

DORMANT ASMA KALEMLERİNİN ENDOFİTİK VE PATOJENİK FUNGUSLAR YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Arife YAĞCI^{1*}, Davut Soner AKGÜL², Rüstem CANGİ³

¹ Ziraat Yük. Müh., Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tokat; ORCID: 0000-0003-0458-8385

² Doç. Dr., Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana; ORCID: 0000-0002-9990-4194

³ Prof. Dr., Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tokat; ORCID: 0000-0002-8264-9844

ÖZ

Bu çalışma ile farklı üzüm anaçlarının dormant çeliklerinde bulunan endofitik ve patojen fungusların belirlenmesi, morfolojik ve moleküler olarak tanımlanması amaçlanmıştır. Çalışmada bitkisel materyal olarak Tokat ilinde bulunan standart sofralık üzüm çeşitleri (19 adet), yöresel üzüm çeşitleri (18 adet), Narince üzüm çeşidine ait klonlar (22 adet), 4 anaç üzerine aşılı Narince çeşidi ve 11 Amerikan asma anacının dormant çelikleri kullanılmıştır. Çeliklerin iç dokularından mikolojik izolasyon işlemleri yapılmış ve tek spor kültürleri elde edilmiştir. Funguslar hem klasik hem de moleküler yöntemlerle tanımlanmıştır. Saflaştırılan izolatlardan DNA ekstraksiyonu, PCR ve gen sekanslama işlemleri sonucunda 23 adet endofitik tür ve 7 adet de patojenik tür saptanmıştır. Tokat ilinde yetiştirilen bağlarda *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* türleri en yaygın bulunan türlerdir. Endofitik fungusların bitki bünyesindeki varlığı üzüm çeşitlerine ve anaçlara göre değişebildiği, bazı fungus türlerinin sadece belirli çeşitlerde bulunduğu (Topbaş üzüm çeşidinde *Aspergillus* sp.; Misket Çavuş çeşidinde *Neosetophoma italica*; Harmony anacında *Acremonium aegyptiacum* ve 1616 C anacında *Fusarium acuminatum*) belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Vitis vinifera* L., izolasyon, moleküler, genbank

INVESTIGATION OF DORMANT VINE SCION IN TERMS OF ENDOPHYTIC AND PATHOGENIC FUNGUS

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the endophytic and pathogenic fungi found in dormant cuttings of different grape rootstocks and to define them morphologically and molecularly. In the study, dormant scions of standard table grape varieties (19) in Tokat, local grape varieties (18), clones of Narince grape cultivar (22), Narince cultivar grafted on 4 rootstocks and 11 grapevine rootstocks were used as plant material. Mycological isolation processes were performed from the inner tissues of the cuttings and single spore cultures were obtained. Fungi have been identified by both classical and molecular methods. As a result of DNA extraction, PCR and gene sequencing from the purified isolates, 23 endophytic species and 7 pathogenic species were determined. *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides* and *Penicillium species* are the most common species in the vineyards grown in Tokat province. It has been determined that the presence of endophytic fungi in the plant may vary according to grape cultivars and rootstocks, and some fungal species are only found in certain cultivars (Topbaş grape cultivar-*Aspergillus* sp.; Misket Çavuş cultivar *Neosetophoma italica*; Harmony rootstock *Acremonium aegyptiacum* and 1616 C rootstock *Fusarium acuminatum*).

Keywords: *Vitis vinifera* L., isolation, molecular, genbank

GİRİŞ

Üzüm yetiştiriciliğinde sorun olan fungal hastalıkların başında Külleme (*Erysiphe necator*), Mildiyö (*Plasmopara viticola*), Kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), Ölü kol (*Phomopsis viticola*), Antraknoz (*Elsinoe ampelina*), Kav (ESCA Sendromu) Kangren (*Botryosphaeriaceae* spp.) ve *Eutypa* Geriye Ölüm hastalıkları gelmektedir. Bu hastalıklarla zamanında mücadele yapılmadığında ciddi ürün kayıpları yaşanmaktadır [24]. Herhangi bir üzüm çeşidi veya asma anacı vejetatif olarak (kök, gövde, yaprak vb.)

çeşitli tekniklerle çoğaltıldıklarında genetik yapıları aynen korunurken çoğaltım materyalinin içinde var olan etmenler de (virüs, bakteri, fungus vb.) çoğaltılmış olan bitkilere geçmektedir. Bağcılıkta çoğaltma materyali ile geçebilecek birçok hastalık ve zararlı olabilir. Bunlar virüsler [16], filoksera [13], nematodlar [35], asma uru (*Rhizobium vitis*) [9, 37, 57], *Botryosphaeriaceae* fungusları [3], Petri hastalığı (*Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium* spp., *Cadophora luteo-olivacea*) ve Karabacak hastalığı (*Cylindrocarpon anamorfları*) sayılabilir.

*Sorumlu yazar / Corresponding author: arife.yagci@tarimorman.gov.tr

Mikolojide şimdiye kadar tanımlanmış 125.000 civarında fungal tür olmasına rağmen, henüz tanımlanmamış 1.500.000'den fazla fungal tür olduğu [20, 28], bazı mikologlara göre fungal biyoçeşitlilik içerisinde endofitlerin geniş bir yer kapladığı [5, 6], bunların 20 binden fazlasının ise bitkilerde enfeksiyon oluşturduğu düşünülmektedir [20, 28]. Kültür bitkilerinde hastalıklara neden olan ve ciddi kayıplarının yaşanmasına sebep olan bitki patojeni funguslar da önemli bir grubu oluşturmaktadır [21, 42].

Endofit funguslar tarafından bitkilerin sekonder metabolit üretmeleri sağlanabilmektedir. Bu endofitik fungusları tıp, tarım ve endüstri gibi önemli alanlarda geniş bir kullanım potansiyeli sağlamaktadır [52]. Genel olarak her bitkide bulunmaları, biyolojik mücadelede etkin şekilde kullanılabilme olasılıkları, bu mikroorganizmalara verilen önemi gün geçtikçe artırmaktadır [10].

Tarım alanlarında pestisit kullanımı doğal dengenin bozulmasına ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Doğal dengenin bozulması insan sağlığını doğrudan ve dolaylı olarak etkilemektedir. Ayrıca kullanılan pestisitlere karşı zamanla hastalık ve zararlılarda dayanıklılığın ortaya çıkması kimyasal mücadelenin zayıf yönlerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle ilaçlara karşı dayanıklılık problemi insanları alternatif mücadele metotlarına yöneltmektedir [17]. Bu mücadele yöntemlerinin başında Biyolojik Mücadele Etmenlerinin (BME) kullanılması son zamanların en popüler konularından biridir [10].

