



Araştırma Makalesi

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

Medine MANDOLLU¹, Mukaddes KAYIM^{1*}

ÖZ

Bu çalışmada, Gaziantep ve Şanlıurfa illerinin Nizip ve Birecik ilçelerinde 2018-2020 yılları arasında 10 farklı bahçede 10 yaş üzerindeki antep fıstığı ağaçlarında solma, dal kuruması ve geriye doğru ölüme neden olan patojenler araştırılmıştır. *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti* ve *Fusarium solani* fungus türleri, Gaziantep ili Nizip ilçesinde antep fıstığı ağaçlarında yapraklarda küçülme ve solmalara, taç ve dallarda kurumalara, köklerde ise çürüklüğe neden olmuştur. Fungus türleri, koloni rengi, konidilerin morfolojik karakterlerine göre ve ITS gen dizilerinin NCBI gen bankasındaki diğer genlerle eşleştirme analizleri ile tanımlanmıştır. Şanlıurfa ili Birecik ilçesinde antep fıstığının solgunluk ve dal kurumasına neden olan patojen, ITS dizisi analizi ve konidial morfoloji özellikleri ile *Neoscytalidium dimidiatum* fungus türü olarak tanımlanmıştır. Bu fungus türlerinin, Güneydoğu Anadolu Bölgesin'nde antepfıstığı ağaçlarında hastalık etmeni olduğu, dal ve fidan patojenisite testi ile kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antepfıstığı, Geriye doğru ölüm, *Fusarium* spp., ITS, *Neoscytalidium dimidiatum*

Investigation of Fungal Causal Agents of Root Rot and Die Back on Pistachio Trees

ABSTRACT

In this study, fungal pathogens were investigated on over 10-yr old, pistachio trees that displayed wilting, drying of branches, dieback, and root rot in 10 different orchards in Nizip and Birecik counties of Gaziantep and Şanlıurfa provinces respectively between 2018 and 2020. The fungal species, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti* and *Fusarium solani* caused stunting and wilting of leaves, drying of the branches, and dieback of trees with root rot in Nizip county of Gaziantep province. Fungi species were identified by colony color, morphological characteristics of conidia, and alignment analyses of ITS gene sequences with other genes in the NCBI gene bank. The causative agent of a wilting and dead branch of pistachios in Birecik county of Şanlıurfa province was identified as *Neoscytalidium dimidiatum* which was determined by the conidial morphology and nucleotides alignment of the ITS gene. Fungal species have been proven to be disease agents of pistachio trees in Southeastern Anatolia by pathogenicity test of cutting segments of branches and trees.

Keywords: Dieback, *Fusarium* spp., ITS, *Neoscytalidium dimidiatum*, Pistachio

ORCID ID (Yazar sırasına göre)

0000-0002-0735-9759, 0000-0003-0309-0390

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 14.12.2022

Kabul Tarihi: 15.06.2023

¹ Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 01330, Sarıçam/Adana

*E Posta: kayimukaddes@gmail.com

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

Giriş

Dünya’da antepfıstığı üretiminde Amerika Birleşik Devletleri, İran, Türkiye, Çin ve Suriye ilk 5 ülkeler arasındadır. Ülkemiz antepfıstığı üretimi açısından 2019 yılı FAO verilerine göre 85.000 ton üretim ile 4. sırada yer almaktadır (FAO, 2020). Antepfıstığı üretiminde birim alandan fazla üretim alma amacı ile damla sulamanın yetiştiriciliğe dahil edilmesi ile birlikte Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde üretim alanında ciddi bir artış meydana gelmiştir. Bu bölgede yer alan Şanlıurfa ve Gaziantep illerinde toplam üretim alanı 2.910.800 dekara ulaşmıştır (TÜİK 2021). Doğu Akdeniz ve Ege Bölgesi’nde belli alanlarda bir miktar üretim yapılmaktadır. Her ne kadar antepfıstığının ülkemizde yaygın olarak yetiştirildiği Gaziantep ve Şanlıurfa illeri, uygun iklim koşullarına sahip olsada yetiştiricilikte yapılan hatalı uygulamalar, bitkilerde açılan yaralar, toprak altı damla sulamadan kaynaklanan sürekli nemli ortam yaratma biyotik hastalık etmenleri için uygun koşullar yaratmaktadır. Bu hastalık etmenlerinden en yaygın görülenleri, köklerde çürüklüğe neden olan *Phytophthora* spp., *Veticillium dahliae* ve *Fusarium* spp. türleri iken sürgünlerde yanıklık, dallarda kurumalara ve geriye doğru ölümlere *Botrytis cinerea*, *B. dothidea*, *Armillaria mella*, *Phomopsis* sp., *Schizophyllum commune* ve *Fusarium equiseti*’nin yaprak ve meyvelerde leke ve çürüklüklere ise *Alternaria alternata* ve *Pseudocercospora pistacina* fungus türlerinin neden olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Michailides ve ark., 1995; Eskalen ve ark., 2001; Demirözer, 2014; Sarpkaya, 2014). Derviş ve ark. (2019), tarafından Şanlıurfa iline ait 3 farklı içede antepfıstığı ağaçlarında dallarda kurumalara neden olan etmenin *Neoscytalidium dimidiatum* olduğu moleküler bir çalışma ile rapor edilmiştir. Kaliforniya’da olduğu gibi son yıllarda, Türkiye’de Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde birçok antepfıstığı bahçelerinde toprak altı damla sulama sistemlerinin kurulmasıyla birlikte, su miktarının fazla ve düzensiz verilmesi ağaçlarda dal, gövde kurumalarına, kök çürüklüklerine ve geriye doğru ölümlere neden olmuştur. Bu çalışma özellikle Gaziantep-Nizip ve Şanlıurfa-Birecik

ilçelerinde antepfıstığı ağaçlarında gözlenen kök çürüklüklerine, tek taraflı dal kurumalarına ve geriye doğru ölümlere neden olan patojenlerin saptanması amacı ile yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Güdümlü örnekleme amacı ile her iki ilçede (Nizip ve Birecik) 10 farklı antepfıstığı bahçesinden gelişmede durgunluk, yapraklarda küçülme, dallarda kuruma ve taçta tamamen kuruma belirtileri gösteren antepfıstığı ağaçlarından sürgün, dal, gövde ve kök parçaları patojen izolasyonunda bitki materyali olarak kullanılmıştır. Koch postülatı ile hastalık etmenlerini ispatlamak için *Pistacia vera* L. anacından 10 adet kök çürükük etmeni (*F. solani*), ve dal kurummasına neden olan etmenler (*F. oxysporum*, *F. equiseti*, *N. dimidiatum* ve kontrol) için “Uzun” ve “Kırmızı” antepfıstığı çeşitlerinden 5’şer adet fidan (20 adet “Uzun” ve 20 adet “Kısa” çeşidi), kesik dallarda testleme için 6’şar adet 25 cm uzunluğunda aynı çeşitlerin dalları (toplam 52 adet) kullanılmıştır. Patojenite testleri Bölüm arazisi seralarında yürütülmüştür. Fungus materyalleri hastalıklı kök ve elde edilen fungus türlerinin saf miselleri kullanılmıştır.

