

**T. C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BK-YL-2006-0002**

**AYDIN KESTANE ÜRETİM ALANLARINDAN ELDE
EDİLEN *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr
İZOLATLARININ VİRÜLENSLİKLERİNİN VE BU
YÖREDE YAYGIN OLARAK ÜRETİLEN
KESTANE ÇEŞİTLERİ İLE KONUKÇUSU OLAN
BAZI ORMAN AĞAÇLARININ BU ETMENE KARŞI
REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ ÜZERİNE
ÇALIŞMALAR**

HAZIRLAYAN: Birsen GEÇİOĞLU ERİNCİK

DANIŞMAN: Prof. Dr. M. Timur DÖKEN

AYDIN- 2006

*** Bu Yüksek Lisans Tezi Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
(ZRF- 05013 no' lu proje) desteklenmiştir**

ÖZ

Aydın kestane üretim alanlarından elde edilen *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr izolatlarından virülenslik testleri sonucu seçilen en yüksek ve en düşük virülensliğe sahip iki izolat bu alanlarda yaygın olarak yetiştirilen kestane tiplerinin duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılmıştır. İki farklı test sonuçlarına göre N-7-3 (Sarı Salman) en çok duyarlı, N-20-2 ve N-3-4 (Işıklar) ise en az duyarlı kestane tipleri olarak bulunmuştur. Ayrıca Aydın Yöresinde bulunan üç meşe türü (*Quercus cerris*, *Quercus coccifera*, *Quercus ilex*) üzerinde doğal ortamda kestane kanseri belirtileri gözlenmemiş ancak *C. parasitica*'nın bu türler üzerinde enfeksiyona neden olabileceği in vitro koşullarda belirlenmiştir. Vejetatif uyum grupları da belirlenen *C. parasitica* izolatlarının Avrupa v-c gruplarından EU 1 ve EU 12 ile uyumlu olduğu bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: *Cryphonectria parasitica*, kestane kanseri, kestane, meşe

ABSTRACT

Two isolates, one with highest and another with lowest virulence, which were selected according to the results of the virulence tests conducted on *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr isolates collected from Aydın's chestnut orchards, were used in the evaluation of susceptibilities of the chestnut genotypes, which are predominantly grown in the area. Two different pathogenicity tests indicated that either N-20-2 or N-3-4 (Işıklar) genotype showed lower susceptibility, whereas N-7-3 (Sarı Salman) was found to be the most susceptible one. In addition to this, no chestnut blight symptoms were detected in nature on the three oak species (*Quercus cerris*, *Quercus coccifera*, *Quercus ilex*), which are the only species commonly found in Aydın Province. However it was determined that *C. parasitica* caused infections on these oak species in vitro studies. *C. parasitica* isolates v-c type tested were found to be only compatible with EU 1 and EU 12 European v-c types.

Key Words: *Cryphonectria parasitica*, chestnut blight, chestnut, oak

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZ, ABSTRACT	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÇİZELGELER LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM	17
3.1. İzolatların Elde Edilmesi	17
3.1.1. Tek spor izolasyonu	19
3.2. İzolatların Vejetatif Uyum (V-C) Gruplarının Saptanması	19
3.3. İzolatların Kültürel Özelliklerinin ve Virülensliklerinin Saptanması	20
3.3.1 İzolatların Kültürel Özelliklerin Belirlenmesi	20
3.3.2. İzolatların Virülensliklerinin Belirlenmesi	20
3.3.2.1. Elma testi	21
3.3.2.2. Kabuk/ odun dokusu testi	22
3.4. Kestane Tiplerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi	24
3.4.1. Kabuk/ odun dokusu testi	25
3.4.2. Kesilmiş dal testi	25
3.5. <i>Cryphonectria parasitica</i> ’nın Diğer Konukçularının Belirlenmesi	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	28
4.1. İzolatların Elde Edildiği Ağaçlarda Hastalığın Görünümü	28
4.2. İzolatların Vejetatif Uyum (V-C) Grupları	30
4.3. İzolatların Kültürel Özelliklerinin ve Virülenslikleri	33
4.3.1 İzolatların Kültürel Özellikleri	33
4.3.2. İzolatların Virülenslikleri	37
4.3.2.1. Elma testi	37
4.3.2.2. Kabuk/ odun dokusu testi	41

4.4. Kestane Tiplerinin <i>Cryphonectria parasitica</i> ' ya Karşı Duyarlılıkları ...	43
4.4.1. Kabuk/ odun dokusu testi	43
4.4.2. Kesilmiş dal testi	45
4.5. <i>Cryphonectria parasitica</i> ' nın Meşelerde Enfeksiyon Durumu	50
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	53
ÖZET	56
SUMMARY	58
TEŞEKKÜR	59
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	69

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1. Türkiye’de kestane üretimi yapılan bölgelerdeki ve ilk dört ildeki üretim durumu	2
Çizelge 2. 2005 yılında Aydın’ın kestane üretimi yapılan ilçelerinde kestanelerin kapladığı alan, toplam meyve veren kestane ağacı sayısı, ağaç başına ortalama verimi ve toplam kestane üretimi	2
Çizelge 3. İzolatların elde edildiği ilçeler, köyler ve elde edilen izolatlar ..	18
Çizelge 4. Elma testi sonucu belirlenerek kabuk/odun dokusu testinde kullanılan virülensliği en yüksek ve en düşük izolatlar ile bunların elde edildiği köyler	23
Çizelge 5. Kestane ağaçlarının <i>C. parasitica</i> ’ya karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılan kestane tipleri, yöresel isimleri ve sağlıklı dal örneklerinin alındığı köyler	25
Çizelge 6. <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının elde edildiği köyler ve bu izolatların vejetatif uyum gruplarına göre dağılımı	32
Çizelge 7.1. Aydın Yöresi kestane üretim alanlarından elde edilen <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının karanlıkta besi ortamında oluşan koloni renklerine göre gruplandırılması	34
Çizelge 7.2. Aydın Yöresi kestane üretim alanlarından elde edilen <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının karanlığı takiben sürekli ışık altında besi ortamında oluşan koloni renklerine göre gruplandırılması ...	35
Çizelge 8.1. Nazilli İlçesi’ne bağlı köylerden elde edilen <i>C. parasitica</i> izolatlarının elma testi sonucu oluşturdukları lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması	39
Çizelge 8.2. Köşk İlçesi’ne bağlı köylerden elde edilen <i>C. parasitica</i> izolatlarının elma testi sonucu oluşturdukları lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması	40
Çizelge 8.3. Sultanhisar İlçesi’ne bağlı köylerden elde edilen <i>C. parasitica</i> izolatlarının elma testi sonucu oluşturdukları lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması	40
Çizelge 8.4. Merkez İlçe’ ye bağlı Eğrikavak Köyü’nden elde edilen <i>C. parasitica</i> izolatlarının elma testi sonucu oluşturdukları lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması	41
Çizelge 9. Kabuk/ odun dokusu testi sonucu <i>C. parasitica</i> izolatlarının oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması	41

Çizelge 10. Kabuk/ odun dokusu testinde K5-13 ve N27-1 izolatlarının oluşturdukları nekrotik lezyonların çaplarına göre istatistiksel olarak gruplandırılması	43
Çizelge 11. Kabuk / odun dokusu testi sonucu farklı kestane tiplerinde oluşan nekrotik lezyonların çaplarının istatistiksel olarak gruplandırılması	44
Çizelge 12.1. Kabuk / odun dokusu testi sonucu K5-13 izolatının kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiksel olarak gruplandırılması	44
Çizelge 12.2. Kabuk / odun dokusu testi sonucu N27-1 izolatının kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiksel olarak gruplandırılması	45
Çizelge 13. Kesilmiş dal testinde K5-13 ve N27-1 izolatlarının oluşturdukları nekrotik lezyonların çaplarına göre istatistiksel olarak gruplandırılması	45
Çizelge 14. Kesilmiş dal testi sonucu farklı kestane tiplerinde oluşan nekrotik lezyonların çaplarının istatistiksel olarak gruplandırılması ...	46
Çizelge 15.1. Kesilmiş dal testi sonucu K5-13 izolatının kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiksel olarak gruplandırılması	47
Çizelge 15.2. Kesilmiş dal testi sonucu N27-1 izolatının kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiksel olarak gruplandırılması	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>C. parasitica</i> izolatlarının virülensliklerini saptamak üzere inokule edilen kestane dal parçaları	24
Şekil 2. Kestane ağacının belli bir dalında hastalığın genel görünümü ..	29
Şekil 3. Dallarda oluşan kanserler	29
Şekil 4. Kanserli alan üzerindeki siruslar	29
Şekil 5. Aynı v-c grubuna ait izolatların kolonilerinin birleşmesi	30
Şekil 6. Farklı v-c grubuna ait izolatların kolonileri arasında baraj oluşumu	30
Şekil 7. S5-5 nolu izolatın asimetrik kolonisi	36
Şekil 8. <i>C. parasitica</i> izolatlarının karanlık ortamda ve takiben sürekli aydınlık ortamda oluşturdukları beyaz (a) ve turuncu (b) renkte koloniler	36
Şekil 9. <i>C. parasitica</i> izolatlarının golden elma çeşidinin meyveleri üzerinde oluşturdukları farklı boyutlardaki lezyonlar	37
Şekil 10. K5-13, S5-5 ve N27-1 nolu <i>C. parasitica</i> izolatların kestane dallarında kabuk ve odun dokusu üzerinde oluşturdukları nekrotik lezyonlar	42
Şekil 11. K5-13 (a) ve N27-1 (b) nolu izolatların kestane dallarının kabuk dokusunda oluşturdukları nekrotik lezyonlar	46
Şekil 12. Kesilmiş dal testinde kontrol	48
Şekil 13. K5-13 nolu izolatın N-7-3 ve N-20-2 kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonlar (a), N27-1 nolu izolatın N-7-3 ve N-3-4 kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonlar (b)	48
Şekil 14. Saçlı Meşe (a), Kermes Meşesi (b) ve Pırnal Meşesinin (c) yapraklarından görünüm	50
Şekil 15. Saçlı Meşe (a), Kermes Meşesi (b) ve Pırnal Meşesi (c) üzerinde kesilmiş dal testi sonucu odun dokusunda oluşan nekrotik lezyonlar	52

1. GİRİŞ

Kestane (*Castanea* spp.), bir orman ağacı olarak ekolojik öneminin yanı sıra ekonomik değeri de yüksek bir bitkidir. Meyvesi çok eski çağlardan beri gerek lezzeti, gerekse içerdiği besin öğelerinden dolayı insanoğlunun severek tükettiği bir besin kaynağı olmuştur. Nitekim ilk çağlarda dağlarda yaşayan insanların beslenmesindeki öneminden dolayı bu ağaca “ekmek ağacı” adı verilmiştir. Kestane besin öğeleri olarak nişasta ve çeşitli şekerler, lifli maddeler, protein, mineral maddeler, B1, B2, C ve A vitaminlerini içermektedir (Ülkümen, 1973).

Kestaneden birçok sanayi dalında yararlanılmaktadır. Meyvesi gıda sanayinde şekerleme, reçel, un (Soylu, 1984) ve çocuk maması yapımında (Grassi *et al.*, 1997) kullanılmaktadır. Ayrıca kestane odununun, esnek ve dayanıklı olması nedeniyle yapı malzemesi olarak telgraf direkleri, demiryolu traversleri, keman, gitar gibi müzik aletleri ve mobilya yapımında kullanılırken, ağacın yüksek tanen içeriği nedeniyle de özellikle Avrupa kestanesinde elde edilen tanenden deri sanayisinde yararlanılmaktadır (Westwood, 1993). Tüm bunların yanı sıra kestane meyvesi kabuklarının ateş düşürücü, sinirleri yatıştırıcı, meyvesinin ise zihinsel yorgunluğu giderici olduğu söylenmektedir.

Birçok yöresi iklim ve toprak özellikleri bakımından kestane yetiştiriciliği için uygun olan ülkemiz önemli üretim potansiyeline sahiptir (Soylu, 1984). Nitekim FAO’nun 2005 yılı kayıtlarına göre, dünyadaki toplam kestane üretimi yaklaşık 1 milyon 129 bin ton olup; ilk sırada 825 bin tonluk kestane üretimiyle Çin yer alırken, 52 bin tonla İtalya ve 50 bin tonla Güney Kore’yi takiben Türkiye 49 bin tonluk üretimiyle dördüncü sırada yer almaktadır (Anonymous, 2005).

Ülkemizde kestane üretimi yaygın olarak Karadeniz Bölgesi, Marmara Denizi çevresi ile Batı Anadolu’dan Antalya’ya kadar olan alanlarda yapılmaktadır (Soylu, 1997). Türkiye İstatistik Kurumu’nun 2004 yılı verilerine göre Çizelge 1’de de belirtildiği gibi ülkemizin toplam kestane üretimi yaklaşık 50 bin ton olup bunun % 59’luk kısmını Ege Bölgesi karşılamaktadır (Anonymous, 2004).

Çizelge 1. Türkiye’de kestane üretimi yapılan bölgelerdeki ve ilk dört ildeki üretim durumu
(Anonymous, 2004)

Bölgeler	Üretim (Bin Ton)	İller	Üretim (Bin Ton)
Ege	29.8	Aydın	15.4
Karadeniz	13.4	İzmir	8.1
Marmara	6.2	Sinop	4.5
Akdeniz	1.0	Kastamonu	3.3

Ege Bölgesi’nde yer alan ve Aydın Tarım İl Müdürlüğü’ nün 2005 yılı kayıtlarına göre 17 bin tonluk kestane üretimi ile Türkiye’de birinci sırada bulunan Aydın İli’nin İlçeler bazındaki toplam meyve veren kestane ağacı sayısı, ağaç başına ortalama verimi ve kestane üretimi ile ilgili değerler ise Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. 2005 yılında Aydın’ın kestane üretimi yapılan ilçelerinde kestanelerin kapladığı alan, toplam meyve veren kestane ağacı sayısı, ağaç başına ortalama verimi ve toplam kestane üretimi *

İlçeler	Kapladığı alan (ha)	Toplam meyve veren ağaç sayısı	Ağaç başına ortalama verim (kg)	Üretim (ton)
Merkez	170	9,815	40	393
Bozdoğan	0**	13,650	14.6	199
Çine	105	21,100	70	1,477
Karacasu	0	3,700	25	92
Karpuzlu	0	3,450	50	172
Koçarlı	27.5	2,000	58	116
Köşk	1,550	87,500	25	2,187
Kuyucak	65	7,700	20	154
Nazilli	2,150	270,000	30	8,100
Sultanhisar	1,543	144,770	31	4,488

* Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Aydın Tarım İl Müdürlüğü Kayıtları, 2005 .

** Kestane ağaçlarının düzgün ve toplu olarak bulunmaması nedeniyle kapladığı alan sıfır olarak değerlendirilmiştir.

Ekolojik ve ekonomik değeri yüksek olan kestanenin dünyada ve ülkemizde birçok olumsuz faktörün etkisi altında olduğu bilinmektedir (Delen,1975; Gravatt,1949; Pavari, 1949; Anagnostakis, 2001). Bunlardan en önemlisi geniş çapta ağaç ölümlerine neden olan *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr’ın oluşturduğu kestane kanseri hastalığı olup, dünya kestane üretimini olumsuz yönde

etkilemektedir (Anagnostakis, 1987; MacDonald,1993). İlk kez 19. yüzyılın başında Amerika Birleşik Devletleri' nde belirlenip, tanımlanmış olan Asya kökenli bu hastalık (Merkel, 1905'e atfen Anagnostakis, 2001) Avrupa'da da ilk olarak İtalya'da görülmüştür (Pavori, 1949; Heiniger and Rigling, 1994).

Türkiye'de ise hastalık ilk kez 1967'de Marmara Bölgesi'nde saptanmış (Akdoğan ve Erkman, 1968) ve bu bölge ile Karadeniz Bölgesi kestaneliklerinde yayılarak çok sayıda ağaç ölümlere neden olmuştur (Delen, 1975; Coşkun *et al.*, 1999; Baykal *et al.*, 2000). Ege bölgesinde Balıkesir, İzmir, Manisa İlleri kestaneliklerinde de belirlenen bu hastalığın (Çeliker, 2000) Aydın Yöresi kestane alanlarına da bulaşarak yayılmaya başladığı özellikle Menderes Havzası' nın kuzeyinde yer alan ve Aydın İlinin kestane üretiminin yaklaşık % 90'nını sağlayan Sultanhisar, Köşk ve Nazilli İlçeleri kestane üretim alanlarına bulaştığı, hatta bazı köylerde önemli sayılabilecek kurumlara neden olduğu saptanmıştır (Erincik *et al.*, 2003).

C. parasitica kestane dışında diğer bazı geniş yapraklı orman ağaçlarında da bu hastalığa neden olduğu (Stipes 1978' e atfen Dallavalle and Zambonelli, 1999) özellikle de meşelerde (*Quercus* spp.) kestanelerdekine benzer simptomları oluşturduğu ayrıca gürgen (*Carpinus betulus* L.), kızılâğaç (*Alnus cordata* Desf.) ve kayacık (*Ostrya carpinifolia* Scop.) türlerinde de görüldüğü bildirilmiştir (Luisi *et al.*, 1993). Bu husus genelde orman alanları ile kestaneliklerin iç içe bulunduğu ülkemizde ve Aydın yöresinde hastalığın yayılmasında kestane dışındaki konukçuların etkili olabileceği varsayımını akla getirmektedir.

Aydın Orman Bölge Müdürlüğü'nden alınan bilgilere göre Aydın İl sınırları içerisinde kestaneliklerin bulunduğu alanlarda kestane kanseri etmeninin diğer konukçularından sadece meşe bulunmaktadır. Ayrıca; ormanlık alanlarda bulunan çalı formundaki meşeliklerin bozularak kestaneliklere dönüştürülmesi ve de ağaç formundaki meşeler arasına kestane ağaçları dikilerek kestane üretimine izin verilmesi sonucu Aydın yöresinde ki kestanelikler büyük oranda meşelikler ile aynı alanda yer almaktadır.

Sayın Halit Şalkacı' dan¹ alınan bilgilere göre, Aydın yöresinde sadece 3 meşe türü bulunmakta olup, bunlar herdem yeşil meşelerden Kermes Meşesi (*Quercus coccifera* L.), Pırnal Meşesi (*Quercus ilex* L.) ve kırmızı meşelerden de Saçlı Meşe (*Quercus cerris* L.) dir. Ancak kestane kanserinin bu meşe türlerinde hastalık oluşturup oluşturmadığına dair bir bilgi yoktur. Bu sorunun yanıtı hastalıkla savaşım yöntemlerinin ortaya konulmasında belirleyici olacaktır.

Pratiğe aktarılmış bir kimyasal savaşımın olmadığı, kültürel önlemler ile karantina'nın sınırlı bir kontrol sağladığı bu hastalıkta (Jaynes and Van Alfen, 1977 ; Elliston, 1981) *C. parasitica*'nın hipovirulent ırklarından (Anagnostakis and Jaynes, 1973; MacDonald and Fulbright, 1991; Heiniger and Rigling, 1994) ve bazı antagonist organizmalardan (Arisan-Atac *et al.*, 1995; Wilhelm *et al.*, 1998) yararlanılarak yapılan biyolojik savaşım yanında özellikle dayanıklı çeşitlerin ıslahı ve yetiştirilmesi ile etkin bir savaşım yönünde önemli adımlar atılmıştır (Anagnostakis, 1992). Ülkemizde de benzer çalışmalar ile Marmara bölgesindeki yöresel kestane çeşitleri (Baykal *et al.*, 2000) ve Karadeniz bölgesindeki bazı kestane genotipleri (Erper ve ark.,2005) arasından hastalık etmenine karşı dayanıklı olanlar saptanmıştır.

