



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BURSA İLİNDE KESTANE KANSERİNE NEDEN OLAN *CRYPHONECTRIA PARASITICA* (MURR.) BARR.'NİN BİYOLOJİK KONTROLÜ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Nilüfer AVGAN

Doç. Dr. Himmet TEZCAN
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA – 2013
TEZ ONAYI

Nilüfer AVGAN tarafından hazırlanan “Bursa İlinde Kestane Kanserine Neden Olan *Cryphonectria parasitica* (MURR.) BARR.’nın Biyolojik Kontrolü Üzerinde Çalışmalar” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/ oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Himmet TEZCAN

Başkan: Doç. Dr. Himmet TEZCAN U.Ü Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Anabilim Dalı	İmza
Üye: Doç. Dr. Ümit ARSLAN U.Ü Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Anabilim Dalı	İmza
Üye: Doç. Dr. Cevriye MERT U.Ü Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü
... / ... / (Tarih)

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

03 / 05 / 2013

Nilüfer AVGAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BURSA İLİNDE KESTANE KANSERİNE NEDEN OLAN *CRYPHONECTRIA PARASITICA* (MURR.) BARR.'NİN BİYOLOJİK KONTROLÜ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Nilüfer AVGAN

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Himmet TEZCAN

Bu çalışma Bursa ili sınırları içerisindeki üç farklı bölgedeki kestane alanlarında 2011-2012 yıllarında yapılmıştır. Bu bölgeler Osmangazi İlçesi Yiğitali Köyü, Yıldırım İlçesi Cumalıkızık Köyü ve Karacabey İlçesi Kurşunlu Köyü kestane alanlarıdır. Aktif ve iyileşmiş Kestane Kanseri belirtisi gösteren kestane ağaçlarından Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamında *Cryphonectria parasitica*'nın fungal izolasyonları yapılmıştır. Buna göre, Kestane Kanserine neden olan *C. parasitica*'nın izolasyon sıklığı 2011-2012 yılları için Yiğitali, Cumalıkızık ve Kurşunlu Köylerinde sırasıyla %51,2 – %42,8 ; %70 – %48 ve %49,6 – %40,8 oranlarında olmuştur. Bu durum *C. parasitica*'nın tüm bölgelerde birinci derece Kestane Kanseri etmeni olarak var olduğunu göstermiştir. Karacabey İlçesi Kurşunlu Köyü kestane alanında yetiştiriciliği yapılan üç kestane çeşidindeki doğal aktif (=virulent) kestane kanserlerine karşı yine bu bölgeden izole edilen bir hipovirulent izolatın etkililiği araştırılmış ve Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidinde daha az etkili olduğu saptanmıştır. Diğer iki çeşit olan Kara Aşı ve İtalyan Sarısı (=Maraval74) çeşitlerinde hipovirulent ırk daha etkili olmuştur. Daha sonra laboratuvar koşullarında ve petri kabı içerisinde kesik kestane dal parçaları üzerinde bu çeşitlerin *C. parasitica*'nın virulent ve hipovirulent izolatlarına karşı duyarlılıkları da araştırılmıştır. Bu testin sonucunda, *C. parasitica*'ya çeşitlerin duyarlılıklarının sırasıyla Sarı Aşı (=Osmanoğlu), Kara Aşı, İtalyan Sarısı (=Maraval74) şeklinde olduğu belirlenmiştir. Kestane Mürekkep Hastalığına dayanıklı olduğu bilinen Maraval74'ün Kestane Kanserine de kısmen dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kestane, Kestane Kanseri, *Cryphonectria parasitica*
2013, viii + 46 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

THE STUDIES ON BIOLOGICAL CONTROL OF CHESTNUT BLIGHT CAUSED BY *CRYPHONECTRIA PARASITICA* (MURR.) BARR. IN BURSA PROVINCE OF TURKEY

Nilüfer AVGAN

Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection
Supervisor: Assoc. Prof. Himmet TEZCAN

This study was performed in three different chestnut regions inside the boundaries of Bursa province of Turkey between the years 2011 and 2012. These chestnut regions are Yiğitali Village in Osmangazi district, Cumalıkızık Village in Yıldırım district and Kurşunlu Village in Karacabey district. Fungal isolation of *Cryphonectria parasitica* on Potato Dextrose Agar (PDA) was done from active and cured chestnut trees which have chestnut blight symptoms. The isolation frequencies of *C. parasitica*, which causes chestnut blight, were found to be 51,2% – 42,8% ; 70% – 48% ve 49,6% – 40,8% respectively in the Yiğitali, Cumalıkızık and Kurşunlu villages during the years 2011-2012. This situation showed that *C. parasitica* is the major factor of chestnut blight in these regions. A research was done to understand the effectiveness of an hypovirulent isolate which was isolated in Kurşunlu Village, Karacabey district against naturally active (=virulent) chestnut blights that are observed in three different chestnut types which are cultivated in the same region and the effectiveness was found to be lower on Sarı Aşı (=Osmanoğlu) type. The hypovirulent type was more effective on the other types: Kara Aşı and İtalyan Sarısı (=Maraval74). Furthermore, the sensitivities of the same chestnut types to the virulent and hypovirulent isolates were investigated in the laboratory by using the cut chestnut stems in the petri dishes. At the end of this test, the order of sensitiveness of the types to the virulent isolate of *C. parasitica* was found to be Sarı Aşı (=Osmanoğlu), Kara Aşı, İtalyan Sarısı (=Maraval74) respectively. It was determined that Maraval74, which is known to be resistant to chestnut ink disease, is also partially resistant to chestnut blight.

Keywords: Chestnut, Chestnut blight, *Cryphonectria parasitica*
2013, viii + 46 pages

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

“Bursa İlinde Kestane Kanserine Neden Olan *Cryphonectria parasitica* (MURR.) BARR.’nın Biyolojik Kontrolü Üzerinde Çalışmalar” isimli bu çalışma Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tezim ile ilgili çalışmalarına başladığım günden itibaren her türlü bilgisinden, kaynaklarından, tezimin ilerlemesi aşamasındaki yönlendirmelerinden ve manevi desteğinden dolayı Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Himmet TEZCAN’a, tezimin giriş kısmındaki verileri elde etmemde, istatistiksel verilerin değerlendirilmesinde ve hazır bilgisayar destekli paket programından beni yararlandırmasından ve manevi desteğinden dolayı Sayın Hocam Doç. Dr. Cevriye MERT’e, tezimin yazım tasarımının hazırlanmasındaki desteğinden ve manevi desteğinden dolayı ağabeyim Makine Yüksek Mühendisi Utku AVGAN’a ve arkadaşım Merve ARDIÇ AVGAN’a ve son olarak tüm çalışmalarımındaki maddi ve manevi desteklerinden dolayı babam Cahit AVGAN’a, annem Meral AVGAN’a, teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Mayıs 2013

Nilüfer AVGAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. Kestane kanserine neden olan <i>C. parasitica</i> fungusunun virulent ve hipovirulent izolatlarının izolasyonu.....	16
3.2.2. <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının bazı kestane çeşitlerindeki etkililiğinin belirlenmesi.....	19
3.2.2.1. Aşılı kestane ormanında bir hipovirulent izolatın doğadaki aktif kanserlere karşı bazı çeşitlerdeki etkililiğinin belirlenmesi.....	19
3.2.2.2. Petri kapları içerisindeki küçük kesik dal parçaları üzerinde <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nın virulent ve hipovirulent izolatlarının bazı kestane çeşitlerindeki etkililiklerinin belirlenmesi.....	22
3.3. Sonuçların değerlendirilmesi.....	23
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	24
4.1. Kestane kanserine neden olan <i>C. parasitica</i> fungusunun virulent ve hipovirulent izolatlarının izolasyon sonuçları.....	24
4.2. <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının bazı kestane çeşitlerindeki etkililiği.....	26
4.2.1. Aşılı kestane ormanında bir hipovirulent izolatın doğadaki aktif kanserlere karşı bazı çeşitlerdeki etkililiği.....	26
4.2.2. Petri kapları içerisindeki küçük kesik dal parçaları üzerinde <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nın virulent ve hipovirulent izolatlarının bazı kestane çeşitlerindeki etkililikleri.....	31
5. SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR.....	42
ÖZGEÇMİŞ.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1.	Marmara Bölgesinde kestane yetiştiriciliği yapılan illerin 2010 yılı verilerine göre dağılımı (Anonim 2012b)	3
Şekil 3.1.	Kara Aşı çeşidinin meyve yapısının genel görünümü.....	14
Şekil 3.2.	Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidinin meyve yapısının genel görünümü.....	15
Şekil 3.3.	İtalyan Sarısı (Maraval 74) çeşidinin meyve yapısının genel görünümü.....	15
Şekil 3.4.	Kanserli bir yaradan izolasyon için örnek alınması	17
Şekil 3.5.	Örnek alınacak dal ve ağaç değişimlerinde örneğin alındığı bıçağın %1'lik NaOCl içeren sıvı ile sterilizasyonu	17
Şekil 3.6.	Kanserli olduğu düşünülen kestane kabuklarından yapılan fungal izolasyon sonucu gelişen fungus kolonileri	18
Şekil 3.7.	Bir hipovirulent izolatın doğal ve aktif kanser yarası üzerinde denendiği aşılı kestane ağaçlarından birinin genel görünümü	19
Şekil 3.8.	PDA ortamı içeren petri kaplarında hipovirulent olduğu düşünülen izolatın uygulama öncesi görünümü	20
Şekil 3.9.	PDA ortamı içeren petri kaplarında hipovirulent olduğu düşünülen izolatın uygulama sonrası görünümü	21
Şekil 3.10.	Bir hipovirulent izolatın doğal ve aktif kanser yarası üzerinde denendiği ağaçlardan birinin kolay bulunabilmesi için yapılan işaretlemenin görünümü	21
Şekil 3.11.	Kesik dal yöntemine göre kestane dalları üzerinde <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının patojenisitelerinin ve birbirleri ile etkileşimlerinin görünümü	22
Şekil 4.1.	Çalışma süresince hastalıklı kestane dallarından yapılan izolasyonlarda izole edilen <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının genel görünümü.	25
Şekil 4.2.	Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidinde hipovirulent aşılmasından yaklaşık 1 ay sonraki kanser yarasının görünümü.....	27
Şekil 4.3.	Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidinde hipovirulent aşılmasından yaklaşık 2 ay sonraki kanser yarasının görünümü.....	28
Şekil 4.4.	Kara Aşı çeşidinde hipovirulent aşılmasından yaklaşık 1 ay sonraki kanser yarasının görünümü	29
Şekil 4.5.	İtalyan sarısı (=Maraval74) çeşidinde hipovirulent aşılmasından yaklaşık 2 ay sonraki kanser yarasının görünümü.....	30
Şekil 4.6.	Bazı kestane çeşitlerinin kesik dal yöntemine göre <i>Cryphonectria parasitica</i> fungusunun virulent ve hipovirulent ırklarına duyarlılıkları	32
Şekil 4.7.	Sarı aşı (=Osmanoğlu) çeşidinin kestane kesik dal yönteminde <i>Cryphonectria parasitica</i> 'ya karşı duyarlılığının görünümü	33
Şekil 4.8.	Kara aşı çeşidinin kestane kesik dal yönteminde <i>Cryphonectria parasitica</i> 'ya karşı duyarlılığının görünümü.....	34
Şekil 4.9.	İtalyan sarısı (=Maraval74) çeşidinin kestane kesik dal yönteminde <i>Cryphonectria parasitica</i> 'ya karşı duyarlılığın görünümü	35
Şekil 4.10.	Kara aşı çeşidinin <i>Cryphonectria parasitica</i> 'ya karşı duyarlılığının testi esnasında salgılanan salgının görünümü	36
Şekil 4.11.	İtalyan sarısı (=Maraval74) çeşidinin <i>Cryphonectria parasitica</i> 'ya karşı duyarlılığının testi esnasında salgılanan salgıların görünümü.....	37
Şekil 4.12.	Elma testinde farklı izolatların oluşturduğu nekrozlar	38

Şekil 4.13. <i>Cryphonectria parasitica</i> virulent ve hipovirulent ırklarının Kaynaşması (=uyumu)	39
Şekil 4.14. <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nin virulent (sağ tarafta turuncu) ve hipovirulent (solda beyaz) izolatları arasında oluşan hattın (=çizginin) görünümü	39
Şekil 4.15. Kastamonu ilinden seçilen izolatların EU-12 uyum grubu aralarında oluşturdukları baraj zonları	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Önemli kestane üreticisi ülkelerin 2010 yılı üretim miktarları ve üretim alanları (Anonim 2012a)	2
Çizelge 1.2. Bölgelere göre Türkiye'nin en önemli toplu kestane alanları (dekar) ve üretim miktarları (ton) (Anonim 2012b).....	2
Çizelge 1.3. İllere göre Türkiye'nin en önemli toplu kestane alanları (dekar) ve üretim miktarları (ton) (Anonim 2012b).....	3
Çizelge 3.1. Bursa ili sınırları içerisinde kestane kanseri hastalığı ile ilişkili yapılan survey çalışması yer ve tarihleri	16
Çizelge 4.1. Bursa ili sınırları içerisindeki üç farklı bölgedeki hastalıklı kestane ağaçlarından yapılan izolasyonlarda <i>Cryphonectria parasitica</i> fungusunun izolasyon sıklıkları (%).....	24
Çizelge 4.2. Bir hipovirulent izolatın aşılı kestane ormanındaki bazı kestane çeşitlerindeki doğal aktif kanser yaralarına karşı etkililiği (Bursa, Karacabey Kurşunlu Köyü (Ekim - Aralık,2012).....	26
Çizelge 4.3. Kesik dal parçaları üzerinde <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nın virulent ve hipovirulent izolatlarının etkililiği	31

