

Davut Soner AKGÜL¹
Yüksel SAVAŞ²
Nurdan GÜNGÖR SAVAŞ²
Adem YAĞCI³

¹ Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 01250, Adana/Türkiye

² TC GTHB, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü 45125, Manisa / Türkiye

³ Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 60250, Tokat / Türkiye

Sorumlu Yazar: sakgul@cu.edu.tr

Kontrollü Koşullarda Sıcak Su Uygulamalarının Botryosphaeriaceae Funguslarının Büyümesine, Asma Kalem ve Çeliklerinde Göz Canlılığına Etkileri

Effects of Hot Water Treatments on Growth of Botryosphaeriaceae Fungi and Bud Vitality of Grape Scion and Rootstocks in Controlled Conditions

Alınış (Received):31.08.2015

Kabul tarihi (Accepted): 01.02.2016

Anahtar Sözcükler:

Botryosphaeriaceae, sıcak su, asma anaçları, çeşitler

Key Words:

Botryosphaeriaceae, hot water, grapevine rootstocks, cultivars

ÖZET

Bu çalışmada, Botryosphaeriaceae familyasından dört fungus türü (*Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae* ve *Neofusicoccum parvum*), beş asma anacı (1103P, 110R, 41B, Kober 5BB ve Ramsey) ve 10 asma çeşidinin (Alphonse Lavallée, Cabernet Sauvignon, Cardinal, Çal Karası, Hamburg Misketi, İtalya, Pembe Gemre, Sultani Çekirdeksiz, Trakya İlkeren ve Yalova İncisi) *in vitro* ve kontrollü koşullarda sıcak su uygulamalarına duyarlılıkları test edilmiştir. Fungusların miselyal agar disklerini içeren santrifüj tüpleri kuru blok ısıtıcıda 47, 48, 49, 50, 51 ve 52 °C'de, 30, 45 ve 60 dakika süreyle tutulmuşlardır. Fungal diskler daha sonra patates dekstroz agar besi yerine transfer edilerek 24°C'de 5 gün süreyle gelişmeye bırakılmıştır. Denemenin ikinci bölümünde 30 cm boyundaki asma çubukları, 30 ve 45 dk süreyle 51, 52 ve 53°C'lik sıcak su uygulamasına maruz bırakılmış ve ardından 15°C'lik soğuk su banyosuna alınmışlardır. Bu uygulamadan sonra anaç ve çeşitlere ait çubuklar, iklim odası koşullarındaki (24°C sıcaklık, 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık, %85 nispi nem) köklendirme ortamına dikilmişler ve 15 gün sonra göz canlılığına göre değerlendirilmişlerdir. *In vitro*'da sıcak su uygulamalarına en dayanıklı tür *L. theobromae* olurken, en duyarlı tür *D. seriata* olmuştur. *D. seriata* ve *L. theobromae* için lethal sıcaklık ve zaman kombinasyonu sırasıyla 47°C-30 dk ve 51°C-45 dk olarak bulunmuştur. Anaç ve çeşitlerden ise İtalya ve Kober-5BB bu uygulamalara en toleran olarak gözlenirken, 53°C'de 45 dakikalık uygulamalar bu çeşitlerin göz canlılığında sırasıyla %37.3 ve %46.7'lik azalmaya yol açmıştır.

ABSTRACT

Sensitivity of four Botryosphaeriaceae fungi species (*Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae* and *Neofusicoccum parvum*), five grapevine rootstocks (1103P, 110R, 41B, Kober 5BB and Ramsey) and ten grapevine cultivars (Alphonse Lavallée, Cabernet Sauvignon, Cardinal, Cal Karasi, Hamburg Muscat, Italia, Pembe Gemre, Sultana Seedless, Trakya İlkeren and Yalova Incisi) to hot-water treatments (HWTs) were tested *in vitro* and under controlled conditions. Centrifuge tubes (containing fresh mycelial agar plugs) were held on heating block for 30, 45 and 60 minutes at 47, 48, 49, 50, 51, 52 °C. Fungal discs were then transferred to potato dextrose agar to allow mycelial growth at 24°C for 5 days. In a second experiment, 30-cm-grapevine canes were HWT treated at 51, 52 and 53°C for two periods: 30 or 45 minutes, then plunged into a cool bath at 15°C for 10 minutes. Rootstocks and cultivars were planted immediately after the treatment in rooting benches for 15 days to evaluate bud vigour under greenhouse conditions (at 24°C and 85% RH for 16/8h day/night). The most sensitive fungal species to HWT *in vitro* was *D. seriata*, while the most resistant was *L. theobromae*. The lethal temperature and time combinations for *D. seriata* and *L. theobromae* were 47°C-30 min and 51°C-45 min respectively. Italia and Kober 5BB were the most tolerant varieties to HWT and treatments of 53°C-45 min reduced the vigour rates to 37.3% and 46.7% for Italia and Kober 5BB, respectively.

