ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KESTANE KANSERİ (*Cryphonectria parasitica*)'NİN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE KULLANILAN HİPOVİRÜLENT İZOLATLARIN UYGULANMASINDA DEĞİŞİK YÖNTEMLERİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Deniz ÇAKAR

BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

ÇANKIRI
2018

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Deniz ÇAKAR tarafından hazırlanan "Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica*)'nin Biyolojik Mücadelesinde Kullanılan Hipovirülent İzolatların Uygulanmasında Değişik Yöntemlerin Etkinliğinin Araştırılması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Çankırı Karatekin Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Yakup Zekai KATIRCIOĞLU
Ankara Üniversitesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Dr. Öğretim Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Çankırı Karatekin Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Tamer KEÇELİ
Enstitü Müdürü V.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica*)'nin Biyolojik Mücadelesinde Kullanılan Hipovirülent İzolatların Uygulanmasında Değişik Yöntemlerin Etkinliğinin Araştırılması" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı'yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (06/07/2018).

Deniz ÇAKAR

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica*)' nin Biyolojik Mücadelesinde Kullanılan Hipovirülent İzolatların Uygulanmasında Değişik Yöntemlerin Etkinliğinin Araştırılması

Deniz ÇAKAR

Çankırı Karatekin Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Cryphonectria parasitica adlı fungus tarafından oluşturulan kestane kanseri ile biyolojik mücadelede en yaygın yol hipovirülent izolatların aktif kanserlere uygulanması yöntemidir. Hipovirülent izolatların klasik uygulama yöntemi, kültür disklerinin veya kültürden hazırlanan macunların aktif kanser etrafında 2-3 cm aralıklarla açılan çukurlara yerleştirilmesi şeklindedir. Bu uygulama yönteminde, arazi koşullarının çalışma için uygun olmaması, kanserlerin büyük olması, fazla iş gücü ihtiyacı gibi bazı zorluklarla karşılaşılmaktadır. Bu nedenle, çalışmada hipovirülent uygulamalarını pratikleştirmek amacıyla değişik yöntemler denenmiş ve etkinlikleri değerlendirilmiştir. Uygulama sahaları kestane meyve üretiminin fazla olduğu İzmir ve Aydın ilinden seçilmiştir. Hipovirülent izolatlar macun ve seyreltilmiş macun şeklinde hazırlanmıştır. İzmir'de Bayındır Orman İşletme Müdürlüğü, Beydağ Orman İşletme Şefliği sınırlarında 24 kansere deliklere macun, Aydın'da Sultahisar ilçesi Malgaçmustafa köyünde seçilen kestane bahçesinde ise 6 şar kansere; deliklere macun, çivili düzenekle yaralanmış kanserlere seyreltilmiş macunun fırça ile uygulanması ve çivili düzenekle yaralanmamış kanserlere seyreltilmiş macunun fırça ile uygulanması, olmak üzere 3 yöntem ile toplam 18 kansere uygulama yapılmıştır.

Uygulamadan bir yıl sonra her üç yöntemle yapılan uygulamalarda kanserlerde iyileşmeler görülmüştür. Uygulamadan iki yıl sonra ise tamamen iyileşmiş kanser sayıları artmıştır. Sonuçlar uygulamaların başarılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmada; özellikle bu yörede temmuz-ağustos aylarında yoğun çıkış yapan *Cossus cossus* L. (Lepidoptera: *Cossidea*) uygulama yerlerinde şiddetli kabuk zararı oluşturmuştur. Bu nedenle kızıl kurt zararı olan yerlerde hipovirülent uygulamalarının en geç haziran ayı ortalarına kadar yapılmasının uygun olacağı gözlemlenmiştir.

2018, 52 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Kestane kanseri, Biyolojik mücadele, Hipovirülent izolatlar

ABSTRACT

Master's Thesis

Determination of the Effectiveness of Different Methods Used for the Application of Hypovirulent Isolates for the Biological Control of Chestnut Canker (*Cryphonectria parasitica*)

Deniz ÇAKAR

Çankırı Karatekin University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology Sciences

Supervisors: Assoc. Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

The most suitable biological control method of chestnut canker caused by *Cryphonectria parasitica* is the application of hypovirulent isolates to active cankers. Usual application method of hypovirulent isolates is to place culture disks or pastes prepared from the isolates to the holes drilled on the bark around the cankers about 2-3 cm intervals. In the application of this method some difficulties, such as too steep land, large cankers and need of much work power, arises. For his reason, in order to facilitate the application of hypovirulent isolates, various methods were tested and their effectiveness was evaluated. The study area was chosen from İzmir and Aydın provinces where good quality chestnut production is high. Hypovirulent isolates were prepared as paste and diluted paste. Hypovirulent isolates were applied to the holes as hypovirulent paste to selected 24 cankers situated in the borders of Beydağ Forestry Management Chief of Bayındır Forestry Management Directory of İzmir while 18 cankers were treated by as paste application to the holes, diluted paste to the cankers wounded with a tool with pins, diluted paste directly to the cankers with a brush, six canker each in the Malgaçmustafa village of Sultanhisar town of Aydın province.
After a year, healing of the cankers were observed on all the application methods. After two years from the applications, the number of the completely healed cankers increased. The results showed that all the applications were successful. In addition, especially in this region, Goat moth (*Cossus cossus* L.) which appeared intensively in July-August caused damage on the bark tissues of the application areas. For this reason, it was observed that hypovirulent applications in these areas should be done up to the middle of June.

2018, 52 pages

Key Words: Chestnut canker, Biological control, Hypovirulent isolates

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

"Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica*)'nin Biyolojik Mücadelesinde Kullanılan Hipovirülent İzolatların Uygulanmasında Değişik Yöntemlerin Etkinliğinin Araştırılması" adlı bu çalışma 2014-2018 yılları arasında hazırlanarak Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne "Yüksek Lisans Tezi" olarak sunulmuştur. Bu araştırmanın amacı kestane kanseri ile mücadelede en etkili yol olan biyolojik mücadelede hipovirülent izolatların uygulanmasının pratikleştirilmesidir.

Çalışmanın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, danışman hocam Doç. Dr. Seçil Akıllı ŞİMŞEK'e, çalışmanın yapılmasından gerçekleşmesine kadar yol gösteren, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi değerli hocalarım Prof. Dr. Salih MADEN'e ve Prof. Dr. Y. Zekai KATIRCIOĞLU'na teşekkür ederim. Çalışma sırasında Avrupa uyum tipleri temininde yardımcı olan Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL'de Fitopatoloji Araştırma Grubu Başkanı Dr. Daniel RIGLING'e teşekkür ederim.

Çalışma esnasında materyal temininde ve arazi çalışmalarında yardımcı olan, Adana Orman Bölge Müdür Yardımcısı olan Tuncay CAN'a, İzmir Orman Bölge Müdürlüğü Orman Zararlılarıyla Mücadele Şube Müdürlüğü'nde görevli Orman Mühendisi Hacer CAN'a, Muğla Orman Bölge Müdürlüğü, Ağaçlandırma Şube Müdürlüğü'nde görevli Orman Mühendisi Olcay KARATAŞ'a, Bayındır Orman İşletme Müdürlüğü Beydağ Orman İşletme Şefi Haldun DERECİK'e, Aydın Orman İşletme Müdürlüğü, Aydın Orman İşletme Şefi İsmail ILGIN'a, Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde görevli Orman Mühendisi Dr. Serap BİLGİN'e, İzmir Orman Bölge Müdürlüğü çalışanlarına, Aydın Orman İşletme Müdürlüğü çalışanlarına ve Muğla Orman Bölge Müdürlüğü çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Orman Genel Müdürlüğü, Dış İlişkiler Eğitim ve Araştıma Daire Başkanlığı, Orman Zararlılarıyla Mücadele Daire Başkanlığı'na ve Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne, çalışmaları gerçekleştirdiğimiz Aydın ilinde bahçe sahibi Pervil KARAOĞLU'na, İzmir ilinde çalışmaları gerçekleştirdiğimiz yerlerde yardımcı olan orman köylülerine teşekkür ederim.

Deniz ÇAKAR

Çankırı, Temmuz 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET …… i

ABSTRACT …….. ….. ii

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR..... iii

SİMGELER DİZİNİ..... vi

ŞEKİLLER DİZİNİ..... vii

ÇİZELGELER DİZİNİ..... ix

1. GİRİŞ..... 1

2. KAYNAK ÖZETLERİ…… 4

3. MATERYAL VE YÖNTEM..... 16

3.1 Deneme Alanlarının Seçimi ve Örnekleme……... 16

3.2 Uygulama Yapılacak Kanserlerin Uyum Tiplerinin Belirlenmesi……. 17

3.2.1 *Cryphonectria parasitica* izolasyonu……... 17

3.2.2 *Cryphonectria parasitica* izolatlarının vejetatif uyum tiplerinin (VC) belirlenmesi……..... 19

3.3 Virülent İzolatların Hipovirülent İzolatlara Dönüştürülmesi Testi……. 20

3.4 Hipovirülent Macun Hazırlanması…….. 21

3.4.1 Seyreltilmiş hipovirülent macun hazırlanması……..... 22

3.5 İzmir İlinde Hipovirülent İzolatların Uygulanması ……... 23

3.5.1 Kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulanması……... 23

3.6 Aydın ilinde Hipovirülent Uygulamaları…….. 24

3.6.1 Kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulanması……..... 24

3.6.2 Çivili bir düzenek ile yaralanan kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça ile uygulanması…….. 24

3.6.3 Yaralanmamış kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça ile uygulanması……. 25

3.7 Uygulamaların Etkinliklerinin Kontrolü ……..... 26

4. BULGULAR..... 27

4.1 Kanser Örneklerinden Elde Edilen Funguslar…… 27
4.2 Kanser Örneklerinden Elde Edilen *Cryphonectria parasitica* Uyum Tipleri……. 28
4.3 İzmir İlinde Yapılan Hipovirülent Uygulama Sonuçları…… 29
4.4 Aydın İlinde Yapılan Hipovirülent Uygulama Sonuçları …….. 35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ……. 41
KAYNAKLAR..... 44
ÖZGEÇMİŞ..... 51

SİMGELER DİZİNİ

BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri
CHV	Cryphonectria Hypo Virüs
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
dsRNA	Çift Sarmallı Ribo Nükleik Asit
Eu	European Union (Avrupa Birliği)
g	Gram
ha	Hektar
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
PDA	Potato Dextrose Agar
PDAmb	Potato Dextrose Agar methionin biotin
vb	ve bunun gibi
Vc	Vegetative compatibility (Vejetatif uyum)
vd	ve diğerleri
Vic	Vegetative incompatibility (vejetatif uyumsuzluk)
MAT	Mating type (Cinsel eşleşme tipi)
%	Yüzde
µm	Mikro metre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Çalışmanın yürütüldüğü Aydın ili /Sultanhisar ilçesi, Malgaçmustafa köyünde bulunan kestane bahçesi (a ve b) ve İzmir ili Bayındır Orman İşletme Müdürlüğü sınırlarındaki kestane ormanlarından genel görünüm (c, d)……..... 17

Şekil 3.2 %1'lik soydum hipoklorit içinde tutulan kestane kabuk örnekleri (a) ve steril kurutma kağıtlarına alınan kabuk örnekleri (b)……..... 18

Şekil 3.3 Fungusların tek spor izolatlarının PDA içeren tüplerde eğik agarda gelişimi ……. 18

Şekil 3.4 Aydın ilinde Avrupa uyum tipinden Eu-1 ile vejetetatif uyumsuz izolatların baraj zonlarının görünümü……..... 19

Şekil 3.5 Kültürde Avrupa vejetatif uyum tipi Eu-1 ile bir İzmir izolatının oluşturduğu baraj zonlarından görünüm (üstte) ve baraj zonu oluşturmayan uyumlu izolattan görünüm (altta) …….. 20

Şekil 3.6 Avrupa vejetatif uyum tiplerinden Eu-1 ile uyumlu hipovirülent izolattan Aydın-5 virülent izolatına virüs aktarımının kültür ortamında görünümü……... 21

Şekil 3.7 Hipovirület macun hazırlanması aşamalarından görünüm…….. 22

Şekil 3.8 Arazide uygulanacak seyreltilmiş hipovirülent macundan görünüm…….. 23

Şekil 3.9 Kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent uygulaması ve çukurların nemli pamukla kapatılması aşamaları……. 24

Şekil 3.10 Çivili düzenek ile yaralanmış kanserlere seyreltilmiş hipovirülent uygulaması……. 25

Şekil 3.11 Çivili bir düzenek ile yaralanmamış kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça ile uygulaması…… 26

Şekil 4.1 İzmir ili Tabaklar köyünde kabuk diski açılarak hipovirülent macun uygulaması öncesi aktif kanserin (a) görünümü ve hipovirülent uygulamadan bir yıl sonraki kanserin iyileşmeye başlayan hali (b) ve Çomaklar köyünde 2 yıl sonraki tamamen iyileşmiş kanserden görünüm (c)…….. 33

Şekil 4.2 İzmir ilinde yapılan kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulaması sonucu kallus oluşmuş bazı kanserlerden görünüm……..... 34
Şekil 4.3 Kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulaması (a) ve uygulama sonucu kallus oluşumu (b)……. 36
Şekil 4.4 Çivili düzenek ile yaralanmış ve sıvılaştırılmış hipovirülent macunu uygulanmış kanserlerde kallus oluşumu…….. 36
Şekil 4.5 Çivili düzenekle yaralanmamış kanserlere hipovirülent uygulaması sonucu bazı kanserlerde iyileşmenin başlaması ve kallus oluşumları…. 37
Şekil 4.6 Hipovirülent uygulama yapılmış kanserlerde kızıl kurt (*Cossus cossus)* zararı…… 37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Kanser örneklerinden elde edilen funguslar……..... 27

Çizelge 4.2 Kanser örneklerinden elde edilen *Cryphonectria parasitica* uyum tipleri……... 28

Çizelge 4.3 İzmir ili /Beydağ Orman İşletme Şefliği sınırlarında yapılan çukurlara hipovirülent macun uygulaması sonuçları ……..... 30

Çizelge 4.4 Aydın ili Sultanhisar ilçesi sınırlarında yapılan çukurlara hipovirülent macun uygulaması sonuçları…….. 38

Çizelge 4.5 Aydın ili Sultanhisar ilçesi sınırlarında yapılan çivili düzenek ile yaralanan kanserlere fırça ile seyreltilmiş macun uygulaması sonuçları……..... 39

Çizelge 4.6 Aydın ili Sultanhisar ilçesi sınırlarında yapılan yaralanmayan kanserlere fırça ile seyreltilmiş macun uygulaması sonuçları…… 40

1.GİRİŞ

Ülkemizin kestane orman varlığı, Orman Genel Müdürlüğü kestane eylem planına göre saf ve karışık orman olarak toplam 262,045 ha'dır. Bu alanın 28,804 ha'ı saf kestane ormanı olarak kayıtlıdır. Toplam kestane alanımızın 4108 ha'ı ise İzmir Orman Bölge Müdürlüğü sınırları içerisindedir. Bu sahaların 2179 ha'ı saf ve verimli, 1789 ha'ı karışık ve bozuk alanlardan oluşmaktadır. Muğla Orman Bölge Müdürlüğü sınırlarında (Aydın yöresi) saf ve verimli 864 ha kestane ormanı mevcuttur (Anonim 2014). İzmir ve Muğla Orman Bölge Müdürlükleri toplam kestane alanları, ülke kestane alanlarına nazaran küçük olmasına rağmen, bu iki bölge müdürlükleri alanlarında ülkemizin kaliteli kestane üretiminin büyük bir kısmını gerçekleştirmektedir.