Dünyanın birçok yerinde endofitik funguslar ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Çalışmalar yapıldıkça yeni endofitik türler belirlenmekte ve özellikleri ortaya konulmaya çalışılmaktadır. Son yıllarda belirlenen endofitiklerin kültür bitkilerinde sorun olan patojenlere karşı kullanım olanakları yönünde çalışmalar artmıştır. Buğday, mısır, elma, avokado, soğan, üzüm gibi çok sayıda kültür bitkisinde çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Bu tür çalışmalarda örneğin asma için sorun olan gövde hastalıkları, kurşuni küf, mildiyö, külleme vb. konularda endofitik türlerin biyolojik mücadele etmeni olarak rolleri araştırılmaktadır. *Acremonium*, *Alternaria*, *Aurebasidium*, *Epicoccum* ve *Fusarium* türleri biyolojik mücadelede oldukça fazla kullanılan endofitik funguslardır.

Dünyanın farklı yerlerinde bağlarda endofitik ve patojenik funguslar üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan Phillips [44] Polonya'da; Krol [33] ile Urbez-Torres [55] Kaliforniya'da; Gramaje vd. [26] İspanya'da; Kaliterna vd. [30], Hırvatistan'da; Arzanlou vd. [7] Kuzey İran'da; Fischer vd. [48] Almanya'da; Oliveira vd. [40] Portekiz'de;

Raimondo vd. [48] İtalya'da; Casieri vd. [14], İsviçre'de; González ve Tello [23] İspanya'da; Hergholi vd. [29] İran'da; Giambrol vd. [22], İtalya'da; Varanda vd. [56] Portekiz'de endofitlerle ve bitki sağlığı ilişkilerini incelemişlerdir.

Ülkemizde ise patojen ve endofitik fungusların belirlenmesine yönelik sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bugüne kadar Poyraz [46] Ege bölgesinde asma fidanlılarında; Akgül vd. [2] İzmir ve Manisa illerinde Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidi ile kurulu bağlarda; Çelik [19], Malatya ilindeki bağ alanlarında; Görür [24], Tarsus, Manisa, Tokat bölgesinde yetiştiriciliği yapılan Prima üzüm çeşidinde; Güler ve Akgül [27], Tarsus bağ alanlarında; Özben [41], Ankara, Bursa, Erzincan, Manisa, Tekirdağ, Tokat ve Yalova'da; Yıldız [59] ise Ege Bölgesinde asma fidanlıklarındaki Karabacak Hastalığı ile ilgili çalışmalar yürütülmüştür.

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak Tokat ilinde yetiştirilen standart sofralık üzüm çeşitleri (19 adet), yöresel üzüm çeşitleri (18 adet), Narince üzüm çeşidine ait klonlar (22 adet) ve aşılı-aşısız bazı Amerikan asma anaçlarındaki endofitik ve patojenik floranın morfolojik ve moleküler olarak tanımlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan bitkisel materyaller Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezinde ve Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü arazisinde bulunan koleksiyon bağlarından alınmıştır. Kullanılan bitkisel materyaller: 19 adet Standart sofralık üzüm çeşidi (Alphonse Lavallée, Cardinal, Crimson Seedless, Flame Seedless, Horoz Karası, Italia, Lival, M.Palieri, Mevlana, Prima, Red Globe, Royal, Sultani Çekirdeksiz, Superior Seedless, Tekirdağ Çekirdeksiz, Trakya İlkeren, Victoria) (1.grup); 18 adet Yöresel üzüm çeşidi (Aktaş Çavuş, Alesüt, Bekiroğlu, Bludi, Boduroğlu, Dişi Eldaş, Fenerit, Horoz paşa, İzabel, Kara üzüm, Ketan Gömlek, Meme Üzüümü, Misket Çavuş, Narince, Patlak Kara, Renkli Çarıksız, Topbaş) (2.grup); 22 adet Narince üzüm çeşidine ait klon (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22) (3.grup); 8 adet aşılı asmaların çeşit ve dip sürgün çelikleri (Narince/1103 P, Narince/5 BB, Narince/110R, Narince/41 B kombinasyonlarına ait) (4.grup) ve 10 adet Amerikan asma anaçları (140 Ru., 110 R, 1103 Paulsen, 41 B, Fercal, 1613 C, 1616 C, 5 BB ve 44-53) (5.grup).

Kalemler ve çelikler dinlenme döneminde alınmıştır. Alınan çelikler Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

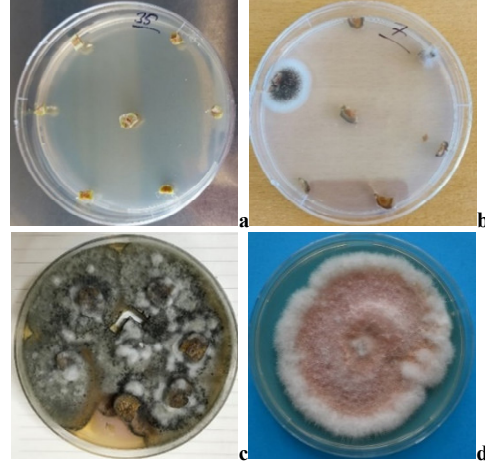
Bağcılık laboratuvarına getirilerek çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve fazla suyun süzülmesi için 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra her kombinasyona ait çelikler demetler halinde bağlanıp etiketlenmiştir. Etiketlenmiş çelikler siyah polietilen materyal ile sarılarak tekrar etiketlenerek analiz yapılıncaya kadar buzdolabında (+4°C’de) muhafaza edilmiştir.

İzolasyon işlemleri Brum vd. [12], Kaliterna vd. [30], Cosoveanu vd. [15], Görür ve Akgül [25] tarafından uygulanan yöntemlere göre yapılmıştır. Bağdan kesilen ve buzdolabında muhafaza edilen asma kalemlerinin üst ve alt kısımları kesilerek 15 cm boyunda kalemler hazırlanmıştır. Kesilen bu kalemler %2’lik sodyum hipoklorit solüsyonunda 3 dakika bekletilerek yüzeysel sterilizasyon işlemi sonrası yan yana konulmuş 3 adet 1 litrelik behere konulan steril distile su içinde 3’er dakika sıra ile bekletilmiş ve durulandıktan sonra steril kurutma kağıtlarına konularak kurutmaya bırakılmıştır. İzolasyonlar için, içinde streptomycin sülfat antibiyotiği (150 mg/L) bulunan PDA (Patates Dekstroz Agar) besi yeri kullanılmıştır. Yüzeysel sterilizasyon işlemi biten ve distile saf su ile yıkanan kalemlerin dış kabuk kısımları steril bisturi/falçata/budama makası ile soyulmuş içindeki odun kısmından 1-2 mm kalınlığında diskler kesilmiştir. Kesilen diskler 9 cm çapında ve içinde PDA bulunan her bir çeşit için 6 adet Petri’lere 7’şer adet ekilmiştir. Ekim sonrası petrilere koloni gelişimi için inkübatöre konulmuştur (25°C). Her bir petri içinde gelişen koloniler 7-10 gün sonra sayılmış ve not edilmiştir. Fungusları saflaştırmak amacıyla, kolonilerden sivri bir bisturi ile kesitler alınmış ve PDA besi yerlerine tekrar ekimleri yapılmıştır. Petrilere klasik tanımlama için koloni morfolojisi ve mikroskopik özellikler incelenmiş ve kaydedilmiştir. Endofitik izolatların moleküler tanısında DNA ekstraksiyonu Nejat vd. [39]’a göre; moleküler tanımda her bir izolat için ITS gen (ITS4 ve ITS5) bölgesinden PCR yapılmıştır. Moleküler çalışmalar Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’ne ait Mikoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