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
ha	Hektar
da	Dekar
mm	Milimetre
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare

Kısaltmalar	Açıklama
<i>C. parasitica</i>	<i>Cryphonectria parasitica</i>
vc tip	Vejetatif uyum tipi
<i>CHV -1</i>	<i>Cryphonectria hypovirus 1</i>
NaOCl	Sodyum hipoklorit
PDA	Patates dekstroz agar
dsRNA	Çift sarmallı ribonükleik asit

1.GİRİŞ

Bitkiler aleminin Fagales takımı, Fagaceae familyası (= Kayıngiller) içerisinde meşe ve kayınla birlikte bulunan kestanenin en önemli 4 türü *Castanea sativa* L. (=Avrupa kestanesi), *Castanea mollissima* (Çin kestanesi), *Castanea crenata* (Japon kestanesi) ve *Castanea dentata* (Amerikan kestanesi)'dir. Türkiye'deki kestaneler de Avrupa kestanesi grubundadır. Kestane (*Castanea sativa* L.), kuzey yarım kürenin Asya, Avrupa ve Amerika kıtalarında ve kısmen de Güney Amerika'da kültüre alınan bir meyve türüdür. Bu meyve türü ağaç ve yapraklarıyla da yarar sağlamakla birlikte asıl meyveleriyle ağırlık ve ekonomik önem kazanmıştır. Günümüzde İtalya, Fransa, İspanya, Portekiz gibi Avrupa; Çin, Japonya, Kore, Türkiye gibi Asya ülkeleri başlıca kestane üreten ülkeler arasında yer almakta, bunların yanında Yunanistan, Bulgaristan, Romanya, Macaristan, Yugoslavya, Çek Cumhuriyeti, Slovakya, İsviçre ve Kafkasya'da da kültürü ve yetiştiriciliği yapılmaktadır. ABD, yüzyılın başlarına kadar önemli bir üretim alanı olmuşsa da, kestane kanserinin (*Cryphonectria parasitica*) bu ülkede geniş ölçüde zarar yapmasından sonra, üretim çok azalmıştır. Türkiye'de kestane Anadolu'da Doğu Karadeniz'den başlayarak, tüm Karadeniz boyunca yayılmakta, Marmara çevresi ve Batı Anadolu'dan Antalya kıyılarına kadar ulaşmaktadır (Soylu 2004).

Ticari olarak kestanenin tüketim şekilleri başlıca iki ana grupta toplanabilir. Bunlar taze ve işlendikten sonra tüketimdir. Taze tüketim, meyvelerin taze özelliklerini korudukları şekliyle pazarlanmasıdır. Meyvelerin işlendikten sonra tüketimi içerisinde kestane püresi, konserve olarak değerlendirme, kestane şekerciliği gibi farklı değerlendirme şekilleri bulunmaktadır (Soylu 2004).

Dünya'da ve Türkiye'de kestane ağaçlarının mevcut durumu ve elde edilen kestane meyve miktarları Çizelge 1.1, Çizelge 1.2, Çizelge 1.3 ve Şekil 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Önemli kestane üreticisi ülkelerin 2010 yılı üretim miktarları ve üretim alanları (Anonim 2012 a)

Ülkeler	Üretim alanı (ha)	Üretim (ton)
Çin	295 000	1 620 000
Güney Kore	36 600	82 200
Türkiye	38 400	59 171
Bolivya	42 900	53 577
İtalya	24 500	42 700
Japonya	21 700	23 500
Portekiz	34 600	22 400
Dünya Toplamı	525 711	1 944 996

Çizelge 1.1’de kapsamlı olarak görülebileceği üzere dünyada, 525 711 ha alanda, 1 944 996 ton kestane üretimi yapılmaktadır. Çin kestane üretiminde lider konumda olup Güney Kore 2., Türkiye 3. sırada yer almaktadır (Anonim 2012 a). Türkiye içerisinde kestane üretim alanları ve miktarları bölge bazında Çizelge 1.2’de görülmektedir.

Çizelge 1.2. Bölgelere göre Türkiye’nin en önemli toplu kestane alanları (dekar) ve üretim miktarları (ton) (Anonim 2012 b)

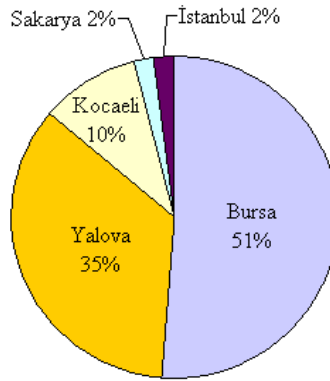
Bölge	Toplu Kestane Alanları (dekar)	Üretim (ton)
1. Ege Bölgesi	95 485	36 531
2. Doğu Marmara	17 421	3 470
3. Batı Marmara	2 318	2 090
4. Batı Karadeniz	4 130	16 045
5. Doğu Karadeniz	120	1 970
6. Akdeniz	80	102

Çizelge 1.2 incelendiğinde, Ege Bölgesi 95 485 da toplu kestane alanı ve 36 531 ton üretim miktarı ile 1. sırada yer almaktadır. Ege Bölgesi’ni toplu kestane alanı bakımından 17 421 da ile Doğu Marmara, üretim miktarı bakımından ise 16 045 ton ile Batı Karadeniz izlemektedir. Türkiye’de önemli toplu kestane üretim alanlarının ve üretim miktarlarının il bazında dağılımı ise Çizelge 1.3’te görülmektedir.

Çizelge 1.3. İllere göre Türkiye'nin en önemli toplu kestane alanları (dekar) ve üretim miktarları (ton) (Anonim 2012 b)

İl	Toplu Kestane Alanları (dekar)	Üretim (ton)
1. Aydın	65 691	20 375
2. İzmir	25 360	9 019
3. Yalova	11 077	1 028
4. Bursa	5 160	1 499
5. Kastamonu	3 345	6 904
6. Manisa	3 165	2 645
7. Balıkesir	2 172	1 471
8. Kocaeli	1 159	304
9. Denizli	880	1 541
10. Bartın	710	2 822
11. Kütahya	200	2 814
12. Çanakkale	146	619
13. Afyon	100	98
14. Muğla	89	47
15. Antalya	80	73
16. Sinop	75	4 503
Türkiye Toplamı	119 559	60 270

Çizelge 1.3' de açıkça görüldüğü gibi, Türkiye iller sıralamasında Aydın ili 65 691 dekar toplu kestane alanı ve 20 375 ton üretim miktarı ile 1. sırada yer almaktadır. 25 360 da toplu kestane alanı ve 9 019 ton üretim miktarı ile Aydın'ı İzmir izlemektedir. Bu iller içerisinde Bursa ise 5 160 da toplu kestane alanı bakımından 4., 1 499 ton üretim bakımından 9. sırada görünmesine rağmen Marmara Bölgesi içerisindeki kestanelikleri, tek başına %51'ini temsil etmesi (Şekil 1.1) hala Bursa'nın kestane yetiştiriciliği açısından önemli olduğunu göstermektedir (Anonim 2012 b).



Şekil 1.1. Marmara Bölgesinde kestane yetiştiriciliği yapılan illerin 2010 yılı verilerine göre dağılımı (Anonim 2012 b)

Kestane kanseri (*Cryphonectria parasitica*) hastalığı, dünyanın değişik ülkelerinin ve Türkiye'nin kestane alanlarında yaygın olan ve çoğu kez ağaçların tamamen kurumasına neden olan önemli bir kestane hastalığıdır (Çeliker ve Onoğur 2011). Yurdumuzda Kestane kanseri, ilk defa 1967 yılında Marmara Bölgesi'nde görülmüştür (Delen 1979). Hastalık Bursa ve Sakarya'da, Yalova'da, Bolu, Sinop, Kastamonu, Zonguldak, Bartın, Balıkesir, Çanakkale, İzmir ve Manisa'da ve son olarak da kestane yetiştiriciliğinde ilk sırayı alan Aydın ilinde tespit edilmiştir (Akıllı 2008).

Kestane kanseri etmeni *Cryphonectria parasitica*, *Fungi* aleminin, *Ascomycota* bölümü, *Pezizomycota* alt bölümü, *Sordariomycetes* sınıfı, *Diaporthales* takımı *Valsaceae* familyasına girmektedir (Erdin ve Köse 2003).

Kimyasal yolla mücadelesi mümkün olmayan bu hastalık, iç ve dış karantina önlemleri ve kültürel uygulamalarla kontrol edilmeye çalışılmaktadır (Çeliker ve Onoğur 2011). Bugüne kadar en etkili kontrol yöntemi patojenin biyolojik kontrolünde hipovirulent (=düşük şiddette hastalık oluşturan) ırkların kullanımınıdır (Erincik ve ark. 2011). Hipovirulent ırklar yoluyla biyolojik kontrol kestane kanseri için geniş ölçüde kullanılan kontrol yöntemidir ve iyileştirici bir önlem olarak çoğu ülkelerde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır (Akıllı ve ark. 2011).

Bursa ili sınırları içerisinde yapılan çalışmalarda kansere neden olan virulent ve onun şiddetini düşüren hipovirulent ırkın varlığı daha önce yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Baykal ve ark. 2000, Tezcan ve Mert 2009). Bununla birlikte gerek iklim koşullarındaki değişim, gerekse yerel çeşitlerin özelliklerindeki farklılıklar ve bölgesel koşullar hastalığın seyrini ve virulent/hipovirulent oranının yakından takibini gerektirmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada Bursa'daki mevcut durum ve yerel çeşitler bazında biyolojik kontrol çalışmalarının başarı oranı ortaya konmaya çalışılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

İsviçre’de yapılan bir çalışmaya göre Avrupa kestane ormanlarında *Cryphonectria parasitica*’nın popülasyon yapısı ve hastalık gelişimi doğal hipovirulensin mevcudiyeti araştırılmıştır. Buna göre, çalışmanın yapıldığı iki bölgeden birinde hipovirulent olarak kabul edilen beyaz izolatlar %59 oranında izole edilirken diğer bölgede bu oran %40 olarak belirlenmiştir. Güney İsviçre’de 4 yıllık bir süre boyunca yapılan bu çalışmada kanserli dal oranı her iki parselde de %37’den %60’a çıkmıştır. Ancak, kanserden ölüm oranı ise %15 olarak belirtilmiştir (Bissenger ve ark. 1997).

Yapılan başka bir çalışmada, Amerikan kestanesi kullanılarak *Cryphonectria parasitica*’nın virulensliği test edilmesi için hızlı ve tekrarlanabilir bir metot geliştirilmiştir. Amerikan kestane ağacı gövdelerinden keserek alınmış kabuk ve odun dokusu örnekleri virulent ve hipovirulent *C. parasitica* ırkları ile inokule edilmiştir. Örnekler 25°C’de 4 gün boyunca inkübe edilmiş ve virulenslik kahverengi nekrotik hücrelere sahip kabuk ve odun dokusu alanı olarak değerlendirilmiştir. Virulent ırklar her doku örneğinde sürekli daha geniş bir alana zarar verirken (3,62-3,67cm²), hipovirulent ırklar 2,16 cm² veya daha az bir alana zarar vermiştir. Yaşayan ağaçlar ve keserek alınmış gövdelere aynı fungal ırklar inokule edilmiştir. Elde edilen bu test sonuçları, kabuk/odun testleriyle karşılaştırılmıştır. Ağaçlardan ve kesilmiş gövdelerden virulens değerlendirme verileri, kabuk/odun verileri ile ilişkili olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, kabuk/odun doku testinin gerek inkübasyon süresi gerekse kolaylık ve tekrarlanabilirliği açısından üstün olduğu görülmüştür (Lee ve ark. 1992).

Yapılan başka bir çalışmada İtalya’da Cenova yakınlarındaki Portofino parkında bulunan bir korulukta kanser sıklığı ve iyileşmiş kanserler değerlendirilmiştir. Bu koruluktaki 20 yaşından büyük bütün ağaçlarda bir ya da birden fazla kansere rastlanmış, bununla birlikte bu kanserlerin yaklaşık %90’ının iyileşmiş kanserler olduğu görülmüştür (Milgroom ve Cortesi 2004).

Güney Balkanlar’da *Cryphonectria parasitica*’nın vejetatif uyum tiplerinin çeşitliliği ve eş tip ile ilgili çalışma yapılmıştır. Buna göre Makedonya’dan 786 izolatu neredeyse

tamamının (%94) tek bir vejetatif uyum tipine dahil olduğu; ayrıca Yunanistan'dan izole edilen 379 izolatin tamamının bu vejetatif uyum tipinden (EU-12) olduğu saptanmıştır (Sotirovski ve ark. 2004).

Yapılan bir çalışmaya göre, Yunanistan'ın her yerine yayılmış 11 kestane popülasyonundan 627 izolat elde edilmiş ve bunların vejetatif uyum tipleri belirlenmiştir. EU-12, %88 oranla en baskın ve tipi olmuştur. Bunu %6 ile EU-2, %3 ile EU-10 ve %2 ile EU-1 takip etmiştir. EU-12, 11 popülasyonun tamamında bulunmuştur. Ayrıca doğal hipovirulens 11 popülasyonun tamamında incelenmiş sadece 5'inde bulunmuştur (Perlerou ve Diamandis 2006).

