

Diseases and Their Prevalence on Pomegranate Orchards in Aydın Province

Ayhan YILDIZ¹ Seher BENLİOĞLU¹ Kemal BENLİOĞLU¹ Nevin BAŞPINAR²
Adnan ÇAÇAMER² Ümit ÖZYILMAZ¹

¹Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü- AYDIN

²Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Aydın Tarım İl Müdürlüğü Bitki Koruma Şubesi- AYDIN

Corresponding author: A.Yıldız, E-mail address:ayhanyildiztr@gmail.com

Received: 24 April 2018 Accepted for publication 6 July 2018.

ABSTRACT

This study was conducted to determine the presence and prevalence of fungal and bacterial diseases of pomegranate orchards in the counties of Aydın province between the years 2009 and 2011. For this purpose, surveys were performed in 96 pomegranate orchards from flowering period to the end of the harvest in 16 counties. Results indicate that 4,7 % of the total of trees examined (17125) showed wilting symptoms. Fruits were 8,1 % of fruits showed rotting, while 8,8 % suffered loss of market value due to cracks developed prior to harvesting. Samples collected and isolations were made from plant root and crowns of displaying wilting symptoms. Among isolates, 64,4% were identified as *Fusarium* spp., while 13,6% were *Cytospora* spp., 3,4% were both *Cytospora* and *Fusarium*. *Trichothecium roseum* (1,7%). *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* sp., *Gliocladium* sp. and *Alternaria* sp. were also obtained infected plants. However, 10,2% of the isolates were unidentified. Pathogenicity studies carried out with *Fusarium* and *Cytospora* species revealed that all *Cytospora* species were pathogens while 69,5% of *Fusarium* species were found to be pathogens. Isolates of infected fruits revealed that *Alternaria* spp. showed the highest incidence levels at 28,3 % followed by *Aspergillus* spp. at 19,6 %, *Penicillium* spp. at 13,1 %, *Coniella granati* at 8,7 % and *Cytospora* spp. at 8,7 %. Others identified as *Gliocladium* spp., *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp. As a result of surveys carried out in Aydın province, no evidence of bacterial diseases was found in pomegranate trees.

Key words: *Cytospora* spp., *Fusarium* spp., *Coniella granati*, *Alternaria* spp., pomegranate

ÖZ

Aydın İlinde Nar Plantasyonlarında Görülen Hastalıklar ve Yaygınlık Durumları

Bu çalışma 2009-2011 yıllarında Aydın ili ve ilçelerindeki nar bahçelerinde görülen fungal ve bakteriyel hastalık etmenleri ile bu etmenlerin yaygınlık oranlarının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Aydın ilinde toplam 16 ilçede çiçeklenme döneminden hasat sonuna kadar toplam 96 nar üreticisine ait bahçede survey yapılmıştır. Survey çalışmaları sonucunda Aydın ili genelinde incelenen toplam 17125 ağacın %4,7'sinde solgunluk, bu bahçelerdeki incelenen meyvelerin (her ağacın dört yönünde 10'ar meyve olmak üzere toplam 40 meyve) % 8,1'inde çürüme görülürken, % 8,8'inde ise hasat öncesinde görülen çatlamlar nedeniyle pazar değerini yitirdiği belirlenmiştir. Solgunluk belirtisi gösteren bitkilerden örnekler alınmış ve bu bitkilerin kök ve kök boğazından yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen fungusların % 64,4'ü *Fusarium* spp., % 13,6'si *Cytospora* spp., % 3,4 ü *Cytospora* spp. ve *Fusarium* spp. ve % 1,7'si *Trichothecium roseum*, % 1,7'si *Rhizoctonia solani*, % 1,7'si *Phytophthora* sp., % 1,7'si *Gliocladium* sp. ve % 1,7'si *Alternaria* sp., olarak tanılanırken, izolatların % 10,2'si *Coniella granati* olarak tanılanmıştır. *Fusarium*, *Coniella granati* ve *Cytospora* türleri ile yapılan patojenite çalışmaları sonucunda *Cytospora* ve *Coniella granati* izolatlarının tamamı patojen olarak bulunurken, *Fusarium*

DISEASES AND THEIR PREVALENCE ON POMEGRANATE ORCHARDS IN AYDIN PROVINCE

türlerinin %69,5'i patojen olarak saptanmıştır. Hastalıklı meyvelerden yapılan izolasyon çalışmalarında ise en fazla % 28,3 ile *Alternaria* spp. izole edilirken bunu % 19,6 ile *Aspergillus* spp. %13,1 ile *Penicillium* spp. %8,7 ile *Coniella granati*, %8,7 ile *Cytospora* spp. izlemiş, *Gliocladiom* spp., *Trichoderma* spp. ve *Fusarium* spp. tanılanan diğer funguslar olmuştur. Aydın ilinde yürütülen süreye çalışmaları sonucunda nar ağaçlarında bakteriyel hastalıklar ile ilgili herhangi bir belirtiye rastlanmamıştır.

Anahtar kelimeler: *Cytospora* spp., *Fusarium* spp., *Coniella granati*, *Alternaria* spp., nar

GİRİŞ

Nar ülkemizde yıllardır yetiştirilen geleneksel bir meyvedir. Dünyada ve ülkemizdeki üretim ve tüketim miktarı her geçen gün artmaktadır. Dünya nar üretimi yaklaşık 300.000 ha alanda 3.000.000 ton olup (Melgarejo ve ark., 2012), önemli nar üreticisi olan ülkeler Hindistan, İran, Çin, Türkiye ve ABD'dir. Türkiye, en fazla nar ihraç eden ülkeler arasında 4. sırada yer almaktadır (Kurt ve Şahin, 2013). Ülkemizde en fazla nar üretimi yapan iller arasında yer alan Antalya %27,4 ile Türkiye nar üretiminde ilk sırada yer alırken, Muğla %17,2 ile ikinci ve Aydın ili %4,1 ile sekizinci sırada yer almaktadır (TÜİK, 2015).

