



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE'DE LİMONİ SERVİLERDE KANSER ETMENİ *SEIRIDIUM*  
*CARDINALE*'NİN YAYGINLIĞININ SAPTANMASI, MORFOLOJİK VE  
PATOJENİK KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS

ARJİN ÖNDEŞ

Tez Danışmanı  
Prof. Dr. FİGEN MERT

ÇANAKKALE – 2023





T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**ÇANAKKALE'DE LİMONİ SERVİLERDE KANSER ETMENİ *SEIRIDIUM*  
*CARDINALE* 'NİN YAYGINLIĞININ SAPTANMASI, MORFOLOJİK VE  
PATOJENİK KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS

ARJİN ÖNDEŞ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. FİGEN MERT

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri

Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2021-3752



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Arjin ÖNDEŞ tarafından Prof. Dr. Figen MERT yönetiminde hazırlanan ve 16/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “Çanakkale’de Limoni Servilerde Kanser Etmeni *Seiridium cardinale*’nin Yaygınlığının Saptanması, Morfolojik ve Patojenik Karakterizasyonu” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Figen MERT

(Danışman)

Prof. Dr. Savaş KORKMAZ

Doç. Dr. Nagehan Desen KÖYÇÜ

**İmza**

.....

.....

.....

Tez No : .....

Tez Savunma Tarihi : 16/01/2023

Doç. Dr. Yener PAZARCIK  
Enstitü Müdürü

16/01/2023



## ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Arjin ÖNDEŞ

16/01/2023

## TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde, çalıŐmam boyunca benden yardımlarını esirgemeyen her aŐamasında yakın ilgi ve önerilerinin yanısıra mesleki birikimi ve desteğiyle beni yÖnlendiren değerli hocam ve tez danıŐmanım Sayın Prof. Dr. Figen MERT'e, çalıŐmam boyunca bana destek olan sevgili laboratuvar arkadaşlarım Oęuzhan ÖKSÜZ, Seher KALKANLIOęLU ve Fatih KAŐIKÇI'ya sağladıkları yardım ve katkıları için teşekkür ederim.

Hayatımın her evresinde bana destek olan canım annem Sultan ÖNDEŞ'e, canım babam İrfan ÖNDEŞ'e ve biricik kardeşlerim Bedran ÖNDEŞ ve Roza İZGÖREN'e bana göstermiş oldukları sonsuz özveri ve sabır için teŐekkürlerimi sunarım.

Arjin ÖNDEŞ  
anakkale, Ocak 2023

## ÖZET

### Çanakkale’de Limoni Servilerde Kanser Etmeni *Seiridium cardinale*’nin Yaygınlığının Saptanması, Morfolojik ve Patojenik Karakterizasyonu

Arjin ÖNDEŞ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Figen MERT

16/01/2023, 38

Limoni servide servi kanserine sebep olan *Seiridium cardinale* (W.W. Wagener)’nin Çanakkale’de yaygınlığı, hastalık oranı, morfolojik ve patojenik karakterizasyonun saptanması amacıyla 2021-2022 yılları arasında sörvey gerçekleştirilmiştir. Hastalığın sörvey alanının tamamında var olduğu saptanmıştır. Ana gövde veya yan dallarda geriye doğru ölüm, dal veya gövdede kanser oluşumu, kabuk dokusunda çatlama ve zamklanma ile acervulus oluşumu hastalığın teşhisinde önemli belirtiler olmuştur. Etmenin 5 farklı fungal besin ortamında ve 3 farklı sıcaklık derecesinde inkübe edilmesiyle, koloninin en iyi 25 °C’de malt ekstrakt agar (MEA) ve patates dekstroz agarda (PDA) geliştiği saptanmıştır. Fungusun PDA besin ortamında kirli beyaz, gri renk koloni oluşturduğu, koloninin altının ise pembemsi turuncu, somon renkli olduğu gözlemlenmiştir. Patojenisite çalışmalarında özellikle ATR5 izolatının diğerlerine kıyasla daha virüent olduğu saptanmıştır. Çanakkale’de tercih edilen diğer coniferlere olan etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada *Cupressocyparis leylandii*, *Cupressus arizonica* cv. Greene ve *Cupressus sempervirens* cv. Strict’de hastalık belirtileri gözlenmiş, fakat *Thuja occidentalis* cv. Smaragd, *Thuja orientalis* cv. Aurea compacta Nana ve *Pinus pinea* fidanlarında belirtiler oluşumu gözlenmemiştir. Bu sonuçlar Türkiye’de servi kanserinin limoni servilerde yaygınlığını ve hastalık oranını rapor eden ilk çalışma niteliğindedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cupressus macrocarpa*, *Seiridium cardinale*, servi kanseri, limoni servi

## ABSTRACT

Distribution, Morphological Characterization and Pathogenicity of *Seiridium cardinale*  
associated with canker in Cypress in Çanakkale

Arjin ÖNDEŞ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Plant Protection

Supervisor

Prof. Dr. Figen MERT

16/01/2023, 38

A survey was conducted between 2021 and 2022 in Çanakkale in order to determine the prevalence, morphological and pathogenic characterization of *Seiridium cardinale* (W.W. Wagener) in goldcrest cypress. It was found that all surveyed areas were infested with the cypress cancer. Dieback of the main trunk or side branches, cancer formation in the branch or trunk, cracking and gummosis of the bark tissues and the formation of acervuli were characteristic signs for the diagnosis of the disease. An assay was established in order to find out the best fungal media and incubation temperature for optimum growth of the fungus. It was determined that the colonies of the fungus grew best on malt extract agar (MEA) and potato dextrose agar (PDA) among the five fungal media and the optimum incubation temperature was 25°C. It was observed that the fungus formed a dirty white, gray color colony in PDA medium, and underneath of the colony was pinkish orange-salmon colored. In pathogenicity studies, especially ATR5 isolate was found to be more virulent compared to the others. A pathogenicity test was conducted to investigate the reaction of several conifers in Çanakkale. *Cupressocyparis leylandii*, *Cupressus arizonica* cv. Greene ve *Cupressus sempervirens* cv. Strict were susceptible to the pathogen producing disease symptoms at inoculation site, whereas, *Thuja occidentalis* cv. Smaragd, *Thuja orientalis* cv. Aurea compacta Nana ve *Pinus pinea* produced no disease symptoms. This is the first research demonstrating distribution of the cypress cancer in Turkey.

**Keywords:** *Cupressus macrocarpa*, *Seiridium cardinale*, cypress cancer, goldcrest cypress

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
<b>BİRİNCİ BÖLÜM</b>	
<b>GİRİŞ</b>	
1.1. <i>Seiridium cardinale</i> 'nin Tanımı.....	3
1.2. <i>Seiridium cardinale</i> 'nin Biyolojisi ve Hastalık Belirtileri .....	4
1.3. <i>Seiridium cardinale</i> 'nin Konukçuları ve Coğrafik Dağılımı.....	5
<b>İKİNCİ BÖLÜM</b>	
<b>ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b>	
2.1. Dünyada Yapılan Çalışmalar .....	7
2.2. Türkiye'de Yapılan Çalışmalar.....	11
<b>ÜÇÜNCÜ BÖLÜM</b>	
<b>MATERYAL YÖNTEM</b>	
3.1. Materyal .....	13
3.2. Metot .....	13
3.2.1. Sörvey Çalışması .....	13

3.2.2. Sörvey Alanında Hastalık Oranının Saptanması .....	14
3.2.3. Hastalıklı Bitkilerden Fungusun İzolasyonu.....	15
3.2.4. <i>Seiridium cardinale</i> 'nin Morfolojik Karakterizasyonu .....	16
3.2.5. <i>Seiridium cardinale</i> 'nin Farklı Ortamlarda ve Sıcaklıklarda Gelişimleri.	16
3.2.6. İzolatların Patojenik Karakterizasyonu .....	17
3.2.7. Farklı Konukçu Reaksiyonlarının Saptanması .....	19

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM  
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Limoni Servilerde Hastalık Simptomları.....	20
4.2. Çanakkale'de <i>Seiridium cardinale</i> 'nin Hastalık Oranının Saptanması.....	21
4.3. <i>Seiridium cardinale</i> 'nin Morfolojik Karakterizasyonu.....	22
4.4. <i>Seiridium cardinale</i> 'nin Farklı Ortam ve Sıcaklıklarda Gelişimleri.....	24
4.5. Patojenisite Çalışmaları.....	29
4.6. Farklı Konukçularla Patojenisite Çalışmaları.....	31

BEŞİNCİ BÖLÜM  
SONUÇ ve ÖNERİLER

5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	33
KAYNAKÇA .....	35
ÖZGEÇMİŞ .....	II

## SİMGELER VE KISALTMALAR

TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
PDA	Patates Dekstroz Agar
MEA	Malt Ekstrat Agar
CMA	Mısır unu agar
Czapek	Czapek- Dox Agar
DG18	Dichloran Glycerol 18 Agar
DRBC	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol
L	Litre
ml	Mililitre
%	Yüzde
°C	Santigrat

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	Cupressaceae familyasının, Cupressoideae alt familyasına bağlı <i>Cupressus macrocarpa</i> 'nın taksonomisi	2
<b>Tablo 2</b>	Virülenslik denemelerinde kullanılan <i>Seiridium cardinale</i> izolatları ve izolatların toplandıkları lokasyonlar	17
<b>Tablo 3</b>	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin farklı konukçularda patojenite testi için kullanılan bitki türleri	19
<b>Tablo 4</b>	Çanakkale Merkez ve kıyı ilçelerinde limoni servilerde <i>Seiridium cardinale</i> 'nin hastalık oranı	21
<b>Tablo 5</b>	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin 5 farklı fungus besin ortamı ve 3 sıcaklık derecesinde koloni gelişimi	24
<b>Tablo 6</b>	<i>Seiridium cardinale</i> izolatları ile inokule edilen 2 yaşındaki limoni servilerde lezyon çapları	28



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Genç <i>Cupressus macrocarpa</i> cv.goldcrest fidanı	3
Şekil 2	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin yaşam döngüsü	5
Şekil 3	Çanakkale merkezde yapılan sörvey çalışmasında, <i>Seiridium cardinale</i> ile enfekteli limoni servi ağacı	14
Şekil 4	İzolasyon işleminde, kurutma kağıdında kurumayı bırakılan doku parçaları ve ekim için hazırlanmış patates dekstroz agar (PDA) ortamları	15
Şekil 5	Fungusun gelişimi için kullanılan 5 farklı yapay besin ortamlarına ekimi yapılmış fungal diskler	17
Şekil 6	Patojenite testi için kullanılan limoni servi fidanları (solda), inokulasyon yapılan gövde (sağda)	18
Şekil 7	Sörvey alanlarında <i>Seiridium cardinale</i> ile enfekte olmuş bitkilerde simptom oluşumu; (A) Geriye ölüm belirtileri, (B) enfekteli bölgede zamklanma	20
Şekil 8	Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamında <i>Seiridium cardinale</i> 'nin 25°C'de 7 gün sonraki gelişimi.	22
Şekil 9	Malt Ekstrakt Agar (MEA) ortamında <i>Seiridium cardinale</i> 'nin 25°C'de 14 gün sonraki gelişimi.	22
Şekil 10	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin CMA ortamında oluşturduğu acervuluslar (solda); ışık mikroskopunda acervulusun ve konidilerin görünümü (ortada), konik uç hücrelerle birlikte dört medyan hücreli konidiler (sağda).	23
Şekil 11	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin 14 günde 21°C'de farklı besin ortamlarında gelişme morfolojileri	25
Şekil 12	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin 14 günde 25°C'de farklı besin ortamlarında gelişme morfolojileri	26

<b>Şekil 13</b>	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin 14 günde 28 <sup>0</sup> C'de farklı besin ortamlarında gelişme morfolojileri	27
<b>Şekil 14</b>	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin referans alınan DRN1 kodlu izolatu ile 2 yaşında limoni serviye yapılan inokulasyonda lezyon gelişimi sonucu	29
<b>Şekil 15</b>	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin ATR5 kodlu izolatu ile 2 yaşında limoni serviye yapılan inokulasyonda lezyon gelişimi sonucu enfekteli bölgede yoğun zamklanma.	30
<b>Şekil 16</b>	<i>Seiridium cardinale</i> 'nin ATR5 izolatu ile inoküle edilen bitkilerde hastalık oluşumu	31



## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

Cupressaceae familyası, iğnegiller olarak bilinen Pinales takımı içerisinde yer alır ve kozalaklı ağaç türlerinden oluşan servigiller olarak bilinirler. Cupressaceae familyası her iki yarım kürenin ılıman veya sıcak bölgelerinde yetişen yaklaşık 140 tür içermektedir. *Cupressus* cinsi Cupressoideae alt familyası içerisinde yer alır ve Kuzey Amerika, Asya ve Avrupa'da yetişen yaklaşık 12 türü içerir. *Cupressus macrocarpa*'nın taksonomisi Tablo 1'de verilmiştir (Gadek vd., 2000).

