



**KESTANE KANSERİ HASTALIĞINA KARŞI KESTANE
ÇEŞİTLERİNİN DUYARLILIKLARININ
BELİRLENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER
ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA**

Mustafa ODUNCUOĞLU



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KESTANE KANSERİ HASTALIĞINA KARŞI KESTANE ÇEŞİTLERİNİN
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER
ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA**

Mustafa ODUNCUOĞLU

Doç. Dr. Himmet TEZCAN
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA-2016

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Mustafa ODUNCUOĞLU tarafından hazırlanan ‘‘Kestane Kanseri Hastalığına Karşı Kestane Çeşitlerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler Üzerine Bir Çalışma’’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Himmet TEZCAN

Başkan: Doç. Dr. Himmet TEZCAN

Üye: Doç. Dr. Cevriye MERT

Üye: Doç. Dr. Ömer ERİNCİK

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü
.../.../2016

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

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

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

beyan ederim.

07/01/2016

İmza

Mustafa ODUNCUOĞLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KESTANE KANSERİ HASTALIĞINA KARŞI KESTANE ÇEŞİTLERİNİN
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER
ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Mustafa ODUNCUOĞLU

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Himmet TEZCAN

Bu araştırmada, *Cryphonectria parasitica*'nın izolatlarının patojenisitelerini belirlemek için kullanılan yöntemler üzerinde bazı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmada, Türkiye'nin Bursa ilindeki hastalıklı kestane bitkilerinden izole edilen üç *Cryphonectria parasitica* izolatu kullanılmış ve çalışmalar canlı ağaç inokulasyonları, plastik kaplarda kesik dal parçası inokulasyonları, petri koşullarında kesik dal parçası inokulasyonları, elma meyvesi inokulasyonları ve kestane yaprağı inokulasyonları üzerinde yürütülmüştür. Çalışma sonunda, canlı ağaç inokulasyonu sonuçlarına göre, en yakın sonuçlar, plastik kaplarda dal parçası inokulasyonları ve kestane yaprak inokulasyonlarından elde edilmiştir. Eğer bir araştırmacı canlı ağaç inokulasyonlarını kullanmak istemiyorsa, plastik kaplarda kesik dal parçası veya kestane yaprak inokulasyonlarını tercih edebilir. Eğer testin süresi önemli ise, kestane yaprak inokulasyonları öncelikle tercih edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Kestane, *Cryphonectria parasitica*, patojenisite, metod

2016, vii + 43 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

A STUDY ON THE METHODS USED TO DETERMINE SUSCEPTIBILITY OF CHESTNUT CULTIVARS TO CHESTNUT BLIGHT DISEASE

Mustafa ODUNCUOĞLU

Uludağ University
Graduate School of Natural and Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Himmet TEZCAN

In this research, some studies were done on the methods used to determine the pathogenicity of *Cryphonectria parasitica* isolates. In the study, three isolates of *C. parasitica* isolated from diseased chestnut plants in Bursa Province of Turkey were used and studies were conducted on living-tree inoculations, excised-stem inoculations, bark tissue section inoculations, apple fruit inoculations and chestnut leaf inoculations. At the end of the study, according to results of living tree inoculations, the nearest results were obtained from excised stem inoculations and chestnut leaf inoculations. If a researcher doesn't want to use living tree inoculations, excised stem inoculations or chestnut leaf inoculations may be preferred. If duration of test is important, chestnut leaf inoculations may be firstly preferred.

Keywords: Chestnut, *Cryphonectria parasitica*, pathogenicity, method

2016, vii + 43 pages

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜRLER

Tezimin hazırlanmasında ve tez çalışma sürem boyunca her türlü yardımı sağlayan, moral desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam Doç. Dr. Himmet TEZCAN'a teşekkürü bir borç bilirim. İstatistiki analizlerdeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. A. Tanju GÖKSOY ve Yrd. Doç. Dr. Bülent EDİZ hocalarıma teşekkür ederim. Ayrıca beni bugünlere getiren, eğitim süresince maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli babama ve anneme sonsuz teşekkür eder şükranlarımı ifade ederim.

Mustafa ODUNCUOĞLU
07.01.2016

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	İ
ABSTRACT.....	İİ
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER.....	İİİ
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1. Materyal	14
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının izolasyonu	14
3.2.2. Kestane kanserine karşı patojenisite testlerinde kullanılan yöntemler.....	15
3.2.2.1. Elma Testi.....	15
3.2.2.2. Canlı Ağaç Testi	16
3.2.2.3. Plastik Kaplarda Kesik Dal Parçası Testi	18
3.2.2.5. Yaprak Testi.....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	23
4.1. Elma Testi Sonuçları.....	23
4.2. Canlı Ağaç Testi Sonuçları	25
4.3. Plastik Kaplarda Kesik Dal Parçası Testi Sonuçları	29
4.4. Petri Koşullarında Dal Parçası Testi Sonucu	31
4.5. Yaprak Testi Sonuçları.....	33
4.6. <i>Cryphonectria parasitica</i> İzolatlarının Farklı Testlerde Oluşturdukları Kanseri lezyonların Birbirleri İle Karşılaştırılması	35
5. SONUÇ	37
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	43

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklamalar

°C	Santigrat derece
NaOCl	Sodyum hipoklorit
%	Yüzde

Kisaltmalar

Açıklamalar

g	Gram
ha	Hektar
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
PDA	Patates Dekstroz Agar
cm	Santimetre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. İzolasyon sonrası PDA ortamı içeren petrilere gelişen <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının genel bir görünümü.....	15
Şekil 4.1.1. Elma testinde <i>C. parasitica</i> ile inokule edilmiş elmaların inkübasyonundan görünüm	23
Şekil 4.1.2. Elma testinin sonunda <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının oluşturduğu lezyonların görünümü (soldan sağa; kontrol, 1 no'lu izolat, 2 no'lu izolat ve 3 no'lu izolat).....	24
Şekil 4.2.1. <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatı ile inokule edilmiş bir kestane dalı.....	25
Şekil 4.2.2. Bir <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatının canlı kestane dalında inokulasyondan yaklaşık 2 ay sonra oluşturduğu kanser belirtisi.....	26
Şekil 4.3.1. Plastik kaplarda kesik dal parçası testinin genel bir görünümü.....	29
Şekil 4.3.2. Plastik kaplarda kesik dal parçası testinde kullanılan bir kestane dalının inokulasyondan 30 gün sonraki görünümü	29
Şekil 4.4.1. Petri koşullarında kesik dal parçası testinde <i>C. parasitica</i> ile inokule edilmiş dal parçaları.....	31
Şekil 4.4.2. <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nın petri koşullarında kesik dal parçası testinde inokulasyondan 8 gün sonra oluşturduğu kanser lezyonlarının görünümü.....	31
Şekil 4.5.1. <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nın patojenisitesinin test edildiği yaprak testinin genel görünümü.....	33
Şekil 4.5.2. <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nın patojenisitesinin yaprak testinde inokulasyondan 10 gün sonraki görünümü	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.1. <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının Golden Delicious elma çeşidinde inokulasyondan 7 gün sonra oluşturdukları lezyonların çapları (mm).....	24
Çizelge 4.1.2. <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının Golden Delicious elma çeşidinde inokulasyondan 14 gün sonra oluşturdukları lezyonların çapları (mm).....	25
Çizelge 4.2.1. <i>Cryphonectrica parasitica</i> izolatlarının canlı kestane dalında inokulasyondan bir ay sonra oluşturduğu lezyonların uzunlukları (mm)	26
Çizelge 4.2.2. <i>Cryphonectrica parasitica</i> izolatlarının canlı kestane dalında inokulasyondan iki ay sonra oluşturduğu lezyonların uzunlukları (mm).....	27
Çizelge 4.2.3. <i>Cryphonectrica parasitica</i> izolatlarının canlı kestane dalında inokulasyondan üç ay sonra oluşturduğu lezyonların uzunlukları (mm).....	27
Çizelge 4.3.1. Plastik kaplarda kesik dal parçası testinde <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının inokulasyondan 15 gün sonra oluşturduğu kanser uzunlukları (mm).....	30
Çizelge 4.3.2. Plastik kaplarda kesik dal parçası testinde <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının inokulasyondan 30 gün sonra oluşturduğu kanser uzunlukları (mm).....	30
Çizelge 4.4.1. Petri koşullarında kesik dal parçası testinde <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının inokulasyondan 8 gün sonra oluşturduğu kanser uzunlukları (mm).....	32
Çizelge 4.5.1. <i>Cryphonectria parasitica</i> izolatlarının yaprak testinde inokulasyondan 10 gün sonraki oluşturduğu kanser lezyonlarının uzunlukları (mm)	34
Çizelge 4.5.2. <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nın yaprak testinde inokulasyondan 14 gün sonraki oluşturduğu kanser lezyonlarının uzunlukları (mm)	35
Çizelge 4.6.1. <i>Cryphonectria parasitica</i> 'nın üç izolatının farklı testlerde oluşturdukları kanser lezyonların ortalama uzunlukları (mm)	36

1.GİRİŞ

Kestane kışın yaprağını döken, Fagaceae familyasına ait önemli bir orman ağacıdır. Çeşitli kaynaklara göre dünyada kültüre alınmış kestane yetiştiriciliğinin 6.000 yıl öncesinde başladığı tahmin edilmektedir. Kestane kültürünün Anadolu'da başlayıp, M.Ö. 5. yüzyılda Yunanistan'a ve buradan da İtalya'ya götürüldüğüne ilişkin tarihi kayıtlar vardır. Son yıllarda yapılan genetik araştırmalar, İtalya'nın kestane çeşitleri ile Batı Anadolu'daki çeşitlerin birbiriyle akraba olduğunu göstermekte, bu bakımdan tarihi kayıtların güvenilirliği ortaya çıkmaktadır. Kestanenin Karadeniz kıyılarından, özellikle de Kastamonu dolaylarından götürüldüğü düşünülmekte ve bu şehrin adıyla bağlantılı olarak *Castanea* cins (genus) adının buradan çıktığı bilinmektedir (Özçağırın ve ark. 2007, Soylu 2004, Subaşı 2004, Bucak 2006).

Dünyada kestanenin doğal yayılım alanları, Doğu Asya (Çin, Kore, Japonya) Türkiye, Güney Avrupa ve Kuzey Amerika'dır. Daha ziyade Kuzey Yarım Küre'de yerli türleri ile birlikte kestane ormanları şeklinde doğal olarak yetişmektedir. Ağırlıklı olarak kestanenin yetiştiği başlıca ülkeler Çin, Kore, Japonya ve Akdeniz ülkeleridir. Akdeniz havzasında yer alan ülkemizde ise Anadolu'nun Karadeniz, Marmara ve Ege bölgeleri gibi nemli koşulları olan orman alanlarında *Castanea sativa* Mill (Avrupa kestanesi) türü kestane doğal olarak yetişmektedir (Subaşı 2004).

Yetiştirdiği mevsim nedeniyle hüznün meyvesi olarak adlandırılan kestaneye, bazı yörelerde halk arasında *dağların ekmeği* de denilmektedir. Eski zamanlardan beri insan beslenmesinde önemli bir meyve olup, ilk zamanlarda Alp yöresinde yaşayan insanların 4-6 aylarını kestane ağırlıklı beslenme ile geçirdikleri bilinmektedir. Bu yörede kişi başına kestane tüketiminin yılda 150 kg dolaylarında olduğu ifade edilmektedir (Karahocagil ve Tosun 2004). Bu nedenle kestane meyvesi fakirin ekmeği, ağacı da ekmek ağacı olarak bilinmektedir.

Sert kabuklu meyvelerde genellikle yağ oranı yüksek olduğu halde kestanede karbonhidratlar daha fazladır. Ayrıca kestane hem kimyasal bileşimi hem de nem oranı bakımından diğer sert kabuklu meyvelerden önemli ölçüde ayrılmaktadır. Kestane meyvesi normal koşullarda % 40-45 nem, % 5 yağ, % 5 protein ve % 40-45 karbonhidrat içermektedir (Soylu 2004). Ayrıca kestane mineral ve vitamince de zengin

bir meyvedir. 100 g meyvede 50 mg C vitamini ayrıca A vitamini bulunmaktadır. Kestanenin 100 g 200 kalori vermektedir (Ülkümen 1973).