Ülkemizde nar yetiştiriciliğinin hızla yaygınlaşması ile bitki koruma ilgili birtakım sorunlar da ön plana çıkmıştır. Ancak bu konuda Dünya'da ve ülkemizde yapılmış çalışma sayısı son derece azdır. Nar (*Punica granatum* L.) bitkisinde görülen hastalıklar üzerine yapılan çalışmalar önemli nar üreticisi ülkeler olan Hindistan ve Çin'de yoğunlaşmıştır. Sharma (1998), Hindistan'da yaptığı çalışmada *Coniella granati*'nin nar bitkilerinde kuru kök çürüklüğüne neden olduğunu saptamıştır. Daha sonra etmenin taç ve sürgünlerde hastalığa neden olduğu Yunanistan, Türkiye ve Çin gibi ülkelerde de saptanmıştır (Thomidis ve Exadaktylou, 2011; Çeliker ve ark., 2012; Chen ve ark., 2014; Somasekhara, (1999), Hindistan'da, Huang ve ark. (2003), Çin'de nar alanlarında karşılaşılan solgunluk belirtilerinin nedeninin *Ceratocystis fimbriata* olduğunu ve şiddetli enfeksiyonlara neden olan etmenin ilk defa Çin'de varlığını bildirmişlerdir.

Somasekhara ve Wali (2000), 1996–99 yılları arasında Hindistan'da yaptıkları çalışmada, *Ceratocystis fimbriata*'nın ağır enfeksiyonlarına rastlandığını, 128 lokasyonda yapılan değerlendirmede 54.866 bitkinin %12,3'ünde, hastalık şiddetinin %1,62-%63,50 arasında değiştiğini belirlemiştir. Ayrıca, Solgunluk hastalığının belirtilerinin öncelikle tek dalda yapraklarda sararma ve/veya solma şeklinde başladığı, şiddetli etkilenen bitkilerde ise kök, gövde ve dallarda kahverengileşmeler şeklinde ilerlediği belirtilmiştir. Ravikumar ve ark. (2001), Hindistan'ın Kuzey bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilen nar bitkilerinde *Fusarium* spp. enfeksiyona neden olduğu saptamışlardır.

Meyve enfeksiyonlarına neden olan hastalık etmenlerini tespit etmek amacıyla yapılan az sayıdaki çalışmada birçok fungus saptanmıştır. Hindistan'da nar meyvelerinde *Drechslera rostrata* (Utikar ve ark.,1977), *Coniella noviae* ve *C. granati* (Sharma and Sain, 1978), *Aspergillus niger* (Philips, 1980), *A. niveus* ve *A. versicolor* (Sharma ve ark., 1981), *Rhizopus* sp., *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Glomerella cingulata*, *Phoma* sp., *Phomapuniceae* ve *Phomopsis* sp. (Jamadar ve Patil 2007; Faedda ve ark., 2016), Kenya, İsrail ve Çin'de *C.granati* (Siboe ve ark., 1982; Levy ve ark., 2011; Chen ve ark., 2014), İspanya'da *C.granati*, *Penicillium* spp. (Palou ve ark., 2010), İsrail'de *Penicillium frequentans* (Paster ve ark., 1985) elde edilmiştir. Madhukar ve Reddy (1988), Hindistan'da narlarda *Botryodiplodia theobromae*, *Curvularia pallescens*, *Discosia punicae*, *Nigrospora oryzae*, *Pestalotiopsis versicolor* ve *Sclerotium rolfsii* etmenlerini saptamışlardır. Son yıllarda Yunanistan'da yapılan çalışmalarda; *Alternaria alternata*'nın nar meyvelerinde %40–50 (Tziros ve ark., 2007), *Coniella graniti*' nin nar bitkilerinde depolama sırasında %50'e varan kayba neden olduğu (Tziros ve Tzavella-Klonari, 2007) bildirilmiştir.

Dünya'da nar bahçelerinde önemli kayıplara neden olan bakteriyel hastalıklardan biride *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae*'nin neden olduğu Bakteriyel Yanıklık Hastalığıdır. Hastalık özellikle Hindistan'da ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Sharma ve ark., 2010). Ülkemizde Antalya ilinde 2014 yılında bir nar bahçesinde hastalığın varlığı ilk kayıt olarak rapor edilmiştir (İçöz ve ark., 2014). Ülkemizde son yıllarda yapılan bir

çalışmada da Doğu Akdenizde Hatay ilinde nar ağaçlarında *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*'nin narlarda urlara neden olduğu saptanmıştır (Bozkurt ve ark., 2014).

Ülkemizde daha çok meyvelerde sorun olan nar hastalık ve zararlılarına yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Bitkilerde kurumlara neden olan solgunluk hastalığı üzerine yapılan çalışma sayısı çok azdır. Narla ilgili ülkemizde ilk çalışma 1973 yılında Yıldız ve Karaca tarafından yapılmıştır. Ancak o tarihten günümüze kadar çok az sayıda çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda meyvede görülen hastalıklarla sınırlı kalmıştır. Yıldız ve Karaca (1973) yaptıkları çalışmada, Çukurova (Adana ve Mersin) bölgesinde nar meyvelerinde olgunluğa yakın dönemde başlayan çürümelerin *Coniella granati* (Sacc.) Petr. Et Syd.'den kaynaklandığını tespit etmişlerdir. Ayrıca etmen Denizli'de nar ağaçları üzerinde mumyalaşarak kalan meyvelerden de izole edilmiştir. Bu araştırmayla, fungusun hem ekşi, hem de tatlı nar meyvelerinde çürümelere neden olduğu saptanmıştır. Turan ve ark. (1995), Adana, Hatay, İçel, Kahramanmaraş ve Gaziantep'te yaptıkları çalışmada *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Coniella graniti*, *Cytospora* sp., *Fusarium verticilloides*, *Botrytis cinerea* ve *Harknessia* sp. gibi fungal etmenlerin nar meyvelerinde çürümeye neden olduğu belirtmiştir. Pala ve ark. (2006), çiçeklenme döneminden hasada kadar olan dönemde, *Alternaria alternata*, *Coniella graniti* ve *Aspergillus niger*'in en önemli meyve çürüklüğü etmenleri olduğu belirtilmiştir. Ayrıca güneş yanığı, dolu zararı ve meyve çatlaklarının da görüldüğü belirtilmiştir.

