

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAĞLARDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI ETMENİ (*Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr.)'
NİN KULLANILAN FUNGİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ VE KİMYASAL MÜCADELESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

NAGEHAN DESEN KÖYCÜ

DOKTORA TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

I. Danışman: Prof. Dr. NURAY ÖZER

II. Danışman: Prof. Dr. NAFİZ DELEN

2007

TEKİRDAĞ

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAĞLARDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI ETMENİ (*Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr.) 'NİN
KULLANILAN FUNGİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE
KİMYASAL MÜCADELESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

N. DESEN KÖYCÜ

DOKTORA TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu tez 02/07/2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından Kabul Edilmiştir.

İmza.....
Prof. Dr. NURAY ÖZER

İmza.....
Prof. Dr. NAFİZ DELEN

İmza.....
Prof. Dr. AHMET ÇITIR

İmza.....
Prof. Dr. SALİH ÇELİK

İmza.....
Prof. Dr. HALUK SORAN

ÖZET**BAĞLARDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI ETMENİ (*Botrytis cinerea* Pers Ex. Fr.) 'NİN KULLANILAN FUNGİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE KİMYASAL MÜCADELESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Nagehan Desen KÖYÜ
Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Trakya Bölgesi 'nden 2004 ve 2005 yıllarında hasat döneminde şaraplık ve sofralık üzümlerden izole edilen *Botrytis cinerea* Pers Ex. Fr. izolatlarının dicarboximide (procymidone), anilinopyrimidine (cyprodinil, pyrimethanil), hydroxyanilide (fenhexamid), imidazole (imazalil), phenylpyrrole (fludioxonil), pthalimide (captan), triazole (hexaconazole, penconazole, tebuconazole, triadimenol, myclobutanil) 'e duyarlılık düzeyleri MM besi ortamında; fungusitlerin patojene etkililiği ise üzüm ve yapraklar üzerinde tespit edilmiştir. İzolatların % 100, % 94.28 ve % 82.85 'i sırasıyla cyprodinil+fludioxonil, procymidone ve pyrimethanil 'e duyarlı olmakla birlikte % 100'ü captan, myclobutanil ve triadimenol 'e dayanıklılık göstermişlerdir. Cyprodinil+fludioxonil 'in (Switch 62.5) ticari dozu yaprak ve tane testlerinde bu fungusite duyarlı ve dayanıklı izolatlar üzerinde en etkili fungusit olarak belirlenmiştir. Tebuconazole, procymidone ve pyrimethanil ise sadece inokule edilmiş taneler üzerinde etkili bulunmuşlardır. Fungisitlere dayanıklı izolatların doğaya uyumları petri kaplarında miselyal gelişme hızları, sporulasyon ve yaprak üzerinde virülensine göre tespit edilmiştir. Doğaya uyumda dayanıklı izolatların bazılarının duyarlı izolatlar kadar doğaya iyi uyum sağladıkları belirlenmiştir. Cyprodinil+fludioxonil bağı I. İlaçlama programı olarak çiçeklenme döneminde, salkımlar sıkılaştırmadan önce, ben düşme döneminde ve hasattan önce olmak üzere 4 kez; II. İlaçlama programında ise, ben düşme ve hasattan önce olmak üzere 2 kez uygulanarak iki ayrı ilaçlama programı karşılaştırılmıştır. I. ilaçlama programında, II. İlaçlama programına göre hastalık şiddeti önemli derecede düşük olarak belirlenirken, aynı zamanda şarapta da kalıntı bırakmadığı belirlenmiştir.

2007-103 sayfa

Anahtar kelimeler: *Botrytis cinerea*, fungusite dayanıklılık, doğaya uyum, kimyasal mücadele, şaraplık üzüm, kalıntı.

ABSTRACT**STUDIES ON THE DETERMINATION OF THE SENSITIVITY LEVEL OF CAUSAL AGENT OF GRAY MOULD DISEASE (*Botrytis cinerea* Pers Ex. Fr.) AGAINST THE FUNGICIDES USED IN VINEYARDS AND THE CHEMICAL CONTROL**

Nagehan Desen KÖYCÜ
Ph.D., Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Plant Protection

Pathogenic strains of *Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr. were isolated from the infected vines of wine and table grapes, during the harvest season of 2004-2005 in the Trakya Region of Turkey. Isolates were tested for the determination of their sensitivity to dicarboximides (procymidone), anilinopyrimidines (cyprodinil, pyrimethanil), hydroxanilides (fenhexamid), imidazoles (imazalil), phenylpyrroles (fludioxonil), thalimides (captan), triazoles (hexaconazole, penconazole, tebuconazole, triadimenol, myclobutanil) on Minimal Medium and find out the effectiveness of the fungicides on infection occurred on grape berries and leaves. In this study 100%, 94.28 % and 82.85% of the isolates were found sensitive to the cyprodinil+fludioxonil, procymidone and pyrimethanil respectively. But 100% of that isolates exhibited resistance to captan, myclobutanil and triadimenol. Preventive applications of commercial formulation of cyprodinil+fludioxonil (Switch 62.5) inhibited lesion development on berries and leaves inoculated with resistant and sensitive *B. cinerea* isolates, separately. However tebuconazole, procymidone and pyrimethanil were only effective on inoculated berries. Study of fitness costs of fungicides-resistance isolates were determined by measuring their sporulation, mycelial growth rate on petri dishes and virulence on leaf. Fitness costs of some resistant isolates did not differ from the sensitive ones. Cyprodinil+fludioxonil was sprayed four times per season at first spraying program (flowering, closure bunch, veraison and harvest) and two times per season at second spraying program (veraison and harvest). The first program significantly decreased disease incidence of gray mold as compared with second program. No residues of cyprodinil and fludioxonil were found in any samples from wine.
2007-103 pages

Keywords: *Botrytis cinerea*, fungicide resistance, fitness costs, chemical control, wine grape, residue.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın belirlenmesinde ve sürdürülmesinde her türlü yardımı, desteği ve özveriyi gördüğüm tez danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Nuray ÖZER ve Prof. Dr. Nafiz DELEN 'e, doktora çalışmama başlamamda değerli özveri ve desteklerinden ötürü Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Salih ÇELİK'e ve çalışma süresince değerli katkılarından dolayı bölümümüz Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet ÇITIR 'a öncelikle teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Araştırma boyunca her türlü olanağı sağlayan Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Yılmaz BOZ 'a ve Dr. Cengiz ÖZER 'e, araştırmanın arazi surveylerinin yapılabilmesi için her türlü yardımı sağlayan Şarköy İlçe Tarım Müdürü Sayın Alaaddin ZEYBEK 'e, fungusit kalıntı analizlerini gerçekleştirilmesinde yardımlarından dolayı Ankara Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü elemanlarından Sayın Dr. Pelin AKSU 'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca bu doktora tez çalışmasını proje olarak kabul eden T. Ü. Araştırma Fonu Başkanlığı'na, çalışmadaki yardımlarından dolayı değerli bölüm arkadaşım Dr. Mustafa MİRİK 'e, Ege Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Pervin KINAY 'a, Yüksek Ziraat Mühendisi Nurdan GÜNGÖR 'e, Ziraat Mühendisi Müge KOÇ, Buket DER 'e ve Erdem CEVİNDİK 'e, yakın destek ve yardımlarından dolayı başta eşim Ertan KÖYCÜ ve oğlum Arda KÖYCÜ olmak üzere tüm aile bireylerine teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
SİMGELER DİZİNİ	IX
1.GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Kurşuni Küf Hastalığı ve Etmeni <i>B. cinerea</i> Konusunda Genel Bilgi.....	4
2.2. Hastalığın Türkiye 'deki Konukçuları, Önemi ve Bağcılık Açısından <i>B. cinera</i> 'nın Durumu.....	4
2.2.1. Yaygınlığı ve Epidemiyolojisi.....	5
2.2.2. <i>B. cinerea</i> ile Savaşım Yöntemleri.....	7
2.2.2.1. Kültürel önlemler.....	8
2.2.2.2. Biyolojik yöntemler.....	8
2.2.2.3. Kimyasal yöntemler.....	11
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Materyal.....	23
3.1.1. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarının Elde Edilmesi.....	23
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Fungisitler.....	26
3.1.3. Seçilmiş İzolatlara Fungisitlerin Etkililiği ve Bağ Denemesi.....	27
3.2. Metot.....	29
3.2.1. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarının Elde Edilmesi.....	29
3.2.2. İzolatların Fungisitlere Duyarlılıklarının Saptanması.....	29
3.2.2.1. Fungisitlerin miselyal gelişime etkileri.....	31
3.2.2.2. Spor çimlenmesine etkisi.....	31

3.2.3. Dayanıklı <i>B. cinerea</i> İzolatlarının Doğaya Uyum Yetenekleri.....	32
3.2.3.1. Dayanıklı izolatların spor verimleri.....	32
3.2.3.2. Dayanıklı izolatların miselyal gelişme (büyüme) hızı.....	32
3.2.3.3. Dayanıklı izolatların virülensi.....	33
3.2.4. Kimyasal Savaşım Çalışmaları.....	34
3.2.4.1. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarına Fungisitlerin Etkililikleri.....	34
3.2.4.1.1. Yaprak testleri ile fungusitlerin etkililiğinin tespiti.....	34
3.2.4.1.2. Tane testleri ile fungusitlerin etkililiğinin tespiti.....	36
3.2.4.2. En Etkili Kimyasal Savaşım Programının Saptanması.....	38
3.2.4.2.1. Bağ denemesi.....	38
3.2.4.2.2. Üzümlerde fungusit kalıntı düzeylerinin belirlenmesi.....	40
3.2.4.3. İstatistiksel Analiz.....	40
4. SONUÇLAR.....	41
4.1. İzolatların Fungisitlere Duyarlılıklarının Saptanması.....	41
4.1.1. Fungisitlerin miselyal gelişime etkililiği.....	41
4.1.2. Fungisitlerin spor çimlenmesine etkisi.....	49
4.2. Dayanıklı <i>B. cinerea</i> İzolatlarının Doğaya Uyum Yetenekleri.....	52
4.3. Kimyasal Savaşım Çalışmaları.....	56
4.3.1. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarına Fungisitlerin Etkililikleri.....	56
4.3.1.1. Yaprak testleri ile fungusitlerin etkililiğinin tespiti.....	56
4.3.1.2. Üzüm tane testleri ile fungusitlerin etkililiğinin tespiti.....	64
4.3.2. En Etkili Kimyasal Savaşım Programının Saptanması.....	69
4.3.2.1. Bağ denemesi.....	69
4.3.2.2. Üzümlerde ve şarapta fungusit kalıntı düzeylerinin belirlenmesi.....	72
5. TARTIŞMA	73
6. ÖNERİLER.....	87
KAYNAKLAR.....	88
EKLER.....	97
ÖZGEÇMİŞ.....	103

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan <i>Botrytis cinerea</i> izolatları.....	24
Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan fungusitler ve bazı özellikleri.....	27
Çizelge 3.3. Bağlarda Kurşuni Küf (<i>B. cinerea</i>) hastalığı değerlendirme skalası.....	39
Çizelge 4.1. <i>B. cinerea</i> izolatlarının fungusitlere göre EC ₅₀ değerleri (µg/ml).....	43
Çizelge 4.2. <i>B. cinerea</i> izolatlarının EC ₅₀ (µg/ml) değerlerine göre yüzde (%) oranı ...	46
Çizelge 4.3. Fungisitlerin <i>B. cinerea</i> izolatlarının miselyal gelişime karşı gösterdiği MIC (µg/ml) değerlerinin oransal (%) ve sayısal dağılımı.....	48
Çizelge 4.4. Fungisitlerin <i>B. cinerea</i> izolatlarının spor çimlenmesine karşı gösterdiği MIC (µg/ml) değerlerinin oransal (%) ve sayısal dağılımı.....	51
Çizelge 4.5. Fungisitlere dayanıklı ve duyarlı <i>B. cinerea</i> izolatlarının spor verimleri, miselyal gelişme hızları ve virülensi.....	53
Çizelge 4.6. Fungisitlerin dayanıklı ve duyarlı <i>B. cinerea</i> izolatlarına yaprak üzerindeki etkisi.....	57
Çizelge 4.7. Fungisitlerin dayanıklı ve duyarlı <i>B. cinerea</i> izolatlarına tane üzerindeki etkisi.....	65
Çizelge 4.8. Emir ve Zinfandel çeşitlerinde iki ayrı ilaçlama programının <i>B. cinerea</i> üzerine etkisi.....	70
Çizelge 4.9. Emir çeşidinde fungusitin yaş üzüm örneklerinde ve şarapta kalıntı miktarı.....	72
Ek Çizelge 4.10. Fungisitlerin <i>B. cinerea</i> izolatlarının miselyal gelişmelerine karşı gösterdiği MIC (µg/ml) değerleri.....	97
Ek Çizelge 4.11. Fungisitlerin <i>B. cinerea</i> izolatlarının spor çimlenmesine karşı gösterdiği MIC (µg/ml) değerleri.....	100

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Emir şaraplık üzüm çeşidi.....	28
Şekil 3.2. Zinfandel şaraplık üzüm çeşidi.....	28
Şekil 3.3. Plastik kaplar içerisinde <i>B. cinerea</i> ile inokule edilmiş yapraklar.....	35
Şekil 3.4. Plastik kaplar içerisinde <i>B. cinerea</i> ile inokule edilmiş taneler.....	37
Şekil 4.1.a. Normal olarak çimlenmiş konidiospor.....	49
Şekil 4.1.b. Anormal çimlenme gösteren konidiospor.....	49
Şekil 4.2. Bc22 izolatının yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon	54
Şekil 4.3. Bc2 izolatının yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon	55
Şekil 4.4.a. Procymidone'un 162.5 µg/ml e.m dozunda dayanıklı izolatın yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon.....	59
Şekil 4.4.b. Fungisit uygulanmamış yaprak üzerinde procymidone 'a dayanıklı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol).....	59
Şekil:4.5.a. Pyrimethanil'in 150 µg/ml e.m dozunda dayanıklı izolatın yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon.....	60
Şekil 4.5.b. Fungisit uygulanmamış yaprak üzerinde pyrimethanil 'e dayanıklı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol).....	60
Şekil 4.6.a. Pyrimethanil'in 150 µg/ml e.m dozunda duyarlı izolatın yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon.....	61
Şekil 4.6.b. Fungisit uygulanmamış yaprak üzerinde pyrimethanil 'e duyarlı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol).....	61
Şekil 4.7.a. Myclobutanil 'in 18.37 µg/ml e.m dozunda duyarlı izolatın yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon.....	63
Şekil 4.7.b. Fungisit uygulanmamış yaprak üzerinde myclobutanil 'e duyarlı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol).....	63
Şekil 4.8.a. Tebuconazole 'ün 100 µg/ml e.m dozunda dayanıklı izolatın tane üzerinde oluşturduğu lezyon.....	66
Şekil 4.8.b. Fungisit uygulanmamış tane üzerinde tebuconazol 'e dayanıklı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol).....	66

Şekil 4.9.a. Procymidone'nun 81.25 µg/ml e.m dozunda dayanıklı izolatin tane üzerinde oluşturduğu lezyon.....	67
Şekil 4.9.b. Fungisit uygulanmamış tane üzerinde procymidone 'a dayanıklı izolatin oluşturduğu lezyon (kontrol).....	67
Şekil 4.10. Deneme süresince aylık ortalama sıcaklık, nem ve toplam yağış miktarı.....	69
Şekil 4.11.a. I. Uygulama programında Emir çeşidinde salkımda hastalığın görünümü.....	71
Şekil 4.11.b. II. Uygulama programında Emir çeşidinde salkımda hastalığın görünümü.....	71
Şekil 4.11.c. Emir çeşidinde fungusit uygulaması yapılmamış salkımda hastalığın görünümü (kontrol).....	71

SİMGELER DİZİNİ

APDA:	Asidik Patates Dekstroza Agar
cm:	Santimetre
EC ₅₀ :	Etkili Konsantrasyon (Miselyal gelişimi %50 engelleyen doz)
e.m:	Etkili madde
FeCl ₃ :	Demir III Klorür
g:	Gram
kg:	Kilogram
K ₂ HPO ₄ :	Dipotasyum hidrojen fosfat
MgSO ₄ .7H ₂ O:	Magnezyum Sülfat
MIC:	Minimal Inhibition Consantration (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu)
MM:	Minimal Medium
MRL:	Maximum Residue Limite (Maksimum Kalıntı Limiti)
m:	Metre
mg:	Miligram
mm:	Milimetre
µg:	Mikrogram
µl:	Mikrolitre
ml:	Mililitre
NaOH:	Sodyumhipoklorit
rpm:	Rot Power Motor
PCNB:	Pentacloronitrobenzen
PDA:	Patates Dekstroza Agar
RF:	Resistance Factor (Dayanıklılık Faktörü)
SAR:	Systemic Acquired Resistance
°C:	Santigrat derece

1. GİRİŞ

Türkiye Bağcılık açısından dünyanın en elverişli iklim kuşağı üzerinde bulunmaktadır. Anadolu 'da yapılan arkeolojik kazılar sonucu elde edilen eserlerde bağcılığın M. Ö. 3500 yıllarına dayandığı tespit edilmiştir. Hititler devrinde asma ve şaraba önem verildiği ve hatta üzüm ve şarabın adak olarak tanrılara sunulduğu tarihi bulgular arasında yer almıştır. Bağcılığın tarihi geçmişi nedeniyle ülkemiz belli başlı asma gen kaynakları merkezlerinden birisidir. Ülkemizde Doğu Anadolu Bölgesi 'nin çok yüksek yaylaları ve Doğu Karadeniz Bölgesi 'nin sahil kısmı hariç diğer bölgelerde bağcılık yapılmaktadır. Ege Bölgesi 'nde çekirdeksiz sofralık üzüm, İç ve Güney Anadolu Bölgeleri ile Marmara Bölgesi 'nin Trakya kısmında şaraplık üzüm, Marmara Bölgesi 'nin Anadolu kısmında sofralık üzüm yetiştirilmektedir (Çelik, 1998). Ülkemizde üretilen üzümün % 35.4 'ü sofralık, % 41.7 'si kurutmalık, % 5.5 'i şaraplık olarak kullanılmakta ve yıllık 57 milyon litre şarap üretilmektedir. Şaraplık üzüm yetiştiriciliğinde önemli bölgelerimizden birisi olan Trakya Bölgesi 'nde Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü 'nce belirlenen resmi olmayan kayıtlarına göre 2006 yılında yaklaşık 8680 hektarlık bağ alanının 6500 hektarı Tekirdağ 'dadır. Bu alanın 5000 hektarı ise Tekirdağ 'ın Şarköy ilçesinde bulunmaktadır. Bu ilçenin toplam 27 köyünün 22 'sinde şaraplık üzüm çeşitleri yetiştirilmektedir (Çelik, 1998).

Bağda uygun iklim koşullarında önemli kayıplara neden olan külleme ve mildiyö hastalıklarının yanı sıra, bağın çiçeklenme, ben düşme, üzümün hasatı ve depolama sırasında da kendisini gösteren kurşuni küf (*B. cinerea*) hastalığının önemi eski yıllardan beri bilinmektedir (Burçak, 1998, Roslenbroich ve Stuebler 2000, Delen, 2001, Koplay, 2003). Hastalık etmeni, asmanın çiçeklenme döneminden itibaren değişik dönemlerinde bağa bulaşabilmektedir (McClellan ve Hewitt, 1973, Delen, 2001). Böylece hasat döneminde meyve kalitesi üzerinde olumsuz etki yaparak (tatlı şarap üretimi hariç), özellikle şaraplık üzümlerde tanenin kimyasal yapısının değişmesine ve bulaşık tanelerden üretilen şarapların tatsız, bakteriyel enfeksiyona ve oksidasyona karşı hassas olmasına neden olabilmektedir. Ayrıca, hastalığı önlemek amacıyla kullanılan

fungisitlerin şarap kalitesini olumsuz olarak etkilemesinin yanı sıra, fungusit kalıntılarının da şaraba geçmesine yol açmaktadır (Colley-Smith vd., 1980).

B. cinerea'nın kısa sürede fungusitlere dayanıklı ırklar oluşturması nedeniyle, mücadelesi önem taşımaktadır (Courderchet, 2003, Leroux; 2004, Delen, 2006). Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, özellikle dicarboximide ve benzimidazole gibi etki yeri spesifik fungusitlerin etmenin şiddetini azaltmakta etkili oldukları (Beever vd., 1989, Gullino vd., 1989); ancak sürekli ve yoğun kullanılmaları sonucunda etmenin dayanıklı ırk oluşturması nedeniyle, etmene karşı etkililiklerinin giderek azaldığı belirlenmiştir (Johnson vd., 1994, Leroux vd., 1999). Bu nedenle de mevsim süresince kullanımlarında kısıtlamalara gidilerek kendi ülkeleri için uygun mücadele programları oluşturulmuştur (Ellison vd., 1998b). Etmene karşı kullanılan yeni gruplara ait fungusitlere karşı da dayanıklı ırklarının oluştuğu belirtilmiştir (Hilber ve Hilber-Bodmer 1998, Baroffio vd., 2003, Courderchet, 2003). Halen tüm dünyada patojenin fungusitlere karşı dayanıklılığı üzerinde önemle durulmakta ve özellikle dayanıklılığı önleyici stratejiler üzerinde çalışmalara devam edilmektedir.

Trakya Bölgesi 'ndeki bağ alanlarının % 99 'unun Goblet terbiye şeklinde olması, dikim mesafesinin oldukça dar olması (Çelik, 1998) ve yaz mevsimi süresince % 95 'e çıkan hava nemi nedeniyle kurşuni küf hastalığının gelişimi ve yayılması için uygun koşullar oluşturmaktadır (Köycü ve Özer, 2005). Yaptığımız survey çalışmalarında üreticinin Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Zirai Mücadele Teknik Talimatlarında belirtildiği gibi hastalıkla mücadeleye, üzümlün ben düşme döneminden itibaren başladığı ve hasat dönemine kadar da yoğun bir şekilde fungusit uygulamalarına devam ettiği belirlenmiştir. Geç dönemde başlayan ve yoğun yapılan ilaçlamalar, hem üründe maliyeti artırmakta, hem de hastalığı tam önleyememektedir. Bağda kullanılan fungusitler kalıntı açısından da riskli olup, insan sağlığına olumsuz etkilerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu durumun sonucu olarak fungusit kalıntıları nedeniyle, sofralık üzümlerimizin ihraç edildikleri ülkelere geri gönderildikleri bilinmektedir (Burçak, 1998). Ülkemizin dünyada bağcılık açısından önemli bir yere sahip olduğu göz önüne alındığında, patojen ile bilinçli ve etkili bir mücadele yapmak sofralık ve şaraplık üzüm üreticilerimizin geleceği açısından önem kazanmaktadır.

Kurşuni küf yukarıda da belirtildiği gibi Trakya Bölgesi 'nde özellikle üzümlün hasat dönemine yakın zamanlarda sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Patojenin bağda

çiçeklenme döneminden itibaren yoğun inokulum oluşturması nedeniyle (Holz, 2000, Delen, 2001, Koplay, 2003), ülkemizde yapılmış bazı çalışmalarla da bağda kurşuni küf ile mücadeleye ben düşme döneminden önceki dönemlerde başlanması gerektiği belirtilmiştir (Copcu vd., 2002, Atalay vd., 2004).

Çalışmada, Trakya Bölgesi 'nde *B. cinerea* izolatlarının fungusitlere duyarlılık düzeylerini belirleyerek bağda etkili bir kimyasal savaş programının oluşturulması ve fungusit uygulamasının üzümde ve şarapta bırakabileceği kalıntı miktarının da saptanması amaçlanmıştır. Bu nedenle, çalışmanın ilk kısmında 2004 ve 2005 yıllarında Tekirdağ/Merkez ve Tekirdağ/Şarköy ilçesine yapılan survey çalışmaları sonucunda, hem şaraplık hem de sofralık üzümlerden elde edilen *B. cinerea* izolatlarının fungusitlere duyarlılıkları araştırılmıştır. Bu izolatlardan her fungusite en yüksek dayanıklılık kazanmış izolatların bazı karakterleri duyarlı izolatlarla karşılaştırmalı biçimde saptanarak, dayanıklılığın oluşturabileceği riskin, kimyasal savaş açısından ileriye dönük durumlarının da ortaya konması hedeflenmiştir. Ancak, bu konuda Trakya 'da yapılan bu ilk çalışmada, bazı fungusitlere duyarlılık azalışı henüz başladığı için, duyarlı izolatlarla yapılan karşılaştırmalar istenilen kesinlikte sonuçlar elde edilmesini engellemiştir. Bu durum, söz konusu çalışmalara ileride de devam etmenin gerekli olduğunu göstermiştir.

İkinci kısımda ise, bağda çiçeklenme (bağcılığın önemli olduğu bir çok ülkede yapıldığı gibi) ve ben düşme (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Zirai Mücadele Talimatlarında resmen önerildiği gibi) dönemlerinden itibaren iki ayrı ilaçlama programı uygulanarak patojen ile en etkili kimyasal savaş programının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca tam ulaşabilmek için her savaşım programında da yaptığımız testlere göre, *B. cinerea* 'ya en etkili olduğunu saptadığımız fungusitleri içeren preparat kullanılmıştır. Ayrıca, fungusitin iki ayrı ilaçlama programı sonucunda üzümde ve şarapta bırakabileceği kalıntı miktarı araştırılmıştır. Doktora tezi olan bu çalışma, T. Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Araştırma Fonu, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Tekirdağ/Şarköy İlçe Tarım Müdürlüğü ve Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü 'nün katkılarıyla gerçekleştirilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kurşuni Küf Hastalığı ve Etmeni *B. cinerea* Konusunda Genel Bilgi

Botryotinia fuckeliana 'nın anamorfu olan *Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr. ve diğer bazı *Botrytis* türleri sebzelerde, meyvelerde, süs bitlerinde ve bağlarda patojen iken *B. alli* (soğan), *B. tulipa* (lale), *B. fabae* (bakla), *B. squamosa* gibi türler tek bir bitkiye özelleşmiştir. Bu nedenle, *B. cinerea* tüm dünyada sebzeleri (domates, marul hıyar gibi), süs bitkilerini (gül, gerbera, sıklamen glayöl gibi) ve meyveleri (çilek, kivi, üzüm gibi) içine alan ekonomik önemdeki birçok üründe kurşuni küfe neden olan bir fungusdur (Delen vd., 1984, Rebordinos vd., 2003, Leroux, 2004). Etmen tüm bu ürünlerde vejetasyon süresince etkili olabildiği gibi depolanan ürünler üzerinde de etkili olarak şiddetli enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Nigro vd., 1998, Zoffoli vd., 1999, Romanazzi vd., 2001, Lichter vd., 2002, Retamales vd., 2003).

2.2. Hastalığın Türkiye 'deki Konukçuları, Önemi ve Bağcılık Açısından *B. cinerea* 'nın Durumu

B. cinerea ülkemizde özellikle serada yetiştirilen birçok üründe ve bağda sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Seraların patojenin gelişimi için sıcaklık ve nem koşullarının uygun olması nedeniyle biber, çilek, domates hıyar, marul, patlıcan gibi sebze ve meyvelerde şiddetli enfeksiyonlar meydana getirebilmektedir (Delen vd., 1984, Delen vd., 1998, Aydoğdu vd., 2001). Delen vd. (1984) 'nin Akdeniz Bölgesi 'nde yaptıkları çalışmalarda kurşuni küfün biber, domates hıyar, marul ve patlıcanda çürümelere neden olduğunu saptamışlardır. *B. cinerea*, sofralık ve şaraplık üzümelerde de şiddetli enfeksiyonlara neden olan bir patojendir. Bu patojenin tüm dünyada olduğu gibi (Rosslbroich ve Stuebler, 2000), ülkemiz için de önemli bir kültür bitkisi olan asmanın üzerinde meydana getirdiği kayıpların önemi uzun yıllardan beri bilinmektedir (Özhendekçi, 1977, Delen vd., 1984, Delen, 2001, Copcu vd., 2002, Köycü vd., 2005).

Özhendekçi, (1977) Marmara Bölgesi 'nde Bursa ili ve çevresinde Müşküle üzümünde hasat zamanı ve depoda *B. cinerea* 'nın şiddetli enfeksiyonlar meydana getirdiğini bildirmiştir. Ege Bölgesi 'nde sofralık üzümlerde yapılan çalışmalarda, asmanın tüm vejetasyon dönemlerinde *B. cinerea* 'nın bitkilerin toprak üstü kısımlarında bulunduğu tespit edilmiştir (Erkan vd., 1997, Burçak, 1998, Delen, 2001, Koplay, 2003). Trakya Bölgesi 'nde şaraplık üzümlerde hasat zamanı yapılan sayımlarda etmenin şiddetli enfeksiyonlar oluşturduğu bildirilmiştir (Köycü vd., 2005).

2.2.1. Yaygınlığı ve Epidemiyolojisi

B. cinerea asmada, çiçeklenme dönemi öncesinde sürgün yanıklığı şeklinde görülür. Çiçeklenme döneminin sonuna doğru ise, etmenin konidiosporları stamen üzerinde gelişerek stigmadan içeriye girmekte ve yumurtalığa yerleşerek gelişmesine devam etmektedir. Özellikle ben düşme dönemine kadar herhangi bir belirti vermeden tane gelişimi ile birlikte gelişmeye devam edebilmektedir. Etmenin oluşturduğu bu enfeksiyon tipi latent enfeksiyon olarak adlandırılmış ve üzerinde önemle durulmuştur. Asmada erken dönemde bulunan doğal savunma maddeleri, latent enfeksiyonun oluşumuna neden olmaktadır (McClellan ve Hewitt, 1973, Michailides vd., 2000, Coertze ve Holz, 2001, Keller vd., 2003). Olgunlaşmamış tanenin kabuk dokusunda bulunan stilbenlerden özellikle resveratrol ve viniferin ben düşme dönemine kadar tane kabuğunda bol miktarda bulunmakta ve enfeksiyonları önlemektedir. Tanenin olgunlaşmaya başlamasıyla birlikte bu maddeler azalmakta ve patojen aktif hale geçebilmektedir (Calderon vd., 1993, Commenil vd., 1997).

İsviçre 'de deneme bağlarında Gamay üzüm çeşidi kullanılarak, çiçeklerde *B. cinerea* 'nın latent enfeksiyonun gelişimi üzerine bir araştırma yapılmıştır. Çiçeklenme döneminden önceki devrede bağlar *B. cinerea* ile suni olarak bulaştırılmıştır. Taneler bezelye iriliğine ulaştıktan sonra yapılan geri izolasyonlarda, bu tanelerden yoğun olarak patojen izole edilmiştir. Hasat döneminde, hastalık şiddeti kontrolde % 38 iken, latent enfeksiyonların olduğu inokule edilmiş salkımlarda % 66 olmuştur (Keller vd., 2003).

Latent enfeksiyonlar sadece bağda değil diğer üzüksü meyvelerle birlikte özellikle çileklerin çiçek ve meyvelerinde, siklamen ve poinsetia gibi çiçeklerde de oluşabilmektedir (Bacon vd., 1999, O'Neill vd., 2003). Latent enfeksiyonun ortaya çıktığı salkımdaki taneler ise, suyunu çekmiş gibi görülmektedir (Bulit ve Dubos, 1998). Çiçeklenme döneminde salkım sapına etmenin sporlarının yerleşmesiyle (Koplay, 2003), üzümün depolanma süresince de etmenin gelişimi devam etmekte ve depoda şiddetli kayıplara neden olmaktadır. Çiçekler ve üzüm taneleri optimum 20 °C-23.7 °C arasında enfekte edilmektedir. Aynı zamanda 1.3-13.9 saat nemli ortamda kalan çiçeklerin % 63 'ü patojenin enfeksiyonlarına uğramaktadır (Nair ve Allen, 1993).