Kestanelerin; meyve, şekerleme, bal ve kereste olarak kullanımının yanı sıra meyve kabukları tanin üretiminde, yaprak ve çiçekleri ilaç ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır (Anonim 2013).

Kestane ağaçları; barınak ve yakacak için 4000 yıldan beri yüksek, serin ve yağışı bol bölgelerde yetiştirilmektedir (Anonim 2013).

Günümüzde İtalya, Fransa, İspanya, Portekiz gibi Avrupa; Çin, Japonya, Kore, Türkiye gibi Asya ülkeleri başlıca kestane üreten ülkeler arasında yer almaktadır. Ayrıca bunların yanında Yunanistan, Bulgaristan, Romanya, Macaristan, Yugoslavya, Çek Cumhuriyeti, Slovakya, İsviçre ve Kafkasya'da da kestane üretimi yapılmaktadır. ABD, 20. yüzyılın başlarına kadar önemli bir üretim alanı olmuş ise de kestane kanserinin (*Cryphonectria parasitica*) bu ülkede geniş ölçüde zarar yapmasından sonra üretim çok azalmıştır (Soylu 2004).

FAO'nun 2013 yılı verilerine göre dünya da toplam 552 478 ha bir alanda toplam 2 009 487 ton kestane üretimi yapılmaktadır. Çin kestane üretiminde 305 000 ha bir alanda 1 650 000 tonla dünyada lider konumdayken, 67 902 tonla Güney Kore ikinci sırada ve Güney Kore'nin hemen arkasından da 60 019 ton üretimiyle Türkiye üçüncü sırada yer almaktadır (Anonim 2015).

Ülkemizde kestane üretimi yaygın olarak Karadeniz Bölgesi, Marmara Denizi çevresi ile Batı Anadolu'dan Antalya'ya kadar olan alanlarda yapılmaktadır (Soylu 1997).

Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2014 yılı verilerine göre ülkemizin yaklaşık 111 bin dekarlık alanda toplam kestane üretimi yaklaşık olarak 63 bin ton olup bunun % 58'lik kısmını Ege Bölgesi karşılamaktadır (Anonim 2015). İllere göre baktığımızda ilk sırayı 63 970 dekar bir alanda 20 989 ton üretimiyle Aydın ili ilk sırayı almaktadır. İzmir ili 25 257 dekar da yetiştirilen toplu kestane alanında ikinci sıradayken, kestane üretiminde 10 176 ton ile üçüncü sırada yer almaktadır. Yalova ili 6000 dekar da yetiştirilen toplu kestane alanında üçüncü sıradayken, kestane üretiminde 783 ton ile on ikinci sırada yer almaktadır. Bursa ili ise 4 687 dekar da yetiştirilen toplu kestane alanında dördüncü

sırada olmasına rağmen kestane üretiminde ise yedinci sırada yer almaktadır (Anonim 2015).

Kestanenin yetiştirilmesinde ve üretiminde dünyada ve ülkemizde birçok olumsuz faktörün etkisi altında olduğu bilinmektedir (Delen 1975). Bu olumsuz faktörlerin başında gelen ve dünyanın değişik ülkelerinin ve Türkiye'nin kestane alanlarında yaygın olan ve çoğu kez ağaçların tamamen kurumasına neden olan *Cryphonectrica parasitica*'nın oluşturduğu kestane kanseri hastalığıdır (Çeliker ve Onoğur 2011). Türkiye'de kestane kanseri, ilk defa 1967 yılında Marmara Bölgesi'nde görülmüştür (Akdoğan ve Erkman 1968). Hastalık Marmara bölgesinde Bursa ve Sakarya illerinde belirlenmiştir (Delen 1979a). Bu bölge ile beraber Karadeniz Bölgesi'ndeki kestane ağaçlarına yayılarak çok sayıda ağaç ölümlerine neden olmuştur (Coşkun ve ark. 1999, Baykal ve ark. 2000). Kestane kanseri Ege Bölgesinde Balıkesir, İzmir, Manisa illerinde (Çeliker 2000) Aydın ilinin Sultanhisar, Köşk ve Nazilli ilçelerinde kestane ağaçlarında kurumalara neden olduğu belirtilmiştir (Erincik ve ark. 2003).

Kimyasal yolla mücadelesi mümkün olmayan bu hastalık, iç ve dış karantina önlemleri ve kültürel uygulamalarla kontrol edilmeye çalışılmaktadır (Çeliker ve Onoğur 2011). Bugüne kadar *C. parasitica*'nın hipovirülent ırklarından (Anagnostakis ve Jaynes 1973, MacDonald ve Fulbright, 1991, Heiniger ve Rigling 1994) yararlanılarak yapılan biyolojik savaşımın yanında özellikle de dayanıklı çeşitlerin ıslahı ve yetiştirilmesi ile önemli adımlar atılmıştır (Anagnostakis 1992).

Ülkemizde Marmara bölgesindeki yerel kestane çeşitleri (Baykal ve ark. 2000), Karadeniz bölgesindeki bazı kestane genotipleri (Erper ve ark. 2005) ve Ege bölgesindeki Aydın ilinde yaygın olarak üretilen yerel bazı kestane genotipleri (Erincik ve Döken 2009) arasında hastalık etmenine karşı dayanıklı olanlar belirlenmiştir.

Türkiye'de kestane ağaçlarının varlığını sürdürebilmesi için ve temiz ve kaliteli ürün elde edilmesi için üretim alanları hastalıktan arındırılmış olması gereklidir. Ancak kestane ağacının en önemli hastalığı olan kestane kanserine karşı halen herhangi bir etkili kimyasal mücadele yöntemi bulunamamıştır. Bu nedenle de daha çok biyolojik kontrol ve dayanıklı çeşitler üzerinde durulmaktadır. Farklı kestane çeşitlerinde bu biyolojik kontrol ve dayanıklı çeşitlerin belirlenmesinde farklı sayıda ve farklı test yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden hangisinin daha güvenilir olduğu veya

doğal ortamda yapılan testle laboratuvar ortamında yapılan hangi testin veya testlerin daha uyumlu sonuçlar verebileceği bu çalışmanın ana amacını oluşturmuştur.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kestaneler; yaprak şekillerine, yaprak ve ince dallardaki tüylenmelere ve meyve özelliklerine göre gruplandırılmışlardır. Buna göre üç grup oluşturulmuş ve bazı botanikçilere göre 11, bazılarına göre ise 16 tür tanımlanmıştır. Fakat bu kestane türlerinden küresel ölçekte sadece dördü meyveleri için ve ticari amaçla kullanılmaktadır. Bunlar Amerikan kestanesi (*Castanea dentata* Borkh.), Çin kestanesi (*Castanea mollissima* Bl.), Japon kestanesi (*Castanea crenata* Sieb.&Zucc.) ve Avrupa kestanesi (*Castanea sativa* Mill.)'dir (Atasoy ve ark. 2011).

Yirminci yüzyıla kadar milyonlarca hektar yayılış alanı ile dünya üzerinde özellikle de Amerika'da en yaygın bulunan ağaçlar içinde yer alan kestanenin varlığı ve üretimi 1900 yılların başından itibaren kestane kanseri nedeniyle olumsuz yönde ciddi bir şekilde etkilenmeye başlamıştır. Kestane kanserine neden olan *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr adlı bir fungal hastalık önce Amerika ve daha sonra Avrupa kestane üretim alanlarında büyük çapta tahribat yapmıştır ve özellikle de Kuzey Amerika'da Amerikan kestanesi geniş alanları kaplayan bir ağaç olma özelliğini yitirmiştir (Jaynes 1979).

Bu hastalık dünyada ilk kez Herman Merkel tarafından 1904 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin New York şehrinde bir hayvanat bahçesinin park alanının içinde bulunan Amerikan kestanesi (*C. dentata*) ağacı üzerinde bulunmuştur. Hastalığın belirtileri ağaçların dallarında ya da tümünde hızla oluşan kurumalar ve dallar üzerinde kabuk dokusunda içe çökmeler olduğu belirtilmiştir (Anagnostakis 2001).

1800'lerin sonlarına doğru Çin'den ithal edilen tohumlarla ülkeye giren kanser (*C. parasitica*), kısa zamanda büyük zararlara yol açmış ve 1950'lere kadar bu türün hemen hemen tamamına yakını öldürmüştür. Bugün bu türden yalnızca teksel ağaçlar kalabilmiştir (Soylu 2004).

Kestane kanseri, Avrupa'da ilk kez Biraghi tarafından 1938 yılında İtalya'nın Genova yakınlarında Avrupa kestanesi (*C. sativa*) üzerinde saptanmıştır. 1940'lı yıllardan itibaren İtalya'nın çoğu kestaneliklerine bulaşan bu hastalığın, 1940-1970 yılları arasında önce İspanya, Fransa ve İsviçre'ye daha sonra Güneydoğu Avrupa'da Yugoslavya, Yunanistan ve Türkiye'ye ulaştığı belirlenmiştir. Sonraki yıllarda yani 1970 ve 1980'li yıllarda Portekiz, Almanya, Avusturya, Macaristan ve Slovakya'yı da

içine alan çok büyük bir alana yayıldığı belirlenmiştir (Heiniger ve Rigling 1994, Milgroom ve Cortesi 2004).

Macaristan'da yapılan bir çalışmada ise, Sopron tepelerinin ormanlarındaki kestane kanseri yayılımı üzerine araştırma yapılmıştır. Buna göre enfeksiyon oranı % 35'e kadar ulaştığı görülmüştür (Vıdoczi ve ark. 2007).

İran'da Guilan ilindeki kestane bölgesindeki kestane kanserine neden olan *Cryphonectria parasitica*'nın zarar dağılımı ve şiddeti incelenmiştir. İnceleme için Guilan ilindeki kestane yetiştirilen 3 ana bölgeden 6 mevki seçilmiştir ve kestane kanseri zararının oluşumu ve değerlendirilmesi rapor edilmiştir. Bu çalışma sırasında, *Cryphonectria* türlerinden toplam 250 izolat elde edilmiştir. Bu izolatlardan 232 tanesi *C. parasitica*, 18 tanesi *C. radicalis* olduğu belirlenmiş ve bütün bölgelerde *C. parasitica* fungusu gözlemlenmiştir (Ghezi ve ark. 2010).

Kestane kanseri bir karantina hastalığı olmasına rağmen önlemler hastalığın tüm Dünya'da yayılmasına engel olunamamıştır (Anonim 2005).

Türkiye'de 1948-1949 yılları arasında Ege, Marmara, Doğu ve Batı Karadeniz Bölgeleri'ndeki hastalıklı kestane ormanlarında yapılan araştırmalarda kestane kanserinden ziyade mürekkep hastalığının varlığı vurgulanmış, kanser hakkında ise Avrupa'da bulunduğu ve ülkemizde henüz daha tespit edilemediği fakat tehlikeye karşı hazırlıklı olunması gerektiği belirtilmiştir (Erdem 1951).

Kestane kanseri Türkiye'de ise ilk defa 1968 yılında saptanmıştır (Akdoğan ve ark. 1968). Marmara Bölgesi'nde kestane kanserinin yayılış alanını saptamak amacı ile yapılan çalışmada, ortalama bulaşık ağaç yüzdeleri, İstanbul ilinde % 33,4, Kocaeli ilinde % 27,7, Sakarya ilinde % 27,0, Bursa ilinde % 11,3, Bolu ilinde % 53,1 olarak saptanmıştır (Delen 1979a).

Marmara Bölgesi'nde 1970 yılında yapılan incelemelerde 5 ilde ve 13 noktada kestane kanseri ile bulaşık 8 526 adet ağaç belirlenmiştir ve Marmara Bölgesi'ndeki bu bulaşma oranı % 32 dolayına çıkmıştır (Delen 1979a).

Çeliker ve Onoğur (2001) tarafından da 1994 yılından 1999 yılına kadar Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgesi'nde 15 noktadan alınan toplam 324 izolat üzerinde incelemeler yapılmıştır.