Çetin (2008)'in Adana'nın Seyhan, Yüreğir, Kozan, İmamoğlu, Yumurtalık ve İçel'in Tarsus ilçelerinde nar plantasyonlarında yürüttüğü çalışmada gövdeden yaptığı izolasyonlarda %22,4 ile en fazla *Alternaria* cinsi fungusların izole edildiğini, bunu %19,8 ile *Fusarium*, %16,5 ile Basidiomycetes sınıfı funguslar ve %15,9 ile *Rhizoctonia*'nın izlediğini bildirmiştir. Meyvelerden yapılan izolasyonlarda ise, *Botrytis* cinsi %30,8 izole edilme oranına sahipken, bunu *Alternaria*, *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi funguslar, sırasıyla %21,1; 20,7 ve 15,3 oranlarında izlemiş, çok az oranlarda ise *Fusarium* ve *Mucor* gibi etmenlerin izole edildiği ifade edilmiştir. Ülkemizde daha önce nar meyvelerinde çürüklüğe neden olduğu Yıldız ve Karaca tarafından (1973) belirtilen *Coniella granati*'nin Aydın, Denizli, Manisa ve Muğla illerinde nar alanlarında taç çürüklüğüne neden olduğu da saptanmıştır (Çeliker ve ark. 2012). Antalya İli nar bahçelerinde kök ve kök boğazı çürüklüklerine *Fusarium* spp. (%51,9), *Rhizoctonia solani* (%40,4) ve *Phytophthora* spp. (%7,6)'nin neden olduğu belirtilmiştir (Basım ve Basım, 2013).

Aydın ili'nde özellikle son yıllarda nar bahçeleri yeni dikimler ile hızla artmıştır. Nar bahçelerinde bitkiler çoğunlukla 3-4 gövde olacak şekilde bazı bahçelerde ise tek gövde olacak şekilde taçlandırılmıştır. Bazı bahçelerde yüzeysel dikimden kaynaklanan sorunlar yaşanmış ve bu tür bahçelerde ağaç gövdesi boğaz doldurma şeklinde toprağa gömülmüştür. Bu tür uygulamalar gövdenin toprak içinde kalan kısmında ve kök boğazında sorunlara neden olmuştur. Kurumaların görüldüğü bahçelerde karşılaşılan belirtiler, genel olarak gövdenin toprağa yakın kısımlarında görülen kahverengileşmeler, kabukta kabarmalar ve bu belirtilerin görüldüğü gövdelerde daha sonrasında kurumalar şeklinde olmuştur. Nar üreticilerinden bu konularla ilgili şikayetler alınmış ve çalışma Aydın ili ve ilçelerindeki nar bahçelerinde bitkilerde görülen kurumalar ile meyvelerde görülen sorunların nedenini ve yaygınlık durumunu belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL ve YÖNTEM

Sürvey Çalışmaları

Sürvey çalışmaları, Aydın ili ve ilçelerinde 2009-2011 yılları boyunca ilkbahar (Mart-Nisan) ve sonbahar (Eylül-Ekim) döneminde yılda iki kez yapılmıştır. Sayımlarında incelenen her kapama bahçede toplam ağaç sayısının %2'si (Çizelge 1), ağaçlar hastalık belirtileri dikkate alınarak hasta/sağlam şeklinde sayılmıştır (Lazarov, 1961). Sonbaharda aynı bahçelerde meyve sayımları yapılmış ve bu bahçelerin koordinatları kaydedilmiştir. Meyve sayımları için her bahçede tesadüfen seçilen 10 ağacın dört farklı yönünden tesadüfen seçilen birer dal üzerindeki tüm meyveler sayılmıştır. Her bir ilçede sürveyde değerlendirilecek bahçeler tesadüfi olarak dört farklı yönde seçilmiştir.

DISEASES AND THEIR PREVALENCE ON POMEGRANATE
ORCHARDS IN AYDIN PROVINCE

Çizelge 1. İlçelerde her bir bahçede inceleme yapılan nar ağacı sayıları.

Bahçedeki ağaç sayısı	İncelenen ağaç sayısı
20	Hepsi
20-70	20-30
71-150	31-40
151-500	41-80
501-1000	% 15
1000'den fazla	%5 (en az 150 ağaç)

İzolasyon Çalışmaları

Değerlendirme yapılan her bahçeden hastalık belirtisi gösteren bitki dokuları ve meyveler poşetlere konularak buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Hastalıklı bitki örneklerinden hastalıklı ve sağlıklı kısmı içerecek şekilde küçük kesitler alınmış ve bu kesitler %2'lik NaOCl içerisine 1-2 dakika daldırılmış ve steril saf suda durulama sonrası, steril kurutma kağıdında kurutulduktan sonra PDA besiyerine ekim yapılmıştır. Elde edilen fungal koloniler saflaştırılarak daha sonraki mikroskopik incelemeler ve patojenisite çalışmalarında kullanılmak üzere eğik ortamlarda ve/veya steril kağıt kültürlerde sırasıyla 4°C ve -20°C sıcaklıkta saklanmıştır. Çalışmalar boyunca elde edilen fungal kültürlerin patojenisite ve tanılama çalışmalarında tek spor izolatları kullanılmıştır.