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

BULGULAR VE TARTIŞMA

Tokat ilinde bulunan standart sofralık üzüm çeşitleri, yöresel üzüm çeşitleri, Narince üzüm çeşidine ait klonlar, farklı anaçlara aşılı Narince üzüm çeşidi ve asma anaçlarına ait kalemler/çelikler buzdolabından çıkarılıp yöntemine uygun olacak şekilde izolasyon işlemleri yapılmıştır. İşlem basamakları Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. a) Dokuların PDA besi yerine ekimi, b) Koloni gelişimi, c) saflaştırma için örnek alımı, d) saf kültür eldesi

Figure 1. a) Put in to tissues in PDA medium, b) colony growth, c) sampling for purification, d) obtaining pure culture

Dormant kalem ve çeliklerin iç dokularından yapılan izolasyonlar sonucunda, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* şubesine bağlı 24 farklı cins içerisinde yer alan 30 farklı türde funguslar elde edilmiştir. İzolatların klasik tanısı Barnett ve Hunter [8] ve Arzanlou vd. [7]’nin belirttiği özelliklere göre yapılmıştır. Buna göre; *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Athelia*, *Aureobasidium*, *Botryosphaeria*, *Cadophora*, *Cerrena*, *Cladosporium*, *Cytospora*, *Diatrype*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Neonectria*, *Neosetophoma*, *Oidiodendron*, *Paraconiothyrium*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pseudogymnoascus*, *Sarocladium*, *Stemphylium* Steril beyaz *basidiomycetes* ve *Truncatella* cinslerine ait türlerden bazılarının PDA besi yerindeki görüntüleri Şekil 2’de verilmiştir.

İzolatların saflaştırılmasıyla yukarıda belirtilen cinslerden toplam 102 adet fungal izolat elde edilmiştir. Bu cinslerden elde edilen izolat sayısı Çizelge 1’de gösterilmiştir.

Trouillas ve Gubler [53, 54], Gramaje vd. [26], Urbez-Torres [55] ve Arzanlou vd. [7]’nin çalışmaları esas alındığında *Botryosphaeria*, *Cadophora*, *Cytospora*, *Diatrype* ve *Truncatella* cinsi izolatlar

asmalarda fungal gövde hastalıklarıyla ilişkili bulunmuş diğer cinsler endofitik funguslar içerisinde değerlendirilmiştir. PCR sonucu elde edilen ürünlerin %1.5'lük agaroz jelde yürütülmesiyle, büyüklükleri yaklaşık 600-900 bp arasında değişen DNA bantları elde edilmiştir. Bu ürünlerin sekanslanmasıyla BLAST analizi yapılarak türlerin tanısı %99-100'lük oranlarla doğrulanmıştır. Gen dizilemesi ve nükleotid BLAST analizi sonuçlarına göre 30 farklı tür için NCBI Gen Bankası'ndan kayıt numaraları alınmıştır (Çizelge 2).

Standart sofralık çeşitlerde (1.grup) yapılan izolasyonda; 11 çeşitte *Cladosporium cladosporioides* (Alphonse Lavallée, Cardinal, Lival, M.Palieri, Prima, Red Globe, Royal, Sultani Çekirdeksiz, Superior Seedless, Tekirdağ Çekirdeksizi ve Trakya İlkeren); 10 çeşitte *Aureobasidium pullulans* (Alphonse Lavallée, Cardinal, Flame Seedless, Italia, Lival, Mevlana, Prima, Superior Seedless, Tekirdağ Çekirdeksiz ve Victoria); 7 çeşitte *Alternaria alternata* (Crimson Seedless, Flame Seedless, Horoz Karası, Lival, Sultani Çekirdeksiz, Superior Seedless ve Tekirdağ Çekirdeksiz) ve 4 çeşitte de *Acremonium sclerotigenum* (M.Palieri, Red Globe, Superior Seedless ve Trakya İlkeren) endofitleri belirlenmiştir. *Botryosphaeria dothidea* patojeni iki üzüm çeşidinde (Mevlana ve Tekirdağ Çekirdeksiz) belirlenirken *Acremonium fusidioides* (Trakya İlkeren), *Acremonium hyalinulum* (Victoria), *Cytospora salicacearum* (Trakya İlkeren), *Penicillium* sp. (Tekirdağ Çekirdeksiz), *Phaeoacremonium minimum* (Royal) türleri ise sadece bir standart sofralık üzüm çeşidinde belirlenmiştir. Crimson Seedless çeşidinde sadece bir adet endofit türü belirlenirken (*Alternaria alternata*) en fazla tür zenginliğine 5 adet endofitlikle Superior Seedless (*Acremonium sclerotigenum*, *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides* ve Sterile White Basidiomycetous), Tekirdağ Çekirdeksiz (*Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Botryosphaeria dothidea*, *Cladosporium cladosporioides* ve Sterile White Basidiomycetous) ve Trakya İlkeren (*Acremonium fusidioides*, *Acremonium sclerotigenum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cytospora salicacearum* ve Sterile White Basidiomycetous) çeşitlerinde ise beşer adet endofitik belirlenmiştir.

Çalışmada elde edilen 30 adet endofitik fungus türünün 28 tanesi *Ascomycota* şubesi, 2 tanesi ise *Basidiomycota* şubesine aittir (Çizelge 1). Endofitik türlerin tamamı bütün çeşitlerden düzenli olarak izole edilememiştir. Fakat *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* ve Steril beyaz

Basidiomycetous endofitikleri 5 grupta yer alan çeşitlerin en az birinden saptanmıştır. Bununla birlikte *Acremonium hyalinulum* ve *Cytospora salicacearum* türleri sadece standart sofralık üzüm çeşitlerinde (sırasıyla; Victoria, Sultani Çekirdeksiz ve Royal); *Aspergillus* sp. (Topbaş), *Neosetophoma italica* (Misket Çavuş), *Oidiodendron cerealis* (Aktaş Çavuş, Topbaş), *Penicillium commune* (Meme üzüm, Patlak üzüm) sadece yöresel üzüm çeşitlerinde; *Cytospora* sp. endofitiği sadece Narince üzüm çeşidinin 12 no.lu klonunda; *Acremonium aegyptiacum* (Harmony) ve *Fusarium acuminatum* (1616 C) sadece asma anaçlarında; *Sarocladium strictum* Narince üzüm çeşidine ait klonlarda ve Narince/41 B kombinasyonunda anaç çeliğinde; *Phoma* sp. ise yöresel çeşitlerden Buludi çeşidinde ve Narince/5BB kombinasyonunda anaç çeliğinde belirlenmiştir. Çalışmanın tamamı dikkate alındığında 36 adet endofitik tür belirlenmiştir. Her grubun ortalaması alındığında anaçlarda 5.5 ± 1.2 adet (Min.:4-Mak.:8), Narince üzüm çeşidine ait klonlarda 4.1 ± 1.5 (Min.:1-Mak.:7) adet, yöresel çeşitlerde 3.4 ± 1.8 (Min.:1-Mak.:7) adet ve standart sofralık üzüm çeşitlerinde ise 2.8 ± 1.3 (Min.:1-Mak.:5) adet endofitik tür belirlenmiştir.