Kestane, dünyada ve ülkemizde bulunduğu her yerde ciddi bir ürün kaybına yol açan, hatta ölümlere neden olan bir hastalıkla karşı karşıyadır. Kestane kanseri olarak adlandırılan bu hastalığa *Cryphonectria parasitica* adlı bir fungus neden olmaktadır. Yapılan birçok çalışmada, kestane kanserinin Ege Bölgesinde yaygın olarak bulunduğu saptanmıştır (Erincik *et al*. 2003, Döken *et al*. 2004, Çeliker and Onoğur 2009, Erincik *et al*. 2011, Anonymous 2014).

Kestane kanseri dünyada; Avustralya, Belçika Bosna-Hersek, Hırvatistan, Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İtalya, Makedonya, Polonya, Portekiz, Rusya (Karadeniz kıyıları), Slovakya, Slovenya, İspanya, İsviçre, Tunus, Türkiye, Ukrayna, Çin, Gürcistan, Hindistan, Japonya, Kore, Tayvan, Tunus; Kanada, USA dahil kestane yetişen hemen hemen her yerde görülmektedir (EPPO 2005).

Bu hastalığa karşı dünyada uygulanan en etkili mücadele yöntemi biyolojik savaştır. Biyolojik savaş, bu etmenin bir virüs tarafından enfekte edilmesi ve hastalık etmeninin saldırganlığının (virülensliğinin) azalması ve kestanenin hastalığı yenmesi esasına dayanır (MacDonald and Fulbright 1991, Bisiach *et al*. 1995). Hipovirülenslik dünyada bazı yerlerde doğal olarak yayılmakta, bazı yerlerde ise yapay bulaştırılmalarla yayılmaktadır (Heiniger and Rigling 1994).

Hipovirülent *C. parastica* ile enfeksiyonlu kestane ağaçlarında, yeni kallus dokusu geliştiği için kanserlerin etkinliği azalmakta ve ağaçlar iyileşmektedirler. Böyle kanserler hafif şişkin görünümlüdür. Bu nedenle onlara iyileşen kanserler denir ve onlar ağaca az ya da hiç zarar vermemektedirler (Milgroom and Cortesi 2004). Başarılı bir biyolojik savaş uygulaması için, bir yerde hipovirüslerin varlığı, etkinliği ve vejetatif uyum tipleri (Vegetative compatibility, vc) hakkındaki bilgi çok önemlidir (Anagnostakis et al. 1986, MacDonald and Fulbright 1991, Heiniger and Rigling 1994, Cortesi and Milgroom 1998, Robin *et al*. 2010).

Kestane kanseri (*Cryphonectria parasitica*), dünyada 1900'lü yılların başından beri, ülkemizde ise 1967 yılından bu yana tüm kestane alanlarında bulunmakta ve ciddi kurumalara neden olmaktadır. Ülkemizde kestane kanseriyle ilgili bazı araştırıcılar tarafından biyolojik mücadele çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmaların bazıları etmenin iyileşmesine neden olan hipovirülent strainlerin eldesi ve sınırlı alanlarda biyolojik mücadele uygulamaları üzerinde olmuştur (Çeliker *et al*. 2017, Akıllı *et al*. 2011).

Hipovirülent izolatlarla biyolojik mücadelede; gerek ülkemizde gerekse dünyada kullanılan yöntem, kanserin çevresine sağlam dokuda 2-3 cm aralıklarla kabuk disklerinin kaldırılması ve bu açılan çukurlara uyumlu hipovirülent kültür diski veya kültür macunu uygulaması yöntemidir. Bu çalışmada, yukarıda belirtilen uygulama şeklinden daha pratik uygulama metotlarının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Çünkü bahsedilen deliklere hipovirülent uygulaması hem zor hem de zaman alıcıdır. Ayrıca kanserlerin büyük olması ve ağaçta ulaşımının zor olması bu yöntemlerle ilgili uygulamada, zorluk çıkarmaktadır. Bu nedenle bu çalışmanın bir diğer amacı; Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde kurulmuş olan Kestane Kanseri Mücadele Laboratuvarı koordinatörlüğünde yürütülen kestane kanseri ile biyolojik mücadele çalışmalarına yardımcı olabilecek daha pratik hipovirülent uygulama yöntemlerinin araştırılmasıdır.

Bu amaçla 2015-2016 tarihlerinde İzmir ve Aydın ilinde seçilen araştırma alanlarında yukarıda bahsedilen farklı uygulama yöntemleri kullanılarak aktif kanserlere hipovirülent uygulamalar yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Son yıllarda kestanelerde yoğun olarak kurumalara yol açan hastalıklar ortaya çıkmıştır. Bu hastalıklardan biri de *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr [syn: *Endothia parasitica* (Murr.) (anamorf: *Endothiella* sp.)] adlı fungusun neden olduğu kestane kanseri olarak adlandırılan hastalıktır. *Cryphonectria parasitica*, Doğu Asya orjinli bir fungus olup Çin, Japonya ve Kore'de rapor edilmiştir (Myburg *et al*. 2004, Lee *et al.* 2005, Rigling and Prospero 2017). Hastalık etmeni fungus, 20. yüzyıl boyunca Kuzey Amerika ve Avrupa'ya bu ülkelerden enfekteli bitki materyalleri ile giriş yapmıştır (Griffin 1986). Amerika'da ilk olarak, 1904 yılında Newyork'ta kaydının ardından etmen, yılda 30 km den fazla ilerleyerek Kuzey Doğu Amerika'ya yayılmış ve 50 yıl içinde Amerikan kestanesinde önemli ekonomik ve ekolojik kayıplara yol açmıştır (Roane *et al*. 1986, Anagnostakis 1987, Elliott and Swank 2008, Evans and Finkral 2010). Ayrıca hastalık etmeninin orjininin genetik analizlerine ait çalışmalar Amerika'ya, Japonya (Honshu adasından ve diğer bölgelerden), Çin ve Kore'den giriş yaptığını desteklemiştir (Dutech *et al.* 2012).

Kestane kanseri, Avrupa'da ilk 1938 yılında İtalya (Genova)' da görülmüştür (Heiniger and Rigling 1994). Hastalık 1950'li yıllara gelindiğinde tüm İtalya'ya yayılmıştır. İtalya'dan da hızlıca Fransa, İsviçre'nin İtalya'ya komşu bölgelerine, Slovenya (Heiniger and Rigling 1994, Krstin *et al*. 2008, Prospero and Rigling 2012), Doğu ve Güneydoğu Avrupa ile Türkiye' nin Karadeniz, Marmara ve Ege bölgelerine yayılmıştır. Genetik analiz çalışmaları sonucu İtalya'da çoğu bölgede etmenin bir baskın genotipinin bulunduğunu (Milgroom *et al.* 2008) ancak Güney Batı Avrupa (Atlantik ve Güney Batı Fransa, İspanya ve Portekiz)'da farklı genotipleri tespit edilmiştir. Bu da etmenin Avrupa'ya en az iki farklı yerden giriş yaptığını, İtalya'ya Amerika'dan, Güney Batı Fransa'ya ise Asya'dan girdiği ortaya konmuştur. Fransa'dan 2011 yılında İngiltere'ye ithal edilen kestane fidanlarıyla da İngiltere'ye, hastalık giriş yapmıştır. Etmen doğuya doğru ilerleyerek Gürcistan, Azerbaycan ve İran'da da görülmüştür (Kazempour *et al*. 2006, Aghayeva and Harrington 2007, Prospero *et al.* 2013). Mikrosatellite analizleri Gürcistan'daki etmenin Avrupa'dan gelmediğini göstermektedir (Prospero *et al.* 2013).

Ülkemizde *Cryphonectria parasitica*' nın neden olduğu kestane kanseri hastalığı ilk kez 1967 yılında Marmara Bölgesinde kayda geçmiştir. Hastalık Bursa ve Sakarya Yalova, Bolu, Sinop, Kastamonu, Zonguldak'da Delen (1979); Bartın'da Çoşkun ve Kural (1994); Balıkesir, Çanakkale, İzmir ve Manisa'da Demir ve Çeliker (1996) ve son olarak da kestane yetiştiriciliği yüksek olan Aydın ilinde Erincik *et al*. (2003) tarafından tespit edilmiştir. Kestane kanseri, Avrupa Bitki Koruma Organizasyonu tarafından A2 karantina listesine konmasına rağmen, alınan tedbirler hastalığın yayılmasına engel olamamış ve hastalık ülkemiz dahil birçok Avrupa ülkesine yayılmıştır (EPPO 2005). Kestane kanseri bulunduğu ülkelerde, dal ve gövde kanserlerine yol açarak ağaçları verimsizleştirmiş ve önemli ekonomik kayıplara yol açmıştır. Bu da hem kestanenin odun, meyve ve balından yararlanan üreticiyi hem de doğanın ekolojik dengesini olumsuz olarak etkilemiştir.

Cryphonectria parasitica 1906 yılında Murril tarafından *Dioporthe parasitica* olarak isimlendirmiş daha sonra *Endothia* cinsine dahil edilerek *Endothia parasitica* olarak adlandırılmıştır. Barr 1978'de yaptığı çalışmada etmenin Valsaceae (Ascomycota) familyasına ait olduğunu bildirmiş ve etmeni *Cryphonectria parasitica* olarak yeniden adlandırmıştır (https://www.cabi.org/isc/datasheet/21108., 2018). Hastalık etmenin peritesleri 10-20 gruplar halinde bulunur. Askosporlar 10 x 4 µm, şeffaf iki hücreli ve bölmede daralmıştır. Konidiler sarımtırak iplikçikler şeklinde çıkarlar düz veya hafif büküktürler, şeffaf, 2-3 x 1 µm'dir. Etmen eşeyli ve eşeysiz üreme göstermektedir. Hem eşeyli hem de eşeysiz sporlar stroma içinde oluşmaktadır. Peritesler, stroma içinde belirgin bir şekilde oluşmaktadır. Eşeysiz sporlar ise stroma içinde kadehe benzeyen geniş ağızlı bir yapı içinde oluşmaktadır (EPPO 2005).

Cryphonectria parasitica, yara paraziti olduğu için fungusun yaralardan girmesi ile enfeksiyon başlamakta ve kabuk dışından içlere doğru ilerlemektedir (Jakobi 2005). Kabuk altında ilerleyen miseller konukçu hücreleri, toksinler ve hücre duvarı parçalayıcı enzimlerle öldürmektedir. Oksalik asit bu süreçte yer alan muhtemel metabolitlerden biridir (Havir and Anagnostakis 1983). *C. parasitica* tarafından

salgılanan bu toksik metabolitlerin konukçu hücrelerin hücre duvarındaki bozulmayı arttırdığı düşünülmektedir (Havir and Anagnostakis 1983). Kestane kanseri etmeni dallarda enfeksiyon yaparak kabuk ölümlerine ve buna bağlı olarak su alımını engellediği için dalların uçtan itibaren kurumasına yol açmaktadır. Bitkilerde dal ve gövdelerde oluşan genellikle çökük kabuk ölümlerine (nekrozlara) kanser adı verilmektedir. Bu kanserler bazen gövdeyi tamamen sararak tüm ağacın ölümüne neden olabilmektedir. Böyle çökük kanserlere aktif kanserler adı verilmektedir. Enfeksiyonlu kabuk üzerinde sarı turuncudan kırmızı kahverengine kadar değişen bir toplu iğne başı büyüklüğünde püstül kütleleri oluşur ve nemli havalarda buralardan portakal sarısı bir akıntı şeklinde spor iplikçikleri çıkmaktadır (Akıllı 2008). Ölü kabuk dokusu kaldırıldığında, tipik açık kahverengi miselyal ışınlar kabuğun içinde oluşmakta ve dış kabuğun kesilmesiyle ortaya çıkabilmektedir. Aktif kanserli alanların üzerindeki bölgeler ölmekte; yapraklar solmakta ve kahverengiye dönmekte ancak ağaç üzerinde asılı kalmaktadır (EPPO 2005, Akıllı 2008, Rigling and Prospero 2018).

Hastalık, girdiği tüm bölgedeki kestanelere ciddi boyutlarda zarar vermektedir. Ancak daha sonra bazı yerlerde hastalığın virülensinin azaldığı ve ağaçlarda iyileşme olduğu gözlemlenmiştir. Bu da *Cryphonectria parasitica*'nın hipovirülent strainin doğadaki varlığına bağlanmıştır. Bu fungus birkaç mikovirüs tarafından enfekte edilmekte ve böylelikle fungusun enfeksiyon gücünde azalma olmaktadır (Grente 1965, Anagnostakis 1982, Heiniger and Rigling 1994, Allemann *et al*. 1999). Bu virüsler Hypoviridae familyasında, dsRNA içermekte olup Cryphonectria Hypo Virus (CHV) 1.2.3 ve 4 olarak adlandırılmaktadır (Choi and Nuss 1992, Heiniger and Rigling 1994, Perlerou and Diamandis 2006). Fungusun sitoplasmasında bulunan bu virüsler bulaşık olmadığı funguslara, ancak uyumlu olduğu fungus hiflerinin kaynaşması yoluyla bulaşmaktadır (Anagnostakis 1977, Jaynes and Elliston 1980, Griffin *et al.* 2004, Milgroom and Cortesi 2004, Perlerou and Diamandis 2006). CHV–1 Avrupa'da bu virüsler arasında en geniş bir alana yayılanı ve en çok bilinenidir. CHV–1' e Kuzey Amerika'da birkaç alan dışında rastlanmamıştır. CHV–2 ve CHV-3'e Kuzey Amerika'da rastlanmıştır. CHV–2 New Jersey ve Çin'de bir bölgede bulunmuştur. CHV–3' e doğal olarak Michigan ve Ontario'da rastlanmış fakat Asya'da rastlanmamıştır. CHV–4 Kuzey Amerika'nın batısı Appalachian'da geniş bir alanda

yayılış göstermektedir. CHV–4 genom yapısından dolayı taksonomik olarak diğerlerine benzemektedir. Fakat virülensliği diğerlerine göre az ya da hiç görülmemektedir (Heiniger and Rigling 1994, Peever *et al*. 2000, Milgroom and Cortesi 2004). Avrupa'da biyolojik mücadelede en iyi başarı CHV-1' indir. CHV-1 patojenin gelişme ve sporulasyonunu diğerlerine göre daha iyi azaltmaktadır.

Hipovirülenslik ilk olarak 1950'li yıllarda İtalya'da iyileşen kanserlerin görülmesiyle ortaya çıkmıştır (Heiniger and Rigling 1994). Daha sonra birçok ülkede iyileşen kanserler görülmeye başlanmış ve bu iyileşmelere neden olan dsRNA varlığı kanıtlanmıştır. Ülkemizde ise hastalığın ilk kayıdı 1968'den 30 yıl sonra hipovirülensliğin varlığı kanıtlanmıştır (Robin and Heiniger 2001). Kestane kanserinin görüldüğü ancak halen hipovirülensliğin saptanamadığı ülkeler de bulunmaktadır. Örneğin; Portekiz (Bragança *et al*. 2007), İspanya (Zamora *et al.* 2012, Castano *et al.* 2015), Bulgaristan (Risteski *et al.* 2013), Romanya (Adamcikova *et al.* 2015), Kuzey İsviçre (Hoegger *et al.* 2000) ve Türkiye' de Ege Bölgesidir (Erincik *et al.* 2011) .