Gürer ve ark. (2001) tarafından da 1998-2001 yılları arasında 4'ü Marmara ve 5'i Karadeniz Bölgesi'nde olmak üzere 9 noktadan alınan 134 izolat üzerinde kestane kanseri (*C. parasitica*) hastalığının virulent ve hipovirulent ırkları ve bu ırkların vejetatif uyum grupları üzerine araştırmalar yapılmıştır.

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

C. parasitica bir yara parazitidir ve kestaneye sürgün, dal ve gövdede mekanik ya da doğal yollarla açılmış olan yaralardan, çatlaklardan giriş yapmaktadır (Fulbright 1999).

Kestane ağacında kestane yanıklık hastalığı kabukta meydana gelen yaralanmalarla başlamakta ve fungus kabuk altında yelpaze şeklinde miselyal gelişme göstererek yayılmaktadır. Vasküler kambiyumun tahrip edilmesiyle ağaçlar kuruyup ölmeye başlamaktadır. Dallar ve gövdelerde görülen kanserler ağaçların kuruyup daha sonrada ölmelerine neden olmaktadır. Ayrıca hastalığa neden olan etmenin meyve kabuğunda bulunmaktadır fakat meyveyi enfekte etmemektedir (Jaynes ve DePalma 1984). Yine etmen kestane ağaçlarının toprak altı organlarında hastalık oluşturmamaktadır (Heiniger ve Rigling 1994).

Kanserle bulaşık ağaçların kanserli bölgelerinde turuncu-sarı renkli stromalar görülmektedir. Stromalar içinde gömük durumda iki yapı bulunmaktadır: Seksüel üreme yapısı perites ve aseksüel üreme yapıları piknidyumlardır. Periteslerde askosporlar ve piknitlerde ise konidiler (piknidiosporlar) oluşturmaktadır. Askosporlar ostiolden dışarı çıkmakta ve rüzgârla yayılmaktadır. Askosporların dışarı atılımı 20-27 °C'de ve yağmurdan sonra ilk beş saat boyunca meydana gelmektedir. Askosporlar 100-150 m uzağa taşınabilmektedir. Kuvvetli rüzgârlarla daha da uzağa taşınabilmektedir. Diğer taraftan konidiler ise yoğun ve yapışkan bir örtü içerisinde gömülüdür ve genelde yağmur ile ağaçtan aşağı doğru yıkanabilir ya da yağmurla yakına sıçramaktadır. Ayrıca konidiler kuşlar ve böceklerle de taşınabilmektedir. Beklenmedik bir şekilde, konidiler bir dereceye kadar kurumaya dayanıklıdır ve kuru toprakta 2-3 aya kadar canlılıklarını koruduğu gösterilmiştir. Bu iki tip sporda enfeksiyonu başlatabilmesine rağmen

askosporlar *Cryphonectria parasitica*'nın yaşam döngüsünde daha önemlidir (Akıllı 2008).

Kestane *Cryphonectria parasitica*'nın neden olduğu lezyonların gelişimi ve enfeksiyondaki mevsimsel etki üzerine yapılan bir çalışmada en fazla lezyon gelişimi ilkbaharda ve yazın yapılan inokulasyonlarda olmuştur ve lezyon gelişimine mevsimsel etki önemli bulunmuştur. Sürgünlerde lezyon gelişimi oranında maksimum ve minimum sıcaklıklar ile yağmurların toplamı önemli oranda ilişkili bulunmuştur (Guerin ve Robin 2003). Ayrıca doğal koşullarda askospor çıkışının Mart-Ekim ayları arasında olduğu ve en fazla askospor çıkışının da Mayıs ayında olduğu bildirilmektedir (Guerin ve ark. 2001).

Yapay besi ortamında *C. parasitica*'nın, oda sıcaklığında ve ışık altında gelişen miselyumunun rengi erken dönemde beyaz iken daha sonra açık-sarı ve sarı-turuncuya dönüşmektedir. Miselyum daha sonraki dönemlerde kırmızı-turuncu ya da bordo-mor rengini almaktadır (Ellis ve Ellis 1985).

Kestane kanseri ile ilaçlı mücadelede, hastalığın fazla ilerlemediği durumlarda, ağaç üzerindeki hastalıklı bölge, sağlam dokuya kadar kesilip çıkarılmalı, yaralı kısma 750 g katrana ile 250 g göztaşı karıştırılarak sürülmelidir (Akdoğan ve Erkam 1968). Ayrıca sistemik mantar öldürücü ilaçların (Benlate, Bavistin, Enovit Super) belirli dozları ya kabuktan enjekte ederek ya da topraktan içirme yoluyla ağaca uygulanarak hastalığın gelişimi önlenmektedir (Delen 1979b). Örneğin, Enovit Super'in 4,5 g/lt'lik aktif madde içeren dozu topraktan içirme yoluyla uygulandığı zaman hastalığın engellenmesinde başarılı olduğu ifade edilmektedir (Soylu 2004). Ancak bu yöntemde ilacın sürekli uygulanması mantarda bağışıklık meydana getirmektedir (Delen 1980). Ayrıca ilaçlar meyvede kalıntı bırakabilmektedir ve geniş alanlara uygulama bakımından da ekonomik görünmemektedir (Delen 1979b). Bu gibi sorunlar nedeniyle kimyasal yolla mücadelesi mümkün olmayan bu hastalık, iç ve dış karantina önlemleri ve kültürel uygulamalarla kontrol edilmeye çalışılmaktadır (Çeliker ve Onoğur 2011). Patojenin biyolojik kontrolünde en etkili kontrol yöntemi olarak hipovirulent (=düşük şiddette hastalık oluşturan) ırkların kullanımındadır (Erincik ve ark. 2011). Hipovirulent ırklar yoluyla biyolojik kontrol kestane kanseri için geniş ölçüde kullanılan kontrol

yöntemidir ve iyileştirici bir önlem olarak çoğu ülkelerde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır (Akıllı ve ark. 2011).

İtalya'nın bazı bölgelerinde kestane kanseri ile bulaşık kestane ağaçlarında, hastalığın görülmesinden 12 yıl sonra, kendiliğinden iyileşmelerin olduğu görülmüştür. Bu hastalıklı ağaçlardaki iyileşmeler Grente (1965) tarafından, mantarın öldürücü olmayan ırklarının, öldürücü olanları engellemesiyle ortaya çıktığı belirlenmiştir. Böylece öldürücü olmayan ırklar, virüs taşımakta ve öldürücü ırkları öldürücü olmayan ırklara dönüştürmektedir (Jaynes 1979). Fransa'da kestane kanseri hastalığına karşı mücadelede, engelleyici ırkların dikkatli bir şekilde seçilip, doğada yayılmalarıyla yapıldığı bildirilmektedir (Grente ve ark. 1978). Türkiye'de de biyolojik kontrol yönteminin etkili ve uygulanabilir bir yöntem olarak uygulanmaya başlanmıştır. Bu alanda yapılan çalışmalardan oldukça ümit verici sonuçlar alınmıştır (Çeliker ve Onoğur 1998, 2000). Ayrıca *Trichoderma viridae* ve diğer *Trichoderma* sp.'nin *C. parasitica*'ya karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Arisan-Atac ve ark. 1995).

Hastalığın zararlarından korunmak amacıyla Avrupa ülkeleri ve ABD'de hastalığa dayanıklı doğu türlerinden ya doğrudan seleksiyonlar yapılmış veya yerli türlerle bu türlerin meyve kalitesi hastalığa dayanıklı hibritleri elde edilmeye çalışılmıştır. Ancak bu alandaki araştırmalarla yeterli bir başarı elde edilememiştir. ABD'deki seleksiyonlar küçük meyveli, Fransa'daki hibritler ise hastalığa az dayanıklıdır (Soylu 2004).

1913 yılında Fairchild tarafından Çin'de Çin kestanesinin, 1916 yılında da Japonya'da Shear ve Stevens tarafından Japon kestanesinin *C. parasitica*'ya karşı dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir (Anagnostakis 1992). Ayrıca Amerika'da ilk olarak 1922 yılında ABD Tarım Bakanlığı'nca New York'ta Çin ve Japon kestaneleri ile Amerikan kestanelerinin çaprazlaması sonucu kestane kanserine dayanıklı hibrit çeşitler geliştirilmeye başlanmıştır. Ancak geliştirilen hibrit çeşitler kestane kanserine karşı dayanıklılığı araştırmalarda göstermiş olduğu gibi doğada aynı reaksiyonu göstermemiştir (Bazzigher ve Miller 1991). Böylece 1960'larda ABD'de kestane ıslah çalışmaları durdurulmuştur. 1981 yılında bir bitki genetikçisi olan Charles Burnham kestane ıslahında otsu bitkilerde kullanılan geriye çaprazlama ıslah yöntemini önererek Çin kestanesindeki dayanıklılık özelliğinin Amerikan kestanesine aktarabileceğini söylemesiyle birlikte bunu araştırmalarında ortaya koyması kestane ıslahı konusundaki

çalışmalarda tekrar hız kazanılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda ABD’de kansere karşı dayanıklı çeşit geliştirme konusunda oldukça yol alınmış ve kestane kanserine dayanıklı hibritler elde edilmiştir (Burnham 1987, Anagnostakis 1997).

Slovakya’da 2010, 2011ve 2012 yıllarında yapılan bir çalışmada kestane ağacının üç tane hibrit eřidi (*C. sativa* x *C. crenata*) seçilerek bunların kestane kanserine karşı reaksiyonları ve dönemler arasındaki kanser lezyonu uzunluklarının farklı olup olmadığı araştırılmıştır. Hibritli kestane ağaçlarından 10 cm uzunluğundaki dallar kesilmiştir. Kesilen bu dallara üç tane virüent izolat ile bir tane hipovirulent izolat kesik dal testi yöntemine göre inokulasyon edilmiştir. Sonra 29.06.2010, 22.06.2011 ve 13.07.2012 tarihlerde kesik dallar üzerindeki kabuk dokuları kaldırılmıştır ve odun dokusu üzerinde gelişen nekrotik kanser lezyonları ölçölmüştür. Bu ölçömler sonunda 2010, 2011ve 2012 yıllarındaki yaz dönemlerinde ölçölen kanser alanları 2011 yılının bahar döneminde ölçöleden daha uzun olduğu bildirilmiştir. Ayrıca seçilen kestane ağaçlarında ve izolatlarda istatistik anlamda önemli farklılık bulunmuştur (Bolvanský ve ark. 2014).

Çin’de kestane yetiştirilen alanlarda *C. parasitica*’nın yaygın görölmesine rağmen yanıklık direncinde önemli değişiklikler bulunmuştur (Clapper 1952, Headland ve ark. 1976, Zhao 1980).

Başka bir çalışmada Çin’nin Nanjing bölgesinde 24 tane güney çeşitte inceleme yapılmış ve % 0 ile % 63 oranında kestane kanseri ile bulaşıklı kestane ağacı bulunmuştur (Zhao 1980).

30 yıldan fazla yapılan yapay inokulasyonlarda ve arazi gözlemlerinde 12 tane kestane türlerinin arasında en yüksek dirençli Çin keşanesi olduğu belirtilmiştir (Graves 1950). Ayrıca genetik kaynakları *Castanea seguinii*, *Castanea pumila* ve *Castanea henryi* olan kestane eşitleri *Cryphonectria parasitica*’ya karşı dayanıklı olduğu belirtilmiştir (Bounous ve ark. 2005).

Huang ve ark. (1996) tarafından Çin’de yapılan bir çalışmada 13 Çin kestane çeşidi ve inokulasyon için SLA-155, SLA-389 ve AL-W adlı 3 tane virulent izolat kullanılmıştır. Ayrıca bu çeşitlerde *C. parasitica*’ya karşı gösterdiği dayanıklılık ölçölererek her bir eşitidin reaksiyonlarının farklı olmasına rağmen çoğunun virüent ırklara karşı dayanıklı

olduğu gözlemlenmiştir. Bu çeşitlerde oluşan kanserli alanlar kallus dokuları tarafından ya kademeli olarak ya da tamamen sınırlanmıştır. Denemede kullanılan çeşitler arasından YeLiCang, HongGuang ve WanBoke çeşitleri inokulasyondan 4 hafta sonra tamamen iyileşmiştir. Bu üç çeşidin ileride yapılacak ıslah programları için dayanıklılık kaynağı olarak iyi bir kaynak olacağı belirtilmektedir.