Çizelge 1. Araştırmada elde edilen fungal cinsler ve izolat sayıları

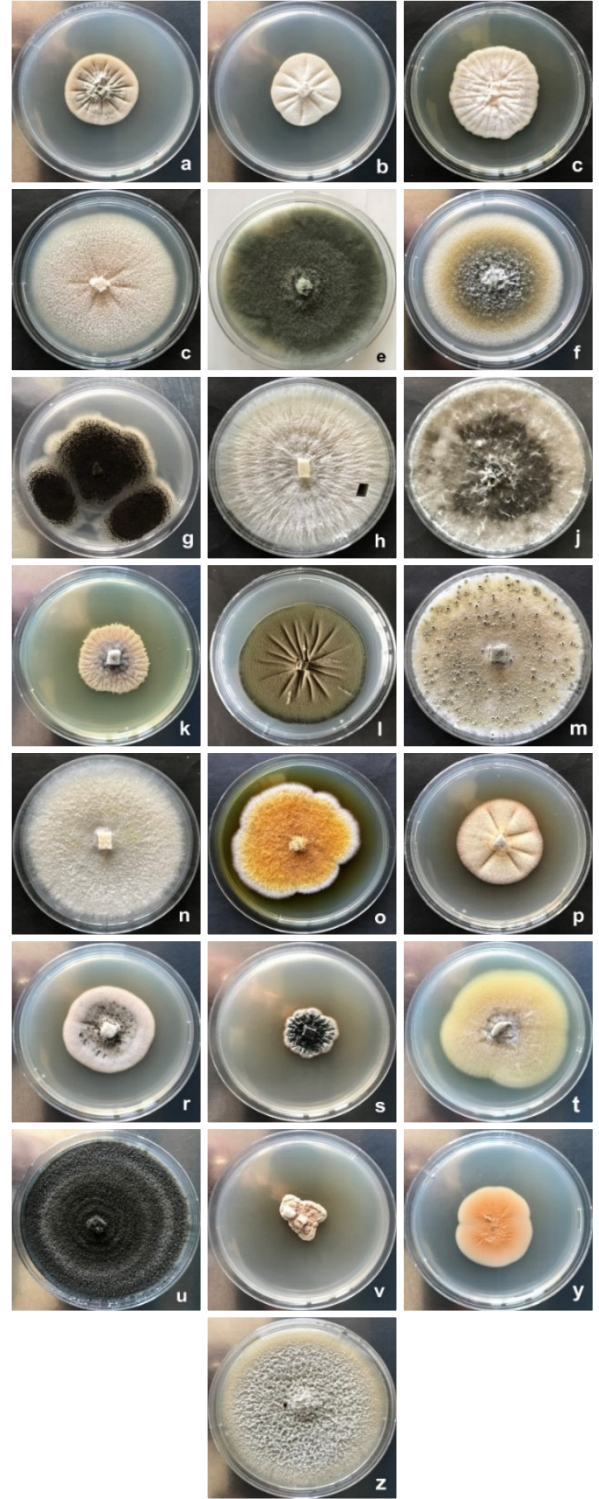
Table 1. Fungal genera and isolate numbers obtained in the study

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

Yöresel üzüm çeşitlerinde (2.grup) yapılan izolasyonda; 9 çeşitte (Bekiroğlu, Bludi, Dişi Eldaş, Horoz paşa, İzabel, Meme Üzümü, Misket Çavuş, Patlak Kara ve Topbaş) *Aureobasidium pullulans*; 8 çeşitte (Alesüt, Dişi Eldaş, Fenerit, Kara üzüm, Ketan Gömlek, Meme Üzümü, Misket Çavuş ve Renkli Çarüksız) *Alternaria alternata*; 7 çeşitte (Bekiroğlu, Boduroğlu, Dişi Eldaş, Kara üzüm, Ketan Gömlek, Meme Üzümü ve Patlak Kara) *Cladosporium cladosporioides* ve 4 çeşitte de (Bekiroğlu, İzabel, Kara üzüm ve Renkli Çarüksız) *Diatrype stigma* türleri belirlenmiştir. *Penicillium* sp. üç çeşitte (Bekiroğlu, Kara üzüm ve Topbaş); *Aspergillus* sp.

(İzabel ve Topbaş), *Athelia bombacina* (İzabel ve Patlak Kara), *Epicoccum nigrum* (Boduroğlu ve Meme Üzümü) ve *Oidiodendron cerealis* (Aktaş Çavuş ve Topbaş) türleri iki çeşitte; *Alternaria infectoria* (izabel), *Fusarium equiseti* (Kara üzüm), *Neonectria ramularia* (Misket Çavuş), *Neosetophoma italica* (Misket Çavuş), *Paraconiothyrium fuckelii* (Alesüt), *Penicillium commune* (Meme Üzümü), *Phoma* sp. (Buludü) ve *Pseudogymnoascus pannorum* (Dişi Eldaş) türleri ise sadece bir çeşitte belirlenmiştir. Horoz Paşa üzüm çeşidinde sadece bir adet endofitik tür (*Aureobasidium pullulans*) belirlenirken, İzabel (*Alternaria infectoria*, *Aspergillus* sp., *Athelia bombacina*, *Aureobasidium pullulans*, *Diatrype stigma* ve Sterile White Basidiomycetous), Kara üzüm (*Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Diatrype stigma*, *Fusarium equiseti*, *Penicillium* sp. ve Sterile White Basidiomycetous) ve Meme üzümünde (*Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Botryosphaeria dothidea*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum* ve *Penicillium commune*) tür belirlenmiştir.

