, 2004, Proactive Control of Petri Disease of Grapevine Through Treatment of Propagation Material, *Plant Disease*, 88:1241-1245.
- Fourie, P. H. and Halleen F.**, 2006, Chemical and biological protection of grapevine propagation material from trunk disease pathogens, *European Journal of Plant pathology* 116: 255-265.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fragoeiro, S., Alves, A., Correia, A., Phillips, A. and Santos, C.,** 2001, Response of *Vitis vinifera* L. inoculated with *Phaeoacremonium angustius* and *Phaeomoniella chlamydospora* to thiabendazol, resveratrol and sodium arsenite, Proceedings of the 11th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union & 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, 17-20 Set. 01, Évora, Portugal: 359-361.
- Giménez-Jaime, A., Aroca, A., Raposo, R., García-Jiménez, J. and Armengol, J.,** 2006, Occurrence of fungal pathogens associated with grapevine nurseries and the decline of young vines in Spain, Journal of Phytopathology 154: 598-602.
- Gramaje, D., Garcia-Jimenez, J., and Armengol, J.,** 2008, Sensitivity of Petri Disease Pathogens to Hot Water Treatments In Vitro, Annals of Applied Biology, 153: 95-103.
- Gramaje, D., Aroca, A., Raposo, R., Garcia-Jimenez, J. and Armengol, J.,** 2009a, Evaluation of fungicides to control petri disease pathogens in the grapevine propagation process, Crop protection 28: 1091-1097.
- Gramaje, D., Armengol, J., Salazar, D., López-Cortés, I. and García-Jiménez, J.,** 2009b, Effect of hot-water treatments above 50°C on grapevine viability and survival of Petri disease pathogens, Crop Protection 28: 280-285.
- Gramaje, D., Armengol, J., Mohammadi, H., Banihashemi, Z. and Mostert, L.,** 2009c, Novel *Phaeoacremonium* species associated with Petri disease and esca of grapevine in Iran and Spain, Mycologia 101 (6): 920-929.
- Gramaje, D., Alaniz, S., Abad-Campos, P., García-Jiménez, J. and Armengol, J.,** 2010, Effect of hot-water treatments in vitro on conidial germination and mycelial growth of grapevine trunk pathogens, Annals of Applied Biology, 156: 231-241.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Graniti, A.**, 2006, From 'fire esca' to 'esca of grapevine', *Phytopathologia Mediterranea* 45: 5-11.
- Groenewald, M., Bellstedt, D.U. and Crous, P.W.**, 2000a, A PCR Based Metod for The Detection of *Phaeomoniella chlamydospora* in Grapevines, *South African Journal of Science* 96, January.
- Groenewald, M., Denman, S. and Crous, P.W.**, 2000b, Fungicide Sensivity of *Phaeomoniella chlamydospora*, the Causal Organism of Petri Grapevine Decline, *South African Enology Viticulture*, 21 (2), 59-61.
- Graniti, A., Surico, G. and Mugnai, L.**, 2000, Esca of Grapevine: A Disease Complex or A Complex of Diseases, *Phytopathologia Mediterranea*, 39: 16-20.
- Gubler, W.D., Eskalen, A., Rooney, S. N., Feliciano, A.J. and Khan, A.**, 2004, Susceptibility of Grapevine Pruning Wounds to Infection by *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp., *Phytopathology* 92:S32.
- Gubler, W. D. and Eskalen, A.**, 2008, Grapevine Nursery Practices and Effects on Petri Disease and Young Esca, *Proceedings of the 2nd Annual National Viticulture Research Conference*, July 9–11, 2008, University of California, Davis.
- Guglielmo, F., Bergemann, S.E., Gonthier, P., Nicotti, G. and Garbelotto, M.**, 2007, A Multiplex PCR-based Method for The Detection and Early Identification of Wood Rotting Fungi in Standing Trees, *Journal of Applied Microbiology*, 103: 1490-1507.
- Halleen, F., Crous, P.W. and Petrini, O.**, 2003, Fungi Associated with Healthy Grapevine Cuttings in Nurseries, with Special Reference to Pathogens Involved in Decline of Young Vines, *Australian Plant Pathology*, 32:47-52.
- Halleen, F., Niekerk, J., Mostert, L., Foure, P. and Crous, P.**, Trunk Disease Pathogens Associated with Apparently Healty Nursery Grapevines, <http://www.wynboer.co.za/> (Erişim Tarihi: 24.10.2008).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Haleem, R. A., Abdullah, S. K. and Jubraeel, J. M.S.**, 2011, Morphological And Molecular Identification of *Phaeoacremonium aleophilum* Associated with Grapevines Decline Phenomenon in Duhok Governorate, Journal of Basrah Researches (Sciences), 37 (4): 8.
