

Orijinal araştırma (Original article)

Gaziantep bağ alanlarındaki endofitik funguslar ve bunların fungal gövde patojenleriyle antagonistik ilişkileri¹

Davut Soner AKGÜL^{2,*}, Halil İbrahim KARA²

Endophytic fungi in vineyards in Gaziantep Province, Turkey and their antagonistic associations with fungal trunk pathogens

Abstract: In recent years, grapevine trunk diseases are frequently encountered in the vineyards of the world, including Turkey. The aims of this study were to identify grapevine fungal trunk pathogens in vineyards in Gaziantep Province, Turkey, and to investigate antagonistic relationships of fungal endophytes with the fungal trunk pathogens. The survey study was conducted in 51 vineyards located in Şahinbey, Nurdağı and İslahiye districts in September 2020 and the disease prevalence and incidence were determined. Antagonistic associations between endophytic and pathogenic species were investigated with a dual culture test in PDA (potato dextrose agar) medium. Local drying, dieback and apoplexy symptoms were observed in all the vineyards inspected and the mean disease frequency in individual vines in the study area was calculated as 1.2%. Identification studies and pathogenicity tests indicated that the vineyards were infected with species of the genera, *Biscogniauxia*, *Botryosphaeria*, *Cytospora*, *Diatrype*, *Diplodia*, *Eutypa*, *Kalmusia*, *Neoscytalidium*, *Phaeoacremonium*, and *Seimatosporium*, which are known to be associated with grapevine trunk diseases. *Penicillium fructuariae-cellae* was found to be antagonistic, with an average 9.04 mm diameter inhibition zone, to most of the grapevine trunk pathogens in the dual culture tests. These results suggest that more attention should be paid to endophytic *Penicillia* species as novel fungal biological control agents for the management of grapevine trunk diseases.

Keywords: Antagonism, *Botryosphaeria*, *Diatrype*, endophyte, grapevine trunk diseases, *Seimatosporium*, *Kalmusia*, *Penicillium fructuariae-cellae*

Öz: Son yıllarda Türkiye ve dünya bağlarında, asma gövde hastalıklarıyla sıkça karşılaşılmaktadır. Bu çalışmanın amaçları, Gaziantep bağlarında fungal gövde patojenlerini saptamak ve fungal endofitlerin asma fungal gövde patojenleriyle antagonistik ilişkilerini araştırmaktır. Sörvey çalışması İslahiye, Nurdağı ve Şahinbey ilçelerinde bulunan 51 bağda, Eylül 2020’de yürütülmüş, hastalık çıkışı ve yaygınlığı ortaya konmuştur. Patojenik ve endofitik türler arasındaki antagonistik ilişkiler PDA (patates dekstroz agar) besi yerinde ikili kültür testiyle belirlenmiştir. Sonuçlara göre, incelenen tüm bağlarda lokal kuruma, geriye doğru ölüm ve apopleksi belirtilerine rastlanmıştır, bölgedeki ortalama hastalık sıklığı %1.2 olarak hesaplanmıştır. Tanı çalışmaları ve patojenisite testleri bölgedeki bağların asma gövde hastalıklarıyla ilişkili *Biscogniauxia*, *Botryosphaeria*, *Cytospora*, *Diatrype*, *Diplodia*, *Eutypa*, *Neoscytalidium*, *Phaeoacremonium*,

¹ Bu çalışma ikinci yazarın yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiştir.

² Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 01330, Balcalı, Sarıçam, ADANA

* Sorumlu yazar (Corresponding author): sakgul@cu.edu.tr

ORCID ID (Yazar sırasıyla): 0000-0002-9990-4194, 0000-0001-9682-8993

Alınış (Received): 30 Mart 2022

Kabul edilmiş (Accepted): 9 Mayıs 2022

Seimatosporium ve *Kalmusia* türleri ile enfekteli olduğunu göstermiştir. İkili kültür testlerinde, *Penicillium fructuariae-cellae*'nin ortalama 9.04 mm'lik inhibisyon zonuyla çoğu asma gövde patojenlerine antagonistik olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, asma gövde hastalıklarının mücadelesinde yeni fungal biyokontrol etmenlerini geliştirmek için endofitik *Penicillium*'lara daha fazla dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antigonizm, Asma gövde hastalıkları, *Botryosphaeria*, *Diatrype*, *Endofit*, *Seimatosporium*, *Kalmusia*, *Penicillium fructuariae-cellae*

Giriş

Asmalarda fungal gövde hastalıkları, son yıllarda ülkemizde ve dünyadaki bağ alanlarında artış gösteren önemli hastalıklardır. Bu hastalıklar 1800'lü yılların sonundan itibaren bilinmesine karşın, önemi ancak 1990'larda fark edilmeye başlanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar asmalarda fungal gövde hastalıklarının ekonomik açıdan zarar veren önemli hastalıklar olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin; Güney Avustralya'daki Shiraz bağlarının %47'si bu hastalıklardan etkilenerek dekar başına 150 kg'lık ürün kaybı yaşandığı ve bunun dekara ortalama 280 Dolar'lık ekonomik kayba karşılık geldiği bulunmuştur (Wicks & Davies 1999). Benzer şekilde, Fransa'daki bağların %12'sinin bu hastalıklar nedeniyle ekonomik olmaktan çıktığı ve bunun ülke tarımına yaklaşık bir milyar Euro'luk kayba yol açtığı belirlenmiştir (Lorch 2014).

Bugün 34 farklı cinse bağlı 133 fungal türün asma gövde hastalıklarıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Gramaje et al. 2018). Çoğunlukla asmanın odun dokularına kolonize olan bu türlerin mücadelesi oldukça güç olup, yerleşik enfeksiyonların tedavisi mümkün değildir. Dünya genelinde 2000'li yılların başında sodyum arsenit'in yasaklanmasıyla hastalık nüksetmiş ve buna ikame olacak alternatif bir fungusit henüz bulunamamıştır. Bununla ilişkili olarak bitki patoloğları, hastalıkların biyolojik mücadelesini esas alan alternatif arayışlara yönelmişlerdir.

Endofitik mikroorganizmalar; bitki içerisinde var olan, yaşamının herhangi bir döneminde, bitkide herhangi bir hastalık belirtisi oluşturmayan ve bitkilerle birlikte yaşayan organizmalardır (Schulz & Boyle 2005). Çoğunlukla bakteri ve fungusların oluşturduğu bu organizmalar bitki içerisinde veya üzerinde büyürken, bitkilerin karbon kaynaklarını dengeli bir şekilde kullanırlar. Bu esnada bitki dokularını kolonize ederken çeşitli enzimler ve sekonder metabolitler üretirler. Bu ve buna benzer mekanizmalar bitki fizyolojisini olumlu ya da olumsuz yönde etkileyebilir. Ayrıca endofitik funguslar bitki içerisindeki diğer mikroorganizmalarla etkileşime girerek onların faaliyetlerini baskılayabilir ya da teşvik edebilirler (Porrás-Alfaro & Bayman 2011). Hindistan'da yürütülen bir çalışmada, asmalardan izole edilen *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botryosphaeria*, *Fusarium* ve *Xylaria* türlerine ait bazı endofitik izolatların fenolik bir bileşik olan resveratrol sentezledikleri bildirilmiştir (Dwivedi & Saxena 2019). Bu bileşik konukçu bitkiyi biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı koruyan ve ayrıca insan sağlığına yararı olan bir bileşiktir (Chong et al. 2009). Bitki iç dokularındaki fungal flora bitkinin yaşı, bitkinin farklı organları, çeşidi, bulunduğu bölgenin iklimi ve o bölgede takip edilen ürün yetiştirme yöntemlerine göre değişiklik gösterebilir.

Hatta fungal endofitin izole edildiği fenolojik dönem dahi bu değişiklikte rol oynayabilir (Varanda et al. 2016).