*Cupressus* cinsi içerisinde yer alan Monteri servi olarak da bilinen *Cupressus macrocarpa* (*Hesperocyparis macrocarpa*) 12 servi türünden biridir (Gadek vd., 2000). Adını Kaliforniya'da bulunan Monteri Yarımadası'ndan almaktadır. Monteri servi, gövde çapı 2,4 m ve 30 m yüksekliğe ulaşabilen, yaprak dökmeyen bir ağaçtır (Hemati ve Khanjani, 2010). Oldukça dayanıklı olduğundan, ideal koşullarda 300 yaşına kadar yaşayabilir. Ayrıca Monteri servi, aynı ağaç üzerinde erkek ve dişi kozalaklar taşıyan, yaprak dökmeyen iğne yapraklı bir ağaçtır. Dişi tohum kozalakları parlak, yuvarlak ve yaklaşık 25,4 mm çapındadır ve 8 ile 12 açık kahverengi pulla kaplıdır. Sadece 6,3 mm uzunluğundaki çok daha küçük sarı erkek kozalakları, kışın sonlarında ve ilkbaharın başlarında bol miktarda polen üretir. İsimlendirmesinde yer alan *macrocarpa*, "büyük meyve" anlamına gelir ve tohum kozalaklarının boyutunu ifade eder. Monteri servi yaprakları olgunlaştıkça yoğun ve koyu yeşil olur. Elde ezildiklerinde hoş bir koku yayarlar. Olgun bir Monteri servi, küçük konut alanları için çok büyük olabilirken, daha büyük özel konutlar veya parklar ve bahçe gibi kamu mülkleri için peyzaj örneği olarak uygun bir seçim olmaktadır.

*C. macrocarpa*, yaygın olarak yetiştirilen birçok subtropikal alanda, parfümeri, kozmetik ve oda spreyleri gibi ticari amaçlar için kullanılır. Antimikrobiyal bileşik kaynağı olarak potansiyelleri farklı uygulamalarda faydalı olabileceği yapılan çalışmada belirtilmiştir (Salem, vd. 2018).

Tablo 1

Cupressaceae familyasının, Cupressoideae alt familyasına bağlı *Cupressus macrocarpa*'nın taksonomisi.

Alem	Plantae
Şube	Spermatophyta
Altşube	Gymnospermae
Sınıf	Pinopsida
Takım	Pinales
Familya	Cupressaceae
Cins	<i>Cupressus</i>
Tür	<i>Cupressus macrocarpa</i>

*C. macrocarpa*'nın süs bitkisi olarak da birçok varyetesi vardır. Bunlardan biri, yaprakları ovuşturulduğunda limon kokusu veren *C. macrocarpa* cv. Goldcrest varyetesidir (Şekil 1). Parlak yeşil renkli, yapraklar ezilip limon aroması yaydığı için daha çok limoni servi olarak da bilinir (Sarı ve Karaşah, 2021). Limoni servi süs bitkisi olup, çarpıcı renkleri nedeniyle bahçe düzenlemelerinde tercih edilen bir varyetedir. Ayrıca sıcaklığa ve tuzluluğa karşı yüksek toleransa sahiptir (Ghatas, 2020). Uzun sıralar halinde dikildiğinde etkili bir rüzgâr siperi veya çit görevi görebilir. Genç ağaçlar, olgun ağaçlara kıyasla nispeten hızlı gelişir ve *C. macrocarpa* cv. Goldcrest'in görüntüsünün etkileyici olması onu popüler ve geniş çapta kullanılan bir peyzaj bitkisi haline getirmiştir (Graniti, 1998).

Serviler estetik ve fonksiyonel özellikleri sayesinde çevrelerini dengeleyen, geliştiren, zenginleştiren ve canlandıran özelliklere sahiptir. Peyzaj alanlarında ağaçların farklı nitelikleri ve çeşitli alanlar incelendiğinde olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle rekreasyon ve çit bitkisi olarak sıklıkla kullanılan limoni servinin bitki koruma sorunları açısından kontrol altında olması önem arz etmektedir (Eroęlu, vd. 2005).

Servilerde *Armillaria mellea* kök çürüklüğüne neden olmaktadır. *A. mellea* genellikle toprakta, ağaç kütüklerinde, ölü bitki ve çürüyen kalıntılarda saprofit olarak bulunabilmektedir. Kambiyal dokulara bir kez nüfuz ettiğinde, etkisi kontrol edilemez hale gelebilir (Danti, vd. 2013). Ayrıca *Phomopsis occulta*, *P. juniperovora* ve *Pestalotiospsis*

*funerea* gibi fungal patojenlerin, dallarda kahverengileşmeye ve yanıklığa neden olduğu bildirilmiştir.



Şekil 1. Genç *Cupressus macrocarpa* cv. goldcrest fidanı.

*C. macrocarpa*'nın dünyada belki de en önemli hastalığı "gummosis" olarak da bilinen, kanserin yanı sıra gövde ve dallarda reçine salgılarıyla karakterize edilen servi kanseridir (Birch, 1933). Bu hastalığa 3 tür sebep olmaktadır: *Seiridium cardinale*, *S. unicorn* ve *S. cupressi*. Bu üç tür arasında *S. cardinale*'nin diğer iki türe göre daha yaygın ve agresif olduğu belirtilmiştir (Graniti, 1986).

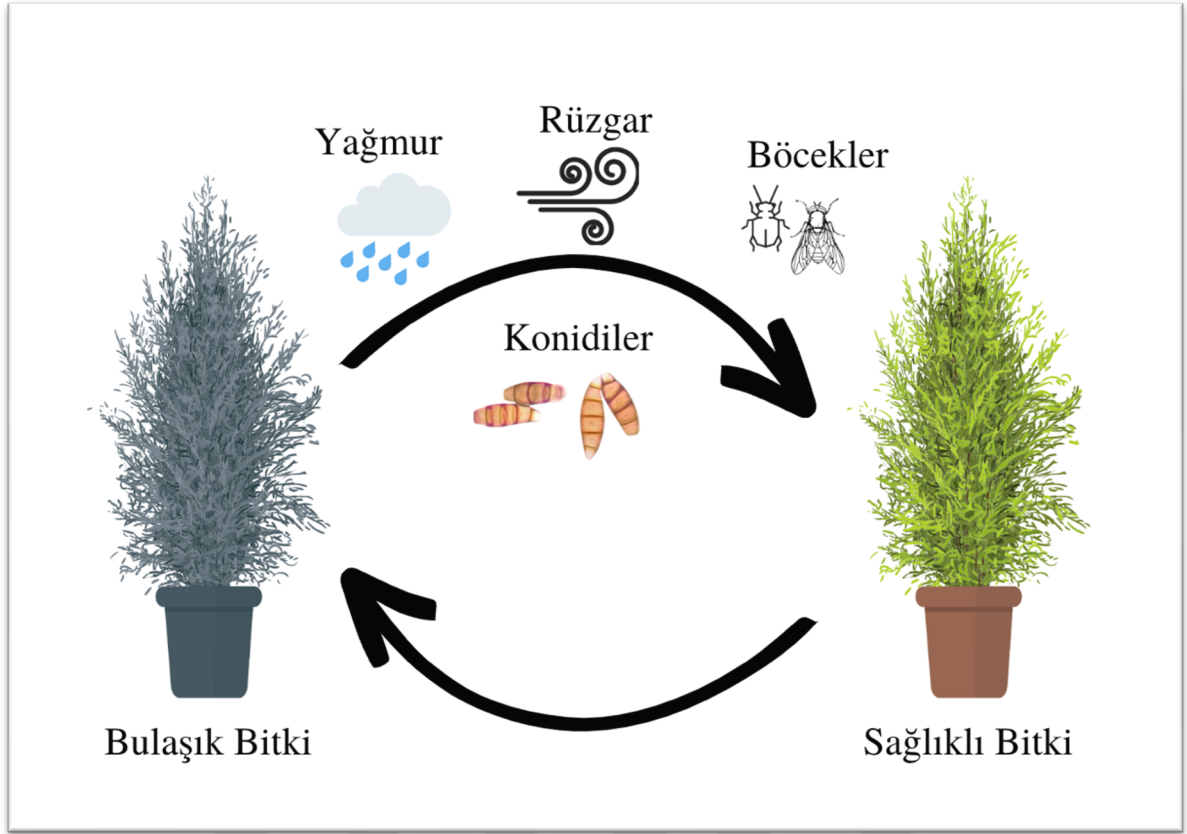
### 1.1. *Seiridium cardinale*'nin Tanımı

*Seiridium cardinale* (W.W. Wagener) B. Sutton ve I.A.S. Gibson ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde ve daha sonra dünyanın diğer bölgelerinde ortaya çıkan oldukça yıkıcı fungal patojenler arasında yer alır. Bu patojenin dünya çapında Cupressaceae familyasına ait birçok türde önemli ölümlere neden olan bir fungus olduğu bildirilmiştir (Panconesi, 1990). *S. cardinale*, Ascomycota şubesi, Sordariomycetes sınıfı, Xylariales takımı, Amphisphaeriaceae familyasında yer alır. *S. cardinale* coğrafik olarak Kuzey Amerika, Avrupa, Asya ve Okyanusya kıtalarında tespit edilmiş olup geniş bir yayılım göstermektedir (Graniti, 1986).

## 1.2. *Seiridium cardinale*'nin Biyolojisi ve Hastalık Belirtileri

*S. cardinale* beyaz, dallanmış ve kıvrımlı olabilen, geliştikçe kirli beyaz ya da gri görünüm alabilen sıkı dokuda miselyuma sahiptir. Fungus bulunduğu her yerde aseksüel olarak çoğalmaktadır (Della, vd. 2013). Bitki epidermis dokusunun altında acervulus olarak tanımlanan spor yatakları oluştururlar. Acervuluslar dağınık şekilde, tek bir hücre kitlesinden veya birkaçının birleşmesiyle meydana gelebilen ve çıplak gözle dahi fark edilebilen fungal yapılardır. Acervuluslar ilk aşamada kapalı olup zaman içinde genişleyen ve düzensiz dairesel veya dikdörtgenimsi şekillerde olabilirler. Acervuluslar içerisinde konidiler bulunur (Wagener, 1939). Genellikle acervulus'dan ekstrüde edilen konidi, yağmurla kısa mesafelerde, çoğunlukla aşağı yönde dağılır, daha sonra rüzgarla taşınan konidi yüklü damlacıklar tarafından yanal olarak yayılırlar (Şekil 2) (Panconesi ve Ongaro, 1982).

*S. cardinale*, hem lokal hem de sistemik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Etmenin penetrasyonundan sonra kabukta nekrotik lezyon oluşturur. Patojen, kortikal parankimalarda nispeten hızlı, ancak floemde daha yavaş yayılır; sonunda kambiyum dahil tüm dokular kahverengiye döner ve ölür. Kanser dallar veya gövdenin tümünü kuşatana kadar bazı mevsimsel değişikliklerle istikrarlı bir şekilde ilerler. Aktif olarak büyüyen kanser bölgesinde yüksek miktarlarda reçine üretilir (Graniti, 1998). Hastalık ilerledikçe makroskopik belirtiler görülmeye başlar. Enfekteli kabuk dokusunun çatlaması ve yoğun reçine akıntısı en belirgin belirtilerlerdendir. Hastalığın ilerlemesi sonucunda dallarda geriye ölüm belirtisi gözlenmektedir. Daha ileri dönemlerde hastalık tüm ağacı etkileyerek ölümüne sebep olmaktadır (Graniti, 1998).



Şekil 2. *Seiridium cardinale*'nin yaşam döngüsü.

### 1.3. *Seiridium cardinale*'nin Konukçuları ve Coğrafik Dağılımı

Etmenin ana konukçuları Monteri servi olarak bilinen *C. macrocarpa*, daha az oranda hassas olan İtalyan servi olarak bilinen *C. sempervirens* ve diğer Amerikan *Cupressaceae* familyasına ait türlerdir, fakat en yıkıcı hasarı *C. macrocarpa* üzerinde olmaktadır. *C. macrocarpa*, *C. sempervirens*'ten daha duyarlıyken, *C. arizonica* ve özellikle *C. glabra*, *C. torulosa* ile diğer egzotik türler belli oranlarda direnç göstermektedir. Akdeniz'in ılıman iklim koşullarında, yani aşırı sıcak ve kuru olmayan bölgelerde, *S. cardinale* en yaygın ve en yıkıcı olarak görülen türdür (Graniti, 1998). Patojen, *Cupressus* türleri dışında *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressocyparis*, *Juniperus*, *Thuja*'nın çeşitli türlerini ve *Cupressaceae*'nin ilgili cinslerini (ve melezlerini) etkilemektedir.