Tanılama Çalışmaları

Klasik Tanılama

İzole edilen funguslar tanı amacıyla PDA içeren petrilere ekilerek koloninin renk, pigment oluşumu ve gelişme hızı gibi makroskopik özelliklerinin yanı sıra mikroskopik olarak da incelenmiştir. Mikroskopik incelemelerde hif, konidium ve konidiofor özellikleri gibi mikroskopik incelemeler yapılmıştır (Huang ve ark., 2003). Ayrıca *Coniella granati* için sarımsı krem koloni rengi, piknit ve konidi şekilleri (Çeliker, 2012), *Cytospora punicae* için başlangıçta beyazımsı olgunlaştıkça yağ yeşilinden koyu kahverengine değişen koloni rengi, koyu kahverengi piknit ve konidi şekilleri gibi kriterler dikkate alınarak morfolojik tanılama yapılmıştır (Hand, ve ark., 2014).

Moleküler Tanılama

Coniella granati ve *Cytospora* türlerin tanılmasında sonuçları doğrulamak açısından moleküler tekniklerde kullanılmıştır. İzolatların moleküler yöntemlerle tanılanması rDNA'a özgü ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak, her fungusa özgü PCR ürünleri (500-800 bp) sekans analizi yapan firmalar yardımı ile baz dizileri belirlenmiş ve GEN Bankasındaki veriler ile dizi analizi (BLAST-<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) yapılarak türlerin tanımı doğrulanmaya çalışılmıştır.

DNA ekstraksiyonu; 500 µl patates dekstroz sıvı besiyeri (PDB) tanılaması yapılacak fungal izolatların miseli ile inokule edilmiş, 20°C de 72 saat inkube edilmiş ve aşağıda belirtilen yönteme göre yapılmıştır (Cenis (1992). Gelişen misel kitlesi 13.000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek toplanmış ve 500 µl Tris-EDTA (pH 8,0) ile yıkanmıştır. Pellet üzerine 300 µl ekstraksiyon tampon çözeltisi (200 mM Tris-HCl[pH 8,5] 250mM NaCl, 25 mM EDTA ve %0,5 sodium dodecyl sulfate) (Raeder and Broda, 1985) konularak mikro-pestle uç (Axygen) yardımıyla 5 dakika homojenize (IKA, Ultra Turrax) edilmiştir. Tüpler 65°C'de 10 dk bekletilmiş, daha sonra üzerine 150 µl 3M sodyum asetat (pH 5,2) eklenmiş, karıştırılmış ve -20 °C'de 10 dk bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 13.000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiş, supernatant dikkatlice yeni bir tüpe aktarılmış, üzerine eşit hacimde isopropanol ilave edilmiş ve tüpler ters-düz edilerek karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 5 dk bekletilen tüpler 13.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Pellet üzerine 900 µl %70'lik ethanol konularak tüpler bir iki kere ters-düz edilmiş ve 13.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatant atılmış, tüpler steril kurutma kağıtları üzerinde ters çevirilerek konulmuş ve geri kalan etanolün uçması sağlanmıştır. Pellet 50 µl Tris-EDTA(10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA [pH 8.0]) içinde parmakla vurularak çözülmüş ve PCR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanılmıştır.

PCR Koşulları ve Analiz: Sekansı çıkarılacak fungal izolatlarla ait DNA ekstraktları ile PCR çalışmaları yapılmış ve rDNA'da ITS1-ITS4 bölgesi çoğaltılmıştır. PCR karışımı 5 µl kalıp DNA içerecek şekilde toplam 50 µl olarak hazırlanmıştır (1 x PCR tampon [+KCl], 2 mM MgCl₂, 0,2mM dNTPs [herbirinden], 0,2 µM primer [herbirinden], 2U Taq polymerase [Fermentas]). DNA amplifikasyonu için PCR koşulları 94°C'de 1 dakikada başlangıç denatürasyonu olmak üzere, 30 çevrim olacak şekilde 94°C'de 15 sn, 58°C'de 15 sn, 75°C'de 15 sn olarak ayarlanmış, ayrıca 72°C'de 7 dk son uzama adımı eklenmiştir (Manici and Bonora, 2007). Elde edilen PCR ürünleri % 1,5 agaroz jelde (30 dk, 45 V) yürütüldükten sonra 0,5 µg/ml etidyum bromür içeren solusyonda 15-20 dk boyanarak UV transilluminatör yardımı ile bantların görüntülenmiştir. Her fungusu özgülü PCR ürününün baz dizileri, MacroGen Europe (www.macrogen.com) biyoteknoloji firmasında belirlenmiştir.

Analiz sonucu çıkan diziler NCBI (The National Center for Biotechnology Information) web sayfasında bulunan veritabanından BLASTN 2.2.29 algoritması kullanılarak taranmış ve olası eşleşmeler değerlendirilmiştir (Zhang et al., 2000).

Patojenisite Çalışmaları

Meyve İnokulasyonu: *Fusarium* spp., *Cytospora* spp. ve *Coniella granati* izolatlarının patojenisite çalışmalarında, üreticilerden alınan sağlıklı hicaz çeşidi nar meyveleri kullanılmıştır. Bu amaçla PDA' da 1 hafta geliştirilen kültürler kullanılmıştır. İnokulasyondan önce nar meyvelerine %70'lik etil alkolle yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Meyve kabuğunda steril bir büstüri yardımıyla açılan yaralara PDA'da geliştirilen fungusun genç hiflerinden alınan 4 mm çaplı diskler ters çevrilerek yerleştirilmiş ve her bir meyve bir tekerrür olarak kabul edilmiş ve patojenisite çalışmaları 3 tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Kontrol meyvelerine ise PDA diskleri yerleştirilmiştir. Meyvelerin inokule edilen kısımları parafilm ile sarılmıştır (Yıldız ve Karaca, 1973).