Yapılan diğer bir çalışmaya göre, Portekiz'de Madeira ve Azores takımadalarındaki kestane yetiştirilen bölgelerden izole edilen toplam 617 izolat arasında 9 vejetatif uyum tipi tespit edilmiştir. Buna göre EU-11 toplam izolatin %80,2'sini oluşturmasıyla en yaygın vejetatif uyum tipi olduğu bulunmuştur. Bunu %7,1 ile EU-12 ve %6,6 ile EU-66 takip etmiştir. Ayrıca 617 izolat arasında sadece 1 tane beyaz, hipovirus enfekteli *Cryphonectria parasitica* izolatu olarak belirlenmiştir. Bu hipovirulens oranının düşüklüğü hipovirus girişinin Portekiz'de çok yeni olduğuna bağlanabilirliği ifade edilmiştir (Bragança ve ark. 2007).

Yapılan diğer bir çalışmada Floransa yakınlarındaki üç kestane koruluğu 15 yıldır izlenmiştir. Kanserin varlığı, zararı, farklı tip kanserlerin değerlendirilmesi ve bölge ile ilişkileri belirlenmiştir. Buna göre bu hastalığın görülüş sıklığı enfekteli sürgünlerin %67-%99'u arasında değişmiştir ve kanser %6 ve %12 arasında ölüme neden olmuştur. İyileşmiş kanserler kaydedilmiş toplam enfeksiyonun %70-%88'ini, normal kanserler ise %9-%12,5'unu göstermiştir (Turchetti ve ark. 2008).

Yapılan başka bir çalışmada ise Kuzey İspanya ve Güneybatı Fransa'daki 43 kestane bölgesindeki *Cryphonectria parasitica* popülasyonlarının vejetatif uyum tipi analizi ortaya konmuştur. Buna göre Pyrenees Dağları'nın kuzeyindeki iki bölgede ve Pyrenees Dağları boyunca uzanan 3 bölgeden örnekler toplanmış ve elde edilen 682 izolatta 61 vejetatif uyum tipi gözlemlenmiştir. Mevcut izolatların %14'ü olan 95 izolat daha

önceden bilinen Avrupa vejetatif uyum tiplerinden hiçbirisiyle uyuşmamıştır (Robin ve ark. 2009).

Yapılan diğer bir çalışmaya göre, Kuzey İspanya'nın Asturias Eyaleti'nde elde edilen 778 izolatın neredeyse tamamı (%95) ve tip olan EU-1 ile uyumlu, %5'inin ise EU-13 ile vejetatif uyumlu olduğu görülmüştür (Gonzalez-Varela ve ark. 2011).

Kestane *Cryphonectria parasitica*'nın neden olduğu lezyonların gelişimi ve enfeksiyondaki mevsimsel etki ile ilgili yapılan bir çalışmada ise en fazla lezyon gelişimi ilkbaharda ve yazın yapılan inokulasyonlarda olmuştur ve lezyon gelişimine mevsimsel etki önemli bulunmuştur. Sürgünlerde lezyon gelişimi oranında maksimum ve minimum sıcaklıklar ile yağmurların toplamı önemli oranda ilişkili bulunmuştur (Guerin ve Robin 2003).

Aşılı Amerikan kestane ağaçlarında *Cryphonectria hipovirus 1(CHV-1)*'in yayılmasında *C.parasitica*'nın stroma üretimi ve orta derecede pigmentli izolatların önemi araştırılmıştır. Buna göre *CHV-1*'in dağılmasına, aşılı ağaçlarda stroma üretimine, orta derecede pigmentli izolatlarda ve bazı normal pigmentli izolatların mevcudiyeti katkıda bulunabilir sonucu çıkarılmıştır. Daha genel bir bakışla, *CHV-1*'in yayılmasında ve aşılı ağaçlarda yanıklığın yüksek düzeyde kontrolünde bu durumun önemli olabileceği vurgulanmıştır (Hogan ve Griffin 2008).

Yapılan diğer bir çalışmaya göre, Makedonya'da kestane kanseri fungusundaki *Cryphonectria hipovirus 1 (CHV-1)*'in oluşu incelenmiştir. Buna göre 19 farklı bölgeden elde edilen 488 *C.parasitica* izolatının 95 izolatında (%19,5) dsRNA içerdiği görülmüştür (Sotirovski ve ark. 2006).

Anagnostakis (1995) tarafından yapılan bir derlemede ise, kestanenin hastalık ve zararlarından bahsedilmiştir. Derlemenin giriş kısmında kestanenin Latince tür isimleri ve kestane ağacının hangi endüstri dallarında kullanıldığı tablo olarak verilmiştir. Ayrıca kestane için önemli olan mürekkep hastalığı (*Phytophthora cinnamoni*) ve

C.parasitica ayrıntılı olarak anlatılmış, kestane türlerinin karakteristik özelliklerinden bahsedilmiştir.

Slovakya’da yapılan bir çalışmada, *Cryphonectria parasitica* çoğunlukla ülkenin doğusundaki kestane yetiştirilen bölgelerinde meydana geldiği belirtilmiştir. *C.parasitica*’nın 8 ve tipinin tamamının EU-12 ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Doğal hipovirulens bulunmamıştır. Ancak, hipovirulent ırklar ile biyo kontrol başarılı olmuştur. Hipovirulent ırklarla kanser etkisinin kontrolü %22,1 ile %83,6 arasında değişmiştir (Juhasova ve Bernadovicova 2001).

Yapılan başka bir çalışmada; Bosna-Hersek, Doğu İspanya (Catalonia) ve Fransa’da *Cryphonectria parasitica*’nın vejetatif uyum tip çeşitliliği araştırılmıştır. *C.parasitica* popülasyonları her ülke içinde ve ülkeler arasında açık bir biçimde farklı olarak ortaya çıkmıştır. Bosna Hersek’te bölgeye bağlı olarak EU-1, EU-2, EU-12 ve EU-13 baskın ve tipleri, İspanya’da (Catalonia) ise EU-2 olarak saptanmıştır. Doğu Fransa’da baskın ve tipleri EU-1 ve EU-5 iken Batı Fransa’da EU-33 ve EU-72 olarak görülmüştür (Trestic ve ark. 2001).

Macaristan’da yapılan bir çalışmada ise, Sopron tepelerinin ormanlarındaki kestane kanseri yayılımı incelenmiştir. Buna göre enfeksiyon oranı %35 ‘e varan orman alt bölümlerinde farklı olarak görülmüştür. 6 vejetatif uyum tipi bulunmuştur ve bunların ikisi yaygın ve tepelerin tamamında ortaya çıkmıştır. Hastalığın uygulanabilir kontrolü için dönüştürülmüş hipovirulent ırklar denenmiştir. Çalışma yapılan alanda inokulasyondan 8 hafta sonra ağaçların %90’dan fazlası iyileşmiş olduğu görülmüştür (Vidoczi ve ark. 2007).

Hırvatistan’da yapılan bir çalışmaya göre, kestane kanserinde vejetatif uyum tipi çeşitliliği araştırılmıştır. Buna göre, Hırvatistan’ın kestane yetiştirilen kıyı ve karasal bölgeleri boyunca 10 kestane popülasyonundan 338 *Cryphonectria parasitica* izolatu elde edilmiştir. 18 vejetatif uyum tipi tanımlanmıştır. EU-1 ve tipi en yaygın olarak bulunmuş ve izolatların %42,9’unu oluşturmuştur. Bunu %21 ile EU-2 ve %14,2 ile

EU-12 izlemiştir. PDA ortamında bu 338 *C.parasitica* izolatu arasında 147 izolat beyaz, 99 izolat orta ve 92 izolat turuncu renkte olduğu görülmüştür (Kristin ve ark. 2008).

Slovenya'da yapılan bir çalışmaya göre yine, kestane kanserinde vejetatif uyum tipi çeşitliliği araştırılmıştır. Buna göre, 11 Sloven popülas-yondan 254 *C.parasitica* izolatu elde edilmiştir. 15 vejetatif uyum tipi tanımlanmıştır. EU-13 baskın vc tipi olarak bulunmuş ve bütün izolatlardan %40,1'ini oluşturmuştur. Bunu %19,7 ile EU-1, %12,2 ile EU-2 ve %9 ile EU-12 izlemiştir. Slovenya'da örneklenmiş en farklı popülas-yondaki vc tip çeşitliliği, Kuzey İtalya ve Hırvatistan'da daha önce bulunmuş popülas-yondan daha yüksek olduğu görülmüştür. PDA ortamında bu 254 *C.parasitica* izolatu arasında 110 tanesi beyaz, 34 tanesi orta ve 110 tanesi turuncu renkte olduğu görülmüştür (Kristin ve ark. 2011).

Yapılan bir başka çalışmada ise, İ-ran'da Guilan ilindeki kestane bölgesindeki *Cryphonectria parasitica*'nın zarar dağılı-mı ve şiddeti incelenmiştir. İnceleme için Guilan ilindeki 3 ana kestane yetiştirilen bölgeden 6 mevki sečilmiřtir ve kestane kanseri zararının oluşumu ve değerlendirilmesi rapor edilmiştir. Bu çalışma sırasında, *Cryphonectria* türlerinden toplam 250 izolat elde edilmiştir. Bunun 232 izolatu *C.parasitica* 18 izolatu *C.radicalis* olduğu belirlenmiş ve *C.parasitica* bütün bölgelerde gözlemlenmiştir (Ghezi ve ark. 2010).

Slovakya'da yapılan başka bir çalışmada, 2003-2008 yıllarında Slovakya'da karma kestane-meşe ormanlarında meşe üzerinde kestane kanseri oluşumu incelenmiştir. Yaşayan Quercus ağaçlarında enfeksiyonlar 7 yerleşim bölgesinin 4'ünde bulunmuştur. Meşeler üzerinde hastalık görölme olasılığı %1,3 ile %15,8 arasında değerlemektedir. Enfekte meşeler üzerindeki simptomlar (=belirti) kestane ile benzer olduğu ancak daha az göze çarptığı görülmüştür. *C.parasitica*'nın 22 virulent izolatu tamamı izole edilmiştir ve her yöreden yalnızca tek bir vc türü tespit edilmiştir. Tüm izolatlardan iki vc türü olan EU-12 ve EU-13'e ait olduğu belirtilmiştir (Adamcikova ve ark. 2010).

Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nde yapılan bir çalışmaya göre, *Cryphonectria parasitica*'nın 296 izolatu vejetatif uyum tipleri belirlenmiştir. Bu izolatlardan Karadeniz

Bölgesi'ndeki 11 ilin 32 farklı bölgesinden elde edilmiştir. Vejetatif uyum tipi olan EU-1 bütün illerde saptanmıştır. EU-1 bütün izolatların %90,8'ini oluşturmuştur. Her bir vc tipinin hipovirulent izolatları bulunmuştur ve bu izolatlar 11 ilin 9'unda saptanmıştır (Akıllı ve ark. 2009).

Türkiye kestane üretiminin %35'ini oluşturan Aydın ilinde yapılan bir çalışmaya göre, kestane kanserinin varlığı incelenmiş ve kabuk örnekleri toplanmıştır. Genel olarak, virulent tip kanserler gözlemlenmiştir. 31 köyün 22'sinde hastalık bulaşıklığı bulunmuştur (Erincik ve ark. 2008).

Aydın ilinde yapılan bir başka çalışmaya göre, 8 alt populasyondan elde edilen 213 *Cryphonectria parasitica* izolatların tamamı vejetatif uyumluluk ve popülasyonun eş tiplerini belirlemek için kullanılmıştır. Sonuçlar gösteriyor ki bu izolatlar Avrupalı vc tiplerinden EU-1 veya EU-12 ile vejetatif uyumludur. Her iki vc tipinde hemen hemen tüm altpopulasyonlarında bulunmasına rağmen, sıklıkları lokasyonlara göre değişmiştir. Düşük vc tip çeşitliliği, Aydın Dağları'ndaki *Cryphonectria parasitica* popülasyonunun hipovirus istilası için son derece uygun olabildiğini ve böylece başarılı bir biyolojik kontrol için yüksek bir potansiyel sağladığını göstermiştir (Erincik ve ark. 2011).

Delen (1979)' in yapmış olduğu 'Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica*) Hastalığının Yayılışı ve Biyolojisi' isimli doktora çalışması Ziraî Mücadele ve Ziraî Karantina Genel Müdürlüğü İzmir Bölge Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün eseri olarak basılmıştır. Türkiye'nin Marmara Bölgesinde 1969- 1972 yıllarında Erenköy (İstanbul) ve Bornova (İzmir) Bölge Ziraî Mücadele Araştırma Enstitülerinde yapılan bu çalışmada kestane kanserinin yayılış alanı, organizmanın taksonomik incelemesi, hastalık etmeninin biyolojisi ve önemli kestane çeşitlerindeki tannin konsantrasyonlarının patojenin gelişimine etkisi incelenmiştir. Çalışmanın amacı ise, hastalığın yayılış alanını saptayarak daha fazla bulaşmayı önleyici karantina tedbirlerinin alınabilmesi; taksonomisi, biyolojisi ve tannin yoğunluklarıyla ilişkisini araştırarak da ileriki çalışmalara ışık tutabilmek olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada, Kocaeli ili, Karamürsel ilçesine bağlı Tepeköy'de kültürü yapılan 11 çeşit esas alınmıştır. Marmara Bölgesi'nde patojenin yayılış alanını saptamak amacı ile yapılan

çalışmada, ortalama bulaşık ağaç yüzdeleri, İstanbul ilinde % 33,4 , Kocaeli ilinde %27,7 , Sakarya ilinde %27,0 , Bursa ilinde %11,3 , Bolu ilinde % 53,1 olarak saptanmıştır. Bu çalışma aynı zamanda Türkiye’de kestane kanseri konusunda yapılan ilk doktora çalışmasıdır.