Türkiye kestane üretiminde en büyük paya sahip olan ve kestane kanseri tehlikesi altına giren Aydın İli'nde hastalığın yayılışının kontrol altına alınması ile birlikte yörenin temiz üretim alanlarının hastalıktan arı tutulması üretimin devamlılığını sağlama açısından gereklidir.

Kestane kanseri hastalığına karşı savaşımında sürdürülen çeşitli uygulamaların yeterince etkili olmaması sonucu çoğu ülkede kolay, ucuz, sağlıklı ve etkin olması yönleriyle verim ve kalite kriterleri yüksek dayanıklı çeşitlerin saptanması, geliştirilmesi ve üretimi çalışmalarına yönelinmiştir. Bu bakımdan da agronomik değerleri yönü ile özellikle üretimde tercih edilen çeşitlerin hastalığa karşı duyarlılıklarının ortaya konulmasının büyük önemi vardır. Bu nedenle çalışmada, yöremizde yaygın olarak yetiştirilen, kalite ve verim kriterleri açısından iyi özelliklere sahip olması nedeniyle üretimde olan kestane tiplerinin Aydın kestane

* Aydın Orman Bölge Müdürlüğü İşletme Şefi

Üretim alanlarından elde edilen ve farklı virülensliğe sahip *C. parasitica* izolatlarına karşı olan duyarlılıkların belirlenmesi hedeflenmektedir. Kestane tiplerinin farklı yöntemler kullanılarak ortaya konulacak olan reaksiyonları, Aydın yöresi kestane üretiminde bu hastalığa karşı çeşit/ tip tercihi yönünden veri sağlayabileceği gibi, yöntemlerin karşılaştırılması ile de uygun ve güvenilir olan testler vurgulanmış olacaktır.

Diğer taraftan bu çalışmanın bir diğer yönü de kestane kanseri hastalığının yayılmasında önemli bir inokulum kaynağı olan diğer konukçulardan meşenin yöremizde bulunan türlerinin etmene konukçuluk yapıp yapmayacağının saptanmasıdır. Böylece hastalıkla savaşım stratejilerinin belirlenmesi yönünde kestaneliklerle i içe bulunan meşeliklerin önemi ortaya konulmuş olacaktır.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

Kestane (*Castanea spp.*), dünyada geniş bir alana yayılmış olup çok farklı türleri bulunmaktadır. Bu türler arasında Amerikan kestanesi [*Castanea dentata* (Marsh.) Borkh.], Avrupa kestanesi [*Castanea sativa* Mill.], Japon kestanesi [*Castanea crenata* (Marsh.) Borkh.], Çin kestanesi [*Castanea mollissima* Bl.] en yaygın ve ekonomik olanlarıdır (Vossen, 2000).

Kestanenin orijini hakkında kesin bir bilgi olmamakla birlikte bazı yazarlara göre kestane anavatanının Anadolu olduğu ve adını da bugünkü adıyla Kastamonu olan Kastanis şehrinden aldığı ileri sürülmektedir (Jaynes, 1979; Soylu, 1984). Avrupa'da kestane orijini, gelişimi ve yayılışı ile ilgili yapılan araştırmalara göre dünyadaki buzullaşma sonucu Avrupa'daki tüm kestanelerin öldüğü ve sadece Kuzey Anadolu ve Kafkasya'da kalan kestane, Batı Anadolu'da kültüre alındığı ve buradan da Romalılar tarafından Avrupa'ya götürülerek yayıldığı varsayılmaktadır (Erdem, 1951). Batı Avrupa'dan Doğu Anadolu'ya doğru gidildikçe kestanelerde genetik çeşitliliğin artmasının bu hipotezi güçlendirdiğini belirtmektedirler (Zohary and Hopf, 1988; Villani *et al.*, 1994).

20. yüzyıla kadar milyonlarca hektar yayılış alanı ile dünya üzerinde en yaygın bulunan ağaçlar içinde yer alan kestane varlığı ve üretimi 1900 yılların başından itibaren kestane kanseri nedeniyle olumsuz yönde etkilenmeye başlamıştır. *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr adlı bir fungal etmenin neden olduğu bu hastalık önce Amerika ve daha sonra Avrupa kestane üretim alanlarında büyük çapta tahribat oluşturmuş ve özellikle Kuzey Amerika'da kestane geniş alanları kaplayan bir ağaç olma özelliğini kaybetmiştir (Jaynes, 1979).

Bu hastalık dünyada ilk kez Herman Merkel tarafından 1904 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin New York şehrinde bir hayvanat bahçesinin park alanında Amerikan kestanesi (*C. dentata*) üzerinde saptanmış ve belirtileri ağaçların dallarında yada tümünde hızla oluşan kurumalar şeklinde tanımlanmıştır (Anagnostakis, 2001). Bu tespiti takip eden yıllarda hastalık Amerika'nın kuzey kısımlarındaki kestane ormanlarında kısa sürede yayılarak çok sayıda kestane

ağacının kurumasına yol açmıştır. Hastalığın ülkenin güney eyaletlerine yayılmasının engellenmesi için ABD Hükümeti 1912 yılında hastalık ile ilgili karantina yasasını uygulamaya koymuştur (Waterworth and White, 1982). 1900'li yıllardan önce ABD'ye ilk yerleşen Japonlar ile Çinliler'in Uzak Doğu'dan farklı kestane çeşitlerini getirdikleri ve Amerikan kestane anaçlarına aşıladıkları bilindiğinden hastalığın kökeninin Asya olabileceği varsayımı ile 1913 yılında ABD Tarım Bakanlığı hastalığın Asya'da olup olmadığının araştırılmasına karar vermiştir (Anagnostakis, 1989). Yapılan çalışmalar ile bu hastalık 1913 yılında Frank Meyer tarafından Çin'de Çin kestanesi (*C. mollissima*) üzerinde, yine aynı kişi tarafından 1915 yılında da Japonya'da Japon kestanesi (*C. crenata*) üzerinde saptanmış ayrıca Flippo Gravatt ve David Marshall ABD'de alınan karantina önlemlerine rağmen 1926 yılında hastalığın bu ülkenin kuzey bölgelerinin dışına çıktığını ve güney eyaletlerindeki kestaneliklere de bulaştığını belirtmişlerdir (Anagnostakis, 2001). Hastalık bundan sonraki yıllarda da yoğunluğunu artırarak ülkedeki yayılmasını sürdürmüş ve 1950'li yıllara gelindiğinde ise yaklaşık 3,5- 4 milyar kestane ağacının ölümüne neden olmuştur (Roane *et al.*, 1986).

Kestane kanseri, Avrupa'da ilk kez Biraghi tarafından 1938 yılında İtalya'nın Genova yakınlarında Avrupa kestanesi (*C. sativa*) üzerinde saptanmıştır. 1940'li yıllardan itibaren İtalya'nın çoğu kestaneliklerine bulaşan bu hastalığın, 1940-1970 yılları arasında önce İtalya'ya komşu olan İspanya, Fransa ve İsviçre'ye daha sonra güneydoğu Avrupa'da Yugoslavya, Yunanistan ve Türkiye'ye kadar ulaştığı, 1970 ve 1980'li yıllarda da Portekiz, Almanya, Avusturya, Macaristan ve Slovakya'yı içine alan çok geniş bir alana yayıldığı belirlenmiştir (Heiniger and Rigling, 1994; Milgroom and Cortesi, 2004).

Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Organizasyonu (EPPO) nun kayıtlarına göre günümüzde kestane kanseri Avrupa kıtasında Avusturya, Belçika, Bosna-Hersek, Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İtalya, Makedonya, Polonya, Rusya (Karadeniz kıyıları), Slovakya, Slovenya, İspanya, İsviçre, Türkiye, Ukrayna ve Yugoslavya'da, Asya kıtasında Çin, Gürcistan, Hindistan, Japonya, Güney Kore,

Kuzey Kore, Tayvan' da, Afrika kıtasında Tunus'da, Kuzey Amerika kıtasında Kanada ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunmaktadır (EPPO, 2005).

Kestanenin sürgün, dal ve gövde gibi toprak üstü odunsu organlarında oluşturduğu tipik kanserlerle tanınan bu hastalık enfekteli alanlarda bir renk değişikliği şeklinde dikkat çekmeye başlar. Bu değişme çok belirgin olmamakla birlikte genç sürgünlerde zeytini yeşil olan kabuk renginin parlak kırmızı kahverengiye dönüşmesidir. Takiben bu kısımlarda çökmeler ve kabuk dokusunda kambiyuma kadar ulaşan, dala ve gövdeye paralel çatlaklar oluşmaktadır. Etmenin gelişiminin yavaş olduğu durumlarda etkilenen alandaki kabuğun altında yeni sağlıklı dokuların gelişimi sonucu olarak bu bölgede şişkinlikler gözlenebilmektedir. Zamanla bu tip kanserlerde kabuğun üst kısmında yüzeysel çatlaklar oluşmaktadır (Gravatt, 1949; EPPO, 2005). Bu belirtilerin yanı sıra etmenin konukçu bitki üzerinde oluşturduğu gözle görülebilen gelişmeler ve yapılar da hastalığın tanınmasında yardımcı olmaktadır. Bunlardan en belirgin olanı kanserli dokular üzerinde oluşan sarı-turuncu veya kırmızımsı renkte ve toplu iğne başı büyüklüğünde stromalardır (Murrill, 1906' ya atfen Rittenour, 2005). Nemli koşullarda stromalarda, içerisinde milyonlarca konidinin bulunduğu turuncu-sarı renkte kıvrık sirusların olduğu dikkat çekmektedir (EPPO, 2005). Ayrıca enfekteli kabuk dokusu ile odun dokusu arasındaki yelpaze şeklinde miselyal gelişim de etmenin bir diğer tipik belirtisidir (Heiniger and Rigling, 1994). Hastalığın ilerlemesi ile kanser, dal veya gövdeyi bir halka gibi çepeçevre sararak bu bölgenin üzerinde kalan kısmın tamamen kurummasına neden olmaktadır. Bu tür dallarda ilk olarak yapraklarda solgunluk oluşur, daha sonra kahverengileşerek yapraklar dal üzerinde asılı halde kahrılar (Roane *et al.*, 1986). Çoğu zaman enfekteli bölgenin altında kalan sağlıklı kısımlarda yeni sürgün gelişimleri de gözlenmektedir (Heiniger and Rigling, 1994; Anagnostakis, 1997)

İlk önce 1906 yılında Murrill' in *Diaporthe parasitica* Murrill olarak adlandırdığı kestane kanseri'nin etmeni, 1912' de *Endothia* cinsine transfer edilerek Anderson and Anderson tarafından adı *Endothia parasitica* (Murr.) And. & And. olarak değiştirilmiştir. Daha sonra etmenin taksonomik olarak yer aldığı Diaporthales

takımının yeniden değerlendirilmesi ile etmenin cinsi *Cryphonectria* olarak olarak isimlendirilmiştir (Barr, 1978' e atfen Rittenour, 2005). *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr adı ile Ascomycota şubesinin, Pyrenomycetes sınıfına ait, Diaporthales takımının Valsaceae familyasında yer alan kestane kanseri etmeninin (Agrios, 1997) morfolojik özellikleri ve üreme şekilleri aşağıda verilmiştir.

C. parasitica doğal koşullarda enfekte ettiği ağaçların kabuk dokuları üzerinde yarı kısımları kabuğa gömülü halde, renkleri sarı ile koyu turuncu arasında değişen, 0,5-4 mm çapında ve 2,5 mm yüksekliğinde stromalar oluşturmakta ve içlerinde 100-300 µm çapında piknidiumlar gelişmektedir (Anagnostakis and Kranz, 1987; Milgroom, 1995). Piknidiumlar içerisinde ise dallanmış konidioforlar üzerinde konidiler oluşmaktadır (MacDonald, 1993). Konidiler 3-5 X 1,5-2 µm boyutlarında oval ve çubuksu, bazı hallerde hafifçe kıvrık şekilli, saydam ve bölmesizdir (Ellis and Ellis, 1985). Olgunlaşmış konidiler nemli koşullarda, yapışkan sıvı ile karışık akıntı şeklinde piknidiumların tepesindeki delikten dışarıya çıkarak rüzgarla karışık yağmurlu havalarda yağmur damlalarıyla etrafa saçılarak hastalığın kısa mesafelere yayılmasına neden olurlar (Fulbright, 1999).

Genel olarak heterothallik bir eşeyli üremenin görüldüğü *C. parasitica*' da MAT-1 ve MAT-2 genlerine sahip konidilerle hiflerin birleşmesi ile gerçekleşen eşeyli üreme sonucu stromalar içinde oluşan peritesiumlar (Mara and Milgroom, 1999) 300-400 µm çapında, şişkin kese şeklinde olup, 300-600 µm uzunluğunda ve 200 µm çapında bir boyun kısmına sahiptir. Boyun kısmı stromanın dışına kadar uzanır. Peritesyumlarda; 32-55 X 7-8,5 µm boyutlarındaki askuslar içerisinde iki sıra halinde ortalama 8 adet askospor bulunmaktadır (Fulbright, 1999). 7-12 X 3,5-5,0 µm boyutlarında, iki hücreli, oval ve pürüzsüz bir şekilde olan askosporlar (Ellis and Ellis, 1985) peritesyumdan basınçla dışarı atılıp hava akımlarına karışarak hastalığın uzak mesafelere yayılmasında etkili olmaktadır (Milgroom, 1997; Guerin *et al.*, 1999).

Yapay besi ortamında *C. parasitica*'nın, oda sıcaklığında ve ışık altında gelişen miselyumunun rengi genç dönemde beyaz iken daha sonra açık-sarı ve sarı-

turuncuya dönüşmektedir. Miselyum daha ilerki dönemlerde kırmızı-turuncu yada bordo-mor rengini almaktadır (Ellis and Ellis, 1985).

C. parasitica bir yara parasiti olup kestaneye sürgün, dal ve gövdede mekanik yada doğal yolla açılmış olan yaralardan, çatlaklardan giriş yapmaktadır (Anagnostakis and Kranz, 1987; Heinigier and Rigling, 1994; Fulbright, 1999). Etmen, konukçu dokulardaki kolonizasyonu süresince konukçunun hücre duvarını parçalayan başta poligalakturonaz, kütinaz, selülaz ve renin tipi proteaz endothiapipepsin olmak üzere bir dizi hidrolitik enzimler salgılamaktadır (Havir and Anagnostakis, 1983; Gao *et al.*, 1996). Etmenin meyvelerde kabukta bulunabildiği fakat meyveyi enfekte etmediği bildirilirken (Jaynes and DePalma, 1984), toprak altı organlarda da enfeksiyona neden olmadığı belirtilmektedir (Heiniger and Rigling, 1994).

Etmen kışı kanserlerde kabuk dokusu içerisinde miselyum olarak geçirdiği gibi koşullara bağlı olarak bu kanserli dokular üzerindeki stromalar içerisinde piknidium veya peritesyum olarak da kışlayabilmektedir (Guerin *et al.*, 1999). Etmen bu dokularda miselyum olarak 10 ay kadar canlılığını koruyabilmektedir (Hepting, 1974). Kış aylarında gerek konukçunun duyarlılığının azalması gerekse iklim koşullarının etmenin gelişimi için uygun olmaması nedeniyle kanser gelişiminin yavaşladığı yada durduğu, en hızlı kanser gelişiminin sıcak ve kurak yaz aylarında gerçekleştiği bildirilmiştir (Guerin and Robin, 2003). Ayrıca doğal koşullarda askospor çıkışının Mart- Ekim ayları arasında olduğu ve en fazla askospor çıkışının da Mayıs ayında olduğu saptanmıştır (Guerin *et al.*, 2001).

Etmen sağlıklı ağaçlara askospor ve konidi olarak hava akımları ve yağmurla doğrudan yayılabildiği gibi dolaylı olarak bu sporların ve ayrıca miselyumun başta böcekler ve kuşlar olmak üzere, kanserli dokular ile temas eden her türlü hayvan ile ve bunlara ek olarak kültürel işlemler sırasında kullanılan aletlerle de taşındığı belirtilmiştir (Delen, 1975; Sharf and DePalma, 1981, Fulbright, 1999). ABD’de yapılan bir çalışmada kestan kanseri dokuları üzerinde 495 çeşit böcek türü tespit edilmiş ve bunlardan 69’ unun *C. parasitica* inokulumu taşıdıkları belirlenmiştir (Russin *et al.*, 1984). Diğer taraftan bir başka çalışmada ise; kabuklu böceklerden

Scolytus intricatus (Ratz.) ve *Xyleborus monographus* (F.)' un *C. parasitica* ile bulaşık olduğu saptanarak bu böceklerin etmenin meşe ve kestane arasında taşınmasında çok etkili olabileceği bildirilmiştir (Frigimelica and Faccoli, 1999).

Kestane kanserinin ilk kez saptandığı tarihten bugüne gelinceye kadar mücadelesi yönünden çeşitli yöntemler denenmiş ancak bunlardan etkili sonuçlar elde edilememiştir. Hastalığın inokulum kaynaklarının yok edilmesine yönelik olarak 1906' da Murrill tarafından hastalıklı dalların budanması, hasta ağaçların kesilmesi ve yakılması gibi sanitasyon uygulamaları önerilmiş olsa da bunların hastalığı kontrol etmede tek başına etkili bir yöntem olmadığı anlaşılmıştır (Rittenour, 2005). Bunun üzerine ABD' de hastalığın yayılmasını önlemek amacıyla 1911 yılında hastalıkla ilgili karantina yasası yürürlüğe konulmuştur. Bu kapsamda çok geniş bir alanda eradikasyon uygulamaları yapılmış ancak yine kestane kanserinin yayılması engellenememiştir. Benzer uygulamalardan Avrupa'da da başarı elde edilememesi sonucu bu tür eradikasyon uygulamalarından vazgeçilmiştir (Pavari, 1949).

Kestane kanserinin kimyasal yöntemlerle kontrolü konusunda özellikle sistemik fungusitlerin geliştirilmesinden önce yapılan çalışmalardan olumlu sonuçlar alınmamıştır. Sistemik fungusitlerin birçok fungal hastalığın kontrolündeki başarılı performansı Delen (1979) tarafından kestane kanseri üzerinde de değerlendirilmiş ve Bavistin (Carbendazim), Benlate (Benomyl) ve Enovit Süper (Thiophanate-methyl) etkili bulunmuştur. Ancak etmenin bu ilaçlara dayanıklılık kazanma olasılığı, meyvelerde kalıntı düzeyleri ve hipovirulent ırklara etkileri belirlenmediğinden, uygulamaya aktarılması yönünde bir öneride bulunulmamıştır. Nitekim Delen (1980) bu çalışmasını takip eden araştırmasında kestane kanseri etmenine karşı etkili bulunan fungusitlerin sürekli kullanılması sonucu in vitro koşullarda dayanıklılığın ortaya çıktığını ve kazanılan dayanıklılığın kalıcı olduğunu saptamıştır. Diğer taraftan sistemik fungusitlerin uygulanabilirliği açısından hastalıklı ağaçlarda farklı enjeksiyon yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmalar ümitvar sonuçlar vermiştir (Jaynes and Van Alfen, 1974; Tattar, 2004).

