



TOKAT KOŞULLARINDA YETİŞTİRİLEN ÜZÜM ÇEŞİTLERİNDE ENDOFİTİK FUNGUSLARIN BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER YÖNTEMLE KARAKTERİZASYONU

Arife YAĞCI

Yüksek Lisans Tezi

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Prof. Dr. Rüstem CANGİ

2022

Her hakkı saklıdır

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TOKAT KOŞULLARINDA YETİŞTİRİLEN ÜZÜM
ÇEŞİTLERİNDE ENDOFİTİK FUNGUSLARIN BELİRLENMESİ
VE MOLEKÜLER YÖNTEMLE KARAKTERİZASYONU**

Arife YAĞCI

TOKAT
Şubat-2022

Her hakkı saklıdır



Bu tez çalışması;

**Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu Başkanlığı tarafından
2021/07 nolu proje ile desteklenmiştir**

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Rüstem CANGİ ve Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL danışmanlığında hazırlamış olduğum “Tokat Koşullarında Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinde Endofitik Fungusların Belirlenmesi ve Moleküler Yöntemle Karakterizasyonu” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

21/01/2021

Arife YAĞCI

JÜRİ KABUL VE ONAY

Arife YAĞCI tarafından hazırlanan “Tokat Koşullarında Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinde Endofitik Fungusların Belirlenmesi ve Moleküler Yöntemle Karakterizasyonu” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 21 Ocak 2022 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmzası

Üye (Başkan) : Prof. Dr. Rüstem CANGİ	
Üye: Prof. Ali ERKILIÇ	
Üye: Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL	
Üye: Doç. Dr. Nurhan KESKİN	
Üye: Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR	

ONAY

...../...../.....

Prof. Dr. Mehmet GÜNEŞ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜRLER

Pozitif enerjisi ve engin tecrübesi ile desteğini her zaman hissettiğim danışmanım Prof. Dr. Rüstem CANGİ hocama; yine danışmanım olduğu için kendimi şanslı hissettiğim, bana kattığı bilgi ve beceriyi meslek hayatım boyunca kullanma imkanı veren, anlayışından ve nezaketinden dolayı Doç. Dr. D.Soner AKGÜL hocama; tez çalışmamın önemli bir kısmını yürüttüğüm Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde covid döneminde bile beni güler yüzleri ile karşılayan, evimdeymişim gibi hissettiren saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Ali ERKILIÇ ve Prof. Dr. Yeşim AYSAN'a; tez çalışmamın her aşamasında yardımını esirgemeyen, her zaman destek olan, tavsiyelerde bulunan sevgili eşim Doç. Dr. Adem YAĞCI'ya; tez çalışmamdaki bitkisel materyallerin temininde ve laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Ahmet BOZ'a ve Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanı Dr. Duran KILIÇ'a teşekkür ederim. Eğitimimin her aşamasında sabırlarıyla ve hoşgörülerıyla yanımda olan kızım Sevim ve oğlum F.Semih'e de sonsuz sevgilerimi sunuyorum.

Arife YAĞCI

21 Ocak 2022

ÖZET
TOKAT KOŞULLARINDA YETİŞTİRİLEN ÜZÜM ÇEŞİTLERİNDE ENDOFİTİK
FUNGUSLARIN BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER YÖNTEMLE
KARAKTERİZASYONU

Yağcı, Arife

Yüksek Lisans

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Rüstem CANGİ

İkinci Danışman: Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL

Ocak 2022, xii + 107 sayfa

Endofitler, yüksek bitkilerin intra/interselüler dokularında yaşayan ve konukçu bitkide herhangi bir belirtiyeye neden olmayan mikroorganizmalardır. Endofitik mikroorganizmalar doğada bitkilerin gelişimlerinde, büyümesinde, streslere, hastalık ve zararlılara toleransında ve adaptasyonunda rol oynayan farklı fonksiyonlara sahiptir. Bu çalışmada farklı üzüm çeşitlerinin dormant çeliklerde bulunan endofitik fungus florasının incelenmesi, bunların morfolojik ve moleküler olarak karakterizasyonu, saptanan endofitik funguslarda patojenite testleri yapılması ve bazı asma gövde hastalıklarına neden olan etmenlere karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada bitkisel materyal olarak Tokat ilinde yetiştirilen standart sofralık üzüm çeşitleri (18 adet), yöresel üzüm çeşitleri (12 adet), Narince üzüm çeşidine ait klonlar (21 adet) ve aşılı-aşısız bazı Amerikan asma anaçları kullanılmıştır. Dormant çeliklerin iç dokularından alınan örneklerde yapılan izolasyon, DNA ekstraksiyonu, PCR, jel elektroforez işlemleri ve gen sekanslama işlemleri sonucunda; klasik ve moleküler tanı sonuçlarına göre dormant materyallerde 23 adet endofitik fungus (*Acremonium aegyptiacum*, *A. fusidioides*, *A. hyalinum*, *A. sclerotigenum*, *Alternata alternata*, *Alt. infectoria*, *Aspergillus ochraceus*, *A. piperis*, *Athelia bombacina*, *Aureobasidium pullulans*, *Cerrena unicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium avenaceum*, *Neosetophoma clematidis*, *Neosetophoma italica*, *Oidiodendron cerealis*, *Paraconiothyrium fuckelii*, *Penicillium commune*, *Phoma tropica*, *Pseudogymnoascus pannorum* ve *Sarocladium strictum*) belirlenmiştir. Patojenisite testlerinde bu türler asma fidanlarında herhangi bir lezyon oluşturmamışlardır. Ayrıca çalışmada 7 adet patojen fungus (*Botryosphaeria dothidea*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Cytospora* sp., *Cytospora salicacearum*, *Diatrype stigma*, *Neonectria ramularia* ve *Truncatella angustata*) türü saptanmıştır. Virülent olduğu düşünülen funguslarda lezyon uzunlukları 6-65 mm arasında değişkenlik göstermiştir. En virülent fungus 65 mm ile *Botryosphaeria dothidea*'da meydana gelmiştir. Endofitik türlerden *Acremonium aegyptiacum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium avenaceum*, *Neosetophoma clematidis* ve *Pseudogymnoascus pannorum* türleri patojenik *Botryosphaeria dothidea*, *Diatrype stigma*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Cytospora salicacearum* ve *Truncatella angustata*'ya karşı yüksek düzeyde antagonistik etki göstermişlerdir. Belirlenen endofitik fungusların asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenlere karşı önemli bir biyokontrol potansiyeli olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Vitis vinifera*, asma anacı, biyolojik mücadele, patojen, ikili kültür

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF ENDOPHYTIC FUNGI IN GRAPE CULTIVARS GROWN UNDER ECOLOGICAL CONDITIONS OF TOKAT PROVINCE

Yağcı, Arife

Master's Thesis,

Tokat Gaziosmanpaşa University Institute of Graduate Studies Department of Horticulture

Division of Curriculum and Instruction

Advisor: Prof. Dr. Rüstem CANGİ

Second Advisor: Assoc. Prof. Dr. Davut Soner AKGÜL

January 2022, xii + 107 pages

.Endophytes live in intra/intercellular tissues of taller plants and these microorganisms do not cause any symptoms in the host plant. Endophytic microorganisms have different functions playing important roles in development, growth, tolerance and adaptation of plants to stresses, diseases and pests in the nature. In this thesis, it was aimed to examine the endophytic fungal flora in dormant cuttings of different grape varieties, to characterize them morphologically and molecularly, to perform pathogenicity tests on the detected endophytic fungi and to determine their antagonistic effects against the factors that cause some grapevine stem diseases. Standard table grape cultivars (18 each) grown in Tokat province, local grape cultivars (12), clones of Narince grape cultivar (21) and some grafted and ungrafted American grapevine rootstocks were used as the plant material of the study. As a result of isolation from the samples taken from the internal tissues of dormant cuttings, DNA extraction, PCR, gel electrophoresis processes and gene sequencing processes, classical and molecular diagnoses, 23 endophytic fungi (*Acremonium aegyptiacum*, *A. fusidioides*, *A. hyalinum*, *A. sclerotigenum*, *Alternata alternata*, *Alt. infectoria*, *Aspergillus ochraceus*, *A. piperis*, *Athelia bombacina*, *Aureobasidium pullulans*, *Cerrena unicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium avenaceum*, *Neosetophoma clematidis*, *Neosetophoma italica*, *Oidiodendron cerealis*, *Paraconiothyrium fuckelii*, *Penicillium commune*, *Phoma tropica*, *Pseudogymnoascus pannorum* and *Sarocladium strictum*) were identified in dormant materials. In pathogenicity tests, these species did not cause any lesions on grapevine saplings. In addition, 7 pathogenic fungi species (*Botryosphaeria dothidea*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Cytospora* sp., *Cytospora salicacearum*, *Diatrype stigma*, *Neonectria ramularia* and *Truncatella angustata*) were identified in this study. The lesion lengths of virulent fungi varied between 6 - 65 mm. The most virulent fungus (65 mm) was encountered in *Botryosphaeria dothidea*. Among the endophytic species, *Acremonium aegyptiacum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium avenaceum*, *Neosetophoma clematidis* and *Pseudogymnoascus pannorum* exhibited a high antagonistic effect against pathogenic *Botryosphaeria dothidea*, *Diatrype stigma*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Cytospora salicacearum* and *Truncatella angustata*. It was concluded that identified endophytic fungi might have an important biocontrol potential against pathogens associated with grapevine stem diseases.

Keywords: *Vitis vinifera*, grapevine rootstock, biological control, pathogen, dual culture

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME SAYFASI	i
JÜRİ KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜRLER	iii
ÖZET (TÜRKÇE)	iv
ABSTRACT (İNGİLİZCE)	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER İSTESİ.....	viii
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	26
3.1. Materyal.....	26
3.2. Yöntem.....	28
3.2.1. İzolasyon.....	28
3.2.2. DNA ekstraksiyonu.....	30
3.2.3. PCR ve jel elektroforez işlemleri.....	31
3.2.4. Gen sekanslama.....	32
3.2.5. Patojenite testi.....	32
3.2.6. Endofitik türlerin bazı patojenlere karşı antagonistik etkisinin belirlenme	33
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	35
4.1. Asma Kalemelerinden Elde Edilen Endofitik Funguslar.....	35
4.2. Patojenisite Testi Sonuçları.....	54
4.3. <i>İn vitro</i> koşullarda Endofitik fungusların antogonistik etkileri.....	57
4.3.1. Endofitik fungusların <i>Botryosphaeria dothidea</i> 'nın miselyal gelişimi üzerine antagonistik etkileri.....	58
4.3.2. Endofitik fungusların <i>Cadophora lutea-olivacea</i> 'nın miselyal gelişimi üzerine antagonistik etkileri.....	63
4.3.3. Endofitik fungusların <i>Cytospora salicacearum</i> 'un miselyal gelişimi üzerine antagonistik etkileri.....	67
4.3.4. Endofitik fungusların <i>Diatrype stigma</i> 'nın miselyal gelişimi üzerine antagonistik	69
4.3.5. Endofitik fungusların <i>Truncatella angustata</i> 'nın miselyal gelişimi üzerine antagonistik etkileri.....	74
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	81
6. KAYNAKLAR.....	84
EKLER.....	94
Ek 1. Çalışmada kullanılan kalemlerin alınması	94
Ek 2. İzolasyon işlem aşaması	95
Ek 3. DNA ekstrasyon aşamaları	97
Ek 4. PCR ve Jel Elektroforez aşamaları	100
Ek 5. Patojenite test aşamaları	103
Ek 6. Antagonistik etki aşamaları	105
Ek 7. Özgeçmiş.....	107

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 3.1. Standart softalık üzüm çeşitlerine ait bazı özellikler.....	27
Çizelge 3.2. Yöresel üzüm çeşitlerine ait bazı özellikler.....	27
Çizelge 4.1. Araştırmada elde edilen fungal cinsler ve izolat sayıları.....	41
Çizelge 4.2. Dormant asma kalemlerinden izole edilen fungal türler ve NCBI GenBank kayıt numaraları	44
Çizelge 4.3. Standart sofralık üzüm çeşitlere ait endofitik funguslar ve bulunma.. oranları	46
Çizelge 4.4. Yöresel üzüm çeşitlere ait endofitik funguslar ve bulunma oranları..	47
Çizelge 4.5. Narince üzüm çeşidine ait klonlarda endofitik funguslar ve bulunma oranları.....	48
Çizelge 4.6. Farklı anaçlara aşılınmış Narince üzüm çeşidi kombinasyonlarında endofitik funguslar ve bulunma oranları.....	49
Çizelge 4.7. Asma anaçlarında endofitik funguslar ve bulunma oranları.....	50
Çizelge 4.8. Çalışmada elde edilen fungus türlerinin odun dokuda meydana getirdiği lezyon uzunlukları.....	56
Çizelge 4.9. Endofitik fungus türleri ile <i>B. dothidea</i> kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm).....	58
Çizelge 4.10. Endofitik fungus türleri ile <i>C. lutea-olivacea</i> kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm).....	63
Çizelge 4.11. Endofitik fungus türleri ile <i>C. salicacearum</i> kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm).....	67
Çizelge 4.12. Endofitik fungus türleri ile <i>D. stigma</i> kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm).....	69
Çizelge 4.13. Endofitik fungus türleri ile <i>T. angustata</i> kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm).....	74

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3. 1. Aşılı omcaya ait örnek	28
Şekil 3. 2. Aşısız anaçlara ait çelik	28
Şekil 4.1. Kalemelerin PDA besi yerine ekimi (a), miselyal geşimi (b), saflaştırma için örnek alımı (c) ve saf kültür eldesi (d)	36
Şekil 4.2. Saflaştırılması yapılan fungusların PDA ortamındaki görüntüleri a) <i>Acremonium egyptiacum</i> b) <i>A. fusidioides</i> c) <i>A. hyalinum</i> d) <i>A. sclerotigenum</i> e) <i>Alternaria alternata</i> f) <i>A. infectoria</i>	37
Şekil 4.3. Saflaştırılması yapılan fungusların PDA ortamındaki görüntüleri g) <i>Aspergillus ochraceus</i> h) <i>Athelia bombacina</i> j) <i>Botryosphaeria dothidea</i> k) <i>Cadophora luteo-olivacea</i> l) <i>Cladosporium cladosporioides</i> m) <i>Cytospora salicacearum</i>	38
Şekil 4.4. Saflaştırılması yapılan fungusların PDA ortamındaki görüntüleri n) <i>Diatrype stigma</i> o) <i>Epicoccum nigrum</i> p) <i>Neonectria ramularia</i> r) <i>Neosetophoma clematidis</i> s) <i>Oidiodendron cerealis</i> t) <i>Paraconiothyrium fuckelii</i>	39
Şekil 4.5. Saflaştırılması yapılan fungusların PDA ortamındaki görüntüleri u) <i>Phoma tropica</i> v) <i>Pseudogymnoascus pannorum</i> y) <i>Sarocladium strictum</i> z) <i>Truncatella angustata</i>	40
Şekil 4.6. ITS primerleriyle (ITS4-ITS5) yapılan PCR sonucu elde edilen DNA bantlarının agaroz jeldeki (%1.5) görüntüleri (M: marker, 100 bp)	42
Şekil 4.7. İnokülasyon sonrası meydana gelen lezyon uzunlukları (a) <i>Truncatella angustata</i> b) <i>Diatrype stigma</i> c) <i>Cytospora salicacearum</i> d) <i>Cadophora luteo-olivacea</i> e) <i>Botryosphaeria dothidea</i> f) kontrol	55
Şekil 4.8. <i>Acremonium aegyptiacum</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	59
Şekil 4.9. <i>Acremonium fusidioides</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	59
Şekil 4.10. <i>Acremonium hyalinum</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	59
Şekil 4.11. <i>Acremonium sclerotigenum</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	60
Şekil 4.12. <i>Athelia bombacina</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	60
Şekil 4.13. <i>Epicoccum nigrum</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	60
Şekil 4.14. <i>Fusarium avenaceum</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	61
Şekil 4.15. <i>Neosetophoma clematidis</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	61

Şekil 4.16. <i>Oididendron cerealis</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	61
Şekil 4.17. <i>Pseudogymnoascus pannorum</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü	62
Şekil 4.18. <i>Sarocladium strictum</i> ve <i>Botryosphaeria dothidea</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	62
Şekil 4.19. <i>Cadophora lutea-olivacea</i> ve <i>Acremonium aegyptiacum</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş).....	64
Şekil 4.20. <i>Cadophora lutea-olivacea</i> ve <i>Acremonium fusidioides</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş).....	64
Şekil 4.21. <i>Cadophora lutea-olivacea</i> ve <i>Acremonium hyalinum</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	64
Şekil 4.22. <i>Cadophora lutea-olivacea</i> ve <i>Acremonium sclerotigenum</i> ikili kültürü	65
Şekil 4.23. <i>Cadophora lutea-olivacea</i> ve <i>Epicoccum nigrum</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	65
Şekil 4.24. <i>Cadophora lutea-olivacea</i> ve <i>Neosetophoma clematidis</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	65
Şekil 4.25. <i>Cadophora lutea-olivacea</i> ve <i>Oididendron cerealis</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	66
Şekil 4.26. <i>Cadophora lutea-olivacea</i> ve <i>Sarocladium strictum</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	66
Şekil 4.27. <i>Cytospora salicacearum</i> ve <i>Acremonium aegyptiacum</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	66
Şekil 4.28. <i>Cytospora salicacearum</i> ve <i>Epicoccum nigrum</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş).....	68
Şekil 4.29. <i>Cytospora salicacearum</i> ve <i>Fusarium avenaceum</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	68
Şekil 4.30. <i>Cytospora salicacearum</i> ve <i>Pseudogymnoascus pannorum</i> ikili kültürü	68
Şekil 4.31. <i>Acremonium aegyptiacum</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	70
Şekil 4.32. <i>Acremonium fusidioides</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	70
Şekil 4.33. <i>Acremonium hyalinum</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	70
Şekil 4.34. <i>Acremonium sclerotigenum</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	71
Şekil 4.35. <i>Athelia bombacina</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	71
Şekil 4.36. <i>Epicoccum nigrum</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	71

Şekil 4.37 <i>Fusarium avenaceum</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	72
Şekil 4.38. <i>Neosetophoma clematidis</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	72
Şekil 4.39. <i>Pseudogymnoascus pannorum</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	72
Şekil 4.40. <i>Sarocladium strictum</i> ve <i>Diatrype stigma</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	73
Şekil 4.41. <i>Acremonium aegyptiacum</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	75
Şekil 4.42. <i>Acremonium fusidioides</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	75
Şekil 4.43. <i>Acremonium hyalinum</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	75
Şekil 4.44. <i>Acremonium sclerotigenum</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	76
Şekil 4.45. <i>Athelia bombacina</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	76
Şekil 4.46. <i>Epicoccum nigrum</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	76
Şekil 4.47. <i>Fusarium aquaeductuum</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	77
Şekil 4.48. <i>Neosetophoma clematidis</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	77
Şekil 4.49. <i>Oididendron cerealis</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	77
Şekil 4.50. <i>Pseudogymnoascus pannorum</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	78
Şekil 4.51. <i>Sarocladium strictum</i> ve <i>Truncatelle angustata</i> ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)	78

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

% : Yüzde

µl : Mikrolitre

°C : Santigrat derece

cm : Santimetre

CTAB : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide

dk : Dakika

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

gr : Gram

ITS : Internal Transcribed Spacer

L : Litre

LSD : Least Significant Difference

mA : miliamper

mg : Miligram

ml : Mililitre

mm : Milimetre

NCBI : National Center for Biotechnology Information

nm : Nanometre

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDA : Patates Dekroz Agar

rpm : Revolutions Per Minute

sn : Saniye

sp. : Tür

spp. : Türler

TAE : Tris Asetat EDTA

UV : Ultraviyole

V : Volt

1. GİRİŞ

Asma, kökeni jeolojik bulgulara göre 150 milyon yıl öncesine kadar uzanan en eski bitki gruplarından birisidir. Avrupa'nın değişik bölgeleri ve Kuzey Amerika'da üçüncü jeolojik zamana ait yaprak ve çekirdek fosillerin olması, yabani asmanın insanlık tarihinden daha eski bir geçmişi olduğunu göstermektedir (Çelik ve ark.,1998). Ülkemiz bağcılık için iklim koşulları bakımından en uygun ülkelerin başında gelmektedir. Anadolu asmanın (*Vitis vinifera* L.) gen merkezleri arasında ve bağcılık kültürünün anavatanıdır. Anadolu'da bağcılık M.Ö 3 500 yıllarına kadar dayanmaktadır (Oraman, 1965; Fidan, 1985; Çelik, 2011). Günümüze bakıldığında ise Ege Bölgesi'nde çekirdeksiz kuru üzüm, Marmara Bölgesinde sofralık ve şaraplık üzüm, Akdeniz Bölgesi'nde ise ilk turfanda, Orta Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde şaraplık, şıralık, sofralık, çekirdekli kurutmalık üzüm yetiştiriciliğinin önde olduğu görülmektedir (Alsancak Sırlı ve ark., 2015)

Türkiye 4.2 milyon ton üzüm üretimi ile 6. sırada ve bağ alanlarında ise 4.1 milyon hektar alan ile 5. sıradadır (Anonim, 2019). Tokat ili Doğu Karadeniz ile İç Anadolu Bölgeleri arasında ve geçit iklime sahip ilimizdir. Bağcılık Tokat'ta Merkez, Erbaa, Niksar, Zile, Turhal ve Pazar ilçelerinde yoğun olarak yapılmaktadır (Karadeniz ve ark., 2018).

Bitkiler de insan ve hayvanlar gibi birçok zararlı mikroorganizmalara maruz kalırlar. Bu mikroorganizmaların bazıları bitkilerde hastalık meydana getirirler. Hastalık meydana getiren bu mikroorganizmalar patojen olarak adlandırılır. Bağlarda hastalık yapan en önemli mikroorganizmalar funguslar, bakteriler, virüsler ve fitoplazmalardır (Onoğur,1995).

Üzüm yetiştiriciliğinde fungal hastalıkların başında Külleme (*Erysiphe necator*), Mildiyö (*Plasmopara viticola*), Kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), Ölü kol (*Phomopsis viticola*), Antraknoz (*Elsinoe ampelina*), Kav (ESCA Sendromu) Kangren (*Botryosphaeriaceae* spp.) ve Eutypa Geriye Ölüm Hastalıkları gelmektedir. Bu hastalıklarla zamanında mücadele yapılmadığında ciddi ürün kayıpları yaşanmaktadır (Görür, 2019). Ayrıca asma vegetatif olarak çoğaltılmaktadır. Herhangi bir üzüm çeşidi veya asma anacı vegetatif olarak (kök, gövde, yaprak vb.) çeşitli tekniklerle çoğaltıldıklarında genetik yapıları aynen korunur. Bunun yanında çoğaltım materyalinin içinde var olan etmenler de (virüs,

bakteri, fungus vb.) çoğaltılmış olan bitkilere geçer. Bağcılıkta çoğaltma materyali ile geçebilecek birçok hastalık ve zararlı olabilir. Bunlar virüsler (Çelik ve ark., 2000), filoksera (Buchanan ve Whiting 1991), nematodlar (Lear ve Lider, 1959), bağ kanseri (*Rhizobium vitis*) (Bauer ve ark., 1994; Mahmoodzadeh ve ark., 2003; Vizitiu ve Dejeu, 2011) ve *Botryosphaeriaceae* fungusları (Akgül ve ark., 2016), Petri Hastalığı (*Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium* spp. *Cadophora luteo-olivacea*) ve Karabacak Hastalıkları (*Cylindrocarpon* anamorfları) sayılabilir.

Tarım alanlarında pestisit kullanımı doğal dengenin bozulmasına ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Doğal dengenin bozulması insan sağlığını doğrudan ve dolaylı olarak etkilemektedir. Ayrıca kullanılan pestisitlere karşı zamanla hastalık ve zararlılarda dayanıklılığın ortaya çıkması kimyasal mücadelenin zayıf yönlerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle ilaçlara karşı dayanıklılık problemi insanları alternatif mücadele metotlarına yöneltmektedir (Eken ve Demirci, 1997). Fungal bitki hastalıklarına karşı kullanılan kimyasal bileşikler fungusitlerdir. Fungisitlerin yanlış kullanımı iki yönde olumsuz etki meydana getirmektedir. Birincisi; patojenlerin dayanıklılık göstermesine yani patojende genetik değişiklik yaratarak ilacın etkinliğinin azalmasına, ikincisi ise hedef olmayan organizmalar üzerinde arzu edilmeyen sonuçlar oluşturmaktadır (Tjamos ve ark., 1992).

Bitkide birçok fungal etmen bulunabilmektedir. Bu etmenlerden bazıları hastalık yapıcı (patojen) olup fungusitlerle kimyasal mücadelesi söz konusudur. Bazılarının ise genelde algılandığı şekliyle kimyasal mücadelesi bulunmadığından (örneğin; Esca, *Botryosphaeriaceae* ve Eutypa Geri Ölüm Hastalıkları) biyolojik mücadeleye yönelme önem kazanmaktadır. Uzun vadede tüm canlılığa fayda sağlayan bu mücadele yöntemi, hastalık etmenleriyle antagonistik organizmalar arasındaki etkileşimin bir ürünü olarak ortaya çıkmaktadır. Bu etkileşim tipleri; antibiyosis, rekabet, hiperparazitizm, hipovirulens, uyarılmış dayanıklılık, çapraz koruma şeklinde belirtilmiştir (Bora ve Özaktan, 1998).

Konukçu bitki ve endofitik etkileşim tiplerinden biri olan uyarılmış dayanıklılık sistemi, bitkide mevcut olan doğal savunma sisteminin harekete geçirilmesiyle gerçekleşmektedir. Antagonistin bazı salgıları ya da içerdiği kimyasal maddeler, konukçu bitkide patojene karşı dayanıklılık sistemlerinin çalışmasını ya da harekete geçmesini

sağlayarak konukçu üzerinden sağlanan bir biyolojik savaş olanağını kapsamaktadır (Trejo-Estrada ve ark, 1998; Aslan ve Özaktan, 2005).

Bitkinin rizosfer bölgesinde bulunan saprofit özellikteki bazı fungus ve bakterilerin rekabetçi özellikleri ve bazı metabolik maddeler üretmeleri hastalık etmeni mikroorganizmalara karşı baskılayıcı etki yapmalarına sebep olmaktadır. Bu mikroorganizmaların ekosisteme olan uyumu ve bitki gelişimine gösterdikleri olumlu etki nedeni ile araştırmacılar tarafından önemli bulunmakta, incelenmekte, özellikleri ortaya konmakta ve ticari olarak üretilmeye başlanmaktadır (Özaktan ve ark., 2010). Böylelikle biyolojik mücadelede, bitki patojeni organizmalara karşı Biyolojik Mücadele Ajansı (BMA) konumundaki mikroorganizma kullanımı yaygınlaşmaktadır. Böylelikle patojenlere karşı BMA kullanılması, fungusit kullanımına göre patojen ve hastalık kontrolü açısından uzun vadede ve sürdürülebilir bir şekilde kontrol sağlamaktadır (Chet ve ark., 1997; Herrera-Estrella ve Chet, 1999; Monte, 2001).

BMA olarak kullanılması gündemde olan endofitler, bitki dokularındaki mikrobiyal topluluğun bir parçası olan mikroorganizmalardır. İlk defa 1886 yılında Alman Botanikçi Anton de Bary tarafından adlandırılmışlardır (Wilson, 1995). Endofitler, yüksek bitkilerin intra/interseleler dokularında yaşayan ve konukçu bitkide herhangi bir belirtiyeye neden olmayan mikroorganizmalardır. Ayrıca endofitler bitkilerin canlı iç dokularında herhangi bir olumsuz etkiye sebep olmadan kolonize olan mikroorganizmalar olarak da tanımlanmışlardır (Freeman, 1904; Bacon ve White, 2000).

Endofitik mikroorganizmalar biyolojik kaynak olarak görülmelerinin yanında; ayrıca doğada bitkilerin gelişimlerinde, büyümesinde, streslere, hastalık ve zararlılara toleransında ve adaptasyonunda rol oynayan farklı fonksiyonlara da sahiptir (Sülü ve ark., 2016). Özellikle de endofitik mikorganizmaların, tıp, tarım ve endüstrinin ortaya çıkardığı sorunların çözümlenmesine aracılık eden anahtar rolleri arasından yeni doğal ürünleri sentezleyebilme potansiyeli, umut verici bir kaynak olarak görülmesinin başlıca nedenleri arasındadır (Tonial ve ark., 2016). Bu sebepten dolayı biyolojik mücadele gibi uygulamalarda da endofitlerin etkin şekilde kullanılabilmesi, endofitlere verilen önemi gün geçtikçe artırmaktadır (Beram ve ark., 2016). Endofitler biyokontrol ajanları olarak yüksek potansiyele sahip mikroorganizma grupları içinde yer almaktadır. Özellikle

yabani bitkilerde simbiyontların çeşitliliğinin çok yüksek olduğu bazı araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir (Kernaghan ve ark., 2017).

Mikolojide şimdiye kadar tanımlanmış 100 000 civarında fungal tür olmasına rağmen, henüz tanımlanmamış 1 500 000'den fazla fungal tür olduğu düşünülmektedir (Hawksworth ve Rossman, 1987; Fröhlich ve Hyde, 1999). Bazı mikologlar fungal biyoçeşitlilik içerisinde endofitlerin geniş bir yer kapladığını ileri sürmektedir (Arnold ve ark., 2000; Arnold, 2007).

Yurdumuzda şimdiye kadar asmalarda endofitik fungusların belirlenmesi ve bunların biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmasına yönelik sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Farklı üzüm çeşitlerinin dormant kalem ya da çeliklerinde bulunan endofitlerin saptanması ve bunların asma gövde hastalıklarına karşı biyolojik mücadelede kullanım olanaklarının araştırılması, ülkemizde bu konuda yapılacak diğer çalışmalar için yararlı olacaktır.

Bu nedenle, yapılan bu çalışmada bitkisel materyal olarak Tokat ilinde yetiştirilen standart sofralık üzüm çeşitleri (19 adet), yöresel üzüm çeşitleri (18 adet), Narince üzüm çeşidine ait klonlar (22 adet) ve aşılı-aşısız bazı Amerikan asma anaçlarında endofitik floranın incelenmesi, bunların morfolojik ve moleküler olarak karakterizasyonu, bulunan endofitik funguslarda patojenite testleri yapılması ve bazı asma gövde hastalıklarına neden olan etmelere karşı antogonistik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Dünyada ve Türkiye’de endofitler konusunda farklı bitkiler üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bunlar tarih sırasına göre aşağıda verilmiştir.

Janisiewicz (1988) tarafından yapılan çalışmada; elma yapraklarından izole edilmiş olan *Acremonium breve* türünün laboratuvar koşullarında yapılan meyve testlerinde *Botrytis cinerea*’ya karşı güçlü bir antagonistik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir

Ippolito ve ark. (2000) tarafından elmalarda hasat sonrası çürümeye neden olan *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum*’a karşı *Aureobasidium pullulans*’ın etkinliğinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmada; *A. pullulans*, elmada gri ve mavi küf oluşumunu sırasıyla %89 ve %67 oranında azaltmıştır. Araştırmacılar *A. pullulans* uygulamasından 24 saat sonra β -1,3-glukanaz, kitinaz ve peroksidaz aktivitelerinde artış olduğunu ve 48 ile 96 saat sonra ise maksimum seviyelere ulaştığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar *A. pullulans*’ın patojenle beslenme ve yüzey alanı bakımından rekabet etme yeteneğine ek olarak β -1,3-glukanaz, kitinaz ve peroksidaz gibi aktivitelerini de artırma yeteneği ile de biyolojik mücadelede etkin olabileceğini ifade etmişlerdir.

Schena ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada; kirazlardan elde edilen *Aureobasidium pullulans*’a ait 51 endofitik izolat, sofralık üzümlerde ve kirazlarda hasat sonu çürümelere karşı biyolojik kontrol aktivitelerine yönelik çalışma yapmışlardır. Çalışmada patojen inokulumu sonrası 6, 12 ve 24 saat sonra yapılan uygulamalarda *B. cinerea*’ya bağlı çürümelere elmalarda %32-80, üzümlerde %59-64 arasında azalttığını (özellikle 533-547 izolatları); hasat öncesi uygulamaların ise kirazlarda %47, üzümlerde de %38 oranında azalttığını ve 533 ve 547 izolatlarının *A. pullulans*’a ait L47 izolatına göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, arazi uygulamalarında 547 izolatının hayatta kalabildiğini, çiçeklenme dönemi kirazlara uygulama yapıldığında meyve etine geçebildiğini ve soğuk hava koşullarında muhafaza edilen meyvelerde de *A. pullulans* popülasyonunun artabildiğini de belirtmişlerdir.

Samson ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada *Aspergillus* türlerinin tanımlanması için üç yol bulunduğu (morfoloji, fizyoloji ve beslenme özellikleri; ikincil metabolit profili ve DNA dizilemesi) ve bu konuda çalışılırken en az iki yolun birleştirilebileceği önerisinde bulunmuşlardır.

Singh ve ark. (2007) Kosta Rika'daki endofitik mantarların biyoaktivitelerini incelemişlerdir. Bir çınar ağacından izole edilen *Cytospora* türünün *Escherichia coli* türü bir bakteriyi engellediği yani antibakteriyel özelliğinin olduğu görülmüştür.

Felice ve ark. (2008) tarafından *Aureobasidium pullulans*'a ait 4 adet ırkın (AU14-3-1, AU18-3B, AU34- 2 ve LS30) *in vitro* koşullarda okratoksin A'ya dirençli olduklarını ve aktif olarak bu bileşiği parçaladıklarını belirledikten sonra biyo-kontrol ajanı olarak *Aspergillus carbonarius* ile enfekte olmuş meyvelere muamele etmişler ve kontrol meyveleri ile karşılaştırıldığında daha düşük miktarlarda okratoksin A (OTA) içerdiğini belirlemişlerdir.

Bitkilerden izole edilen endofitlerden bazıları, sıcakkanlılarda da enfeksiyona neden olabilmektedir. Marcondes ve ark. (2008), nondermatofitik keratinolitik mantarlar arasında yer alan, *Alternaria tenuissima*, *Acremonium hyalinulum*, *Curvularia brachyspora* ve *Beauveria bassiana*'nın keratin hidrolizini içeren biyoteknolojik işlemlerde potansiyel kullanıma sahip olduğu belirlenmiştir.

Noomin ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada Tayland kahve çekirdeklerinden *Aspergillus aculeatinus* ve *Aspergillus sclerotiicarbonarius* türleri tanımlanmıştır. Araştırmacılar bu iki türün benzer ve farklılıklarını morfolojik ve moleküler olarak ortaya koymuşlardır. Ayrıca *A. aculeatinus* türünün: neoksalin, D ve F sekalonik asit ile akuleasinler; *A. sclerotiicarbonarius* türünün ise: bol miktarda sklerot ve bazı indol-alkaloidler ürettiği belirlenmiştir.

Eken ve ark. (2009), Kazakistan'ın Karaganda bölgesindeki bahçe ve parklardaki ağaçlar ve çalılar üzerinde rutin bir hastalık araştırması yapmıştır. Yapılan sürvey çalışmalarında Kuşburnu (*Rosa canina* L.) bitkilerinin % 20'sinden fazlasında yaprak lezyonları tespit edilmiştir. Lezyonlu bitkilerden yapılan izolasyon çalışmalarında morfolojik özelliklere dayanarak bulunan fungusun *Truncatella angustata* olarak tanımlamışlardır. Patojenite çalışmalarında *T. angustata* tekrar izole edilmiştir. *T. Angustata*'nın *Leucospermum cordifolium* bitkisinde yaprak lekesine, elmada çekirdek çürümesine, *Vaccinium*'da geriye ölüm hastalığına neden olduğunu, fakat bu çalışmada *T. angustata*'nın sadece yaprak lekesine neden olduğunu bildirmişlerdir.

Asav ve ark. (2010), *Veratrum album* (Avrupa'ya ve batı Asya'nın bazı bölgelerine özgü bir bitki)'da yaprak yanıklığına neden olan *Stemphylium vesicarium* üzerine bir çalışma

yürütmüşlerdir. Çalışmada arazi koşullarında semptom gösteren yapraklar üzerindeki lezyonlardan *S. vesicarium* (Wall.) izole edilmiştir. Yapılan çalışmada Türkiye’de sadece *S. vesicarium*’un sarımsak patojeni olduğu ve mera alanlarında miko-herbisit olabilme potansiyeline sahip olabileceğini bildirilmişlerdir.

Akay (2011) Fındık bitkisinin (*Corylus avellana*) farklı kısımlarından endofit fungusların izolasyonu ve biyoaktif ürünlerinin belirlenmesi ile ilgili yaptığı çalışmada morfolojik olarak 14 farklı tür izole etmiş ve moleküler olarak tanımlamıştır. Çalışmada *Phomopsis amygdali* ve *Fusarium oxysporium* türlerini belirlemiştir.

Grube ve ark. (2011), *Aureobasidium pullulans* ve *Epicoccum nigrum*’un bazı bitki türlerini endofitik olarak büyümeye teşvik ettiğini, fakat *Aureobasidium*’un gelişmesinin bir *Pseudomonas* streyni tarafından nadirde olsa engellendiğini bildirilmiştir.

Arzanlou ve ark. (2013), Tarom bölgesinde (İran) zeytin meyve çürüklüğü etmenlerinin saptanması üzerine yaptıkları çalışmada, zeytin bahçelerinden antraknoz semptomları olan zeytin meyveleri toplamışlar ve izolasyon çalışmaları yapmışlardır. Çalışma sonucunda hastalığa *Truncatella angustata*’nın neden olduğu belirlenmiştir. Daha sonra arazi koşullarında zeytin meyveleri üzerinde patojenite testleri ile aynı semptomları tekrar gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmanın dünyada *Olea europaea* bitkisinde *T. angustata*’nın belirlenmesi ile ilgili ilk rapor olduğunu belirtmişlerdir.