Metot

Antepfıstıklarında Hastalık Oranlarının Belirlenmesi

İki ilçeye ait toplam 10 farklı antepfıstığı bahçesinde ağaçların taç kısmında tek taraflı dal kuruma, yanıklık, ana gövdede sakızlama, yapraklarda solgunluk ve küçülme hastalık belirtisi açısından tüm ağaçlar incelenmiştir. Bahçeler özellikle hastalık belirtilerinin yoğun olduğu bölgelerden rastgele seçilmiştir. Güdümlü örnekleme çalışmalarına iki yıl (2018-2020) devam edilmiştir. Hastalık belirtisi izlenen ağaçların yaşı, hastalığa karşı duyarlılık ve dayanıklılık gibi karakterleri dikkate alınmamıştır. Bu amaçla % hastalık oranı, hastalık belirtisi gösteren ağaç sayısının toplam incelenen ağaç sayısına bölündükten sonra 100 ile çarpılarak elde edilmiştir.

Surveyler, Hastalıklı Dokuların Alınması ve Patojen İzolasyonları

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

Survey ve örnekleme çalışmaları 2018 - 2020 yılları arasında hastalık belirtilerinin yoğun olarak gözlemlendiği Nizip ve Birecik ilçelerinden 5'şer adet farklı bahçelerde yaz sonu-sonbahar (Eylül-Kasım) ve ilkbahar aylarını kapsayan, periyodik olmayan arazi çıkışları şeklinde, 2 farklı dönemde simptomlu ağaçlardan kök, dal veya gövde örneği alınarak patojen izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Hastalıklı bitki dokularının alınmasında, survey yapılan bahçelerde tüm ağaçlar incelenmiş, yapraklarda küçülme, solgunluk, dal kabuklarında koyu renklilik, yanıklık, ölü doku, taçta geriye doğru ölüm, iletim demetlerinde renklenme ve gövdede sakızlama, kabuk altında odun dokuda nekrotik leke belirtisi gösteren ağaçların bitki doku örnekleri alınmıştır. Yukarıda sayılan belirtileri gösteren antepfıstığı ağaçlarının gövde ve yan dalları, 20-30 cm uzunluğunda testere ile kesilerek soğutulmuş örnekleme kutularına konularak laboratuvara getirilmiştir. Patojen izolasyonu ve tanılama çalışmaları için nekrozlu bitki dokularından 1 - 2 cm eninde parçalar kesildikten sonra kabuk dokular soyulmuş ve çeşme suyu ile yıkanmıştır. Bu dokulardan tekrar bir büstri yardımı ile daha küçük parçalara (0.5-1 cm²) ince kesitler şeklinde parçalara ayrıştırılarak %1'lik ticari sodium hipokloritte 1-2 dak. yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş ve 4-5 kez sterilize destile su ile yıkanmıştır. Steril filtre kağıtlar üzerinde 5-10 dak. bekletilerek laminar air flow kabinde kurutulmuş ve 100mg/L tetrasiklin içeren PDA ortamında 5 gün kültüre alınmıştır. Bu inkübasyon süresinde, bitki parçalarından PDA ortamı üzerinde gelişen fungal misellerden küçük diskler alınarak aynı besi ortamında alt kültürler oluşturulmuştur. Tek spor kültürleri, 1/1000 oranında sulandırılan konidilerden hazırlanmış ve 100 µl PDA ortamına yayılarak ertesi gün tek spordan gelişen fungus kolonileri seçilerek oluşturulmuştur.

Patojenlerin Tanılanması

Morfolojik Özellikleri

Fungal patojenlerin morfolojik özellikleri besi ortamında gelişen misel koloni rengi, şekli ve misellerde gelişen konidilerin şekilleri, büyüklükleri, uzunluk/en oranları gibi özellikler mikro ve makro konidi oluşumları ve bölme sayıları dikkate alınmıştır. Botryosphaeriaceae familyasına ait fungus morfolojisinde Phillips ve

ark. (2013),'nın geliştirdiği tanı anahtarı kullanılmıştır. Fusarium türlerinin morfolojik özelliklerinin tanısında ise Crespo ve ark. (2019),'nın kullandığı yöntemler dikkate alınmıştır.

Moleküler Analizler

DNA İzolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Patojen fungusların moleküler tanısında ITS gen bölgesi (5,8 S, ITS1, ITS2 ve ribosomal RNA) kullanılmıştır. Bu amaçla ITS5 ileri primer (5'-GGAAGTAAAGTCGTAACA AGG-3') ve ITS4 geri primer (5'-TCCTCCGCT TATTGATATGC-3') çiftleri DNA çoğaltımında kullanılmıştır (White ve ark, 1990). Bu amaçla öncelikle fungal patojenlerin DNA izolasyonunda 100 mg misel parçaları her izolattan ayrı ayrı alınarak Qiagen DNeasy plant mini kiti ve protokolleri kullanılmıştır.