1950-1960 yılları arasında İtalya'da kanser hastalığının bulunduğu bazı kestaneliklerde iyileşmelerin saptanması, daha sonra iyileşme gözlenen bu

ağaçlardan şişkin yüzeysel kanserler oluşturan, virülensliği düşük, besi ortamında beyaz miselyuma sahip *C. parasitica* izolatlarının elde edilmesiyle, hastalık etmeninin biyolojik savaşımı ile ilgili ilk adımlar atılmıştır (Heiniger and Rigling, 1994). *C. parasitica*'nın virüs benzeri partiküller veya dsRNA içeren bu streynleri Jean Grente tarafından hipovirulent olarak adlandırılmıştır. Hipovirulent streyn'den virulent olana anastomosis yolu ile sitoplazmik olarak taşınan hipovirülenslik kanser oluşumunu yavaşlatarak veya durdurarak kanserli dokuların iyileşmesine olanak sağladığından *C. parasitica*'nın biyolojik kontrolünde hipovirulent ırklardan yararlanılmaya başlanmıştır (Van Alfen *et al.*, 1975; Roanne *et al.*, 1986; Anagnostakis, 1988; Fulbright *et al.*, 1988; Bisiach *et al.*, 1988; MacDonald and Fulbright, 1991; Heiniger and Rigling, 1994). Hipovirülensliğin yayılmasında rol oynayan anastomosis sadece aynı vejetatif uyum (v-c) grubuna ait bireyler arasında gerçekleşmektedir (Anagnostakis 1977; Milgroom, 1995). Bu nedenle vejetatif uyum gruplarının çeşitliliği hipovirülensliğin doğada yayılmasını etkileyen en önemli faktörlerden biri olup düşük v-c grup sayısına ait populasyonlarda hipovirülenslik daha hızlı yayılmakta ve hastalık etmeninin biyolojik kontrolünde etkili olmaktadır (Anagnostakis *et al.*, 1986; Huber and Fulbright 1994; Liu and Milgroom 1994). Ülkemizde başlıca kestane üretim alanlarının yer aldığı Ege, Karadeniz ve Marmara Bölgesi kestaneliklerinde bu konuda yapılan çalışmalarda v-c grubu çeşitliliğinin düşük olduğu ve Avrupa izolatları ile uyumlu olduğu görülmüştür (Coşkun *et al.*, 1999; Çeliker, 2000; Gürer *et al.*, 2001; Döken ve ark., 2004). Bunların paralelinde Ülkemizin *C. parasitica* populasyonu içinde hipovirulent streyn'lerin de bulunduğu ortaya konmuş (Coşkun *et al.*, 1999; Çeliker, 2000; Gürer *et al.*, 2001; Açıkgöz ve ark., 2004; Çeliker ve Onoğur, 2004) ve bu streyn'lerin *C. parasitica* ile mücadelede değerlendirilmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır (Çeliker, 2000).

Biyolojik savaşıma yönelik arayışlar içinde yapılan çalışmalarda kanserli dokulara Groome *et al.* (2001) tarafından *Bacillus megaterium*, Wilhelm *et al.* (1998) tarafından *Bacillus subtilis* uygulamasının dokularda iyileşme sağladığı saptanmıştır. Başka bir çalışmada da *Trichoderma viridae* ve diğer *Trichoderma* sp.'nin de *C. parasitica*'ya karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Arisan-Atac *et al.*, 1995).

1913 yılında Fairchild tarafından Çin’ de Çin kestanesinin, 1916 yılında da Japonya’ da Shear ve Stevens tarafından Japon kestanesinin *C. parasitica*’ ya karşı dayanıklı olduğunun bildirilmesini (Anagnostakis, 1992) takiben başlayan çalışmalar ile ilk olarak 1922 yılında ABD Tarım Bakanlığı’nca New York’ da Çin ve Japon kestaneleri ile Amerikan kestanelerinin çaprazlaması sonucu kestane kanserine dayanıklı hibrit çeşitler geliştirilmeye çalışılmıştır. Ancak elde edilen hibrit çeşitler araştırma ortamında kansere karşı belli düzeyde dayanıklılık göstermesine karşın çoğunluğu doğal koşullarda aynı reaksiyonu göstermemiştir (Jaynes 1978’ e atfen Bazzigher and Miller, 1991). Alınan bu başarısız sonuçların ardından 1960’ larda USDA kestane ıslah çalışmalarını durdurmuştur. 1981 yılında bir bitki genetikçisi olan Charles Burnham kestane ıslahında otsu bitkilerde kullanılan geriye çaprazlama ıslah yöntemini önererek Çin kestanesindeki dayanıklılık özelliğinin Amerikan kestanesine aktarılabilirliğini söylemesi ve bunu araştırmalarında ortaya koyması ile kestane ıslahı konusunda çalışmalar tekrar hız kazanmıştır. Bu çalışmaların sonucunda ABD’ de kansere karşı dayanıklı çeşit geliştirme konusunda oldukça yol alınmış ve kestane kanserine dayanıklı hibritler elde edilmiştir (Burnham, 1987; Anagnostakis, 1997). Bu hibritlerin doğa koşullarında *C. parasitica*’ya olan reaksiyonlarının test edilmesinin yaklaşık 2012 yılına kadar sürdürüleceği, başarılı olması durumunda üretime geçileceği bildirilmiştir (Sisco, 2004).

Qin *et al.* (1999) tarafından Çin’de denemeye alınan 17 Çin kestanesinin *C. parasitica*’ ya karşı gösterdiği dayanıklılık ölçülerek, her bir çeşitin etmene karşı reaksiyonlarının farklı olmasına rağmen çoğunun virulent ırklara karşı dayanıklı olduğu belirtilmiştir. Bu çeşitlerde oluşan kanserlerin ufak olduğu veya kallus oluşumu ile kısa sürede kapandığı gözlemlenmiştir. Ele alınan çeşitlerden beiyu2’nin en yüksek dayanıklılık sergilediği saptanarak bu çeşitin ileride yapılacak ıslah programları için dayanıklılık kaynağı olarak değerlendirilebileceği ifade edilmiştir.

Avrupa’da da kestane kanserine karşı dayanıklı kestane çeşitlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesine yönelik çalışmalar yürütülmüş fakat geniş çapta üretim için önerilebilecek çeşitler elde edilememiştir (Pavari, 1949; Bazzigher, 1981). Nitekim İsviçre’ de 30 yıl boyunca süren dayanıklı kestane seleksiyonu

alışmalarında içerisinde *C. mollissima*, *C. crenata*, ve *C. sativa* türlerinin bulunduğu 120 binden fazla kestane fidanı *C. parasitica*'ya olan reaksiyonları yönünden test edilmiş ve bunlardan 30 bin fidanda farklı düzeylerde dayanıklılık saptanmıştır (Bazzigher and Miller, 1987). Bu fidanlar üzerinde yapılan ikinci bir seleksiyon sonucu 120 adedi en dayanıklı klonlar olarak belirlenmiştir. Ancak bunlarda da dayanıklılığın yeterli olmadığı kanısına varılmıştır (Bazzigher and Miller, 1991). Yunanistan'da yöresel kestane çeşitlerinin hastalık etmenine karşı reaksiyonlarının yanı sıra Çin kestanesi ve hibrit çeşitin (*C. mollissima* x *C. dentata*) de *C. parasitica*'ya karşı reaksiyonları test edilmiştir. Hastalık etmeninin fidanlara inokulasyondan 5 ay sonra yöresel çeşitlerin hassasiyet dereceleri farklı olsa da tamamının *C. parasitica*'ya karşı hassas olduğu saptanmıştır. Ancak Çin kestanesinin ve hibrit çeşidin etmene karşı dayanıklı olduğu belirlenmiş, bunlar üzerinde inokulasyon sonucu oluşan küçük kanserlerin 1-2 yıl içerisinde kapandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca araştırmacılar yöresel çeşitlerin büyük bir kısmının inokulasyondan kısa bir süre sonra ölmesinin sadece konukçunun genetik özelliğine bağlı olmayıp aynı zamanda hastalık etmeninin gelişimi için uygun şartların olması veya konukçu gelişimi için koşulların yetersiz olmasına da bağlı olabileceğine dikkat çekmişlerdir (Xenopoulos and Papachatzis, 1999).

Ülkemizde bulunan yöresel çeşitlerin bu hastalığa karşı duyarlılıklarının ortaya konulmaya çalışıldığı sınırlı sayıdaki araştırmalardan biri Baykal ve ark. (2000) tarafından Bursa İli kestane alanlarında bulunan bazı çeşitlerin *C. parasitica*'ya karşı reaksiyonlarının saptanmasıdır. Bu çalışmada ele alınan çeşitlerden Vakit ve Dursun adlı kestane eşitleri Osmanoğlu, Hacı Ömer, Sarı Aşlama, Firdula ve Seyrek Diken çeşitlerine göre daha dayanıklı olarak değerlendirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise; Karadeniz Bölgesi'nden selekte edilmiş bazı kestane genotiplerinin *C. parasitica* karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla, Samsun ve Sinop'dan selekte edilen 8 farklı kestane genotipine ait 5 yıllık fidanlara Samsun orijinli *C. parasitica* izolatu inokule edilmiş ve inokulasyondan 4.5 ay sonra lezyon alanları ölçülerek, piknit oluşumları incelenmiştir. Araştırma sonucunda, Sinop' dan elde edilen SA 5-1 genotipi en duyarlı genotip olarak saptanırken, Samsun'dan elde edilen 556-8 ve yine Sinop' dan elde edilen SE 3-12

genotipleri ise nispeten dayanıklı genotipler olarak belirlenmişlerdir (Erper ve ark.,2005).

C. parasitica'nın konukçusunun sadece kestane olmadığı, bazı geniş yapraklı ağaçlarda da geliştiği çeşitli kaynaklarda belirtilmiş olup, kestane kanseri belirtileri İtalya'da ormanlık bölgelerde kestane ağaçları ile karışık halde bulunan meşelerde (*Quercus* spp.) saptanmış ayrıca gürgen (*Carpinus betulus* L.), kızılgağaç (*Alnus cordata* Desf.) ve kayacık (*Ostrya carpinifolia* Scop.) üzerinde de gözlemlenmiştir (Luisi *et al.*, 1993). Frigimelica and Faccoli (1999) de benzer saptamalarda bulunarak *C. parasitica*'nın meşelerin yanısıra gürgen, kızılgağaç ve kayacık ağaçlarında da enfeksiyonlara neden olduğunu belirtmişlerdir. Ancak kestane dışında kalan konukçulardan en çok meşelerde saptanmış olan bu hastalığın görüldüğü meşe türleri *Quercus montana* L. ve *Quercus stellata* Wangenhç (Gravatt, 1949), *Quercus ilex* L., *Quercus frainetto* Ten. ve *Quercus pubescens* Willd. (Luisi *et al.*, 1993), *Quercus coccinea* Münchh. (Davis *et al.*, 1997) dir. Ayrıca 1998'de Stergule *et al.* kestane kanserini *Quercus robur* L. üzerinde (Frigimelica and Faccoli, 1999) ve Radocz and Tarcoli (2005) de *Quercus petraea* L. da saptamışlardır. Dallavalle and Zambonelli (1999) *Q. pubescens* ve *Q. robur* türleri üzerindeki kanserli dokulardan elde etikleri *C. parasitica* izolatlarını kestanelere inokule ederek kestanelerde kanser oluşturduğunu gözlemlemişlerdir.

C. parasitica meşelere de kestanelerde olduğu gibi yaralardan giriş yapmaktadır. Fakat etmenin içeriye doğru ilerlemesi bir kaç santimetre ile sınırlı kalmakta ve sonuçta çok küçük oranda bir tahribat oluşturmaktadır. Bu enfeksiyon sonucu oluşan belirtiler meşenin kabuk dokusunun aşırı pürüzlü olması nedeniyle çoğu kez zorlukla fark edilmektedir (Gravatt, 1949). Luisi *et al.* (1993) da meşelerdeki kanserlerin, kestanelerde oluşanlara göre daha ufak olduğunu ve geç oluştuğunu bu bakımdan hastalığın erken dönemlerde fark edilmesinin güç olduğunu gözlemlemiş ve bu durumun sanitasyon uygulamalarını olumsuz yönde etkileyeceğini ve ayrıca hastalığın epidemisinde önemli bir role sahip olabileceğini bildirmiştir. Nitekim Biraghi 1950 yılında meşeliklerde oluşacak kanserlerin *C. parasitica* populasyonunun artmasına neden olabileceğini ayrıca farklı genetik

yapıya sahip virulent ırkların oluşmasında etken olabileceğini belirtmiştir (Luisi *et al.*, 1993).

Dallavalle and Zambonelli (1999) meşelerden elde ettikleri izolatların kestanelerden elde edilen izolatlardan farklı v-c grubuna ait olduklarını saptamışlardır. Bunların kestane izolatları ile rekombinasyonu sonucu genetik çeşitliliğin artacağını ve bu durumda hastalığın hipovirulent ırklarla kontrolünün zorlaşacağını ileri sürmüşlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. İzolatların Elde Edilmesi

Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde yürütülmekte olan bir proje kapsamında, Aydın'ın önemli kestane üretim alanları olan Nazilli, Köşk, Sultanhisar Köyleri ile Aydın'ın Merkez İlçesine bağlı Eğrikavak Köyü (Anonymous, 2003) kestaneliklerinden elde edilen 80 *C. parasitica* izolatı ile aynı üretim alanlarına özellikle izolat sayısının az olduğu köylere tekrar surveylerin yapılması sonucu elde edilen 19 yeni *C. parasitica* izolatı olmak üzere toplam 99 adet izolat bu çalışmada kullanılmıştır (Çizelge 3). Bu izolatlar hastalığın yoğun olduğu köylerde şansa bağlı olarak seçilen hastalıklı ağaçlardan, düşük alanlarda ise hastalığın görüldüğü her bir ağaçtan elde edilmiştir. Tek bir izolatın elde edildiği köylerde ise yapılan ikinci surveylerde de hastalığın saptandığı ağaç dışında enfeksiyona rastlanmadığından izolat sayısı bir olarak kalmıştır.

Yeni izolatların elde edilmesi için yapılan surveylerde hastalıklı ağaçlardaki kanserli bölgelerden alınan kabuk dokusu parçaları plastik torbalara konularak buz kutuları içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Kabuk dokularından 5 mm çapında mantar delici ile alınan diskler % 2'lik sodyum hipoklorit içinde 3 dakika süre ile yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Steril damıtık suda durulanıp takiben steril filtre kağıtları arasında kurutulan örnekler petri kaplarında bulunan patates dekstroza agar (PDA) üzerine yerleştirilerek karanlık koşullarda 25 °C de inkube edilmiştir. İnkübasyon sonrasında örnekler üzerinde gelişen koloniler görsel olarak incelenmiş ve *C. parasitica* olduğu düşünülen koloniler arasında bulaşık olmayanlardan bir tanesi şansa bağlı olarak seçilip PDA ortamına aktararak saf izolatlar elde edilmiştir. İzolatların *C. parasitica* olarak tanısı A.D.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde Prof. Dr. M. Timur Döken ve Yrd. Doç. Dr. Ömer Erincik tarafından yapılmıştır.

Çizelge 3. İzolatların elde edildiği ilçeler, köyler ve elde edilen izolatlara

İlçeler	Köyler	İzolatlar
NAZİLLİ	Aksu	N1-1, N1-4*
	Appaklar	N2-1, N2-2, N2-3, N2-4, N2-5, N2-7, N2-8, N2-9, N2-10, N2-11, N2-12, N2-13
	Bağcılı	N5-2, N5-3, N5-4, N5-5
	Çatak	N7-1, N7-2, N7-3, N7-4
	Derebaşı	N11-5, N11-6, N11-7, N11-8
	Esentepe	N12-2, N12-3
	Hisarcık	N15-1, N15-2, N15-3
	Kahvederesi	N17-1, N17-2, N17-3
	Karahallı	N18-1, N18-2, N18-3
	Ketendere	N20-1, N20-2, N20-3, N20-5
	Kuşçular	N24-1, N24-2A, N24-2B
	Ovacık	N25-1
	Semailli	N27-1, N27-2
KÖŞK	Akçaköy	K2-1, K2-2, K2-3, K2-5, K2-6, K2-8
	Cumayanı	K3-1A, K3-1B, K3-3, K3-4
	Gökkiriş	K5-1, K5-2, K5-3, K5-4, K5-5, K5-6, K5-7, K5-8, K5-9, K5-10, K5-11, K5-12, K5-13, K5-14, K5-15, K5-16
	Kıran	K6-1
	Sarıçam	K8-1
SULTANHİSAR	Malgaçemir	S3-1, S3-2, S3-3, S3-4, S3-5
	Malgaçmustafa	S4-1, S4-2, S4-3, S4-4, S4-5, S4-6, S4-7, S4-8, S4-9, S4-10, S4-11, S4-12
	Uzunlar	S5-1, S5-2, S5-3, S5-4, S5-5
MERKEZ	Eğrikavak	M1-2, M1-3

* Kırmızı renkte yazılmış olan izolatlara bu çalışma kapsamında elde edilmiştir.

3.1.1. Tek spor izolasyonu

Bu çalışmayı genetik açıdan saf ve homojen izolatlar ile yürütmek için tüm izolatların tek spor izolatları elde edilmiştir. Bunun için PDA besi ortamında gelişen 10-15 günlük kolonilerde oluşan konidiler steril öze ile alınıp, içerisinde 5 ml steril su bulunan tüplere aktararak spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Süspansiyonun spor yoğunluğu hemositometrede saptanarak, ve gerektiğinde seyreltilerek veya konidi ilavesi ile yoğunluk 1.8×10^3 konidi/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Spor süspansiyonundan mikropipetle alınan 50 µl petri kapları içinde bulunan su agarı ortamı üzerine damlatılarak steril cam baget yardımıyla tüm yüzeye dağıtılmıştır. Petriler ışısız ortamda 25 °C de yaklaşık 40-48 saat süre ile inkübe edilerek sporların çimlenmesi sağlanmıştır. Daha sonra tüm ortam steril 5 mm çapındaki mantar delici yardımıyla delinip mikroskop altında incelenerek içerisinde bir tek çimlenmiş spor bulunan disk yada diskler steril öze yardımıyla alınarak petri kaplarındaki PDA ortamına aktarılmış ve koloni oluşturmaları sağlanmıştır.

3.2. İzolatların Vejetatif Uyum (V-C) Gruplarının Saptanması

Daha önceki çalışmadan verilen izolatların v-c grupları belirlenmiş olup, bu çalışma kapsamında elde edilen 19 yeni izolatın v-c gruplarını saptamak üzere eşleştirmeler Anagnostakis (1977)' in yöntemine göre yapılmıştır. Eşleştirilecek izolatların PDA ortamında gelişen 7 günlük kolonilerinin kenarlarından alınan 2-3 mm² büyüklüğündeki koloni parçaları içinde PDA bulunan 9 cm çapındaki petri kaplarına kenarından 1 cm içeride aralarında 1-2 mm mesafe kalacak şekilde karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. 25 °C de karanlıkta iki hafta inkubasyon sonucu izolatların vejetatif olarak uyumlu olup olmadıkları gelişen kolonilerin birleşme veya aralarında bir baraj oluşturma durumuna göre değerlendirilmiştir. İzolatlar önce kendi aralarında eşleştirilmiş ve bunlar arasından saptanmış olan farklı v-c gruplarına ait birer izolat Prof. Dr. Paola Cortesi ile Prof. Dr. Michael G. Milgroom tarafından sağlanan Avrupa v-c grupları (EU1- EU20) ile eşleştirilerek hangi gruba ait oldukları belirlenmiştir.