Yine Çin’de benzer bir çalışmada kullanılan 17 Çin kestanesinin *C. parasitica*’ya karşı gösterdiği dayanıklılık ölçülerek, her bir çeşidin etmene karşı reaksiyonlarının farklı olmasına rağmen çoğunun virulent ırklara karşı dayanıklı olduğu belirtilmiştir. Bu çeşitlerde oluşan kanserlerin küçük olduğu veya kallus oluşumu ile kısa sürede kapandığı gözlemlenmiştir. Denemede kullanılan çeşitlerde beiyu2’nin en yüksek dayanıklılık gösterdiği bulunmuştur ve bu çeşidin ileride yapılacak ıslah programları için dayanıklılık kaynağı olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir (Qin ve ark. 1999).

Avrupa’da da kestane kanserine karşı dayanıklı kestane çeşitlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesine yönelik çalışmalar yürütülmüştür fakat geniş çapta üretim için önerilebilecek çeşitler elde edilememiştir (Pavari 1949, Bazzigher 1981). Nitekim İsviçre’de 30 yıl boyunca süren dayanıklı kestane seleksiyonu çalışmaları içerisinde *C. mollissima*, *C. crenata*, ve *C. sativa* türlerinin bulunduğu 120 binden fazla kestane fidanı *C. parasitica*’ya olan reaksiyonları yönünden test edilmiş ve bunlardan 30 bin fidanda farklı düzeylerde dayanıklılık belirlenmiştir (Bazzigher ve Miller 1987). Bu fidanlar üzerinde yapılan ikinci bir seleksiyon sonucu 120 tanesi en dayanıklı klonlar olarak belirlenmiştir. Ancak bunlarda da dayanıklılığın yeterli olmadığı bildirilmiştir (Bazzigher ve Miller 1991).

Yunanistan’da yöresel kestane çeşitlerinin hastalık etmenine karşı reaksiyonlarının yanı sıra Çin kestanesi ve hibrit çeşidin (*C. mollissima* x *C. dentata*) de *C. parasitica*’ya karşı reaksiyonları test edilmiştir. Hastalık etmenlerinin fidanlara inokulasyondan 5 ay sonra yöresel çeşitlerin hassasiyet dereceleri farklı olsa da tamamının *C. parasitica*’ya karşı hassas olduğu saptanmıştır. Ancak Çin kestanesinin ve hibrit çeşidin etmene karşı dayanıklı olduğu belirlenmiş ve bunlar üzerinde inokulasyon sonucu oluşan küçük kanserlerin 1-2 yıl içerisinde kapandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca araştırmacılar yöresel çeşitlerin büyük bir kısmının inokulasyondan kısa bir süre sonra ölmesinin sadece

konukçunun genetik özelliğine bağlı olmadığını aynı zamanda hastalık etmeninin gelişimi için de uygun şartların olması ya da konukçu gelişimi için koşulların yetersiz olmasına bağlı olabileceğini düşünmektedirler. (Xenopoulos ve Papachatzis 1999).

Sisco (2012)'ya göre kestane ağaçları kestane kanseri patojenine karşı uygun tepkiyi verebilmesinde hem genlerin hem de çevrenin etkili olduğunu bildirmektedir. Ayrıca kanser enfeksiyonuna karşı genç kestane ağaçları yaşlı ağaçlara göre daha dayanıklıdır. İyi çevre koşullarında yetişen sağlıklı kestane ağaçları, çevresel stres altında yetişen ağaçlara göre yanıklık enfeksiyonuna genellikle daha dayanıklı olacağını söylemektedir. Nitekim Jones ve ark. (1980) Birleşmiş Devletleri'n doğusunda kestane ağaçları daha yüksek rakımlarda, daha soğuk çevrelerde ve güçlü kış rüzgârlarına maruz kaldığından dolayı Çin kestane ağaçları üzerinde kestane kanseri alanları sayıca daha fazla olduğu bulunmuştur. Çin'de, yanıklık şiddeti ülkenin kuzey kısımlarındaki ağaçlarda ve daha yaşlı ağaçlarda daha fazla gözlemlenmiştir (Zhou ve ark. 1993).

Ülkemizde ise son yıllara kadar hastalığa olan duyarlılıklarının çeşit belirlenmesine dair az çalışma bulunmaktadır. Bunlardan birisi Bursa ili kestane ağaçlarında kestane kanserinin yaygınlık oranı ve bazı yerli kestane çeşitlerinin hastalığa karşı reaksiyonları araştırılmıştır. Bu çalışmada *C. parasitica* ile bulaşık olan ağaç sayısı Bursa'nın Cumalıkızık Köyü'nde % 70, Hamamlıkızık Köyü'nde % 30 ve Babasultan Köyü'nde ise % 100 olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada ele alınan yerli çeşitlerden Vakit ve Dursun adlı kestane çeşitleri Firdula, Osmanoğlu, Hacı Ömer, Sarı Aşlama ve Seyrek Diken çeşitlerine göre daha dayanıklı oldukları belirlenmiştir (Baykal ve ark. 2000).

Ülkemizde yapılan bir diğer çalışma ise; Karadeniz Bölgesi'nden elde edilmiş bazı kestane genotiplerinin *C. parasitica*'ya karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amacı ile Samsun ve Sinop'tan elde edilen 8 farklı kestane genotipine ait 5 yıllık fidanlara Samsun orijinli *C. parasitica* izolatu inokule edilmiş ve inokulasyondan 4,5 ay sonra lezyon alanları ölçülmüştür. Araştırma sonucunda Sinop'tan elde edilen SA 5-1 genotipi en duyarlı genotip olarak belirlenmiştir. Ayrıca Samsun'dan elde edilen 556-8 ve Sinop'tan elde edilen SE 3-12 genotipleri ise nispeten dayanıklı genotipler olarak belirlenmiştir (Erper ve ark. 2005).

Yine bir başka çalışmada ise yüksek verim ve kaliteli kestane meyveleri elde etmek için Aydın ilinde yetişen 6 tane yerel kestane genotipleri [N-2-5 (Deli), N-3-4 (Işıklar), N-7-

3 (Sarı Salman), N-19-2 (Aşı), N-20-2 (yerel adı yok), N-23-1 (Işıklar)] *C. parasitica* izolatlarına karşı reaksiyonları değerlendirilmiştir. Aydın ilinde *C. parasitica* popülasyonu arasından K5-13 ve N27-1 kod adlı izolatları en çok ve en az virülent izolatları Elliston (1985) ve Lee ve ark. (1992)'nin kesik dal testi yöntemine göre bulunmuştur. Çalışmanın sonunda tüm genotipler *C. parasitica*'ya karşı duyarlı olduğu bulunmuştur ancak tüm genotipler arasında duyarlılık dereceleri farklı olduğu kaydedilmiştir. Buna göre N-7-3 (Sarı Salman) olarak kodlanan genotip en duyarlı olarak belirtilmiştir. N-3-4 (Işıklar) ve N-20-2 olarak kodlanan genotipler ise diğer genotiplere göre daha az duyarlı olduğu belirtilmiştir (Birsen ve Döken 2009).



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışma, 2015 yılında Bursa ili Osmangazi ilçesine bağlı Yiğitali Mahallesi'nde ve Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Mikoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmanın ana materyallerini ise Yiğitali Mahallesi'nde doğal olarak yetişen Avrupa Kestanesi (*Casteane sativa*)'nin yerel bir çeşidi olan Kara Aşu çeşidinin en az 100 yıllık ağaçlarından elde edilen dallar, yapraklar ve marketlerden temin edilen Golden Delicious elma çeşidinin meyvesi oluşturmuştur.

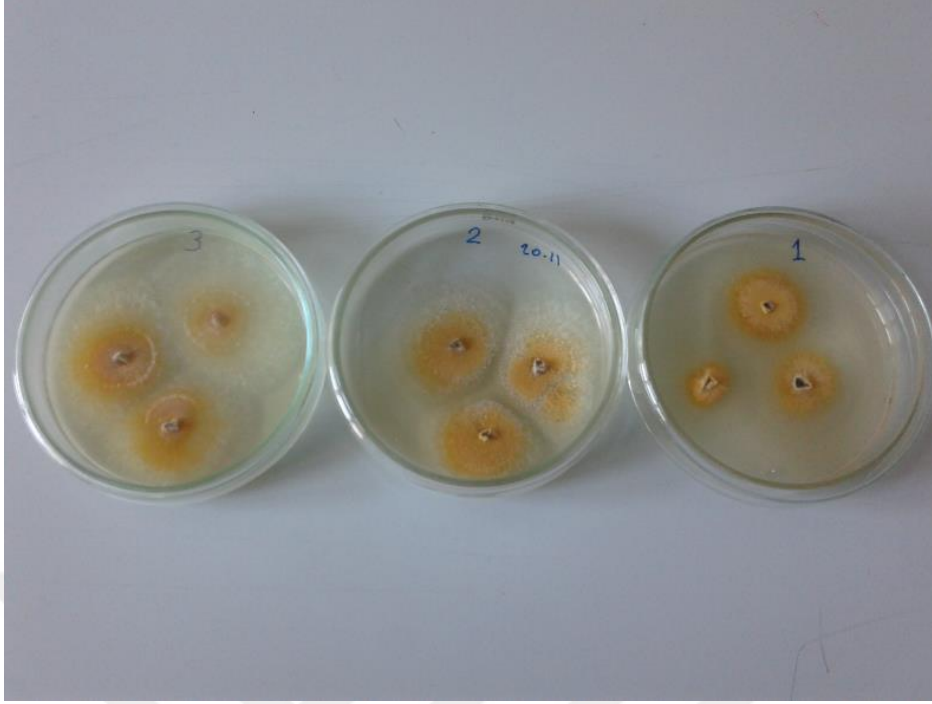
Çalışmada kullanılan izolatlar ise, araştırmanın yapıldığı yerdeki, yukarıda sözü edilen, kestane kanseri ile doğal olarak bulaşık kestane ağaçlarından izole edilmiştir. İzole edilen izolatlar arasında morfolojik olarak birbirlerinden farklı üç *Cryphonectria parasitica* izolatu seçilmiş ve bu izolatlar daha sonraki çalışmalar için +4 °C' deki buzdolabında eğik agar içeren tüpler içerisinde muhafaza edilmişlerdir. Fungusların izolasyonunda ve daha sonraki çalışmalar için tekrar çoğaltılmalarında hazır olarak satılan Patates Dekstroz Agar (PDA, Merck) ortamı kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. *Cryphonectria parasitica* izolatlarının izolasyonu

Kestane kanseri ile doğal bulaşık kestane ağaçlarının dallarının kabuk dokularından 3-5 cm uzunluğunda parçalar alınmış ve bunlar poşetlere konularak numaralandırılmıştır.

Daha sonra laboratuvarında 3-5 cm olan bu örnekler 2-3 mm büyüklüğünde kesilerek parçacıklara ayrılmıştır. Alınan bu kesitler önce % 1'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) içerisinde 3 dk ve daha sonra 3 kez 3 dk olmak üzere steril saf suda tutularak yüzey dezenfeksiyonları yapılmıştır. Yüzey dezenfeksiyon işlemi yapıldıktan sonra bu parçacıklar içerisinde steril kurutma kâğıdı bulunan petrilere konularak parçacıkların kuruması beklenmiştir. Yüzey dezenfeksiyonu yapılan ve kurutma işlemi biten parçacıkların her bir ağaç için içerlerinde Patates Dekstroz Agar (PDA, Merck,) ortamı bulunan beşer petri ve her bir petrinin içine 3 adet parçacık gelecek şekilde ekilerek 25 °C sıcaklıkta 7 gün laboratuvarında tezgâh üzerinde gün ışığına maruz bırakılmıştır. Petri içerisindeki PDA ortamında gelişen fungusların morfolojik olarak özelliklerine bakılarak Şekil 3.1'de görüldüğü gibi 3 farklı izolat elde edilmiştir.