Biyolojik mücadelede CHV-1'i başarılı ve uyumlu kılan konukçu ile yani *C.parasitica* ile olan uyumudur. Bu uyumda, virüs konukçunun virülansını, sporulasyonunu düşürürken, konukçu ile virüsün dağılımını da sağlanmaktadır. CHV-1' in *C. parasitica* da düşük ve yüksek virülanslı olanlarının genomik kıyasları ve mutasyon analizleri viral genomdaki varyasyonlarla ilişkili spesifik bölgeleri açığa çıkmıştır (Chen and Nuss 1999, Lin *et al.* 2007). Hipovirüs virülansındaki gözlenen varyasyon muhtemelen viral RNA genomunun mutasyon oranı ile ilişkilidir ve hipovirüsün evrim potansiyelinin göstergesidir. Bryner and Rigling (2011) hipovirüsün seviyesinin sadece konukçu ve virüsle ilişkili olmadığını ayrıca sıcaklık gibi çevresel faktörlerinde etkili olabileceğini bildirmiştir.

Hipovirülent izolatlar kültürel yönteme göre, laboratuvar ortamında incelendiğinde, patates dekstroz agar (PDA) besi ortamında virülent izolatların turuncu renkli koloni gelişimi göstermesinin aksine, dsRNA virüsü ile enfekteli izolatlar açık renkli (beyaz-kremsi) miselyal koloni oluşturup, çok az konidi meydana getiren gelişme göstermektedir (Van Alfen *et al.* 1978, Anagnostakis and Day 1979, Heiniger and

Rigling 1994, Bissegger *et al.* 1997, Milgroom and Cortesi 2004). Ancak fenotipik özelliklerine bakılarak izolatların virülenslerinin belirlenmesinin her zaman pratik olmadığı, normal görünüşlü kültürlerin de hipovirülent olabileceği, bu nedenle hipovirülensliğe yol açan dsRNA'nın her zaman anormal görünüşlü kültür oluşturmayacağı belirtilmiştir (Fulbright 1984, Chung *et al.* 1994). Bu da, turuncu renkte gelişen kültürlerin içinde de hipovirülentlerin bulunabileceğini göstermektedir. Renksiz gelişen kültürlerde, bu değişimin virüslerin enfeksiyonu sonucu oluştuğu birçok araştırıcı tarafından ifade edilmektedir. Sonuçta hipovirülensliği bir virüs oluşturduğuna göre, turuncu renkli gelişen izolatlarda da düşük oranlarda virüs enfeksiyonu olabilir. Nitekim Van Alfen *et al.* (1978)'de Bonifacio ve Turchetti'nin kültürde turuncu renkte gelişim gösteren İtalyan-hipovirülent izolat bulduklarını bildirmiştir. Ancak araştırıcılar laboratuvar koşullarında geliştirilen ve beyaz renk oluşturan kültürlerin çoğunlukla hipovirülent strainler olduğu görüşündedirler. Fakat inkübasyon koşulları değiştiği zaman, örneğin kuvvetli gün ışığı veya yakın ultraviyole ışık altında inkübasyona alınan kültürlerde hipovirülent izolatlar bu özelliğini kaybedebilir ve koyu renkli gelişme gösterebilmektedir. Hipovirülensin, fungus cycloheximide içeren ortamlarda geliştirildiğinde kaybolduğu, yine hipovirülent izolatların tek spor kültürlerinin bazılarının dsRNA içermediği dolayısıyla virülent izolatlar gibi renk oluşturduğu ve patojen olduğu saptanmıştır (Fulbright 1984). Van Alfen *et al.* (1978) diğer yandan ultraviyole ışığa maruz bırakılan izolatların hipovirülent özelliğini kaybettiğini belirlemişlerdir (Akıllı 2008). Bu da Bryner and Rigling (2011) yaptığı çalışmada belirttiği gibi çevresel faktörlerin hipovirülenslik üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.

Hipovirülent strainler hifsel kaynaşma (anastomosis) yoluyla dsRNA' yı transfer ederek virülent strainleri hipovirülent hale çevirebilir **(**Heiniger and Ringling 1994**).** Burada da fungusun vejetatif yani, hifsel uyumu önemlidir. Vejetatif uyum veya somatik uyum, hifsel funguslarda, fungal popülasyon yapısını ve çeşitliliğini tanımlamak için kullanılan bir sistemdir (Glass and Kuldau 1992, Cortesi and Milgroom 1998). Çoğu Ascomycetes'lerde iki bireyin aynı allelleri tüm vic lokuslarında bulunuyorsa vejetatif uyumlu, ancak bireylerin allelleri bir yada daha fazla vic lokusunda bulunmuyorsa ise vejetatif olarak uyumsuz olduğu ifade edilmektedir (Glass and Kuldau 1992, Liu and

Milgroom 1996). Bu nedenle vc tipleri olarak adlandırılan vejetatif uyumsuzluk fenotipleri, gen olarak vic genotipini toplu olarak tanımlayan birden çok vic lokusundaki aleller tarafından yönetilmektedir. Bilinen vic lokus sayısı türler arasında değişmektedir. Çoğu vic lokusu sadece iki alel içerir, ancak bazı türlerde örneğin *Neurospora crassa* ve *Aspegillus nidulans*'larda çok sayıda allel bulunur (Rigling and Prospero 2017). Bir popülasyondaki vc tiplerinin (vic genotipleri) çeşitliliği, allelik çeşitliliğin ve vic lokusu arasında rekombinasyonun bir fonksiyonudur. Vejetatif uyumsuzluk beş yada yedi vic lokusu tarafından kontrol edilir. Avrupa için *C. parasitica*' da, herbiri iki alleli olan altı vic lokusu tarafından kontrol edilen 64 (= 26) vc tipi için vic genotipleri Cortesi and Milgroom (1998) tarafından belirlenmiştir. *C. parasitica*' nın Avrupa uyum tipleri Eu–1, Eu–2 vb. adlandırılmıştır. Bilinen 64 Avrupa (EU) vc tipleri ile uyumsuz olan vc tipler en yüksek Asya'da, ABD'de (Milgroom and Cortesi 1999) ve Avrupa'da Karadağ (Bragança *et al*. 2007) Kafkasya'da Gürcistan'da görülmüştür (Robin *et al.* 2009, Prospero *et al.* 2013). Avrupa uyum gruplarına ek olarak bilinen tüm aynı altı vic lokusuna sahip, farklı ancak vejetatif uyumsuz yeni uyum tipileri bulunmuştur (Short *et al*. 2015). Bu bulgular, *C. parasitica'*da vejetatif uyumsuzluğun altıdan fazla vic lokusu tarafından kontrol edildiğini ya da bilinen vic lokusuna ilave alellerin var olduğunu göstermektedir (Rigling and Prospero 2017).

Cryphonectria parasitica, heterotallik bir fungus olduğu için, kendi kendine eşeyli üreyememektedir. Böyle bireylerde, eşeyli üremenin olabilmesi için eşey yönünden uyumlu iki izolatın bir araya gelerek çiftleşmeleri gerekmektedir. Eşeyli üreme, *C. parasitica*' da tek bir eşey geninin farklı iki alleli (MAT-1 ve MAT-2) ile yönetilmektedir. İki *C. parasitica* izolatı arasında eşeyli üreyebilmesi için birinin MAT-1 alleline diğerinin MAT-2 alleline sahip olması gerekmektedir (Marra and Milgroom 2001, Milgroom and Cortesi 2004). Seksüel üreme populasyonlarda MAT tiplerinin 1:1 olması beklenir. Şayet bu oran 1:1 den sapma gösteriyor ise aseksüel çoğalma daha yaygındır ve hipovirüsün yayılmasını kolaylaştırır. Sonuçta vc tipler ve MAT tipleri, hipovirüsün kansere karşı kullanılmasında biyolojik mücadelenin başarısı için önemli bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır (Bissegger *et al.* 1997).

Bir populasyonda yüksek vc tip çeşitliliği biyolojik mücadelenin başarını olumsuz etkileyecektir (Anagnostakis *et al.* 1986, Heiniger and Rigling 1994, Robin *et al.* 2000, Cortesi *et al*. 2001). Vejetatif uyumsuz izolatlar, PDA besi ortamında karşılaştıklarında miseller kaynaşamamakta ve bir baraj zonu oluşmaktadır. Ancak *C. parasitica* izolatları, tüm vic lokuslarında aynı allelere sahip ise miselyumlar karşılaştıklarında birlikte büyür ve kaynaşırlar. Ancak alleler bir ya da daha fazla lokusta farklı ise izolatlar uyumsuzdur. Anagnostakis and Day (1979), aynı vc tipine ait virülent ve hipovirülent izolatı eşleştirdiğinde virüs aktarımının olduğunu görmüştür. Avrupa'da uyum tiplerinden Eu–12 İtalya, Yunanistan, Slovakya ve Doğu Avrupa'da yaygın olarak görülmektedir. Eu–1, Eu–2, Eu–5 ise Kuzey İtalya, Güney Fransa, Batı İspanya ve İsviçre'de yaygın olarak görülmektedir (Anagnostakis and Day 1979, Anagnostakis and Waggoner 1981, Anagnostakis *et al.* 1986, Cortesi *et al.* 1998, Adamçikova *et al.* 2006). İtalya'da Cortesi et al. (1998) Eu-10'nun, Milgroom and Cortesi (1999) ise Eu-11, Eu-14, Eu-40 ve Eu-17'nin de bulunduğunu bildirmişlerdir. Radócz (1999) Macaristan'da Avrupa uyum tiplerinden yaygın olarak; Eu-13, Eu-6 ve Eu-1 olduğunu düşük oranlarda da Eu-2, Eu-3, Eu-5, Eu-9, Eu-11, Eu-12, Eu-14, Eu-16, Eu-21, Eu-22'nin bulunduğunu saptamıştır. Romanya ve Ukrayna'da ise, vc tip Eu-12 olarak saptanmıştır (Radócz 2001). Bragança *et al.* (2007) Portekiz'de, en yaygın vc tiplerinin sırasıyla; Eu-11, Eu-12 ve Eu-66 olduğunu bildirmektedir. Hırvatistan'da, Krstin *et al.* (2008), en yaygın vc tipinin Eu-1 olduğunu bunu Eu-2, ve Eu-12'nin izlediğini rapor etmiştir. Bunun dışında, Eu-13, Eu-17, Eu-5, Eu-9, Eu-3, Eu-28, Eu-14, Eu-20, Eu-29, Eu-11 , Eu-4, Eu-7, Eu-18, EU-21 ve Eu-22 uyum tipleri bulunmuştur.

Uyum tiplerinin tespiti üzerine ülkemizde birçok çalışma yapılmıştır. Bunlar; Çeliker and Onoğur (1998, 2009) Marmara, Karadeniz ve Ege Bölgesinden 19 lokasyondan, 388 *C. parasitica* izolatı toplamış ve iki uyum tipi tespit ettiğini bildirmiştir. Araştırmacılar tarafından Eu-1 % 93,3 ve Eu-12 % 6.7 oranında bulunmuştur. Eu-1 tüm lokasyonlarda bulunurken Eu-12 sınırlı bölgelerde, Marmara Bölgesi (Balıkesir-İvrindi) ve Ege Bölgesi (İzmir-Beydağı ve Aydın)'inden elde edilmişlerdir. Coşkun *et al.* (1999) 10 italyan vc tipleri (1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10) ve Avrupa uyum tiplerinden, Eu-4 ve Eu-5'i kullanarak Marmara, Doğu ve Batı Karadeniz'den 181 kestane sahasından, 265 izolatta uyum tipi tespiti çalışmıştır. Gürer *et al.* (2001) tarafından Marmara ve Karadeniz

Bölgesinden 134 *C. parasitica* izolatı toplanmış ve 63 Avrupa uyum tipi ile eşleştirmişlerdir. Araştırmacılar bu izolatların, Eu-1 uyum tipine girdiklerini tespit etmiştir. Döken *et al.* (2004), Aydın ilinde 97 izolatla yaptıkları çalışmada, 2 uyum tipi Eu-1 ve Eu-12'yi tespit etmişlerdir. Akıllı *et al.* (2009) Karadeniz Bölgesinden, 32 lokasyon 11 ilden elde ettiği 296 izolattın, 5 uyum tipine girdiğini (Eu-1, Eu-12, Eu-14, Eu-2 ve Eu-5) saptamışlardır. Beş uyumun tümü sadece Kastamonu yöresinde tespit edilmiştir. Tüm izolatlar arasından uyum tiplerinden Eu-1 % 90,8; Eu-12 % 6,8 oranında iken; Eu-14, Eu-2 ve Eu-5 % 1,5 oranında saptanmıştır. Eu-1 tüm bölgede tespit edilmiştir. Erincik *et al.* (2011) Ege Bölgesinden (İzmir ve Aydın), elde ettiği 213 izolattan 2 vc tipi tespit etmiştir. Aydın'da Eu-12 (% 23) ve Eu-1 (% 77), İzmir ilinde Eu-1 (% 30) Eu-12 (% 70) saptamıştır. Akıllı (2013) tarafından, Bursa ve Yalova illerinde yapılan çalışmada 3 yıl içinde 15 lokasyondan, 198 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların uyum tipleri Eu-1 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca İzmir bölgesinde FAO (Gıda ve Tarım Örgütü) ve Orman Genel Müdürlüğü işbirliği ile yapılan bir proje çalışmasında (FAO 2012-2014) Avrupa uyum tiplerinden Eu-1 ve Eu-12 bu yörede yaygın olarak görülmüştür (Anonymous 2014). Daldal (2015) tarafından; İzmir, Manisa, Muğla ve Denizli illerinde kestane üretiminin önemli olduğu, 19 köyden 268 izolat elde edilmiştir. Çalışma sonucunda, İzmir ilinde Eu-1 ,Eu-12, Eu-2 olmak üzere 3 vc tipi, Denizli ve Manisa illerinde ise, Eu-1 ve Eu-12 olmak üzere 2 vc tipi tespit edilmiştir. Mangıl (2017) tarafından; Doğu Karadeniz'de Artvin, Rize, Trabzon illerinden seçilen 3 farklı lokasyondan 344 izolat elde edilmiştir. Seçilen lokasyonlardaki kestane ağaçlarından kanserli dokular alınmıştır. Elde edilen izolatların, 235'i Eu-1 (% 68,3), 23'ü Eu-17 (% 6,7), 21'i Eu-12 (% 6) 14'ü Eu-3 (% 4) olarak bulunurken 51 izolatın hiçbir uyum tipine girmediği tespit edilmiştir. Yapılan araştırmaların sonucuna göre; Türkiye'de *C. parasitica*'nın 8 uyum tipi belirlenmiş ve bunlar Avrupa uyum tiplerinden, Eu-1, Eu-2, Eu-3, Eu-5, Eu-17, Eu-12, Eu-14 ve Eu-44 olarak tespit edilmiştir (Çeliker and Onoğur 1998, Coşkun *et al.* 1999, Gürer *et al.* 2001, Döken *et al.* 2004, Akıllı *et al.* 2009, Çeliker and Onoğur 2009, Erincik *et al.* 2011, Akıllı 2013, Anonymous 2014, Daldal 2015, Mangıl 2017).