Patojenite Testleri

Hastalık belirtisi gösteren antepfıstığı ağaçlarından izole edilen 5-10 günlük tek spor kültürleri PDA besi ortamında geliştirilmiştir, Sağlıklı antepfıstığı ağaçlarından 25 cm uzunluğunda ve 1-2 cm çapında olacak şekilde kesilen dallar önce % 0,5'lik sodyum hipoklorit ile 10 dak. yüzeysel sterilizasyon uygulanmış ve hemen sterilize edilmiş destile su ile 3 kez yıkanmıştır. Yüzeysel sterilize edilen dallar laminar air flow içerisinde otaklav edilmiş filtre kağıtlarında kurutulduktan sonra hemen sıvılaştırılmış parafin ile kesik uçlar kaplanmış ve bitki dokusundan su kaybı önlenmiştir. Kesik dalların tam ortasına, 4mm çaplı delici disk ile odun dokusuna zarar vermeden kabuk dokusu çıkarılmıştır. Bu kısma yine aynı büyüklükte mantar delici ile PDA'da 5-7 gün geliştirilen patojenlere ait misel diskleri yerleştirilmiştir. Kontrol için kullanılacak dallara sadece PDA besi ortamı diskleri yerleştirilmiştir. Her patojen izolat ve kontrol için 6 adet kesik dal kullanılmıştır. Patoje inokule edilen dallar içerisi etil alkol ile dezenfekte edilmiş, tabanında steril su ile emdirilmiş kaba filtre kağıtları bulunan 5 litrelik saklama kaplarına aktarılmıştır. Dalların suya temas etmemesi için, saklama kabın tabanına 25 mm çaplı 150 mm uzunluğundaki cam tüpler yerleştirilmiştir. Dallar saklama kapları içerisindeki 25±2°C'de 17 gün inkübe edilmiştir (Damm ve ark, 2007; Wang ve ark,

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

2011). Kesik dal patojenisite çalışmasında en uzun nekroz oluşturan virulent izolatlar seçilmiş ve fidan patojenisite çalışmasında kullanılmıştır. Fidanların patojenisite testinde de aynı yöntem uygulanmış sadece Fusarium izolatları anaçların hemen toprak hizasında olacak şekilde gövde ve kök boğazına patojen diskler yerleştirilmiş, *N. dimidiatum* için anaç üzerine aşılı “Uzun” çeşidinin gövdesine disk yerleştirilmiştir. Sera koşullarında $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de 6 ay inkübe edilmiştir (Şekil 1). Fidanlarda bu süre içerisinde kabuk ve odun dokusunda oluşan sakızlama ve nekrotik alanlar ölçülerek kayıt edilmiştir. Fidanların patojenisite çalışmalarında *Neoscytalidium*

dimidiatum patojen izolatları için Uzun çeşidi, *Fusarium* spp. için anaç antepfıstığı dalları ve fidanları kullanılmıştır. Dal Patojenisite testlerinde her tekerrür 1 dal olmak üzere 6 tekerrürlü ve fidan patojenisite testlerinde her tekerrür 1 fidan olmak üzere 5 tekerrürlü patojenisite testleri, tesadüf parselleri deneme desenine göre düzenlenmiştir. Elde edilen verilerin varyans analizinde, tek yönlü varyans analizi SPSS istatistik yazılım programları kullanılmıştır. Verilerin ortalamaları % 5 önem seviyesinde Student Newman Keuls testi ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 1. *Neoscytalidium dimidiatum*'un “Uzun” çeşidi antepfıstığına ve *Fusarium* spp. türlerinin buttum anacı fidan gövdelerine inokulasyonu

Bulgular ve Tartışma

Hastalık Belirtileri ve Hastalık Çıkış Oranlarının Belirlenmesi

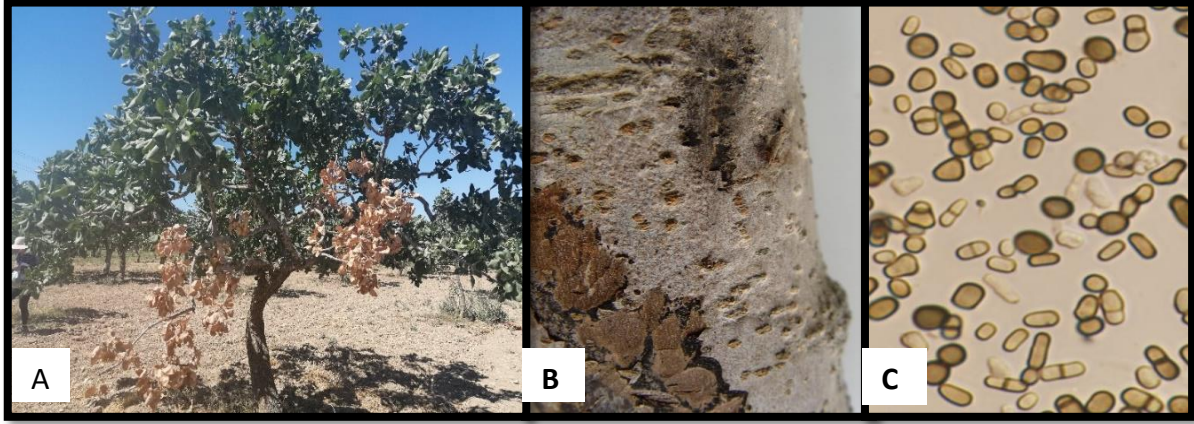
2018-2020 yılları arasında yılda iki kez olmak üzere Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Gaziantep ve Şanlıurfa illerinde toplam 10 bahçede örneklemeye çalışmaları yürütülmüş ve elde edilen sonuçlar ilçe bazında değerlendirilmiştir. Antepfıstıklarında taçtan başlayan ve gövdeye doğru ilerleyen kuruma belirtisi gösteren ağaçların hastalık belirtilerinde iki ilde bazı farklılık gözlenmiştir. Şanlıurfa ilinde, Birecik ilçesindeki hastalıklı ağaçlarda genellikle tek

tarafalı dal kurumaları (Şekil 2) daha çok görülürken, Gaziantep ili, Nizip ilçesindeki ağaçlarda ağırlıklı olarak ağaçların tüm taç kısmında genel kuruma olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3). Taçta tamamen kurumanın gözlemlendiği ağaçlarda yaprak çok daha küçük ve solgun görümlü iken, Şanlıurfa ili, Birecik ilçesindeki ağaçlarda tek tarafalı dal kuruma simptomların gözlemlendiği ağaçlarda yapraklar daha geniş ve solgunluk gözlenmemiştir. Birecik ilçesindeki hastalıklı ağaçlardaki belirtiler daha çok 30-40 yaşındaki ağaçlarda, tek tarafalı dal kuruması şeklinde gözlenmiştir (Şekil 2A). Kuru dallarda