3.3. İzolatların Kültürel Özelliklerinin ve Virülensliklerinin Saptanması

Yörede üretimi yapılan kestane tiplerinin *C. parasitica*'ya olan reaksiyonlarını ortaya koymak ve bu yörede bu etmene konukçu olabilecek diğer ağaç türlerini saptamak üzere yapılacak çalışmalarda kullanılacak tek spor izolatlarını belirlemek için tüm izolatların bazı kültürel özellikleri, virülenslikleri değerlendirilmiştir. Buna yönelik olarak;

3.3.1 İzolatların Kültürel Özelliklerin Belirlenmesi

PDA üzerinde aktif olarak gelişen her bir izolata ait kolonilerinin kenar kısımlarından alınan 5 mm çapındaki diskler yine içinde PDA bulunan besi ortamının üzerine yerleştirilerek 25 °C de 7 gün karanlıkta daha sonra 7 gün de aydınlık ortamda tutulmuşlardır (Vannini *et al.*, 1997). Çalışma üç yinelemeli yürütülmüş olup, yedinci ve ondördüncü günlerde yapılan gözlemlerde izolatlar hipovirulent olanları belirlemede yardımcı olan kültürel karakterler [koloni rengi, koloni şekli, koloni çapı(mm)] yönü ile (Dunn and Boland, 1993) değerlendirilmiştir. Böylece izolatlar arasında hipovirulent olası izolatların olup olmadığı ayrıca izolatların bu kültürel özellikleri ile virülenslikleri arasında bir ilişkinin olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

3.3.2. İzolatların Virülensliklerinin Belirlenmesi

Aydın Yöresinden elde edilen tüm tek spor izolatların virülensliklerinin saptanması ve çalışmalarımızda kullanılacak virülensi düşük ve yüksek iki izolatın belirlenmesi, önce elma testi ve takiben kabuk/odun dokusu testi olmak üzere iki aşamada yapılmıştır. Elma testi izolat sayısının çok olduğu durumlarda izolatların virülensliklerini kısa sürede, kolaylıkla saptanabilme olanağı sağladığından ve hipovirulentler ırkları virulent olanlardan ayırt etmede yeterli bulunduğundan (Elliston, 1985; De Lange *et al.*, 1998) tüm tek spor izolatlarının virülenslikleri önce bu yöntem ile belirlenmiştir. Kabuk/ odun dokusu testi ise yörede kestane ağaçları arasında büyük bir varyasyon olması nedeniyle tek bir ağaçtan aynı yaş, kalınlık ve

düzgünlükte dal parçaları yeterince sağlanamadığından elma testi sonucu seçilen izolatlar üzerinde yapılmıştır.

3.3.2.1. Elma testi

Bu test Fulbright (1984) ve Elliston (1985)' nin yöntemlerine göre yürütülmüş ve 4 yinelemeli olarak yapılmıştır. Homojen büyüklük, olgunluk ve renkte olan Golden Delicious elma çeşidi meyveleri önce çeşme suyuyla yıkanıp, kuru bir bezle nemi alındıktan sonra yüzeyi % 70'lik ethanol emdirilmiş pamuk ile silinerek yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Takiben meyvelerin yan yüzeylerinde 5 mm çapında 3-4 mm derinliğinde delikler açılmıştır. Yine aynı genişlikte, PDA üzerinde aktif olarak gelişen *C. parasitica* izolatlarının kolonilerinin kenar kısımlarından alınan disklerin misel bulunan yüzeyi elma dokusunun iç kısmına gelecek şekilde açılan deliklere yerleştirilmiş ve tamamen dokuya temas etmesi sağlanmıştır. Üzerine meyve kabuğu dış tarafta kalacak şekilde disk şeklinde çıkartılmış elma parçası tekrar kapatılmıştır. Kontrollerde inokulum olarak steril PDA diski kullanılmıştır. İnokule edilen kısımlar parafilm ile kapatılarak karanlıkta 25 °C sıcaklıkta inkube edilmiştir. İnokulasyondan yaklaşık bir hafta sonra elmalar üzerindeki lezyon gelişimleri hemen her gün gözlemlenmeye başlanmış ve herhangi bir elmada gelişen herhangi bir lezyonun tüm bir yüzeyi kapladığının saptandığı 15. günde tüm elmalarda oluşan lezyonların en ve boy uzunluğu toplanıp ikiye bölünerek ortalamaları alınmış ve elde edilen verilerin köy bazında istatistiksel analizleri yapılmıştır. İki izolata sahip olan köylerde “t” testi uygulanmış, izolat sayısının ikiden fazla olduğu köylerde ise verilerin varyans analizleri yapılmış ve Duncan' a göre gruplandırılmışlardır. Bu gruplandırmalara göre virülenslikleri bakımından farklılık gösteren izolatlara sahip olan köylerden virülensliği en yüksek ve en düşük izolatlar, farklılığın olmadığı köylerden de sayısal değer olarak yine en yüksek virülensliğe sahip izolatlar seçilmiş, izolat sayısının tek olduğu köylerde ise hiçbir analiz yapılmadan doğrudan izolatın kendisi alınmıştır.

3.3.2.2. Kabuk/ odun dokusu testi

Lee *et al.* (1992)'un belirttiği yönteme uygun olarak yapılan bu test için hastalığın yoğun olarak bulunduğu Nazilli İlçesi'ne bağlı Appaklar Köyü kestane alanlarında yöresel ismi Işıklar olan bir kestane ağacının kanser bulunmayan sağlıklı dallarından yaklaşık 1 cm çapında dal parçaları alınmıştır. Dal parçaları laboratuvara ulaştırılınca kadar dalların her iki tarafı nemli bezlerle sarılarak plastik torbalar içerisinde tutulmuştur. Laboratuvara getirildiğinde ise kesilen dalların üst kısmı ve kesilmiş yan dalların yerleri parafilm ile kaplanıp, dalların alt kısmı ıslak kağıt havlu ile sarılarak, iki hafta içerisinde inokule edilmek üzere yaklaşık 4  C sıcaklıkta buzdolabında bekletilmiştir. Testte kullanılacak olan dallar yaklaşık 18 cm uzunluğunda kesilerek dış yüzeyleri öncelikle  eşme suyuyla yıkanıp kurulandıktan sonra steril kabinde % 2'lik sodyum hipoklorit içinde 3 dakika bekletilerek yüzeysel olarak sterilize edilmiş ve steril damıtık suda durulanmıştır. Yaklaşık 30 dakika dal parçalarının üzerindeki suyun kuruması beklendikten sonra dal parçaları üzerine 4-5 cm aralıklarla 5 mm çapındaki mantar delicisi ile kabuk dokusu kesilip çıkartılarak, odun dokusuna ulaşan 3'er adet delik açılmıştır. Bu deliklere elma testi sonucu belirlenen 26 adet *C. parasitica* izolatının ( izelge 4) PDA üzerinde aktif olarak gelişen kolonilerinin kenar kısımlarından alınan 5 mm çapındaki disklerin misel bulunan kısımları odun dokusuna temas edecek şekilde yerleştirilip tekrar kabuk dokusu üzerine kapatılmıştır.

Çizelge 4. Elma testi sonucu belirlenerek kabuk/odun dokusu testinde kullanılan virülensliği en yüksek ve en düşük izolatlar ile bunların elde edildiği köyler

Virülensliği en yüksek izolatlar	Virülensliği en düşük izolatlar	Köyler
N1-1		Aksu
N2-12	N2-13	Appaklar
N5-4		Bağcılı
N7-3		Çatak
N11-8		Derebaşı
N12-3		Esentepe
N15-1		Hisarcık
N17-1		Kahvederesi
N18-2		Karahallı
N20-3		Ketendere
N24-1		Kuşçular
N25-1		Ovacık
N27-1		Semailli
K2-1		Akçaköy
K3-1A		Cumayanı
K6-1		Kıran
K8-1		Sarıçam
K5-13	K5-4	Gökkiriş
S3-4		Malgaçemir
S4-10	S4-6	Malgaçmustafa
S5-3	S5-5	Uzunlar
M1-3		Eğrikavak

Kontrollerde inokulum olarak steril PDA diski kullanılmıştır. Bu şekilde inokule edilen dal parçaları, Şekil 1’de görüldüğü üzere nemli filitre kağıdı yerleştirilmiş steril kaplar içerisine yerleştirilerek yine 25 °C sıcaklıkta, karanlık ortamda tutularak inkube edilmiştir.



Şekil 1. *C. parasitica* izolatlarının virülensliklerini saptamak üzere inokule edilen kestane dal parçaları

İnokulasyondan 5 gün sonra kabuk dokusu inokulasyonun yapıldığı deliğin yan tarafından bistüri yardımıyla kesilerek odun dokusundan ayrılmıştır. İnokulasyon sonucu odun dokusunun üst tarafında oluşan kahverengi nekrotik alanların en ve boy uzunluğu toplanıp ikiye bölünerek ortalamaları kaydedilmiştir. Üç yinelemeli olarak yapılan çalışma sonucu elde edilen verilerin varyans analizleri yapılmış ve Duncan' a göre gruplandırılmışlardır.

3.4. Kestane Tiplerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Aydın ve yöresindeki kestane üretim alanlarında çeşit olarak tescil edilmiş kestane çeşitleri üretilmeyip, populasyon yöresel olarak adlandırılan tiplerden oluşmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada Aydın ve Yöresinde doğal kestane ağaç populasyonları içerisinde üstün verimli, kaliteli tipleri saptamak amacıyla yürütülen bir seleksiyon çalışması sonucunda (Ertan ve Kılınç, 2005) en iyi değerlere sahip 6 kestane tipi *C. parasitica*'ya karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

Çizelge 5. Kestane ağaçlarının *C. parasitica*'ya karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılan kestane tipleri, yöresel isimleri ve sağlıklı dal örneklerinin alındığı köyler (Ertan ve Kılınç, 2005).

Kestane tipinin yöresel ismi ve kodu	Dal örneklerinin alındığı köyler
Deli (N-2-5)	Ketendere
Işıklar (N-3-4)	Sinekçiler
Sarı Salman (N-7-3)	Kavacık
Aşı (N-19-2)	Işıklar
– (N-20-2) *	Ketenova
Işıklar (N-23-1)	Kuşçular

* Yöresel bir adı bulunmamaktadır

Çizelge 5’de yöresel isimleri ve sağlıklı dal örneklerinin alındığı köylerin belirtildiği kestane tiplerinin hastalık etmenine karşı duyarlılıkları kabuk/odun dokusu testi ve kesilmiş dal testi kullanılarak belirlenmiştir. Bu testlerde inokulum olarak, kabuk/ odun dokusu testi sonucu saptanan virülensliği yüksek (K5-13) ve düşük olan (N27-1) *C. parasitica* izolatları kullanılmıştır.

3.4.1. Kabuk/ odun dokusu testi

Daha önce “ İzolatların virülensliklerinin belirlenmesi” başlığı altında verilen yöntem ve verilerin değerlendirilmesi bu çalışma kapsamında kestane tiplerinin *C. parasitica* `ya olan duyarlılıklarının belirlenmesinde aynen uygulanmıştır.

3.4.2. Kesilmiş dal testi

Eliston (1985) ve Lee *et al.* (1992)’ un yöntemlerine göre yürütülen bu testte de Çizelge 5’de belirtilen kestane tiplerinden alınan 2-3 cm çapında ve yaklaşık 50 cm boyundaki kesilmiş dal parçaları kabuk/odun dokusu testinde de anlatıldığı şekilde laboratuvara getirilip kullanılmıştır. Kesilmiş dal parçalarının dış yüzeyleri öncelikle çeşme suyuyla yıkanıp kurulandıktan sonra % 2’lik sodyum hipoklorit ile yüzeysel olarak sterilize edilmiş ve ardından steril su ile durulanıp, steril tülbent bezi

ile tekrar kurulanmıştır. Dal parçası üzerindeki kabuk dokusu 10-12 cm aralıklarla 5 mm çapındaki mantar delici ile odun dokusuna kadar kesilip disk şeklindeki kabuk dokuları çıkartılmak suretiyle her bir dalda 3 adet delik açılmıştır. Bu deliklere kabuk/ odun dokusu testi sonucu seçilen farklı virülensliğe sahip K5-13 ve N27-1 izolatlarının PDA üzerinde aktif olarak gelişen kolonilerinin kenar kısımlarından alınan aynı çaptaki disklerin misel bulunan kısımları iç kısma gelecek şekilde yerleştirildikten sonra üst kısımlarına çıkartılan kabuk dokusu tekrar üzerine kapatılarak parafilm ile sarılmıştır. Kontrollerde inokulum olarak steril PDA diski kullanılmıştır. Dallar dik bir şekilde, dip kısmı nemli sterilize edilmiş kuma daldırılarak 25 °C sıcaklıkta, karanlık ve nemli ortamda tutulmuştur. Üç yinelemeli olarak kurulan çalışmada ölçümler inokulasyondan 1 ay sonra yapılmış olup, kabuk dokusunun yüzeyinde oluşan nekrotik alanların belirgin olmaması nedeniyle kabuk dokusu kaldırılarak sadece odun dokusunun üst tarafında oluşan nekrotik alanların en ve boy uzunluğu toplanıp ikiye bölünerek ortalamaları kaydedilmiştir. Elde edilen verilerin varyans analizleri yapılmış ve önemli çıkan varyasyon kaynağına ait ortalamalar Duncan' a göre gruplandırılmışlardır.

3.5. *Cryphonectria parasitica*' nın Diğer Konukçularının Belirlenmesi

Literatür bilgilerine göre *C. parasitica*'nın konukçusu olduğu belirtilen ağaçlardan Aydın Orman Bölge Müdürlüğü'nden alınan bilgiler doğrultusunda yöremizde sadece meşe türlerinin ve bunlardan da saçlı meşe (*Quercus cerris*), kermes meşesi (*Quercus coccifera*), pırnal meşesi (*Quercus ilex*)'nin bulunduğu öğrenilmiştir. Bu bilgilere dayanarak survey yapılan kestane üretim alanlarında bulunan meşelerde simptomatolojik yönden kestane kanserinin olup olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca şüpheli dokulardan alınan örnekler laboratuvara getirilerek daha önce belirtilen yönteme göre izolasyonlar yapılmıştır.

Diğer taraftan yöremizde bulunan meşe türlerinin *C. parasitica*'nın konukçusu olup olamayacağının saptanmasını için meşelerden alınan dal örnekleri in vitro koşullarda izolatlar arasında en yüksek virülensliğe sahip K5-13 kodlu *C. parasitica* izolatı ile inokule edilmişlerdir. Bu inokulasyonlar üç yinelemeli olarak

kestane tiplerinin duyarlılıklarının belirlenmesinde uygulanan kabuk/odun dokusu testi ve kesilmiş dal testi yöntemlerine göre yapılmıştır.

İnokule edilen meşe türlerinin dal parçalarından saçlı meşe ve kermes meşesine ait olanlar yöremizde kestane üretiminin yoğun olarak yapıldığı Nazilli İlçesi'ne bağlı Appaklar Köyü'nden, pırnal meşesine ait olanlar ise yöremizde sadece Kuşadası İlçesi'ndeki Dilek Yarımadası Milli Park'ında bulunduğundan bu alandan alınmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. İzolatların Elde Edildiği Ağaçlarda Hastalığın Görünümü

Kestane üretim alanlarında ağaçların yapraklı döneminde hastalık genel görünüm olarak ufak bir daldan ağacın tamamına kadar değişen bir yelpazede solgunluk ve/ veya kuruma olarak dikkati çekmektedir (Şekil 2). Solgunluk veya kurumanın hemen alt kısmında dalı veya gövdeyi kısmen yada tamamen saran kanserler bulunmaktadır. Dalı veya gövdeyi bir çember şeklinde sarması halinde bu alanın üzerinde kalan kısmın tamamen kurumasına neden olan bu kanserler (Roanne *et al.*, 1986) önceleri kızıl kahverengi hafif çökük lekeler şeklinde ortaya çıkmaktadır. Zamanla bu kanserlerde dal ve gövde boyuna paralel, odun dokusuna kadar ulaşan derin çatlaklar oluşmakta ve sonuçta tüm kabuk dokusu parçalanmaktadır (Şekil 3). İncelemelerin yapıldığı alanlarda hastalığın saptandığı ve izolasyon için örneklerin alındığı tüm ağaçlardaki belirtiler ve kanserler yaklaşık bu görünümde olup, bu gözlemlerimiz Gravatt (1949), Heiniger ve Rigling (1994)' in virulent izolatların oluşturduğu kanserlerin tanımına uymaktadır. Nitekim bu araştırmacılar gövde veya dallarda oluşan kanserleri tanımlarken enfekteli bölgedeki kabuk dokusunun doğal rengini kaybederek açık kahverengiye veya kırmızımsı kahverengiye dönüştüğünü ve renk değişiminin ardından da bu kısmın çökerek üzerinde derin çatlakların oluştuğunu belirtmişlerdir. Kanserlerde ağacın kabuk dokusu kaldırıldığında alt kısmında Heiniger ve Rigling (1994) tarafından yelpaze şeklinde tanımlanan miselyum dokusu dikkati çekmektedir. İlkbaharda veya nemli peryotlarda Murrill, (1906)' ya atfen Rittenour (2005), Turchetti (1982), Heiniger ve Rigling (1994) in de tanımladıkları gibi kanserlerde özellikle kızıl kahverengi renkteki çökük nekrotik dokularda gözle görülebilen portakal renkte stromalar oluşmakta, ayrıca EPPO (2005)'in kestane kanseri ile ilgili hazırladığı bültende belirtildiği gibi stromalardan helozon şeklinde uzayan siruslar çıkmaktadır (Şekil 4).



Şekil 2. Kestane ağacının belli bir dalında hastalığın genel görünümü.



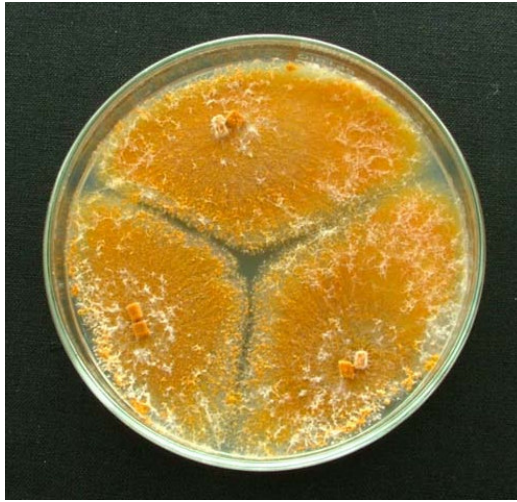
Şekil 3. Dallarda oluşan kanserler.