Asma fidanı üretiminde kullanılan kalem-çelik gibi vejetatif materyallerin sağlığı, tesis edilecek bağdaki asmaların ömrünü doğrudan etkiler. Dormant materyallerin patojenlerden ari ve yararlı endofitik flora yönünden zengin olması arzu edilmektedir. Yöresel veya standart üzüm çeşitlerinin ve aynı zamanda asma fidanlarının üretildiği bir bölgede bağların, fungal gövde patojenleri ve yararlı endofitler yönünden taranması önemlidir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2019 yılı verilerine göre Gaziantep ili, sahip olduğu bağ alanı ve üzüm üretim miktarı bakımından 7. sırada yer almakta ve bölgede sofralık ve kurutmalık üzüm yetiştirilmektedir (Anonim 2019). Bu ilde şimdiye kadar asma virüs ve viroidlerinin araştırıldığı bazı çalışmalar mevcut olmakla birlikte, asmalarda fungal gövde patojenleri ve bunların endofitik antagonistlerini ele alan bir çalışma henüz mevcut değildir. Bu nedenle Gaziantep bağ alanlarında bu tarzda bir çalışmaya gerek duyulmuştur.

Bu çalışmanın amaçları; Gaziantep ilinde bulunan bağ alanlarında fungal gövde hastalıklarının yaygınlığını ve bunlarla ilişkili patojenleri saptamak ve elde edilen patojenlere karşı potansiyel endofitik-antagonistik fungusları belirlemektir.

Materyal ve Yöntem

Sörvey ve fungal etmenlerin izolasyonu

Sörvey çalışması Gaziantep'in İslahiye, Şehitkamil ve Şahinbey ilçesi bağ alanlarında 2020 yılında yürütülmüş, toplam 51 bağ incelenmiştir. Ortalama 10 dekarlık bağların her iki kenarından ve ortasından dörder sıra olmak üzere, bir bağda toplam 12 sıra asma incelenmiştir. Sıra üzerinde bulunan tüm asmalar ve ayrıca hastalık belirtilerinin (kuruma, geriye doğru ölüm ve apopleksi) görüldüğü asmalar sayılarak kaydedilmiştir. Belirti gösteren omcaların 2-3 yıllık dallarından, 10-15 cm uzunluğunda odun örnekleri alınmış ve paketlenmiştir. Hastalığın ildeki yaygınlığı, belirtilerin görüldüğü bağ sayısının, incelenen tüm bağların sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur. Her bir bağdaki hastalık görülme sıklığı; belirti gösteren omca sayısının, sayım yapılan omca sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur. İldeki ortalama hastalık sıklığı ise, tüm bağlardaki hastalık sıklığının ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

Laboratuvara getirilen örnekler temizlendikten sonra %2.5'lük sodyum hipoklorid içerisinde 3 dakika süreyle yüzeysel olarak dezenfekte edilmiş, ardından iki kez steril distile suda durulanmış ve steril kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuştur. Dokuların 5-6 mm'lik dış kabuğu uzaklaştırılıp nekrozlu alanlardan steril makasla 3-4 mm³'lük kesitler alınmıştır. Bu kesitler streptomycin-sülfat içeren PDA'ya (250 mg·L⁻¹) aktarılmış ve Petri kapları 25°C sıcaklıkta 10 gün süreyle inkübe edilmiştir. Her bir bağ için 10 Petri kabı kullanarak izolasyon yapılmıştır. Dokularda gelişen kolonilerden fungal kültür koleksiyonu oluşturulmuş, Petri kaplarındaki türler morfolojik ve mikroskopik yönden incelenerek koloni sayıları familya ve cins düzeyinde kaydedilmiştir. Bir bağdaki örneklerden fungusların izole edilme oranı; gelişimin görüldüğü doku sayısının 10 Petri kabındaki toplam doku sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur. Sörvey

bölgesindeki fungusların izole edilme oranı, bir cinsin tüm bağlardaki toplam izole edilme oranının, toplam bağ sayısına bölünmesiyle hesaplanmıştır.

Fungal izolatların tanısı

Saf kültürlerin klasik tanısı Crous & Gams (2000); Barnett & Hunter (2003); Mostert et al. (2016); Lawrence & Travadon (2018) ve Zhang et al. (2021)'de belirtilen kriterlere göre yapılmıştır. Moleküler tanı universal primerlerle PCR, gen sekanslama, NCBI-BLAST analizi ve GenBank'a kayıt yöntemiyle yapılmıştır.

Fungal kültürlerden DNA ekstraksiyonu CTAB metoduna göre, O'Donnell et al. (1998)'de belirtildiği şekilde yapılmış, genomik DNA 150 ng·µl⁻¹ konsantrasyona sulandırılmıştır. PCR için gerekli olan karışım her bir örnek için; 39.75 µl su, 5 µl buffer (10X green buffer, DreamTaq Green DNA Polymerase, ThermoScientific™ EP0712), 2 µl dNTPs karışımı (10 mM, ThermoScientific™), 1 µl ileri ve geri yönde primer (10 pmol·µl⁻¹), 0.25 µl Taq polimeraz enzimi (DreamTaq, Thermo Scientific™) ve 1 µl genomik DNA'dan oluşturulmuştur. İzolatların moleküler tanısı en az bir en fazla üç farklı gen bölgesinin kısmi çoğaltımıyla yapılmıştır. PCR reaksiyonlarında ITS (Internal Transcribed Spacer), LSU (rRNA Large Sub-Unit), β-tubulin ve EF1-α (Elongation Factor 1-alpha) gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Bu reaksiyonlarda sırasıyla ITS4/ITS5 (White et al. 1990), LR0R/LR5 (Vilgalys & Hester 1990), Bt2a/Bt2b ve EF728F/EF986R (Carbone & Kohn 1995) universal primerleri kullanılmış, thermocycler döngüleri ilgili çalışmalarda belirtildiği şekilde düzenlenmiştir. PCR ile elde edilen ürünler %1.5'lük agaroz jelde (Invitrogen™) 55 voltluk gerilim, 75 miliamperlik akım şiddeti altında iki saat süreyle ayrıştırılmış, ideal DNA bantlarının görüldüğü örnekler nükleotid dizilemesine gönderilmiştir (Macrogen Co. Güney Kore). Dizileme sonucu alınan elektronik chromatogram dosyaları Chromas Lite (Technesium™) yazılımıyla ekstrakte edilmiştir. Nükleotid dizileri, web tabanlı NCBI-BLASTn yazılımıyla, NCBI (National Center for Biotechnology Information) gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılmış ve izolatların tanısı en az %99'lük benzerlik oranıyla tamamlanmıştır. Ardından nükleotid dizileri GenBank'ta depolanarak kayıt numarası alınmıştır.

Patojenisite testleri

Fungal izolatların endofitik veya patojenik karakteri, sera koşullarında patojenisite testleriyle belirlenmiştir. İzolatların PDA besi yerinde geliştirilmiş 10 günlük taze kültürleri, 5 mm çaplı-steril mantar delici ile muntazam şekilde kesilmiştir. Cardinal çeşidi asmaların dormant kalemleri (30 cm uzunluğunda, 2-3 gözlü) tepeden küt bir şekilde kesilmiş, miseliyal agar diskleri tepe noktasına inokule edilmiş ve streç filmle sarılmıştır (Ayes et al. 2005). Bu kalemler, içerisinde torf ve perlit bulunan (1:1 hacminde) 1 litrelik saksılara dikilmiş ve 3 ay süreyle sera koşullarında yetiştirilmiştir. Kontrol olarak bırakılan kalemlere sadece agar inokule edilmiştir. İzolatların patojenisitesi, odun dokularında oluşan lezyonların uzunlukları ölçülerek değerlendirilmiştir. İnokulasyon noktası, bıçakla, tepeden ikiye ayrılmış ve lezyon uzunlukları ölçülmüştür. Deneme 6 tekerrürlü olarak kurulmuş, her bitki bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. Lezyon uzunluklarına varyans analizi uygulanmış, ortalamalar arasındaki farklar %5'lik hata payı ile LSD testine göre

değerlendirilmiştir. Kontroldeki kalemlerin uç kısmında, oksidasyona bağlı renk değişimi dikkate alınarak, bu tarzda lezyon oluşturan izolatlar endofit olarak değerlendirilmiştir.

