

Biberde Kurşuni Küf Mücadelesinde Alternatif Uygulamalar

Ziraat Fakültesi Dergisi,
Cilt 15, Sayı 2,
Sayfa 129-137, 2020

Ahmet ERDEM¹, Gürsel KARACA*¹

Journal of the Faculty of Agriculture
Volume 15, Issue 2,
Page 129-137, 2020

Özet: Bu çalışmada, patojen inokulasyonundan önce veya sonra uygulanan kalsiyum oksit, kalsiyum polisülfid, mikrogranül kükürt, *Reynoutria* spp. ekstraktı gibi alternatif kimyasalların, biber bitkilerinde Kurşuni küf hastalığına karşı etkinlikleri araştırılmıştır. Saksı denemeleri sonucunda *Botrytis cinerea*'ya karşı en iyi etkiyi kalsiyum oksit göstermiştir. Kalsiyum oksit uygulanan biber bitkilerinin boy, yaş ağırlık ve gövde çapları da artmıştır. Kimyasal uygulamalarından sonra biber bitkilerinin yapraklarındaki toplam fenolik madde miktarları incelendiğinde; tüm uygulamalarda kontrole göre artış saptanmıştır. Patojen inokulasyonunun yapılmadığı tüm kimyasal uygulamalarında, en yüksek fenolik madde miktarları uygulamalardan 72 saat sonra alınan yaprak örneklerinde belirlenmiştir. Kimyasal uygulaması, patojen inokulasyonundan sonra yapıldığında ise; kalsiyum oksit, kalsiyum polisülfid ve mikrogranül kükürt uygulamalarında en yüksek fenolik madde değerleri uygulamadan 24 saat sonra belirlenirken, hastaliksız kontrol, patojen inokulasyonu yapılan kontrol, *Reynoutria* spp. ekstraktı ve karşılaştırma ilacı olarak kullanılan Luna uygulanan bitkilerde en yüksek fenolik değerleri uygulamalardan 72 saat sonra elde edilmiştir. Sonuç olarak, uygulanan kimyasalların biber bitkilerinde dayanıklılık mekanizmalarını teşvik ettiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: *Capsicum annuum*, *Botrytis cinerea*, kalsiyum oksit, mikrogranül kükürt, *Reynoutria* spp. ekstraktı, fenolik bileşikler

Alternative Treatments Against Gray Mold on Pepper

Abstract: In this study, efficiency of alternative chemicals such as calcium oxide, calcium polysulfide, microgranule sulfur and *Reynoutria* spp. against Gray mold disease on pepper plants, applied before and after pathogen inoculation, was investigated. As a result of pot trials; calcium oxide was found as the most effective chemical against *Botrytis cinerea*. Calcium oxide also increased height, fresh weight and stem width of pepper plants. When the amounts of total phenolics in pepper leaves were determined after chemical applications; it was found that there was increase in all applications when compared to control plants. In all applications where no pathogen inoculation was performed, the highest phenolic amounts were determined on leaf samples taken 72 hours after the applications. When chemicals were applied after pathogen inoculation, the highest amounts of phenolics were found on leaf samples taken 24 hours after chemical application with calcium oxide, microgranule sulfur and calcium polysulfide, while on samples from negative control, pathogen inoculated control, *Reynoutria* spp. extract and Luna applied plants, highest phenolic amounts were determined after 72 hours. As a result, it can be mentioned that applied chemicals may induce resistance mechanisms of pepper plants.

*Sorumlu yazar (Corresponding author)
gurselkaraca@isparta.edu.tr

Alınış (Received): 23/08/2019
Kabul (Accepted): 07/07/2020

Keywords: *Capsicum annuum*, *Botrytis cinerea*, calcium oxide, microgranule sulfur, *Reynoutria* spp. extract, phenolic compounds

¹ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü,
Isparta, Türkiye

1. Giriş

Biber (*Capsicum annuum* L.) Solanaceae familyasından, tüm dünyada en fazla tüketilen önemli sebze türlerinden biridir. Taze tüketim yanında, toz biber, salça, közleme, turşu gibi farklı şekillerde kullanılmaktadır (Anonim, 2016). Yıllar itibarıyla dünya biber üretim rakamlarına bakıldığında üretimin ortalama 31,2 milyon ton civarında gerçekleştiği bilinmektedir. Türkiye dünyanın en önemli biber üreticisi ve ihracatçısı konumunda bulunmaktadır (Anonim, 2017).

Tüm dünyada sera ürünlerinde ekonomik kayıplara neden olan en önemli sorunların başında Kurşuni küf hastalığı gelmektedir (Uçar, 2014). Kurşuni küf hastalığı sera ürünlerinde ekonomik kayıplara neden olan en önemli sorunlar arasında yer almaktadır. Hastalığın etmeni *Botrytis cinerea* Pers. (teleomorf: *Botryotinia fuckeliana*, sinonim: *Sclerotinia fuckeliana*)'nın 586 bitki cinsini enfekte ettiği bildirilmiştir (Törün, 2018). Patojen bitkilerde; yaprak, çiçek, gövde ve meyvelerde belirti oluşturabilir. Genelde sera içi nemin yüksek olduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır. Dokuların ölmesine, meyvelerde kalite bozukluğuna ve çürümeye yol açmaktadır. Fungus daha çok serin havalarda etkili olmakta, depolarda bile yavaş da olsa gelişimi devam etmektedir (Akgül, 2019).