Servi kanserine sebep olan *S. cardinale*, ilk olarak 1928'de Kuzey Kaliforniya'da rapor edilmiştir (Wagener, 1927). Kanser hastalığı daha sonra Kaliforniya kıyıları boyunca, ABD'nin iç kesimleri ve Güney Amerika'ya yayılmış, ardından doğu ve batı Atlantik ile Pasifik Okyanusları boyunca Yeni Zelanda, Avrupa, Asya ve Güney Afrika'ya taşınmıştır (Graniti, 1986). Fungusun Türkiye'deki varlığı *C. sempervirens* ağaçlarında simptomolojik gözlemlere dayanarak ilk olarak Sümer (1987) tarafından bildirilmiştir. Raporda Marmara ve Ege kıyıları doğal ormanlarında kanser oluşumu ve reçine akıntısı ile geriye doğru ölümün gözlemlendiği ifade edilmiştir.

Çanakkale'de limoni servi gerek çit bitkisi gerekse rekreasyon amacıyla çok fazla kullanılmaktadır. Ayrıca parklarda ve özel mülklerde, bahçe düzenlemesinde, grup halinde ya da birkaç tane olarak sıklıkla kullanıldığı görülmektedir. Mert, vd. (2022) Çanakkale Merkez'e bağlı bir evin bahçesinde limoni servilerde geriye ölüm belirtisi gözlemlenmiştir. Gövdesinde kanser oluşumu ve reçine akıntısı görülen bitkiden alınan örneklerden izole edilen etmenin *S. cardinale* olduğu tespit edilmiştir. Çanakkale'de yapılan gözlemlerde limoni servilerde hastalık belirtilerine sıklıkla rastlanmasından dolayı bu yüksek lisans tezinin yapılmasına gerek duyulmuştur.

Bu çalışmada Çanakkale ilindeki limoni servilerde servi kanserine sebep olan *S. cardinale*'nin (i) yaygınlığını ve hastalık oranını saptamak, (ii) izolatların *in vitro*'da farklı besin ortamları ve sıcaklıklarda gelişimlerini gözlemek, (iii) izolatların virülensliğini araştırmak ve (iv) Çanakkale'de çok fazla dikilen conifer türlerinin hastalık etmenine reaksiyonunu tespit etmek amaçlanmıştır.



## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

*S. cardinale*, oldukça yıkıcı fungal bir etmen olup enfekte ettiği bitkilerde ciddi hasarlara neden olmaktadır. Etmen ilk olarak 1927 yılında Kaliforniya'da Wagener tarafından *Coryneum cardinale* olarak Monterey servide rapor edilmiştir (Wagener, 1928); daha sonra Sutton ve Gibson (1972) *Seiridium cardinale* olarak tekrar isimlendirmişlerdir. Kaliforniya'da ilk kez tespit edildikten sonra hastalık sırasıyla Fransa'da (Barthelet ve Vinot, 1944) ve Güney Afrika'da (Wimbush, 1944), İtalya'da (Grasso, 1951) ve Arjantin'de (Saravi Cisneros, 1953), Avustralya'da (Grasso ve Ponchet, 1980), Yeni Zelanda'da (Boeswinkel, 1983), Kuzey Yunanistan'da ve Girit adasında sınırlı alanlarda (Xenopoulos ve Diamandis, 1985), Kuzey Afrika Fas'ta (Danti, vd. 2009), Sırbistan'da (Milenković, vd. 2022) rapor edilmiştir.

#### 2.1. Dünyada Yapılan Çalışmalar

Jones (1954) tarafından yapılan çalışmada *C. cardinale* (*S. cardinale*)'nin arazi şartlarında doğal etkisini incelemek amacıyla deneme kurulmuştur. Denemede her bir test ağacı (*C. ariamica*, *C. benthami*, *C. lusitanica*, *C. macrocarpa* ve *C. torulosa*), dört *C. macrocarpa* ağacıyla çevrelenecek şekilde yarım dönümlük araziye 340 ağaç dikildiği belirtilmiştir. Her parselin dış sıralarına sadece *C. macrocarpa* dikilmiştir. Kurulan bu denemenin Wagener (1948) tarafından Kaliforniya'da *C. cardinale*'nin neden olduğu servi kanser hastalığı üzerine yapılan çalışmalarda daha önce bu yöntem kullanıldığı belirtilmiştir. Bir yıllık büyümeden sonra, *C. macrocarpa* interplantları ve çevrelenen sıralar, virülent servi kanseri kültürleriyle inokulasyon yapıldığı belirtilmiştir. Çalışmadan alınan ilk sonuçlarda, *C. macrocarpa*'nın test edilen türler arasında servi kanserine karşı kullanılan türler arasından en hassas tür olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir.

Beresford ve Mulholland (1982), tarafından yapılan çalışmada farklı servi türlerine ait 8 servi varyetesini içeren bir deneme plantasyonundaki ağaçlar, servi kanseri hastalığı için incelenmiştir. Yapılan gözlemlerde hastalıklara üç fungal etmenin sebep olduğu bildirilmiştir: *S. cardinale*, *S. unicorn* ve *Pestalotiopsis funerea*. Servi kanseri funguslarının izole edildiği ağaçların yüzdesi deneme alanındaki çeşide göre farklılık gösterdiği belirtilmiştir: *Cupressocyparis leylandii* klon Haggerston Gray %18; klon Naylor's Blue %0; klon Leighton Green %17; Green Spire %8; *C. macrocarpa* %22; *C. torulosa* D Don %0; *C. arizonica* Greene %9; *C. arizonica* NZ FRI 850-329 klonu (muhtemelen *C. arizonica* X *C. torulosa* klonu olabileceği belirtilmiştir) %8 oranlarında olduğu belirtilmiştir. İnokulasyon denemesi sonucunda ise *S. cardinale*'nin tüm çeşitlerde *S. unicorn*'dan daha fazla hasara neden olduğunu, *P. funerea*'nın ise ikincil öneme sahip zayıf bir patojen olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada *S. cardinale*'ye duyarlılıktaki farklılıklar tespit edilmiştir: *Cupressocyparis leylandii* klonu ile *C. macrocarpa*'nın en duyarlı türler olduğu; *C. arizonica*, *C. torulosa* ve FRI 850-329 türleri ile klonun nispi olarak daha dirençli olduğu belirtilmiştir. Çalışmada *S. unicorn* veya *P. funerea*'ya karşı duyarlılıkta herhangi bir farklılık saptanmadığı rapor edilmiştir.

Yeni Zellanda'da yapılan bir çalışmada *S. cardinale*'nin konidileri *S. unicorn*'da var olan karakteristik uzantılarından yoksun olduğu belirtilmiştir. Konidiler düz veya bazen hafif sigmoid veya hilal şeklinde olduğu bildirilmiştir. Daha önce Wagener (1939) tarafından yapılan morfolojik tanıma uyduğunu ifade etmiştir. Oda sıcaklığında inkübe edilen kültürlerin havai yoğun miselyumuna sahip olduğu, kenarları açık mat yeşil, merkezi koyu yeşilimsi gri renkli olduğunu bildirmiştir. Çalışmada 26 °C'de kültürler 6 günde 31 mm çapa ulaştığı yapılan çalışmada rapor edilmiştir (Boesewinkel, 1983).

Graniti (1986), *S. cardinale* enfeksiyonu sonucu bitkilerde oluşan hastalık belirtilerini detaylı bir şekilde tanımlamış olup bir çok açıdan rehber oluşturmuştur. Bu çalışmada hastalığın ilk belirtiminin, *S. cardinale*'nin giriş noktasının etrafındaki canlı dalların veya genç dalların kabuğunun kızarması veya esmerleşmesi olduğunu belirtmiştir. Enfekte olan dokuların hafifçe çökebileceğini, ardından uzunlamasına çatlaklar oluşabileceğini ve reçineli bir akıntının üretilebileceğini belirtmiştir. Enfeksiyon bölgelerinin çevresinde lentiform şeklinde veya uzamış kanserler gelişeceği ve genç

bitkilerin küçük dallarını veya gövdesini kuşatabileceğini; bununla birlikte yetişkin ağaçların büyük dallarında veya ana gövdelerinde kanserlerin yayılmasının uzun bir zaman alacağını ifade etmişlerdir. Enfekte olmuş dalların yapraklarında önce yaygın bir sararma, daha sonra geriye doğru ölüm ilerledikçe yaprakların kurduğunu gözlemlemiştir.

Yeni Zelanda'da 1981-1982 yıllarında *C. macrocarpa*, *C. lusitanica* ve *C. lawoniana* plantasyonlarında servi kanserinin dağılımını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla sörvey çalışması yapmışlardır. Hastalıktan sorumlu iki fungustan biri olan *S. unicorn*'nin Güney Adası'nın Batı Kıyısı dışında ülke genelinde bulunduğunu belirtilmiştir. Diğer fungus olan *S. cardinale*'nin ise Auckland, Wanganui, Palmerston North ve Christchurch yakınlarında bulunduğunu ve hastalığın yayılımının düşük olduğunu rapor etmişlerdir (Van der Werff, 1988).

Xenopoulos (1991) tarafından yapılan çalışmada *C. sempervirens* ve *C. glabru* fidanları ve klonları üzerinde kök inokulasyonları ile üç *Seiridium* türüne ait sekiz izolatin patojenitesi ile ilgili karşılaştırmalı çalışmalar yapılmıştır. *S. cardinale*'nin *S. cupressi*, ve *S. unicorn*'un izolatlarına kıyasla daha büyük ve daha şiddetli kanserlere neden olduğunu belirtilmiştir. İnokulasyondan sonraki ilk dokuz ay boyunca, *S. cardinael*'nin kanser uzunluğu, *S. cupressi*'nin kanserlerinden daha büyük olduğu fakat inokulasyondan iki yıl sonra *S. cupressi* kanserlerinin, *S. cardinale*'ninkinden daha büyük ve daha şiddetli olduğunu rapor etmiştir.

Almanya'da yapılan bir çalışmada *S. cardinale*'nin coğrafi dağılımı gözlenmiştir. Fungusun tanısal özellikleri, konukçu penetrasyonu, hastalığın başlıca simptomları, yayılma yolları ve kontrol yöntemleri bu çalışmada anlatılmaktadır. Yapılan çalışmada Almanya'nın kuzeyinde gözlenen *S. cardinale* oluşumu için olası nedensel faktörler tartışılmıştır. Yayılma yolları konusunda patojenin dağılımı esas olarak *Cupressus* spp.'nin enfekteli bitkileri ve tohumları ile gerçekleşebileceği, özellikle de en duyarlı tür olan *C. macrocarpa*'dan kaynaklandığı bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada Almanya'nın kuzeyinde *S. cardinale*'nin özellikle mazı türlerine şiddetli bir şekilde saldırma nedeni üzerinde durulmuş ve nedensel faktörlerin açıklığa kavuşturulması için, *S. cardinale*'nin farklı Cupressaceae familyalarında

bulaşıklığı ve Almanya'daki yaygınlığı ile ilgili araştırmaların yoğunlaştırıldığı bildirilmiştir (Urbasch, 1993).

Sparapano, vd. (1995), tarafından yapılan çalışmada İtalya'nın çeşitli tarım ve ormanlık alanlarından toplanan 100 adet *S. cardinale* izolatu ile 3 yaşındaki *C. sempervirens*, *C. macrocarpa* ve *C. arizonica* fidanları üzerinde serada inokulasyon testleri ve kültürde toksin üretimi taraması yapılmıştır. Yapılan çalışmada iki ana toksin, seiridin ve izo-seiridin, HPLC ile belirlenmiş ve fungus izolatları, toksin üretim seviyesine göre sınıflandırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda simptomların şiddeti ile seiridinlerin *in vitro* üretim seviyesi ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir.

Sanchez ve Gibbs. (1995), *Cupressus macrocarpa*'nın *S. cardinale* sebebiyle ile ölmesi ve Britanya'daki servi kanserinin yayılması sonucunda süs bitkisi olarak oldukça yaygın olan *C. macrocarpa*'nın hastalık sonrası görüntüsünün bozulması üzerine survey çalışmaları yapmışlardır. Yapılan araştırmada, bunun esas olarak *S. cardinale*'nin etkilerinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Bu çalışma sırasında *S. cardinale*'ye ek olarak çok sayıda fungus izole edilmiştir. *Seiridium* ve izole edilen diğer funguslar arasındaki ilişkilerin daha ayrıntılı bir şekilde araştırılmasına rehber olması için çalışmanın yapıldığı belirtilmiştir.