Kestane kanseri konusunda Türkiye’de son yapılan doktora çalışması ise 2007- 2008 yıllarında Karadeniz Bölgesinde Akıllı (2008) tarafından yapılmıştır. ‘Karadeniz Bölgesi’nde Kestane Kanseri (*C.parasitica*)’nin Biyolojik Mücadelesi Üzerine Araştırmalar’ isimli doktora çalışmasında, Karadeniz Bölgesi’nde kestanenin yaygın olduğu Artvin, Bartın, Giresun, Düzce, Kastamonu, Ordu, Rize, Samsun, Sinop, Trabzon, Zonguldak, illerinde yürütülmüştür. Bu bölgeden elde edilen 294 izolattan 25’inin hipovirulent olduğu saptanmıştır. Karadeniz Bölgesi’nde kestane kanseri etmeninin 5 EU uyum grubu içinde yer aldıkları en yaygın uyum gruplarının EU-1 ve EU-12 olduğu belirlenmiştir. Hipovirulent izolatların çoğunluğu EU-1 uyum grubuna girmişlerdir.

Erdin ve Köse tarafından yapılmış bir derlemede, kestane kanserinin yayıldığı alanlar, bu hastalığın sınıflandırılması, bu sınıflandırılmasının amacı ve biyolojisi hakkında bilgiler verilmiştir. Bu hastalıkla ilgili sentetik dayanıklı genlerin kullanılması, hipovirulens (virulensin azaltılması) prosesi gibi koruma tedbirleri ve mücadelesi konusu anlatılmıştır. Hatta bu derlemede son 20 yıldır bilim adamları tarafından, mikovirüslerle kestane kanseri etmeni olan mantarı enfekte ederek, mantarı zayıflatmayı denemesinden bahsedilmiştir (Erdin ve Köse 2003).

Yapılan bir başka çalışmada; Bursa ili kestane ağaçlarında kestane kanserinin yaygınlık oranı ve bazı Türk kestane çeşitlerinin hastalığa karşı reaksiyonları araştırılmıştır. Bu çalışma, Bursa ili kestane alanlarında ve Yalova ilindeki Atatürk Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü’nde 1995-1996 yıllarında yapılmıştır. Çalışma sonunda *Cryphonectria parasitica* ile bulaşık ağaç sayısı Bursa’nın Cumalıkızık Köyünde %70, Hamamlıkızık Köyünde %30 ve Babasultan Köyünde ise %100 olarak saptanmıştır. Ayrıca patojene karşı Vakit ve Dursun kestanelerinin denemede kullanılan diğer çeşitler

olan Firdola, Osmanoğlu, Hacı Ömer, Sarı Aşlama ve Seyrek Diken çeşitlerinden daha dayanıklı oldukları belirlenmiştir (Baykal ve ark. 2000).

Kestane kanserine karşı mücadele olanakları ile ilgili bir çalışmada ise, Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgelerinin kestane kanseri ile enfekte olmuş kestane bahçelerinden toplanan 324 izolat kullanılmıştır. Toplam olarak 2 v-c grup ve 14 hipovirulent izolat bulunmuş ve bu Türkiye’de *C. parasitica*’nın hipovirulensinde ilk kayıt olmuştur. dsRNA izolasyonları 14 hipovirulent izolatın 7’si için yapılmış ve bunların nakledilebilir dsRNA içerdiği ortaya konmuştur. Biyolojik kontrol çalışmalarına yönelik, virulent ve 7 hipovirulent izolat bir arada veya tek başına olarak genç saksı bitkilerine inokule edilmiştir. Bu bitkilerin inokulasyonundan 5 hafta sonraki değerlendirme göstermiştir ki, inokulasyondan 1-2 hafta sonra virulent ırkla inokule edilmiş bitkiler ölmeye başlamıştır. Öncelikle bitkilerin kabuğuna inokule edilmiş hipovirulent ırkların lezyonları oluşmuş, daha sonra lezyon gelişimi kallus dokusunun oluşumu nedeniyle durmuş ve lezyon iyileşmeye başlamıştır. Hem virulent hem de hipovirulent ırkların bir arada inokule edildiği bitkilerde lezyon gelişimi durmuştur fakat kallus dokusu oluşumu çok net olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar, Türkiye’deki kestane kanserinin biyolojik kontrolünü bu hipovirulent izolatlar tarafından yürütülebildiğini göstermiştir (Çeliker ve Onoğur 2001).

Çeliker (2000)’in yapmış olduğu ‘Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.)’nin Hipovirulent İrklarla Savaşımı Üzerinde Araştırmalar’ isimli doktora tezinde, Bornova ve Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitülerinin Projeleri ile Doktora Projesi kapsamında Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgelerinin kestane kanseri ile bulaşık kestaneliklerden toplanan 324 *Cryphonectria parasitica* izolatı kullanılmıştır. Hipovirulent ırkları belirlemek için 324 izolat fenotipik özelliklerine göre virulent ya da hipovirulent olarak gruplandırıldığında; 310 tanesi virulent, 14 izolat olası hipovirulent ırklar olarak nitelendirilmiştir. Virulent izolatlar arasında gerçekleştirilen vejetatif uyum çalışması ile örneklerin toplandığı kestaneliklerde 2 vejetatif uyum grubu belirlenmiştir. İzolatların %96’sının v-c 1, %4’ünün v-c 2 uyum grubuna ait olduğu ortaya konmuştur. Örnekleme yapılan kestaneliklerin hepsinde v-c 1 uyum grubu bulunurken, sadece 1 tanesinde v-c 2 uyum grubu da bulunmuştur. 14 olası hipovirulent izolat konversiyon

(=dönüştürme) yetenekleri yönünden testlendiğinde, bunların v-c 1 uyum grubuna ait izolatları dönüştürebildiği saptanmıştır. 14 izolattan 7 tanesinin dsRNA izolasyonu Dr. Ursula HEINIGER tarafından yapılmış ve 7 izolatin hipovirulent olduğu onaylanmıştır. Bu sonuçlar kestaneliklerimizde biyolojik mücadele çalışmalarına başlanabileceği konusunda ümit vermiştir. Bu çalışma Hipovirulent *C. parasitica* ırklarının varlığı konusunda Türkiye için ilk kayıttır. Fidanlarda gerçekleştirilen virulenslik çalışmasında dsRNA izolasyonu yapılan H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7 hipovirulent ırkları kullanılmıştır. Tüm izolatların oluşturduğu lezyonlar kallus oluşumu nedeniyle küçülmüş ya da kapanmıştır. Hastalık oluşumunun hipovirulent ırklarla kontrolü çalışması fidanlarda, Nisan ve Temmuz 1999'da açılan 2 deneme ile gerçekleştirilmiştir; sadece virulent ırk ile inokule edilen fidanlar kururken, sadece hipovirulent ırkla inokule edilen fidanlarda belirgin kallus dokusu oluşmuş, meydana gelen lezyonlar küçülmüştür. Fidanların hipovirulent ve virulent izolatlarla birlikte inokule edilmesi halinde kanser gelişimi durmuş ve kallus dokusu oluşmaya başlamış, fidanlar gelişimlerini sağlıklı bir şekilde sürdürmeye devam etmişlerdir. Bu sonuçlar kestaneliklerimizin önemli bir sorunu olan kestane kanseri hastalığının hipovirulent ırklarla kontrol edilebileceğini ortaya koymuştur.

Yapılan başka bir çalışmada, Manisa ili Hacısalar köyündeki bir kestanelikte deneme alanında hastalık belirtisi taşıyan 25 kestane ağacından elde edilen 25 izolatin fenotipik özellikleri, vejetatif uyum grupları, HiSF1 kodlu hipovirulent ırkın bu izolatları dönüştürme yeteneği araştırılmıştır. Sonuç olarak, deneme alanında sadece virulent (turuncu renkli) *C. parasitica* izolatlarının var olduğu, bu izolatların hepsinin Avrupa uyum grubu izolatlarından sadece EU-1 ile vejetatif uyumlu olduğu saptanmıştır. Dönüştürme testinde ise, EU-1 uyum grubuna ait olan HiSF1 25 virulent izolatin hepsini beyaz forma dönüştürmüş, onlara hipovirulent karakter kazandırmıştır. Ayrıca kestanelikteki genç ağaçların üzerinde mevcut kanserlerin boyutları ölçüldükten sonra, bu kanserlerin çevresine HiSF1'in geliştiği koloni diskleri inokule edilmiş ve aylık dönemlerle kanserli dokudaki boyut değişimleri ölçülmüştür. Sonuçta, HiSF1 ile inokule edilen kanserlerin çoğunda kallus oluşumuna bağlı küçülme saptanırken, bazılarında aktif kanserlerin yüzeysel iyileşmiş kanser tipine dönüştüğü kaydedilmiştir (Çeliker ve Onoğur 2011).

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmanın ana materyallerini, Bursa ili sınırları içerisindeki üç farklı bölge olan Yıldırım ilçesi Cumalıkızık Köyü, Osmangazi ilçesi Yiğitalı Köyü ve Karacabey ilçesi Kurşunlu Köyü sınırları içerisindeki kestane ağaçları ile bu bölgelerdeki hastalıklı ve iyileşen kestane ağaçlarından elde edilen virulent ve hipovirulent *Cryphonectria parasitica* izolatları ve bunların etkinliklerinin denendiği kestane çeşitleri olan, Kara Aşı, Sarı Aşı (=Osmanoğlu) ve İtalyan Sarısı (=Maraval 74) oluşturmuşlardır (Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3).



Şekil 3.1. Kara Aşı çeşidinin meyve yapısının genel görünümü



Şekil 3.2. Sarı aşı (=Osmanoğlu) çeşidinin meyve yapısının genel görünümü



Şekil 3.3. İtalyan sarısı (=Maraval 74) çeşidinin meyve yapısının genel görünümü

3.2 Yöntem

3.2.1 Kestane kanserine neden olan *Cryphonectria parasitica* fungusunun virulent ve hipovirulent izolatlarının izolasyonu

Çalışma kapsamında hastalık surveyinin yapıldığı yerler ve tarihleri Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Bursa ili sınırları içerisinde kestane kanseri hastalığı ile ilişkili yapılan survey çalışması yer ve tarihleri

Yer	1. Survey	2. Survey
Bursa / Osmangazi Yiğitali Köyü	14.09.2011 Çarşamba	09.05.2012 Çarşamba (sabah)
Bursa / Yıldırım Cumalıkızık Köyü	26.10.2011 Pazartesi	09.05.2012 Çarşamba (öğleden sonra)
Bursa / Karacabey Kurşunlu Köyü	16.09.2011 Cuma	23.05.2012 Çarşamba

Materyal kısmında belirtilen her bir bölgeden 10’ar ağaç olmak üzere toplam 30 kestane ağacının hastalıklı ve iyileşmiş dal ve gövdelerinden olmak üzere öncelikle, 3-5cm’lik kabuk parçaları alınmış ve her dal değişiminde örnek alınan bıçak %1’lik NaOCl içeren sıvı içerisinde daldırılarak sterilizasyonu yapılmıştır (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5).

