

Manisa İli Bağlarından İzole Edilen Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea* Pers.)'ün Bazı Fungusitlere Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Nurdan Güngör Savaş, Esra Albaz, Yüksel Savaş, Bilgehan Karahan
Manisa Bağcılık Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Bitki Sağlığı Bölümü Yunusmre, Manisa
e-posta: nurdan.gungorsavas@gthb.gov.tr

Özet

Türkiye'nin en önemli üzüm üretim merkezi olan Manisa, 513.975 hektar tarım alanına sahiptir. Manisa ili bağ alanı 73.822 hektar olup toplam tarım alanının yaklaşık %15'lik kısmını oluşturmaktadır. Ege Bölgesinde özellikle Manisa ili üzümün üretimi için benzersiz bir alandır ve üretilen ürünün %90'ını ihracata gitmektedir (Anonymous, 2011). İhracat sırasında nitel ve nicel kayıplara yol açan kurşuni küf çürüklüğü (*Botrytis cinerea* Pers.) doğrudan ürünü etkilemektedir. 2014 yılında Manisa ilindeki Sultani Çekirdeksiz üzüm bağlarından gelen örneklerde toplam 5 tane *B. cinerea* Pers. izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlar pyrimethanil (Melintos SC), cyprodinil+fludioxanil (Switch 62.5 WG), boscalid (Cantus WG), myclobutanil (Sythane 12 E) etkili maddeli fungusitlerin 0 (Kontrol), 1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/ml dozlarını içeren MM bes ortamında (Minimal Medium: 1 litre için; 20 g glikoz, 20 g agar, 1 g K₂HPO₄, 0.5 g MgSO₄.7H₂O, 1g FeCl₃.1.5g L-Asparagin, 1g Yeast Extract) denemeye alınmıştır. İzolatların fungusitlere duyarlılık düzeyleri EC₅₀ (misyel gelişimi %50 engelleyici doz) değeri ile saptanmıştır. Fungusitlere dayanıklı izolatların virülensliği ile fungusitlerin ticari dozlarının (1/1, 1/2 ve 1/4 oranlarında hazırlanarak) etkililiği yaprak testlerine göre belirlenmiştir. Laboratuvar koşullarında yürütülen tüm denemeler 3 tekrarlı olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. İzolatlar boscalid ve cyprodinil+fludioxanil'e duyarlı bulunmuştur. Boscalid' in ticari dozu yaprak testlerinde en etkili sonucu vermiştir.

Anahtar kelimeler: Bağ, *Botrytis cinerea*, fungusit, duyarlılık

Investigations on The Effectiveness of Some Fungicides Against Gray Mold (*Botrytis cinerea* Pers.) Isolates Isolated from Grapes of Manisa Province

Abstract

Manisa province has an important production center of Sultana seedless in Turkey. Manisa the most important grape production center of our country has 513 975 hectares of agricultural land. 73 822 hectares of vineyard area of our city, our province accounted for approximately 15% of the total agricultural area. The Aegean region especially Manisa province is the unique area of production for Sultana seedless and 90% of production goes to the export market (Anonymous, 2011). In particular, we are exporting a large part of the Sultana seedless. Gray mold rot (*Botrytis cinerea* Pers.) which are caused affected directly product during the exports lead to qualitative and quantitative losses. In this study, five *B. cinerea* Pers. isolates have been obtained from the vineyards in Manisa in 2014 on Sultana seedless. These isolates pyrimethanil (Melintos SC), cyprodinil + fludioxanil (Switch 62.5 WG), boscalid (Cantus WG), myclobutanil (Sythane 12 E) the effective substance fungicide 0 (control), 1, 3, 10, 30, 100, 300 mg / including mL doses were tested in (Minimal Medium: For per liters; 20 g glukose, 20 g agar, 1 g K₂HPO₄, 0.5 g MgSO₄.7H₂O, 1g FeCl₃.1.5g L-Asparagin, 1g Yeast Extract) MM medium. Fungicides sensitivity of isolates were determined by the value EC₅₀ (50% inhibitory dose mycelial growth). Of isolates of fungicides-resistance were determined by measuring virulence with effectiveness doses of commercial formulation of fungicides (1/1, 1/2 and 1/4 are prepared in ratios) on leaves test. Isolates were found sensitive to boscalid and cyprodinil + fludioxanil. Boscalid's commercial dose was found the most effective result in test leaves.

Keywords: Grapes, *Botrytis cinerea*, fungicides, effectiveness

Giriş

Türkiye'nin en önemli üzüm üretim merkezi olan Manisa, 513.975 hektar tarım alanına sahiptir. Manisa ili bağ alanı 73.822 hektar olup toplam tarım alanının yaklaşık %15'lik kısmını oluşturmaktadır (Anonymous, 2011). Ege Bölgesi gibi kıyı şeridinde sahip bölgelerde yer alan bağlarda yaygın görülen

fungel hastalıklardan birisi de kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.)'dür. Kurşuni küf, hem saprofit olarak hem de parazit olarak bağ vejetasyonun her döneminde izole edilebilen bir patojendir (Holz ve Volkman, 2002; Koplay, 2004).