Patojen yapraklarda da enfeksiyon yapabilmektedir. Bu enfeksiyonlar, kış mevsimi sonuna doğru ve çiçeklenme döneminden önce, yaprak kenarına yakın bölgede kırmızımsı kahverenkli nekrotik lekeler şeklinde kendini göstermektedir. Yaprak enfeksiyonları, üzümün ileriki gelişme dönemlerinde doğada sürekli bir inokulum kaynağı oluşturması açısından öneme sahiptir. Özellikle yaprak yüzeyinin ıslak olması sporulasyonu teşvik edeceği için, böyle yapraklar iyi bir inokulum kaynağı olması yönünden önem kazanmaktadır (Bulit ve Dubos, 1998).

Ben düşme döneminde tane epidermis boyunca enfekte olabilmektedir. Daha sonra salkım yapısına bağlı olarak (Vail ve Marois, 1991) enfeksiyonun yayılması hızlanmaktadır. Hasat zamanı yağın yağmurlardan sonra, uygun nem ve sıcaklık periyodu ile patojen hızla gelişerek salkımın çürütmesine neden olmaktadır. (McClellan ve Hewitt, 1973, Nair ve Allen, 1993). Aynı zamanda, bu enfeksiyonlar hasattan sonra çeşit hassasiyetine bağlı olarak, üzümün raf ömrünü de etkilemektedir (Özer vd., 2004).

Patojen, kışı bitki artıkları üzerinde scleroti olarak veya kışlık gözlerde miselyum olarak geçirebilmektedir. Miselyum ve sclerotiler ile bulaşık genç sürgünler, yapraklar, salkımlar ve latent enfeksiyona uğramış taneler bağda inokulum kaynağıdır ve etmenin konidiosporları buralarda oluşarak yayılmaktadır. Etmenin konidiosporları, rüzgarla (Thomas vd., 1988), yağmurlarla (Bulit ve Dubos, 1998) ve böceklerle (Fermaud ve Le-Menn, 1989, Luis vd., 1996) taşınarak, çiçeklenme döneminde stigma üzerinden giriş yapmakta ve bu yolla latent enfeksiyonları oluşturmaktadır. Çatlamış ya da zarar görmüş tanelerden giriş yaparak da taneleri hastalandırabilmektedirler. Aynı zamanda etmenin appressorium oluşturarak doğrudan penetrasyon yapabilme yeteneği de bulunmaktadır. Konidiosporlar, optimum 18 °C ve % 90 nemde kolaylıkla

çimlenebilmektedirler. Enfeksiyon için optimum sıcaklık 15-20 °C arasındadır. Etmenin yayılıp gelişebilmesinde, konidial ve miselial enfeksiyonların rolü büyüktür (McClellan ve Hewitt, 1973, Jarvis, 1980, Verhoeff, 1980, Thomas vd., 1988, Coertze ve Holz, 2001). Patojenin değişik izolatları yapraklar üzerinde farklı çaplarda lezyonlara yol açabilir. Bu durum, izolatların patojenisite derecelerinin (virülenslerinin) değişkenliğinden kaynaklanmaktadır (Vallejo vd., 2003).

Konidiosporlar, mevsim başında primer enfeksiyonların ana kaynağı durumundadır. Bunun yanı sıra, tane çatlakları ve çeşit duyarlılığı da etmenin penetrasyonu için büyük önem taşımaktadır. Asmanın bütün dönemlerinde konidiospor enfeksiyonları önemliyken, miselyum yoluyla enfeksiyonlar özellikle ben düşme döneminden sonra, önem kazanmaktadır (Ellison vd., 1998a). Konidiosporların ve miselyumların asmada yayılabilmesi rüzgar hızı, sıcaklık ve nispi neme göre değişiklik gösterebilmektedir (Thomas vd., 1988). Konidiosporlar, asmanın salkım sapı, sülük, petiole ve sürgünleri gibi her organında bulunmaktadır (Delen ve Koplay, 2002, Holz, 2000). Eğer asma herhangi bir şekilde yaralanmışsa, nekroze olmuş bu yara yerleri etmenin saprofitik özelliğinden dolayı, enfeksiyonların başlangıç noktalarını oluşturabilmektedir.

2.2.2. *B. cinerea* ile Savaşım Yöntemleri

Kurşuni küf asmanın her döneminde bağda bulunarak patojenin inokulum miktarının artması yönünden önemlidir (Holz, 2000, Delen, 2001, Delen ve Koplay, 2002). Bu nedenle, patojen ile etkili bir savaşım yapılabilmesi ve asmada patojenin inokulum yoğunluğunu azaltarak patojenin gelişiminin engellenebilmesi amacıyla yukarıda özetlenmiş olan patojenin etiyolojisi de dikkate alınarak kültürel, biyolojik ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır.

2.2.2.1. Kültürel önlemler

Kurşuni küfün, özellikle serin, denize yakın kıyı kesimlerde şiddetli enfeksiyonlara neden olduğu ve hasat dönemine doğru yağın yağmurlarla enfeksiyon şiddetini arttırdığı bilinmektedir. Bu nedenle de, yaprakların ve salkımın ıslak kalmaması enfeksiyon şiddeti açısından önem kazanmaktadır (Vail ve Marois, 1991).

Asmaya verilen terbiye şekillerinin asmanın iç kısımlarındaki mikroklimayı (English vd.,1989) ve tanenin metabolik reaksiyonlarını (Commenil vd., 1997, Jeandet vd., 1991) etkilemesi nedeniyle, bu konuda çalışan araştırmacılar, hastalığa karşı kültürel önlem olarak salkım etrafındaki yaprakların seyreltilmesinin önemini vurgulamışlardır (Savage ve Sall, 1983, Rosenquist ve Morrison, 1989, Percival vd., 1994).

Özellikle patojene karşı duyarlı olan çeşitlerde verilen terbiye şekillerinin enfeksiyonun şiddeti üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. Araştırmacılar taç içinde daha fazla hava sirkülasyonuna izin verecek terbiye sistemlerini ve bu sistemlerin *B.cinerea* enfeksiyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Bunlar arasında, pergola terbiye sistemlerinin patojenin enfeksiyon şiddetini arttırdığı (Cargnello vd., 1991), Guyot ve Sylvos gibi terbiye sistemlerinin ise, asma tacının içinde daha fazla hava sirkülasyonu ve güneş ışığı sağlaması sebebiyle, patojenin daha az salkım enfeksiyonu oluşturmaya yol açtığı bildirilmiştir (Ferre vd., 2002). Diğer kültürel önlemler arasında, asmanın, özellikle üzümün olgunlaşma zamanında, aşırı sulanmasından kaçınılması, bağa fazla azotlu gübre ve çiftlik gübresinin verilmemesi, iyi bir güneşlenme ve havalanma için, yaprak ve dalların seyreltilmesi, salkımlarda yara yeri açan hastalık ve zararlılara karşı mutlaka koruyucu tedbirler alınması ve üzüm hasadının fazla geç döneme bırakılmaması da yer almaktadır (Anonymous, 1999, Anonymous, 2002).

2.2.2.2. Biyolojik yöntemler

Sporlarının çimlenebilmesi, çim tüpünün uzaması ve enfeksiyonu oluşturabilmesi açısından, patojenin besin maddelerine gereksinmesi vardır. Bu besin maddeleri için

rekabet biyolojik savaşım açısından üzerinde önemle durulan bir konudur. *B. cinerea* 'ya karşı bugüne kadar *in vitro* koşullarda etkili bulunmuş, denenmiş ve uygulamaya geçirilmiş *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Pythium* ve *Ulocladium* gibi fungus, *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi bakteri cinsi biyolojik ajanlar mevcuttur (Paul, 1999a, 1999b, Khl vd., 2000, Elad ve Stewart, 2004). Bunlardan ilki, üzerinde uzun zamandan beri çalışılan ve fungal bir mikoparazit olan *Trichoderma harzianum* 'u içermektedir. *T. harzianum* antibiyotik üretebilmesinin yanı sıra hiperparazitizm ve besin rekabeti yönünden de güçlü olup hem toprak patojenlerini ve hem de yaprak ve meyveyi infekte edebilen patojenlerini etkileyen iyi bir antagonist olarak kullanılabilir (Bora ve zaktan, 1998). Bu fungus, kurşuni küfe karşı kullanılan bazı fungusitlere dayanıklılık göstermesi nedeniyle fungusit uygulamaları ile birlikte entegre mücadele programı çerçevesinde kullanılabilir. Ülkemizde de kurşuni küfe karşı ruhsatlıdır (Yücer, 2006). *T. harzianum* 'un ticari olarak üretilen (Trichodex 25 WP) ya da doğal olarak izole edilen türü *B. cinerea* 'ya karşı bağlarda değişik dönemlerde, ilaç uygulamaları ile karşılaştırmalı olarak denemeleri yapılmıştır (Elad, 1994).

Harman vd. (1996), *T. harzianum* 'un hem ticari hem de ticari olmayan izolatlarını dicarboximide grubu fungusitlerle (vinclozolin, iprodione, procymidone) karışım halinde uygulamışlardır. Biyolojik ajanın üzümün ben düşme döneminde tek başına patojene karşı etkisinin düşük olduğu ve fungusitlerle karışımlar biçiminde uygulandığı zaman, patojeni daha iyi engellediği tespit edilmiştir.

Latorre vd. (1997), ise *T. harzianum* 'un ticari ve ticari olmayan preparatlarını asmaya çiçeklenme dönemi, ben düşme dönemi ve hasattan bir hafta önce uygulamışlardır. Bu uygulamalar sonucunda *T. harzianum* 'un 48 saat içerisinde bitki üzerinde iyi kolonize olabildiğini ve bu kolonizasyonun 33 gün süresince devam ettiğini tesbit etmişlerdir. *B. cinerea* 'ya etkililiği yönünden fungusit uygulamaları ile karşılaştırıldığında ise vinclozolin uygulamasına yakın bir etki gösterdiği tespit etmişlerdir.

B. cinerea 'ya karşı biyolojik mücadelede mit var görülen diğer mikoparazitler ise, *Pythium radiosum* ve *Pythium periplectum* türleridir. Chardonay ve Pinot noir üzüm eşitleri üzerinde yapılan çalışmalarda bu iki fungus türünün üzüm yaprakları üzerinde herhangi bir zararlı etkilerinin bulunmadığını ve *B. cinerea* 'yı parazitlemesi sonucu patojeni engelleyebildiği saptanmıştır. Bu iki fungus türünün tarla denemeleri

yapıldıktan sonra, biyofungisit olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Paul, 1999a, 1999b). *Bacillus subtilis* 'in (Serenade) asmanın çiçeklenme donemindeki, salkımlar sıkılaşmadan onceli, ben duişme donemindeki ve hasat oncesindeki uygulamalarının *B. cinerea* 'nın gelişimi üzerinde etkili olduğu da gosterilmiştir (Edgecomb ve Dunham, 2004).

Son yıllarda ise, bazı maya türlerinin asmanın kurşuni küf hastalığı etmenine karşı kullanılabilceği çeşitli araştırcılar tarafından tespit edilmiştir. Mayalar, zaten değişik meyve türlerinin yaprakları veya meyveleri üzerinde doğal olarak bulunmaktadırlar. Aynı zamanda duişuk sıcaklık, yüksek nem ve yüksek şeker içerikli yerlere iyi adapte olurlar (Masih vd., 2000). zm taneleri üzerinden izole edilen maya türlerinden *Candida guilliermondii* ve *Acremonium cephalosporium* 'u Sultani ekirdeksiz ve Sauvignon Blanc zm çeşitlerine hasat oncesi ve hasat sonrası fungusitlerle karıştırarak uygulamıştır. Bu alışma sonucunda, hasat oncesi salkıma uygulamanın salkım rklğn % 48 oranında, hasat sonrası depolanan üzümlere uygulamanın ise % 30 oranında azalttığı bildirilmektedir (Zahavi vd., 2000).

Doğal maddelerin değişik patojenlere etkisi de araştırılmış ve değişik aromatik yağların patojenlere etkili olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan kekik, lavanta, biberiye, adaçayı gibi bitkilerin yağlarının fungal ve bakteriyel etmenlere karşı etkili olarak kullanılabilceği gosterilmiştir. Bunlardan *Hedera helix*, *Datura stromonium*, *Ficus carica* ve *Avena sativa* yaprak ekstraktlarının *B. cinerea* 'nın spor çimlenmesi ve koloni gelişimleri üzerinde etkili olduğu saptanmıştır (Trksay ve Onoğur, 1998). *B. cinerea* 'ya kekik yağının asmanın çiçeklenme doneminde ve ben duişme zamanındaki uygulamalarıyla iyi bir fungusit kadar etkili olduğu bildirilmiştir (Daferera vd., 2002). Salisilik asit gibi evre kirliliğine yol amayan maddelerin de bitkilerde enzim ve protein sentezini teşvik ederek kurşuni küfün gelişimi üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir (Moret vd., 2003). *B. cinerea* 'nın mücadelesinde patojenin kitin sentezine engel olunarak konidiospor üretimlerinin engellemesi gibi yeni metodlar da denenmektedir (Soulie vd., 2006).

2.2.2.3. Kimyasal yöntemler

Kültürel ve Biyolojik mücadelenin kurşunu küfün ve diğer *Botrytis* hastalıklarının birçok üründeki şiddetini azaltmada yeterli görülmemesi nedeniyle, bu etmen ile savaşımın en etkili yolunun kimyasal savaşım olduğunda araştırmacılar birleşmektedirler (Leroux, 2004, Delen, 2006). Ancak, patojenin genetik özelliğinden dolayı, özellikle modern fungusitlere çabuk dayanıklılık kazanma potansiyelinde olması nedeniyle, hastalık ile kimyasal savaşımında dikkatli olunmalı ve çok bilinçli davranılmalıdır (Courderchet, 2003, Delen, 2006).

B. cinerea çok çekirdekli ve her çekirdeği farklı genetik yapıda (heterokaryotik) hücrelere sahip olması nedeniyle, etki yeri spesifik olan modern fungusitlere çok çabuk dayanıklılık kazanabilmektedir. *B. cinerea* 'nın fungusitlere dayanıklılık kazanışı ile ilgili çalışmalarda patojenin bu özelliği daima ön plana çıkmaktadır. Yapılan bir çalışmada, dicarboximidelere dayanıklı olarak belirlenen izolatların heterokaryon olduğu bildirilmiştir (Beever ve Weeds, 2004). *B. cinerea* 'nın fungusitlere karşı duyarlılık azalışı, adaptasyon ve dayanıklılık şeklinde gerçekleşmektedir. İzolatlarda eğer adaptasyon şeklinde bir duyarlılık azalışı ortaya çıkmış ise, sorun olan fungusitin belli süre kullanımının durdurulması, patojenin o fungusite karşı tekrar eski duyarlılığını kazanmasına yol açar iken, dayanıklılık bir mutasyon olduğundan kalıcıdır, genelde geri dönüşümsüzdür (Delen, 1997).

Ülkemizin güney ve güneybatı bölgesinde 30 seradan toplanan *B. cinerea* ile enfekteli bitki dokularından elde ettikleri izolatları laboratuvar ortamında fungusitlere duyarlılık açısından testlemişlerdir. Bu izolatların çoğunluğunun, carbendazim için EC₅₀ değeri 100 µg/ml 'den, mancozeb için EC₅₀ değeri 30 µg/ml 'den daha büyük ve procymidone için ise bir izolat hariç EC₅₀ değeri 1 µg/ml 'den düşük olarak belirlenmiştir (Delen vd.,1984).

Yeni Zelanda bağlarında hasat sırasında yapılan surveylerden elde edilen *B. cinerea* izolatlarının dicarboximide ve benzimidazole türevlerine dayanıklılıkların yaygın olduğu ve dayanıklılık yüzdesi benzimidazoleler için % 8 'den % 41 'e, dicarboximideler için ise % 51 'den % 59 'a doğru değiştiği belirlenmiştir. Benzimidazole 'lere dayanıklı izolatların carbendazim için EC₅₀ değeri 100 µg/ml 'den daha büyük olması nedeniyle, böyle izolatlar, dayanıklılığı yüksek olan izolatlar olarak

belirlenmiştir. Dicarboximide 'e dayanıklı izolatların ise, osmatik basınçlarına göre tanımlamaları yapılmış ve osmatik ortamda merkezde yoğun gelişme gösteren izolatların EC₅₀ değeri 3,2 µg/ml ile düşük, merkezde iplik gibi gelişme gösteren izolatların EC₅₀ değeri 1,3 µg/ml ile daha düşük dayanıklı izolat grupları olarak tespit edilmiştir. İzolatların doğaya uyumları virulens ve konidi üretimi açısından değerlendirildiğinde ise, dicarboximide 'e duyarlı izolatların üzüm taneleri üzerinde meydana getirdiği lezyon çaplarının ve konidi üretiminin en yüksek olduğu belirlenmiştir (Beever vd., 1989).

İtalya bağlarında, dicarboximidelere dayanıklı izolatların bulunduğu bağ alanlarında kurşuni küfe karşı bu grup fungusitlerle yapılan savaşımın % 20-40 oranında etkili olduğu ve aynı zamanda da dicarboximidelere dayanıklılık yüzdesinin de arttığı belirlenmiştir. N.phenylcarbamate (NPC) türevi diethofencarb ile benzimidazole türevlerinin karışımı yılda iki kez uygulandığında veya dicarboximide ile dönüşümlü olarak uygulaması yapıldığında kurşuni küf ile etkili bir şekilde savaşım sağlanmış ve benzimidazole 'lere dayanıklı ırkların oranında azalma gözlemlenmiştir. Bağda thiram ve procymidone kombinasyonu da, kurşuni küfe karşı etkili olmuş; fakat populasyonda dicarboximide dayanıklılığın arttığı saptanmıştır (Gullino vd., 1989).

Amerika 'da 1990 ve 1991 yıllarında yabancı böğürtlen, fasulye, ahududu, şaraplık üzüm ve çilekten toplam 3496 *B. cinerea* izolatu elde edilerek benzimidazole grubundan benomyl 'e ve dicarboximide grubundan vinclozolin 'e karşı izolatların duyarlılığı araştırılmıştır. Benomyl 'e (5 µg/ml) ve vinlozolin 'e (10 µg/ml) dayanıklı izolatların yüzdesi sırasıyla % 52 ve % 17 hesaplanmıştır. İzolatların % 16 'sının ise her iki fungusite de dayanıklı olduğu görülmüştür. Benomyl ve vinclozolin 'e dayanıklı izolatların yüzdesi, çileklerden elde edilen *B. cinerea* izolatlarında daha yüksek oranda belirlenmiştir. Fungisit uygulanmamış yabancı böğürtlenlerden toplanan izolatlarda benomyl 'e dayanıklılık % 38 ve vinclozoline dayanıklılık % 6 olarak belirlenmiştir. Bu ürünlerde tespit edilen dayanıklı izolatların yüzdesi ile her iki gruba ait fungusitlerin uygulama sayıları arasında bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. Sekiz çilek tarlasında vinclozolin 'e dayanıklı izolatların yüzdesi, hasat zamanı olan haziran ayında hasat sırasında % 74 iken Şubat ve Nisan aylarında bu oran % 32 'ye gerilemiştir (Johnson vd., 1994).

Şili 'de yapılan bir çalışmada, bağ alanlarında dicarboximide grubu fungusitlerden iprodione ve vinclozolin ile yılda 4 uygulama yapılmasının ardından, dayanıklılık derecesi düşük *B. cinerea* izolatlarının oranının % 2 'den % 74.9 'a çıktığı gösterilmiştir. Dicarboximide grubu fungusitlerle, aromatik hydrocarbonlardan dicloran ve PCNB arasında çapraz dayanıklılık bulunmuştur. Dicarboximide 'lere dayanıklı izolatların yüksek osmotik hassasiyet göstermeleri gibi doğaya uyumlarını biraz kaybetmelerine rağmen, virulent oldukları ve iprodione, procymidone ve vinclozolin tarafından, duyarlı izolatlarla dayanıklıların aynı oranda engellendiği saptanmıştır. EC_{50} değeri ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ olan aşırı duyarlı izolatların miselyal gelişimleri ve konidi çimlenmeleri iprodione veya procymidone 'un 10 $\mu\text{g/ml}$ dozunda tamamıyla engellenirken, EC_{50} değeri 2-5 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişen düşük dayanıklı izolatların miselyal gelişimleri aynı fungusit dozunda % 89-91.6 oranında engellenmiş, fakat konidi çimlenmesinde % 0.7-9.7 kadarlık bir düşme olmuştur (Latorre vd., 1994).

Güney İspanya seralarında *B. cinerea* 'nın benzimidazole, dicarboximide ve N-phenylcarbamate 'lara dayanıklılığını belirleyebilmek amacıyla 49 sebze serasına survey çalışmaları yapılarak izolatlar elde edilmiştir. Toplam 261 izolatın % 28 'i benzimidazole 'lere ve dicarboximide 'lere duyarlı, % 15 'i benzimidazole 'lere dayanıklı ve dicarboximide 'lere duyarlı, % 8 'i benzimidazole 'lere duyarlı dicarboximide 'lere dayanıklı ve % 46 'sı benzimidazole ve dicarboximide 'e dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Üç izolatın carbendazim, procymidone ve diethofencarb 'a dayanıklı olduğu belirlenirken diğer izolatların bu fungusitlere duyarlı olduğu tespit edilmiştir. *B. cinerea* 'nın 31 izolatının doğaya uyumu ise, *in vivo* 'da izolatların sporulasyonları ve hıyar yaprak diskleri üzerinde gösterdiği lezyon gelişimine göre belirlenmiştir. Iprodione ve benomyl 'e dayanıklılık ile doğaya uyum parametreleri arasında bir korelasyon tespit edilmemiştir (Raposo vd., 1996).

Ülkemizde Ege ve Marmara Bölgeleri 'nde yapılan bir araştırmada bu bölgedeki bağlardan elde edilen 33 *B. cinerea* izolatının vinclozolin, iprodione, procymidone, dichlofluanide ve carbendazime 'e duyarlılığını araştırmışlardır. Bu izolatları EC_{50} değeri 1 $\mu\text{g/ml}$ 'den küçük olanları duyarlı, 1-10 $\mu\text{g/ml}$ arasında olanları düşük dayanıklı, 10-100 $\mu\text{g/ml}$ arasında olanları orta dayanıklı ve 100 $\mu\text{g/ml}$ 'den büyük olanları dayanıklı olarak gruplandırmışlardır. EC_{50} değerlerine göre 33 izolatın çoğunluğu bu fungusitlere duyarlı ($EC_{50} < 1$ $\mu\text{g/ml}$) olarak bulunmuştur. Bu grupta

göre vinclozolin 'e 25 izolat duyarlı, 8 izolat düşük dayanıklı, iprodione 'a 28 izolatın duyarlı, 5 izolatın düşük dayanıklı ve procymidone 'a ise 29 izolatın duyarlı iken 4 izolatın düşük dayanıklı, dichlofluanid 'e 17 izolatın düşük düzeyde, 4 izolatın orta düzeyde dayanıklı carbendazim 'e 2 izolatın yüksek ve 1 izolatın orta düzeyde dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada *B. cinerea* izolatlarından dicarboximide 'lere yüksek veya orta dayanıklı izolatların varlığı tespit edilmemiştir (Erkan vd., 1997).

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 'nde yapılan doktora çalışmasında *B. cinerea* izolatlarının carbendazim, imazalil, iprodione, myclobutanil ve procymidon 'a duyarlılık düzeyleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda izolatların % 11.8 'i carbendazim 'e duyarlı olmasına rağmen % 82.3 'ünün EC₅₀ değerlerinin <100 µg/ml olduğu belirlenmiştir. Imazalil ve myclobutanil için EC₅₀ değeri 1 µg/ml 'den küçük, iprodione için 1-3 µg/ml arasında ve procymidone için ise 1-30 µg/ml olarak bulunmuştur. Fungisitlerin *B. cinerea* izolatlarına etkililiği tane testleri ile de belirlenmiştir. Bu testlerde imazalil, myclobutanil, iprodione ve procymidone 'nun ticari dozuna göre daha düşük dozları, carbendazimin ticari dozundan daha etkili bulunmuştur. Sofralık üzümlerde üzümün ben düşme döneminden itibaren *B. cinerea* 'ya karşı bağda carbendazim, imazalil, iprodione, myclobutanil ve procymidone ile uygulamalar yapılmıştır. Hasat edilen üzümlerin yarısı yaş ve yarısı da kuru olarak örneklenmiştir. Yaş olanlardan hasattan, kurutulanlardan ise kurutmadan 0, 3, 7, 14, 21 ve 28 gün sonra alınan örneklerden kalıntı analizleri yapılmıştır. Yaş ve kuru üzüm örneklerinde 28. güne ait örneklerde tüm fungusitler 1mg/kg 'ın altında tespit edilmiştir. Kalıntı miktarı açısından 28. günde procymidone 'nun yaş üzümdeki kalıntısı 0.742 mg/kg ve kuru üzümdeki kalıntısı 0.987 mg/kg; iprodione 'nun ise yaş üzümdeki kalıntısı 0.906 mg/kg, kuru üzümdeki kalıntısı 0.983 mg/kg olarak belirlenmiştir. Diğer fungusitlerin bıraktığı kalıntı miktarları ile karşılaştırıldığında, bu iki fungusit en yüksek miktarda kalıntı bırakan fungusitlerdir. Bu iki fungusitin diğer fungusitlerden daha kalıcı olduğu sonucuna varılmıştır. Fungisitlerin kalıntı seviyelerinin procymidone 'da yaş üzümde 23 günde, kuru üzümde 27 günde; iprodione 'da yaş üzümde 5 günde, kuru üzümde ise 13 günde insan sağlığını tehdit etmeyecek seviyeye indiği tespit edilmiştir (Burçak, 1998).

Ege ve Akdeniz Bölgesi seralarında 1995-1998 yılları arasında yapılan surveyler sonucunda elde edilen *B. cinerea* izolatlarının, imazalil, prochloraz ve tebuconazole 'e

dayanıklılık kazanabilme potansiyelleri, *in vitro* 'da araştırılmıştır. Bunun için izolatlar sürekli fungusitlerin yükselen dozlarına transfer edilerek, bu fungusitlere adaptasyonları incelenmiştir. Imazalil, prochloraz ve tebuconazole 'ün yükselen dozlarına alınan izolatlar orijinal izolatlar ile karşılaştırıldığında duyarlılık düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte iki izolatan ardı ardına fungusitli ortama alınanları orijinal izolatlar ile karşılaştırıldıklarında fungusit içermeyen besi ortamında çok yavaş gelişme göstermişlerdir (Delen vd., 1998).

Fransa 'da 1993-1997 yılları arasında üzümlerden izole edilen *B. cinerea* izolatlarında uygulanan çeşitli fungusitlerin spor çimlenmesini, çim tüpü uzunluğunu ve miselyal gelişmeyi engelleme etkilerine göre değişik fenotipleri belirlenmiştir. Dicarboximide 'lere (iprodione, procymidone ve vinclozolin) dayanıklı olan izolatlar, aromatik hidrocarbon grubu fungusitlere (chloroneb, dichloran ve tolclofos-methyl) daha az dayanıklılık gösterirken, bu izolatlar phenylpyrrole 'lere (fenpiclonil ve fludioxonil) duyarlı olarak tespit edilmiştir (Leroux vd., 1999).

Dicarboximide dayanıklılığı ile ilgili olarak seralardan elde edilen *B. cinerea* izolatlarının doğaya uyumları araştırılmıştır. İzolatların EC₅₀ değerine göre belirlenen iprodione 'a dayanıklılığı ile sera ve sera dışında canlı kalabilme yetenekleri arasında bir korelasyon belirlenmemiştir. Bu izolatların PDA ortamında scleroti üretimleri ve domates gövdelerine inokule edilerek miselyumun canlı kalabilme yetenekleri 47., 83. ve 110. günlerde belirlenmiştir. Sclerotilerin canlılığı ile iprodione 'a dayanıklılık arasında negatif bir korelasyon tespit edilerek, dayanıklı izolatların sclerotilerinin canlı kalabilme yetenekleri, duyarlı izolatların sclerotilerinin canlı kalabilme yeteneklerinden daha düşük olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte izolatların miselyum canlılığı ile dayanıklılık arasında bir ilişki saptanmamıştır (Raposo vd., 2000).

Ege Bölgesi 'nde bağ alanlarında yapılan bir çalışmada salkım çürüklük patojenlerinin duyarlılık düzeyleri laboratuvar koşullarında araştırılmıştır. Tebuconazole; *B. cinerea*, *A. niger*, *A. flavus/parasiticus* ve *Alternaria alternata* türlerine etkili olurken, imazalil 'in *A. niger* ve *A. alternata* türlerine etkili olduğu belirlenmiştir. Myclobutanil ise, tüm izolatları daha düşük oranda engellemiştir. (Delen, 2001).

Anilinopyrimidine türevi pyrimethanil, cyprodinil ve mepanipyrim; phenylpyrrole grubu üyesi fludioxonil ve hydroxyanilide 'lerden fenhexamid yeni grup botritisitlerdir.

Pyrimethanil ve mepanipyrim özellikle kurşuni küfe, elma ve armutta *Venturia inequalis* ve *V. prina* 'ya etkilidir. Cyprodinil 'in fludioxonil ile karışımı ticari preparat olarak sebzelerde ve üzümde *B. cinerea* ' ya karşı kullanılmaktadır. Fenhehamid özellikle üzümde *B. cinerea* 'ya ve meyvelerde *Monilia* spp., *Sclerotinia* spp., karşı etkili olarak kullanılabilir. Daha önce *B. cinerea* savaşımında çoğunlukla dicarboximide grubu fungusitler kullanılırken, bu yeni grup fungusitlerin özellikle bağ alanlarında patojene karşı etkili olmasıyla, patojenin fungusitlere dayanıklılığın azaltılabilmesi amaçlanmıştır (Courderchet, 2003). Fakat botritisitlerin yılda 3 veya 4 uygulamanın üzerinde kullanılması halinde, özellikle anilinopyrimidine grubu botritisitlere dayanıklılığın gelişeceği anlaşılmış ve Fransa, İsviçre gibi birçok Avrupa ülkesinde bu fungusitlerin kullanımlarında kısıtlamalara gidilmiştir. Bu açıdan Fransa 'daki bağlarda mevsim süresince her grup fungusitten sadece birinin bir kez kullanımı öngörülmektedir. Özellikle fludioxonil ve diethofencarb aktif maddeli fungusitlerin kalıntı riski nedeniyle ürünlerin hasat dönemine yakın kullanılmaması gerekmektedir. Fenhexamid 'in piyasada uygulamasına başlanmadan önce laboratuvar koşullarında yapılan testlerde bazı izolatların bu fungusite genetik olarak dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (Leroux, 2004). Pyrimethanil, cyprodinil ve mepanipyrim *B. cinerea* 'da methionine biyosentezini engelleyerek hem çim tüpü uzamasını ve miselyal gelişmeyi durdurmaktadır. Pyrimethanil ve mepanipyrim 'in enfeksiyon oluşumunda önemli bir rolü olan protease, cellulase, lipase veya kitinase gibi hidrolitik enzim aktivitesini engellediği tespit edilmiştir. Fludioxonil 'in etki yeri osmotik düzenleyicilerdir. Aynı zamanda çim tüpü uzamasını ve miselyal gelişmeyi de engelleyebilmektedir. Fenhexamid 'in ise ergosterol biyosentezini engellediği ve diğer botritisitlerden hatta diğer sterol biyosentezi engelleyicilerinden farklı bir etki mekanizmasına sahip olduğu belirlenmiştir (Gullino vd., 2000, Rosslensbroich vd., 2000, Couderchet, 2003).