Wachowska ve Głowacka (2014) *Aureobasidium pullulans* ile kışlık buğdaylarda fungal bir patojen olan *Fusarium culmorum* arasındaki antagonistik etkinin belirlenmesine yönelik sera koşullarında bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışma sonucunda *A. pullulans*’ın kontrol uygulamasına göre *Fusarium culmorum*’un etkisini %21.67 oranında azalttığını ve buğdayda tane doldurmayı %5.02 oranında artırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca *A. pullulans*’ın özellikle buğday tanelerinin yüzeyinde hayatta kalma başarısının oldukça iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Puig ve ark. (2015), armutta sadece *Stemphylium vesicarium* olarak tanımlanan izolatların patojenik olduğu ve armut bahçelerinde *S. vesicarium* ile birkaç *Stemphylium* türünün bir arada bulunduğunu, bunları ayırt etmek için morfolojik ve moleküler verilere ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada *S. vesicarium* türünün hem endofitik hem de patojenik olabileceği vurgulanmıştır.

Barradas ve ark. (2016) Portekiz’de iklim değişikliği ve Okaliptüs (*Eucalyptus globulus*) ağaçlarında *Botryosphaeriaceae* hastalıkları üzerine bir araştırma yapmışlardır. Çeşitli plantasyonlardan hastalıklı ve sağlıklı okaliptus ağaçlarından örnekler alınmıştır. Çalışmada üç farklı cinsten dokuz tür tespit edilmiştir. *Neofusicoccum algeriense*, *Diplodia corticola* ve *D. seriata* ilk kez okaliptus ağaçlarında tespit edilmiştir. *Neofusicoccum* cinsinin hem hastalıklı hem de sağlıklı ağaçlarda baskın olduğu görölmüştür. Çalışmada bulunan bu mantarların saldırganlık özelliklerinde farklılıklar görölmüştür. *Neofusicoccum kwambonambiense* ve *D. corticola* en öldürücü türler iken *B. dothidea* ve *D. seriata* daha az etki etmişlerdir. Çalışmada ayrıca su stresi yaşıyan bitkilerin *Botryosphaeriaceae* hastalıklarına daha duyarlı olduğu, kuraklığa toleranslı bitkilerin, fungus enfeksiyonuna karşı biraz daha yüksek bir direnç gösterdiği bildirilmiştir.

Król ve ark. (2017) Polonya’nın güneydoğusundaki elma, armut, kiraz, erik, kayısı ve şeftali sürgünlerinden hangi mantar türlerinin kolonileştiğini ve bunların arasında *Diaporthe* (*Phomopsis*) izolatlarının olup olmadığını belirlemek üzere yaptıkları çalışmada; konukçu bitki ve yıla bakılmaksızın izole edilen mantarların çok benzer olduğunu, en sık izole edilen mantarların *Alternaria*, *Fusarium* ve *Phoma* türleri olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Leucostoma* spp., *Monilinia* spp.ve *Neofabraea* spp. Mantarlarının da izole edildiğini, sürgünlerde bulunan funguslar arasında *Diaporthe* (*Phomopsis*) izolatlarının da olduğu belirtmişlerdir. Araştırmacılar zirai mücadele yapılmayan bahçelerde hastalıklı veya simptom göstermeyen sürgünlerde de izolasyon çalışmaları yapmışlar ve bu fungusları tekrar elde etmişlerdir. Buna göre zirai mücadele yapılmayan meyve ağaçlarının büyük bir tehdit oluşturduğu belirtilmiştir.

Wu ve ark. (2017), Güneybatı Çin’de yenedünya bitkisinde kahverengi yaprak lekesine neden olan hastalığı belirlemek için hastalıklı yaprak örneklerinde izolasyon çalışmaları yapmışlar ve *Epicoccum* türlerini izole etmişlerdir. Araştırmacılar yenedünya bitkisinde kahverengi yaprak lekesine neden olan *E. nigrum*’un ilk rapor olduğunu bildirmişlerdir.

Gullino ve ark. (2017), Kuzey İtalya’da ilk kez marulda görölen patojen *Allophoma tropica*’nın (syn. *Phoma tropica*) neden olduğu marul yaprak lekesini etkileyen faktörler olan sıcaklık ve CO₂’in etkileri üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu fungusun farklı

bitkilerde endofitik özellik gösterebileceği gibi bazı bitkilerde de patojenik olabileceği kaydedilmiştir.

Hirose ve ark. (2017), Antartika'nın Doğusunda Lutzow-Holm Körfezi Bölgesi'ndeki (Queen Maud Land) kıyı kayalarında bulunan yosun kolonileri içinde mikro mantarların varlığını, çeşitliliğini ve bunların kimyasal bileşimlerle olan ilişkilerini incelemişlerdir. Çalışmada; yosun profillerinin deniz derinliğine bağlı olarak *Phoma herbarum* ve *Pseudogymnoascus pannorum* türlerine daha fazla rastlamışlardır.

Souza ve Santos (2017) soya fasulyesi (*Glycine max*), fasulye (*Phaseolus vulgaris*), kakao (*Theobroma cacao*) gibi ekonomik değere sahip olan bitkilerde bulunan endofitik mantarların çeşitliliği ve potansiyel biyoteknolojik uygulamaları hakkında bilgiler vermişlerdir. Araştırmacılar endofitik mantarların konukçu bitkiler için önemi, izolasyonu, tanımlanması, ürettikleri sekonder metabolitlerin araştırılması üzerinde daha fazla çalışmaların yapılması gerekliliğini vurgulamışlardır.

Eroğlu (2018) bazı endemik bitki türlerinde (tesbih ağacı ve küme karanfili) bakteriyel ve fungal endofitik çeşitliliği araştırmıştır. Çalışma sonucunda 10 bakteri ve 13 fungal tür elde etmiştir. Araştırmacı, endofitik funguslardan *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. ve *Alternaria* sp. gibi fungus türlerini belirlemiştir. Bu türlerin birçok bitkide bulunabileceğini bildirmişlerdir.

El-Debaiky (2018) tarafından yapılan çalışmada; domateslerde erken dönem yanıklığına neden olan *Alternaria solani*'ye karşı *Aspergillus piperis*'in antagonistik etkisi araştırılmıştır. Domates tohumlarının çimlenmesinde *Aspergillus piperis*'in kullanılması ile çimlenme oranının arttığı fakat az da olsa bazı toksisiteye neden olduğu; yapraklara *A.solani* inokulasyonundan sonra uygulanan *A.piperis* uygulaması ile domates erken yanıklığında azalma olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı kesin sonuçlar için *in vivo* uygulamaları ile daha fazla çalışmanın yapılmasını önermektedir.

Tan (2018) endemik bir bitki olan küme karanfil (*Dianthus erinaceus*)'in yaprak, gövde ve köklerinde endofitik mikroorganizmaları izole etmiş, tanımlamış ve bunların antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesini yapmıştır. Çalışma ile küme karanfil bitkisinin farklı kısımlarından yapılan izolasyonlar sonucunda *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* fungus türlerini belirlemiştir. Fungal izolatlardan olan Dek20f (*Aspergillus*

türüne aittir ve kökten izole edilmiştir) gram negatiflere karşı yüksek düzeyde antagonistik aktivite göstermiştir.

Shearin ve ark. (2018), Great Lakes (Kuzey Amerika) bölgesindeki üç yöreden gelen istilacı *Phragmites* (Kamış) tohumlarının mantar endofitlerinin karakterize edilmesine yönelik bir araştırma yürütmüşlerdir. Elde edilen izolatların %54'ünü *Alternaria* sp. %21'ini *Phoma* sp. ve %12'sini *Penicillium corylophilum* oluşturmuştur. Elde edilen bulgulara göre, birçok endofitin kamış bitkisinin tohum çimlenmesini ve fide büyümesini artırabildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar endofitik fungusların konukçu ile ilişkilerinin daha fazla araştırması gerektiğini bildirmişlerdir.

Kosawang ve ark. (2018), *Ash dieback* (*Hymenoscyphus fraxineus*) fungusuna toleraslı beş farklı *Fraxinus* (Dişbudak) bitkisindeki endofitik mantarlar ve bu mantarların biyolojik mücadele olanakları üzerine yaptıkları çalışmada; yüksek antagonistik aktiviteye sahip beş tür (*Sclerostagonospora* sp., *Setomelanomma holmii*, *Epicoccum nigrum*, *Boeremia exigua* ve *Fusarium* sp.) belirlemişlerdir.

Maldar (2019) Tokat, Amasya, Sivas ve Samsun illerinde 52 adet buğday tarlasından topladığı endofitik fungusları cins ve tür düzeyinde belirlemiştir. Elde ettiği endofitik fungusların (*Acremonium*, *Curvularia*, *Trichoderma*, *Nigrospora*) buğdayda kök boğazı çürüklük etmenine (*Fusarium culmorum*) karşı antogonistik etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda *F. culmorum*'a karşı *Acremonium* ve *Curvularia* cinslerine ait bazı izolatların biyolojik mücadele için kullanım potansiyelinin olabileceğini kaydetmişlerdir.

Yavuz (2019) Elma Çoklu Sürgün Fitoplazma Hastalığına (*Candidatus Phytoplasma mali*) (EÇSF) karşı biyolojik mücadelede kullanılabilecek endofitik fungusların (*Epicoccum nigrum*, *Aureobasidium pullulans*, *Ulocladium consortiale*) etkinliğinin belirlenmesi üzerine yaptığı çalışmada; en yüksek etkinin *A. pullulans*'a ait olduğu belirlenmiş ve *A. pullulans* EÇSF hastalık yoğunluğunu uygulama sonrasında %34.18 etki değeri ile azalttığı belirlenmiştir.

Miao ve ark. (2019), Hint leylâğı (veya nim; *Azadirachta indica*)'nın endofitik mantarları üzerine bir çalışma yürütülmüştür. Çalışmada bitkinin meyvesinde yapılan izolasyonlar sonucunda *Paraconiothyrium* türü funguslar izole edilmiş ve bu mantarın fermentasyon sıvısının ekstraktından dört ksanton ve bir antraknon tipi metabolit elde edildiği

belirtilmiştir. *Paraconiothyrium*'nin *Fusarium graminearum*, *Fusarium solani* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı belirgin antifungal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Luo ve ark. (2019)'nın bildirdiğine göre; *Botryosphaeriaceae* familyası, odunsu bitkilerde latent enfeksiyonlara neden olan patojenleri içeren bir fungus ailesi olarak kabul edilir. Bazı türleri kangren ve sürgün yanıklığı (shoot blight) hastalıklarına neden olur. Araştırmacılar Kaliforniya'da farklı ağaçlardan (badem, kurumuş erik sürgünleri, fıstık ve ceviz) örnekler toplamış, *Phomopsis* ve *Diplodia* türlerini kangren gelişiminde daha az önemli bulmuşken *Lasiodiplodia* türlerini en agresif tür olarak belirlemişlerdir.

Magrey ve ark. (2019), psikrotrof (veya psikrofil mikroorganizma terimi soğuğu seven ve soğukta iyi gelişenler için kullanılmaktadır) özellikteki fungusların (*Penicillium canescens* BPF4, *Truncatella angustata* BPF5 ve *Pseudogymnoascus roseus* BPF6) laboratuvar koşullarında karboksimetil selülozün (CMCase) aktivitesini incelemeye yönelik bir çalışma yürütülmüştür. Üç mantar türünden *T. angustata*, düşük sıcaklıklarda (40 °C'de) maksimum CMCase aktivitesi göstermiş tir. Çalışma sonuna göre CMCase enziminin geniş bir uygulama alanına sahip olduğu ve *T. angustata*'nın endüstriyel işleme alanlarında yeni uygulama potansiyeli bulunduğu belirtilmiştir.

Nouri ve ark. (2019), Kaliforniya'da antep fıstığında bulunan geriye ölüm hastalıkları ile ilişkili mantar türlerinin tanımlanması üzerine yaptıkları çalışmada; geriye ölüm hastalıklarının semptomları bulunan 15 yaş üzerindeki ağaçlardan örnekler alarak izolasyonlar yapmışlar ve 11 fungus türünden 58 fungus izolatu elde etmişlerdir. Elde edilen mantarlar *Colletotrichum karstii*, *Cytospora californica*, *Cytospora joaquinensis*, *Cytospora parapistaciae*, *Cytospora pistaciae*, *Diaporthe ambigua*, *Didymella glomerata*, *Diplodia mutila*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *Phaeoacremonium canadense*, *Schizophyllum commune* olup bunların fıstık dallarında kurumalara sebep olduğu, *N. mediterraneum* ve *Cytospora* türlerinin en yaygın ve en saldırgan türler olduğu belirlenmiştir.

Agustí-Brisach ve ark. (2020), badem ağaçlarında farklı sulama sistemleri ile su stresine maruz bırakılan ağaçlarda, geriye ölüm hastalıklarına olan etkisini araştırmışlardır. Yapılan morfolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda yüksek su stresine maruz kalan parsellerde badem dallarında geriye ölüm semptomları görülmüştür. İzolasyonda en sık rastlanan türler *Botryosphaeria dothidea*, *Collophorina hispanica* olup, *Diaporthe* ve

Cytospora türleri de izole edilmiştir. Çalışmada fungal gövde patojenlerinin yaşam döngüleri hakkında önemli bilgiler oluşturmak için enfeksiyon oranını artıran biyotik ve abiyotik faktörlerin rolünü açıklamak için daha fazla çalışma yapılması gerektiği rapor edilmiştir.

Rojas ve ark. (2020), buğdayda *Fusarium* başak yanıklığına karşı (*Fusarium head blight*) biyokontrol potansiyeline sahip mantar endofitleri üzerine bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışmada sağlıklı buğday başakları ve yaprakları toplanarak, başakların içindeki hastalık şiddetini ve patojen varlığını azaltan fungus izolatları elde edilmiştir. *Sarocladium tighum*, *Anthracoctis flocculosa* ve *Penicillium olsonii* izolatları, buğdayda *Fusarium* baş yanıklığına karşı potansiyel biyo-kontrol elemanları oldukları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda doğal olarak oluşan endofitlerin biyolojik kontrol etmenleri olabileceği belirlenmiştir.

Jiang ve ark. (2020) tarafından Çin’de kestane ağaçlarındaki *Cytospora* türünün tanımlanması üzerine bir çalışma yapmıştır. *Cytospora* örnekleri Çin kestanesi ağaçlarından toplanmış moleküler veriler ve morfolojik özellikler kullanılarak tanımlamaları yapılarak iki yeni *Cytospora* türü (*C. kuanchengensis*, *C. xinglongensis*) ve dört yeni konukçu (*C. ceratospermopsis*, *C. leucostoma*, *C. myrtagina* ve *C. schulzeri*) varlığı doğrulanmıştır.

Zapata-Sarmiento ve ark. (2020), Meksika’da yaptıkları çalışmada soğan bitkilerinde yaprak yanıklığı semptomlarına neden olan *Stemphylium vesicarium*’i belirlemişler ve daha sonra *S. vesicarium*’a karşı *Trichoderma asperellum*’un (mango, domates ve soğan bitkilerinden izole edilmiştir) biyolojik bir kontrol ajanı olarak potansiyeli üzerinde bir çalışma yürütülmüşlerdir. İkili kültür denemelerinde *T. asperellum* izolatlarının *S. vesicarium* miselyal büyümesini %54 ila %61 oranında inhibe ettiği görülmüş ve biyolojik kontrol için potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Zhou ve ark. (2020), Çin’de bulunan *Euonymus alatus* (Yanar Çalı)’un bitkisinde geriye ölüm hastalığı ve olası etkileri konusunda yaptıkları çalışmada; semptomatik belirti gösteren dal ve sürgünlerden örnekler toplamışlardır. Moleküler ve morfolojik çalışmalar sonucunda yeni bir fungus türü olarak tanıtılan *Cytospora* türünün geriye ölüm hastalığına neden olan bir tür olduğu kaydedilmiştir.

Dünyanın farklı yerlerinde bağlarda endofitik ve patojenik funguslar üzerine yapılmış çalışmalar tarih sırasına göre aşağıda verilmiştir.

Phillips (1998) tarafından Portekiz’de yapılan çalışmada; asmalarda görülen ölükol (ekskorioz) semptomları ile ilişkili olan fungusların *Botryosphaeria dothidea* ve *Phomopsis viticola* olduğunu; bu iki mantarın omcalara yapılan yapay inokulasyonunda, sürgünlerde koyu lezyonlara ve tomurcuk ölümüne neden olduğunu belirlemiştir. Ayrıca çalışmada *Botryosphaeria*’nın diğer iki türü olan *B. ohtusa* ve *B.stevensii* de izole edilmiştir. Araştırmacı bu iki türün yaralı sürgünlerde küçük lezyonlara neden olduğunu, fakat yoğun bir enfekte görülmediğini; *B. dothidea*’nın asma gövdesinden izole edildiğini ve ölü kollu asmalara göre daha öldürücü olduğunu bildirmektedir.

Kortekamp (1997) *Epicoccum nigrum*’u tanımlayarak *Phomopsis viticola* ile etkileşimlerini incelemiştir. Çalışma ile, *E. nigrum* *in vitro* koşullarda etkili bulunurken sera ve tarla koşullarında daha az etkili olduğunu belirlemiştir. *E. nigrum* gerçek bir parazit olmadığı ve bu mantarın hiperparazit mi yoksa *P. viticola*’nın farklılaşan hücrelerinde büyüyen bir saprofit mi olduğu belirlenemediğinden dolayı *E. nigrum*’un *P. viticola*’ya karşı başarılı bir biyolojik kontrolü olarak kullanılmasının sorgulanabileceği sonucuna varılmıştır.

Mostert ve ark. (2000) *Phomopsis viticola*’nın çeşitli asma dokularında endofitik olarak gelişip gelişmediğini ve büyüme mevsimi boyunca dağılımını izlemek için yaptığı çalışmada; herhangi bir semptom göstermeyen sürgünleri, sekiz farklı gelişme aşamasında (kış dinlenmesi, tomurcuk patlaması, 5-6 yaprak dönemi, çiçeklenme başlangıcı, taneler bezelye büyüklüğüne ulaşınca, meyve olgunlaşmasının başlangıcı, hasat olgunluğu, hasattan sonra) toplamışlardır. Boğumlar, boğum araları, yaprak sapı, yapraklar, sülükler ve salkım saplarından izolasyonlar yapılmış ve izolasyonlar sonucunda *Phomopsis* türleri izole edilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile *Alternaria* spp. ve *Sphaeropsis* sp.’nin asma bitkilerinde en baskın endofitler olduğu görülmüştür.

Sullivan ve White (2000) tarafından külleme mikoparaziti olarak bilinen *Phoma glomerata* üzerinde bir çalışma yürütmüştür. Çalışmada *P. glomerata*’nın küllemeyi baskıladığı ve mikoparazitik bir ajan olarak kullanılabileceği ve daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği sonucuna ulaşmıştır.

Castoria ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada *Aureobasidium pullulans* (izolat LS-30) ile Italia üzüm çeşidinde (*Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Rhizopus stolonifer* ve *Aspergillus niger*) ve Royal Gala elma çeşidinde (*B.cinerea* ve *P. expansum*) hasat sonu çürümelerine karşı antagonistik etkilerini incelenmiştir. Antagonistik etkilerin çoğunlukla besin rekabetine dayandığı görülmüştür. Çalışma sonucunda hem *in vitro*'da hem de elma meyvelerinin yara kısımlarında hücre dışı ekzokitinaz ve β -1-3-glukanaz aktiviteleri tespit edilmiştir. Çalışmada; bu enzimlerin aslında *A. pullulans*'ın antagonistik aktivitesinde rol oynayabileceği belirtilmiştir.

Pszczółkowski ve ark. (2001), geç hasat edilen Cabernet sauvignon üzüm çeşidinde oluşan küfün şıra ve şarap kalitesine etkisini araştırmışlardır. Hasatta küfün görülme sıklığı %4,7 ile 66,7 arasında değişmiştir. Belirlenen funguslar zeytin yeşili küf (*Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Ulocladium* sp.), kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), koyu kahverengi küf (*Aspergillus niger*) ve *Phoma* sp. olmuştur. *B. cinerea* dışındaki mantar türleri mutlak çürük meyvelerle ilişkilendirilmemiştir. *C. herbarum* ve *A. alternata* en sık izole edilen funguslar olmuştur. Çalışmada küflerin üzüm tane ağırlıklarını azalttığı ve küflü üzümlerden üretilen şarapların düşük kalitede olduğunu (renk, koku, lezzetin olumsuz yönde etkilenmesi, antosiyanin ve toplam fenol içeriğinin düşük olduğu) bildirmişlerdir.

Simeray ve ark. (2001), Fransa'nın Arbois bölgesindeki 12 şarap mahzenine ait hava örneklerinde canlı mikolojik florayı belirlemek için yaptıkları çalışmada; çok sayıda türlerin varlığına rastlandığı ve bunların belirli mahzen türlerinde daha sık olarak elde edildiği bildirilmiştir. En yaygın olanların *Cladosporium sphaerospermum*, *Aspergillus versicolor*, *A. restrictus*, *Penicillium glabrum*, *P. dierckxii*, *P. implicatum* ve *P. brevicompactum* olduğu ve bu sporların çok solunmasından sonra alerji riskinin arttığı belirlenmiştir. Bu türlerden bazıları aynı zamanda asmada endofitik özellik göstermektedirler.

Renouf ve ark. (2005) tarafından üzüm tanelerinin üzerindeki mikrobiyal ekosistemi belirlemeye yönelik yapılan çalışmada; Bordeaux bölgesinde bazı şaraplık üzümlerde (Merlot, Cabernet Sauvignon ve Cabernet Franc) tane bağlama, ben düşme ve hasat zamanlarında alınan üzüm tanelerinde izolasyon ve moleküler tanımlamalar yapılmıştır. Araştırmacılar tane bağlama döneminde en fazla %60 oranında *Aureobasidium pullulans*'ı

belirlerken, ben düşme döneminde en fazla %24 ile *Candida* sp. ve hasat döneminde ise en fazla %34 ile *Cryptococcus* sp. belirlemişlerdir. Araştırmacılar toprak, üzüm çeşidi ve üzüm yetiştirme uygulamalarının mikrobiyal ekosistemi etkileyebileceğini bildirmektedir.

Soytong ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada; antraknoz hastalığına sebep olan *Colletotrichum gloeosporioides* fungusuna karşı *Chaetomium cupreum*, *C. globosum*, *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum* ve *Penicillium chrysogenum*'dan elde edilen ekstraktlar kullanılmıştır. Çalışma sonucunda sürgün, yaprak ve meyvelerde hastalık belirtilerinin önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir.

Pardo ve ark. (2004) tarafından İspanya'da yapılan çalışmada *Aspergillus ochraceus* mantarının üzümlerde okratoksin A (OTA) üreticisi fungus olduğu ve üzüm sularında OTA kontaminasyonuna neden olduğu bildirilmektedir. Bu tür aynı zamanda asmaların gövdelerinden de izole edilmiştir.

Lardner ve ark. (2006), *Eutypa lata* için erken tanıda kullanılacak kimyasal belirteçler olan asetilenik fenol metabolitlerini belirlemeye yönelik bir çalışma yürütmüşlerdir. Üç asma çeşidinin sürgünlerinden yetiştirilen 30 *E. lata* izolatında HPLC kullanılarak ikincil metabolit üretimi incelenmiştir. Analizler sonucunda ötipinol, metil ötipinol, eulatakromen, ötipin, 2-izo-propenil-5-formilbenzofuran ve eulatinol olmak üzere altı metabolit tespit edilmiştir. En çok bulunanlar %97 ve %83'ü tarafından üretilen ötipinol ve metil ötipinoldür.

Krol (2006) Polonya'da 5 ticari asma fidanlığında ve 8 üzüm çeşidi (Agat Donskij, Bianca, Gołubok, Iza Zaliwska, Muscat Letnij, Prim, RF-16 ve Schuyler) üzerinde bir çalışma yapmıştır. Çalışma 2 dönemde (aşılı çeliklerden kallus oluşumu ile yeşil sürgünde; genç köklerden ve sürgünlerden) örnekler alınarak yapılmıştır. 1. dönem izolasyonlarda *Phomopsis viticola*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* ve *Fusarium* türleri, 2. dönem izolasyonlarda *Cylindrocarpon* sp, *Phytophthora* sp, *Rhizoctonia* sp, *Fusarium* sp gibi toprak kökenli patojenler belirlenmiştir.

Niekerk ve ark. (2006) tarafından yapılan derleme çalışmasında; geriye ölüm hastalıkları ile bulaşık omcalardan *Botryosphaeria* türü fungusların izole edildiğini (çoğunlukla *Botryosphaeria dothidea*, *B. obtusa*, *B. parva* ve *B. australis* türleri) bildirilmektedirler. Araştırmacılar; bu hastalığın en yaygın belirtisinin odun dokusunda kararma, kama şeklinde

nekrozlar ve kahverengi lekeler şekline olabileceğini; *Botryosphaeria* ile excoiose, grapevine decline syndrome and black dead arm gibi hastalıkların da aynı isimle tanımlanabileceğini ifade etmişlerdir.

Úrbez-Torres ve ark. (2006), Kaliforniya’da önemli bağ bölgelerinde almış oldukları örneklerde; morfolojik tanımlamalar ve filogenetik analizler ile *Botryosphaeria australis*, *B. dothidea*, *B. lutea*, *B. obtusa*, *B. parva*, *B. rhodina* ve *B. stevensii* türlerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar *B. rhodina*’nın kangren ile ilişkili olduğunu ilk defa bu çalışma ile rapor etmişlerdir. Çalışmada ayrıca kangren hastalığının Kaliforniya’da çok yaygın olduğunu; *Eutypa* geriye ölüm hastalığı ile karıştırılabildiğini ve omca sağlığı için bu funguslara karşı daha dikkatli olunması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Musetti ve ark. (2009), tarafından İtalya’nın Venotto bölgesinde yapılan çalışmada; 10 yaşındaki bağ alanlarında yaprak ve sürgünler toplanarak izolasyonlar yapılmış ve 13 farklı fungal endofit belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Schizophyllum* sp., *Aureobasidium* sp., *Nigrospora* sp., *Arthrimum* sp., *Aurebasidium pullulans*, *Phoma* sp., *Leptosphaerulina* sp., ve *Phomopsis* sp. endofitleri tanımlanmıştır.

Casieri ve ark. (2009), İsviçre’de 5 farklı üzüm çeşidinin odun dokusundan alınan örneklerde endofitik fungus varlığını araştırılmıştır. Çalışmada 66 farklı tür ve 700’den fazla izolat elde edilmiş ve endofitik flora değişiminin üzüm çeşitlerine göre farklı olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada dikim aşamasına gelmiş aşılı asma kalemlerinde de izolasyon yapılmış ve %85 Ascomycetes sınıfına ait endofitler belirlenmiştir. Odunsu dokulardan aldıkları örnekler ile yaptıkları izolasyonlar sonucunda patojen özellik gösteren *Botryosphaeria* spp., *Cylindrocarpon liriodendrii*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phomopsis viticola* funguslarına ilaveten ve *Alternaria* spp., *Chaetomium lobosum*, *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp., *Clonostachys rosea*, *Cadophora luteo-olivaceae*, *Penicillium* spp., *Ophiostoma piceae* endofitleri de tespit edilmiştir. Bunlardan *Cadophora luteo-olivacea* Petri Hastalığı’na yol açan önemli bir patojendir.

Trouillas ve ark. (2010a), Kaliforniya’daki bağlarda bulunan kangren hastalıklarıyla ilişkili olan *Diatrypaceous* funguslarının varlığı ve çeşitliliği üzerine bir araştırma yürütmüşlerdir. Asmaların odun dokusundan yapılan izolasyonlar sonucunda 11 *Diatrypaceae* türünü izole etmişlerdir (*Cryptosphaeria pullmanensis*, *Cryptovalsa*

ampelina, *Diatrype oregonensis*, *D. stigma*, *D. whitmanensis*, *Diatrype* sp., *Diatrypella verrucaeformis* ve dört tane *Eutypella* türü). Çalışma sonucunda, *Diatrypaceous* mantarlarının üzüm bağlarını çevreleyen doğal florada sık sık meydana geldiği, bu nedenle bu varsayılan patojenler için olası inokulum kaynaklarının belirlenmesi gerektiği rapor edilmiştir.

Trouillas ve Gubber (2010b), Kaliforniya'daki üzüm bağlarında *Diatrypaceae* türlerinin patojenitesi üzerine bir çalışma yürütülmüştür. Çalışmada *Diatrypaceous* fungusları, Kaliforniya'daki kangrenli omcaların odunsu kısmından izole edilerek bir dizi patojenite testi yapılmıştır. Patojenite testleri sonucunda *Cryptovalsa ampelina*, *Diatrype stigma* ve *Eutypa leptoplaca* dormant çubukları kolonize etme ve vasküler nekroza neden olma yeteneğine sahip iken, *Cryptosphaeria pullmanensis*, *C. ampelina*, *D. stigma*, *Diatrype whitmanensis* ve *E. leptoplaca* enfekte olmuş yeşil sürgünlerde lezyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda; *D. oregonensis* ve *D. verrucaeformis* funguslarının asma için patojen olmaktan çok saprofitik olabileceği belirtilmiştir.

González ve Tello (2011) tarafından İspanya'da yapılan bir çalışmada; 7 üzüm çeşidinin dal, yaprak ve meyvelerinden alınan örnekler ile endofitik funguslar araştırılmıştır. Çalışmada 68 farklı tür ve 500 den fazla izolat elde edilmiştir. Fungal endofitlerin en çok yapraklardan, sonra sürgünlerden ve en az da meyvelerden elde edildiği bildirilmiştir. Araştırmadan elde edilen diğer sonuçlara göre; endofitik flora dağılımı çeşitlere göre farklılık göstermiştir. Çalışma sonucunda *Acremonium* spp., *Epicoccum nigrum*, *Trichoderma harzianum*, *Auerobasidium pullulans*, *Chaetomium globosum* gibi antagonistik özellik gösteren endofitler elde edilmiştir. Ayrıca herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen omcalardan *Phomopsis viticola* ve *Eutypa lata* patojenleri de bulunmuştur.

Gramaje ve ark. (2011), İspanya'da yaptıkları çalışmada petri hastalığı belirtileri gösteren asma fidanlarında, izolasyon çalışmaları sonucunda elli sekiz *Cadophora luteo-olivacea* ve üç *C. melinii* izolatı elde etmişlerdir. 1 yıllık asma kalemlerinde yaptıkları patojenite testlerinde *C. melinii* izolatı dışındaki tüm *Cadophora* izolatları kalemlerin ksileminde kontrollere göre önemli ölçüde daha uzun lezyonlar oluşturmuştur.

Farashiani ve ark. (2012), Bojnourd'daki (Kuzey Horasan eyaleti) omcaların gelişme dönemlerinde esca belirtileri gösteren sürgün ve gövdelerinde yaptıkları izolasyonlar

sonucunda 64 fungus izolatu elde etmişlerdir. Çalışmada *Phaeoacremonium parasiticum*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea*, *Fusarium* sp. ve *Phoma* sp. funguslarını belirlemişlerdir. Sera koşullarında yaptıkları incelemeler sonucunda *F. mediterranea*'nın beyaz odun çürümesine, *Parasiticum* ve *Phaeomoniella chlamydospora* nın asmalarda odun renginin solmasına neden olduğu görülmüştür.

Brum ve ark. (2012), Brezilya'da yaptıkları çalışmada; *Vitis labrusca* L.'den elde edilen endofitik fungusların asma patojeni olan *Fusarium oxysporum*'un inhibe etme yeteneği yani biyolojik kontrolü üzerine araştırma yapmışlardır.

Pancher ve ark. (2012), konvansiyonel ve organik olarak yetiştirilen Merlot ve Chardonnay çeşitlerinde yaptıkları çalışmada, organik olarak yetiştirilen omcalardaki fungus endofitik topluluklarının IPM uygulanan bağlardan farklı olduğunu bildirmektedirler.

Kaliterna ve ark. (2012), Hırvatistan'da 12 asma çeşidinin odunsu doku kısımlarında bulunan *Diaporthaceae* türlerinin varlığını belirlemek için yaptıkları çalışmada; *Diaporthe eres* (dünyada asma patojeni olduğu ilk çalışma) ve *Diaporthe neotheicola*'yi (Hırvatistanda patojen olarak belirlenen ilk çalışma) tanımlamış ve raporlamışlardır. Yaptıkları patojenite denemelerinde *Phomopsis viticola*'yı güçlü, *Diaporthe neotheicola*'yı zayıf, *Diaporthe eres*'i ılımlı patojen olduğunu bildirmişlerdir.

Yan ve ark. (2012) tarafından Çin'nin en fazla üzüm yetiştirilen bölgesinden kangren simptomu gösteren omcalardan aldıkları örneklerle yaptıkları çalışmada; *Botryosphaeria dothidea*'yı morfolojik ve moleküler olarak tanımlamışlardır. Tanımlama sonrası 25 üzüm çeşidinin dayanıklılık durumunu incemişler fakat bütün çeşitlerin duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Çalışma sonunda araştırmacılar izole ettikleri *B. dothidea*'nın farklı izolatları arasında patojenlik bakımında da farklılıklar olabileceğini ifade etmişlerdir.

Arzanlou ve ark. (2013), Kuzey İran'da asma gövde hastalıkları ile ilgili yaptıkları çalışmada; zayıf gelişme belirtileri gösteren asmaların odunsu kısımlarından örnekler toplamışlar ve izolasyon çalışmaları yapmışlardır. Hastalığa *Truncatella angustata*'nın neden olduğunu, İran'da bağlarda ilk defa rastlandığını bildirmişlerdir.

Baffi ve Tobal (2013) tarafından şaraplarda aromanın artırılması için *Aureobasidium pullulans* (Ap- β -gl) tarafından üretilen β -glukozidaz'ın etkisinin belirlemeye yönelik yapılan çalışmada; özel koşullarda (sıcaklık, nem ve pH) uygulamaların etkin

olabileceğini, şaraplarda uçucu terpen salınımını artırabileceğini ve sonuçta şarap kalitesini artırıcı potansiyeli bulunduğunu belirlemişlerdir.

Cosoveanu ve ark. (2014), 11 şaraplık üzüm çeşidinin sürgünlerinde endofitik mantarları incelemiş ve izole edilmiş endofitlerin, *Botrytis cinerea* dahil olmak üzere fitopatojenik mantarlara karşı olan antagonistik etkilerine bakmışlardır. Çeşitlere göre endofitik ve diğer fungus varlıkları az çok değişkenlik göstermiştir. Bazı endofitikleri sadece belirli çeşitlerden izole etmişlerdir. Bu durumun bazı endofitlerin konukçuları arasında spesifik bir ilişki olabileceği anlamına geldiğini bildirmişlerdir. Çalışmada, *Bionectria ochroleuca*, *Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium spirochaete*, *Alternaria* sp. ve *Acremonium strictum*'un *in vitro* koşullarda patojen funguslara karşı etkili olduğunu bulmuşlardır.

Úrbez-Torres ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada Esca ve Petri hastalıklarının ilk kez Britiş Kolombiya ve Kanada'da bulunduğu rapor edilmiştir. Esca ve petri hastalığı görülen asmalarda yaptıkları izolasyon çalışmaları sonucunda *Cadophora luteo-olivacea*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium iraniamum*, *Togninia fraxinopennsylvanica*, *Togninia minima* ve yeni görülen *Phaeoacremonium canadense* ve *Phaeoacremonium roseum* türlerini tanımlamışlardır. Yaptıkları patojenite çalışmalarında tanımlanan yedi fungusun esca ve petri hastalığı semptomlarına neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar genç asma ölümlerine neden olan patojenlerin üretim materyali ile dağılabildiğini, Britiş Kolombiya'sı gibi yerlere ülke dışından giren bitkisel materyallerde moleküler tespitler yapılması gerektiğini vurgulamışlardır.

Hergholi ve ark. (2015), İran'da yetiştirilen bazı üzüm çeşitlerinde (*Vitis vinifera* L.) endofitik fungusları belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada; 655 fungus izolatu elde etmişlerdir. Çalışmada, *Alternaria brassicicola*, *A. chlamydospora*, *A. malorum*, *A. atra*, *Arthrinium phaeospermum*, *A. sacchari*, *Aspergillus nidulans*, *A. goii*, *Beauveria bassiana*, *Cheatomium elatum* dahil olmak üzere 10 cinse ait 15 tür bulmuşlardır. Ayrıca *Epicoccum nigrum*, *Geosmithia pallida*, *Paecilomyces variotii*, *Cytospora punicae* ve *Verrucobotrys geranii*'yi asmada bulunan endofitik mantarları olarak belirlemişlerdir. *A. phaeospermum*, *B. bassiana* ve *E. nigrum* dışındaki tüm tanımlanmış olan türler dünya çapında ilk kez asmanın endofitik fungus olarak belirlendiğini, *A. sacchari*, *C. punicae*, *G. pallid* ve *V. geranii*'nin ise İran'da ilk kez tanımlandığını bildirmişlerdir.

Abdullah ve ark. (2015), Irak -Salahaldin bölgesinde yetiştirilen 3 farklı üzüm çeşidinde yaptıkları çalışmada; sürgünlerden sık olarak *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cadophora* spp., *Clonostachys rosea*'yı izole etmişlerdir. Ayrıca sürgünlerden *Fusarium* spp., *Acremonium* sp., *Cylindrocladiella viticola*, *Cylindrocarpon* spp., ve *Phaeoacremonium* sp. mantarlarını da belirlemişlerdir. Bu çalışma ile *C. viticola*'nın ilk kez Irak'ta bulunduğu bildirilmiştir.