İtalya'da salgın haline geçen servi kanseri ile ilgili 1998 yılında bir inceleme yayınlanmıştır. İncelemede servi kanserine sebep olan patojenlerin tanımlanması, taksonomisi, patogenezi ve fungus toksinlerinin rolü ve servi klonlarının veya hibritlerinin patojenlere direnç ve toksinlerine tolerans açısından erken taranması ile ilgili sorunları ele almaktadır. Çalışma özellikle tehdit altındaki iki servi türünün kısa bir tartışmasıyla başlayarak, farklı kanser türlerinin teşhisi ve değerlendirilmesi için önemli olan ajanların bazı taksonomik, biyolojik ve toksikolojik yönlerini tartışmaktadır. Çalışmada servi kanserinin görüldüğü bölgelerde yıkıcı ekonomik kayıplara sebep olduğu, kereste üretimini yüksek ölçüde azalması sonucunu doğurduğu rapor edilmiştir (Graniti, 1998).

*S. cardinale*'nin Yunanistan'ın birçok bölgesindeki plantasyonlarda *C. sempervirens*'e önemli zararlar verdiği daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir (Xenopoulos

ve Diamandis 1985; Tsopelas ve Xenopoulos 2006). Tsopelas, vd. (2007)'lerinin yaptığı sörveylerde bazı bölgelerde *C. sempervirens*'te enfeksiyon seviyesinin %90'dan fazla olduğu ancak bu türün bazı Ege adalarındaki doğal ormanlarında enfeksiyon seviyelerinin çok düşük olduğu rapor edilmiştir.

Bonthond, vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada farklı besin ortamlarında *S. cardinale* koloni gelişimi 22<sup>0</sup>C'de 14 günlük inkübasyon sonucu incelenmiş ve koloni morfolojisi hakkında bilgi verilmiştir. Çalışmaya göre kullanılan kültürün koloni özellikleri; PDA ortamında, 14 gün sonra 60-61 mm çapa ulaşan, merkezde ve kenarda düz, beyaz ile soluk renkli, yüzeyinde havai miselyum bol, kenarlarında zayıf, sporlu koloni olduğu, CMA üzerinde, 14 günün sonunda 79-81 mm çapa ulaştığı, merkezde ve kenarda düz, ortada beyaz, deve tüyü ile açık kahve rengi, iç kenarda açık kahve rengi, yüzeyde bol miktarda havai miselyum oluştuğu, MEA üzerinde, 14 gün sonra 45-49 mm çapa ulaşan, merkezde açık gri renkli, griden yeşile dönen beyaz kenarlı, merkezde ve kenarda düz, üzerinde bol miktarda hava miselyumlu yüzey oluşumu gözlemlenmiştir. SNA ortamında, 14 gün sonra 37- 39 mm çapa ulaşan, düzensiz, merkezde ve kenarlarda düz, çoğunlukla kenarda ılımlı hava miselyumu gözlenmiştir. Çalışmada *S. cardinale* etmeninin farklı besin ortamlardaki gelişim hızı ve gelişim sonrası gözlemler rapor edilmiştir.

Rocca, vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada servi kanserine karşı Cupressaceae familyasına ait dört olası dayanıklı ve üç olası duyarlı İtalyan servi klonunun, bir Akdeniz ve beş Kaliforniya fungus genotipine karşı tepkisini test etmek için sera denemesi kurulmuştur. Çalışmada gövdede fungusun neden olduğu lezyonun boyutunu ve fungus sporulasyonunu ölçerek bazı sorulara cevap aranmıştır. Yapılan bu çalışma, bir patojenin birden fazla girişinin konukçu direncini kırabileceğini ve yerel ekosistemler üzerinde ölçülebilir bir zararlı etkiye sahip olabileceğini gösteren ilk çalışmalardan biri olduğu rapor edilmiştir.

## 2.2. Türkiye’de Yapılan Çalışmalar

Servinin ülkemizdeki yayılışı, zararlıları ve hastalıkları, bilhassa servi kanseri hastalığı bakımından incelemek amacı ile 1984 ve 1987 yılları arasında Türkiye’nin Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinde sörvey çalışması yapılmıştır. Bu sörveylerde Marmara Bölgesi (İstanbul, Kocaeli, Bilecik, Bursa), Ege Bölgesi (İzmir), Akdeniz Bölgesi (Muğla, Antalya, Mersin ve Adana) ormanlık alanları gözlemlenmiştir. Gökova, İnişdibi’nde *C. sempervirens* var. *Horizontalis*’de ana gövdelerde kanserli dokular ve reçine akıntısı ve acervulus oluşumunu dikkate alarak etmenin servi kanseri olduğu simptolojik olarak rapor edilmiş fakat laboratuvar çalışmaları ile desteklenmemiştir (Sümer, 1987).

Çanakkale’de limoni servi olarak da bilinen *C. macrocarpa* cv. Goldcrest fidanlarının dallarında geriye ölüm belirtisi, kanser ve yoğun reçine akıntısı olan dokulardan yapılan izolasyonda fungusun *S. cardinale* olduğunu morfolojik ve moleküler olarak tespit edilmiştir. Böylece bu çalışma ile etmenin Türkiye’de *C. macrocarpa*’da hastalık oluşturduğu morfolojik ve moleküler olarak ilk kez karakterize edilmiştir (Mert, vd. 2022).

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Çanakkale halka açık parklar, site ve evlerin bahçeleri, ticari çiçek seralarındaki hastalıklı limoni servilerden alınan doku örnekleri bu çalışmanın materyalini oluşturmuştur.

#### 3.2. Metot

##### 3.2.1. Sörvey Çalışması

Sörvey çalışmaları Çanakkale ili merkezde limoni servi bulunan park, bahçe ve çiçek seralarını kapsamıştır. Sörvey çalışmaları 2021-2022 yılın bahar ve yaz aylarında gerçekleştirilmiştir. Çanakkale Merkez ilçede bulunan çiçek seralarında, site bahçelerinde, halka açık parklarda ve bahçelerde, Kepez, Kilitbahir ile sayfiye yerleri Güzelyalı ve Çınarlı'da bulunan evlerin bahçelerinde ve Gelibolu, Eceabat ve Lapseki ilçesi kıyı şeridinde bulunan limoni servi kullanılan alanlardan toplam bitki sayısı ile hastalıklı bitki sayıları not edilmiştir.

Bitkilerde bir veya birkaç dalda oluşan geriye ölüm belirtisi hastalığın sörveyi esnasında belirleyici olmuştur. Bu bitkilerin gövdelerinde kanser oluşumu, zamk akıntısı, dikine çatlak ve yarıklar ile acervulus oluşumu gösteren bitkilerden kabuk dokusuyla birlikte odun dokusunu da içerecek şekilde tüm bitkilerden örnek alınmıştır (Şekil 3). Alınan hastalıklı dokularda özellikle acervulus bulunmasına özen gösterilmiştir. Doku örnekleri kağıtlara sarılarak etiketlenmiş, ayrı ayrı polietilen torbalara konulmuştur. Hastalıklı örnekler içerisinde buz aküleri bulunan piknik kutularına konularak laboratuvara getirilmiştir. İzolasyona kadar +4 °C'deki soğutucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 3. Çanakkale merkezde yapılan sörvey çalışmasında, *Seiridium cardinale* ile enfekteli limoni servi ağacı

### 3.2.2. Sörvey Alanında Hastalık Oranının Saptanması

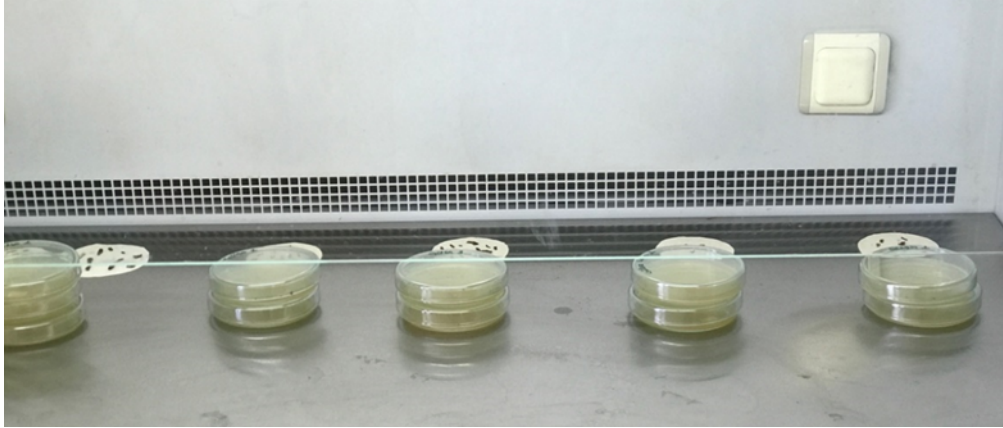
Çanakkale’de servi kanseri hastalık oranının saptanması amacıyla hastalık belirtilerinin kolayca çıplak gözle görülebilir olduğu geç bahar ile yaz ayları tercih edilmiştir. Bu amaçla 2021-2022 yılı ilkbahar-yaz aylarında sörvey alanlarında toplam bitki sayısı ile hastalıklı bitki sayısı not edilmiştir. Limoni serviler Çanakkale’de ya çit bitkisi olarak ya da rekreasyon alanlarında tek tek dikildiği için sörvey alanında 1-2 bitki olabildiği gibi, tek bir ev veya site bahçesinde çit bitkisi olarak 20-30 ve daha fazla bitki de olabilmektedir. Toplamda 54 farklı lokasyonda gözlem yapılmıştır. Hastalık oranı (%), sörvey yapılan hastalıklı örnek sayısının, incelenen toplam örnek sayısına oranlanmasıyla aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Kranz ve Rotem, 2012).



$$\text{Hastalık oranı} = \frac{\text{Hastalıklı örnek sayısı}}{\text{İncelenen toplam örnek sayısı}} * 100$$

### 3.2.3. Hastalıklı Bitkilerden Fungusun İzolasyonu

Laboratuvara getirilen hastalıklı bitki örneklerinden odun kısma en yakın noktasından hastalıklı ve sağlıklı dokuları içerecek şekilde yaklaşık 1 cm parçacıklar alınmıştır. Parçacıklar %2 lik NaOCl'de 2 dakika yüzeysel sterilizasyona tabi tutulmuş, ardından 2 kez steril saf sudan geçirilerek, 2 kat steril kurutma kağıdında kurumaya bırakılmıştır. Parçacıklar 25-30 dakika kurutulduktan sonra PDA ortamına ekimi yapılmış ve 20°C sıcaklıkta karanlıkta inkübe edilmiştir (Şekil 4) (Danti, vd. 2014).



Şekil 4. İzolasyon işleminde, kurutma kağıdında kurumaya bırakılan doku parçaları ve ekim için hazırlanmış patates dekstroza agar (PDA) ortamları

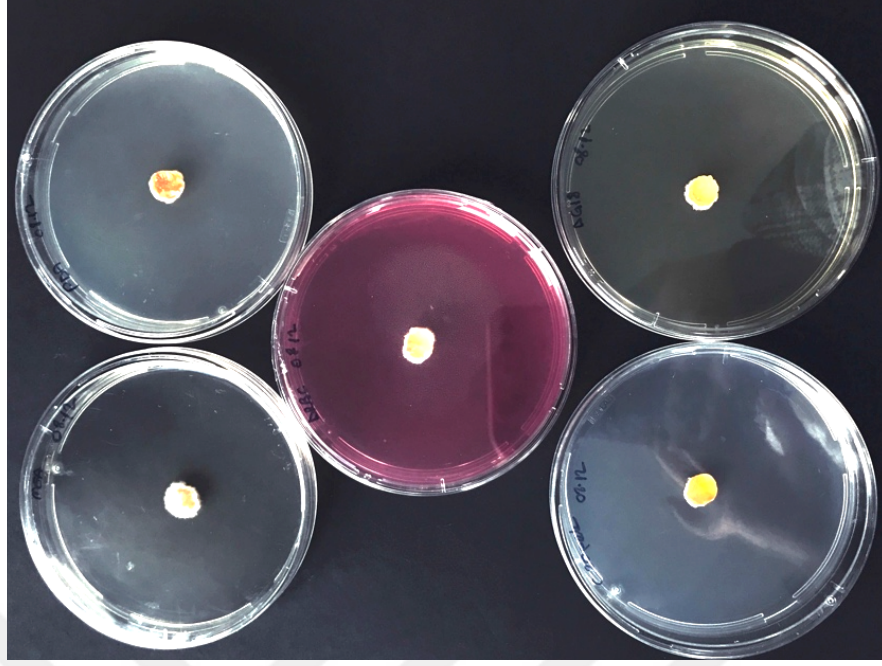
Gelişen kolonilerin en uç kısmından steril bir cork borer (mantar delici) yardımıyla 1 cm çapında miselyal diskler alınarak yeni petrilere aktarılıp saflaştırmaları yapılmıştır. Gelişen kolonilerden alınan yeni diskler bir sonraki çalışmalarda kullanılmıştır; aynı zamanda eğik agara alınarak soğutucuda +4 derecede muhafaza edilmiştir.