Kestane kanseri ile mücadelede kimyasal ve kültürel yöntemler denenmiştir. Ancak bu yöntemlerle başarı elde edilememiştir. Dünyada, kestane kanseri ile mücadelede en

etkili yöntem hipovirülent izolatlar kullanılarak biyolojik savaş olmuştur. Avrupa'da hipovirülent uygulamaları başarılı sonuçlar vermiştir. Uygulama için, seçilen kanserlerin etrafı mantar delici ile delinerek disk ya da macun haline getirilen hipovirülent izolatlar, çukurlara yerleştirilerek sonuçlar gözlenmiştir. Hipovirülent uygulama, özellikle pürüzsüz kabuklu genç kestane ağaçlarında, kolay uygulanabilir olacağından daha etkili olduğu belirtilmiştir. (Robin *et al.* 2000, Hoegger *et al.* 2003). Yaşlı, kalın kabuklu kestane ağaçlarında, ağaçların tepe kısımlarında ve sınırları net belli olmayan kanserlerde uygulamalar daha zordur. Hipovirülentlerin, kanserleri tedavi edici özelliği olsa da uygulanmayan kanserlere yayılımı her zaman görülmemektedir (Milgroom and Cortesi 2004). Kestane popülasyonlarında, hipovirülentin yayılmasını etkileyen bazı ana faktörler olduğu görülmüştür. Öncelikle, mümkün olduğunca fazla uygulama yapılması (Heiniger and Rigling 2009, Diamandis *et al.* 2014), diğer bir önemli faktörde biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılacak hipovirüstür (MacDonald and Fulbright 1991). Hipovirüs CHV-1 in farklı alt tipleri fungusun büyümesini, sporulasyonunu farklı oranlarda azaltmaktadır (Robin *et al.* 2010, Bryner and Rigling 2011). Fransız subtyp'ı (F1 ve F2) fungusun gelişimini önemli dercede azalttığı ispatlanmış olsa da İtalyan tipi (subtype I)'nın dağılımının ve kanserlere daha etkili olduğu bildirilmiştir (Robin *et al.* 2010, Rigling and Prospero 2017). Vc tip çeşitliği de hipovirüsün dağılımını etkilemektedir. Kuzey Doğu Amerika' da vc tipi çeşitliliğinden dolayı hipovirülent uygulamalarının başarısız olduğu görülmüştür (Milgroom and Cortesi 2004). Doğal hipovirülenslik Kuzey Amerika'da sadece Michigan ve Ontario'da bazı kestane meşçerelerinde görülmüştür (Milgroom and Cortesi 2004). Makedonya'da yine, CHV-1 hipovirüsü kullanılarak yapılan uygulamalarda, kanser gelişimin ve ağaç ölümlerinin yavaşladığı tespit edilmiştir (Sotirowski *et al.* 2011). Romanya'da CHV-1 hipovirüsü ile *C. parasitica* tarafından kurumuş ve kesilmiş ağaçların verdiği sürgünlerde 5 sene boyunca disk yöntemi ile biyolojik mücadele çalışması yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (Chira *et al.* 2017).

İspanya'da, *C. parasitica'* nın CHV-1 F1 (Fransız subtyp'ı)'ın etkinlikleri hipovirülent izolatları virülent izolatlarla hem gövde parçalarında hem de arazide uygulanılarak araştırılmıştır. Çalışmada, hipovirülent izolatlar bir el blendırı ile parçalanarak tüplere konulmuştur. Çalışmalarda, laboratuvar denemesinde kesik gövdelerde, Eu-1

hipovirülent izolatının kanseri etkilemediği, buna karşın Eu-11 uyum tipine giren 4 hipovirülent izolatın kanserlerdeki gelişmeyi azaltıcı etki ettiği saptanmıştır. Ancak, arazi uygulamalarında Eu-1 ve Eu-11 uyum tipindeki hipovirülent izolatların Leon bölgesindeki iki uygulamasının etkili olduğu, ancak Zamora bölgesindeki Eu-11 hipovirülent izolatının etkili olmadığı görülmüştür. Zamora bölgesinde, 18 ay sonra kanser gelişmesinde azalma tespit edilmiştir. Çalışma sonucuna göre; hipovirüs subtype F1'in farklı sonuçlar göstermesi Leon bölgesine iyi adapte olurken, aynı adaptasyonu Zamora bölgesinde gösterememesine bağlanmıştır (Zamora *et al.* 2014). Slovakya'da, Fransız hipovirüsleri kullanılarak başarılı bir biyolojik mücadele çalışması yürütülmüştür (Juhásová *et al.* 2005) İtalya'da yapılan hipovirülent strain uygulamaları, 15 yıl boyunca izlenmiş ve kanserlerin iyileştiği, hipovirüsün doğal dağılımının görüldüğü bildirilmiştir (Turchetti and Maresi 2008).

Hipovirülent izolatlarla biyolojik mücadele çalışması, Fransa'da 20 ha. alanda 200 kansere inoküle edilerek uygulanmış ve dört yıl sonra kanserlerde iyileşmeler görülmüştür. İtalya'da, aynı şekilde yapılan çalışmada da 233 aktif kansere uygulanan hipovirülent izolatlar, başarılı sonuçlar vermiştir (Heiniger and Rigling 1994). Yunanistan'da yapılan biyolojik mücadele çalışmaları, Diamandis (email yoluyla bilgi 2015)'in gönderdiği bir maille şu şekilde anlatmıştır; Yıllardan sonra doğal hipovirülensliğin, görülüşüne ve dağılışına her zaman güvenilmeyeceği kanısına varılmıştır. Verimli kestane bahçelerinde, hastalığın yayılması durumunda sistematik inokülasyon kayıpların azaltılması için izlenecek tek yol olabilmektedir. Gerçekten, doğal hipovirülensliğin oluşunu ve dağılışını beklemek veya daha hızlı sonuç almak için hipovirülensliğin sokulmasını sağlama kararı, orman yönetimi/bahçe sahipleri sorumluluğundadır. 1998, 1999 ve 2000 yıllarında, hipovirülensliğin hiç olmadığı Athos dağında, 7000 ha baltalık kestane ormanlarında inkülasyon yapılmıştır. 2008 yılındaki son sürveylerde, hipovirülenslik %73' e ulaşmıştır. Manastırların kestane işletmesi, hastalığın 1975'teki girişinden önceki haline döndüğünü bildirmiş olup; bu yazılı bildiri ile biyolojik mücadelenin başarısı birkez daha teyit edilmiştir.

Taşınılabilir hipovirülenslik ile biyolojik mücadele programları Fransa, İtalya, Yunanistan ve İsviçre'de yerleştirilmiştir (Bisiach *et al.* 1991, Calza 1993, Robin *et al.* 2000, Heiniger and Rigling 2009).

Ülkemizde de hastalık etmeni *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.'nın Kestane ağaçlarında ciddi boyutlarda zarara neden olmasından dolayı, hastalıkla mücadele çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Hastalığın, Karadeniz Bölgesindeki yaygınlığı birçok araştırıcı (Coşkun *et al.* 1999, Gürer *et al.* 2001) ve en güncel araştırma olan 2007-2010 yılında yapılan 06B4347004 nolu "Karadeniz Bölgesinde Kestane Kanserinin Biyolojik Mücadelesi Üzerinde Araştırmalar" Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma projesi çalışmasıyla da detaylı olarak belirlenmiştir. Orman Genel Müdürlüğü ve FAO arasında, 2008-2009 yılında yapılan TCP / TUR / 3201 "Support to Turkish Government in development and implementation of a Feasibility Study (FS) for management of chestnut blight in chestnuts and other hardwoods" adlı ön projeyle hastalığın durumu ve yapılması gerekenler tespit edilmiştir. Bunların ardından 'TCP / TUR / 615676 FAO-Management of Chestnut Blight And Increased Capacity For Improving Forest Health And Vitality' adlı yeni bir proje yapılmıştır. Bu proje ile seçilen pilot bölgelerde biyolojik mücadele çalışması başlatılmıştır. Seçilen üç pilot bölgede aktif kanserlerde iyileşmeler görülmeye başlanmıştır. Proje çerçevesinde, Orman Genel Müdürlüğü/Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne bağlı Bolu ilinde bir laboratuvar kurulmuştur. Bu laboratuvar aracılığı ile seçilen sahalarda biyolojik mücadele uygulamaları yapılmaktadır. Kurulan bu laboratuvar Eu-1 (Türkiye orjinli) ve Eu-12 (Makedon orjinli) hipovirülent izolatlarının uyumlu olduğu kestane ağaçlarındaki kanserlere İzmir, Aydın, Kütahya Orman Bölge Müdürlüklerinde uygulamalar yapmaktadır. Ayrıca Çeliker *et al.* (2017) Manisa-Turgutlu-Hacıisalar köyünde Eu-1 uyum tipine giren kanserlere hipovirülent izolat disk yöntemi ile uygulamış olup kanserlerin iyileştiğini ve doğal yayılımının başladığını bildirmiştir.

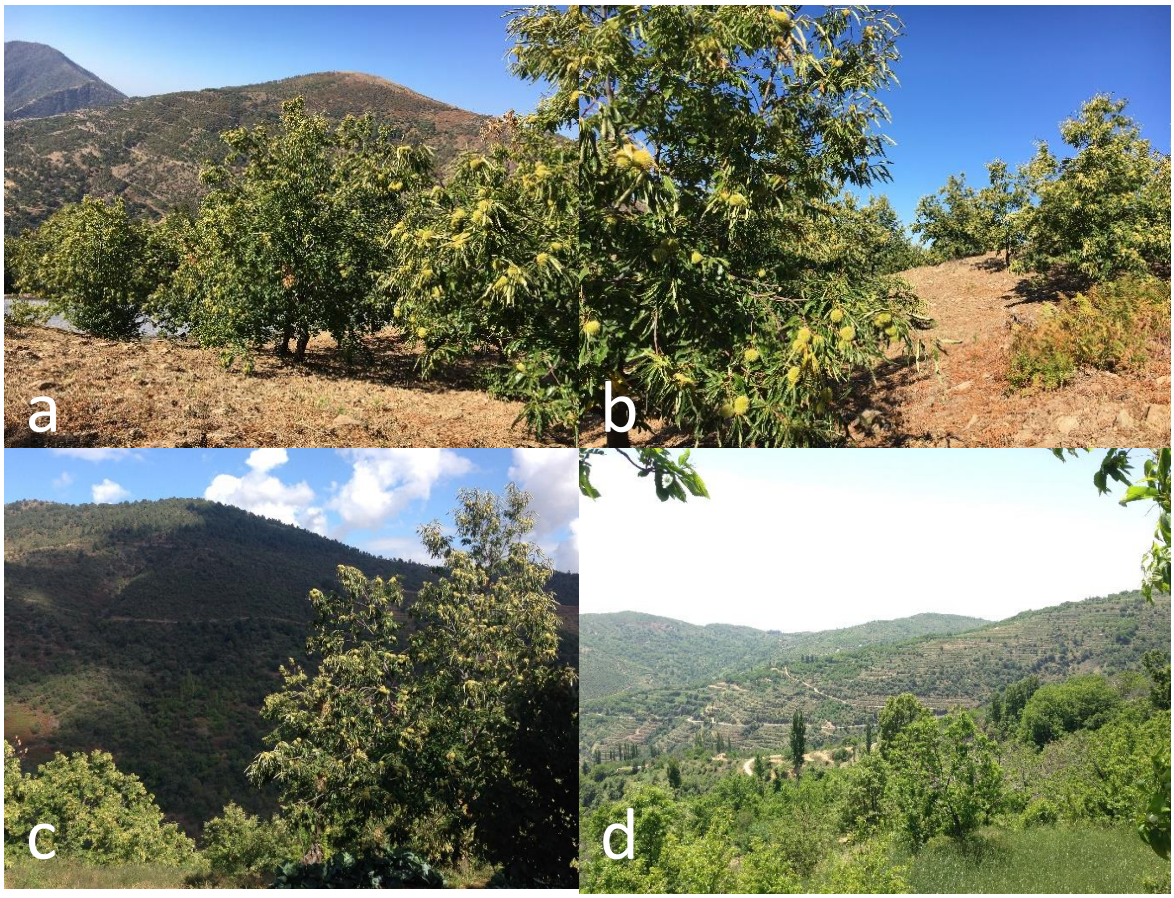
Ülkemizde hatta dünyada hipovirülent uygulamalarını pratikleştirme adına yapılmış çalışmalara çok az rastlanmaktadır. Kunova *et al.* (2016), İtalya'da *C. parasitica'* nın yeni bir formulasyonunu geliştirmeyi amaçlayan bir araştırma yapmıştır. Burada

ulaşılması zor olan, uzun ağaçlardaki kanserlere hipovirülent miselyumları ulaştırmak amaçlanmıştır. Ağaçlardaki bazı kanserlere ulaşılması zordur ve bu kanserlere ulaşmak zaman ve masraf istemektedir. Araştırıcılar, hipovirülent izolat miselyum disklerinden polietilen glikol ve hidroksipropil kullanarak bir formulasyon yaparak bu diskleri taşımaları için kurşunsuz peletlere yüklemiştir. Bu peletleri, havalı tüfekler ile kanserlere fırlatmıştır. Bu yöntemle, uygulama yapılan kanserlerde iyileşmeler gözlenmiştir. Bu yöntem, geleneksel uygulama yöntemlerine, maliyet ve uygulama kolaylığı açısından alternatif olabilir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Deneme Alanlarının Seçimi ve Örnekleme

Çalışma Kestane üretiminin yoğun olduğu Aydın ve İzmir ilinden seçilen kestane sahalarında yürütülmüştür. Çalışma sahası olarak bu illerin seçilmesinin nedeni, hem kestane üretiminin çok olması hem de kestane kanseri hastalığının bu bölgelerde yoğun görülmesidir. Bu bölgelerde, kestane kanserinin virülensliğinin çok yüksek olduğu gözlenmiştir. Kestane kanserinden kuruyan birçok ağaca rastlanmaktadır. Ayrıca Aydın ve İzmir illerindeki kestane sahalarında, doğal hipovirülensliğin bulunmaması çalışma sonuçlarının da doğru bir şekilde değerlendirilmesini sağlamıştır. Aydın ilindeki Pervil KARAOĞLU'na ait saha Sultanhisar ilçesi, Malgaçmustafa köyünde 15-20 yaşlarında kestane ağaçlarından oluşan, yaklaşık 60 hektar bir kestane bahçesidir (Şekil 3.1). Bu sahadan benzer büyüklükte toplamda 30 adet kestane kanseri örneği seçilmiştir. İzmir ilinde Bayındır Orman İşletme Müdürlüğü/ Beydağ Orman İşletme Şefliği sınırlarında bulunan 4 farklı köyden Çomaklar, Tabaklar, Erikli ve Bıçakçı köyünde 37 adet kestane kanseri belirlenmiştir. Her iki ilden seçilen kanserlerden laboratuvarda gerekli testleri yapmak için kabuk örneği alınmıştır.