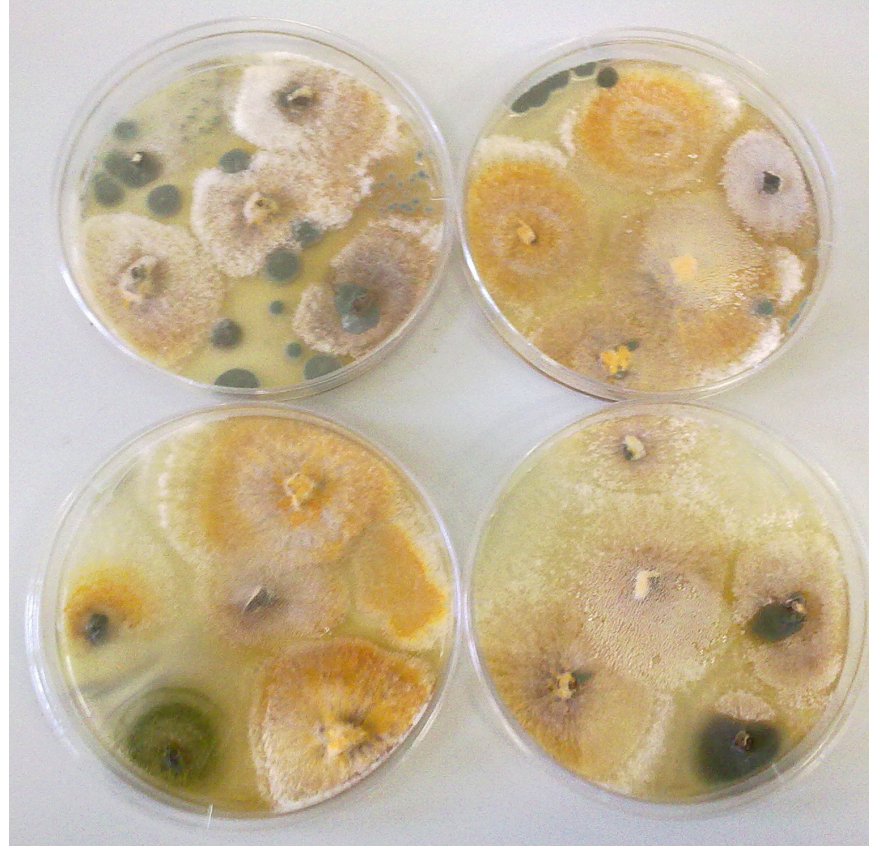


Şekil 3.4. Kanserli bir yaradan izolasyon için örnek alınması



Şekil 3.5. Örnek alınacak dal ve ağaç değişimlerinde örneğin alındığı bıçağın %1'lik NaOCl içeren sıvı ile sterilizasyonu

Daha sonra laboratuarda bu örnekler 2-5mm büyüklüğünde kesitlere dönüştürülmüştür. Alınan bu kesitler önce %1'lik sodyum hipoklorit (NaClO) içerisinde en az 1 dk, daha sonra 3 kez yine birer dakika olmak üzere steril saf suda tutularak yüzey dezenfeksiyonları yapılmıştır. Daha sonra bu parçalar, içerisinde steril kurutma kağıdı bulunan petrilere alınarak kurutulmuştur. Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış ve kurutulmuş bu parçalar daha sonra her bir ağaç için içerlerinde Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamı bulunan 5'er petri ve her bir petrinin içine 5 adet parça gelecek şekilde ekilerek 24-25° C sıcaklıkta 7 gün inkübasyona, daha sonrada 5-7 gün laboratuarda tezgah üzerinde gün ışığına maruz bırakılmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Kanserli olduğu düşünölen kestane kabuklarından yapılan fungal izolasyon sonucu gelişen fungus kolonilerinin görünümü

Gelişen funguslardan küçük parçalar alınarak PDA ortamında saflaştırma yöntemiyle çoğaltılma işlemi yapılmış ve izolatlar buzdolabında +4°C' de daha sonraki çalışmalar için muhafaza altına alınmıştır.

3.2.2. *Cryphonectria parasitica* izolatlarının bazı kestane çeşitlerindeki etkililiğinin belirlenmesi

Karacabey ilçesi Kurşunlu köyü kestane alanından izole edilen bir hipovirüent izolatın bazı kestane çeşitlerindeki doğal ve aktif kanser yaralarına karşı etkililiği öncelikle izole edildiği ormanlık alanda denenmiş, daha sonrada bu ağaçlardan alınan küçük dal parçaları üzerinde petri koşullarında tekrar araştırılmıştır. Petri koşullarında yapılan çalışmada aynı bölgeden izole edilen bir virüent izolatın etkililiği ve bunun aynı çeşitler üzerindeki virülensi de belirlenmiştir.

3.2.2.1. Aşılı kestane ormanında bir hipovirüent izolatın doğadaki aktif kanserlere karşı bazı çeşitlerdeki etkililiğinin belirlenmesi

Bu işlem Bursa ili Karacabey ilçesi Kurşunlu köyü sınırları içerisindeki kestane ormanının gençleştirme budaması sonrası yapılan aşılama ile kültür kestanesine dönüştürülen üç çeşit Sarı Aşılı (=Osmanoğlu), Kara Aşılı ve İtalyan Sarısı (=Maraval 74) üzerinde yapılmıştır.



Şekil 3.7. Bir hipovirüent izolatın doğal ve aktif kanser yarası üzerinde denendiği aşılı kestane ağaçlarından birinin genel görünümü

Her bir çeşitten 3'er farklı ağaç üzerinde ve her bir ağaçtan birer dal üzerinde bulunan aktif kanserli yerler tespit edilerek silinmeyen kalem ile işaretlenmiştir. Daha sonra bu sınırları belirlenmiş aktif kanserli yerlerin yaklaşık 2-3 mm kadar yakınına 5 mm çapındaki mantar delicisi (=corkborer) yardımıyla 2'şer delik açılmıştır. Bu deliklere yine mantar delicisi yardımı ile petri kabındaki PDA ortamında, 7 gün süre ile geliştirilmiş hipovirulent izolattan aynı büyüklükte kesitler alınarak yerleştirilmiştir (Şekil 3.8 ve 3.9).



Şekil 3.8. PDA ortamı içeren petri kaplarında hipovirulent olduğu düşünülen izolatın uygulama öncesi görünümü



Şekil 3.9. PDA ortamı içeren petri kaplarında hipovirulent olduğu düşünülen izolatın uygulama sonrası görünümü

Son olarak da üzerleri şeffaf polietilen bantla kapatılmış ve bu ağaçlar ile işlemin yapıldığı dallar daha sonraki kontrollerde kolay bulunabilmeleri için ayrıca işaretlenmişlerdir.



Şekil 3.10. Bir hipovirulent izolatın doğal ve aktif kanser yarası üzerinde denendiği ağaçlardan birinin kolay bulunabilmesi için yapılan işaretlemenin görünümü

3.2.2.2. Petri kapları içerisindeki küçük kesik dal parçaları üzerinde *Cryphonectria parasitica*'nın virüent ve hipovirüent izolatlarının bazı kestane çeşitlerindeki etkililiklerinin belirlenmesi:

Bu çalışma 2-3 cm çapında ve 3-4 cm uzunluğunda olan ve ortadan ikiye bölünerek oluşturulan kestane dal parçaları ile Lee ve ark. (1992)' dan modifiye edilerek yapılmıştır. Dal parçaları aşılı kestane ormanında yapılan çalışmadan elde edilmiş olup, yine aynı çeşitler üzerinde (Kara Aşısı, Osmanoğlu ve İtalyan Sarısı) yürütülmüştür. Yine benzer şekilde 5 mm çapındaki mantar delicisi ile kabuklar üzerinde delikler açılmış ve bu deliklere 3.2.2.1'de belirtildiği şekilde fungus inokulasyonları yapılmıştır. Bununla birlikte, bu çalışmalar 9cm. çapındaki içerisinde steril kurutma kağıtları bulunan petri koşullarında yürütülmüştür (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Kesik dal yöntemine göre kestane dalları üzerinde *Cryphonectria parasitica* izolatlarının patojenisitelerinin ve birbirleri ile etkileşimlerinin görünümü

Bu petriler daha sonra içerlerindeki kurutma kağıtları tamamen ıslanacak fakat göllendirilmeyecek şekilde steril saf su ile sulandırılmış ve petri çevresi parafilmle kapatılarak 25°C'deki inkübatörde inkübasyona bırakılmışlardır. Bunun nedeni ortamda yaklaşık %95 oranında bir nemin bulunmasının sağlanmasıdır. Petri içerisine Şekil 3.11' de görüldüğü gibi 4 dal parçası konulmuştur. Bunlardan birine yalnızca virüent, diğerine hipovirulent, bir diğerine virüent+hipovirulent inokulasyonu yapılmıştır. Sonuncusuna ise kontrol amaçlı sadece aynı büyüklükte fungus içermeyen temiz agar parçası inokule edilmiştir. Bu çalışma her bir petri kabı bir tekerrür olacak şekilde 4 tekkerrür olarak yapılmıştır.

3.3. Sonuçların değerlendirilmesi

Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesinde temel istatistik kuralları ve bazı bitki koruma uygulamalarından (Karman 1971) öncelikle yararlanılmıştır. Verilerin varyans analizi ise, MINITAB ve MSTAT-C paket programlarından yararlanılarak yapılmıştır. Denemeden elde edilen verilerin istatistiki analizinde 0,05 önemlilik seviyesine göre Duncan testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bursa ili sınırları içerisindeki üç farklı kestane üretim alanında yürütülen bu çalışmada, elde edilen sonuçlar, aşağıda belirtilen ana başlıklar halinde verilebilir.

4.1 Kestane kanserine neden olan *Cryphonectria parasitica* fungusunun virulent ve hipovirulent izolatlarının izolasyon sonuçları

Çalışma süresince kestane ağaçlarının aktif veya iyileşmiş olduğu düşünülen kestane kanseri belirtisi gösteren yerlerinden alınan parçalardan Çizelge 4.1’de özetlendiği oranda *C. parasitica* fungusuna rastlanmıştır.

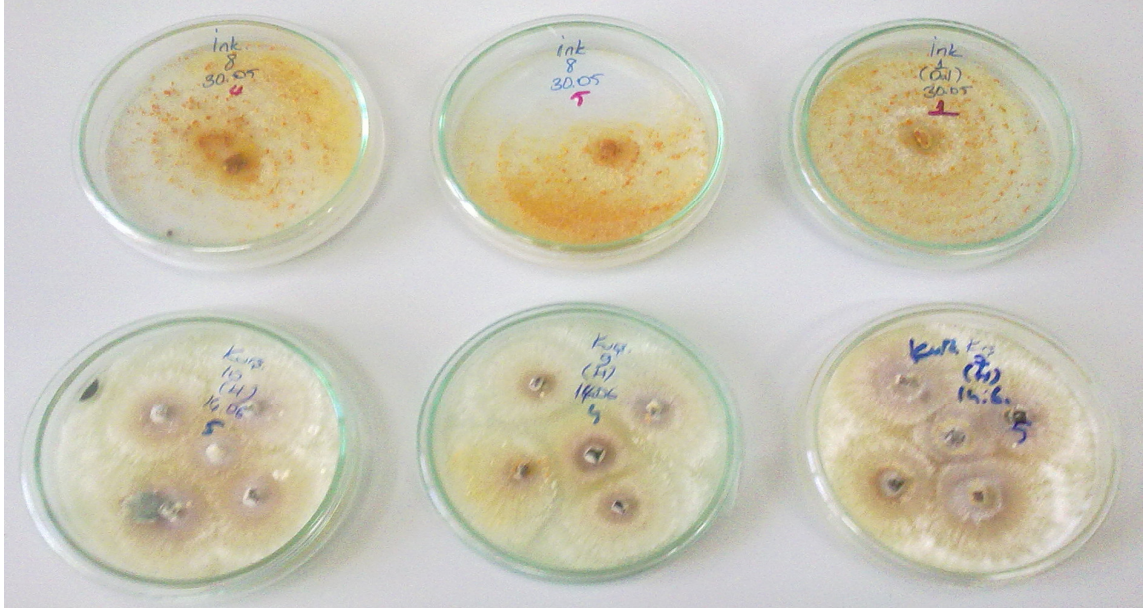
Çizelge 4.1. Bursa ili sınırları içerisindeki üç farklı bölgedeki hastalıklı kestane ağaçlarından yapılan izolasyonlarda (2011 – 2012) *Cryphonectria parasitica* fungusunun izolasyon sıklıkları (%)

Kestane Kanseri İzolasyon Sıklıkları (%)			
örnek no	Yiğitali*	Cumalıkızık*	Kurşunlu*
1	52 - 60	52 - 100	100 - 64
2	48 - 56	60 - 28	32 - 24
3	56 - 8	60 - 40	12 - 20
4	52 - 30	52 - 44	64 - 28
5	24 - 28	100 - 52	48 - 52
6	68 - 28	100 - 60	24 - 24
7	36 - 52	60 - 16	64 - 30
8	56 - 40	76 - 20	56 - 32
9	96 - 54	48 - 72	56 - 74
10	24 - 72	92 - 48	40 - 60
Ortalama	51,20 - 42,80	70 - 48	49,60 - 40,80

* İlk rakamlar birinci, ikinci rakamlar ikinci survey sonuçlarını göstermektedir.

Çizelge 4.1’de de görülebildiği gibi aranan fungusun yakalanma oranı bölge ortalamaları olarak %40,8 ile %70 arasında değişken bulunmuştur. Bu durum öncelikle, örnek alma işleminin doğru yerlerden yapıldığını göstermektedir. İkinci olarak dikkat çeken bulgunun ise yakalanma oranının Cumalıkızık’ta daha yüksek olduğudur. Buradaki ağaçlar da yara yerinin temiz ve görünür olması, örnek almada başarı oranını arttırmış olabilir. Alınan örneklerden *C. parasitica*’dan başka funguslara da rastlanmıştır. Ancak bunlardan hiç birinin oranı *C. parasitica* kadar baskın

olmadığından bu çalışmada dikkate alınmamışlardır. Bazı örnek parçalarında ise hiçbir fungusu rastlanmamıştır. İzole edilen *C. parasitica*'nın virulent ve hipovirulent olabileceği düşünülen koloni gelişimleri Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi değerlendirilmiştir.



Şekil 4.1. Çalışma süresince hastalıklı kestane dallarından yapılan izolasyonlarda izole edilen *Cryphonectria parasitica* izolatlarının genel görünümü. Üst sıradakilerin virulent (Turuncu), alt sıradakilerin ise hipovirulent (Beyaz veya krem rengi) olabileceği öngörülmüştür

Bu çalışmada elde edilen toplam 161 izolatın 142'si virulent ve 19'u hipovirulent olarak toplanmıştır. Burada görüldüğü gibi izolasyonlarda da, genelde virulent izolat sayısının daha fazla olduğu, bazı koloni gelişimlerinin ise hem virulent hem de hipovirulent ırk içerecek şekilde karışık geliştikleri gözlenmiştir. Bu konuda (Bissenger ve ark. 1997) yaptıkları bir çalışmada hipovirulent izolat izolasyonu arttıkça o bölgede kanserden ölüm oranının azaldığını belirlemişlerdir. Bu çalışma süresince, gerek karışık gelişen gerekse saf olduğu düşünülen kolonilerden, yeteri kadar izolat saflaştırılarak, ayrı ayrı PDA ortamı içeren eğik agarlı tüplere aktarılmış ve bu tüplerde geliştirildikten sonra, daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C' deki buzdolabında muhafaza altına alınmışlardır.