İkili kültür testleri

Patojenisite testi ile endofit ya da patojen olarak ayrıştırılan fungal izolatların birbirlerine karşı olası antagonistik etkileri, PDA besi yerinde ikili kültür testleriyle belirlenmiştir. Endofit ya da patojenlerin 5 mm'lik miseliyal agar diskleri, Petri kabının kenarından birer santimetre uzaklığa, karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. *Penicillium*, *Aspergillus* gibi yoğun sporlu endofitler PDA'ya spor süspansiyonu halinde inokule edilmişlerdir. Bu izolatların spor süspansiyonları (10^6 spor·ml⁻¹) 1.5 ml'lik steril-plastik santrifüj tüplerinde, 1 ml steril distile su / tween 20 emülsiyonu içerisinde hazırlanmıştır. Süspansiyon vortex ile homojenize edildikten sonra 10 µl alınarak Petri kabının kenarından 1 cm uzaklığa, damla şeklinde inokule edilmiştir.

Patojenik ve endofitik izolatların gelişim hızlarına göre, yavaş gelişen izolat inokule edildikten 3-4 gün sonra, karşısına hızlı gelişen izolat yerleştirilmiştir. Aynı hızda gelişenler Petri kabına aynı gün yerleştirilmişlerdir. Ayrıca izolatların teksel olarak inokule edildikleri Petri kapları kontrol olarak bırakılmıştır. Bu kültürler 25°C sıcaklık ve 12 saat aydınlık / karanlık koşullarda en az 10 gün süreyle inkübe edilmiştir. İki koloni arasında inhibisyon zonu oluştuğunda bu uzunluk milimetre cinsinden ölçülerek kaydedilmiş, fotoğraflanmış ve bariz mesafe oluşturan izolatlar antagonist olarak değerlendirilmiştir. İkili kültür testleri tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş, her bir Petri kabı bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. İnhibisyon mesafelerine varyans analizi uygulanmış, ortalamalar arasındaki farklar %5'lik hata payı ile LSD testine göre değerlendirilmiştir.

Bulgular ve tartışma

Sörvey sonuçları ve Gaziantep bağlarında saptanan fungal türler

Gaziantep'e bağlı üç ilçede, 51 bağın tamamında asma gövde hastalıklarının var olduğu tespit edilmiş, hastalık yaygınlığının %100, ortalama hastalık görülme sıklığının %1.2 oranında olduğu belirlenmiştir.

Bu hastalıklarla ilişkili olarak 10 farklı fungal cins tespit edilmiştir. Bu cinslerin bölgedeki rastlanma sıklığı (yaygınlığı) ve ildeki ortalama izole edilme oranları Çizelge 1'de gösterilmiştir. Petri hastalığı ve Esca sendromu etmenlerinden *Phaeoacremonium*, %39.2'lik oranla en yaygın cins olurken, bunu %35.3 ve %27.5 ile *Seimatosporium* ve *Botryosphaeriaceae* familyası türleri takip etmiştir. Bunlardan başka *Cytospora*, *Diaporthe*, *Diatrype*, *Eutypa*, *Macrophomina*, *Neoscytalidium* ve *Phaeomoniella* cinsi fungusların ildeki yaygınlığı %1.9-5.9 arasında değişim göstermiştir. Sörvey yapılan 51 bağın 20'sinde *Phaeoacremonium*, 18'inde *Seimatosporium* ve 14'ünde *Botryosphaeriaceae* cinsi funguslara rastlanmış, bu cinslerin bölgedeki en yaygın cinsler oldukları belirlenmiştir. Bunların Gaziantep'teki izole edilme oranları ve saptandığı bağ

sayısı ele alındığında, en sık izole edilenler %26.5'lik oranla Botryosphaericeae türleri olmuştur (Çizelge 1).

Benzer şekilde Gaziantep bağ alanlarından izole edilen endofitik funguslar, bunların izole edilme oranları ve yaygınlıkları Çizelge 2'de gösterilmiştir. İldeki bağ alanlarındaki fungal endofit çeşitliliğinin zengin olduğu saptanmış ve *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Coniothyrium*, *Curvularia*, *Entoleuca*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Quambalaria*, ve *Sordaria* türleri izole edilmiştir. Bu funguslar içerisinde *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* ve *Aureobasidium* türleri sırasıyla %92.2, %66.6, %64.7 ve %50.9'lük oranla en sık rastlanan endofitik türler olmuştur. Geri kalan türlerin ildeki yaygınlığı %50'nin altında kalmıştır. En yaygın durumdaki *Penicillium* türlerinin ortalama izole edilme oranı %28.6 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 1. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili fungusların rastlanma sıklığı ve ortalama izole edilme oranları (%)

Table 1. The prevalence and mean isolation rates of fungi associated with grapevine trunk diseases in vineyards in Gaziantep Province, Turkey

Asma gövde hastalıklarıyla ilişkili funguslar	Rastlanan Bağ Sayısı	Ortalama İzole Edilme Oranı (%)	Yaygınlığı (%)
<i>Phaeoacremonium</i> sp.	20	9.5	39.2
<i>Seimatosporium</i> sp.	18	10.1	35.3
<i>Botryosphaeriaceae</i>	14	26.5	27.5
<i>Diatrype stigma</i>	3	51.7	5.9
<i>Diaporthe ampelina</i>	2	15.3	3.9
<i>Neoscytalidium</i> sp.	2	69.4	3.9
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	2	4.1	3.9
<i>Cytospora</i> sp.	1	2.0	1.9
<i>Eutypa lata</i>	1	4.1	1.9
<i>Macrophomina phaseolina</i>	1	100	1.9

Ege Bölgesi Sultani Çekirdeksiz bağlarındaki benzer bir çalışmada, lokal kuruma ve geriye doğru ölüm belirtisi gösteren asmalar %4.2'lik oranla en yüksek Menemen ilçesinde görülmüş, bu belirtilerin bölgedeki ortalaması %2.5 olarak hesaplanmıştır. Bu oran Gaziantep iline göre daha yüksektir. Sultani Çekirdeksiz asmalarındaki nekrotik dokularda en sık izole edilen cins *Diaporthe* (= *Phomopsis*) olmuştur (Akgül et al. 2015). Ancak Gaziantep'te asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenlerden *Phaeoacremonium* türleri daha yaygın durumda olup bu bölge için başat durumda olduğu söylenebilir. Tarsus'ta yapılan bir çalışmada ise asma gövde hastalıklarının yaygınlığının %14 olarak hesaplandığı bildirilirken Botryosphaeriaceae türlerinin en sık izole edilen funguslar olduğu saptanmıştır (Güler & Akgül 2020).

Çizelge 2. Gaziantep bağlarında endofitik fungusların rastlanma sıklığı ve ortalama izole edilme oranları (%)

Table 2. The prevalence and mean isolation rates of endophytic fungi in vineyards in Gaziantep Province, Turkey

Endofitik cinsler	Rastlanan Bağ Sayısı	Ortalama İzole Edilme Oranı (%)	Yaygınlık (%)
<i>Penicillium</i>	47	28.6	92.2
<i>Aspergillus</i>	35	23.2	66.6
<i>Alternaria</i>	33	10.9	64.7
<i>Aureobasidium</i>	26	8.6	50.9
<i>Cladosporium</i>	26	5.9	50.9
<i>Acremonium</i>	25	8.4	49.0
<i>Quambalaria</i>	19	9.8	37.3
<i>Fusarium</i>	7	7.3	13.7
<i>Entoleuca</i>	6	7.5	11.8
<i>Phoma</i>	10	8.4	19.6
<i>Sordaria</i>	1	4.1	1.9
<i>Epicoccum</i>	1	2.0	1.9