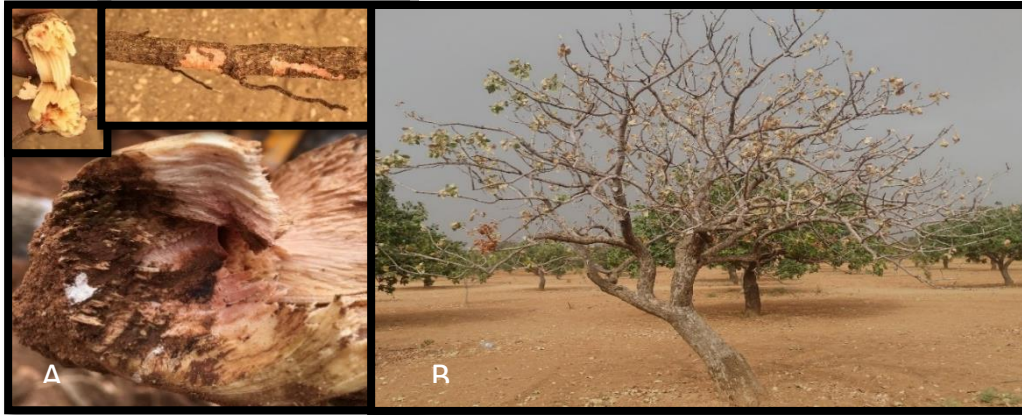
Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

yapraklar dökülmeden dal üzerinde asılı kalmaktadır (Şekil 2A), ayrıca dallarda kabuk dokusunun altında patojenin siyah renkli misel ve konidileri oluşmakta (Şekil 2BC) ve zamanla dal tamamen kurumaktadır. Kurumaların tek dal üzerinde olması, ağaçlardaki zararlı böceklerden

kaynaklandığının düşünülmesi nedeniyle budamalar sıklıkla yapılmış ancak hastalık budamayla yeni dallara da bulaşmış ve zamanla bulaşıklığın yoğun olduğu ağaçlar ölümle sonuçlanmıştır.



Şekil 2. Şanlıurfa ili, Birecik ilçesinde antepfıstığı ağaçlarında tek taraflı dal kurumaları (A), aynı ağacın gövde kabuğu altında *N. dimidiatum* fungus miselleri (B) mikroskop altında konidilerin şekilleri (C) (x40 büyültme)



Şekil 3. Gaziantep Nizip ilçesinde *Fusarium oxysporum* ve *F. solani* fungusu ile infekteli antepfıstığı ağacı kökleri (A) ve *F. equiseti* ile infekteli antepfıstığı ağacı (B)

Geriye doğru tek dal kuruma belirtileri özellikle eylül-kasım ayları arasında gözlenmiştir. Nizip ve Birecik ilçelerindeki % hastalık çıkış oranları Çizelge 1’de verilmiştir. Çizelge 1’de görüldüğü üzere, Nizip’in Yolçatı mahallesinde bulunan 4 nolu bahçede hastalık oranı %9 ile en yüksek oranda saptanmış, bunu %7.6 ile Günaltı’nda bulunan 1 nolu bahçe takip etmiştir. Diğer taraftan ağaç sayısının en fazla olduğu Güzelköy mahallesindeki 3 nolu

bahçede hastalık oranı %0.85 olarak saptanmıştır. Nizip ilçesindeki tüm bahçelerde hastalık oranının Şanlıurfa ili, Birecik ilçesine göre yüksek olmasının nedeni öncelikle toprak altı damla sulamanın bu bölgede daha yaygın olup, düzensiz sulama nedeniyle antep fıstığı ağaçlarının kök bölgesinin sürekli nemli kalması mevcut *Fusarium* türlerinin bitki köklerinde infeksiyon yapmasına neden olmuştur. Diğer taraftan geleneksel antepfıstığı

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

yetiştiriciliğinde susuz tarım uygulanmaktadır. bahçelerde *Fusarium* kök çürüklüklerine Toprak altı damla sulama sistemi olmayan rastlanmamıştır.

Çizelge 1. Nizip ve Birecik ilçelerinde 2018-2020 yılları arasında farklı antepfıstığı bahçelerinde kök çürüklüğü ve geriye doğru ölüm nedeniyle ortaya çıkan yüzde (%) hastalık oranları

İller	Mahalleler	Bahçe Sayısı	Toplam Ağaç Sayısı	Hastalıklı Ağaç Sayısı	% Hastalık Çıkış Oranı
Gaziantep	Günaltı	1	144	11	7.6
	Günaltı	2	240	5	2.08
	Güzelköy	3	936	8	0.85
	Yolçatı	4	350	32	9
	Yolçatı	5	600	8	1.3
Şanlıurfa	Surtepe	1	225	5	2.2
	Surtepe	2	200	2	1
	Çiftlik	3	230	7	3
	Çiftlik	4	800	3	0.3
	Şehir Bağı	5	368	4	1.1



Şekil 4. Gaziantep ili Nizip ilçesinde *Fusarium equiseti* fungusu ile infekteli antepfıstığı ağacından alınan enine kesit (A) ve *F. equiseti*'nin PDA besiyerinde gelişen kolonisi (B) (siyahimsı yapılar fungusun klamidiosporları içermektedir).

Birim alandan fazla üretim almak amacı ile son yıllarda toprak altı damla sulama sistemleri ile sulu tarıma geçiş yapılması, damla sulama ile sulanan bahçelerin su miktarı ile doğrudan ilişkili olup bu ilçede özellikle kök çürüklüğü belirtilerini dolayısı ile ağaç ölümlerini arttırmıştır. Toprak yapıları ve arazi koşullarına göre, damla sulama sisteminin olduğu her bahçede bu hastalığa rastlanmadığı gözlemlenmiştir. Bu tip ağaçların köke yakın gövdeleri enine kesildiğinde odun dokuda halka şeklinde kahverengi nekroz ve etrafında pembeleşme şeklinde belirtiler gözlemlenmiştir.