- Hofstetter, V., Buyck, B., Croll, D., Viret, O., Couloux, A. and Gindro K.**, 2012, What if esca disease of grapevine were not a fungal disease?, Fungal Diversity, 54: 51-67.
- İyriboz, N.**, 1942, Bağ hastalıkları (2.Basım). Ziraat Vekâleti Neşriyatı, sayı:323–2, İzmir, 232s.
- Jaspers, M.V.**, 2001, Sensivity of *Phaeomoniella chlamydospora* to Fungicides in vitro, New Zealand Plant Protection, 54: 225-228.
- Kakalikova, L., Jankura, E. and Srobarova, A.**, 2006, *Phaeomoniella chlamydospora*: Causal Agent of Vine Decline (*Vitis vinifera*) in The Vineyards of Slovakia, Plant Pathology, 55: 815.
- Karaca, L.**, 1965. Sistematik Bitki Hastahklan (Phycomycetes, Basidiomycetes) Cilt II. Ege Üniv. Matbaası. Yayın No: 107, İzmir, 180 s.
- Kotze, C., Van Niekerk, J., Mostert, L., Halleen, F. and Fourie, P.**, 2011, Evaluation of biocontrol agents for grapevine pruning wound protection against trunk pathogen infection, Phytopathologia Mediterranea, 50: 247-263.
- Kuntzmann, P., Villaume, S., Larignon, P. and Bertsch, C.**, 2012, Esca, BDA and Eutypiosis: Foliar Symptoms, Trunk Lesions and Fungi Observed in Diseased Vinestocks inTwo Vineyards in Alsace, Vitis, 49 (2): 71–76.
- Larignon, P. and Dubos, B.**, 1997, Fungi Associated with Esca Disease in Grapevine, European Journal of Plant Pathology, 103: 147-157.
- Larignon, P.**, 1999, Esca Disease from a European Perspective, Black Goo Symptoms and Occurrence of Grape Declines, International Ampelography Society: Fort Valley, Virginia, USA, 43-55p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lecomte, P., Darrieutort, G., Liminana, J.-M., and Comont, G.,** 2012, New Insights into Esca of Grapevine: The Development of Foliar Symptoms and Their Association with Xylem Discoloration, July 2012, 96 (7): 924-934.
- Liu, D., Coloe, S., Baird, R. and Pedersen, J.,** 2000, Rapid Mini-Preparation of Fungal DNA for PCR, Journal Of Clinical Microbiology, Jan. 2000, p. 471.
- Long L.,** 2005, Petri Disease, <http://extension.psu.edu/fruit-diseases/grapes/petri-disease> (Erişim Tarihi: 24.10.2008).
- Luque, J., Martos, S., Aroca, A., Raposo, R. and Garcia-Figueres, F.,** 2009, Symptoms and Fungi Associated with Declining Mature Grapevine Plants in Northeast Spain, Journal of Plant Pathology, 91 (2): 381-390.
- Martinson, T.,** 2011, Cane and Trunk Anatomy in Relation to Cold Injury, <http://www.fruit.cornell.edu> (Erişim tarihi: 23.07.2012).
- Morton, L.,** 1999, Black Goo Symptoms and Occurrence of Grape Declines, International Ampelography Society: Fort Valley, Virginia, USA, 132p.
- Mostert, L., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Gams, W. and Summerbell, R.C.,** 2003, *Togninia* (Calosphaeriales) is Confirmed as Teleomorph of *Phaeoacremonium* by Means of Morphology, Sexual Compatibility and DNA Phylogeny. Mycologia 95(4): 645-659.
- Mostert, L., Groenewald, J.Z., Summerbell, R.C., Robert, V., Sutton, D.A., Padhye, A.A. and Crous, P.W.,** 2005. Species of *Phaeoacremonium* associated with infections in humans and environmental reservoirs in infected woody plants. Journal of Clinical Microbiology 43 (4): 1752-1767.
- Mostert, L., Hallen, F., Fourie, P. and Crous, P.W.,** 2006a, A Review of *Phaeoacremonium* species involved in Petri Disease and Esca of Grapevines, Phytopathology Mediterranean 45: 12-29.
- Mostert, L., Groenewald, J.Z., Gams, W. and Summerbell, R. and Crous, P.W.,** 2006b, Taxonomy and pathology of *Togninia* (*Diaporthales*) and its *Phaeoacremonium* anamorphs, Studies in Mycology 54: 1-115.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mugnai, L., Graniti, A. and Surico, G.,** 1999, Esca (Black measles) and Brown Wood Streaking: Two Old and Elusive Diseases of Grapevines, *Plant Disease* 83 (5): 404-418.
