



## Kestane kanserine karşı dayanıklı olduğu belirtilen fidanlar Gerçekten dayanıklı mı?

Seçil Akıllı<sup>1</sup>, Y. Zekai Katırcıoğlu,<sup>2</sup> Salih Maden<sup>2</sup>

### Özet

*Cryphonectria parasitica*'nın neden olduğu Kestane Kanseri hastalığı ülkemizde kestane ağaçlarının en önemli hastalığıdır. Bu hastalığa karşı dünyada yaygın olarak düşük virulanslı (hypovirulent) streynlerle mücadele edilmektedir. Ancak bunun uygulanması ve etkinliği belli koşullara bağlıdır, bu nedenle bu mücadele yöntemine alternatif arayışlar hep olmuştur. Bunlardan birisi de hastalığa dayanıklı fidanlar yetiştirmektir. Bu çalışmada, Baykal adlı biyopreparatının uygulandığı ve kestane kanserine dayanıklı olduğu belirtilen fidanların Kestane Kanserine karşı dayanıklı olup olmadığı yapay inokülasyonlarla araştırılmıştır. Yapılan inokülasyon çalışmaları sonucunda, uygulamadan 45 gün sonra biyopreparat uygulanan kestane fidanlarında ortalama 2.4 cm uzunluğunda kanser olduğu bulunmuştur. Aynı süre sonunda biyopreparat uygulanmayan fidanlardaki ortalama kanser boyu ise 3.6 cm bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Kestane kanseri, *Cryphonectria parasitica*, fidan, dayanıklılık

### Abstract

Chestnut blight caused by *Cryphonectria parasitica* is the most harmful disease of this host in Turkey. Control of the disease is mainly based on use of hypovirulent strains. However use and effectiveness of this method depends on various conditions for this reason alternative control measures have always been thought. One of these methods is to grow resistant saplings. In this research, resistance of the saplings which were treated by a bio preparation called Baykal and declared to be resistant against chestnut blight were tested against the disease agent by artificial inoculations in greenhouse conditions. As a result of the inoculation study, average 2.4 cm long cankers were measured on the saplings treated by the bio preparation after 45 days from the inoculation. In the same duration, the average canker length was 3.6 cm on the non treated saplings.

**Key words:** Chestnut canker, , *Cryphonectria parasitica*, saplings, resistance

### 1. Giriş

Türkiye' de saf ve geniş yapraklı ve ibreli ağaçlarla karışık olarak toplam 200,400 ha kestane ormanı bulunmaktadır. Bu ormanlar Kestane Kanseri tarafından yıllardır tehdit edilmektedir. *Cryphonectria parasitica*'nın neden olduğu bu hastalık ilkin Marmara bölgesinde saptanmış (Delen, 1979) daha sonra tüm kestane bölgelerine yayılmıştır (Çeliker ve Onoğur 2001; Güner ve ark., 2001a ve 2001b; Coşkun ve ark., 1999; Coşkun ve Kural, 1994; Erincik ve ark., 2007; Akıllı ve ark., 2009).

Bu hastalık dünyada kestane yetiştirilen her yerde bu üründe önemli kayıplara yol açmaktadır. Kestane kanserine karşı mücadelede tüm dünyada en çok başvurulan yöntem hipovirulent streynlerle (düşük virulanslı biyotiplerle) biyolojik savaştır. Bu hastalığa yol açan hastalık etmeni fungus *Cryphonectria hypovirus* (1, 2, 3 ve 4) adı verilen 4 virüsle enfekte olmakta ve hastalık etmeni gücünü kaybettiği için ağaçlar iyileşmektedir (Heiniger ve Rigling, 1994; Perlerou ve Diamandis, 2006). Bu özellik hastalığın biyolojik savaşımında kullanılmaktadır. Bu amaçla hastalığın virüsle bulaşık olan bu tipleri bulunmakta ve kanserlere uyumlu olan bu tipler uygulanmaktadır. Ancak bu uygulama için

<sup>1</sup> Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 06110, Dışkapı, Ankara

hastalık etmeninin 100' den fazla var olan farklı vejetatif uyum (vegetative compatible, vc) tiplerinin (Türkiye'de saptanan 5 tip) (Akıllı ve ark., 2009), ortaya konması ve hypovirulent streynlerin uygun uyum tipli yerlere uygulanması gerekmektedir. Bu da, bu yolla biyolojik savaşı sınırlamaktadır.