GİRİŞ

Asmalarda Botryosphaeriaceae familyası funguslarının neden olduğu geriye ölüm, lokal dal kurumaları ya da asma kangreni hastalığı ülkemiz bağlarını tehdit eden önemli bir hastalıktır. Genellikle geniş budama yaralarından asmaya giriş yapan bu funguslar, odunsu dokulara yerleştikten sonra ilerlemekte ve bu dokularla bağlantılı olan dalların kurummasına sebep olmaktadır. Asmadaki kuruma belirtilerinden önce, enfekteli odunsu sürgünlerden oluşan yapraklarda önceleri klorotik lekeler ve daha sonra düzensiz nekrotizasyonlar görülür. Bu olaylar sonucunda hastalıklı asmalar birkaç yıl içerisinde kuruyarak ölmektedirler. Çoğu zaman çelik, kalem veya aşılı asma fidanlarında latent halde bulunan funguslar, bu materyallerde farkında olunmaksızın geniş alanlara yayılmakta öncelikle dikilmiş asma fidanları ya da daha sonra yetişkin asmaların kurummasına yol açmaktadırlar (Phillips, 1998). Türkiye bağlarında şimdiye kadar 4 farklı Botryosphaeriaceae fungus türü tespit edilmiş olup, bu türlerin *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae* ve *Neofusicoccum parvum* oldukları bildirilmiştir (Akgül ve ark., 2014). Bu türlerin neden olduğu kurumaların özellikle ülkemiz asma fidancılığında önemli bir problem olduğu düşünülmektedir. Patojenlerin vejetatif üretim materyallerinden arındırılması, sağlıklı asma fidanı üretimi için gerekli ön koşullardan biri olup, doku kültürü dışındaki en geçerli ve pratik yöntemlerden biri, asma çubuklarının belirli bir süre sıcak suya maruz bırakılmasıdır. Aşılı asma fidanı üretiminde, yaprak dökümünden sonra omcalardan alınan dormant haldeki kalem veya çelikler, öncelikle fungusitli suda 8, 15 veya 24 saat bekletilir ve ardından, +4°C'de kış boyunca depoda muhafaza edilirler (Becker, 1971; Çelik ve ark., 1998; Rombough, 2002). Aşılama zamanı depodan çıkarılan materyaller 2-8 gün süre ile oda sıcaklığında bekletildikten sonra 24-72 saat soğuk suda bekletilirler (Fidan, 1985; Akman ve ark., 1989; Sucu ve Yağcı, 2013). Aşılama öncesi dormant materyaller 50°C'lik sıcak suda 30-45 dakika bekletildikten sonra derhal 10-15°C'lik soğuk suya alınır ve iyice soğuduktan sonra masa-başı aşılama işlemine geçilir. Bu işlem sayesinde içsel dokulardaki bakteriyel ve fungal patojenler eradike edilebilmektedir (Burr ve ark., 1996; Fourie ve Halleen 2004). Ancak sıcak su uygulamalarındaki süre ve suyun sıcaklık derecesi, patojenin türü ve asmanın çeşidine göre değişiklik göstermektedir. Ophel ve ark., (1990)'a göre bağ kanseri hastalığı etmeni *Agrobacterium vitis* ile bulaşık asma çubukları, 50°C'lik sıcak suda 30 dakika

tutulduğunda bu materyallerin patojenden arındırıldığı bildirilmiştir. Ancak Gramaje ve ark., (2008), asmalarda Esca sendromu ile ilişkili fungal patojenlerden *Phaeomoniella chlamydospora* ve *Phaeoacremonium* spp türlerini asma çubuklarından arındırmak için 51°C'nin üzerindeki sıcaklıkların uygulamaya koyulması gerektiğini ifade etmişlerdir. Buna benzer şekilde Amerikan asma anaçları ve standart üzüm çeşitleri de bu değişkenlerden etkilenmektedirler. Ilgın ve Gürsoy (2005) tarafından yapılan bir çalışmada 110R, 41B ve 5BB Amerikan asma anaçları ve Alphonse L., Cardinal ve İtalya çeşitlerine ait çelik ve kalemlerin, 50°C'lik sıcak suda 30, 45 ve 60 dakika bekletilerek, materyaller üzerindeki göz canlılığı ve fidan randımanına olan etkileri incelenmiştir. Denemeye alınan 5BB Amerikan asma anacı, sıcak su uygulamalarından olumsuz yönde en çok etkilenen anaç olmuştur. Diğer çeşitlerde 30 dk'lık süre herhangi bir problem yaratmazken 45 dk'lık bekleme süresi sonunda büyük oranda canlılık kaybı gözlenmiştir. Graham, (2006)'ya göre farklı iklim koşullarında bulunan asma çeşitleri ve bunlar üzerinde hastalığa neden olan patojenlerin dahi sıcak su uygulamalarından etkilenme durumları birbirinden farklılık gösterebilmektedir. Örneğin serin iklimlerde büyüyen asma çeşitleri, sıcak iklimde yetişenlere oranla sıcak su uygulamasına daha duyarlıdır. Aynı şekilde serin bölgeden izole edilen fungal patojenler, sıcak bölgelerden izole edilenlere göre daha düşük sıcaklıklarda eradike olabilmektedirler. Bu çalışmalardan ortaya çıkan sonuçlara göre sağlıklı bir asma fidanı üretebilmek için patojenin türünden asmanın çeşidine ve hatta bunların elde edildiği lokasyonlar da dahil olmak üzere bir çok faktörün dikkate alınması gerektiği anlaşılmaktadır. Ülkemizde sıcak su uygulamalarının bazı asma çeşitlerine olan etkilerinin araştırıldığı benzer çalışmalar bulunmasına rağmen *in vitro* koşullarda Botryosphaeriaceae familyası funguslarına olan etkisinin incelendiği bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Bu fungusların asma kalem ve çeliklerinde miselyum formu ve latent halde var olduğu dikkate alınırca, sıcak su uygulamalarının bunların canlılığına ve günümüzdeki önemli asma anaçları ve çeşitlerine olan etkisinin ortaya koyulması gerekmektedir. Bu nedenle söz konusu çalışmada; farklı Botryosphaeriaceae türü funguslar, önemli Amerikan asma anaçları ve standart üzüm çeşitlerinin kontrollü koşullarda sıcak su uygulamalarına duyarlılıkları ayrı ayrı araştırılmıştır. Buradan elde edilen bulguların daha sonra planlanan kombine çalışmalara yön vermesi öngörülmüştür.

MATERYAL ve YÖNTEM

Botryosphaeriaceae türlerinin *Invitro*'da termal ölüm seviyelerinin belirlenmesi

Çalışmanın bu bölümünde Manisa'nın Horozköy semtinden izole edilerek tanısı yapılmış ve patojenitesi tamamlanmış 4 farklı Botryosphaeriaceae türü (*B. dothidea*, *D. seriata*, *L. theobromae* ve *N. parvum*) ve her bir türden bir izolat kullanılmıştır (Çizelge 1).