Kurşuni küf mücadelesinde genelde fungusit kullanımı ön planda olmakla birlikte, patojenin kısa sürede fungusit direnci geliştirmesi ve kalıntı sorunları nedenleriyle alternatif uygulamalar önem kazanmıştır. Bitki aktivatörleri gibi bitki savunmasını harekete geçiren kimyasalların uygulanmasına yönelik çalışmalar yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (Akbudak ve ark., 2006; Yıldırım ve Yapıcı, 2007; Eser ve Coşkuntuna, 2016). Bu çalışma biberde Kurşuni küfe karşı, sentetik fungusitler yerine çevre ve insan sağlığı açısından daha güvenli olduğu bilinen alternatif kimyasalların etkinliğinin incelenmesi amacıyla ele alınmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Hastalıklı bitkilerin toplanması ve patojen izolasyonu

Antalya İlinde biber seraları gezilerek Kurşuni küf belirtisi gösteren bitki meyveleri toplanmış ve laboratuvara getirilmiştir. Hastalıkla bulaşık biber meyveleri önce musluk suyunda yıkanarak, daha sonra hastalıklı ve sağlıklı kısımları içerecek şekilde kesilip birkaç cm boyutunda parçalar % 1'lik NaOCl ve %70'lik etanol ile yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuştur. Steril kurutma kağıtları arasında kurutulan biber parçaları PDA ortamına aktararak 7 gün boyunca 22°C 'de inkübasyona bırakılmıştır (Kamara ve ark., 2016). Gelişen hif uçları tekrar PDA'ya aktararak saf kültürler elde edilip, patojen izolatları buzdolabında ve oda sıcaklığında PDA'da saklanmıştır.

2.2. Patojenite testi

Çarliston tipi biber meyveleri 1 dakika boyunca % 1'lik sodyum hipoklorit ile yıkanıp, steril saf suyla durulanmıştır. Daha sonra steril kabin içerisinde steril kurutma kağıtları üzerinde oda sıcaklığında (25 °C) 30 dakika boyunca kurumaları sağlanmıştır. Biber meyvelerinin bir yüzlerinde 0.5 cm'lik mantar delici ile 2 mm derinlikte yaralar açılıp PDA'da geliştirilen patojen izolatlarına ait kültürlerin kenarından alınan bir disk ile biber meyvelerine inokulasyon yapılmıştır. Daha sonra nemli pamuk içeren steril plastik poşetlere konulan biber meyveleri 22°C'de inkübasyona bırakılmıştır (Kamara ve ark., 2016). Patojenite denemesinde her izolat için beş meyve kullanılmıştır. İnokulasyondan 7 gün sonra meyveler üzerindeki çürük alanların boyutları dikkate alınarak izolatların virülensi belirlenmiş ve en virulent izolat (BBC1) sonraki denemeler için seçilmiştir.

2.3. Denemenin kurulması

Bitkilerin yetiştirilmesi için steril edilmiş torf ve toprak ile yetiştirme ortamı hazırlanmıştır. Toprak karışımı saksılara doldurularak biber fideleri şaşırtılmıştır. Fideler gerektiğinde steril musluk suyu ile sulanmıştır. Denemede Çarliston çeşidi biber fideleri kullanılmıştır. Denemede kullanılan kimyasallar ve uygulama dozları Tablo 1'de verilmiştir. Kimyasallar üretici firmalar tarafından sebzelerde tavsiye edildikleri dozlarda kullanılmıştır. Denemede karşılaştırma ilacı olarak 125 g/L Fluopyram + 375 g/L Pyrimethanil içeren ve biberde Kurşuni küfe ruhsatlı olan bir fungusit (Luna Tranquility) kullanılmıştır. Kalsiyum oksit ve Mikrogranül kükürt su ile karıştırılarak topraktan uygulanmıştır. Kalsiyum polisülfid, *Reynoutria* spp. ekstraktı ve karşılaştırma amacıyla kullanılan fungusit ise el pülvarizatörü ile yapraklara uygulanmıştır. Bitkiler 4 tekerrürlü 2 gruba ayrılmış; birinci gruba önce kimyasal uygulaması, daha sonra patojen inokulasyonu, ikinci gruba ise önce patojen inokulasyonu, daha sonra kimyasal uygulaması yapılmıştır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve dozları

Etken madde	Dozu
% 35 Kalsiyum oksit	2,5-3 kg/da
% 90 Mikrogranül kükürt	3 kg/da
<i>Reynoutria</i> spp. ekstraktı 224.6 g/L	125 ml / 100 L su
Kalsiyum polisülfid 320 g/L	400 ml/100 L su
125 g/L Fluopyram + 375 g/L Pyrimethanil	75ml/100 L su

Patojen inokulasyonu; patojenite denemesi sonucuna göre seçilen ve PDA'da geliştirilmiş olan patojen izolat kültüründen 0.5 cm'lik mantar delici ile alınan miselli agar parçasının, yine bitkilerin gövdesinde aynı mantar delici ile açılan yara üzerine yerleştirilmesi şeklinde yapılmıştır. Patojen inokulasyonundan sonra inokulumun kurumaması için üzeri ıslak pamuk ile sarılarak etrafı streç

film ile kaplanmıştır. İnokulasyondan sonra bitkiler 3 gün boyunca polietilen torba içinde bekletilerek enfeksiyon için uygun nem sağlanmıştır. İklim odasının sıcaklığı ise 23-25 °C'de tutulmuştur. Birinci gruptaki bitkilere kimyasal uygulamasından 3 gün sonra patojen inokulasyonu yapılmış, inokulasyondan bir hafta sonra kontrol bitkilerde şiddetli hastalık belirtilerinin görülmesiyle deneme değerlendirilmiştir. İkinci gruptaki bitkilere ise patojen inokulasyonundan 3 gün sonra kimyasal uygulaması yapılmış ve yine bir hafta sonra deneme değerlendirilmiştir.