İnokule edilen meyveler 56x30x20 cm ölçülerine sahip kafesler içine konulmuştur. Meyveler konulmadan önce kafeslerin tüm yüzeyleri %70'lik alkolle dezenfekte edilmiştir. Kafeslerin tüm dış yüzeyi polietilen örtü (PE) ile kapatılarak dış teması kesilmiştir. Bu kafesler 14 saat karanlık, 10 saat aydınlık ve 24°C'de olan iklim odasına yerleştirilmiştir. Kafesler inokule edilen nar meyvelerinin konulmasını takiben her gün kontrol edilmiş ve nemin azaldığı durumlarda steril saf su ilave edilerek nemin korunması sağlanmıştır. İnokulasyondan 15 gün sonra meyveler üzerinde gelişen lezyon boyutu ölçülerek değerlendirilmiş reizolasyonlar yapılmıştır (Yıldız ve Karaca, 1973).

Köklü Çelik İnokulasyonu: Hastalıklı nar bitkilerinden izole edilen *Cytospora* spp., *Coniella granati* ve *Fusarium* spp. patojenisite çalışmalarında kullanılmıştır (Çizelge 3). Çalışmalarımızda kullanılan Hicaz nar çelikleri iklim odasında hazırlanmış ve 121°C'de 60 dk. gün aşırı iki kere otoklavda sterilize edilmiş torf ve kum (1:1 w/w) karışımına dikilmiştir. İnokulasyondan önce nar çeliklerine %70'lik alkol ile yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Çeliklerin kabuk dokusu steril büstüri yardımıyla yaklaşık 1 cm genişliğinde kaldırılmış ve bu kısma izolatlardan alınan 8 mm çaplı diskler çeliklerin kabuk dokusu ile odun dokusu arasına yerleştirilmiştir. Bu kısım hava ile temasının kesilmesi ve nemin korunabilmesi için parafilm ile sarılmıştır. Çalışma her bir nar çeliği bir tekerrür olacak şekilde 3 tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve kontrol olarak 3 tane nar çeliğine sadece PDA'dan alınan disk yerleştirilmiştir. İnokule edilen çelikler iklim odasında 14 saat karanlık, 10 saat aydınlıkta 24°C sıcaklıkta bekletilmiştir. 60 gün sonra çelikler üzerindeki parafilm açılarak fungusun bitki dokusunda lezyona neden olup olmadığı incelenmiştir ve doku üzerinde gelişen lezyon boyutu ölçülerek, reizolasyon yapılmıştır (Huang ve ark., 2003).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Aydın ili ve ilçelerinde 2009-2011 yılları boyunca değerlendirme yapılan bahçelerin %86'sında Hicaz, 11'inde yerel, %3'ünde ise Caner nar çeşidi yetiştirildiği belirlenmiştir. İncelenen toplam 17125 ağacın %4,7'sinde solgunluk belirtileri saptanmıştır (Çizelge 2).

DISEASES AND THEIR PREVALENCE ON POMEGRANATE
ORCHARDS IN AYDIN PROVINCE

Aydın ili ve ilçeleri nar alanlarında solgunluk ve kurumalar en yaygın olarak Çine ilçesinde (%13,2) görülürken, bunu Karacasu (%11,6), Karpuzlu (%5,8) ve Merkez (%5) ilçeleri izlemiştir. Bozdoğan ve Köşk ilçelerinde ise incelen bahçelerde hastalık belirtisi gösteren ağaç görülmemiştir. Hastalıklı ağaç oranının en az olduğu ilçeler ise Kuyucak (% 0,3), Kuşadası (%0,3), Buharkent (%1) ve İncirliova (%1) olmuştur (Çizelge 2).

Çizelge 2’de belirtilen nar bahçelerinin %15’i yeni dikim olduğu, için bu bahçelerde meyve değerlendirmesi yapılamamıştır. Yapılan hastalık sayımlarında en fazla meyve sorunları özellikle yerel nar çeşidinin yaygın olarak yetiştirildiği Karacasu ilçesinde görülmüştür. Meyvelerin %8,1’inde çürüme görülürken %8,8’inde ise hasat öncesinde görülen çatlamlar nedeniyle pazar değerini yitirdiği saptanmıştır. Meyve çürüklüklerinin ve çatlamların görüldüğü diğer ilçeler ise sırasıyla Merkez (%2; %0,6), Karpuzlu (%1; %6) ve Çine (%0,3; %6,9) olup, Kuyucak ilçesinde meyvelerde sadece çatlama görülmüştür (Çizelge 2). Bu bahçelerden alınan hastalıklı meyve örneklerinden yapılan izolasyonlarda toplam 52 izolat elde edilmiştir. Hastalıklı meyvelerden elde edilen izolatların %25’ini *Alternaria* spp. oluştururken, %19,2’sini *Cytospora punicae*, %17,3’ünü *Aspergillus* spp., %15,4’ünü *Fusarium* spp. ve %11,5’ini *Penicillium* spp. oluşturmuştur (Çizelge 3).