### **3.2.4. *Seridium cardinale*'nin Morfolojik Karakterizasyonu**

Sörvey esnasında alınan hastalıklı bitki parçalarında bulunan acervuluslarda konidiler mikroskop altında gözlemlenmiştir. Makrokonidinin büyüklüğü, bölme sayısı ve konidi uzantılarının varlığı mikroskopik teşhiste ilk aşamayı oluşturmuştur. Fungusun besin ortamında miselyal olarak teşhisi için ise PDA ve malt ekstrakt agar (MEA) kullanılmıştır; inokulasyondan 14 gün sonra izolatların miselyal gelişim hızları, petri kaplarında üstten ve alttan görünen koloni rengi ve oluşturdukları koloninin genel görünümü gözlemlenmiştir (Bonthond, 2018). Etmenin acervulus oluşumunu teşvik etmek için mısır unu agar (corn meal agar: CMA) kullanılmıştır.

### **3.2.5. *Seridium cardinale*'nin Farklı Ortamlarda ve Sıcaklıklarda Gelişimleri**

*S. cardinale* besin ortamında yavaş gelişen bir fungustur. Fungusun en iyi gelişebildiği besin ortamı ve sıcaklık değerlerinin saptanması amacıyla 5 yapay besin ortamı ve 3 farklı sıcaklık derecesi kullanılmıştır. Tek bir izolatın referans olarak kullanıldığı çalışmanın bu bölümünde PDA, MEA, Czapek Agar, DRBC agar ve DG18 besin ortamları; 21, 25 ve 28<sup>0</sup>C sıcaklık dereceleri kullanılmıştır. Bu amaçla 10 mm'lik fungal diskler besin ortamının ortasına yerleştirilmiş, kenarları parafilm ile kapatılarak belirtilen sıcaklıklara ayarlanmış inkübatörlerde 14 gün inkübe edilmiştir (Şekil 5). Deneme her bir ortam ve sıcaklık için 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Her bir petride bulunan fungal kolonilerin çapları en uzun ve en kısa ölçümlerinin ortalaması alınacak şekilde 14. gün yapılmıştır.



Şekil 5. Fungusun gelişimi için kullanılan 5 farklı yapay besin ortamlarına ekimi yapılmış fungal diskler

### 3.2.6. İzolatların Patojenik Karakterizasyonu

İzolatların virülensliklerini saptamak için rastgele seçilen 3 izolat ile patojenisite testi yapılmıştır. Kullanılan izolatlar Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2

Virülenslik denemelerinde kullanılan *Seiridium cardinale* izolatları ve izolatların toplandıkları lokasyonlar.

İzolat Kodu	İzolatın alındığı lokasyon
DRN1*	Merkez
AİYG3	Merkez
ATR5	Merkez
AKİ1	Kilitbahir

\* Referans izolat olarak kullanılmıştır (Mert, vd., 2022).

Yaklaşık 2 yaşında olan limoni servi fidanlarının topraktan yaklaşık 30 cm yüksekliğinde ana gövdede bulunan yapraklar ve yan dallar inokulasyonu engellemeyecek şekilde uzaklaştırılmıştır. Ana gövdede 1 cm çapında cork borer yardımıyla açılan kabuk dokusu uzaklaştırılmış ve PDA’da gelişmekte olan 14 günlük taze kültürlerden alınan 1 cm çapında diskler odun dokusuna, miselyum yaraya temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Disklerin üstü nemli pamuk ile kapatılmış daha sonra parafilm ile kaplanmıştır (Şekil 6). Kontrol fidanları için steril PDA ile aynı işlem uygulanarak inokulasyon yapılmıştır (Madar, vd. 1990).

Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre her izolat için 3 tekerrürlü olacak şekilde kurulmuştur. Deneme Nisan 2022’de kurulmuş, gözlemler 2 ay sonra lezyon alanı cetvel ile ölçülerek yapılmıştır (Tsopelas, vd. 2007).



Şekil 6. Patojenite testi için kullanılan limoni servi fidanları; (sağda) inokulasyon yapılmış gövde.

### 3.2.7. Farklı Konukçu Reaksiyonlarının Saptanması

Çalışmanın bu bölümü Çanakkale’de rekreasyon amacıyla kullanılan diğer Conifer bitkilerde *S. cardinale*’nin hastalık oluşturup oluşturmadığını saptamak amacıyla yapılmıştır. Kullanılan bitki türleri Tablo 3’te verilmiştir. Fidanların boyları farklı olduğundan topraktan yüksekte, ana gövdede bulunan yapraklar ve yan dallar inokulasyonu engellemeyecek şekilde uzaklaştırılmıştır. Ana gövdede 1 cm çapında cork borer yardımıyla açılan kabuk dokusu uzaklaştırılmış ve PDA’da gelişmekte olan 14 günlük taze kültürlerden alınan 1 cm çapında diskler odun dokusuna, miselyum yaraya temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Disklerin üstü nemli pamuk ile kapatılmış daha sonra parafilm ile kaplanmıştır (Madar, vd. 1990). Deneme 3 tekerrürlü olacak şekilde kurulmuştur. Deneme inokülasyondan 6 hafta sonra sonlandırılmıştır.

Tablo 3

*Seiridium cardinale*’nin farklı konukçularda patojenite testi için kullanılan bitki türleri

Latince	Türkçe
<i>Cupressus sempervirens</i> cv. <i>Stricta</i>	Kalem servi
<i>Cupressus arizonica</i> cv. <i>Greene</i>	Mavi (Arizona) servi
<i>Cupressocyparis leylandii</i>	Melez servi (leylandi)
<i>Thuja orientalis</i> cv. <i>Aurea compacta Nana</i>	Topalak mazı
<i>Thuja occidentalis</i> cv. <i>Smaragd</i>	Batı mazısı
<i>Pinus pinea</i>	Fıstık çamı



## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

### ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 4.1. Limoni Servilerde Hastalık Simptomları

Sörvey alanlarında ilk göze çarpan hastalık belirtisi genç dallarda veya ana gövdede geriye ölüm belirtisi olmuştur (Şekil 7A) Hastalıklı bitkilere daha yakından bakıldığında enfeksiyon noktasının etrafındaki canlı ve genç dalların kabuğunda kızarma veya esmerleşme belirgin simptomlar arasında olmuştur. Enfekteli alanda doku bozukluğu, ardından uzunlamasına çatlaklar oluştuğu ve bu çatlaklardan yoğun reçine akıntısı olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 7B). Enfeksiyon bölgelerinin çevresinde uzamış kanserlerin geliştiği ve bazı genç bitkilerin küçük dallarını veya gövdesini kuşattığı gözlemlenmiştir. Enfekteli kabuğun altındaki dokuların kırmızıdan kahverengine dönen renk değişikliği patojenin yayılma bölgelerinde görülmüştür. Kanser oluşumunun gözlemlendiği dokularda yoğun reçine akıntısının olduğu yerlerde fungusun oluşturduğu acervulusların çıplak gözle görülebilecek kadar belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Tüm bu simptomolojik gözlemler daha önce rapor edilen tanımlarla paralellik göstermiştir (Graniti, 1986; Mert ve ark, 2022).



Şekil 7. Sörvey alanlarında *Seiridium cardinale* ile enfekte olmuş bitkilerde simptom oluşumu; (A) Geriye ölüm belirtileri, (B) enfekteli bölgede zamklanma

## 4.2. Çanakkale’de *Seiridium cardinale*’nin Hastalık Oranının Saptanması

Çanakkale Merkez ilçede bulunan çiçek seralarında, site bahçelerinde, halka açık parklarda ve bahçelerde, Kepez, Kilitbahir ile sayfiye yerleri Güzelyalı ve Çınarlı’da bulunan evlerin bahçelerinde ve Gelibolu, Eceabat ve Lapseki ilçesi kıyı şeridinde bulunan limoni serviler sıklıkla gözlemlendiği hastalığın Çanakkale’nin Merkez ve bazı kıyı ilçeleri belde ve köylerinde hastalığın yaygınlığını ve oranını saptamak amacıyla yapılan sürveylere toplamda 1631 adet servi ağacında gözlem yapılmıştır (Tablo 4). Bu bitkilerin 27’sinde hastalık belirtileri gözlenmiş, hastalıklı doku örnekleri alınarak, oluşturdukları makrokonidilere göre teşhis yapılmıştır.

En çok gözlem Çanakkale Merkezde park ve site bahçeleri ile ticari çiçek seraları ve sayfiye yerleri olan Güzelyalı ve Çınarlı Köylerinde yapılmıştır. Çanakkale il merkezinde toplam 584 adet bitkinin 9’unda hastalık simptomları gözlemlenmiştir; böylece hastalık oranının %1.54 olduğu saptanmıştır. Yine Merkez ilçeye bağlı olan ve rekreasyon amacıyla üretim ve satış yapan 3 çiçek serasında yapılan gözlemlerde hastalık oranının %1.80 olduğu belirlenmiştir. Çiçek seralarında bulunan limoni servilerin enfekteli olması, hastalığın yeni alanlara taşınabileceğinden dolayı özellikle önem arz etmektedir. Çınarlı Köyünün Dardanos Mevkii’nde gözlemlenen 21 bitkinin 4’ü enfekteli iken (%19,04), Kilitbahir köyünde bulunan 2 adet limoni servinin 1’inin hasta olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4).

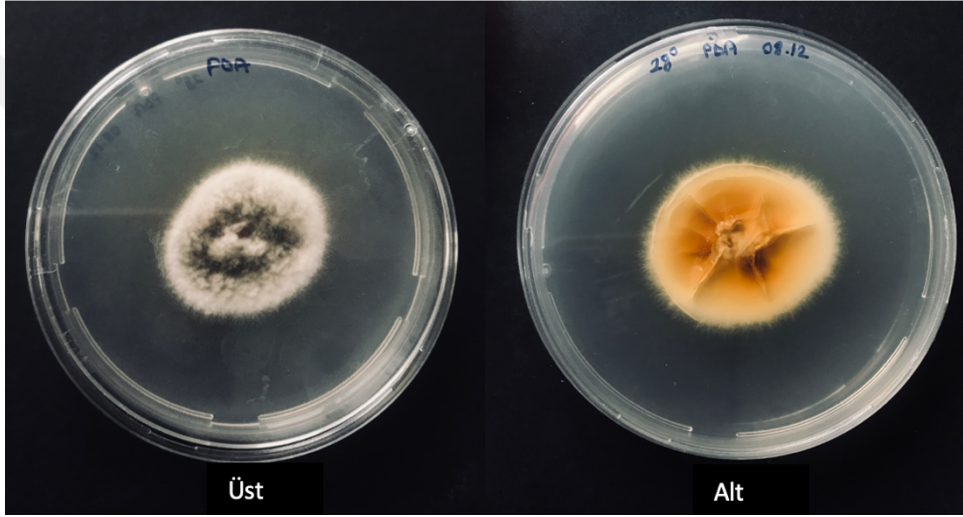
Tablo 4

Çanakkale Merkez ve kıyı ilçelerinde limoni servilerde *Seiridium cardinale*’nin hastalık oranı.