Narince üzüm çeşidine ait klonlarda (3.grup) yapılan izolasyonda; 15 klon adayında (1, 2, 4, 5, 7, 8, 10, 12,13, 15, 16, 17, 18, 19 ve 21 no.lu klon adayları) *Aureobasidium pullulans*; 13 klon adayında (2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 12,13, 17, 19, 20 ve 22 no.lu klon adayları) *Cladosporium cladosporioides*; 11 klon adayında (1, 3, 4, 5, 8, 11, 12,13, 14, 17 ve 21 no.lu klon adayları) *Penicillium* sp.; 10 klon adayında (1, 2, 7, 8, 10, 12, 13, 16, 19, ve 22 no.lu klon adayları) *Alternaria alternata* izole edilmiştir. *Pseudogymnoascus pannorum* (2, 7, 14 no.lu klon adayları) ve *Sarocladium strictum* (3, 4, 19 no.lu klon adayları) üç klon adayında; *Acremonium sclerotigenum* (12 ve 15 no.lu klon adayları), *Aspergillus niger* (2 ve 15 no.lu klon adayları) ve *Epicoccum nigrum* (7 ve 22 no.lu klon adayları) iki klon adayında belirlenirken *Athelia bombacina* (11 no.lu klon adayı), *Botryosphaeria dothidea* (22 no.lu klon adayı), *Cytospora* sp. (12 no.lu klon adayı), *Diatrype stigma* (22 no.lu klon adayı), *Neosetophoma clematidis* ve *Phaeoacremonium aleophilum* (3 no.lu klon adayı) ise sadece bir klon adayında belirlenmiştir. 17 no.lu klon adayında sadece bir adet endofit türü (*Aureobasidium pullulans*) belirlenirken 12 no.lu klon adayında 7 tür (*Acremonium sclerotigenum*, *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cytospora* sp., *Penicillium* sp., Sterile White Basidiomycetous) belirlenmiştir.



a) *Acremonium egyptiacum*, b) *A.fusidioides*, c) *A.hyalinum*, d) *A.sclerotigenum*, e) *Alternaria alternata*, f) *A.infectoria*, g) *Aspergillus ochraceus*, h) *Athelia bombacina*, j) *Botryosphaeria dothidea*, k) *Cadophora luteo-olivacea*, l) *Cladosporium cladosporioides*, m) *Cytospora salicacerum*, n) *Diatrype stigma*, o) *Epicoccum nigrum*, p) *Neonectria ramularia*, r) *Neosetophoma clematidis*, s) *Oidiodendron cerealis*, t) *Paraconiothyrium fuckelii*, u) *Phoma tropica*, v) *Pseudogymnoascus pannorum*, y) *Sarocladium strictum*, z) *Truncatella angustata*

Şekil 2. Dormant kalemlerden elde edilen PDA ortamındaki görüntüleri
Figure 2. Images in PDA media obtained from Dormant scions

Farklı anaçlara aşılı Narince üzüm çeşidinde (4.grup) yapılan izolasyonda; bütün anaç ve anaç/çesit kombinasyonlarında *Cladosporium cladosporioides* endofitik fungusuna rastlanmıştır. Fakat *C.cladosporioides* 1103 Paulsen/Narince aşılı fidan kombinasyonunun anaç kısmında (%28) ve 5 BB/Narince aşılı fidan kombinasyonunun çeşit kısmında (%14.3) yüksek yoğunlukta belirlenirken 41B/Narince kombinasyonunun hem anaç hem de çeşit kısmında (%2) düşük yoğunlukta belirlenmiştir. *Alternaria alternata* endofitiği 5BB/Narince ve 110R/Narince ye ait bütün anaç ve anaç/çesit kombinasyonlarında belirlenirken sadece 1103 Paulsen/Narince kombinasyonunun anaç kısmında, 41 B/Narince kombinasyonunun sadece çeşit kısmı ile aşısız anaçlarında belirlenmiştir. Belirlenen endofitler içerisinde *Alternaria alternata* 5 BB ve aşılı kombinasyonunda, 110 R ve aşılı kombinasyonunda; *Penicillium* sp. 1103 Paulsen ve aşılı kombinasyonunda birlikte belirlenmiştir (3 kısımda da bulunmuştur). Fakat *Acremonium fusidioides* (110R/Narince'nin çeşit kısmında), *Aspergillus niger* (1103 Paulsen/Narince'nin anaç kısmında), *Cerrena unicolor* (aşısız 41 B anacında), *Geosmithia* sp. (aşısız BB anacında), *Neosetophoma clematidis* (5BB/Narince'nin anaç kısmında), *Paraconiothyrium fuckelii* (41 B/Narince'nin çeşit kısmında), *Phoma* sp. (5BB/Narince'nin anaç kısmında), *Sarocladium strictum* (41B/Narince'nin anaç kısmında) belirlenmiştir.

Asma anaçlarında (5.grup) yapılan izolasyonda; *Cladosporium cladosporioides* bütün anaçlarda belirlenirken yoğunluk en fazla 44-53 anacında (%40,8) ortaya çıkmıştır. *Acremonium sclerotigenum* (140 Ru. ve 1616 C hariç) ve *Alternaria alternata* (1103 Paulsen ve Fercal hariç) endofitikleri de anaçların büyük kısmında görülmüştür. Bu çalışmada materyal olarak kullanılan 1613 C anacı 8 adet ile en fazla endofit türü (*Acremonium fusidioides*, *A.sclerotigenum*, *A.alternata*, *C.cladosporioides*, *Geosmithia* sp., *Paraconiothyrium fuckelii*, *Penicillium* sp., *Phaeoacremonium aleophilum*) barındıran bitki olmuştur. *A.fusidioides* (1613 C anacı), *Acremonium aegyptiacum* (1616 C anacı), *Alternaria infectoria* (140 Ru. anacı), *Athelia bombacina* (Fercal anacı), *Cerrena unicolor* (41 B anacı), *Epicoccum nigrum* (1103 Paulsen anacı), *Fusarium acuminatum* (Harmony anacı), *Neonectria ramularia* (41 B anacı), *Paraconiothyrium fuckelii* (1613 C anacı), *Sklerotlu basidiomycet* (Fercal anacı) ve Sterile White Basidiomycetous (Harmony anacı) endofitikleri sadece bir anaçta belirlenmiştir.

Çizelge 2. Dormant asma kalemlerinden izole edilen fungal türler ve NCBI GenBank kayıt numaraları

Table 2. Fungal species isolated from dormant vines and NCBI GenBank registration numbers