Kurşuni küf, tropikal ve subtropikal bölgelerdeki soğuk alanlarda daha hızlı gelişme

göstermektedir. Sürgünlerin gelişmeye başladığı dönemde havaların uzun süreli yağışlı ve serin gitmesi durumunda hastalık ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, olgunlaşmış meyvelerin kabuğundaki büyüğünden küçüğüne her bir yara *B. cinerea*, için potansiyel giriş noktasıdır. Salkım güvesi (*Lobesia botrana*) larvalarının olgunlaşmış tanelerde oluşturduğu yaralar, *B. cinerea* için giriş noktalarını oluşturmaktadır. Benzer bir şekilde, sezon başlangıcında ufak şekilde taneleri yaralayarak beslenen thripsler, zamanla olgunlaşmaya başlayan tanelerde oluşturduğu küçük çatlaklar ile elastikiyetin azalmasına ve meyve kabukları üzerinde *B. cinerea*'nın enfeksiyonlarına sebep olabilmektedir. Külleme ve mildiyö gibi hastalıkların oluşturduğu nekrozlarda, saprofitik özelliği yüksek olan ve ölü dokularda hızla gelişebilen *B. cinerea*'nın yoğunlaştığı bilinmektedir. Çiçeklenmenin başlamasından 4 hafta önce külleme etmeni *E. necator* ile inokule edilmiş bağlarda hasat sırasında 10 kat daha fazla *Botrytis* çürüklüğü görülmüş, ayrıca saprofit mikroorganizma popülasyonunda ise 5-50 kat artış olmuştur (Gadoury ve ark., 2000).

Hastalık, çiçeklenme dönemi öncesinde sürgün yanıklığı şeklinde görülür. Çiçeklenme döneminin sonuna doğru ise, etmenin konidia sporları stamen üzerinde gelişerek stigmadan içeriye girmekte ve yumurtalığa yerleşerek gelişmesine devam etmektedir. Asmada erken dönemde bulunan doğal savunma maddeleri, latent enfeksiyonun oluşumuna neden olmaktadır (Michailides ve ark., 2000; Coertze ve Holz, 2001; Keller ve ark., 2003). Olgunlaşmamış tanenin kabuk dokusunda bulunan stilbenlerden özellikle resveratrol ve viniferin ben düşme dönemine kadar tane kabuğunda bol miktarda bulunmakta ve *B. cinerea*'nın enfeksiyonlarını önlemektedir. Tanenin olgunlaşmaya başlamasıyla birlikte bu maddeler azalmakta ve patojen aktif hale geçebilmektedir (Calderon ve ark., 1993; Commenil ve ark., 1997).

Hem kalite hem de kantite açısından önemli kayıplara yol açan *B. cinerea* için kimyasal uygulama kaçınılmaz hale gelmektedir. Bağlarda, meyvelerde, sebze ve süs bitkilerinde *Botrytis*, *Sclerotinia* ve *Monilinia*'yı önlemek için dicarboximide'ler kullanılmaktadır (Leroux, 1995). *B. cinerea*'nın dicarboximide türevlerine dayanıklılığının konu edildiği birçok çalışma

yürütülmüş ve önemli sayılabilecek ölçüde duyarlılığı azalmış izolat saptanmıştır. Bu durumun bir sonucu olarak, farklı etki mekanizmalarındaki fungusitler, benzimidazole ve dicarboximide grubu fungusitlerin yerine kullanıma girmeye başlamıştır (Delen, 2008). Anilinopyrimidine gurubu fungusitlerden pyrimethanil, cyprodinil ve mepanipyrim; phenylpyrrole grubu üyesi fludioxanil yeni grup fungusitlerdendir. *B. cinerea* ile yapılan çalışmalar, anilinopyrimidine'lerin yoğun kullanımının dayanıklı izolatların ortaya çıkmasına yol açabileceğini göstermiştir (Petsikos-Panayotarou ve ark., 2003).

Sterol biyosentezini engelleyen fungusitler değişik gruplardan oluşmaktadır. Özellikle pasları, küllemleri, rastıkları hatta tohum ve toprak kaynaklı hastalık etmenlerini de içeren Ascomycotina, Deuteromycotina ve Basidiomycotina üyesi birçok patojenin neden olduğu değişik hastalıklara etkilidirler. Sterol biyosentezini engelleyiciler arasında, *B. cinerea*'yı tarla koşullarında engelleyebilen çok az sayıda bileşiklerde bulunmaktadır (Morita ve Nishimura, 2001). Ülkemizde yapılmış bazı çalışmalarda, myclobutanil *B. cinerea* karşı etkili bulunmuştur (Burçak ve Delen, 2001; Koplay, 2004).

Etki yeri özelleşmiş diğer fungusitler grubu içerisinde yer alan boscalid; yeni ve geniş etki alanlı bir fungusittir (Michel, 2003). *Sclerotinia* spp., *Alternaria* spp., *Monilinia* spp., *Botrytis cinerea* ve küllemlere etkilidir.

Bu çalışmada, pyrimethanil, myclobutanil, cyprodinil+fludioxanil ve boscalid etkili maddeleri içeren fungusitlerin laboratuvar şartlarında üzümlerden izole edilen *B. cinerea* izolatlarına etkililik durumlarının ortaya konması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışmanın ana materyallerini 2014 yıllarında Manisa ilindeki üzümlerden izole edilen 5 *B. cinerea* izolatı (Çizelge 1) ve farklı etki mekanizmasına sahip 5 aktif maddeyi içeren preparatlar oluşturmuştur (Çizelge 2).