Şekil 3.1. İzolasyon sonrası PDA ortamı içeren petrilerde gelişen *Cryphonectrica parasitica* izolatlarının genel bir görünümü

3.2.2. Kestane kanserine karşı patojenisite testlerinde kullanılan yöntemler

Kestane kanserine karşı patojenisite testlerinde kullanılan beş farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunlar:

1. Elma testi
2. Canlı ağaç testi
3. Plastik kaplarda kesik dal parçası testi
4. Petri koşullarında kesik dal parçası testi
5. Yaprak testi

3.2.2.1. Elma Testi

Yaklaşık olarak eşit büyüklüğe, olgunluğa ve renkliliğe sahip olan Golden Delicious elma çeşidi meyveler ilk olarak musluk suyu ile yıkanıp kurutma havlusu ile kurutulduktan sonra yüzeyi % 70'lik etil alkol emdirilmiş pamuk ile silinerek yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Sonra meyveler yan yana dizilerek eşit yükseklikte olacak şekilde meyvelerin üzeri keçeli kalem yardımı ile işaretlenmiştir. Meyvenin yüzeyinde işaretli olan yerlerden cork borer (mantar delici) ile 5 mm çapında yaklaşık olarak 2-3

mm derinliğinde delikler açılarak (Fulbright 1984 ve Elliston 1985)'un yöntemlerine göre yapılmıştır. Yine aynı genişlikte, PDA ortamında aktif olarak gelişen *C. parasitica*'ya ait morfolojik olarak farklı virülent etkisine sahip 3 izolatın kolonilerinin kenar kısımlarından steril öze ile alınan disklerin misel bulunan yüzeyi daha önce meyve yüzeyine açılan deliklerin içerisine gelecek şekilde yerleştirilmiş ve tamamen elma meyvesinin dokusuna temas etmesi sağlanmıştır. Kontrollerde inokulum olarak steril fungusdan ari PDA diski kullanılmıştır. İnokule edilen kısımlar şeffaf bant ile kapatılarak numaralandırılmıştır ve steril olan ve nem tutması için içerisine steril havlu kağıdı konulan bir muhafaza kabı içerisine 4 adet elma meyvesi gelecek şekilde yerleştirilmiş ve steril ortamın nemlenmesi için steril saf su ilave edilmiştir. Bu muhafaza kapları 25 °C sıcaklıkta laboratuvar ortamında inkubasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 15 gün sonra meyveler üzerinde yuvarlak gelişen kestane kanseri lezyonlarının çapları ölçülerek milimetre (mm) olarak kaydedilmiştir. Araştırmada deneme planı tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olacak şekilde ancak her tekerrür de iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Kontrol uygulaması ise patojenden ari temiz PDA ortamı kullanılmıştır.

3.2.2.2. Canlı Ağaç Testi

Bursa ilinin Osmangazi ilçesine bağlı Yiğitali Mahallesi'nde doğal olarak yetişen kestane ağaçlarından rasgele olarak seçilen 4 tane kestane ağacında her bir ağaç için 2 adet dal seçilerek (Elliston 1978)'un yöntemlerine göre yapılmıştır. Seçilen her bir dal için steril mantar delici ile kabuk dokusuna 5 mm çapında biri kontrol olmak üzere 4 tane delik açılmıştır. Daha sonra PDA ortamında aktif gelişen morfolojik olarak farklı virülent etkiye sahip 3 izolatın kolonilerinin kenar kısımlarından steril mantar delici ile 5 mm çapında fungal miselyum agar plakları oluşturulmuştur. Bu oluşturulan plaklar steril öze yardımı ile alınarak fungusun aktif olarak gelişen misel yüzeyi kestane dalında açılan delikler içerisine ters çevrilerek yerleştirilmiş ve dalın odun dokusuna tam temas etmesi sağlanmıştır. Yine kontrollerde inokulum olarak fungusdan ari steril PDA plağı kullanılmıştır. İnokule edilen kısımlar şeffaf bant ile kapatılarak numaralandırılmıştır. İnokulasyondan 2 ay sonra dallar üzerinde gözle görülebilecek şekilde eliptik olarak gelişen kanser lezyonlarının çapları dal boyunca ölçülerek milimetre (mm) olarak kaydedilmiştir. Araştırma da deneme planı tesadüf blokları deneme desenine göre her ağaç bir blok olacak şekilde ve her blokta iki dal bir tekerrür ortalaması şeklinde

morfolojik olarak üç farklı izolatla yürütülmüştür. Bunların yanında, bir de kontrol uygulaması olarak patojen miseli içermeyen sadece temiz PDA ortamı inokulasyonu yapılmıştır. Uygulamadan 1, 2 ve 3 ay sonra kanser uzunlukları milimetre (mm) olarak ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Kontrol uygulaması ise patojenden arı temiz PDA ortamı kullanılmıştır.



3.2.2.3. Plastik Kaplarda Kesik Dal Parçası Testi

Daha öncede bahsedildiği gibi Yiğitali Mahallesi'nde doğal olarak yetişen kestane ağaçlarından rastgele seçilen 4 tane kestane ağacının her biri için kanserle bulaşık olmayan sağlıklı dallardan yaklaşık 2-3 cm çapında yaklaşık 50 cm uzunluğunda dal parçaları alınıp (Eliston 1985, Lee ve ark. 1992)' dan modifiye edilerek yapılmıştır. Alınan her bir dal parçası 1'den 4'e kadar numaralandırılarak torbalara konulmuştur. Daha sonra laboratuvar ortamına getirilen dal parçaları steril ağaç budama makası yardımıyla 30 cm uzunluğunda parçalara ayrılmıştır. Ayrılan bu 30 cm uzunluğundaki her bir dal parçası önce ıslak mendil ile yüzeyleri temizlenmiş ve sonra da % 70'lik etil alkol emdirilmiş pamuk ile silinerek yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Yüzey dezenfeksiyon işlemi bittikten sonra keçeli kalem yardımıyla 30 cm uzunluğundaki dalın her iki ucundan 3 cm' ye tekabül edecek şekilde dalın üzeri işaretlenmiştir. Daha sonra dalın üzerinde geriye kalan 24 cm uzunluğundaki kısım da 6 cm olacak şekilde 4 eşit parça olarak işaretlenmiştir. Bu işlem her bir dal için yapılmıştır. Bu 6 cm uzunluğunda olan ve 4 eşit parça olarak işaretlendikten sonra steril mantar delici yardımıyla tam ortalarına gelecek şekilde 4 tane 5 mm çapında delikler açılmıştır. Daha sonra PDA ortamında aktif gelişen morfolojik olarak farklı virulent etkiye sahip olan 3 izolatin kolonilerinin kenar kısımlarından steril mantar delici ile 5 mm çapında fungal miselyum agar plakları oluşturulmuştur. Bu oluşturulan plaklar steril öze yardımı ile alınarak fungusun aktif olarak gelişen misel yüzeyi açılan bu delikler içerisine ters çevrilerek yerleştirilmiş ve 30 cm uzunluğundaki bu dal parçalarının odun dokularına tam temas etmesi sağlanmıştır. Yine kontrollerde inokulum olarak fungusdan ari steril PDA plağı kullanılmıştır. İnokule edilen kısımlar şeffaf bant ile kapatılarak numaralandırılmıştır. Bu işlem bittikten sonra şeffaf plastik muhafaza kapları % 70'lik etil alkol emdirilmiş pamuk ile yüzeyleri dezenfekte edilmiştir. Dezenfekte işlemi bittikten sonra şeffaf plastik muhafaza kaplarının içerisine temiz kurutma kâğıt havlu konulmuştur. Bu şeffaf plastik muhafaza kaplarının içerisinin % 95 nem olması için steril saf su ilave edilmiştir. Tüm işlem bittikten sonra inokule edilen 30 cm uzunluğundaki kestane dalları her bir şeffaf plastik muhafaza kapının içerisine iki dal olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu muhafaza kaplarının numaralandırma işlemi bittikten sonra 25 °C' de laboratuvar ortamında inkubasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 30 gün sonra dal parçalarının üzerinde gözle görülebilecek şekilde eliptik olarak gelişen

kanser lezyonlarının boyuna uzunlukları ölçülerek milimetre (mm) olarak kaydedilmiştir. Araştırmada deneme planı tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olacak şekilde ancak her tekerrür de iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Kontrol uygulaması ise patojenden arı temiz PDA ortamı kullanılmıştır.

3.2.2.4. Petri Koşullarında Kesik Dal Parçası Testi

Bu test sağlıklı görülen kestane dalları ile yaklaşık 2-3 cm çapında ve 20 cm uzunluğunda, Lee ve ark. (1992)'nin kullandığı testin biraz değiştirilmesi ile yapılmıştır. Buna göre, alınan her bir dal parçası 1'den 4'e kadar numaralandırılarak şeffaf poşetlere konulmuştur. Daha sonra laboratuvar ortamına getirilen dal parçaları steril ağaç budama makası yardımıyla yaklaşık olarak 3-4 cm uzunluğunda parçalara ayrılmıştır. Ayrılan bu parçalar dikey olarak tutularak tekrardan ağaç buda makası yardımıyla tam ortadan olacak şekilde iki eşit parçaya bölünmüştür. Ayrılan her bir parça için önce ıslak mendil ile yüzeyleri temizlenmiş ve sonra da yüzeyleri % 70'lik etil alkol emdirilmiş pamuk ile silinerek yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu işi bittikten sonra yaklaşık 3-4 cm uzunluğunda olan dal parçalarının kabuk dokusunun tam ortasına gelecek şekilde 5 mm çapında steril mantar delici yardımıyla delikler açılmıştır. Daha sonra PDA ortamında aktif gelişen morfolojik olarak farklı virulent etkiye sahip 3 izolatın kolonilerinin kenar kısımlarından steril mantar delici ile 5 mm çapında fungal miselyum agar plakları oluşturulmuştur. Bu oluşturulan plaklar steril öze yardımı ile alınarak fungusun aktif olarak gelişen misel yüzeyi 3-4 cm uzunluğunda olan kestane dal parçalarına açılan delikler içerisine ters çevrilerek yerleştirilmiş ve dal parçalarının odun dokularına tam temas etmesi sağlanmıştır. Yine kontrollerde inokulum olarak steril PDA plağı kullanılmıştır. İnokule edilen kısımlar şeffaf bant ile kapatılarak numaralandırılmıştır. Etüvde 120 °C sıcaklıkta steril edilen içerisinde kurutma kâğıdı olan cam petri kapları içerisine biri kontrol olmak üzere 4 adet 3-4 cm uzunluğundaki dal parçaları yerleştirilmiş ve % 95 nemlilik oranını elde edebilmek için her bir cam petri içerisine steril saf su ilave edilerek petriler parafilm ile kapatılarak numaralandırılmıştır. Bu işlem her bir ağaç için 2 seri olarak yapılmıştır. Tüm işlemler bittikten sonra petriler 25 °C'de laboratuvar ortamında inkubasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 2 hafta sonra dal parçalarının üzerinde gözle görülebilecek şekilde eliptik olarak gelişen kanser lezyonlarının çapları boyuna ölçülerek milimetre (mm) olarak kaydedilmiştir. Araştırmada deneme planı tesadüf parselleri deneme desenine

göre 4 tekerrürlü olarak ancak her tekerrür de iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Kontrol uygulaması ise patojenden arı temiz PDA ortamı kullanılmıştır.