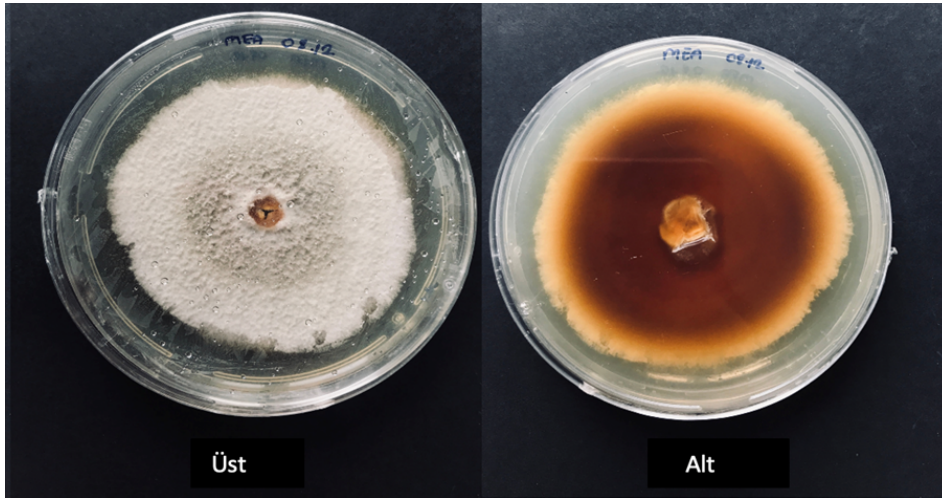
Sürvey alanı	Toplam bitki sayısı (adet)	Hasta bitki sayısı (adet)	Hastalık Oranı (%)
Çanakkale Merkez, park ve bahçeleri	584	9	1,54
Çanakkale Merkez, çiçek seraları	220	4	1,80
Çanakkale Merkez, Güzelyalı köyü	363	3	0,82
Çanakkale Merkez, Çınarlı köyü	21	4	19,04
Lapseki Merkez, park ve bahçeleri	222	5	2,25
Gelibolu Merkez, park ve bahçeleri	53	1	1,80
Eceabat, Kilitbahir köyü	2	1	50,00
<b>Toplam bitki sayısı</b>	<b>1631</b>	<b>27</b>	<b>1,65</b>

### 4.3. *Seiridium cardinale*'nin Morfolojik Karakterizasyonu

Hastalıklı bitkilerden alınan dokuların PDA ve MEA ortamına ekimi için ATR5 nolu izolat kullanılmıştır. Oldukça yavaş gelişen fungustan, izolasyondan 1 hafta sonra yapılan alt kültürlerde fungusun 15 günde petrinin sadece yarısını kapladığı gözlemlenmiştir. PDA ve MEA'da gelişen fungal koloninin üst kısmı ilk aşamada kirli beyaz, açık grimsi daha sonra ise koyu grimsi renge dönüştüğü, petrinin alt kısmının ise somon renginden, turuncumsu pembe, açık turuncu renklerde olduğu gözlenmiştir (Şekil 8 ve Şekil 9).



Şekil 8. Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamında *Seiridium cardinale*'nin 25°C'de 7 gün sonraki gelişimi.

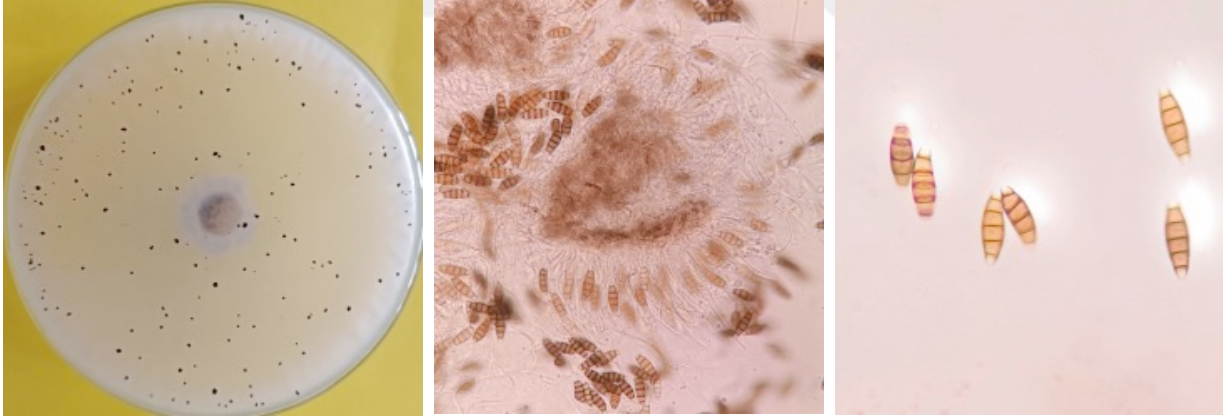


Şekil 9. Malt Ekstrakt Agar (MEA) ortamında *Seiridium cardinale*'nin 25°C'de 14 gün sonraki gelişimi.



CMA içeren ortamlara ekim yapılan disklerden gelişen koloniler PDA ve MEA'dan farklı olarak daha yüzeysel olarak gelişmiştir; koloni renginin de diğer ikisi ile kıyaslandığında karakteristik olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 10). Oda sıcaklığında CMA'da gelişen koloniler 2 aylık periyot sonunda tam olgun acervulus oluşturmuştur. Besin ortamı yüzeyinin hemen altında veya daha derinlerde oluşan acervulusta bol miktarda makrokonidi oluşmuştur. Mikroskopik incelemede konidilerin fusiform şeklinde, düz veya hafif kavisli, 4 bölmeli, hiyalin görünümde olduğu, ayrıca herhangi bir uzantı içermeyen konik uç hücreler ve dört medyan hücre görünümünde, sarı-kahverenginde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 10).

Bonthond, vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada konidilerin morfolojik yapısı görsel olarak rapor edilmiştir. Alınan örnek dokularının mikroskop altında incelenmesi sonucu iki çalışmanın sonuçlarının paralellik gösterdiği görülmüştür.



Şekil 10. *Seiridium cardinale*'nin CMA ortamında oluşturduğu acervuluslar (solda); ışık mikroskobunda acervulusun ve konidilerin görünümü (ortada), konik uç hücrelerle birlikte dört medyan hücreli konidiler (sağda).

#### 4.4. *Seridium cardinale*'nin Farklı Ortam ve Sıcaklıklarda Gelişimleri

Literatürde *S. cardinale* ile ilgili çok az rapor bulunmasından dolayı, çalışmanın bu bölümü tasarlanmıştır. Farklı ortamlarda ve farklı sıcaklıklarda patojenin gelişimini gözlemlemek için 5 farklı fungal besin ortamı (PDA, MEA, Czapek Agar, DRBC agar, DG18) 3 farklı sıcaklık derecesinde (21°C, 25°C ve 28°C) inkübe edilmiştir. Gözlemler ekimden 14 gün sonra yapılmıştır.

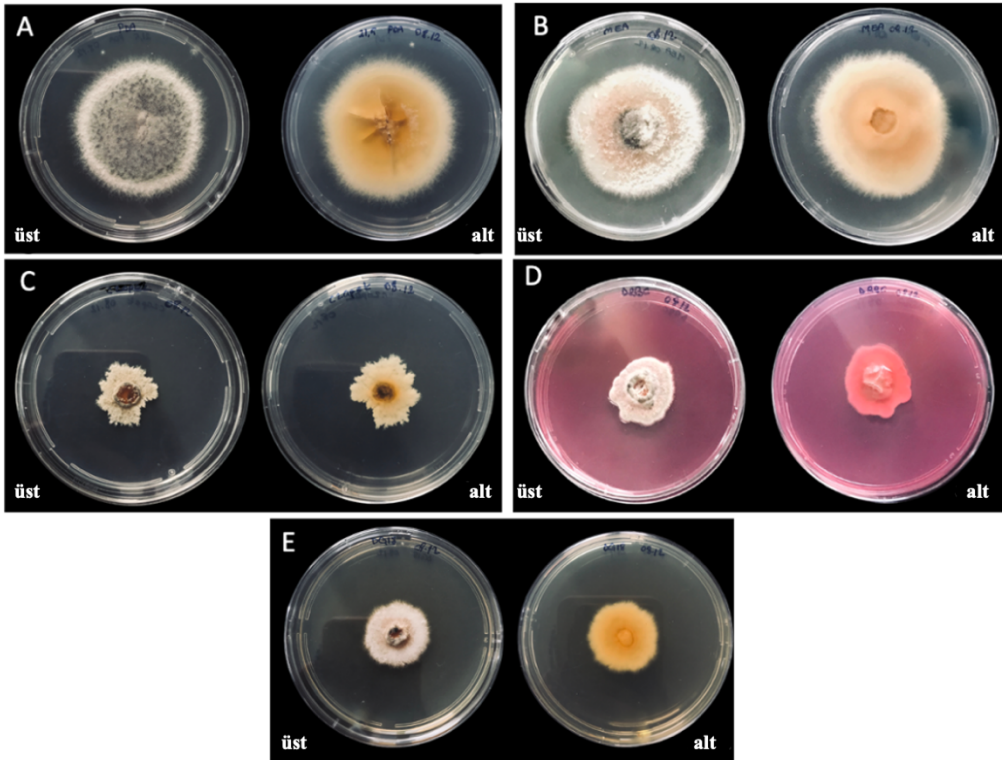
Fungal besin ortamı fark etmeksizin farklı sıcaklık değerleri açısından karşılaştırıldığında fungusun 25°C'de en iyi geliştiği saptanmıştır (Tablo 5; Şekil 11, 12 ve 13). Bir alt ve bir üst sıcaklıklar olan 21°C ve 28°C'lerde ise koloni çapları benzer olup, 25°C'de gelişenlerden daha küçük çapa sahip olmuştur. Fungusun her 3 sıcaklık değerinde PDA ve MEA'da diğerleriyle kıyaslandığında daha iyi geliştiği gözlenmiştir. Böylece optimum gelişmenin MEA ve PDA'da 25°C'de olduğu saptanmıştır.

Tablo 5

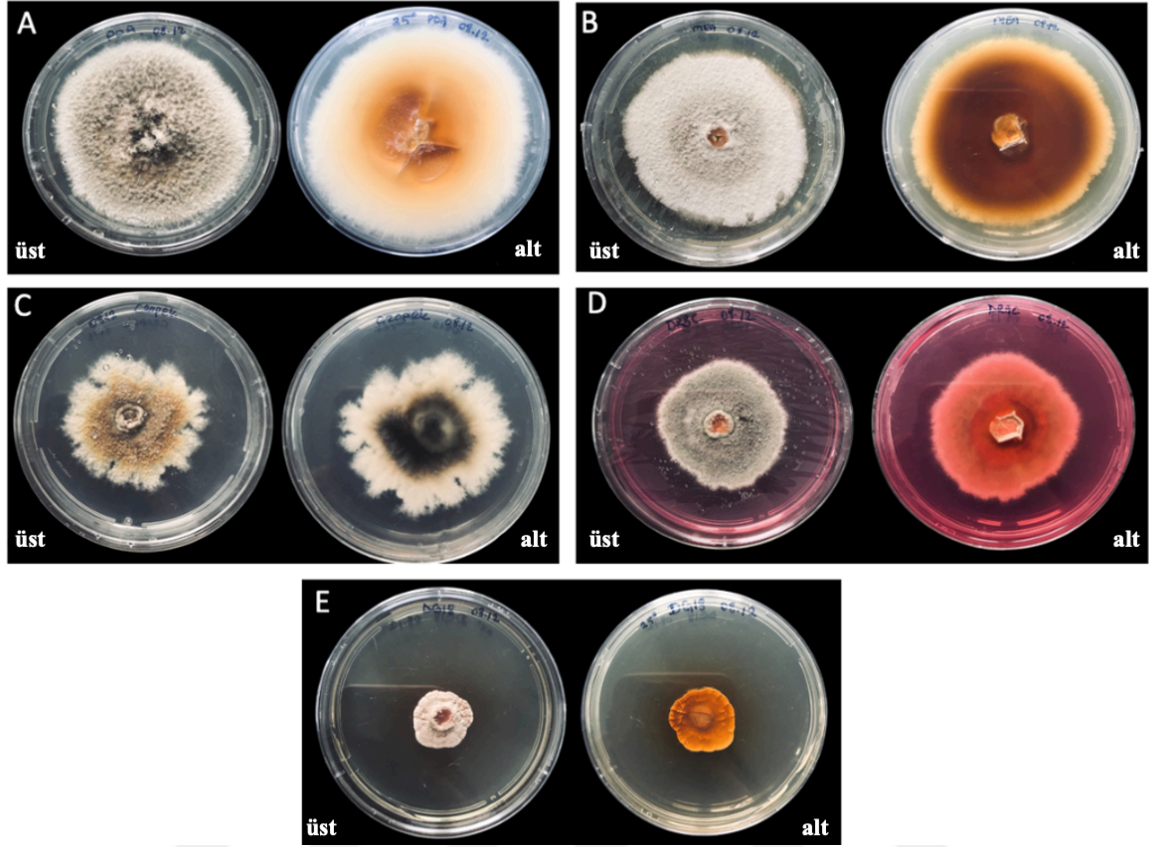
*Seiridium cardinale*'nin 5 farklı fungus besin ortamı ve 3 sıcaklık derecesinde koloni gelişimi (cm).