Yaprak testlerinde ise, ilaçlanmamış yapraklar, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü deneme bağ sahasından elde edilmiştir. Tüm denemelerde MM besiyeri (glikoz 20g, asparagine 1.5g, K₂HPO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.5g,

FeCl₃ 0.1g, yeast extract 1g, agar agar 20 g, 1 l distile su, sterilizasyondan sonra 0.3g streptomycin sulfat) kullanılmıştır (Delen ve Özbek, 1992).

Metot

Fungisitlerin Miselyal Gelişime Etkililiği

Pyrimethanil (Melintos SC), cyprodinil +fludioxanil (Switch 62.5 WG), boscalid (Cantus WG), myclobutanil (Sythane 12 E) fungisitlerinin 0 (kontrol), 1, 3, 10, 30, 100 ve 300 µg/l etkili madde (e.m) dozlarını içeren MM ortamında izolatlar denemeye alınmışlardır. İstenilen fungusit dozlarını elde edebilmek amacıyla, yüksek dozda hazırlanan stok solüsyonlardan seyreltmeler yapılmıştır. Her doz için son seyreltme, besi yerine eklemeye olmuştur (Delen ve ark., 1984). Denenecek kültürler ait kolonilerin kenarlarından cork-borer (mantar delici) yardımı ile alınan 5 mm çapındaki miselyal diskler, fungusit içeren ve içermeyen (kontrol) petrilere ekilmiştir. Denemeler, tesadüf parselleri desenine göre, üç tekrarlı olarak kurulmuştur. Petrilere, ekim yapıldıktan sonra 23°C'ye ayarlanmış, ışısız inkubatörde bekletilmişlerdir. İnkubasyondan 5 gün sonra *B. cinerea* izolatlarının koloniyal gelişimleri, çap ölçümü şeklinde değerlendirilmiştir. Bu değerler üzerinden EC₅₀ (miselyal gelişimi %50 engelleyen doz) değerleri, kontrole göre yüzde gelişim oranlarının log-probit kağıdına uygulanması ile bulunmuştur (Beever ve ark.,1989).

Yaprak Üzerinde İzolatların Virülenslik Düzeylerini Belirleme Testleri

Her fungusite duyarlılığı en fazla azalmış izolatların doğaya uyum yetenekleri en duyarlılarla karşılaştırılarak saptanmıştır. Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidine ait ilaçlanmamış asmalardan yaprak örnekleri alınmıştır. Laboratuvara getirilen yapraklar çeşme suyunda yıkandıktan sonra steril saf su içerisinde 10 dakika bekletilmiştir. İçerisine 2 kat kurutma kağıdı serilmiş ve saf su ile nemlendirilmiş olan plastik küvetler içine plastik viyol kalıplar yerleştirilmiştir. Plastik viyol kalıplarına her tekerrürde 2 yaprak olacak yerleştirilmiştir. Steril bir enjektör yardımıyla, yaprakların sadece epidermis dokusu delinerek yaralama işlemi yapılmıştır. *B. cinerea* izolatlarına ait miselyal diskler, her yaprağa karşılıklı olarak iki adet olacak şekilde yerleştirilmiştir (Köycü, 2007).

Küvetlerin üzerleri polietilen poşetler ile örtülmüş ve klima odasında 23°C'de, 12 saat ışık ve 12 saat karanlıkta 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon periyodu sonunda yapraklar üzerinde izolatların meydana getirdiği lezyonların çapları ölçülerek değerlendirilmiştir.

Yaprak Testleri İle Fungisitlerin Etkililiğinin Belirlenmesi

B. cinerea izolatlarına fungusitlerin etkililiklerini belirlemek amacıyla fungusitler piyasa dozu üzerinden 1/1, 1/2 ve 1/4 oranlarında hazırlanmıştır (Köycü, 2007). Yaprak üzerinde izolatların virülenslik düzeylerini belirleme bölümünde anlatıldığı gibi plastik kaplar içerisine yerleştirilmiştir. Yukarıda belirlenen dozlarda hazırlanan pyrimethanil (Melintos SC), cyprodinil+fludioxanil (Switch 62.5 WG), boscalid (Cantus WG), myclobutanil (Sythane 12 E) etkili maddeli fungusitler yapraklara püskürtülmüştür. *B. cinerea* izolatlarına ait miselyal diskler, misel kısımları yaralanmış kısma gelecek şekilde yerleştirilmiştir. *B. cinerea* izolatlarının yapraklar üzerinde oluşturduğu lezyonların çapları ölçülmüştür.

İstatiksel Analizler

Çalışmada, denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlı olarak kurulmuştur. Veriler TARIST istatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testine (P=0.01) göre değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Fungisitlerin Miselyal Gelişime Etkililiği

B. cinerea'ya ait 5 adet izolatın, farklı etkili maddelere duyarlılıkları (EC₅₀) değerleri temel alınarak laboratuvar koşullarında saptanmıştır. EC₅₀ değerlerinin istatistiksel açıdan farklılığının önemini gösterebilmek amacıyla, EC₅₀ değerleri her izolat temel alınarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İzolatların EC₅₀ değerlerine (µg ml⁻¹) ait veriler Çizelge 3'de özetlenmiştir.