Fransa ve İsviçre 'nin değişik bölgelerindeki bağlara cyprodinil ve fludioxonil 'in *B. cinerea* üzerindeki etkisini gözlemlemek amacıyla bu fungusitler ayrı veya karışım halinde çiçeklenme dönemi ve ben düşme dönemlerinde bağa uygulanmıştır. Bu bağlarda yapılan 5 yıllık gözlemler sonucunda, *B. cinerea* izolatlarının fludioxonil 'e duyarlılığında bir değişim olmamış, buna karşın iki izolatın cyprodinil 'e duyarlılığı azalmıştır. Bununla birlikte cyprodinil+fludioxonil bağda patojene etkili olmuş ve iki fungusit arasında çapraz dayanıklılık belirlenmemiştir. Bu iki fungusitin karışımının

sebzelerde ve üzümde *B. cinerea* 'ya etkili olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Forster ve Staub, 1996).

Yunanistan 'da *B. cinerea* 'nın fludioxonil e yüksek derecede dayanıklı izolatları (RF değeri yaklaşık 5000) 1.08×10^{-5} sıklığında izole edilmiştir. İzolatların fludioxonil 'e dayanıklı mutantları ve normal izolatlarının doğaya uyum çalışmalarında fludioxonil 'e dayanıklılığa yol açan mutasyonun izolatların osmatik duyarlılığın, gelişme oranını, konidial çimlenme ve çim tüpü uzunluğunu etkilediği tespit edilmiştir. Hıyar fidelerinde yapılan patojenisite testlerinde fluodioxonil 'e dayanıklı olan ve osmotik hassasiyet gösteren *B. cinerea* izolatlarının virulent oldukları tespit edilmiştir (Ziogas vd., 2001).

Şili 'de sofralık üzüm bağlarında, çiçeklenme döneminde, ben düşme döneminde ve hasat ile ben düşme dönemi arasında cyprodinil bağlara uygulanmış ve *B. cinerea* 'nın bu fungusite duyarlılığı gözlemlenmiştir. Dayanıklı izolatlar 1996-1998 yılları arasında % 1 iken 1998-2000 yıllarında % 38.5 oranında saptanmış ve EC_{50} değerleri 2.9-4.84 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişerek, bu fungusitin savaşında etkili olamayacağı sonucuna varılmıştır. Dayanıklı olarak tespit edilen bu izolatlar $+5^{\circ}\text{C}$ 'de APDA ortamında bir yıl süre ile saklandıktan sonra bile dayanıklılık özelliğini korumuşlardır. Dayanıklı ve duyarlı izolatların miselyal gelişimleri, scleroti üretimleri ve osmatik duyarlılıkları arasında önemli farklılıklar tespit edilmiş, ancak bu biyolojik farklılıkların dayanıklı ve duyarlı izolatlar arasında bir korelasyon belirlenmemiştir. Dayanıklı izolatların bağda yayılmasını engellemek amacıyla anilinopyrimidine grubu fungusitlerin mevsim süresince maksimum 2 uygulama ile sınırlanması gerektiği belirtilmiştir (Latorre vd., 2002).

İsviçre 'de bağ alanlarında anilinopyrimidine, phenylpyrrole ve hydroxyanilide grubu fungusit uygulamaları tanelerin bezelye iriliğinde ve ben düşme dönemlerinde uygulamaları yapılarak 7 yıl süresince bu bağ alanlarından elde edilen toplam 2400 *B. cinerea* izolatının duyarlılıkları gözlemlenmiştir. Cyprodinil ve fenhexamid 'e duyarlılığın, gözlemlenen yıllar süresince azalarak izolatların % 54 'ünün bu fungusite dayanıklı hale geldiği belirlenmiştir. İzolatların fludioxonil 'e duyarlılığında bir değişme olmamış; fakat ilk yıllarda izolatlar fenhexamid 'e duyarlı iken daha sonraki yıllarda bu fungusite dayanıklı izolatlar tespit edilmiş ve dayanıklı izolatlar % 100 artış göstermiştir (Baroffio vd., 2003).

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 'nde yapılan bir yüksek lisans çalışmasında *B. cinerea* izolatlarının captan, diniconazole, imazalil, iprodione, hexaconazole, fenhexamid, pyrimethanil, myclobutanil, tebuconazole ve triforine 'e duyarlılık düzeyleri araştırılmıştır. Fenhexamid, hexaconazole, pyrimethanil, imazalil, diniconazole ve tebuconazole miselyal gelişimi en yüksek düzeyde engelleyen fungusitler olarak tespit edilmiştir. Bu fungusitlerin EC₅₀ değerleri 1 µg/ml 'den küçük olarak belirlenmiştir. Fungisitlerin spor çimlenmesine etkisi de araştırılmıştır. Imazalil, fenhexamid, tebuconazole ve hexaconazole *B. cinerea* izolatlarının spor çimlenmesini en yüksek düzeyde engelleyen fungusitler olarak tespit edilmiş ve MIC değerleri 10 µg/ml 'den küçük olarak bulunmuştur. Diniconazole, hexaconazole, tebuconazole ve triforine bağda külemeye karşı önerilen fungusitler olmasına karşın *B. cinerea* üzerinde de etkili olduğu tespit edilmiştir (Koplay, 2003).

Yunanistan 'da domateslerden elde edilen *B. cinerea* izolatlarının fenhexamid 'e dayanıklılığı ile ilgili yapılan bir çalışmada N-methyl-N-nitrosoguanidine (MNNG) ile kimyasal mutagenesisten sonra fenhexamide yüksek veya orta dereceli dayanıklı olan iki izolat elde edilmiştir (Mutasyon 0.9×10^{-5}). EC₅₀ değerlerine göre belirlenen dayanıklılık faktörü 460-570 ve 10-15 olarak tespit edilmiştir. Fenhexamid 'e yüksek veya orta dereceli dayanıklı izolatlarda meydana gelen mutasyonların doğaya uyumda izolatların miselyal gelişimini ve osmatik duyarlılığını etkilemediği; fakat spor verimi konidi çimlenmesi ve scleroti üretimi gibi karakterlerin birini veya birkaçını etkilediği tespit edilmiştir. Sera koşullarında salatalık fidelerinde yapılan virülens testlerinde fenhexamid 'e dayanıklı izolatların virülensinin yüksek olduğu ve fenhexamid 'in yüksek dozlarının bile bu izolatların salatalık fidesi yapraklarında oluşturduğu lezyonlarda etkili olmadığı tespit edilmiştir (Ziogas vd., 2003).

İspanya 'nın güneydoğusundaki seralarda 4 yıl süresince pyrimethanil ile uygulama yapılmıştır. Bu uygulama sonucunda seralardan elde edilen *B. cinerea* izolatlarında pyrimethanil 'e dayanıklılık gelişmiştir. Duyarlı izolatların EC₅₀ değeri 0.04-0.4 µg/ml arasında iken dayanıklı izolatların EC₅₀ değeri 1-10 µg/ml arasındadır. Bu izotatlardan % 90 'ı carbendazime, % 77 'si procymidone 'a, % 23 'ü diethofencarb 'a, % 12 'si pyrimethanil 'e dayanıklıdır. Procymidone ve carbendazim arasında çapraz dayanıklılık tespit edilmemiştir (Moyano vd., 2004).

Peter vd., *B. cinerea* pyrimethanil 'e duyarlılıklarının belirlenmesi üzerine yaptıkları bir çalışmada *B. cinerea* 'nın EC₅₀ değeri 0.39 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Hasat öncesi elmalara pyrimethanil uygulaması ile depoda bu etmene karşı 6 ay süresince koruma sağlanabilmiştir (Sholberg vd., 2005).

B. cinerea 'nın bağda çiçeklenme döneminden ben düşme dönemine kadar oluşturduğu enfeksiyonlar konukçunun dayanıklılığı ile baskılanabilmektedir (McClellan ve Hewitt, 1973, Holz, 2000). Fakat çiçeklenme döneminde meydana gelen erken enfeksiyonlar inokulum miktarının artması yönünden önemli olmakta ve inokulum miktarındaki artış şiddetli enfeksiyonlara neden olmaktadır (Holz, 2000, Delen ve Koplay, 2002, Koplay, 2003). Bunun için Fransa, İspanya, İtalya, Avustralya ve İsviçre gibi birçok ülkede patojen ile kimyasal savaşıma çiçeklenme döneminden itibaren başlatılmakta ve ben düşme dönemine kadar inokulumun düşürülmesi amaçlanmaktadır. Böylece tanelerin *B. cinerea* enfeksiyonuna duyarlılık kazandığı ben düşme döneminden sonra bağda inokulumun yoğunlaşması önlenmektedir (Bulit ve Dubos, 1998, Ellison vd., 1998b). Bu nedenle bazı ülkelerde *B. cinerea* ile etkili bir savaşım yapılabilmesi için programlar geliştirilmiştir.

Avustralya 'nın güneyindeki Riverland ve Wale bölgelerinde üzüm üreticilerinin *B. cinerea* ile mücadelesinde üreticiye yol gösterebilmesi amacıyla tahmin ve uyarı sistemi geliştirilmiştir. Sistemde, hastalığın ortaya çıkmadığı mevsimlerde gereksiz fungusit uygulamalarından kaçınarak, patojen için uygun çevre koşullarında fungusitin doğru zamanda uygulanması amaçlanmıştır. Patojenin bu bölgelerdeki biyolojisi uzun süreli gözlemlenerek, tarla koşullarında fungusit uygulamalarının yapıldığı denemelerin sonuçları ile üreticinin uyguladığı programlar karşılaştırılmıştır. Üzüm üreticilerinin fungusit uygulama kararını alabilmeleri için bazı noktalara dikkat etmesi gerekmektedir. Bunun için fungusit uygulama kararı, tahmini hastalık riskine, ekonomik eşığe ve uygulanacak olan fungusitlerin koruyuculuğuna bağlıdır. Patojenin hastalık riskini tahmin edebilmede ise, şu faktörler kullanılmaktadır: bağın gelişme dönemi; konidi veya miselyal enfeksiyon durumu; ürünün yaralanması; belirtiler ve çeşit hassasiyetidir. Ekonomik eşik, üzümlerin şarap yapımı için sene içerisinde prim yapıp yapmaması ile ilgilidir. Fungisit koruyuculuğu ise patojenin fungusite dayanıklılık durumuna göre değişmektedir. Bu sisteme göre bir mevsimde 2-5 arasında değişebilen ve çiçeklenme

döneminden itibaren başlatılan fungusit uygulamaları önerilmiştir (Ellison vd., 1998a, 1998b).

Ülkemizde *B. cinerea* ile savaşıma ben düşme döneminde başlanmaktadır (Anonymus, 1999). Oysa patojen çiçeklenme döneminden itibaren asmanın çiçek, yaprak ve salkım sapı gibi organlarında yoğun olarak bulunmakta (Delen, 2001, Delen ve Koplay, 2002, Koplay, 2003) ve ben düşme döneminde başlatılan ilaçlamalarda fungusitlerin etkililiği düşük olarak ortaya çıkmaktadır (Copcu ve ark, 2002). Üretici talimatlara uygun dönemde ilaçlamalara başlasa bile, ülkemizde önerilen programla hastalığı önleyememekte ve hasat dönemine kadar yoğun ilaçlamalar yaparak, çoğu kez fungusit ile hasat arasında bırakılması gereken süreye dikkat etmemektedir (Burçak, 1998, Delen, 2001, Atalay vd., 2004, Koplay, 2003).

B. cinerea 'nın saprofitik özelliği nedeniyle dolu yaralanmaları, böcek zararı, külleme ve mildiyö hastalıklarının oluşturduğu yaralarda veya *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Clodosporium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, gibi salkım çürüklük etmenlerinin (Koplay, 2003) gelişmesiyle patojen hızla gelişerek ölü dokularda yoğun bir inokulum kaynağı meydana getirmektedir (Leroux, 1995). *B. cinerea* 'nın inokulum yoğunluğunun ve şiddetli enfeksiyonlarının önlenmesi için kimyasal savaşıma diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de çiçeklenme ve ya salkım oluşumu döneminde başlatılması gerekmektedir (Delen, 2001, Delen ve Koplay, 2002).

Cyprodinil+fluodioxonil (Switch 62.5), imazalil (Magnate 50), fenhexamid (Teldor 50), procymidone (Sumisclex 50) ve pyrimethanil (Mythos) ülkemizde de bağda *B. cinerea* 'ya ruhsatlı fungusitlerdir (Yücer, 2006). Ülkemizde, Bursa ilinde iki ayrı yerde yapılan denemede fenhexamid (TELDOR SC 500) çiçeklenme döneminden önce ve çiçeklenme döneminde çileklere uygulanmıştır. Meyvelerin olgunlaştığı dönemde yapılan değerlendirme sonucunda fungusitin 150 cc 'lik dozunun kurşuni küfe % 84.1 ve % 94.9 oranında etkili olduğunu tespit etmişlerdir (Aydoğdu vd., 2001).

Ege Bölgesi 'ndeki bağlarda yapılan bir çalışmada teknik talimatlarda belirtilen ilaçlama döneminin 15 gün öncesi yani salkımlar sıkılaşımadan başlatılan ilaçlamaların *B. cinerea* 'ya karşı daha etkili olduğu ve *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Clodosporium* spp. gibi salkım çürüklük etmenlerini de azalttığı gösterilmiştir (Copcu vd., 2002). Erken dönemde yapılan fungusit uygulamasının hasat döneminde ve hasat

sonrasında inokulum miktarını azaltarak ürünün daha uzun süreli korunması sağlanabilmektedir (Atalay vd., 2004).

B. cinerea 'nın savaşımında kullanılan fungusitlerin kalıntıları yönünden insan ve çevre sağlığına etkileri de araştırılmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Yeni Zelanda 'da böğürtlen üzerinde yapılan bir çalışmada thiram, cyprodinil+fludioxonil, fenhexamid, pyrimethanil ve 3 bitki ekstraktı *B. cinerea* 'nın mücadelesi için uygulanmıştır. Uygulama sonucunda tüm fungusitlerin *B. cinerea* 'nın tane enfeksiyonlarını önemli derecede azalttığı fakat cyprodinil+fludioxonil, pyrimethanil ve bitki ekstraktlarının ise tane kalitesini olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir. Fenhexamid 'in ise, tane kalitesi üzerinde olumsuz bir etki yapmaksızın hastalık şiddetini azalttığı ve hasat sırasında kalıntısının 0.05 mg/kg 'dan daha az saptanarak maksimum kalıntı limiti (MRL) 'nin altında olduğu görülmüştür (Walter vd., 2005).

İtalya 'da pyrimethanil 'in sofralık üzümde kalıntısı araştırılmıştır. Fungisit bağda yapılan uygulamalarının ardından salkım örnekleri alınarak ethyl acetate ve hexane solusyonu (1:1 v/v) ile ekstrakte edilmiştir. Gaz kromatografisinde belirlenen kalıntı değerlerinde örneklerde pyrimethanil 'in maksimum kalıntı değerlerinin altında olduğu tespit edilmiştir (Angioni vd., 2006).

İspanya 'da marul ve üzümde yapılan bir çalışmada cyprodinil ve fluodioxonil 'in 21 gün sonra maximum kalıntı değerlerinin altına inmiştir (Marin vd., 2003).

Çileklerde pyrimethanil kalıntısı konusunda yapılan bir çalışmada, bu fungusitin maximum 1 µg/kg olarak kabul edilen kalıntı değerinin altına 10 gün sonra indiği ve bu 10 gün sonra saptanan değer 0.66 µg/kg olduğu bildirilmiştir (Rabolle vd., 2006).

İspanya 'da yapılan bir çalışmada cyprodinil, fluodioxonil, procymidone ve vinclozolin 'in beyaz üzümlerden elde edilen ve piyasada ticari olarak satılan üzüm sularındaki yarılanma ömürleri araştırılmıştır. Oda sıcaklığında bir yıl bekletilebilen üzüm sularının raf ömürlerini kısaltmak amacıyla üzüm suları 2 ay süresince 40 °C 'de depolanmıştır. Bu süre sonunda vinclozolin ve procymidone için yarılanma ömrü 11 ve 14 gün olarak tespit edilirken, fluodioxonil ve cyrodinil için bu süre 33 ve 44 gün olarak belirlenmiştir. Cyprodinil ve fludioxonil 'in daha uzun süreli olarak üzüm suyunda

bulunması nedeniyle bu fungusitlerin kalıntı sınırlarını aşmaması için kullanımlarında dikkatli olunması gerektiği bildirilmiştir (Pose-Juan vd., 2006).

B. cinerea 'ya karşı kullanılan fungusitlere patojenin hızla dayanıklılık kazanması, fungusitlerin sofralık ve şaraplık üzümlerde bıraktıkları kalıntılar (Courderchet, 2003), yaprak mikroflorasındaki epifitik mikroorganizmalara (Gullino vd., 1989) ve şarabın fermantasyonu sırasında da mayaların gelişimine olumsuz etkileri (Calhelha vd., 2006) nedeniyle kimyasal savaşım uygulamalarında dikkatli olunması gereklidir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. *Botrytis cinerea* İzolatlarının Elde Edilmesi

B. cinerea izolatlarının elde edilmesinde Trakya Bölgesi 'nde şaraplık üzümün önemli merkezi olan Tekirdağ-Merkez ve Tekirdağ 'ın Şarköy ilçesi esas alınmıştır. Bu nedenle 2004 ve 2005 yıllarında şaraplık ve sofralık üzümün hasat mevsimine yakın Ağustos ayı ve Eylül ayı dönemlerinde bağ alanlarına survey yapılarak hastalıklı üzüm örnekleri laboratuvara getirilmiş ve bu örneklerden *B. cinerea* izolatları elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan *B. cinerea* izolatlarının elde edildiği yıl, yer ve üzüm çeşitleri ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

B. cinerea 'nın dayanıklı sporlarını elde edebilmek amacıyla, etki yeri spesifik olmayan (klasik) fungusitleri temsilen captan, imidazole 'leri temsilen imazalil, triazole 'leri temsilen tebuconazole ve dicarboximide 'leri temsilen de procymidone içeren besi ortamlarına alınmış ve bu izolatlar fungusit içermeyen ortamda bulunan izolatlarla birlikte testlenmişlerdir (Delen vd., 1984).

Fungisit içeren besi ortamlarında gelişme gösteren izolatlar, fungusit içermeyen besi ortamlarında bulunan izolatlarla birlikte duyarlılık testlerinde kullanılıncaya kadar +4°C 'de eğik agarlarda saklanmıştır. Böylelikle Trakya Bölgesi 'nde bağlarda yoğun olarak kullanılan fungusitlere *B. cinerea* izolatlarının duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi amacıyla farklı popülasyonları temsil edebilecek 70 izolat denemeye alınmıştır.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan *Botrytis cinerea* izolatları

İzolat No	Elde Edildiği Yer	Çeşit Adı	Yıl
Bc2	Tekirdağ- Merkez	Zinfandel	2004
Bc7	Tekirdağ- Merkez	Emir	2004
Bc9	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Alfons	2004
Bc11	Tekirdağ- Merkez	Chardonay	2004
Bc12	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Cinsault	2004
Bc15	Tekirdağ- Merkez/Yazır	Semillon	2004
Bc16	Tekirdağ-Merkez/Naip	Semillon	2004
Bc19	Tekirdağ-Şarköy/Çengelli	Semillon	2004
Bc22	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Gamay	2004
Bc26	Tekirdağ-Şarköy/Çengelli	Yapıncak	2004
Bc29	Tekirdağ- Merkez	Gamay	2005
Bc29 c	Tekirdağ- Merkez	Gamay	2005
Bc29 ı	Tekirdağ- Merkez	Gamay	2005
Bc29 t	Tekirdağ- Merkez	Gamay	2005
Bc31	Tekirdağ-Şarköy/Çengelli	Cinsault	2005
Bc31 c	Tekirdağ-Şarköy/Çengelli	Cinsault	2005
Bc31 ı	Tekirdağ-Şarköy/Çengelli	Cinsault	2005
Bc31 t	Tekirdağ-Şarköy/Çengelli	Cinsault	2005
Bc33	Tekirdağ-Merkez	Emir	2005
Bc33 c	Tekirdağ-Merkez	Emir	2005
Bc33 ı	Tekirdağ-Merkez	Emir	2005
Bc33 t	Tekirdağ-Merkez	Emir	2005
Bc34	Tekirdağ-Merkez	Zinfandel	2005
Bc34 c	Tekirdağ-Merkez	Zinfandel	2005
Bc34 ı	Tekirdağ-Merkez	Zinfandel	2005
Bc34 t	Tekirdağ-Merkez	Zinfandel	2005
Bc36	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Semillon	2005
Bc36 c	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Semillon	2005
Bc36 ı	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Semillon	2005
Bc37	Tekirdağ-Şarköy/Y. Kalamış	Semillon	2005
Bc37 c	Tekirdağ-Şarköy/Y. Kalamış	Semillon	2005
Bc37 ı	Tekirdağ-Şarköy/Y. Kalamış	Semillon	2005
Bc38	Tekirdağ-Merkez/Barboros	Semillon	2005
Bc38 c	Tekirdağ-Merkez/Barboros	Semillon	2005
Bc38 ı	Tekirdağ-Merkez/Barboros	Semillon	2005

c: captan, ı:imazalil, t:tebuconazole içeren ortamdan gelen izolat

Çizelge 3.1 (devam)

İzolot No	Elde Edildiği Yer	Çeşit Adı	Yıl
Bc39	Tekirdağ-Şarköy/Güzelköy	Semillon	2005
Bc39 c	Tekirdağ-Şarköy/Güzelköy	Semillon	2005
Bc39 ı	Tekirdağ-Şarköy/Güzelköy	Semillon	2005
Bc40	Tekirdağ-Şarköy/Yeniköy	Semillon	2005
Bc40 c	Tekirdağ-Şarköy/Yeniköy	Semillon	2005
Bc40 ı	Tekirdağ-Şarköy/Yeniköy	Semillon	2005
Bc41	Tekirdağ-Merkez	Semillon	2005
Bc41 c	Tekirdağ-Merkez	Semillon	2005
Bc42	Tekirdağ-Şarköy/Yörgüç	Semillon	2005
Bc42 c	Tekirdağ-Şarköy/Yörgüç	Semillon	2005
Bc42 ı	Tekirdağ-Şarköy/Yörgüç	Semillon	2005
Bc43	Tekirdağ-Şarköy/Güzelköy	Semillon	2005
Bc43 c	Tekirdağ-Şarköy/Güzelköy	Semillon	2005
Bc43 ı	Tekirdağ-Şarköy/Güzelköy	Semillon	2005
Bc44	Tekirdağ-Şarköy/Sofuköy	Semillon	2005
Bc44 c	Tekirdağ-Şarköy/Sofuköy	Semillon	2005
Bc44 ı	Tekirdağ-Şarköy/Sofuköy	Semillon	2005
Bc45	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Yapıncak	2005
Bc45 c	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Yapıncak	2005
Bc45 ı	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Yapıncak	2005
Bc46	Tekirdağ-Merkez/Barbaros	Yapıncak	2005
Bc46 c	Tekirdağ-Merkez/Barbaros	Yapıncak	2005
Bc46 ı	Tekirdağ-Merkez/Barbaros	Yapıncak	2005
Bc47	Tekirdağ-Merkez/Naip	Yapıncak	2005
Bc47 c	Tekirdağ-Merkez/Naip	Yapıncak	2005
Bc47 ı	Tekirdağ-Merkez/Naip	Yapıncak	2005
Bc49	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Yapıncak	2005
Bc49 c	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Yapıncak	2005
Bc49 ı	Tekirdağ-Şarköy/Kirazlı	Yapıncak	2005
Bc54	Tekirdağ-Merkez/Naip	Yapıncak	2005
Bc54 c	Tekirdağ-Merkez/Naip	Yapıncak	2005
Bc54 ı	Tekirdağ-Merkez/Naip	Yapıncak	2005
Bc55	Tekirdağ-Şarköy/Mursallı	Yapıncak	2005
Bc55 c	Tekirdağ-Şarköy/Mursallı	Yapıncak	2005
Bc55 ı	Tekirdağ-Şarköy/Mursallı	Yapıncak	2005

c: captan, ı: imazalil, t: tebuconazole içeren ortamdan gelen izolat

3.1.2. Araştırmada Kullanılan Fungisitler

Araştırmada kullanılan fungusitlerin seçiminde daha önce bu konuda yapılmış çalışmalar (Delen vd., 1984, Delen, 2001, Delen ve Koplay 2002) ve 2004 yılında yapılan survey çalışması sırasında şaraplık üzüm üreticileri ve ilaç bayileri ile bizzat görüşülerek Trakya Bölgesi bağlarında külleme, mildiyö ve kurşuni küfe karşı kullanılan fungusitler tespit edilmiştir. Yapılan görüşmelerde captan, cyprodinil+fludioxonil, hexaconazole, imazalil, penconazole, pyrimethanil, procymidone ve triadimenol 'ün bölgemiz bağlarında yoğun olarak kullanıldığı belirlenmiştir. Çalışmamızda, Trakya Bölgesi bağlarında uygulandığı bilinen 11 adet fungusit kullanılmış, bu fungusitlerin etkili madde adı ve oranları, ticari isimleri, firmaları ve formülasyon şekilleri Çizelge 3.2 'de verilmiştir.

Kullanılan fungusitlerin etki yeri spesifik olmayan phythalamide grubundan olan captan dışında tümü etki yeri spesifik fungusit gruplarına aittir. Bunlar arasında procymidone dicarboximide grubunda; cyprodinil ve pyrimethanil anilinopyrimidine grubunda; fludioxonil phenylpyrrole grubunda; fenhexamid hydroxyanilide grubunda; hexaconazole, myclobutanil, tebuconazole, penconazole ve triadimenol triazol grubunda; imazalil imidazol grubunda yer almaktadır. Denemede yer alan fungusitlerden cyprodinil+fludioxonil (Switch 62.5), imazalil (Magnate 50), fenhexamid (Teldor 50), procymidone (Sumisclex 50) ve pyrimethanil (Mythos) bağda *B. cinerea* 'ya ruhsatlıdır. Hexaconazole (Anvil), myclobutanil (Super Systhane 24 E) penconazole (Topas 100), tebuconazole (Folicur 25) ve triadimenol (Bayfidan 50) bağ küllemesine captan (Captan 50) ise bağ mildiyösüne ruhsatlıdır (Yücer, 2006).

Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan fungusitler ve bazı özellikleri

Etkili Madde Adı ve Oranı (%)	Ticari Adı	Firması	Formülasyon Şekli
captan, 50	Captan 50	Syngenta	WP
cyprodinil+fludioxonil, 62,5	Switch 62,5	Syngenta	WG
fenhexamid,50	Teldor 50	Bayer	SC
hexaconazole, 5	Anvil	Syngenta	SC
imazalil, 50	Magnate 50	Hektaş	EC
myclobutanil, 24,5	Super Systhane 24 E	DowAgroSciences	EC
penconazole	Topas 100	Syngenta	EC
procymidone, 50	Sumisclex 50	Sumitomo	SC
pyrimethanil, 30	Mythos	Bayer	SC
tebuconazole, 25	Folicur 25	Bayer	WP
triadimenol, 50	Bayfidan 50	Bayer	EW

3.1.3. Seçilmiş İzolatlara Fungisitlerin Etkililiği ve Bağ Denemesi

Yaprak ve tane testlerinde, *B. cinerea* 'ya duyarlı olduğu bilinen Emir şaraplık üzüm çeşidi kullanılmıştır (Köycü vd., 2005).

Bağda en etkili kimyasal savaşım programını tespit edebilmek amacıyla Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü 'nün 1987 yılında 5BB anacı kullanılarak telli terbiye sistemine göre 4 tekerrürlü olarak tesadüf blokları deneme desenine göre tesis edilmiş sıra arası 2.25 m ve sıra üzeri 1.40 m olan deneme bağı kullanılmıştır. Bağ denemesi Emir (beyaz çeşit) çeşidi ile birlikte etmene hassas olduğu bilinen Zinfandel (pembe çeşit) şaraplık üzüm çeşitleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Köycü vd., 2005). Denemede kullanılan Emir şaraplık üzüm çeşidi (Şekil 3.1) kaliteli beyaz şarap veren bir çeşittir. Salkımları kısa konik şekilli, orta büyüklükte ve çok sıkıdır. Taneleri yuvarlak şekilli, orta büyüklükte ve 2-3 çekirdeklidir. Tane kabuk rengi sarımsıdır. Tane eti sulu ve aromasızdır. Kısa veya yarı uzun budama önerilmektedir (Çelik, 2002).

Zinfandel şaraplık üzüm çeşidi (Şekil 3.2.) kaliteli kırmızı şarap veren bir çeşittir. Salkımları orta irilikte, yaklaşık 300 g. ağırlığında, sıkı ve genellikle çift kanatlıdır. Taneleri yuvarlak ve ortalama 3 g ağırlığında olmakla birlikte tane iriliği varyasyon gösterebilmektedir. Tane kabuk rengi kırmızımsı siyah-siyahtır. Tane eti suludur. Çok verimli olup, gelişme gücü ortadır. Kısa budama önerilmektedir (Kasimatis vd., 1980).



Şekil 3.1. Emir şaraplık üzüm çeşidi



Şekil 3.2. Zinfandel şaraplık üzüm çeşidi

3.2. Metot

3.2.1. *Botrytis cinerea* İzolatlarının Elde Edilmesi

Trakya Bölgesi 'nde hem beyaz hem kırmızı renkli şaraplık çeşitler yetiştirilmektedir. Beyaz şaraplık üzümlerde hasat zamanı kurşuni küf hastalığı etmeninin belirtilerini kolaylıkla görmek mümkün olmakla birlikte, kırmızı çeşitlerde gerek salkım yapısının özelliği ve gerekse üzüm rengi itibarıyla bu pek mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, kırmızı çeşitlerde özellikle zedelenmiş ve buruşmuş salkımlar dikkate alınmıştır. Salkım örnekleri etiketlenerek plastik kaplarda ve buz çantasında laboratuvara getirilmiştir. Misel gelişimi gösteren salkım örneklerinden bir pens yardımıyla misel tabakası alınarak captan (10 µg/ml), imazalil (1 µg /ml), tebuconazole (1 µg /ml), procymidone (1 µg /ml) etkili maddeli fungusitleri içeren ve içermeyen MM besi ortamlarında (Minimal Medium: 1 litre için; 20 g glukoz, 20 g agar, 1 g K₂HPO₄, 0.5 g MgSO₄.7H₂O, 1 g FeCl₃, 1.5 g L-Asparagin, 1 g yeast extract) spor silkelemeleri yapılmak suretiyle izolasyonların gelişimleri sağlanmıştır (Delen vd., 1984). Misel örtüsü bulunmayan; fakat hastalıklı olduklarından şüphe edilen salkım örnekleri ise önce +4 °C 'de bir hafta bekletilerek etmenin gelişimi sağlandıktan sonra yukarıda anlatıldığı gibi izolasyonları gerçekleştirilmiştir (Holz, 2000, Koplay, 2003). Elde edilen *B. cinerea* izolatları kullanılıncaya kadar fungusitli ve fungusitsiz eğik agarlarda +4 °C 'de buzdolabında saklanmıştır (Delen ve Koplay, 2002).