Giambra ve ark. (2015), İtalya'nın güney bölgesindeki herhangi bir semptom göstermeyen bağ alanlarından dormant asma kalemlerini toplamışlar ve yaptıkları izolasyonlar sonucunda *Acremonium persicium*, *A. sclerotigenum* endofitlerini bulmuşlardır. Daha sonra bu iki türün *Plasmopora viticola*'nın spor çimlenmesine karşı gösterebileceği inhibitör aktivitelerini *in vitro* koşullarda testlemişlerdir. Sonuçta *A. persicium*'un *P. viticola*'nın spor çimlenmesini inhibe ettiği, *A. sclerotigenum*'un ise herhangi bir inhibe edici bir özellik göstermediğini bildirmişlerdir.

Parafati ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada; *Saccharomyces cerevisiae*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Metschnikowia pulcherrima* ve *Aureobasidium pullulans* türlerine ait izolatlar, hasat sonrası *Botrytis cinerea* küfüne karşı biyokontrol ajanları (BCA'lar) olarak *in vitro*'da test edilmiştir. Çalışmada kullanılan izolatlar türe ve ortama bağlı olarak farklı seviyelerde antifungal aktivite göstermiştir. *In vitro* koşullarında en yüksek biyolojik kontrol aktiviteyi *W. anomalus* ve *S. cerevisiae* göstermiştir. *A. pullulans* ve *W. anomalus* enzim üretimi ve yaraları kolonize etme yeteneği göstererek biyo-kontrol aktivite ve biyofilm oluşturma özellikleri göstermişlerdir. Ayrıca *W. anomalus*, *S. cerevisiae* ve *M. pulcherrima*'nın patojen büyümesi üzerinde *in vitro* ve *in vivo*'da inhibitör etkiye sahip uçucu organik bileşikler (VOC'ler) ürettiklerini gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar ayrıca *M. pulcherrima*'nın üzümde hasat sonrası *Botrytis* salgınına çürüklüğü üzerinde mükemmel kontrol sağladığını ifade etmişlerdir.

Bruez ve ark. (2016), Fransa'da yaptıkları çalışmada; asma gövde hastalıklarının (örneğin Esca ve *Eutypa dieback*) semptomlarını göstermeyen yaşlı asmalarda bulunan fungus topluluklarını belirlemişlerdir. Baco Blanc çeşidine ait 42 ve 58 yaşlarındaki omcaların odun dokularından numune almışlar ve izolasyon yapmışlardır. Omca yaşı ile bulunan fungus arasında farklılık belirlemişlerdir. 42 yaşındaki asmalarda Esca, 58 yaşındaki asmalarda *Eutypa dieback* ve çok sayıda yararlı mikoparazitler (*Trichoderma* spp.) elde

etmişlerdir. Araştırmacılar, yaşlı asmalar arasında yaprak semptomlarının olmamasını, asmaların gövdelerinde bulunan fungus patojenleri, mikoparazitler ve saprofitler arasında bir dengeyi yansıtabileceği fikrini ifade etmişlerdir.

Nakaune ve ark. (2015) Japon üzüm çeşidi Shine Muscat'ın soğuk havada depolanması sonucu tane kabuklarında kahverengi beneklerden örnek almışlar ve izolasyon çalışmaları sonucunda *Cadophora luteo-olivacea*'yı tanımlamışlardır. Daha sonra üzümlere *C. luteo-olivacea*'yı yapay olarak aşlamışlar ve tanelerde aynı belirtileri tekrar görmüşlerdir. Araştırmacılar *C. luteo-olivacea*'nın üzümün hasat sonrasında hastalığa sebep olduğu konusunda ilk çalışma olduğunu, depolama çalışmalarında böyle bir riskin dikkate alınması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Fischer ve ark. (2016) Almanya'da bulunan bağlardan, asma fidanlıklarından ve bağ çevresindeki ağaçlardan örnekler toplamışlar ve asma gövde hastalıkları ile ilişkili olabilecek fungal türleri tanımlamışlardır. Almanya'da ilk kez *Cadophora luteo-olivacea*, *C. fastigiata*, *Collophora paarla*, *Coniochaeta hoffmannii*, *Eucasphaeria capensis*, *Phomopsis cotoneastri* ve Esca ile ilgili *Phaeoacremonium viticola* ve *P. fraxino pennsylvanicum* türlerini belirlemişlerdir. Çalışma ile *Eucasphaeria capensis* ve *Phomopsis cotoneastri* dünyada ilk kez üzümlerde bulunduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar *C. luteo-olivacea*'nın hem fidanlıklarda hem de bağda görüldüğünü ve asma gövde hastalıklarında görülen tipik semptomlar barındırdığını; *Leucostoma persoonii* nin ise Prunus ağaçlarında (kiraz, şeftali, erik vb.) önemli bir patojen olarak kabul edildiğini fakat *Vitis* için hangi dereceye kadar etkili olduğu konusunda hala bazı soruların olduğunu ifade etmişlerdir.

Varanda ve ark. (2016), Portekiz'de geleneksel tarım ve organik tarım yapılan bağlarda, Syrah, Cabernet Sauvignon ve Aragonez çeşitlerinde fungal endofitler üzerine yaptıkları çalışmada; geleneksel tarım yapılan bağlardan *Epicoccum* sp., *Epicoccum nigrum* ve *Botrytis cinerea*; organik tarım alanlarından ise *Cladosporium* sp., *Alternaria alternata* ve *Nigrospora oryzae* en sık belirlenen funguslar olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda üzüm çeşitlerinin endofitik flora dağılımı üzerinde etkili olmadığı, fakat asma yetiştirme yönteminin daha fazla etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Kernaghan ve ark. (2017), *Vitis riparia*'nın altı yabani formunda ve soğuğa toleranslı üzüm çeşitlerinin yetiştirildiği 5 bağda (1'i organik sertifikaya sahip) endofitik funguslar

üzerinde çalışma yapmışlardır. Endofitik çeşitlilik bakımından en zengin kaynak yabani türlerde belirlenirken bunu organik bağcılık yapılan alanlar izlemiştir. En az çeşitlilik ise geleneksel bağlarda bulunmuştur. Yabani türlerden izole edilen *Ramularia* spp. gibi bazı türler asma patojenlerine karşı güçlü bir inhibe edici özellik göstermiştir. Çalışma sonucunda yabani *Vitis* türlerinin çok çeşitli mantar endofit topluluğunu barındırdığı ve zengin bir biyokontrol ajanlarının deposu olduğu belirtmişlerdir.

Kunová ve ark. (2018), Slovak şarap üreticilerinden 13 farklı üzüm çeşidinde (Alibernet, Irsai Oliver, Dornfelder, Blue Frankish, Feteasca regala, Green Veltliner, Pálava, Müller Thurgau, Rhinriesling, Cabernet Sauvignon, Pinot Blanc, Sauvignon Blanc ve Welschriesling) bulunan fungus izolasyonu ve tanımlamasına yönelik yaptıkları çalışmada; 627 fungus izolatu elde etmişlerdir. Çalışmada izole edilen türlerin; *Alternaria* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp., *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* sp., *Penicillium expansum*, *Phoma* sp., *Rhizopus* sp. ve *Trichoderma* sp. olduğu rapor edilmiştir.

Oliveira ve ark. (2018), Portekiz’de şarap üretilen bölgelerden asmaların yaprak ve meyvelerinde 46 örnek toplamış ve moleküler tanımlama ile 117 mantar kolonisi izole etmişlerdir. Elde edilen izolatlar *Alternaria* (%31), *Cladosporium* (%21), *Penicillium* (%19), *Aspergillus* (% 7) ve *Epicoccum* (% 3) cinslerine ait funguslar olduğunu bildirmişlerdir.

Pinto ve ark. (2018) tarafından asmalarda doğal olarak kolonize olan *Aureobasidium pullulans*’ın asma gövde hastalıklarına karşı biyo-kontrol potansiyelini belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada; *A. pullulans* izolatının *Diplodia seriata*’nın miselyum büyümesini *in vitro* koşullarda %33.41 oranında azaltabildiğini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda *A. pullulans* izolatının, hem epifit hem de endofit seviyesinde etkili bir şekilde asmada kolonileştiğini, bitki kökleri üzerinde uzun süre (aşılardan sonra 2 aya kadar) kalabildiğini, farklı pH ve yüksek tuzluluk koşullarında büyüyebileceğini kanıtlamışlardır.

Rezgui ve ark. (2018), Tunus’un kuzey bölgesinde sofralık üzüm yetiştiriciliği yapılan bağ alanlarından, nekrotik ve nekrotik olmayan odun dokularından 75 örnek toplamışlardır. Yaptıkları izolasyonlar sonucunda *Alternaria alternata* (4 adet), *A. tenuissima* (3 adet), *A. mali* (1 adet), *Acremonium* spp. (3 adet), *Schizophyllum commune*

(2 adet), *Fusarium lateritium* (1 adet), *Lasiodiplodia pseudotheobroma* (1 adet), *Neofusicoccum parvum* (1 adet) olmak üzere 16 izolat elde etmişlerdir.

Yang ve ark. (2018), tarafından yapılan çalışmada; fungal endofitlerin asma hücrelerinde ROS (reaktif oksijen türleri) stres tepkilerini tetiklediği ve bu durumun farklı fungus türleri tarafından değişik şekillerde olabileceği rapor edilmiştir. Çalışmada RH37 (*Epicoccum* sp.), RH6 (*Alternaria* sp.), RH32 (*Alternaria* sp.) ve RH34 (*Trichothecium* sp.) izolatlarının asma hücreleri üzerinde daha büyük metabolik etkiler sağladığı belirtilmiştir. Çözünür protein, toplam flavonoidler, toplam fenoller ve malondialdehit en fazla etkilenebilen biyokimyasal parametreler olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda üzümün metabolik regülasyonunda (organizmanın değişen koşullara bağlı olarak uyum göstermesi) fungal endofitlerin önemine değinilmiş ve fungal endofitlerin kullanılması ile üzüm kalitesine olumlu etkiler olabileceği rapor edilmiştir

Dwibedi ve Saxena (2019) Hint bağlarından resveratrol üreten ve kültüre edilebilir endofitler elde etmişlerdir. Çalışmada, izole edilen 145 endofitik funguslardan sadece %30.3'ü ön taramada resveratrol üretimi için pozitif sonuç verdiğini; Merlot çeşidinde resveratrol üreten mantar endofitlerinin en yüksek kolonizasyon sıklığını sergilediğini belirlemişlerdir.

Görür (2019) tarafından Tarsus, Manisa, Tokat bölgesinde yetiştiriciliği yapılan Prima üzüm çeşidinden kalemler alarak endofitik ve patojenik fungusların flora dağılımı incelenmiştir. Çalışma sonucunda bölgelere göre dormant asma kalemlerindeki fungusların izole edilme oranlarında farklılığın ve yaygınlık oranlarının da değişebileceği anlaşılmıştır. Çalışma sonucunda; sıcak bölgelerde *Cladosporium* sp. ve *Alternaria* sp., serin bölgelerde ise *Aureobasidium pullulans*'ın baskın olduğu görülmüştür. Dormant ve herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen asma kalemlerinden alınan örneklerde *Diplodia serita*, *Neofusicoccum parvum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Schizophyllum commune*, *D. foeniculina* gibi patojen funguslara da rastlanmıştır.

Raimondo ve ark. (2019), asma gövde hastalıklarıyla ilişkili yaptıkları çalışmada; İtalya'da ilk kez *Cadophora luteo-olivacea*, *Colletotrichum fiorinae*, *Seimatosporium vitis-vinifera* ve *Truncatella angustata*'nın gövde hastalıkları ile ilişkili olduklarını belirlemişlerdir. Bu funguslarla beraber *Lasiodiplodia citricola*, *Phaeoacremonium italicum*, *Pleurostoma richardsiae*'nin iki İtalyan asma çeşidinde ('Bombino bianco',

'Nero di Troia') farklı derecelerde hastalık semptomlarına neden olduğunu tespit etmişlerdir. İtalya'da ilk kez izole edilen mantarlar arasında *Seimatosporium*'un *Vitis vinifera* için en saldırgan, *C. fioriniae* ise en az patojenik fungus olarak tespit edilmiştir. Bu mantarların tümü, asmalardan yeniden izole edilmiş ve Koch'un yöntemine göre asmadaki patojeniteleri doğrulanmıştır.

Li ve ark. (2020), *Vitis amurensis* türüne ait Shuangyou'nun çeşidinin yapraklarından izole ettikleri *Alternaria alternata*, *Bipolaris cynodontis*, *Phoma* sp., ve *Albifimbria verrucaria* endofitik fungusların *Botrytis cinerea*'ya karşı olan biyolojik kontrol aktiviteleri üzerine yaptıkları çalışmada; ikili kültür teslerinde *A. verrucaria* izolatının *B. cinerea*'nın büyümesini inhibe ettiği ve ayrıca *Lasiodiplodia theobromae* ve *Elsinoe ampelina*' ya karşı geniş bir biyokontrol aktivitesiye sahip olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca *A. verrucaria* kültür ekstraktlarının *B. cinerea*'ya hassas çeşit olan Red Globe'un yapraklarındaki hastalık şiddetini önemli ölçüde azalttığı ve kontrol etmek için bir biyokontrol ajanı potansiyeline sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Silva-Valderrama ve ark. (2020), Şili'de asma gövde hastalıklarına karşı asma endofitlerinin biyolojik kontrol potansiyellerini belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada; öncelikle organik ve geleneksel tarım yöntemlerinin kullanıldığı bağlardan 169 endofitik ve 209 epifitik fungus izole etmişlerdir. Çalışmada *Clonostachys rosea*, *Trichoderma* sp., *Purpureocillium lilacium*, *Epicoccum nigrum*, *Cladosporium* sp. ve *Chaetomium* sp.'nin çoklu izolatları, mantar gövde patojenlerine karşı biyokontrol aktivitesi potansiyelinin olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca *C. rosea* izolatlarının asma gövde hastalıklarına karşı ümit verici biyokontrol ajanları olduğu rapor edilmiştir.

Almeida ve ark. (2020), asma endofitik topluluğunun asma gövde hastalıklarına karşı biyolojik kontrol adayları olarak kullanılmasına yönelik yaptıkları çalışmada; asemptomatik ve semptomatik bitkilerden izolasyonlar yapmışlardır. İzolasyonlar sonucunda elde edilen fungusların bazıları asma gövde hastalıkları ile ilişkilendirilmiş ve bunların *Diaporthe* sp., *Neofusicoccum* sp. ve *Hormonema viticola* olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca hemen hemen tüm bu mantarların asemptomatik bitkilerde de tespit edilmesinin, fungus topluluklarının etkileşimlerinin araştırılmasının önemini gösterdiği ve bu hastalıkların erken teşhisinin gerekliliğine değinilmiştir. Çalışmanın sonucunda endofitlerin bazı GTD'lerle ilişkili mantarların misel büyümesine karşı

antagonistik aktiviteleri nedeniyle biyolojik kontrolde kullanımları için umut verici adaylar olduğu bildirilmiştir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan bitkisel materyaller Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi (GUTAM) arazisinde bulunan bağdan ve Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Arazisinde (OKTAEM) bulunan koleksiyon bağlarından alınmıştır. Kullanılan bitkisel materyaller 4 grup halindedir. Çeşit özellikleri Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

1. **Standart sofralık üzüm çeşitleri** – 19 adet (OKTAEM).
2. **Yöresel üzüm çeşitleri** – 18 adet (OKTAEM)
3. **Narince üzüm çeşidine ait klonlar**- 22 Adet (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22) (OKTAEM)
4. **Asma anaçları (Aşılı asmaların dip sürgün çeliği ve Amerikan asmaları)**
 - 4.a. **Aşılı asmaların çeşit ve dip sürgün çelikleri** – 4 çeşit, 4 anaç= 8 adet: (Narince/1103 P, Narince/5 BB, Narince/110R, Narince/41 B kombinasyonlarında, anaçların dip sürgün çelikleri ve çeşide ait kalemler) (GUTAM)
 - 4.b. **Amerikan asma anaçları:** 10 adet (Kuraklığa dayanıklı olanlar: 140 Ru., 110 R. ve 1103 Paulsen; Kirece dayanıklı olanlar: 41 B ve Fercal; Nematodlara dayanıklı olanlar: 1613 C, 16516 C ve Harmony; Diğerleri: 5 BB ve 44-53) asma anacından alınan çelikler (GUTAM)

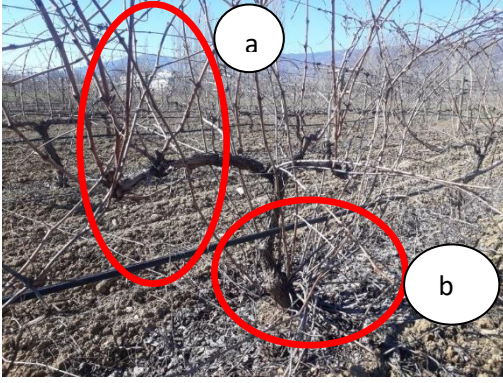
Her anaca ait 4 adet aşılı (diplerinde anaç çıkmış olacak) omca işaretlenmiştir. Her omcadan çeşide ait 20 adet ve anaca ait 20 adet (Şekil 3.1) ayrıca aşısız anaçlardan da (Şekil 3.2) 35-40 cm uzunluğunda çelik alınmıştır (Ek 1)

Çizelge 3.1. Standart sofralık üzüm çeşitlerine ait bazı özellikler

Çeşit adı	Tane Rengi	Kullanım amacı	Olgunlaşma	Çekirdek
Alphonse Lavallée	Morumsu Siyah	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Cardinal	Kırmızı-Mor	Sofralık	Ağustos 2. hafta	Çekirdekli
Crimson Seedless	Kırmızı	Sofralık	Eylül 3. hafta	Çekirdeksiz
Flame Seedless	Kırmızı	Sofralık	Ağustos 3. hafta	Çekirdeksiz
Horoz Karası	Mavi-Siyah	Sofralık	Ağustos 3. hafta	Çekirdekli
Italia	Yeşil-Sarı	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Lival	Mavi-Siyah	Sofralık	Ağustos 3. hafta	Çekirdekli
M.Palieri	Morumsu Siyah	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Mevlana	Yeşil-Sarı	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Prima	Siyah	Sofralık	Ağustos 1. hafta	Çekirdekli
Red Globe	Pembemsi kırmızı	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Royal	Morumsu Siyah	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Sultani Çekirdeksiz	Yeşil-Sarı	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdeksiz
Superior Seedless	Yeşilimsi sarı	Sofralık	Ağustos 2. hafta	Çekirdeksiz
Tekirdağ Çekirdeksiz	Kırmızı-Mor	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdeksiz
Trakya İlkeren	Mavi-Siyah	Sofralık	Ağustos 1. hafta	Çekirdekli
Victoria	Yeşil-Sarı	Sofralık	Ağustos 3. hafta	Çekirdekli

Çizelge 3.2. Yöresel üzüm çeşitlerine ait bazı özellikler

Çeşit adı	Tane Rengi	Kullanım amacı	Olgunlaşma	Çekirdek
Aktaş Çavuş	Yeşil-sarı	Sofralık	Ağustos 2. hafta	Çekirdekli
Alesüt	Yeşil-sarı	Sofralık-şıralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Bekiroğlu	Yeşil-sarı	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Bludi	Kahverengi	Sofralık-şıralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Boduroğlu	Yeşil-sarı	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Dişi Eldaş	Yeşil-sarı	Sofralık-şıralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Fenerit	Kırmızı-mor	Sofralık-şıralık	Ağustos 4. hafta	Çekirdekli
Horoz paşa	Yeşil-sarı	Sofralık-şıralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
İzabel	Mavi-siyah	Sofralık-şıralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Kara üzüm	Mavi-siyah	Sofralık-şıralık	Ağustos 4. hafta	Çekirdekli
Keten Gömlek	Yeşil-sarı	Sofralık-şıralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Meme Üzümlü	Yeşil-sarı	Sofralık-şıralık	Ağustos 4. hafta	Çekirdekli
Misket Çavuş	Yeşil-sarı	Sofralık	Ağustos 2. hafta	Çekirdekli
Narince	Yeşil-sarı	Sofralık-şıralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli
Patlak Kara	Mavi-siyah	Sofralık-şıralık	Ağustos 4. hafta	Çekirdekli
Renkli Çariksiz	Mavi-siyah	Sofralık-şıralık	Ağustos 4. hafta	Çekirdekli
Topbaş	Yeşil-sarı	Sofralık	Eylül 2. hafta	Çekirdekli



a. Aşılı asmada çeşide ait kalemler
b. Aşılı asmada anaca ait kalemler/Çelikler



Aşısız asma anacına ait
kalemler/çelikler

Şekil 3. 1. Aşılı omcaya ait örnek

Şekil 3. 2. Aşısız anaçlara ait çelik

3.2. Yöntem

Kalemler ve çelikler dinlenme döneminde alınmıştır. Alınan çelikler Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bağcılık laboratuvarına getirilerek çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve fazla suyun süzülmesi için 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra her kombinasyona ait çelikler demetler halinde bağlanıp etiketlenmiştir. Etiketlenmiş çelikler siyah polietilen materyal ile sarılarak tekrar etiketlenerek analiz yapılincaya kadar buzdolabı koşullarında (+4 °C’de) muhafaza edilmiştir.

3.2.1. İzolasyon

İzolasyon işlemleri Brum ve ark. (2012), Kaliterna ve ark. (2012), Cosoveanu ve ark. (2014), Görür ve Akgül (2019) tarafından uygulanan yöntemlere göre yapılmıştır. Yönteme göre izlenen yol aşağıda görseller Ek-2’de verilmiştir. Her bir kombinasyona ait kalemlerden 10’ar adet kullanılmış ve diğerleri buzdolabında gerekli görüldüğünde tekrar kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir. İzolasyon işlemleri Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Mikoloji Laboratuvarında yapılmıştır. İşlem basamakları aşağıdaki gibidir.

- Bağdan kesilen ve buzdolabında muhafaza edilen asma kalemlerinin üst ve alt kısımları kesilerek 15 cm boyunda kalemler hazırlanmıştır.
- Kesilen bu kalemler %2'lik sodyum hipoklorit solüsyonunda 3 dakika bekletilerek yüzeysel sterilizasyon işlemi yapılmıştır.
- Yüzeysel sterilizasyon sonrası kalemler, yan yana konulmuş 3 adet 1 litrelik behere konulan steril distile su içinde 3'er dakika sıra ile bekletilmiştir.
- Kalemler 3 kez distile suda durulandıktan sonra steril kurutma kağıtlarına konularak kurutmaya bırakılmıştır.
- İzolasyonlar için, içinde streptomycin sülfat antibiyotiği (150 mg/L) bulunan PDA (Patates Dekstrozu Agar) besi yeri kullanılmıştır.
- Otoklavdan çıkan PDA solüsyonlarına antibiyotiğin eklenmesi, solüsyon sıcaklığının 45-50 °C'ye düştüğünde gerçekleştirilmiştir.
- Yüzeysel sterilizasyon işlemi biten ve distile saf su ile yıkanan kalemlerin dış kabuk kısımları steril bisturi/falçata/budama makası ile soyulmuştur.
- Kalemlerin kabukları çıkarıldıktan sonra içindeki odun kısmından 1-2 mm kalınlığında diskler kesilmiştir.
- Kesilen diskler 9 cm çapında ve içinde PDA bulunan Petri'lere 7'şer adet ekilmiştir. Bu işlem steril kabinde yapılmıştır. Her bir çeşit için 6 adet Petri kabı kullanılmıştır.
- Ekim sonrası petrilere koloni gelişimi için inkübatöre konulmuştur (25°C).
- Her bir petri içinde gelişen koloniler 7-10 gün sonra sayılmış ve not edilmiştir.
- Fungusları saflaştırmak amacıyla, kolonilerden sivri bir bisturi ile kesitler alınmış ve PDA besi yerlerine tekrar ekimleri yapılmıştır.
- Petrilere klasik tanımlama için koloni morfolojisi ve mikroskopik özellikler incelenmiş ve kaydedilmiştir.
- Endofitik fungusların izole edilme oranları dokular etrafında gelişen koloni sayısının, petrilere ekilen doku sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur.

Endofitik İzolatların Moleküler Tanısı

Bu amaçla yapılan DNA ekstraksiyonu, PCR ve Jel Elektroforez İşlemleri Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne ait Mikoloji Laboratuvarında yapılmıştır. İşlem basamakları aşağıdaki gibidir.

3.2.2. DNA ekstraksiyonu

Funguslardaki genomik DNA, Nejat ve ark. (2009)'nın kullandığı DNA ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilmiştir. İşlem basamakları aşağıda, görseller Ek-3'te verilmiştir.

- DNA ekstraksiyonunda kültürden elde edilen miselyum örnekleri kullanılmıştır.
- Bu işlemde besi ortamında saf olarak geliştirilen fungusun miselyum parçacıkları spatül ile alınarak ezme poşetlerine konulmuştur.
- Ezme poşetlerine aktarılan miselyum parçacıklarının içerisine ortalama 600 µl 2X CTAB buffer ilave edilmiş ve poşetin dışından homojenizatör ile dikkatlice ezilmiştir.
- Daha sonra poşet içerisinde ezme işlemi ile oluşan homojenat bir pipet ile alınıp 1.5 ml'lik steril eppendorf tüpler içerisine konulmuştur.
- Bu homojenata 2 µl mercaptoethanol (2-mercaptoethanol) eklenip, vortex ile eppendorf tüplerdeki homojenatın iyice karıştırılması sağlanmıştır.
- Daha sonra eppendorf tüpler 30-40 dakika 65°C'lik kuru blok ısıtıcıda inkübe edilmiş ve bu aşamada da birkaç defa vorteksleme işlemi yapılmıştır.
- İnkübe işleminden sonra oluşan homojenata 600 µl chloroform-isoamylalkol konulmuş ve 30-45 saniye vorteksleme işlemi yapılmıştır.
- Eppendorf tüpler 14000 rpm'de 10 dakika santrifüjleme işlemi yapılmıştır.
- Santrifüjleme işlemi sonucunda eppendorf tüpün içinde 2 ayrı faz oluşmuştur.
- Üstteki berrak (200 µl) faz pipet yardımıyla alınmış ve yeni tüplere aktarılmıştır.
- Aktarılan yeni tüplerdeki sıvının üzerine yeniden 200 µl chloroform-isoamylalkol eklenmiş ve sıvı tam anlamıyla bulanıklaşmaya kadar vortexlenmiştir.

- Bulanıklaşan tüpler 14000 rpm’de 10 dakika tekrar santrifüj edilip santrifüj sonucunda tüpte oluşan 2 fazdan üst kısmında oluşan berrak katman (120 µl) bir pipet yardımıyla alt katmana temas etmeden alınmış ve yeni tüplere aktarılmıştır.
- Yeni tüplere aktarılan sıvının üzerine 80 µl soğuk isopropanol (2-propanol) eklenip tüpler yavaşça 4-5 kez çalkalanmıştır.
- Bu işlem ile alkole bağlanan DNA’nın dibe çökmesi amacıyla tüpler 20-30 dakika kadar -20°C’de bekletilmiştir.
- Daha sonra alınan bu tüpler 14000 rpm’de 15 dakika tekrar santrifüj edilip tüpün üst kısmında oluşan sıvı dökülerek DNA 1 ml hacimdeki %70’lik alkol ile yıkanmıştır.
- Tüplerin alkolden arındırılması işlemi için tüpler steril ortamda kâğıt havlulara ters çevrilerek konulmuştur.
- Steril kabinde 10 dakika bekletilen DNA pelleti kurulandıktan sonra içine 50 µl TE buffer eklenip tüpler -20°C’de saklanmıştır.

3.2.3. PCR ve jel elektroforez işlemleri

PCR ve Jel elektroforez işlemleri aşağıda, görseller Ek-4’de verilmiştir.

- DNA ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) işlemi yapılmıştır. Moleküler tanıda her bir izolat için ITS gen bölgesinden PCR yapılmıştır.
- PCR işleminde 0.2 ml’lik PCR tüplerine her bir örnek için, 5 µl 10XGreen Buffer (ThermoScientific, EP0712), 2 µl dNTP karışımı, 1 µl ileri ve 1 µl geri yönde primer (ITS4 ve ITS5), 0.25 µl Taq polimeraz enzimi (Thermo Scientific) ve 38.75 µl su sırası ile konulup karışım hazırlanmıştır.
- Bu karışıma, tanısı yapılacak olan her bir örneğin DNA’sından 1-2 µl konulmuştur.
- Tüpler son kez karıştırılarak thermocycler cihazına konulmuş ve DNA’lar su protokole göre çoğaltılmıştır: 95 °C’de 3 dk (1 kez), 95 °C’de 1 dk, 52 °C’de 1 dk ve 72 °C’de 1 dk (35 kez) ve 72C’de 10 dk (final uzama).

- Gen sekanslama aşamasından önce PCR ürünlerinin kalitesine bakmak ve ürün olup olmadığını kontrol etmek için PCR ürünleri jel elektroforez ünitesine konulmuştur.
- Bunun için 1xTAE (Tris Asetat EDTA) buffer içerisinde %1.5'lik agaroz (Invitrogen) eritilerek jel elektroforez ünitesinin kaset bölümüne dökülmüş ve üzerine tarak yerleştirilmiştir.
- Kasete dökülen jel donduktan sonra kasetle birlikte tanktaki 1xTAE buffer içerisine yerleştirilmiş ve yüklemeye hazır hale getirilmiştir.
- Şerit halinde parafilm kesilerek bunların üzerine 2 µl SYBR Green 1® (Lonza) boyası damlatılmıştır.
- PCR ürünlerinden otomatik pipetle 6.5 µl alınıp, parafilm üzerindeki DNA boyasıyla karıştırıldıktan sonra jele yüklenmiş ve DNA'lar 55 volt ve 400 mA akım altında 2 saat süreyle jelde yürütülmüştür.
- Ardından jel kasetten çıkarılarak UV lamba seti üzerine yerleştirilmiş ve DNA bantları 320 nm dalga boyunda görüntülenmiştir.

3.2.4. Gen sekanslama

- Jel üzerinde görüntülenen DNA örnekleri hizmet alımı yoluyla sekanslatılmış ve her bir gen bölgesi için nükleotid dizileri elde edilmiştir.
- Elde edilen diziler NCBI-BLAST analiziyle NCBI gen bankasında kayıtlı diğer türlerin dizileriyle karşılaştırılmış ve benzerlik oranlarına bakılarak tür tanısı tamamlanmıştır.
- Nükleotid dizilerinin gen bankasına kaydedilmesiyle NCBI kayıt numarası alınmış ve tür tanısı tamamlanmıştır.

3.2.5. Patojenite testi

Moleküler tanısı yapılan endofitik izolatlar patojenite testine tabi tutulmuştur. Çalışmada çeliklere patojenite inokülasyonu OKTAEM'de, dikim, bakım ve ölçüm işlemleri Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Asma Fidanı Üretim Ünitesinde yapılmıştır.

- Patojenite testi öncesi daha önce izole edilen izolatların, PDA ortamı bulunan petrilere ekimleri yapılmıştır.
- Ekimleri yapılan izolatların gelişimlerini tamamlaması için petri kapları karanlık ortamda 15 gün boyunca 25 °C’de inkübe edilmiştir.
- Patojenite testi çalışmaları Narince çeşidinden alınan dormant haldeki kalemler kullanılarak yapılmıştır.
- Asma kalemlerine inokulasyon işlemi Ayres ve ark. (2011)’nın miselyal agar disk yöntemine göre yapılmıştır.
- Bu yöntemle göre inokulasyon; dormant asma kalemlerinin tepe noktalarına, 5 mm’lik miselyal agar diskleri inokule edilip üzerinin parafilm sarılması ile yapılmıştır.
- İnokule edilen dormant kalemler içerisinde perlit ve torf (1:1 hacimde) bulunan poşetlere dikilmişlerdir.
- Çalışmada her uygulama için 5 adet asma kalemi kullanılmıştır.
- İnokulasyon işlemi tamamlanan asma çubukları TOGÜ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Asma Fidanı Üretim Ünitesinde 25 °C (± 2 °C) ve %85 nem içeren ortamda yetiştirilmesi sağlanmıştır.
- 90 gün sonunda yetiştirilen asma çubuklarında oluşan lezyon uzunlukları ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

3.2.6. Endofitik türlerin bazı patojenlere karşı antagonistik etkisinin belirlenmesi

Çalışma sonucunda izole edilen ve endofitik özellik gösterebilecek funguslarla bazı patojen fungusların miselyal gelişim üzerinde antogenistik bir etkiye sahip olup olmadıkları belirlenmeye çalışılmıştır. Antagonistik etki ile ilgili işlemler OKTAEM bünyesinde bulunan Bitki Koruma laboratuvarında yapılmıştır.

- İzolatların PDA ortamına ekimleri yapılarak saf halde gelişimleri sağlanmıştır.
- 10 gün süreyle PDA ortamlarında gelişen endofitik izolatlardan cork borer yardımı ile miselyal agar diskleri alınmış, içerisinde PDA besi ortamı bulunan petri kabının bir tarafına yerleştirilmiş ve gelişmeye bırakılmıştır.
- Daha sonra patojenlere ait diskler PDA ortamında bulunan endofitik fungus izolatının karşı tarafına ekimi yapılmıştır.

- Kontrol olarak alınan petri kaplarının kenarına sadece endofitik-patojen diski konulmuştur.
- İkili kültür şeklinde oluşturmuş olan bu petriler 6-18 gün inkübasyon için bekletilmiştir.
- İkili kültür testi ise patojen fungusun ekiminden 10 gün sonra (petriyi tamamen kapladığında) deneme sonlandırılmıştır.
- Her bir petride endofitik ve patojen fungus gelişimleri sonucunda iki tür arasında meydana gelen mesafe (bariyer) cetvelle ölçülmüş ve kaydedilmiştir.
- İkili kültür testinde her bir izolat için 3 adet petri kullanılmıştır. Her bir petri kabı bir tekerrür olarak kabul edilmiş ve deneme iki kez tekrarlanmıştır.

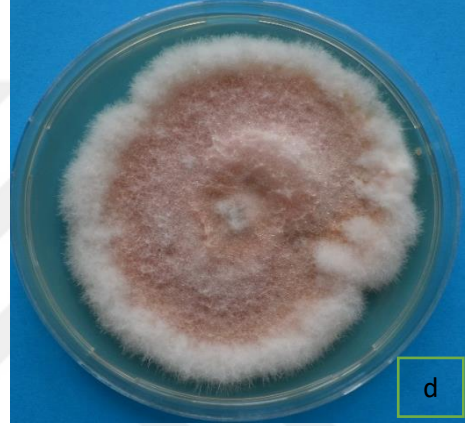
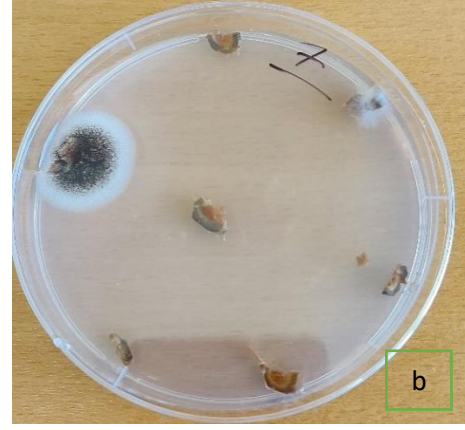
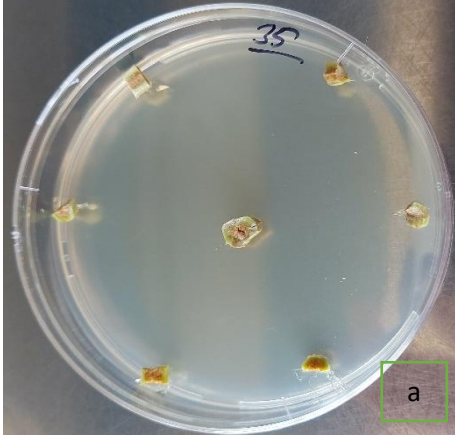
Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre 10 tekerrürlü yapılmıştır. Elde edilen veriler varyans analizine tabii tutulduktan sonra ortalamaların karşılaştırılmasında $LSD_{(0.05)}$ testinden yararlanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

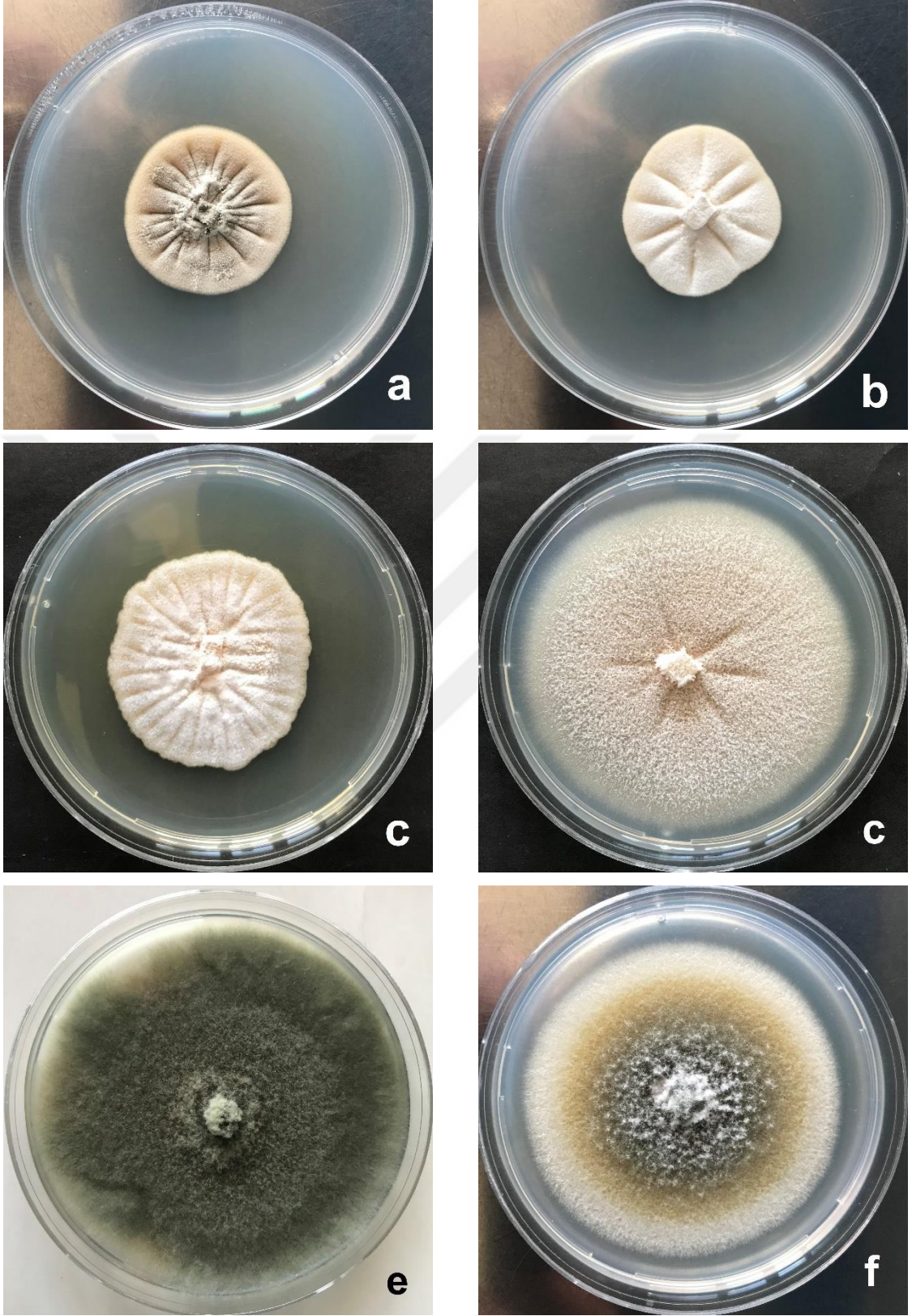
4.1. Asma Kalemlerinden Elde Edilen Endofitik Funguslar

Tokat ilinde bulunan standart sofralık üzüm çeşitleri (1. grup), yöresel üzüm çeşitleri (2. grup), Narince üzüm çeşidine ait klonlar (3. grup), farklı anaçlara aşılı Narince üzüm çeşidi (4. grup) ve asma anaçlarına ait kalemler/çelikler (5. grup) buzdolabından çıkarılıp yöntemine uygun olacak şekilde izolasyon işlemleri yapılmıştır. Her petri kutusundaki PDA besi yerine ekimi yapılan 7 adet doku parçası, fungal gelişim için inkübe edilmiştir. 7-14 gün sonra odun dokusunda miselyal gelişimler gözlemlenmiş ve petri içerisinde birden fazla koloni gelişimi gerçekleşmiştir (Şekil 4.1).