	Fungal türler	İzolat kodu	ITS GenBank kayıt no	İzole edildiği çeşit
1	<i>Acremonium aegyptiacum</i>	AY86	OL691159	1616C (<i>V.longii</i> × <i>V.riparia</i>)
2	<i>Acremonium fusidioides</i>	AY88	OL691160	1613C (<i>V.solonis</i> × <i>Othello</i>)
3	<i>Acremonium hyalinum</i>	AY51	OL691150	Victoria (<i>Vitis vinifera</i>)
4	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	AY42	OL691147	5BB (<i>V.berlandieri</i> × <i>V.riparia</i>) / Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
5	<i>Alternaria alternata</i>	AY2	OL691143	Karaerik (<i>Vitis vinifera</i>)
6	<i>Alternaria infectoria</i>	AY4	OL691144	Red Globe (<i>Vitis vinifera</i>)
7	<i>Aspergillus ochraceus</i>	AY111	OL691169	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
8	<i>Aspergillus piperis</i>	AY110	OL691168	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
9	<i>Athelia bombacina</i>	AY65	OL691154	Patlak Kara (<i>Vitis vinifera</i>)
10	<i>Aureobasidium pullulans</i>	AY32	OL691145	Alphonse Lavallee (<i>Vitis vinifera</i>)
11	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	AY57	OL691152	Tekirdağ Çekirdeksizi (<i>Vitis vinifera</i>)
12	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	AY91	OL691162	140 Ruggeri (<i>V.berlandieri</i> × <i>V.Rupestris</i>)
13	<i>Cerrena unicolor</i>	AY114	OL691171	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
14	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	AY77	OL691156	Harmony (1613C × Dogridge)
15	<i>Cytospora salicacearum</i>	AY41	OL691146	Trakya İlkere (<i>Vitis vinifera</i>)
16	<i>Diatrype stigma</i>	AY70	OL691155	Karatüzüm Çepni (<i>Vitis vinifera</i>)
17	<i>Epicoccum nigrum</i>	AY50	OL691149	Boduroğlu (<i>Vitis vinifera</i>)
18	<i>Fusarium avenaceum</i>	AY113	OL691170	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
19	<i>Neonectria ramularia</i>	AY47	OL691148	Misket Çavuş (<i>Vitis vinifera</i>)
20	<i>Neosetophoma clematidis</i>	AY90	OL691161	5BB (<i>V.berlandieri</i> × <i>V.riparia</i>) / Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
21	<i>Neosetophoma italica</i>	AY115	OL691172	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
22	<i>Oidiodendron cerealis</i>	AY82	OL691157	Aktaş Çavuş (<i>Vitis vinifera</i>)
23	<i>Paraconiothyrium fuckelii</i>	AY106	OL691165	41B (<i>V.vinifera</i> × <i>V.berlandieri</i>) / Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
24	<i>Penicillium commune</i>	AY109	OL691167	Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
25	<i>Phoma tropica</i>	AY53	OL691151	Harmony × Dogridge (<i>V.champinii</i>)
26	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	AY85	OL691158	1616C (<i>V.solonis</i> × <i>Othello</i>)
27	<i>Sarocladium strictum</i>	AY107	OL691166	1103P (<i>V.berlandieri</i> × <i>V.rupestris</i>) /Narince (<i>Vitis vinifera</i>)
28	<i>Stemphylium vesicarium</i>	AY60	OL691153	İzabel (<i>Vitis labrusca</i>)
29	<i>Sterile white basidiomycetes</i>	AY101	OL691164	4 no.lu klon (<i>Vitis vinifera</i>)
30	<i>Truncatella angustata</i>	AY92	OL691163	Patlak Üzüm (<i>Vitis vinifera</i>)

Asmalarda endofitik fungus türlerinin ve yoğunluğunun belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalarda; örneklerin alınma zamanına göre [33, 44], üzüm çeşitlerine göre [1, 14, 15, 23, 34, 49], örneklerin alınma yerine göre (sürgün, yaprak veya meyve gibi) [23, 38, 40], omca yaşına göre [11], bağda geleneksel veya organik tarım uygulamalarına göre [31, 49, 56], yabancı veya kültür forma göre (yabancı formlarda daha çok olduğu) [22], üzümün yetiştirildiği coğrafik bölgeler göre [24] endofitik çeşitliliğin değişebileceği yönünde çalışmalar vardır. Bununla birlikte bazı çalışmalar endofitik flora üzerine üzüm çeşitlerinin etkili olmadığını da [59] belirtmektedir.

Bu çalışmada bulunmuş olan türlerden *Acremonium* [12, 22, 23, 50], *Alternaria* [4, 14, 33, 40, 50, 56], *Aspergillus* [1, 4, 47], *Aureobasidium* [24, 38, 43, 45], *Botryosphaeria* [14, 44, 55, 58], *Cytospora* [4, 29], *Diatrype* [53, 54], *Epicoccum* [4, 23, 32, 56], *Fusarium* [1, 4, 18], *Geosmithia* [29], *Penicillium* [4, 14, 51], *Pestalotiopsis* [4], *Phaeoacremonium* [18, 48, 55] ve *Phoma* [18, 34, 36, 47] türleri bağcılıkta endofitik funguslar üzerinde yapılan çalışmalarda da bulunmuş ve literatürde belirtilmiştir.

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

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

Anaçları genel özelliklerine göre sınıflandırdığımızda kuraklığa dayanıklı olan (140 Ru., 110 R ve 1103 P) anaçlarda *Alternaria infectoria* ve *Epicoccum nigrum*; kirece dayanıklı olan (41 B ve Fercal) anaçlarda *Athelia bombacina*, *Cerrena unicolor* ve *Neonectria ramularia*; nematodlara dayanıklı olan anaçlarda (1613 C, 1616 C ve Harmony) ise *Acremonium fusidioides*, *Acremonium aegyptiacum*, *Fusarium acuminatum*, *Paraconiothyrium fuckelii* ve Sterile White Basidiomycetous türleri saptanmıştır.

SONUÇ

Dünyanın birçok yerinde endofitik funguslar ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Çalışmalar yapıldıkça yeni endofitik türler belirlenmekte ve özellikleri ortaya konulmaya çalışılmaktadır. Son yıllarda belirlenen endofitiklerin kültür bitkilerinde sorun olan patojenlere karşı kullanım olanakları yönünde çalışmalar artmıştır. Buğday, mısır, elma, avokado, soğan, üzüm gibi çok sayıda kültür bitkisinde çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Bu tür çalışmalarda örneğin asma için sorun olan gövde hastalıkları, kurşuni küf, mildiyö, külleme vb. konularda endofitiklerin biyolojik mücadele etmeni olarak rolleri araştırılmalıdır. *Acremonium*, *Alternaria*, *Epicoccum* ve *Fusarium* türleri biyolojik mücadelede oldukça fazla kullanılan endofitik funguslardır.

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

Bu çalışma ile aşağıdaki sonuçlara ulaşmak mümkündür:

•Patojenik funguslar herhangi bir belirti göstermeden bitki bünyesinde bulunabilir.

•Endofitik fungus türleri çeşitlere hatta bir çeşit içerisindeki klonlara göre bile değişebilmektedir.

•Tokat ilinde yetiştirilen bağlarda *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* türleri en yaygın olan türlerdir.

•Bazı endofitik türler sadece belirli üzüm çeşitlerinde bulunmuşlardır (Topbaş üzüm çeşidinde-*Aspergillus* sp.; Misket Çavuş çeşidinde *Neosetophoma italica* bulunması gibi).

•*Acremonium aegyptiacum* (Harmony) ve *Fusarium acuminatum* (1616 C) endofitikleri sadece asma anaçlarında belirlenmiştir.

•Endofitik türler üzüm çeşidinin rengine göre değişiklik gösterebilir (renkli üzümlerde *Acremonium fusidioides*, *Penicillium* sp. ve *Phaeoacremonium minimum*; beyaz çeşitlerde *Acremonium hyalinulum* un bulunması gibi). Ancak tekrarlı çalışmalarla bunun doğrulanması icap eder.

•Anaçların genel özellikleri dikkate alındığında endofitik varlığı değişebilir (*Alternaria infectoria* ve *Epicoccum nigrum* türleri kurağa dayanıklı anaçlarda; *Athelia bombacina*, *Cerrena unicolor*, *Neonectria ramularia* ve *Sklerotlu basidiomycet* kirece dayanıklı olan anaçlarda; *Acremonium fusidioides* nematodlara dayanıklı olan anaçlarda belirlenmiştir).