- Mutawila, C., Fourie, P.H., Halleen, F. and Mostert, L.,** 2011a, Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens, *Phytopathologia Mediterranea* 50: 264-276.
- Mutawila, C., Fourie, P.H., Halleen, F. and Mostert, L.,** 2011b, Histopathology study of the growth of *Trichoderma harzianum*, *Phaeomoniella chlamydospora* and *Eutypa lata* on grapevine pruning wounds, *Phytopathologia Mediterranea* 50: 46-60.
- Onoğur, E.,** 1995, Bağ Hastalıkları, Alaşehir Meslek Yüksek Okulu Yayınları, Yayın No: 1., Ege Univ. Basımevi, Bornova-İzmir, 97 s.
- Quaglia, M., Covarelli, L. and Zazzerini, A.,** 2009, Epidemiological survey on esca disease in Umbri, central Italy, *Phytopathologia Mediterranea* 48: 84-91.
- Pascoe, I.,** 1998, Grapevine Trunk Diseases in Australia: Diagnostics and Taxonomy, Black Goo Symptoms and Occurrence of Grape Declines, International Ampelography Society: Fort Valley, Virginia, USA, 56-77 p.
- Pascoe, I. and Cottral, E.,** 2000, Developments in grapevine trunk disease research in Australia, *Phytopathologia Mediterranea* 39: 68-75.
- Penn, C.,** 2001, From Mystery Disease to Discovery of Pathogens, <http://winebusiness.com/html/MonthlyArticle> (Erişim Tarihi: 24.10.2008).
- Peros, J.P., Berger, G. and Jamaux-Despreaux, I.,** 2008, Symptoms, Wood Lesions and Fungi Associated with Esca in Organic Vine yards in Languedoc-Roussillon (France), *Journal Phytopathology*, 156: 267-303.
- Pilotti, M., Gervasi, F., and Brunetti, A.,** 2005, Molecular identification of *Fomitiporia mediterranea* and *Eutypa lata*/ *Libertella blepharis* in *Platanus x acerifolia*, *Phytopathology*, 153: 193-202.
- Ravaz, L.,** 1898, Sur le folletage, *Revue de Viticulture*, 10: 184–186.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ravaz, L.**, 1909, Sur l'apoplexie de la vigne. Progrès Agricole et Viticole, 30(45): 547-579.
- Reisenzein, H., Berger, N. and Nieder, G.** 2000, Esca in Austria, Phytopathologia Mediterranea, 39: 26-34.
- Retief, E., Damm U., Nierkerk, J.M., McLeod, A. and Fourie, P.H.**, 2005, A Protocol For Molecular Detection of *Phaeomoniella chlamydospora* in Grapevine Wood, South African Journal of Science, 101(3/4): 139–142.
- Retief, E., McLeod, A. and Fourie, P.H.**, 2006, Potential Inoculum Sources of *Phaeomoniella chlamydospora* in South African Grapevine Nurseries, European Journal of Plant Pathology, 115: 331-339.
- Ridgway, H.J., Sleight, B.E. and Stewart, A.**, 2005, Molecular Evidence for The Presence of *Phaeomoniella chlamydospora* in New Zealand Nurseries, and its detection in rootstock Mothervines Using Species Specific PCR, Australasian Plant Pathology, 31(3): 267-271.
- Rolshausen, P.E., Úrbez-Torres, J.R., Rooney-Latham, S., Eskalen, A., Smith, R.J. and Gubler, W.D.**, 2010. Evaluation of pruning wound susceptibility and protection against fungi associated with grapevine trunk diseases. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61: 113–119.
- Romanazzi, G., Murolo, S., Pizzichini, L. and Nardi, S.**, 2009, Esca in Young and Mature Vineyards, and Molecular Diagnosis of The Associated Fungi, European Journal of Plant Pathology, 125: 277-290.
- Rooney-Latham, S., Eskalen, A. and Gubler, W.D.**, 2001a, Recovery of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium inflatipes* from Soil and Grapevine Tissues, Phytopathology Mediterranean, 40: 351-356.
- Rooney-Latham, S. And Gubler, W. D.**, 2001b, Effect of hot water treatments on eradication of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium inflatipes* from dormant grapevine wood, Phytopathology Meditterrenea, 40: 467-472.
- Rooney-Latham, S., Eskalen, A. and Gubler, W.D.**, 2004. Ascospore discharge and occurrence of *Togninia minima* (anamorph = *Phaeoacremonium aleophilum*) in California vineyards, Phytopathology, 94: S57.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rooney-Latham, S., Eskalen, A., and Gubler, W. D.,** 2005. Ascospore release of *Togninia minima*, cause of esca and grapevine decline in California, <http://plantpathology.ucdavis.edu/> (Erişim Tarihi: 24.10.2008).