Fungal kültür koleksiyonundan patates dextroz agar (PDA,Merck) besi ortamına ekilen kültürler 24°C'de 7 gün inkübe edilmiş ve bu kültürlerden 5 mm'lik dairesel miseliyal diskler kesilmiştir. Bu diskler, içerisinde 1 ml steril distile su bulunan 1.5 ml'lik santrifüj tüplerine koyulmuş ve daha sonra 47, 48, 49, 50, 51, 52 ve 53°C'deki kuru blok ısıtıcı/soğutucu (Biosan CH 3-150,

Combitherm-2)'da 30, 45 ve 60 dakika süreyle tutulmuşlardır. Daha sonra santrifüj tüpleri derhal cihazın 15°C'lik bölmelerine yerleştirilmiş ve burada da 4-5 dakika bekletildikten sonra tüplerdeki miseliyal agar diskleri (suyu giderildikten sonra) PDA besi ortamına ekilmişlerdir (Gramaje ve ark., 2008). İnkübatörde 24°C'de karanlık ortamda 6 gün süreyle inkübe edilen kültürlerin gelişimi gözlenmiş, koloni çapları ölçülerek kaydedilmiş ve termal ölüm sıcaklıkları belirlenmiştir. Deneme 5 tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre tasarlanmış, her tekerrürde 1 tüp yer almış ve farklı zamanlarda 2 kez yinelenmiştir. Kontrol tüplerine misel diskleri koyulmuş, aynı şekilde diğer uygulamalarda olduğu gibi aynı sürelerde ancak oda sıcaklığındaki suda (yaklaşık 23°C) bekletilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan tescilli fungal izolatlar
Table 1. Registered fungal isolates used in this study

Tür Adı	İzolat Kodu	İzole Edildiği Yer	İzole Edilen Asma Çeşidi	Gen Bankası Kayıt No
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	MBAi25AG	Horozköy / Manisa	Red Globe	KF182329
<i>Diplodia seriata</i>	MBAi23AG	Horozköy / Manisa	Sultan 7	KF182328
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	MBAi28AG	Horozköy / Manisa	110 R	KF182331
<i>Neofusicoccum parvum</i>	MBAi27AG	Horozköy / Manisa	Red Globe	KF182330

Bazı asma anaçları ve üzüm çeşitlerinin sıcak su uygulamalarına duyarlılıklarının belirlenmesi

Denemenin bu bölümü, laboratuvar ve kontrollü iklim odası koşullarında (24°C, %85 nispi nem, 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık), 5 farklı asma anacı (110-Richter, 1103-Paulsen, 41B, Kober 5 BB ve Ramsey), ve 10 farklı standart üzüm çeşidi (Alphonse Lavallée, Cabernet Sauvignon, Cardinal, Çal Karası, Hamburg Misketi, İtalya, Pembe Gemre, Sultanı Çekirdeksiz, Trakya İlkeren ve Yalova İncisi) ile yapılmıştır. Bu çeşitlere ait 30 cm uzunluğundaki 4-5 gözlü kalem ve çelikler, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü damızlık parsellerinden alınmıştır. Bu materyaller 1 gece süreyle Iprodione etkili maddeye sahip fungusit süspansiyonunda (75g /100 L su) bekletilmiş ve 2 ay boyunca +4°C'deki depoda muhafaza edilmişlerdir. Çelik ve kalemler depodan çıktıktan sonra 2 gün oda sıcaklığında tutulmuş ve ardından 10 L su kapasiteli benmari cihazındaki (Memmert, Germany) 51, 52 ve 53°C'deki suda 30 ve 45 dakika süreyle bekletilmişlerdir. Daha önce yapılmış bazı çalışmalarda (Rooney ve Gubler (2001), asma gövde hastalıklarına neden olan bazı fungal patojenlerin (*Phaeomoniella chlamydospora* ve *P. aleophilum*), 50°C'lik sıcaklık ve 30 dakikalık bekletme sürelerinden etkilenmedikleri göz önünde tutularak bu çalışmada 50°C'nin üzerindeki sıcaklıkların denenmesine karar verilmiştir.

Ardından bu materyaller 15°C'lik suda 10-15 dakika soğutulduktan sonra perlite dikilerek gözlerin sürmesi sağlanmış ve 3 hafta sonra göz canlılığı (%) yönünden değerlendirilmiştir. Kalem ve çelikler iklim odasında 24°C'de, %80 nispi nemde, 12 saat aydınlık/karanlık koşullarda bekletilmiştir. Denemeler 4 tekerrürlü olacak şekilde tasarlanmış, her tekerrürde üçer adet olmak üzere her bir sıcaklık ve her bir süre için 12 adet kalem veya çelik kullanılmıştır. Çalışma 2012 yılı bağ sezonundan elde edilen kalem ve çeliklerle yapılmış, farklı zamanlarda 2 kez tekrarlanmış ve iki tekrarın ortalaması alınarak rakamlara varyans analizi yapılmıştır.

İstatistiksel analizler

Çalışma tesadüf parselleri bölünen bölünmüş parseller deneme deseninde (15 çeşit, 3 farklı sıcaklık derecesi ve 2 farklı sıcaklık süresi) 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 10 bitki olacak şekilde düzenlenmiştir. Veriler JUMP 7.0.1 versiyonlu istatistik programında varyans ve regresyon analizine tabii tutulmuştur. Ortalamaların karşılaştırılmasında LSD (0,05) testi uygulanmıştır. Fungal koloni gelişimlere ait ortalamalara varyans analizi yapılmamış sadece lethal dereceler not edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Botryosphaeriaceae türlerinin *in vitro*'da termal ölüm seviyeleri

Santrifüj tüplerinde sıcak su uygulamalarına maruz bırakılan 4 farklı Botryosphaeriaceae türü, birbirlerinden oldukça farklı seviyelerde hassasiyet veya tolerans göstermişlerdir. Bu türlerin tamamı, uygulama süresine bakılmaksızın 52°C'de yaşamını yitirmişler, diğer yandan sıcaklık değerine bakılmaksızın 60 dakikalık bekleme süresi, tüm türler için öldürücü olmuştur (Çizelge 2).