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı imkânlarıyla yürütülen 2021/07 numaralı projenin bir bölümüdür. Desteklerinden dolayı BAP Komisyon Başkanlığı'na teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Abdullah, S.K., Al-Samarraie, M.Q., Al-Assie, A.H. 2015. Fungi associated with grapevine (*Vitis vinifera* L.) decline in middle of Iraq. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. G. Microbiology, 7(1):53-59.
2. Akgül, D.S., Savaş Güngör, N., Teker, T., Keykubat, B., Mayorquin, J.S., Eskalen, A. 2015. Fungal trunk pathogens of Sultana Seedless vineyards in Aegean region of Turkey. Phytopathologia Mediterranea, 380-393
3. Akgül, D.S., Savaş, Y., Savaş Güngör, N., Yağcı, A. 2016. Kontrollü koşullarda sıcak su uygulamalarının *Botryosphaeriaceae* funguslarının büyümesine, asma kalem ve çeliklerinde göz canlılığına etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 53(1):99-107
4. Almeida, A.B.D., Concas, J., Campos, M.D., Materatski, P., Varanda, C., Patanita, M., Murolo, S., Romanazzi, G., Félix, M.D.R. 2020. Endophytic fungi as potential biological control agents against grapevine trunk diseases in Alentejo Region. Biology (doi:10.3390/biology 9120420) 9(12):420.
5. Arnold, A.E. 2007. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges and frontiers. Fungal Biol. Rev. 21:51-56.
6. Arnold, A.E., Maynard, Z., Gilbert, G., Coley, P.D., Kursar, T.A. 2000. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? Ecol. Lett, 3:267-274.
7. Arzanlou, M., Moshari, S., Salari, M., Badali, H. 2013. Molecular characterization and pathogenicity of *Phaeoacremonium* spp. associated with esca disease of grapevine in Northern Iran. Archives of Phytopathology and Plant Protection (doi:10.1080/03235408.2012.741443) 46(4):375-388.
8. Barnett, H.L., Hunter, B.B. 2003. Illustrated genera of imperfect fungi, fourth edition. APS press, St. Paul Minnesota. 218p.
9. Bauer, C., Schulz, T.F., Lorenz, D., Eichhorn, K.W., Plapp, R. 1994. Population dynamics of agrobacterium vitis in two grapevine varieties during the vegetation period. Vitis (33):25-29.
10. Beram, R., C., Beram, A., Lehtijarvi, H.T. 2016. Fungal endofitler ve etkileşimleri. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 7(2):161-166.
11. Bruez, E., Baumgartner, K., Bastien, S., Travadon, R., Guérin-Dubrana, L., Rey, P. 2016. Various fungal communities colonize the functional wood tissues of old grapevines externally free from grapevine trunk disease symptoms. Australian Journal of Grape and Wine Research 22(2):288-295.
12. Brum, M.C.P., Araújo, W.L., Maki, C.S., Azevedo, J.L. 2012. Endophytic fungi from *Vitis labrusca* L. ('Niagara Rosada') and its potential for the biological control of *Fusarium oxysporum*. Genetics and Molecular Research 11(4):4187-4197.
13. Buchanan, G.A., Whiting, J.R. 1991. Phylloxera management: prevention is better than cure. Australian and New Zealand Wine Industry Journal, (6):223-230.
14. Casieri, L., Hofstetter, V., Viret, O., Gindro, K. 2009. Fungal communities living in the wood of different cultivars of young *Vitis vinifera* plants. Phytopathologia Mediterranea, 48:73-83
15. Cosoveanu, A., Gimenez-Mariño, C., Cabrera, Y., Hernandez, G., Cabrera, R. 2014. Endophytic fungi from grapevine cultivars in Canary Islands and their activity against phytopatogenic fungi. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 7(15):1497.
16. Çelik, H., Marasalı, B., Söylemezoğlu, G., Tangolar, S., Gündüz, M. 2000. Bağcılıkta üretim hedefleri. Türkiye Ziraat Mühendisliği 5. Teknik Kongresi, 13-17 Ocak 2000.
17. Eken, C., Demirci, E. 1997. Fungusların biyolojik mücadele kullanımı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(1):138-152
18. Farashiani, A., Jorf, S.M., Karimi, M.R. 2012. Study of esca disease of grapevine in Bojnourd. Iranian Journal of Plant Pathology, 48(2).
19. Fischer, M., Schneider, P., Kraus, C., Molnar, M., Dubois, C.D. 2016. Grapevine trunk disease in German viticulture: occurrence of leşse known fungi and first report of *Phaeoacremonium viticola* and *P.fraxinopennsylvanicum*. Phytopathologia Mediterranea, 55:145-156.
20. Fröhlich, J., Hyde, K.D. 1999. Biodiversity of palm fungi in the tropics: are global fungal diversity.
21. Garrido, C., Acero, F.G.F., Carbú, M., Rodriguez, V.E.G., Liniero, E., Cantoral, J.M. 2012. Molecular microbiology applied to the study of phytopathogenic fungi. Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. Rijeka, InTech, pp:139-156.