Hipovirulent streynlerle biyolojik savaşın sınırlayıcı etkisi nedeniyle kestane kanserine karşı değişik yollar aranmıştır. Bunlardan en çok çalışılanı dayanıklı çeşit yetiştirilmesidir. Bu amaçla On Dokuz Mayıs Üniversitesi ve Uludağ Üniversitesinde ıslah çalışmaları yapılmıştır. Uludağ Üniversitesince selekte edilen; Dursun, Osmanoğlu, Vakit ve Firdula çeşitlerinin bir çalışmada hastalığa dayanıklı oldukları bulunmuş (Baykal ve ark., 1997), ancak bu çeşitlerin dayanıklılıkları değişik yörelerden elde edilen saldırgan izolatlarla test edilmemiştir. Nitekim Aydın' da yapılan çalışmalarda da ticari birçok çeşidin bu hastalığa karşı dayanıklı olmadığı belirlenmiştir (TCP/TUR, 2009).

Bu hastalıkla savaşta diğer bir yaklaşım hastaliksız kestane kalemelerinin hastalıklı ağaçların kesildikten sonra yeni süren sürgünlerine aşılınması yöntemidir. Bu yöntem de hem Karadeniz hem de Marmara bölgelerinde geniş çaplı uygulanmış ancak yapılan survey çalışmalarında aşılınmış kestanelerin de hastalığa yakalandıkları saptanmıştır (TCP/TUR, 2009).

Son zamanlarda internet kaynaklarına göre; Bartın Üniversitesi Orman Fakültesi ve Moskova Pedagoji Üniversitesi İşbirliği ile Zonguldak Gökçebey fidanlığında hastalığa dayanıklı olduğu ileri sürülen Anadolu Kestanesi fidanları doğal etkili maddeler (Baykal, EMI ve Biyohumus) ile muamele edilerek yetiştirilmiştir. Bu çalışmalarda; Kestane tohumlarına Rusya' da Baykal olarak patentli olan, *Lactobacillus* spp. ve diğer mikroorganizma karışımından oluşan bir biyopreparat uygulandıktan sonra yetiştirilen fidanların hastalığa yakalanmadıkları ifade edilmiştir. Ancak bu bulgu sadece lokal yani fidanlık gözlemlerine dayanmış olup bu fidanların hastalığa dayanıklılıkları kontrollü koşullarda test edilmemiştir. Ayrıca araziye dikilen fidanların da gözlemleri yapılmamıştır. Bu çalışmada bu fidanların Kestane Kanseri etmenine dayanıklılıkları sera koşullarında araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan, Baykal preparatı uygulanmış ve hastalığa dayanıklı olduğu ifade edilen 2–3 yaşlı kestane fidanları Kastamonu Orman Bölge Müdürlüğünden temin edilmiştir. Kontrol olarak Cide Orman İşletme Müdürlüğünde yetiştirilen ve hiç bir muamele görmemiş 3 yaşlı kestane fidanları kullanılmıştır. Kontrol olarak kullanılan kestane fidanları gelişme çapı olarak Baykal uygulanan fidanlardan biraz daha kalın ve daha boyludurlar. Aynı boyda kontrol fidan temin edilememiştir. Bu fidanlar  $25 \pm 5$  °C sıcaklık kontrollü serada bir ay geliştirilmişlerdir. Çalışmada aynı zamanda hastalığa dayanıklı oldukları belirtilen ve araziye dikilen fidanların durumu da gözlenmiştir.

Fidanların inokülasyonunda, Karadeniz Bölgesinde yapılan survey çalışmaları sonucunda elde edilen 296 *C. parasitica* izolatı arasında yüksek virulanslı olduğu bulunan Kastamonu çevresinden elde edilen K–19 nolu izolat kullanılmıştır (Akıllı ve ark., 2009).

Hastalık testlenmesinde Baykal adlı biyopreparat uygulanmış ve uygulanmamış 5' er fidan kullanılmıştır. Hastalık etmeni fidanlara şu şekilde uygulanmıştır: Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamında bir hafta geliştirilen K–19 izolatının aktif olan kenarlarından bir mantar delici ile 5 mm çaplı diskler alınarak, aynı çapta fidan kök boğazına açılan çukurlara kültür yüzeyi iç kısma gelecek şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 1). Daha sonra bu kısımlar önce pamuk, sonra streç film ile kapatılıp nemlendirilmiştir. Kontrol olarak biyopreparat uygulanmamış kestane fidanlarına temiz PDA ortamından diskler alınarak yerleştirilmiş ve aynı şekilde kapatılmıştır. Bir hafta süre ile aşılama noktasındaki

pamuklar steril su ile her gün nemlendirilmiştir. Patojenle aşılanmış fidanlar serada gelişmeye bırakılmışlardır. İnokülasyondan yaklaşık 45 gün sonra fidanlarda inokulasyon noktaları gözlenmiş ve oluşan kanserler ölçülmüştür.