- Rooney-Latham, S., Eskalen, A., Gallegos, L.L. and Gubler, W.D.,** 2006, Potential Alternate Sources of Inoculum for Causal agents of esca (black measles) of grapevine in California, *Phytopathology*, 96: 99.
- Rumbos, I. and Rumbou, A.,** 2001, Fungi associated with esca and young grapevine decline in Greece, *Phytopathologia Mediterranea*, 40: 330-335.
- Sanchez-Torres, P., Hinarejos, R., Gonzalez, V. and Tuset, J.J.,** 2008, Identification and Characterization of Fungi Associated with esca in Vineyards of The Comunidad Valenciana (Spain), *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6(4): 650-660.
- Scheck, H.J., Vasquez, S.J. and Gubler, W.D.,** 1998, First Report of Three *Phaeoacremonium* spp. Causing Young Grapevine Decline in California, *Plant Disease*, 82: 590.
- Serra, S., Borgo, M. and Zanzotto, A.,** 2000, Investigation into The Presence of Fungi Associated with Esca of Young Vines, *Phytopathologia Mediterranea*, 39: 21-25.
- Stamp, J.A.,** 2001, The Contribution of Imperfections in Nursery Stock to The Decline of Young vine in California, *Phytopathology Mediterranean*, 40: 369-375.
- Surico, G.,** 2000, The grapevine and wine production through the ages, *Phytopathologia Mediterranea* 39: 3-10.
- Surico, G., Marchi, G., Braccini, P. and Mugnai, L.,** 2000. Epidemiology of esca in some vineyards in Tuscany (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*, 39: 190-205.
- Surico, G.,** 2001, Towards Commonly Agreed Answers to Some Basic Questions on Esca, *Phytopathologia Mediterranea*, 40: 487-490.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Surico, G., Mugnai, L. and Marchi, G.,** 2006, Older and more recent observations on esca: a critical overview, *Phytopathologia Mediterranea*, 45: 68-86.
- Surico, G.,** 2009, Towards a redefinition of the diseases within the esca complex of grapevine, *Phytopathologia Mediterranea*, 48: 5-10.
- Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü,** 2008, Ziari Mücadele Teknik Talimatları, Ankara.
- Tegli, S., Bertelli, E. and Surico, G.,** 2000, Sequence analysis of ITS ribosomal DNA in five *Phaeoacremonium* species and the development of a PCR-based assay for the detection of *Phaeoacremonium chlamydosporum* and *Phaeoacremonium oleophilum* in grapevine tissue, *Phytopathologia Mediterranea*, 39: 134-149.
- Türkiye İstatistik Kurumu,** 2010, <http://www.tuik.gov.tr/> (Erişim tarihi: 03.02.2012)
- Üzümeri, M.E.,** 1947, Bağ Hastalıkları, Tarım bakanlığı Neşriyat Müdürlüğü, Sayı:636, Ankara, 245s.
- Vasquez S.,** 2012, Grapevine Measles, <http://www.extension.org/> (Erişim Tarihi: 01.08.2012).
- Viala, P.,** 1926, Recherches sur les maladies de la vigne, Esca, *Annales des Epiphyties Fasc. 1 et 2*: 1-108.
- White, C. L.,** 2010, The Characterization of The Basidiomycetes and other Fungi Associated with Esca of Grapevines in South Africa, Thesis presented in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science at Stellenbosch University, 157 p.
- Whiteman, S.A., Jaspers, M.V., Stewart, A. and Ridgway, H.J.,** 2002, Detection of *Phaeomoniella chlamydospora* in Soil Using Species- Specific PCR, *New Zealand Plant Protection*, 55: 139-145.
- Whiting, E.C., Khan, A. and Gubler, W.D.,** 2001, Effect of Temperature and Mycelial Growth of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp., *Plant Disease*, 85 (2): 195-201.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Aydın'da doğdu. İlköğrenimini Koçarlı, orta ve lise öğrenimini Aydın'da tamamladı. 2000 yılında Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nin Bitki Koruma Bölümü'nden üçüncülükle mezun oldu. Daha sonra aynı bölümde "Aydın İli Çilek Alanlarında Görülen Kurşuni Küf Hastalığı (*Botrytis cinerea* pers.)'nın Kimyasal Mücadelesi Üzerine Araştırmalar" konulu tezini tamamlayarak Yüksek Lisansı 2005 yılında tamamladı. 2001–2005 yılları arasında aynı bölümde Araştırma Görevlisi olarak görev yaptı. Aynı yıl Bornova Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsüne atandı. Halen aynı yerde Meyve ve Bağ Hastalıkları Laboratuvarında mikolog olarak görev yapmaktadır. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim dalında 2006 yılında doktora öğrenimine başladı. Dilek Poyraz evli ve bir çocuk sahibidir.