Bu tip belirtilmeli dokulardan patojene özgü kesif kokular yayılmaktadır (Şekil 4). Şanlıurfa ili Birecik ilçesinden hastalıklı dal örneklerinden *N. dimidiatum* fungusu %38 gibi en yüksek oranında saflaştırılmıştır. Bunun yanı sıra %10 *Trichoderma* spp., %10 *Colletotrichum* sp., %8 *Fusarium* spp., %6 *Nigrospora* sp., %5 *Aspergillus* spp., %4 *Penicillium* spp., ve %15 tanımlanmayan türler de saflaştırılmıştır.

Hastalık Etmenlerinin Morfolojik Özellikleri
PDA besiyerinde başlangıçta beyaz misel olarak gelişen *F. equiseti* 10 gün sonra kremimsi beyaz ve pembe renge dönüşmektedir. Kültür

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

yaşlandıkça besi ortamına temas eden miselyum pembe renge dönüşmektedir. 25 ± 2 °C'deki iklim odasında fungal kolonide bir ay sonra koyu kahverengi-siyah renkli klamidiosporlar çoğalmaktadır (Şekil 4B). Makrokonidiler 5-7 bölmeli iken mikrokonidileri bölmesiz ya da bir bölmeli gelişmektedir. Fungus havai misel olarak gelişmektedir. *F. equiseti*'nin makrokonidi ölçümleri $(13.8-21.5 (-29.2) \times (4.0-5.1 (-6.3))$ µm olarak maksimum, ağırlıklı ve minimum boy ve en uzunlukları olarak verilmiştir. Mikrokonidi ölçümleri ise maksimum (6.7), orta (9.8) ve minimum (14.4) boy ve en uzunlukları ise maksimum (2.8), ağırlıklı (3.7) ve en küçük (4.7) µm'dir. Klamidosporların ölçümleri yapılmamış ancak bir petride ortalama 300-400 klamidiospor gelişimi gözlenmiştir. Eskalen ve ark. (2001), antepfıstığı ağaçlarındaki hastalıkları saptamak amacı ile yapmış oldukları çalışmalarda izole ettikleri patojenleri sadece koloni morfolojisine bakarak ve konidilerin mikroskop altında şekillerini dikkate alarak antepfıstığı kök çürüklüklerine *Phytophthora* sp., *Verticillium* sp., *Aspergillus* sp. ve *F. equiseti* fungus türlerinin neden olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise dal ve gövdelerde kurumaya neden olan etmenin *F. equiseti* olduğu hem morfolojik karakter hemde konidi şekil ve büyüklükleri dikkate alınarak saptanmış ve moleküler analiz ile de kanıtlanmıştır (Şekil 5). Nizip ilçesinde tamamen kurumanın kök ve kök boğazı çürüklüğü ile ortaya çıktığı saptanmış olup etmenler ise *F. oxysporum* ve *F. solani* olarak tanılanmıştır. *F. oxysporum*'da başlangıçta *F. equiseti* gibi beyaz misel olarak gelişmektedir. Ancak ilerleyen dönemde *F. oxysporum* koloni rengi beyaz ve daha az havai misel oluşturmaktadır. Bazı koloni renkleri hafif pembemsi renk alabilmektedir. (kolonş deseni burada verilmemiştir). Bu fungus türü de bol miktarda hem mikro ve makrokonidiler üretmiştir. Mikrokonidileri genelde bölmesiz olup, bazıları tek bölmelidir. Makrokonidileri ise en az 4 bölmeli olup en fazla 7 bölmeli gelişim göstermektedirler.

Makrokonidilerin maksimum, orta ve minimum büyüklükleri $(18.5-27.3 (-33.6) \times (2.5-3.7 (-7.4))$ µm'dir. Mikrokonidilerin maksimum, orta ve minimum büyüklükleri $(5.3-6.5 (-8.4) \times (2.2-3.1 (-3.8))$

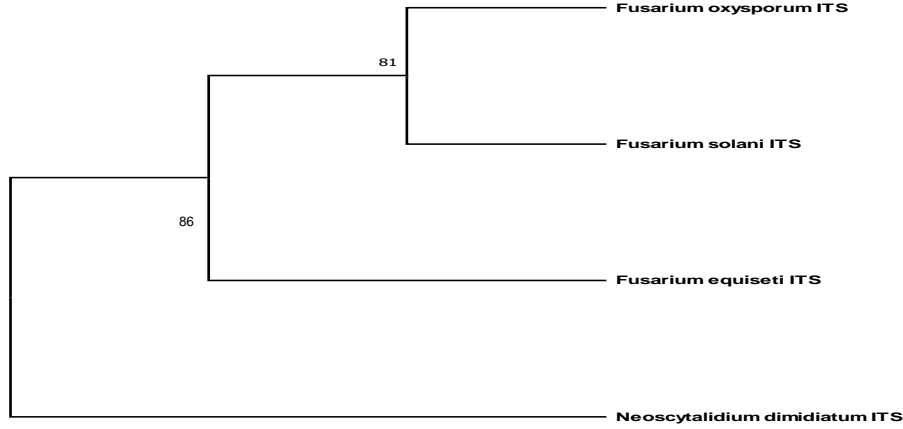
µm'dir. Antepfıstığı ağaçlarında kök çürüklüğü etmeni *F. solani* olduğu patojen izolasyonu ile saptanmıştır. *F. solani* diğer iki fungusu göre çok daha farklı koloni miseli oluşturmuştur. Bu etmenin miselleri besi ortamına yapışık olarak kremi renkte gelişmiştir. Koloni rengi değişmemiş ve klamidiospor oluşu gözlenmemiştir. Makrokonidileri 3-5 bölmeli gelişmiş, maksimum, orta ve minimum büyüklükleri $(32.6-36.5 (-43.7) \times (4.7-6.8 (-8.7))$ µm'dir. Mikrokonidiler bölmesiz veya bir bölmeli olup, maksimum, orta ve minimum büyüklükleri $(5.59-10.0 (-11.3) \times (3.1-4.3 (-5))$ µm'dir. *F. equiseti* PDA besi ortamında kültüre alındıktan bir gün sonra 11.5 mm'ye ulaşmış 2. günden sonra günlük 22 mm koloni çapları artmıştır. 4. günden sonra tüm petriyi kaplamış ve 86 mm koloni çapı oluşturmuş, *F. oxysporum* ise 5. günün sonunda kolonisi tüm petriyi kaplamıştır.