2.4. Ölçüm ve değerlendirmeler

Saksı denemelerinde patojen inokulasyonu ve kimyasal uygulamalarından bir hafta sonra yapılan gözlem ve ölçümlerle kimyasalların etkileri belirlenmiştir. Uygulamaların hastalık şiddeti üzerindeki etkileri 1-4 skalası ile değerlendirilmiştir. Skalada 1= hastalık belirtisi olmayan sağlıklı bitki, 2= gövdede 1 cm'lik sulumsu lezyon ve hafif solgunluk, 3= gövdede 1 cm'den büyük sulumsu lezyon ve şiddetli solgunluk, 4= gövdeyi çepeçevre sarmış lezyon ve şiddetli solgunluk ya da ölü bitkiyi ifade etmektedir. Bitki gelişimi açısından kimyasalların etkisinin değerlendirilmesinde; bitki boyu, bitki ağırlığı, kök ağırlığı, kök uzunluğu ve gövde çapı parametreleri kullanılmıştır. Tüm sonuçlara JMP (Ver.8) programı kullanılarak Varyans analizi uygulanmıştır ve uygulamaların etkisi Tukey testi ile karşılaştırılmıştır.

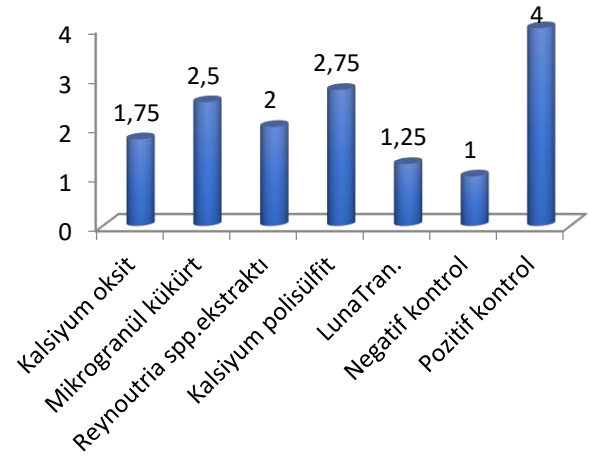
2.5. Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi

Uygulamada kullanılan kimyasalların biber bitkilerinin savunma mekanizmaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla; farklı uygulamaların yapıldığı bitkilerden kimyasal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra yaprak örnekleri alınmıştır. Biber yapraklarındaki toplam fenolik bileşik miktarlarının belirlenmesinde Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Bitkilerden 1'er gram yaprak örnekleri alınmış ve 0.1 g BHT (2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol) ve 7.5 ml ekstraksiyon çözeltisi (%80 metanol, 20 ml su ve 1 HCl) ilave edilerek 45 dakika ultrasonik su banyosunda bekletilmiştir. Örnekler süzöldükten sonra cam şişelere alınmış, tekrar 7.5 ml ekstraksiyon çözeltisi konularak işlemler tekrarlanmıştır (Escarpa and Gonzalez, 1998). Elde edilen ekstraktan 0.5 ml alınarak, 7 ml su ve 0.5 ml Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilmiş, 3 dakika bekletildikten sonra 2 ml %20'lik Na₂CO₃ çözeltisi katılarak 25 °C'de 1 saat bekletilmiştir. Örneklerin absorbans değerleri UV-VIS spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda okunmuştur. Fenolik madde analizlerinde standart olarak kateşin kullanılmıştır (Kaur ve Kapoor, 2002).

3. Bulgular

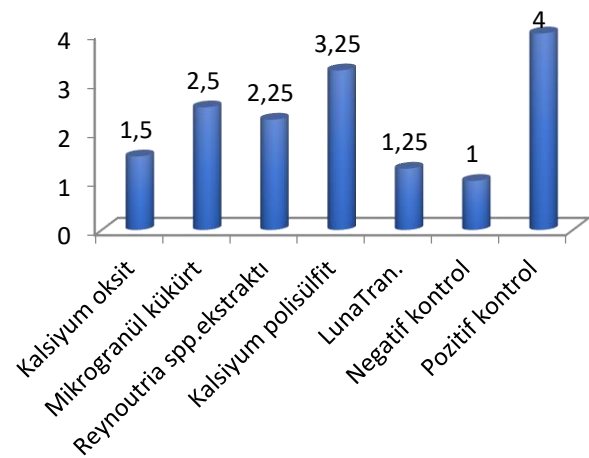
Biber bitkisinde Kurşuni küf hastalığına neden olan *Botrytis cinerea*'ya karşı denemede ele alınan

kimyasalların etkinlikleri farklılık göstermiştir. Ayrıca kimyasal uygulanmış bitkilerde toplam fenolik bileşik miktarlarının da uygulamalara ve zamana bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Uygulamalara bağlı olarak patojenin biber bitkilerinin gövdelerinde oluşturduğu lezyonun büyüklüğü farklılık göstermiştir. İlk olarak kimyasal uygulaması, bunu takiben patojen inokulasyonu yapılan denemede 10. gün yapılan gözlemden, biber bitkilerindeki hastalık şiddeti 1-4 skalasına göre değerlendirildiğinde; en iyi etkiyi gösteren kimyasal karşılaştırma amacıyla kullanılan ve biberde Kurşuni küf hastalığına karşı ruhsatlı olan Luna Tranquility olmuş, bunu kalsiyum oksit izlemiştir. En düşük etki ise kalsiyum polisülfid ile elde edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Kimyasal uygulamasını takiben *Botrytis cinerea* inokulasyonu yapılan biber bitkilerinde uygulamaların Kurşuni küf hastalık şiddeti üzerine etkileri

İlk olarak patojen inokulasyonu yapılan, takiben 3 gün sonra kimyasal uygulaması yapılan denemede 10. gün yapılan gözlemden de, yine en iyi etkiyi Luna Tranquility göstermiş, bunu kalsiyum oksit izlemiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Patojen inokulasyonunu takiben kimyasal uygulaması yapılan denemede uygulamaların biber bitkilerinde Kurşuni küf hastalık şiddeti üzerine etkileri

Tablo 2. Kimyasal uygulamasından önce *Botrytis cinerea* inokulasyonu yapılan biber bitkilerinin bazı büyüme parametreleri üzerine uygulamaların etkisi