Şekil 4. Kanserli alan üzerindeki siruslar

4.2. İzolatların Vejetatif Uyum Grupları

Aydın İli kestane üretim alanlarından bu çalışma kapsamında izole edilen ve tek spor izolatları elde edilen 19 *C. parasitica* izolatı içinde v-c grup çeşitliliğini belirlemek amacıyla yapılan eşleştirmeler sonucu iki farklı v-c grubu saptanmıştır. Bu iki farklı v-c grubunun Avrupa v-c gruplarından (EU 1-EU 20) hangileri ile uyumlu olduğunu ortaya koymak üzere gerçekleştirilen eşleştirmeler ile de 17 izolatın EU 1 ile, Semaili ve Uzunlar Köylerinden elde edilen birer izolatın sırası ile N7-2 ve S5-5'in EU 12 ile uyumlu olduğu belirlenmiştir (Çizelge 6). Bu eşleştirmeler de karşılıklı gelen iki koloninin birbirleriyle kaynaşarak birleşmesi (Şekil 5) uyumlu olarak, birleşmeyip aralarında bir sınırın oluşması (Şekil 6) uyumsuzluk olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 5. Aynı v-c grubuna ait izolatların kolonilerinin birleşmesi



Şekil 6. Farklı v-c grubuna ait izolatların kolonileri arasında baraj oluşumu

Aydın Yöresi kestane üretim alanlarını kapsayan daha önceki bir çalışmadan alınan ve bu çalışmada kullanılan 80 izolat da iki v-c grubu altında toplanmış olup, bunların 22 adedi EU 12 diğerleri ise EU 1 olarak saptanmıştır (Döken ve ark., 2004). Böylece çalışmamızda ele alınan tüm izolatların % 75.8 'inin EU 1 grubuna, % 24.2' sinin ise EU 12 grubuna ait olduğu hesaplanmıştır (Çizelge 6). Çeliker ve Onoğur (2001) da İzmir, Manisa, Kütahya, Balıkesir, Çanakkale, Sakarya, İstanbul,

Bursa, İzmit, Bolu, Kastamonu, Zonguldak İllerini içeren alanlardan aynı v-c gruplarına ait izolatlar elde etmişler, ancak tüm izolatlar içinde EU 12' nin oranının daha düşük olduğunu ve sadece Ege Bölgesi'nde bulunduğunu saptamışlardır. Gürer *et al.* (2001) ise Marmara ve Karadeniz Bölgelerini kapsayan çalışmaları sırasında elde ettikleri izolatların sadece EU 1 grubuna ait olduğunu belirtirken, Coşkun *et al.* (1999) ise yine aynı bölgede yaptıkları çalışmada elde ettikleri izolatların 20 farklı Avrupa ve İtalyan v-c gruplarından ilk 10 v-c grubu ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Aydın ve Yöresinden elde edilen izolatların v-c gruplarının köylere göre dağılımlarına bakıldığında (Çizelge 6) Cumayanı Köyünde sadece EU 12, Appaklar, Çatak, Ketendere, Semailli, Gökkiriş, Malgaçmustafa ve Uzunlar Köylerinde EU 1 ve EU 12, geri kalan 14 köyde ise sadece EU 1'in bulunduğu görülmüştür. Bu yörede v-c grup çeşitliliğinin çok düşük oluşu bu alanlarda hipovirülent streynlerle yapılabilecek bir biyolojik savaşımın başarı şansının yüksek olacağını göstermektedir. Çünkü hipovirülensliğe neden olan virüs aynı v-c grubuna ait bireyler arasında gerçekleşen anastomosis yolu ile sitoplazmik olarak taşındığından (Liu and Milgroom, 1996) ve v-c grup uyumsuzluğu buna engel olduğundan (Milgroom *et al.*, 1991) v-c grup çeşitliliği çok düşük veya tek olan alanlarda hipovirülensliğin bireyler arasında yayılabilmesi o derecede yüksek olacaktır. Anagnostakis *et al.* (1986)'da düşük sayıda v-c grubunun bulunduğu populasyonlarda hipovirülensliğin daha hızlı yayıldığını bildirirken, Heiniger ve Rigling (1994)' de Avrupa'da hastalıkla biyolojik mücadelede Amerika Birleşik Devletleri'ne oranla daha başarılı olunmasının nedeni olarak Avrupa'daki v-c uyum grubu sayısının az olmasını göstermektedir.

Çizelge 6. *Cryphonectria parasitica* izolatlarının elde edildiği köyler ve bu izolatların vejetatif uyum gruplarına göre dağılımı

Köyler	Vejetatif uyum grupları	
	EU 1	EU 12
Aksu	N1-1, N1-4*	
Appaklar	N2-1, N2-4, N2-5, N2-7, N2-8, N2-9, N2-10, N2-11, N2-12, N2-13	N2-2, N2-3
Bağcılı	N5-2, N5-3, N5-4, N5-5	
Çatak	N7-1, N7-2, N7-3	N7-4
Derebaşı	N11-5, N11-6, N11-7, N11-8	
Esentepe	N12-2, N12-3	
Hisarcık	N15-1, N15-2, N15-3	
Kahvederesi	N17-1, N17-2, N17-3	
Karahallı	N18-1, N18-2, N18-3	
Ketendere	N20-2, N20-3, N20-5	N20-1
Kuşçular	N24-1, N24-2A, N24-2B	
Ovacık	N25-1	
Semailli	N27-1	N27-2
Akçaköy	K2-1, K2-2, K2-3, K2-5, K2-6, K2-8	
Cumayanı		K3-1A, K3-1B, K3-3, K3-4
Gökkiriş	K5-1, K5-2, K5-3, K5-5, K5-7, K5-8, K5-9, K5-10, K5-12, K5-13, K5-16,	K5-4, K5-6, K5-11, K5-14, K5-15
Kıran	K6-1	
Sarıçam	K8-1	
Malgaçemir	S3-1, S3-2, S3-3, S3-4, S3-5	
Malgaçmustafa	S4-2, S4-4, S4-9	S4-1, S4-3, S4-5, S4-6, S4-7, S4-8, S4-10, S4-11, S4-12
Uzunlar	S5-1, S5-2, S5-3, S5-4	S5-5
Eğrikavak	M1-2, M1-3	
Dağılım(%)	% 75,8	% 24,2

* Kırmızı renkte yazılmış olan izolatlar bu çalışma kapsamında elde edilmiştir.

4.3. İzolatların Kültürel Özellikleri ve Virülenslikleri

4.3.1. İzolatların Kültürel Özellikleri

Yedi gün karanlıkta ve takiben yedi gün sürekli aydınlık ortamda inkube edilen tüm izolatlardan sadece S5-5 nolu izolat farklı bir gelişim göstermiştir. Diğer izolatlar ise ilk yedi günlük karanlık ortamda yuvarlak, homojen bir koloni gelişimi göstererek bu süre içinde tüm besi ortamının yüzeyini kaplamış ve 70 mm çapa ulaşmışlardır. S5-5 nolu izolatın gelişimi ise asimetrik olup, yedi gün sonunda koloni çapı ancak 24 mm olmuştur (Şekil 7). Karanlık ortamda izolatların 70'i beyaz (Şekil 8 a), 15'i açık turuncu, 13'ü turuncu renkte koloni oluştururken, sadece S5-5 nolu izolat koyu turuncu renkte koloni gelişimi göstermiştir (Çizelge 7.1). Van Alfen *et al.* (1978)'e göre PDA besi ortamında gelişen kolonilerde pigment oluşumu derecesi *C. parasitica* sterynlerinin virülensliği ile doğrudan ilişkili olup, hipovirulent sterynlerin çoğunluğunun koloni rengi iki haftadan daha fazla süre ile beyaz kalıp daha sonra turuncu renge dönüşürken, virulent olanlarda koloniler kısa sürede turuncu veya koyu turuncu renk almaktadır. Rigling *et al.* (1989)'a göre de inokulasyonu takiben en aşağı ilk dört gün PDAMB besi ortamında portakal renginde pigmentasyon göstermeyenler hipovirulent olarak varsayılmaktadır. Bu nedenden dolayı ilk yedi günlük inkubasyon sonucu 70 izolat beyaz koloni rengine sahip olmaları nedeniyle hipovirulent olarak değerlendirilebilirdi. Ancak takip eden 7 günlük aydınlık koşullardaki inkubasyonda izolatların kolonilerinde pigmentasyon artarak (Şekil 8 b) 18 izolatın koloni rengi turuncuya, 81' in ise koyu turuncuya dönmüştür (Çizelge 7.2). Hilman *et al.* (1990) da aydınlık ortamda PDA besi ortamı üzerinde hipovirulent ve virulent izolatların koloni renklerinin karanlık ortama göre daha koyu renkli olduğunu belirtmiştir. Diğer taraftan Dunn ve Boland (1993) a göre PDAMB besi ortamında 7 günlük bir inkubasyon sonucu hipovirulent sterynlerin koloni çaplarının genelde virulent olanlara göre önemli oranda düşük olması ve asimetrik koloni şeklinin de hipovirülenslik ile ilgili olması nedeniyle çalışmamızda bu özelliklere sahip S5-5 nolu izolat ilk yedi günlük inkubasyonun başından itibaren kolonilerinde pigmentasyon yoğun olmasına rağmen hipovirulent olası bir izolat olarak düşünülmüştür. Dunn ve Boland (1993) izolat sayısının fazla

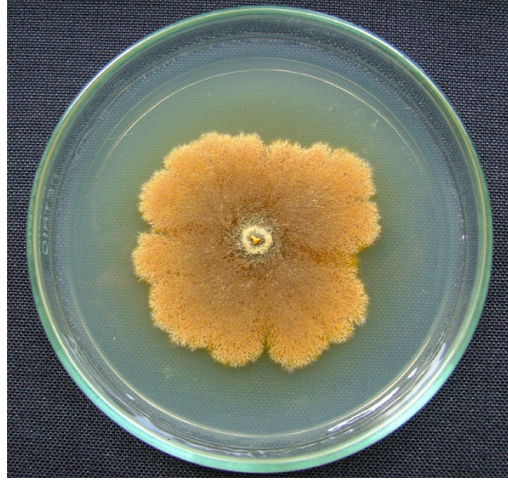
olduğu durumlarda kültürel özelliklerin hipovirulent olası izolatların seçiminde bir kriter olarak alınabileceğini ancak hipovirulent izolatların da ortak bir kültürel özelliğe sahip olmadığını belirtirken, Elliston (1985) da hipovirülensliğin belirlenmesinde farklı kriterlerin dikkate alınmasının gerekli olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 7.1. Aydın Yöresi kestane üretim alanlarından elde edilen *Cryphonectria parasitica* izolatlarının karanlıkta besi ortamında oluşan koloni renklerine göre gruplandırılması

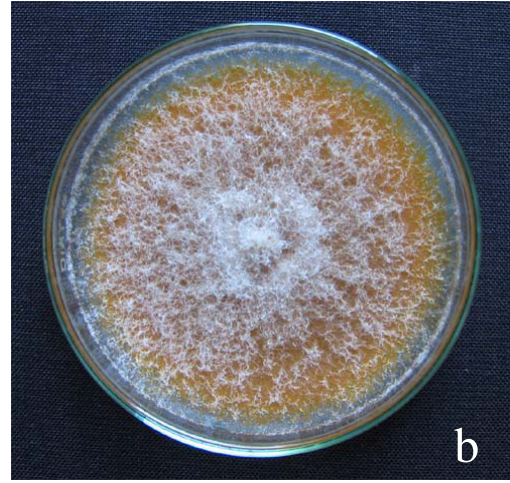
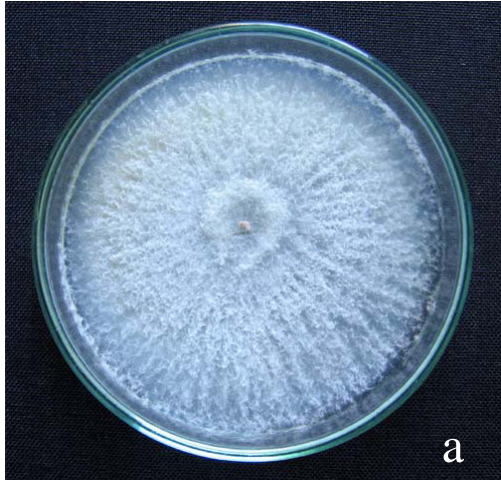
Koloni rengi	Beyaz		Açık turuncu		Turuncu		Koyu turuncu
İzolatlar	N1-1	N1-4	K2-1	K2-2	K2-6	K3-1A	S5-5
	N2-1	N2-2	K2-3	K2-5	K3-1B	K3-3	
	N2-3	N2-4	K2-8	K5-1	K3-4	K5-3	
	N2-5	N2-7	K5-2	K5-5	K5-4	K5-6	
	N2-8	N2-9	K5-8	K5-9	K5-7	K5-11	
	N2-10	N2-11	K5-10	K5-12	K5-14	K5-15	
	N2-12	N2-13	K5-13	K6-1	K5-16		
	N5-2	N5-3	K8-1				
	N5-4	N5-5					
	N7-1	N7-2					
	N7-3	N7-4					
	N11-5	N11-6					
	N11-7	N11-8					
	N12-2	N12-3					
	N15-1	N15-2					
	N15-3	N17-1					
	N17-2	N17-3					
	N18-1	N18-2					
	N18-3	N20-1					
	N20-2	N20-3					
	N20-5	N24-1					
	N24-2A	N24-2B					
	N25-1	N27-1					
	N27-2						
	S3-1	S3-2					
	S3-3	S3-4					
	S3-5	S4-1					
	S4-2	S4-3					
	S4-4	S4-5					
	S4-6	S4-7					
	S4-8	S4-9					
	S4-10	S4-11					
	S4-12	S5-1					
	S5-2	S5-3					
	S5-4						
	M1-2	M1-3					

Çizelge 7.2. Aydın Yöresi kestane üretim alanlarından elde edilen *Cryphonectria parasitica* izolatlarının karanlığı takiben sürekli ışık altında besi ortamında oluşan koloni renklerine göre gruplandırılması

Koloni rengi	Beyaz	Açık turuncu	Turuncu		Koyu turuncu	
İzolatlar			N1-1	N1-4	N2-1	N2-2
			N5-2	N5-3	N2-3	N2-4
			N5-4	N5-5	N2-5	N2-7
			N7-1	N7-2	N2-8	N2-9
			N7-3	N7-4	N2-10	N2-11
			N12-2	N12-3	N2-12	N2-13
			N20-1	N20-2	N11-5	N11-6
			N20-5		N11-7	N11-8
			K5-2	K5-5	N15-1	N15-2
			S3-2		N15-3	N17-1
					N17-2	N17-3
					N18-1	N18-2
					N18-3	N20-3
					N24-1	N24-2A
					N24-2B	N25-1
					N27-1	N27-2
					K2-1	K2-2
					K2-3	K2-5
					K2-6	K2-8
					K3-1A	K3-1B
					K3-3	K3-4
					K5-1	K5-3
					K5-4	K5-6
					K5-7	K5-8
					K5-9	K5-10
					K5-11	K5-12
					K5-13	K5-14
					K5-15	K5-16
					K6-1	K8-1
					S3-1	S3-3
					S3-4	S3-5
					S4-1	S4-2
					S4-3	S4-4
					S4-5	S4-6
					S4-7	S4-8
					S4-9	S4-10
					S4-11	S4-12
					S5-1	S5-2
					S5-3	S5-4
					S5-5	
					M1-2	M1-3



Şekil 7. S5-5 nolu izolatin asimetric kolonisi



Şekil 8. *C. parasitica* izolatlarının karanlık ortamda ve takiben sürekli aydınlık ortamda oluşturdıkları beyaz (a) ve turuncu (b) renkte koloniler.

4.3.2. İzolatların Virülenslikleri

4.3.2.1. Elma testi

Yöremiz *C. parasitica* popülasyonundan elde edilen 99 izolatın virülensliklerini elma meyvelerinde oluşturdıkları lezyonların büyüklükleri yönünden değerlendirmek üzere yapılan inokulasyonlar sonucu meyvelerde çeşitli boyutlarda yuvarlak, kahverengi, yumuşak ve hafif çökük lezyonların olduğu gözlemlenmiştir. Herhangi bir elmanın tüm yan yüzeyinin lezyonla kaplandığının saptandığı 15. günde yapılan tüm ölçümlerde lezyonların ortalama çaplarının 12.0- 51.4 mm arasında değiştiği kontrollerde ise herhangi bir lezyon oluşmadığı saptanmıştır. Besi ortamında şekilsiz koloni yapısı ve ufak koloni oluşturması ile diğer izolatlardan ayrılan S5-5 nolu izolat elmalarda da ufak lezyonlara neden olmuştur (Şekil 9).



Şekil 9. *C. parasitica* izolatlarının golden elma çeşidinin meyveleri üzerinde oluşturdıkları farklı boyutlardaki lezyonlar.

Her bir köyün kestane üretim alanlarından elde edilen izolatlar arasında virülenslik açısından istatistiki olarak önemli bir farkın olup olmadığını belirlemek üzere yapılan analizler ile Nazilli İlçesinde Apaklar, Köşk İlçesinde Gökkiriş,

Sultanhisar İlçesinde Uzunlar ve Malgaçmustafa Köylerinden elde edilen izolatlar arasında oluşturdukları lezyonların çapları açısından aralarında farklılıklar saptanmıştır (Çizelge 8.1, 8.2, 8.3 ve 8.4). Yapılan değerlendirmeler sonucu tüm köylerden seçilen 26 adet *C. parasitica* izolatının virülenslikleri bir kez de kabuk/ odun dokusu testinde kullanılmak üzere belirlenmiştir. Bisiach *et al.* (1988) elma testinde *C. parasitica*'nın virulent ve hipovirulent izolatlarının oluşturduğu lezyonların büyüklüklerinin yaklaşık olması nedeniyle güvenilir olmadığını ileri sürerken, Elliston (1985) ve De Lange *et al.* (1998) elma testi ile virulent ve hipovirulent izolatların kolaylıkla ayrılabilceğini, ayrıca izolatların virülensliklerinin kısa sürede ölçülebileceğini belirtmişlerdir. Lee *et al.* (1992) da bu test ile sonuçlar kısa sürede alınsa da doku farklılığı nedeniyle elma testi sonuçlarının kestanede yapılacak test sonuçlarını yansıtmayacağını, izolatların virülensliklerinin kestanede dokuları üzerinde değerlendirilmesi gerektiğini belirtmiştir. Fulbright (1984) ise her iki dokuda yapılan test sonuçlarının birbirlerine çok yakın olduğunu saptamıştır. Elma testi sonucu Aydın Yöresinden elde edilen izolatların virülenslikleri arasında istatistiki olarak önemli farklılığın görülmüş olması elma testinin *C. parasitica* izolatları arasında virülenslik farkını ortaya koyabileceğini göstermekle birlikte, bu test hakkında farklı görüşlerin olması nedeniyle testin hassasiyeti konusunda bir kaniye ulaşılamamıştır. Bu bakımdan elma testine göre seçilen izolatların virülensliklerinin daha net ve hassas olarak değerlendirilebilmesi için ikinci aşamada bu izolatların virülensliklerinin bir kez de konukçusu olan kestanede kabuk/ odun dokusu testi ile ölçülmesi yoluna gidilmiştir.