Hastalıklı bitkilerin kök ve kök boğazından yapılan izolasyonlar sonucu toplam 59 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların % 64,4’ünün *Fusarium* spp., %13,6’sının *Cytospora* spp., %10,2’sinin *Coniella granati*, %3,4’ünün hem *Fusarium* hem *Cytospora* ve %1,7’inin *Trichothecium roseum*, *R. solani*, *Phytophthora* spp., *Gliocladium* spp. olduğu saptanmıştır. *Cytospora* sp. ve *Coniella granati* izolatları ayrıca moleküler olarak da değerlendirilmiştir. Bu izolatlar sekans analizi sonuçlarına göre *Cytospora punicae* BLAST Analizi’nde % 99, *Coniella granati* % 100 max. benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Aydın ilinde nar bahçelerinde yapılan survey çalışmalarında gerek bitki gerekse nar meyvelerinde bakteriyel bir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Bu nedenle herhangi bir izolasyon ve tanı çalışmasına yer verilmemiştir.

Çizelge 2. Aydın ili ve ilçelerinde solgunluk görülen ağaç ve hasta meyve oranları.

İLÇE ADI	Ziyaret edilen bahçe sayısı	Ağaç Sayısı	Say. Yap. Ağ. Say.	Hasta Ağaç Say.	Hasta Ağaç (%)	Hasta Meyve (%)	Çatlak Meyve (%)
MERKEZ	12	27627	5196	258	5,00	2	0,6
BOZDOĞAN	5	4620	438	0	0,00	0	0,0
BUHARKENT	1	100	100	1	1,00	0	0,0
ÇİNE	8	21770	1249	165	13,20	0,3	6,9
DİDİM		0	0	0	—	0	0,0
GERMENCİK	2	3000	273	6	2,20	0	0,0
İNCİRLİOVA	9	5575	1468	10	1,00	0	0,0
KARACASU	15	7596	1595	185	11,60	8,1	8,8
KARPUZLU	3	3300	654	38	5,80	1	6,0
KOÇARLI	5	4260	546	5	0,9	0,7	2,0
KÖŞK	3	3231	500	0	0	1	0,0
KUŞADASI	2	5900	900	3	0,3	0,3	0,7
KUYUCAK	5	8523	626	2	0,30	0	6,8
NAZİLLİ	13	13256	1758	45	2,60	0	0,0
SÖKE	5	19960	1131	16	1,40	0	0,0
SULTANHİSAR	5	4402	554	72	13	0	12,5
YENİPAZAR	3	949	137	1	0,7	0	0,0
Top/Ort.	96	134069	17125	807	4,7	0,8	2,6

Çizelge 3. Hastalıklı meyve ve bitkilerden elde edilen izolat ve oranları.

Meyvelerden izole edilen etmenler	İzolot sayısı	İzolot bulunma oranı (%)	Bitkilerden izole edilen etmenler	İzolot sayısı	İzolot bulunma oranı (%)
<i>Alternaria</i> spp.	13	25.0	<i>Cytospora punicea</i>	8	13.6
<i>Aspergillus</i> spp.	9	17.3	<i>Fusarium</i> spp	38	64.4
<i>Penicillium</i> spp.	6	11.5	<i>Trichothecium</i> sp.	1	1.7
<i>Fusarium</i> spp	8	15.4	<i>Rhizoctonia solani</i>	1	1.7
<i>Cytospora punicea</i>	10	19.2	<i>Phytophthora</i> sp.	1	1.7
<i>Coniella granati</i>	4	7.7	<i>Gliocladium</i> sp.	1	1.7
<i>Trichoderma</i> sp.	1	1.9	<i>Alternaria</i> spp.	1	1.7
<i>Gliocladium</i> sp.	1	1.9	<i>Fusarium</i> spp.ve <i>Cytospora punicea</i>	2	3.4
-	-	-	<i>Coniella granati</i>	6	10.2
Toplam	52	-		59	

Basım ve Basım (2013), Antalya İli nar alanlarında nar bahçelerinde yaptıkları çalışmada kök ve kök boğazı çürüklüklerine neden olan etmenler arasında *Fusarium* spp. (%51.9)'nin ilk sırayı aldığını belirtmişlerdir. Bunu *Rhizoctonia solani* (%40.4) ve *Phytophthora* spp. (7.6) izlemiştir. Çalışmamızda da *Fusarium* spp. ilk sırayı alırken, ilimizde kuruma görülen ağaçlardan izole edilen etmenler arasında *Cytospora punicea* ikinci sırayı, *Coniella granati* ise üçüncü sırayı almıştır. Çetin (2008) Çukurova Bölgesi' nde yaptığı çalışmada gövdeden yaptığı izolasyonda %19,8 oranında *Fusarium* spp. bulunduğunu belirtmiştir

Patojenisite Çalışmaları

Meyveler üzerinde yürütülen patojenisite çalışmalarında *Coniella granati* izolatlarının tamamı, *Cytospora* spp izolatlarının %40'ı ve *Fusarium* izolatlarının %45'inin patojen olduğu saptanmıştır. Bulgularımız, Pala ve ark. (2004)'nin elde ettikleri sonuçlarla paralellik göstermekte olup, *Fusarium* spp.' nin nar bitkilerinde patojen olduğu fakat virülensliğinin düşük olduğu ifade edilmiştir.

Çelikler üzerinde yürütülen patojenisite çalışmalarında ise 38 *Fusarium* spp., 8 *C.punicea* ve 6 *C. granati* kullanılmıştır. *C.punicea* ve *C. granati* izolatlarının tamamının patojen olduğu saptanmıştır. Nitekim meyvelerde hastalığa neden olduğunu bildiğimiz *C. granati* (Yıldız ve Karaca, 1973)'nin, son yıllarda gerek dünyada (Palou ve ark., 2010; Thomidis ve Exadaktylou, 2011; Chen, 2014), gerekse ülkemizde Aydın, Denizli, Manisa ve Muğla illerinde nar alanlarında taç çürüklüğüne neden olduğu saptanmıştır (Çeliker ve ark. 2012).