Gaziantep'ten izole edilen asma gövde hastalıklarıyla ilişkili türlerin moleküler tanısı NCBI-BLAST ile doğrulanmış ve izolatların Gen Bankası'na kaydı yapılmıştır (Çizelge 3). Fungal izolatlardan *Biscogniauxia mediterranea* (CUZF3HIK), *Cytospora ribis* (CUZF4HIK), *Diplodia sapinea* (CUZF12HIK) ve *Macrophomina phaseolina* (CUZF16HIK) türlerine şimdiye kadar Türkiye bağlarında rastlanmamış olup, Türkiye fungal florası için yeni bir kayıt niteliğindedir. *Diplodia seriata*, *Botryosphaeria dothidea*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae* ve *Neoscytalidium dimidiatum* türlerinin Türkiye'deki varlıkları daha önceki çalışmalarda saptanmıştır (Akgül et al. 2014; Güler & Akgül, 2020; Oksal et al. 2019). Diatrypaceae familyasından *Diatrype stigma*, Pestalotioid türlerden *Seimatosporium vitis*, *S. vitifusiforme* ve Dothideomycetes sınıfından *Kalmusia variispora* türleri daha önce Tarsus, Manisa ve Tokat yöresi bağ alanlarında saptanmıştır (Akgül et al. 2021a ve 2021b). Avustralya'nın güney ve güneydoğusundaki toplam 91 bağda yürütülen bir sörvey çalışmasında *Botryosphaeria Geriye Ölüm Hastalığı*'nın yaygınlığı %98 olarak bulunmuştur. Laboratuvar çalışmalarında *Diplodia seriata*, *Diplodia mutila*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum australe*, *Botryosphaeria dothidea*, *Dothiorella viticola* ve *Dothiorella iberica* türleri elde edilirken, bölgedeki kurumaların ağırlıklı olarak *Botryosphaericaeae* türlerinden kaynaklandığı belirlenmiştir (Pitt et al. 2010). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar Gaziantep bağ alanlarında bulduğumuz sonuçlara benzerlik göstermektedir. Mohammadi et al. (2013) İran'ın farklı bölgelerinde, yaşları 4-35 arasında değişen 41 bağda sörvey çalışmaları yapmışlar ve lokal kuruma ve geriye ölüm belirtisi gösteren asmaları incelemişlerdir. Nekrotik dokulardan 15 *Diplodia seriata* ve 12 *Neofusicoccum parvum* izolatu elde edilmiştir. Bunlardan başka aynı asmalardan *Phaeomoniella chlamydospora* ve *Phaeoacremonium aleophilum* türleri de saptanmıştır. Gaziantep bağlarında *Neofusicoccum parvum*'a rastlanmamış olması

Avustralya ve İran'da yapılmış çalışmalardan farklılık göstermektedir. Endofitik fungal florayla ilişkili olarak Gaziantep'ten izole edilen türler, Yağcı et al. (2021) tarafından saptanan Tokat yöresi türleriyle benzerlik göstermektedir. Ancak *Athelia bombacina*, *Neosetophoma clematidis*, *Oidiodendron cerealis*, *Paraconiothrium fuckelii*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Penicillium commune*, *Phoma tropica*, *Sarocaulium strictum* gibi farklı türler Gaziantep'te bulunamamıştır. Bunun, patojenlerin izole edildikleri dokuların farklı olmasından ve yöre farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yağcı et al. (2021)'nin çalışmasındaki fungal endofitler dormant asma kalemlerinden elde edilmiştir. Nitekim Deyett & Rolshausen (2020) asmadaki endofitik floranın organlara göre değişiklik gösterdiğini saptamış, yetişkin bir asmadaki endofit içeriğinin %28'inin rizosfer florasından geçtiğini bulmuşlardır. Görür & Akgül (2019)'ün çalışmasında ise Manisa, Mersin ve Tokat'ta üretilmiş asma kalemlerindeki endofitik fungal flora incelenmiş, *Acremonium* spp., *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporoides*, *Penicillium* spp. ve *Quambalaria cyanescens* türleri her üç ilde ortak olarak bulunan funguslar olarak öne çıkmıştır. Gaziantep bağlarında saptanan endofit florası da bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Bağda endofitik funguslar ve bunların fungal gövde patojenleriyle antagonistik ilişkileri

Çizelge 3. Gaziantep bağlarında asma gövde hastalıklarıyla ilişkili patojenik funguslar ve GenBank kayıt numaraları

Table 3. The pathogenic fungi associated with grapevine trunk diseases in vineyards in Gaziantep Province, Turkey, and their GenBank accession numbers

İzolat Kodu	Tür Adı	İzole edildiği yer	Asma çeşidi	GenBank Erişim Numaraları			
				ITS	EF1- α	LSU	BT
CUZF01HIK	<i>Diaporthe ampelina</i>	Şerikanlı, İslahiye	Horozkarası	OM980241	ON032499	-	-
CUZF02HIK	<i>Diaporthe ampelina</i>	"	Hatunparmağı	OM980242	ON032500	-	-
CUZF03HIK	<i>Biscogniauxia mediterranea</i>	Serince, Şahinbey	Dımışkı	OM980243	ON032501	-	-
CUZF04HIK	<i>Cytospora ribis</i>	Çörekli, Şahinbey	Dımışkı	OM980244		-	-
CUZF05HIK	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	Serince, Şahinbey	Horozkarası	OM980245	ON032502	-	-
CUZF06HIK	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	"	"	OM980246	ON032503	-	-
CUZF07HIK	<i>Diplodia seriata</i>	"	"	OM980247	ON032504	-	-
CUZF08HIK	<i>Diplodia seriata</i>	Yeniköy, İslahiye	Dımışkı	OM980248	ON032505	-	-
CUZF09HIK	<i>Diplodia seriata</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980249	ON032506	-	-
CUZF10HIK	<i>Diplodia seriata</i>	Yeniköy, İslahiye	Horozkarası	OM980250	ON032507	-	-
CUZF11HIK	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980251	ON032508	-	-
CUZF12HIK	<i>Diplodia sapinea</i>	"	Hatunparmağı	OM980252	ON032509	-	-
CUZF13HIK	<i>Diplodia seriata</i>	"	"	OM980253	ON032510	-	-
CUZF14HIK	<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	Çörekli, Şahinbey	Urumu	OM980254	ON032511	-	ON054871
CUZF15HIK	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	Durantaş, Şahinbey	Dımışkı	OM980255	ON032512	-	-
CUZF16HIK	<i>Macrophomina phaseolina</i>	"	Hatunparmağı	OM980256	ON032513	-	-
CUZF17HIK	<i>Diplodia seriata</i>	Çörekli, Şahinbey	Dımışkı	OM980257	-	-	-

Çizelge 3 (devamı)

Table 3 (continued)

İzolat Kodu	Tür Adı	İzole edildiği yer	Asma çeşidi	GenBank Erişim Numaraları			
				ITS	EF1- α	LSU	BT
CUZF19HIK	<i>Diatrype stigma</i>	"	"	OM980258	-	ON025569	-
CUZF20HIK	<i>Eutypa lata</i>	Yeniköy, İslahiye	Hatunparmağı	OM980259	-	-	ON054872
CUZF21HIK	<i>Eutypa lata</i>	"	"	OM980260	-	-	ON054873
CUZF31HIK	<i>Kalmusia variispora</i>	"	"	OM980261	-	ON025570	ON054874
CUZF34HIK	<i>Seimatosporium vitifusiforme</i>	Cerityapanı, Şhtkamil	Dımışkı	OM980262	ON032514	ON025571	-
CUZF36HIK	<i>L. pseudotheobromae</i>	Yeniköy, İslahiye	Horozkarası	OM980263	-	-	ON054875
CUZF38HIK	<i>Kalmusia variispora</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980264	-	ON025572	-
CUZF51HIK	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	"	"	OM980265	ON032515	-	-
CUZF52HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980266	ON032516	ON025573	-
CUZF54HIK	<i>Phaeoacremonium minimum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980267	ON032517	-	-
CUZF55HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980268	ON032518	ON025574	-
CUZF56HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	"	"	OM980269	-	ON025575	-
CUZF57HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Yeniköy, İslahiye	"	OM980270	-	ON025576	-
CUZF60HIK	<i>Seimatosporium vitifusiforme</i>	Serince, Şahinbey	Horozkarası	OM980271	ON032519	ON025577	-
CUZF63HIK	<i>Kalmusia variispora</i>	Durantaş, Şahinbey	Dımışkı	OM980272	-	ON025578	-
CUZF65HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Şerikanlı, İslahiye	"	OM980273	ON032520	ON025579	-
CUZF68HIK	<i>Seimatosporium vitis</i>	Yeniköy, İslahiye	"	OM980274	-	ON025580	-