Çalışmada sıcak su uygulamasına karşı en hassas türlerin *Diplodia seriata* ve *Neofusicoccum parvum* oldukları saptanmıştır. *D. seriata*'nın denemeye alınan izolatu (MBAi23AG) 47°C - 30 dakikada, *N. parvum* (MBAi27AG) ise 48° C - 0 dakikada canlılığını kaybetmiştir. Ancak miseliyal gelişim bir ölçüde yavaşlarsa da *N. parvum* 47°C - 45 dakikada canlı kalmayı başarabilmiştir. Buna karşın sıcak su uygulamalarına en toleran türün ise *Lasiodiplodia theobromae* (MBAi28AG) daha sonra *Botryosphaeria dothidea* (MBAi25AG) olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Botryosphaeriaceae izolatlarına yapılan sıcak su uygulamalarıyla, farklı günlerde ölçülen ortalama koloni çapı değerleri (mm)
Table 2. Mean colony diameter values measured in different days after hot water treatments to the Botryosphaeriaceae isolates

Sıcaklık (°C)	Botryosphaeria dothidea								
	Uygulama Süreleri (dk)								
	30			45			60		
	Uygulamadan sonra geçen zaman (gün)								
	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Koloni Çapı (mm)								
Kontrol	51.2	70.2	>90.0	52.6	68.4	>90.0	51.9	69.7	>90.0
47	26.2	70.1	88.4	-	-	-	-	-	-
48	14.9	66.5	82.7	-	-	-	-	-	-
49	11.9	63.7	81.4	-	-	-	-	-	-
50	13.7	62.1	80.1	-	-	-	-	-	-
51	11.3	60.7	82.5	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Diplodia seriata								
Kontrol	59.7	77.5	>90.0	60.1	79.4	>90.0	58.2	77.5	>90.0
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Lasiodiplodia theobromae								
Kontrol	56.5	77.4	>90.0	54.6	80.1	>90.0	57.0	79.2	>90.0
47	39.6	66.7	>90.0	38.6	64.9	>90.0	-	-	-
48	28.1	58.3	>90.0	24.9	50.2	>90.0	-	-	-
49	22.8	45.5	85.9	17.5	39.8	84.8	-	-	-
50	19.3	42.7	81.2	10.5	33.7	77.6	-	-	-
51	15.1	36.1	80.5	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Neofusicoccum parvum								
Kontrol	40.9	65.1	>90.0	39.7	66.0	>90.0	38.6	64.2	>90.0
47	12.0	21.8	37.4	9.1	27.6	35.5	-	-	-
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-

L. theobromae'daki miseliyal gelişim, 51°C'de 30 dakikalık bekleme süresinden sonra bir miktar yavaşlarsa da devam etmiştir. Uygulamadan 2 gün sonra bu

fungusun ortalama koloni çapı 15.1, mm, kontrolde ise 56.5 mm ölçülmüş ve arada 3 kattan fazla büyüme farkı olduğu bulunmuştur. Dördüncü ve altıncı gündeki

uygulama sonrası koloni çapı sırasıyla 36.1 mm ve 80.5 mm, kontrolde ise 77.4 mm ve 90 mm'den büyük olarak kaydedilmiştir. Bu fungusu ait ara sıcaklık değerleri düştükçe kaydedilen koloni çapı ortalamaları, kontrole göre daha düşük ancak 51°C'deki değerlere göre yüksek düzeyde bulunmuştur. Bunun yanı sıra *L. theobromae*, 50°C'lik 45 dakika süren sıcak su uygulamasından da etkilenmemiştir. Fungusun 50°C'de 45 dakika tutulmasıyla, 2 gün sonra kaydedilen koloni çapı ortalaması 10.5 kontrolde ise 54.6 mm olarak kaydedilmiş ve arada 5 kat büyüme farkı olduğu saptanmıştır. Bu şekilde gelişmeye devam eden izolatin

ortalama koloni çapı 6 gün sonra 77.6 mm'ye ulaşmıştır. *B. dothidea*'da ise 51°C – 30 dakikada koloni gelişimi devam etmiş ancak süre 45 dakikaya çıktığında 47°C'lik bir sıcaklık bile fungusun ölümüne neden olmuştur. Yine *L. theobromae*'da olduğu gibi sıcaklık değeri düştükçe *B. dothidea*'nın uygulamalardan etkilenme düzeyi de azalmıştır. Genel olarak tüm türlerin duyarlılığı bekletme sürelerine bağlı olarak artmış, süre uzadıkça canlılık da azalmıştır. Laboratuvar koşullarında yürütülen bu çalışmada, 4 farklı Botryosphaeriaceae türü fungusun lethal sıcaklık ve bekleme süreleri Çizelge 3'de özetlenmiştir.

Çizelge 3. *In vitro* koşullarda Botryosphaeriaceae türleri için lethal sıcaklık (°C) ve bekletme süreleri (dk)
Table 3. Lethal temperature (°C) and duration (min) for Botryosphaeriaceae species in *in vitro* conditions

Türler	Lethal Sıcaklık ve Bekletme Süreleri
<i>Botryosphaeria dothidea</i> (MBAi25AG)	52 °C - 30 dk.
<i>Diplodia seriata</i> (MBAi23AG)	47 °C - 30 dk.
<i>Lasiodiplodia theobromae</i> (MBAi28AG)	52 °C - 30 dk. veya 51 °C - 45 dk.
<i>Neofusicoccum parvum</i> (MBAi27AG)	48 °C - 30 dk.