3.2.2.5. Yaprak Testi

Bu testte daha önce diğer testlerde bahsedildiği gibi rastgele seçilen 4 tane kestane ağacının her birisi için kanser ile bulaşık olmayan taze ve temiz olan yaklaşık 10-15 cm uzunluğunda 8 adet yaprak alınarak Newhouse ve ark. (2014)' a göre yapılmıştır. Arazide alınan bu yapraklar sekizer sekizer şeffaf poşetlere konulmuştur ve poşetler numaralandırılmıştır. Laboratuvara getirilen kestane yaprakları önce ıslak mendil ile her iki yüzeyi temizlenmiş ve daha sonra % 70'lik etil alkol emdirilmiş pamuk ile yaprakların her iki yüzeyinin de dezenfeksiyonu yapılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu işi bittikten sonra yaprağın arka yüzündeki ana damarı üste gelecek şekilde yaprak ters çevrilmiştir. Ters çevrilen yaprağın ana damarının tam ortasına gelecek şekilde önce keçeli kalem ile işaretlenip sonra işaretli olan kısım üzerine steril bisturi ile 5 mm çapında yara yeri açılmıştır. Burada oldukça dikkatli davranılmıştır. Yaprtağın ana damarının tamamen kesilmemesine özen gösterilmiştir. Yaprtağın ana damarında yara yeri açma işlemleri tamamlandıktan sonra PDA ortamında aktif gelişen morfolojik olarak farklı virulent etkiye sahip olan 3 izolatın kolonilerinin kenar kısımlarından steril mantar delici ile 5 mm çapında fungal miselyum agar plakları oluşturulmuştur. Bu oluşturulan plaklar steril öze yardımı ile alınarak fungusun aktif olarak gelişen misel yüzeyi yaprağın ana damarı üzerine açılan yara yerine ters çevrilerek yerleştirilmiştir. Daha sonra da fungal miselyum agar plağını yaprağın ana damarında sabit olarak durmasını sağlamak için şeffaf bant ile kapatılmıştır ve keçeli kalem ile numaralandırılmıştır. Yine kontrollerde inokulum olarak steril PDA plağı kullanılmıştır. Bu yapılan tüm işlemlerin aynısı her bir yaprak için tekrarlanmıştır. Bu işlem bittikten sonra daha öncede anlatıldığı gibi şeffaf plastik muhafaza kapları % 70'lik etil alkol emdirilmiş pamuk ile yüzeyleri dezenfekte edilmiştir. Dezenfekte işlemleri bittikten sonra şeffaf plastik muhafaza kaplarının içerisine temiz kurutma kâğıt havlu konulmuştur. Bu şeffaf plastik muhafaza kaplarının içerisinin % 95 nem olması için steril saf su ilave edilmiştir. Tüm işlem bittikten sonra inokule edilen 10-15 cm uzunluğundaki kestane yaprakları her bir şeffaf plastik muhafaza kapının içerisine 4 yaprak olacak şekilde yerleştirilerek şeffaf plastik kapların her birisine numara verilmiştir. Bu numaralandırma işlemleri bittikten sonra da 25 °C' de laboratuvar ortamında inkubasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 10 gün sonra yapraklar üzerinde gözle görülebilecek şekilde eliptik

olarak gelişen kanser lezyonlarının damar boyunca uzunlukları ölçülerek milimetre (mm) olarak kaydedilmiştir.

Araştırmada deneme planı tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak ancak her tekerrür de iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Kontrol uygulaması ise patojenden arı temiz PDA ortamı kullanılmıştır. Elde edilen tüm sonuçların değerlendirilmesinde IBM SPSS V.21 ve JUMP gibi istatistik paket programlarından yararlanılmıştır.



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışma morfolojik olarak farklı üç *Cryphonectria parasitica* izolatının 5 farklı yöntemle patojenisitelerinin ve virulenslerinin belirlenmesi üzerine kurulmuş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

4.1. Elma Testi Sonuçları

Bu test Golden Delicious elma çeşidinin yaklaşık olarak aynı büyüklükteki temiz ve sağlıklı meyveleri ile yapılmış olup, test başlangıcındaki durum Şekil 4.1.1’de ve testin sonundaki meyvelerde kanser gelişimi Şekil 4.1.2’de görülmektedir.



Şekil 4.1.1. Elma testinde *C. parasitica* ile inokule edilmiş elmaların inkübasyonundan görünüm



Şekil 4.1.2. Elma testinin sonunda *Cryphonectria parasitica* izolatlarının oluşturduğu lezyonların görünümü (soldan sağa; kontrol, 1 no'lu izolat, 2 no'lu izolat ve 3 no'lu izolat)

Çizelge 4.1.1. *Cryphonectria parasitica* izolatlarının Golden Delicious elma çeşidinde inokulasyondan 7 gün sonra oluşturdukları lezyonların çapları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolat	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	15,00	14,00	14,50	14,50	14,50 a
2	14,50	14,50	16,00	11,50	14,12 a
3	12,50	15,00	15,50	14,50	14,37 a
Ortalama	14,00	14,50	15,33	13,50	14,33

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ² LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir

Çizelge 4.1.2. *Cryphonectria parasitica* izolatlarının Golden Delicious elma çeşidinde inokulasyondan 14 gün sonra oluşturdukları lezyonların çapları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolant	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	32,00	29,90	30,00	32,00	30,97 a
2	33,00	34,00	31,50	29,00	31,87 a
3	32,00	31,00	35,00	30,50	32,12 a
Ortalama	32,33	31,63	32,16	30,50	31,65

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ² LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir

4.2. Canlı Ağaç Testi Sonuçları

Bu test kestane ormanında ve kestane ağacı üzerinde Şekil 4.2.1’de görüldüğü şekilde başlatılmış ve inokulasyondan sonra birer aylık aralıklarla kanser yaralarının oluşup oluşmadığı gözlenmiş (Şekil 4.2.2) ve oluşanların mm olarak dal boyunca uzunlukları ölçülerek kaydedilmiştir.



Şekil 4.2.1. *Cryphonectria parasitica* izolatı ile inokule edilmiş bir kestane dalı



Şekil 4.2.2. Bir *Cryphonectrica parasitica* izolatının canlı kestane dalında inokulasyondan yaklaşık 2 ay sonra oluşturduğu kanser belirtisi

Çizelge 4.2.1. *Cryphonectrica parasitica* izolatlarının canlı kestane dalında inokulasyondan bir ay sonra oluşturduğu lezyonların uzunlukları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolat	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	12,50	13,50	11,50	12,00	12,37 a
2	17,50	13,50	17,00	12,00	15,00 b
3	15,50	15,50	16,00	12,00	14,75 ab
Ortalama	15,16	14,16	14,83	12,00	14,04

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ²LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.2.2. *Cryphonectrica parasitica* izolatlarının canlı kestane dalında inokulasyondan iki ay sonra oluşturduğu lezyonların uzunlukları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolat	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	14,50	41,00	16,00	12,50	21,00 a
2	29,00	47,50	17,50	32,50	31,62 a
3	27,50	22,50	19,00	38,00	26,75 a
Ortalama	23,66	37,00	17,50	27,66	26,45

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ²LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.2.3. *Cryphonectrica parasitica* izolatlarının canlı kestane dalında inokulasyondan üç ay sonra oluşturduğu lezyonların uzunlukları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolat	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	36,00	51,50	22,00	14	30,87 a
2	61,50	94,00	27,50	65	62,00 b
3	76,50	87,50	40,00	59	65,75 b
Ortalama	58,00	77,66	29,83	46,00	52,87

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ²LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir.

Canlı ağaç testi, tamamen doğal koşullarda, ormanlık alanda yapıldığından en çok istenen ve pratiğe en yakın sonucu vereceği düşünülen testtir(Elliston 1978). Hatta diğer testler için bir çeşit pozitif kontrol görevi görmektedir. Bununla birlikte, doğal ortamda bu tür testlerin yapılması gerek kestane üreticilerini gerekse araştırmacıları, doğal ortama kanser yapıcı izolatların insan eli ile bulaştırılması nedeni ile endişelendirmektedir. Zira test edilen izolat oradan bile izole edilmiş olsa, orada hastalık yapıcı inokulumun artırılması söz konusudur. Başka bölgelerden izole edilmiş izolatların yeni bir alanda test edilmesi ise hiç istenmemektedir. Çünkü daha büyük riskler taşımaktadır. Bu çalışmada da test edilen izolatlar o bölgeden ve canlı ağaç testinin yürütüldüğü ağaçlardan izole edilmiş olup, sonuçların diğer test sonuçları ile neredenli uyuşup, uyuşmadığı araştırılmıştır. Testin süresi bu testi kullanan araştırmacılar arasında da farklılık arz ettiği için aylık ölçümler yapılmış ve üçüncü aydan itibaren izolatlar arasında istatistiki anlamda farklılıklar oluşması nedeni (Çizelge 4.2.3) ile test sonlandırılmıştır. İnokulasyondan bir ay sonraki verilerin (Çizelge 4.2.1) de yeterli olabileceği düşünülse bile, gerek iklim koşullarının gerekse ağaç fizyolojisinin etkisini de görmek amacı ile iki ay sonraki verilerin (Çizelge 4.2.2) daha sağlıklı olabileceği sonucuna varılmıştır. Lee ve ark.(1992)'da canlı ağaç testi için inkübasyon süresini 2-3 ay olarak belirtmekle beraber, kendileri bir çalışmalarında son değerlendirmeyi 2 ay üzerinden yapmışlardır. Aynı test kestane ormanlarında veya bahçelerinde değil de en az bir yaşındaki kestane fidanları üzerinde yapıldığında ise değerlendirme süresi 6 haftaya kadar düşürülebilmektedir (Huang ve ark. 1996). Huang ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada da üç *Cryphonectria parasitica* izolatı ile çalışılmış ve daha küçük çaplı (3 mm) bir delici (cork borer) kullanılarak 4 Çin kestane çeşidi (*Castanea mollissima*) ve 4 Amerikan kestane çeşidi (*Castanea dentata*)'nin kanser etmenine karşı reaksiyonları belirlenmiştir.

4.3. Plastik Kaplarda Kesik Dal Parçası Testi Sonuçları

Bu test belirli uzunluktaki kestane dalları ile yapılmakta olup, bu çalışmada 30 cm uzunluğunda kestane dalları kullanılmıştır. Kestane ağacından alındığı gün laboratuvar ortamında ve plastik kaplar içerisinde yapılan bu testte (Şekil 4.3.1. ve Şekil 4.3.2) kanser uzunlukları patojenin inokulasyonundan 15 ve 30 gün sonra ölçülerek değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3.1 ve 4.3.2).



Şekil 4.3.1. Plastik kaplarda kesik dal parçası testinin genel bir görünümü



Şekil 4.3.2. Plastik kaplarda kesik dal parçası testinde kullanılan bir kestane dalının inokulasyondan 30 gün sonraki görünümü

Çizelge 4.3.1. Plastik kaplarda kesik dal parçası testinde *Cryphonectria parasitica* izolatlarının inokulasyondan 15 gün sonra oluşturduğu kanser uzunlukları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolat	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	15,50	44,00	25,50	33,00	29,50 a
2	16,00	45,00	30,00	33,00	31,00 a
3	18,50	38,50	32,00	34,50	30,87 a
Ortalama	16,66	42,50	29,16	33,50	30,45

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ²LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.3.2. Plastik kaplarda kesik dal parçası testinde *Cryphonectria parasitica* izolatlarının inokulasyondan 30 gün sonra oluşturduğu kanser uzunlukları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolat	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	23,00	53,50	46,00	44,50	41,75 a
2	24,00	56,50	48,00	46,50	43,75 a
3	31,50	51,00	52,50	45,50	45,12 a
Ortalama	26,16	53,66	48,83	45,50	43,54

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ²LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir.

Plastik kaplarda kesik dal parçası testinde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3.1 ve 4.3.2’de ayrıntılı olarak görülebileceği gibi ortalamalara dikkat edildiğinde izolatlar arasındaki virülens değerlerinin istatistiksel olarak aynı grupta yer almaları, sadece rakamların büyümesi bu testin süresinin bir ayla sınırlandırılması yönünde kanaat oluşmasına neden olmuştur. Ayrıca, daha fazla beklendiğinde kanser uzunluklarının birbirlerine teması da söz konusu olabilmektedir. Lee ve ark.(1992)’da bu test için inkubasyon süresini 5 hafta olarak belirtmektedirler.

4.4. Petri Koşullarında Dal Parçası Testi Sonucu

Bu test plastik kaplarda kesik dal parçası testine göre gerek daha küçük bir alanda daha fazla sayıda izolatın değerlendirilmesine olanak sağlaması gerekse daha kısa sürede sonuç vermesi açısından önemlidir. Bu çalışmada, testin başlangıç görüntüleri Şekil 4.4.1’de, test sonundaki görüntüleri Şekil 4.4.2’de ve test sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.4.1’de görülmektedir.