Uygulamalar	Bitki boyu (cm)	Kök uzunluğu (cm)	Bitki ağırlığı (g)	Kök ağırlığı (g)	Gövde çapı (mm)
Negatif kontrol	26,75 ^{a*}	6,25 ^a	20,50 ^{bc}	6,50 ^{ab}	5,75 ^{cd}
Pozitif kontrol	18,75 ^b	5,75 ^a	16,00 ^d	5,50 ^b	5,00 ^e
Kalsiyum oksit	27,75 ^a	6,75 ^a	24,00 ^a	8,00 ^a	6,75 ^a
Mikrogranül kükürt	26,50 ^a	6,75 ^a	23,50 ^{ab}	6,50 ^{ab}	6,18 ^{bc}
Kalsiyum polisülfid	20,50 ^b	5,50 ^a	17,75 ^{cd}	5,75 ^b	5,45 ^{de}
Luna Tranquility	26,50 ^a	6,50 ^a	23,25 ^{ab}	6,25 ^{ab}	6,30 ^{ab}
<i>Reynoutria</i> spp. ekstraktı	25,75 ^a	5,75 ^a	19,50 ^c	5,75 ^b	5,78 ^{cd}
Cv	0,05	0,13	0,07	0,13	0,04
F	28,82	1,62	19,87	3,87	26,39
P	0,0001	0,1915	0,0001	0,0093	0,0001
R ²	0,89	0,32	0,85	0,53	0,88

*Sütunlarda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre istatistik olarak önemli farklılık yoktur ($P \leq 0.05$)

Patojen inokulasyonundan sonra kimyasal uygulaması yapılan biber bitkilerinde uygulamaların bitkilerin bazı gelişme parametreleri üzerindeki etkileri istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur (Tablo 2).

Bitki boyu parametresi açısından uygulanmış olan kimyasallar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık ortaya çıkmış, kalsiyum polisülfid uygulaması ve pozitif kontrolde bitki boyunun daha kısa kaldığı gözlenmiştir. İstatistik anlamda önemli farklılık bulunmamasına rağmen en uzun bitki boyu kalsiyum oksit uygulamasında olmuştur. Kök uzunluğu bakımından uygulamaların istatistik olarak önemli bir etkisi olmamıştır. Bitki ağırlığında ise kalsiyum oksit diğer kimyasallara göre bitki yaş ağırlığını arttırmış olup pozitif kontrol, *Reynoutria* spp. ekstraktı ve kalsiyum polisülfid uygulamalarında ise bitki ağırlığında azalma saptanmıştır. Kök ağırlığında yine kalsiyum oksit uygulaması en yüksek etkiyi göstermiştir. Gövde çapı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kalsiyum oksit önemli ölçüde gövde kalınlığını artırırken, Luna Tranquility ve mikrogranül kükürt bunu takip etmiştir. Pozitif kontrol ve kalsiyum polisülfid uygulamasında ise gövde çapında önemli derecede azalma olmuştur.

Kimyasal uygulamasından sonra patojen inokulasyonu yapılan biber bitkilerinde uygulamaların bitkilerin bazı gelişme parametreleri üzerindeki etkileri yine istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur (Tablo 3).

Bitki boyu parametresi açısından değerlendirildiğinde; pozitif kontrolde önemli kayıplar yaşanmış, yani patojen inokulasyonu bitki boyunun önemli derecede azalmasına neden olmuştur. Bunu takiben kalsiyum polisülfid uygulaması da bitki boyunda azalmaya neden olmuştur. Kök uzunluğuna bakıldığında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Bitki ağırlığı istatistiksel olarak değerlendirildiği zaman ise kalsiyum oksit uygulanmış bitkilerde ağırlığın arttığı saptanmıştır. Pozitif kontrolde ise önemli ağırlık kaybı saptanmıştır. Kök ağırlıklarına bakıldığında; yine kalsiyum oksit en yüksek ağırlık değerini verirken, diğer kimyasal uygulamaları arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır. Kalsiyum oksit uygulaması aynı şekilde gövde çapı değerlerini de artırmış, istatistik anlamda diğer uygulamalardan farklı bir grubu oluşturmuştur. Yalnızca patojen inokulasyonu yapılan bitkilerle karşılaştırıldığında diğer kimyasal uygulamalarının da gövde çapı üzerinde olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3. Kimyasal uygulamasını takiben *Botrytis cinerea* inokulasyonu yapılan biber bitkilerinin bazı büyüme parametreleri üzerine uygulamaların etkisi

Uygulamalar	Bitki boyu (cm)	Kök uzunluğu (cm)	Bitki ağırlığı (g)	Kök ağırlığı (g)	Gövde çapı (mm)
Negatif kontrol	26,75 ^a	5,75 ^a	19,50 ^c	6,00 ^{ab}	5,68 ^b
Pozitif kontrol	18,75 ^c	5,75 ^a	16,00 ^d	5,50 ^b	5,00 ^c
Kalsiyum oksit	28,25 ^a	7,25 ^a	23,75 ^a	7,75 ^a	6,68 ^a
Mikrogranül kükürt	26,75 ^a	7,00 ^a	22,75 ^{ab}	6,25 ^{ab}	5,68 ^b
Kalsiyum polisülfid	22,50 ^b	6,25 ^a	20,75 ^{bc}	6,25 ^{ab}	5,38 ^{bc}
Luna Tranquility	26,75 ^a	6,75 ^a	22,75 ^{ab}	7,25 ^{ab}	5,90 ^b
<i>Reynoutria</i> spp. ekstraktı	26,75 ^a	5,75 ^a	22,25 ^{abc}	6,00 ^{ab}	5,88 ^b
Cv	0,05	0,13	0,06	0,14	0,04
F	28,34	2,05	17,12	3,25	20,50
P	0,0001	0,1034	0,0001	0,0203	0,0001
R ²	0,89	0,37	0,83	0,48	0,85

**Sütunlarda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre istatistik olarak önemli farklılık yoktur ($P \leq 0.05$)

3.1. Uygulamaların biber bitkilerinin yapraklarındaki toplam fenolik bileşik miktarları üzerindeki etkileri

Biber bitkilerinde *Botrytis cinerea* ve kimyasal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra yapılan toplam fenolik bileşik analizleri sonucunda, fenolik madde miktarlarının hem uygulamalara hem de zamana bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4).