22. Giambrol, S., Piccolol, S., Alfonzol, A., Conigliarol, G., Llorca, L.V.L., Burruano, S. 2015. Identification of Acremonium isolates from grapevines and evolutionism of their antagonism *Plasmopora viticola*. Annals of Microbiology, 65:2393-2403
23. González, V., Tello, M.L. 2011. The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain. Fungal Diversity, 47(1):29-42.
24. Görür, V. 2019. Dormant asma kalemlerine yapılan bazı uygulamaların, endofitik flora ve *Neofusicoccum parvum*'ün kontrolüne etkilerinin araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana, 70s.
25. Görür, V., Akgül, D.S. 2019. Fungicide suspensions combined with hot-water treatments affect endogenous *Neofusicoccum parvum* infections and endophytic fungi in dormant grapevine canes. Phytopathologia Mediterranea, (doi:10.13128/phyto-10822) 58(3): 559-571.
26. Gramaje, D., Mostert, L., Armangol, J. 2011. Characterization of *Cadophora luteo-olivacea* and *C. melinii* isolates obtained from grapevines and environmental samples from grapevine nurseries in Spain. Phytopathologia Mediterranea, 50(Supplement): 112-126.
27. Güler, D., Akgül, D.S. 2020. Tarsus bağ alanlarında *Neofusicoccum parvum*'ün yaygınlığı ve bazı sofralık üzüm çeşitlerinin patojene duyarlılıkları. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 7(3):691-698.
28. Hawksworth, D.C., Rossman, A.Y. 1987. Where are the undescribed fungi. Phytopathology, 87:888-891
29. Hergholi, N., Ghosta, Y., Javan-Nikkhah, M., Campisano, A., Pancher, M. 2015. New species of endophytic fungi from grapevine (*Vitis vinifera*) in Iran. Rostaniha, 16(1):17-35. 1004.
30. Kaliterna, J., Miličević, T., Cvjetković, B. 2012. Grapevine trunk diseases associated with fungi from the Diaporthaceae family in Croatian vineyards. Arh Hig Rada Toksikol. Dec; (doi:10.2478/10004-1254-63-2012-2226) PMID: 23334042, 63(4):471-9.
31. Kernaghan, G., Mayerhofer, M., Griffin, A. 2017. Fungal endophytes of wild and hybrid *Vitis* leaves and their potential for vineyard biocontrol. Canadian Journal of Microbiology 63(7):583-595.
32. Kortekamp, A. 1997. *Epicoccum nigrum* LINK: A biological control agent of *Plasmopara viticola*. *Vitis*, 36(4):215-216.
33. Krol, E. 2006. Fungi inhabiting decaying grapevine (*Vitis* spp.) cuttings. Journal of Plant Protection Research, 46(4).
34. Kunová, S., Kántor, A., Terentjeva, M., Felsöciová, S., Ivanišová, E., Kluz, M., Kačániová, M. 2018. Microscopic fungi isolated from different Slovak grape varieties. Potravinarstvo, 12(1).
35. Lear, B., Lider, L.A. 1959. Eradication of root-knot nematodes from grapevine routings by hot water. Plant Disease Reporter 14(3):314-317.
36. Li, Z., Chang, P., Gao, L., Wang, X. 2020. The Endophytic fungus *Albifimbria verrucaria* from wild grape as an antagonist of *Botrytis cinerea* and other grape pathogens. Phytopathology 110(4): 843-850.
37. Mahmoodzadeh, H., Nazemich, A., Majidi, I., Paygami, I., Khalighi, A. 2003. Effects of Thermotherapy Treatments on Systemic Agrobacterium vitis in dormant grape cutting. Phytopathology (151):481-484.
38. Musetti, R., Marzachi, C., Casati, P. 2009. Induction of resistance for the control of phytoplasma diseases. Petria 19(3):113-129.
39. Nejat, N., Sijam- Abdullah, S.N.A., Vadamalai, G., Dickinson, M. 2009. Molecular characterization of a phytoplasma associated with Coconut Yellow Decline in Malaysia. American Journal of Applied Sciences, 6(7):1331-1340.
40. Oliveira, M., Arenas, M., Lage, O., Cunha, M., Amorim, M.I. 2018. Epiphytic fungal community in *Vitis vinifera* of the Portuguese wine regions. Letters in Applied Microbiology 66(1):93-102.
41. Özben, S. 2020. Asma fidanlıklarında önemli odun dokusu fungal hastalıkların tespiti ve bazı üzüm çeşitlerinin *Phaeoacremonium aleophilum*'a karşı reaksiyonlarının belirlenmesi (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Ankara, 189s.
42. Palacıoğlu, G., Özer, G., Bayraktar, H. 2020. Bitki patojeni fungusların tespitinde polimeraz zincir reaksiyonuna dayalı bazı moleküler teknikler. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2021 (doi:10.21597/jist.826047) 11(3):1831-1845.
43. Parafati L, Vitale, A., Restuccia, C., Cirvilleri, G., 2015. Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape. Food Microbiol (doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.013) 47:85-92.
44. Phillips, A.J.L. 1998. *Botryosphaeria dothidea* and other fungi associated with Excoriose and dieback of grapevines in Portugal. Journal of Phytopathology, 146:327-332.
45. Pinto, C., Custódio, V., Nunes, M., Songy, A., Rabenoelina, F., Courteaux, B., Clément, C.,

- Gomes, A.C., Fontaine, F. 2018. Understand the potential role of *Aureobasidium pullulans*, a resident microorganism from grapevine, to prevent the infection caused by *Diplodia seriata*. *Front. Microbiol.* (doi:10.3389/fmicb.2018.03047) 9:3047.
46. Poyraz, D. 2012. Ege bölgesindeki bağlarda petri ve kav hastalığına neden olan fungal etmenlerin moleküler yöntemlerle saptanması ve mücadelesi üzerine araştırmalar (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, İzmir, 127s.
47. Psczółkowski, P., Latorre, B.A., Di Lecco, C.C. 2001. Mold on late harvested Cabernet sauvignon grapes and their effect on must and wine quality. *International Journal of Agriculture and Natural Resources*, 28(3):157-163.
48. Raimondo, M.L., Carlucci, A., Cicca, C., Sadallah, A., Lops, F. 2019. Identification and pathogenicity of lignicolous fungi associated with grapevine trunk diseases in southern Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 58(3):639-662.
49. Renouf, V., Claisse, O., Lonvaud-Funal, A. 2005. Understanding the microbial ecosystem on the grape berry surface through numeration and identification of yeast and bacteria. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11:316-327.
50. Rezgui, A., Vallance, J., Ghnaya-Chakroun, A.B., Bruez, E., Dridi, M., Demasse, R.D., Rey, P., Sadfi-Zouaoui, N. 2018. Study of *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, *Neofusicoccum parvum* and *Schizophyllum commune*, three pathogenic fungi associated with the grapevine trunk diseases in the north of Tunisia. *European Journal of Plant Pathology*, 152(1):127-142.
51. Soyong, K., Srinon, W., Rattanacherdchai, K., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K. 2005. Application of antagonistic fungi control anthracnose disease of grape. *Journal of Agriculture Technology* 1(1): 33-41.
52. Tonial, F., Maia, B.H., Gomes-Figueiredo, J.A., Sobottka, A.M., Bertol, C.D., Nepel, A., Glienke, C. 2016. Influence of culturing conditions on bioprospecting and the antimicrobial potential of Endophytic fungi from *Schinus terebinthifolius*. *Current Microbiology*, 72(2):173-183.
53. Trouillas, F.P., Urbez-Torres, J.R., Gubler, W.D. 2010. Diversity of Diatrypaceous fungi associated with grapevine canker diseases in California. *Mycologia*, 102(2):319-336.
54. Trouillas, F.P., Gubler, W.D. 2010. Pathogenicity of Diatrypaceae species in grapevines in California. *Plant Disease* (doi:10.1094/pdis-94-7-0867) 94:867-872.
55. Urbez-Torres, J.R. 2011. The status of *Botryosphaeriaceae* species infecting grapevines. *Phytopathologia Mediterranea* (doi:10.14601/phytopathol_mediterr-9316) 50:5-45.
56. Varanda C.M.R., Oliveira M., Materatski P., Landum, M., Clara M.I.E., Felix M.R. 2016. Fungal entophytic communities associated to the phyllo sphere of grapevine cultivars under different types of management, *Fungal Biology* pp:1525-1536.
57. Vizitiu, D., Dejeu, L. 2011. Crown gall (*Agrobacterium* spp.) and grapevine. *Journal of Horticulture. Forestry and Biotechnology* (15):130-138.
58. Yan, J., Xie, Y., Yao, S., Wang, Z., Li, W. 2012. Characterization of *Botryosphaeria dothidea*, the causal agent of grapevine canker in China. *Australasian Plant Pathol.*, 41:351-357.
59. Yıldız, M. 2021. Ege bölgesinde Karabacak hastalığının asma fidanlıklarındaki durumu, etmenlerinin tanısı ve mücadelesine yönelik çalışmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s:13.