Şekil 4.4.1. Petri koşullarında kesik dal parçası testinde *C. parasitica* ile inokule edilmiş dal parçaları



Şekil 4.4.2. *Cryphonectria parasitica*'nın petri koşullarında kesik dal parçası testinde inokulasyondan 8 gün sonra oluşturduğu kanser lezyonlarının görünümü

Çizelge 4.4.1. Petri koşullarında kesik dal parçası testinde *Cryphonectria parasitica* izolatlarının inokulasyondan 8 gün sonra oluşturduğu kanser uzunlukları (mm)

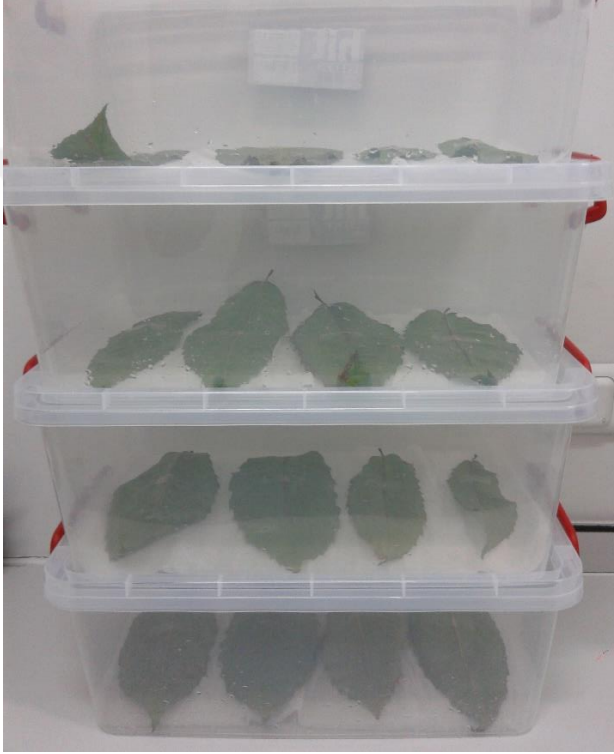
Lezyon Çapı (mm)					
İzolot	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	44,50	30,00	33,00	24,00	32,87 a
2	38,50	29,00	32,50	27,50	31,87 a
3	42,50	35,50	30,00	25,50	33,37 a
Ortalama	41,83	31,50	31,83	25,66	32,70

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ²LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.4.1 dikkatlice incelendiğinde izolatlar arasında oluşturdukları kanser uzunluklarına göre istatistiksel öneme sahip farklar bulunmadığı ve testin daha fazla süre olarak uzatılması durumunda kanser yaralarının gelişebileceği bir alan kalmadığı (Şekil 4.4.2) görüldüğünden test süresinin 8 gün ile sınırlandırılması tarafımızca uygun bulunmuştur. Hatta bu testle yapılan benzer bir çalışmada değerlendirme inokulasyondan 4 gün sonra yapılmıştır (Lee ve ark. 1992). Bu test, 1990'lı yıllarda hızlı ve verimli bir test olarak tanıtılsa da petri koşullarında ve 3-4 cm 'lik kestane dal parçaları ile ortadan bölünerek yapılması gibi dezavantajları da beraberinde taşımaktadır. Bütün bunlara rağmen, kestane dal parçaları ile yapılıyor olmasından dolayı, her ne kadar bu çalışmada elma meyvesi testi ile aynı istatistik gurubuna girmesine rağmen, elma meyvesi testinden daha güvenilir olduğunu düşünmekteyiz.

4.5. Yaprak Testi Sonuçları

Bu testin oldukça yeni olması ve petri koşullarındaki kesik dal parçası testi gibi kısa sürede sonuç vermesi en önemli tercih nedenini oluşturmaktadır. Testin başlangıç görüntüsü Şekil 4.5.1’de, test başladıktan sonraki 10’uncu gündeki kestane yaprağındaki kanser gelişimi Şekil 4.5.2’de görülmektedir. Testin 10’uncu gündeki değerlendirilmesi ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.5.1 ve 14’üncü gündeki değerlendirilmesi ile ilgili sonuçlar ise Çizelge 4.5.2’de verilmiştir.



Şekil 4.5.1. *Cryphonectria parasitica*'nın patojenisitesinin test edildiği yaprak testinin genel görünümü



Şekil 4.5.2. *Cryphonectria parasitica*'nın patojenisitesinin yaprak testinde inokulasyondan 10 gün sonraki görünümü

Çizelge 4.5.1. *Cryphonectria parasitica* izolatlarının yaprak testinde inokulasyondan 10 gün sonraki oluşturduğu kanser lezyonlarının uzunlukları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolat	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	47,00	38,50	58,50	33,50	44,37 a
2	53,00	45,00	48,50	43,00	47,37 a
3	60,00	40,00	49,00	42,50	47,87 a
Ortalama	53,33	41,16	52,00	39,66	46,54

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ²LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5.2. *Cryphonectria parasitica*'nın yaprak testinde inokulasyondan 14 gün sonraki oluşturduğu kanser lezyonlarının uzunlukları (mm)

Lezyon Çapı (mm)					
İzolat	Tekerrürler ¹				Ortalama ²
No	1	2	3	4	
1	63,50	48,50	72,50	44,00	57,12 a
2	60,50	62,50	61,00	59,00	60,75 a
3	71,00	66,00	60,00	56,50	63,37 a
Ortalama	65,00	59,00	64,50	53,16	60,41

¹ Rakamlar 2 tekrar ortalaması olup mm olarak verilmiştir. ²LSD Testi ($P \leq 0.05$) Aynı harfler aynı istatistik gurubunda olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5.1 ve Çizelge 4.5.2 dikkatlice incelendiğinde, izolatlar arasında oluşturdukları kanser uzunlukları bakımından istatistiki anlamda önemli bir farkın oluşmadığı, sadece kanser belirtilerinin boylarının uzadığı görülmektedir. Bu nedenle, 10-14 günlük bir inkübasyon süresi yeterli görülmektedir. Bununla birlikte, bu çalışmada yapraklar sekonder enfeksiyonlara maruz kalıncaya kadar beklenmesi uygun görülmüş ve değerlendirmeye esas olan süre 14 gün olarak alınmıştır. Bu testi bilim dünyasına ilk kez duyuran araştırmacılar ise bu test için 4-7 günlük bir inkübasyon süresini değerlendirme için yeterli bulmuşlardır. Bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlara göre ise 4 günlük bir inkübasyon süresinin sağlıklı değerlendirme için yeterli olamayabileceği fakat 7 günlük bir inkübasyon süresi ile de sağlıklı sonuçlar alınabileceği yönündedir. İnkübasyon süresinin 15 günden fazla sürmesi ise yapraklar üzerinde saprofitik patojenlerin gelişmesine veya yaprakların çürümesine neden olabilmektedir.

4.6. *Cryphonectria parasitica* İzolatlarının Farklı Testlerde Oluşturdukları Kanser lezyonların Birbirleri İle Karşılaştırılması

Bu çalışmada *Cryphonectria parasitica*'nın üç izolatının farklı testlerde oluşturdukları kanser lezyonların ortalama uzunlukları mm olarak Çizelge 4.6.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.6.1. *Cryphonectria parasitica*'nın üç izolatının farklı testlerde oluşturdukları kanser lezyonların ortalama uzunlukları (mm)

Testin Adı	Ortalama Kanser Uzunluğu (mm)
Canlı Ağaç Testi	52,8750 a ¹
Elma Testi	31,6583 b
Plastik Kaplarda Kesik Dal Parçası Testi	43,5417 a
Petri Koşullarında Kesik Dal Testi	32,7083 b
Yaprak Testi	46,5417 a

¹LSD Testi ($P \leq 0.05$)

Çizelge 4.6.1 dikkatlice incelendiğinde elma testi ile petri koşullarında kesik dal parçası testinin aynı istatistik gruba girdiği, diğer üç testinde farklı bir grupta yer aldığı görülmektedir. Bu testlerin birbirleri ile karşılaştırılmasında kriter olarak canlı ağaç testi alınmıştır. Çünkü canlı ağaç testi pratiğe en yakın sonuçların alınacağı test olarak düşünülmektedir. Buna göre, canlı ağaç testi ile aynı grupta yer alan plastik kaplarda kesik dal parçası testi ve yaprak testi bu çalışmanın en önemli bulgusu olarak düşünülebilir. Plastik kaplarda kesik dal parçası testi ile yaprak testinin laboratuvar ortamında yapılabilen olması canlı ağaç testine göre en önemli avantajlarıdır. Test süresi olarak bakıldığında ise yaprak testinin plastik kaplarda kesik dal parçası testine göre yaklaşık 15 gün daha kısa olması nedeni ile ayrıca bir tercih nedeni olabilir. Newhouse ve ark. (2014)'na göre ise bu süre 4-7 güne kadar düşürülebilir. Bütün bu bilgiler birlikte değerlendirildiğinde, eğer canlı ağaç testi yapılamıyor veya yaptırılmıyor ise, laboratuvar testleri içerisinde canlı ağaç testine en yakın sonucu veren ve aynı istatistik grubuna giren plastik kaplarda kesik dal parçası testi ve yaprak testi ile *Cryphonectria parasitica* izolatlarının kestane çeşitlerindeki virülenslikleri belirlenebilir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, üç *Cryphonectria parasitica* izolatının 5 farklı yöntemle virülenslikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu yöntemlerden canlı ağaç testi ile her koşulda benzer veya paralel sonuçları verebilecek ve laboratuvar ortamında yapılabilecek 4 testle de aynı izolatların performansları araştırılmıştır. Çalışma sonunda ise canlı ağaç testi ile laboratuvar ortamında da yapılabilen plastik kaplarda kesik dal parçası testi ve yaprak testi aynı istatistiksel guruba girmişlerdir. Diğer testler yani elma meyvesi testi ve petri koşullarında kesik dal parçası testi canlı ağaç testi sonuçları ile aynı istatistiksel guruba giremediğinden daha güvensiz bulunmuşlardır. Bununla birlikte bundan sonraki çalışmaların daha fazla sayıdaki *Cryphonectria parasitica* izolatı ile ve daha farklı zamanlarda yapılan ölçümlerle yapılmasının ve bunların canlı ağaç testi sonuçları ile korelasyonlarının araştırılmasının yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Akdoğan, S. ve Erkman, E. 1968.** Dikkat kestane kanseri görüldü. Tomurcuk 1: 4-5
- Akıllı, S. 2008.** Karadeniz Bölgesinde Kestane Kanseri (*C. parasitica*)' nin Biyolojik Mücadelesi Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 5s
- Akıllı, S., Katırcıoğlu, Y. Z., Maden, S. 2011.** Biological control of chestnut canker, caused by *Cryphonectria parasitica*, by antagonistic organisms and hypovirulent isolates. Turk. J. Agric. For. 35: 515-523.
- Anagnostakis, S. L. and Jaynes, R. A. 1973.** Chestnut blight control: Use of hypovirulent cultures. Plant Dis. Rep. 57: 225-226.
- Anagnostakis, S. L. 1992.** Measuring resistance of chestnut trees to chestnut blight. Can. J. For. Res. 22: 568-571.
- Anagnostakis, S. L. 1997.** Protecting chestnut trees from blight. In: Chestnut in our forest. Connecticut, Woodlands 62: 4-7.
- Anagnostakis, S. L. 2001.** The effect of multiple importations of pests and pathogens on a native tree. Biological Invasions 3: 245-254.
- Anonim, 2005.** European and Mediterranean plant protection organization *Cryphonectria parasitica* EPPO Bulletin 35: 295-298.
- Anonim, 2013.** T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Bahçecilik 'Kestane Yetiştiriciliği', Ankara, http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/kestane.pdf-(Erişim tarihi:16.06.2015).
- Anonim, 2015.** The State of Food and Agriculture 2013. FAO, Turkey-(Erişim tarihi: 18.10.2015).
- Anonim, 2015.** TÜİK, İstatistiklerle Türkiye, 2015. Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara. (Erişim tarihi:20.10.2015).
- Arisan- Atac, I., Heidenreich E., and Kubicek, C. P. 1995.** Randomly amplified polymorphic DNA fingerprinting identifies subgroups of *Trichoderma viride* and other *Trichoderma* sp. Capable of chestnut blight biocontrol. FEMS Microbiology Letters 126. 249-256.
- Atasoy, E. ve Altıngöz, Y. 2011.** Dünya ve Türkiye'de kestanenin önemi ve üretimi. İstanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Coğrafya Bölümü, Coğrafya Dergisi sayı 22, s. 3-4.
- Baykal, N., Tezcan, H., Soylu, A., Ufuk, S., Arslan, U., Yahyaoğlu, M. 2000.** Incidence of Chestnut Blight in Bursa Province and Reactions of Some Turkish Chestnut Cultivars Against It. J. Turkish Phytopathology, 29(1): 1-5.
- Bazzigher, G. 1981.** Selection of blight resistant chestnut trees in Switzerland. European Journal of Forest Pathology 11(4): 199-207.