Şekil 3.1 Çalışmanın yürütüldüğü Aydın ili /Sultanhisar ilçesi, Malgaçmustafa köyünde bulunan kestane bahçesi (a ve b) ve İzmir ili Bayındır Orman İşletme Müdürlüğü sınırlarındaki kestane sahalarından genel görünüm (c, d)

3.2 Uygulama Yapılacak Kanserlerin Uyum Tiplerinin Belirlenmesi

3.2.1 *Cryphonectria parasitica* izolasyonu

Uygulama yapılacak kanserlerden alınan kabuk parçaları önce %1'lik sodyum hipoklorit içinde 3 dk tutulmuş ve steril kurutma kağıdında kurutulmuştur (Şekil 3.2). Bu parçalardan alınan 2-3 mm büyüklüğünde parçalar PDAmb (PDA 40g, methionin 100mg, biotin 1mg, saf su 1000 ml) besi ortamı içeren petrilere yerleştirilmiş ve 26 ºC sıcaklıkta, 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen

fungusların misel uçlarından, stereomikroskop altında çok küçük parçalar alınarak fungusun tek spor izolatları elde edilmiş ve izolatlar eğik agarda + 4 ºC' de buzdolabında ve cryotüplerde -80 ^{0}C' de saklanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.2 %1'lik soydum hipoklorit içinde tutulan kestane kabuk örnekleri (a) ve steril kurutma kağıtlarına alınan kabuk örnekleri (b)



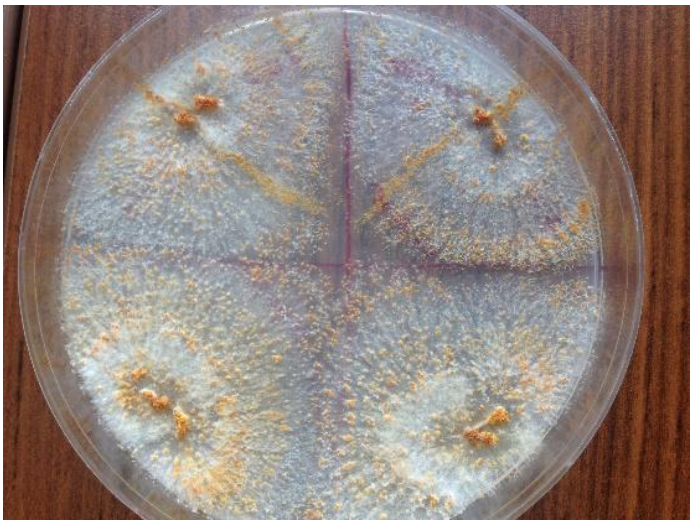
Şekil 3.3 Fungusların tek spor izolatlarının PDA içeren tüplerde eğik agarda gelişimi

3.2.2 *Cryphonectria parasitica* izolatlarının vejetatif uyum tiplerinin (VC) belirlenmesi

İzolasyonlar sonucunda, iki farklı bölgeden toplanan 67 kabuk örneğinden elde edilen, 54 *Cryphonectria parasitica* izolatının vejetatif uyum tipi belirlenmiştir. Bu amaçla, izolatların PDAmb ortamında saf olarak gelişen kültürlerinden steril iğne ile sporulasyon yapan kısımdan bir miktar alınmış, yine PDAmb ortamında 2 mm aralıklarla öncelikle daha önce ülkemizde varlığı tespit edilen Eu-1 ve Eu-12 vc tipleri ile eşleştirilmiş ve 7 gün karanlıkta 7 gün ise yaygın gün ışığında tutulmuştur. Eşleştirilen diskler arasında kuvvetli baraj ve sporulasyon zonları oluşturanlar veya sporulasyon oluşturmayıp baraj zonları oluşturanlar uyumsuz (Şekil 3. 4), baraj zonları oluşturmayanlar ise uyumlu olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.5) (Anagnostakis *et al.* 1986, Bissegger *et al.* 1997). Uyum çalışmaları 2 tekrarlı yapılmıştır.



Şekil 3.4 Aydın ilinde Avrupa uyum tipinden Eu-1 ile vejetetatif uyumsuz izolatları baraj zonlarının görünümü



Şekil 3.5 Kültürde Avrupa vejetatif uyum tipi Eu-1 ile bir İzmir izolatının oluşturduğu baraj zonlarından görünüm (üstte) ve baraj zonu oluşturmayan uyumlu izolattan görünüm (altta)

3.3 Virülent İzolatların Hipovirülent İzolatlara Dönüştürülmesi Testi

Uygulama yapılan kanserlerdeki uyum tipi belirlendikten sonra, hipovirülentlerin hazırlanmasına geçilmiştir. Çalışma sahalarının uyum grubu daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiye göre Eu-1 veya Eu-12'dir. Bu nedenle, uygun hipovirülent izolatlar çalışmaya başlamadan temin edilmiştir. Eu-1 uyum grubuna ait hipovirülent izolatlar Ankara Üniversitesi BAP tarafından desteklenen 06 B 4347004 nolu projeden elde edilen etkinliği belirli izolatlardır. Eu-12 uyum tipi için ise Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL (İsviçre Ormancılık, Kar ve Peyzaj Araştıma Enstitüsü) fitopatholoji grup başkanı Dr. Daniel Rigling'den temin edilen Makedonya orijini (M 7055) izolat kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan iki hipovirülent izolatta ,farklı bölgelerden elde edildiği için her çalışma sahasından elde edilen virülent izolatlara, virüsler aktarılmıştır. Bunun için aynı uyum tiplerde bulunan hipovirülent olduğu belirlenmiş olan izolatlarla, sahadan elde edilen virülent izolatlar dönüştürme testine tabi tutulmuştur. Yani, izolatlar PDAmb ortamında karşılıklı inokule edilerek virüs aktarımı sağlanmıştır. Turuncu izolat beyaz renge dönüştüğünde, hipovirülent izolatın virülent izolatı hipovürülensliğe

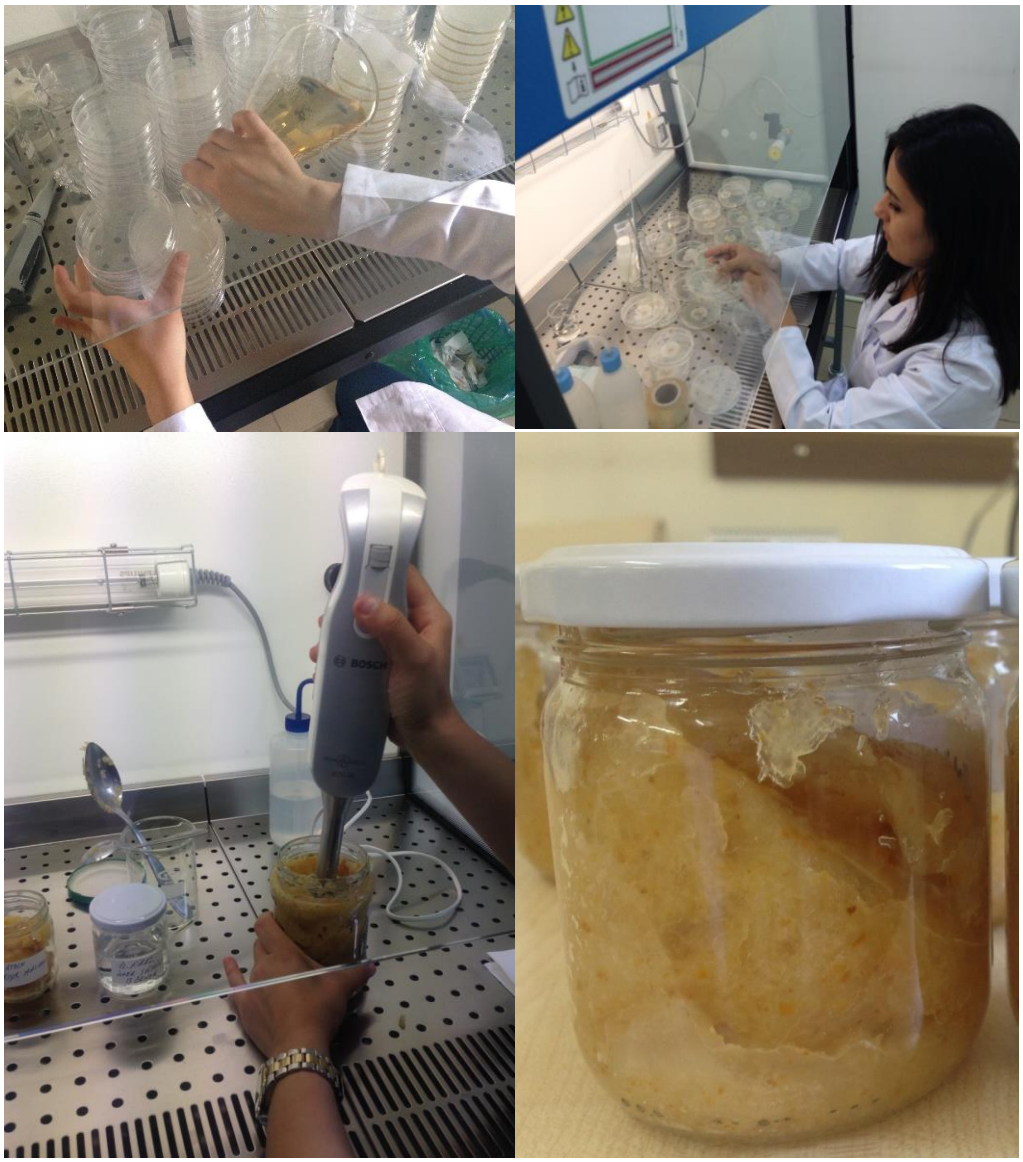
dönüştürdüğü kabul edilmiştir (Anagnostakis *et al.* 1986, Bissegger *et al.* 1997) (Şekil 3.6). Kestane kanserine yapılan uygulamalarda bu hipovirülent izolatlar kullanılmıştır.



Şekil 3.6 Avrupa vejetatif uyum tiplerinden Eu-1 ile uyumlu hipovirülent izolattan Aydın-5 virulent izolatına virüs aktarımının kültür ortamında görünümü

3.4 Hipovirülent Macun Hazırlanması

Uygulama kolaylığı sağlamak için, orta kalınlıkta (2-3 mm) asitlendirilmiş Difco PDAmb (40g/L PDA, methionin 100 mg/L, biotin 1 mg/L ve 1 L PDA için % 20'lik laktik asitten 1,25 ml) besi ortamı bulunan petri kaplarına hipovirülent izolatlar aşılanmıştır. Hipovirülent kültür, petri kaplarını tamamen kaplanıncaya kadar (7-9 gün) beklenmiştir. Daha sonra steril bir ortamda (steril kabin) steril bir parçalayıcı (el blender'ı) ile macun şekline getirilmiş ve steril kavanozlara yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanmış macun ortamının, fungusla iyice sarması için arada bir kapak açılmadan kavonazlar sarsılarak karıştırılmış ve bu şekilde 3-4 gün bekletilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Hipovirülent macun hazırlanması aşamalarından görünüm

3.4.1 Seyreltilmiş hipovirülent macun hazırlanması

Difco PDA besi ortamında hazırlanarak geliştirilen hipovirülent izolatlar 3.4 Hipovirülent Macun Hazırlanması başlığında belirtildiği gibi hazırlanarak macun elde edilmiştir. Elde edilen macun 1:1 hacimce saf steril su ile seyreltilerek iyice karıştırılmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Arazide uygulanacak seyreltilmiş hipovirülent macundan görünüm

3.5 İzmir ilinde Hipovirülent İzolatların Uygulanması

3.5.1 Kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulanması

İzmir ilinde kanserlerin kazınmış olması, küçük kanserlerin bulunaması nedenleriyle seçilen kestane bahçelerinde, sadece kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulaması yapılmıştır.

İzmir'de Bayındır Orman İşletme Müdürlüğü Beydağ Orman İşletme Şefliğine bağlı 4 köyde, toplam 24 ağaca 13-14 Temmuz 2015'te hipovirülent izolatlar uygulanmıştır. Kanserlerin kenarlarından yaklaşık 1 cm uzaklıkta sağlam dokuda yaklaşık 2-3 cm aralıklarla, 0.5 cm çaplı bir mantar delici ile delikler açılmıştır. Bu açılan deliklere, bir spatula yardımı ile macunlar doldurulmuş ve üzerleri çıkarılan kabuklarla kapatıldıktan sonra, uygulama alanı nemli pamukla kapatılıp üzerleri ,kolay yapışan ve koparılan teypler (en az 5 cm enli) ile kapatılmıştır (Şekil 3.9). Çalışmada, bir uygulama ve kontrol olmak üzere iki karakter ele alınmıştır.



Şekil 3.9 Kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent uygulaması ve çukurların nemli pamukla kapatılması aşamaları

3.6. Aydın ilinde Hipovirülent Uygulamaları

3.6.1 Kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulanması

Aydın'da Sultahisar ilçesi Malgaçmustafa köyünde seçilen kestane bahçesinde altı kansere 3 Haziran 2016'da uygulama yapılmıştır.

3.6.2 Çivili bir düzenek ile yaralanan kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça ile uygulanması

Bu uygulama sadece Aydın ilinde altı ağaca yapılmıştır. Bu uygulamada, kanserler üzerine yaklaşık 2-3 cm aralıklarla kare şeklinde yerleştirilmiş çiviler bulunan bir düzenekle 3-4 defa vurularak yaralama yapılmış ve 1:1 hacimce su ile seyreltilmiş macun fırça ile tüm yüzeye sürülmüştür (Şekil 3.10)



Şekil 3.10 Çivili düzenek ile yaralanmış kanserlere seyreltilmiş hipovirülent uygulaması

3.6.3 Yaralanmamış kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça ile uygulanması

Bu uygulama sadece Aydın ilinde altı ağaca yapılmıştır. Bu uygulama yukarıda belirtildiği gibi, yaralanmamış kanserlere yapılmıştır. Yaralanmamış altı kanser seçilmiş olup hazırlanan seyreltilmiş hipovirülent macun kanser yüzeyine sürülmüştür (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 Çivili bir düzenek ile yaralanmamış kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça ile uygulaması

Çalışmada üç farklı uygulama ve kontrol olmak üzere dört karakter ele alınmış olup her uygulamada altı tekrar yapılmıştır. Böylece Aydın ilinde 18 aktif kansere uygulama yapılmış olup 6 aktif kanser ise kontrol olarak bırakılmıştır. Birinci yöntem kabuk diski çıkarılması ile açılan çukurlara hipovirülent uygulanması hem İzmir hem de Aydın ilinde yapılmıştır. İkinci yöntem olan çivili bir düzenek ile yaralanan kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça ile uygulanması ve üçüncü yöntem olan yaralanmamış kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça ile uygulanması sadece Aydın ilinde denenmiştir.

3.7 Uygulamaların Etkinliklerinin Kontrolü

Uygulamalardan sonraki 3. ve 6. aylarda kanserler kontrol edilmiş ve kanserlerden kabuk örnekleri alınıp, reizolasyon yapılarak virüsün varlığına bakılmıştır. Kanserlerin kontrollerinde değerlendirmeler, kallus oluşumu olup olmadığı şeklinde notlar alınarak uygulamalar değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Kanser Örneklerinden Elde Edilen Funguslar

İzmir-Aydın illerinde ilk olarak kestane sahalarının incelenmesi yapılmış ve hipovirülent uygulamaların yapılacağı alanlar tespit edilmiştir. Tespit edilen sahalardan İzmir'den Nisan 2015, Aydın'dan Mart 2016 ayları itibariyle örnekler toplanmıştır. Seçilen sahalardan İzmir ilinde (Bayındır Orman İşletme Müdürlüğü/Beydağ Orman İşletme Şefliği sınırlarında bulunan Çomaklar, Erikli, Bıçakçı ve Tabaklar köyü) 37, Aydın ilinde (Sultanhisar ilçesi/ Malgaçmustafa köyü) 30 kanserden kabuk örneği toplanmıştır. Toplanan kabuk örnekleri yukarıda materyal yöntemde belirtildiği gibi izolasyon işlemine tabi tutulmuştur**.** İzmir Beydağ Orman İşletme Şefliğinden (Çomaklar, Erikli, Bıçakçı ve Tabaklar köyü) alınan 37 kabuk örneğinden 30'unda *Cryphonectria parasitica,* 7 tanesinden *Diplodina aesculi***,** *Cytospora* sp. ve *Aureobasidium* sp. *Penicillium* spp. gibi funguslar tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Aydın Sultanhisar'dan (Malgaçmustafa köyü) ise 30 kanserli kabuk örneğinden 24'ünden *Cryphonectria parasitica,* 6'sından ise *Paecilomyces* sp.*, Cytospora* sp.*, Penicillium* sp.*, Curvularia* sp. tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Yapılan izolasyonlarda İzmir ve Aydın illerinde hipovirülent izolata rastlanmamıştır. Tüm izolatlar kültürde turuncu renkte gelişim göstermektedir.