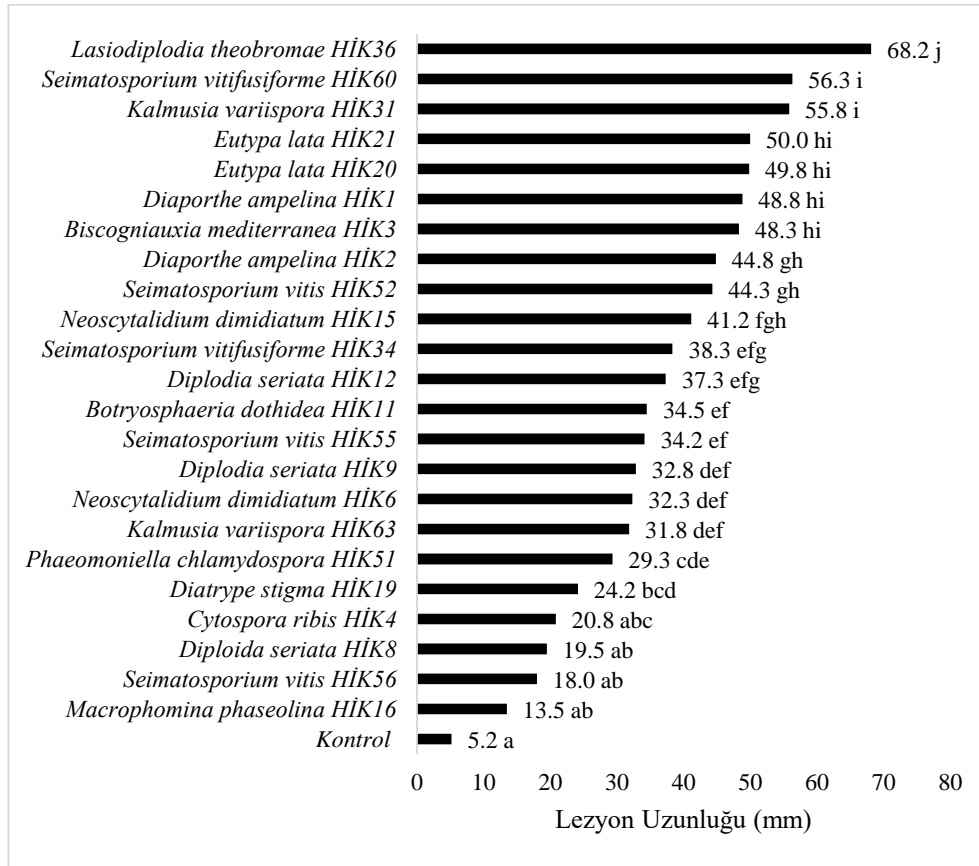
Bağda endofitik funguslar ve bunların fungal gövde patojenleriyle antagonistik ilişkileri

Çizelge 4. Gaziantep bağlarındaki endofitik funguslar ve GenBank kayıt numaraları
Table 4. The endophytic fungi in vineyards in Gaziantep Province, Turkey, and their GenBank accession numbers

İzolat Kodu	Tür Adı	İzole edildiği yer	İzole edildiği asma çeşidi	ITS
CUZF24HIK	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Çörekli, Şahinbey	Dımişkı	OM980649
CUZF26HIK	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980650
CUZF27HIK	<i>Curvularia spicifera</i>	Durantaş, Şahinbey	Dımişkı	OM980651
CUZF28HIK	<i>Fusarium acuminatum</i>	Cerityapanı, Şehitkamil	Dımişkı	OM980652
CUZF29HIK	<i>Alternaria infectoria</i>	Yeniköy, İslahiye	Horozkarası	OM980653
CUZF30HIK	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980654
CUZF32HIK	<i>Fusarium equiseti</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980655
CUZF35HIK	<i>Arthrimum sp.</i>	Cerityapanı, Şehitkamil	Dımişkı	OM980656
CUZF37HIK	<i>Nigrospora sphaerica</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980657
CUZF39HIK	<i>Penicillium fructuariae-cellae</i>	Yeniköy, İslahiye	Dımişkı	OM980658
CUZF40HIK	<i>Aspergillus terreus</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980659
CUZF41HIK	<i>Penicillium fructuariae-cellae</i>	Yeniköy, İslahiye	Dımişkı	OM980660
CUZF42HIK	<i>Penicillium sizovae</i>	Yeniköy, İslahiye	Hatunparmağı	OM980661
CUZF43HIK	<i>Quambalaria cyanescens</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980662
CUZF44HIK	<i>Aspergillus flavus</i>	Çörekli, Şahinbey	Dökülgen	OM980663
CUZF45HIK	<i>Aspergillus niger</i>	Serince, Şahinbey	Dımişkı	OM980664
CUZF46HIK	<i>Aspergillus niger</i>	Çörekli, Şahinbey	Dımişkı	OM980665
CUZF47HIK	<i>Penicillium glabrum</i>	Yeniköy, İslahiye	Dımişkı	OM980666
CUZF48HIK	<i>Penicillium glabrum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980667
CUZF49HIK	<i>Coniothyrium ferrarisianum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980668
CUZF50HIK	<i>Curvularia spicifera</i>	Durantaş, Şahinbey	Dımişkı	OM980669
CUZF59HIK	<i>Fusarium proliferatum</i>	Şerikanlı, İslahiye	Hatunparmağı	OM980670

Patojenisite testi sonuçları

Dormant asma kalemlerine inokulasyon ve üç aylık inkübasyonun ardından odun dokularında, uzunlukları 13.5 ile 68.2 mm arasında değişen lezyonlar meydana gelmiştir (Şekil 1). Bunlardan minimum lezyon *Macrophomina phaseolina* (HİK16), maksimum lezyon ise *Lasiodiplodia pseudotheobromae* (HİK36) türleriyle gerçekleşmiştir. *Seimatosporium* ve *Kalmusia* izolatları arasında büyük bir varyasyon görülmüş, izolatların lezyon uzunlukları ardışık olarak sıralanmamıştır. Diatrypaceae türlerinden *Eutypa lata* ve *Diatrype stigma*'nın virülensliği karşılaştırıldığında, *E. lata*'nın daha saldırgan olduğu tespit edilmiştir. Tüm izolatların oluşturdukları lezyon uzunlukları arasında kontrole göre istatistiksel farklar meydana gelmiş ve bunların patojenisiteleri doğrulanmıştır.