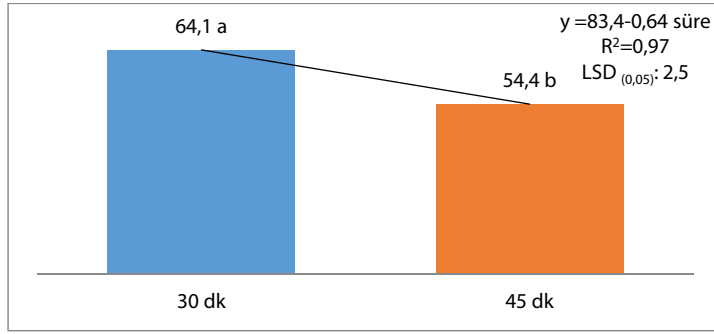
Ülkemizde asma gövde hastalıklarına neden olan fungal patojenlerin sıcak suya olan duyarlılıkları üzerine şimdiye kadar yapılan yegane çalışmada, *Phaeomoniella chlamydosporae*'nin *in vitro*'da canlılığını kaybetmesi için en az 54°C'lik sıcaklık ve 30 dakika sürenin gerekli olduğu bildirilirken, bu etmenin 50°C'de 1 saatlik zaman diliminde dahi canlı kalabildiği saptanmıştır (Poyraz ve Onoğur, 2011). Diğer taraftan *Phaeoacremonium aleophilum* ise ancak 55°C – 30 dk kombinasyonunda canlılığını yitirmiş, 51°C – 60 dakikada halen canlı kalabilmiştir. Gramaje ve ark., (2010)'a göre *Ph. aleophilum* ancak 54°C – 60 dk kombinasyonu sonucu yaşamını yitirdiği belirtilmiştir. Crous ve ark., (2001) herhangi bir belirti göstermeyen 20-25 cm'lik asma çubuklarına 50°C – 30 dakikalık sıcak su uygulaması yapmışlar ve bu materyallerdeki endofitik florayı incelemişlerdir. Sıcak su uygulaması *Cylindrocarpon*, *Botryosphaeria* ve *Macrophomina* gibi birçok endofitik fungusun gelişimini olumsuz etkilemiş ve uygulamadan sonra bunların izole edilme oranını büyük ölçüde azaltmıştır.

Botryosphaeriaceae fungusları asmalardaki budama yaralarından giriş yapan ve daha sonra odunsu dokularda miselyum halinde gelişmeye devam eden endofitik funguslardır. Ancak konukçunun direnç ve strese maruz kalma durumlarına göre bunlar konukçunun ölümüne neden olmakta ya da latent halde yaşamlarına devam ederek hastalık gelişimi ötelenebilmektedir. Crous ve ark., (2001)'e göre Botryosphaeriaceae funguslarının sıcak su uygulamalarından olumsuz etkilemesi muhtemeldir, ancak daha önceki çalışmalardan elde edilen

sonuçlarda görüldüğü gibi asma gövde hastalıklarına neden olan türlerin sıcak suya duyarlılıkları birbirinden farklılık göstermektedir. Luque ve ark., (2014) *Diplodia seriata*, *Dothiorella viticola*, *N. luteum*, *N. parvum*, *N. vitifusiforme* ve *Lasiodiplodiatheobromae*'yi kapsayan 6 farklı Botryosphaeriaceae türünü *in vitro* koşullarda 50-54°C sıcaklıklarda, 15, 30 ve 45 dk süreyle sıcak suya maruz bırakmışlardır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre *Diplodia seriata*, *Dothiorella viticola*, *N. luteum* ve *N. parvum*'un en duyarlı, *L. theobromae* ve *N. vitifusiforme*'nin ise sıcak suya en tolerat türler olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen bulgular bu sonuçlarla oldukça tutarlıdır.

Bazı asma anaçları ve üzüm çeşitlerinin sıcak su uygulamalarına duyarlılıkları

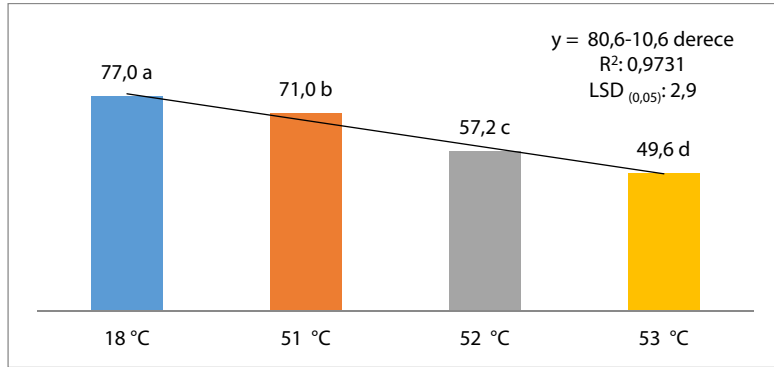
Asma anacı ve üzüm çeşitlerine ait çeliklerin 51, 52 ve 53 °C'de, 30 ve 45 dakika süre ile sıcak suda bekletilmeleri sonucu gözlerde meydana gelen uyanma, sürme ve canlılık oranları ile regresyon denklemleri Şekil 1, 2 ve 3'te; çeşit, anaç, sıcaklık derecesi ve süresine ait değerler ise Çizelge 4'de gösterilmiştir. Sıcaklık su uygulamalarında materyalin su içerisinde bekletilme zamanları ve sürelerinin uyanma üzerine istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Genel olarak 30 dakika su içerisinde bekletmede uyanma oranı %64,1 olurken 45 dakikada bekletmede %54,4 olarak gerçekleşmiştir. Suda bekletme süresi ile sürme oranını gösteren regresyon denklemi ($y = 83,4 - 0,64 \text{ süre}$) ve R^2 değeri (0,9731) verilmiştir. Denklemden anlaşılacağına göre 30 dakikadan sonraki ilave her dakika uyanmada %0,64'lük bir azalışa neden olmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Sıcak suda bekletme süreleri (dk) ve gözlerde uyanma oranları (%) arasındaki ilişki
Figure 1. The relationship between duration of hot water treatment (min) and bud burst rates (%)

Anaç ve çeşitlere ait çelikler birlikte dikkate alındığında su sıcaklığı ile uyanma arasındaki ilişki istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Suyun sıcaklığı arttıkça gözlerde uyanma ve canlılıkta azalmalar meydana gelmektedir. 51 °C'de sürme oranı %71,0 olarak gerçekleşirken bunu %57,2 ile 52 °C ve %49,6 ile 53 °C izlemiştir. Sıcaklık derecesi ile sürme oranını

gösteren regresyon denklemi ($y = 80,6 - 10,6 \text{ derece}$) ve R^2 değeri (0,9731) verilmiştir. Denklemden anlaşılacağına göre 50 °C üzerindeki her 1 °C'lik artış uyanma oranında yaklaşık %10,6'lık bir azalışa neden olabilmektedir. Bu durum R^2 değerinin yüksek olması ile anlamlı bir denklem olduğunu göstermektedir (Şekil 2).