Çizelge 4.1 Kanser örneklerinden elde edilen funguslar

Örnek Alınan İl	Örnek Sayısı	*Cryphonectria parasitica* gelişen örnek sayısı	Farklı gelişen fungus sayısı
Aydın/Sultanhisar ilçesi	30	24	6
İzmir/Beydağ Orman İşletme Şefliği	37	30	7

4.2 Kanser Örneklerinden Elde Edilen *Cryphonectria parasitica* Uyum Tipleri

İzolasyon sonucu İzmir'den 30, Aydın'dan 24 *Cryphonectria parasitica* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlar, vejetatif uyum tiplerinin belirlenmesi için yöntem kısmında belirtildiği şekilde, Avrupa uyum tipleri ile eşleştirilmiştir. İlk olarak, ülkemizde en yaygın olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiş olan Eu-1 ve Eu-12 ile eşleştirilmiştir. İzolatların aralarında oluşturduğu baraj zonlarına göre, uyum tespiti yapılmıştır. İzmir ili izolatlarının 30 tanesinde 11'i Eu-1, 19'u Eu-12 uyum tipinde Aydın' da ise 24 izolatın 9'u Eu-1 ve 15 tanesi Eu-12 uyum tipine girmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Kanser örneklerinden elde edilen *Cryphonectria parasitica* uyum tipleri

Aydın/ İzmir ili Kestane sahaları	Yöre adı	*Cryphonectria parasitica* tespit edilen kabuk örneği sayısı	Elde edilen izolatların Avrupa uyum tipi	
			Eu-1	Eu-12
Aydın Sultanhisar	Malgaçmustafa köyü	24	9	15
İzmir-Beydağ	Çomaklar,Tabaklar, Erikli ve Bıçakçı köyü	30	11	19
TOPLAM		**54**	**20**	**34**

Çalışmada elde edilen her iki uyum tipinden virülent bir izolata (A-5, İz-2 (EU-1)) ve (İz-11, A- 7 (EU-12)) daha önce bir proje kapsamında Karadeniz bölgesinden elde edilmiş Eu-1 uyum tipinden, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL'den elde edilen Eu-12 uyum tipine ait izolatlar eşleştirilerek, virüs aktarımı yöre izolatlarına yapılmıştır. Hipovirülent uygulamalarında, uyum tipine göre bu virüslü izolatlar kullanılmıştır.

4.3 İzmir ilinde Yapılan Hipovirülent Uygulama Sonuçları

İzmir (Bayındır Orman İşletme Müdürlüğü/ Beydağ Orman İşletme Şefliği) ilinde, uyum grubu tespit edilen 24 kanserin etrafında mantar delici ile delikler açılmış ve oluşan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat yöntem kısmında bahsedildiği şekilde uygulanmıştır. Uygulama sonuçları kallus oluşumu, kanserin iyileşmesi ve kanserin durdurulması şeklinde değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3).

İzmir ilinde (Bayındır Orman işletme Müdürlüğü/ Beydağ Orman İşletme Şefliği) hipovirülent uygulamaları sonucunda kanserlerde kallus oluşumu, iyileşme ve kanser ilerlemesinin durduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2). Kontrol olarak bırakılan altı örnekte uygulama yapılmadan bırakıldığı için kestane üreticileri tarafından kanserli kısım kazınarak temizlenmiş ve bu temizlenen kısımların etrafından kanser ilerlemeleri gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.3 İzmir ili /Beydağ Orman İşletme Şefliği sınırlarında yapılan çukurlara hipovirülent macun uygulaması sonuçları

İzolat no	Uygulamanın değerlendirme tarihleri					
	Kasım, 2016			Ekim, 2017		
	Kallus		Kanserlerin durumu	Kallus		Kanserlerin durumu
	Var	Yok		Var	Yok	
İz-1	x		Kanser ağacı çevrelemiş büyük bir kanserdir. Uygulama noktasında bazı yerlerde kanserlerde ilerleme görülmüştür. Ancak ilerleme yavaşlamış ve kanser etrafında kallus oluşumu başlamıştır.	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-2	x		Kanserde kallus oluşmuş, kanser ilermesi durmuştur	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-3	x		Kanserde kallus oluşmuş, kanser ilermesi durmuştur	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-4	x		Kanser genç bir ağaçtadır. Kanserde kallus oluşmuş, kanser ilermesi durmuştur	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-5	x		Uygulama noktasının üst kısmında kanserde ilerleme görülmüştür. Ancak ilerleme yavaşlamış ve kanser etrafında kallus oluşumu başlamıştır.	x		Kanserde kallus oluşmu görülmüştür.
İz-6	x		Kanser genç bir ağaçtadır. Kanserde kallus oluşmuştur ancak kanserin orta kazınmıştır.	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-7	x		Kanser genç bir ağaçtadır. Kanserde kallus oluşmuştur	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-8	x		Kanserde kallus oluşmuştur.	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.

Çizelge 4.3 İzmir ili /Beydağ Orman İşletme Şefliği sınırlarında yapılan çukurlara hipovirülent macun uygulaması sonuçları (devamı)

İzolat no	Uygulamanın değerlendirme tarihleri					
	Kasım, 2016			Ekim, 2017		
	Kallus		Kanserlerin durumu	Kallus		Kanserlerin durumu
	Var	Yok		Var	Yok	
İz-9	x		Kanserde kallus oluşmuştur.	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-10	x		Kanserde kallus oluşmuştur	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-11	x		Kanserde kallus oluşmuştur. Böcek larvalarına rastlanmıştır.	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-12	x		Kanser genç bir ağaçtadır. Kanserde kallus oluşmuştur	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir. Ağacın üst kısmındaki kanserlerde iyileşmeler gözlenmiştir.
İz-13	x		Kanserde kallus oluşmuştur.	x		Kanser iyileşmiştir.
İz-14	x		Kanserde kallus oluşmuştur.	x		Kanserde kallus oluşmuş ve kanser iyileşmiştir.
İz-15	x		Kanserde kallus oluşmuştur	x		Kanser iyileşmiştir.
İz-16	x		Kanser gövdede ve çok büyüktür. Kanserde kallus oluşmuştur. Ancak uç kısımdan ilerlemeler bulunmaktadır.	x		Kanserde kallus oluşmuştur.
İz-17	x		Kanser gövdede bulunmaktadır. Kanserde kallus oluşmuş ve iyileşmiştir.	x		Kanser iyileşmiştir.
İz-18	x		Kanserde kallus oluşmuş ve iyileşmiştir.	x		Kanser iyileşmiştir.

Çizelge 4.3 İzmir ili /Beydağ Orman İşletme Şefliği sınırlarında yapılan çukurlara hipovirülent macun uygulaması sonuçları (devamı)

İzolat no	Uygulamanın değerlendirme tarihleri					
	Kasım, 2016			Ekim, 2017		
	Kallus		Kanserlerin durumu	Kallus		Kanserlerin durumu
	Var	Yok		Var	Yok	
İz-19	x		Kanserde kallus oluşmuş ve iyileşmiştir.	x		Kanser iyileşmiştir.
İz-20	x		Kanserde kallus oluşmuş ve iyileşmiştir.	x		Kanser iyileşmiştir.
İz-21	x		Kanser genç bir ağaçta ve küçük bir kanserdir. Kanserde kallus oluşmuştur	x		Kanser iyileşmiştir.
İz-22	x		Kanserde kallus oluşmuş ve iyileşmiştir	x		Kanser iyileşmiştir.
İz-23	x		Kanser gövdede ve çok büyüktür. Kanserde kallus oluşmuştur.	x		Kanser iyileşmiştir.
İz-24	x		Kanserde kallus oluşmuştur. Ancak bazı yerlerde ilerlemeler bulunmaktadır.	x		Kanserde kallus oluşmuştur.



Şekil 4.1 İzmir ili Tabaklar köyünde kabuk diski açılarak hipovirülent macun uygulaması öncesi aktif kanserin (a) görünümü ve hipovirülent uygulamadan bir yıl sonraki kanserin iyileşmeye başlayan hali (b) ve Çomaklar köyünde 2 yıl sonraki tamamen iyileşmiş kanserden görünüm (c)

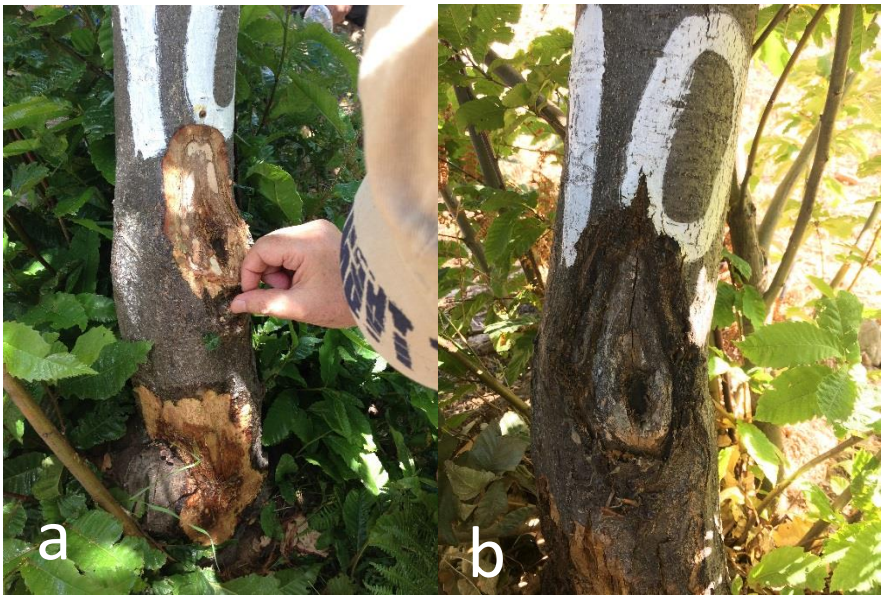


Şekil 4.2 İzmir ilinde yapılan kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulaması sonucu kallus oluşmuş bazı kanserlerden görünüm

4.4 Aydın İlinde Yapılan Hipovirülent Uygulamaların Sonuçları

Aydın ili Sultanhisar ilçesinde, seçilen kestane bahçesinde birinci uygulama; 6 kansere macun şeklinde hazırlanan hipovirülent izolat, kanser etrafında açılan çukurlara uygulanmıştır. Uygulamalar sonunda 3. ve 6. aylarda kallus oluşumları kontrol edilmiş ve ağaçlarda kallus oluşumları (2 kanserde başlamamış) ve kanser ilerlemesinin durduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.3). Uygulamaların başarılı olması, kanserlerin iyileşmesi nedeniyle 9. ayda kanserler tekrar kontrol edilmemiştir. Ancak, bahçe sahibi ve Orman Bölge Müdürlüğü personelinden alınan bilgiye göre bazı kanserlerin tamamen iyileştiği ve bazı kanserlerin ilerlediği belirtilmiştir.

İkinci uygulamada ise; çivili bir düzenek ile yaralanan kanserlere seyreltilmiş hipovirülent macun fırça ile uygulanmıştır. Bu şekilde 6 kansere uygulama yapılmış ve değerlendirmeler yukarıda bahsedildiği gibi yapılmıştır. Kanserlerde kallus oluşumları görülmüş, kanserde ilerlemelerin durduğu ve kanserlerin iyileştiği gözlenmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.4). Üçüncü uygulamada ise; yaralanmamış 6 kansere seyreltilmiş hipovirülent macun fırça ile uygulanmıştır. Yukarıda anlatıldığı gibi değerlendirmeler yapılmıştır. Değerlendirmede, ilk kontrollerde kallus oluşumları gözlemlenirken bazı yerlerde ise kanser ilerlemeleri gözlemlenmiştir. İlerlemenin olduğu kanserlerin daha sonraki gözlemlerinde, kanserlerin durakladığı, iyileştiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6, Şekil 4.5). Kontrol olarak bırakılan altı örneğin, uygulama yapılmadan bırakıldığı için kestane üreticileri tarafından kanserli kısım kazınarak temizlendiği gözlemlenmiştir. Hipovirülent uygulamaların yapıldığı alanlarda ve uygulama yapılan kanserlerde yoğun olarak kızıl kurt zararı gözlemlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.3 Kabuk diski ile açılan çukurlara macun haline getirilmiş hipovirülent izolat uygulaması (a) ve uygulama sonucu kallus oluşumu (b)



Şekil 4.4 Çivili düzenek ile yaralanmış ve sıvılaştırılmış hipovirülent macunu uygulanmış kanserlerde kallus oluşumu



Şekil 4.5 Çivili düzenekle yaralanmamış kanserlere hipovirülent uygulaması sonucu bazı kanserlerde iyileşmenin başlaması ve kallus oluşumları



Şekil 4.6 Hipovirülent uygulama yapılmış kanserlerde kızıl kurt (*Cossus cossus*)zararı

Çizelge 4.4 Aydın ili Sultanhisar ilçesi sınırlarında yapılan çukurlara hipovirülent macun uygulaması sonuçları

İzolat no	Kasım, 2016			Ekim, 2017		
	Kallus Oluşumu		Kanserlerin durumu	Kallus oluşumu		Kanserlerin durumu
	Var	Yok		Var	Yok	
A1	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde kızıl kurt görülmüştür.	x		Kanser iyileşmiştir. Ancak kanserin bulunduğu dal ince olduğu için dal kurumuştur.
A2		x	Kallus oluşumu görülmemiştir.	x		Kallus oluşumu başlamış ancak kanserde kızıl kurt tespit edilmiştir.
A3		x	Kanserde ilerme var. Kızıl kurt tespit edilmemiştir.	x		Kallus oluşumu başlamış, ancak kızıl kurt zararından dolayı kanserde ilerleme görülmüştür.
A4	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde kızıl kurt görülmüştür.	x		Kanser iyileşmiştir.
A5	x		Kallus oluşmaya başlamıştır.	x		Kanser iyileşmiştir.
A6	x		Kallus oluşmaya başlamıştır.	x		Kanser iyileşmiştir.

Çizelge 4.5 Aydın ili Sultanhisar ilçesi sınırlarında yapılan çivili düzenek ile yaralanan kanserlere fırça ile seyreltilmiş macun uygulaması sonuçları

İzolat no	Kasım, 2016			Ekim, 2017		
	Kallus Oluşumu		Kanserlerin durumu	Kallus oluşumu		Kanserlerin durumu
	Var	Yok		Var	Yok	
A1	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde kızıl kurt görülmüştür.	x		Kanser iyileşmiştir.
A2	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde kızıl kurt görülmüştür.	x		Kanser iyileşmiştir.
A3	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde kızıl kurt görülmüştür.	x		Kanser iyileşmiştir.
A4	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde ilerleme görülmüştür.	x		Kanser iyileşmiştir. Kızıl kurt görülmüştür.
A5	x		Kallus oluşmaya başlamıştır.	x		Kanser iyileşmiştir.
A6	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde ilerleme görülmüştür.	x		Kanser iyileşmiştir. Kızıl kurt görülmüştür.