Fusarium spp. izolatlarının patojenisite sonuçları değerlendirildiğinde, 38 izolattan 35'inin çeliklerde hastalığa neden olduğu saptanmıştır. Patojen olarak saptanan izolatların dokularda oluşturduğu lezyon boylarının 17,3-85,6 mm arasında değiştiği ve diğer etmenlere göre daha şiddetli enfeksiyona neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 1). Pala ve ark. (2004) da yaptıkları çalışmada *Fusarium* spp.'nin nar bitkilerinde patojen olduğunu ancak virülensliğinin düşük olduğunu bildirmiştir. Ancak çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara bakıldığında virulensi oldukça yüksek *Fusarium* spp. izolatlarının da olduğu görülmektedir. Hindistan'da Ravikumar ve ark. (2001) ve Sharma (1998)'de yaptıkları çalışmada *Fusarium* spp'nin narda patojen olduğunu belirtmişlerdir. *Cytospora punicea* inokule edilen çeliklerde ölçülen lezyon boyları 22,1-64,9 mm arasında değişirken, *Coniella granati* inokule edilen çeliklerde ise 31,1-49,5 mm arasında değişmiştir.

DISEASES AND THEIR PREVALENCE ON POMEGRANATE
ORCHARDS IN AYDIN PROVINCE



Şekil 11. Patojenisite çalışmalarında *Fusarium*, *Cytospora punicae* ve *Coniella granati* inokule edilen köklü çeliklerde görülen belirtiler.

Sonuç olarak *Fusarium*, *Cytospora punicae* ve *Coniella granati* türleri ile yapılan patojenisite çalışmaları sonucunda *Coniella granati*, *Cytospora* türlerinin tamamı patojen olarak bulunurken, *Fusarium* türlerinin 35'i patojen olarak saptanmıştır. Çalışma süresince arazi ziyaretlerinde yapılan görüşmelerden üreticilerin nar tarımı hakkında yeterli bilgiye sahip olmadıkları dikkati çekmiştir. Bu nedenle vegetasyon süresince budama ve diğer kültürel uygulamalarda yanlışlar yaptıkları görülmüştür. Özellikle bitki kurumaları gerek dip sürgünlerinin temizliği sırasında açılan yaralar gerekse dikim hatası nedeniyle boğaz doldurma gibi hatalı uygulamalardan ve bu kısımlardan başlayan enfeksiyonlardan kaynaklandığı anlaşılmıştır. Bu nedenle hastalık etmenlerinin bitkilere bulaşmasını kolaylaştıracak, kök ve kök boğazında yaralanmaya neden olacak bütün uygulamalardan kaçınmak gerekir. Ayrıca budama sonrasında koruyucu ilaçlama yapılması da yararlı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (ZRF 9007) tarafından desteklenmiştir. Çalışmalarımızda fungal türlerin tanınmasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Gülay Turhan'a teşekkür ederiz.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Basım E. ve Basım, H. 2013. Antalya ili nar (*Punica granatum* L.) bahçelerinde görülen kök ve kök boğazı çürüklük etmenlerinin tespiti. Meyve Bilimi 1 (1):23-26.
- Bozkurt, I. A., Soylu, S., Mirik, M., Ulubas Serce, C., and Baysal, O. 2014. Characterization of bacterial knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* on pomegranate (*Punica granatum* L.) trees: a new host of the pathogen. Lett. Appl. Microbiol. 59, 520–527.
- Cenis J.L. 1992. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. Nucl Acids Res, 20(9): 2380.
- Chen, Y., Shao, D.D., Zhang, A.F., and Yang, X. 2014. First Report Of A fruit rot and twig blight on pomegranate (*Punica granatum*) caused by *Pilidiella granati* in Anhui Province of China. Plant Disease, Vol. 98, 5.p.695
- Çeliker, M., Uysal, A., Çetinel, B., and Poyraz, D. 2012. Crown rot on pomegranate caused by *Coniella granati* in Turkey. Australasian Plant Dis. Notes7:161–162