Kimyasal uygulamasını takiben patojen inokülasyonu yapılan biber bitkilerinin, kimyasal uygulama yapılmasından itibaren 24, 48 ve 72 saat sonra fenolik bileşik miktarlarında zamana bağlı olarak değişiklik görülmektedir. Kimyasal uygulamalarının yapıldığı bitkilerde 72 saatte istatistiksel olarak en yüksek ölçümler kalsiyum oksit, mikrogranül kükürt, Luna Tranquility ve *Reynoutria* spp. ekstraktı uygulamalarında gözlenmiştir. Bu uygulamaların genelinde 72 saatte en yüksek ölçüm gerçekleşirken negatif kontrolde bu miktarlar düşük bulunmuş, en düşük fenolik miktarı 24. saatte negatif kontrolden alınan yaprak örneğinde yapılan ölçümde saptanmıştır. 72. saat ölçümlerinde kalsiyum oksit ve *Reynoutria* spp. ekstraktı uygulamalarında ise en yüksek fenolik madde miktarlarına rastlanmıştır.

Patojen inokülasyonu takiben kimyasal uygulaması yapılan biber bitkilerinin uygulamadan 24, 48 ve 72 saat

sonra belirlenen fenolik bileşik miktarlarında zamana bağlı olarak değişiklik görülmektedir. Kimyasal uygulamalarının yapıldığı bitkilerde 24. ve 72. saatlerde en yüksek fenolik madde değerleri elde edilmiştir. Kalsiyum oksit, mikrogranül kükürt ve kalsiyum polisülfid uygulamalarında 24. saatte en yüksek ölçüm gerçekleşirken pozitif kontrolde fenolik madde miktarları düşük bulunmuştur (Tablo 5). Bu denemede genel olarak biber bitkilerinin yapraklarındaki fenolik madde miktarları uygulamalardan 24 saat sonra yüksek bulunurken, 48. saatte değerlerde azalma olmuş, 72. saatte ise bazı uygulamalarda tekrar artış görülmüştür.

4. Tartışma

Ülkemiz dünyadaki en önemli biber üreticisi ve ihracatçısı ülkelerden biri olarak bilinmektedir (Anonim, 2017). Dünya biber üretiminde 2008 yılında, Çin ve Meksika'nın ardından ülkemiz 1.8 milyon ton üretimle üçüncü sırada gelmiştir (Özalp, 2010). Dünyada sera ürünlerinde en fazla ekonomik kayba neden olan hastalıklardan biri Kurşuni kuf hastalığıdır. Hastalık etmeni hem tarla döneminde hem de depolanmış ürünlerde zarar oluşturabilmektedir. Patojenin bitki dokusuna girişi yaralardan veya zayıflamış bitki dokularından gerçekleşmektedir. Kalsiyum eksikliği, dış yaprakların yaşlanması nedeniyle çürümesi, ürünün ıslak veya yaralı olarak depolanması gibi predispozisyon

Tablo 4. Kimyasal uygulamasını takiben patojen inokülasyonu yapılan biber bitkilerinin 24, 48 ve 72 saat sonra koparılan yaprak örneklerindeki toplam fenolik bileşik miktarları (mg/g)

Uygulamalar	24. saat	48. saat	72. saat
Negatif kontrol	8,31 ^b	8,56 ^b	9,32 ^b
Kalsiyum oksit	16,13 ^a	17,64 ^a	23,44 ^a
Mikrogranül kükürt	16,88 ^a	19,91 ^a	20,67 ^a
Kalsiyum polisülfid	8,31 ^b	10,83 ^b	12,09 ^b
Luna Tranquility	15,62 ^a	17,39 ^a	21,17 ^a
<i>Reynoutria</i> spp. ekstraktı	16,38 ^a	19,15 ^a	23,94 ^a
Cv	0,13	0,087	0,11
F	16,53	36,06	26,53
P	0,0001	0,0001	0,0001
R ²	0,87	0,94	0,92

**Sütunlarda aynı küçük harfle, satırlarda ise aynı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre istatistik olarak önemli farklılık yoktur (P ≤0.05)

Tablo 5. Patojen inokülasyonu takiben kimyasal uygulaması yapılan biber bitkilerinin 24, 48 ve 72 saat sonra koparılan yaprak örneklerindeki toplam fenolik bileşik miktarları (mg/g)

Uygulamalar	24. saat	48. saat	72. saat
Negatif kontrol	7,81 ^c	10,58 ^a	12,59 ^b
Pozitif kontrol	14,36 ^{bc}	13,96 ^a	20,67 ^a
Kalsiyum oksit	26,72 ^a	17,39 ^a	23,44 ^a
Mikrogranül kükürt	24,95 ^a	18,40 ^a	21,93 ^a
Kalsiyum polisülfid	24,70 ^a	18,40 ^a	17,14 ^{ab}
Luna Tranquility	18,14 ^{ab}	19,15 ^a	21,93 ^a
<i>Reynoutria</i> spp. ekstraktı	17,89 ^{ab}	18,40 ^a	22,68 ^a
Cv	0,17	0,20	0,13
F	13,32	2,79	6,32
P	0,0001	0,0532	0,0022
R ²	0,85	0,55	0,73

faktörleri enfeksiyonu kolay hale getirmektedir. Bu nedenle ürünlerin üretimden tüketicinin sofrasına ulaşmaya kadar her süreçte çürümesi olağan bir durum olarak karşılanmaktadır (Polat, 2010).