Çizelge 8.1. Nazilli İlçesi'ne bağlı köylerden elde edilen *C. parasitica* izolatlarının elma testi sonucu oluşturdukları lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması

Aksu Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N1-1	50.2 a
N1-4	45.9 a

Bağcılı Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N5-4	48.6 a
N5-3	48.1 a
N5-2	46.1 a
N5-5	44.5 a

Çatak Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N7-3	49.1 a
N7-2	46.9 a
N7-4	46.5 a
N7-1	45.9 a

Derebaşı Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N11-8	51.4 a
N11-6	51.2 a
N11-5	51.0 a
N11-7	45.5 a

Kahvederesi Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N17-1	36.6 a
N17-3	36.5 a
N17-2	36.5 a

Ketendere Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N20-3	44.1 a
N20-1	44.0 a
N20-5	40.6 a
N20-2	39.1 a

Ovacık Köyü izolatı	Ortalama lezyon çapı (mm)
N25-1	42.0

Appaklar Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N2-12	37.9 a
N2-11	35.6 ab
N2-1	34.9 ab
N2-3	34.4 ab
N2-7	34.0 bc
N2-8	33.1 bc
N2-4	32.6 bc
N2-9	32.2 bc
N2-2	32.0 bc
N2-5	30.5 cd
N2-10	27.9 d
N2-13	23.4 e

Esentepe Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N12-3	48.7 a
N12-2	44.6 a

Hisarcık Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N15-1	47.9 a
N15-3	43.6 a
N15-2	42.1 a

Karahallı Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N18-2	39.7 a
N18-1	36.9 a
N18-3	36.7 a

Kuşçular Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N24-1	35.6 a
N24-2A	33.7 a
N24-2B	32.2 a

Semailli Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
N27-1	45.0 a
N27-2	40.5 a

Yukarıdaki tabloların her birinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur ($P= 0.05$)

Çizelge 8.2. Köşk İlçesi'ne bağlı köylerden elde edilen *C. parasitica* izolatlarının elma testi sonucu oluşturdukları lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması

Akçaköy Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
K2-1	50.6 a
K2-2	49.0 a
K2-3	48.6 a
K2-6	48.1 a
K2-5	46.6 a
K2-8	45.5 a

Cumayarı Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
K3-1A	48.1 a
K3-3	47.5 a
K3-4	46.5 a
K3-1B	42.9 a

Kıran Köyü izolatı	Ortalama lezyon çapı (mm)
K6-1	45.6

Sarıçam Köyü izolatı	Ortalama lezyon çapı (mm)
K8-1	45.0

Gökkiriş Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
K5-13	48.6 a
K5-15	47.9 ab
K5-16	47.1 ab
K5-9	46.9 ab
K5-12	45.9 ab
K5-14	45.1 abc
K5-5	45.1 abc
K5-1	45.1 abc
K5-7	44.0 abcd
K5-11	43.1 abcd
K5-3	42.6 bcd
K5-10	42.4 bcd
K5-8	42.4 bcd
K5-2	42.1 bcd
K5-6	39.6 cd
K5-4	38.6 d

Çizelge 8.3. Sultanhisar İlçesi'ne bağlı köylerden elde edilen *C. parasitica* izolatlarının elma testi sonucu oluşturdukları lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması

Malgaçemir Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
S3-4	45.5 a
S3-5	45.1 a
S3-1	44.5 a
S3-3	38.5 a
S3-2	38.0 a

Uzunlar Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
S5-3	48.7 a
S5-4	45.0 b
S5-2	42.7 b
S5-1	36.7 c
S5-5	12.0 d

Malgaçmustafa Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
S4-10	46.5 a
S4-3	45.7 ab
S4-11	45.1 ab
S4-2	44.1 abc
S4-8	43.9 abc
S4-5	43.9 abc
S4-12	42.0 abc
S4-9	41.9 abc
S4-7	41.0 abc
S4-1	40.9 abc
S4-4	40.6 bc
S4-6	38.7 c

Yukarıdaki tabloların her birinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur ($P=0.05$)

Çizelge 8.4. Merkez İlçe' ye bağlı Eğrikavak Köyü'nden elde edilen *C. parasitica* izolatlarının elma testi sonucu oluşturdıkları lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması

Eğrikavak Köyü izolatları	Ortalama lezyon çapı (mm)
M1-3	38.7 a
M1-2	34.9 a

Yukarıdaki tabloda aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur (P= 0.05)

4.3.2.2. Kabuk/ odun dokusu testi

Yöresel adı Işıklar olan kestaneden alınan dallara elma testi ile seçilen 26 izolatın inokulasyonu sonucu kestane dallarının odun dokularında ortalama çapları 7.6- 24.3 mm arasında değişen nekrotik lezyonlar oluşmuş (Çizelge 9), kontrollerde ise herhangi bir lezyon gelişimi gözlenmemiştir.Yapılan varyans analizi sonucuna göre izolatlar arasında %1 düzeyinde istatistiki fark saptanmıştır.

Çizelge 9. Kabuk/ odun dokusu testi sonucu *C. parasitica* izolatlarının oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiki gruplandırılması

İzolatlar	Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)
K5-13	24.3 a*
N11-8	23.0 a
N20-3	21.8 ab
K8-1	20.8 abc
K5-4	17.8 bcd
S3-4	16.8 cde
M1-3	16.3 cdef
S5-3	15.5 defg
N1-1	15.1 defg
N24-1	15.1 defg
N2-12	14.8 defg
N17-1	14.5 defg
S5-5	14.1 defg
N7-3	14.1 defg
K6-1	14.1 defg
K3-1A	14.0 defg
N2-13	13.7 defg
N12-3	13.1 defg
S4-6	12.7 defgh
N15-1	12.3 efgh
N18-2	12.0 efgh
N5-4	11.5 fgh
K2-1	11.0 gh
S4-10	10.8 gh
N25-1	10.8 gh
N27-1	7.6 h

* Aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur (P ≤ 0.01)

Bu izolatlar arasında en büyük nekrotik lezyonları oluşturan ve bu bakımdan en virulent izolatlar olarak değerlendiren grubun başında K5-13 nolu izolat bulunurken, en ufak nekrotik lezyonları oluşturması ile virülensliği en düşük izolatlar olarak değerlendirilen grubun en sonunda N27-1 nolu izolat yer almıştır. Bu sonuçlara dayanarak kestane tiplerinin duyarlılıklarının belirlenmesi çalışmalarında kullanılmak üzere virülensi yüksek olarak K5-13 ve virülensi düşük olarak N27-1 nolu izolatlar seçilmiştir (Şekil 10). Besi ortamında şekilsiz ve ufak bir koloni oluşturması ve elma testinde de ufak lezyona neden olması ile hipovirulent olabileceği varsayılan S5-5 nolu izolat kabuk/ odun dokusu testinde oluşturduğu ortalama 14.1 mm çapındaki lezyon ile 26 izolat arasında ortalarda yer almıştır. Diğer taraftan bu izolatın elde edildiği kanser tipinin hipovirulent ırkların oluşturduğu üzerinde ince ve yüzeysel çatlakların bulunduğu şişkin kabuk dokulu ölümcül olmayan kanserlerden (Turchetti, 1982; Heiniger and Rigling, 1994) farklı olması ve daha çok virulent ırkların oluşturduğu kanserlere benzemesinden dolayı, bu izolatın hipovirulent olmadığı düşünülmüştür.



Şekil 10. K5-13, S5-5 ve N27-1 nolu *C. parasitica* izolatların kestane dallarında kabuk ve odun dokusu üzerinde oluşturdukları nekrotik lezyonlar.

4.4. Kestane Tiplerinin *C. parasitica*'ya Karşı Duyarlılıkları

4.4.1. Kabuk/ odun dokusu testi

Ertan ve Kılınç (2005) tarafından Aydın ve yöresindeki kestane üretim alanlarında yapılan seleksiyon çalışmasına göre en iyi agronomik karakterlere sahip altı kestane tipinin *C. parasitica* enfeksiyonlarına karşı duyarlılıklarını belirlemek üzere yapılan kabuk/ odun dokusu testinde virülensliği yüksek K5-13 ile virülensliği düşük N27-1 izolatları bu kestane tiplerinde nekrotik lezyonlara neden olmuşlardır. Kontrollerde ise herhangi bir lezyon gelişimi görülmemiştir. İki farklı izolatin oluşturdukları nekrotik lezyonların çapları arasında istatistiki olarak önemli bir fark saptanmış olup önceki çalışmalarda da daha yüksek virülensliğe sahip olduğunu saptadığımız K5-13 izolatının oluşturduğu lezyonların çapları N27-1' in neden olduklarından daha büyük bulunmuştur (Çizelge 10).

Çizelge 10. Kabuk/ odun dokusu testinde K5-13 ve N27-1 izolatlarının oluşturdukları nekrotik lezyonların çaplarına göre istatistiksel olarak gruplandırılması

İzolatlar	Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)
K5-13	15.7 a
N27-1	8.6 b

(P < 0.05)

Farklı kestane tiplerinde oluşan nekrotik lezyonların çapları arasında da istatistiksel açıdan önemli fark bulunmuş olup yapılan gruplandırmada (Çizelge 11) sırası ile N-19-2 (Aşı), N-2-5 (Deli) ve bunları takiben N-7-3 (Sarı Salman) en büyük lezyonların olduğu kestane tipleri olarak saptanmıştır. En ufak lezyonların olduğu kestane tipleri içinde N-3-4 (Işıklar) sayısal olarak en sonda yer almıştır.

Çizelge 11. Kabuk / odun dokusu testi sonucu farklı kestane tiplerinde oluşan nekrotik lezyonların çaplarının istatistiksel olarak gruplandırılması

Kestane tipleri		Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)
N-19-2	(Aşı)	13.7 a**
N-2-5	(Deli)	13.7 a
N-7-3	(Sarı Salman)	12.7 ab
N-23-1	(Işıklar)	11.3 bc
N-20-2*		11.3 bc
N-3-4	(Işıklar)	10.3 c

* Yöresel bir adı bulunmamaktadır.

** Sütun içerisinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur ($P < 0.05$).

K5-13 ve N27-1 izolatlarının farklı kestane tiplerinde neden olduğu nekrotik lezyonları ayrı ayrı gruplandırdığımızda da aralarında sıralama açısından farklılıklar saptanmış olsa da N-19-2 (Aşı), N-2-5 (Deli) ve N-7-3 (Sarı Salman) kestane tipleri en büyük lezyonların olduğu grup içinde yer almıştır (Çizelge12.1, 12.2). Buna göre bu üç kestane tipi ele alınanlar içinde en duyarlı kestane tipleri olarak değerlendirilmiştir. En ufak nekrotik lezyonların olduğu kestane tiplerinin bulunduğu grup ve içlerinde en ufak boyuttaki lezyonların ölçüldüğü N-3-4 (Işıklar) ise testlenen kestane tipleri içinde en az duyarlı tip olarak kaydedilmiştir.

Çizelge 12.1. Kabuk / odun dokusu testi sonucu K5-13 izolatının kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiksel olarak gruplandırılması

Kestane tipleri		Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)
N-19-2	(Aşı)	18.6 a*
N-2-5	(Deli)	16.6 ab
N-7-3	(Sarı Salman)	15.6 bc
N-23-1	(Işıklar)	15.0 bc
N-20-2		14.7 bc
N-3-4	(Işıklar)	13.7 c

* Sütun içerisinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur ($P < 0.05$).

Çizelge 12.2. Kabuk / odun dokusu testi sonucu N27-1 izolatının kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiksel olarak gruplandırılması

Kestane tipleri	Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)
N-2-5 (Deli)	10.6 a*
N-7-3 (Sarı Salman)	9.6 ab
N-19-2 (Aşı)	8.6 ab
N-20-2	8.0 ab
N-23-1 (Işıklar)	7.6 c
N-3-4 (Işıklar)	7.0 c

* Sütun içerisinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur (P < 0.05).

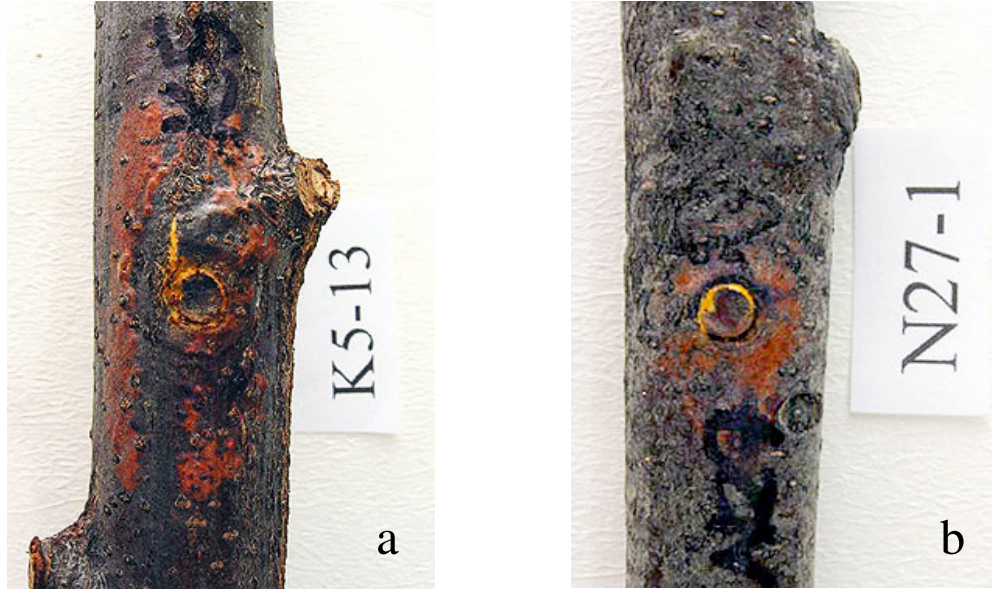
4.4.2. Kesilmiş dal testi

Kestane tiplerinin *C. parasitica*'ya karşı duyarlılıklarının saptandığı kesilmiş dal testinde de iki farklı izolat oluşturdukları nekrotik lezyonların çapları açısından karşılaştırıldığında K5-13'ün istatistiksel olarak daha büyük lezyonlara neden olduğu (Şekil 11 a) belirlenmiştir (Çizelge 13). Bu bakımdan da N27-1 izolatına göre daha saldırgan olduğu bir kez daha ortaya konmuştur (Şekil 11 b). Kontrollerde ise lezyon gelişimi olmamıştır (Şekil 12).

Çizelge 13. Kesilmiş dal testinde K5-13 ve N27-1 izolatlarının oluşturdukları nekrotik lezyonların çaplarına göre istatistiksel olarak gruplandırılması

İzolatlar	Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)
K5-13	46.2 a
N27-1	36.5 b

(P < 0.05)



Şekil 11. K5-13 (a) ve N27-1 (b) nolu izolatların kestane dallarının kabuk dokusunda oluşturdukları nekrotik lezyonlar.

Kesilmiş dallarda oluşan nekrotik lezyonların çapları kestane tiplerinin duyarlılıklarını ortaya koymak üzere karşılaştırıldığında N-7-3 (Sarı Salman) kestane tipinde oluşan lezyonların diğerlerine göre istatistiksel olarak daha büyük olduğu görülmüştür (Çizelge 14). Diğer kestane tiplerinde gelişen lezyonların büyüklükleri arasında ise fark saptanmadığından aynı grup içerisinde yer almışlardır.

Çizelge 14. Kesilmiş dal testi sonucu farklı kestane tiplerinde oluşan nekrotik lezyonların çaplarının istatistiksel olarak gruplandırılması

Kestane tipleri		Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)
N-7-3	(Sarı Salman)	62.5 a*
N-23-1	(Işıklar)	41.8 b
N-19-2	(Aşı)	40.3 b
N-2-5	(Deli)	38.0 b
N-3-4	(Işıklar)	33.7 b
N-20-2		32.0 b

* Sütun içerisinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur ($P < 0.05$).

Veriler her iki izolat için ayrı ayrı analiz edildiğinde de aynı sonuçlara ulaşılmış olup, K5-13 ile N27-1 izolatlarının N-7-3 (Sarı Salman) kestane tipinde oluşturduğu sırası ile ortalama 68.3 mm ve 56.6 mm çapındaki nekrotik lezyonların diğer kestane tiplerinde oluşarlardan istatistiksel olarak büyük oldukları belirlenmiştir (Çizelge 15.1, 15.2). Buna göre de tüm kestane tipleri arasında N-7-3 (Sarı Salman) en duyarlı olarak saptanmıştır. Diğer kestane tipleri arasında ise sayısal olarak en ufak lezyon çapları N-20-2 ve ona yakın olarak N-3-4 (Işıklar) kestane tiplerinde ölçülmüştür (Şekil 13 a, b).

Çizelge 15.1. Kesilmiş dal testi sonucu K5-13 izolatının kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiksel olarak gruplandırılması

Kestane tipleri		Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)	
N-7-3	(Sarı Salman)	68.3	a*
N-23-1	(Işıklar)	48.0	b
N-19-2	(Aşı)	46.6	b
N-2-5	(Deli)	42.0	b
N-3-4	(Işıklar)	37.6	b
N-20-2		34.6	b

* Sütun içerisinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur ($P < 0.05$).

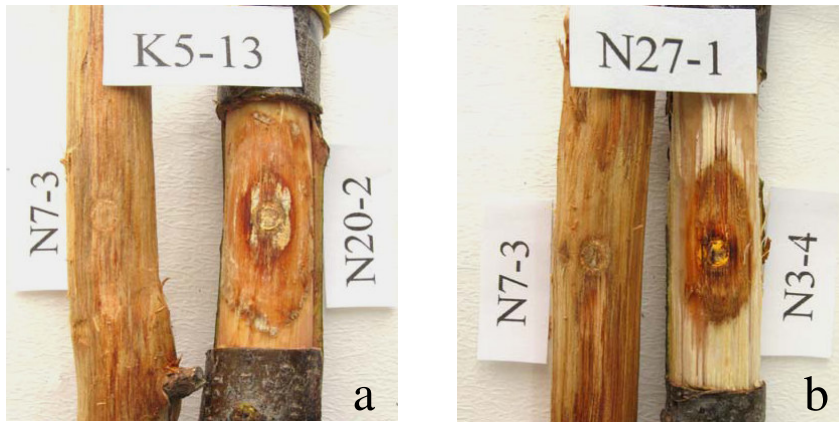
Çizelge 15.2. Kesilmiş dal testi sonucu N27-1 izolatının kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonların çapları ve bunların istatistiksel olarak gruplandırılması

Kestane tipleri		Ortalama nekrotik lezyon çapı (mm)	
N-7-3	(Sarı Salman)	56.6	a*
N-23-1	(Işıklar)	35.6	b
N-19-2	(Aşı)	34.0	b
N-2-5	(Deli)	34.0	b
N-3-4	(Işıklar)	29.6	b
N-20-2		29.3	b

* Sütun içerisinde aynı harf ile ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan bir fark yoktur ($P < 0.05$).



Şekil 12. Kesilmiş dal testinde kontrol.



Şekil 13. K5-13 nolu izolatin N-7-3 ve N-20-2 kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonlar (a), N27-1 nolu izolatin N-7-3 ve N-3-4 kestane tipleri üzerinde oluşturduğu nekrotik lezyonlar (b).

Uygulanan iki ayrı testte ölçülen lezyon çapları yönünden kestane tipleri arasındaki duyarlılık farkları irdelendiğinde kabuk/ odun dokusu testinde lezyonların çapları inokulasyonu takiben kısa bir süre sonra nekrotik lezyonlar henüz yeterince gelişmeden ölçüldüğünden kestane tipleri arasında lezyon büyüklükleri açısından farklılıkların tam olarak netleşmediği sanılmaktadır. Bu nedenle de lezyon büyüklüklerine göre kestane tiplerinin sıralanmasında izolatlar arasında bazı farklılıklar ortaya çıkmıştır. Ancak kesilmiş dal testinde ölçümler lezyonların gelişmelerine olanak veren bir ay gibi uzun bir süre sonunda yapıldığından çeşitler arasındaki farklılıklar tam olarak belirginleşmektedir. Gerçi Lee *et al.* (1992)

kabuk/ odun dokusu testinin kesilmiş dal testine göre kısa sürede daha güvenilir sonuçlar verdiğini belirtse de çalışmamızda kesilmiş dal testinde lezyonların büyüklüklerine göre altı kestane tipinin sıralaması ve Duncan testine göre gruplandırılmaları iki farklı izolat içinde aynı olduğundan (Çizelge 15.1, 15.2) daha tutarlı ve güvenilir olarak değerlendirilmiştir.