Şekil 1. İnokulasyon için cork borer la kabuk çıkarılması (solda) ve disklerin kesildiği virulent *Cryphonectria parasitica* izolatu (K-19) (sağda).

### 3. Bulgular

Bartın Orman Fakültesi tarafından üretilen ve hastalığa dayanıklı olduğu bildirilen ve ilk olarak Zonguldak-Kozlu bölgesinde araziye dikilen fidanlar 2006 yılında gözlemlenmiştir. Bu bölgede yeni dikimlerin oldukça aralı olması ve bakım yapılmaması nedeniyle tamamen otlarla kaplandığı ve iyi gelişmedikleri gözlenmiştir. Bu bölgedeki iyi gelişmiş fidanlarda kestane kanseri hastalığı gözlemlenmiştir. Daha sonra 2008 yılında Zonguldak-Ereğli Kestaneci mahallesi yakınlarına dikilen fidanlarda inceleme yapılmıştır. Bu fidanlarda kestane kanseri belirtilerine rastlanmamıştır. Yine tarafımızca İzmir-Beydağ’ da aynı kaynaktan temin edilen ve bir bahçeye dikilen fidanlarda kestane kanseri gözlenmemiş, ancak fidanlarda oldukça fazla kök çürüklüğü görülmüştür.

Kastamonu Orman Bölge Müdürlüğünden temin edilen biyopreparat (Baykal) uygulanmış kestane fidanları yapay olarak K-19 nolu izolat ile inoküle edildikten 45 gün sonra kontrol edildiklerinde kanser hastalığına yakalandıkları belirlenmiştir (Şekil 2, Çizelge 1). Beş fidanda oluşan ortalama kanser leke boyları biyopreparat uygulanmamış kontrol bitkilerinde 3.6 cm, biyopreparat uygulanan bitkilerde 2.4 cm olmuştur. Patojen inoküle edilmeyen bitkilerde ise herhangi bir belirti oluşmamıştır.



Şekil 2. Baykal uygulanmış kestane fidanlarında inokülasyon noktasında kanser gelişimi

**Çizelge 1.** K - 19 No' lu *Cryphonectria parasitica* izolatu ile inoküle edilen biyopreparat uygulanmış ve uygulanmamış fidanlarda 45 gün sonra ölçülen kanser boyları (cm)

İnoküle edilen fidanlar	Biyopreparat* uygulanmış fidanlar	Biyopreparat uygulanmamış fidanlar
1	3.0	4.5
2	2.1	5.5
3	3.5	2.3
4	1.0	3.0
5	2.6	3.2
Ortalama	2.4	3.6

\* Biyopreparat Rusya' da patentli Baykal ticari adlı, ve *Lactobacillus* spp. ve diğer mikroorganizmalar içeren bir preparattır.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Bitkilerde kazandırılmış dayanıklılık birçok hastalığa karşı çalışılan ve belirli uyarılar ile oluşan bir savunma mekanizmasıdır. Bu dayanıklılık tepkilerinin zamanlaması kritiktir. Sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) ve kazandırılmış sistemik dayanıklılık (ISR) iki kazandırılmış dayanıklılık şeklidir ve her ikisinde bitki savunmaları enfeksiyon öncesi bitkinin değişik uygulamalarla koşullandırılmasından kaynaklanır. Bu koşullandırma çok sayıda kimyasal veya biyolojik uyarıcılar (elicitors) ile sağlanır ve bunların bazıları tarımda ticari olarak kullanılmaktadır. Ancak bu uyarıcıların bitki hastalıklarına karşı SAR ve ISR oluşturma etkinlikleri henüz daha başlangıç aşamasındadır. Bu oluşum daima tek yıllık bitkilerde ve tekrarlı uygulamalarla kazandırılmıştır (Vallad ve Goodman, 2004) ve bugüne kadar çok yıllık bitkilerde bu mekanizmanın çalıştığı belirlenmemiştir.

Tohumlara biyopreparat uygulanmış fidanlarda inokülasyondan 45 gün sonra Kestane Kanseri nekrozları oluşmuştur. Bu nekroz boyları biyopreparat uygulanmamış fidanlara göre biraz küçük olmuştur fakat bunu fidanlarda oluşan dayanıklılığa bağlamak doğru olmaz. Dayanıklılık kazanmış fidanlarda bu tip bitkilerin meydana getireceği aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucu kanser oluşmayıp sadece küçük nekroz alanlarının olması gerekir. Halbuki burada aktif gelişen kanserler oluşmuş olup sadece bunların boyları kontrol kestane fidanlarında oluşanlara nazaran biraz küçüktür. Bu da doğaldır, çünkü biyopreparat uygulanan fidanların gelişme çapları ile uygulanmayanların aynı değildi. Biyopreparat uygulanmayan fidanlar daha hızlı gelişmiş fidanlardı ve onlarda kanser gelişiminin daha fazla olması doğal bir sonuçtur. Çünkü genel olarak hızlı gelişen bitkilerde kanser gelişimi de hızlı olmaktadır.