Çizelge 3 incelendiğinde, etki yeri spesifik fungusitlerden cyprodinil+fludioxanil patojenin miselyal gelişimini en yüksek düzeyde engelleyen fungusit olmuştur. İzolatların EC₅₀ değerleri bu fungusite 1 µg ml⁻¹'den küçük olarak tespit edilmiştir. Köycü, (2007) bağlarda kurşuni küf hastalığı etmeni (*B. cinerea*)'nin kullanılan fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi ve kimyasal

mücadelesi üzerine araştırmalar konulu çalışmasında, in vitro testlerde en etkili fungusit ve EC₅₀ 1 µg ml⁻¹' den küçük olduğunu tespit etmiştir. Ege Bölgesi bağlarında Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinde *Alternaria* spp.' nin durumu ve savaşım olanaklarının araştırıldığı çalışmada, *Alternaria* spp. izolatlarında miselyal gelişimi engelleyen en etkili fungusit cyprodinil + fludioxanil (Switch) olarak belirlenmiştir. Bu fungusit için en yüksek ED₅₀ değeri 2.81 µg/ml olarak belirlenmiştir (Savaş, 2012). Bağ ve seralarda yapılan başka araştırmalarda bu fungusitlerin 4-5 yıl art arda kullanılmaları halinde ürünlerden elde edilen *B. cinerea* izolatları arasında cyprodinil'e dayanıklı (EC₅₀ değeri 2.90 - 4.84 µg ml⁻¹) izolatların olduğu tespit edilmiştir. İzolatların fludioxanil'e duyarlılıklarında bir değişme olmadığı ve bu nedenle bu iki fungusitin cyprodinil+fludioxanil karışımı olarak uygulanmasının daha etkili olacağı bildirilmiştir (Forster ve Staub, 1996; Leroux ve ark.,2002).

Yine anilinopyrimidine grubu fungusitlerden olan pyrimethanil, miselyal gelişim üzerine en düşük etkililiğe sahip olmuştur. İzolatların pyrimethanil'e karşı EC₅₀ değerlerini 47-102.2 µg ml⁻¹ arasında değiştiği ve duyarlılık azalışının olduğu tespit edilmiştir. Dayanıklılığın tek genle idare edilmesinin bir sonucu olarak, anilinopyrimidine'lere yüksek dayanıklı bireyler hızlı biçimde ortaya çıkabilmektedir (Baroffio ve ark., 2003; Diane ve ark., 2002). Koplay (2004) Ege Bölgesi'ndeki bağlardan elde ettiği *B. cinerea* izolatlarının pyrimethanil için EC₅₀ değerlerini 1 µg ml⁻¹'den küçük olarak tespit etmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar ile daha önceki çalışmalar arasında ters bir durum gözlemlenmektedir. Cyprodinil+ fludioxanil ile pyrimethanil uygulamalarının bağ sezonu içerisinde iki uygulamadan fazla gerçekleştirildiği bilinmektedir ve cyprodinil ile pyrimethanil arasındaki çapraz dayanıklılığın (Latorre ve ark., 2002) bir sonucu olarak, duyarlılığı azalmış *B. cinerea* türlerinin oluşabileceğini akla getirmektedir.

Triazole grubu fungusitlerden Myclobutanil' in *B. cinerea* izolatlarını engelleyici EC₅₀ değerleri 8.13-12.68 µg ml⁻¹ arasında belirlenmiştir. İstatiksel açıdan bakıldığında ise cyprodinil+fludioxanil, boscalid ve myclobutanil aynı grup içerisinde yer almıştır. Marmara Bölgesinde, bu fungusite

Botrytis izolatlarının %70.01'inin EC₅₀ değeri ≥ 1 µg ml⁻¹'den büyük olduğu tespit edilmiştir (Köycü, 2007).

Çalışmamızda, boscalid *B. cinerea* izolatlarına karşı EC₅₀ değeri <1.00-1.43 µg ml⁻¹ oranında dağılım göstererek etkili olarak belirlenmiştir ve cyprodinil+fludioxanil ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır. Sebze seralarından elde edilen 228 *B. cinerea* izolatının boscalid etkili maddesine duyarlılığının araştırıldığı bir çalışmada, çok ve az duyarlı izolatlar için miselyal gelişimi engellediği EC₅₀ değerleri 0.09-3.69 mg L⁻¹ oranında bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Boscalid' in güçlü bir antifungal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2007). Boscalid'e dayanıklılık konusunda bilimsel veriye rastlanmaz iken (Delen, 2008) son yıllarda yapılan çalışmalarda dayanıklılık bildirimlerinin sayısı artmıştır. Fransa'da bağdan, Almanya'da çilek ve bağdan, Washington State'de elmada, Yunanistan'da kividende elde edilen çok sayıdaki *B. cinerea* izolatının boscalid'e karşı dayanıklılık kazandığı bildirilmiştir (Bardas ve ark., 2010; Kim ve Ziaon, 2010; Leroch ve ark., 2011; Yin ve ark., 2011). Bu nedenle sezon içerisinde iki uygulamadan fazla kullanılması önerilmemektedir.