Çizelge 4.6 Aydın ili Sultanhisar ilçesi sınırlarında yapılan yaralanmayan kanserlere fırça ile seyreltilmiş macun uygulaması sonuçları

İzolat no	Kasım, 2016			Ekim, 2017		
	Kallus Oluşumu		Kanserlerin durumu	Kallus oluşumu		Kanserlerin durumu
	Var	Yok		Var	Yok	
A1	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde ilerleme görülmüştür.	x		Kanserde kallus oluşumu var. Çok fazla kızıl kurt görülmüştür.
A2		x	Büyük bir kanser olduğu için Kallus oluşmaya başlamamıştır.	x		Kanserde kallus oluşumu gözlemlenmiştir.
A3	x		Kallus oluşmaya başlamış, kanserde ilerleme gözlemlenmiştir. Kızıl kurt görülmüştür.	x		Kanserde kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Çok fazla kızıl kurt görülmüştür.
A4	x		Kanser iyileşmeye başlamıştır.	x		Kanser iyileşmiştir.
A5	x		Kanser iyileşmeye başlamıştır.	x		Kanser iyileşmiştir.
A6	x		Kanser iyileşmeye başlamıştır.	x		Kanser iyileşmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kestane kanseri, ülkemizde 1967 yılından bu yana tüm kestane alanlarında bulunmakta ve ciddi kurumalara neden olmaktadır (Coşkun *et al.* 1999, Gürer *et al.* 2001). Dünyada kestane kanserine karşı en çok başvurulan yöntem biyolojik mücadeledir. Biyolojik mücadele Dünya'da birçok ülkede başarı ile uygulanmakta ve bu hastalığa karşı en etkili yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yöntemde, fungusun hipovirülent strainleri, tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, şimdiye kadar hipovirülent izolat uygulamasında kullanılan, kanser etrafına disk açıp kültürden alınan disklerin ya da hazırlanan macunların çukurlara yerleştirilmesi yöntemlerine göre daha pratik uygulama metotları araştırılmıştır.

Bu çalışmada uygulayıcıya daha pratik yöntemler sunabilmek amacıyla klasik yöntemin dışında, iki farklı yöntem de kullanılmıştır. Klasik uygulama yöntemi hem Aydın yöresinde hem de İzmir yöresinde seçilen bölgelerde uygulanmıştır. Bu yöntemin uygulandığı kanserlerde uygulamadan bir yıl sonra kallus oluşumu gözlenmiştir. Bu uygulama tarzında kanserlerin sınırları belirlendiği ve hipovirülent macunun disklere yan yana uygulandığı için kanser ilerlemesinin az olduğu görülmüştür.

Uygulanan farklı yöntemlerden birincisinde, hazırlanan çivili düzenekle, kanserin etrafına delikler açılarak, hazırlanan seyreltilmiş hipovirülent macun fırça yardımıyla sürülmüştür. Bu yöntem sonucunda yapılan kontrollerde ağaçların kallus oluşturduğu ve kanser ilerlemesinin çok az olduğu gözlenmiştir. Bu uygulama şekli, çukurlara macun uygulanmasından daha pratiktir ve geniş çapta uygulamaya geçmeden önce değişik ekolojik koşullarda denenmesinde yarar görülmektedir.

Uygulanan farklı yöntemlerden ikincisinde ise, kanser yaralanmadan, hazırlanmış olan seyreltilmiş hipovirülent macun fırça yardımıyla kansere sürülmüştür. Kontroller sonucunda, yaralanmamasına rağmen kanserlerde kallus oluşumu gözlenmiştir. Sınırları belirlenmediği için bazı uygulama yerlerinde kanserin ilerlediği görülmüştür. Bu ikinci yöntem tüm uygulamaların en kolayıdır ve yukarıda belirtildiği gibi geniş

alanlarda kullanılması için farklı ekolojik koşullarda daha kapsamlı olarak denenmesi gerekmektedir.

İzmir ve Aydın yöresinde kontrol olarak bırakılan örneklerin uygulama yapılmadan bırakıldığı için kestane üreticileri tarafından kanserli kısım kazınarak temizlendiği gözlemlenmiş olup kazıma yapılmasına rağmen kanserin bazı kısımlarından ilerlediği görülmüştür. Bu yörelerde kanserli kısımları kazıma işlemleri yaygın bir şekilde yapılmaktadır.

Aydın yöresinde uygulama yapılan ağaçlarda çok miktarda kızıl kurt (*Cossus cossus*) zararı görülmüştür. Kızıl kurt zararı ile ağaçlarda kallus oluşumu yavaşlamış ve kanserlerin iyi ve çabuk kapanmaları önlenmiştir.

Kızıl kurt genellikle ağaçların yaralama yerlerine veya dal gelişmeleri nedeniyle oluşan çatlaklara yumurta bırakmaktadır. Hipovirülent uygulamaları nedeniyle oluşan yaralanmalar kızıl kurdu çekmektedir. Bu nedenle, kızıl kurdun yumurtlama dönemlerinde, bu uygulamaların yapılmaması gerekmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda kızıl kurdun azami uçuş periyodunun Temmuz ve Ağustos ayları olduğu belirlenmiştir (Kaplan and Turanlı 2017). Çalışmamızda, Aydın yöresi uygulamalarının 03.06.2016 tarihinde yapılması kızıl kurt zararını arttırmıştır. Bu nedenle Ege Bölgesi hipovirülent uygulamalarının daha erken aylarda Nisan sonu Mayıs ortalarında yapılması daha uygun olacaktır. Diğer yandan daha geç uygulamalar yapılacaksa, muhakkak uygulama yerlerine bir insektisit veya uzaklaştırcı kullanılmalıdır.

Klasik yöntem olarak adlandıran, kanserler etrafına kabuk diski açılarak deliklere hipovirülent kültür diski veya macunu yerleştirilmesi, daha başarılı olmasına rağmen, bilhassa ağaçların yüksek kısımlarında yer alan kanserlere ve büyük kanserlere uygulanması güçtür. Bu gibi yerlerde, bu çalışmada denenen daha pratik uygulama yöntemi olarak çivili düzenekle yaralanan kanserlere sıvılaştırılmış hipovirülent macunun fırça ile uygulanması iyi sonuçlar verdiği için pratikte bu uygulama önerilebilir. Nitekim, uygulama yapılan kestane bahçesinin sahibi Pervil

KARAOĞLU'ndan 21.06.2018 tarihli alınan bilgilere göre bu uygulama yönteminin daha başarılı olduğu ifade edilmiştir. Hipovirülent uygulamalarda değişik uygulama yöntemlerinin araştırılması ülkemizde ilk kez yapılmıştır. Özellikle çivili düzenekle kanserin etrafına delikler açılarak, hazırlanan seyreltilmiş hipovirülent macunun fırça yardımıyla sürülmesi yönteminin önümüzdeki dönemlerde daha fazla kansere uygulanması planmaktadır.

KAYNAKLAR

Adamčíková, K., Juhásová, G., Kobza, M. 2006. Genetic diversity of *Cryphonectria parasitica* population in the Štiavnicko-krupinská subpopulation in Slovakia. Plant Protection Science, 42, 119–124.

Adamcikova, K., Ondruskova, E., Kadasi-Horakova, M., Botu, M., Kobza, M. and Achim, G. 2015. Distribution and population structure of the chesnut blight fungus in Romania. Plant Protect Science, 51, 141-149.

Aghayeva, D.N. and Harrington, T.C. 2007. First report of *Cryphonectria parasitica* on chesnut (*Castanea sativa*) in Azerbaijan. New Disease Reports, 15, 33.

Allemann, C., Hoegger, P., Heiniger, U. and Rigling, D. 1999. Genetic variation of *Cryphonectria parasitica* (CHV1) in Europe, assessed using restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. Mol. Ecol., 8, 843-854.

Akıllı, S. 2008. Karadeniz Bölgesinde Kestane Kanseri (*C. parasitica*)'nin Biyolojik Mücadelesi Üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Bölümü, Doktora Tezi, 88 s., Ankara.

Akıllı, S., Katırcıoğlu Y.Z. and Maden, S. 2009. Vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica*, chestnut blight agent, in Black Sea region. Forest Pathology,39(6), 390–396.

Akıllı, S., Ulubaş Serçe, Ç., Topçu, K., Katırcıoğlu, Y.Z., Maden, S. 2011. Karadeniz Bölgesinde Kestane Kanseri (*Cryphonectria Parasitica*)'ne Karşı Hipovirülent İzolatlarla Biyolojik Savaşım Çalışmaları. Düzce Üniversitesi Ormancılık Dergisi, 7(1), 38-45.

Akıllı, S. 2013. Feasibility of biological control of Chestnut blight caused by Cryphonectria parasitica, in Marmara region of Turkey. African Journal of Agricultural Research, 7(45), 6068-6072.

Anagnostakis, S. 1977. Vegetative incompatibility in *Endothia parasitica.* Exp. Mycol., 1, 306–316.

Anagnostakis, S.L. and Day, P.R. 1979. Hypovirulence conversion in *Endothia parasitica*. Phytopathology, 69, 1226–1229.

Anagnostakis, S.L. and Waggoner, P.E. 1981. Hypovirulence, vegetative incompatibility and the growth of cankers of chestnut blight. Phytopathology, 71, 1198–1202.

Anagnostakis, S.L., 1982. Biological control of chestnut blight. Science, 215, 466– 71.

Anagnostakis, S.L., Hau, B. and Kranz, J. 1986. Diversity of vegetative compatibility groups of *Cryphonectria parasitica* in connecticut and Europe. Plant Disease, 70, 536–538.

Anagnostakis, S.L. 1987. Chestnut blight- the classical problem of an introduced pathogen. Mycologia, 79, 23-37.

Anonim. 2014. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Kestane Eylem Planı 2013-2017. 56 s., Ankara

Anonymous. 2009. Support to Turkish Government in development and implementation of a Feasibility Study (FS) for management of chesnut blight in chestnuts and other hardwoods (2008-2009), Report, TCP/TUR/3201.

Anonymous. 2014. Management of chestnut blight and for improving forest health and vitality (2012-2014), Report, TCP/TUR/615676.

Barr, M.E. 1978. The Diaporthales in North America with emphasis on Gnomonia and its sagregates. Mycologia Mem., 7, 1-232.

Bisiach, M., De Martino, A., Intropido, M. and Molinari, M. 1991. Nuove esperienze di protezione biologica contro il cancro della corteccia del castagno. Frutticoltura, 12, 55-58.

Bisiach, M., Cortesi, P., De Martino, A. and Intropido, M. 1995. Biological control of chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. En: Proceedings of the International Congress "Microbial control agents in sustainable agriculture field experience, industrial production and registration". Saint Vincent (Aosta), 167.

Bissegger, M., Rigling, D. and Heiniger, U. 1997. Population structure and disease development of *Cryphonectria parasitica* in European Chestnut forest in the presence of natural hypovirulence. Phytopathology, 87, 50–59.

Bragança, H., Simoes, S., Onofre, N., Tenreiro, R. and Rigling, D. 2007. *Cryphonectria parasitica* in Portugal: diversity of vegetative compatibility types,mating types, and occurrence of hypovirulence. Forest Pathol., 37, 391-402.

Bryner, S.F., Rigling, D. 2011. Temperature-dependent genotype-by-genotype interaction between a pathogenic fungus and its hyperparasitic virus. The American Naturalist, 177, 65-74.

CABI, 2018. Web sitesi. *Cryphonectria parasitica* (blight of chestnut)-Datasheet. https://www.cabi.org/isc/datasheet/21108. Erişim Tarihi : 20.06.2018.

Calza, C.A. 1993. Biological control of chestnut blight: large–scale application techniques. Proceedings of the International Congress on Chestnut. Spoleto, Italy, 599- 602.

Castano, C., Bassie, L., Oliach, D., Gomez, M., Medina, V., Liu, B. And Colinas, C. 2015. *Cryphonectria hypovirus* I as inferred from gene genealogies and the coalescent. Genetics, 166, 1611-1629.

Chen, B.S. and Nuss, D.L. 1999. Infectious cDNA clone of hypovirus CHV1-Euro7: a comparative virology approach to investigate virüs-mediated hypovirulence of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica.* J. Virol., 73,985-992.

Chira, D., Teodorescu, R., Botu, M., Achim, G., Scutelnicu, A. 2017. Testing Chestnut Hybrids For Resistance To *Crypnonectria*. 6. İnternational Chesnut Symposium, Octaber 9-13/2017, Samsun-Turkey.

Chung, P., Bedker, P.J. and Hillman, B.I. 1994. Diversity of *Cryphonectria parasitica* hypovirulence- associated double-stranded RNAs within a chestnut populationin New Jersey. Phytopathology, 84, 984–990.

Choi, G.H. and Nuss, D.L. 1992. Hypovirulence of chestnut blight fungus conferred by an infectious viral cDNA. Science , 257, 800–803.

Cortesi, P. and Milgroom, M.G. 1998. Genetics of vegetative incompatibility in *Cryphonectria parasitica.* Appl. Environ. Microb., 64, 2988-2994.

Cortesi, P., McCulloch, C.E., Song, H.Y., Lin, H.Q. and Milgroom, M.G. 2001. Genetic control of horizontal virus transmission in the chesnut blight fungus. *Cryphonectria parasitica*. Genetics, 159, 107-118.

Coşkun, H. ve Kural, I. 1994. Kestane kanseri *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. Hastalığının mücadelesi üzerinde araştırmalar. Tarım ve Köyisleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlügü BKA/01/F–094 Nolu Proje.

Coşkun, H., Turchettı T., Maresi, G. and Santagada, A. 1999. Preliminary investigations into *Cryphonectria parasitica* (Murr) Barr isolates from Turkey. Phytopathology Mediterranean, 38, 101–110.

Çeliker, N.M. and Onogur, E. 1998. Determining the Hypovirulence in the Chestnut Blight (*Cryphonectria parasitica* [Murr.] Barr.) in Turkey. J. Turk. Phytopathol., 27, 145–146.

Çeliker, N.M. and Onoğur, E. 2009. Biological control of chestnut blight and prospect for future: Turkey as a case study. International Workshop on Chestnut Management in Mediterranean Countries: Problems and Prospects, 221-226, 23-25 October 2007 Bursa, Turkey. Acta Hort., 815.

Çeliker, N.M., Kaplan, C., Onoğur, E., Çetiner, B., Poyraz, D. and Uysal, A. 2017. Natural dissemination of hypovirulent *Cryphonectria parasitica* strain used for biological control of chestnut blight . Turk. J. Agric. For., 41, 278-284

Daldal, M. 2015. İzmir, Manisa, Muğla ve Denizli İllerinde *Cryphonectria parasitica* Populasyonlarının Vejetatif Uyum Grupları ve Mating Tipler Yönünden Karakterizasyonu. Adnan Menderes Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 58 s., Aydın.

Delen, N. 1979. Studies on the control possibilities of chestnut blight [*Endothia Parasitica* (Murr.) A. and A.] ın Turkey. J. Turkısh Phytopath., 8 (2-3), 51-76.

Demir, S.T. ve Çeliker, N. M.1996. Ege Bölgesinde Meyve Fidanlarında fungal Hastalıkların ve Çözüm Yollarının Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar Zirai Mücadele Araştırma Yıllığı No:28-28.

Diamandis, S., Perlerou, C., Nakopoulou, Z., Christopoulos, E., Topalidou, E. and Tziros, G. 2014. Application of biological control of chesnut blight on a nationwid scale in Greece: Results and prospects. Acta Horticulturae, 1043, 23-34.

Diamandis, S. 2012. Yazılı görüşme. National Agricultural Research Foundation Forest Reseach Institute 570 06 Vassilika- Thessaloniki, Greece. E mail: diamandi@FRI.gr

Dutech, C., Barres, B., Bridier, J., Robin, C., Milgroom, M.G. and Ravigne, V. 2012. The chesnut blight fungus world tour: successive introduction events from diverse origins in an invasive plant fungal pathogen. Mol. Ecol., 21, 3931-3946.

Döken, M.T., Açıkgöz, S., Erincik, Ö., Ertan, E. 2004. Studies in the chestnut growing areas of Aydın-Turkey to determine the incidence of *Cryphonectria parasitica* (Murill) Barr infections (Chestnut Blight) and vegetative compatibility group diversity among the isolates. Türkiye 1. Bitki Koruma Kongresi 8-10 Eylül Samsun.