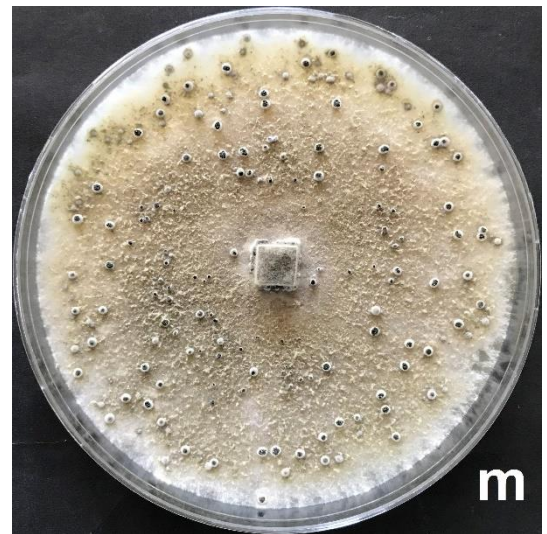
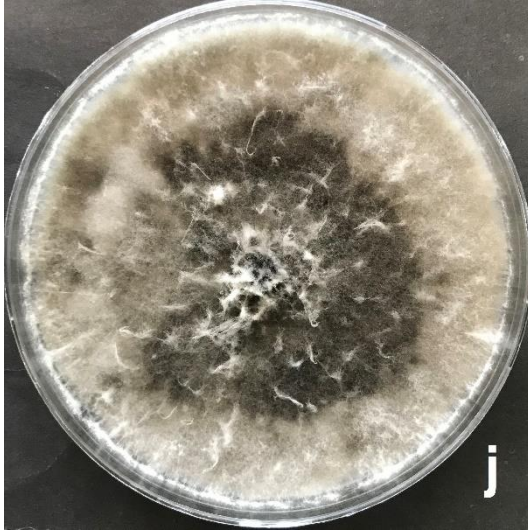
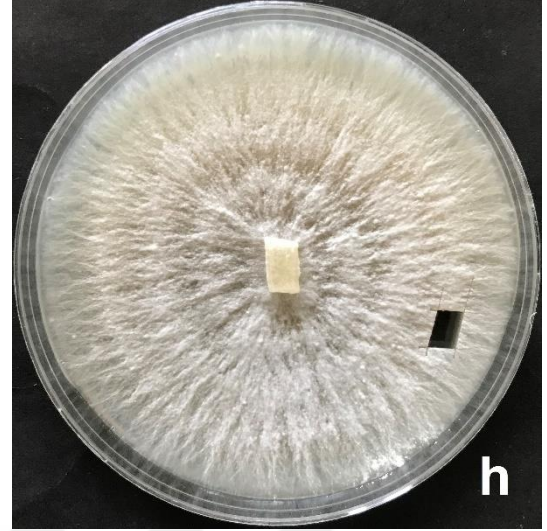
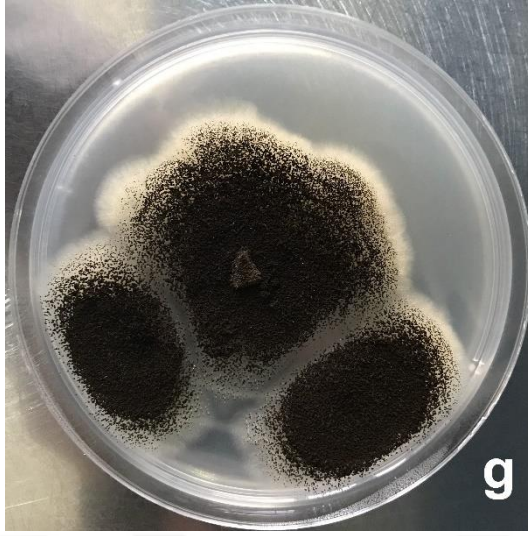
Dormant kalem ve çeliklerin iç dokularından yapılan izolasyonlar sonucunda, Ascomycota ve Basidiomycota şubesine bağlı 24 farklı cins içerisinde yer alan 30 farklı türde funguslar elde edilmiştir. İzolatların klasik tanısı Barnett ve Hunter (2003) ve Arzanlou ve ark., (2013)'nın belirttiği özelliklere göre yapılmıştır. Buna göre; *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Athelia*, *Aureobasidium*, *Botryosphaeria*, *Cadophora*, *Cerrena*, *Cladosporium*, *Cytospora*, *Diatrype*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Neonectria*, *Neosetophoma*, *Oidiodendron*, *Paraconiothyrium*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pseudogymnoascus*, *Sarocladium*, *Stemphylium* Steril beyaz basidiomycetes ve *Truncatella* cinslerine ait türlerden bazılarının PDA besi yerindeki görüntüleri Şekil 4.2-Şekil 4.5'de verilmiştir.



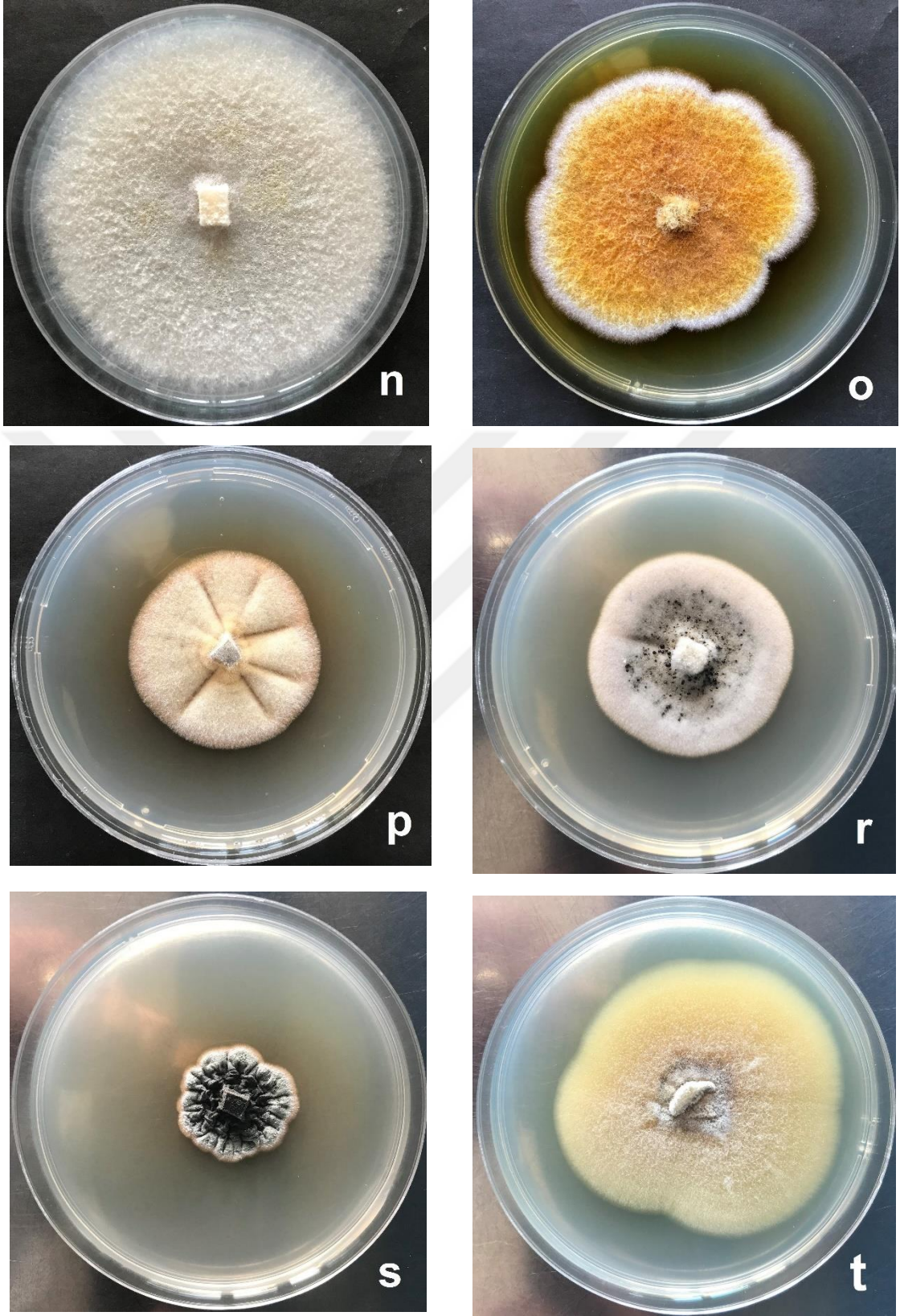
şekil 4.1. a) Kalemlerin PDA besiyerine ekimi, b) miselyal geşimi, c) saflaştırma için örnek alımı, d) saf kültür eldesi



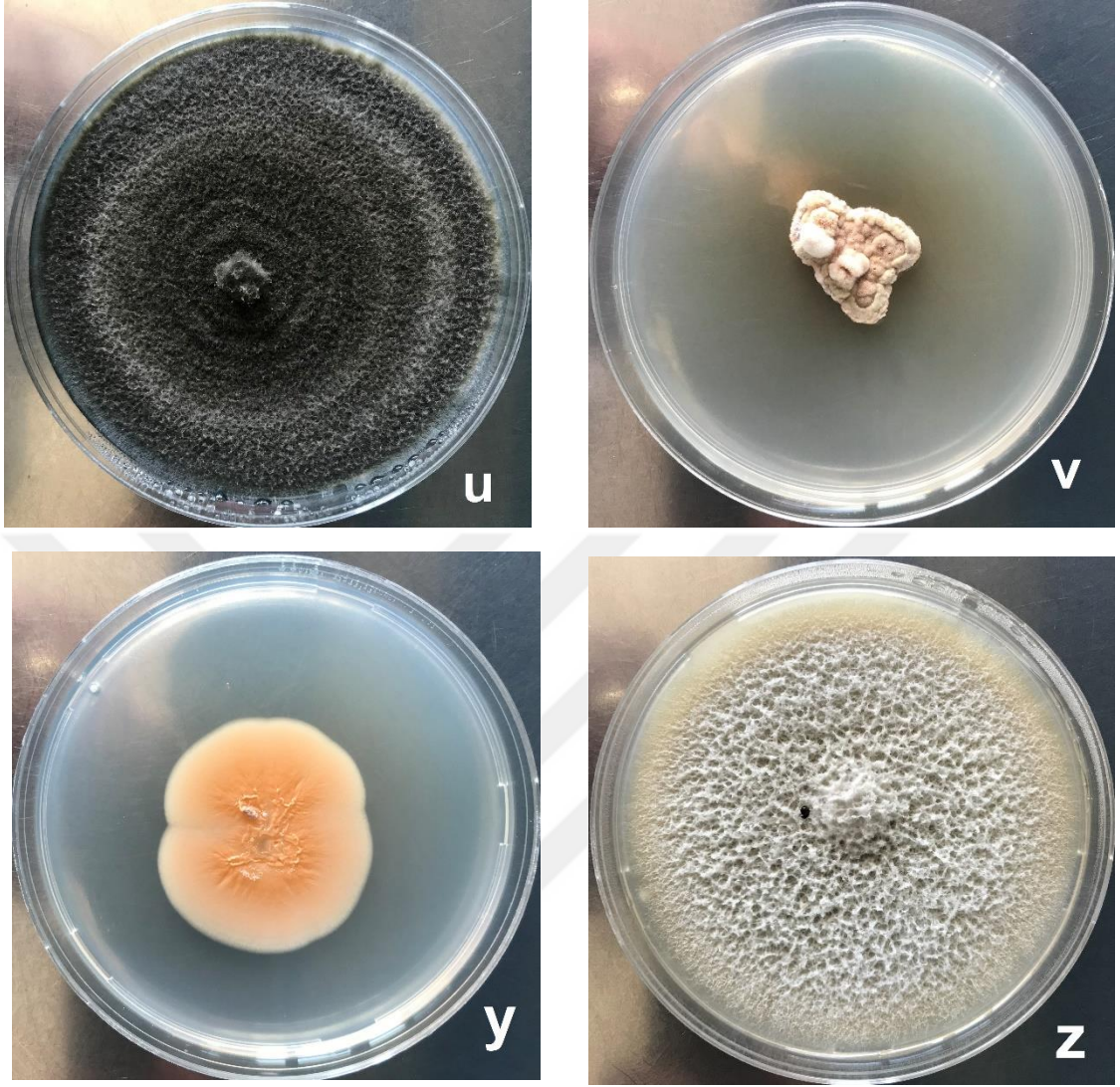
Şekil 4.2. Saflaştırılması yapılan fungusların PDA ortamındaki görüntüleri
a) *Acremonium egyptiacum* b) *A. fusidioides* c) *A. hyalinum* d) *A. sclerotigenum* e) *Alternaria alternata* f) *A. infectoria*



Şekil 4.3. Saflaştırılması yapılan fungusların PDA ortamındaki görüntüleri
g) *Aspergillus ochraceus* h) *Athelia bombacina* j) *Botryosphaeria dothidea* k) *Cadophora luteo-olivacea* l) *Cladosporium cladosporioides* m) *Cytospora salicacerum*



Şekil 4.4. Saflaştırılması yapılan fungusların PDA ortamındaki görüntüleri
 n) *Diatrype stigma* o) *Epicoccum nigrum* p) *Neonectria ramularia* r) *Neosetophoma clematidis*
 s) *Oidiodendron cerealis* t) *Paraconiothyrium fuckelii*



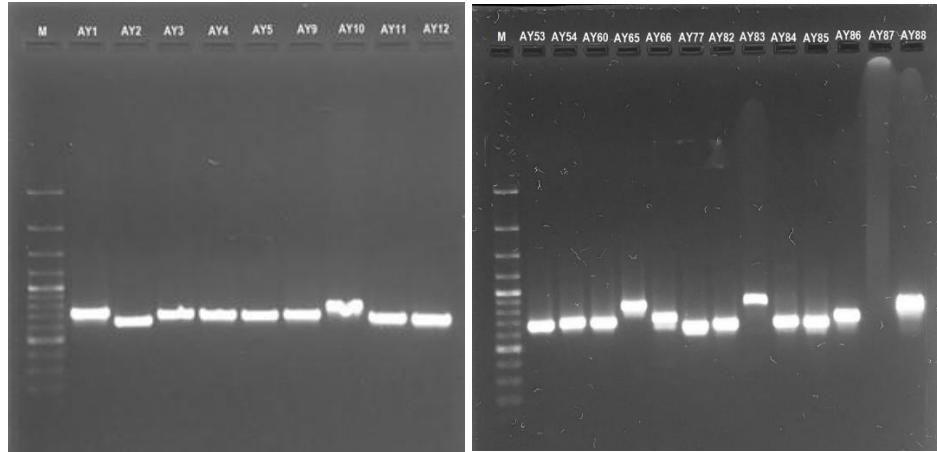
Şekil 4.5. Saflaştırılması yapılan fungusların PDA ortamındaki görüntüleri
u) *Phoma tropica* v) *Pseudogymnoascus pannorum* y) *Sarocladium strictum* z) *Truncatella angustata*

İzolatların saflaştırılmasıyla yukarıda belirtilen cinslerden toplam 102 adet fungal izolat elde edilmiştir. Bu cinslerden elde edilen izolat sayısı Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Araştırmada elde edilen fungal cinsler ve izolat sayıları

Fungal Cinsler	İzolat Sayısı	Fungal Cinsler	İzolat Sayısı
<i>Acremonium</i>	7	<i>Fusarium</i>	1
<i>Alternaria</i>	20	<i>Neonectria</i>	1
<i>Aspergillus</i>	5	<i>Neosetophoma</i>	2
<i>Athelia</i>	3	<i>Oidiodendron</i>	2
<i>Aureobasidium</i>	12	<i>Paraconiothyrium</i>	1
<i>Botryosphaeria</i>	3	<i>Penicillium</i>	4
<i>Cadophora</i>	2	<i>Phoma</i>	2
<i>Cerrena</i>	1	<i>Pseudogymnoascus</i>	2
<i>Cladosporium</i>	8	<i>Sarocladium</i>	2
<i>Cytospora</i>	2	<i>Stemphylium</i>	1
<i>Diatrype</i>	5	<i>Steril Beyaz Basidiomycetes</i>	8
<i>Epicoccum</i>	6	<i>Truncatella</i>	2

Trouillas ve Gubler (2010a,b), Gramaje ve ark. (2011), Urbez-Torres (2011), Lawrence ve ark. (2017) ve Arzanlou ve ark. (2013)’nın çalışmaları esas alındığında bu çalışmadaki *Botryosphaeria*, *Cadophora*, *Cytospora*, *Diatrype* ve *Truncatella* cinsi izolatlar asmalarda fungal gövde hastalıklarıyla ilişkili bulunmuş diğer cinsler endofitik funguslar içerisinde değerlendirilmişlerdir. İzolatlar PDA besi yerindeki morfolojik görünümüne göre gruplandırıldıktan sonra her gruptan birer izolat temsilen seçilmiş ve PCR yapılmıştır. PCR sonucu elde edilen ürünlerin %1.5’luk agaroz jelde yürütülmesiyle, büyüklükleri yaklaşık 600-900 bp arasında değişen DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 4.6). Bu ürünlerin sekanslanmasıyla BLAST analizi yapılarak türlerin tanısı %99-100’lük oranlarla doğrulanmıştır. Gen dizilemesi ve nükleotid BLAST analizi sonuçlarına göre 30 farklı tür için NCBI Gen Bankası’ndan kayıt numaraları alınmıştır (Çizelge 4.2).



Şekil 4.6. ITS primerleriyle (ITS4-ITS5) yapılan PCR sonucu elde edilen DNA bantlarının agaroz jeldeki (%1.5) görüntüleri (M: marker, 100 bp)

Standart sofralık üzüm çeşitlerinde (1. grup) belirlenen endofitikler ve izole edilme oranları Çizelge 4.3’de; yöresel üzüm çeşitlerinde (2. grup) belirlenen endofitikler ve izole edilme oranları Çizelge 4.4’de; Narince üzüm çeşidine ait klonlarda (3. grup) belirlenen endofitikler ve izole edilme oranları Çizelge 4.5’de; farklı anaçlara aşılı Narince üzüm çeşidinde (4. grup) belirlenen endofitikler ve izole edilme oranları Çizelge 4.6’te ve asma anaçlarında (5. grup) belirlenen endofitikler ve izole edilme oranları ise Çizelge 4.7’da verilmiştir.

Çalışmada elde edilen 30 adet endofitik fungus türünün 28 tanesi *Ascomycota* şubesi, 2 tanesi ise *Basidiomycota* şubesine aittir (Çizelge 4.1). Endofitik türlerin tamamı bütün çeşitlerden düzenli olarak izole edilememiştir. Fakat *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* ve Steril beyaz *Basidiomycetous* endofitikleri 5 grupta yer alan çeşitlerin en az birinden saptanmıştır (Çizelge 4.2-4.5). Bununla birlikte *Acremonium hyalinulum* ve *Cytospora salicacearum* türleri sadece standart sofralık üzüm çeşitlerinde (sırasıyla; Victoria, Sultani Çekirdeksiz ve Royal) (Çizelge 4.2); *Aspergillus* sp (Topbaş), *Neosetophoma italica* (Misket Çavuş), *Oidiodendron cerealis* (Aktaş Çavuş, Topbaş), *Penicillium commune* (Meme üzüm, Patlak üzüm) sadece yöresel üzüm çeşitlerinde (Çizelge 4.3); *Cytospora* sp. endofitiği sadece Narince üzüm çeşidinin 12 nolu klonunda (Çizelge 4.4); *Acremonium aegyptiacum* (Harmony) ve *Fusarium acuminatum* (1616 C) sadece asma anaçlarında (Çizelge 4.6); *Sarocladium strictum* Narince üzüm çeşidine ait klonlarda (2 ve 4 nolu

klonlar) ve Narince/41 B kombinasyonunda anaç çeliğinde (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5); *Phoma* sp. ise yöresel çeşitlerden Buludi çeşidinde ve Narince/5BB kombinasyonunda anaç çeliğinde (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.5) belirlenmiştir. Çalışmanın tamamı dikkate alındığında 36 adet endofitik tür belirlenmiştir. Her grubun ortalaması alındığında anaçlarda 5.5 ± 1.2 adet (Min.: 4 - Mak.: 8), Narince üzüm çeşidine ait klonlarda 4.1 ± 1.5 (Min.: 1 - Mak.: 7) adet, yöresel çeşitlerde 3.4 ± 1.8 (Min.: 1 - Mak.: 7) adet ve standart sofralık üzüm çeşitlerinde ise 2.8 ± 1.3 (Min.: 1 - Mak.: 5) adet endofitik tür belirlenmiştir.

Standart sofralık çeşitlerde (1.grup) yapılan izolasyonda; 11 çeşitten *Cladosporium cladosporioides*; 10 çeşitten *Aureobasidium pullulans*; 9 çeşitten Sterile White *Basidiomycetous*; 7 çeşitten *Alternaria alternata* ve 4 çeşitten *Acremonium sclerotigenum* türleri belirlenmiştir. *Botryosphaeria dothidea* patojenik türü iki üzüm çeşidinde (Mevlana ve Tekirdağ Çekirdeksiz) belirlenirken *Acremonium fusidioides*, *Acremonium hyalinulum*, *Cytospora salicacearum*, *Penicillium* sp., ve *Phaeoacremonium minimum* türleri ise sadece bir standart sofralık üzüm çeşidinde belirlenmiştir. Crimson Seedless çeşidinde sadece bir endofitik tür belirlenirken (*Alternaria alternata*) en fazla tür Superior Seedless, Tekirdağ Çekirdeksizi ve Trakya İlkeren çeşitlerinde belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.2. Dormant asma kalemlerinden izole edilen fungal türler ve NCBI GenBank kayıt numaraları

Fungal Türler	İzolat Kodu	ITS GenBank Kayıt No	İzole edildiği çeşit
1 <i>Acremonium aegyptiacum</i>	AY86	OL691159	1616C (<i>V. longii</i> x <i>V. riparia</i>)
2 <i>Acremonium fusidioides</i>	AY88	OL691160	1613C (<i>V. solonis</i> x <i>Othello</i>)
3 <i>Acremonium hyalinum</i>	AY51	OL691150	Victoria (<i>Vitis vinifera</i>)
4 <i>Acremonium sclerotigenum</i>	AY42	OL691147	5BB (<i>V. berlandieri</i> x <i>V. Riparia</i>) / Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
5 <i>Alternata alternata</i>	AY2	OL691143	Karaerik (<i>Vitis vinifera</i>)
6 <i>Alternata infectoria</i>	AY4	OL691144	Red Globe (<i>Vitis vinifera</i>)
7 <i>Aspergillus ochraceus</i>	AY111	OL691169	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
8 <i>Aspergillus piperis</i>	AY110	OL691168	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
9 <i>Athelia bombacina</i>	AY65	OL691154	Patlak Kara (<i>Vitis vinifera</i>)
10 <i>Aureobasidium pullulans</i>	AY32	OL691145	Alphonse Lavallee (<i>Vitis vinifera</i>)
11 <i>Botryosphaeria dothidea</i>	AY57	OL691152	Tekirdağ Çekirdeksizi (<i>Vitis vinifera</i>)
12 <i>Cadophora luteo-olivacea</i>	AY91	OL691162	140 Ruggeri (<i>V. berlandieri</i> x <i>V. Rupestris</i>)
13 <i>Cerreana unicolor</i>	AY114	OL691171	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
14 <i>Cladosporium cladosporioides</i>	AY77	OL691156	Harmony (1613C x Dogridge)
15 <i>Cytospora salicacearum</i>	AY41	OL691146	Trakya İlkeren (<i>Vitis vinifera</i>)
16 <i>Diatrype stigma</i>	AY70	OL691155	Karaüzüm Çepni (<i>Vitis vinifera</i>)
17 <i>Epicoccum nigrum</i>	AY50	OL691149	Boduroğlu (<i>Vitis vinifera</i>)
18 <i>Fusarium avenaceum</i>	AY113	OL691170	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
19 <i>Neonectria ramularia</i>	AY47	OL691148	Misket Çavuş (<i>Vitis vinifera</i>)
20 <i>Neosetophoma clematidis</i>	AY90	OL691161	5BB (<i>V. berlandieri</i> x <i>V. Riparia</i>) / Narince (<i>Vitis vinifera</i>)

Çizelge 4.2. (Devam) Dormant asma kalemlerinden izole edilen fungal türler ve NCBI GenBank kayıt numaraları

<i>Fungal Türler</i>	İzolat Kodu	ITS GenBank Kayıt No	İzole edildiği çeşit
21 <i>Neosetophoma italica</i>	AY115	OL691172	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
22 <i>Oidiodendron cerealis</i>	AY82	OL691157	Aktaş Çavuş (<i>Vitis vinifera</i>)
23 <i>Paraconiothyrium fuckelii</i>	AY106	OL691165	41B (<i>V. vinifera</i> x <i>V. Berlandieri</i>) / Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
24 <i>Penicillium commune</i>	AY109	OL691167	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
25 <i>Phoma tropica</i>	AY53	OL691151	Harmony x Dogridge (<i>V. Champinii</i>)
26 <i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	AY85	OL691158	1616C (<i>V. solonis</i> x <i>Othello</i>)
27 <i>Sarocladium strictum</i>	AY107	OL691166	1103P (<i>V. berlandieri</i> x <i>V. Rupestris</i> /Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
28 <i>Stemphylium vesicarium</i>	AY60	OL691153	İzabel (<i>Vitis labrusca</i>)
29 <i>Sterile white basidiomycetes</i>	AY101	OL691164	4 nolu klon (<i>Vitis vinifera</i>)
30 <i>Truncatella angustata</i>	AY92	OL691163	Patlak Üzüm (<i>Vitis vinifera</i>)

Çizelge 4.3. Standart sofralık üzüm çeşitlerine ait endofitik funguslar ve bulunma oranları (%)

ÇEŞİT	<i>Acremonium fusidioides</i>	<i>Acremonium hyalinulum</i>	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Cytospora salicacearum</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Phaeoacremonium minimum</i>	<i>Sterile White Basidiomycetous</i>
Alphonse Lavallée					16.3		4.1				
Cardinal					12.2		2.0				
Crimson Seedless				20.4							
Flame Seedless				12.2	8.2						
Horoz Karası				4.1							57.1
Italia					4.1						4.1
Lival				6.1	18.4		10.2				
M.Palieri			2.0				2.0				20.4
Mevlana					6.1	22.4					32.7
Prima					6.1		2.0				
Red Globe			2.0				6.1				
Royal							2.0			4.1	2.0
Sultani Çekirdeksiz				12.2			2.0				12.6
Superior Seedless			2.0	12.2	4.1		2.0				4.1
Tekirdağ Çekirdeksiz				28.4	4.1	22.4	16.3		2.0		
Trakya İlkeren	2.0		2.0				4.1	28.6			57.1
Victoria		2.0			20.4						14.3

Çizelge 4.4. Yöresel üzüm çeşitlerine ait endofitik funguslar ve bulunma oranları (%)

ÇEŞİT	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Alternaria infectoria</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Athelia bombacina</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Diatrype stigma</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Neonectria ramularia</i>	<i>Neosetophoma italica</i>	<i>Oidiodendron cerealis</i>	<i>Paraconiothyrium fukelii</i>	<i>Penicillium sp</i>	<i>Phoma sp.</i>	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	<i>Sterile White Basidiomycetou</i>
Aktaş Çavuş													2.0					12.2
Alesüt	4.1													36.7				
Bekiroğlu					4.1		2	69.4							2.0			
Buludi					4.1											4.1		40.8
Boduroğlu							6.1		6.1									36.7
Dişi Eldaş	6.1				4.1		2										2.0	14.3
Fenerit	28.6																	16.3
Horoz paşa					2.0													
İzabel		16.3	2.0	10.2	2.0			12.2										22.4
Kara üzüm	14.3						4.1	24.5		2.0					2.0			14.3
Keten Gömlek	22.4						2.0											
Meme Üzümlü	26.5				18.4	22.4	2.0		10.2						10.2			
Misket Çavuş	20.4				4.1						10.2	2.0						
Narince																		57.1
Patlak Kara				14.3	26.5		18.4											
Renkli	14.3							6.1										42.9
Topbaş			4.1		4.1								2.0		14.3			49.0

Çizelge 4.5. Narince üzüm çeşidine ait klonlarda endofitik funguslar ve bulunma oranları (%)

Klon No	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Athelia bombacina</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Cytospora</i> sp.	<i>Diatrype stigma</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Neosetophoma clematidis</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	<i>Sarocladium strictum</i>	<i>Sterile White Basidiomycetou</i>
1		12.2			2.0							4.1				
2		16.3	2.0		4.1		4.1							4.1	2.0	
3							4.1				2.0	10.2	2.0			2.0
4					2.0							8.2			2.0	22.4
5					6.1		6.1					8.2				4.1
6							2.0									51.0
7		8.2			10.2		4.1			2.0				4.1		
8		2.0			18.4		2.0					20.4				2.0
10		4.1			28.6		4.1									
11				4.1								8.2				4.1
12	2.0	2.0			8.2		8.2	2.0				4.1				8.2
13		12.2			16.3		6.1					2.0				2.0
14												6.1		2.0		46.9
15	2.0		2.0		2.0											83.7
16		4.1			8.2											18.4
17					2.0		8.2					2.0				38.8
18					12.2											
19		14.3			12.2		8.2								2.0	6.1
20							6.1									24.5
21					2.0							4.1				79.6
22		20.4				8.2	4.1		2.0	2.0						44.9

Çizelge 4.6. Farklı anaçlara aşılanmış Narince üzüm çeşidi kombinasyonlarında endofitik funguslar ve bulunma oranları (%)

Kombinasyon	Örnek alınan yer	<i>Acremonium fusidioides</i>	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Cerrena unicolor</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Diatrype stigma</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Geosmithia sp.</i>	<i>Neonectria ramularia</i>	<i>Neosetophoma clematidis</i>	<i>Paraconiothyrium fockelii</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Phaeoacremonium</i>	<i>Phoma sp.</i>	<i>Pseudogymnoascus</i>	<i>Sarocladium strictum</i>	<i>Sterile White Basidiomyceto</i>
1103 Paulsen / Narince	Çeşit (aşılı)							6.1	4.1						2.0					79.6
	Anaç (aşılı)		4.1	32.7	2.0			28.6							4.1					
	Anaç		10.2					14.3		2.0					28.6			2.0		
5BB / Narince	Çeşit (aşılı)		2.0	24.5		4.1		14.3												
	Anaç (aşılı)			6.1				10.2					2.0		2.0		2.0			
	Anaç		2.0	8.2		2.0		2.0			2.0					6.1		6.1		
110 R / Narince	Çeşit (aşılı)	2.0	8.2	28.6		8.2		8.2	2.0	20.4										
	Anaç (aşılı)		4.1	20.4				6.1							4.1			2.0		
	Anaç		2.0	2				2.0							4.1	2.0				
41B / Narince	Çeşit (aşılı)			12.2				2.0				2.0		4.1						61.2
	Anaç (aşılı)		4.1			20.4		2.0											6.1	2.0
	Anaç		8.2	8.2			16.2	4.1				6.1				2.0				

Çizelge 4.7. Asma anaçlarında endofitik funguslar ve bulunma oranları (%)

ÇEŞİT	<i>Acremonium fusidioides</i>	<i>Acremonium aegyptiacum</i>	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Alternaria infectoria</i>	<i>Athelia bombacina</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Cadophora luteo-olivacea-</i>	<i>Cerreia unicolor</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Geosmithia sp.</i>	<i>Neonectria ramularia</i>	<i>Paraconiothyrium fückelii</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	<i>Pseudogymnosus pannorum</i>	<i>Sterile White Basidiomycetou</i>
140 Ru				20.4	16.3			2.1		2.0							4.1		
110 R			2.0	2.0						2.0						4.1	2.0		
1103 P			10.2							14.3	2.0					28.6		2.0	
41B			8.2	8.2					16.2	4.1				6.1			2.0		
Fercal			2.0			8.2				2.0							2.0		
5 BB			2.0	8.2			2.0			2.0			2.0				6.1	6.1	
44-53			2.0	20.4			4.1			40.8						28.6			
1613 C	14.3		4.1	8.2						6.1			2.0		4.1	4.1	4.1		
1616 C		4.1		36.7				2.1		6.1						20.4		4.1	
Harmony			2.0	44.9						14.3		8.2							6.1

Yöresel üzüm çeşitlerinde (2. grup) yapılan izolasyonda; 10 çeşitte *Sterile White Basidiomycetous*; 9 çeşitte *Aureobasidium pullulans*; 8 çeşitte *Alternaria alternata*; 7 çeşitte *Cladosporium cladosporioides* ve 4 çeşitte de *Diatrype stigma* türleri saptanmıştır. *Penicillium* sp. üç çeşitte; *Aspergillus* sp, *Athelia bombacina*, *Epicoccum nigrum* ve *Oidiodendron cerealis* türleri iki çeşitte; *Alternaria infectoria*, *Fusarium equiseti*, *Neonectria ramularia*, *Neosetophoma italica*, *Paraconiothyrium fuckelii*, *Penicillium communae*, *Phoma* sp. ve *Pseudogymnoascus pannorum* türleri ise sadece bir çeşitte belirlenmiştir. Horoz Paşa üzüm çeşidinde sadece bir adet endofitik tür (*Aureobasidium pullulans*) belirlenirken, izabel, Kara üzüm ve Meme üzümünde altışar tür belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Narince üzüm çeşidine ait klonlarda (3. grup) yapılan izolasyonda; 16 klon adayında *Sterile White Basidiomycetous*; 15 klon adayında *Aureobasidium pullulans*; 13 klon adayında *Cladosporium cladosporioides*; 11 klon adayında *Penicillium* sp.; 10 klon adayında *Alternaria alternata* türleri saptanmıştır. *Pseudogymnoascus pannorum* ve *Sarocladium strictum* üç klon adayında; *Acremonium sclerotigenum*, *Aspergillus niger* ve *Epicoccum nigrum* iki klon adayında belirlenirken *Athelia bombacina*, *Botryosphaeria dothidea*, *Diatrype stigma*, *Neosetophoma clematidis* ve *Phaeoacremonium aleophilum* ise sadece bir klon adayında belirlenmiştir. 17 nolu klon adayında sadece bir adet endofitik tür (*Aureobasidium pullulans*) belirlenirken 12 nolu klon adayında 6 tür belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Farklı anaçlara aşılı Narince üzüm çeşidinden (4. grup) yapılan izolasyonda; bütün anaç ve anaç/çeşit kombinasyonlarında *Cladosporium cladosporioides* endofitik fungusuna rastlanmıştır. Fakat *C. cladosporioides* 1103 Paulsen/Narince aşılı fidan kombinasyonunun anaç kısmında (%28.0) ve 5 BB/Narince aşılı fidan kombinasyonunun çeşit kısmında (%14.3) yüksek yoğunlukta belirlenirken 41B/Narince kombinasyonunun hem anaç hem de çeşit kısmında (%2.0) düşük yoğunlukta belirlenmiştir. *Alternaria alternata* 5BB/Narince ve 110R/Narince ye ait bütün anaç ve anaç/çeşit kombinasyonlarında belirlenirken sadece 1103 Paulsen/Narince kombinasyonunun anaç kısmında, 41 B/Narince kombinasyonunun sadece çeşit kısmı ile aşısız anaçlarından izole edilmiştir. Belirlenen türler içerisinde *Alternaria alternata* 5 BB ve aşılı kombinasyonunda, 110 R ve aşılı kombinasyonunda; *Penicillium* sp. 1103 Paulsen ve

aşılı kombinasyonunda birlikte belirlenmiştir. Fakat *Acremonium fusidioides* (110R/Narince nin çeşit kısmında), *Aspergillus niger* (1103 Paulsen/Narince'nin anaç kısmında), *Cerrena unicolor* (aşısız 41 B anacında), *Geosmithia* sp. (aşısız 5BB anacında), *Neosetophoma clematidis* (5BB/Narince'nin anaç kısmında), *Paraconiothyrium fuckelii* (41 B/Narince'nin çeşit kısmında), *Phoma* sp. (5BB/Narince'nin anaç kısmında), *Sarocladium strictum* (41B/Narince çeşidinin anaç kısmında) sadece bir yerde belirlenmiştir (Çizelge 4.6)

Asma anaçlarında (5. grup) yapılan izolasyonda; *Cladosporium cladosporioides* bütün anaçlarda belirlenirken yoğunluk en fazla 44-53 anacında (%40.8) ortaya çıkmıştır. *Acremonium sclerotigenum* ve *Alternaria alternata* türleri de anaçların büyük çoğunluğunda görülmüştür. Bu çalışmada materyal olarak kullanılan 1613 C anacı 8 adet ile en fazla endofitik tür barındıran bitki olmuştur. *A. fusidioides* (1613 C anacı), *Acremonium aegyptiacum* (1616 C anacı), *Alternaria infectoria* (140 Ru. anacı), *Athelia bombacina* (Fercal anacı), *Cerrena unicolor* (41 B anacı), *Epicoccum nigrum* (1103 P anacı), *Fusarium acuminatum* (Harmony anacı), *Neonectria ramularia* (41 B anacı), *Paraconiothyrium fuckeli* (1613 C anacı) ve Sterile White Basidiomycetous (Harmony anacı) türleri sadece bir anaçta belirlenmiştir (Çizelge 4.7)

Asmalarda endofitik fungus türlerinin ve yoğunluğunun belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalarda; örneklerin alınma zamanına göre (Renouf ve ark., 2005; Krol, 2006), üzüm çeşitlerine göre (Renouf ve ark., 2005; Casieri ve ark., 2009; Gonzalez ve Tello, 2011; Cosoveanu ve ark., 2014; Abdullah ve ark., 2015; Kunová ve ark., 2018), örneklerin alınma yerine göre (sürgün, yaprak veya meyve gibi) (Musetti ve ark., 2009; Gonzalez ve Tello, 2011; Oliveira ve ark., 2018), omca yaşına göre (Bruez ve ark., 2016), bağda geleneksel veya organik tarım uygulamalarına göre (Renouf ve ark., 2005; Pancer ve ark., 2012; Varanda ve ark., 2016; Kernaghan ve ark., 2017), yabani veya kültür forma göre (yabani formlarda daha çok olduğu) (Kernaghan ve ark., 2017), üzümün yetiştirildiği coğrafik bölgeler göre (Görür, 2019) endofitik çeşitliliğin değişebileceği yönünde çalışmalar vardır. Bununla birlikte bazı çalışmalar endofitik flora üzerine üzüm çeşitlerinin etkili olmadığını da (Varanda ve ark., 2016) belirtmektedir.