Şekil 1. Asma gövde hastalıklarıyla ilişkili izolatların, asma fidanlarında (*Vitis vinifera* cv. Cardinal) oluşturdukları lezyon uzunlukları (mm)

Figure 1. Lengths of lesions caused by isolates associated with grapevine trunk diseases on grapevines (*Vitis vinifera* cv. Cardinal)

Buna karşın endofitik türler kontrolden farklı uzunlukta lezyon oluşturmamış ve bunların patojen olmadıkları ispatlanmıştır. Botryosphaeriaceae türlerinin saldırganlığıyla ilgili yürütülen çalışmalarda *Lasiodiplodia* ve *Neofusicoccum* türlerinin en saldırgan, *Botryosphaeria* ve *Diplodia* türlerinin bunlardan daha az

saldırgan, *Dothiorella* ve *Spencermartinsia* türlerinin ise en düşük derecede saldırgan oldukları belirlenmiştir (Urbez-Torres & Gubler 2009). Bu çalışmadaki iki farklı *Neoscytalidium dimidiatum* izolatının oluşturduğu lezyonlar 12 haftada 32.3 ve 41.2 mm'ye ulaşmış ve bu süre için oldukça saldırgan olduğu saptanmıştır. Ancak Rolshausen et al (2013)'te yapılan patojenisite testinde bu uzunluk 20 haftada ancak 13.5 mm'ye ulaşabilmiştir. Bu sonuç patojenisite testinde ulaştığımız sonuca göre düşük seviyededir. Fungusların farklı ülkeler ve farklı habitatlardaki virülensliği farklılık gösterebilir. Ayrıca patojenisite testinin yürütüldüğü koşullar ve asma çeşitlerinin duyarlılıkları birbirinden farklı olabilir. Bu gibi nedenlerle lezyon uzunlukları arasındaki varyasyonların görülmesi doğal bir durumdur. Benzer şekilde bu çalışmadaki *Seimatosporium* türlerinin virülenslikleri arasında önemli varyasyon görülmüştür. Lawrence & Travadon (2018)'un *Seimatosporium* izolatlarının virülensliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, matkapla spor süspansiyonu tekniği ile Pinot Noir çeşidinde 11 aylık inkübasyon sonucu, bu türlerin 8 ila 13 mm'lik lezyon oluşturduklarını bulmuşlardır. Çalışmada kullandığımız inokulasyon yöntemi ve fidanların yetiştirildiği koşulların farklılığından dolayı Lawrence & Travadon (2018)'un izolatlarına göre farklılık gösterdiği düşünülmektedir.

İkili kültür testleriyle fungal izolatların antagonistik etkileşimleri

Gaziantep bağlarından izole edilen fungal endofitlerle patojenik funguslar arasındaki etkileşim Çizelge 5'te gösterilmiştir. Endofitik türlerden bazıları patojen fungusların gelişimini hiçbir şekilde inhibe edemezken, bazı türler patojen fungusları yüksek düzeyde engellemiştir. Denemeye alınan 8 endofitik izolat, uzunlukları 22.67 mm'ye varan engelleme zonu meydana getirmiştir. Miseliyal gelişimi engellemede en güçlü etkiyi *Penicillium fructuariae-cellae*, en zayıf etkiyi *Quambalaria cyanescens* göstermiştir. Denemedeki 16 patojenik izolattan 13'ü (%81.2), *P. fructuariae-cellae* tarafından en az 3.33 mm'lik engelleme mesafesiyle durdurulmuştur. Bunun yanında *Biscogniauxia mediterranea*, *Cytospora ribis*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina* ve *Neoscytalidium dimidiatum* gibi hızlı gelişen türler ise en az 10 mm'lik zon mesafesiyle engellenmişlerdir. Buna karşın en etkili tür olan *P. fructuariae-cellae*, *Diatrype stigma*, *Kalmusia variispora* ve *Phaeoacremonium minimum* gibi patojenlerin büyümesini hiçbir şekilde engelleyememiştir. Denemedeki diğer endofitik funguslar *P. fructuariae-cellae* türü kadar etkili olamamış, engelleme mesafeleri en fazla 8 mm'ye ulaşabilmiştir. Endofitik izolatlardaki etkililik, engelleme mesafelerinin ortalaması alınarak değerlendirildiğinde, *P. fructuariae-cellae* 9.04 mm'lik ortalama ile en ümitvar tür olarak öne çıkmıştır (Şekil 2). Bu türü takip eden *Aspergillus terreus*'un ortalama engelleme mesafesi ise 3.1 mm olarak hesaplanmıştır.

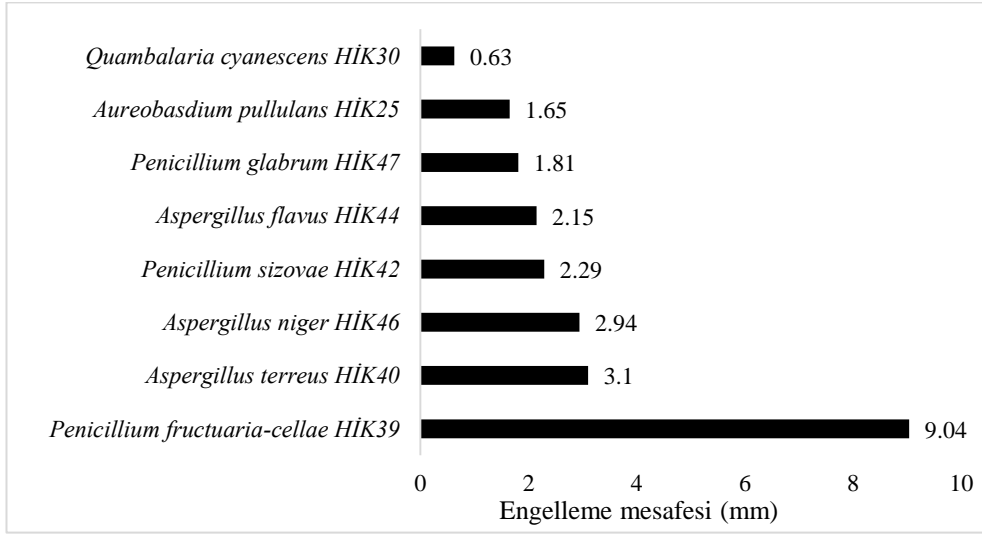
Çizelge 5. PDA besi yerinde patojen ve endofitler arasında, 15 günlük inkübasyonla oluşan engelleme mesafeleri (mm)

Table 5. Inhibition distance (mm) between the grape vine pathogens and endophytes on PDA medium after 15 days of incubation

Patojenik İzolatlar	Endofitik İzolatlar							
	<i>Af</i> (HİK44)	<i>An</i> (HİK46)	<i>Ap</i> (HİK25)	<i>At</i> (HİK40)	<i>Pfc</i> (HİK39)	<i>Pg</i> (HİK47)	<i>Ps</i> (HİK42)	<i>Qc</i> (HİK30)
<i>Bm</i> (HİK3)	0.0 ± 0.0 a*	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	22.67 ± 1.5 h	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
<i>Bd</i> (HİK11)	2.33 ± 0.3 c	2.67 ± 0.3 bc	2.0 ± 0.0 cd	3.0 ± 0.6 bcd	7.67 ± 1.5 bcd	2.0 ± 0.6 c	2.33 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 a
<i>Cr</i> (HİK4)	6.33 ± 0.3 d	2.0 ± 0.0 b	3.33 ± 0.3 e	3.67 ± 0.9 cd	11.67 ± 1.8 def	2.0 ± 0.0 c	6.33 ± 0.8 d	0.0 ± 0.0 a
<i>Da</i> (HİK1)	3.0 ± 0.0 c	2.33 ± 0.7 bc	3.67 ± 0.7 e	4.33 ± 0.7 de	4.67 ± 0.3 b	4.67 ± 0.3 e	3.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 a
<i>Dst</i> (HİK19)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	2.0 ± 0.0 bc	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
<i>Dsr</i> (HİK12)	3.0 ± 0.6 c	4.0 ± 0.6 de	4.0 ± 0.0 e	6.33 ± 0.9 f	15.0 ± 0.0 fg	2.0 ± 0.0 c	3.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 a
<i>Dsr</i> (HİK7)	0.0 ± 0.0 a	3.0 ± 1.2 cd	0.0 ± 0.0 a	1.67 ± 0.3 ab	10.0 ± 0.6 de	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
<i>El</i> (HİK21)	2.0 ± 0.0 bc	3.0 ± 0.0 cd	0.0 ± 0.0 a	6.0 ± 1.0 ef	7.33 ± 0.9 bcd	4.67 ± 0.3 e	2.0 ± 0.0 bc	0.0 ± 0.0 a
<i>Kv</i> (HİK31)	2.0 ± 0.0 bc	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	2.0 ± 0.0 bc	0.0 ± 0.0 a	2.0 ± 0.0 c	2.0 ± 0.0 bc	0.0 ± 0.0 a
<i>Lps</i> (HİK14)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	2.0 ± 0.0 bc	18.67 ± 4.3 gh	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
<i>Mp</i> (HİK16)	0.0 ± 0.0 a	3.33 ± 0.3 cd	0.0 ± 0.0 a	4.67 ± 0.7 def	14.33 ± 0.7 ef	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
<i>Nd</i> (HİK5)	3.0 ± 0.0 c	5.0 ± 0.6 e	1.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 a	15.0 ± 2.9 fg	0.0 ± 0.0 a	3.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 a
<i>Pmn</i> (HİK54)	1.0 ± 0.0 ab	1.3 ± 0.3 ab	2.33 ± 0.3 d	2.0 ± 0.6 bc	0.0 ± 0.0 a	1.33 ± 0.3 b	1.0 ± 0.0 ab	0.0 ± 0.0 a
<i>Pc</i> (HİK51)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	1.33 ± 0.3 bc	3.33 ± 0.9 bcd	3.33 ± 0.3 ab	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
<i>Svf</i> (HİK60)	6.0 ± 0.0 d	2.67 ± 1.2 bc	5.0 ± 0.0 f	4.0 ± 0.6 d	9.33 ± 0.9 cd	3.33 ± 0.3 d	6.0 ± 0.0 d	5.67 ± 0.3 c
<i>Sv</i> (HİK52)	8.0 ± 1.5 e	5.0 ± 0.0 e	3.67 ± 0.7 e	4.67 ± 0.3 def	5.0 ± 1.2 bc	7.0 ± 0.0 f	8.0 ± 0.3 e	4.33 ± 0.7