3.2.2. İzolatların Fungisitlere Duyarlılıklarının Saptanması

Laboratuvar koşullarında yürütülen testlerde, Çizelge 3.2 'de verilen fungusitlerin izolatların miselyal gelişimini engelleme oranlarını saptayabilmek için, fungusitli ve fungusitsiz ortamda bulunan izolatlar 23 °C 'de karanlıkta 3 gün süre ile MM besi ortamında geliştirilmiştir. (Delen vd., 1984). Daha sonra bu izolatlar, captan (Captan 50), cyprodinil+fludioxonil (Switch 62.5), fenhexamid (Teldor 50), hexaconazole (Anvil), imazalil (Magnate 50), myclobutanil (Super Systhane 24 E),

penconazole (Topas 100), procymidone (Sumisclex 50), pyrimethanil (Mythos), tebuconazole (Folicur 25) ve triadimenol (Bayfidan 50) etkili maddeli fungusitlerin 0 (kontrol), 0.01, 0.03, 0.1, 1, 3, 10, 30 ve 100 µg/ml etkili madde (e.m) dozlarını içeren MM ortamında denemeye alınmışlardır. Bu fungusit dozlarını hazırlayabilmek amacıyla, fungusitlerin etkili madde dozları üzerinden stok solüsyonları hazırlanmış ve seyreltilerek otoklavda 120 °C 'de 1 atm. basınçta steril edilmiş ve 50 °C 'ye soğutulmuş erlenmayer içerisindeki besi ortamlarına otomatik pipet ile ilave edilmiştir. Her fungusit dozu için ilave edilen miktarda son seyreltme besi ortamına eklemeye olmuştur. Fungisitlerin stok solüsyonlarını hazırlayabilmek amacıyla captan, cyprodinil+fludioxonil imazalil, myclobutanil, penconazole, tebuconazole ve triadimenol % 99 'luk etil alkolde eritilmişlerdir. Alkolde çözünmeyen fenhexamid, hexaconazole, pyrimethanil ve procymidone etkili maddeli fungusitlerin stok solüsyonlarında ise steril saf su kullanılmıştır (Koplay, 2003). Tüm denemelerde homojenliğin sağlanması amacıyla tüm ortamlara eşit miktarda etil alkol veya steril saf su ilave edilmiştir. Fungisit ilave edilmiş ve fungusit ilave edilmemiş (kontrol) besi ortamı önceden steril edilmiş petri kaplarına eşit miktarda paylaştırılmıştır. Bu besi ortamlarına fungus izolatlarının dört günlük kültürlerine ait kolonilerin kenarlarından 4 mm çapındaki diskleri cork-borer (mantar delici) ile delinerek ekimleri yapılmıştır. Ekimler sırasında disklerin fungal gelişimi olan yüzeylerinin besi ortamına değmesi sağlanmış ve her petri kabına 3 adet disk yerleştirilmiştir. Petrilere izolatların ekimi yapıldıktan sonra 23 °C 'de 3 gün süreyle tamamen karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Denemeler 3 tekrarlı olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. İnkübasyon süresi sonunda *B. cinerea* izolatlarının koloniyal gelişimlerinin çapı ölçülerek EC₅₀ (Miselyal gelişmeyi % 50 engelleyen doz) değerleri saptanmıştır. Bu değer kontrole göre hesaplanarak yüzde gelişim değerlerinin log-probit kağıda uygulanması ile belirlenmiştir (Delen vd., 1984, Koplay, 2003).

3.2.2.1. Fungisitlerin miselyal gelişime etkileri

Fungisitlerin izolatların miselyal gelişimine etkisini belirleyebilmek amacıyla izolatların fungusitlere duyarlılıklarının saptanması bölümünde (3.2.1.2) belirtilen yöntem uygulanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda *B. cinerea* izolatlarının miselyal gelişim gösteremediği en düşük yoğunluk değeri MIC (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) ($\mu\text{g/ml}$) olarak belirlenmiştir.

3.2.2.2. Spor çimlenmesine etkisi

Fungisitlerin spor çimlenmesine etkisini belirleyebilmek amacıyla yine 3.2.2.1 ve 3.2.2.2 'de belirtilen yöntemler kullanılmış; ancak 7-15 gün süre ile ışıқта geliştirilerek sporulasyonu sağlanmış kolonilerden bir pens yardımıyla alınan misel parçasından MM besi ortamına spor silkelemesi yapılmıştır. Konidiosporun çim borusu sporun kendi büyüklüğünün iki katı kadar uzadığında konidiosporun çimlendiği kabul edilmiştir. Daha sonra bu petri kapları 23 °C 'de bir gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda her petri kabında bulunan sporların çimlenme oranları tespit edilmiştir. Bu değerlendirmeden sonra, petri kapları gün ışığında yedi gün süre ile bırakılarak spordan oluşan koloni gelişimleri izlenmiştir. Makroskobik ve mikroskobik değerlendirmeler sonucunda spor çimlenmesini engelleyen en düşük yoğunluk değeri MIC ($\mu\text{g/ml}$) hesaplanmıştır (Delen vd., 1984, Koplay, 2003).

3.2.3. Dayanıklı *B. cinerea* İzolatlarının Doğaya Uyum Yetenekleri

Dayanıklılık kazanmış izolatların doğaya uyum yeteneklerini saptamak amacıyla, doğaya uyumun üç kriteri olan izolatların spor verimleri, miselyal gelişme hızları ve virülensleri duyarlı izolatlarla karşılaştırmak biçiminde, fungusit içermeyen koşullarda çalışmalar yürütülmüştür (Dekker, 1982).

3.2.3.1. Dayanıklı izolatların spor verimleri

Duyarlılık testleri sonucunda her fungusite dayanıklılığı en yüksek bulunan izolatların en duyarlı *B. cinerea* izolatları ile karşılaştırmalı olarak spor verimleri fungusit içermeyen besi yerinde tespit edilmiştir. Bu amaçla dayanıklı ve duyarlı izolatların spor verimleri tespit edilmiştir. *B. cinerea* izolatları MM besi ortamında 7-10 gün süre ile 23 °C 'de sporulasyonu teşvik etmek amacıyla 12 saat ışık ve 12 saat karanlıkta geliştirilmişlerdir. Petri kabının rastgele farklı üç bölgesinden mantar delici ile 1 cm çapında diskler alınarak içerisinde % 0.01 oranında Tween 20 ile hazırlanmış saf su bulunan eppendorflara konularak 12.000 rpm 'de 5 dakika santrifüj edilmişlerdir. Santrifüj işleminden sonra her izolatin sporları ayrı ayrı 3 tekerrürü thoma kan sayım lamı (Hemocytometre) yardımı ile mikroskop altında sayılmıştır. Sayımlar sonucunda her izolatin ml 'deki spor sayısı tespit edilerek istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Latorre, 2002).

3.2.3.2. Dayanıklı izolatların miselyal gelişme (büyüme) hızı

Duyarlılık testleri sonucunda her fungusite en dayanıklı izolatların miselyal gelişme hızları fungusit içermeyen besi yerinde en duyarlı olarak belirlenen izolatlarla karşılaştırmalı olarak saptanmıştır. Bu amaçla, MM besi ortamında 23 °C 'de tamamen karanlıkta geliştirilen dört günlük kolonilerin kenar kısımlarından mantar delici ile 1 cm çapında diskler alınarak her petri kabına birer adet disk yerleştirilmiştir. Bu petri kapları 23 °C 'de karanlıkta inkübasyona bırakılarak dayanıklı ve duyarlı izolatların günlük

koloni çapları llmŖtir. İzolatların ortalama koloni çapları cm/gün olarak tespit edilerek istatistik analizleri yapılmıŖtır. Deneme 3 tekrarlı olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre yrtlmŖtir (Latorre, 2002).

3.2.3.3. Dayanıklı izolatların virülensi

Duyarlılık testleri sonucunda her fungusite dayanıklılığı en yüksek olarak saptanmıŖ izolatların virülensleri en duyarlılarla karŖılaŖtırmalı olarak yaprak testleri ile fungusitsiz koŖullarda belirlenmiŖtir. Bu amaçla, mayıs ayında orta büyüklükte geliŖmiŖ olan Emir Ŗaraplık zm eŖidine ait yapraklar laboratuvara getirilerek eŖme suyunda yıkandıktan sonra steril saf su içerisinde 10 dakika bekletilmiŖtir. Plastik kaplar içerisine 4 kat kurutma kağıdı yerleŖtirilmiŖ ve steril saf su ile ıslatılmıŖtır. Kurutma kağıtları üzerine yaprakların direkt olarak kağıt ile temasını kesmek amacıyla 2 cm eninde ağaç çıtalar üzerine yaprak sapları nemli kurutma kağıdına değecek Ŗekilde yerleŖtirilmiŖ ve her tekerrürde iki yaprak olacak Ŗekilde bu çıtaların üzerine konulmuŖtur. Yapraklar sadece epidermis dokuları delinecek Ŗekilde ince uçlu steril bir enjektör ile yaralanmıŖlardır. *B. cinerea* izolatları MM besi ortamında 23  C ‘de tamamen karanlıкта geliŖtirildikten sonra 4 günlük kolonilerin kenar kısımlarından mantar delici ile delinerek alınan 1 cm çapındaki agar diskleri misel tarafı yaralanmıŖ yaprak kısmına değecek Ŗekilde her yaprağa karŖılıklı olarak iki adet disk yerleŖtirilmiŖtir (Vallejo, 2003). Daha sonra plastik kaplar Ŗeffaf polietilen naylon torbalar içerisine konularak iklim odasında 23  C ‘de 12 saat ıŖık ve 12 saat karanlıкта 4 gün süre ile inkübasyona bırakılmıŖtır. Inkübasyon periyodu sonunda yapraklar üzerinde izolatların meydana getirdiği lezyonların çapı ölçülerek elde edilen veriler istatistiksel olarak deęerlendirilmiŖtir. Deneme 3 tekrarlı olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre yrtlmŖtir.

3.2.4. Kimyasal Savaşım Çalışmaları

Kimyasal savaşım ile ilişkili çalışmalar önce laboratuvar koşullarında hastalığa en etkili fungusiti saptama amacıyla bitki kısımları kullanılarak yapılmıştır. İkinci aşamada ise, en etkili olduğu saptanmış fungusit iki farklı programın etkililiğini karşılaştırabilmek amacıyla tarla koşullarında denenmiştir. Bu deneme sonucunda iki farklı program ve kullanılan fungusitin kalıntı riski de araştırılmıştır.

3.2.4.1. *Botrytis cinerea* İzolatlarına Fungisitlerin Etkililikleri

Tarla koşullarında yürütülen çalışmalara temel olarak fungusitlerin bağ yapraklarında ve tanelerde seçilmiş *B. cinerea* izolatlarına etkililikleri iki aşamalı olarak testlenmiştir. Yaprak testlerinde patojenin misellerinden, tane testlerinde ise sporlarından yararlanılmıştır. Böylece seçilmiş fungusitlerin hem miselyuma hem de sporlara etkisi ortaya konmuştur.

3.2.4.1.1. Yaprak testleri ile fungusitlerin etkililiğinin tespiti

Duyarlılık testleri sonucunda her fungusite en dayanıklı ve en duyarlı olarak belirlenen *B. cinerea* izolatlarına fungusitlerin etkililiklerini belirlemek amacıyla fungusitler piyasa dozu üzerinden 1/1, 1/2 ve 1/4 oranlarında hazırlanmıştır (Koplay, 2003). Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü 'nden Emir şaraplık üzüm çeşidine ait bağ yaprakları dayanıklı ve duyarlı izolatların virülensi bölümünde anlatıldığı gibi (3. 2. 3. 3) plastik kaplar içerisine yerleştirilmiştir. Yukarıda belirlenen dozlarda hazırlanan captan, cyprodinil+fludioxanil, fenhexamid, hexaconazole, imazalil, myclobutanil, penconazole, procymidone, pyrimethanil, tebuconazole ve triadimenol etkili maddeli fungusitler yapraklara püskürtülmüştür. Fungisit püskürtülmüş yapraklara steril enjektör ile sadece epidermis dokusu delinecek şekilde yaralama işlemi yapılmıştır. Her fungusite duyarlı ve dayanıklı olarak tespit edilen *B. cinerea* izolatları MM besi ortamında geliştirilmiş ve 4 günlük kolonilerin kenar kısımlarından mantar delici ile alınan 1 cm

apındaki agar diskleri misel tarafı yaralanmış yaprak kısmına değecek şekilde her yaprağa karşılıklı olarak iki adet disk yerleştirilmiştir. Kontrol yapraklara ise sadece steril saf su püskürtülerek inokulum içermeyen agar diskleri yerleştirilmiştir (Vallejo vd., 2003). Deneme her tekerrürde 2 adet yaprak olacak şekilde 3 tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. Plastik küvetler, şeffaf polietilen naylon torbalara konularak ağızları sıkıca kapatıldıktan sonra iklim odasında 23 °C de 4 gün 12 saat ışık ve 12 saat karanlık olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır (şekil 3.3.). İnkübasyon periyodu sonunda *B. cinerea* izolatlarının yapraklar üzerinde oluşturduğu lezyonların çapı ölçülerek elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.



şekil 3.3. Plastik kaplar içerisinde *B. cinerea* ile inokule edilmiş yapraklar

3.2.4.1.2. Tane testleri ile fungusitlerin etkililiğinin tespiti

Yaprak testleri sonucunda *B. cinerea* izolatlarına karşı ümit var görülen fungusitler seçilerek tane testleri için kullanılmıştır. Tane testlerinde kullanılan fungusitler de ticari olarak kullanılan dozları (1/1) esas alınarak bu doz üzerinden 1/1, 1/2 ve 1/4 oranlarında hazırlanmıştır. Üzüm taneleri salkım olarak laboratuvara getirildikten sonra tane üzerinde yara olmaması amacıyla, sapları ile birlikte salkımdan ayrılarak % 1 'lik sodyumhipoklorit (NaOH) içerisinde 4-5 dakika yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutularak steril edilmiş ve 3 kez steril saf sudan geçirilmiştir. Taneler steril enjektör ile tam orta yerinden bir kez delinerek yaralanmıştır. Yaralı taneler üzerine 7-10 gün süresince MM besi ortamında geliştirilen ve sporulasyonu sağlanan kültürlerden hazırlanan spor süspansiyonu ile inokule edilmiştir. Spor süspansiyonunu hazırlamak için izolatların bulunduğu petri kaplarına steril saf su eklenerek koloniler pens yardımı ile parçalanmış ve sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Misel tabakasının ayrılması amacıyla steril bir tülbentten steril bir behere süzülerek thoma kan sayım lamı (Hemocytometre) yardımı ile mikroskop altında sayılarak inokulum $1,5 \times 10^6$ spor/ml olacak şekilde seyreltilmiştir (Latorre, 2002, Koplay, 2003). Delinen taneler üzerine hazırlanan fungusitler ayrı ayrı püskürtülmüş ve taneler yapışkan bant yardımı ile ağaç çıtalar üzerine sabitlenmiştir. Kontrol için kullanılan taneler de delinmiş ancak üzerine sadece steril saf su püskürtülmüştür. Bu çıtalar önceden temizlenip hazırlanan ve içerisine nemi sağlamak amacıyla steril saf su ile ıslatılan 4 kat kurutma kağıdı yerleştirilmiş plastik kaplar içerisine konulmuştur. Hazırlanan spor süspansiyonlarından her tanedeki yara üzerine mikropipet ile 20µl damlatılmıştır. Daha sonra plastik kaplar şeffaf polietilen naylon torbalar içerisine konularak iklim odasında 23 °C de 12 saat ışık ve 12 saat karanlıkta 4 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.4.). Denemeler, tesadüf parselleri desenine göre 3 tekrarlı olarak kurulmuş ve her tekerrürde 10 tane kullanılmıştır. İnkübasyon periyodu sonunda taneler üzerinde oluşan lezyon çapları ölçülerek elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.4. Plastik kaplar içerisinde *B. cinerea* ile inokule edilmiş taneler

3.2.4.2. En Etkili Kimyasal Savaşım Programının Saptanması

B. cinerea ile en etkili kimyasal savaşım programını saptayabilmek amacıyla, laboratuvar koşullarında yürüttüğümüz testler sonucu, yöremizdeki izolatlara en etkili olduğunu ortaya koyduğumuz fungusit, iki farklı savaşım programı içeriğinde tarla koşullarında denenmiştir. Ayrıca, bu en etkili fungusitin, gıda güvenliği açısından kalıntı durumu hem taze üzümlerde ve hem de şarapta yapılan analizler ile araştırılmıştır.

3.2.4.2.1. Bağ denemesi

Emir ve Zinfandel şaraplık üzüm çeşitlerinin bulunduğu deneme bağına iki ayrı ilaçlama programı uygulanmıştır. Bunlardan ilki *B. cinerea* için bütün dünyada kabul edilen ve bağda inokulum yoğunluğunu azaltmak amacıyla bağın çiçeklenme döneminden itibaren başlatılan ilaçlama programıdır (Ellison vd., 1998b, Delen ve Koplay, 2002, Baroffio vd., 2003). İkincisi ise, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı 'nın ülkemiz için belirlemiş olduğu ve kurşuni küf belirtilerinin salkımda üzüm taneleri üzerinde görüldüğü devre olan ben düşme döneminden itibaren başlatılan ilaçlama programıdır (Anonymous 1999). Her uygulama için her tekerrürde iki omca kullanılmıştır. Uygulamada birer omca emniyet şeridi olarak bırakılmıştır. Bağda külleme (*Uncinula necator*), mildiyö (*Plasmopara viticola*) ve salkım güvesine (*Lobesia botrana*) karşı fungusit ve insektisit uygulamaları da yapılmıştır. Bağ küllemesi için kükürt (Thiovit) ve azoxystrobin (Quadris), mildiyö için bakır oksiklorid (Cupravit ob 21) ve azoxystrobin (Quadris); salkım güvesi için ise chlorpyrifos-ethyl (Dursban 4) uygulanmıştır.

Daha önce de değinildiği gibi, deneme bağında iki şaraplık üzüm çeşidi bulunmaktaydı ve iki çeşide de aynı uygulamalar yapılmıştır. Buna göre, birinci ilaçlama programında; I. ilaçlama çiçeklenme döneminden itibaren başlatılmış (Şekil 3.5.), II. ilaçlama tanelerin bezelye iriliğinde olduğu dönemde (Şekil 3.6.), III. ilaçlama üzümün ben düşme döneminde ve IV. yani son ilaçlama ise fungusit için belirlenmiş son ilaçlama-hasat süresi dikkate alınarak, toplam dört dönemde fungusit uygulaması yapılmıştır.

İkinci ilaçlama programında ise I. İlaçlama Tarım ve Köyişleri Bakanlığının Teknik talimatlardaki önerisi üzerine (Anonymous, 1999) üzümün ben düşme döneminde başlatılmış ve II. İlaçlama yine fungusit ile için belirlenmiş son ilaçlama-hasat süresi dikkate alınarak, toplam iki dönemde fungusit uygulaması yapılmıştır.

Denemelerde uygulamalar, sırt pülverizatörü kullanılarak yapılmıştır. Kontrol olarak ayrılan omcalara fungusit uygulaması yapılmayarak sadece aynı miktarda su püskürtülmüştür. Hasat zamanı, bağ deneme alanındaki sayımlar her iki çeşitte de Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü 'nün belirlediği (Anonymous 1996) 0-4 skalasına göre (Çizelge 3.3), her omcanın dört yönünden 2 'şer salkım (bir omcada 8 salkım) seçilmek suretiyle her tekerrürde 2 omca dikkate alınarak toplam 16 salkımda sayım yapılmıştır. Denemeler süresince bağda sürgün ve yaprakların gelişme devresi olan Nisan ayından itibaren üzümlerin hasat devresi olan Eylül ayna kadar olan süreye ait iklim verileri de elde edilmiştir.

Çizelge 3.3. Bağlarda Kurşuni Küf (*B. cinerea*) hastalığı değerlendirme skalası

Skala Değeri	Hastalık Kategorisi	Hastalık Tanımı
0	Sağlam	Salkımlarda hiç hastalık belirtisi yok
1	Az hastalıklı	Salkımlarda en fazla 5 tane lekeli veya çürük
2	Orta hastalıklı	Salkımın 1/5 'ine kadar lekeli veya çürük
3	Çok hastalıklı	Salkımın 2/5 'ine kadar lekeli veya çürük
4	Çok fazla hastalıklı	Salkımın 3/5 'ine kadar lekeli veya çürük

3.2.4.2.2. Üzümlerde fungusit kalıntı düzeylerinin belirlenmesi

Deneme bağında yapılan son ilaçlamadan 23 gün sonra, hasat zamanı geldiğinde, Emir şaraplık üzüm çeşidinden analiz amacıyla örnekler alınmıştır. Salkımlardaki kalıntı düzeyinin saptanması için, her iki ilaçlama programının ve kontrol parsellerin her tekerrürünün dört yönünden birer salkım kesilerek toplanmıştır. Tekerrürlerden alınan üzüm örnekleri salkım sapları ile birlikte blenderda homojenize edildikten sonra tekerrürler birleştirilmiştir. Parçalanan üzüm örnekleri çift kat polietilen torbalara konularak etiketlenmiş ve örnekler analizleri yapılana kadar derin dondurucuda -20 °C 'de muhafaza edilmiştir. Yine Emir çeşidine ait omcaların her karakterinden kalan üzümler ise, ayrı ayrı toplanmış ve Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü 'nde şarap haline getirilmiştir. Üzüm ve şarap örnekleri analizleri yapılmak üzere Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü 'ne gönderilmiştir. Söz konusu Enstitü 'de kalıntı analizleri Gaz kromotografisi-MS ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.3. İstatistiksel Analiz

Denemelerde elde edilen tüm veriler varyans analizine tabi tutularak ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine (P=0.05) göre belirlenmiştir. *B. cinerea* izolatlarının doğaya uyum yeteneklerinin belirlenmesine yönelik testler sonucunda elde edilen veriler ise fungusitlere dayanıklı ve duyarlı izolatların karşılaştırılması esas alınarak t-testi (P=0.05) uygulanmıştır (Düzgüneş, 1987).

4. SONUÇLAR

Tüm denemelerden elde edilen sonuçlar aşağıda alt bölümler halinde özetlenmiştir.

4.1. İzolatların Fungisitlere Duyarlılıklarının Saptanması

İzolatların fungusitlere duyarlılıkları, hem miselyal gelişiminin ve hem de spor çimlenmesinin fungusitlerden etkilenme düzeyleri temel alınarak iki aşamada saptanmıştır.

4.1.1. Fungisitlerin miselyal gelişime etkililiği

Üzümün hasat dönemi süresince, 2004 ve 2005 yıllarında bağlardan izole edilen *B. cinerea* izolatlarına onbir değişik fungusite duyarlılıkları miselyal gelişimi % 50 engelleyen fungusit yoğunluk (EC_{50}) değerleri temel alınarak saptanmıştır. İzolatların EC_{50} değerleri ($\mu\text{g/ml}$) Çizelge 4.1. 'de ve izolatların EC_{50} değerleri açısından fungusitlere göre sayısal ve oransal (%) dağılımları Çizelge 4.2 'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. ve 4.2. incelendiğinde fungusitlerin *B. cinerea* 'nın misel gelişimine oldukça farklı etkilerde olduğu görülmektedir. Etki yeri spesifik fungusitlerden Cyprodinil+fludioxonil patojenin misel gelişimini en yüksek düzeyde engelleyen fungusit olmuştur. İzolatların EC_{50} değerleri bu fungusitte 1 $\mu\text{g/ml}$ 'den küçük olarak tespit edilmiştir. Bu fungusit için EC_{50} değerlerinin % 44.29 'u 0.03-0.1 $\mu\text{g/ml}$ arasında belirlenirken; % 15.71 'i 0.1-1 $\mu\text{g/ml}$ arasında tespit edilmiştir. Dolayısıyla 2004 ve 2005 yılı izolatlarının bu fungusite karşı duyarlı oldukları belirlenmiştir. Procymidone, pyrimethanil, hexaconazole, penconazole, tebuconazole ve fenhexamid ise cyprodinil+fludioxonil 'e göre misel gelişimini daha düşük düzeyde engelleyen fungusitlerdir. Bu fungusitlerin EC_{50} değerlerine bakıldığında ise procymidone 'nun 0.05-1 $\mu\text{g/ml}$, pyrimethanil 'in 0.04-1.4 $\mu\text{g/ml}$, hexaconazole 'ün 0.06-1.5 $\mu\text{g/ml}$, penconazole 'ün 0.17-1.5 $\mu\text{g/ml}$, tebuconazole 'ün 0.02-2 $\mu\text{g/ml}$ ve fenhexamid 'in

0.01-3 µg/ml arasında olduğu görülmektedir. Hexaconazole için izolatların % 85.71 'i, penconazole için izolatların % 80, procymidone için izolatların % 94.29 'u, pyrimethanil için izolatların % 82.85 'i ve tebuconazole için izolatların % 82.86 'sı gibi büyük çoğunluğu 0.1-1 µg/ml arasında tespit edilirken, izolatların duyarlılıkları açısından EC₅₀ değerlerinin oransal ve sayısal dağılımlarında en fazla dalgalanma fenhexamid 'de belirlenmiştir. Imazalil, myclobutanil, triadimenol ise patojenin misel gelişimini en düşük düzeyde engelleyen fungusitler olarak belirlenmiştir. Bu fungusitlerin EC₅₀ değerleri; imazalil için 0.12-10 µg/ml, myclobutanil için 1.2-17 µg/ml ve triadimenol için ise 5-30 µg/ml arasında yer almıştır. Bununla birlikte etki yeri spesifik olmayan fungusitlerden olan captan 'nın EC₅₀ değeri 5-100 µg/ml arasında ve izolatların EC₅₀ değerleri 3-100 µg/ml arasında olup, yine imazalil, myclobutanil, triadimenol etkili maddeli fungusitlerle aynı etkililiğe sahip olmuştur. Yine her iki yılda da izolatların bu fungusitlere karşı daha az duyarlılıkta olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. *B. cinerea* izolatlarının fungisitlere göre EC₅₀ değerleri (µg/ml)

İzolot No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc2	13.0	0.10	0.66	0.90	1.80	1.7	1.30	1.00 R*	0.80	0.12	10.0
Bc7	13.0	0.03	1.10	0.25	3.40	9.0	0.50	0.40	1.40 R*	0.17	30.0 R
Bc9	5.0 S*	0.03	0.22	0.15	2.00	6.0	0.50	0.13	0.07	0.13	10.0
Bc11	12.0	0.04	0.38	0.20	1.70	1.2 S*	0.17 S*	0.25	0.16	0.16	6.0
Bc12	12.0	0.03	0.30	0.35	8.00 R	6.0	0.50	0.50	0.14	0.50	15.0
Bc15	34.0	0.05	0.70	0.17	2.10	7.0	0.60	0.25	0.11	0.40	25.0
Bc16	24.0	0.03	0.40	0.26	1.70	4.0	0.50	0.52	1.00	0.15	25.0
Bc19	25.0	0.07	0.10	0.46	5.00	2.7	0.60	0.42	0.11	0.60	25.0
Bc22	30.0	0.11	1.30	0.44	10.00 R*	7.0	1.00	0.50	0.20	0.72	30.0
Bc26	30.0	0.01	1.50	0.06 S*	0.66	15.0 R	1.50 R*	0.60	0.04 S*	0.10	30.0 R*
Bc29	8.0	0.02	0.22	0.35	1.80	4.0	0.62	0.22	0.12	0.44	13.0
Bc29c	16.0	0.04	0.80	0.60	1.00	5.0	0.80	0.10	0.50	0.50	15.0
Bc29ı	18.0	0.01	1.20	1.50 R*	1.70	6.0	0.90	0.35	0.70	0.70	12.0
Bc29t	30.0	0.01	1.30	1.00	4.20	7.0	0.20	0.04	0.25	0.80	30.0
Bc31	25.0	0.10	0.52	0.42	1.50	14.0	1.00	0.50	0.70	0.80	7.0
Bc31c	28.0	0.10	0.70	0.40	3.20	10.0	0.80	0.70	0.30	0.80	15.0
Bc31ı	100.0 R*	0.10	0.40	0.30	5.10	7.0	1.00	0.36	1.00	0.80	10.0
Bc31t	30.2	<0.01	1.60	0.30	1.70	14.0	0.18	0.46	1.40 R	1.70	15.0
Bc33	28.0	0.10	2.00 R	0.50	5.00	4.2	0.80	0.64	0.50	2.00 R*	6.0
Bc33c	30.0	0.05	1.00	0.80	3.00	5.0	0.30	0.50	0.04	1.50	10.0
Bc33ı	34.0	0.04	1.70	0.64	4.60	1.7	0.60	0.50	0.50	1.70	12.0
Bc33t	60.2	0.02	1.50	1.50 R	8.00	14.0	0.24	0.34	0.27	2.50 R	30.0
Bc34	31.0	0.09	0.70	1.00	3.52	3.8	0.70	0.40	0.70	0.30	15.0
Bc34c	35.0	0.08	0.10	0.70	2.50	6.4	0.50	0.50	0.60	0.50	13.0
Bc34ı	37.0	0.06	0.40	0.64	5.20	8.0	0.50	0.50	0.90	0.60	10.0
Bc34t	100.0 R	<0.01	2.00	1.00	5.00	12.0	0.50	0.36	0.40	0.66	30.0

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pyrimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol. **R**:Dayanıklı, **S**:Duyarlı; * Denemelerde kullanılmak üzere seçilmiş izolatlar

Çizelge 4.1. (devam)

İzolot No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc36	25.0	0.12 R	1.00	0.66	3.50	2.5	0.30	0.72 R	1.00	0.20	24.0
Bc36c	25.0	0.03	1.00	0.40	1.40	3.5	0.30	0.50	0.42	0.30	13.0
Bc36 ₁	30.0	0.10	1.00	0.30	4.50	9.0	0.40	0.70	0.50	0.35	10.0
Bc37	11.0	0.02	0.10	0.48	0.26	7.6	0.44	0.17	0.70	0.09	12.0
Bc37c	12.0	0.04	0.20	0.70	2.10	5.0	0.66	0.12	0.60	0.08	8.0
Bc37 ₁	24.0	0.10	0.80	0.76	3.50	6.0	0.80	0.25	0.37	0.07	11.0
Bc38	10.0	0.02	<0.01 S*	0.16	0.48	2.8	0.90	0.60	0.35	0.70	5.0 S*
Bc38c	14.0	0.01	0.02	0.10	0.50	3.0	0.50	0.40	0.22	0.30	6.0
Bc38 ₁	24.0	0.11	0.50	0.14	1.20	7.0	0.40	0.15	0.17	0.20	11.0
Bc39	20.0	0.03	1.70	0.60	1.20	12.0	1.10	0.40	0.40	0.12	9.0
Bc39c	24.0	0.02	1.00	0.80	2.20	8.0	0.70	0.20	0.52	0.22	12.0
Bc39 ₁	37.0	0.13 R*	3.00 R*	0.50	5.00	7.0	1.00	0.44	0.58	0.46	14.0
Bc40	7.6	0.03	0.16	0.35	1.50	3.4	0.80	0.23	0.50	0.12	8.0
Bc40c	10.0	0.02	1.00	0.30	3.00	4.8	0.70	0.10	0.60	0.16	10.0
Bc40 ₁	17.0	0.07	1.40	0.12	6.00	6.0	0.80	0.33	0.58	0.18	14.0
Bc41	8.0	<0.01 S*	0.15	0.09	0.12 S*	8.0	0.18	0.05 S*	0.10	0.18	14.0
Bc41c	6.0	0.02	0.10	0.10	0.14	8.0	0.20	0.06	0.32	0.14	13.0
Bc42	30.0	0.02	0.18	0.20	3.20	4.0	0.74	0.44	0.15	0.13	10.0
Bc42c	18.0	0.05	0.10	0.17	2.60	5.0	0.80	0.12	0.16	0.20	11.0
Bc42 ₁	16.0	0.03	0.30	0.15	4.00	4.0	1.00	0.33	0.12	0.40	12.0
Bc43	13.0	0.03	0.08	0.46	0.72	10.0	0.50	0.42	0.16	0.07	12.0
Bc43c	14.0	0.02	0.80	0.08	0.50	4.0	0.20	0.28	0.14	0.08	10.0
Bc43 ₁	18.0	0.09	0.90	0.07	2.00	4.2	0.30	0.20	0.69	0.50	13.0
Bc44	8.0	0.04	0.05	0.20	0.54	11.0	0.60	0.18	0.15	0.02 S*	24.0
Bc44c	6.0	<0.01	0.08	0.18	0.40	5.2	0.80	0.16	0.09	0.08	8.0
Bc44 ₁	9.0	<0.01	0.10	0.13	0.50	3.2	0.90	0.28	0.08	0.15	6.0