Çalışmada bulunmuş olan türlerden *Acremonium* (González ve Tello, 2011; Brum ve ark., 2012; Giambra ve ark., 2015; Rezgui ve ark., 2018), *Alternaria* (Krol, 2006; Casieri ve

ark., 2009; Varanda ve ark., 2016; Oliveira ve ark., 2018; Rezgui ve ark., 2018; Almeida ve ark., 2020), *Aspergillus* (Pszczółkowski ve ark., 2001; Abdullah ve ark., 2015; Almeida ve ark., 2020), *Aureobasidium* (Musetti ve ark., 2009; Parafati ve ark., 2015; Pinto ve ark., 2018; Görür, 2019), *Botryosphaeria* (Phillips, 1998; Casieri ve ark., 2009; Úrbez-Torres ve ark., 2006; Yan ve ark., 2012), *Cytospora* (Hergholi ve ark., 2015; Almeida ve ark., 2020), *Diatrype* (Trouillas ve ark., 2010a,b), *Epicoccum* (Kortekamp, 1997; Gonzalez ve Tello, 2011; Varanda ve ark., 2016; Almeida ve ark., 2020), *Fusarium* (Farashiani ve ark., 2012; Abdullah ve ark., 2015; Almeida ve ark., 2020), *Geosmithia* (Hergholi ve ark., 2015), *Penicillium* (Soytong ve ark., 2005; Casieri ve ark., 2009; Almeida ve ark., 2020), *Pestalotiopsis* (Almeida ve ark., 2020), *Phaeoacremonium* (Farashiani ve ark., 2012; Úrbez-Torres ve ark., 2014; Raimondo ve ark., 2019) ve *Phoma* (Pszczółkowski ve ark., 2001; Farashiani ve ark., 2012; Kunová ve ark., 2018; Li ve ark., 2020) türleri bağcılıkta endofitik funguslar üzerinde yapılan çalışmalarda da bulunmuş ve literatürde belirtilmiştir.

Çalışmaya konu olan standart sofralık üzüm çeşitlerinden 12 tanesi çekirdekli 5 tanesi ise çekirdeksizdir. *Alternaria alternata* türü bütün çekirdeksiz üzümlerde (Crimson Seedless, Flame Seedless, Sultani Çekirdeksiz, Superior Seedless ve Tekirdağ Çekirdeksiz) belirlenirken çekirdekli üzümlerden sadece Horoz Karası ve Lival çeşidinde belirlenmiştir. *Acremonium fusidioides*, *Penicillium* sp. ve *Phaeoacremonium minimum* sadece renkli üzümlerde belirlenirken *Acremonium hyalinulum* ise sadece beyaz çeşitlerde belirlenmiştir.

Yöresel üzüm çeşitlerinden beyaz renkli Boduroğlu ve Meme üzümünde *Epicoccum nigrum* türü belirlenirken renkli üzümlerde belirlenememiştir. Çeşitlerin 7 tanesi Ağustos, 10 tanesi de Eylül ayında olgunlaşmaktadır. Eylül ayında olgunlaşan Topbaş ve İzabel çeşitlerinde *Aspergillus* sp. belirlenirken Ağustos ayında olgunlaşanlarda belirlenememiştir.

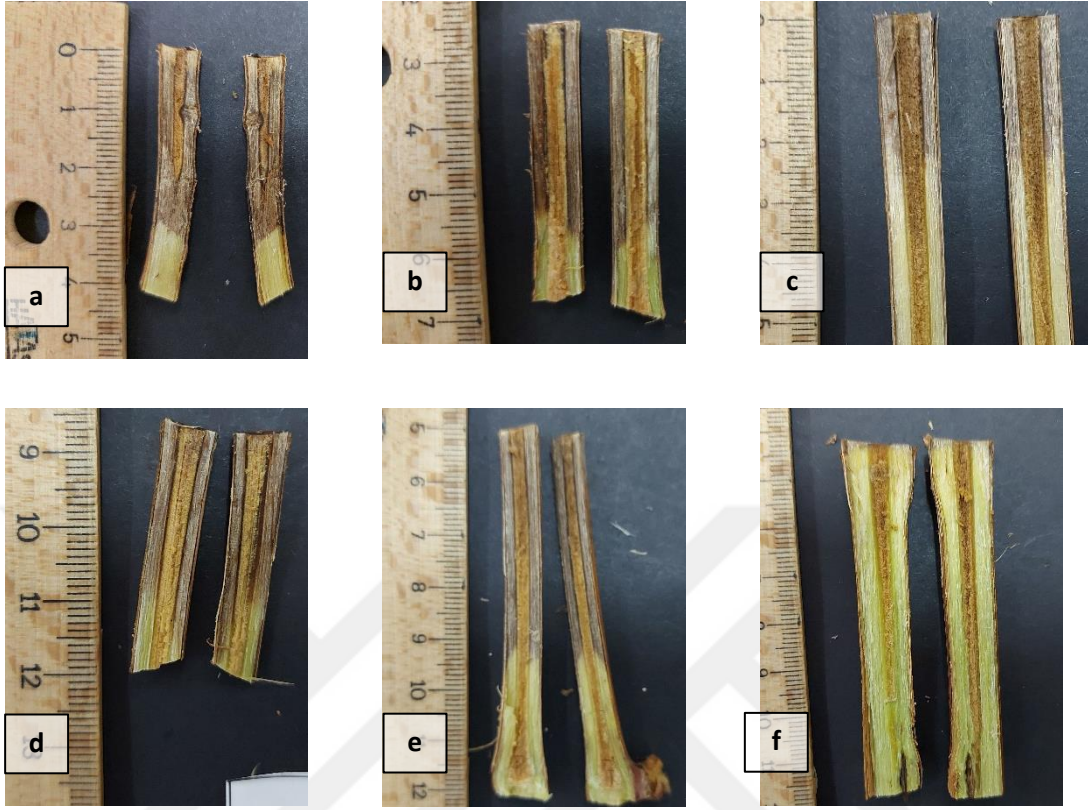
Anaçları genel özelliklerine göre sınıflandırdığımızda kuraklığa dayanıklı olan (140 Ru., 110 R ve 1103 P) anaçlarda *Alternaria infectoria* ve *Epicoccum nigrum*; kirece dayanıklı olan (41 B ve Fercal) anaçlarda *Athelia bombacina*, *Cerrena unicolor* ve *Neonectria ramularia*; nematodlara dayanıklı olan anaçlarda (1613 C, 1616 C ve Harmony) ise

Acremonium fusidioides, *Acremonium aegyptiacum*, *Fusarium acuminatum*, *Paraconiothyrium fuckelii* ve Sterile White *Basidiomycetous* türleri saptanmıştır.

4.2. Patojenisite Testi Sonuçları

Patojenite testinden amaç; izole edilen fungus türünün çalışma konusu olan bitki için patojen olup olmadıkları; patojen ise virülenslik durumlarını belirlemektir. Omcalarda yapılan patojenite testleri farklı şekillerde yapılabilmektedir. Çalışma materyali olarak çoğunlukla *Vitis vinifera* L. türüne ait çeşitlerin verim çağındaki omcaları, 1-3 yaşlı tüplü fidanları veya bir yıllık sürgünleri kullanılır. Petrilerde PDA ortamında yetiştirilen fungusların 5-8 mm çapındaki agar parçaları, yeni kesilmiş sürgün uçlarına veya kalemde açılan bir deliğin içerisine yerleştirilir ve üzeri vazelin ve/veya streç film/parafilm ile kaplanır. Sıcaklık ve nem kontrollü ortamlarda (25 °C sıcaklık, %80-95 nispi nem, 12 saat aydınlık/karanlık) 2 hafta ile 3 ay arası bekletilen bitkisel materyalin inokülasyon noktaları açılarak, etmenin başlangıç noktasından ne kadar ilerlediği (lezyon uzunlukları) belirlenir.

Çalışmada tanısı yapılan fungusların patojenik durumlarını belirlemeye yönelik olarak Narince üzüm çeşidine ait kışlık sürgünler kullanılmıştır. Patojenite testine 30 türe ait izolatlar kullanılmıştır. İnokulasyondan 90 gün sonra odun dokuda lezyon oluşturma durumları belirlenmiş (Şekil 4.7) ve meydana gelen lezyon uzunlukları ölçülmüştür (Çizelge 4.8). Patojenite test sonuçlarında *Acremonium aegyptiacum*, *A. fusidioides*, *A. sclerotigenum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus piperis*, *Athelia bombacina*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cytospora salicacerum*, *Epicoccum nigrum*, *Neosetophoma clematidis*, *Oidiodendron cerealis*, *Penicillium commune*, *Pseudogymnoascus pannorum*'da herhangi bir lezyon oluşumu gözlemlenmemiştir. Lezyon meydana getirmeyen bu türlerin önemli bir kısmı biyolojik mücadele ajanı olarak çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır. Virülent olduğu düşünülen funguslarda lezyon uzunlukları 6-65 mm arasında değişkenlik göstermiştir. En virülent fungus 65 mm ile *Botryosphaeria dothidea*'da meydana gelirken en az lezyon uzunluğu 6 mm ile *Neonectria ramularia*'da belirlenmiştir (Çizelge 4.8)



Şekil 4.7. İnokülasyon sonrası meydana gelen lezyon uzunlukları
(a) *Truncatella angustata* b) *Diatrype stigma* c) *Cytospora salicacearum* d) *Cadophora luteo-olivacea* e) *Botryosphaeria dothidea* f) kontrol

Patojenite testlerinde ölçülen lezyon uzunlukları çeşitli faktörler tarafından etkilenebilmektedir.

Úrbez-Torres ve ark. (2009) *Neofusicoccum parvum* (UCD642So), *Botryosphaeria dothidea* (UCD1181Me) ve *Diplodia seriata* (UCD352Mo) ya ait izolatları Red Globe ve Syrah üzüm çeşitlerine ait omcalarda patojenite testine tabii tutmuşlardır. İzolatların lezyon uzunlukları çeşitlere göre *N. parvum*'da 75.1- 63.8 mm, *B. dothidea*'da 47.8-42.6 mm, *D. seriata*'da 40.2 - 35.9 mm arasında değişmiştir. Bu durumun çeşitlerin duyarlılık derecesinden kaynaklandığı söylenebilir. Nitekim Güler ve Akgül (2020) 49 nolu *N. parvum* izolatını 11 üzüm çeşidinde meydana getirdiği lezyon uzunluklarının değişebildiğini, lezyon uzunluğu en az olan Cardinal (12.5 mm) çeşidinin daha tolerant olabileceğini bildirmiştir. Yine Güler ve Akgül (2020) 4 farklı *N. parvum* izolatını Prima çeşidinde patojenite testine tabii tutmuş ve lezyon uzunluklarının 9 mm (İzolat no: 84) ile

47.4 mm (izolat no: 49) arasında değiştiğini, lezyon uzunluğu fazla olan 49 nolu izolatin daha virulent olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 4.8. Çalışmada elde edilen fungus türlerinin odun dokuda meydana getirdiği lezyon uzunlukları

Funguslar	Lezyon uzunluğu (mm)	Funguslar	Lezyon uzunluğu (mm)
<i>Acremonium aegyptiacum</i>	1.2	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	65.0
<i>Acremonium fusidioides</i>	1.3	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	45.0
<i>Acremonium hyalinum</i>	0.9	<i>Cytospora</i> sp.	21.9
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	1.5	<i>Cytospora salicacearum</i>	23.6
<i>Alternata alternata</i>	1.3	<i>Diatrype stigma</i>	25.0
<i>Alternata infectoria</i>	1.1	<i>Neonectria ramularia</i>	6.0
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0.9	<i>Truncatella angustata</i>	24.8
<i>Aspergillus piperis</i>	1.3		
<i>Athelia bombacina</i>	0.9		
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1.0		
<i>Cerrena unicolor</i>	1.2		
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1.0		
<i>Epicoccum nigrum</i>	1.5		
<i>Fusarium avenaceum</i>	1.6		
<i>Neosetophoma clematidis</i>	1.6		
<i>Neosetophoma italica</i>	1.5		
<i>Oidiodendron cerealis</i>	1.9		
<i>Paraconiothyrium fuckelii</i>	1.3		
<i>Penicillium commune</i>	0.9		
<i>Phoma tropica</i>	1.5		
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	1.1		
<i>Sarocladium strictum</i>	1.2		
<i>Stemphylium vesicarium</i>	1.4		

Trouillas ve Gubler (2010a,b), *Diatrypaceae* cinsine ait türlerde patojenite testleri yapmışlardır. Uygulamaları aralık ayında budama sonrası (budama yaralarına inokülasyon); şubat ayında dormant kalemlere ve haziran ayında yeşil sürgünlere yapmışlardır. Çalışmaya konu olan türlerde ve izolatlarda uygulama zamanlarına göre farklılıklar meydana gelmiştir. Örneğin *Diatrype stigma*'nın lezyon uzunlukları budama

sonrası uygulandığında 40.0 mm, dormant kalemlere uygulandığında 50.0 mm, yeşil sürgünlere uygulandığında ise 25.4 mm olarak ölçülmüştür.

Úrbez-Torres ve ark. (2009) tüplü Crimson Seedless çeşidine ait 1 yıllık fidanla yaptıkları patojenite çalışmalarında; *Botryosphaeria dothidea* izolatlarında 86.0-277.8 mm; *Diplodia seriata* da 17.3-148.0 mm; *Neofusicoccum parvum* da 178.0-335.7 mm arasında lezyon uzunluklarının değiştiğini bildirmişlerdir. Tez çalışmasında elde ettiğimiz sonuçlarda patojenik türlerin lezyon oluşturması, yukarıda bahsedilen önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Değerlendirme sonucunda herhangi bir lezyon oluşturmayan *Acremonium aegyptiacum*, *A. fusidioides*, *A. hyalinum*, *A. sclerotigenum*, *Alternata alternata*, *Alternata infectoria*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus piperis*, *Athelia bombacina*, *Aureobasidium pullulans*, *Cerrena unicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium avenaceum*, *Neosetophoma clematidis*, *Neosetophoma italica*, *Oidiodendron cerealis*, *Paraconiothyrium fuckelii*, *Penicillium commune*, *Phoma tropica*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Sarocladium strictum* ve *Stemphylium vesicarium* fungusları, lezyon oluşturan *Botryosphaeria dothidea*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Cytospora* sp., *Diatrype stigma* ve *Truncatella angustata* ikili kültür çalışmasında kullanılmak üzere seçilmişlerdir.

4.3. In vitro koşullarda endofitik fungusların antogonistik etkileri

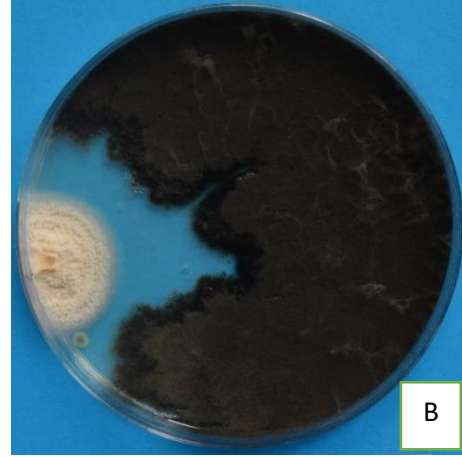
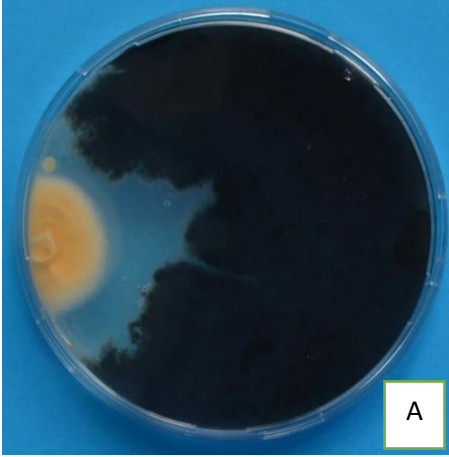
Çalışmada elde edilen endofitik fungus izolatlarının (*Acremonium aegyptiacum*, *A. fusidioides*, *A. hyalinum*, *A. sclerotigenum*, *Aspergillus piperis*, *Athelia bombacina*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium avenaceum*, *Neosetophoma clematidis*, *Oidiodendron cerealis*, *Penicillium commune*, *Pseudogymnoascus pannorum* ve *Sarocladium strictum*) PDA ortamında, patojenlerle (*Botryosphaeria dothidea*, *Cadophora lutea-olivacea*, *Cytospora salicacearum*, *Diatrype stigma* ve *Truncatella angustata*) olan etkileşimleri sırasıyla aşağıda verilmiştir.

4.3.1. Endofitik fungusların *Botryosphaeria dothidea*'nın miseliyal gelişimi üzerine antagonistik etkileri

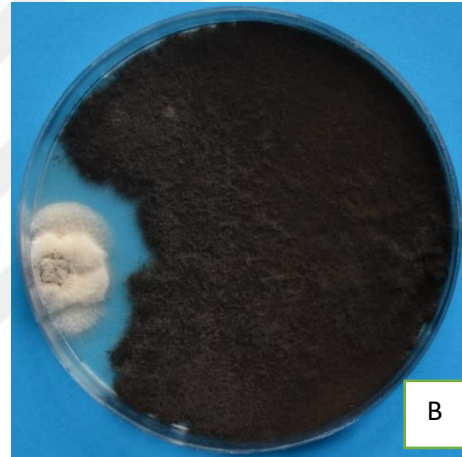
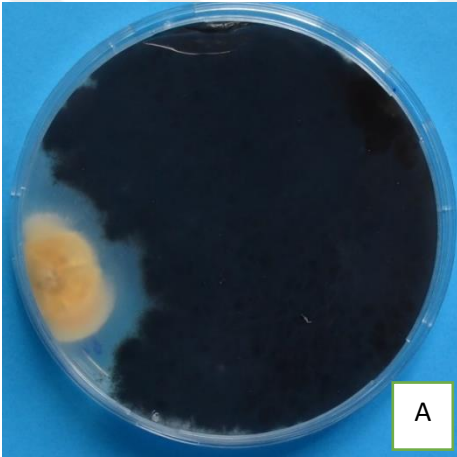
B. dothidea ile endofitik funguslar arasındaki engelleme mesafeleri (inhibasyon zonu) Çizelge 4.9'da; PDA ortamında ikili kültür görünüşleri ise Şekil 4.8-4.18'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan endofitik funguslar *B. dothidea*'nin miseliyal büyümesini 0.00-13.33 mm arasında inhibe etmiştir. *B. dothidea*'nin büyümesini *Acremonium aegyptiacum* (13.00 mm) ve *Pseudogymnoascus pannorum* (13.33 mm) en fazla engellerken *Penicillium commune* (0.00 mm) ve *Aspergillus piperis*'in (0.37 mm) ise engelleyici özelliklerinin olmadığı belirlenmiştir. *Epicoccum nigrum* (10.00 mm), *Neosetophoma clematidis* (10.00 mm) ve *Sarocladium strictum* (10.00 mm) endofitik türleri *B. dothidea*'nin miseliyal gelişimini engelleyen *A. aegyptiacum* ve *P. pannorum* türleri ile istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır.

Çizelge 4.9. Endofitik fungus türleri ile *B. dothidea* kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm)

Endofitik türler	İki koloni arasındaki inhibasyon mesafesi (mm)
<i>Acremonium aegyptiacum</i>	13.0 a
<i>Acremonium fusidioides</i>	3.3 de
<i>Acremonium hyalinum</i>	2.0 de
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	4.3 cd
<i>Aspergillus piperis</i>	0.4 e
<i>Athelia bombacina</i>	1.7 de
<i>Epicoccum nigrum</i>	10.0 ab
<i>Fusarium avenaceum</i>	13.3 a
<i>Neosetophoma clematidis</i>	10.0 ab
<i>Oididendron cerealis</i>	7.0 bc
<i>Penicillium commune</i>	0.0 e
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	13.3 a
<i>Sarocladium strictum</i>	10.0 ab
<i>LSD</i> (0.05)	3.42



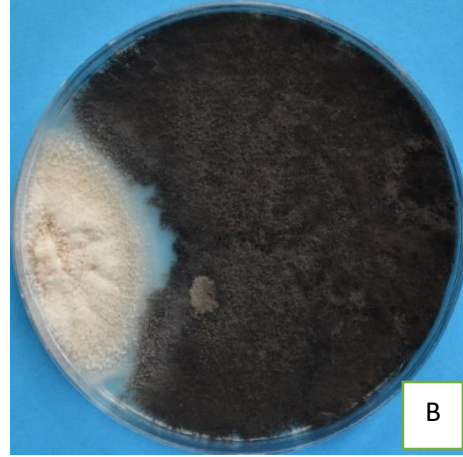
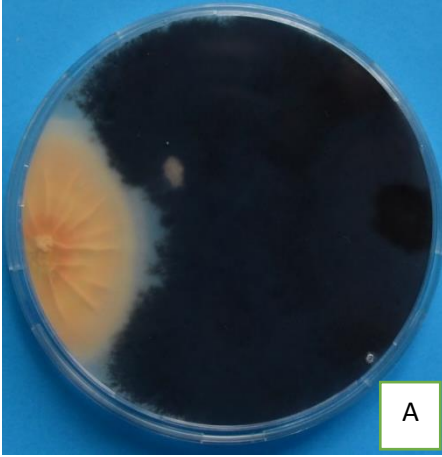
Şekil 4.8. *Acremonium aegyptiacum* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



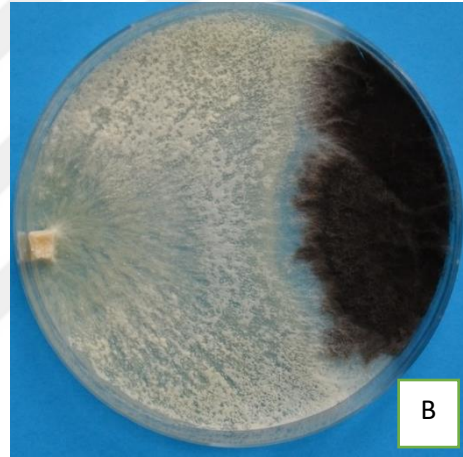
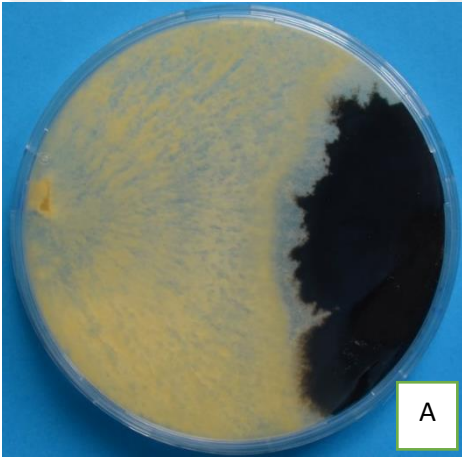
Şekil 4.9. *Acremonium fusidioides* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



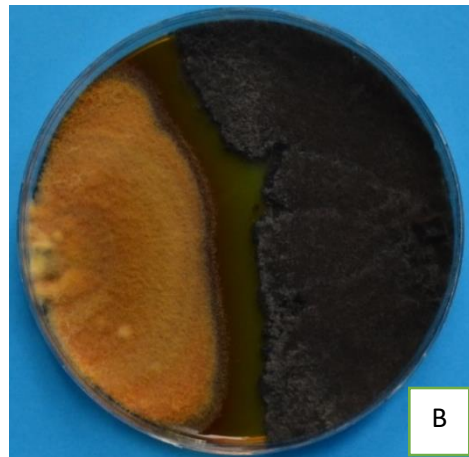
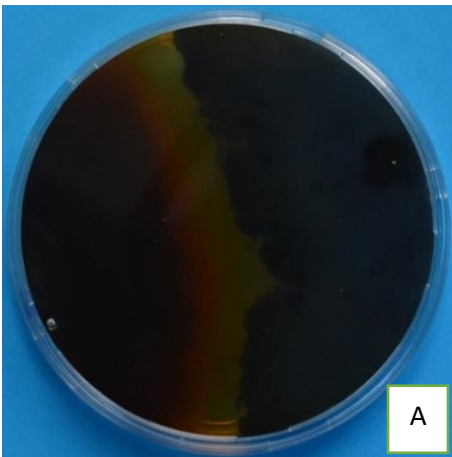
Şekil 4.10. *Acremonium hyalinum* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



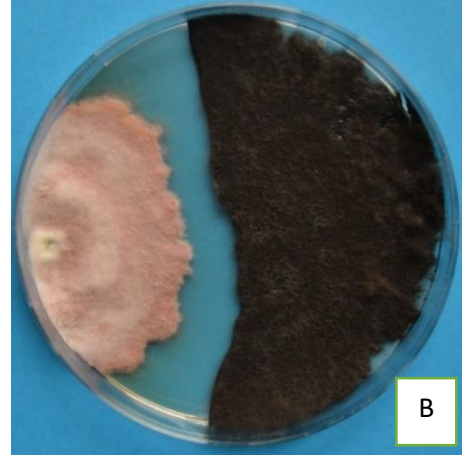
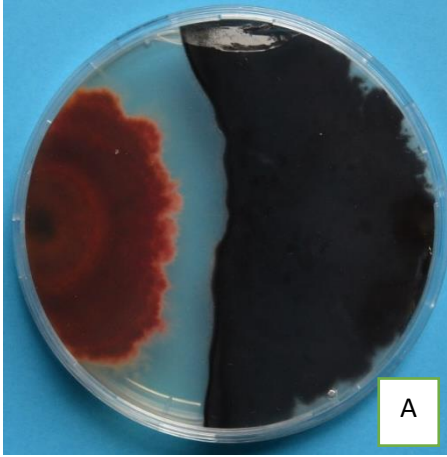
Şekil 4.11. *Acremonium sclerotigenum* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



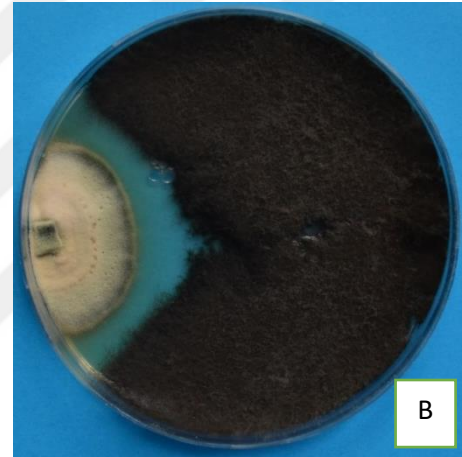
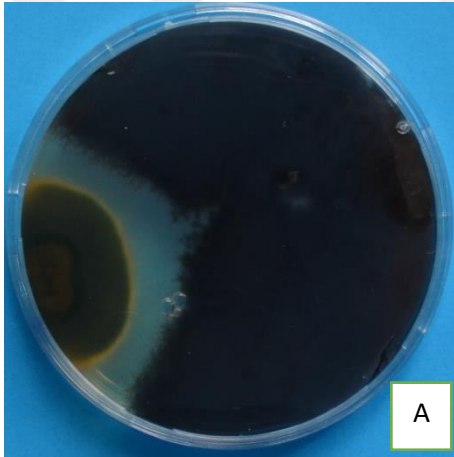
Şekil 4.12. *Athelia bombacina* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



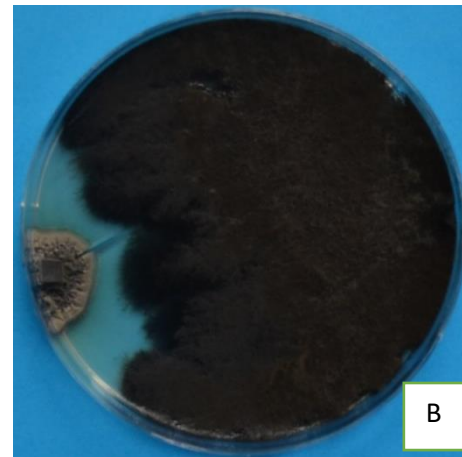
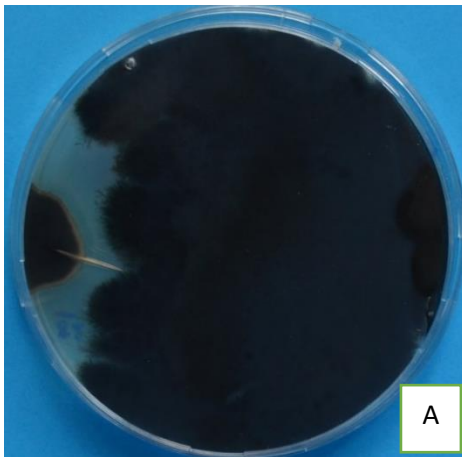
Şekil 4.13. *Epicoccum nigrum* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



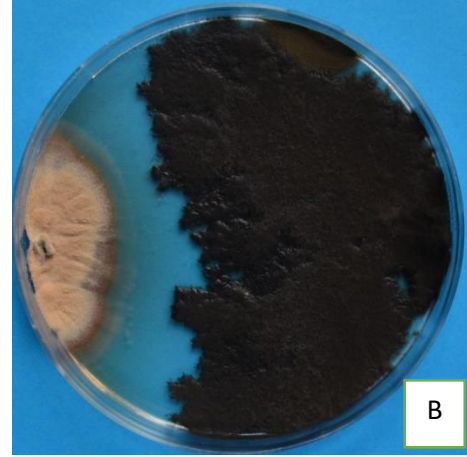
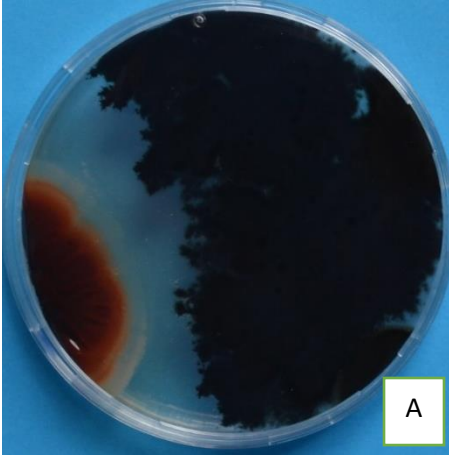
Şekil 4.14. *Fusarium avenaceum* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



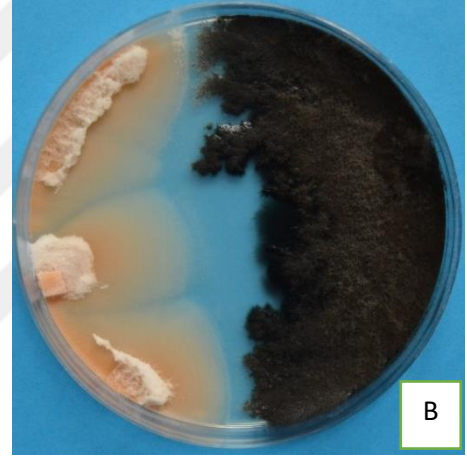
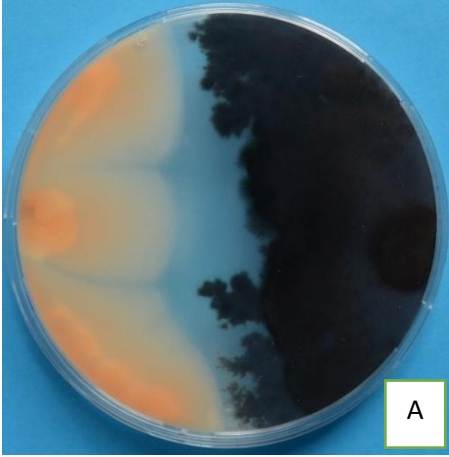
Şekil 4.15. *Neosetophoma clematidis* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.16. *Oididendron cerealis* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.17. *Pseudogymnoascus pannorum* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



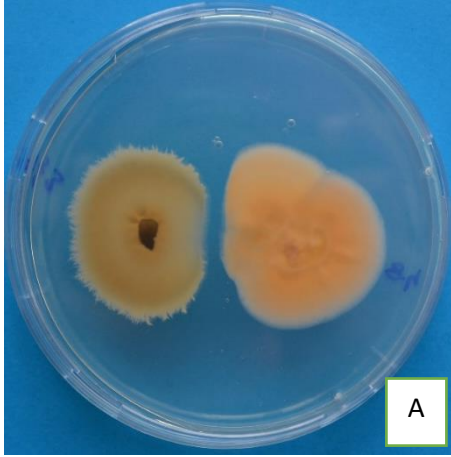
Şekil 4.18. *Sarocladium strictum* ve *Botryosphaeria dothidea* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)

4.3.2. Endofitik fungusların *Cadophora lutea-olivacea*'nın miselyal gelişimi üzerine antagonistik etkileri

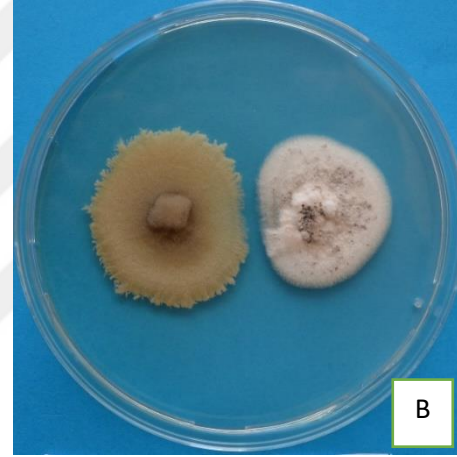
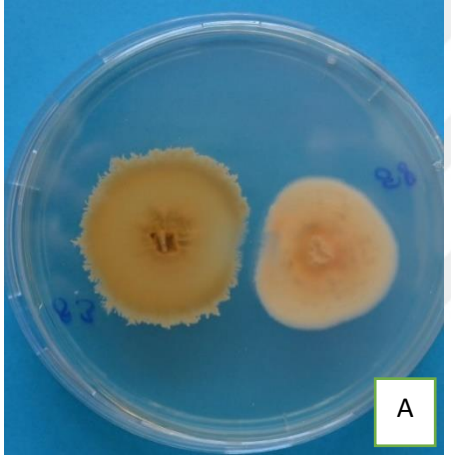
C. lutea-olivacea ile endofitik funguslar arasındaki engelleme mesafeleri (bariyer) Çizelge 4.10'da; PDA ortamında ikili kültür görünüşleri ise Şekil 4.19-4.27'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan endofitik funguslar *C. lutea-olivacea*'nin miselyal büyümesini 0.00-6.33 mm arasında inhibe ederek engellemiştir. *C. lutea-olivacea*'nin büyümesini *Neosetophoma clematidis* (6.33 mm) ve *Oididendron cerealis* (5.00 mm) en fazla engellerken *Acremonium sclerotigenum*, *Aspergillus piperis*, *Athelia bombacina* ve *Penicillium commune*'nin ise engelleyici özelliklerinin olmadığı belirlenmiştir. *Acremonium aegyptiacum*, *Epicoccum nigrum* ve *Pseudogymnoascus pannorum* 3.66 mm ile aynı engelleme seviyesinde etki göstermişlerdir.