Yaprak Üzerinde İzolatların Virülenslik Düzeylerini Belirleme Testleri

Her fungusite duyarlılığı en fazla azalmış izolatların doğaya uyum yetenekleri en duyarlılarla karşılaştırılarak saptanmıştır. Bu amaçla, hem istatistiksel hem de sayısal olarak en dayanıklı izolatların en duyarlılara göre virülensleri test edilmiştir. *B. cinerea* izolatlarının yaprak üzerinde oluşturduğu lezyon çapları (mm) belirlenerek, yapılan ölçümlerin sonuçları Çizelge 4'de verilmiştir.

Cyprodinil+fludioxanil ile boscalid'e tüm izolatların duyarlı bulunması nedeniyle tesadüfi olarak seçilen izolatların virülensliği test edilmiştir. Cyprodinil+fludioxanil'e miselyal gelişimi çok düşük iken MBAE 228 nolu izolatının virülensliğinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ziagas ve ark., (2003) yaptığı çalışmada, hıyar fideleri üzerinde yürüttükleri virülens testlerinde dayanıklı mutant *B. cinerea* izolatlarının duyarlı izolatlar kadar virulent olduklarını tespit etmiştir. Boscalid'e duyarlı iki izolatın MBAE227 miselyal gelişimi diğer

izolatlara göre çok az yüksek bulunmuş olsa da aynı istatistiksel grupta yer almıştır, ancak izolatin virülenslik yeteneği MBAE256 izolatına (lezyon çapı, 0.5 mm) göre yüksek bulunmuş ve iki izolatin virülensliği arasında fark tespit edilmiştir. Myclobutanil ile pyrimethanil'e duyarlı ve dayanıklı izolatların virülensi arasında bir farklılık tespit edilememiştir. Burçak ve Delen (2001), yaptığı çalışmada, procymidone, iprodione, imazalil ve myclobutanil etkili maddelerinin *B. cinerea* izolatlarına duyarlılığını laboratuvar koşullarında üzüm testleri ile değerlendirmiştir. Myclobutanil'in külemeye karşı ruhsatlı olduğu dozda ($18.75 \mu\text{g ml}^{-1}$), üzümelerde *B. cinerea* izolatlarına etkililiği ortalama %90.28, yarı dozda ($9.38 \mu\text{g ml}^{-1}$) etkililiği ortalama %58.61, en düşük dozda ise ($4.69 \mu\text{g ml}^{-1}$) ortalama %23.17 olmuştur.

Yaprak Testleri İle Fungisitlerin Etkililiğinin Belirlenmesi

Araştırmada kullanılan *B. cinerea* izolatlarına her fungusitin etkililiğini belirlemek amacıyla fungusitlerin piyasa dozu üzerinden 1/1, 1/2 ve 1/4 oranlarında hazırlanmış yaprak testleri ile belirlenmiştir. Yaprak üzerindeki lezyon çapları ölçülerek yapılan değerlendirme sonucunda elde edilen veriler Çizelge 5'de verilmiştir. Bu değerlendirme sonuçlarına göre, istatistiksel sonuçlar da dikkate alınarak, cyprodinil+fludioxanil ile boscalid'in tam dozlarının (cyprodinil+fludioxanil: $32.5 \mu\text{g ml}^{-1}$, boscalid: $600 \mu\text{g ml}^{-1}$ e.m) yapraklar üzerinde lezyon oluşturmadağı ve %100 etkili olduğu görülmüştür. Bu fungusitlerin yarı ve çeyrek dozları ortalama %98-80 oranlarında etkililik göstermiştir. Pyrimethanil ve myclobutanil' in tüm dozlarının izolatlara belli oranlarda (%97.08-36.25 arasında) etkili olduğu, ancak cyprodinil+fludioxanil ile boscalid kadar yüksek etkililiğe sahip olmadığı tespit edilmiştir. Bağlarda kurşuni küf hastalığı etmeni (*Botrytis cinerea*)'ne kullanılan fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi ve kimyasal mücadelesi üzerine araştırmalar konulu çalışmada, yapraklar üzerinde bazı fungusitlerin etkililiği test edilmiştir. Söz konusu çalışmada, dayanıklı ve duyarlı izolatların, cyprodinil+fludioxanil'in 1/1, 1/2 ve 1/4 dozlarında ($312.5 \mu\text{g ml}^{-1}$, $156.25 \mu\text{g ml}^{-1}$ ve $78.125 \mu\text{g ml}^{-1}$ e.m) yapraklar üzerinde lezyon oluşturmadağı oluşturmamasının tamamen önlendiği ve %100 etkili olduğu belirlenmiştir. Myclobutanil'in

dayanıklı izolata %2.01, duyarlı izolata ise %4.80 oranında etkili olarak en düşük etkideki fungusit olduğu tespit edilmiştir (Köycü, 2007). Bu çalışmayı ve elde edilen bulguları doğrular nitelikte olmuştur.