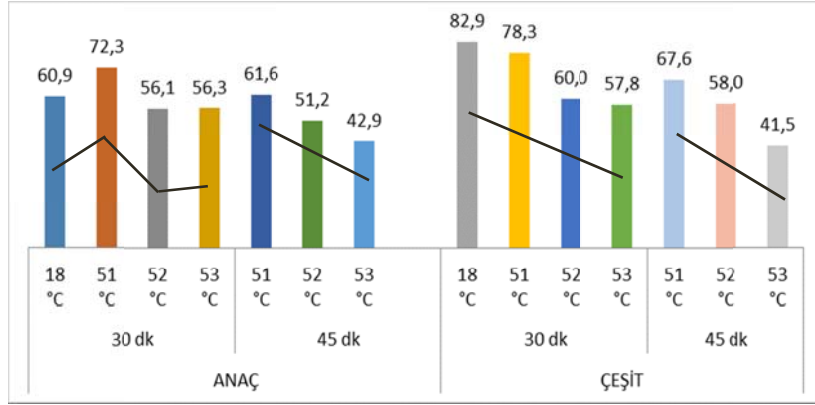


Şekil 2. Farklı sıcaklık dereceleri ve gözlerde uyanma oranı (%) arasındaki ilişki
Figure 2. The relationship between different temperature and bud burst rate (%)

Anaçlardaki 30 dk bekletme süresi hariç diğerlerinde sıcaklık dereceleri ve sürelerinde hem anaç hem de kalemde bulunan gözlerin sürme oranlarında azalmalar meydana gelmiştir. Çeşitlere ait gözler 18 °C suda bekletildiklerinde % 82,9 olan sürme oranları, hem sıcaklık derecesinden hem de bekletme süresinden etkilenmektedir. Nitekim 51 °C'de 30 dk'da %78,3 olan uyanma oranı, aynı sıcaklık derecesinde 45 dk sürede ise % 67,6 olarak elde edilmiştir. Süre arttıkça uyanma oranlarındaki azalış şiddeti daha fazla bulunmuştur. Anaçlardaki 45 dk'lık süre içinde aynı söylenebilir. Fakat anaçların özellikle 30 dk suda bekletilmeleri farklı bir durum göstermektedir. Anaçlara ait çelikler 18 °C'de bekletildiklerinde % 60,9 olan sürme/canlılık oranları özellikle 51 °C'de %20'lik bir artışla %72,3'e yükselmiş,

fakat 52 ve 53 °C'lerde tekrar düşmüştür (Şekil 3). Sıcak su uygulamaları (51 °C'de) anaçlarda sürme/canlılık oranlarını artırırken çeşitlerde kısmi olarak düşürebilmektedir. Bu durum özellikle fidan üretiminde dikkate alınması gerekmektedir.

Çeşit x Derece ve Süre interaksyonu (üçlü interaksyon) önemli bulunmamıştır. İtalya çeşidinde sürme %92,6 ile en yüksek değeri alırken 41 B anacında % 46,7 oranında sürme meydana gelmiştir. *V. vinifera*'ya ait çeşitlerde köklenme ve süreme oranları Amerikan asma anaçlarına göre daha iyi olmaktadır. Bu durum 5 BB anacında en iyi sürme oranı %73,3 ile meydana gelirken, çeşitler içerisinde en düşük sürme oranı veren Cabernet Sauvignon'da bile %79,9 uyanma ile kendini bir daha gösterebilmiştir (Çizelge 4).



Şekil 3. Anaç ve çeşit düzeyinde sıcaklık derecesi ve bekleme süresince gözlerdeki sürme oranları (%)
Figure 3. Bud burst rates (%) of different temperatures and duration at rootstock and cultivar scale

Çizelge 4. Farklı sıcaklıklar ve bekleme sürelerinde anaç ve çeşitlerdeki gözlerin uyanma oranları (%)

Table 4. Bud burst rates (%) of rootstocks and cultivars at different temperatures and duration

Çeşit	Kontrol*	Sıc. Der. (°C)	Bek. Sür. (dk)	Uyan. Oranı (%)	Sıc. Der. (°C)	Bek. Sür. (dk)	Uyan. Oranı (%)	Sıc. Der. (°C)	Bek. Sür. (dk)	Uyan. Oranı (%)
110 R	56,8ef	51 °C	30 dk	62,5	52 °C	30 dk	62,3	53 °C	30 dk	59,3
1103 P	66,7cde			71,3			51,5			56,5
41 B	46,7 f			57,8			42,9			42,5
5 BB	73,3bcd			87,7			68,8			61,7
Ramsey	61,8 de			82,3			55,2			61,6
Alphonse L.	81,7 ab			76,5			65,5			40,7
Cabernet S.	79,9abc			78,4			69,5			61,9
Cardinal	86,8 ab			79,0			51,5			54,9
Çal Karası	81,0 ab			86,0			58,8			66,1
Hamburg Misketi	89,0 a			81,3			64,2			56,5
İtalya	92,6 a			96,3			69,3			69,2
Pembe Gemre	85,1 ab			80,8			65,1			80,0
Sultani Ç.	81,9 ab			73,2			47,7			42,0
Trakya İlkeren	90,5 a			64,9			55,8			45,8
Yalova İncisi	81,8 ab	66,8	52,5	60,6						
110 R		51 °C	45 dk	60,8	52 °C	45 dk	58,3	53 °C	45 dk	30,0
1103 P				639			43,2			25,8
41 B				53,1			41,7			45,0
5 BB				60,9			58,5			60,2
Ramsey				69,0			54,1			53,5
Alphonse L.				64,2			62,7			41,0
Cabernet S.				68,0			44,2			46,5
Cardinal				72,3			60,8			31,2
Çal Karası				70,7			53,6			38,0
Hamburg Misketi				63,3			55,5			33,1
İtalya				77,0			66,2			52,3
Pembe Gemre				68,7			72,8			65,2
Sultani Çekirdeksiz				68,3			64,4			38,3
Trakya İlkeren				64,2			44,8			25,0
Yalova İncisi		59,1	55,0	44,2						