<b>Fungus Besin</b>			
<b>Ortamları</b>	<b>21°C</b>	<b>25°C</b>	<b>28°C</b>
Czapek	3,3	4,5	3,93
PDA	4,9	6,51	5,19
MEA	4,5	6,53	4,61
DG18	2,51	2,4	2,91
DRBC	3,48	4,72	4,07
<b>Ortalama</b>	<b>3,74</b>	<b>4,9</b>	<b>4,1</b>

Farklı ortamlarda gelişim karakteristiği açısından değerlendirildiğinde MEA'da koloninin ön yüzünde kirli beyaz koloni rengine sahip, arka yüzünde somon renginden, turuncumsu pembe, açık turuncu olduğu gözlemlenmiştir. Miselyumun daha yüzeysel gelişmiş, koloni çevresi homojen olarak büyüme göstermiştir. PDA ortamında koloni rengi ön yüzünde, koloni içten dışa doğru koyu griden açık gri rengine sahip, arka yüzünde somon rengi, açık turuncu olduğu gözlemlenmiştir. Koloni şekli homojen olarak gelişmiştir; ayrıca koloni merkezinde kabarık miselyal gelişim olduğu görülmüştür. Czapek ortamında koloninin homojen gelişmediği koloni çevresinin girintili çıkıntılı olduğu gözlenmiştir. Ön yüzü kirli, koyu gri rengine sahip, arka yüzü koloni ortası siyahtan krem rengine geçiş yapan bir görünüme sahip olduğu görülmüştür. DG18 ortamında, kalın koloniye sahip bir şekilde gelişim göstermiştir. Koloni rengi açık griden, koyu griye devam eden renklerde olduğu görülmüştür. Homojen bir gelişim göstermiştir. DRBC ortamında fungal koloni daha geç bir gelişim göstermiştir. Koloni ön ve arkasında bakıldığında ön yüzünde kirli beyaz koloni rengine sahip, arka yüzünde somon renginden, turuncumsu pembe, açık turuncu olduğu gözlemlenmiştir. DRBC ortamında fungus dairesel bir gelişim gösterdiği görülmüştür.

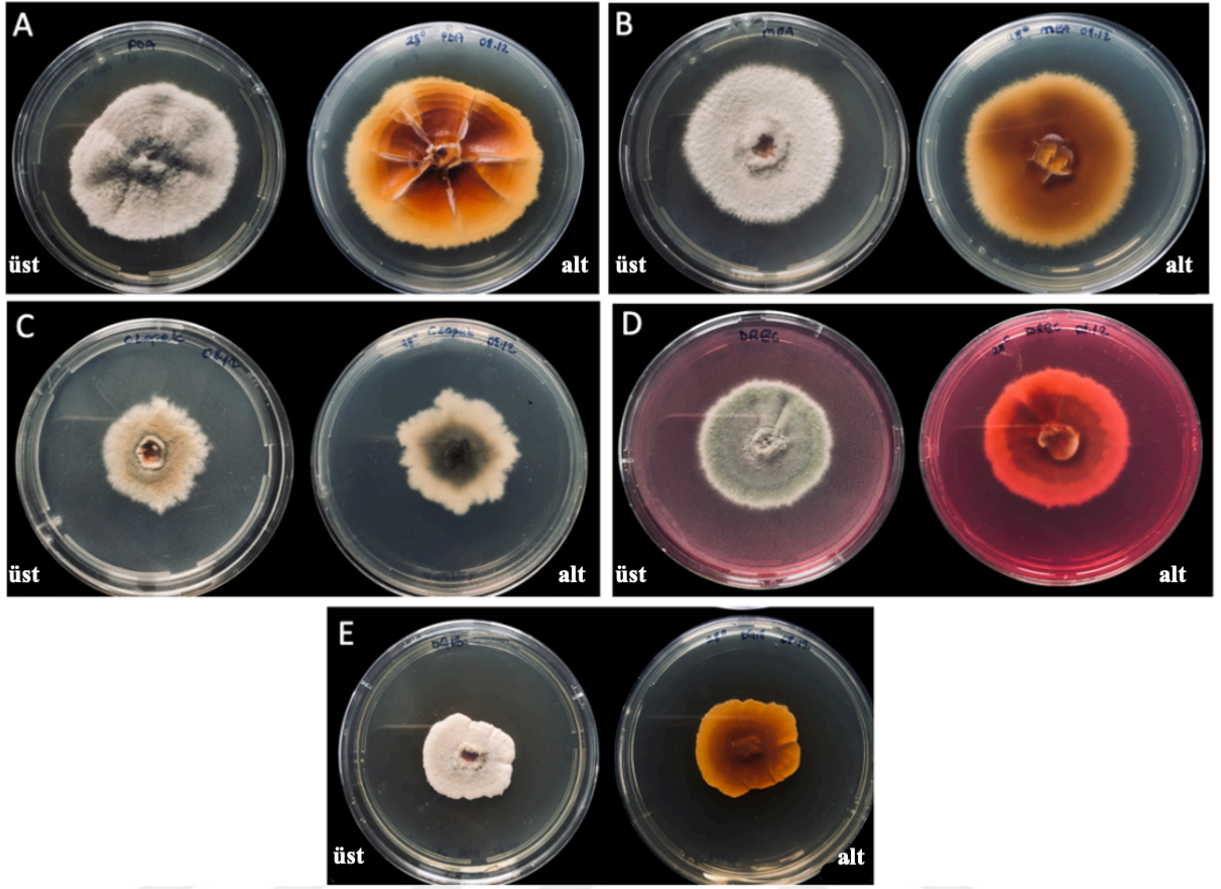


Şekil 11. *Seiridium cardinale*'nin 14 günde 21<sup>0</sup>C'de farklı besin ortamlarında gelişme morfolojileri, (A) PDA, (B) MEA, (C) Czapek agarı, (D) DRBC, (E) DG18



Şekil 12. *Seiridium cardinale* 'nin 14 günde 25<sup>0</sup>C'de farklı besin ortamlarında gelişme morfolojileri, (A) PDA, (B) MEA, (C) Czapek agarı, (D) DRBC, (E) DG18

ATR5 izolatu kullanılarak 3 farklı sıcaklıkta fungal ortamlarda gelişimi gözlenen fungusun optimum olarak 25<sup>0</sup>C'de MEA ve PDA agar ortamlarında geliştiği, 21<sup>0</sup>C ve 28<sup>0</sup>C'de ise koloni gelişiminin daha yavaş olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 13. *Seiridium cardinale*'nin 14 günde 28<sup>0</sup>C'de farklı besin ortamlarında gelişme morfolojileri, (A) PDA, (B) MEA, (C) Czapek agarı, (D) DRBC, (E) DG18

Bonthond, vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada farklı besin ortamlarında *S. cardinale* koloni gelişimi 22<sup>0</sup>C 'de 14 günlük inkübasyon sonucunda incelenmiştir, çalışmada besin ortamı olarak PDA, CMA, SNA ve MEA kullanılmıştır. Çalışma sonucundan 22<sup>0</sup>C 'de 14 gün sonunda CMA besin ortamında en iyi geliştiği görülmüştür. Ayrıca çalışmada fungal koloni çapı PDA ve MEA ortamlarında karşılaştırıldığında, PDA'da 6-6,1 cm çapa ulaşırken, MEA'nda 4,5-4,9 cm çapa ulaştığı yapılan çalışmada rapor edilmiştir. Bonthond, vd. (2018) yaptığı çalışmanın sonucu ile bu çalışmanın sonucu karşılaştırıldığında 22<sup>0</sup>C 'ye en yakın 21<sup>0</sup>C sıcaklıkta inkübe edilen grubun koloni gelişimi PDA ortamında gelişen fungal koloni çapı 14 günün sonunda 4,9 cm, MEA ortamında gelişen fungal koloni çapı 4,5 cm olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmanın sonucu Bonthond, vd. (2018)'nin çalışması ile paralellik göstermektedir.



#### 4.5. Patojenisite Çalışmaları

İzole edilen ve rastgele seçilen 3 izolat ile yapılan patojenisite testi sonucunda, izolatların patojen olduğu saptanmıştır. Çalışmada Mert, vd. (2022) kullandığı izolat referans izolat olarak kullanılmıştır. Kullanılan izolatların künyeleri Tablo 2’de verilmiştir. Kontrol fidanlara da aynı işlem uygulanarak steril PDA ile inokulasyonu yapılmıştır (Madar, vd. 1990). İnokulasyondan 2 ay sonra yapılan ölçümlerde, referans alınan DRN1 izolatı (Şekil 14) ile AİYG3, ATR5 (Şekil 15), AKİ1 izolatlarının inokulasyon noktasından yanlara, aşağı ve yukarı doğru kahverengileşme ve yoğunlaşan reçine akıntısı belirtileri gözlemlenmiştir. Hastalanan dokulardan re-izolasyon yapılmış ve elde edilen koloniler bölüm 4.2 alt başlık altındaki morfolojik tanımlarla paralellik göstermiştir. İzolatların oluşturduğu lezyon ölçümleri Tablo 6’te verilmiştir.

Tablo 6

*Seiridium cardinale* izolatları ile inokule edilen 2 yaşındaki limoni servilerde lezyon çapları (cm).

İzolat No	Lezyon boyu (cm)
Negatif Kontrol	0
DRN1*	3,06
AİYG3	2,16
ATR5	4,66
AKİ1	7,33

\* Referans izolat olarak kullanılmıştır (Mert, vd. 2022).



Şekil 14. *Seiridium cardinale*'nin referans alınan DRN1 kodlu izolatı ile 2 yaşında limoni serviye yapılan inokulasyonda lezyon gelişimi sonucu (A) enfekteli bölgede zamklanma, (B) enfekteli bölgenin kabuk dokusu altında kırmızı-kahve renk değişikliği.



Şekil 15. *Seiridium cardinale*'nin ATR5 kodlu izolatı ile 2 yaşında limoni serviye yapılan inokulasyonda lezyon gelişimi sonucu enfekteli bölgede yoğun zamklanma.

#### 4.6. Farklı Konukçularla Patojenisite Çalışmaları

Limoni servilerde oldukça yıkıcı olan ve buldukları ortamda hızla yayılım gösteren servi kanserinin Çanakkale'de tercih edilen diğer coniferlere olan etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada *C. leylandii* (leylandi), *C. arizonica* cv. Greene (mavi servi) ve *C. sempervirens* cv. Stricta (kalem servi)'de hastalık belirtileri gözlenmiş, dolayısıyla bu



bitkilerde patojen olduğu saptanmıştır. Patojenisite testine alınan *T. occidentalis* cv. Smaragd (Batı mazısı), *T. orientalis* cv. Aurea compacta Nana (Topalak mazı) ve *P. pinea* (Fıstık çamı) fidanlarında inokülasyon noktasında herhangi bir simptom oluşumu gözlenmemiştir. Konukçu olmasına rağmen hastalık belirtisi inokülasyon yapılmasına rağmen; uygun ortam, iklim şartları ya da diğer dış etkenlerden kaynaklı hastalık belirtisi göstermemiş olması ihtimaller dahilindedir.



Şekil 16. *Seiridium cardinale*'nin ATR5 izolatı ile inoküle edilen bitkilerde hastalık oluşumu (A) *Cupressus sempervirens* cv. Stricta (kalem servi); (B) *Cupressus arizonica* cv. Greene (mavi servi); (C) *Thuja occidentalis* cv. Smaragd (Batı mazısı); (D) *Thuja orientalis* cv. Aurea compacta Nana (Topalak mazı); (E) *Pinus pinea* (Fıstık çamı); (F) *Cupressocyparis leylandii* (leylandi)

Oldukça duyarlı olan *C. macrocarpa*, diğer Amerikan türlerinden ve *C. sempervirens* çeşitleri gibi orta derecede duyarlı Akdeniz türlerinden, nispeten dirençli *C. glabra*'a kadar serviler tarafından çeşitli derecelerde duyarlılığı olabileceği daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Graniti, 1998). Yapılan gözlemlerle test ettiğimiz 3 servi türünün *S. cardinale*'ye karşı diğer türlere göre daha hassas olması literatür ile paralellik göstermiştir. Ayrıca Jones (1954) tarafından yapılan çalışmada alınan sonuçlarda *C. macrocarpa*'nın test edilen türler arasında servi kanserine karşı kullanılan türler arasından en hassas tür olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir.

Graniti (1998) patojenin *Cupressus* spp. dışında *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressocyparis*, *Juniperus*, *Thuja*'nın çeşitli türlerini ve Cupressaceae'nin ilgili cinslerini (ve melezlerini) etkilediğini belirtmiştir. Bizim çalışmamızda yer alan *Thuja occidentalis*'in her iki çeşidinde de hastalık oluşumu gözlenmemiştir. Çanakkale'de sıklıkla dikimi yapılan fıstık çamında *S. cardinale*'nin enfeksiyon yaptığına dair literatürde bilgiye rastlanmamıştır.

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, Çanakkale Merkez, Gelibolu, Eceabat ve Lapseki ilçelerinden toplanan *S. cardinale* ile enfekteli limoni servi bitkilerinden izole edilen dokulardan *S. cardinale*'nin yaygınlığının saptanması, morfolojik ve patojenik karakterizasyonunun belirlenmesi amacıyla 2021-2022 yılları arasında yapılmıştır.