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pirimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol. **R**:Dayanıklı, **S**:Duyarlı; * Denemelerde kullanılmak üzere seçilmiş izolatlar

Çizelge 4.1. (devam)

İzolot No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc45	30.0	0.03	0.80	0.90	0.80	8.0	1.50 R	0.54	0.12	0.68	8.5
Bc45c	10.0	0.06	0.60	0.36	0.20	6.0	0.80	0.44	0.06	0.40	20.0
Bc45 ₁	8.5	0.06	0.90	1.10	0.60	10.0	1.00	0.35	0.70	0.60	19.0
Bc46	7.6	≤0.01	0.50	0.46	2.40	2.8	0.50	0.14	0.50	0.33	7.0
Bc46c	6.0	<0.01	0.40	0.50	3.20	3.0	0.60	0.22	0.30	0.50	14.0
Bc46 ₁	8.0	0.03	0.50	0.40	4.00	8.0	0.85	0.34	0.60	0.80	15.0
Bc47	9.0	0.07	0.13	0.90	1.00	13.0	0.60	0.38	0.08	0.20	10.0
Bc47c	8.0	0.02	0.15	0.10	0.60	4.0	0.90	0.10	0.40	0.30	11.0
Bc47 ₁	7.0	<0.01	0.20	0.21	0.90	3.0	0.40	0.25	0.12	0.40	11.0
Bc49	32.0	0.03	0.01	0.40	0.70	5.0	1.00	0.64	0.40	0.16	25.0
Bc49c	18.0	0.08	0.30	0.50	0.50	5.0	0.80	0.30	0.30	0.40	13.0
Bc49 ₁	7.1	0.04	0.10	0.60	0.60	17.0 R*	1.00	0.40	0.10	0.70	10.0
Bc54	8.0	0.03	1.80	0.35	2.80	8.0	0.66	0.62	0.25	0.20	10.0
Bc54c	10.0	0.04	0.10	0.16	1.70	7.0	0.90	0.36	0.20	0.10	10.0
Bc54 ₁	30.0	0.01	0.40	0.19	2.50	5.0	0.80	0.50	0.40	0.22	9.5
Bc55	20.0	<0.01	0.18	0.50	0.70	5.0	1.10	0.30	0.30	0.11	15.0
Bc55c	6.0	<0.01	0.20	0.20	0.60	7.0	0.90	0.20	0.20	0.10	12.0
Bc55 ₁	7.0	0.02	0.80	0.40	1.00	8.0	1.20	0.48	0.23	0.12	10.0

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pyrimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol. **R**:Dayanıklı, **S**:Duyarlı; * Denemelerde kullanılmak üzere seçilmiş izolatlar

Çizelge 4.2. *B. cinerea* izolatlarının EC₅₀ (µg/ml) değerlerine göre yüzde (%) oranı

Fungisitler	İzolat Sayısı	EC ₅₀ Değerleri (µg/ml)							
		<0.01	0.01-0.03	0.03-0.1	0.1-1	1-3	3-10	10-30	30-100
captan	70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	28.57 (20)	42.86 (30)	28.57 (20)
cyprodinil+fludioxonil	70	14.29 (10)	25.71 (18)	44.29 (31)	15.71 (11)	0.00	0.00	0.00	0.00
fenhexamid	70	1.43 (1)	2.86 (2)	4.28 (3)	62.86 (44)	27.14 (19)	1.43 (1)	0.00	0.00
hexaconazole	70	0.00	0.00	5.71 (4)	85.71 (60)	8.57 (6)	0.00	0.00	0.00
imazalil	70	0.00	0.00	0.00	30.00 (21)	34.29 (24)	34.29 (24)	1.43 (1)	0.00
myclobutanil	70	0.00	0.00	0.00	0.00	11.43 (8)	71.43 (50)	17.14 (12)	0.00
penconazole	70	0.00	0.00	0.00	80.00 (56)	20.00 (14)	0.00	0.00	0.00
procymidone	70	0.00	0.00	4.28 (3)	94.29 (66)	1.43 (1)	0.00	0.00	0.00
pyrimethanil	70	0.00	0.00	10.00 (7)	82.85 (58)	7.14 (5)	0.00	0.00	0.00
tebuconazole	70	0.00	0.00	10.00 (7)	82.86 (58)	7.14 (5)	0.00	0.00	0.00
triadimenol	70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	18.57 (13)	72.86 (51)	8.57 (6)

*Parantez içindeki rakamlar izolat sayılarını göstermektedir

Yöntem bölümünde de belirtildiği gibi izolatların besi ortamına konan miselli disklerin fungusitlerin izolatların miselyal gelişimini engelledikleri yoğunluk (MIC) değerlerinin oransal (%) ve sayısal dağılımı Çizelge 4.3 'de verilmiştir. Ayrıca MIC değerleri izolat sırasına göre daha ayrıntılı olarak ek Çizelge 4.10 'da görülmektedir.

Çizelge 4.3. ve ek Çizelge 4.10. incelendiğinde fungusitlerin *B. cinerea* izolatlarının miselyal gelişime etkisinde farklılıklar olduğu görülmektedir. Fungisitler arasında etki yeri spesifik olan fungusitlerden cyprodinil+fludioxonil, procymidone, tebuconazole ve pyrimethanil 'in patojenlerin miselyal gelişimlerini yüksek düzeyde engelleyen fungusitler oldukları, ek Çizelge 4.10 'da görüldüğü gibi bunlar arasında cyprodinil+fluodioxonil 'in 3 µg/ml ile miselyal gelişimi en fazla engelleyen fungusit olduğu belirlenmiştir. İzolatların % 12.86 'sının bu fungusit için MIC değeri 3-10 µg/ml arasında tespit edilmiştir.

Fenhexamid, hexaconazole, imazalil, penconazole, procymidone, pyrimethanil ve tebuconazole miselyal gelişmeyi daha düşük oranda engellemişlerdir. Bununla birlikte, procymidone bu fungusitler arasında miselyal gelişme üzerinde daha etkili bir fungusit olarak tespit edilmiştir. Diğer fungusitler, izolatların miselyal gelişimlerini en düşük oranda engelleyen doz değerleri açısından bir dalgalanma gösterirken procymidone için MIC değerleri 1-10 µg/ml arasında değişmiştir. Procymidone 'nu ise tebuconazole izlemiştir. Bu fungusit için de 30 µg/ml 'den büyük MIC değeri tespit edilmemiştir. Captan, myclobutanil ve triadimenol miselyal gelişimi en düşük oranda etkileyen fungusit olarak belirlenmiştir. Bu fungusitler arasında, tüm izolatlar için, MIC değeri 100 µg/ml 'nin üzerinde bulunan captan, miselyal gelişimi en az etkileyen fungusit olmuştur.

Çizelge 4.3. Fungisitlerin *B. cinerea* izolatlarının miselyal gelişime karşı gösterdiği MIC ($\mu\text{g/ml}$) değerlerinin oransal (%) ve sayısal dağılımı

Fungisitler	İzolat Sayısı	MIC Değerleri ($\mu\text{g/ml}$)									
		<0.01	0.01-0.03	0.03-0.1	0.1-1	1-3	3-10	10-30	30-100	100->100	
captan	70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100 (70)
cyprodinil+fludioxonil	70	0.00	0.00	2.86 (2)	10.00 (7)	74.28 (52)	12.86 (9)	0.00	0.00	0.00	0.00
fenhexamid	70	0.00	0.00	0.00	0.00	18.57 (13)	22.86 (16)	20 (14)	10 (7)	28.57 (20)	
hexaconazole	70	0.00	0.00	0.00	0.00	20 (14)	54.29 (38)	15.71 (11)	2.86 (2)	7.14 (5)	
imazalil	70	0.00	0.00	0.00	0.00	2.86 (2)	10.00 (7)	22.86 (16)	42.86 (30)	21.43 (15)	
myclobutanil	70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.28 (3)	51.43 (36)	44.29 (31)	
penconazole	70	0.00	0.00	0.00	0.00	7.11 (5)	31.43 (22)	57.14 (40)	4.29 (3)	0.00	
procymidone	70	0.00	0.00	0.00	0.00	12.86 (9)	87.14 (61)	0.00	0.00	0.00	
pyrimethanil	70	0.00	0.00	0.00	0.00	24.29 (17)	48.57 (34)	12.86 (9)	14.28 (10)	0.00	
tebuconazole	70	0.00	0.00	0.00	0.00	28.57 (20)	48.47 (34)	22.86 (16)	0.00	0.00	
triadimenol	70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	34.29 (24)	65.71 (46)	

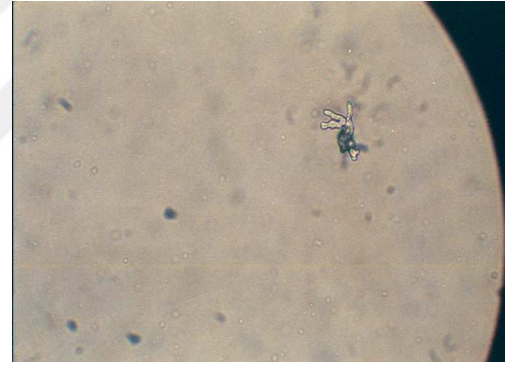
*Parantez içindeki rakamlar izolat sayılarını göstermektedir

4.1.2. Fungisitlerin spor çimlenmesine etkisi

İzolatların spor çimlenmesine fungusitlerin etkililiği, spor çimlenmesini engelleyen en düşük yoğunluk olan MIC ($\mu\text{g/ml}$) değerlerine göre yapılmıştır. Çimlenme oranları tespit edilirken, mikroskop altında incelenen konidiosporların bazılarının fungusitlerin yüksek dozlarında çimlendiği; fakat bu çim borularında kontrole göre farklılık gösteren kalınlaşma veya deformasyonlar olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1.a ve 4.1.b). Anormal çimlenme gösteren bu konidiosporlar çimlenmeyen grupta değerlendirilmiştir. Ancak, bir yanılgıya yol açmamak için, anormal çimlenme gösteren sporların, koloni oluşturup oluşturamayacaklarında gözlemlenmiştir.



Şekil 4.1.a. Normal olarak çimlenmiş konidiospor (X 1320)



Şekil 4.1.b. Anormal çimlenme gösteren konidiospor (X 1320)

İzolatların fungusitler için belirlenen MIC ($\mu\text{g/ml}$) değerlerinin oransal (%) ve sayısal dağılımı Çizelge 4.4 'de verilmiştir. Ayrıca MIC değerleri izolat sırasına göre daha ayrıntılı olarak ek Çizelge 4.11 'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. incelendiğinde fungusitlerin *B. cinerea* izolatlarının spor çimlenmesine etkisinde farklılıklar olduğu görülmektedir. Fungisitler arasında etki yeri spesifik olan fungusitlerden cyprodinil+fludioxonil, procymidone, tebuconazole ve pyrimethanil 'in patojenlerin spor çimlenmesini yüksek düzeyde engelleyen fungusitler olmuşlardır. Ek Çizelge 4.11. 'de görüldüğü gibi bunlar arasında cyprodinil+fludioxonil 'in 3 $\mu\text{g/ml}$ 'ye kadarlık dozları tüm izolatların spor çimlenmesini engellemiştir. Procymidone pyrimethanil ve tebuconazole 'ün MIC değerlerinin sırasıyla 1-3 $\mu\text{g/ml}$, 3-

10 µg/ml, 1-10 µg/ml arasında değiştiği ve procymidone için izolatların % 61.9 'unun, pyrimethanil için izolatların % 77.78 'inin ve tebuconazole için izolatların % 44.44 'ünün MIC değerlerinin 3-10 µg/ml arasında olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte procymidone bu fungusitler arasında spor çimlenmesini daha yüksek düzeyde engelleyen fungusit olarak tespit edilmiştir. Procymidone 'a oranla fenhexamid, hexaconazole, imazalil ve penconazole spor çimlenmesi açısından daha düşük etkiye sahip fungusitler olmuştur.

Captan, myclobutanil ve triadimenol spor çimlenmesine etkisi en düşük fungusitler olarak belirlenmiştir. Captan 'a ait izolatların % 73.02 'si ve triadimenol 'e ait izolatların % 79.36 'sının MIC değeri 30-100 µg/ml arasında tespit edilirken, myclobutanil 'e ait izolatların % 84.13 'ünün MIC değeri 100 µg/ml 'nin de üzerinde bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Fungisitlerin *B. cinerea* izolatlarının spor çimlenmesine karşı gösterdiği MIC ($\mu\text{g/ml}$) değerlerinin oransal (%) ve sayısal dağılımı

Fungisitler	İzolat Sayısı	MIC Değerleri ($\mu\text{g/ml}$)								
		<0.01	0.01-0.03	0.03-0.1	0.1-1	1-3	3-10	10-30	30-100	100->100
captan	63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	73.02 (46)	26.98 (17)
cyprodinil+fludioxonil	63	0.00	0.00	0.00	0.00	100 (63)	0.00	0.00	0.00	0.00
fenhexamid	63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	11.11 (7)	80.95 (51)	7.94 (5)	0.00
hexaconazole	63	0.00	0.00	0.00	0.00	4.76 (3)	15.87 (10)	73.01 (46)	6.35 (4)	0.00
imazalil	63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.17 (2)	55.56 (35)	38.10 (24)	3.17 (2)
myclobutanil	63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	15.87 (10)	84.13 (53)
penconazole	63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	7.94 (5)	79.36 (50)	12.7 (8)	0.00
procymidone	63	0.00	0.00	0.00	0.00	38.1 (24)	61.90 (39)	0.00	0.00	0.00
pyrimethanil	63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	77.78 (49)	22.22 (14)	0.00	0.00
tebuconazole	63	0.00	0.00	0.00	0.00	38.10 (24)	44.44 (28)	17.46 (11)	0.00	0.00
triadimenol	63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	79.36 (50)	20.63 (13)

*Parantez içindeki rakamlar izolat sayılarını göstermektedir

4.2. Dayanıklı *B. cinerea* İzolatlarının Doğaya Uyum Yetenekleri

Her fungusite duyarlılığı en fazla azalmış izolatların doğaya uyum yetenekleri en duyarlılarla karşılaştırılarak saptanmıştır. Bu amaçla, en dayanıklı izolatların, en duyarlılara göre spor verimleri, miselyal gelişme hızları virülensleri test edilmiştir. *B. cinerea* izolatlarının, doğaya uyum yeteneğinin önemli kriterlerinden biri olan spor verimleri her izolat için mililitredeki spor sayısı olarak (spor/ml), miselyal gelişme hızı MM besi ortamında cm/gün olarak ve virülensi ise yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon çaplarına (cm) göre belirlenerek, yapılan ölçmelerin sonuçları Çizelge 4.5 'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. incelendiğinde ve değerlere istatistiksel açıdan da bakıldığında, fenhexamid, hexaconazol, myclobutanil, penconazole, procymidone, tebuconazole ve triadimenol 'e dayanıklılık kazanmış izolatları duyarlılar kadar doğaya uyum gösterebilmektedirler. Hatta kimi dayanıklı izolatlar, kimi kriterler açısından, duyarlılardan daha yüksek spor verimine (tebuconazole 'de olduğu gibi), miselyal gelişme hızına (hexaconazole 'de, myclobutanil 'de, penconazole 'de ve tebuconazole 'de olduğu gibi) ya da yüksek virülense (tebuconazole 'de olduğu gibi) sahip olabilmişlerdir. Diğer yandan, captan 'a dayanıklılık kazanmış izolat hiç spor veremez iken, miselyal gelişim hızı da duyarlı izolata oranla daha düşüktür. Cyprodinil+ fludioxonil, imazalil ve pyrimethanil 'e dayanıklılık kazanmış izolatların da miselyal gelişim hızları duyarlı izolatlara göre daha yavaş olmuştur.

Çizelge 4.5. Fungisitlere dayanıklı ve duyarlı *B. cinerea* izolatlarının spor verimleri, miselyal gelişme hızları ve virülensi

Fungisit	İzolat	EC ₅₀ Değeri (µg/ml)	Spor verimi (spor/ml) (x10 ⁶)	Misel gelişme hızı (cm/gün)	Virülensi (Yaprak üzerindeki lezyon çapı) (cm)
captan	Bc31 ₁ R	100.00	-*	3.00	3.43
	Bc9 S	5.00	1.49 ^a	3.50 *	2.66
cyprodinil+fludioxonil	Bc39 ₁ R	0.13	1.87	2.76	3.35 *
	Bc41 S	<0.01	1.28	3.49 *	1.51
fenhexamid	Bc39 ₁ R	3.00	1.87	2.76	3.35
	Bc38 S	<0.01	1.81	2.46	3.97
hexaconazole	Bc29 ₁ R	1.50	2.93	4.07 *	4.11
	Bc26 S	0.06	1.12	3.25	3.64
imazalil	Bc22 R	10.00	1.76	2.89	3.96 *
	Bc41 S	0.12	1.28	3.49 *	1.51
myclobutanil	Bc49 ₁ R	17.00	3.09	3.58 *	3.98
	Bc11 S	1.20	1.44	2.92	3.54
penconazole	Bc26 R	1.50	1.12	3.25 *	3.64
	Bc11 S	0.17	1.44	2.92	3.54
procymidone	Bc2 R	1.00	1.16	3.21	3.36 *
	B41 S	0.05	1.28	3.49	1.51
pyrimethanil	Bc7 R	1.40	1.81	2.81	3.98
	B26 S	0.04	1.12	3.25 *	3.64
tebuconazole	Bc33 R	2.00	1.92 *	3.19 *	3.63 *
	Bc44 S	0.02	0.96	1.82	2.19
triadimenol	Bc26 R	30.00	1.12	3.25	3.64
	Bc38 S	5.00	1.81	2.46	3.97

^a Her bir değer üç tekrarın ortalamasıdır

* Her bir fungusit için izolatlar arasındaki farklılık t testine göre önemlidir ($P=0.05$)

R: Dayanıklı; S: Duyarlı

Cyprodinil+fludioxonil ve imazalil 'e duyarlı Bc41 izolatının MM besi ortamında miselyal gelişim hızı daha yüksek olarak tespit edilirken, cyprodinil+fludioxonil 'e duyarlılığı azalmış Bc39ı ve imazalil 'e duyarlılığı azalmış Bc22 izolatlarının (Şekil 4.2.) ise daha geniş lezyon oluşturması nedeniyle virülensinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.2. Bc22 izolatının yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon

Procymidone 'a duyarlılığı azalmış ve duyarlı izolatların spor verimleri ve miselyal gelişimleri arasında bir farklılık olmamakla birlikte duyarlılığı azalmış Bc2 izolatının (Şekil 4.3.) duyarlı izolat Bc41 'e göre virülensinin yüksek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Bc2 izolatının yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon

Captan, hexaconazole, myclobutanil, penconazole, pyrimethanil 'e duyarlılığı azalmış ve duyarlı izolatların miselyal gelişimleri arasında farklılık tespit edilmiştir. Bununla birlikte izolatların virülensliği arasında bir fark yoktur. Captan 'a duyarlılığı azalmış Bc311 izolatının sporulasyonu ve miselyal gelişmesi duyarlı izolata oranla daha düşük olarak belirlenirken, hexaconazole ve myclobutanil 'e duyarlılıkları azalmış izolatların miselyal gelişimleri, duyarlı izolatlara göre daha yüksektir. Ancak bu üç fungusit için izolatların virülenslikleri arasında bir fark tespit edilmemiştir. Triadimenol 'e dayanıklı ve duyarlı izolatların spor verimleri, miselyal gelişmeleri ve virülensi arasında bir farklılık tespit edilmemiştir.

4.3. Kimyasal Savaşım Çalışmaları

Çalışmanın bu bölümünde *B. cinerea* 'ya en etkili fungusit kullanılarak, iki farklı programın etkililiği karşılaştırılmıştır.

4.3.1. *Botrytis cinerea* İzolatlarına Fungisitlerin Etkililikleri

B. cinerea 'ya en etkili fungusitin belirlenebilmesi iki aşamalı olarak yürütülmüştür. Bu amaçla önce yaprak ve sonra da tane testleri yapılmıştır.

4.3.1.1. Yaprak testleri ile fungusitlerin etkililiğinin tespiti

Araştırmada kullanılan captan, cyprodinil+fludioxanil, fenhexamid, hexaconazole, imazalil, myclobutanil, penconazole, procymidone, pyrimethanil, tebuconazole ve triadimenol etkili maddeli 11 fungusitin etkililiği önce yaprak testi ile ortaya konmuştur. Yapraklar üzerindeki lezyon çapları ölçülerek yapılan değerlendirme sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.6. 'da verilmiştir. Bu değerlendirme sonuçlarına göre, istatistiksel analiz sonuçları da dikkate alınarak, cyprodinil+fludioxonil 'in uygulanan tüm dozlarının (312.5 µg/ml, 156.25 µg/ml ve 78.125 µg/ml e. m) hem dayanıklı (Bc39ı) hem duyarlı (Bc41) izolatın yapraklar üzerinde lezyon oluşturamadığı oluşturmasını tamamen önlediği ve % 100 etkili olduğu görülmüştür. Bu fungusiti sırasıyla etkililik açısından, procymidone, tebuconazole, fenhexamid, hexaconazole ve pyrimethanil fungusitler izlemektedir.

Çizelge 4.6. Fungisitlerin dayanıklı ve duyarlı *B. cinerea* izolatlarına yaprak üzerindeki etkisi

Fungisit	İzolat	EC ₅₀ Değeri (µg/ml)	Doz (µg/ml e.m)	Lezyon Çapı (cm)	Etkililik (%)
cyprodinil+fludioxonil	Bc39ı (R)	0.13	312.5	0.00 B	100
			156.25	0.00 B	100
			78.125	0.00 B	100
	Bc41 (S)	<0.01	312.5	0.00 B	100
			156.25	0.00 B	100
			78.125	0.00 B	100
			0	3.35defgh	-
procymidone	Bc2 (R)	1.00	325	0.33 AB	90.18
			162.5	0.55 wAB	83.63
			81.25	1.34 tuyzxw	60.11
	Bc41 (S)	0.05	325	0.10 B	93.38
			162.5	0.17 B	88.74
			81.25	1.26 uyzxw	16.56
			0	1.51 rstuyz	-
tebuconazole	Bc33 (R)	2.00	100	1.00 zxwA	72.45
			50	1.24 yzxw	65.84
			25	1.26 uyzxw	65.29
	Bc44 (S)	0.02	100	1.74 oprstuyz	20.55
			50	1.67 prstuyz	23.74
			25	2.43 iklmnop	0.00
			0	2.19 klmnoprst	-
fenhexamid	Bc39ı (R)	3.00	500	1.00 zxwA	70.15
			250	1.32 tuyzxw	60.60
			125	2.07 klmnoprstuy	38.21
	Bc38 (S)	<0.01	500	1.96 lmnoprstuy	34.01
			250	2.08 klmnoprstuy	29.97
			125	2.44 iklmnop	17.84
			0	2.97 bcde	-
hexaconazole	Bc29ı (R)	1.50	15	2.28 klmnoprs	44.53
			7.5	3.20 efglı	22.14
			3.75	3.92 bcde	4.62
	Bc26 (S)	0.06	15	1.89 mnoprstuy	23.79
			7.5	1.86 noprstuy	25.00
			3.75	2.18 klmnoprst	12.10
			0	2.48 iklmnop	-
pyrimethanil	Bc7 (R)	1.40	300	2.26 klmnoprs	43.22
			150	2.37 iklmnoprs	40.45
			75	2.64 hıklmn	33.67
	Bc26 (S)	0.04	300	1.60 prstuyz	61.08
			150	1.67 prstuyz	54.12
			75	3.14 efglı	13.74
			0	3.64 cdef	-

R:Dayanıklı; S:Duyarlı

Her değer. 3 tekrarın ortalamasıdır. Aynı sütunda birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre (P=0.05) birbirinden önemli derecede farklıdır

Çizelge 4.6. (devam)

Fungisit	İzolot	EC ₅₀ Değeri (µg/ml)	Doz (µg/ml e.m)	Lezyon Çapı (cm)	Etkililik (%)
captan	Bc31 ₁ (R)	100	1500	2.11 klmnoprstuy	38.48
			750	2.60 hıklmno	24.20
			375	2.39 ıklmnopr	30.32
			0	3.43 defgh	-
	Bc9 (S)	5.00	1500	0.00 B	100
			750	0.00 B	100
			375	1.34 tuyzxw	49.62
			0	2.66 hıklmn	-
imazalil	Bc22 (R)	10.00	150	2.93 fghık	26.01
			75	3.32 defgh	16.16
			37.5	3.93 bcde	0
			0	3.96 bcde	-
	Bc41 (S)	0.12	150	0.62 xwAB	58.94
			75	1.36 tuyzx	9.93
			37.5	1.49 stuyz	3.31
			0	1.51 rstuyz	-
triadimenol	Bc26 (R)	30.00	50	2.75 ghık	24.45
			25	2.35 ıklmnopr	35.44
			12.5	3.43 defgh	5.76
			0	3.64 cdef	-
	Bc38 (S)	5.00	50	2.47 ıklmnop	37.78
			25	3.42 defgh	13.85
			12.5	3.13 efghı	21.16
			0	3.97 bcde	-
penconazole	Bc26 (R)	1.50	25	2.13 klmnoprstu	14.11
			12.5	2.44 ıklmnop	1.61
			6.25	2.82 fghıkl	0.00
			0	2.48 ıklmnop	-
	Bc11 (S)	0.17	25	1.79 noprstuyz	18.26
			12.5	1.67 prstuyz	23.74
			6.25	1.84 noprstuyz	15.98
			0	2.19 klmnoprst	-
myclobutanil	Bc49 ₁ (R)	17.00	18.37	3.90 bcde	2.01
			9.18	4.59 ab	0.00
			4.59	4.96 a	0.00
			0	3.98 bcde	-
	Bc11 (S)	1.20	18.37	3.37 defg	4.80
			9.18	4.43 abc	0.00
			4.59	4.70 ab	0.00
			0	3.54 defg	-

R:Dayanıklı; S:Duyarlı

Her değer 3 tekrarın ortalamasıdır. Aynı sütunda birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre (P=0.05) birbirinden önemli derecede farklıdır

Procymidone 'nun önerilen dozu (325 $\mu\text{g/ml}$ e.m) hem dayanıklı hem duyarlı izolata % 90 'nın üzerinde etkili bulunmuş, bu etkiye paralel olarak fungusitin daha düşük dozları bile, izolatlara, belli düzeylerde etkililik gözlenmiştir. (Şekil 4.4.a ve 4.4.b).



Şekil 4.4.a. Procymidone 'un 162.5 $\mu\text{g/ml}$ e.m dozunda dayanıklı izolataın yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon



Şekil 4.4.b. Fungisit uygulanmamış yaprak üzerinde procymidone 'a dayanıklı izolataın oluşturduğu lezyon (kontrol)

Tebuconazole, fenhexamid ve hexaconazole 'ün duyarlı izolata göre dayanıklı izolatlar üzerinde etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilirken, pyrimethanil 'in duyarlı izolata daha etkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5.a ve 4.5.b), (Şekil 4.6.a ve 4.6.b).



Şekil:4.5.a. Pyrimethanil 'in 150 µg/ml e.m dozunda dayanıklı izolatın yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon



Şekil 4.5.b. Fungisit uygulanmamış yaprak üzerinde pyrimethanil 'e dayanıklı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol)



Şekil 4.6.a. Pyrimethanil 'in 150 µg/ml e.m dozunda duyarlı izolatın yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon



Şekil 4.6.b. Fungisit uygulanmamış yaprak üzerinde pyrimethanil 'e duyarlı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol)

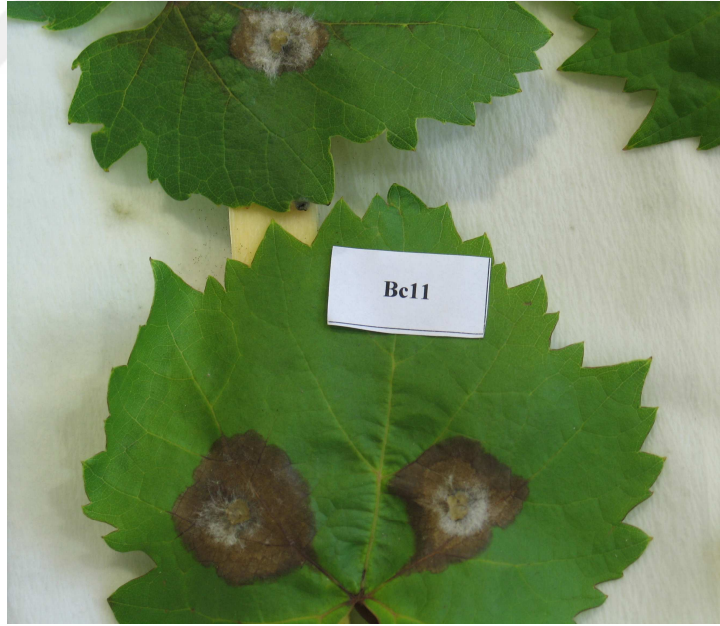
Captan duyarlı izolata yüksek derecede etkili olurken, dayanıklı izolata düşük oranda etkili olmuştur. Captan 'nın hem önerilen dozu (1500 µg/ml e.m) hem de yarı dozu (750 µg/ml e.m) duyarlı izolatu (Bc9; EC₅₀ 5 µg/ml) % 100 engellemiştir.

Imazalil, triadimenol ve penconazole ise hem duyarlı hem de dayanıklı izolatlar üzerinde düşük etki göstermiştir. Söz konusu fungusitlerin duyarlı izolatlar üzerinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Imazalil, triadimenol ve penconazole 'ün duyarlı izolatlar üzerindeki etkisi sırasıyla % 58.94, % 37.78 ve % 18.26 olarak tespit edilmiştir. Penconazole 'ün tüm dozlarında duyarlı izolatu oluşturduğu lezyon çaplarında kontrole göre önemli bir farklılık gözlemlenmezken, imazalil ve triadimenol 'ün önerilen dozunda duyarlı izolatların oluşturduğu lezyon çapında kontrole göre önemli derecede bir azalma meydana gelmiştir.

Myclobutanil, dayanıklı izolata % 2.01, duyarlı izolata ise % 4.80 oranında etkili olarak en düşük etkideki fungusit olarak tespit edilmiştir. Her iki izolatu da oluşturduğu lezyon çaplarında kontrole göre önemli bir azalışın meydana gelmediği görülmüştür (Şekil 4.7.a ve 4.7.b).