Sonuç

Bu çalışmada, çiçeklenme ve ince koruk döneminde bağdan izole edilen 5 adet *B. cinerea* izolatu üzerine cyprodinil+fludioxanil, boscalid, pyrimethanil ve myclobutanil etkili maddeli fungusitlerin etkinliği laboratuvar şartlarında EC_{50} ile asma yaprakları üzerinde denenmiştir. Çiçeklenme ve ince koruk döneminde elde edilen *B. cinerea* izolatları, latent enfeksiyonları doğrular nitelikte bulunmuştur. Cyprodinil+fludioxanil, boscalid ve myclobutanil'in *B. cinerea*'ya karşı etkili olduğu, pyrimethanil'in ise rakamsal ve istatistiksel açıdan etkisinin düşük olduğu ve duyarlılık azalışının meydana geldiği belirlenmiştir. Bağda küleme etmenine karşı ruhsatlı olmasına rağmen myclobutanil' in *B. cinerea* karşı etkili olabildiği görülmüştür. Bağda gerçekleştirilecek ilaçlama programlarına myclobutanil'in ilave edilmesi etkili olacaktır. Boscalid'in *B. cinerea* izolatlarına etkili olduğu tespit edilmişse de son yıllarda bildirilen dayanıklılık sorunları nedeniyle dikkatli kullanılması gerekmektedir. Gelecek yıllarda oluşabilecek olası dayanıklılığı önlemek için bağlarda *B. cinerea* ile savaşmada, eğer üç ilaçlama yapılacaksa 1 tanesinde, dört ilaçlama yapılacak ise 2 tanesinde boscalid kullanılması önerilmektedir.

Kaynaklar

- Anonymous, 2009. Bağ entegre mücadele teknik talimatı, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, 96.
- Anonymous, 2011. Turkey raisin annual. USDA Foreign Agricultural Service. Global Agricultural Information Network.
- Bardas, G.A., Veloukas, T., Koutita, O., Karaoglanidis, G.S., 2010. Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from kiwifruit to SDHIs, QoIs and fungicides of other chemical groups. Pest Manage. Sci. 66:967-973.
- Baroffio, C.A., Siegfried, W., Hilber, U.W., 2003. Long-term monitoring for resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilinoipyrimidine, phenylpyrole, and hydroxylanilide fungicides in Switzerland. Plant Disease 87:662-666.

- Beevere, R.E., Laracy, E.P., Park, H., 1989. Strains of *B. cinerea* resistant to dicarboximide and benzimidazole fungicides in New Zeland vineyards. *Plant Pathol.*, 39: 427-437.
- Burçak, A., Delen, N., 2001. Üzümlerden izole edilen kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.) izolatlarına bazı fungusitlerin etkileri üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 41(3-4): 183-194.
- 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.
- Coertze, S., Holz, G., 1999. Surface colonization, penetration and lesion formation on grapes incomedated fresh or after cold storage with single airborne conidia of *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, 83(10):917-924.
- Commenil, P., Brunet, L., Audran, J.C., 1997. The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *J. Exp. Botany*, 48(313):1599-1607.
- Delen, N., Yıldız, M., Maraite, H., 1984. Benzimidazole and dithiocarbamate resistance of *Botrytis cinerea* isolates to some fungicides with non-specific mode of action. XIIth Botrytis Symposium, September, 4-7 1989, Neustadt, Wienstrasse, Abstracts.
- Delen, N., Ozbek, T., 1992. Effectiveness of some fungicides an fungicide combinations on *Botrytis cinerea* isolates. In: Verhoeff, K., Malathrakis, N. E., Williamson, B., (Eds.), Recent Advances in Botrytis Research., 238-241, Pudoc Scientific Pub. Wageningen.
- Delen, N., 1997. Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları I. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları Ders Notları: 26/5, Ofset Basımevi, İzmir. 61s.
- Delen, N., 2008. Fungisitler.1. Basım, Nobel Yayın, Ankara, : 118-136.
- Dianez, F., Santos, M., Blanco, R., 2002. Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry crops in Huelva (Southwestern Spain). *Phytoparasitica* 30, 529-34.
- Forster, B., Staub, T., 1996. Basis for use strategies of anilinopyrimidine and phenylpyrrole fungicides against *Botrytis cinerea*, *Crop Protection*, 15(6): 529-537.
- Gadoury, M.D., Seem, C.R., Ficke, A., Wilcox, F.W., Henick-Kling, T., 2000. Diffuse infections of *Uncinula necator* predispose grape berries to bunch rot and spoilage microorganisms, and degrade wine quality. *Phytopathology*, 90:26, Abstract.
- Holz, G., Volkman, A., 2002. Colonization of sites in grape bunches by potential biocontrol organisms and subsequent occurrence of *Botrytis cinerea*. *Proc. of the 7th WG Meeting Influence of A-Biotic and Biotic Factors on Biocontrol Agents*, Kusadasi, Turkey 22-25 May 2002. Eds Y. Elad, J. Köhl and D. Shtienberg IOBC WPRS Bull. 207-210.
- Keller, M., Viret, O., Cole, F.M., 2003. *Botrytis cinerea* infection in grape flowers: Defense reaction, latency, and disease expression. *Phytopathology*, 93:316-322.
- Kim, Y.K., Xiao, C.L., 2010. Resistance to pyraclostrobin and boscalid in populations of *Botrytis cinerea* from stored apples in Washington State. *Plant Dis.* 94:604-612.
- Koplay, C., 2004. Sofralık sultani üzümde fungal kaynaklı çürüklük patojenlerinin saptanması ve in-vitro koşullarda etkili fungusitlerle önlenmesi üzerinde incelemeler. Yüksek Lisans Tezi. E.Ü. Fen Bilimleri Ens., İzmir.
- Köycü, N.D., 2007. Bağlarda kurşuni küf hasatlığı etmeni (*B.cinerea* Pers Ex-Fr)'nin kullanılan fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi ve kimyasal mücadelede üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Latorre, B.A., Spadaro, I., Rioja, M.E., 2002. Occurrence of resistant strains of *Botrytis cinerea* to anilinopyrimidine fungicides in table grapes in Chile. *Crop Protection*, 21:957-961.
- Leroch, M., Kretschmer, M., Hahn, M., 2011. Fungicide resistance phenotypes of *Botrytis cinerea* isolates from commercial vineyards in South West Germany. *J. Phytopathol.* 159:63-65.
- Leroux, P., 1995. Progreess and problems in the control of *Botrytis cinerea* in grapevine. *Pesticide Outlook*, October 1995. 13s.
- Leroux, P., Fritz, R., Debieu D., Albertini, C., Lanen, C., Bach, C., Gredt, M., Chapeland, F., 2002. Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science* 58:876-88.
- Michel, P., 2003. Nouvelles molecules a la CIMA 2003: Fongicides contre insecticides, six a un. *Phytoma*, 566:33-36.
- Michailides, T.J., Morgen, D.P., Fels, D., Peacock, B., 2000. Infection of California table grapes and dedection and significance of symptomless latent infection by *Botrytis cinerea*. XIIth Botrytis Symposium, 3.7.2000. Université de Reims, Ardenne. 48s.