Çanakkale ilçelerde limoni servi bulunan alanlarında gerçekleştirilen sörveylerde hem rekreasyon amacıyla hem de çit bitkisi olarak kullanılan bitkinin servi kanseri nedeniyle tehdit altında olduğu görülmüştür. *S. cardinale* yaygınlığını incelemek amacıyla yapılan ve Çanakkale'de geniş bir bölgeyi kapsayan çalışmada 1631 ağacın %1,65'i servi kanseri hastalığından etkilenmiş olduğu tespit edilmiştir.

Patojenite testleri, hastalıklı dokudan elde edilen hastalığın virülensliğini ve hastalığın semptomlarını saptamada sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Graniti, 1998; Tsopelas, vd. 2007). Çalışmada limoni servilere hastalıklı bitkilerden izole edilen izolatlarla inokülasyon yapılmış, hastalığın semptomları her izolat için gözlemlenip sonucunda hastalık belirtisi gösteren örneklerde ölçüm yapılmıştır. İnokülasyonda kullanılan 3 adet izolat ve referans alınan DRN1 izolatında semptom gelişimi gözlenerek ölçümler yapılmıştır. Bu izolatlardan AİYG3 izolatı ile yapılan inokülasyonda lezyon boyu 2,53 cm olarak ölçülmüştür, ATR5 izolatının inokülasyonu sonucu gösterdiği lezyon 4,66 cm olarak, AKİ1 izolatı kullanılarak yapılan inokülasyon sonucu 7,33 cm olarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler ışığında lezyon oluşumu gösteren 3 adet izolatın patojen olduğu sonucunda gözlemlenmiştir.

Rekreasyon amacıyla kullanılan diğer coniferlerde *S. cardinale*'nin hastalık oluşturup oluşturmadığını saptamak amacıyla farklı coniferlerde patojenite testleri yapılmıştır. Bu çalışmada 6 bitki türü kullanılmıştır. Yapılan çalışmada *C. leylandii* (leylandi), *C. arizonica* cv. Greene (mavi servi) ve *C. sempervirens* cv. Stricta (kalem servi)'de hastalık semptomları gözlenmiştir. *T. occidentalis* cv. Smaragd (Batı mazısı), *T.*

*orientalis* cv. Aurea compacta Nana (topalak mazı) ve *P. pinea* 'da (fıstık çamı) ise herhangi bir simptom oluşumu gözlenmemiştir. Çalışmanın sonucunda *C. leylandii* (leylandi), *C. arizonica* cv. Greene (mavi servi) ve *C. sempervirens* cv. Stricta (kalem servi) türleri *S. cardinale*'nin konukçusu olduğunu destekler nitelikte olduğu görülmüştür.

Günümüzde bu hastalık etmeni ile ilgili birçok araştırma, kültürel değişiklikler, hastalık fizyoloji ve direnç gibi daha birçok çalışma yapılmaktadır. *S. cardinale* diğer birçok kanser hastalıkları gibi, kontrol edilmesi zor bir patojen olmaya devam etmektedir. Etmenin geniş konukçu dizini, hızlı yayılması sayesinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Graniti, 1991). Mevcut kayıpların artışı etmenin popülasyon genetiğinin araştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Fungus popülasyonlarındaki genetik araştırmalar fungusa karşı gerçekleştirilecek olan alternatif ve daha etkin mücadele yöntemleri için alternatif olacaktır.

Servi kanserinin rekreasyon amacıyla kullanılan limoni servilerden doğal orman ekosistemine sıçraması, Türkiye ormanları için tehdit oluşturma potansiyeli vardır. Dolayısıyla yapılan bu çalışmanın bundan sonra yapılacak diğer çalışmalar için temel teşkil edebileceği düşünülmektedir. Bu tez Türkiye'de *S. cardinale*'nin limoni servide yaygınlığının ve hastalık oranının tespit edildiği, ayrıca izolatların morfolojik ve patojenik karakterizasyonunun belirlendiği ilk araştırma niteliğini taşımaktadır.

## KAYNAKÇA

- Barthelet, J. and Vinot, M. (1944). "Notes on the disease of plants grown in the South of France". Annual Epitology NS, 10, 11-23.
- Beresford, R. M. and Mulholland, R. I. (1982). "Susceptibility of farm shelter cypresses to three fungi associated with cypress canker disease". New Zealand Journal of Forestry Science, 12(1), 7-13.
- Birch, T. T. (1933). "Gummosis diseases of *Cupressus macrocarpa*". New Zealand Journal of Forestry, 3, 108-113.
- Boesewinkel, H. J. (1983). "New records of the three fungi causing cypress canker in New Zealand, *Seiridium cupressi* (Guba) comb. nov. and *S. cardinale* on *Cupressocyparis* and *S. unicornae* on *Cryptomeria* and *Cupressus*". Transactions of the British Mycological Society, 80(3), 544-547.
- Bonthond, G. S.D. (2018). "*Seiridium* (Sporocadaceae): an important genus of plant pathogenic fungi". Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 40(1), 96-118.
- Danti, R., Barberini, S., Pecchioli, A., Di Lonardo, V., Della Roca, G. (2014). "The epidemic spread of *Seiridium cardinale* on Leyland cypress severely limits its use in the Mediterranean". Plant Disease, 98(8), 1081-1087.
- Danti, R., Della Rocca, G., Panconesi, A. (2013). "Cypress Canker". Infectious Forest Diseases, 359-373.
- Danti, R., Rocca, G. D., El-Wahidi, F. (2009). "*Seiridium cardinale* newly reported on *Cupressus sempervirens* in Morocco". Plant Pathology, 58(6), 1174.
- Della Rocca, G., Osmundson, T., Danti, R., Doulis, A., Pecchioli, A., Donnarumma, F., Garbelotto, M. (2013). "AFLP analyses of California and Mediterranean populations of *Seiridium cardinale* provide insights on its origin, biology and spread pathways". Forest Pathology, 43(3), 211-221.
- Erođlu, E., Kesim, G. A., Mderrisođlu, H. (2005). "Dzce kenti aık ve yeşil alanlarındaki bitkilerin tespiti ve bazı bitkisel tasarım ilkeleri ynnden değerlendirilmesi". Journal of Agricultural Sciences, 21(2), 270-277.

- Gadek, P. A., Alpers, D. L., Heslewood, M. M., and Quinn, C. J. (2000). Relationships within Cupressaceae sensu lato: a combined morphological and molecular approach. *American journal of botany*, 87(7), 1044-1057.
- Ghatas, Y. (2020). Influence of benzyladenine and kristalon fertilizer treatments on growth and chemical constituents of lemon cypress (*Cupressus macrocarpa*) Plant. *Scientific Journal of Flowers and Ornamental Plants*, 7(3), 221-237
- Graniti, A. (1986). “*Seiridium cardinale* and other cypress cankers”. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 16, 479-486.
- Graniti, A. (1998). “Cypress canker: a pandemic in progress”. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 91-114.
- Grasso, V. (1951). A new pathogen *Coryneum cardinale* of *Cupressus macrocarpa* in Italy. *Italia forestale e montana*, 6(2), 62-5.
- Grasso, V., and Ponchet, J. (1980). History, geographic distribution and hosts of *Coryneum cardinale*. 10, 119-126.
- Hemati, A. and Khanjani, S. B. (2010). “The study of the effects of soil and environment condition on *Cupressus macrocarpa* rhizogenesis”. *Plant and Ecosystem*, 5, 17-28.
- Jones, D. R. (1954). “Studies on a canker disease of cypresses in East Africa, caused by *Monochaetia unicornis* (Cooke and Ellis) SACC : III. Resistance and susceptibility of species of *Cupressus* and allied genera”. *Annals of Applied Biology*, 41(2), 325-335.
- Kranz, J. and Rotem, J. (2012). “Experimental techniques in plant disease Epidemiology”. Springer Science and Business Media. 35-50.
- Madar, Z., Solel, Z., Szejnberg, A. (1990). “The effect of *Diplodia pinea* f.sp . *Cupressi* and *Seiridium cardinale* on water flow in cypress branches”. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 37(5), 389-398.
- Mert, F., Ondes, A., Dervis, S. (2022). “New Threat to Lemon Cypress (*Cupressus macrocarpa* cv. Goldcrest) in Turkey: *Seiridium cardinale*”. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(1), 131-136.
- Milenković, I., Radulović, Z., Karadžić, D. (2022). “First report of *Seiridium cardinale* on *Cupressus sempervirens* in Serbia”. *Plant Protection Science*, 58(4), 360-364.

- Panconesi, A. (1990). "Pathological disorders in the Mediterranean basin". Agrimed Research Programme, Progress in EEC Research on Cypress Diseases, 12493, 54-81.
- Panconesi, A. and Ongaro, L. (1982). "*Seiridium (Coryneum) cardinale* (Wag.) Sutton and Gibson: epiphytological aspects in some *Cupressus* woods". Rivista di Patologia Vegetale, 18(3/4), 109-121.
- Rocca, D., Eyre, C. A., Danti, R. and Garbelotto, M. (2011). "Sequence and Simple-Sequence Repeat Analyses of the Fungal Pathogen *Seiridium cardinale* Indicate California Is the Most Likely Source of the Cypress Canker Epidemic for the Mediterranean Region". Phytopathology, 101(12), 1408-1417.
- Sümer, S. (1987). "The distribution of cypress (*Cupressus* L.) in Turkey and the current status in its pests and diseases, especially cypress canker disease". İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 37(1), 46-66.
- Sanchez, M. E. and Gibbs, J. N. (1995). "The ecology of fungal cankers on *Cupressus macrocarpa* in southern England". European journal of forest pathology, 25(5), 266-273.
- Salem, M. Z., Elansary, H. O., Ali, H. M., El-Settawy, A. A., Elshikh, M. S., Abdel-Salam, E. M., and Skalicka-Woźniak, K. (2018). "Bioactivity of essential oils extracted from *Cupressus macrocarpa* branchlets and *Corymbia citriodora* leaves grown in Egypt". BMC complementary and alternative medicine, 18(1), 1-7.
- Sarı, D. and Karaşah, B. (2021). "Landscape Assessment of Plant Material Used in Campuses". Multidisciplinary Perspectives in Educational and Social Sciences (s. 253-280).
- Saravi Cisneros, R. (1953). "Cancrosis de los cipreses provocada por" *Coryneum cardinale*" Wagener en la Provincia de Buenos Aires (Argentina)". Revista de la Facultad de Agronomía, 29(1), 107-119.
- Sparapano, L., Luisi, N., Evidente, A. (1995). "Comparison of pathogenic and toxigenic isolates of *Seiridium cardinale* from cankered cypresses". Shoot and foliage diseases in forest trees., 17, (132-137).

- Sutton, B. C. and Gibson, I. A. (1972). "*Seiridium [Coryneum] cardinale*", 326. Common Wealth Mycological Institute., 1, 326.
- Tsopelas, P., Barnes, I., Wingfield, M. J., and Xenopoulos, S. (2007). "*Seiridium cardinale* on Juniperus species in Greece". Forest Pathology, 37(5), 338-347.
- Urbasch, I. (1993). "Natural occurrence of *Seiridium cardinale* on Thuja in Germany". Journal of Phytopathology, 137(3), 189-194.
- Van der Werff, H. S. (1988). "Cypress canker in New Zealand plantations". New Zealand Journal of Forestry Science, 18(1), 101-108.
- Wagener, W. W. (1928). "Coryneum canker of cypress". *Science*, 67(1745), 584-584.
- Wagener, W. W. (1939). "The canker of *Cupressus* induced by *Coryneum cardinale*". Journal of Agricultural Research 58(1), 1-46.
- Wagener, W. W. (1948). "Diseases of cypresses". *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*, 1(1), 255-321.
- Wimbush, S. H. (1944). "Canker on Monterey cypress in Kenya". *Empire Forestry Journal*, 23(1), 74-74.
- Xenopoulos, S. G. (1991). "Pathogenic variability of various isolates of *Seiridium cardinale*, *S. cupressi* and *S. unicornne* inoculated on selected *Cupressus* clones and seedlings". *European Journal of Forest Pathology*, 21(3), 129-135.
- Xenopoulos, S. and Diamandis, S. (1985). "A distribution map for *Seiridium cardinale* causing the cypress canker disease in Greece". *European Journal of Forest Pathology*, 15(4), 223-226.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

İsim SOYİSİM :

Doğum Yeri :

Doğum Tarihi :

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü,  
2017

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim  
Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 2023

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

#### a) Yayınlar

1) Diğer

New Threat to Lemon Cypress (*Cupressus macrocarpa* cv. Goldcrest) in Turkey: *Seiridium*  
*cardinale*

#### b) Sempozyum

1) Ulusal

Ziraat Fakültesi Dekanlığı 3. Çanakkale Tarımı Sempozyumu

#### c) Katıldığı Projeler

BAP – Proje No: 2021-3752

### İLETİŞİM

E-posta Adresi :

ORCID :