Şekil 4.7.a. Myclobutanil 'in 18.37 µg/ml e.m dozunda duyarlı izolatın yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon



Şekil 4.7.b. Fungisit uygulanmamış yaprak üzerinde myclobutanil 'e duyarlı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol)

4.3.1.2. Üzüm tane testleri ile fungusitlerin etkililiğinin tespiti

Tane testleri, yaprak testleri sonucuna göre seçilmiş olan cyprodinil+fludioxonil, imazalil, fenhexamid, procymidone, pyrimethanil ve tebuconazole etkili maddeli fungusitlerle yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7. 'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. 'de görüldüğü gibi cyprodinil+fludioxonil, tebuconazole ve procymidone *B. cinerea* izolatlarına en etkili fungusitler olmuşlardır. Cyprodinil+fludioxonil ve tebuconazole 'ün tane üzerine uygulanan bütün dozları bu fungusitlere dayanıklı ve duyarlı izolatlar üzerinde % 100 etkili olmuştur. İzolatların hiç birisi taneler üzerinde lezyon oluşturamamıştır (Şekil 4.8.a ve 4.8.b).



Çizelge 4.7. Fungisitlerin dayanıklı ve duyarlı *B. cinerea* izolatlarına tane üzerindeki etkisi

Fungisit	İzolat	EC ₅₀ Değeri (µg/ml)	Doz (µg/ml e.m)	Lezyon Çapı (cm)	Etkililik (%)
cyprodinil+fludioxonil	Bc39 ₁ (R)	0.13	312.5	0.00 o	100
			156.25	0.00 o	100
			78.125	0.00 o	100
			0	0.95 fg	-
	Bc41 (S)	<0.01	312.5	0.00 o	100
			156.25	0.00 o	100
			78.125	0.00 o	100
			0	1.31 de	-
tebuconazole	Bc33 (R)	2.00	100	0.00 o	100
			50	0.00 o	100
			25	0.00 o	100
			0	0.0.35 ıklmn	-
	Bc44 (S)	0.02	100	0.00 o	100
			50	0.00 o	100
			25	0.00 o	100
			0	1.04 ef	-
procymidone	Bc2 (R)	1.00	325	0.00 o	100
			162.5	0.18 lmno	88.68
			81.25	0.51 hık	67.92
			0	1.59 cd	-
	Bc41 (S)	0.05	325	0.00 o	100
			162.5	0.00 o	100
			81.25	0.00 o	100
			0	1.31 de	-
pyrimethanil	Bc7 (R)	1.40	300	0.09 no	94.77
			150	0.19 lmno	88.95
			75	0.33 ıklmn	80.81
			0	1.72 bc	-
	Bc26 (S)	0.04	300	0.00 o	100
			150	0.00 o	100
			75	0.13 mno	92.78
			0	1.80 bc	-
fenhexamid	Bc39 ₁ (R)	3.00	500	0.47 hıkl	50.53
			250	0.54 hı	43.16
			125	0.74 gh	22.10
			0	0.95 fg	-
	Bc38 (S)	<0.01	500	0.00 o	100
			250	0.06 no	97.47
			125	0.21 klmno	91.14
			0	2.37 a	-
imazalil	Bc22 (R)	10.00	150	1.40 d	45.52
			75	1.97 b	23.35
			37.5	1.88 b	26.85
			0	2.57 a	-
	Bc41 (S)	0.12	150	0.42 ıklm	67.94
			75	0.41 ıklm	68.70
			37.5	1.28 de	2.29
			0	1.31 de	-

R: Dayanıklı; S: Duyarlı

Her değer, 10 tane içeren 3 tekrarın ortalamasıdır. Aynı sütunda birbirine farklı harflerle gösterilen değerler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre (P=0.05) birbirinden önemli derecede farklıdır

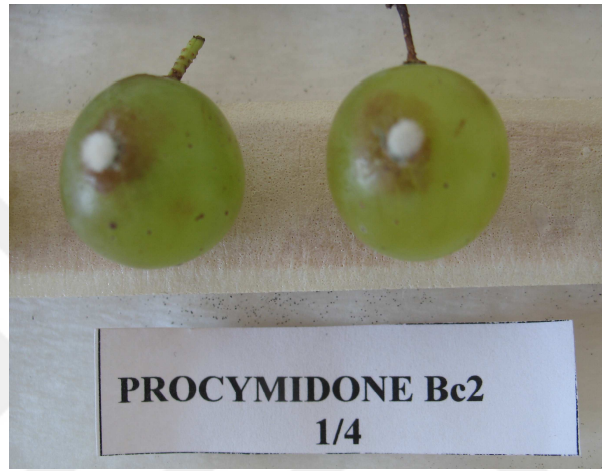


Şekil 4.8.a. Tebuconazole 'ün 100 µg/ml e.m dozunda dayanıklı izolatın tane üzerinde oluşturduğu lezyon



Şekil 4.8.b. Fungisit uygulanmamış tane üzerinde tebuconazole 'e dayanıklı izolatın oluşturduğu lezyon (kontrol)

Procymidone ‘nun, önerilen dozu (325 $\mu\text{g/ml}$ e.m) dayanıklı izolata (Bc2) % 100 etki gösterirken, yarı (162.5 $\mu\text{g/ml}$ e.m) ve dörtte bir (81.25 $\mu\text{g/ml}$ e.m) dozlarında ise etkililik azalan dozlara paralel bir biçimde düşmüştür. (Şekil 4.9.a ve 4.9.b). Bu fungusitin uygulanan üç dozu da duyarlı izolat (Bc41) üzerinde % 100 etkili olmuştur. Bu üç fungusiti ise sırasıyla pyrimethanil, fenhexamid ve imazalil izlemiştir. Fenhexamid duyarlı izolat üzerine, dayanıklı izolata göre daha yüksek etki gösterirken; pyrimethanil hem dayanıklı hem de duyarlı izolata etkili bulunmuştur.



Şekil 4.9.a. Procymidone ‘nun 81.25 $\mu\text{g/ml}$ e.m dozunda dayanıklı izolatin tane üzerinde oluşturduğu lezyon



Şekil 4.9.b. Fungisit uygulanmamış tane üzerinde procymidone ‘a dayanıklı izolatin oluşturduğu lezyon (kontrol)

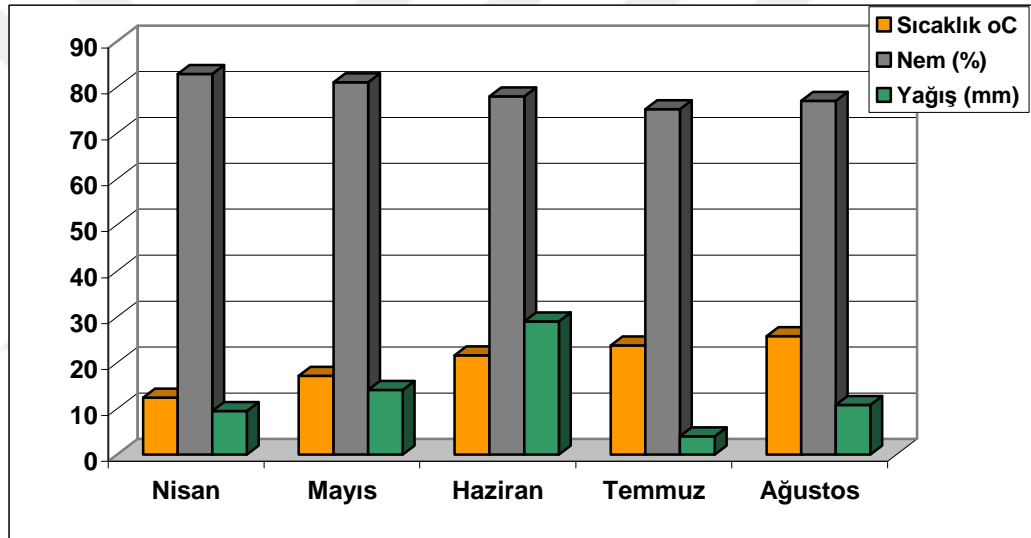
Imazalil 'in ise tüm bu fungusitlerle karşılaştırıldığında duyarlı aynı zamanda da dayanıklı izolatlar üzerinde en az etkili olan fungusit olduğu tespit edilmiştir. Imazalil 'e dayanıklı (Bc22) izolatının EC_{50} değeri 10 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmesine rağmen imazalil 'in önerilen dozu (150 $\mu\text{g/ml}$ e.m) bu izolat üzerinde % 45.52 etkililikte olmuştur. Bununla birlikte tane testlerinde kullanılan tüm fungusitlerin önerilen dozları duyarlı izolatlar üzerinde % 100 etkili olurken imazalil 'in önerilen dozu bu fungusite duyarlı izolat (Bc41) üzerinde ancak % 67.94 etkili olduğu ve dörtte bir uygulanan dozunun ise (37.5 $\mu\text{g/ml}$ e.m) kontrole göre önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.



4.3.2. En Etkili Kimyasal Savaşım Programının Saptanması

4.3.2.1. Bağ denemesi

Bağda *B. cinerea* 'ya karşı etkili bir kimyasal savaşım programının belirlenebilmesi amacıyla yaprak testleri sonucuna göre en etkili fungusit olarak bulunan cyprodinil+fludioxonil bağ denemesi için seçilmiştir. Bu fungusit önerilen dozunda (50 g/100 litre) bağda kullanılmıştır. Denemede, asmanın çiçeklenmesinden hasata kadar olan dönemdeki iklim verileri kaydedilerek Şekil 4.10. 'da özetlenmiştir.



Şekil 4.10. Deneme süresince aylık ortalama sıcaklık, nem ve toplam yağış miktarı

Şekil 4.10 'da görüldüğü gibi Nisan ve Mayıs aylarında nem % 70 'in sıcaklık ise çiçeklenme dönemine denk gelen Mayıs ve Haziran aylarında 18 °C 'nin üzerinde tespit edilmiştir. Konidiosporların taşınmasında etkili olan yağış ise, Haziran ayında en yüksek miktarda olmuştur.

Emir ve Zinfandel şaraplık üzüm çeşitlerinde kurşuni küf etmeni *B. cinerea* 'ya uygulanan iki ayrı ilaçlama programı sonucunda elde edilen hastalık şiddeti değerleri ve uygulamaların etkililikleri Çizelge 4.8. 'de görülmektedir.

Elde edilen sonuçlara göre kontrollerde tespit edilen hastalık şiddetinin Emir çeşidinde % 69.53 ve Zinfandel çeşidinde % 69.13 olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11.a., b. ve c.). Çizelge 4.8. 'de özetlendiği gibi; hastalık şiddeti her iki çeşide ait kontrol

parsellerde oldukça yüksektir. Uygulanan iki ilaçlama programı karşılaştırılacak olursa, çiçeklenme döneminde başlayan I. Uygulama, ülkemizde resmi talimatlarda yer alan, ben düşmeden itibaren başlayan II. Uygulamaya göre hastalığı daha etkili biçimde önlemiştir. Gerek Emir gerekse Zinfandel çeşitlerinden elde edilen sonuçlar birbiriyle paraleldir. Şaraplık üzüm çeşitlerine uygulanan ilaçlama programında çeşitler arasında hastalık şiddeti ve fungusitin etkililiği yönünden herhangi bir fark belirlenmemiştir.

Çizelge 4.8. Emir ve Zinfandel çeşitlerinde iki ayrı ilaçlama programının *B. cinerea* üzerine etkisi

Uygulama Zamanı	Emir		Zinfandel	
	Hastalık şiddeti (%)	Etkililik (%)	Hastalık şiddeti (%)	Etkililik (%)
I. Uygulama (Çiçeklenme Dönemi)*	19.67 c	71.71	20.70 b	70.05
II. Uygulama (Ben Düşme Dönemi)**	44.02 b	36.69	60.54 a	12.42
Kontrol	69.53 a	-	69.13 a	-

* **I. Uygulama:** 1. ilaçlama: Çiçeklenme döneminde, 2. ilaçlama: tanelerin bezelye iriliğinde olduğu dönemde, 3. ilaçlama: ben düşme döneminde, 4. ilaçlama: fungusit ile hasat arasında geçmesi gereken süre dikkate alınarak yapılmıştır

** **II. Uygulama:** 1. ilaçlama: ben düşme döneminde, 2. ilaçlama: fungusit ile hasat arasında geçmesi gereken süre dikkate alınarak yapılmıştır
Her değer. 4 tekrarın ortalamasıdır. Aynı sütunda birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre (P=0.05) birbirinden önemli derecede farklıdır



Şekil 4.11.a. I. Uygulama programında Emir çeşidinde salkımda hastalığın görünümü



Şekil 4.11.b. II. Uygulama programında Emir çeşidinde salkımda hastalığın görünümü



Şekil 4.11.c. Emir çeşidinde fungusit uygulaması yapılmamış salkımda hastalığın görünümü (kontrol)

4.3.2.2. Üzümlerde ve şarapta fungusit kalıntı düzeylerinin belirlenmesi

Bağda çiçeklenme ve ben düşme dönemlerinde başlayan ilaçlamaları içeren iki farklı uygulama programında da son ilaçlamalar aynı tarihlerde yapılmış ve son ilaçlamadan 23 gün sonra hasat edilen iki uygulamaya ait şaraplık üzümde fungusitlerin bırakabileceği kalıntı düzeyleri ve şarapta bırakabileceği kalıntı düzeyleri ayrı ayrı analiz edilmişlerdir. I. uygulama, II. uygulama ve kontrol örneklerinden yapılan analizlerin sonuçları Çizelge 4.9. 'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.9. incelendiğinde çiçeklenme döneminden itibaren başlatılan fungusit uygulamasında yaş üzüm ve şarap örneklerinde cyprodinil 'in 0.4477 ve 0.0716 mg/kg olarak tespit edilen ortalama kalıntı miktarının maksimum kalıntı değerinin (1.0 mg/kg) altında olduğu, fludioxonil 'in ise yaş üzüm örneklerinde 0.6162 mg/kg ile 0.5 mg/kg olan tolerans sınırının üstünde bulunduğu; fakat şarapta 0.3533 mg/kg ile tolerans sınırlarının altında kaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, ben düşme döneminden itibaren başlatılan fungusit uygulamasında yaş üzüm ve şarap örneklerinde her iki etkili madde de tolerans sınırlarının altında olmuştur.

Çizelge 4.9. Emir çeşidinde fungusitin yaş üzüm örneklerinde ve şarapta kalıntı miktarı

Aktif Madde	Kontrol	Ortalama Kalıntı Miktarı (mg/kg)				Tolerans Değerleri*** MRL (mg/kg)
		Üzüm		Şarap		
		I. Uygulama*	II. Uygulama**	I. Uygulama*	II. Uygulama**	
cyprodinil	-	0.4477	0.3172	0.0716	0.0455	1.0
fludioxonil	-	0.6162	0.4474	0.3533	0.1147	0.5

* **I. Uygulama:** 1. ilaçlama: Çiçeklenme döneminde, 2. ilaçlama: tanelerin bezelye iriliğinde olduğu dönemde, 3. ilaçlama: ben düşme döneminde, 4. ilaçlama: fungusit ile hasat arasında geçmesi gereken süre dikkate alınarak yapılmıştır

** **II. Uygulama:** 1. ilaçlama: ben düşme döneminde, 2. ilaçlama: fungusit ile hasat arasında geçmesi gereken süre dikkate alınarak yapılmıştır

*** **MRL:** Maksimum Kalıntı Limiti (mg/kg) (Maximum Residue Limite).

5. TARTIŞMA

Ülkemizin bağ alanı açısından dünya 'da dördüncü, üretim miktarı açısından ise beşinci sırada yer aldığı bilinmektedir. Bağcılık İç ve Doğu Anadolu 'nun rakımı yüksek bölgeleri ve fazla yağış alan Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi hariç diğer bölgelerimizin hepsinde yapılmaktadır. Üretilen üzümün % 5.5 'i şaraplık olarak kullanılmaktadır. Trakya Bölgesi de şaraplık üzüm üretiminde önemli bölgelerimizdendir. Ada karası, Cinsault, Cabernet S., Gamay, Merlot, Papaz Karası ve Semillion Trakya Bölgesi 'nde yetiştirilen başlıca şaraplık üzüm çeşitleridir (Çelik, 1998). Şaraplık üzüm çeşitlerinin tane büyüklüğü küçük, salkım yapısı ise oldukça sıkıdır. Trakya Bölgesi 'nin hem yağışlı hem de yüksek nemli olması nedeniyle şaraplık üzümlerde kurşuni küf sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Köycü vd., 2005). Üretici bu hastalıkla mücadelede kültürel önlemlerin yanı sıra (Anonymous, 1999), diğer bölgelerimizde de olduğu gibi (Burçak, 1998, Delen, 2001, Delen ve Koplay, 2002, Copcu vd., 2002, Koplay, 2003) bölgemizde de üzümün olgunlaşma döneminden sonra hasata kadar yoğun fungusit uygulamaları yapmaktadır. Yoğun fungusit uygulamaları patojenin fungusitlere dayanıklılık kazanmasına neden olarak fungusitlerin etkililiğinin azalmasına (Delen vd., 1984, Latorre, 1994, Gullino vd., 1989, Leroux, 1999, Delen, 2001, Baroffio, 2003, Koplay, 2003, Moyano vd., 2004) ve üzümde bu nedenle daha yoğun fungusit uygulamaları sonucu, kalıntı problemlerinin ortaya çıkışına neden olmaktadır (Courderchet, 2003, Rial-Otero vd., 2004, Pose-Juan vd., 2006).

Tek yer engelleyici fungusitlerin 1960 'lardan itibaren kullanılmaya başlanması ile *B. cinerea* izolatlarının fungusitlere duyarlılık düzeylerinde değişiklikler olduğu belirlenmiş ve bu konu üzerinde yoğun çalışmalar başlamıştır. Değişik ürünlerden elde edilen *B. cinerea* izolatlarının fungusitlere duyarlılıkları uzun yıllardan beri araştırılmaktadır (Delen vd., 1984, 1998, Beever vd., 1989, Gullino vd., 1989, Johnson vd., 1994, Latorre vd., 1994, 2002, Erkan vd., 1997, Burçak, 1998.). *B. cinerea* izolatlarının fungusitlere duyarlılık düzeylerinde meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi, bu patojene karşı kullanılan ticari preparatların etkililiğinin devam edip etmediğini bilmek açısından önemlidir. Trakya Bölgesi 'ndeki bağlarda *B. cinerea* 'nın fungusitlere duyarlılıklarının saptanması amacıyla yapılan bu çalışma bağdan elde edilen *B. cinerea* izolatlarının fungusitlere duyarlılığı, fungusitlerin *B. cinerea* üzerine etkililiği,

izolatların doğaya uyumu ve bağda etkili bir kimyasal savaşımın belirlenmesi olmak üzere dört bölümde yapılmıştır.

Çalışmanın ilk bölümünde 2004 ve 2005 yıllarında iki yıl süresince hem sofralık hem de şaraplık üzüm bağlarına hasat döneminde surveyler yapılmış ve *B. cinerea* izolatları elde edilmiştir. Ardından da, bölge için önemli kimi fungusitlere izolatların duyarlılık düzeyleri şu şekilde belirlenmiştir:

1- Fungisitlerin miselyal gelişmeyi % 50 engelleyen yoğunlukları (EC₅₀).

2-Fungisitlerin spor çimlenmesini ve miselyal gelişmelerini engelleyen en düşük yoğunlukları (MIC).

B. cinerea izolatları, EC₅₀ değerlerine göre her fungusite en duyarlı ve duyarlılığı en fazla azalmış izolata doğru sıralanmışlardır. Duyarlılık testleri sonucunda izolatların en duyarlı olduğu fungusit cyprodinil+fludioxonil (Switch 62.5) olmuştur Bu fungusit için en yüksek EC₅₀ değeri 0.13 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Cyprodinil+fludioxonil aynı zamanda konidiospor çimlenmesine de en etkili fungusittir. Cyprodinil anilinopyrimidine, fludioxonil ise phenylpyrrole grubuna aittir. Anilinopyrimidine 'ler methionine biyosentezine engel olarak miselyal gelişimi, çim tüpü uzamasını ve hidrolitik enzimlerin salgılanmasını engellerken phenylpyrroller osmotik düzenleyiciler üzerinde etkili olmaktadır (Courderchet, 2003, Leroux, 2004). Latorre vd. (1994) de cyprodinil 'in *B. cinerea* 'nın konidiospor çimlenmesini de engellediğini bildirmişlerdir. Uzun süreli gözlemler sonucunda, yapılan çalışmalarda değişik ürünlerden elde edilen *B. cinerea* izolatlarının duyarlılık düzeyleri cyprodinil ve fludioxonil 'e ayrı ayrı belirlenmiştir. Baroffio vd. (2003) bağda yedi yıl süresince yaptıkları gözlemlere göre izolatların cyprodinil 'e duyarlılığında azalma saptanır iken fludioxonil 'e duyarlılıkta bir değişme olmadığını bildirmişlerdir. Bağ ve seralarda yapılan başka araştırmalarda bu fungusitlerin 4-5 yıl süresince kullanılmaları halinde ürünlerden elde edilen *B. cinerea* izolatları arasında cyprodinil 'e dayanıklı (EC₅₀ değeri 2.90-4.84 µg/ml) izolatların olduğu tespit edilirken, izolatların fludioxonil 'e duyarlılık düzeylerinde bir değişme olmadığı ve bu nedenle bu iki fungusitin cyprodinil+fludioxonil karışımı olarak uygulanmasının daha etkili olacağı bildirilmiştir (Forster ve Staub, 1996, Leroux vd., 2002). Patojenin fungusitlere karşı oluşturduğu dayanıklılığın fungusitin etki yerinin mutasyonu sonucu olduğu bilinmektedir (Delen, 1997). *B. cinerea* 'nın anilinopyrimidine 'lere dayanıklılığı ise tek bir gen tarafından kontrol edilmektedir

(Hilber ve Hilber-Bodmer, 1998, Chapeland vd., 1999). Bu da, doğada cyprodinil 'e dayanıklılığın daha kolay olarak ortaya çıkma nedenini açıklamaktadır. Çalışmamızda cyprodinil+fludioxonil için EC_{50} değerlerinin düşük olarak belirlenmesinde cyprodinil+fludioxonil 'in karışım halinde uygulanmasının etkili olduğu düşünülmüştür. Ege ve Akdeniz bölgeleri domates seralarından elde edilmiş *B. cinerea* izolatları da cyprodinil+fludioxonil karışımına duyarlı bulunmuşlardır. Aynı izolatların tümü fludioxonil 'e de duyarlı iken, anilinopyrimidine türevi cyprodinil 'e 2003 yılında % 43.62 'sının, 2004 yılında ise % 10.3 'ünün EC_{50} değerlerinin 1 $\mu\text{g/ml}$ 'den büyük oldukları gözlenmiştir (Delen vd., 2003, 2004). Bu sonuçlar *B. cinerea* 'ya cyprodinil 'in fludioxonil ile birlikte kullanılması gerektiğini göstermektedir.

Yine anilinopyrimidine grubu fungusitlerden olan pyrimethanil (Mythos) cyprodinil+fludioxonil 'e göre izolatların miselyal gelişimleri ve spor çimlenmesi üzerinde daha düşük etki göstermiştir. Bu fungusitin EC_{50} değerleri 0.04-1.40 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. Koplay (2003) Ege Bölgesi 'ndeki bağlardan elde ettiği *B. cinerea* izolatlarının pyrimethanil için EC_{50} değerlerini 1 $\mu\text{g/ml}$ 'den küçük olarak tespit etmiştir. Moyano vd., (2004) İspanya 'nın Güneydoğusundaki seralardan 4 yıl süresince elde ettikleri *B. cinerea* izolatlarının bu fungusite duyarlılığının azaldığını ve izolatların % 12 'sinin bu fungusite dayanıklı olduğunu (EC_{50} değeri 1-10 $\mu\text{g/ml}$) bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise izolatların pyrimethanil 'e duyarlılıkları araştırmacıların yaptıkları bu çalışmalar ile paralellik göstermiş ve bu fungusit için izolatların % 92.85 'i duyarlı (EC_{50} değeri 1 $\mu\text{g/ml}$ 'den küçük) olarak tespit edilirken, % 7.14 'ü de dayanıklı (EC_{50} değeri 1-3 $\mu\text{g/ml}$) olarak tespit edilmiştir. Trakya Bölgesi 'ndeki bağlardan elde edilen *B. cinerea* izolatlarının pyrimethanil 'e duyarlılığında bir azalma olduğu ve izolatların bu fungusite dayanıklılık kazanmaya başladığı tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar, Ege ve Akdeniz bölgeleri domates seralarından elde edilen *B. cinerea* izolatlarından da alınmıştır (Delen vd., 2003, 2004). Bu sonuçlar ile yukarıda özetlenen veriler göstermektedir ki anilinopyrimidine türevi fungusitler *B. cinerea* ile savaşmada çok dikkatli ve dayanıklılığı önleyici stratejilere uygun biçimde kullanılmalıdır.

Fenhexamid, pyrimethanil gibi *B. cinerea* izolatlarının miselyal gelişimleri ve spor çimlenmeleri üzerinde daha düşük etkili olan fungusitlerdendir. Koplay 'ın (2003) yaptığı çalışmada bağlardan elde edilen *B. cinerea* izolatlarında bu fungusit için EC_{50} değeri 1 $\mu\text{g/ml}$ 'dan küçük olarak tespit edilirken, bizim çalışmamızda izolatların %

28.57 'sinin EC₅₀ değeri 1 µg/ml 'dan büyük olarak tespit edilmiştir. Baroffio vd., (2003) bağda yaptıkları uzun süreli gözlemlerde elde ettikleri *B. cinerea* izolatlarının EC₅₀ değeri 0.1 µg/ml 'dan büyük olanları fenhexamide 'e dayanıklı olarak kabul etmişler ve bu fungusite dayanıklı izolatların daha önceki yıllara göre % 100 oranında artış olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da izolatların % 90 'ı bu fungusite dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Ancak yeni grup botritisitlerden olan bu fungusitin halen en etkili sterol biyosentezini engelleyen fungusit olması, toksikolojik ve ekotoksikolojik özelliklerinin çok uygun olması ve diğer botritisitlere karşı çapraz dayanıklılık olmaması nedeniyle (Aydoğdu, 2001, Leroux, 2004) bağda patojenin kontrolünde halen etkili olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (Baroffio vd., 2003).

İzolatların miselyal gelişimleri üzerinde düşük etkili olan fungusitlerden birisi de procymidone olarak belirlenmiştir. Dicarboximide grubu fungusitlere dayanıklı *B. cinerea* izolatlarının olduğu 1980 'lerden beri Avrupa ülkelerinde bildirilmiştir (Leroux, 2004). Daha sonraki yıllarda da pek çok araştırmacı tarafından yapılan araştırmalarda bu fungusite dayanıklı *B. cinerea* izolatlarının varlığı tespit edilmiştir (Beever vd., 1989, Gullino vd., 1989, Johnson vd., 1994, Latorre vd., 1994, Erkan vd., 1997, Leroux vd., 1999, Moyano vd., 2004). Fakat bu grup fungusitlere alternatif olacak fungusitlerin olmaması nedeniyle bu grup fungusitler uzun yıllar kullanılmıştır (Leroux, 2004). Burçak (1998) yaptığı çalışmada *B. cinerea* izolatlarının procymidone 'a duyarlılığında dalgalanma gözlemlendiğini ve izolatların % 11.8 'inin 10-30 µg/ml arasında tespit edildiğini bildirmiştir. Oysa bizim çalışmamızda izolatların procymidone 'a duyarlılığında böyle bir dalgalanma belirlenmemiştir. Yaptığımız çalışmada procymidone için izolatların % 94.28 'i procymidone 'a duyarlı (EC₅₀ değerleri 0.1-1 µg/ml arasında) olarak tespit edilmiştir. Aynı şekilde Delen (1984) seralardan elde ettiği *B. cinerea* izolatlarının bu fungusit için EC₅₀ değerini <1 µg/ml olarak ve yine Burçak (1998) yaptığı çalışmada bağlardan elde ettiği *B. cinerea* izolatlarında izolatların % 82.3 'ünün bu fungusit için EC₅₀ değerini <1 µg/ml olarak tespit etmiştir. Erkan vd. (1997) Ege ve Marmara Bölgesindeki bağlardan elde ettikleri *B. cinerea* izolatlarında izolatların % 87.88 'i procymidone 'a duyarlı ve % 12.12 'sini düşük dayanıklı olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da izolatların % 1.43 'ü bu fungusite düşük derecede dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Moyano vd. (2004) seralardan elde ettikleri *B. cinerea* izolatlarının % 77 'sinin procymidone 'a dayanıklı olarak tespit etmişlerdir.

Beever vd., (1989) ve Latorre (1994) bu fungusite duyarlı olan izolatların dayanıklı olan izolatlara göre daha virulent olduklarını bildirmişlerdir. Dolayısıyla dicarboximide grubu fungusitlere izolatların duyarlılığı dayanıklılığa göre daha önemli olmaktadır. Bu fungusite duyarlı izolat yüzdesinin fazla olması nedeniyle bölgemizde bu fungusitin kullanım sıklığında dikkatli olunması gerektiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda imidazole grubu fungusitlerden olan imazalil (Magnate) de *B. cinerea* 'nın miselyal gelişimi ve spor çimlenmesi üzerinde oldukça düşük etki göstermiştir. Imazalil 'in ergosterol biyosentezini engelleyen fungusit grubundan olduğu ve dayanıklılık oluşturma risklerinin de çok düşük olduğu bilinmektedir (Delen, 1997). Burçak (1998) ve Koplay (2003) 'ın Ege Bölgesi 'nde sofralık üzümlerde yaptıkları çalışmalarında patojenin bu fungusit için EC₅₀ değerlerini 1 µg/ml 'den küçük olarak tespit etmişlerdir. Ancak bölgemizde bu fungusit için izolatların EC₅₀ değerlerinin % 70.01 'inin ≥ 1 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda *B. cinerea* izolatlarının bu fungusite duyarlı olduğu tespit edilirken bölgemizde ise izolatların bu fungusitlere duyarlılığının önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir.

Hexaconazole, myclobutanil penconazole, tebuconazole ve triadimenol triazole grubu fungusitlerden olup bağ küllemesine ruhsatlı oldukları daha önce belirtilmişti. Triazole 'lerin funguslarda ergosterol biyosentezini engelledikleri ve dayanıklılık oluşturma risklerinin ise düşük olduğu bilinmektedir (Delen, 1997). *B. cinerea* 'nın inokulum miktarının, bağlarda çiçeklenme döneminden itibaren başlayan şiddetli enfeksiyonlar açısından önemi daha önce yapılan araştırmalarda bildirilmiştir (Holz, 2000, Delen, 2001, Delen ve Koplay, 2002). Küllemeye karşı kullanılan fungusitlerin bağda erken dönemlerden itibaren uygulanmaya başlanması nedeniyle, *B. cinerea* 'nın inokulum miktarının azaltılmasında etkili olabilecekleri düşünülürse patojenin bu fungusitlere duyarlılıklarının da tespit edilmesi önem kazanmaktadır. Daha önceden ülkemizde yapılan çalışmalarla patojenin hexaconazol, myclobutanil, tebuconazole ve triadimenol 'e duyarlılıkları tespit edilmiştir (Burçak,1998, Delen, 2001, Koplay, 2003). Patojenin penconazole ve triadimenol 'e duyarlılık düzeyi ise ilk defa bu çalışma ile belirlenmiştir. Yaptığımız çalışmada bu fungusitler izolatların miselyal gelişimleri üzerinde daha az etkili olurken spor çimlenmesini ve miselyal gelişimlerini engelleyen MIC değerleri yüksek dozlarda olmuştur. Bununla birlikte izolatların önemli bir çoğunluğunun bu fungusitlere duyarlı olmaları nedeniyle *B. cinerea* 'nın miselyal

gelişimleri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Delen, (2001) ve Koplay, (2003) *B. cinerea* izolatlarının tebuconazole ve hexaconazole için EC₅₀ değerlerini 1 µg/ml 'den küçük olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu fungusitler için EC₅₀ değerleri 1 µg/ml 'den büyük olan izolatlar da tespit edilmiştir. Burçak (1998) tarafından yapılan araştırmada myclobutanil 'in EC₅₀ değeri 1 µg/ml 'dan küçük olarak belirlenmiş ve fungusitin *B. cinerea* 'nın miselyal gelişimi üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Delen (2001) ve Koplay (2003) da yaptıkları araştırmada myclobutanil için EC₅₀ değeri 1 µg/ml 'nin üzerinde olan izolatların olduğunu ve bu fungusite izolatların duyarlılığının azaldığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde bizim çalışmamızda da myclobutanil ancak çok yüksek dozlarının izolatların miselyal gelişimleri ve spor çimlenmesi üzerinde etkili olduğu ve izolatların bu fungusitlere duyarlılıklarının önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir.