Petsikos-Panayotarou, N., Schmidt, A., Markellou, E., Kalamarikis, A.E., Tzempelikou, K., Siranidou, E., Konstantinidou-Doltsims, S., 2002. Management of cucumber powdery mildew by new formulations of Reynoutria sachalinensis (F. Schmidt) Nakoi extract.Z., 109: 478-490.

Savaş, G.N., 2012. Ege bölgesi bağlarında Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinde *Alternaria* spp.'nin durumu ve savaşım olanakları. Doktora Tezi. E.U. Fen Bilimleri Ens., 122s. İzmir.

Yin Y.N, Kim Y.K., Xiao C.L., 2011. Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. Phytopathology; 101(8): 986-995.

Zhang, C.Q, Yuan, S.K., Sun, H.Y., Qi, Z.Q., Zhou, M.G., Zhu, G.N., 2007. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from vegetable greenhouses to boscalid. Plant Pathology, 56 (4): 646-65.

Çizelge 1. 2014 yıllarında elde edilen *B.cinerea* izolatlarının ilçelere göre dağılımı

İl	İlçe	İzolat sayısı	İzolat no	İzole edildiği dönem
Manisa	Ahmetli	1	MBAE227	Çiçeklenme (G dönemi)*
	Salihli	1	MBAE228	İnce koruk (L dönemi)
	Turgutlu	2	MBAE229	İnce koruk (L dönemi)
			MBAE230	İnce koruk (L dönemi)
	Yunusemre	1	MBAE256	İnce koruk (L dönemi)

*Bağ Entegre Mücadele Teknik Talimatı kitapçığında yer alan asma gelişme dönemi skalasına göre.

Çizelge 2. Denemelerde kullanılan preparatlar, fungusit grupları, etkili maddeleri ve dozları

Ticari adı	Fungisit grubu	Etkili madde adı ve oranı (%)	Dozu (ppm, etkili madde)		
Melintos SC ¹	Anilinopyrimidine	Pyrimethanil, 300 g/l	300 ³	150 ⁴	75 ⁵
Switch 62.5 ¹ WG	Anilinopyrimidine + Phenylpyrrole	Cyprodinil 375 g/kg + Fludioxanil 250 g/kg	312.5 ³	156.25 ⁴	78.125 ⁵
Cantus WG ¹	Pyridinecarboxamide	Boscalid	600 ³	300 ⁴	150 ⁵
Systhane 12 E ²	Triazole	Myclobutanil, 12.5	18.37 ³	9.18 ⁴	4.59 ⁵

¹Bağda *B.cinerea*'ya ruhsatlı.

²Bağda küllmeye karşı ruhsatlı

³Teknik Talimatta tavsiye edilen doz.

⁴Teknik talimatta tavsiye edilen dozun yarısı.

⁵Teknik talimatta tavsiye edilen dozun dörtte biri.