Biyopreparat uygulanmış fidanlarda oluşan kanserlerin zamanla bitkilerde ölümlere yol açması beklenebilir. Bilindiği gibi kestane kanseri eğer dalları tam olarak kuşatırsa kuşatma yerinin üstüne su akımı olmayacağı için dallar yukarıdan itibaren solup kurumaktadır. Biyopreparat uygulanmış dallarda oluşan kanserlerin de zamanla dalları kuşatıp uç kurmalara yol açacağı kesindir, ancak bu oluşum daha uzun bir süre almaktadır. İki uygulama arasındaki farkı görmek için kontrollerin daha erken yapılması gerekmektedir. Nitekim daha sonraki gözlemlerimizde biyopreparat uygulanan kestanelerin de uçtan kurdukları görüşmüştür.

Sonuç olarak denebilir ki; biyopreparat uygulanarak yetiştirilen kestane fidanları belki başlangıç aşamasında Kestane Kanseri'ne biraz dayanıklı gibi görülebilir fakat bu fidanların uzun sürede dayanıklılığını sürdürebileceği kanısında değiliz. Çünkü bu tip dayanıklılığın devamı çok yıllık bitkilerde bugüne kadar bildirilmemiştir. Bunun ortaya konması için birkaç yıllık fidanların hastalık etmenine karşı doğal koşullarda test edilmesi gerekmektedir.

## Kaynaklar

- Akıllı S, Katırcıoğlu Y Z, Maden S 2009. Vegetative Compatibility Types of *Cryphonectria parasitica*, Chestnut Blight Agent, in Black Sea Region. Forest Pathology Forest Pathology 39 (6): 390-396.
- Baykal N, Tezcan H, Soylu A, Ufuk S, Arslan Ü, Yahyaoğlu M 1997. Incidence of *Cryphonectria parasitica* Canker on Chestnut Trees in Bursa Province and Its Pathogenicity on Some Turkish Chestnut Cultivars. Proceedings of the XI. World Forestry Congress,( 13-22 October 1997, Antalya, Türkiye ) Volume 1, p: 194.
- Coskun H, Turchetti T, Maresi G, Santagada A 1999. Preliminary investigations into *Cryphonectria parasitica* (Murr) Barr isolates from Turkey. Phytopathology Mediterranean 38: 101–110.
- Çeliker N M, Onoğur E 2001. Evaluation of hypovirulent isolates of *Cryphonectria parasitica* for the biological control of chestnut blight. Forest Snow and Landscape Research, 76, 378–382.
- Delen, N 1979. Studies on the control possibilities of chestnut blight [*Endothia parasitica* (Murr.) A. and A.] in Turkey. J. Turkish Phytopath. 8 (2-3): 51-76.
- Erincik Ö, Döken T M, Açıkgöz S 2007. Evaluation of occurrence of sexual reproduction in natural populations of *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr and Role of ascospores on chestnut blight spread in Aydın province. International workshop on chestnut management in Mediterranean countries, Problems and Prospects. Held 23-25 October, 2007, Bursa Turkey. Abstracts, 10.
- Gürer M, Ottaviani M P, Cortesi P 2001a. Genetic diversity of subpopulations of *Cryphonectria parasitica* in two chestnut-growing regions in Turkey. Forest Snow and Landscape Research 76, 383–386.
- Gürer M, Turchetti T, Biagioni P, Maresi G 2001b. Assessment and characterization of Turkish hypovirulent isolates of *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. Phytopathologia Mediterranea, 40, 265-275.
- Heiniger U, Rigling D 1994: Biological control of chestnut blight in Europe. Ann. Rev. Phytopathol. 32, 581–599.
- Perlerou C, Diamandis S 2006. Identification and geographic distribution of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* and occurrence of hypovirulence in Greece. Forest Pathology 36: 413–421.
- TCP/TUR, 2009. Report on Management of Chestnut Blight and increased capacity for improving forest health and vitality in Turkey. Prepared by The experts for Ministry of Environment and Forestry, General Directorate of Forestry and FAO, 23p.
- Vallad G E, Goodman M 2004. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture Crop Sci. 44:1920-1934.