Çizelge 4.10. Endofitik fungus türleri ile *C. lutea-olivacea* kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm)

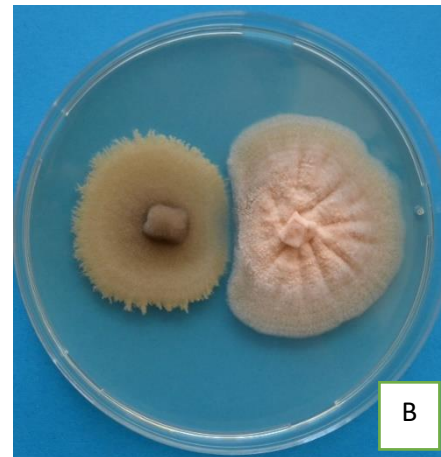
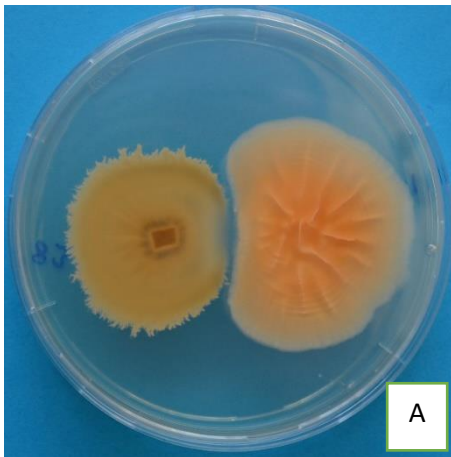
Endofitik türler	İki koloni arasındaki inhibasyon mesafesi (mm)
<i>Acremonium aegyptiacum</i>	3.7 bc
<i>Acremonium fusidioides</i>	3.3 bcd
<i>Acremonium hyalinum</i>	2.3 cd
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	0.0 e
<i>Aspergillus piperis</i>	0.0 e
<i>Athelia bombacina</i>	0.0 e
<i>Epicoccum nigrum</i>	3.7 bc
<i>Fusarium avenaceum</i>	1.7 de
<i>Neosetophoma clematidis</i>	6.3 a
<i>Oididendron cerealis</i>	5.0 ab
<i>Penicillium commune</i>	0.0 e
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	3.7 bc
<i>Sarocladium strictum</i>	1.7 de
LSD (0.05)	1.70



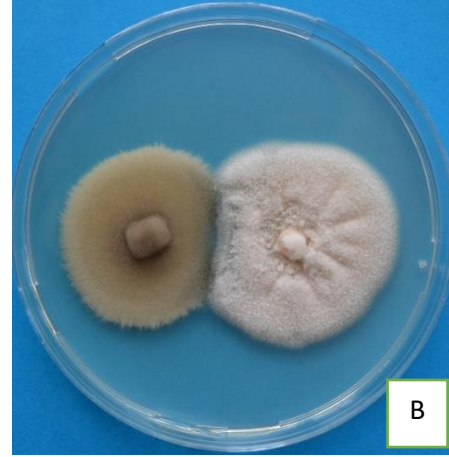
Şekil 4.19. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Acremonium aegyptiacum* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



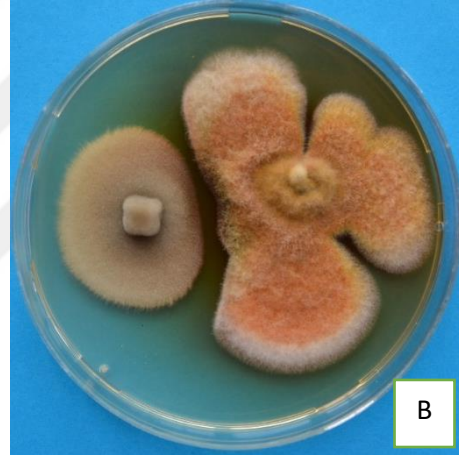
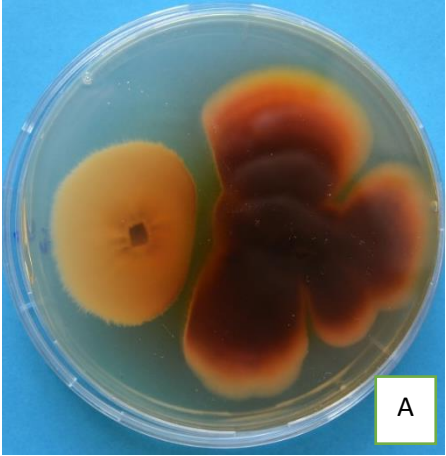
Şekil 4.20. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Acremonium fusidioides* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



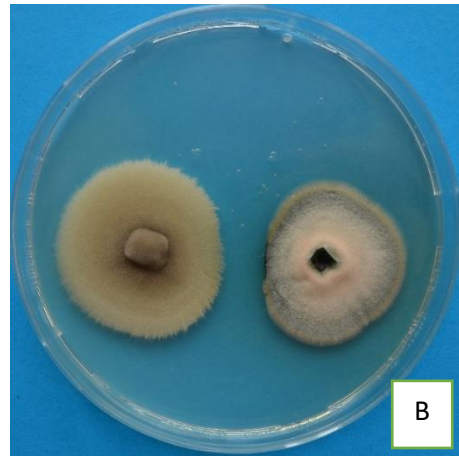
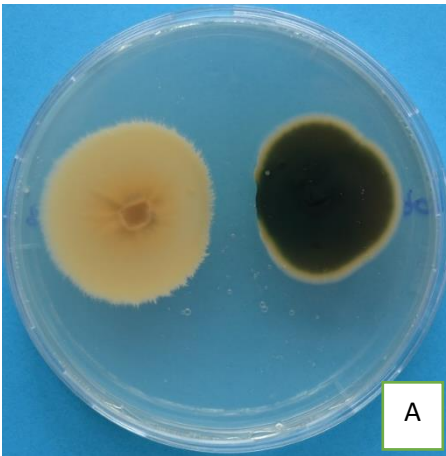
Şekil 4.21. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Acremonium hyalinum* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



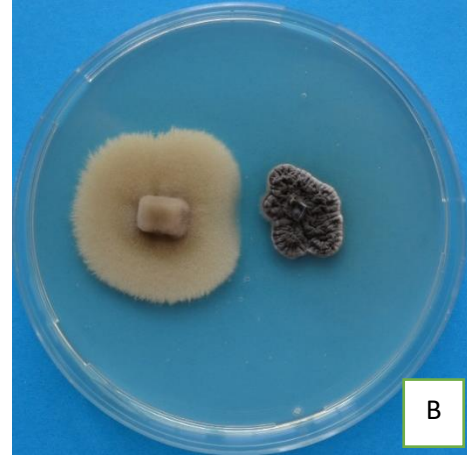
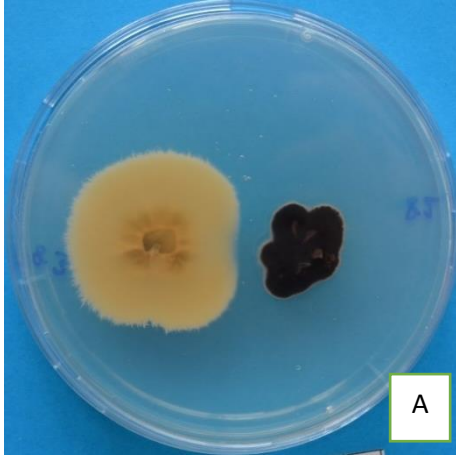
Şekil 4.22. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Acremonium sclerotigenum* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.23. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Epicoccum nigrum* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



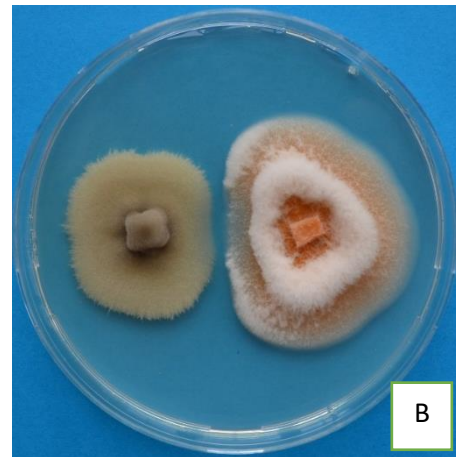
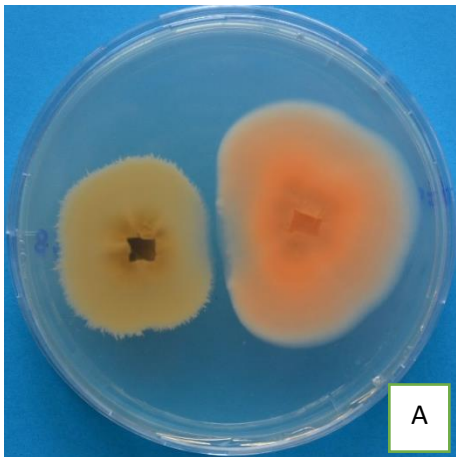
Şekil 4.24. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Neosetophoma clematidis* ikili kültürü (A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.25. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Oididendron cerealis* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.26. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Pseudogymnoascus pannorum* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



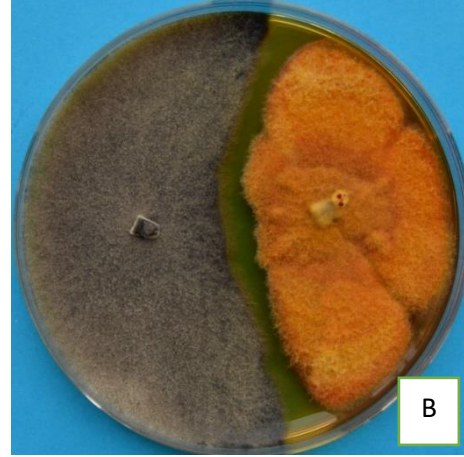
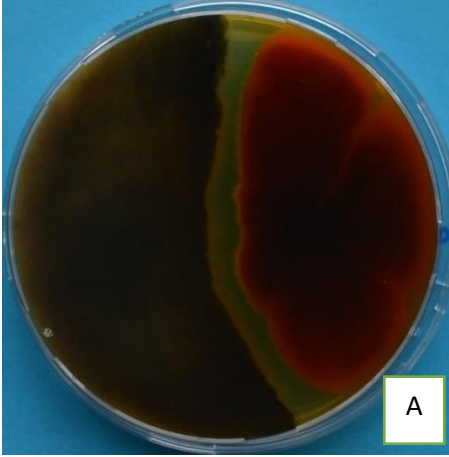
Şekil 4.27. *Cadophora lutea-olivacea* ve *Sarocladium strictum* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)

4.3.3. Endofitik fungusların *Cytospora salicacearum*'un Miselyal Gelişimi Üzerine antagonistik etkileri

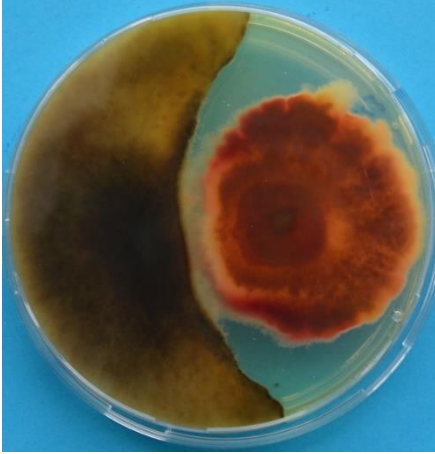
C. salicacearum ile endofitik funguslar arasındaki engelleme mesafeleri (bariyer) Çizelge 4.11'de; PDA ortamında ikili kültür görünüşleri ise Şekil 4.28-4.30'da verilmiştir. Çalışmada kullanılan endofitik funguslar *C. salicacearum*'nin miseliyal büyümesini 0.00-0.73 mm arasında inhibe ederek engellemiştir. *C. salicacearum*'nin büyümesini *Epicoccum nigrum* (0.73 mm) ve *Fusarium avenaceum* (0.50 mm) en fazla engellerken *Acremonium sclerotigenum*, *Aspergillus piperis*, *Athelia bombacina*, *Penicillium commune*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Sarocladium strictum*'un engelleyici özelliklerinin olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. Endofitik fungus türleri ile *C. salicacearum* kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm)

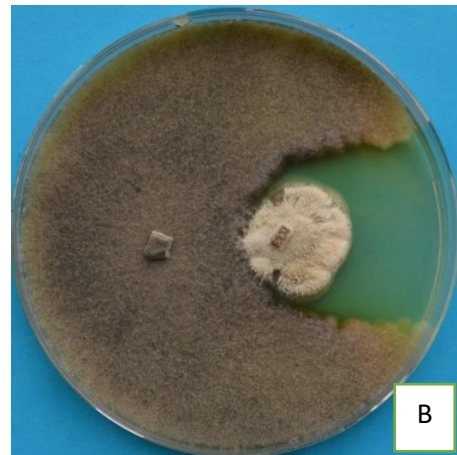
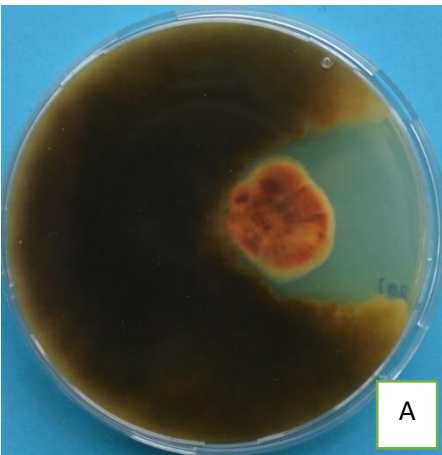
Endofitik türler	İki koloni arasındaki inhibasyon mesafesi (mm)
<i>Acremonium aegyptiacum</i>	0.1 cd
<i>Acremonium fusidioides</i>	0.3 bc
<i>Acremonium hyalinum</i>	0.2 cd
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	0.0 d
<i>Aspergillus piperis</i>	0.0 d
<i>Athelia bombacina</i>	0.0 d
<i>Epicoccum nigrum</i>	0.7 a
<i>Fusarium avenaceum</i>	0.5 ab
<i>Neosetophoma clematidis</i>	0.1 cd
<i>Oididendron cerealis</i>	0.1 cd
<i>Penicillium commune</i>	0.0 d
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	0.0 d
<i>Sarocladium strictum</i>	0.0 d
LSD (0.05)	0.31



Şekil 4.28. *Cytospora salicacearum* ve *Epicoccum nigrum* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.29. *Cytospora salicacearum* ve *Fusarium avenaceum* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



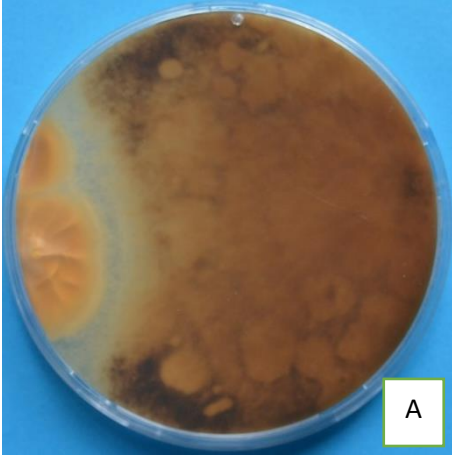
Şekil 4.30. *Cytospora salicacearum* ve *Pseudogymnoascus pannorum* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)

4.3.4. Endofitik fungusların *Diatrype stigma*'nın miselyal gelişimi üzerine antagonistik etkileri

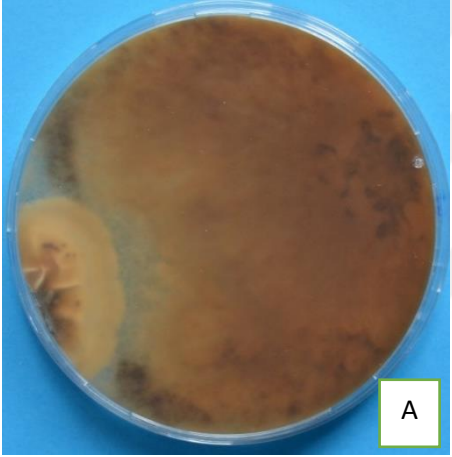
D. stigma ile endofitik funguslar arasındaki engelleme mesafeleri (bariyer) Çizelge 4.12'de; PDA ortamında ikili kültür görünüşleri ise Şekil 4.31-4.40'da verilmiştir. Çalışmada kullanılan endofitik funguslar *D. stigma*'nin miseliyal büyümesini 0.00-5.00 mm arasında inhibe ederek engellemiştir. *D. stigma*'nin büyümesini *Fusarium avenaceum* (5.00 mm) ve *Pseudogymnoascus pannorum* (4.66 mm) en fazla engellerken *Penicillium commune* (0.00 mm) ve *Aspergillus piperis* 'in (0.10 mm) ise engelleyici özelliklerinin olmadığı belirlenmiştir. *Acremonium fusidioides* (2.33 mm) ve *Athelia bombacina* (2.33 mm) endofitik türleri *D. stigma*'nın miseliyal gelişimini engellemede istatistiksel olarak aynı grupta yer almışlardır.

Çizelge 4.12. Endofitik fungus türleri ile *D. stigma* kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm)

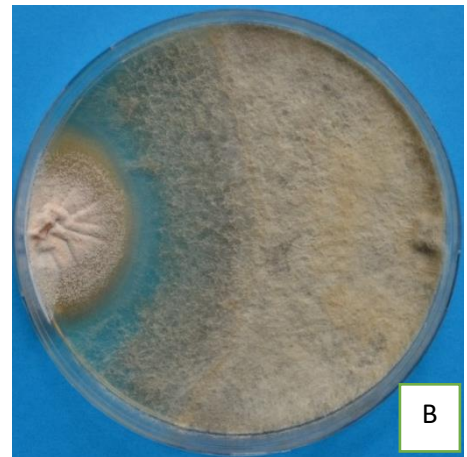
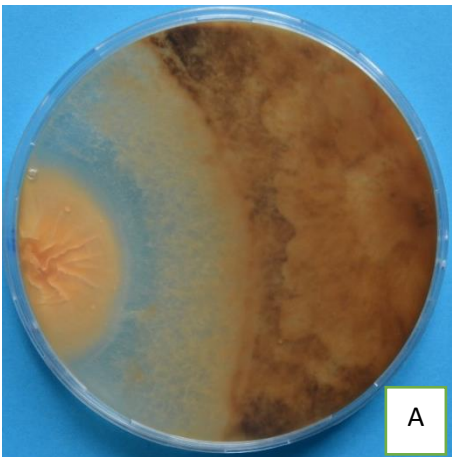
Endofitik türler	İki koloni arasındaki inhibasyon mesafesi (mm)
<i>Acremonium aegyptiacum</i>	2.0 f
<i>Acremonium fusidioides</i>	2.3 ef
<i>Acremonium hyalinum</i>	3.0 def
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	3.3 cde
<i>Aspergillus piperis</i>	0.1 g
<i>Athelia bombacina</i>	2.3 ef
<i>Epicoccum nigrum</i>	3.7 bcd
<i>Fusarium avenaceum</i>	5.0 a
<i>Neosetophoma clematidis</i>	4.3 abc
<i>Oididendron cerealis</i>	4.0 abcd
<i>Penicillium commune</i>	0.0 g
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	4.7 ab
<i>Sarocladium strictum</i>	3.0 def
LSD (0.05)	1.31



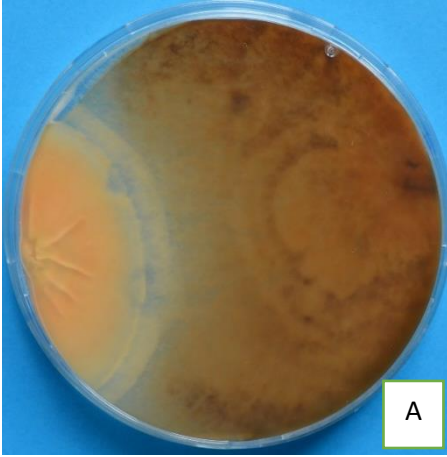
Şekil 4.31. *Acremonium aegyptiacum* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



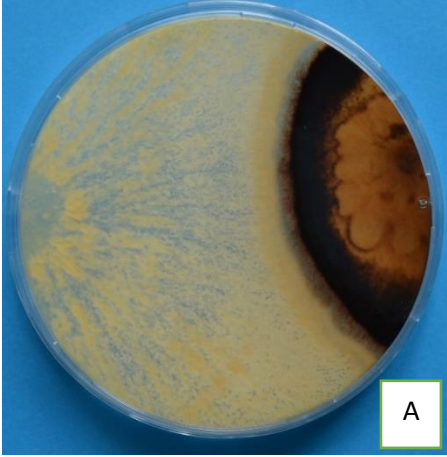
Şekil 4.32. *Acremonium fusidioides* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



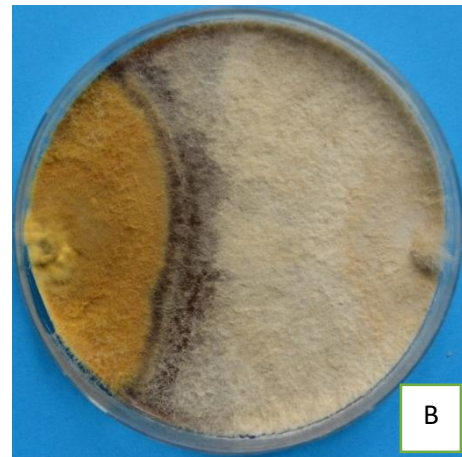
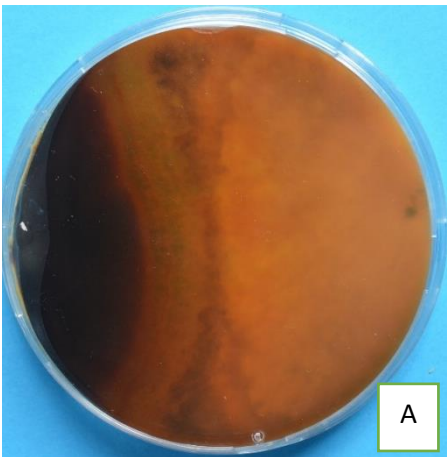
Şekil 4.33. *Acremonium hyalinum* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



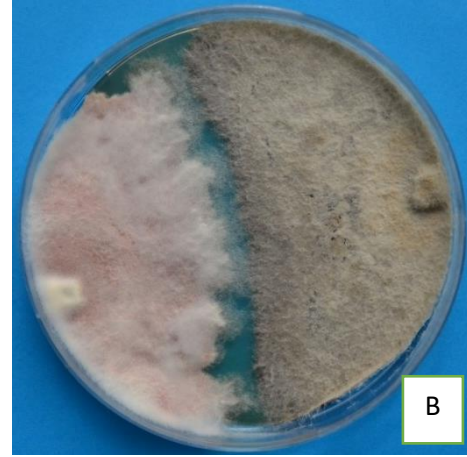
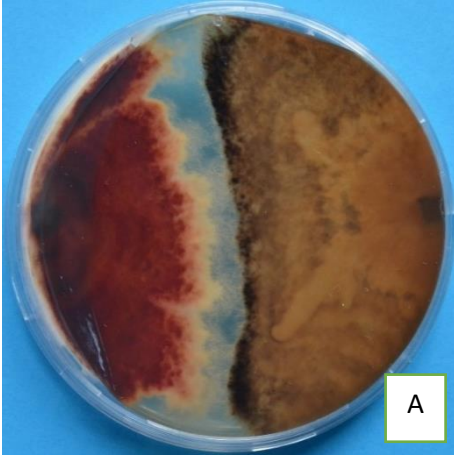
Şekil 4.34. *Acremonium sclerotigenum* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



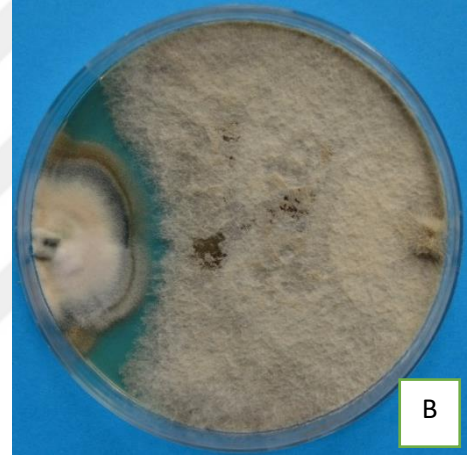
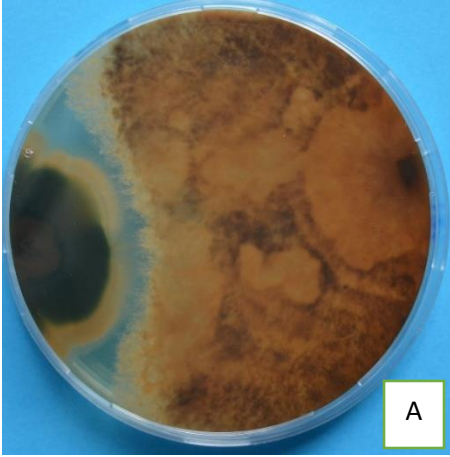
Şekil 4.35. *Athelia bombacina* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



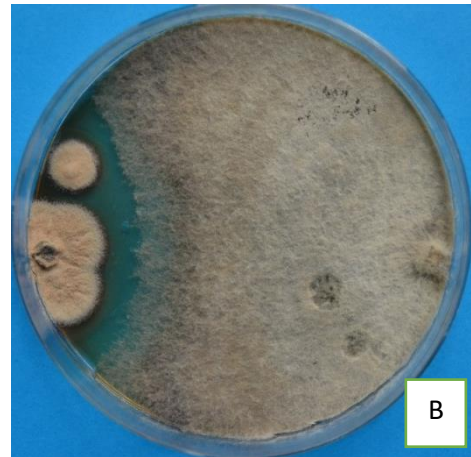
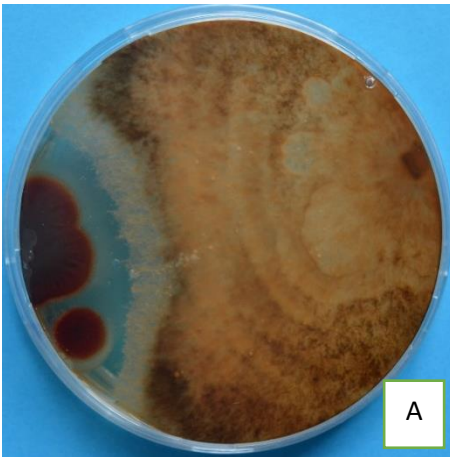
Şekil 4.36. *Epicoccum nigrum* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



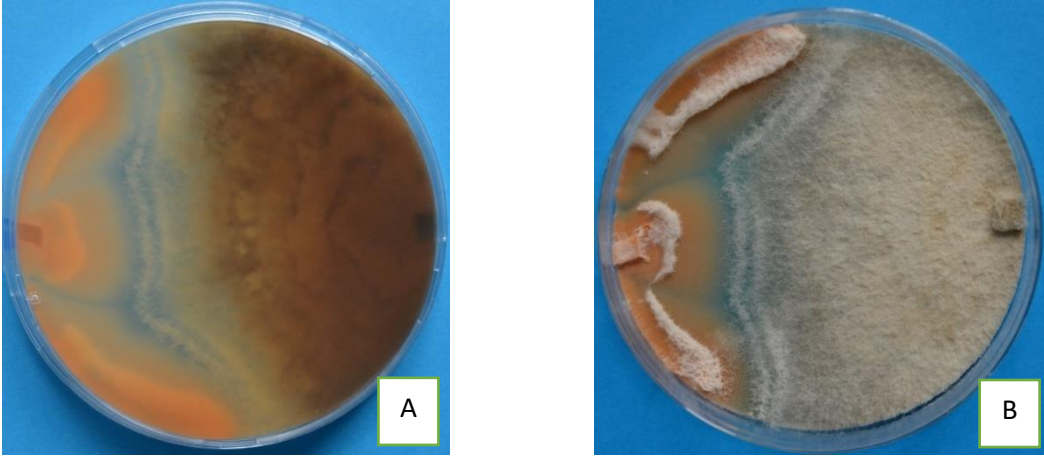
Şekil 4.37 *Fusarium avenaceum* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.38. *Neosetophoma clematidis* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.39. *Pseudogymnoascus pannorum* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



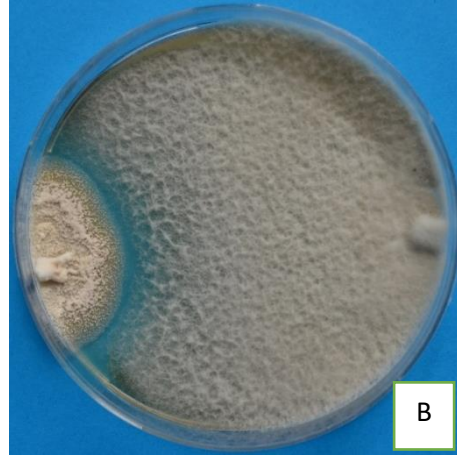
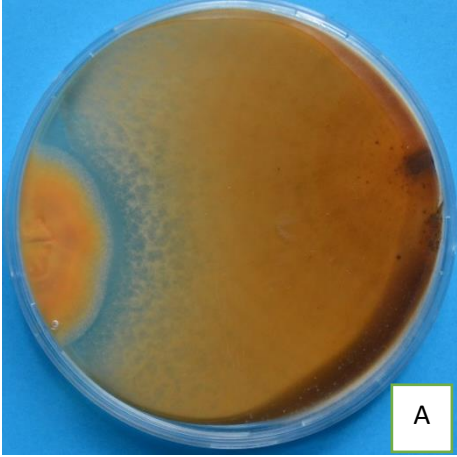
Şekil 4.40. *Sarocladium strictum* ve *Diatrype stigma* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)

4.3.5. Endofitik fungusların *Truncatella angustata*'nın miselyal gelişimi üzerine antagonistik etkileri

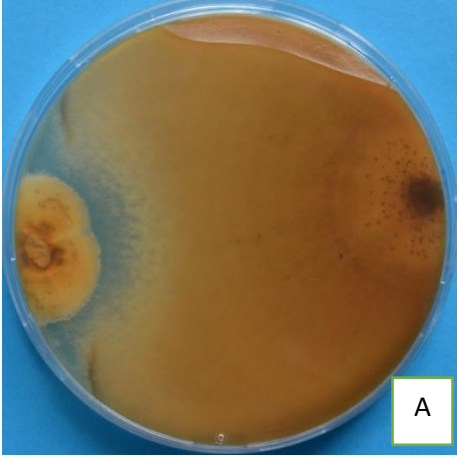
T. angustata ile endofitik funguslar arasındaki engelleme mesafeleri (bariyer) Çizelge 4.13'de; PDA ortamında ikili kültür görünüşleri ise Şekil 4.41-4.51'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan endofitik funguslar *T. angustata*'nın miselyal büyümesini 0.00-8.67 mm arasında inhibe ederek engellemiştir. *T. angustata*'nın büyümesini *Epicoccum nigrum* (8.67 mm) ve *Fusarium avenaceum* (7.00 mm) en fazla engellerken *Penicillium commune* (0.00 mm) ve *Aspergillus piperis*'in (0.36 mm) ise engelleyici özelliklerinin olmadığı belirlenmiştir. *Acremonium hyalinum* (4.66 mm) ve *Acremonium sclerotigenum* (4.33 mm) endofitik türleri *T. angustata*'nın miselyal gelişimini engellemede istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır.

