

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
2022-YL-092

ZEYTİNDE MEYVE ÇÜRÜKLÜĞÜ'NE NEDEN OLAN
Botryosphaeria dothidea'E KARŞI
FUNGİSİTLERİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

AYLA AVCUOĞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. H. Seher BENLİOĞLU

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından ZRF-21001 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN 2022

TEŞEKKÜR

Tez çalışması, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından desteklenmiş olup (ZRF-21001), desteklerinden dolayı ADÜ'e teşekkürü bir borç bilirim. Çalışmada Domat, Memecik ve Manzanila zeytin çeşitleri kullanılmıştır. Bu çeşitler Özege Teknik Fidancılık (Bozdoğan-AYDIN)'dan temin edilmiştir. Firmaya katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana çok şey öğreten, her zaman yanımda olan canım hocam Prof. Dr. H. Seher BENLİOĞLU başta olmak üzere, Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU hocama, her zaman yardımını esirgemeyen Sayın Dr. Yunus KORKOM'a , her zaman arkamda duran, maddi ve manevi destekçim olan annem Gülsüm AVCU, babam Taner AVCU, babaannem Ümmühan AVCU ve dedem Mehmet AVCU'ya beni bugüne getirip bir dediğimi iki etmedikleri için ve her zaman desteğini hissettiğim eşim Özkan AVCUOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim .

Ayla AVCUOĞLU

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
EKLER DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1. Materyal.....	16
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Patojenisite Testi	17
3.2.1.1. Miseliyal Disk İle İnokulasyon	18
3.2.1.2. Spor Süspansiyon İle İnokulasyon	19
3.2.1.3. Patojenisite Çalışmalarının Değerlendirilmesi	21
3.2.2. <i>B. dothidea</i> İzolatlarının <i>in-vitro</i> 'da Bazı Fungisitlere Duyarlılıklarının Belirlenmesi	21
3.2.2.1. Miseliyal Gelişime Etkisi	21
3.2.2.2. Spor çimlenmesine Etkisi	22
3.2.3. Bazı Fungisitlerin <i>in-vivo</i> 'da <i>B. dothidea</i> İzolatına Etkisinin Belirlenmesi.....	23
4. BULGULAR	27

4.1. Patojenisite Testi	29
4.1.1. Miseliyal Disk İle İnokulasyon	27
4.1.2. Spor Süspansiyonu İle İnokulasyon	30
4.2. <i>B. dothidea</i> İzolatlarının <i>in-vitro</i> 'da Bazı Fungisitlere Duyarlılıklarının Belirlenmesi .	32
4.2.1. Miseliyal Gelişime Etkisi	32
4.2.2. Spor Çimlenmesine Etkisi	34
4.3. Bazı Fungisitlerin <i>in-vivo</i> 'da <i>B. dothidea</i> İzolatına Etkisinin Belirlenmesi	35
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR.....	44
EKLER	49
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µg	: Mikrogram
µl	: Mikro litre
°C	: Derece Celsius
CS	: Kapsül süspansiyon (capsule suspension)
da	: Dekar
dk	:Dakika
EC	:Emülsiyon olabilen konsantre (emulsifiable concentrate)
ED₅₀	: Popülasyonun %50 'sini öldüren doz
em	: Etkili madde
g	: Gram
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
NaOCl	: Sodyum hipoklorür
PDA	: Patates Dekstroz Agar
SA	: Su Agar
SC	: Akıcı konsantre/süspansiyon konsantre (suspension concentrate/flowable concentrate)=FL
spp	: Türler
vd	: Ve diğerleri
WG	: Suda dağılabilen granül (water dispersible granules)= WDG
WP	: Islanabilir toz (wetable powder)