*Sütunlar içerisinde farklı harf içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Af: *Aspergillus flavus*, *An*: *Asp. niger*, *Ap*: *Aureobasidium pullulans*, *At*: *Asp. terreus*, *Bm*: *Biscogniauxia mediterranea*, *Bd*: *Botryosphaeria dothidea*, *Cr*: *Cytospora ribis*, *Da*: *Diaporthe ampelina*, *Dst*: *Diplodia seriata*, *El*: *Eutypa lata*, *Kv*: *Kalmusia variispora*, *Lps*: *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, *Mp*: *Moacrophomina phaseolina*, *Nd*: *Neoscytalidium dimidiatum*, *Pmn*: *Phaeoacremonium minimum*, *Pc*: *Phaeoconiella chlamydospora*, *Pfc*: *Penicillium fructuariae-cellae*, *Pg*: *Pen. glabrum*, *Ps*: *Pen.sizovae*, *Qc*: *Quambalaria cyanescens*, *Svf*: *Seimatosporium vitifusiforme*, *Sv*: *Seimatosporium vitis*



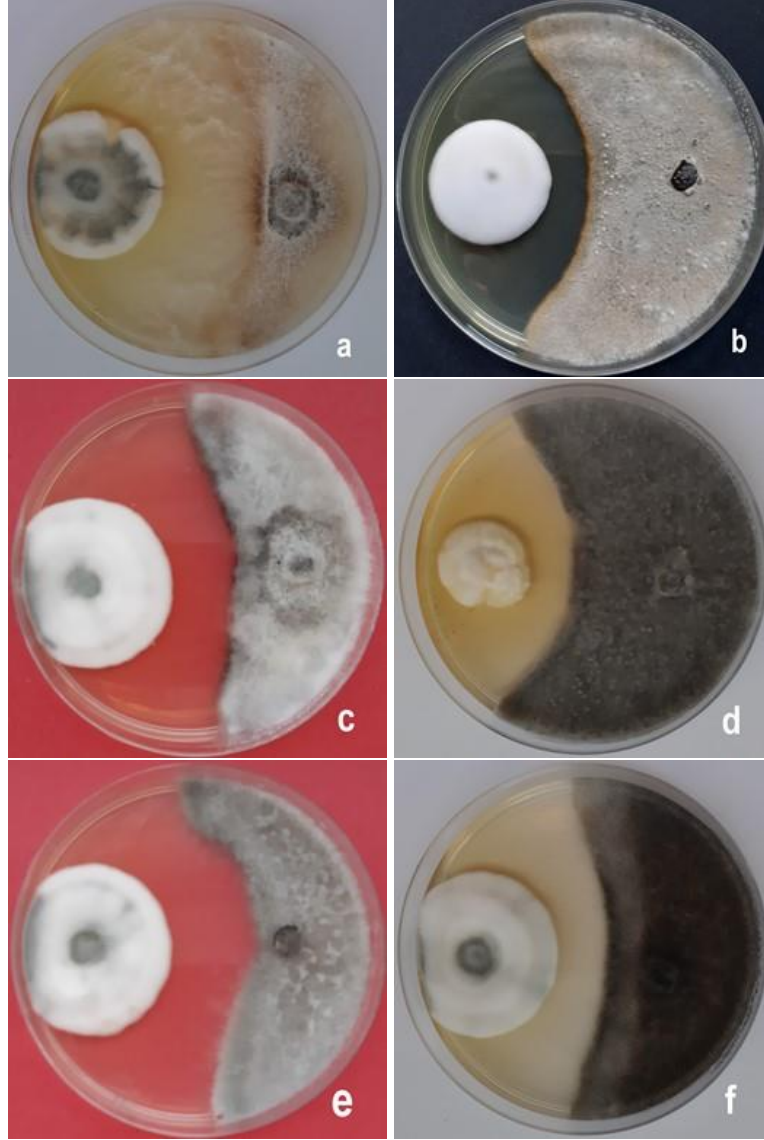
Şekil 2. Endofitlerle asma gövde patojenleri arasındaki ortalama engelleme mesafeleri (mm).

Figure 2. The mean inhibition distances (mm) between endophytes and trunk pathogens associated with grapevine trunk diseases.

P. fructuariae-cellae'nın ikili kültürdeki baskılayıcı etkisi çoğu türde devam etmiş (Şekil 3b-f) ancak *Biscogniauxia mediterranea*'nın hifleri 28 gün sonra zayıf bir şekilde büyümeye devam etmiştir (Şekil 3a).

Almeida et al. (2020) Portekiz'in Alentejo Bölgesi'ndeki bağlardan izole ettikleri fungal endofitleri, asma gövde hastalıklarıyla ilişkili türlere karşı *in vitro*'da denemişlerdir. İkili kültür çalışmalarında *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Clonostachys rosea*, *Epicoccum nigrum*, *Trichoderma* ve *Penicillium* türleri patojenik fungusları %30.7-62.6 arasında değişen oranlarda engellemiştir. Blundell et al. (2021) Kaliforniya Davis'teki bir bağda hem sağlıklı hem de asma gövde hastalıklarının belirtilerini gösteren omcaların öz suyundaki bakteriyel ve fungal florayı incelemişler, endofitik antagonistlerin inhibe edici etkileri hem ikili kültür hem de uçucu antibiyotik testleriyle araştırılmıştır. Fungal endofitlerden *Aureobasidium pullulans*'ın çoğu izolatu etkisiz bulunmuştur. Ancak bu türün iki izolatu *Neofusicoccum parvum*, *Eutypa lata* ve *Diaporthe ampelina*'nın gelişimine antagonistik özellik göstermezken, *Diplodia seriata*'yı inhibe etmiştir. Bu sonuçlar, elde ettiğimiz sonuçlarla birebir aynı olmasa da, farklı bölgelerde değişik patojenler ve antagonistler bulunabileceği ve etki bakımından aynı türün izolatlarında dahi farklılık görülebileceğini doğrulamaktadır. Lorenzini et al. (2019) *Penicillium fructuariae-cellae*'yı pörsümüş üzüm salkımlarından izole etmiş ve bunu salkım çürüklüğü patojenlerine dahil ederek detaylı tanısını yapmışlardır. Ancak mevcut çalışmada bu tür, Dımışkı çeşidi asmaların gövdelerinden izole edilmiş ve ilginç bir şekilde çoğu patojen fungusu etkili bulunmuştur. Gelecek çalışmalarda *P. fructuariae-cellae*'nın sera ve bağ koşullarındaki antagonistik performansının ve budama yaralarındaki tutunabilme olanaklarının incelenmesi gerekmektedir. Ulaşılabilecek sonuçlara göre, bu türün

bağcılıkta ekonomik kayıplar sonuçlayan patojenlerin biyolojik mücadelesinde kullanılabilmesi mümkün olabilecektir.