4.2. *Cryphonectria parasitica* izolatlarının bazı kestane çeşitlerindeki etkililiği

Karacabey ilçesi Kurşunlu köyü kestane alanından izole edilen bir hipovirulent izolatın bazı kestane çeşitlerindeki doğal ve aktif kanser yaralarına karşı etkililiği öncelikle izole edildiği ormanlık alanda denenmiş, daha sonrada bu ağaçlardan alınan küçük dal parçaları üzerinde petri koşullarında tekrar araştırılmıştır. Petri koşullarında yapılan çalışmada aynı bölgeden izole edilen bir virulent izolatın etkililiği ve bunun aynı çeşitler üzerindeki virülensi de araştırılmıştır.

4.2.1. Aşılı kestane ormanında bir hipovirulent izolatın doğadaki aktif kanserlere karşı bazı çeşitlerdeki etkililiği

Yabani kestaneliklerin üç farklı çeşitle aşılınması sonucu oluşturulan kültür çeşitlerinde görülen doğal aktif kanser yaralarına karşı yine o bölgeden elde edilen bir hipovirulent ırkın etkililiği araştırılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2. Bir hipovirulent izolatın aşılı kestane ormanındaki bazı kestane çeşitlerindeki doğal aktif kanser yaralarına karşı etkililiği (Bursa, Karacabey, Kurşunlu Köyü – Ekim - Aralık 2012)

Çeşit	No	Doğal Aktif Kanser Yarasının Gelişimi (mm) (KONTROL)		Doğal Aktif Kanser Yarasının Yapay İnokulasyonlu Bir Hipovirulent <i>C. parasitica</i> İzolatına rağmen gelişimi (mm)	
		13.11.2012	25.12.2012	13.11.2012	25.12.2012
Sarı Aşı (=Osmanoğlu)	1	13	20	10	12
	2	00	00	00	00
	3	00	00	00	00
Kara Aşı	1	00	00	00	00
	2	00	00	00	00
	3	13	18	00	00
İtalyan Sarısı (=Maraval 74)	1	00	00	00	00
	2	00	00	00	00
	3	10	11	00	00

Çizelge 4.2’de açıkça görülebildiği gibi, üç farklı kestane çeşidinin üç ayrı dalındaki doğal koşullarda bulunan aktif kestane kanseri yarasına karşı yapay olarak laboratuvar koşullarında geliştirilip bulaştırılmış *C. parasitica*’nın hipovirulent olduğu düşünülen ırkının etkililiği Sarı Aşı(=Osmanoğlu) çeşidinde daha az olarak saptanabilmiştir. Burada aktif kanser boyu birinci kontrolde (13.11.2012) 13 mm, ikinci kontrolde (25.12.2012) 20 mm bulunmuşken bu uzunluk hipovirulent ırk bulaştırılması yapılmış tarafta birinci kontrolde (13.11.2012) 10 mm, ikinci kontrolde (25.12.2012) ise 12 mm olarak ölçülmüştür. Bu durum Şekil 4.2 ve 4.3’de daha açık olarak görülmektedir.



Şekil 4.2. Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidinde hipovirulent aşılamaından yaklaşık bir ay sonraki kanser yarasının görünümü (sağdaki iki daire hipovirulent aşılamaının yapıldığı yeri göstermektedir)



Şekil 4.3. Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidinde hipovirulent aşılamasından yaklaşık iki ay sonraki kanser yarasının görünümü (sağdaki iki daire hipovirulent aşılamanın yapıldığı yeri göstermektedir)

Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 dikkatlice incelendiğinde aşılanmanın yapıldığı gün mavi kalemle işaretlenen kanser gelişimi sınırının daha sonraki kontrollerde sol tarafta yukarıya doğru gelişmesine devam ederken hipovirulent ırk inokulasyonunun yapıldığı sağ tarafta aynı hızla gelişmeye devam edemediği görülmektedir. Bu durum bu bölgede oluşan anastomosis nedeni ile kanserin hızının kesilmiş olabileceğini düşündürmektedir. Benzer durumun Kara Aşı çeşidi içinde oluşmuş olup, birinci kontrolde 13 mm olan aktif kanser gelişimi, ikinci kontrolde 18 mm olarak ölçülmüş, buna karşılık hipovirulent ırk inokulasyonunun yapıldığı tarafta kanser gelişimi gözlenmemiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Kara Aşı çeşidinde hipovirulent aşılamasından yaklaşık bir ay sonraki kanser yarasının görünümü (sağdaki iki daire hipovirulent aşılamanın yapıldığı yeri göstermektedir)

Şekil 4.4.'de deneme başlangıcında mavi kalemle işaretlenen kanser üst gelişim çizgisinin ikinci kontrolde solda ilerlemeye devam ettiği, sağ tarafta ise hipovirulent ırk inokulasyonu sonucu gelişimine devam edemediği görülmektedir. İtalyan Sarısı (=Maraval74) çeşidindeki kanser boyu gelişimi diğer iki çeşide göre daha yavaş bulunmuştur. Örneğin birinci kontrolde 10 mm olan kanser yarası uzunluğu ikinci kontrolde de 11 mm olarak ölçülmüştür. Hatta bazı tekerrürlerde (=dallarda) hiç kanser gelişimi gözlenmemiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. İtalyan sarısı (=Maraval74) çeşidinde hipovirulent aşılamasından yaklaşık iki ay sonraki kanser yarasının görünümü (sağdaki iki daire hipovirulent aşılamasının yapıldığı yeri göstermektedir)

Şekil 4.5'te görülen başlangıç çizgisinin üzerine geçemeyen kanser yarası boyları 0 mm gelişim olarak kaydedilmiştir. Bu durum diğer iki çeşidin ikişer tekrüründe de (=dalında da) gözlemlenmiştir. Bunun nedeninin kışa doğru ağaç fizyolojisindeki yavaşlama ve hatta durgunlukla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle, bu tür denemelerin Mart–Haziran dönemlerinde yapılmasının daha verimli olabileceğini aklımıza getirmektedir. Nitekim Guerin ve Robin (2003) kestanede *Cryphonectria parasitica*'nın neden olduğu lezyonların gelişimi ve enfeksiyondaki mevsimsel etki ile ilgili yaptıkları bir çalışmada en fazla lezyon gelişimini ilkbahar ve yazın yapılan inokulasyonlarda saptamışlar ve lezyon gelişimine mevsimsel etkiyi önemli bulmuşlardır.

4.2.2. Petri kapları içerisindeki küçük kesik dal parçaları üzerinde *Cryphonectria parasitica* ‘nın virulent ve hipovirulent izolatlarının bazı kestane çeşitlerindeki etkililikleri:

Bu amaçla tezin yöntem bölümünde ayrıntılı şekilde belirtildiği gibi aynı bölgeden elde edilen *C. parasitica*’nın bir virulent bir de hipovirulent izolatı ile üç farklı çeşitteki etkinlikleri Çizelge 4. 3’ de özet olarak verilmiştir.

Çizelge 4.3. Kesik kestane dal parçaları üzerinde *Cryphonectria parasitica*’nın virulent ve hipovirulent izolatlarının etkililiği

Çeşit	Uygulamadan 7 Gün Sonra Dal Boyunca Kanser Gelişimi (mm)					
	Tekerrür No	V-1*	V-2*	HV-2*	HV-1*	Kontrol
Sarı Aşı (=Osmanoğlu)	1	6	6	6	6	0
	2	3	3	3	4	0
	3	3	3	3	3	0
	4	3	3	3	3	0
	Ortalama	3.75 a	3.75 a	3.75 a	4.0 a	0
Kara Aşı	1	2	2	2	4	0
	2	3	2	2	2	0
	3	3	1	2	3	0
	4	2	2	3	3	0
	Ortalama	2.50 ab	1.75 b	2.25 ab	3.0 ab	0
İtalyan Sarısı (=Maraval 74)	1	2	2	2	1	0
	2	1	1	1	1	0
	3	2	2	2	4	0
	4	1	2	2	1	0
	Ortalama	1.50 b	1.75 b	1.75 b	1.75 b	0

V-1 : Virulent izolatın birinci uygulamasının etkililiği

V-2 : Virulent izolatın ikinci uygulamasının etkililiği

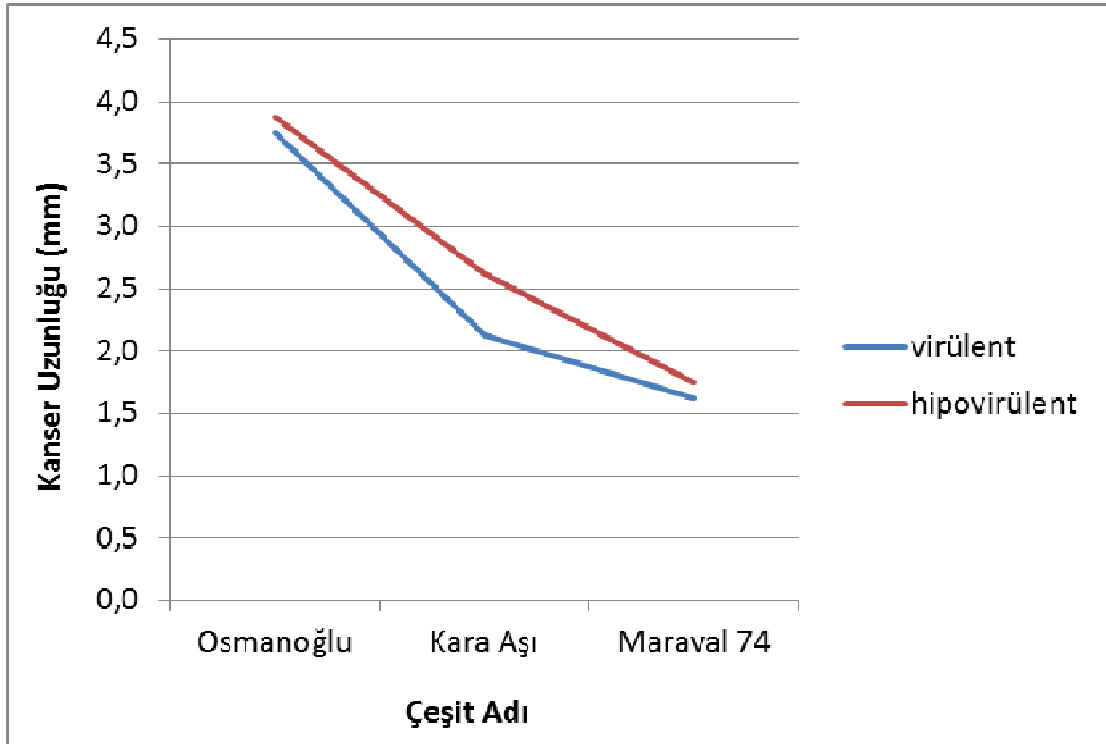
HV-1 : Hipovirulent izolatın birinci uygulamasının etkililiği

HV-2 : Hipovirulent izolatın ikinci uygulamasının etkililiği

K : Kontrol uygulaması (=Sadece fungus içermeyen agar uygulaması)

* : İstatiksel değerlendirmeler dikey olarak çeşit bazında (=sütuna göre) %5 hata payı ile gruplandırmalar şeklinde yapılmıştır.

Çizelge 4.3 dikkatlice incelendiğinde Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidindeki kanser gelişimlerinin diğer iki çeşide göre, daha fazla olduğu, bu çeşidi sırasıyla Kara Aşı ve İtalya Sarısı (=Maraval74) çeşitlerinin izlediği görülmektedir. Çift tekrarlı olarak yapılan bu testte gerek virulent gerekse hipovirulent izolatların oluşturdukları kanser uzunlukları çeşit bazında benzer sonuçları vermiş ve %95 güvenle kansere duyarlılık sıralaması Sarı Aşı (=Osmanoğlu), Kara Aşı ve İtalyan Sarısı (=Maraval74) şeklinde oluşmuştur. Bu durum Şekil 4.6’da daha açık olarak görülebilmektedir.



Şekil 4.6. Bazı kestane çeşitlerinin kesik dal yöntemine göre *Cryphonectria parasitica* fungusunun virulent ve hipovirulent ırklarına duyarlılıkları

Şekil 4.6’da açıkça görüldüğü gibi yapay inokulasyonla oluşturulan kanser yarası uzunlukları (mm) *Cryphonectria parasitica*’nın virulent ve hipovirulent ırklarında en fazla Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidinde ölçülmüşken, en az da İtalyan Sarısı (=Maraval74) çeşidinde ölçülmüştür. Bu durum çeşitlerin kansere duyarlılıklarının göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu konuda daha önceden yapılan çalışmalarda Sarı Aşı (=Osmanoğlu)’nın durumu bilinmesine rağmen (Baykal ve ark 2000), İtalyan sarısı (=Maraval74) ilk defa denenmiş ve şaşırtıcı bir şekilde kansere daha dayanıklı

bulunmuştur. Aslında, bu çeşidin kestanelerde *Phytophthora spp.*' nin neden olduğu hastalıklara karşı dayanıklı olarak geliştirildiği bilinmesine rağmen (Soylu,2004), kestane kanserine karşı duyarlılığı bilinmiyordu. Ancak, bu durumun bu çeşitte *C. crenata* x *C. sativa* hibriti olması yeni bu hastalığa kısmi dayanıklı olduğu bilinen Japon kestanesinden genetik taşınması söz konusu olabilir. Her üç çeşitle ilgili kanser gelişimi görüntüleri Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9' da verilmiştir.