- Çetin, H. 2008. Çukurova Bölgesi Nar Plantasyonlarında Fitopatolojik Sorunların Belirlenmesi Ve Hasat Sonu Hastalıklarına Karşı Bazı Fungusit Uygulamalarının Etkinliğinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Faemma, R., Granata, G., Pane, A., Evoli, M., Lo Giudice, V., Magnano di San Lio, G., and Cacciola, S.O. 2016. Heart rot and soft rot of pomegranate fruit in southern Italy, *Acta Horticulturae*, Number 1144, 195198
- Huang, Q., Y. Y. Zhu, H. R. Chen, Y. Y. Wang, Y. L. Liu, W. J. Lu, and Ruan. X. Y. 2003. First report of pomegranate wilt caused by *Ceratocystis fimbriata* in Yunnan, China. *Plant Dis.* 87:1150.
- Icoz S.M., Polat I., Sulu, G., Yılmaz, M., Unlu, A., Soylu S., Bozkurt, I.A., and Baysal, O. 2014. First report of bacterial blight of pomegranate caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* in Turkey. *Plant Disease* 98: 427.
- Jamadar M. M. and Patil, D. R. 2007. Bio-efficacy of. new formulations against leaf/fruit spot of. pomegranate. *Karnataka J. Agri. Sci.* 20(4): 865-866.
- Kurt H. ve Şahin, G. 2013. Bir ziraat coğrafyası çalışması: Türkiye’de nar (*Punica granatum* L.) tarımı. *Marmara Coğrafya Dergisi*, Sayı: 27, S. 551-574
- Lazarov, A. 1961. Karantina rastenijata zemizdat. Sofia. (San jose kabuklu biti ve mücadelesi 1971, Gencay Matbaası- İstanbul.)
- Levy, E., Elkind, G., Ben-Arie, R., Ben-Ze’ev, I.S. 2011. First report of *Coniella granati* causing pomegranate fruit rot in Israel *Phytoparasitica*, 39: 403.
- Madhukar, J. and Reddy, S. M. 1988. Some new leaf spot diseases of pomegranate. *Indian Journal of Mycology and Plant Path.*, 18 (2):171-172.
- Manici L.M. and Bonora, P. 2007. Molecular genetic variability of Italian binucleate *Rhizoctonia* spp., isolates from strawberry. *Eur. J. Plant Pathol*, 118 (1): 31-42
- Melgarejo, P., Martínez, J.J., Hernández F., Legua, P., Melgarejo-Sánchez, P. and Martínez Font, R. 2012. The pomegranate tree in the world: Its problems and uses. II International Symposium on the Pomegranate, Series A: Mediterranean Seminars, Num.103, CIHEAM, 11-28
- Pala, H., Yılmaz, C., Ozguven, A.I., and Tatlı, A. 2006. Important Diseases of Pomegranate Fruit and Control Possibilities in Türkiye. 1st International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits. 16-19 October 2006 Adana, Türkiye, 101p.
- Pala, H., Camhoş, E., Öztürk, N., Ulusoy, M. R., Yılmaz, C. and Bayhan. E. 2004. Doğu Akdeniz Bölgesi nar yetiştiriciliğinde karşılaşılan önemli hastalık ve sorunlar, Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü, Adana; Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana; Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü, Erdemli-Mersin.
- Palou L, Taberner, V., Guardado, A., Del Río, M.A., and Montesinosherrero, C. 2010. Incidence and etiology of postharvest fungal diseases of pomegranate (*Punica granatum* cv. Mollar de Elche) in Spain. *Phytopathologia Mediterranea*, 52, 3, 478-489
- Paster, N., Juven, B. J., Gagel, S., Saguy, I. and Padova, R. 1985. Preservation of a perishable pomegranate product by radiation pasteurization. *Int. Journal of Food Science & Technology*, 20: 367-374.
- Hand FP, Choudhury, R.A., and Gubler, WD. 2014. First report of *Cytospora punicae* causing wood canker and branch dieback of pomegranate (*Punica granatum*) in the United States. *Plant Disease* 98, 853.
- Philips, S. 1980. Aspergillus Rot of Pomegranate Fruits. *Indian Phytopathology*, 32 (2) 332.
- Raeder U., and Broda, P.1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Lett Appl Microbiol*, 1 (1): 17-20.
- Ravikumar, M. R., Shamarao, I., Yendjerappa, S. T., and Ryagi, Y. H. 2001. Management of Clump Rot of Pomegranate Caused by *Fusarium* spp. *Agricultural Science Digest*, 21 (3):210.
- Sharma K.K., Sharma, J., and Jadhav, V.T. 2010. Status of Bacterial Blight of Pomegranate in India. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 4 (Special issue): 102-105.
- Sharma, N. D., and Sain, A. C. 1978. Two New Fruit Rot Diseases of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Caused by *Coniella* spp. *Current Science*, 47 (23) 90-909.
- Sharma, R. L. 1998. Occurrence of Dry Rot of Pomegranate in Himachal Pradesh. *Plant Disease Research*, 13 (2):175-176 1998.

DISEASES AND THEIR PREVALENCE ON POMEGRANATE
ORCHARDS IN AYDIN PROVINCE

- Sharma, R.B., Sinha, B.P., and Roy, A.N. 1981. Post-harvest fruit rots of pomegranate. *Indian Phytopath.* 34:69-70.
- Siboe, G.M., J. K. Birgen, and Subramoniam. W. 1982. Leaf-Blotch and Fruit-Rot of Pomegranate. *FAO. Plant Protec. Bulletin*, 30 (3-4) 161.
- Somasekhara, Y. M., and Wali, S.V. 2000. Survey of incidence of pomegraneta (*Punica granatum linn*) wilt (*Ceratocystis fimbriataell&halst*). *Orissa Journal of Horticulture*, 28 (2):84-89.
- Somasekhara, Y.M. 1999. New record of *Ceratocystis fimbriata* causing wilt of pomegranate in India. *Plant Disaese*, Volume 83, Number 4, 400p.
- Thomidis T., and Exadaktylou, E. 2011. First report of *Pilidiella granati* on pomegranate with symptoms of crown rot in the prefecture of Xanthi, Greece. *Plant Disease*, 95, 79.
- Turan, K., Başpınar, N., and Çetin, V. 1995. Bahçe ve depo koşullarında nar meyvelerinde oluşan fungal hastalıklar üzerinde araştırmalar. 7. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26–29 Eylül. Adana, Türkiye, S.118–121.
- TÜİK, 2015. Türkiye İstatistik Kuruma. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim: 5.6.2015)
- Tziros, G.T. and Tzavella-Klonari, K. 2007. Pomegranate fruit rot caused by *Coniella granati* confirmed in Greece. *New Disease Reports*, 16, 22.
- Tziros, G.T., Lagopodi, A.L., and Tzavella-Klonari, K. 2007. *Alternaria alternata* fruit rot of pomegranate (*Punica granatum*) in Greece. *Disease Reports*, 15, 14
- Utikar, P. G., Lande, P.S., and More, B.B. 1977. *Dreslera rostrata*. A new pathogen on pomegranate. *Indian Phytopathology*. 29 (2) 189 p.
- Yıldız M., and Karaca, İ. 1973. Türkiye’de *Coniella granati* (Sacc.) Petr. Et Syd.’nin meydana getirdiği nar meyve çürüklüğü. *E. Ü. Ziraat Fakültesi Mecmuası*, 10 (2) 315-325
- Zhang Z., Schwartz, S., Wagner, L., and Miller, W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J Comput Biol*, 7 (1-2): 203–214.