Çizelge 3. *B. cinerea* izolatlarının fungusitlere göre EC₅₀ değerleri (µg ml⁻¹)

İzolat no	Myclobutanil	Cyprodinil+fludioxanil	Pyrimethanil	Boscalid
MBAE227	10.95 b*	<1.00 b	47 a	1.43 b
MBAE228	8.67 b	<1.00 b	94.67 a	1.32 b
MBAE229	8.13 b	<1.00 b	54 ab	1.30 b
MBAE230	12.68 b	<1.00 b	102.2 a	<1.00 b
MBAE256	10.33 b	<1.00 b	49.33 ab	<1.00 b

* Ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testine (P=0,01) göre birbirinden önemli derecede farklıdır ve istatistiksel olarak aynı harfler aynı etkililiği göstermektedir

Çizelge 4. *B. cinerea* izolatlarının EC₅₀ değerleri ve lezyon çapları

Fungisit	İzolat*	EC ₅₀ değeri (µg ml ³)	Lezyon çapı (mm)**
Cyprodinil+fludioxanil	MBAE228 (S)	<1	10.75 a
	MBAE227 (S)	<1	3.75 ab
	MBAE227 (R)	1.43	3.75 ab
Boscalid	MBAE256 (S)	<1	0.5 b
	MBAE230 (R)	12.58	4.5 ab
Myclobutanil	MBAE229 (S)	8.13	4 ab
	MBAE230 (R)	102.2	4.5 ab
Pyrimethanil	MBAE227 (S)	47	3.75 ab

* R dayanıklı, S duyarlı izolatları göstermektedir.

** Ortalamalar Duncan testine göre (P=0.01) ayrılmıştır ve istatistiksel olarak aynı harfler aynı etkililiği göstermektedir.

Çizelge 5. Fungisitlerin *B. cinerea* izolatlarına yaprak üzerindeki etkisi

İzolot	Fungisit	EC ₅₀ Değeri (µg ml ⁻¹)	Doz (µg ml ⁻¹)	Lezyon Çapı (mm)	Etkililik (%)
MBAE227	Cyprodinil+Fludioxanil	1	312.5	0.0 t*	100
			156.25	4.50 sst	92.5
			78.125	6.00 prsşt	90
			0	15.50 iijklmnoöprsşt	-
	Boscalid	1.43	600	0.0 t	100
			300	1.0 t	98.33
			150	6.25 öprsşt	89.58
			0	14.75 iijklmnoöprsşt	-
	Pyrimethanil	47	300	21.50 fgghijklmnoöprs	64.17
			150	33.75 abcdefggh	43.75
			75	34.25 abcdefggh	42.92
			0	36.50 abcde	-
	Myclobutanil	10.95	18.37	20.00 hijijklmnoöprsşt	66.67
			9.18	28.25 bcdefgghijkl	52.92
			4.59	28.75 bcdefgghij	52.08
			0	34.00 abcdefggh	-
MBAE228	Cyprodinil+Fludioxanil	1	312.5	0.00 t	100
			156.25	1.75 t	97.08
			78.125	7.0 ööprsşt	88.33
			0	9.50 ööprsşt	-
	Boscalid	1.32	600	0.00 t	100
			300	2.0 t	96.67
			150	9.0 ööprsşt	85
			0	21.00 fgghijklmnoöprs	-
	Pyrimethanil	94.67	300	25.75 cdefgghijklmn	57.08
			150	26.00 bcdefgghijklmn	56.67
			75	34.50 abcdefggh	42.5
			0	40.25 abc	-
	Myclobutanil	8.67	18.37	22.75 cdefgghijklmno	62.08
			9.18	20.50 ghijklmnoöprsş	66.25
			4.59	38.25 abcç	36.25
			0	42.25 ab	-

* Ortalamalar Duncan testine göre (P=0.01) ayrılmıştır ve istatistiksel olarak aynı harfler aynı etkililiği göstermektedir.

Çizelge 5. (devam)

İzolat	Fungisit	EC ₅₀ Değeri (µg ml ⁻¹)	Doz (µg ml ⁻¹)	Lezyon Çapı (mm)	Etkililik (%)
MBAE230	Cyprodinil+Fludioxanil	1	312.5	0.00 t	100
			156.25	11.50 lmnoöprsst	76.67
			78.125	29.75 bcçdefgğhiij	50.42
			0	38.00 abcçd	-
	Boscalid	1	600	0.00 t	100
			300	8.25 oöprsst	86.25
			150	12.50 klmmoöprsst	80
			0	48.75 a	-
MBAE256	Cyprodinil+Fludioxanil	1	312.5	0.00 t	100
			156.25	0.75 t	98.75
			78.125	3.00 şt	95
			0	7.25 oöprsst	-
	Boscalid	1	600	0.00 t	100
			300	1.00 t	98.33
			150	2.75 şt	95.42
			0	8.50 oöprsst	-
MBAE229	Cyprodinil+Fludioxanil	1	312.5	0.0 t	100
			156.25	2.75 şt	95.42
			78.125	5.50 rsşt	90.83
			0	9.50 oöprsst	-
	Boscalid	1.30	600	0.0 t	100
			300	6.00 prsst	90
			150	12.00 lmnoöprsst	80
			0	21.00 fgğhiijklmmoöprs	-
MBAE229	Pyrimethanil	54	300	22.25 defgğhiijklmmoöp	62.92
			150	26.25 bcçdefgğhiijklmn	56.25
			75	30.75 bcçdefgğhi	48.75
			0	33.25 abcçdefgğh	-
	Myclobutanil	8.3	18.37	18.25 iijklmmoöprsst	69.58
			9.18	20.50 gğhiijklmmoöprss	65.83
			4.59	27.00 bcçdefgğhiijklm	55
			0	28.75 bcçdefgğhiij	-

* Ortalamalar Duncan testine göre (P=0.01) ayrılmıştır ve istatistiksel olarak aynı harfler aynı etkililiği göstermektedir.