Kestane tiplerinin duyarlılıkları açısından çalışmamızda bu iki test ile yaklaşık benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Nitekim kesilmiş dal testi sonuçlarına göre en büyük lezyonların olduğu bu nedenle de en duyarlı kestane tipi olarak değerlendirilen N-7-3 (Sarı Salman) kestane tipi kabuk/ odun dokusu testine göre en büyük lezyonların olduğu kestane tipleri grubu içinde yer almıştır. Diğer taraftan kesilmiş dal testinde Duncan' a göre en ufak lezyonların olduğu kestane tiplerinin yer aldığı grubun en sonunda bulunan N-20-2 ve ona yakın değeri ile N-3-4 (Işıklar) kestane tiplerinin sıralama farklı olsa da kabuk/ odun dokusu testi sonuçlarına göre de en ufak lezyonların belirlendiği kestane tipleridir. Bu sonuçlara göre kestane tipleri içinde N-20-2 ve ona yakın değeri ile N-3-4 (Işıklar) en az duyarlı tipler olarak değerlendirilebilir. Ülkemizde yürütülmüş olan bir kaç çalışmada bazı kestane üretim alanlarında kestane kanseri hastalığına karşı dayanıklılık gösteren kestane çeşitleri ve tipleri saptanmıştır. Bu konuda Soylu ve Ufuk (1994) Marmara Bölgesini kapsayan çalışmalarında Vakıf ve Firdula çeşitlerinin kestane kanserinden en az etkilendiklerini bildirirken, Baykal *et al.* (2000) da Bursa ve Yöresindeki kestane üretim alanlarında bulunan Vakıf çeşitinin yanı sıra Dursun çeşitinde hastalık etmenine karşı dayanıklı olduğunu saptamışlardır. Erper ve arkadaşları (2005) ise Karadeniz Bölgesi'nden selekte edilmiş kestane genotipleri arasından 556-8 ve SE 3-12'nin *C. parasitica*'ya karşı dayanıklı olduğunu bulmuşlar ve bu genotiplerin üreticilere tavsiye edilebileceğini belirtmişlerdir. Aydın kestane üretim alanlarında üretilen kestane tipleri üzerinde ilk kez yapılan bu çalışma ile agronomik değerleri yüksek kestane tiplerinin *C. parasitica*'ya olan reaksiyonları saptanmıştır. Ele alınan kestane tiplerinin duyarlılıkları arasında farklılıklar saptanmış ve N-3-4 (Işıklar) ve N-20-2 en az duyarlı kestane tipleri olarak belirlenmiş olsa bile, bu hastalığa dayanıklı olarak önerilebilecek düzeyde bir reaksiyon belirlenmemiştir. Ayrıca laboratuvar koşullarında yürütülen bu çalışmalardan elde edilen sonuçların başka bir

Çalışma ile doğa koşullarında canlı ağaçlar üzerinde de doğrulanması uygun olacaktır.

4.5. *Cryphonectria parasitica*' nın Meşelerde Enfeksiyon Durumu

Cryphonectria parasitica'nın kestane dışındaki konukları olarak belirtilen meşe, gürgen, kıızılağa, kayacık ağaçlarından (Frimelica and Facoli, 1999) Aydın ve Yöresinde sadece meşelere ait üç türün [Saçlı Meşe (*Quercus cerris*), Kermes Meşesi (*Quercus coccifera*), Pırnal Meşesi (*Quercus ilex*)] (şekil 14 a, b, c) bulunması (Halit şalkacı, 2004, sözlü görüşme) nedeniyle çalışmamızda bu türler kestane kanseri belirtileri yönünden incelenmiştir.



şekil 14. Saçlı Meşe (a), Kermes Meşesi (b) ve Pırnal Meşesinin (c) yapraklarından görünüm.

Aydın'ın başlıca kestane üretim alanlarının yer aldığı Nazilli, Sultanhisar ve Köşk İlçelerinde kestaneliklerin içlerinde veya çevrelerinde bulunan Saçlı Meşelerde ayrıca kestane alanlarından uzakta daha düşük rakımlarda saptadığımız Kermes Meşesinde ve Aydın İli'nde sadece Kuşadası İlçesi Dilek Yarımadası Milli Parkı'nda bulunan Pırnal Meşesinde *C. parasitica*'nın doğal enfeksiyonlarına rastlanmamıştır. Ancak bu türlerde yapay inokulasyonlar sonucu enfeksiyon olup olamayacağını saptamak amacıyla in vitro koşullarda yapılan kabuk/ odun dokusu ile kesilmiş dal testlerinde bu üç meşe türünün dallarında nekrotik lezyonların olduğu saptanmıştır (Şekil 15 a, b, c). Bu durum enfeksiyon için uygun koşulların gerçekleşmesi halinde bu üç meşe türünün *C. parasitica*'nın konukçusu olabileceği kanısını vermektedir. Nitekim İtalya' da Luisi *et al.*, (1993) Pırnal Meşesi üzerinde kestane kanseri hastalığını saptamış ve bu durumun *C. parasitica* popülasyonunun artmasında önemli katkısı olabileceğini ileri sürmüştür. Ancak yöremizde kestane üretim alanları içinde ve çevresinde olmayan Pırnal Meşesi ile Kermes Meşesinde kestane kanseri hastalığının saptanmaması kestane üretim alanlarına uzaklığı sonucu doğal yayılma ile hastalık etmeninin bu bitkilere ulaşamadığı şeklinde açıklanabilir. Ancak kestane alanları ile iç içe olan saçlı meşelerde de *C. parasitica* enfeksiyonlarının görülmeyişi etmenin penetrasyonu için gerekli olan dokuların yaralanmasına (Gravatt, 1949) ve etkin taşınmasına neden olabilecek tarımsal uygulamaların doğal olarak yetişen meşelerde olmayışına bağlanabilir. Kestanelerde budama, aşılama ve hasatta dalların çırpılması şeklinde yapılan tarımsal uygulamalar etmenin yayılması ve penetrasyonu için uygun koşulları sağlamaktadır. Aydın Yöresinde meşelerde bugün için belirlenmemiş olan kestane kanseri hastalığının kestaneliklerin bulunduğu alanlarda meşe ağaçlarından yararlanmak üzere yapılacak uygulamalar sonucu meşelerde de görülebileceği beklenmektedir. Bu nedenle kestane üretim alanlarında kestane kanserine karşı yürütülecek savaşmada hastalığın yayılmasında meşenin inokulum kaynağı olabileceği gerçeğinin daima dikkate alınması gerektiği kanısına ulaşılmıştır. Diğer taraftan Aydın ve Yöresinde *C. parasitica* v-c grubu çeşitliliğinin çok düşük olması bu nedenle hipovirulent ırklardan yararlanarak yapılabilecek bir savaşmada başarı şansı yüksek olmakla birlikte Dallavalle and Zambonelli (1999)'nin belirttiği gibi meşelerde bulunan *C. parasitica*'nın farklı v-c gruplarına ait olabileceği,

bunların kestaneliklerde yayılması ile v-c grup çeşitliliğinin artacağı ve sonuçta hastalığın hipovirü lent ırklarla kontrolünün zorlaşacağı da göz ardı edilmemelidir.



Şekil 15. Saçlı Meşe (a), Kermes Meşesi (b) ve Pırnal Meşesi (c) üzerinde kesilmiş dal testi sonucu odun dokusunda oluşan nekrotik lezyonlar.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye kestane üretiminde en büyük paya sahip olan ve kestane kanseri tehlikesi altına giren Aydın İli'nde bu hastalığa karşı alınacak önlemler açısından verim ve kalite kriterleri yönü ile üretimde tercih edilen yöresel kestane tiplerinin hastalığa karşı duyarlılıklarının bilinmesi önemlidir. Bu nedenle bu çalışmanın ana amaçlarından biri Aydın kestane üretim alanlarında yaygın olarak yetiştirilen kestane tiplerinin yine bu alanlardan elde edilen ve farklı virülensliğe sahip *Cryphonectria parasitica* izolatlarına karşı olan duyarlılıklarının farklı testlerle belirlenmesidir. Böylece kestane tipleri arasında bu hastalığa karşı önerilebilecek daha az duyarlı veya dayanıklı tiplerinin olup olmadığı belirlenebileceği gibi ayrıca kullanılan farklı testler ölçüm hassasiyeti ve uygunlukları açısından karşılaştırılmış olacaktır. Çalışmanın bir diğer amacı ise kestane kanseri etmeninin diğer konukçularından biri olan meşenin Aydın Yöresinde bulunan türlerinin bu etmenin konukçusu olup olmadığının saptanmasıdır. Bunların yanı sıra çalışmada kullanılan tüm izolatların kültürel özelliklerine bakılarak aralarında hipovirulent olası streynlerin olup olmadığının belirlenmesi ve yöre populasyonunda v-c grup çeşitliliğinin durumunu izlemek üzere çalışma kapsamında elde edilen izolatların da vejetatif uyum gruplarının saptanması çalışmanın hedefleri içinde yer almaktadır.

Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, bunların değerlendirilmesi ve bu konularla ilgili yapılabilecek öneriler aşağıda verilmiştir.

- Aydın kestane üretim alanlarından bu çalışma kapsamında elde edilen 19 *C. parasitica* izolatının v-c grup çeşitliliği belirlenerek 17'sinin Avrupa v-c gruplarından EU 1 ile, 2'sinin ise EU 12 ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar aynı kestane üretim alanlarını içine alan başka bir çalışmadan sağlanarak bu çalışmada kullanılan 80 *C. parasitica* izolatının v-c grup çeşitliliği ile aynıdır (Döken ve ark. 2004). Bu üretim alanlarında *C. parasitica* populasyonunda v-c grup çeşitliliğinin düşük oluşu populasyonun v-c grubu ile aynı gruba sahip hipovirulent izolatların kullanılmasıyla yapılacak bir biyolojik savaşımın başarı şansının yüksek olacağını göstermektedir.

- Aydın Yöresi *C. parasitica* popülasyonundan elde edilen 99 izolat arasında S5-5 hariç hepsi PDA besi ortamı üzerinde benzer hızla gelişerek, homojen yuvarlak koloniler oluşturmuşlardır. Bu kolonilerin rengi karanlık ortamda beyazdan turuncuya kadar değişen tonlarda olup, aydınlık ortama geçildiğinde hepsinde pigmentasyon artmıştır. S5-5 in kolonileri ise her iki ortamda da koyu turuncu olup, aynı süre içinde kolonileri şekilsiz ve daha ufak olarak gelişmiştir.

- Kestane tiplerinin duyarlılıklarını saptamada kullanılacak virülensi yüksek ve düşük iki izolatın belirlenmesi için yapılan iki farklı testten ilki olan elma testi sonuçlarına göre Apaklar, Gökkiriş, Uzunlar ve Malgaçmustafa köylerinden elde edilen izolatlar arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Bu köylerin her birinden virülensi düşük ve yüksek birer izolat, ayrıca diğer köylerden de birer izolat seçilerek toplam 26 izolatın virülenslikleri bir kez de kestane kabuk/ odun dokusu testi ile belirlenmiştir. Sonuçta en büyük nekrotik lezyonlara neden olan K5-13 nolu izolat en yüksek virülensliğe sahip, en ufak lezyonları oluşturan N27-1 ise en düşük virülensliği olan izolatlar olarak değerlendirilmiştir.

- Aydın Yöresinde yaygın olarak üretilen kestane tipleri arasında kalite ve verim kriterleri açısından seçilen en iyi kestane tiplerinin kestane kanserine karşı duyarlılıkları kabuk/ odun dokusu ve kesilmiş dal testleri ile belirlenmiştir. K5-13 ve N27-1 izolatları kullanılarak yapılan testlerde K5-13' ün oluşturduğu lezyonların çaplarının önemli düzeyde daha büyük olduğu saptandığından daha yüksek virülense sahip olduğu bu çalışmalar ile de teyit edilmiştir. Ele alınan kestane tipleri arasında bu hastalığa karşı önerilebilecek düzeyde dayanıklılık gösteren kestane tipleri saptanmış olmamakla birlikte, kestane tiplerinin duyarlılıkları arasında önemli farklar bulunmuştur. Her iki testte de sonuçlar benzer olup, en küçük lezyon çaplarının ölçüldüğü N-20-2 ve N-3-4 (Işıklar) en az duyarlı, en büyük lezyonların olduğu N-7-3 (Sarı Salman) de en çok duyarlı kestane tipleri olarak saptanmışlardır.

- Yöremizde *C. parasitica*' nın kestane dışındaki konukçularından sadece Saçlı Meşe, Kermes Meşesi ve Pırnal Meşesi türlerinin bulunduğu belirtildiğinden bu türlerin bulunduğu doğal ortamlarda meşeler üzerinde yapılan gözlemlerde herhangi bir kanserli dokuya rastlanmamıştır. Ancak in vitro koşullarda bu türlerden alınan dal parçalarına kabuk/ odun dokusu ve kesilmiş dal testi yöntemleri ile K5-13 nolu *C.*

parasitica izolatu inokule edildiğinde üç meşe türünün de bu izolata karşı duyarlı oldukları görülmüştür. Bu durum enfeksiyon için uygun koşulların gerçekleşmesi halinde özellikle kestanelikler ile iç içe veya çok yakın olarak bulunan saçlı meşenin kestane kanserinin yayılmasında inokulum kaynağı olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle kestane kanserine karşı yürütülecek savaşım da meşe enfeksiyonlarının da göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

- İn vitro koşullarda *C. parasitica*’ya karşı kestane tiplerinde saptanan duyarlılıkların ayrıca meşe türlerinde gözlemlenen enfeksiyonların bir kez de doğal koşullarda doğrulanması daha net ve sağlıklı sonuçlara ulaşılmasını sağlayacaktır.

- Kestane kanseri savaşımına yönelik olarak dayanıklı kestane tiplerinin arayışı bu çalışma ile öncelikle üretimde tercih edilen ve agronomik değerleri yüksek çeşitler arasında yapılmıştır. Ancak bu konudaki çalışmalar sadece bu kestane tipleri ile sınırlı kalmamalı, kalite ve verim değerlerine bakılmaksızın bulunabilecek herhangi bir dayanıklı tip bu hastalığa karşı dayanıklı çeşit ıslahında gen kaynağı olarak değerlendirilmelidir.

ÖZET

Aydın kestane üretim alanlarından elde edilen *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr izolatlarının virülensliklerinin belirlenerek bunlar içinde en yüksek ve düşük virülensliğe sahip iki izolat bu yörede yaygın olarak yetiştirilen kestane tiplerinin bu etmene karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılmıştır. Ayrıca Aydın Yöresinde bulunan meşe türleri doğal koşullarda kestane kanseri hastalığının varlığı yönünden gözlemlenmiş, buna ek olarak in vitro koşullarda *C. parasitica* izolatları ile yapılan inokulasyonlar ile bu türler üzerinde enfeksiyonlara neden olup olamayacağı saptanmıştır. Diğer taraftan bu çalışmada kullanılan tüm izolatların kültürel özellikleri incelenmiş ve yeni izole edilenlerin v-c grupları da belirlenmiştir.

19 adedi bu çalışma kapsamında izole edilen ve 80 adedi de Aydın ve Yöresinde yapılan başka bir çalışmadan sağlanan toplam 99 adet *C. parasitica* izolatı arasından K5-13 izolatı en yüksek, N27-1 ise en düşük virülensliğe sahip izolatlar olarak saptanmışlardır. Ayrıca bu çalışmada izole edilen 19 izolatın vejetatif uyum grubu yine Aydın *C. parasitica* popülasyonundan elde edilmiş diğer izolatlarda olduğu gibi Avrupa v-c gruplarından sadece EU 1 ve EU 12 ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Altı kestane tipinde K5-13 ve N27-1 nolu *C. parasitica* izolatları kullanılarak kabuk/ odun dokusu ve kesilmiş dal testi yöntemlerine göre yapılan duyarlılık testleri sonucunda N-3-4 ve N-20-2 kodlu kestane tipleri en az duyarlı, N-7-3 ise en duyarlı kestane tipi olarak değerlendirilmiştir. Aydın ve Yöresinde bulunan üç meşe türü [Saçlı Meşe (*Quercus cerris*), Kermes Meşesi (*Quercus coccifera*) ve Pırnal Meşesi (*Quercus ilex*)] üzerinde doğal ortamlarda yapılan gözlemlerde kanserli dokulara rastlanmamıştır. Ancak in vitro koşullarda K5-13 izolatı kullanılarak, kabuk/ odun dokusu ve kesilmiş dal testi yöntemleri ile yapılan inokulasyonlar sonucu bu meşe türlerinde nekrotik lezyonların oluşması ile bu meşe türlerinin *C. parasitica*'nın konukçusu olabileceği belirlenmiştir. Bu çalışmada gerek izolatların virülensliklerinin belirlenmesinde gerekse kestane tiplerinin etmene duyarlılıklarının saptanmasında kullanılan testler de birbirlerine olan üstünlükleri yönünden karşılaştırılmış olup, bunlar arasından kesilmiş dal testi yönteminin

içlerinde en hassas ölçümlerin yapılabileceği ve bu nedenle en güvenilir test olduğu kanısına varılmıştır.

SUMMARY

Cryphonectria parasitica (Murrill) Barr isolates collected from Aydın's chestnut orchards were tested for virulence and two isolates, one with highest and another with lowest virulence, were used in evaluations of susceptibility of chestnut genotypes, which are predominantly cultivated in Aydın Province. Besides, the three oak species commonly found in the area were examined in nature for presence of chestnut blight symptoms, on the other hand capability of *C. parasitica* isolates to cause infection on these species was determined with inoculations in vitro conditions. All isolates used in this study were examined in terms of their cultural characteristics and v-c types of the new isolates collected in this study were identified.

Out of 99 isolates, 19 from this study and 80 from a previous study conducted in Aydın Province, K5-13 was found to be the most virulent isolate, whereas N27-1 was the least virulent one. The results of vegetative compatibility test for 19 new isolates were similar to those of obtained from the previous study, which the isolates were only compatible with EU 1 and EU 12 v-c types. According to the results of the two different pathogenicity tests (bark-and wood tissue test and excised-stem test) with K5-13 and N27-1 isolates carried out on six chestnut genotypes, N-3-4 and N-20-2 genotypes showed lower susceptibility, whereas N-7-3 was found to be the most susceptible one. No chestnut blight symptoms were detected in nature on any of the three oak species (*Quercus cerris*, *Quercus coccifera*, *Quercus ilex*) examined during the surveys. However, inoculations with K5-13 isolate in both bark-and wood tissue test and excised-stem test in vitro resulted lesion development on all oak species, which indicated that they might be potential hosts for *C. parasitica*. In this study, all tests used for both measuring virulence of isolates and determining susceptibility of chestnut genotypes were compared each other and excised-stem test gave more consistent, and reliable measurements.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarında yaptığı katkılarından dolayı danışmanım Sayın Prof. Dr. M. Timur DÖKEN' e, arazi çalışmalarım sırasında yardım ve katkılarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Engin ERTAN' a, tez çalışmam sırasında bana yardımcı olan arkadaşlarım Ziraat Yük. Müh. N. Funda DEĞİRMENCİ ve Araş. Gör. Havva DİNLER' e teşekkür ederim.