Çizelge 4.13. Endofitik fungus türleri ile *T. angustata* kolonileri arasındaki engelleme zonu uzunlukları (mm)

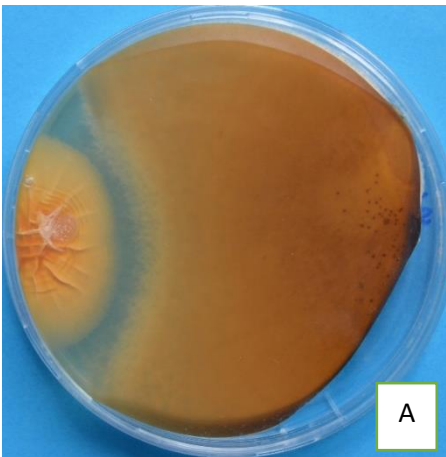
Endofitik türler	İki koloni arasındaki inhibasyon mesafesi (mm)
<i>Acremonium aegyptiacum</i>	2.3 ef
<i>Acremonium fusidioides</i>	2.0 fg
<i>Acremonium hyalinum</i>	4.7 d
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	4.3 d
<i>Aspergillus piperis</i>	0.4 gh
<i>Athelia bombacina</i>	6.7 bc
<i>Epicoccum nigrum</i>	8.7 a
<i>Fusarium avenaceum</i>	7.0 ab
<i>Neosetophoma clematidis</i>	4.0 de
<i>Oididendron cerealis</i>	5.0 cd
<i>Penicillium commune</i>	0.0 h
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	5.3 bcd
<i>Sarocladium strictum</i>	3.7 def
LSD (0.05)	1.80



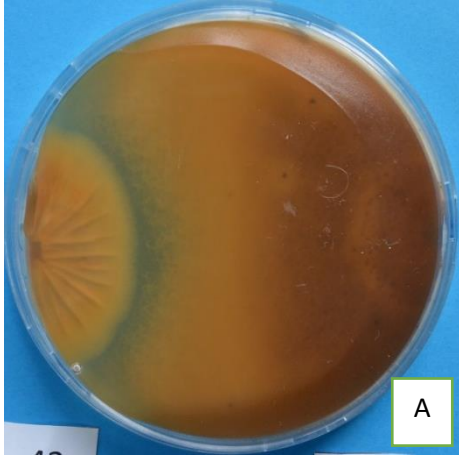
Şekil 4.41. *Acremonium aegyptiacum* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



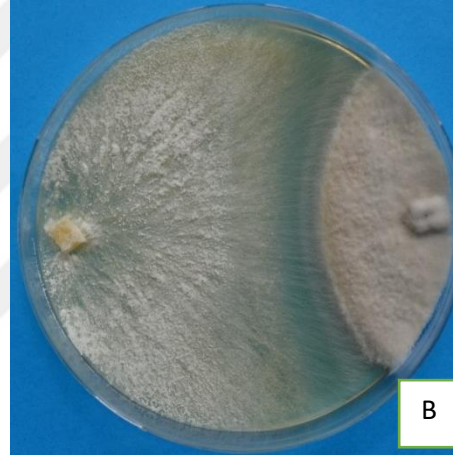
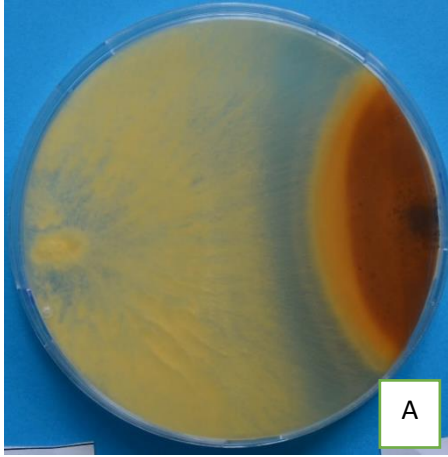
Şekil 4.42. *Acremonium fusidioides* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



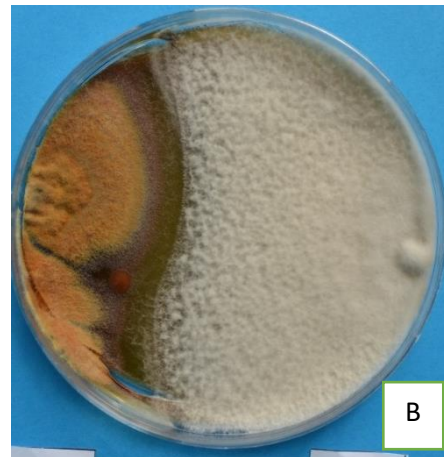
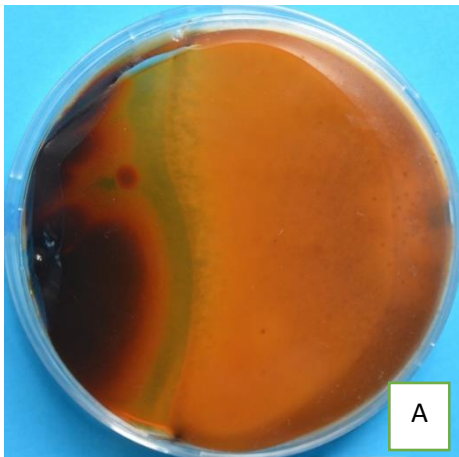
Şekil 4.43. *Acremonium hyalinum* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



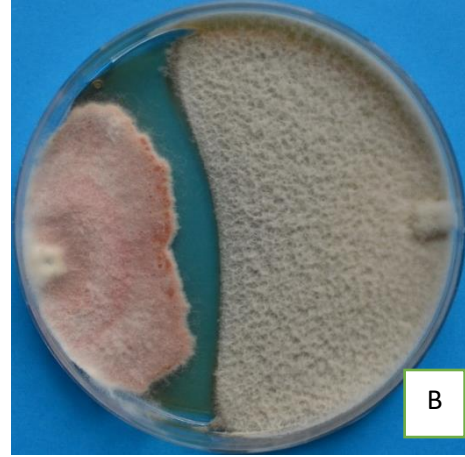
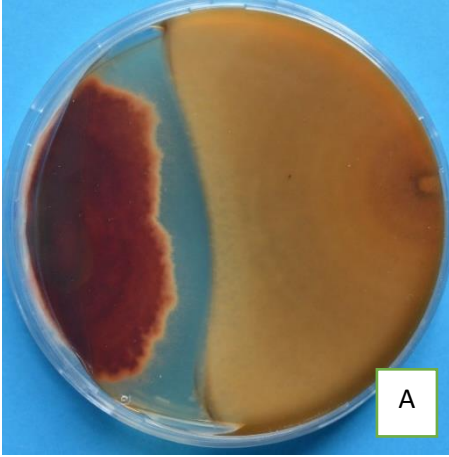
Şekil 4.44. *Acremonium sclerotigenum* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



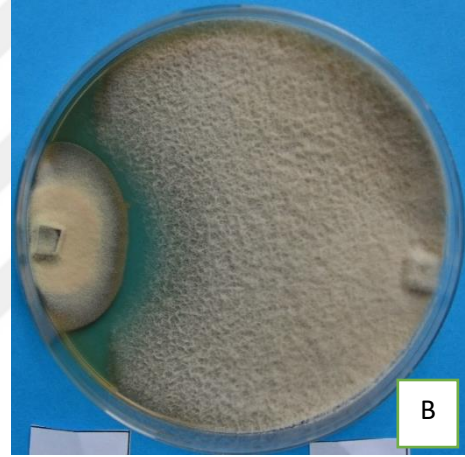
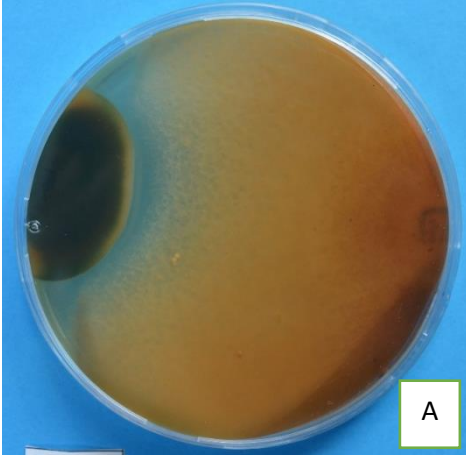
Şekil 4.45. *Athelia bombacina* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



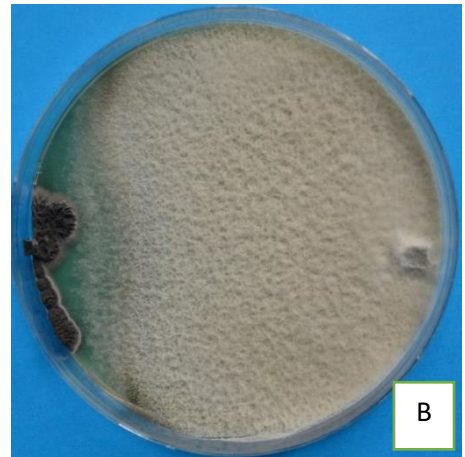
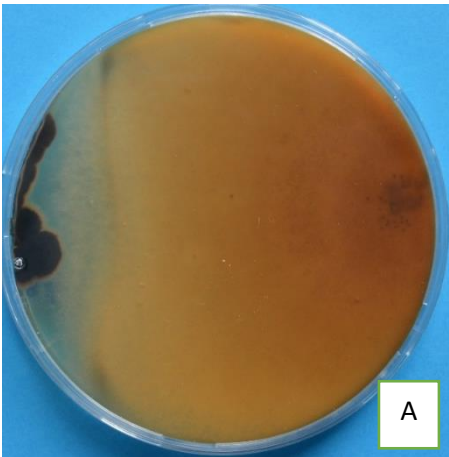
Şekil 4.46. *Epicoccum nigrum* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



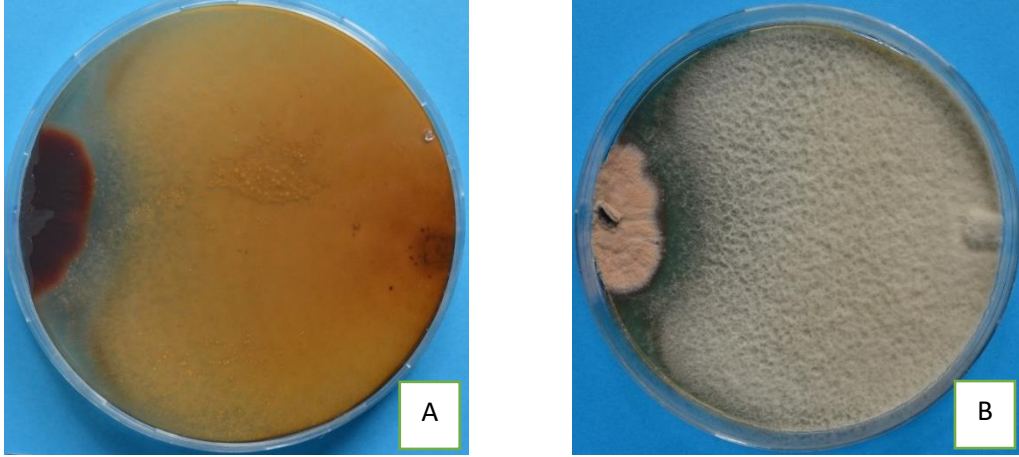
Şekil 4.47. *Fusarium aquaeductuum* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



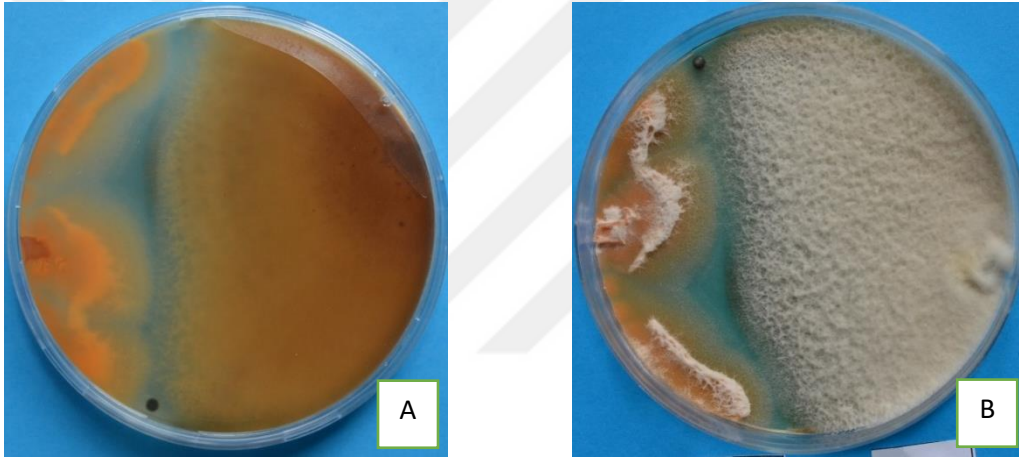
Şekil 4.48. *Neosetophoma clematidis* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.49. *Oididendron cerealis* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.50. *Pseudogymnoascus pannorum* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)



Şekil 4.51. *Sarocladium strictum* ve *Truncatella angustata* ikili kültürü
(A: alt görünüş, B: üst görünüş)

Fungal endofitler konukçu bitkilerin büyümesini teşvik ettikleri gibi aynı zamanda böceklerden ve patojenlerden de koruma özelliklerine sahip olabilirler. Bazıları konukçunun direnç mekanizmasını ve bazı patojenlere karşı savunma genlerinin ekspresyonunu indükleyebilir. Ayrıca patojenlere karşı önemli bir biyokontrol kaynak oluşturan sekonder metabolitler üretebilir (Gwinn ve Gavin 1992; Arnold ve ark. 2003; Kongue Tatong ve ark., 2014; Piccolo ve ark., 2015). Bu türlerin sekonder metabolit üretmeleri aynı zamanda bitki içerisindeki diğer organizmalarla da rekabet etmelerinden kaynaklanmaktadır (Sturz ve ark., 2000). Birçok araştırmacı tarafından *Vitis vinifera*'larda endofitik fungusların çeşitliliği, etkinliği ve rolleri konusunda çalışmalar yapılmıştır (Mostert ve ark., 2000; Casieri ve ark., 2009; González ve Tello 2011). Özellikler

Acremonium, *Alternaria*, *Epicoccum* ve *Fusarium* türleri ile ilgili çalışmalar oldukça fazladır.

Piccolo ve ark. (2015), Inzolina üzüm çeşidinin asemptomatik omcalarından izole ettikleri *A. persicinum* ve *A. sclerotigenum* türlerini *Plasmopara viticola* ile olan antagonistik etkisine *in vitro* koşullarda inhibe etme özelliğini inceledikleri çalışmada; *P. viticola*'nın sporangium çimlenmesini engellediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı tür içerisinde farklı izolatların farklı etki derecesine sahip olabileceğini de bildirmişlerdir.

Botrytis cinera bağlarda ciddi ekonomik kayıplara yol açan bir hastalıktır. Kimyasal mücadelesi bulunmasına rağmen biyolojik kontrol yöntemleri üzerinde ciddi araştırmalar vardır. İpliksi fungusların çıkarmış oldukları metabolitler *B. cinera*'ya karşı etkili mücadelede kullanılabileceğini göstermiştir. *Penicillium* ve *Aspergillus* türlerine ait funguslar antibiyotiklerin, hidrolitik enzimlerin ve antifungal peptitlerin kültürlerinde bulunan metabolitlerin genel olarak bilinen üreticileridir. Bu nedenle *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri *B. cinerea*'nın baskılanmasında önemli bir role sahip olabilir (Dianez ve ark., 2007; Khokhar ve ark, 2011; Jovicic-Petrovic ve ark., 2016a). Jovicic-Petrovic ve ark. (2016b) tarafından yapılan çalışmada *Penicillium paneum* (K7/1 izolatu), *Penicillium chrysogenum* (K11/1 izolatu) ve *Aspergillus fumigatus* (K16/2 izolatu) türleri *B. cinerea*'nın gelişimini sırasıyla %38.2, %39.8 ve %23.8 oranında engellemiştir.

Del Frari ve ark. (2019) *Epicoccum* türleri ile Escayla ilişkilendirilen patojen türleri (*Phaeomoniella chlamydospora*, *P. minimum* ve *Fomitiporia mediterranea*) *in vitro* ve *in vivo*'da antogonistik çalışma yapmışlardır. *In vitro* çalışmalarda; test edilen tüm *Epicoccum* türlerinin *P. chlamydospora* ve *F. mediterranea* patojenlerinin büyümesini engellediğini, bazı *Epicoccum* türlerinin ise *P. minimum*'u inhibe ettiğini bildirmişlerdir. *In vivo* çalışmada ise sera koşullarında köklü Cabernet Sauvignon ve Touriga Nacional çeşitlerinde *Epicoccum layuense* (E24) türü *P. chlamydospora* ve *P. minimum*'a karşı test edilmiştir. Çalışmada *E. layuense* (E24) çeşitlerde inoküle olma kabiliyetinin yüksek olduğunu, omcalarda büyümenin etkilenmediği, yapraklarda veya odun dokuda herhangi bir semptomu neden olmadığı; patojen bulaştırılan ve *E. layuense* tarafından kolonize edilen omcalarda patojen/çeşit kombinasyonuna bağlı olarak odun dokudaki belirtilerde %31-82 oranında bir azalma meydana geldiğini bildirilmiştir.

Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda; *Albifimbria verrucaria* endofitik fungusları *B. cinerea*'nın büyümesini inhibe ettiği, *A. verrucaria* kültür ekstraktlarının Red Globe üzüm çeşidi yapraklarındaki hastalık şiddetini önemli ölçüde azalttığı (Li ve ark., 2020); *Epicoccum nigrum*'un *Pomopsis viticola*'ya karşı *in vitro* koşullarda etkili olduğu, fakat sera ve tarla koşullarında daha az etkili olduğu (Kortekamp, 1997); *Bionectria ochroleuca*, *Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium spirochaete*, *Alternaria* sp. ve *Acremonium strictum*'un *in vitro* koşullarda patojen funguslara karşı etkili olduğu (Cosoveanu ve ark., 2014); *Acremonium persicium* türünün *Plasmopora viticola*'nın spor çimlenmesini *in vitro* koşullarda inhibe ettiği fakat *A. sclerotigenum*'un ise herhangi bir inhibe edici bir özellik göstermediği (Giambrol ve ark., 2015); *Metschnikowia pulcherrima* ve *Wickerhamomyces anomalus* türleri hasat sonrası *Botrytis* salkım çürüklüğü üzerinde kontrol sağlandığı (Parafati ve ark., 2015); *Aureobasidium pullulans*'ın asma gövde hastalıklarından *Diplodia seriata*'nın miselyum büyümesini *in vitro* koşullarda %33.41 oranında azaltabildiği (Pinto ve ark., 2018) yönünde çalışmalar da bulunmaktadır. Bu ve benzeri çalışmalar endofitik fungusların biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılma potansiyelini artırmaktadır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma Tokat ilinde yetiştirilen 18 adet standart sofralık üzüm çeşidi, 12 adet yöresel üzüm çeşidi, 21 adet Narince üzüm çeşidine ait klon ve aşılı-aşısız Amerikan asma anaçlarında endofitik floranın belirlenmesi ve asma gövde hastalıklarına karşı (kangren ve petri) antogonistik etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

Dünya nüfusunun artması ile beraber beslenme her zaman bir sorun olarak karşımıza çıkacaktır. Birim alandan alınan verim değeri; kullanılan tür, çeşit, teknik ve kültürel işlemlerin yanında hastalık ve zararlı ile ne ölçüde mücadele edildiğine de bağlıdır. İklim değişikliği ile beraber hastalık ve zararlı yönetimi de zorlaşmaya başlamıştır. İklim değişikliği, bir bölgeye yeni girmiş hastalık ve zararlılar, hastalık yoğunluğunun artması, patojenlerin kullanılan ilaçlara karşı zaman geçtikçe dayanım sağlaması, bilinçsiz ilaç kullanımı, vb. nedenlerle üreticiler daha fazla pestisit kullanılmaktadır. Bu durum hem çevre hem de gıdalardaki kalıntı nedeniyle insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir.

Dünya üzerinde şu ana kadar var olan fungusların ancak %10-15 civarı tanımlanmış ve bunların bir kısmı üzerinde çalışmalar yapılmış/yapılmaktadır. Mikologlar bir yandan var olan fungusların özelliklerini, yaşam evrelerini, olumlu ve olumsuz yaşam koşullarını, mücadele yöntemlerini veya istifade edilebilecek yönlerini belirlemeye çalışırken, bir yandan da yeni fungusların belirlenmesi ve özelliklerinin ortaya çıkarılması için yoğun çaba içerisinde.

Endofitik funguslar bitki içerisinde bulunan ve konukçu bitkiye herhangi bir zarar vermeden hayatiyetini sürdüren organizmalardır. Bununla birlikte endofitik funguslar yaşam ortamı içerisinde bulunan diğer organizmalarla girmiş olduğu rekabette üstün gelmek için kendine ve konukçusuna zararlı olmayan fakat rekabet ettiği diğer organizmaların gelişmesini yavaşlatıcı veya inhibe edici bazı kimyasallar salgılamaktadır. Bu kimyasallar çoğunlukla sekonder metabolit olarak isimlendirilmektedir.

Dünyanın birçok yerinde endofitik funguslar ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Çalışmalar yapıldıkça yeni endofitik türler belirlenmekte ve özellikleri ortaya konulmaya çalışılmaktadır. Son yıllarda belirlenen endofitiklerin kültür bitkilerinde sorun olan

patojenlere karşı kullanım olanakları yönünde çalışmalar artmıştır. Buğday, mısır, elma, avakado, soğan, üzüm gibi çok sayıda kültür bitkisinde çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Bu tür çalışmalarda örneğin asma için sorun olan gövde hastalıkları, kurşuni küf, mildiyö, külleme vb. konularda endofitiklerin biyolojik mücadele ajanı olarak rollerine bakılmaktadır. *Acremonium*, *Alternaria*, *Epicoccum* ve *Fusarium* türleri biyolojik mücadelede oldukça fazla kullanılan endofitik funguslardır.

Bu fungusların varlığı veya çeşitliliği bitki türüne, aynı bitki tür içerisinde; çeşitlere, yetiştirilme koşullarına, bağın sıcak, ılıman veya soğuk bölgede olmasına, kimyasal mücadele programına, kısacası birçok faktör bakımından etkilenmektedir.

Bu çalışma ile aşağıdaki sonuçlara ulaşmak mümkündür:

- Patojenik funguslar herhangi bir belirti göstermeden bitki bünyesinde bulunabilir.
- Endofitik fungus türleri çeşitlere hatta bir çeşit içerisindeki klonlara göre bile değişebilmektedir.
- Tokat ilinde yetiştirilen bağlarda *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans* *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* türleri en yaygın olan türlerdir.
- Bazı endofitik türler sadece belirli üzüm çeşitlerinde bulunmuşlardır (Topbaş üzüm çeşidinde - *Aspergillus* sp.; Misket Çavuş çeşidinde *Neosetophoma italica* bulunması gibi).
- *Acremonium aegyptiacum* (Harmony) ve *Fusarium acuminatum* (1616 C) endofitikleri sadece asma anaçlarında belirlenmiştir.
- Endofitik türler üzüm çeşidinin rengine göre değişiklik gösterebilir (renkli üzümlerde *Acremonium fusidioides*, *Penicillium* sp. ve *Phaeoacremonium minimum*; beyaz çeşitlerde *Acremonium hyalinulum* un bulunması gibi). Ancak tekrarlı çalışmalarla bunun doğrulanması icab eder.
- Anaçların genel özellikleri dikkate alındığında endofitik varlığı değişebilir (*Alternaria infectoria* ve *Epicoccum nigrum* türleri kurağa dayanıklı anaçlarda; *Athelia bombacina*, *Cerrena unicolor*, *Neonectria ramularia* ve *Sklerotlu basidiomycet* kirece dayanıklı olan anaçlarda; *Acremonium fusidioides* nematodlara dayanıklı olan anaçlarda belirlenmiştir).

- İkili kültürler çalışmasına göre en yüksek inhibe etkisi gösteren tür *Fusarium avenaceum* (*Botryosphaeria dothidea* için 13.0 mm; *Diatrype stigma* için 5 mm) ve *Epicoccum nigrum* (*T. angustata* için 8.7 mm) olmuştur.
- İkili kültürler çalışmasına göre biyolojik mücadele kullanım imkânı bakımından diğer umut verici türler ise *Acremonium aegyptiacum*, *Neosetophoma clematidis*, *Oididendron cerealis* ve *Pseudogymnoascus pannorum* olmuştur
- Yapılan bu çalışma ile belirlenen endofitik fungusların, patojenlere karşı önemli bir biyokontrol kaynak oluşturma potansiyeli olduğu kanaatine varılmıştır.
- Bu çalışmadan elde edilen endofitik fungusların patojen funguslara karşı göstermiş olduğu inhibe etme özelliklerinin nedenlerini araştırmaya yönelik; sekonder metabolit üretimlerinin hangileri olduğuna dair çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abdullah, S. K., Al-Samarraie, M. Q. ve Al-Assie, A. H., 2015. Fungi associated with grapevine (*Vitis vinifera* L) decline in middle of Iraq. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. G. Microbiology, 7(1), 53-59.
- Agustí-Brisach, C., Moldero, D., Raya, M. D. C., Lorite, I. J., Orgaz, F. ve Trapero, A., 2020. Water stress enhances the progression of branch dieback and almond decline under field conditions. Plants. 9(9), 1213.
- Akay, Ş., 2011. Fındık bitkisinin (*Corylus avellana*) farklı organlarından endofitik fungusların izolasyonu ve sekonder metabolitlerinin araştırılması. (Yüksek lisans tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Akgül, D. S., Savaş, Y., Savaş, N. G. ve Yağcı, A., 2016. Kontrollü koşullarda sıcak su uygulamalarının *Botryosphaeriaceae* funguslarının büyümesine, asma kalem ve çeliklerinde göz canlılığına etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 53 (1):99-107
- Almeida, A. B. D., Concas, J., Campos, M. D., Materatski, P., Varanda, C., Patanita, M., Murolo, S., Romanazzi, G., Félix, M. D. R., 2020. Endophytic fungi as potential biological control agents against grapevine trunk diseases in Alentejo Region. Biology, 9 (12), 420. DOI: 10.3390/biology9120420
- Alsancak Sırlı, B., Pekşircioğlu, M., Torunlar, H., Özaydın, K.A., Mermer, A., Kader, S., Tuğaç, M.G., Aydoğmuş, O., Emeklier, Y., Yıldırım, Y.E., Kodall, S., 2015. Türkiye’de üzüm (*Vitis* spp) yetiştirmeye uygun potansiyel alanların coğrafi bilgi sistemleri (CBS) teknikleri kullanarak iklim ve topoğrafya faktörlerine göre belirlenmesi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 24 (1), 56-64.
- Anonim, 2019. 2019 yılı Üzüm Üretim Verileri. T. C. Tarım ve Orman Bakanlığı. [http://erişim tarihi: \(16.03.2020\)](http://erişim tarihi: (16.03.2020))
- Arnold, A. E., 2007. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges and frontiers. Fungal Biol. Rev. 21:51–56
- Arnold, A. E., Maynard, Z., Gilbert, G., Coley, P. D. ve Kursar, T. A., 2000. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? Ecol. Lett, 3:267–274
- Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kyllö, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N. ve Herre, E. A., 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. Ecology 100:15649–15654
- Arzanlou, M., Moshari, S., Salari, M. ve Badali, H., 2013. Molecular characterisation and pathogenicity of *Phaeoacremonium* spp. associated with esca disease of grapevine in Northern Iran. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 46(4), 375-388. DOI: 10.1080/03235408.2012.741443
- Arzanlou, M., Narmani, A., Moshari, S., Khodaei, S. ve Babai-Ahari, A., 2013. *Truncatella angustata* associated with grapevine trunk disease in northern Iran. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 46(10), 1168-1181.
- Aslan, E. ve Özaktan, H., 2005. Kök bakterileri tarafından konukçu bitkide hastalıklara karşı sistemik dayanıklılığın uyarılması. Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 15,1.
- Ayres, M., Sosnowski, M. ve Wicks, T., 2011. A rapid technique for evaluating treatments for *Eutypa dieback* control. Wine and Viticulture, J. 26: 50-53.
- Bacon, C. W. ve White, J. F., 2000. Microbial endophytes. New York: Marcel Dekker.

- Baffi, M. A. ve Tobal, T., 2013. Wine Aroma Improvement Using a β -Glucosidase Preparation from *Aureobasidium pullulans*. Appl. Biochem Biotechnol, 169:493–501. DOI: 10.1007/s12010-012-9991-2
- Barnett, H. L. ve Hunter, B. B., 2003. Illustrated genera of imperfect fungi, fourth edition. APS press, St. Paul Minnesota. 218 p.
- Barradas, C., Phillips, A. J., Correia, A., Diogo, E., Bragança, H. ve Alves, A., 2016. Diversity and potential impact of *Botryosphaeriaceae* species associated with *Eucalyptus globulus* plantations in Portugal. European Journal of Plant Pathology, 146(2), 245-257.
- Bauer, C., Schulz, T. F., Lorenz, D., Eichhorn, K. W. ve Plapp, R., 1994. Population Dynamics of *Agrobacterium vitis* in two Grapevine varieties During the Vegetation Period. Vitis , (33): 25-29.
- Beram, R. C., Beram, A. ve Doğmuş-Lehtijarvi, H. T., 2016. Fungal endofitler ve etkileşimleri. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(2),161-166.
- Bora, T. ve Özaktan, H., 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 205 s, İzmir
- Bruez, E., Baumgartner, K., Bastien, S., Travadon, R., Guérin-Dubrana, L. ve Rey, P., 2016. Various fungal communities colonise the functional wood tissues of old grapevines externally free from grapevine trunk disease symptoms. Australian journal of grape and wine research, 22(2), 288-295.
- Brum, M. C. P., Araújo, W. L., Maki, C. S. ve Azevedo, J. L., 2012. Endophytic fungi from *Vitis labrusca* L. ('Niagara Rosada') and its potential for the biological control of *Fusarium oxysporum*. Genetics and Molecular Research, 11 (4): 4187-4197.
- Buchanan, G. A. ve Whiting, J. R.,1991. *Phylloxera* management: prevention is better than cure. Australian and New Zealand Wine Industry Journal, (6): 223-230.
- Casieri, L., Hofstetter, V., Viret, O. ve Gindro, K., 2009. Fungal communities living in the wood of different cultivars of young *Vitis vinifera* plants. Phytopathol Mediterr, 48:73–83
- Castoria, R., Curtis, F. D., Lima, G., Caputo, L., Pacifeco, S. ve Cicco, V., 2001. *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: Study on its modes of action. Postharvest Biology and Technology, 22(1):7-17, DOI: 10.1016/S0925-5214(00)00186-1
- Chet, I., Inbar, J. ve Hadar, I.,1997. Fungal antagonists and mycoparasites. In: Wicklow DT, Söderström B, editors. The Mycota IV: Environmental and microbial relationships. Berlin: Springer-Verlag. p 165-184.
- Cosoveanu, A., Gimenez-Mariño, C., Cabrera, Y., Hernandez, G. ve Cabrera, R., 2014. Endophytic fungi from grapevine cultivars in Canary Islands and their activity against phytopatogenic fungi. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 7(15), 1497.
- Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B., Söylemezoğlu, G., 1998. Genel Bağcılık. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi: 1. 253 s. Ankara.
- Çelik, H., Marasalı, B., Söylemezoğlu, G., Tangolar, S., Gündüz, M., 2000. Bağcılıkta Üretim Hedefleri, Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi, 13-17 Ocak, 2000 (Cilt 2), Milli Kütüphane, Ankara.
- Çelik, S., 2011. Bağcılık (Ampeloloji). Avcı Ofset, 414 s, İstanbul.

- Del Frari, G., Cabral, A., Nascimento, T., Ferreira, R., B. ve Oliveira, H., 2019. *Epicoccum layuense* a potential biological control agent of esca-associated fungi in grapevine. PLoS ONE 14 (3): e0213273. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213273>
- Díáñez, F., Santos, M. ve Tello, J., C., 2007. Suppressive effects of grape marc compost on phytopathogenic oomycetes. Arch Phytopathol Plant Prot, 40 (1): 1–18
- Dwibedi, V. ve Saxena, S., 2019. Diversity and phylogeny of resveratrol-producing culturable endophytic fungi from *Vitis* species in India. 3 Biotech, 9:182,
- Eken, C. ve Demirci, E., 1997. Fungusların biyolojik mücadele kullanımı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(1), 138-152
- Eken, C., Spanbayev, A., Tulegenova, Z. ve Abiev, S., 2009. First report of *Truncatella angustata* causing leaf spot on *Rosa canina* in Kazakhstan. Australasian Plant Disease Notes, 4(1), 44-45.
- Eldebaiky, S., 2018. Effect of the new antagonist; *Aspergillus piperis* on germination and growth of tomato plant and Early Blight incidence caused by *Alternaria solani*. Merit Res. J. Agric. Sci. Soil Sci., 6(4):41-49.
- Eroğlu, D., 2018. İzmir İlindeki Bazı Endemik Bitki Türlerinin Endofitik Mikroorganizma Profillerinin DGGE İle Belirlenmesi. (Y. Lisans tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Farashiani, A., Jorf, S. M. ve Karimi, M. R., 2012. Study of esca disease of grapevine in Bojnourd. Iranian Journal of Plant Pathology, 48(2).
- Felice, D.V., Solfirizzo, M., Curtis, F.D., Lima, G., Visconti, A. ve Castoria, R., 2008. Strains of *Aureobasidium pullulans* Can Lower Ochratoxin A Contamination in Wine Grapes. Phytopathology, 98(12)1261-1270. DOI:10.1094/PHYTO-98-12-1261
- Fidan, Y., 1985. Özel Bağcılık, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:930, Ders Kitabı:265, 401s, Ankara.
- Fischer, M., Schneider, P., Kraus, C., Molnar, M. ve Dubois, C. D., 2016. Grapevine trunk disease in German viticulture: occurrence of less known fungi and first report of *Phaeoacremonium viticola* and *P. fraxinopennsylvanicum*. Phytopathologia Mediterranea, 55:145-156.
- Freeman, E. M., 1904. The seed-fungus of *Lolium temulentum*, L., the Darnel. Phill. Trans R. Soc. B 196s, 1-27
- Fröhlich, J. ve Hyde, K. D., 1999. Biodiversity of palm fungi in the tropics: are global fungal diversity estimates realistic Biodiversity and Conservation, 8(7), 977-1004.
- Giambral, S., Piccolol, S., Alfonzol, A., Conigliarol G., Llorca, L. V. L. ve Burruano, S., 2015. Identification of *Acremonium* isolates from grapevines and evaluationism of their antagonism *Plasmopora viticola*. Annals of Microbiology, 65:2393-2403
- González, V. ve Tello, M. L., 2011. The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain. Fungal diversity, 47(1), 29-42.
- Görür, V. ve Akgül, D. S., 2019. Fungicide suspensions combined with hot-water treatments affect endogenous *Neofusicoccum parvum* infections and endophytic fungi in dormant grapevine canes. Phytopathologia Mediterranea, 58(3): 559-571. DOI: 10.13128/Phyto-10822
- Görür, V., 2019. Dormant Asma Kalemlerine Yapılan Bazı Uygulamaların, Endofitik Flora ve *Neofusicoccum Parvum*' un Kontrolüne Etkilerinin Araştırılması. (Y. Lisans tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

- Gramaje, D., Mostert, L. ve Armangol, J., 2011. Characterization of *Cadophora luteo-olivacea* and *C. melinii* isolates obtained from grapevines and environmental samples from grapevine nurseries in Spain. *Phytopathol Mediterr*, 50 (Supplement), S112–S126
- Grube, M., Schmid, F. ve Berg, G., 2011. Black fungi and associated bacterial communities in the phyllosphere of grapevine. *Fungal Biology*, 115(10), 978-986.
- Gullino, M. L., Gilardi, G. ve Garibaldi, A., 2017. Evaluating severity of leaf spot of lettuce, caused by *Allophoma tropica*, under a climate change scenario. *Phytopathologia Mediterranea*, 56, 2, 235–241. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-20458
- Güler, D. ve Akgül, D. S., 2020. Tarsus bağ alanlarında *Neofusicoccum parvum*'un yaygınlığı ve bazı sofralık üzüm çeşitlerinin patojene duyarlılıkları. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(3): 691–698.
- Gwinn, K., D. ve Gavin, A. M., 1992. Relationship between endophytic infection level of tall fescue seed lots and *Rhizoctonia zeae* seedling disease. *Plant Dis*, 76:911–914
- Hawksworth, D. C. ve Rossman, A. Y., 1987. Where are the undescribed fungi *Phytopathology*. 87, 888–891
- Hergholi, N., Ghosta, Y., Javan-Nikkhah, M., Campisano, A. ve Pancher, M., 2015. New species of endophytic fungi from grapevine (*Vitis vinifera*) in Iran. *Rostaniha*, 16(1), 17-35. 1004.
- Herrera-Estrella, A. ve Chet, I., 1999. Chitinases in biological control. *Experientia Supplementum*, 87:171-184
- Hirose, D., Hobara, S., Tanabe, Y., Uchida, M., Kudoh, S. ve Osono, T., 2017. Abundance, richness, and succession of microfungi in relation to chemical changes in Antarctic moss profiles. *Polar Biology*, 40(12), 2457-2468.
- Ippolito, A., Ghaouth, A., Wilson, C. L. ve Wisniewski, M., 2000. Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses. *Postharvest Biology and Technology*, 19: 265–272
- Janisiewicz, W. J., 1988. Biocontrol of postharvest diseases of apples with antagonist mixtures. *Phytopathology*, 78: 194-198. <https://doi.org/10.1094/Phyto-78-194>
- Jiang, N., Yang, Q., Fan, X. L. ve Tian, C. M., 2020. Identification of six *Cytospora* species on Chinese chestnut in China. *MycKeys*, 62, 1.
- Jovičić-Petrović, J. S., Jeremić, I., Vučković, S., Vojnović, A., Bulajić, V., Raičević, J. ve Nikodinovic-Runic, H., 2016a. *Aspergillus piperis* A/5 from plum-distilling waste compost produces a complex of antifungal metabolites active against the phytopathogen. *Pythium aphanidermatum*, *Arch Biol Sci*. DOI:10.2298/ABS150602016J.
- Jovičić-Petrović, J., Stankovic, I., Bulajic, A., Krstic, B., Kikovic, D. ve Raicevic, V., 2016 b. Filamentous Fungi Isolated From Grape Marc As Antagonists of *Botrytis cinerea*. *Genetika*, Vol. 48, No.1, 37-48, Doi: 10.2298/Gensr1601037j
- Kaliterna J, Miličević T, Cvjetković B., 2012. Grapevine trunk diseases associated with fungi from the Diaporthaceae family in Croatian vineyards. *Arh Hig Rada Toksikol*. Dec; 63 (4): 471-9. doi: 10.2478/10004-1254-63-2012-2226. PMID: 23334042.

- Karadeniz, H., Yağcı, A., Topkaya, Ş. ve Yanar, Y., 2018. Tokat ili ve ilçelerinde bazı bağ virüs etmenlerinin serolojik yöntemlerle belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 58(2),103
- Kernaghan, G., Mayerhofer, M. ve Griffin, A., 2017. Fungal endophytes of wild and hybrid *Vitis* leaves and their potential for vineyard biocontrol. Canadian Journal of Microbiology, 63(7), 583-595.
- Khokhar, I., Mukhtar, I. ve Mushtaq, S., 2011. Comparative studies on the amylase and cellulase production of *Aspergillus* and *Penicillium*. J Appl Sci Environ Manage, 15 (4): 657 – 661.
- Kongue Tatong, M. D., Talontsi, F. M., Abdel Rahim, H. M. D., Tofazzal Islam, M., Oswald, R. B. ve Laatsch, H., 2014. Banchromene and other secondary metabolites from the endophytic fungus *Fusarium* sp. obtained from *Piper guineense* inhibit the motility of phytopathogenic *Plasmopara viticola* zoospores. Tetrahedron Lett 55:4057–4061
- Kortekamp, A., 1997. *Epicoccum nigrum* LINK: A biological control agent of *Plasmopara viticola* (BERK. et CURT.). Vitis, 36(4), 215-216.
- Kosawang, C., Amby, D. B., Bussaban, B., McKinney, L. V., Xu, J., Kjær, E. D., Cooling, D.B. ve Nielsen, L. R., 2018. Fungal communities associated with species of *Fraxinus* tolerant to ash dieback, and their potential for biological control. Fungal biology, 122(2-3), 110-120.
- Król, E. D., Abramczyk, B. A., Zalewska, E. D. ve Zimowska, B., 2017. Fungi inhabiting fruit tree shoots with special reference to the *Diaporthe* (*Phomopsis*) genus. Peach, 20, 5vh.
- Krol, E., 2006. Fungi Inhabiting Decaying Grapevine (*Vitis* spp.) Cuttings. Journal of Plant Protection Research, 46 (4).
- Kunová, S., Kántor, A., Terentjeva, M., Felsöciová, S., Ivanišová, E., Kluz, M. ve Kačániová, M., 2018. Microscopic fungi isolated from different slovak grape varieties. Potravinarstvo, 12(1).
- Lardner, R., Mahoney, N., Zanker, T. P., Molyneux, R. J. ve Scott, E. S., 2006. Secondary metabolite production by the fungal pathogen *Eutypa lata*: Analysis of extracts from grapevine cultures and detection of those metabolites in planta. Australian Journal of Grape and Wine Research, 12(2), 107-114.
- Lawrance, D. P., Travadon, R., Pouzoulet, J., Rolshausen, P. E., Wilcox, W.F. ve Baumgartner, K., 2017. Characterization of *Cytospora* isolates from wood cankers of declining grapevine in North America, with the descriptions of two new *Cytospora* species. Plant Pathology, 66: 713–725
- Lear, B. ve Lider, L. A., 1959. Eradication of Root-Knot Nematodes from Grapevine Rootings by Hot Water. Plant Disease Reporter, 14 (3): 314-317
- Li, Z., Chang, P., Gao, L. ve Wang, X., 2020. The Endophytic Fungus *Albifimbria verrucaria* from Wild Grape as an Antagonist of *Botrytis cinerea* and Other Grape Pathogens. Phytopathology, 110(4), 843-850.
- Luo, Y., Lichtemberg, P. S., Niederholzer, F. J., Lightle, D. M., Felts, D. G. ve Michailides, T. J., 2019. Understanding the process of latent infection of canker-causing pathogens in stone fruit and nut crops in California. Plant disease, 103(9), 2374-2384.
- Magrey, A., Sahay, S. ve Gothwal, R., 2019. All Climates Carboxymethyl Cellulase from Psychrophilic Fungus *Truncatella angustata*. Research Reviews, A Journal of Microbiology and Virology, 9(1): 38-43.