Bağda ölü kol ve mildiyöye ruhsatlı çok yer engelleyici fungusitlerden olan captan için *B. cinerea* izolatlarının EC₅₀ değerleri 5-100 µg/ml arasında belirlenerek izolatların bu fungusite duyarlılığının oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Koplay (2003) Ege Bölgesi 'ndeki bağlardan elde ettiği *B. cinerea* izolatlarında bu fungusit için en yüksek EC₅₀ değerini 24 µg/ml olarak tespit etmiştir. Çalışmamızda ise captan için izolatların % 42.86 'sı 10-30 µg/ml ve % 28.57 'si 30-100 µg/ml arasında yer almıştır.

Trakya Bölgesi 'nde bağlardan elde edilen *B. cinerea* izolatlarının fungusitlere duyarlılıklarını toplu olarak değerlendirecek olursak, izolatlar cyprodinil+fludioxonil 'e oldukça duyarlı olarak tespit edilmişlerdir. Procymidone, pyrimethanil ve tebuconazol 'e ise daha az duyarlılık göstermişlerdir. İzolatların fenhexamid 'e duyarlılığında çok dalgalanmalar olduğu, hexaconazole ve penconazole 'e ise duyarlılıklarının azaldığı belirlenmiştir. Myclobutanil, triadimenol ve imazalil 'e ise duyarlılıklarının az olduğu ve izolatların duyarlılıklarının en az olduğu fungusit de captan olarak tespit edilmiştir.

B. cinerea izolatlarının fungusitlere duyarlılıklarının azalışının bağda önemli olup olmayışı ve fungusitlerin patojene etkililiği izolatların doğaya uyumu ile yakından ilgilidir. Fungusitlere dayanıklılık kazanmış izolatlar her zaman doğada sorun olarak karşımıza çıkmayabilir. Çünkü dayanıklılık kazanmış bir izolat doğada duyarlı izolatlarla spor verimleri miselyal gelişim hızları ve virülensi yönünden rekabet edebilmelidir (Delen, 1997). Bu nedenle çalışmanın ikinci bölümünde her fungusite en

duyarlı ve en dayanıklı izolatların doğada rekabetini belirleyebilmek amacıyla yapılan bazı testler yapılmıştır:

- 1- İzolatların spor verimlerinin belirlenmesi.
- 2- İzolatların miselyal gelişme hızlarının belirlenmesi.
- 3- İzolatların yaprak testleri ile virülensinin belirlenmesi.

Fungisitlere dayanıklı ve duyarlı izolatların fungusitsiz ortamda spor verimleri, miselyal gelişimleri, osmatik duyarlılıkları, scleroti üretimleri ve virülensi doğada birbirleri ile rekabet edebilme yeteneklerini yani doğaya uyum parametrelerini oluşturmaktadır (Dekker, 1982). Bu da bize bağda hastalıkla etkili bir şekilde mücadele edebilme olanağını sağlamaktadır. Daha önce yapılmış çalışmalarda dicarboximide, anilinopyrimidine ve hydroxyanilide grubu fungusitlere dayanıklı ve duyarlı olarak tespit edilen *B. cinerea* izolatlarının doğaya uyum yetenekleri araştırılmıştır. Davis ve Dennis (1981) dicarboximide grubu fungusitlere dayanıklı izolatların duyarlı izolatlara göre daha yavaş geliştiğini ve az sayıda spor ürettiğini ileri sürerken, Beever vd. (1989) aynı gruptan iprodione ve vinclozolin 'e dayanıklı ve duyarlı izolatlar arasında bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da dicarboximide fungusit grubundan procymidone 'a dayanıklı ve duyarlı izolatların spor verimleri ve miselyal gelişme hızları arasında bir farklılık tespit edilmezken; dayanıklı izolatin virülensinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bizim sonuçlarımızla uyum içerisinde olan Latorre vd. (1994) de yaptıkları çalışmada procymidone 'a dayanıklı izolatların doğaya uyum yeteneklerinden bazılarını kaybetmekle birlikte daha virulent olduklarını bildirmektedir. Daha önceki yıllarda yapılmış bazı çalışmalarda dicarboximide grubu fungusitlere duyarlı izolatların dayanıklı izolatlara göre daha virulent oldukları ileri sürülmüştür (Romano vd., 1983, Beever vd., 1989). Bununla birlikte bazı araştırmacılar da *B. cinerea* izolatlarının dicarboximide grubu fungusitlerden iprodione ve vinclozolin 'e dayanıklı izolatların doğaya uyum yeteneklerinin fungusitlere dayanıklılığı ile aralarında bir ilişki kurulamayacağını ve bu fungusitlere dayanıklı mutant izolatların doğaya uyumlarının daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (Raposo vd., 1996, Vallejo vd., 2003)

Çalışmamızda, *B. cinerea* 'ya da ruhsatlı cyprodinil+fludioxonil ve pyrimethanil 'e dayanıklı ve duyarlı izolatların spor verimleri arasında bir fark tespit edilmezken, her iki fungusit için de duyarlı izolatların miselyal gelişimleri daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte cyprodinil+fludioxonil 'e dayanıklı izolat duyarlı izolata

göre daha virüent olmuştur. Pyrimethanil için ise, duyarlı ve dayanıklı izolatlar arasında virülenslik yönünden bir fark olmadığı belirlenmiştir. Latorre vd. (2002) yaptıkları çalışmada bağdan elde ettikleri *B. cinerea* izolatlarında cyprodinil 'e dayanıklı ve duyarlı olarak tespit ettikleri izolatların miselyal gelişimleri, scleroti üretimleri ve osmatik duyarlılıkları arasında korelasyon belirlenmediği için aralarında biyolojik farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Ziogas vd. (2001) de hıyar fidelerinde yaptıkları virülens testlerinde dayanıklı mutant *B. cinerea* izolatlarının duyarlı izolatlar kadar virüent olduklarını tespit etmişlerdir.

Hydroxyanilide grubu fungusitlerden fenhexamid 'e dayanıklı ve duyarlı izolatların spor verimleri, miselyal gelişme hızları ve virülenslikleri arasında bir farklılık tespit edilmemiştir. Ziogas vd. (2003) yaptıkları çalışmada seralardan elde ettikleri *B. cinerea* izolatlarında fenhexamid 'e dayanıklı olarak elde ettikleri mutant izolatların hıyar fidelerinde daha virüent olduklarını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamız ile de paralellik göstermektedir. Bu fungusite dayanıklı izolatların doğaya uyumlarının da duyarlı izolatlarla aynı derecede olacağı kanatine varılmıştır.

Imidazole grubu fungusitlerden imazalil 'e dayanıklı ve duyarlı izolatların miselyal gelişimleri ve virülensi arasında önemli bir farklılık tespit edilmiştir. Bu fungusite dayanıklı izolatın virülensinin daha yüksek olduğu belirlenirken, duyarlı izolatın ise miselyal gelişiminin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak Delen vd. (1998) yaptıkları çalışmada *B. cinerea* izolatlarını ardarda fungusitlerin yükselen dozlarına transfer etmişler ve imazalil, prochloraz ve tebuconazole 'ün yükselen dozlarına alınan mutant izolatların duyarlı izolatlar ile karşılaştırıldığında fungusit içermeyen besi ortamında çok yavaş gelişme gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda triazole grubu fungusitlerden hexaconazole, mylobutanil, penconazole, tebuconazole ve triadimenol 'e dayanıklı ve duyarlı olan *B. cinerea* izolatlarının doğaya uyumları, birlikte değerlendirilmiştir. Bu fungusitlere dayanıklı ve duyarlı izolatların spor verimleri arasındaki fark sadece tebuconazole için önemli bulunmuştur. Penconazole ve tebuconazole 'e dayanıklı izolatların miselyal gelişimleri ve virülensi duyarlı izolatlara göre daha yüksek olmuştur. Hexaconazole ve myclobutanil 'e dayanıklı izolatların miselyal gelişimleri duyarlı izolata göre daha yüksek olarak belirlenirken virülensliği arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir. Yine triadimenol 'e dayanıklı ve duyarlı izolatların spor verimleri, miselyal gelişme

hızları ve virülensi arasında önemli bir farklılık olmamıştır. Çok yer engelleyici fungusitlerden captan 'a duyarlı izolatin dayanıklı izolata göre miselyal gelişimi yüksek olarak bulunmuştur.

B. cinerea izolatlarının fungusitlere duyarlılık düzeylerinin belirlenmesinden sonra fungusitlerin izolatlara etkililiği de araştırılmıştır. Çalışmanın üçüncü bölümünü oluşturan fungusitlerin *B. cinerea* izolatlarına etkililiği ise şu şekilde gerçekleştirilmiştir:

1-Fungisit uygulanmış üzüm yaprakları üzerinde izolatların gelişimleri.

2-Fungisit uygulanmış üzüm taneleri üzerinde izolatların gelişimleri.

Asma dokularının yağmur, dolu ve böcekler ile yaralanmaları sonucunda *B. cinerea* kolaylıkla dokulara giriş yaparak hızla yayılabilmektedir. Patojenin tek bir konidiosporu bile enfeksiyonun başlamasına neden olarak bitkide lezyonlar oluşturabilmektedir (Coertze ve Holz, 1999). *B. cinerea* 'nın yapraklar üzerinde geniş lezyonlar oluşturduğu bilinmektedir (Vallejo, 2003). Patojenin konidiosporları birbirleri ile sinerjistik etki göstererek tek konidiosporun oluşturduğu lezyondan daha büyük lezyon oluşumuna neden olmakta (Rebordinos vd., 2003) ve bu lezyonlarda yoğun inokulum meydana gelmektedir (Holz, 2000). Bu nedenle fungusitlerin patojene etkililiğini daha iyi belirleyebilmek amacıyla çalışmamızda fungusitlerin *B. cinerea* üzerine etkililiği yaprak tesleri ile de belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan literatür çalışmalarında fungusitlerin *B. cinerea* 'ya etkililiğinde yaprak testleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle fungusitlerin yapraklara uygulanması ile *B. cinerea* üzerine etkisi ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir. Patojenin dokuya girişinin hızlandırılması ve kısa sürede lezyon oluşumunun sağlanması amacıyla yaprak ve taneler inokule edilmeden önce yaralanmıştır.

Cyprodinil+fludioxonil, fenhexamid, imazalil, procymidone ve pyrimethanil 'in hem *in vitro* hem de *in vivo* da *B. cinerea* üzerinde etkililiği yapılan çalışmalarla sürekli olarak araştırılmıştır (Burçak, 1998, Aydoğdu vd., 2001, Latorre, 2002, Koplay, 2003, Baroffio, 2003).

Çalışmamızda cyprodinil+fludioxonil hem yaprak hem de tane testleri sonucunda hem dayanıklı izolat hem de duyarlı izolat üzerinde fungusitin uygulanan her üç dozlarında da % 100 etki göstererek en etkili fungusit olmuştur. Daha önce de belirtildiği gibi cyprodinil anilinopyrimidine, fludioxonil ise phenylpyrrole grubunda yer almaktadırlar. Bu iki grubun bitkide hastalıklara karşı sistemik dayanıklılığı (SAR)

uyarabildiği bilinmektedir (Gullino vd., 2000). Forster ve Staub (1996) cyprodinil+fluodioxonil 'in bağda patojene etkili olarak kullanılabilirdiğini ve iki fungusit arasında çapraz dayanıklılığın olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda cyprodinil+fludioxonil 'in yaprak ve taneler üzerinde etkili olmasının, izolatların bu fungusite duyarlılığının yüksek olmasından, fungusitin yaprak ve tanelerde sistemik dayanıklılığı uyarmasından ve aynı zamanda fungusitin konidiospor çimlenmesi üzerinde de etkili olmasından (Latorre vd., 2002) kaynaklandığı düşünülmektedir

Procymidone yaprak ve tane testlerinde duyarlı izolatlar üzerinde cyprodinil+fludioxonil ile aynı etkiyi gösterirken dayanıklı izolatlar üzerinde biraz daha düşük etki göstermesiyle birlikte, yaprak ve taneler üzerinde *B. cinerea* 'ya etkililiği kayda değer şekilde yüksek olmuştur. Procymidone dicarboximide grubu fungusitlerdendir. Bu grup fungusitler 1970 'li yıllardan beri tüm Avrupa ülkelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Leroux, 2004). Dicarboximidlere duyarlı olan izolatların dayanıklı olan izolatlara göre bağda daha virulent oldukları bilinmektedir (Beever vd., 1989). Bu nedenle de, bağda *B. cinerea* 'ya etkili bir fungusit grubudur. Çalışmamızda da procymidone yaprak üzerinde duyarlı izolata, önerilen dozda % 93.38, yarı dozda % 88.74 ve dörttebir dozda ise % 16.56 etkili olurken, taneler üzerinde ise tüm dozlarda % 100 etkili olmuştur. Burçak (1998), üzüm taneleri üzerinde yaptıkları testlerde patojene karşı bu fungusitin önerilen dozunun etkisini % 91.12, yarı dozunun etkisini % 63.33, dörtte bir dozunun etkisini ise % 31.13 olarak tespit ederken, bizim çalışmamızda hem yaprak hem de tane testlerinde dayanıklı izolatlar üzerindeki etkisi % 60 'tan büyük olmuştur. Bu nedenle bağda *B. cinerea* üzerinde etkili olarak kullanılabilirdiği düşünülmüştür.

Pyrimethanil ise yaprak testlerinde dayanıklı ve duyarlı izolatlar üzerinde procymidone 'a göre oldukça düşük etkililik gösterirken tane testlerinde ise daha etkili bulunmuştur. Pyrimethanil anilinopyrimidine grubu yeni botritisitlerden olmasına rağmen bağda bu fungusite dayanıklı *B. cinerea* izolatlarının olduğu tespit edilmiştir (Moyano vd., 2004). Koplay (2003) ise bu fungusiti tane testlerinde salkım çürüklük patojenlerine karşı en etkili fungusit olarak tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda da bu fungusitin tane testlerinde yaprak testlerine göre patojene daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu fungusitin hasat ile arasında geçirilmesi gereken sürenin 21 gün

olması nedeniyle (Koplay, 2003) üzümelerde *B. cinerea* 'ya karşı olgunlaşma dönemi başlangıcında kullanılmaları tavsiye edilebilir.

Fenhexamid yaprak testlerinde pyrimethanil 'e göre daha etkili olurken tane testlerinde ise daha düşük etkililik göstermiştir. Ancak fenhexamid 'e doğada genetik olarak dayanıklı izolatların var olduğu bilinmesine rağmen (Leroux, 2004) bu fungusit yaprak ve tane testlerinde hem dayanıklı hem duyarlı izolatlar üzerinde imazalil 'e göre daha etkili olmuştur. Aynı zamanda Koplay (2003) tane testlerinde fenhexamid ve pyrimethanil 'in imazalil 'e göre daha etkili olduğunu bildirmektedir. Walter vd. (2005) fenhexamid 'in böğürtlende *B. cinerea* 'ya karşı etkili olarak kullanıldığını ileri sürmektedir. Fenhexamid bu fungusitler arasında hasat öncesi bekleme süresi (7 gün) en kısa olan fungusittir. Bu nedenle hasada yakın fungusit uygulamalarında tercih edilebilir. Aynı zamanda bağda çiçek yanıklıklarına karşı erken dönemde etkili bir fungusit olarak da kullanılabileceği düşünülmüştür. Imazalil çalışmamızda izolatların bu fungusite duyarlılıklarının da azalmış olması nedeniyle bu fungusitler arasında yaprak ve tane testlerinde patojene etkililiği en düşük fungusit olarak tespit edilmiştir. Burçak (1998) ise tane testlerinde *B. cinerea* üzerinde imazalil 'in oldukça yüksek etkililikte olduğunu tespit etmiştir.

Küllemeye ruhsatlı olan tebuconazole, hexaconazole, penconazole, triadimenol ve myclobutanil arasında yaprak ve tane testlerinde tebuconazole ve hexaconazole daha etkili olmuştur. Koplay (2003) da tane testlerinde bu iki fungusitin *B. cinerea* üzerinde etkili olduğunu bildirmektedir. Bağda bu fungusitlerin külleme için erken dönemden itibaren uygulanmaları nedeniyle üzümelerin olgunlaşma dönemi öncesinde *B. cinerea* 'nın yaprak, salkım sapı ve tanelerde yoğun inokulum miktarlarının (Holz, 2000, Delen, 2001, Koplay, 2003) azaltılmasında etkili olması muhtemeldir. Bu nedenle tebuconazole ve hexaconazole 'ün külleme hastalığına karşı yapılacak ilaçlamalarda daha geç dönemlerde çiçeklenme sonrası ve tanelerin bezelye iriliğinde olduğu dönemde kullanılabileceği düşünülmektedir. Çalışmada myclobutanil penconazole ve triadimenol yaprak testlerinde etkililiği en düşük olan fungusit olarak tespit edilmiştir. Bu nedenle külemeye karşı kullanılırken eğer çiçeklenme sonrası veya olgunlaşmaya yakın dönemde uygulanacak ise etkili bir botritisit ile birlikte uygulanması tavsiye edilebilir. Bununla birlikte etki yeri spesifik olmayan fungusitlerden bağda ölü kol ve mildiyöye ruhsatlı captan yaprak testlerinde myclobutanil, penconazole ve triadimenol

'e göre duyarlı ve dayanıklı izolatlara daha etkili olmuştur. Bağda mildiyöye karşı yapılacak ilaçlamalarda *B. cinerea* 'nın inokulum miktarını azaltmada bu fungusitlere göre daha etkili olacağı düşünülmektedir.

Bağda etkili bir kimyasal savaşımın belirlenebilmesi amacıyla yaprak testleri sonucuna göre *B. cinerea* 'ya en etkili olarak tespit edilen cyprodinil+fludioxonil (Switch 62.5) 'in bağa uygulanarak hem hastalığı önleme hem de üzüm ve şarapta bıraktığı kalıntı miktarları açısından değerlendirilmesi ise çalışmamızın dördüncü bölümünü oluşturmuştur. Denemeler ise şu şekilde gerçekleştirilmiştir.

1- Çiçeklenme veya ben düşme döneminden itibaren başlatılan iki ayrı ilaçlama programının bağa uygulanması.

2- İki ayrı ilaçlama programının üzümde ve şarapta bıraktığı kalıntı miktarlarının tespit edilmesi.

B. cinerea 'nın optimum 20-23 °C 'de ve % 70 nispi nemde çiçekleri ve üzüm tanelerini enfekte edebildiği bilinmektedir (McClellan ve Hewitt, 1973, Nair ve Allen,1993). Bölgemizde de Haziran-Ağustos ayları süresince nem % 70 'in, sıcaklık ise 20 °C 'nin üzerinde seyretmektedir. Bu değerler kurşuni küfün optimum enfeksiyon koşullarıdır. Patojen, bağda asıl zararını olgunlaşma döneminde yapmasına karşın, asmanın tüm vejetasyon dönemlerinde bağda bulunduğu bilinmektedir (Holz, 2000, McClellan ve Hewitt, 1973, Delen ve Koplay, 2002, Koplay, 2003). Koplay (2003) asmanın vejetasyon dönemi süresince salkım sapı ve tanelerde *B. cinerea* 'nın var olduğunu asmada çevre koşullarının uygun olmasıyla olgunlaşma ile ani bir enfeksiyon artışına neden olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle bir çok ülkede kurşuni küf ile savaşıma bağda çiçeklenme döneminden itibaren başlanmaktadır (Ellis, 1998b, Latorre vd., 2002, Baroffio, 2003, Holz vd., 2003). Ülkemizde ise Tarım ve Köyişleri Bakanlığı 'nın teknik talimatlardaki önerisi üzerine patojen ile mücadeleye daha geç bir dönem olan, üzümün ben düşme döneminden itibaren başlanmaktadır (Anonymous, 1999). Bu dönemden itibaren başlatılan fungusit uygulamalarında fungusitin hem patojen üzerindeki etkililiği düşük olmakta (Copcu vd., 2002) hem de üretici bu dönemden sonra yoğun fungusit uygulamalarına giderek fungusit ile hasat arasında geçirilmesi gereken süreye dikkat etmemektedir (Burçak, 1998, Delen, 2001, Atalay vd., 2004, Koplay, 2003). Bu nedenlerden dolayı bağda *B. cinerea* 'ya karşı etkili bir kimyasal savaşım programını belirleyebilmek amacıyla hem çiçeklenme hem de olgunlaşma, yani

ben düşme döneminden itibaren iki ayrı ilaçlama programı bağa uygulanmıştır. Uygulanan iki ayrı ilaçlama programında bağda çiçeklenme döneminden itibaren başlatılan ilaçlama programının *B. cinerea* 'nın inokulum miktarını azalttığı ve her iki çeşit üzerinde de % 70 civarında etkili olduğu tespit edilmiştir. Copcu vd. (2002) bağda yaptıkları çalışmalarda salkımların sıkılaşmaya başladığı dönemde başlatılan fungusit uygulamalarının *B. cinerea* 'nın gelişimi üzerinde daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ben düşme döneminden itibaren başlatılan fungusit uygulamalarının patojenin inokulum miktarının azaltılmasında geç kalınması nedeniyle kontrol uygulamasına göre oldukça düşük etkililik gösterdiği ve hasat sırasında tespit edilen hastalık şiddetinin ise oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle *B. cinerea* ile mücadelede etkili bir savaşım yapılabilmesi için diğer ülkelerde olduğu gibi (Gullino vd., 1989, Ellis, 1998b, Latorre vd., 2002, Baroffio, 2003) ülkemizde de patojen ile mücadeleye çiçeklenme döneminden itibaren başlanması gerektiği bu çalışma ile deneysel olarak ortaya konmuştur.

B. cinerea ile etkili bir savaşım yapabilmek için, bilinçli ve kontrollü bir kimyasal savaşıma gerek olduğu bilinmektedir. Bitki hastalık ve zararlılarına karşı kullanılan kimyasalların insan sağlığını tehdit etmeyecek şekilde ürünlerde bulunmasına izin verilen miktarı tolerans yani maksimum kalıntı limiti (MRL) (mg/kg) olarak belirtilmektedir. Bağda kurşuni küfe karşı fungusit uygulamalarında kullanılan fungusitlerin etkililiğinin yanı sıra bıraktıkları kalıntı miktarları da tespit edilmelidir. Yapılan çeşitli araştırmalarda bağda uygulanan fungusitlerin fungusit ile hasat arasında geçirilmesi gereken zamana dikkat edilse bile üründe her zaman bu değerlerin altında kalmadığı hatta üzüm suyu ve şarapta da bulunabildiği tespit edilmiştir (Courderchet, 2003, Pose-Juan vd., 2006).

Yaptığımız duyarlılık ve fungusitlerin etkililik testlerine göre seçilmiş olan cyprodinil+fludioxonil 'in bağda şaraplık üzümlere uygulanması sonucu, üzümlerde ve şarapta bıraktığı kalıntı miktarının saptanması denememizin son kısmını oluşturmaktadır. Bağda hem çiçeklenme döneminden itibaren, hem de ben düşme döneminden itibaren başlatılan iki ayrı ilaçlama programında son ilaçlamadan sonra fungusit ile hasat arasında geçirilmesi gereken süreye dikkat edilerek 23. günde hasat edilen Emir şaraplık üzüm çeşidine ait tanelerde ve bu üzümünden yapılan şarapta kalıntı miktarı araştırılmıştır. Gaz kromatografisi-MS 'de yapılan değerlendirmeler sonucunda

üzümde ve şarapta çiçeklenme ve ben düşme dönemlerinden itibaren yapılan uygulamada cyprodinil 'in kalıntı miktarının ülkemiz için kabul edilen 1 mg/kg kalıntı değerlerinin oldukça altında olduğu tespit edilmiştir. Fludioxonil 'in kalıntı miktarları ise üzümde yapılan uygulamalara göre farklılık göstermiştir. Bu fungusitin ben düşme döneminden itibaren yapılan uygulamada, maksimum kalıntı limitinin altında kaldığı; ancak çiçeklenme döneminden itibaren başlatılan uygulamada kalıntı miktarının (0.6162 mg/kg) maksimum kalıntı değerinin (0.5 mg/kg) üstünde olduğu tespit edilmiştir. Ancak şarapta yapılan analizlerde her iki etkili maddenin kalıntı miktarı maksimum kalıntı değerlerinin altında olmuştur. Rabolle vd. (2006) marul ve üzümde yaptıkları çalışmalarda cyprodinil ve fludioxonil 'in 21 gün sonra maximum kalıntı değerlerinin altına indiğini tespit etmişlerdir. Pose-Juan vd. (2006) cyprodinil ve fludioxonil 'in üzüm suyunda yarılanma ömürlerinin 40 °C 'de sırasıyla 33 ve 44 gün, procymidone için ise 14 gün olarak tespit etmişlerdir. Cyprodinil ve fludioxonil 'in daha uzun süreli olarak üzüm suyunda bulunmaları nedeniyle uygulamalarında dikkat edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak çalışmamızda çiçeklenme döneminden itibaren başlatılan ilaçlama programında uygulanan cyprodinil+fludioxonil 'in şarapta maksimum kalıntı değerlerinin altında belirlenmesiyle insan sağlığına olumsuz etki yapmadığı tespit edilmiştir. Ancak sonuçlarımız üst üste çiçeklenmeden itibaren kullanılacak cyprodinil+fludioxonil 'in sofralık üzüm açısından, az da olsa problem yaratabileceğini göstermektedir.

6. ÖNERİLER

Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlara göre bağda *B. cinerea* ile savaşımında etmenin fungusitlere dayanıklılığın oluşumunun ve üzüm ve şarapta kalıntı probleminin ortaya çıkmasını engellemek için aşağıdaki önerilere dikkat edilmelidir.

1. Kurşuni küf ile mücadelede başarıya ulaşabilmek için bağda ilk önce kültürel önlemlerin eksiksiz ve titizlikle uygulanması gereklidir. Bu nedenle asma içinde hava sirkülasyonu sağlamak amacıyla yapraklar seyreltilmelidir. Aşırı azotlu ve çiftlik gübrelenmesinden ve üzümün olgunluk dönemi aşırı sulamasından kaçınılmalıdır. Üzüm hasadı çok geç döneme bırakılmamalıdır.

2. Bağda ölü kol, mildiyö, külleme ve salkım güvesi *B. cinerea* 'nın gelişimi açısından önemli olduğundan etkili fungusit uygulamaları yapılmalıdır. Özellikle külleme için seçilen fungusitlerde *B. cinerea* 'nın inokulum miktarının azaltılmasında etkili olarak kullanılabilir. Çalışmamızda bölgemizde külleme için kullanılan fungusitler arasında hexaconazole, tebuconazole ve penconazole kurşuni küfün inokulum miktarının azaltılmasında erken dönemde kullanılabilir.

3. *B. cinerea* ile mücadeleye tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çiçeklenme döneminin sonunda başlanmalıdır.

4. Bölgemizde *B. cinerea* izolatlarının, fenhexamid, procymidone ve pyrimethanil 'e dayanıklı izolatların tespit edilmesi nedeniyle bu botritisitlerin mevsim süresince bir uygulama ile sınırlandırılması dayanıklılık oluşumunu geciktirecektir. Imazalil 'in ise düşük etkililikte olması nedeniyle bölgemizde bağda kurşuni küfe karşı kullanımı tavsiye edilmemektedir.

5. Etki mekanizması farklı olan fungusitlerin kullanımlarında son ilaçlama ile hasat arasındaki süresi uzun olan fungusitlerin bağda geç dönemde kullanımlarında dikkatli olunmalıdır. Cyprodinil+fludioxonil 'in etki süresi 21 gündür. Bu fungusitin üzümde bıraktığı kalıntı nedeniyle sofralık üzümde erken dönemde kullanılması gerekirken, şarapta ise kalıntısı olmaması nedeniyle de şaraplık üzümde hasat öncesi kullanılmasında sakınca yoktur.

KAYNAKLAR

- Angioni, A., Sarais, G., Dedola, F., Caboni, P. 2006. Pyrimethanil residues on table grapes Italia after field treatment. Journal of Environmental Science and Health. Part B, Pesticides Food Contaminants, and Agricultural Wastes 41 (6), s:833-841, (CAB Abstract).
- Anonymous, 1996. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Ziraî Mücadele Standart İlaç Deneme Metodları. Cilt 2, s:229-229.
- Anonymous, 1999. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı Bağ Entegre Mücadele Teknik Talimatı s:58-60.
- Anonymous, 2002. Bitki Koruma El Kitabı. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, İzmir İl Müdürlüğü yayınları, No:352, s:300.
- Atalay, K., Copcu, M., Öngen, N. 2004. Monitoring study in order to improve success in control of rot pathogens on vines by implementing Syngenta crop programmes in the Aegean district. XIII. International *Botrytis* Symposium. 25-31 October, s:112.
- Aydoğdu, N., Büschbell, T., Kural, İ. 2001. TELDOR SC 500- Yeni bir kimyasal grubun ilk ürünü. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri. 3-8 Eylül, Tekirdağ, s:586-589.
- Bacon, R., Kushalappa, C. A., Fortin, M., Dewey, M. F. 1999. Use of a monoclonal antibody to assess the incidence of *Botrytis* latent infections in strawberry flowers and fruits. Phytopathology, 89:4, Abstract.
- Baroffio, C. A., Siegfried, W., Hilber, U. W. 2003. Long-term monitoring for resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilino-pyrimidine, phenylpyrrole and hydroxyanilide fungicides in Switzerland. Plant Diseases. Vol. 87. No.6, s:662-666.
- Beever, R. E., Laracy, E. P., Pak, H. A. 1989. Strains of *Botrytis cinerea* resistant to dicarboximide and benzimidazole fungicides in New Zealand vineyards. Plant pathology. 38 s:427-437.
- Beever, R. E., Weeds, P. L. 2004. Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia*. *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (Editörler: Elad, Y., Williamson, P., Tudzynski, P., Delen, N.). Kluwer Academic Publishers London, s:29-52.
- Bora, T., Özaktan, H. 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş Kitabı Prizma Matbaası İzmir. S:67-72.