Şekil 3. *Penicillium fructuariae-cellae*'nin bazı patojenlerin koloni gelişimini engellemesi.
Figure 3. Inhibition of the growth of colonies of some pathogens associated with grapevine trunk diseases by *Penicillium fructuariae-cellae*.

a) *Biscogniauxia mediterranea*, b) *Cytospora ribis*, c) *Diplodia seriata*, d) *Neoscytalidium dimidiatum*, e) *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, f) *Macrophomina phaseolina*

Teşekkür

Bu çalışmayı mali yönden destekleyen Çukurova Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu Birimi'ne teşekkür ederiz (Proje no: FYL-2021-13431).

Kaynaklar

- Akgül D.S., H.İ. Kara, İ. Bülbül & M. Özarslandan, 2021a. *Seimatosporium vitis*, *S. vitifusiforme* ve *Kalmusia variispora*: Türkiye’de asma gövde hastalıklarıyla ilişkili yeni fungal patojenler. 8. Ulusal Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 24-28 Ağustos 2021, Bolu, 215.
- Akgül D.S., A. Yağcı, H.İ. Kara, İ. Bülbül, M. Özarslandan, N. Güngör-Savaş, M. Yıldız & R. Cangı, 2021b. Türkiye bağlarında Diatrypaceae geriye ölüm hastalığıyla ilişkili *Diatrype stigma*’nın ilk raporu. 8. Ulusal Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 24-28 Ağustos 2021, Bolu, 279.
- Akgül D.S., N.G. Savaş, T. Teker, B. Keykubat, J.S. Mayorquin & A. Eskalen, 2015. Fungal trunk pathogens of sultana seedless vineyards in the Aegean Region of Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 54 (2): 380-393.
- Akgül D.S., N.G. Savaş & A. Eskalen, 2014. First report of wood canker caused by *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*, and *Lasiodiplodia theobromae* on grapevine in Turkey. *Plant Disease*, 98(4): 568.
- Almeida A.B., J. Concas, M.D. Compos, P. Materatski, C. Varanda, M. Patanita, S. Murolo, G. Romanazzi & M.R. Felix, 2020. Endophytic fungi as potential biological control agents against grapevine trunk diseases in Alentejo Region. *Biology*, MDPI, 9.420.
- Anonim, 2019. Türkiye üzüm üretimi. Türkiye İstatistik Kurumu resmi internet sitesi, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>, (Erişim tarihi: 29 Mart2022).
- Ayres M., M. Sosnowski & T. Wicks, 2011. A rapid technique for evaluating treatments for *Eutypa* dieback control. *Wine and Viticulture Journal*, 26: 50-53.
- Barnett H.L. & B. B. Hunter, 2003. Illustrated genera of imperfect fungi, fourth edition. American Phytopathological Society. 218s.
- Blundell R., M. Arreguin & A. Eskalen, 2021. *In vitro* evaluation of grapevine endophytes, epiphytes and sap micro-organisms for potential use to control grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 60 (3): 535-548.
- Carbone I. & L.M. Kohn, 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 91 (3): 553-556.
- Chong J., A. Poutaraud & P. Huguency, 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177: 143-155.
- Crous P.W. & W. Gams, 2000. *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopathologia Mediterranea*, 39: 112-118.
- Deyett E. & P. Rolshausen, 2020. Endophytic microbial assemblage in grapevine. *FEMS Microbiology Ecology*, fiae053.
- Dwibedi W. & S. Saxena, 2019. Diversity and phylogeny of resveratrol-producing culturable endophytic fungi from *Vitis* species in India. *3 Biotechnology*, 9: 182.
- Görür V. & D.S. Akgül, 2019. Fungicide suspensions combined with hot-water treatments affect endogenous *Neofusicoccum parvum* infections and endophytic fungi in dormant grapevine canes. *Phytopathologia Mediterranea*, 58 (3): 559-571.
- Gramaje D., J.R. Urbez-Torres & M. Sosnowski, 2018. Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: current strategies and future prospects. *Plant Disease*, 102: 12-39.

- Güler D. & D.S. Akgül, 2020. Tarsus bağ alanlarında *Neofusicoccum parvum*'un yaygınlığı ve bazı sofralık üzüm çeşitlerinin patojene duyarlılıkları. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7 (3): 691-698.
- Lawrence D.P. & R. Travadon, 2018. Novel *Seimatosporium* species from grapevine in Northern California and their interactions with fungal pathogens involved in the trunk-disease complex. *Plant Disease*, 102: 1081-1092.
- Lorch W, 2014. Fatal wood diseases affect 12 percent of French vineyards. URL: <https://www.wine-searcher.com/m/2014/10/fatal-wood-diseases-affect-12-percent-of-french-vineyards> (Erişim tarihi: 29 Mart 2022).
- Lorenzini M., M.S., Cappello, G., Perrone, A., Logrieco & G. Zapparoli, 2019. New records of *Penicillium* and *Aspergillus* from withered grapes in Italy, and description of *Penicillium fructuariae-cellae* sp. nov.. *Phytopathologia Mediterranea*, 58(2): 323-340.
- Mohammadi H., D. Gramaje, Z. Banihashemi & J. Armengol, 2013. Characterization of *Diplodia seriata* and *Neofusicoccum parvum* associated with grapevine decline in Iran. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 15: 603-616.
- Mostert L., J.Z. Groenewald, R.C. Summerbell, W. Gams & P.W. Crous, 2006. Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Studies in Mycology*, 54: 1-113.
- O'Donnell K., E. Cigelnik & H.I. Nirenberg, 1998. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90 (3): 465-493.
- Oksal E., Y. Çelik & G. Özer, 2019. *Neoscytalidium dimidiatum* causes canker and dieback on grapevine in Turkey. *Australasian Plant Disease Notes*, 14: 33.
- Pitt W.M., R. Huang, C.C. Steel & S. Savocchia, 2010. Identification, distribution and current taxonomy of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine decline in New South Wales and South Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16: 258-271.
- Porras-Alfaro A. & P. Bayman, 2011. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*, 49: 291-315.
- Rolshausen P.E., D.S. Akgül, R. Perez, A. Eskalen & C. Gispert, 2013. First report of wood canker caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on grapevine in California. *Plant Disease*, 97: 1511.
- Schulz B. & C. Boyle, 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research*, 190 (6): 661-686.
- Urbez-Torres J.R. & W.D. Gubler, 2011. Pathogenicity of Botryosphaeriaceae spp. isolated from grapevine cankers in California. *Plant Disease*, 93: 584-592.
- Varanda C.M.R., M. Oliviera, P. Materatski, M. Landum, M.I.E. Clara & M.R. Felix, 2016. Fungal endophytic communities associated to the phyllosphere of grapevine cultivars under different types of management. *Fungal Biology*, 120: 1525-1536.
- Vilgalys R. & M. Hester, 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*, 172 (8): 4238-4246.
- White T.J., T. Bruns, S. Lee & J. Taylor, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Eds. M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Snisky & T.J. White, In: *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego, Academic Press, 315-322s.

- Wicks T. & K. Davies, 1999. The effects of *Eutypa* on grapevine yield. *Australian Grape Growers and Winemakers*, 406: 15-16.
- Yağcı A., D.S. Akgül & R. Cangi, 2021. Tokat koşullarındaki asma çeşit ve anaçlarından izole edilen endofitik funguslar ve bunların bazı asma patojenlerine *in vitro* antagonistik etkileri. 8. Ulusal Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 24-28 Ağustos 2021, Bolu, 67.
- Zhang W., J.Z. Groenewald, L. Lombard, R.K. Schumacher, A.J.L. Phillips & P.W. Crous, 2021. Evaluating species in Botryosphaerales. *Persoonia*, 46: 63-115.