Kurşuni küf mücadelesinde genelde sentetik fungusitler kullanılmaktadır. Özellikle bitki dokusu içinde yayılabilen sistemik fungusitler tercih edilmekte, ancak bunlar tek yönlü etki mekanizmasına sahip olduklarından hızlı üreme yeteneğine sahip olan patojen kısa sürede bunlara karşı direnç kazanabilmektedir. Son zamanlarda metil bromitin de yasaklanmasıyla bir önceki yıldan toprakta kışlayan patojene ait sklerotlar imha edilememekte, patojen yıldan yıla inokulumunu artırarak daha fazla zarara neden olabilmektedir. Hastalığı önlemek için yüksek dozlarda ve tekrarlamalı uygulamalar yapılmakta bu da direnç sorununu artırmakta ve böylece kısır bir döngü oluşmaktadır. Bu nedenlerle direnç sorununa neden olmayacak, çevre ve insan sağlığı açısından daha güvenli, yararlı organizmalara zararı daha az olan alternatif kimyasalların önemi giderek artmaktadır.

In vivo koşullarda yürütülen bu çalışmada; biberde Kurşuni küf hastalığına karşı ruhsatlı olmayan bazı kimyasalların hastalığa neden olan patojene karşı direnç sağlayarak hastalık şiddetini azalttığı ortaya konulmuştur. Denemelerde kalsiyum oksit etken maddeli preparat özellikle bitki boyu, ağırlığı ve gövde çapı gibi gelişim parametreleri bakımından da olumlu etki yapmış ve patojene karşı ruhsatlı karşılaştırma ilacı olan Luna Tranquility'ye göre bazı parametrelerde daha iyi sonuç vermiştir.

Kimyasal uygulamaları ve patojenin inokulasyonu sonucunda bitki gelişim parametrelerinde kontrol grubuna göre olumlu veya olumsuz etkiler gözlenmiştir. Bitki boyu parametresi değerlendirildiğinde, patojen inokulasyonu sonrasında, negatif kontrol grubuna göre kalsiyum oksit daha fazla boy uzaması sağlarken, kalsiyum polisülfid ve pozitif kontrol biber bitkilerinin boylarının daha kısa kalmasına sebep olmuştur. Yapılan denemede kalsiyum polisülfid patojene karşı yeterli koruyuculuk ya da tedavi edici özellik gösterememiştir. Kurşuni küf enfeksiyonu geliştiği için bitki boyu kısa kalmış, bitki ağırlığında ve gövde çapında da kayıplar yaşanmıştır. Uygulanan kimyasallar ve patojen inokulasyonu sonrasında biber bitkilerinin kök uzunluk ve ağırlıklarında istatistiksel olarak belirgin farklılıklar ortaya çıkmamıştır. Kalsiyum oksit, mikrogranül kükürt ve Luna Tranquility uygulamalarında bitkiler daha sağlıklı geliştiğinden bitki gelişim parametreleri bakımından hastalıklı kontrol grubuna göre daha iyi veriler elde edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarlarında; hem önce kimyasal uygulanıp, takiben patojen inokule edilen bitkilerden alınan örneklerde, hem de önce patojen inokulasyonu daha sonra kimyasal uygulaması yapılan bitkilerde, tüm

kimyasal uygulamalarında kontrol grubuna kıyasla artış olduğu gözlenmiştir. Fenolik madde miktarlarının hem uygulama gruplarına hem de zamana bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Kimyasal uygulaması yapılmış ve henüz patojen inoküle edilmemiş bitkilerde en yüksek değerler 72. saatte elde edilmiştir. Bu sonuçlar patojen inokulasyonunun bitkilerde fenolik bileşik miktarlarını arttırdığını göstermektedir.

Kalsiyum bitki gelişimini düzenleyen önemli elementlerden biridir. Hücre duvarının yapısını güçlendirdiği gibi, meyve kalitesi üzerinde de etkilidir (Helper, 2005). Budak ve Erdal (2016)'ın domates bitkileri üzerinde yapmış oldukları çalışmada kalsiyum uygulaması dekara bitki başına verimde artış sağlamıştır. Verimdeki bu artışa, bitkinin diğer kalite ölçütleri olan en, boy ve birim meyve ağırlıklarının yüksek olması neden olmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da benzer şekilde, kalsiyum uygulamasının bitki gelişim parametreleri açısından olumlu etki yaptığını göstermiştir. Kalsiyum ayrıca bitkilerin hastalıklara karşı dayanıklılığını da artırmaktadır (Usten ve ark., 2006). Tayvan'da yapılan bir araştırmada toprağa dikim öncesi (5000 kg/ha) kalsiyum oksit uygulaması domateslerde bakteriyel solgunluk şiddetini ve topraktaki *Pseudomonas solanacearum* yoğunluğunu azaltmıştır. Kimyasalın üre (200 kg/ha) ile birlikte uygulanması ise bu etkiyi artırmıştır (Michel ve ark., 1997). Yapılan bir araştırmada kalsiyum uygulaması sonucu ksilem ve kambiyum dokularında biriken kalsiyumun, patojenin misel penetrasyonunu engelleyerek soya fasulyesi bitkilerinin *Phytophthora sojae*'ya karşı dayanıklılığını artırdığı saptanmıştır. Aynı zamanda bitki boyu, boğum sayısı, kapsül sayısı, tohum verimi ve kalitesi gibi parametrelerde de artış sağlamıştır (Sugimoto ve ark., 2010). Kore'de yapılan bir çalışmada ise hidroponik kültürde yetiştirilen biber bitkilerinde değişik kalsiyumlu bileşiklerin kurşuni küf hastalığı şiddeti üzerine etkileri incelenmiş, kalsiyum karbonat, kalsiyum oksit, kalsiyum hidrit ve kalsiyum hidroksit hastalığı önemli ölçüde engellediği saptanmıştır (Yoon ve ark., 2010). Yine domates bitkilerinde yapılan bir başka araştırmada ise kalsiyumun tek başına ya da salisilik asitle birlikte uygulanması, bitkilerde hidrojen peroksit, süperoksit anyon ve fenilalanin amonyum liyaz aktivitelerini ve PR protein geninin ekspresyon seviyesini artırarak *Botrytis cinerea*'ya karşı dayanıklılığı teşvik etmiştir (Li ve Zou, 2017).