Şekil 4.7. Sarı Aşı(=Osmanoğlu) çeşidinin kestane kesik dal yönteminde *Cryphonectria parasitica*' ya karşı duyarlılığının görünümü

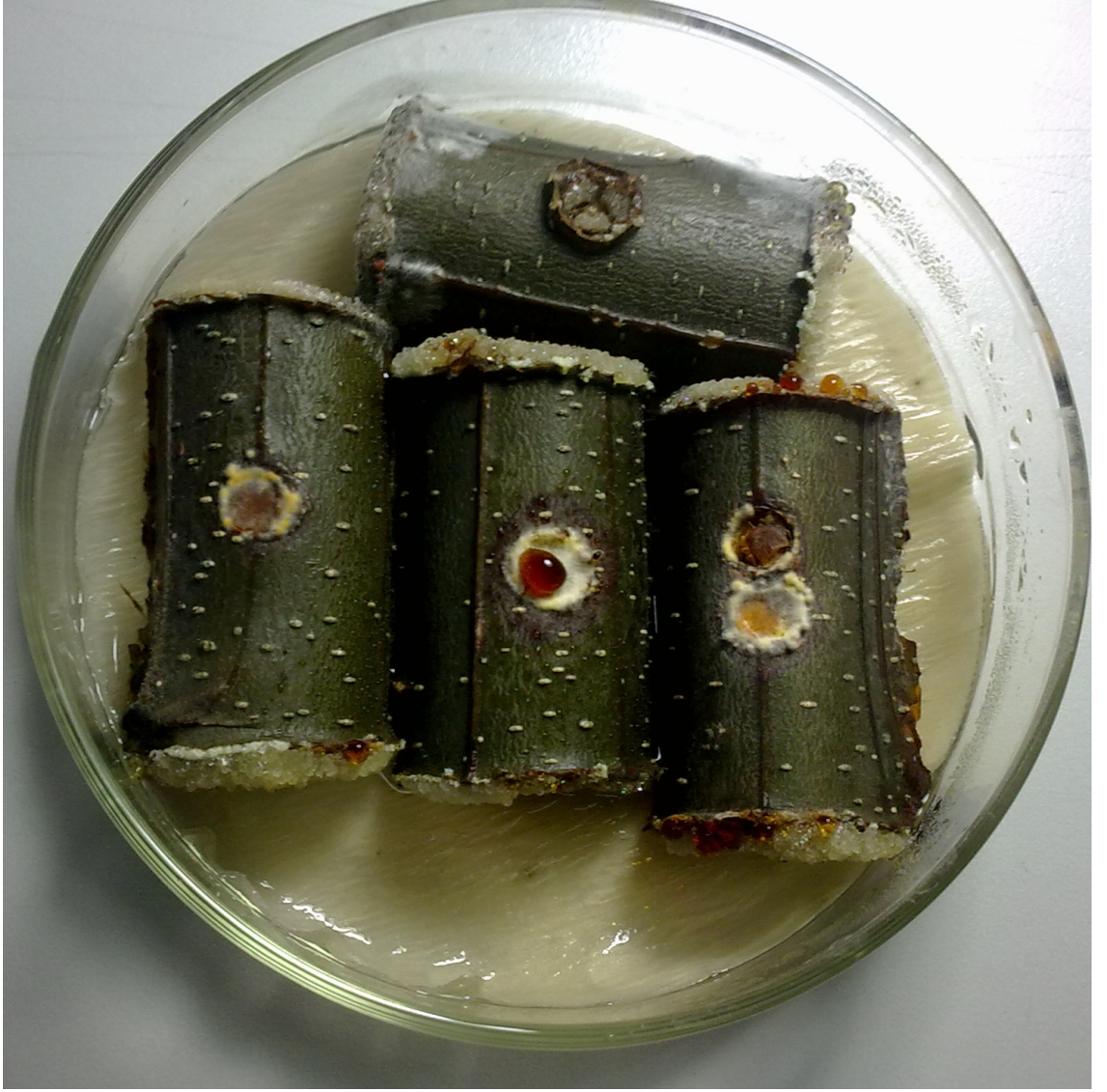


Şekil 4.8. Kara Aşı çeşidinin kestane kesik dal yönteminde *Cryphonectria parasitica*'ya karşı duyarlılığının görünümü



Şekil 4.9. İtalyan Sarısı (=Maraval74) çeşidinin kestane kesik dal yönteminde *Cryphonectria parasitica*'ya karşı duyarlılığının görünümü

Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9 birlikte değerlendirildiğinde İtalyan Sarısı (=Maraval74) çeşidinin *C. parasitica*'nın virulent ve hipovirulent ırkına karşı daha dayanıklı olduğu açıkça görülmektedir. Açıkça görülen bir diğer durumun ise bu çeşit başta olmak üzere diğer çeşitlerde de az da olsa görülen yara yerindeki salgılamalardır (Şekil 4.9, 4.10 ve 4.11).



Şekil 4.10. Kara Aşı çeşidinin *Cryphonectria parasitica*'ya karşı duyarlılığın testi esnasında salgılanan salgının görünümü



Şekil 4.11. İtalyan Sarısı (=Maraval74) çeşidinin *Cryphonectria parasitica*' ya karşı duyarlılığının testi esnasında salgılanan salgıların görünümü

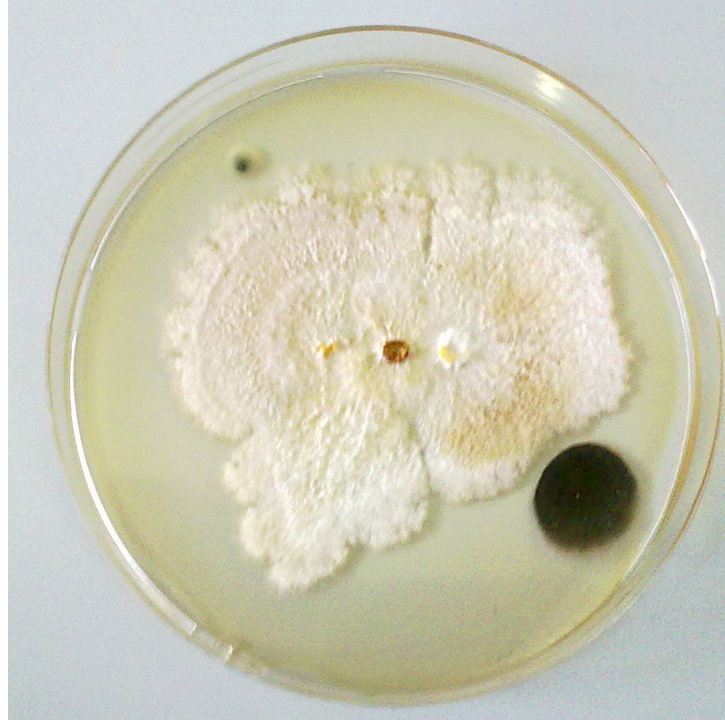
Bu salgıların dayanıklılıkla, ilişkili olup olmadıkları bilinmemektedir. Bu konuda herhangi bir literatürde de rastlanmamıştır. Kesik dal yöntemi ile patojenisite denemesi aslında 1990'larda (Lee ve ark. 1992) bilim dünyasına duyurulmakla beraber, şu ana kadar Türkiye'de yapılan çalışmalarda hiç kullanılmamıştır. En çok kullanılan yöntem ise Şekil 4.12 de görülen Elma testi (Akıllı 2008) olmuştur.



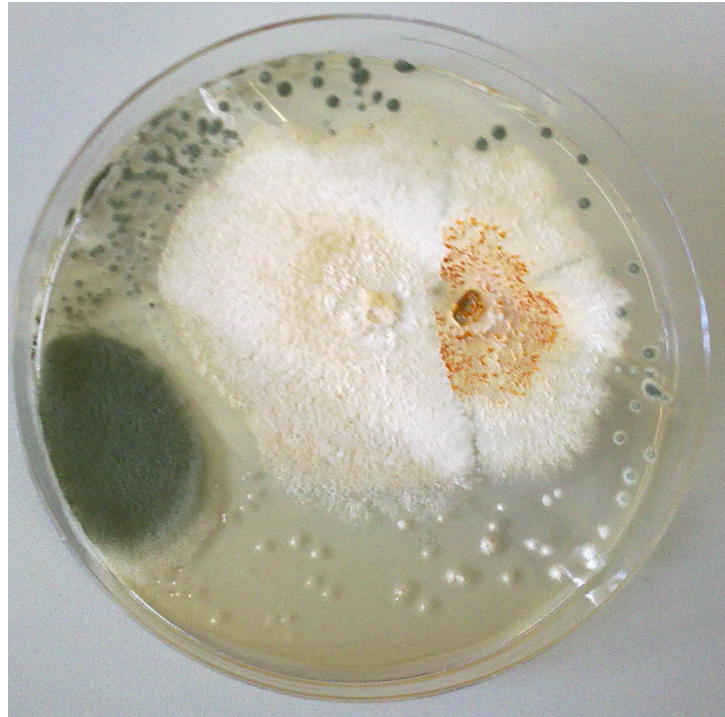
Şekil 4.12. Elma testinde farklı izolatların oluşturduğu nekrozlar. En sağ başta kontrol olarak kullanılan elma görülmektedir (Akıllı, 2008)

Şekil 4.12’de görülen elma testinde *Cryphonectria parasitica*’nın PDA ortamında geliştirilmiş izolatlarından bir disk yine kesik dal yönteminde olduğu gibi açılan deliğe yerleştirilmekte ve daha sonra oradan çevreye doğru gelişen kanser yarası büyüklüğü ölçülmektedir. Bu test daha duyarlı olarak görülmekle birlikte patojenin doğal konukçusu olan kestane dokusunda yapılmadığından kesik kestane dal parçası yönteminin daha gerçeğe yakın sonuç verebileceği düşünülmüştür. Ayrıca kestane çeşitlerinin duyarlılıkları zaten elma meyvesi üzerinde çalışılmazdı.

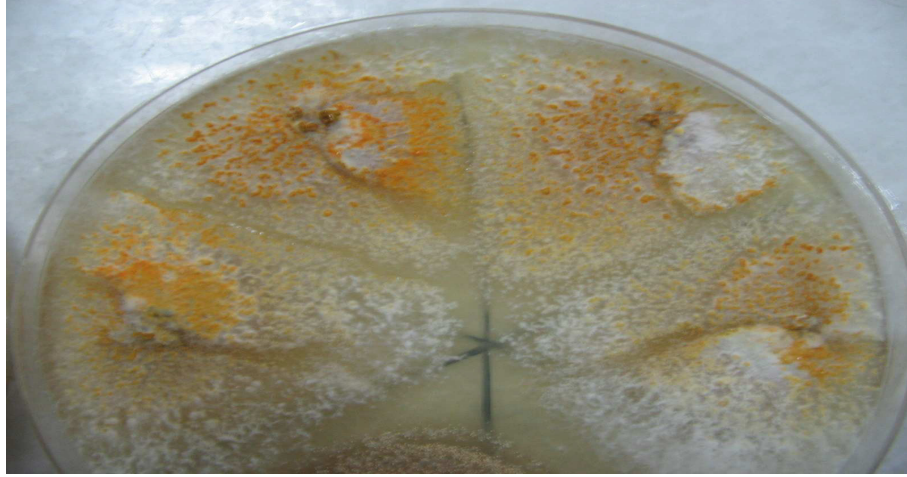
Bu araştırmada dikkat çeken diğer bir durumun gerek arazi çalışmasında gerekse laboratuvarında yapılan kesik kestane dal yönteminde *C. parasitica*’nın hipovirulent ırkında az da olsa kanser oluşturması olmuştur. Aslında bu durum “hypho” kelimesi ile de açıklanabilir. Zira “hypho” Latince “daha az” demektir. “Hyphovirulent” ise “daha az virulent” demek anlamına gelir. “Virulent” kelimesi de “hastalık oluşturan” anlamına geldiğine göre “Hyphovirulent” de “daha az hastalık oluşturan” demektir. Doğada yapılan hipovirulent uygulamaları doğal aktif kanserlerin virulentliğini hipovirulentliğe dönüştürebilmeleri için o aktif virulent ırkın uygulanan hipovirulent ırkla ilişkiye girmesi (=uyumlu olması) gerekir (Şekil 4.13). Bu olmazsa (Şekil 4.14 ve 4.15) doğada aktif olan virulent ırkın oluşturduğu kanser gelişimi durdurulamamaktadır. Ayrıca, hipovirulentliğe neden olan dsRNA içeren *C. parasitica* izolatlarının ne kadar yoğunlukta virulent *C. parasitica* izolatlarını enfekte ettiği de performanslarında etkili olabilmektedir (Smart ve Fulbright 1995).