Elliott, K.J. and Swank, W. T. 2008. Long-term changes in forest composition and diversity following early logging (1919-1923) and the decline of American chestnut (*Castanea dentata*). Plant Ecol., 197, 155-172.

Erincik, Ö., Döken, T.M., Açıkgöz, S. and Ertan, E. 2003. Frist report for Aydın, Turkey: *Cryphonectria Parasitica* (Murrill.) Barr. Threatens The Chestnut Orchards. J. Turk. Phytopath., 32, 41-44.

Erincik, O., Ozdemir, Z., Durdu, O.F., Doken, M.T. and Acikgoz, S. 2011. Diversity and spatial distribution of vegetative compatibility types and mating types of

Cryphonectria parasitica in the Aydın Mountains, Turkey. Eur. J. Plant. Pathol., 129, 555-566.

EPPO, 2005. European and mediterranean plant protection organization. *Cryphonectria Parasitica.* Bulletin, 35, 295-298.

Evans, A.M. And Finkral, A.J. 2010. A new look at spread rates of exotic diseases in North american forests. Forest Sci., 56, 453-459.

Fulbright, D.W. 1984. Effect of eliminating ds-RNA in hypovirulent *Endothia parasitica*. Phytopathology, 74, 722–724.

Glass, N.L., Kuldau, G.A. 1992. Mating type and vegetative incompatibility in filamentous ascomycetes. Annual review of phytopathology, 30, 201-24.

Grente, M.J. 1965. Les formes hypovirulentes *d'Endothia parasitica* et les espoirs de lutte contre le chancre du châtaignier. Académie d'agriculture de France, 51, 1033-1036.

Griffin, G.J. 1986. Chesnut blight and its control. Horticultural Reviews, 8, 291-336.

Griffin, G.J., Robbins, N., Hogan, E.P. and Farıas-Santopıetro, G. 2004. Nucleotide Sequence Identification Of Cryphonectria Hypovirus Infecting *Cryphonectria Parasitica* on Grafted American Chesnut Trees 12-18 Years After Inoculation With A Hypovirulent Strain Mixture. Forest. Path., 34, 33-46.

Gürer, M., Turchettı, T., Bıagıonı, P. and Maresi, G. 2001. Assessment and characterisation of turkish hypovirulent isolates of *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. Phytopathology, 40, 265–275.

Havir, E.A. and Anagnostakis, S.L. 1983. Oxalate production by virulent but not by hypovirulent strains of *Endothia parasitica.* Physiol. Plant Patho., 23, 369-376.

Heiniger, U. and Rigling, D. 1994. Biological control of chestnut blight in Europa. Annu. Rev. Phytopathology, 32, 581-599.

Heiniger, U. and Rigling, D. 2009. Aplication of the *Cryphonectria hypovirus* (CHV-1) to control the chesnut blight, experience from Switzerland. Acta Horticulturae, 815, 233-245.

Hoegger, P.J., Rigling, D., Holdenrieder, O. and Heiniger, U. 2000. Genetic structure of newly established populations of *Cryphonectria parasitica.* Mycol. Res., 104, 1108-1116.

Hoegger, P.J., Heiniger, U., Holdenrieder, O. and Rigling, D. 2003. Differential transfer and dissemination of hypovirus and nuclear and nuclear and mitochondrial genomes of a hypovirus-infected *Cryphonectria parasitica* strain after introduction into a natural population. Appl. Environ. Microb., 69, 3767-3771.

Jakobi, S.R. 2005. The Effects Of Hypovirülent *Cryphonectria Parasitica* Inoculum, Developmental Stages of Cankers,a Time of Year of Wounding on The Survival of The American Chestnut. UMI. United States.

Jaynes, R.A. and Elliston, J.E. 1980. Pathogenicity and canker control by mixtures of hypovirülent strains of *Endothia parasitica* in American chestnut. Phytopathology, 70, 453–456.

Juhásová, G., Adamcikova, K. and Robin, C. 2005. Results of biological control of chesnut blight in Slovakia. Phytoprotection, 86, 19-23.

Katırcıoğlu Y.Z., Akıllı and Maden, S. 2010. Karadeniz Bölgesinde Kestane Kanserinin Biyolojik Mücadelesi Üzerinde Araştırmalar (2007-2010). Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi. 06B4347004, Ankara.

Kaplan, C. and Turanlı, T. 2017. Monitoring of Seasonal Fluctuation of Goath Moth, *Cossus cossus* L. (Lepidoptera: *Cossidae*), In Chestnut Plantations In İzmir

And Manisa, Turkey. 6. İnternational Chesnut Symposium. Octaber 9-13/2017-Samsun-Turkey.

Kazempour, M.N., Khodaparast, S.A., Arefipour, M., Salehhi, M., Amanzadeh, B., Ramazanie, M. and Shiraz, B.K. 2006. Occurrence of *Cryphonecteria parasitica* the casual agent of chesnut blight in. Iran. Plant Pathol., 55,815-815.

Krstin, L., Novak-Agbaba, S., Rigling, D., Krajacić, M, and Curkovic Perica, M. 2008. Chesnut blight fungus in Croatia: diversity of vegetative compatibility types, mating types and genetic variability of associated *Cryphonectria hypovirus* 1. Plant Pathol., 57, 1086-1096.

Kunova, A., Pizzatti, C., Cerea, M., Gazzaniga, A. and Cortesi, P. 2016. New Formulation And Delivery method of *Cryphonectria parasitica* for biological control of chesnut blight. Journal of Applied Microbiology, 122, 180-187.

Lee, S.H., Park, J.Y., Kim, K.H. and Lee, J.K. 2005. Characteristics of hyovirulent strains of chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica* isolated in Korea. Proceedings of Third International Congress.Acta Hortic., 693, 611-616.

Lin, H., Lan, X., Liao, H., Parsley, T.B., Nuss, D.L. and Chen, B. 2007. Genome sequence, full-length ifectious cDNA clone, and mapping of viral double-stranded RNA accumulation determinant of hypovirus CHV1-EP721. J. Virol., 81,1813-1820.

Liu, Y.C. and Milgroom, M.G. 1996. Correlation between hypovirus transmission and the number of vegetative incompatibility (vic) genes different among isolates from a natural population of *Cryphonectria parasitica.* Phytopathology, 86, 79-86

Macdonald, W.L. and Fulbright, D.W. 1991. Biological control of chesnut blight- use and limitations of transmissible hypovirulence. Plant Dis., 75, 656-661.

Mangıl, E. 2017. Doğu Karadeniz Bölgesinde Kestane Kanseri Etmeni *Cryphonectria parasitica'*nın Vejetatif Uyum Tipi Çeşitliliğinde Eşeyli Üremenin Rolü. Adnan Menderes Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 55 s., Aydın.

Marra, R.E. and Milgroom, M.G. 2001. The mating system of the fungus *Cryphonectria parasitica:* selfing and self-incompatibility. Heredity, 86, 134-143.

Milgroom, M.G. and Cortesi, P. 1999. Analysis of population structure of the chesnut blight fungus based on vegetative incompatibility genotypes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96, 10518-10523.

Milgroom, G.M. and Cortesi, P. 2004. Biologıcal Control Of Chestnut Blight With Hypovirülence; A Critical Analysis. Aninu. Rev. Phytopathol., 42, 311-338.

Milgroom, M.G., Sotirovski, K., Spica, D., Davis, J.E., Brewer, M.T., Milev, M., and Cortesi, P. 2008. Clonal population structure of the chesnut blight fungus in expanding ranges in southeastern Europe. Mol. Ecol., 17, 4446-4458.

Murrill, W.A. 1906. Futher remarks on a serious chesnut disease. J. N.Y. Bot. Gard., 7, 203-211.

Myburg, H., Gryzenhout, M., Wingfield, B.D., Milgroom, M.G., Kaneko, S. And Wingfield, M.J. 2004. DNA sequence data and morphology define *Cryphonectria* species in Europe, China and Japan. Can. J. Bot., 82, 89-98.

Peever, T.L., Liu, Y.C., Cortesi, P. and Milgroom M.G. 2000. Variation In Tolerance and Virülence in The Chestnut Blight Fungus-Hypovirüs Interaction. Applied and Enviromental Microbiology, 66, 4863-4869.

Perlerou, C. and Diamandis, S. 2006. Identification and geographic distribution of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* and occurrence ofhypovirulence in Greece. Forest Pathology, 36, 413–421.

Prospero, S. and Rigling, D. 2012. Invasion genetics of the chesnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in Switzerland. Phytopathology, 102, 73-82.

Prospero, S., Lutz, A., Tavadze, B., Supatashvili, A. and Rigling, D. 2013. Discovery of a new gene pool and a high genetic diversity of the chesnut blight fungus *Cryphonecteria parasitica* in Caucasian Georgia. Infect. Genet. Evol., 20, 131-139.

Radocz, L. 1999. Chestnut blight and the hypovirulence in the Carpathian basin. Acta Horticulturae 494, ISHS Press, Leuven-Belgium, 501- 508.

Radócz, L. 2001. Study of subpopulations of the chestnut blight (*Cryphonectria parasitica*) fungus in the Carpathian basin. Forest Snow and Landscape Research, 76, 368–372.

Rigling, D. and Prospero, S. 2017. *Cryphonecteria parasitica,* the causal agent of chesnut blight:invasion history, population biology and disease control. Aceppted Article,1-50.

Rigling, D. and Prospero, S. 2018. *Cryphonectria parasitica*, the casual agent of chestnut blight: invasion history, population biology and disease control. Molecular Plant Pathology, 19(1), 7-20.

Risteski, M., Milev, M., Rigling, D., Milgroom, M.G., Bryner, S.F. and Sotirovski, K. 2013. Distribution of chesnut blight and diversity of *Cryphonectria parasitica* in chesnut forests in Bulgaria. Forest Pathol, 43, 437-443.

Roane, M.K., Griffin, G.J. and Elkins, J.R. 1986. Chestnut blight, other *Endothia* diseases, and the genus Endothia. PS Monograph Series.

Robin, C., Anziani, C. and Cortesi, P. 2000. Relationship between biological control, incidence of hypovirulence, and diversity of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* in France. Phytopathology, 90, 730-737.

Robin, C. and Heiniger, U. 2001. Chesnut blight in Europe: diversity of *Cryphonectria parasitica*, hypovirulence and biocontrol. Forest Snow and Landscape Research, 76, 361-367.

Robin, C., Capdevielle, X., Martin, M., Traver, C. and Colinas, C. 2009. *Cryphonectria parasitica* vegetative compatibility type analysis of populations in South-western France and northern Spain. Plant Pathol, 58, 527-535.

Robin, C., Lanz, S., Soutrenon, A. and Rigling, D. 2010. Dominance of natural over released biological control agents of the chesnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in south-eastern France is associated with fitness-related traits. Biol. Control, 53, 55-61.

Short, D.P.G., Double, M., Nuss, D.L., Stauder, C.M., MacDonald, W. and Kasson, M. T. 2015. Multilocus PCR assays elucidate vegetative incompatibility gene profiles of *Cryphonectria parasitica* in the United States. Apply. Environ. Microb., 81, 5736-5742.

Sotirovski, K., Rigling, D., Heinger, U. and Milgroom M.G. 2011. Variation in virulence of *Crphonectria hyphovirus* 1 in Macedonia. For. Pathol., 41, 59-65

Turchetti, T. and Maresi, G. 2008. Biological control and management of chesnut diseases. In: Ciancio, A. and Mukerji, K. J. (eds) Integrated Management of Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria (ıntegrated Management

of Plant Pests and Diseases, Volume 3). Springer Science, Dordrecht, The Netherlans, 85-118.

Van Alfen, N.K., Jaynes, R.A. and Bowman, J.T. 1978. Stability of *Endothia parasitica* hypovirülence in culture. Phytopathology, 68, 1075-1079.

Zamora, P., Martin, A.B., Rigling, D. and Diez, J.J. 2012. Diversity of *Cryphonectria parasitica* in western Spain and identification of hypovirus-infected isolates. Forest Pathol., 42, 412-419.

Zamora, P., Martín, A.B., San Martín, R., Martínez-Álvarez, P. And Diez, J.J. 2014. Control of chestnut blight by the use of hypovirulent strains of the fungus *Cryphonectria parasitica* in northwestern Spain. Biological Control, 79, 58–66.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Deniz ÇAKAR

Doğum Yeri : Tarsus

Doğum Tarihi : 03.11.1986

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Adres : Sağlık mh. Dodurga cd. No:12G/3 Merkez/Bolu

Tel : 5332940224

E-posta : denizcakar@ogm.gov.tr

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Tarsus Cumhuriyet Lisesi / 2003

Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Biyoloji Bölümü/2008

Yüksek Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü (Tezsiz Yüksek Lisans)/2009

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

2009-2009 Milli Eğitim Bakanlığı /Gökçeada Anadolu Öğretmen Lisesi-Biyoloji Öğretmeni

2010-2010 Milli Eğitim Bakanlığı / Tarsus Akdeniz Lisesi-Biyoloji Öğretmeni

2012-2013 Aile ve Sosyal Politikalar Bakanlığı / Tarsus Kaymakamlığı- Sosyal Yardım ve İnceleme Görevlisi

2013- Devam ediyor. Orman ve Su İşleri Bakanlığı / Orman Genel Müdürlüğü/Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü- Biyolog

Proje ve Yayınları (SCI ve diğer)

Tamamlanmış Araştırma Projeleri

Türk Fındığı (*Corylus colurna* L.) Doğal Popülasyonlarında Genetik Çeşitliliğin SSR Belirteçleri Yardımıyla Ortaya Konulması ve Gen Koruma Programının Oluşturulması (2014-2017)-Yürütücü

Destekleyen kuruluş: Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

İzmir ili sınırları içinde seçilen kestane bahçelerinde kestane kanseri hastalığı (*Cryphonectria parasitica* (Murr.)' nın hipovirülent izolatlarla biyolojik savaşımı. –Araştırmacı

Destekleyen kuruluş: Çankırı Karatekin Üniversitesi: BAP (2015-2017)

Devam Eden Araştırma Projeleri

Bolu ve İzmir Orman Bölge Müdürlüğü Ormanlarında Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica* (Murr.)) Hastalığının Hipovirülent İzolatlarla Biyolojik Mücadesi (2015-2018 devam ediyor)-Yürütücü

Destekleyen kuruluş: Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

Uluslararası kongrelerde sunulan bildiriler

Akıllı, S., Çiğdem, U.S., Çakar, D., Katırcıoğlu, Y.Z., Maden, S., Rigling D. 2017. Importance Of Phytophthora Dieback Of Chestnut Trees In Marmara And Aegean Regions Of Turkey. 6. International Chestnut Symposium. October 9-13,2017- Samsun, Turkey.

Temel, F., Değirmenci, Ö.F., Ateş, A., Çakar, D., Arslan M. and Kaya, Z. 2017. Genetic Variation in Natural Turkish Hazelnut (*Corylus colurna* L.) Populations in Turkey. IX. International Congress on Hazelnut. 15-19 Augst 2017, Samsun Turkey.

Akıllı, S., Katırcıoğlu, Y.Z., Çakar, D. And Maden, S. 2017. Biological Control Of Chesnut Blight (*Cryphonectria parasitica*) in Selected Areas Of İzmir Province by Hypovirulent Strains. Internatıonal Conference On Adriculture, Forest, Food Science And Technologies. 15-17 May, Kapadokya Turkey.

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

Temel, F., Arslan M. and Çakar, D. 2017. Status of Natural Turkish Hazelnut (*Corylus colurna* L.) Populations in Turkey. Artvin Coruh University. Journal of Forestry Faculty. ISSN:2146-1880, e-ISSN:2146-698X, vol:18, Issue:1, Pages:1-9