Kükürt parçacıkları ne kadar küçük olursa, elementel kükürtün oksidasyonu, sülfirik asit oluşumu ve bundan bitkilerin kullanabileceği SO₂ formuna dönüşümü ile hidrojen iyonlarının ortaya çıkmasının da o kadar hızlı olduğu bilinmektedir. Ayrıca kükürt partikülleri mikron düzeyinde ne kadar küçültülürse, toprak bakterileri ile etkileşim için o denli büyük bir yüzey alanı oluşmaktadır. Kükürt toprak pH'sını düşürmesi yanında, azot, fosfor, potasyum gibi bitki için gerekli temel elementlerden biri

olma özelliğindedir. Ayrıca, toprak kökenli hastalık ve zararlılara karşı bitkiler için koruyucu olarak da bilinmektedir (Daşgan ve Yaraş, 2012).

Kalsiyum polisülfid (kireç-kükürt bulamacı) pestisit etkisi ilk kez 1802'de İngiltere'de keşfedilen fungusit, insektisit ve akarisit etkisi bilinen bir kimyasaldır (Holb ve ark., 2003). Halk arasında Gülleci Bulamacı ya da Kaliforniya bulamacı olarak da bilinmektedir. Kabuklu bitlere, Şeftali yaprak kıvrıcılığı hastalığına ve Kara lekeye karşı etkili olduğu bildirilmektedir (Yetkin, 2010). Çok yönlü etkiye sahip sentetik inorganik bir fungusit olarak sınıflandırılan kalsiyum polisülfid çevre açısından daha güvenli kabul edilmekte ve organik tarımda özellikle elmada karaleke, sert çekirdekli meyve ağaçlarında monilya gibi hastalıklara karşı kullanımına izin verilmektedir. Mitokondrilerde sentezlenen enzimler üzerindeki etkisiyle funguslarda solunumu engellediği gibi elektron taşınımını engellemek suretiyle fungus sporlarının da ölümüne neden olmaktadır. Ayrıca hedef dışı organizmalar için zehirsiz veya orta derecede zehirlidir (Holb ve Schnabel, 2008; Widiyasmoro ve ark., 2017). Ülkemizde yapılan bir araştırmada, nano formülasyonunun domateslerde *Fusarium solgunluğu* ve kurşuni küf hastalıklarına neden olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ve *Botrytis cinerea*'nın *in vitro* misel gelişimi ve spor çimlenmesi üzerinde engelleyici etkisi olduğu saptanmıştır (Arıcı ve ark., 2018).

Son zamanlarda bitki hastalıklarıyla mücadelede çevre ve insan sağlığı açısından daha güvenli preparatların kullanımına yönelim artmış ve bu kapsamda özellikle değişik bitki ekstraktlarının kullanımı gündeme gelmiştir. Bunlardan biri olan ve *Reynoutria sachalinensis* (Dev çoban değneği) bitkisinden elde edilen ekstraktın, bitkilerde savunma sistemini harekete geçirici etkisi olduğu saptanmıştır. Ekstraktın bitkilerde peroksidaz, polifenol oksidaz ve fenil alanin amonyum liyaz gibi enzimlerin aktivitelerini artırdığı ve fitoaleksinin üretimini teşvik ettiği kanıtlanmıştır (Daayf ve ark., 1997). Özellikle seralarda yetiştirilen domates, hıyar gibi sebzeler yanında begonya, gül gibi süs bitkilerinde de külleme, kurşuni küf gibi hastalıklara karşı etkili bulunmuştur (Daayf ve ark., 1995; Konstantinidou-Doltsinis ve ark., 2006; Konstantinidou-Doltsinis ve Schmitt, 1998; Liopa-Tsakalidi ve ark., 2011). Ekstrakt ayrıca bitki hücre duvarının yapısal bileşenlerinin daha güçlü olmasını teşvik etmekte, bu sayede hastalık sporlarının bitki bünyesine doğrudan giriş yapmasını zorlaştırmaktadır. Ülkemizde de değişik bitkilerde külleme hastalığına ve domateste kurşuni küfe karşı ruhsat almıştır (Anonim, 2018).

Kontrollü koşullarda yürütülen bu araştırma, biber bitkilerine doğal savunma sistemini ve bitki dokularını güçlendiren kimyasalların uygulanmasının Kurşuni küf hastalığına karşı yararlı olduğunu ortaya koymuştur. Ancak arazi koşullarında yapılacak daha detaylı

araştırmalarla burada elde edilen sonuçların desteklenmesi gerekmektedir. Böylece biber üretiminde Kurşuni küfe karşı çevre ve insan sağlığı açısından daha güvenli kimyasalların kullanımı mümkün olabilecek ve daha sağlıklı, daha az fungusit kalıntısı içeren ürünler elde edilebilecektir. Tarımsal ürünlerde daha güvenli kimyasalların kullanımı ülkemizin dış pazardaki prestijinin ve tüketici sağlığının korunması bakımından önem taşımaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma Yüksek Lisans tezinden türetilmiştir.