Neoscytalidium dimidiatum PDA besi ortamında kültüre alındığında çok hızlı bir şekilde başlangıçta beyazımsı misel sonra kurşuni grimsi renkte koloni geliştirmiş, 3 günde tüm petriyi kaplamıştır. Başlangıçta koloni rengi açık grimsi iken hızla koyu gri ve siyaha dönüşmüştür. Miselleri havai gelişmiş, misel koloni üzerinde bol miktarda piknidium ve içerisinde eşeysiz piknidiosporlar oluşturmuştur (Şekil 2C). Konidileri oldukça değişken morfoloji sergilemiştir. Bazıları bölmesiz, diğerleri iki ve üç bölmeli, şekilleri karemsi, dikdörtgen ve düzensiz silindirik formdadır. Konidiler başlangıçta krem renkte, olgunlaştıkça kahve ve koyu kahverengiye dönüşmektedir. Bu fungus türünde mikrokonidi ve makrokonidi ölçümleri yapılmamıştır.

Hastalık Etmenlerinin Moleküler Analizi

Gaziantep ili, Nizip ilçesi ve Şanlıurfa ili, Birecik ilçesinde antepfıstığı bahçelerinde hastalık etmeni olarak saptanan *F. oxysporum*, *F. solani* ve *F. equiseti* türleri için birer adet izolat ve *N. dimidiatum* fungus türü için 2 izolat National Center for Biotechnology Information (NCBI) gen veri bankasından ITS gen dizileri için sırasıyla OP886970, OP886971, OP886972, OP889670 ve OP889671 erişim numaraları alınmıştır. Bu fungus türlerinin ITS gen dizilerinin maksimum parsimoni soy ağacına göre farklı gruplar oluşturduğu Şekil 5'de gösterilmiştir.

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

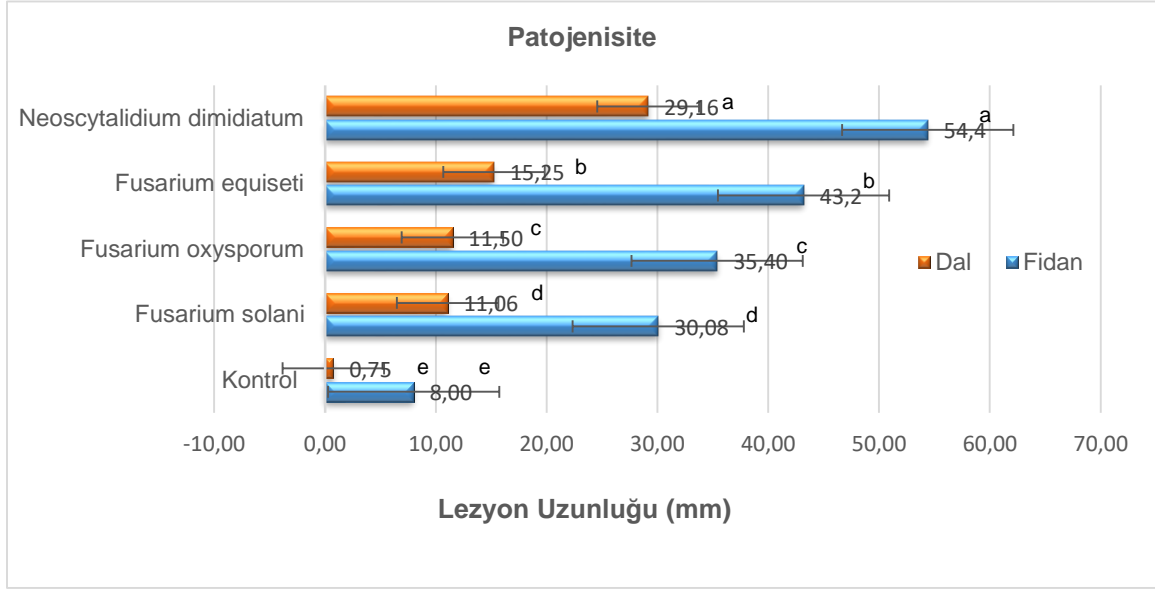


Şekil 5. Antepfıstığı ağaçlarında kök çürüklüğü, geriye doğru kuruma ve dal kurumalarına neden olan *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti* ve *N. dimidiatum* fungus türlerinin ITS gen dizilerinin Maksimum parsimoniye göre soy ağacı. Dallanma noktalarındaki Bootstrap değerleri (%) verilmiş olup, 1000 tekrar içermektedir.

Şekil 5’de görüldüğü üzere antepfıstıklarından elde edilen patojen izolatların hepsinin farklı fungus türleri olduğu ITS gen dizilerinin karşılaştırma analizleri ve oluşturdukları soy ağaçları ile de ispatlanmıştır. *F. oxysporum* (OP886970), *F. equiseti* (OP886972) ve *F. solani* (OP886971) funguslarının ITS gen dizileri NCBI gen bankasında sırasıyla MN056949, MT560337 ve MG734215 erişim numaralarına ait *Fusarium* türlerinin ITS nükleotid dizileri ile %100 homojen bulunmuştur. *N. dimidiatum* (OP889670 ve OP889671) fungusunun ITS gen dizisi ise MH744381 erişim numarası ile %100 homojenlik göstermiştir. Güney Doğu Anadolu Bölgesi’nde *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü nedeniyle antepfıstığı ağaçlarının geriye doğru ölümü, dal kuruması gibi hastalık belirtileri Eskalen ve ark., (2001) tarafından bildirilmiş ancak patojen türleri belirtilmemiştir. Burada yapılan çalışmada Gaziantep ili Nizip ilçesindeki antepfıstığı ağaçlarında kök çürüklüğüne *F. oxysporum* ve *F. solani* fungus türlerinin neden olduğu simptomlu dokulardan yapılan patojen izolasyonu, fungus morfolojisi ve ITS gen dizi analizleri ile belirlenmiştir. Nitekim

Kaliforniya’daki antepfıstığı ağaçlarında da özellikle kök ve kök boğazı çürüklüğüne ve iletim demetlerinde renk bozulmalarına *F. oxysporum*, *F. solani* ve *F. proliferatum* fungus türlerinin neden olduğu rapor edilmiştir (Crespo ve ark., 2019). Ancak Kaliforniya’daki antepfıstıklarında ayrıca *Neocosmospora falciformis* ve *N. solani* türleri de saptanmıştır. Tunus’daki antepfıstıklarında kök çürüklüğüne neden olan fungusun *F. solani* olduğu Triki ve ark. (2011) tarafından, Suriye’deki antepfıstıklarında ise Walid ve Abeer (2017), tarafından yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Nizip ilçesindeki antepfıstığı ağaçlarının kök ve kök boğazı dokularından yapılan izolasyon çalışmalarında baskın olarak *F. oxysporum* ve *F. solani* türlerine ait koloni gelişimleri gözlenmiş olup, dallardan yapılan (Şekil 4) izolasyonlarda ise *F. equiseti* fungusu elde edilmiştir. *F. equiseti* fungus türü özellikle dal iletim demetlerinde nekroza ve pembemsi renklenmeye neden olmuş, son derece virulent bir patojen olduğu hem dal inokulasyonu hem de fidan patojenisite testleri ile belirlenmiştir (Şekil 6).