Ayrıca, yüksek lisans öğrenimim boyunca her konuda beni destekleyen eşime ve anneme teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, S., M. T. Döken, Ö. Erincik, F. Değirmenci, 2004. Aydın yöresinde *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr' ın hipovirulent izolatlarının dsRNA analiz yöntemi ile saptanması. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. Samsun 8-10 Eylül: 255 s.
- Agrios, G. N., 1997. Plant Pathology. Fourth Edition. Academic Press. San Diego. USA. 635 p.
- Akdoğan, S. ve E. Erkman, 1968. Dikkat kestane kanseri görüldü. Tomurcuk 1: 4-5.
- Anagnostakis, S. L. and R. A. Jaynes, 1973. Chestnut blight control: Use of hypovirulent cultures. Plant Dis. Rep. 57: 225- 226.
- Anagnostakis, S. L., 1977. Vegetative incompatibility in *Endothia parasitica*. Experimental Mycology 1: 306- 316.
- Anagnostakis, S. L., B. Hau and J. Kranz, 1986. Diversity of vegetative compatibility groups of *Cryphonectria parasitica* in Connecticut and Europe. Plant Disease 70: 536-538.
- Anagnostakis, S. L., 1987. Chestnut blight: The classical problem of an introduced pathogen. Mycologia. 79(1):23-37
- Anagnostakis, S. L. and J. Kranz, 1987. Population dynamics of *Cryphonectria parasitica* in a mixed- hardwood forest in Connecticut. Phytopathology 77: 751- 754.
- Anagnostakis, S. L., 1988. *Cryphonectria parasitica*, cause of chestnut blight. Adv. Plant Pathology 6: 123- 136.
- Anagnostakis, S. L., 1989. An historical reference for chestnut introductions into NorthAmerica. Annual Report of the Northern Nut Growers Association 80:132-143
- Anagnostakis, S. L., 1992. Measuring resistance of chestnut trees to chestnut blight. Can. J. For. Res. 22: 568-571.
- Anagnostakis, S. L., 1997. Protecting chestnut trees from blight. In: Chestnut in our forest. Connecticut, Woodlands 62: 4-7.

- Anagnostakis, S. L., 2001. The effect of Multiple importations of pests and pathogens on a native tree. *Biological Invasions* 3: 245- 254.
- Anonymous, 2003. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Aydın Tarım İl Müdürlüğü Kayıtları.
- Anonymous, 2004. Türkiye İstatistik Kurumu. TÜİK, Ankara.
- Anonymous, 2005. FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). [http:// apps.fao.org/faostat](http://apps.fao.org/faostat)
- Arisan- Atac, I., E. Heidenreich and C. P. Kubicek, 1995. Randomly amplified polymorphic DNA fingerprinting identifies subgroups of *Trichoderma viride* and other *Trichoderma* sp. capable of chestnut blight biocontrol. *FEMS Microbiology Letters* 126. 249- 256. (In: Cab Abstr.)
- Baykal, N., H. Tezcan, A. Soylu, S. Ufuk, Ü. Arslan and M., Yahyaoglu, 2000. Incidence of chestnut blight in Bursa province and reactions of some turkish chestnut cultivars against it. *J. Turk. Phytopath.*, Vol.29, No.1:1-5.
- Bazzigher, G., 1981. Selection of blight- resistant chestnut trees in Switzerland. *European Journal of Forest Pathology* 11(4): 199- 207. (In: Cab Abstr.)
- Bazzigher, G. And G. Miller, 1987. Selektion endothia- widerstandsfahiger kastanien in der Schweiz- eine Quelle wertvollen Erbgutes. *Schweizerische Zeitschrift fur Forstwesen* 138 (9):799- 813. (In: Cab Abstr.)
- Bazzigher, G. And G. Miller, 1991. Blight- resistant chestnut selections of Switzerland: a valuable germ plasm resource. *Plant Disease*. 75 (1): 5- 9.
- Bisiach, M., A. De Martino, E. Gobbi, M. Intropido and G. Vegetti, 1988. Studies on chestnut blight: activitiy report. *Rivisa di Patologia Vegetale*, S. IV, 24: 3-13.
- Burnham, C. R.,1987. Historical overview of chestnut breeding in the United States. *The Journal of the American Chestnut Foundation*. Vol:2 (1): 6-7.
- Coşkun, H., T. Turchetti, G. Maresi and A. Santagada, 1999. Preliminary investigations into *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr Isolates From Turkey. *Phytopathol. Mediterr.*, 38, 101-110.

- Çeliker, N. M, 2000. Kestane kanseri (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.)'nın hipovirulent ırklarla savaşımı üzerinde araştırmalar. Doktora tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bornova -İzmir, 116s.
- Çeliker, N. M ve E. Onoğur, 2001. Türkiye' de kestane kanseri (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.) hastalığına karşı biyolojik mücadele olanakları. In: Türkiye IX. Fitopath. Kong. Bildirileri. Ed. A. Çıtır ve G. Köklü, Vol: 45, 354- 363, Trakya Üniv. Basımevi, Edirne.
- Çeliker, N. M ve E. Onoğur, 2004. Ege ve Marmara bölgelerinde kestane kanseri etmeni (*Cryphonectria parasitica* Murr. Barr.)'nın yeni vejetatif uyum gruplarının oluşma şansı ve bunun biyolojik mücadele başarısına etkisi. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. Samsun 8-10 Eylül: 255 s.
- Dallavalle, E. and A. Zambonelli, 1999. Epidemiological role of strains of *Cryphonectria parasitica* isolated from hosts other than chestnut. European Journal of Forest Pathology Vol.29, 2:97- 102.
- Davis, D. D., M. Torsello and J. R. McClenahan, 1997. Influence of *Cryphonectria parasitica* basal cankers on radial growth of scarlet oak in Pennsylvania. Plant Dis. 81: 369- 373.
- De Lange, W. J., B. D. Wingfield and M. J. Wingfield, 1998. A rapid, apple- based test for virulence in *Cryphonectria cubensis* isolates. Eur. J. For. Path. 28: 409-412.
- Delen, N., 1975. Distribution and biology of chestnut blight (*Endothia parasitica* (Murrill) Anderson and Anderson). J. Turkish Phytopath. 4(3):93-113.
- Delen, N., 1979. Studies on the control possibilities of chestnut blight (*Endothia parasitica* (Murr.) A. and A.) in Turkey. J. Turkish Phytopath. 8 (2-3): 51- 76.
- Delen, N., 1980. Studies on the control possibilities of chestnut blight (*Endothia parasitica* (Murr.) A. and A.) in Turkey. J. Turkish Phytopath.9 (1): 27- 47.

- Döken, M. T., S. Açıköz, Ö. Erincik, E. Ertan, 2004. Aydın İli üretim alanlarının *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr (Kestane kanseri) enfeksiyonları yönünden incelenmesi ve elde edilen izolatların vejetatif uyum gruplarının belirlenmesi. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. Samsun 8-10 Eylül: 255 s.
- Dunn, M. M. and G. J. Boland, 1993. Hypovirulent isolates of *Cryphonectria parasitica* in southern Ontario. Canadian Journal of Plant Pathology 15: 245-252.
- Ellis, M. B. and J. B. Ellis, 1985. Microfungi on Land Plants. Croom- Helm, London (GB).
- Elliston, J. E. 1981. Hypovirulence and chestnut blight research: Fighting disease with disease. J. For. 79: 657-660.
- Elliston, J. E. 1985. Characteristics of dsRNA – containing strains of *Endothia parasitica* in relation to hypovirulence. Phytopathology 75: 151-158.
- EPPO, 2005. *Cryphonectria parasitica* . Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 35, 295– 298.
- Erdem, R., 1951. Türkiye’ de kestane ölümünün sebepleri ve savaş imkanları. Biricik matbaası Ankara, IV+ 82.
- Erincik, O., M. T. Döken, S. Açıköz, and E. Ertan, 2003. First Report for Aydın, Turkey: *Cryphonectria parasitica* (Murrill.) Barr threatens the chestnut plantations of Aydın Province. J. Turk. Phytopath., Vol.32, No. 1, 41- 44.
- Erper, I., U. Serdar ve G. Karaca, 2005. Bazı kestane (*Castanea sativa* Mill.) genotiplerinin *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr’ya duyarlılıklarının belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi 19 (1): 46- 49.
- Ertan, E. ve S. S. Kılınç, 2005. Seleksiyon ile belirlenmiş kestane genotiplerinin morfolojik, fenolojik ve biyokimyasal özellikleri. ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 2(2): 67- 77.
- Frigimelica, G. and M. Faccoli, 1999. Preliminary reports on the occurrence of *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr. on different tree species in Friuli Venezia-Giulia (Italy). Proc. 2nd Int. Symp. On Chestnut. Ed. G. Salesses. Acta Hort. 494. 467-471.

- Fulbright, D. W. 1984. Effect of eliminating dsRNA in hypovirulent *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 74: 722- 724.
- Fulbright, D. W., C. P. Paul, S. W. Garrod, 1988. Hypovirulence: a natural control of chestnut blight. Pages 121- 138 in: *Biocontrol of Plant Disease*. K. G. Mukerji, K. L. Garg, eds. CRC Pres, Boca Raton, FL.
- Fulbright, D. W., 1999. Chestnut blight and hypovirulence. In: *Plant- Microbe Interactions*, Vol. 4, G. Stacey and N. T. Keen editors. Pages 57- 79. APS Pres. St Paul, MN.
- Gao, S., G. H. Choi, L. Shain, and D. L. Nuss, 1996. Cloning and targeted disruption of *enpg-1*, encoding the major in vitro extracellular endopolygalacturonase of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 1984-1990.
- Grassi, G., M. Mastronicola, A. Parente, 1997. Atti del Convegno nazionale sulcasragno, Cison di Valmanero (TV): 575.
- Gravatt F., 1949. Chestnut blight in Asia and North America. *Unosylva*. Vol.3, No. 1.
- Groome, P. C., T. A. Tattar, M. S. Mount, 2001. Bacteria found on American chestnut bark and their potential in biocontrol of chestnut blight. *Arboricultural Journal* 25(3) : 221- 234. (In: Cab Abstr.)
- Guerin, L., S. Bastien, B. Chauvin, 1999. The production and dispersal of ascospores of *Cryphonectria parasitica* in an orchard in south- western France. *Acta Horticulture* (No. 494): 473- 480.
- Guerin, L., G. Froidefond and X.-M. Xu, 2001. Seasonal patterns of dispersal of ascospores of *Cryphonectria parasitica* (chestnut blight). *Plant Pathology* 50: 717- 724.
- Guerin, L. and C. Robin, 2003. Seasonal effect on infection and development of lesions caused by *Cryphonectria parasitica* in *Castanea sativa*. *For. Path.* 33: 223- 235.
- Gürer, M., M. Ottaviani, and P. Cortesi, 2001. Genetic diversity of subpopulations of *Cryphonectria parasitica* in two chestnut- growing regions in Turkey. *For. Snow Landsc. Res.* 76, 3: 383- 386.

- Havir, E. A., and S. L. Anagnostakis, 1983. Oxalic acid production by virulent but not by hypovirulent strains of *Endothia parasitica*. *Physiol. Plant Pathol.* 23: 369- 376.
- Heiniger, U. and D. Rigling, 1994. Biological control of chestnut blight in Europe. *Annual Review of Phytopathology*, 32: 581-599.
- Hepting, G.H., 1974. Death of the American chestnut. *Journal of Forest History* 18: 60-67
- Hillman, B. I., R. Shapira, and D. L. Nuss, 1990. Hypovirulence- associated suppression of host functions in *Cryphonectria parasitica* can be partially relieved by high light intensity. *Phytopathology*, 80: 950-956.
- Huber, D. H. And D. W. Fulbright, 1994. Preliminary investigations on the effect of individual vic genes upon the transmission of dsRNA in *Cryphonectria parasitica*. In: Double M. L. and MacDonald W. L. (eds) *Proceedings of the International Chestnut Conference*, pp15- 19, West Virginia University Press, Morgantown.
- Jaynes, R. C. and N. K. Van Alfen, 1974. Control of American chestnut blight by trunk injection with methyl-2-benzimidazole carbamate (MBC). *Phytopathology* 64:1479- 1480.
- Jaynes, R.A. and N. Van Alfen, 1977. Control of the chestnut blight fungus [*Endothia parasitica*] with injected methyl 2 benzimidazolecarbamate. *Plant Dis Rep* Dec 61 (12) p. 1032-1036.
- Jaynes, R.A, 1979. Chestnuts, nut tree culture in North America, R. A. Jaynes Ed. Northern Nut Growers Assoc. Inc. Hamden Connecticut, USA, (111-127).
- Jaynes, R.A and N. K. De Palma, 1984. Natural Infection of Nuts of *Castanea dentata* by *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 74: 296- 299.
- Lee, J. K., T. A. Tattar, P. M. Berman, M. S. Mount, 1992. A rapid for testing the virulence of *Cryphonectria parasitica* using excised bark and wood of american chestnut. *Phytopathology* 82: 1454-1456.

- Liu, Y- C., and M. G. Milgroom, 1994. Correlation between transmission of hypovirulence and the number of vegetative incompatibility (*vic*) loci different among isolates in a natural population of *Cryphonectria parasitica*. *Phytopathology* 84: 1126- 1127.
- Liu, Y- C., and M. G. Milgroom, 1996. Correlation between hypovirus transmission and the number of vegetative incompatibility (*vic*) genes different among isolates from a natural population of *Cryphonectria parasitica*. *Phytopathology*, 86: 79-86.
- Luisi, N., P. Lerario, G. Sicoli, V. Blotta, 1993. *Cryphonectria parasitica* on host different from *Castanea* spp. and their epidemiological role. Proceeding of the International Congress on Chestnut. Spoleto, October 20-23.
- Mac Donald, W. L., 1993. Diseases of Chestnut Proceeding of The International Congress On Chestnut. Spoleto. October 20-23.
- MacDonald, W.L. and D. W. Fulbright, 1991. Biological control of chestnut blight: use and limitations of transmissible hypovirulence. *Plant Disease*. 75: 656-661.
- Mara, R. E. and M. G. Milgroom, 1999. PCR amplification of the mating type idiomorphs in *Cryphonectria parasitica*. *Mol. Ecol.* 8: 1947- 1950.
- Milgroom, M. G., W. L. Mac Donald and M. L. Double 1991. Spatial analysis of vegetative compatibility groups in the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Can. J. Bot.* 69: 1407- 1413.
- Milgroom, M. G., 1995. Population biology of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Can. J. Bot.* 73: 311- 319
- Milgroom, M. G., 1997. Genetic variation and the application of genetic markers for studying plant pathogen populations. *Journal of Plant Pathology* 78 (1): 1-13.
- Milgroom, M. and P. Cortesi, 2004. Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 311- 338.
- Pavari, A., 1949. Chestnut blight in Europe. *Unosylva*. Vol.3, No. 1.
- Qin L., X. Gao, J. Cheng and S. Liu, 1999. Evaluation of chinese chestnut cultivars for resistance to *Cryphonectria parasitica*. In: *Proc. 2nd Int. Symp. on chestnut*. Ed. G. Salesses. *Acta Hort.* (No. 494): 383- 389.

- Radocz, L. and G. Tarcoli, 2005. Identification of natural infection of *Quercus* spp. by chestnut blight fungus (*Cryphonectria parasitica*). Acta Horticulture (No. 693): 617- 619. (In: Cab Abstr.)
- Rigling, D., U. Heiniger and H. R. Hohl, 1989. Reduction of laccase activity in dsRNA- containing hypovirulent strains of *Cryphonectria(Endothia) parasitica*. Phytopathology, 79: 219- 223.
- Rittenour, W. R., 2005. The biological control potential of *Cryphonectria parasitica* strains containing an infectious cDNA copy of hypovirus CHV1- Euro7. PhD Dissertation. West Virginia University. Morgantown, WV, USA.
- Roane, M., G. Griffin and J. Elkins, 1986. Chestnut blight, other Endothia diseases and the genus Endothia. APS Press: St. Paul.
- Russin, J. S., L. Shain, G. L. Nordin, 1984. Insects as carriers of virulent and cytoplasmic hypovirulent isolates of the chestnut blight fungus. J. Econ. Entomol. 77: 838- 846.
- Sharf, S. S. and N. K. De Palma, 1981. Birds and mammals as vectors of the chestnut blight fungus (*Endothia parasitica*). Canadian Journal of Zoology 59: 1647- 1650.
- Sisco, H. P., 2004. Breeding blight-resistant american chestnut trees. Journal of American Chestnut Foundation. Vol.18 1:12-16.
- Soylu, A., 1984. Kestane yetiştiriciliği ve özellikleri. Ankara Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 59, Yalova.
- Soylu, A. ve S. Ufuk, 1994. Marmara Bölgesi kestanelerinin seleksiyon yoluyla ıslahı. Ankara Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 16, Yalova.
- Soylu, A. 1997. Ilıman iklim meyveleri- II. Uludağ Üniv. Ziraat Fakültesi No: 72. 218- 244.
- Tattar, T. A. 2004. Use of Microinjection of Systemic Fungicides to Suppress Canker Development in American Chestnut Trees. Journal of The American Chestnut Foundation 18: (1) 47- 48.
- Turchetti, T. 1982. Hypovirulence in chestnut blight (*Endothia parasitica* [Murr.] And.) and some practical aspects in İtaly. Eur. J. For. Path. 12: 414- 417.
- Ülkümen, L., 1973. Bağ bahçe ziraatı. Ankara Üniv. Yayınları, Erzurum.

- Van Alfen, N. K., R. A. Jaynes, S. L. Anagnostakis, P. R. Day, 1975. Chestnut blight: biological control by transmissible hypovirulence in *Endothia parasitica*. Science 189: 890-891.
- Van Alfen, N. R., R. A. Jaynes and J.T. Bowman, 1978. Stability of *Endothia parasitica* hypovirulence in culture. Phytopathology 68: 1075- 1079.
- Vannini, A., P. Cortesi, A. Penisi, G. Maresi, C. Robin, D. Rigling, U. Heiniger and G. Fulvio, 1997. COST G4 Multidisciplinary Chestnut Research Pathology.
- Villani F., M. Pigliucci and M. Cherubini, 1994. Evolution of *Castanea sativa* Mill. in Turkey and Europe. Genet. Res. Comb. 63 pp. 109-116.
- Vossen, P., 2000. Chestnut culture in California. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Oakland, California. Publication 8010. (<http://anrcatalog.ucdavis.edu>.)
- Waterworth H. E. and G.A. White, 1982. Plant introductions and quarantine: the need for both. Plant Disease 66:87-90.
- Westwood, M. N., 1993. Temperate- Zone Pomology, Physiology and Culture. Third Edition. Timber Press, Inc. Portland, Oregon, 97225.
- Wilhelm, E., A. Wolfgang, R. Schafleitner and B. Krebs, 1998. *Bacillus subtilis* an endophyte of chestnut (*Castanea sativa*) as antagonist against chestnut blight (*Cryphonectria parasitica*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 52: 105-108.
- Xenopoulos, S. G. and A. Papachatzis, 1999. Problems of chestnut- growing in Greece screening for resistance of several chestnut provenances to *Cryphonectria* (*Endothia*) *parasitica* (Murr.) And. Acta Horticulturae (No: 494): 521- 527. (In: Cab Abstr.)
- Zohary D. and M. Hopf, 1988. Domestication of plants in the old world. Clarendon press: Oxford.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Adana’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana’ da tamamladı. 1995 yılında girdiği Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’nden 1999 yılında mezun oldu. 1999- 2002 yılları arasında stajını da yaptığı Amerika Bileşik Devletleri’nde bulunan Ohio State Üniversitesi’nin Plant Pathology Bölümünde Laboratuar Asistanı olarak çalıştı. 2003 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’ nde yüksek lisans öğrenimine başladı.