Kaynakça

- Akbudak N, Tezcan H, Akbudak B, Seniz V (2006). The effect of harpin protein on plant growth parameters, leaf chlorophyll, leaf colour and percentage rotten fruit of pepper plants inoculated with *Botrytis cinerea*. *Scientia Horticulturae*, 109: 107-112.
- Akgül S (2019). Bitki Fungal Hastalıkları ve Mücadelesi. <http://aves.cu.edu.tr/ImageOfByte.aspx?Resim=8&SSNO=8&USER=15441> (Erişim tarihi: 01.06.2019).
- Anonim (2016). https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Bitki%20Sa%C4%9Fl%C4%B1%C4%9F%C4%B1%20Hizmetleri/hastalik_zararilari_ile_m%C3%BCCadele_dokumanlari/biber.pdf (Erişim tarihi: 01.06.2019).
- Anonim (2017). <http://www.uib.org.tr/tr/kbfile/biber-raporu-2017> (Erişim tarihi: 01.06.2019).
- Anonim (2018). <https://www.syngenta.com.tr/sites/g/files/zhg251/f/regaliabrosur2015.pdf?token=1469099> (Erişim tarihi: 01.06.2019).
- Arıcı ŞE, Şimşek A, Aşkın M (2018). Antifungal activity of nano calcium polysulfide against pathogenic fungi on tomato. *Scientific Papers. Series A. Agronomy*, 61: 170-174.
- Budak Z, Erdal İ (2016). Yapraktan kalsiyum uygulamasının farklı sera domates çeşitlerinde verim, meyve kalitesi ve mineral beslenmesine etkisi. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 4 (1): 1-10.
- Daayf F, Schmitt A, Belanger RR (1995). The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Disease*, 79: 577-580.
- Daayf F, Schmitt A, Belanger RR (1997). Evidence of phytoalexins in cucumber leaves infected with powdery mildew following treatment with leaf

- extracts of *Reynoutria sachalinensis*. Plant Physiology, 113: 719-727.
- Daşgan YH, Yaraş, K (2012). Sera koşullarında toprağa uygulanan Mikronize-Bentonitli-kükürt ve organik maddenin toprak pH' sı, domatesin bitki büyümesi, verimi ve meyve kalitesi üzerine etkisi. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi, 5 (1): 175-180.
- Escarpa A, Gonzalez MC (1998). High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties. Journal of Chromatography A, 823: 331-337.
- Eser Ü, Coşkuntuna A (2016). Bazı bitki aktivatörlerinin salata-marulda kurşuni küf hastalığına (*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.) karşı etkilerinin araştırılması. Bitki Koruma Bülteni, 56 (4): 360-368.
- Helper PK (2005). Calcium: a central regulator of plant growth and development. Plant Cell, 17: 2142-2155.
- Holb IJ, De Jong PF, Heijne B (2003). Efficacy and phytotoxicity of lime sulphur in organic apple production. Annals of Applied Biology, 142: 225-233.
- Holb IJ, Schnabel G (2008). A detached fruit study on the post-inoculation activity of lime sulfur against brown rot of peach (*Monilinia fructicola*). Australasian Plant Pathology, 37: 454-459.
- Kamara A, El-Argawy E, Korany-El A, Amer G (2016). Potential of certain cultivars and resistance inducers to control gray mould (*Botrytis cinerea*) of pepper (*Capsicum annuum* L.). African Journal of Microbiology Research, 10: 1926-1937.
- Kaur C, Kapoor HC (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal of Food Science and Technology, 37: 153-161.
- Konstantinidou-Doltsinis S, Schmitt A (1998). Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai on intensity of powdery mildew severity and yield in cucumber under high disease pressure. Crop Protection, 17: 649-656.
- Konstantinidou-Doltsinis S, Markellou E, Kasselaki AM, Fanouraki MN, Koumaki CM, Schmitt A, Liopa-Tsakalidi A, Malathrakis NE (2006). Efficacy of Milsana, a formulated plant extract from *Reynoutria sachalinensis*, against powdery mildew of tomato (*Leveillula taurica*). BioControl, 51: 375-392.
- Li L, Zou Y (2017). Induction of disease resistance by salicylic acid and calcium ion against *Botrytis cinerea* in tomato (*Lycopersicon esculentum*). Emirates Journal of Food and Agriculture, 29 (1): 78-82.
- Liopa-Tsakalidi A, Konstantinidou-Doltsinis S, Beligiannis GN (2011). Studies on the efficacy of extracts of *Reynoutria sachalinensis* on cucumber growth using the Richards function and evolutionary modelling. Proceedings of the ITI 33rd International Conferans on Information Technology Interfaces, June 27-30, s. 545-550, Cavtat, Croatia.
- Michel VV, Wang JF, Midmore DJ, Hartman GL (1997). Effects of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil-borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. Plant Pathology, 46: 600-610.
- Özalp R (2010). Ülkemizde biber üretimi ve örtüaltı biber yetiştiriciliği. Tarım Türk Dergisi, 24: 29-32.
- Polat Z (2010). Örtü altında yetiştirilen marulda kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.) hastalığına karşı mücadele imkanlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Sugimoto T, Watanabe K, Yoshida S, Aino M, Furiki M, Shiono M, Matoh T, Biggs AR (2010). Field application of calcium to reduce phytophthora stem rot of soybean, and calcium distribution in plants. Plant Disease, 94: 812-819.
- Törün B (2018). Aydın ve Mersin illerinden toplanan çileklerde *Botrytis cinerea* populasyonlarındaki transpozon sıklığı ve fungusit dirençliliği. Doktora Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Uçar A (2014). Aydın ilinde yetiştirilen bazı çilek çeşitlerinde kurşuni küf (*Botrytis cinerea*) ve külleme (*Podosphaera aphanis*) hastalığının bulunma oranı ve hastalık şiddeti. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Usten NH, Yokas AL, Saygili H (2006). Influence of potassium and calcium level on severity of tomato pith necrosis and yield of green house tomatoes. Acta Horticulturae, 808: 345-350.
- Widiyasromo W, Martosudiro M, Sulistyowati L (2017). Effect of calcium polysulfide applications on severity of cocoa pod rot (*Phytophthora palmivora* Butl.) and fungal diversity. The Journal of Experimental Life Science, 7 (2): 69-75.
- Yetkin MA (2010). Organik Tarımda Bitki Koruma Yöntemleri. Samsun Valiliği, İl Tarım Müdürlüğü, Samsun.

- Yıldırım G, Yapıcı BM (2007). Inhibition of conidia germination and mycelial growth of *Botrytis cinerea* by some alternative chemicals. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (8): 1294-1300.
- Yoon CS, Yeoung YR, Kim BS (2010). The suppressive effects of calcium compounds against *Botrytis cinerea* in paprika. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 28 (6): 1072-1077.