Şekil 4.13. *Cryphonectria parasitica* virulent ve hipovirulent ırklarının kaynaşması (=uyumu)



Şekil 4.14. *Cryphonectria parasitica*'nın virulent (sağ tarafta turuncu) ve hipovirulent (solda beyaz) izolatları arasında oluşan hattın (=çizginin) görünümü



Sekil 4.15. Kastamonu ilinden seçilen izolatların Eu-12 uyum grubu aralarında oluşturdukları baraj zonları (Akıllı 2008)

Şekil 4.13'te görülebildiği gibi *C. parasitica*'nın virulent ve hipovirulent izolatları uyumlu olduğunda tam bir kaynaşma olmakta ve hipovirulent ırk baskın gelerek virulent ırkın rengini de değiştirebilmektedir. Şekil 4.14 ve 4.15'te görülebildiği gibi iki ırk arasında uyum olmaz ise arada bir zon (=ayırıcı çizgi) oluşmakta ve her iki ırk da kendi özelliklerini devam ettirebilmektedir. Bu durum ise virulent ırkın olanca gücü ile kanser oluşturmaya devam etmesi anlamına gelmektedir. Bu nedenle, doğaya hipovirulent ırk uygulaması yapılmadan önce uygulamanın yapılacağı bölgedeki aktif virulent ırkların uygulanması düşünülen hipovirulent ırkla hangi oranda uyumlu olduklarının daha önceden laboratuvar ortamında belirlenmesi gerekmektedir. Bu tür çalışmalar kestane kanserinin sorun olduğu pek çok ülkede ve ülkemizde yapılmış ve halen yapılmaya devam etmektedir (Lee ve ark. 1992, Bissenger ve ark. 1997, Juhasova ve Bernadovicova 2001, Milgroom ve Cortesi 2004, Sotirovski ve ark. 2004, Sotirovski ve ark. 2006, Perlerou ve Diamandis 2006, Bragança ve ark. 2007, Vidoczi ve ark. 2007, Hogan ve Griffin 2008, Akıllı ve ark. 2009, Robin ve ark. 2009, Gonzalez-Varela ve ark. 2011, Kristin ve ark. 2011, Çeliker ve Onoğur 2011, Erincik ve ark. 2011). Bir diğer yaklaşım ise kestane kanserine dayanıklılıkta rol oynayan genlere ve hatta gen aktarılmış transgenik kestane ağaçlarına yönelik çalışmalardır (Root ve Ark. 2005, Welch ve Ark. 2007). Türkiye'de de bu çalışmaların bir ön aşaması olan somatik embriyogenesis ile ilgili çalışmalar dört yerel çeşitle, Hacıibiş, Karamehmet, Osmanoğlu ve Sariaşlama başlamıştır (Şan ve ark. 2007).

5. SONUÇ

Bu çalışmada, Bursa ili sınırları içerisindeki üç farklı bölge olan Yiğitalı, Cumalıkızık ve Kurşunlu Köyleri kestane alanlarında Kestane Kanseri belirtisi gösteren ağaçlardan öncelikle fungal izolasyonlar yapılmış ve bu ağaçlardan %40,8 ile %70 oranında *Cryphonectria parasitica* izole edilmiştir. Bu durum, kestane ağaçlarında kansere neden olan fungusun yaygın olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, izole edilen *C.parasitica* fungusunun virulent ırkları yanında hipovirulent ırklarına da rastlanması bu bölgelerde doğal biyolojik kontrolün başlamış olabileceğini düşündürmektedir. Bursa ili Karacabey ilçesi Kurşunlu köyünden izole edilen bir hipovirulent izolatın o bölgede yabancı kestaneliklerin aşılınması sonucu yetiştirilen Sarı Aşı (=Osmanoğlu), Kara Aşı ve İtalyan Sarısı (=Maraval74) çeşitlerindeki kanser yaralarına karşı etkililiği denenmiş ve Sarı Aşı (=Osmanoğlu) çeşidinde daha az etkili olduğu saptanmıştır. Bu üç çeşidin *C. parasitica*'nın bir virulent ırkına karşı duyarlılıkları da laboratuvar ortamında kesik kestane dalı üzerinde belirlenmiştir. Buna göre kansere en duyarlı çeşidin Sarı Aşı (=Osmanoğlu) olduğu, en az duyarlı olanın da İtalyan Sarısı (=Maraval74) olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

- Adamcikova, K., Kobza, M., Juhasova, G. 2010.** Characteristics of the *Cryphonectria parasitica* Isolated From Quercus in Slovakia. *For. Path.* 40 443- 449.
- Akılı, S. 2008.** Karadeniz Bölgesinde Kestane Kanseri(*C.parasitica*)' nin Biyolojik Mücadelesi Üzerine Araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, 88s.
- Akılı, S., Katırcıoğlu, Y.Z., Maden, S. 2009.** Vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica*, causal agent of chestnut blight, in the Black Sea region of Turkey. *For. Path.* 39(6): 390- 396.
- Akılı, S., Katırcıoğlu, Y.Z., Maden, S. 2011.** Biological Control of Chestnut Canker, Caused by *Cryphonectria parasitica*, by Antagonistic Organisms and Hypovirulent Isolates. *Turk J Agric For* 35: 515- 523.
- Anagnostakis, S.L. 1995.** The Pathogens and Pests of Chestnuts. *Advances in Botanical Research* 21: 125- 145.
- Anonim 2012a.** www.fao.org (02.04.2013)
- Anonim 2012b.** www.tuik.gov.tr (02.04.2013)
- Baykal, N., Tezcan, H., Soylu, A., Ufuk, S., Arslan, U., Yahyaoğlu, M. 2000.** Incidence of Chestnut Blight in Bursa Province and Reactions of Some Turkish Chestnut Cultivars Against It. *J. Turkish Phytopathology*, 29(1): 1-5.
- Bissenger, M., Rigling, D., Heiniger, U., 1997.** Population Structure and Disease Development of *Cryphonectria parasitica* in European Chestnut Forests in the Presence of Natural Hypovirulence. *Phytopathology* 87: 50- 59.
- Bragança, H., Simoes, S., Onofre, N., Tenreiro, R., Rigling, D. 2007.** *Cryphonectria parasitica* in Portugal: diversity of vegetative compatibility types, mating types, and occurrence of hypovirulence. *For Path.* 37 391- 402.
- Çeliker, N.M.2000.** Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.' Nın Hipovirulent Irklarla Savaşımı Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, 140s.
- Çeliker, N.M., Onoğur, E.2001.** Biological Control Possibilities of Chestnut Blight (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.). *J. Turk. Phytopath.* Vol. 30, No: 3-4, 77.
- Çeliker, N.M., Onoğur, E.2011.** Türkiye'de Kestane Kanseri ile Biyolojik Mücadelede Ümitvar Bulgular. *Tarım Bilimleri Dergisi* 17 122- 130.

Delen, N.1979. Kestane Kanseri(*Endothia parasitica*(Murrill) Hastalığının Yayılışı ve Biyolojisi. *Gıda- Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü, İzmir Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Araştırma Eserleri Serisi* No: 36, 110s.

Erdin, N., Köse, C.2003. *Cryphonectria parasitica* Barr. And Hypovirulent Strain. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi, B serisi*, 53: 23- 40.

Erincik, Ö., Döken, M.T., Açıkgöz, S., Ertan, E.2008. Characterization of *Cryphonectria parasitica* Isolates Collected from Aydın Province in Turkey. *Phytopathology* 36(3): 249- 259.

Erincik, Ö., Özdemir, Z.,Durdu, Ö.F., Döken, M.T.,Açıkgöz,S.2011.Diversity and Spatial Distribution of Vegetative Compatibility Types and Mating Types of *Cryphonectria parasitica* in the Aydın Mountains, Turkey. *Eur J Plant Pathol.* 129 555-566.

Ghezi, E., Khodaparast, S.A., Zare, R.2010.Distribution and Severity of Damage By *Cryphonectria parasitica* in the Chestnut Stands in Guilan Province, Iran. *For. Path.* 40 450-457.

Gonzalez- Varela, G., Gonzalez, A.J., Milgroom, M.G.2011.Clonal Population Structure and introductions of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*, in Asturias, northern Spain. *Eur J. Plant Pathol* 131: 67- 79.

Guerin, L., Robin C.2003.Seasonal Effect on Infection and Development of Lesions Caused by *Cryphonectria parasitica* in *Castanea sativa*. *For Path.* 33 223-235.

Hogan, E.P., Griffin, G.J.2008. Importance of *Cryphonectria parasitica* stromata production and intermediate- pigmented isolates in spread of *Cryphonectria hipovirus 1* on grafted American chestnut trees. *For Path.* 38 302- 313.

Juhasova, G., Bernadovicova, S.2001. *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. And *Phytophthora spp.* in Chestnut in Slovakia. *For. Snow Landsc. Res.* 76, 3: 373-377.

Karman, M. 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler. Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. T.C. Tarım Bakanlığı, Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları. Mesleki Kitaplar Serisi. 279 s.

Kristin, L., Novak- Agbaba, S., Rigling, D., Krajacic, M.,Curkovic Perica, M.2008. Chestnut Blight Fungus in Croatia: diversity of vegetative compatibility types, mating types and genetic variability of associated *Cryphonectria hypovirus 1*. *Plant Pathology* 57, 1086-1096.

Kristin, L., Novak- Agbaba, S., Rigling, D., Curkovic Perica, M.2011. Diversity of Vegetative Compatibility Types and Mating Types of *Cryphonectria parasitica* in Slovenia and Occurrence of Associated *Cryphonectria hypovirus 1*. *Plant Pathology* 60, 752-761.

- Lee, J.K., Tatar, T.A., Berman, P.M., Mount, M.S.1992.** A Rapid Method for Testing the Virulence of *Cryphonectria parasitica* Using Excised Bark and Wood of American Chestnut. *Phytopathology* 82: 1454-1456.
- Milgroom, M.G., Cortesi, P.2004.** Biological Control of Chestnut Blight with Hypovirulence: A Critical Analysis. *Annu. Rev. Phytopathol* 42: 311- 38.
- Perlerou, C., S. Diamandis, S.2006.** Identification and geographic distribution of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* and occurrence of hypovirulence in Greece. *For Path.* 36 413- 421.
- Robin, C., Capdevielle, X., Martin, M., Traver, C., Colinas, C.2009.** *Cryphonectria parasitica* vegetative compatibility type analysis of populations in south- western France and northern Spain. *Plant Pathology*, 58; 527- 535.
- Root, C., Balbalian, C., Bierman, R., Geletka, L.M., Anagnostakis, S., Double, M., Macdonald, W., Nuss, D.L.2005.** Multi- seasonal field release and spermatization trials of transgenic Hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica* containing c DNA copies of hypovirus CHV1- EP713. *For Path.* 35 277- 297.
- Smart, C.D., Fulbright, D.W.1995.** Characterization of a strain of *Cryphonectria parasitica* doubly infected with hypovirulence- associated dsRNA viruses. *Phytopathology* 85: 491- 494.
- Sotirovski, K., Papazova- Anakieva, I., Grünvald, N.T., Milgroom, M.G.2004.** Low diversity of vegetative compatibility types and mating type of *Cryphonectria parasitica* in the southern Balkans. *Plant Pathology*, 53; 325- 333.
- Sotirowski, K., Milgroom, M.G., Rigling, D., Heiniger, U.2006.** Occurrence of *Cryphonectria parasitica hypovirus 1* in the chestnut blight fungus in Macedonia. *For Path.* 36 136- 143.
- Soylu, A.2004.** Kestane Yetiştiriciliği ve Özellikleri. *Hasat Yayıncılık*, No:238, 64s.
- Şan, B., Sezgin, M., Dumanoğlu, H., Köksal, A.İ.2007.** Somatic Embryogenesis from Immature Cotyledons of Some European Chestnut(*Castanea sativa* Mill.) Cultivars. *Turk J. Agric For* 31 175- 179.
- Tezcan, H. and C. Mert, C. 2009.** Natural spread of chestnut blight on some grafted Turkish chestnut cultivars in an area infected with *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. 1st European Congress on Chestnut (13-16 October, 2009, Cuneo, Italy) (Poster presentation P.62).
- Trestic, T., Uscuplic, M., Colinas, C., Rolland, G., Giraud, A., Robin, C.2001.** Vegetative Compatibility Type Diversity of *Cryphonectria parasitica* Populations in Bosnia- Herzegovina, Spain and France. *For. Snow Landsc. Res.* 76, 3: 391- 996.

Turchetti, T., Ferretti, F., Marest, G.2008. Natural Spread of *Cryphonectria parasitica* and Persistence of Hypovirulence in Three Italian Coppiced Chestnut Stands. *For Path.* 38 227- 243.

Welch, A. J., Stipanovic, A.J., Maynard, C.A., Powell, W.A.2007. The effects of oxalic acid on transgenic *Castanea dentata* callus tissue expressing oxalate oxidase. *Plant Science* 172 488- 496.

Vidoczi, H., Varga, M., Szabo, I.2007. Chestnut Blight and Its Biological Control in the Sopron Hills, Hungary. *Acta Silv. Lign. Hung. , Spec. Edition* 199-205.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nilüfer AVGAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara / 26.06.1986
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Bursa Atatürk Lisesi / 2000 – 2004
Lisans : Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi / 2005 – 2010

Çalıştığı Kurum ve Yıl :
İletişim (e-posta) : niluferavgan@hotmail.com