*Kontrolde ait LSD (0,05): 13,8

** Çeşit x Derece x Süre: Ö.D

Genel olarak söylemek gerekirse sıcaklık derecesi ve bekleme süresi arttıkça sürme oranlarında bir azalma meydana gelmektedir. Fakat anaçlarda kontrol uygulaması ile sıcaklık ve süre karşılaştırıldığında; 110 R anacının sürme oranı bütün uygulamalarda (53 °C 45 dakika hariç) artmıştır. Diğer anaçlara bakıldığında 51 °C de 30 dakika bekleme uygulaması bütün anaçlarda sürmeyi kontrole göre artırmış fakat diğer uygulamalar azaltmıştır (41 B ve Ramsey anaçlarında 51 °C 45 dakika hariç). Anaçların herhangi bir aşılama işlemi yapmadan köklenmelerini/canlılıklarını bu oranlarda gerçekleştirmeleri literatürle uyum içerisinde. Çalışkan (1982) tarafından asma anaçlarının bazı özelliklerinin incelendiği bir çalışmada (gelişme kuvveti, köklenme, masa başı ve bağda aşı tutma oranları ile üzerine aşıli çeşidi olgunlaştırma seviyesi); anaçların köklenme oranını 41 B anacının az köklenme grubunda (%25'den az), 110 R anacının orta köklenme grubunda (%26-50 arasında) ve 5 BB ve 1103 Paulsen anacının ise iyi köklenme grubunda (%50-71) olduğunu bildirmiştir. 110 R ve 41 B anaçları genelde orta veya az köklenen anaçlar grubuna girdiklerinden kontrolde de uyanma az olmuş, bunun yanında 5 BB ve 1103 Paulsen anaçlarında genelde köklenme daha kolay olduğu için sürmede de benzer durumlarla karşılaşmıştır. *Vitisvinifera* türü içerisine giren çeşitlerde genelde sürme ve köklenme problemi bulunmamaktadır. Nitekim çeşitlerin kontrol uygulamasına bakıldığında sürme oranının %79,9 (Cabernet Sauvignon) ile %92,6 (İtalya) arasında olduğu görülmektedir. Fakat çeşitlere ait kalemlere uygulanan sıcak su uygulamaları hem 30 hem de 45 dakika süreler göz önüne alındığında çeşitlerin sürme oranını düşürmüştür (İtalya 51 °C, 30 dakika hariç). Çeşitlere göre bazı dalgalanmalar olsa bile genel olarak sıcaklık derecesi ve süresi arttıkça sürme oranı bütün çeşitlerde azalmıştır.

Ilgın ve Gürsoy (2005) yaptıkları bir çalışmada 110R, 41B ve 5BB Amerikan asma anaçları ve Alphonse L., Cardinal ve İtalya çeşitlerine ait çelik ve kalemlerin 50°C'lik sıcak suda 30, 45 ve 60 dakikalık sürelerle bekleme sürelerinin materyaller üzerindeki göz

canlılığı ve fidan randımanına olan etkileri incelenmiştir. Denemeye alınan 5BB Amerikan asma anacı sıcak su uygulamalarından olumsuz yönde en çok etkilenen anaç olmuştur. Diğer çeşitlerde 30dk'lık süre herhangi bir problem yaratmazken 45dk'lık bekleme süresi sonunda büyük oranda canlılık kaybı gözlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgularda 5BB anacının duyarlı bulunması bizim bulgularımızdan farklılık göstermektedir. Ancak Italia adlı çeşidin sıcak su uygulamalarından etkilenmemesi kendi çalışmamızın bulgularıyla benzeşmektedir. Asmalarda köklenme, kallus oluşumu ve gözlerin sürmesi üzerine üzüm çeşidi ve Amerikan asma anacına göre; yıllara göre; iklim ve beslenme şartlarına göre; çeliklerin olgunlaşma durumuna göre; çeliklerin alınma zamanına göre; anaçların yetiştirildikleri koşullara göre; değişebileceği bildirilmektedir (Alleweldt, 1962; İhtar ve ark., 1980; Odabaş, 1982; Gök ve ark., 1998; Sağlam ve ark., 2005; Çelik, 2011).

SONUÇ

Bu çalışmada kullanılan 4 farklı Botryosphaeriaceae türünün termal ölüm seviyeleri arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Dolayısıyla bir bağ bölgesinde fungal floradaki türlerin bilinmesi, o bölgedeki asma fidanı işletmeleri ve onların sağlıklı asma fidanı üretmeleri için yapacakları sıcak su uygulamalarına da yön verebilecektir. Örneğin *L. theobromae*'nin sıklıkla izole edildiği bir bölgede, endofitik propagülleri elimine etmek için en az 52°C – 30 dakikalık bir uygulama yapılması gerekecektir. Endofitik bulaşıklık durumuna göre, odunsu çubuklarda daha korunaklı halde bulunan misellerin, sıcak sudan etkilenmesi *in vitro* koşullara göre zordur. Bu nedenle asma çubuklarının bağlardan kesilip depoya konmadan önce yapılan su emdirme uygulamaları için bazı alternatiflerin aranması gerekmektedir. Örneğin emdirme solüsyonlarında sistemik fungusitlerin odunsu dokulara olan penetrasyonu arttırmak için değişik metodlar araştırılmalı veya biyolojik preparatlarla yararlı fungal flora desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

Akgül, D.S., N.G.Savaş, and A. Eskalen. 2014. First report of wood canker caused by *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*, and *Lasiodiplodia theobromae* on grapevine in Turkey. Plant Disease: 98(4): 568.