- Bulit, J., Dubos, B. 1998. *Botrytis* bunch rot and blight. Compendium of grape diseases (Editörler: Pearson, R. C., Goheen, A. C.). The American Phytopathological Society, APS Press, USA, s:13-14.
- Burçak, A. 1998. Bağlardan İzole edilen Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea* Pers.) izolatlarına bazı fungusitlerin etkililikleri ve kalıntı açısından değerlendirilmesi. Doktora Tezi, E. Ü. Fen Bil. Ens., 179s.
- Calderon, A.A., Zapata, J.M., Munoz, R., Pedron, M.A., Barcelo, A.R. 1993. Resveratrol production as a part of the hypersensitive-like response of grapevine cells to an elicitor from *Trichoderma virine*. *Neu Phytol.* 124, 455-463.
- Calhella, R. C., Andrade, J. V., Ferreira, I. C., Estevinho, L. M. 2006. Toxicity effects of fungicides residues on the wine-producing process. *Food Mikrobiology*. Sayı:23, s: 393-398.
- Cargnello, G., Forno, S., Terzuolo, S., 1991 Istituto Sperimentale per la Viticoltura, SOP, Asti, Italy. *Vignevini* 18:5, 53-57, (CAB Abstract).
- Coertze, S., Holz, G. 1999. Surface colonization, penetration, and lesion formation on grapes inoculated fresh or after cold storage with single airborne conidia of *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* Vol:83, No:10, s:917-924.
- Coertze, S., Holz, G. 2001. Germination and establishment of infection on grape berries by single airborne conidia of *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* Vol:85, No:6, s:668-677.
- Coley-Smith, J. R., Verhoeff, K. and Jarvis, W. R. 1980. *The Biology of Botrytis*. Academic Pres. 318 p.
- Commenil, P., Brunet, L., Audran, J-C. 1997. The Development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *Journal of Experimental Botany*, Vol.48, No.313, s:1599-1607.
- Courderchet, M. 2003. Benefits and problems of fungicide control of *Botrytis cinerea* in vineyards of champagne. *Vitis*, 42, s:165-171.
- Copcu, M., Çetin, V., Atalay, K. 2002. Ege Bölgesi bağlarında salkım çürümelerine karşı kurşuni küf mücadelesinde başarıyı artırabilme olanakları. *Türkiye V. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu Bildirileri*. 5-9 Ekim Nevşehir, s: 307-311.
- Çelik, S. 1998. Bağcılık (Ampeloloji). Cilt 1. Anadolu Mabaal Ambalaj San. ve Tic. LTD. ŞTİ. İstanbul/Türkiye. 426s.
- Çelik, H. 2002. Üzüm çeşit kataloğu. Sunfidan A. Ş. Mesleki Kitaplar Serisi. 137s.

- Daferera, D. J., Basil, N. Z., Polissiou, M. G. 2002. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* sub sp. *michiganensis* Crop Protection. 22, s:39-44.
- Davis, R.P., Dennis, C. 1981. Properties of Dicarboximide-Resistant Strains of *Botrytis cinerea*. Pesticide Science, 12, s:521-535.
- Dekker, 1982. Countermeasures for avoiding fungicide resistance. Fungicide Resistance in Crop Protection, Dekker, J. and Georgopoulos, S. G.(Eds.), Center for Agricultural Publishing and documentation, 177-178, wageningen, 265s.
- Delen, N., Yıldız, M., Maraite, H. 1984. Benzimidazole and Dithiocarbamate resistance of *Botrytis cinerea* on greenhouse crops in Turkey. Mededelingen in Viticulture ed Enologia Universita Torino. 9, s:278-279.
- Delen, N. 1997. Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları Ders Notları: 26/5. 60s.
- Delen, N., Tosun, N., Yıldız, Z., Köycü, N. D. 1998. *Botrytis cinerea* izolatlarının bazı DMI 'ü fungusitlere duyarlılığı. Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 21-25 Eylül, Ankara, s:437-442.
- Delen, N. 2001. Bağlarda fungal kaynaklı salkım çürüklükleri konusunda çalışmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri. 3-8 Eylül, Tekirdağ, s:347-353.
- Delen, N., Koplay, C. 2002. Bağlarda kurşuni küf hastalığı etmeni *Botrytis cinerea* ile kimyasal savaşım konusunda çalışmalar. Türkiye V. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu Bildirileri. 5-9 Ekim Nevşehir, s:147-151.
- Delen, N., yıldız, M., Koplay, C., Kınay, P., Coşkuntuna, A., Yıldız, F. 2003. Sebze seralarında kurşuni küf hastalığı ile kimyasal savaşım açısından *Botrytis cinerea* 'nın bazı fungusitlere duyarlılığı konusunda çalışmalar. Türkiye IV.Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Hasat Yayınları, s:568-569.
- Delen, N., Koplay, C., Yıldız, M., Güngör, N., Kınay, P., Yıldız, F., Coşkuntuna, A. 2004. XIII. International *Botrytis* Symposium. 25-31 October, s:111.
- Delen, N. 2006. Kurşuni küf hastalığı etmeni *Botrytis cinerea* 'nın bağdaki epidemiyolojisi ve savaşımı. Başak Tarım Dergisi. Sayı:4, s:68-72.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. 1987. Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları II). A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 1021, Ders kitabı, 295s. Ankara.
- Edgecomb, D. W., Dunham, W. 2004. SERENADE® *Bacillus subtilis* (QST 713): a new biological tool for bunch rot (*Botrytis cinerea*) control in grapes. XIII. International *Botrytis* Symposium. 25-31 October, s:67.

- Elad, Y. 1994. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. Crop Protection Volume 13, Number 1, s:35-38.
- Elad, Y., Stewart, A. 2004. Microbial control of *Botrytis* spp. *Botrytis: Biology and control* (Editörler: Elad, Y., Williamson, P., Tudzynski, P., Delen, N.). Kluwer Academic Publishers London, s:223-236.
- Ellison, P., Ash, G., McDonald, C. 1998a. An expert system for the management of *Botrytis cinerea* in Australian Vineyards. I. Development. *Agricultural Systems*, Vol.56, No.2, s:185-207.
- Ellison, P., Ash, G., McDonald, C. 1998b. An expert system for the management of *Botrytis cinerea* in Australian Vineyards. II. Validation. *Agricultural Systems*, Vol.56, No.2, s:209-224.
- English, J.T., Thomas, C.S., Marois, J., Gubler, W.D. 1989. Microclimates of grapevine canopies associated with leaf removal and control of *Botrytis* bunch rot. *Phytopathology*, Vol.79, No.4, s:395-401.
- Erkan, M., Demir, T., Öz, S., Delen, N. 1997. Investigations on the sensitivities of grey mold (*Botrytis cinerea*) isolates on grapes against some fungicides. *Journal Turkish Phytopathology*. 26 (2-3), s:87-96.
- Fermaud, M., Le-Menn, R. 1989. Association of *Botrytis cinera* with grape berry moth larvae. *Phytopathology*, Vol.79. No.6, s:651-656.
- Ferre, D., Steiner, T., Gallander, J., Scurlock, D., Johns, G., Riesen, R. 2002. Performance of 'Seyval Blanc' Grape in Four Training Systems Over Five Years. *HortScience* 37 (7), s:1023-1027.
- Forster, B., Staub, T. 1996. Basis for use strategies of anilinopyrimidine and phenylpyrrole fungicides against *Botrytis cinerea*. *Crop Protection*. Sayı:15, s:529-537.
- Gullino, M. L., Aloı, C., Garibaldi, A. 1989. Influence of spray schedules on fungicide resistant populations of *Botrytis cinerea* Pers. on grapevine. *Neth. J. Pl. Path.* 95 Supplement 1, s:87-94.
- Gullino, M. L., Leroux, P., Smith, C. M. 2000. Uses and challenges of novel compounds for plant disease control. *Crop Protection*. 19, s:1-11.
- Harman, G.E., Latorre, B., Agosin, E., San Martin, R., Riegel, D.G., Nielsen, P.A., Tronsmo, A., Pearson, R.C. 1996. Biological and integrated control of *Botrytis* bunch rot of grape using *Trichoderma* spp. *Biological Control* 7, s:259-266.
- Hilber, U. W., Hilber-Bodmer, M., 1998. Genetic basis and monitoring of resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilinopyrimidines. *Plant Disease*. Vol:82 (5), s:496-500.

- Holz, G. 2000. Infection Pathways of *Botrytis cinerea* on Grape Bunches. XII. International *Botrytis* Symposium.48. 3-7 july. Reims-France.
- Holz, G., Gütschow, M., Coertze, S. 2003. occurrence of *Botrytis cinerea* and subsequent disease expression at different positions on leaves and bunches of grape. Plant Disease. Vol.87, s:351-358.
- Jarvis, W. R. 1980. Epidemiology of *Botrytis*. The Biology of *Botrytis* (Editörler: Coley-Smith, J. R., Verhoef, K., Jarvis, W. R.), Academic Press Inc. London, s:219-245.
- Jeandet, P., Bessis, R., Gautheron, B. 1991. The Production of Resveratrol (3,5,4 '-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. Am. J. Enol. Vitic. Vol.42, No.1.
- Johnson, K. B., Sawyer, T. L., Powelson, M. L. 1994. Frequency of benzimidazole and dicarboximide resistant strains of *Botrytis cinerea* in Western Oregon small fruit and snap bean plantings. Plant Disease.Vol. 78 No.6, s:572-578.
- Kasimatis, A.N., Christensen, L.P., Luvisi, D.A., Kissler, J. J.1980. Wine grape varieties in the san joaquin valley. Agricultural Sciences Publications Univercity of California, No, 4009, 30s.
- Keller, M., Viret, O., Cole, F. M. 2003. *Botrytis cinerea* Infection in grape flowers: defence reaction, latency, and disease expression. Phytopathology, 93, s:316-322.
- Koplay, C. 2003. Sofralık sultani üzümde fungal kaynaklı çürüklük patojenlerinin saptanması ve *in-vitro* koşullarda etkili fungusitlerle önlenmesi üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. Fen Bil. Ens., 107s.
- Köhl, j., Gerlagh, M., Grit, G. 2000. Biocontrol of *Botrytis cinerea* By *Ulocladium atrum* in different production systems of Cyclamen. Plant Disease. 84, s:569-573.
- Köycü, N. D., Özer, N., Özer, C. 2005. Önemli şaraplık üzüm çeşitlerinin Tekirdağ ili ekolojik koşullarında kurşuni küf hastalığına karşı reaksiyonları. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu. Tekirdağ.
- Latorre, B. A., Flores, V., Sara, A. M., Roco, A. 1994. Dicarboximide-resistant isolates of *Botrytis cinerea* from table grape in Chile:Survey and characterization. Plant Disease. 78, s:990-994.
- Latorre, B. A., Egosin, E., Martin, R. S., Vasquez, G. S. 1997. Effectiveness of conidia of *Trichoderma harzianum* produced by liquid fermentantion against *Botrytis* bunch rot of table grape in Chile. Crop Protection Vol. 16. No.3, s:209-214.

- Latorre, B. A., Spadoro, I., Riojaba, M. E. 2002. Occurrence of resistant strains of *Botrytis cinerea* to anilinopyrimidine fungicides in table grapes in Chile. *Crop Protection*. 21: 957-961.
- Leroux, P., Chapeland, F., Desbrosses, D., Gredt, M. 1999. Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop protection*. 18, s:687-697.
- Leroux, P., 2004. Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. *Botrytis: Biology and control* (Editörler: Elad, Y., Williamson, P., Tudzynski, P., Delen, N.). Kluwer Academic Publishers London, s:195-222.
- Lichter, A., Zutkhy, Y., Sonogo, L., Dvir, O., Kaplunov, T., Sarig, P., Ben-Arie, R. 2002. Ethanol controls postharvest decay of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*. Sayı, 24, s: 301-308.
- Luis, C., Girard, M., Kulh, G., Lopez-Ferber, M. 1996. Persistence of *Botrytis cinerea* in Its Vector *Drosophila melanogaster*. *Phytopathology*, Vol.86, No.9, s:934-939.
- Marin, A., Oliva, J., Garcia, C., Navarro, S., Barba, A. 2003. Dissipation rates of cyprodinil and fludioxonil in lettuce and table grape in the field and under cold storage conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (16), s:4708-4711 (CAB Abstract).
- Masih, E.I., Alie, I., Paul, B. 2000. Can the grey mould disease of the grape-vine be controlled by Yeast? *FEMS Microbiology Letters* 189, s:233-237.
- McClellan, W.D., Hewitt, W.B. 1973. Early *Botrytis* Rot Grapes: Time of infection and latency of *Botrytis cinerea* Pers. In *Vitis vinifera* L. *Phytopathology* 63, s:1151-1157.
- Michailides, T. J., Morgan, D. P., Felts, D., Peacock, B. 2000. Infection of California table grapes and detection and significance of symptomless latent infection by *Botrytis cinerea*. XII. International *Botrytis* Symposium, Universite 2 de Reims, Champagne-Ardenne. s:48.
- Moret, A., Nadal, M., Munoz, Z. 2003. Assay of the fungicidal action of acetylsalicylic acid on *Botrytis cinerea*. XIII. International *Botrytis* Symposium. 25-31 October, s: 34.
- Moyano, C., Gomez, V., Malgarejo, P. 2004. Resistance to pyrimethanil and other fungicides in *Botrytis cinerea* populations collected on vegetable crops in Spain. *Journal Phytopathology* 152, s:484-490.
- Nair, N.G., Allen, R.N. 1993. Infection of grape flowers and berries by *Botrytis cinerea* as a function of time and temperature. *Mycological Research*, 97, s:1012-1014.

- Nigro, F., Ippolito, A., and Lima, G. 1998. Use of UV-C Light to reduce *Botrytis* storage rot of table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 13 s:171-181.
- O'Neill, T., Green, K., Shepherd, A. 2003. Evidence of latent infection by *Botrytis cinerea* in cyclamen and poinsettia. XIII. International *Botrytis* Symposium. 25-31 October, s: 23-24.
- Özer, N., Köycü, N. D., Özer, C., Ippolito, A. 2004. Evaluation of susceptibility of table grape cultivars to *Botrytis* bunch rot. XIII. International *Botrytis* Symposium, Antalya. s: 85.
- Özhendekçi, N. 1977. İznik Müşküle Üzümü Bağlarında Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea* Pers.) Hastalığını Yapan Etmenin Biyolojisi ve Savaşı Üzerinde Araştırmalar. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı İstanbul Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Yayınları. Teknik Bülten No:12.
- Paul, B. 1999a. Suppression of *Botrytis cinerea* Causing the Grey Mould Disease of Grape-vine by an aggressive mycoparasite, *Pythium radiosum*. *FEMS Microbiology Letters* 176, s:25-30.
- Paul, B. 1999b. *Pythium periplocum*, an Aggressive mycoparasite of *Botrytis cinerea* causing the grey mould disease of grape-vine. *FEMS Microbiology Letters* 181, s:277-280.
- Percival, D.C., Fisher, K.H., Sullivan, J.A. 1994. Use of fruit zone leaf removal with *Vitis vinifera* L. cv. Riesling grapevines. II.Effect on Fruit Composition, Yield, and Occurrence of Bunch Rot (*Botrytis cinera* Pers.Fr.) *Am. J. Enol. Vitic. Vol.45, No.2*.
- Pose-Juan, E., Cancho-Grande, B., Rial-Otero, R., Simal-Gandara, J. 2006. The dissipation rates of cyprodinil, fludioxonil, procymidone and vinclozoline during storage of grape juice. *Food Control* 17, s:1012-1017.
- Rabolle, M., Spliid, N. H., Kristensen, K., Kudsk, P. 2006. Determination of fungicide residues in field-grown strawberries following different fungicide strategies against grey mold (*Botrytis cinerea*). *Journal of Agricultural and Food chemistry* 54 (3), s:900-903, (CAB Abstract).
- Raposo, R., Delcan, J., Gomez, V., Melgarejo, P. 1996. Distribution and fitness of isolates of *Botrytis cinerea* with multiple fungicide resistance in Spanish greenhouses. *Plant Pathology. Vol.45, s:497-505*.
- Raposo, R., Gomez, V., Urritia, T., Melgarejo, P. 2000. Fitness of *Botrytis cinerea* Associated with dicarboximide resistance. *Phytopathology. Vol.90, s:1246-1249*.
- Retamales, J., Defilippi, B. G., Arias, M., Castillo, P., Manriquez, D. 2003. High-CO₂ controlled atmospheres reduce decay incidence in thompson Seedless and Red Globe table grapes. *Postharvest Biology and Technology. Sayı, 29, s:177-182*.

- Rial-Otero, R., Gonzales-Rodriguez, R. M., Cacho-Grande, B., Simal-Gandara, J. 2004. Parameters affecting extraction of selected fungicides from vineyard soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 (24), s: 7227-7234, (CAB Abstract).
- Rebordinos, L., Vallejo, I., Carbu, M., Cantoral, J. M. 2003. Control of agricultural diseases and pests: The case of *Botrytis cinerea*. *Mikroorganismen für Health Care, Food and Enzyme Production*. S: 269-287.
- Rosenquist, J. K., Morrison, J.C. 1989. Some factors affecting cuticle and wax accumulation on grape berries. *Am. J. Enol. Vitic.* Vol. 40, No:4.
- Rosslenbroich, H. J., Stuebler, D. 2000. *Botrytis cinerea* history of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop Protection*. 19, s:557-561.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., and Salerno, M. 2001. Effect of short hypobaric treatments on postharvest rots of Sweet Cherries, Strawberries and Table Grapes. *Postharvest Biology and Technology* 22, s:1-6.
- Romano, M.L., Gullino, M.L. and Garibaldi, A. 1983. Prove di Competizione in Capsula Petri e su Acini di uva in Laboratorio Tra Ceppi di *Botrytis cinerea* Pers. Sensibili e Resistenti ai Dicarbossimidici. *La Difesa delle Piante*, 2, s:75-80.
- Savage, S.D., Sall, M.A. 1983. *Botrytis* bunch rot grapes: The influence of selected cultural practices on infection under california conditions. *Plant Disease*. Vol.67, No.7, s:771-774.
- Sholberg, P. L., Bedford, K., Stokes, S. 2005. Sensitivity of *Penicillium* spp. and *Botrytis cinerea* to pyrimethanil and its control of blue and grey mold of stored apples. *Crop Protection*. 24, s:127-134.
- Soulie, M., Perino, C., Piffeteau, A., Cheoquer, M., Malfatti, P., Cimerman, A., Kunz, C., Boccara, M., Vidal-Cros, A. 2006. *Botrytis cinerea* virulence is drastically reduced after disruption of chitin synthase class III. gene (Bcchs3a). *Cellular Microbiology*. 8 (8), s:1310-1321.
- Türküsay, H., Onoğur, E. 1998. Bazı bitki ekstraktlarının *in vitro* antifungal etkileri üzerine araştırmalar. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Sayı:22, s:267-271.
- Thomas, C.S., Marois, J.J., English, J.T. 1988. The Effects of wind speed, temperature, and relative humidity on development of aerial mycelium and conidia of *Botrytis cinerea* on grape. *Phytopathology*, Vol.78, No.3, s:260-265.
- Vail, M.E., Marois, J.J. 1991. Grape cluster architecture and susceptibility of berries to *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, Vol.81, No.2, pp.188-191.

- Vallejo, I., Carbu, M., Rebordinos, L., Cantoral, J. M. 2003. Virulence of *Botrytis cinerea* strains on two grapevine varieties in South-Western Spain. *Biologia Bratislava*, 58, s:1067-1074.
- Verhoeff, K. 1980. The infection process and host-pathogen interactions. *The Biology of Botrytis* (Editörler: Coley-Smith, J. R., Verhoef, K. ve Jarvis, W. R.), Academic Press Inc. London, s:153-177.
- Yücer, M. 2006. Tarım İlaçları. Hasat Yayıncılık, İstanbul. TİSİT, 300s.
- Walter, M., Harris-Virgin, P., Morgan, C., Stanley, J., Bod-Wilson, K. S. H., Langford, G. I., Moore, M. S. 2005. Fungicides for control of flower and berry infections of *Botrytis cinerea* in boysenberry. *Crop Protection*. 24, s:625-631.
- Zahavi, T., Cohen, L., Weiss, B., Schena, L., Daus, A., Kaplunov, T., Zutkhi, J., Ben-Arie, R., Droby, S. 2000. Biological Control of *Botrytis*, *Aspergillus* and *Rhizopus* rots on table and wine grapes in Israel. *Postharvest Biology and Technology* 20, s:115-124.
- Ziogas, B. N., Kalamarakis, A. E. 2001. Phenylpyrrole fungicides: Mitotic instability in *Aspergillus nidulans* and resistance in *Botrytis cinerea*. *Journal Phytopathology*, 149, s:301-308.
- Ziogas, B. N., Markoglou, A. N., Malandrakis, A. A. 2003. Studies on the inherent resistance risk to fenhexamid in *Botrytis cinerea*. *European Journal of plant Pathology*. 109, s:311-317.
- Zoffoli, J. P., Latorre, B. A., Rodriguez, E. J., Aldunce, P. 1999. Modified atmosphere packaging using chlorine gas generators to prevent *Botrytis cinerea* on table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 15, s:135-142.

Ek Çizelge 4.10. Fungisitlerin *B. cinerea* izolatlarının miselyal gelişmelerine karşı gösterdiği MIC ($\mu\text{g/ml}$) değerleri

İzolat No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc2	100	1	3	3	30	30	3	3	3	1	30
Bc7	100	1	30	3	30	30	10	3	3	3	>100
Bc9	100	1	1	1	10	30	3	1	1	1	30
Bc11	100	0,1	10	3	30	10	1	3	3	3	30
Bc12	100	1	3	3	100	30	10	3	3	3	100
Bc15	>100	1	30	3	30	30	3	3	3	3	100
Bc16	>100	1	3	3	100	30	3	3	3	1	>100
Bc19	>100	1	30	3	30	100	10	3	1	3	>100
Bc22	>100	1	100	3	100	30	10	3	3	3	>100
Bc26	>100	1	100	3	30	100	30	3	1	1	>100
Bc29	100	1	3	10	10	30	10	3	1	3	100
Bc29c	100	1	3	10	10	30	10	3	1	3	100
Bc29 ₁	>100	1	10	30	10	30	30	3	10	10	100
Bc29 _t	>100	1	10	30	30	30	3	1	10	10	>100
Bc31	>100	1	10	3	10	>100	10	3	30	3	100
Bc31c	>100	3	10	3	10	100	10	3	30	3	100
Bc31 ₁	>100	3	10	10	30	100	10	3	10	10	100
Bc31 _t	>100	3	10	100	30	100	1	3	10	3	>100
Bc33	>100	1	100	100	30	30	10	3	30	10	30
Bc33c	>100	1	100	100	30	30	10	3	10	10	30
Bc33 ₁	>100	1	100	100	>100	30	10	3	3	10	30
Bc33 _t	>100	1	100	100	100	100	1	3	3	10	>100
Bc34	>100	3	10	3	100	30	10	3	30	3	100
Bc34c	>100	1	10	3	30	30	10	3	30	10	100
Bc34 ₁	>100	1	30	3	30	100	10	3	30	10	100
Bc34 _t	>100	3	100	10	30	100	3	3	30	10	>100

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pirimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol

Ek Çizelge 4.10. (devam)

İzolat No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc36	>100	3	30	10	100	30	10	3	30	10	100
Bc36c	>100	3	30	10	10	30	10	3	30	10	100
Bc361	>100	3	100	10	10	>100	10	3	30	10	100
Bc37	100	1	3	3	3	100	3	1	3	1	100
Bc37c	100	1	3	3	3	100	3	3	3	1	100
Bc371	100	1	3	3	30	30	10	3	3	3	30
Bc38	100	1	1	1	3	30	3	3	1	3	30
Bc38c	100	1	1	1	10	30	3	3	3	1	30
Bc381	100	1	3	1	10	30	10	3	3	1	30
Bc39	100	1	100	3	100	100	10	3	3	1	100
Bc39c	100	1	100	3	30	30	3	3	3	1	100
Bc391	100	1	100	3	30	30	3	3	3	3	100
Bc40	100	0,1	1	1	100	10	3	3	3	1	30
Bc40c	100	0,1	1	1	100	10	3	3	3	1	30
Bc401	100	0,1	3	3	100	30	3	3	3	1	30
Bc41	100	0,03	1	1	1	30	1	1	1	3	100
Bc41c	100	0,03	1	1	1	30	1	1	1	3	100
Bc42	100	1	3	1	30	30	10	3	3	1	30
Bc42c	100	1	3	1	30	100	10	3	3	1	30
Bc421	>100	1	10	1	30	100	10	3	1	3	100
Bc43	100	1	10	3	10	30	3	3	3	3	100
Bc43c	100	1	10	3	10	30	3	3	3	3	100
Bc431	>100	1	30	3	30	100	10	3	10	10	100
Bc44	100	1	1	1	3	30	3	1	1	1	30
Bc44c	100	1	3	1	3	30	3	1	1	1	30
Bc441	100	0,1	3	1	3	30	10	3	1	1	30

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pirimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol

Ek Çizelge 4.10. (devam)

İzolot No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc45	>100	1	3	10	30	100	10	3	1	3	30
Bc45c	100	1	10	10	30	100	10	3	1	3	30
Bc451	>100	1	10	10	30	100	10	3	3	3	100
Bc46	>100	1	100	3	10	30	3	1	10	3	30
Bc46c	100	1	100	3	10	100	10	1	10	3	30
Bc461	100	3	100	3	30	100	10	3	10	3	100
Bc47	>100	1	1	10	30	30	3	3	1	3	30
Bc47c	100	1	1	3	30	30	3	3	1	3	30
Bc471	100	0,1	3	3	30	100	10	3	1	10	100
Bc49	>100	1	1	3	10	100	10	3	3	3	>100
Bc49c	100	1	1	3	10	100	10	3	3	3	>100
Bc491	100	1	1	3	3	100	10	3	3	3	>100
Bc54	100	1	100	3	30	100	10	3	3	3	100
Bc54c	100	1	100	3	30	100	10	3	3	3	100
Bc541	>100	0,1	100	3	100	100	10	3	3	10	100
Bc55	100	1	100	3	100	100	30	3	3	1	100
Bc55c	100	1	100	3	100	100	10	3	3	1	100
Bc551	100	1	100	3	100	100	10	3	3	3	100

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pirimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol

Ek Çizelge 4.11. Fungisitlerin *B. cinerea* izolatlarının spor çimlenmesine karşı gösterdiği MIC ($\mu\text{g/ml}$) değerleri

İzolat No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc2	100	1	10	10	30	100	30	3	3	3	30
Bc7	100	1	10	10	10	100	30	3	10	3	>100
Bc9	100	1	3	10	30	30	30	3	3	3	30
Bc11	100	1	10	3	10	30	10	1	3	3	30
Bc12	100	1	10	3	100	100	10		3	3	>100
Bc15	>100	1	10	3	10	100	10	3	3	1	>100
Bc16	>100	1	10	3	10	100	10	3	3	3	>100
Bc19	>100	1	10	3	10	100	10	3	3	3	>100
Bc22	100	1	10	3	100	100	30	3	10	3	>100
Bc26	>100	1	10	3	30	100	10	3	3	1	100
Bc29	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	3	30
Bc29c	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	3	30
Bc29 ₁	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	3	30
Bc31*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bc33	100	1	10	30	30	100	30	3	3	10	30
Bc33c	100	1	10	30	30	100	30	3	3	10	30
Bc33 ₁	100	1	10	30	30	100	30	3	3	10	30
Bc34	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	1	30
Bc34c	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	1	30
Bc34 ₁	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	1	30
Bc36	100	1	30	10	10	100	10	3	10	10	30
Bc36c	100	1	30	10	10	100	10	3	10	10	30
Bc36 ₁	100	1	30	10	10	100	10	3	10	10	30
Bc37	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	1	30
Bc37c	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	1	30
Bc37 ₁	>100	1	10	10	10	100	10	3	3	1	30

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pirimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol, *Bc31 izolatı spor oluşturmamaktadır

Ek Çizelge 4.11. (devam)

İzolot No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc38	100	1	10	1	30	30	10	3	3	1	30
Bc38c	100	1	10	1	10	30	10	3	3	1	30
Bc38 ₁	100	1	10	1	10	30	10	3	3	1	30
Bc39	100	1	10	3	10	100	10	3	3	3	30
Bc39c	100	1	10	3	30	100	3	3	3	3	30
Bc39 ₁	100	1	30	3	30	100	3	3	10	10	>100
Bc40	100	1	3	10	10	30	3	1	3	1	30
Bc40c	100	1	3	10	10	30	3	1	3	1	30
Bc40 ₁	100	1	3	10	10	30	3	1	3	1	30
Bc41	100	1	10	10	3	100	10	1	3	3	30
Bc41c	100	1	10	10	3	100	10	1	3	1	30
Bc42	>100	1	10	10	30	100	10	1	3	1	30
Bc42c	100	1	10	10	30	100	10	1	3	1	30
Bc42 ₁	100	1	10	10	30	100	10	1	3	1	30
Bc43	100	1	10	10	10	30	10	3	3	3	100
Bc43c	100	1	10	10	10	30	10	3	3	3	100
Bc43 ₁	100	1	10	30	30	100	10	3	10	10	100
Bc44	100	1	10	10	30	100	30	3	10	1	30
Bc44c	100	1	10	10	30	100	10	3	10	1	30
Bc44 ₁	100	1	10	10	30	100	10	3	10	1	30
Bc45	>100	1	10	10	30	100	10	1	3	3	30
Bc45c	>100	1	10	10	30	100	10	1	3	3	100
Bc45 ₁	100	1	10	10	30	100	10	1	3	3	30

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pyrimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol, *Bc31 izolotu spor oluşturmamaktadır

Ek Çizelge 4.11. (devam)

İzolât No	Cap.	Cyp+fluo.	Fen.	Hex.	Imaz.	Myc.	Pencon.	Procy.	Pyr.	Teb.	Tria.
Bc46	100	1	10	10	10	100	10	1	3	3	30
Bc46c	100	1	10	10	10	100	10	1	3	3	30
Bc46 ₁	100	1	10	10	10	100	10	1	3	3	30
Bc47	100	1	3	10	10	100	10	1	3	3	30
Bc47c	100	1	3	10	10	100	10	1	3	3	30
Bc47 ₁	100	1	3	10	10	100	10	1	3	3	30
Bc49	100	1	10	10	10	100	10	3	3	3	30
Bc49c	100	1	10	10	10	100	10	3	3	3	30
Bc49 ₁	100	1	10	10	10	100	10	3	3	3	30
Bc54	100	1	30	10	10	100	10	3	3	10	>100
Bc54c	100	1	10	10	30	100	10	1	3	10	30
Bc54 ₁	>100	1	10	10	30	100	10	1	10	10	30
Bc55	100	1	10	10	30	100	10	1	10	1	30
Bc55c	100	1	10	10	30	100	10	1	10	1	30
Bc55 ₁	100	1	10	10	30	100	10	1	10	1	30

Cap.:Captan, Cyp.+fluo.:Cyprodinil+fludioxonil, Fen.:Fenhexamid, Hex.:Hexaconazole, Imaz.:Imazalil, Myc.:Myclobutanil, Pencon.:Penconazole, Procy.:Procymidone, Pyr.:Pyrimethanil, Teb.:Tebuconazole, Tria.:Triadimenol, *Bc31 izolâtı spor oluşturmamaktadır

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Denizli 'nin Çal ilçesinde dünyaya geldim. İlk öğrenimimi Çal ilçesinde tamamladım. Orta öğrenimimi Denizli 'de tamamladım. Lisans eğitimimi Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 'nde tamamladım. 1993 yılında Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 'nde yüksek lisans eğitimine başladım. 1994 yılında Araştırma görevlisi olarak göreve başladım. 1996 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladım. Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerinde yardımcı araştırmacı olarak görev aldım. 2000 yılında TÜBİTAK-CNR (İtalya Ulusal Araştırma Konseyi) işbirliği çerçevesinde gerçekleştirilen ortak projede yardımcı araştırmacı olarak İtalya 'nın Viterbo şehrinde bulunan Università Degli Studi Della Tuscia 'da 15 gün süre ile çalışmada görev aldım. 2005 yılında Erasmus-Socrates programı çerçevesinde İtalya 'nın Viterbo şehrinde bulunan Università Degli Studi Della Tuscia 'da 4 ay süre ile çalışma yapmak üzere bulundum. Evliyim ve bir çocuk annesiyim.