- Mahmoodzadeh, H., Nazemieh, A., Majidi, I., Paygami, I. ve Khalighi, A., 2003. Effects of Thermoherapy Treatments on Systemic *Agrobacterium vitis* in Dormant Grape Cutting. *Phytopathology*, (151): 481-484.
- Maldar, B. M., 2019. Buğday (*Triticum Aestivum L.*)' dan İzole Edilen Endofitik Fungusların, Buğdayın Gelişimine Etkisi ile Kök Boğazı Çürüklük Etmeni *Fusarium Culmorum*'a Karşı Biyolojik Mücadele Potansiyeli Üzerinde Araştırmalar. (Y. Lisans Tezi), Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Marcondes, N. R., Taira, C. L., Vandresen, D. C., Svidzinski, T. I. E., Kadowaki, M. K. ve Peralta, R. M., 2008. New feather-degrading filamentous fungi. *Microbial Ecology*, 56(1), 13-17.
- Miao, C., Wang, J., Huang, R., Liu, S., Zheng, K., Liu, C., Lu, Y. ve Wu, S., 2019. Antifungal xanthones produced by the endophytic fungus *Paraconionthyrium* sp. YM 311593. *Folia microbiologica*, 65:567-572, DOI:10.1007/s12223-019-00762-8.
- Monte, E., 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *International Microbiology* 4:1-4.
- Mostert, L., Crous P.W. ve Petrini, O., 2000. Endophytic fungi associated with shoots and leaves of *Vitis vinifera*, with specific reference to the *Phomopsis viticola* complex. *Sydowia* 52:46–58
- Musetti, R., Marzachi, C. ve Casati, P., 2009. Induction of resistance for the control of phytoplasma diseases. *Petria* 19(3):113-129.
- Nakaune, R., Tatsuki, M., Matsumoto, H. ve Ikoma, Y., 2015. First report of a new postharvest disease of grape caused by *Cadophora luteo-olivacea*. *Journal of General Plant Pathology*, 82(2), 116–119. DOI:10.1007/s10327-015-0640-9
- Nejat, N., Sijam- Abdullah, S. N. A., Vadamalai, G. ve Dickinson, M., 2009. Molecular characterization of a phytoplasma associated with Coconut Yellow Decline in Malaysia. *American Journal of Applied Sciences*, 6(7):1331-1340.
- Niekerk, J. M. V., Fourie, P. H., Halleen, F. ve Crous, P. W., 2006. *Botryosphaeria* spp. as grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathol. Mediterr.* 45, S43–S54
- Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Varga, J., Frisvad J. C. ve Samson, R. A., 2008. Two novel species of *Aspergillus* section Nigri from Thai coffee beans. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2008 Jul;58(Pt 7):1727-34. DOI: 10.1099/ijs.0.65694-0. PMID: 18599725.
- Nouri, M. T., Lawrence, D. P., Holland, L. A., Doll, D., Kallsen, C., Culumber, M. ve Trouillas, F. P., 2019. Identification and Pathogenicity of Fungal Species Associated with Canker Diseases of Pistachio in California. *Plant Disease*, 103: 2397-2411.
- Oliveira, M., Arenas, M., Lage, O., Cunha, M. ve Amorim, M. I., 2018. Epiphytic fungal community in *Vitis vinifera* of the Portuguese wine regions. *Letters in applied microbiology*, 66(1), 93-102.
- Onoğur, E., 1995. Bağ Hastalıkları. Bornova-İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
- Oraman, M. N., 1965. Arkeolojik Buluntuların Işığı altında Türkiye Bağcılığının Tarihçesi Üzerinde Araştırmalar. I. Ankara Üniv: Ziraat Fakültesi Yıllığı 15(2): 96-108 s
- Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F. ve Kınay, P., 2010. Fitopatolojide biyolojik mücadele. *Türk Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 61-78

- Pancher, M., Ceol, M., Corneo, P. E., Longa, C. M. O., Yousaf, S., Pertot, I. ve Campisano, A., 2012. Fungal Endophytic Communities in Grapevines (*Vitis vinifera* L.) Respond to Crop Management. Appl. Environ. Microbiol, 78 (12),4308
- Parafati L, Vitale, A., Restuccia, C. ve Cirvilleri, G., 2015. Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape. Food Microbiol, 47:85–92. doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.013
- Pardo, E., Marin, S., Sanchis, V. ve Ramos, A. J., 2004. Prediction of fungal growth and ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* on irradiated barley grain as influenced by temperature and water activity. International Journal of Food Microbiology, 95 : 79– 88.
- Phillips, A. J. L., 1998. *Botryosphaeria dothidea* and other fungi associated with Excoriose and dieback of grapevines in Portugal. Journal of Phytopathology,146: 327–332.
- Piccolo, S., Alfonzo, A., Giambra, S., Conigliaro, G., Lopez-Llorca, L. ve Burruano, S., 2015. Identification of *Acremonium* isolates from grapevines and evaluation of their antagonism towards *Plasmopara viticola*. Annals of Microbiology, 65, 2393-2403, DOI: 10.1007/s13213-015-1082-5,
- Pinto, C., Custódio, V., Nunes, M., Songy, A., Rabenoelina, F., Courteaux, B., Clément, C., Gomes, A.C. ve Fontaine, F., 2018. Understand the Potential Role of *Aureobasidium pullulans*, a Resident Microorganism From Grapevine, to Prevent the Infection Caused by *Diplodia seriata*. Front. Microbiol. 9:3047. DOI: 10.3389/fmicb.2018.03047
- Pszczółkowski, P., Latorre, B. A. ve Di Lecco, C. C., 2001. Mold on late harvested Cabernet sauvignon grapes and their effect on must and wine quality. International Journal of Agriculture and Natural Resources, 28(3), 157-163.
- Puig, M., Ruz, L., Montesinos, E., Moragrega, C. ve Llorente, I., 2015. Combined morphological and molecular approach for identification of *Stemphylium vesicarium* inoculum in pear orchards. Fungal biology, 119(2-3), 136-144.
- Raimondo, M. L., Carlucci, A., Cicca, C., Sadallah, A. ve Lops, F., 2019. Identification and pathogenicity of lignicolous fungi associated with grapevine trunk diseases in southern Italy. Phytopathologia Mediterranea, 58(3): 639-662.
- Raimondo, M. L., Carlucci, A., Cicca-Rone, C., Saddallah, A. ve Francesco, L., 2019. Identification and pathogenicity of lignicolous fungi associated with grapevine trunk diseases in southern Italy. Phytopathologia Mediterranea, 58(3), 639-662.
- Renouf, V., Claisse, O. ve Lonvaud-Funal, A., 2005. Understanding the microbial ecosystem on the grape berry surface through numeration and identification of yeast and bacteria. Australian Journal of Grape and Wine Research, 11: 316–327.
- Rezgui, A., Vallance, J., Ghnaya-Chakroun, A. B., Bruez, E., Dridi, M., Demasse, R. D., Rey, P., Sadfi-Zouaoui, N., 2018. Study of *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, *Neofusicoccum parvum* and *Schizophyllum commune*, three pathogenic fungi associated with the Grapevine Trunk Diseases in the North of Tunisia. European Journal of Plant Pathology, 152(1), 127-142.
- Rojas, E. C., Jensen, B., Jørgensen, H. J. L., Latz, M. A. C., Esteban, P., Ding, Y. ve Collinge, D. B., 2020. Selection of fungal endophytes with biocontrol potential

- against *Fusarium* head blight in wheat. *Biological Control*, 144, 104222. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104222>
- Samson, R. A., Hong, S. B. ve Frisvad, J. C., 2006. Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology*, September 2006, 44: 133-148.
- Schena, L., Nigro, F., Pentimone, I., Ligorio, A. ve Ippolito, A., 2003. Control of postharvest rots of sweet cherries and table grapes with endophytic isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology and Technology*, 30(3): 209-220.
- Shearin, Z. R., Filipek, M., Desai, R., Bickford, W. A., Kowalski, K. P. ve Clay, K., 2018. Fungal endophytes from seeds of invasive, non-native *Phragmites australis* and their potential role in germination and seedling growth. *Plant and Soil*, 422(1), 183-194.
- Silva-Valderrama, I., Toapanta, D., De los Angeles Miccono, M., Diaz, G., Lolas, M., Cantu, D. ve Castro, A., 2020. Biocontrol potential of grapevine endophytes against grapevine trunk pathogens. *bioRxiv*.
- Simeray, J., Mandin, D., Mercier, M. ve Chaumont, J. P., 2001. Survey of viable airborne fungal propagules in French wine cellars. *Aerobiologia*, 17(1), 19-24.
- Singh, M. P., Janso, J. E., Brady, S. F., 2007. Cytoskyrins and Cytosporones Produced by *Cytospora* sp. CR200: Taxonomy. *Fermentation and Biological Activities, Marine Drugs*, 5:71-84.
- Souza, B. S. ve Santos, T. T., 2017. Endophytic fungi in economically important plants: ecological aspects. *Diversity and potential biotechnological applications, J. Bioen. Food Sci.*, 4 (2), 113-126
- Soytong, K., Srinon, W., Rattanacherdchai, K., Kanokmedhakul, S. ve Kanokmedhakul, K., 2005. Application of antagonistic fungi control anthracnose disease of grape. *Journal of Agriculture Technology* .1(1): 33-41.
- Sturz, A. V., Christie, B. R. ve Nowak, J., 2000. Bacterial endophytes: Potential role in developing sustainable systems of crop production. *Critical reviews in plant sciences*, 19(1):1-30pp.
- Sullivan, R. F. ve White, J. F., 2000. *Phoma glomerata* as a mycoparasite of powdery mildew. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 425-427.
- Sülü, S. M., Bozkurt, İ. A. ve Soylu, S., 2016. Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1).
- Tan, E., 2018. *Dianthus Erinaceus Boiss. var. Erinaceus* Bitkisinden Endofitik Mikroorganizmaların İzolasyonu, Tanımlanması ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi. (Y. Lisans Tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Tjamos, E. C., Papavizas, G. C. ve Cook, R. J., 1992. *Biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future*. New York: Plenum Press.
- Tonial, F., Maia, B. H., Gomes-Figueiredo, J. A., Sobottka, A. M., Bertol, C. D., Nepel, A. ve Glienke, C., 2016. Influence of Culturing Conditions on Bioprospecting and the Antimicrobial Potential of Endophytic Fungi from *Schinus terebinthifolius*. *Current microbiology*, 72(2), 173-183.
- Trejo-Estrada, S. R., Sepulveda, I. R. ve Crawford, D. L., 1998. In vitro and in vitro antagonism of *Streptomyces violaceusniger* YCED9 against fungal pathogens of turfgrass. *World Journal Mikrobiology*, 14:865-872

- Trouillas, F. P. ve Gubler, W. D., 2010b. Pathogenicity of *Diatrypaceae* Species in Grapevines in California. *Plant Disease*, 94:867-872. DOI:10.1094/PDIS-94-7-0867.
- Trouillas, F. P., Urbez-Torres, J. R. ve Gubler, W. D., 2010 a. Diversity of Diatrypaceous fungi associated with grapevine canker diseases in California. *Mycologia*, 102(2), 319-336.
- Urbez-Torres J. R., Adams, P., Kamas, J. ve Gubler, W. D., 2009. Identification, incidence, and pathogenicity of fungal species associated with grapevine dieback in Texas. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60, 497–507.
- Úrbez-Torres, J. R., 2011. The status of *Botryosphaeriaceae* species infecting grapevines. *Phytopathology Mediterranea* 50 (Supplement), S5–S45. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-9316
- Úrbez-Torres, J. R., Haag, P., Bowen, P. ve O’Gorman, D. T., 2014. Grapevine Trunk Diseases in British Columbia: Incidence and Characterization of the Fungal Pathogens Associated with Esca and Petri Diseases of Grapevine. *Plant Disease*, 98 (4): 469-482.
- Urbez-Torres, J. R., Leavitt, G. M., Voegel, T. M. ve Gubler, W. D., 2006. Identification and Distribution of *Botryosphaeria* spp. Associated with Grapevine Cankers in California. *Plant Disease*, 90, 1490-1503.
- Ünal, A., Kadioğlu, İ. ve Yanar, Y., 2010. *Stemphylium vesicarium* Causing *Stemphylium* Leaf Blight on *Veratrum album* in Turkey. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 13(1), 1-2.
- Varanda C. M. R., Oliveira M., Materatski P., Landum, M., Clara M. I. E. ve Felix M. R., 2016. Fungal endophytic communities associated to the phyllosphere of grapevine cultivars under different types of management, *Fungal Biology* 1525-1536
- Vizitiu, D. ve Dejeu, L., 2011. Crown Gall (*Agrobacterium* spp.) and Grapevine. *Journal of Horticulture. Forestry and Biotechnology* (15): 130–138.
- Wachowska, U. ve Głowacka, K., 2014. Antagonistic interactions between *Aureobasidium pullulans* and *Fusarium culmorum*, a fungal pathogen of winter wheat. *Bio Control*, 59:635–645. DOI: 10.1007/s10526-014-9596-5.
- Wilson, D., 1995. Endophyte: The evolution of a term, and Clarification of its use and definition 73(2): 274-76
- Wu, D., Zhang, D. H., Timko, M. P., Li, M. Y. ve Liang, G. L., 2017. First report of *Epicoccum nigrum* causing brown leaf spot of loquat in Southwestern China. *Plant Disease*, 101(8), 1553-1553.
- Yan, J., Xie, Y., Yao, S., Wang, Z. ve Li, W., 2012. Characterization of *Botryosphaeria dothidea*, the causal agent of grapevine canker in China. *Australasian Plant Pathol*, 41:351–357
- Yang, M. Z., Huang, L. H., Ao, X. J., Ren, A. Y., Yuan, M. Q. ve Zhang, H. B., 2018. Endophytic fungal strains specifically modified the biochemical status of grape cells. *Journal of Plant Biology*, 61(4), 210-216.
- Yavuz, Ş. (2019). Elma Çoklu Sürgün Fitoplazma Hastalığı (*Candidatus Phytoplasma mali*)’nin Biyolojik Mücadelesinde Endofitik Fungusların Etkinliğinin Araştırılması. (Doktora tezi), Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Zapata-Sarmiento, D. H., Palacios-Pala, E. F., Rodríguez-Hernández, A. A., Melchor, D. L. M., Rodríguez-Monroy, M. ve Sepúlveda-Jiménez, G., 2020. *Trichoderma asperellum*, a potential biological control agent of *Stemphylium vesicarium*, on onion (*Allium cepa* L.). *Biological Control*, 140, 104105.

Zhou, X., Pan, M., Li, H., Tian, C. ve Fan, X., 2020. Dieback of *Euonymus alatus* (*Celastraceae*) Caused by *Cytospora haidianensis* sp. nov. in China. Forests, 11(5), 524.



Ek 1. Çalışmada kullanılan kalemlerin alınması ve muhafazası



Aşılı Narince bağından kalem alımı



Aşılı Narince bağından Çelik alımı



Yöresel çeşitlerden kalem alımı



Kalemlerin etiketlenmesi



Klon bağından kalem alımı



Klon bağından kalem alımı

Ek 2. İzolasyon işlem aşaması



Kalemlerin izolasyon öncesi hazırlanması



Kalemlerin sterilizasyon işlemleri



Kalemlerin distile suda durulanması



PDA ortamının hazırlanması



Petrilere PDA dökülmesi



PDA ortamına ekimlerin yapılması

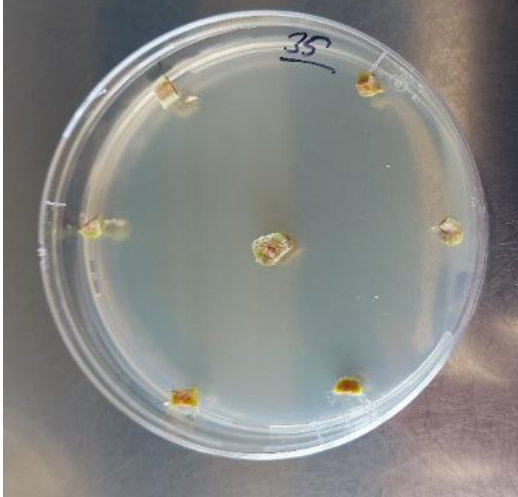
Ek 2. (Devam) İzolasyon işlem aşaması



Ekim yapılacak disklerin hazırlanması



Disklerin PDA ortamına ekimi



Disklerin PDA ortamındaki görüntüsü



Ekimi yapılan disklerde fungus gelişimi



Kolonilerden saflaştırma işlemleri



Saf kültür örneği

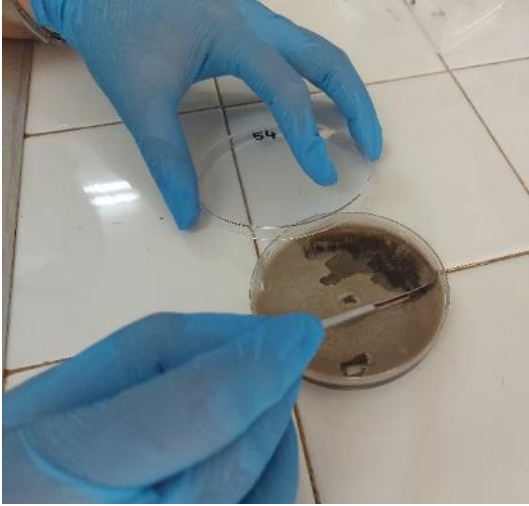
Ek 3. DNA ekstraksiyon aşamaları



DNA ekstraksiyon hazırlık aşaması



Ezme poşetinin numaralandırılması



Saf kültürden misel alımı



Misel parçalarının ezme poşetindeki görüntüsü



Mizellerin homojenizatör ile ezilmesi



Ezme sonrası CTAB eklenmesi

Ek 3. (Devam) DNA ekstrasyon aşamaları



Miselyum içerisine 2X CTAB buffer ilavesi



Homojenatın eppendorf tüplere konulması



Homojenata mercaptoethanol eklenmesi



Homojenatın vortekslenmesi



Homojenata chloroform-isoamylalkol ilavesi



Homojenatın tekrar vortekslenmesi

Ek 3. (Devam) DNA ekstrasyon aşamaları



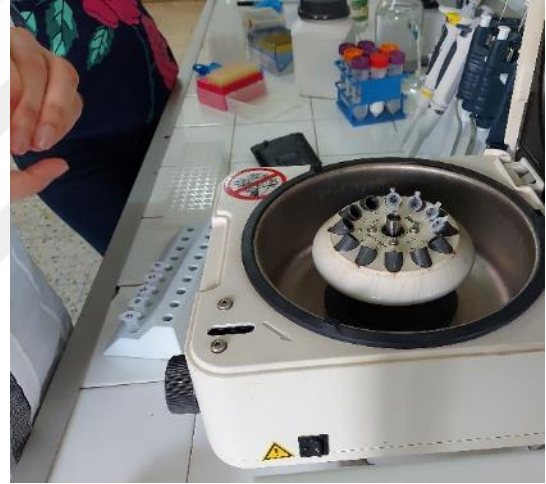
Eppendorf tüplerin santrifüjleme işlemi



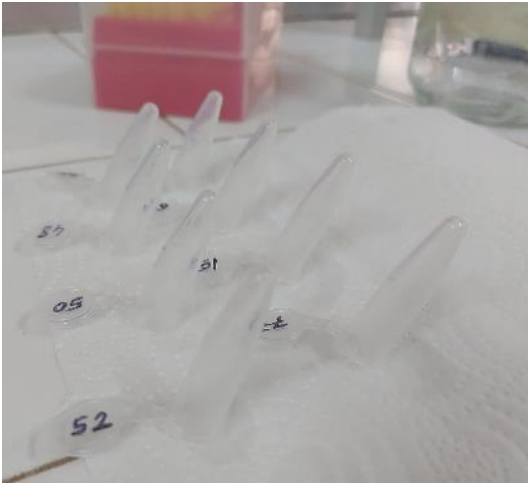
Santrifüjleme sonucun tüplerde 2 faz oluşumu



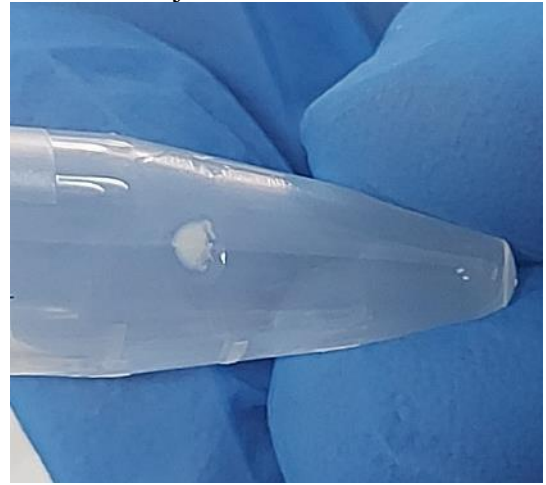
Üstteki berrak fazın pipet ile alınması



Chloroform-isoamylalkol eklendikten sonra tekrar santrifüjlenmesi



Tüpler steril kâğıt havlulara bırakılması

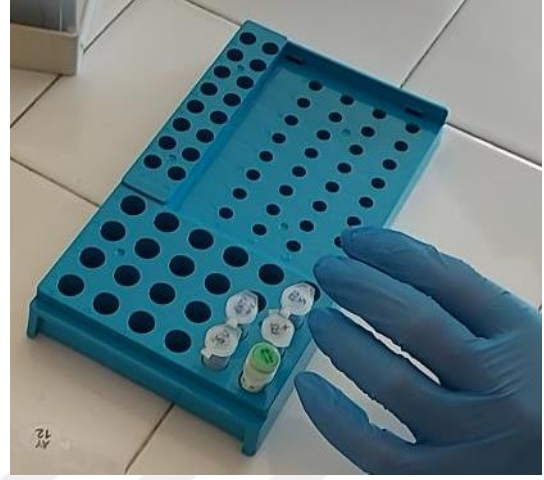


Eppendorf tüp içinde DNA pelleti

Ek 4. PCR ve Jel Elektroforez aşamaları



PCR tüplerinin hazırlanması



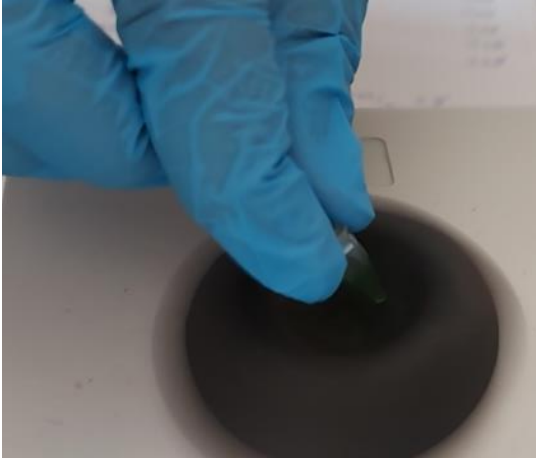
PCR işlemi için karışım hazırlanması



Karışıma örneklerin DNA'sının konulması



Karışımın PCR tüplerine konulması



PCR tüplerinin vortekslenmesi



Tüplerin PCR cihazına konulması

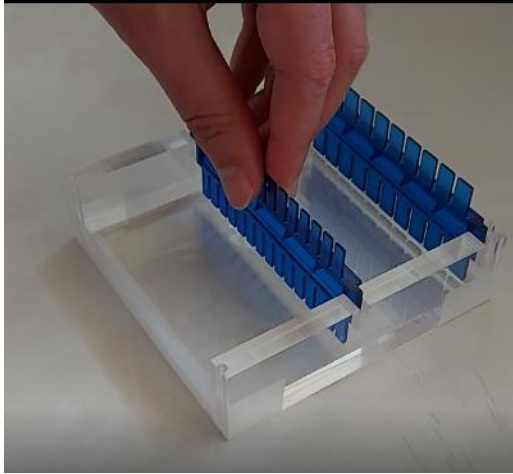
Ek 4. (Devam) PCR ve Jel Elektroforez aşamaları



PCR cihazının başlatılması



Jel ünitesine agoroz hazırlanması



Kasete tarakların yerleştirilmesi



Agarozun kasete dökülmesi

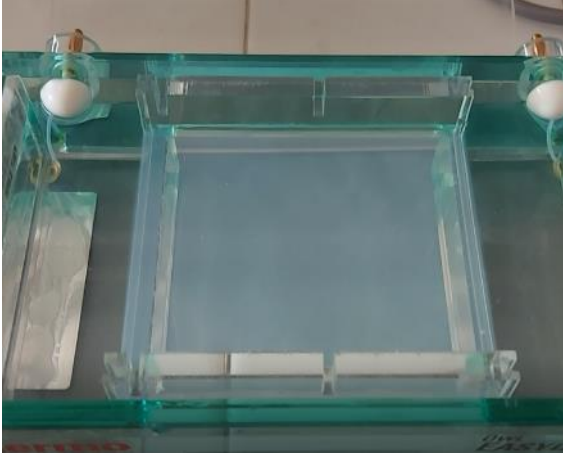


Donmuş agorozdan tarğın çıkarılması

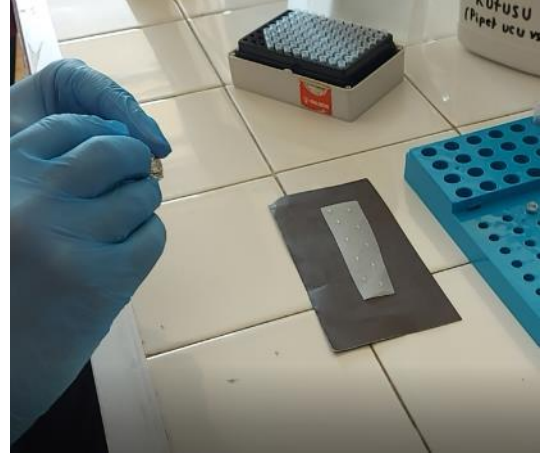


Agarozda oluşan kuyucuk görüntüsü

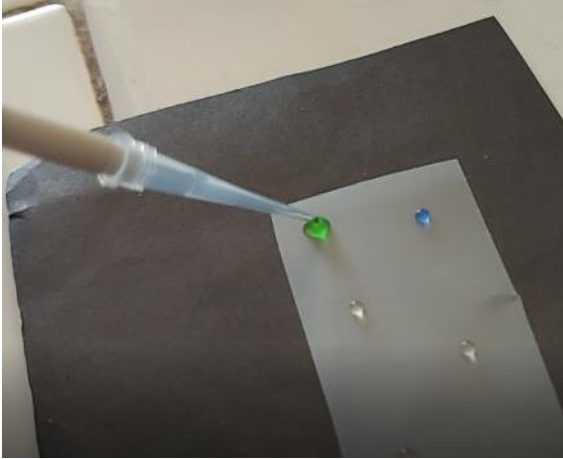
Ek 4. (Devam) PCR ve Jel Elektroforez aşamaları



Kasete 1xTAE buffer dökülmesi



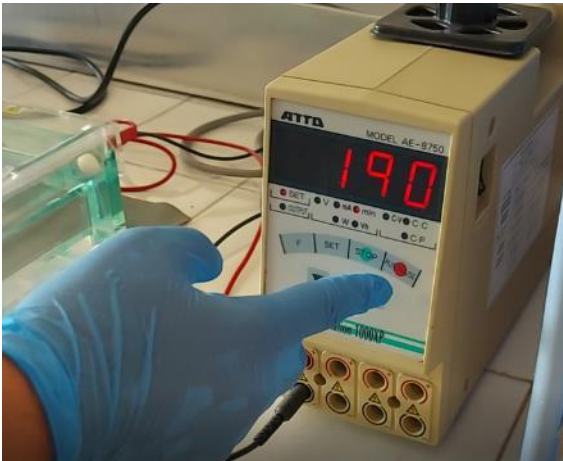
Parafilm üzerine SYBR Green damlatılması



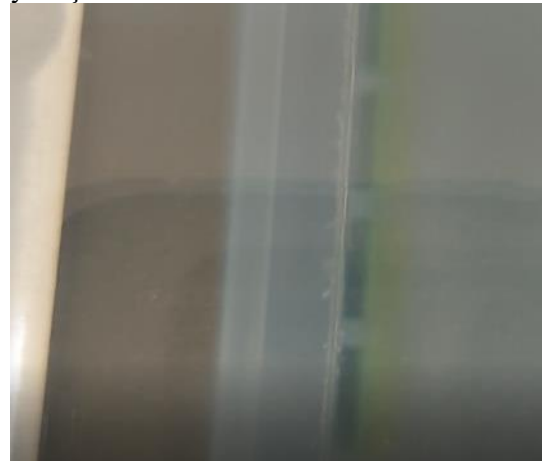
DNA örneklerinin boyanması



DNA örneklerinin kuyucuklara yerleştirilmesi



Güç kaynağının ayarlanması



Kuyucuklarda DNA bantlarının ilk görülmesi

Ek 5. Patojenite test aşamaları



Patojenite öncesi kalemlerin yıkanması



Kalemlerin 3 gözden kesilmesi



Cork bork ile misel parçasının alınması



Misel parçasının kaleme yerleştirilmesi



Misel parçasının kaleme yerleştirilmesi



Parafilm ile sarılmış kalemlerin dikime götürülmesi

Ek 5. (Devam) Patojenite test aşamaları



Kalemlerin tüplere dikilmesi



Dikilen kalemlerde bakım işlemleri

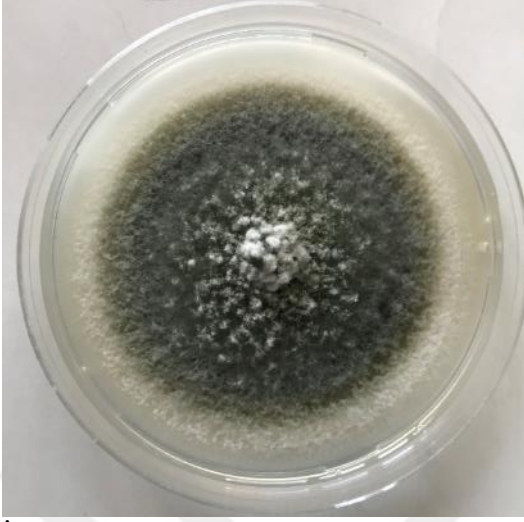


Fidanların ölçüme hazır hale getirilmesi

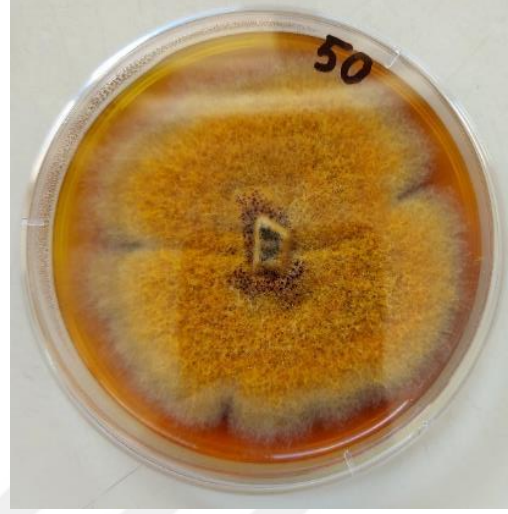


Kalemlerdeki lezyon uzunluklarının ölçülmesi

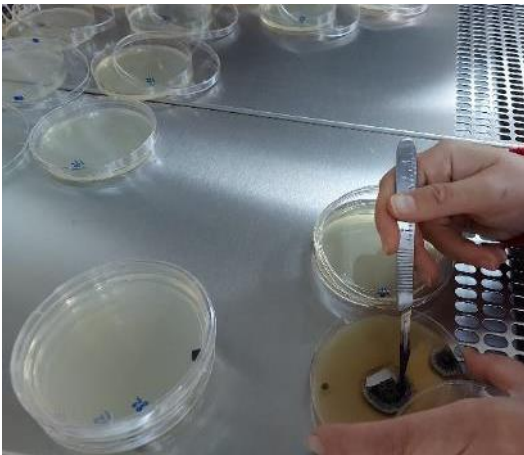
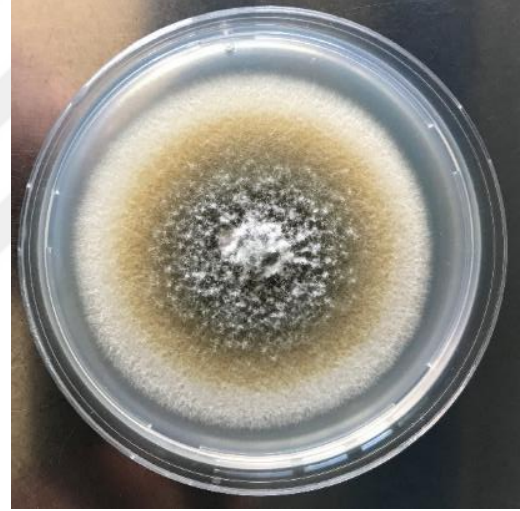
Ek 6. Antagonistik etki aşamaları



İkili kültür öncesi saf kültür eldesi

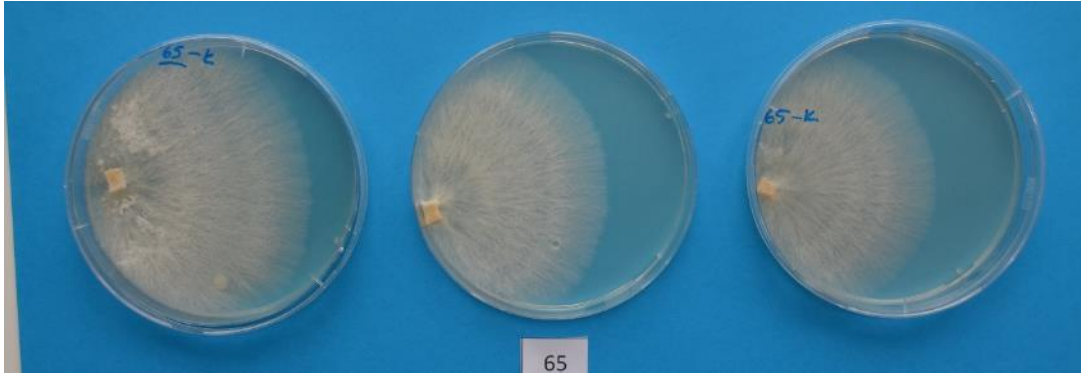


İkili kültür öncesi saf kültür eldesi

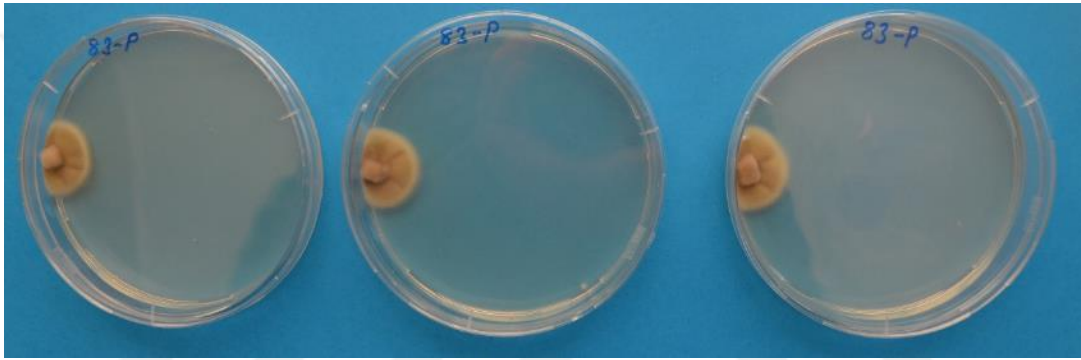


Patojen ve endofitik fungusların PDA ortamına karşılıklı ekimleri

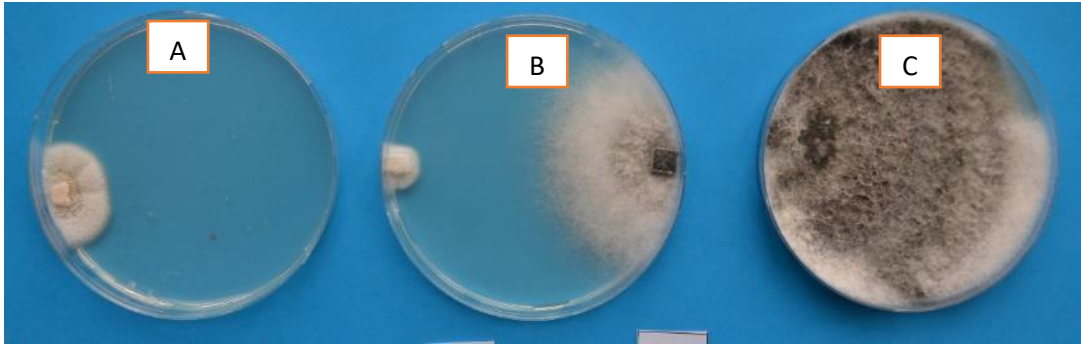
Ek 6. (Devam) Antagonistik etki aşamaları



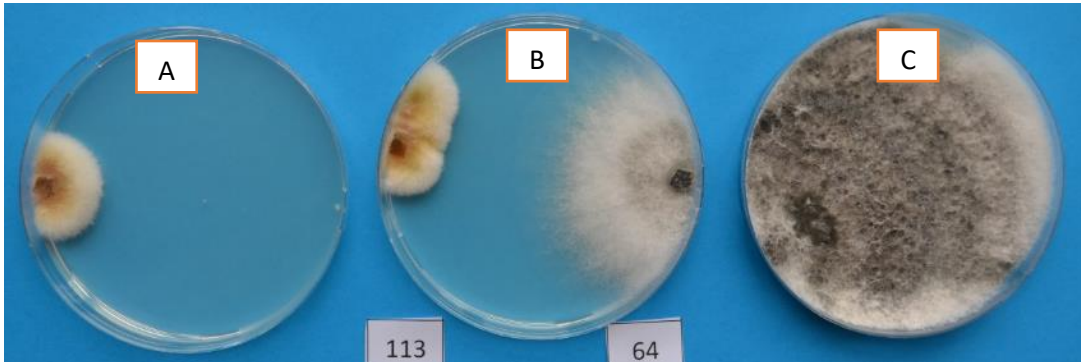
Petri kenarına konulmuş tek endofitik türün yayılımı



Petri kenarına konulmuş tek patojen türün yayılımı



Endofitik (A), ikili kültür (B) ve patojen (C) gelişimi



Endofitik (A), ikili kültür (B) ve patojen (C) gelişimi