Akman, İ., C. Ilgın ve N. Kacar. 1989. Çeliklerin dikimden önce suda bırakılma sürelerinin ve parafinli parafinsiz dikimin fidan randıman ve kalitesine etkisi. Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü, No: 33/1: 19.

Alleweldt, G., 1962. Untersuchungen über das Wurzel- und Kallusbildungsvermögen von Rebenstecklingen. I. Die Wirkung einer photoperiodischen Vorbehandlung. Vitis 3, 97-103.

Becker, H. 1971. Neuere Ergebnisse aus Untersuchungen über die Technologie der Lagerung von Rebenvermehrungsmaterial. Probleme der Rebenveredlung, Heft 8: 29-48.

- Burr, T.J., C.L.Reid, D.F.Splittstoesser and M. Yoshimura. 1996. Effect of heat treatments on grape bud mortality and survival of *Agrobacterium vitis* *in vitro* and in dormant grape cuttings. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 119-123.
- Crous, P.W., L.Swartand S.Coertze. 2001. The effect of hot water treatment on fungi occurring in apparently healthy grape vine cuttings. *Phytopathologia Mediterranea*, 40: 464-466.
- Çalışkan, A. 1982. Başlıca Amerikan asma anaçlarının yetiştirme kabiliyetleri ve özellikleri. *Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Yayınları*, No:24, Cilt (3): 24-33
- Çelik, H., Y.S. Ağaoğlu, Y. Fidan, B. Marasalı ve G. Söylemezoğlu. 1998. Genel bağcılık. *Sun fidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi*, 1:73-89.
- Çelik, S. 2011. Bağcılık (Ampeloloji). *Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Cilt 1, 3. Baskı, Tekirdağ.*
- Fidan, Y. 1985. Özel bağcılık. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ders Kitabı No: 265, Ankara.*
- Fourie, P. and F.Halleen. 2004. Proactive control of Petri Disease of grapevine through treatment of propagation material. *Plant Disease*, 88: 1241-1245.
- Gök, S., S.Tangolar, A.Bayram ve F.Ergenoğlu. 1998. Razakı (*V.vinifera* L.) ve Cosmo 20 (Berlandieri x Riparia) odun çeliklerinin köklenme ve sürgün özellikleri üzerine sıcak su uygulamasının etkisi. 4. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri, s.315-319.
- Graham A. 2006. Hot water treatment of grapevine rootstock cutting srown in a cool climate. *Phytopathologia Mediterranea* 46, 124 (abstract).
- Gramaje, D., J.Garcia-Jimenezand J.Armengol. 2008. Sensitivity of Petri disease pathogens to hot-water treatments *in vitro*. *Annals of Applied Biology*, 153: 95-103.
- Gramaje, D., S.Alaniz, P,Abad-Campos, J.Garcia-Jimenezand J.Armengol. 2010. Effect of hot watertreatments *in vitro* on conidial germination and mycelial growth of grapevinetrunkpathogens. *Annals of AppliedBiology*, 156:231-241.
- Ilgın, C. ve Y.Z.Gürsoy. 2005. Aşılama kullanılan asma çelik ve kalemlerini sıcak suda bırakmanın materyalin canlılığı üzerine etkisi. 6. Türkiye Bağcılık Sempozyumu, Tekirdağ,Cilt 1:s.114-120.
- İştar, A., M., Güteryüz, S.M. Şen. 1980. Elma ve üzüm çeliklerinde bünysel hormonlarla köklenme arasındaki ilişkiler üzerine bir araştırma. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Dergisi*, Cilt 11, Sayı 1-2, 21-43.
- Kafalı, H. ve F. Ergenoğlu. 1993. Bazı Amerikan asma anaçlarının köklenmesi üzerine ortam sıcaklığı ve indolbutrik asidin etkileri. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8 (1): 61-76.
- Luque, J., G. Elena, V. Di Bella and J. Armengol. 2014. Survival of Botryosphaeriaceaespecies after hot water treatment. 9th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases, Adelaide, Australia, 18-20 November 2014. *Proceedings*, p:589-590.
- Odabaş, F. 1982. Sıcak su uygulamasının asma çeliklerinin köklenmesi ve gözlerin sürmesine etkileri üzerinde bir araştırma. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Dergisi*,s.13.
- Ophel, K., P.R.Nicholas, P.A.Magareyand A.W.Bass. 1990. Hot water treatment of dormant grape cuttings reduces crown gall incidence in a field nursery. *American Journal of Enology and Viticulture*,41: 325-329.
- Phillips, A.J.L. 1998. *Botryosphaeria dothidea* and other fungi associated with Excoriose and dieback of grapevines in Portugal. *Journal of Phytopathology*,146: 327-332.
- Poyraz, D. veE. Onoğur. 2011. Efficacy of hot water treatment for the control of grapevine petri disease. *Journal of Turkish Phytopathology*, 40 (1-3): 41-50.
- Rombough, L. 2002. *The grape grower: A guide to organic viticulture*. Chelsea gren publishing company, White river junction,p. 289.
- Rooney, S.N. ve W.D. Gubler, 2001. Effect of hot water treatments on eradication of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium inflatipes* from dormant grapevine wood. *Phytopathologia mediterranea* 40: 467-472.
- Sağlam, H.,A. Yağcı, Ö. Sağlam. 2005 Bazı Amerikan asma anaçlarında iba kullanımının fidan kalite ve randımanına etkileri üzerine araştırmalar. VI. Bağcılık Sempozyumu (19-23 Eylül 2005), Cilt:2, s554-560, Tekirdağ.
- Sucu, S. ve A. Yağcı. 2013. Aşılama öncesi asma anaçlarını kaynaştırma odasında bekletme sürelerinin fidan randımanı üzerine etkileri.8. Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu, Bildiriler Kitabı, (25-28 Eylül 2013), s.450-456, Konya.