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması



Şekil 6. Antepfıstığı “Uzun” çeşidi ve Buttum anaçlarında dal ve fidan patojenisite testleri. Ortalamalar arasındaki fark tek yönlü varyans analizi ve Student-Newman-Keuls (SNK) testine göre belirlenmiştir. (Dal patojenisite testinde $P < 0,001$ DF:4 F:990,592; Fidan patojenisite testinde $p < 0,001$; DF:4; F:277,062)

Şanlıurfa ili Birecik ilçesindeki antepfıstığı ağaçlarında tek taraflı veya taç içerisinde sadece bir veya iki dalda kuruma belirtilerinin *N. dimidiatum* fungusu nedeniyle olduğu hem patojenin kabuk dokusu altında oluşturduğu misel, piknidium ve konidlerin mikroskopik morfolojilerine bakılarak hem de dokudan patojen izolasyonu ile birlikte etmenin moleküler analizi ve patojenisite testleri ile belirlenmiştir. Bu bölgede gözlem yapılan bahçelerdeki ağaçlarda kök çürüklüğü belirtilerine rastlanmamıştır. *N. dimidiatum* patojen türüne ayrıca Nizip ilçesinde bazı ağaçlarda da rastlanmıştır. *N. dimidiatum*, Botryosphaeriaceae familyasına dahil funguslardandır. Bu patojen familyasına dahil bir çok fungus cinsi ve türü Türkiye’de bir çok farklı bölgede sert ve yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında, asmalarda, orman ağaçlarında ve çileklerde sürgün yakılıklarına dallarda nekrotik alanlarla birlikte kurumalara, sakızlamaya, meyvelerde sap ucu çürüklüğüne neden olmaktadır (Çeliker ve Michailides, 2012; Kurbetli ve Demirci, 2014; Yıldız ve ark., 2014; Akgül ve ark., 2015; Kayım ve ark., 2015; Kayım ve ark., 2016; Endes ve ark., 2016; Awan ve ark., 2016; Derviş ve ark., 2019; Endes ve Kayım, 2022). Kaliforniya’da Michailides ve ark. (1995), Güney Afrikada’da Swart ve

Blodgett (1998), antepfıstığı ağaçlarında dal kanserlerine, kurumalara ve sürgün yanıklığına *Botryosphaeria dothidea* fungusunun neden olduğunu bildirmişlerdir. Nouri ve ark. (2019), Kaliforniya’daki antepfıstığı ağaçlarında dal kanserleri ve ağaçlarda geriye doğru ölümlere 11 farklı fungus türünün bunlar arasında *Diplodia mutila* ve *Neofusicoccum mediterraneum* gibi Botryosphaeria cinsine ait türlerin de yer aldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar diğer ülkelerdeki antepfıstığı ağaçlarındaki dal kanserleri ve geriye doğru ölümlerle benzer belirtiler gözlenmiş ancak Türkiye’deki baskın fungus türünün *Neoscytalidium dimidiatum* olup, son derece virulent bir patojen olduğu belirlenmiştir. Derviş ve ark. (2019), tarafından Şanlıurfa ili Haliliye, Bozova ve Siverek ilçelerinde antepfıstığı ağaçlarında dallarda yanıklık kapanmayan yaralara ve dal kurumalarına *Neoscytalidium dimidiatum* fungusunun neden olduğunu bildirmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışma da bunu kanıtlamıştır.

Sonuçlar

Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nin sadece iki farklı ili kapsayan ancak birbirine sınır olan Nizip ve Birecik iki farklı ilçedeki antepfıstığı ağaçlarında gözlenen yaprak solgunlukları,

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

yapraklarda küçülme, ağaç taçlarında kuruma ve kök çürüklüklerine *F. oxysporum*, *F. solani* ve *F. equiseti* türlerinin neden olduğu saptanmıştır. Burada belirlenen türler Nizip ilçesi için ilk rapor niteliğindedir. Kapalı damlama sulamada çok düzenli ancak yeterli sulama yapılması, mümkünse toprak örnekleri alınarak nematod varlığı açısından incelenmesi gerekmektedir. Diğer taraftan toprak işleme yapılırken ağaç köklerinde yara açılmamalıdır. Birecik ilçesindeki tek taraflı dal kurumaları ile başlayan ağaç ölümlerinin *Botryosphaeriaceae* familyasına dahil *Neoscytalidium dimidiatum* fungus türü olduğu belirlenmiştir. Bu patojen budama veya herhangi bir yaradan bitki dokusunu infekte ettikten sonra kabuk altında odun dokuda gelişmesine devam edebilmektedir. Patojen iletim demetlerini de istila ederek dallarda kurumalara ve ilerlemesi durumunda tüm ağacın ölümü ile sonuçlanmaktadır. Bu tip ağaçlarda derin budama yapılarak ağacın koruyucu fungusitlerle ilaçlanması ve büyük yaraların aşı macunu ile kapatılması son derece önem taşımaktadır. Patojen izolasyonları sırasında faydalı *Trichoderma* türleri de saflaştırıldığından gelecekte yapılacak çalışmalarda bu faydalı mikroorganizmaların da mücadelede kullanılması için ön çalışmalar yapılmalıdır.