- Bazzigher, G. and Miller, G. 1987.** Selektion endothia widerstandsfahiger kastanien in der Schweiz eine Quelle wertvollen Erbgutes. Schweizerische Zeitschrift fur Forstwesen 138(9): 799-812. (In: Cab Abstr.)
- Bazzigher, G., and Miller, G. 1991.** Blight resistant chestnut selections of Switzerland: a valuable germ plasm resource. Plant Disease. 75 (1): 5-9.
- Bolvanský, M., Adamčíková, Kobza, M. 2014.** Screening resistance to chestnut blight in young chestnut trees derived from *Castanea sativa* x *C. crenata* hybrids *Folia oecol.* 41: 1-7.
- Bounous, G., Torello Marinoni, D. 2005.** Chestnut Botany, Horticulture and Utilization. Hort. Reviews, Edit. J. Janick; Wiley & Sons Inc., New Jersey, 31: 291-347.
- Bucak, C. 2006.** “Kestane (*Castanea sativa* Mill.) Ormanların Türkiye’deki Doğal Yayılışı ve Bu Alanları Koruma Önerileri”, Ege Ormancılık Araştırma Müdürlüğü Dergisi, Sayı:2, s. 62-82.
- Burnham, C. R. 1987.** Historical overview of chestnut breeding in the United States. The Journal of the American Chestnut Foundation. 2(1): 6-7.
- Clapper, P. B. 1952.** Relative blight resistance of some chestnut species and hybrids. J. For. 50: 453-455.
- Coşkun, H., T. Turchetti, G. Maresi and A. Santagada, 1999.** Preliminary investigations into *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr Isolates From Turkey. Phytopathol. Mediterr., 38: 101-110.
- Çeliker, N. M., Onoğur, E. 1998.** Determining the hypovirulence in the chestnut blight (*Cryphonectria parasitica* Murr. Barr.) in Turkey. J. Turkish phytopath. 27: 145-146.
- Çeliker, N. M. 2000.** Kestane Kanseri (*Cryphonectrica parasitica* (Murr.) Barr.’nın Hipovirulent Irklarla Savaşımı Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 116s
- Çeliker, N. M., Onoğur, E. 2001.** Biological control possibilities of chestnut blight (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.). J. Turk Phytopath. 30: 3-4.
- Çeliker, N. M., Onoğur, E. 2011.** Türkiye’de Kestane Kanseri ile Biyolojik Mücadelede Ümitvar Bulgular. Tarım Bilimleri Dergisi 17 122-130.
- Delen, N. 1975.** Distribution and biology of chestnut blight (*Endothia parasitica* (Murrill) Anderson and Anderson). J. Turkish Phytopath. 4(3):93-113.
- Delen, N. 1979a.** Kestane kanseri (*Endothia parasitica* (Murrill) hastalığının yayılışı ve biyolojisi. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Müdürlüğü Araştırma Eserleri Serisi No: 36, 110s.
- Delen, N. 1979b.** Studies on the control possibilities of chestnut blight [*Endothia parasitica* (Murr.) A. And A.] in Turkey I. Possible uses of some systemic fungicides against the pathogen J. Turkish phytopath. 8 (2-2): 51-76.

- Delen, N. 1980.** Studies on the control possibilities of chestnut blight [*Endothia parasitica* (Murr.) A. And A.] in Turkey. J. Turkish phytopath. 9 (1): 27-47.
- Ellis, M. B. and Ellis, J. B. 1985.** Microfungi on Land Plants Croom-Helm, London (GB).
- Elliston, J. E. 1978.** Pathogenicity and sporulation of normal and diseased strains of *Endothia parasitica* in American chestnut. Pages 95-100 in: Proc. Am. Chestnut Symp. MacDonald, W. L. Cech, F. C., Luchok, J. and Smith, C. eds. West Virginia University Books, Morgantown.
- Elliston, J. E. 1985.** Characteristics of dsRNA- containing strains of *Endothia parasitica* in relation to hypovirulence. Phytopathology 75: 151-158.
- Erdem, R. 1951.** Türkiye’de kestane ölümünün sebepleri ve savaş imkânları. Biricik matbaası Ankara, IV+82.
- Erper, I., Serdar, U. ve Karaca, G. 2005.** Bazı kestane (*Castanea sativa* Mill.) genotiplerinin *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr’ya duyarlılıklarının belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi 19(1): 46-49.
- Erincik, O., Döken, T.M., Açıköz, S., and Ertan, E. 2003.** First Report For. Aydın, Turkey: *Cryphonectrica parasitica* (Murrill.) Barr Threatens the chestnut Orchards. J. Turkish Phytopath. 32(1): 41-44
- Erincik, Ö., Döken, M.T., Açıköz, S., Ertan, E. 2008.** Characterization of *Cryphonectria parasitica* Isolates Collected from Aydın Province in Turkey. *Phytopathology* 36(3): 249-259.
- Erincik, B. and Döken, T.M. 2009.** The reactions of some forest tree species and the widely grown local chestnut genotypes of Aydın province Turkey to *Cryphonectrica parasitica* (Murrill.) Barr, the causal agent of chestnut blight. Proc. IV. International Chestnut Symp. Acta Hort. 844, ISHS 2009 s. 355-360.
- Erincik, Ö., Özdemir, Z., Durdu, Ö. F., Döken, M. T., Açıköz, S. 2011.** Diversity and spatial distribution of vegetative compatibility types and mating types of *Cryphonectria parasitica* in the Aydın mountains, Turkey. Eur J Plant Pathol. 129: 555-556.
- Fulbright, D. W. 1984.** Effect of eliminating dsRNA in hypovirulent *Endothia parasitica*. *Phytopathology*. 74: 72-724.
- Fulbright, D. W. 1999.** Chestnut blight and hypovirulence. In Plant- Microbe Interactions, Vol. 4, G. Stacey and N. T. Keen editors. Pages 57-79. APS Pres. St Paul, MN.
- Ghezi, E., Khodaparast, S.A., Zare, R. 2010.** Distribution and Severity of Damage by *Cryphonectria parasitica* in the Chestnut Stands in Guilan Province, Iran. For. Path. 40: 450-457.
- Graves, A. H. 1950.** Relative blight resistance in species and hybrids of *Castanea*. *Phytopathology* 40: 1125-1131.

- Grente, M.J. 1965.** Les formes hypovirulantes à *Endothia parasitica* et espoirs de Lutte contre le Chance du chataignier (compte Rend. Hebd. Seances Acad. Agr. France). Academie d'Agriculture de France. 51: 1033-1037.
- Grente, Mj. ve Berthelay – Sauret, S. 1978.** Research carried out in France into diseases of chestnut tree. (Proc. Amer. Chestnut Symposium. Morgantown W. Viriginia. 88-92).
- Guerin, L., Froidefond, G. and Xu, X-M. 2001.** Seasonal patterns of dispersal of ascospores of *Cryphonectria parasitica* (chestnut blight). Plant Pathology 50: 717-724.
- Guerin, L. And Robin, C. 2003.** Seasonal effect on infection and development of lesions caused by *Cryphonectria parasitica* in *Castanea sativa*. For. Path. 33: 223-235.
- Gürer, M., Ottaviani, M., and Cortesi, P. 2001.** Genetic diversity of subpopulations of *Cryphonectria parasitica* in two chestnut growing regions in Turkey. For. Snow Landsc. Res. 76, 3: 383-386.
- Headland, J. K., Griffin, G. J., Stipes, R. J., and Elkins, J. R. 1976.** Severity of natural *Endothia parasitica* infection of Chinese chestnut. Plant Dis. Rep. 60: 426-429.
- Heiniger U. and Rigling, D. 1994.** Biological control of chestnut blight in Europe. Annual Review of Phytopathology, 32: 581-599.
- Huang, H., Carey, W. A., Dane, F., and Norton, J. D. 1996.** Evaluation of Chinese chestnut cultivars for resistance to *Cryphonectria parasitica*. Plant Dis. 80: 45-47.
- Jaynes, R.A, 1979.** Chestnuts, nut tree culture in North America, R. A. Jaynes Ed. Northern Nut Growers Assoc. Inc. Hamden Connecticut, USA, (111-127).
- Jaynes, R.A and DePalma, N. K. 1984.** Natural Infection of Nuts of *Castanea dentata* by *Endothia parasitica*. Phytopathology 74: 296-299.
- Jones, C., Griffin G. J., and Elkins, J. R. 1980.** Association of climatic stress with blight on Chinese chestnut in the Eastern United States. Plant Disease 64: 1001-1004.
- Karahocagil, P. Ve Tosun, İ. 2004.** “Kestane“, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, Bakış, Sayı:7, s. 1-4.
- Lee, J. K., Tattar, T. A., Berman, P. M., Mount, M. S. 1992.** A rapid for testing the virulence of *Cryphonectria parasitica* using excised bark and wood of American chestnut. Phytopathology 82: 1454-1456.
- MacDonald, W. L. and Fulbright, D. W. 1991.** Biological control of chestnut blight: Use and limitations of transmissible hypovirulence. Plant Disease. 75: 656-661.
- Milgroom, M. and Cortesi, P. 2004.** Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. Annu. Rev. Phytopathol. 42: 311-338.
- Newhouse, A. E., Spitzer, J. E., Maynard, C. A., and Powell, W. A. 2014.** Chestnut leaf inoculation assay as a rapid predictor of blight susceptibility. Plant Dis. 98(1): 4-9.
- Özçağiran, R., Ünal, A., Özeker, E. Ve İsfendiyaroğlu, M. 2007.** Ilıman İklim Meyve türleri Sert Kabuklu Meyveler Cilt III İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları Ziraat Fakültesi Yayın No:566.

- Pavari, A. 1949.** Chestnut blight in Europe. Unosylva. Vol.3, No. 1.
- Qin, L., Gao, X., Cheng, J. and Liu, S. 1999.** Evaluation of Chinese chestnut cultivars for resistance to *Cryphonectria parasitica*. Acta Hort. 494: 383-389.
- Sisco, P. 2012.** The effects of environment and time on blight resistance. Journal of American Chestnut Foundation. 26(2): 16-17.
- Soylu, A. 1997.** İlman İklim Meyveleri II. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi No: 72. 218-244.
- Soylu, A. 2004.** Kestane Yetiştiriciliği ve Özellikleri, İstanbul: Hasad Yayıncılık
- Subaşı, B. 2004.** İstanbul Ticaret Odası Etüt Araştırma Şubesi Kestane Sektör Profili.
- Ülkümen, L. 1973.** Bağ Bahçe Ziraatı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:275
- Vidoczi, H., Varga, M., Szabo, I. 2007.** Chestnut blight and its biological control in the Sopron Hills, Hungary. Acta Silv. Lign. Hung., Spec. Edition 199-205.
- Xenopoulos, S. G. and Papachatzis, A. 1999.** Problems of chestnut growing in Greece Screening for resistance of several chestnut provenances to *Cryphonectria (Endothia) parasitica* (Murr.) And Acta Horticulturae 494: 521-527.
- Zhao, Y. 1980.** Study on the incidence and control of chestnut blight. (In Chinese) Zhiwu Baohu 6: 13-16.
- Zhou, E., Wang K., and Lu, J. 1993.** The conditions governing the occurrence of chestnut blight in the eleven provinces of East China. J. Nanjing Agric. Univ. English abstract.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mustafa ODUNCUOĞLU
Doğum Yeri ve Tarihi : Antalya 22.03.1990
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Korkuteli Lisesi 2003-2007
Lisans : Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi 2008-2013
Çalıştığı Kurum ve Yıl :
İletişim (e-posta) : mustafaoduncuoglu@gmail.com