Teşekkür

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: FYL-2019-11406) desteklenmiştir. Gaziantep ili Nizip ilçesindeki hastalıklı antepfıstığı ağaçlarından örneklerin alınmasına katkı sağlayan antepfıstığı üreticisi sayın Kasım Böler'e ve Şanlıurfa ili Birecik ilçesindeki ağaçların surveyine katkısından dolayı GAP Agro Ziraai ilaç limited şirketine teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Akgül, D.S., Savaş, N.G., Teker, T., Keykubat, B., Mayorquin, J.S. Eskalen, A. (2015) Fungal trunk pathogens of Sultana Seedless vineyards in Aegean region of Turkey. *Phytopathol Med* 54(2):380–393.

Awan, Q.N., Akgül, D.S., Unal, G., (2016) First Report of *Lasiodyplodia*

pseudotheobromae Causing Postharvest Fruit Rot of Lemon in Turkey. *J Plant Dis* 100(11):2327.

Crespo, M., Lavrance D.P., Nouri M.T., Doll D.A., Trouillas F.P.(2019) Characterization of *Fusarium* and *Neocosmospora* Species Associated With Crown Rot and Stem Canker of Pistachio Rotscocks in California, *Plant Dis* 103:1931-1939.Çeliker, N.M., Michailides, T.J. (2012) First report of *Lasiodyplodia theobromae* causing canker and shoot blight of fig in Turkey. *New Dis Rep* 25:12.

Damm, U., Crous, P.W., Fourie, P.H. (2007) *Botryosphaeriaceae* as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodyplodia plurivora* sp. nov. *Mycol* 99(5): 664–680.

Demirözer, Ş. (2014) Antepfıstığında Meydana Gelen Geriye Ölüm Etmenlerinin Belirlenmesi, Gaziantep Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Mayıs.

Derviş, S., Türkölmez, Ş., Çiftçi, O., Serçe, U.Ç., Dikilitaş, M. (2019) First Report of *Neoscytalidium dimidiatum* Causing Canker, Shoot Blight, and Root Rot of Pistachio in Turkey. An International Journal of Applied Plant Pathology *Plant Dis* 103: 1411-1411.

Eskalen, A., Kusek, M., Danisti, L., Karadağ, S., Ak, B.E. (2001) Fungal diseases in pistachio trees in East Mediterranean and southeast Anatolian regions. XI GREMPA Seminar on pistachios and almonds. Proceedings of the XI GREMPA Seminar organized by the Universty of Harran with the collaboration of the FAO-CIHEAM inter-Regional Cooperative Research and Development Network on Nuts, Şanlıurfa, Turkey 1-4 sep, 56 261-264.

Endes, A., Kayım, M., Eskalen, A. (2016) First Report of *Lasiodyplodia theobromae*, *L. pseudotheobromae*, and *Diplodia seriata* causing bot canker and gummosis of nectarines in Turkey. *Plant Dis* 100(11):2321.

Antepfıstığı Ağaçlarında Kök Çürüklüğü ve Geriye Doğru Ölüme Neden Olan Fungal Etmenlerin Araştırılması

- Endes, A., Kayım, M. (2022) Morphological and Molecular Characterization of Botryosphaeriaceae Species Associated with Dieback and Gummosis on Plum Trees in Turkey. *Com rendus de l'Acad Bulgare des Sci* 75(2): 295-302.
- FAO 2020. Food And Agriculture Organization Of The United Nations Rome (2018) (Erişim tarihi: 10.11.2022).
- Kayım, M., Endes, A., Eskalen, A. (2015) First Report of *Neofusicoccum parvum* and *Diplodia* sp. Associated With Wood Canker and Dieback on Almond in Turkey. XVIII Internatiol Plant Protection Congress, Berlin, 798s.
- Kayım, M., Endes, A., Eskalen, A. (2016) Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Bazı Meyve Ağaçlarında Botryosphaeriaceae Grubu Patojenlerin Durumu. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongre Bildiri Özetleri, İnci Kağıtçılık Ofset Matbaa, Konya, 938s.
- Kurbetli, I., Demirci, F. (2014) Outbreak of stem canker and dieback of pear trees caused by *Botryosphaeria obtusa* (anamorph *Diplodia seriata*) in Turkey. *New Dis Rep* 30.
- Michailides, T.J., Morgan, D.P., Doster, M.A. (1995) Diseases of Pistachio in California and Their Significance. *Acta Hort* 419, 337-343.
- Nouri, M.T., Lawrence, D.P., Holland, L.A., Doll, D.A., Kallsen, C.E., Culumber, C.M., Trouillas, F.P. (2019) Identification and Pathogenicity of Fungal Species Associated with Canker Diseases of Pistachio in California. *Plant Dis* 2019, 103:2397-2411.
- Philips, A.J.L., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Slippers, B., Wingfield, M.J., Groenewald, J.Z. Crous, P.W. (2013). The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Study in Mycol* 76:51-167.
- Sarpkaya, K. (2014) Antepfıstığında Karazenk Hastalığına Neden Olan '*Pseudocercospora Pistacina*' nın Biyolojisi, Epidemiyolojisi Ve Mücadelesine Yönelik Çalışmalar. Çukurova Üniversitesi, Doktora Tezi, Adana.
- Swart, WJ., Blodgett JT. (1998) First Report of *Botryosphaeria dothidea* of Pistachio Trees in South Africa. *Plant Dis* 82 960.
- Triki, M.A., Chaabouni A.C., Ioos R. (2011). Emergence of *Fusarium solani* Causing Root Rot of Pistachio Trees In Tunisia. International Symposium on Pistachios and Almonds 2011.912.107
- TÜİK (2021) Türkiye İstatistik Kurumu. 2022. (Erişim tarihi:10.11.2022).
- Walid, N., Abeer, R. (2017) First Report of *Fusarium solani* Causing Root Rot of Pistachio (*Pistacia vera* L.) Seedlings in Nurseries in Syria. The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. ISSN:2305 - 5243; AIF(NSP)-316.
- Wang, F., Zhao, L., Li, G., Huang, J., Hsiang, T. (2011) Identification and characterization of *Botryosphaeria* sp. causing gummosis of peach trees in Hubei Province, central China. *Plant Dis* 95:1378-1384.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, New York, USA, 315-322.
- Yıldız, A., Benlioğlu, K., Benlioğlu, H.S. (2014) First Report of Strawberry Dieback Caused by *Lasiodyplodia theobromae*. *Journal Plant Dis* 98(11): 1579.