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.1. Akdeniz Havzası zeytin üretim alanları (Anonim, 2019).	1
Resim 1.2. Botryosphareceae dothidea’ nın zeytin meyvesinde oluşturduğu karakteristik “escudete” görüntüsü (a) ve kuruyup suyunu kaybetmiş (mumyalaşmış) hastalıklı meyveler (b) (Moral, 2019a).....	7
Resim 3.1. Zeytin meyvelerinin ağaçlardan toplanması (Bozdoğan-Aydın).....	16
Resim 3.2. Plastik kaplara steril kurutma kağıdının yerleştirilmesi (a), yüzey dezenfeksiyonu yapılmış meyvelerin plastik kap içerisindeki straforlara yerleştirilmesi (b), inokulasyon için meyvelere steril iğne ile 2mm derinliğinde, 0, 8 mm genişliğinde yara açılması (c), 7 mm çapındaki miseliyal disklerin meyve yüzeyine inokulasyonu (d), 1, 2x10 ⁶ spor/ml spor süspansiyonundan 10 µl spor süspansiyonun yaralı ve yarasız meyvelere mikropipet ile inokulasyonu (e).....	18
Resim 3.3. Petriye dökülmüş PDA içerisine yerleştirilmiş zeytin yaprakları (a), B. dothidea izolatının inokulasyonundan 3 gün sonraki görünüm (b), inokulasyondan 20 gün sonra sonra zeytin yapraklarında oluşan piknitler (c)	19
Resim 3.4. B. dothidea izolatlarına ait piknitlerin steril bistüri ile kazınarak piknitlerin petri kaplarına konan Tween %80 içeren steril suya geçmesi sonrası süspansiyonun steril havana aktarılması (a), steril havan içinde piknitlerin ezilmesi (b), spor içeren süspansiyonun steril tülbentten süzülmesi (c), Spor süspansiyonunun hemositometre’e mikropipetle verilmesi (d).....	20
Resim 3.5. Patojenisite çalışması sonrası 23 ±2 C’de, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık koşullardaki iklim odasına yerleştirilmiş plastik kaplar	20
Resim 3.6. Her bir fungusite ait stok solüsyonunun hazırlanması (a), Fungisit doz serisini içeren PDA’nın steril petrilere dökülmesi (b), Fungisit doz serisini içeren PDA’lı ortama izolatların inokulasyonu (c)	22
Resim 3.7. B. dothidea izolatlarına ait spor süspansiyonu hazırlanması(a), fungusit doz serisi ve spor süspansiyonu stoklarının hazırlanması (b), fungusit dozu ve spor süspansiyonu karışımının lamel üzerine damlatılması (c)	23

- Resim 3.8.** Domat çeşidine ait sağlıklı ve yeşil meyvelerin %1’lik sodyum hipoklorid ile yüzey dezenfenksiyonu sonrası steril tülbente alınması (a), tülbente alınan meyvelerin fungusitlerin uygulama dozlarına daldırılması (b), fungusit solüsyonuna daldırılan meyvelerin steril kabinde 12 saat kurumaya bırakılması (c) 24
- Resim 3.9.** B. dothidea (BOZ 2M) izolatına ait spor süspansiyonun hazırlanması için piknitlerin steril havanda parçalanması (a), fungusit solüsyonuna daldırılmış sağlıklı ve yeşil Domat meyvelerinin strafordaki deliklere yerleştirilmesi (b), meyvelere spor süspansiyonun (105 spor/ml)el spreyi ile püskürtülmesi (c) 25
- Resim 3.10.** Fungisitlerin B. dothidea (BOZ 2M) izolatına etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 23 ± 2 °C’de, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık koşullardaki iklim odasına yerleştirilmiş her bir fungusitin her bir tekerrürüne ait plastik kaplar 25
- Resim 4.1.** Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinde B. dothidea izolatlarının miseliyal diski ile inokulasyondan 7 gün sonraki görünümü. 28
- Resim 4.2.** Yara açılmamış Domat ve Memecik zeytin çeşitlerinde B. dothidea izolatlarının miseliyal diski ile inokulasyondan 7 gün sonraki görünümü. 29
- Resim 4.3.** Memecik (Naz 5M)(a), Manzanilla (Me4M)(b)ve Domat (Boz1M)(c)zeytin çeşitlerinde solda yaralı, sağda yarasız meyvelere spor süspansiyonu ve üstte kontrol meyvelerine steril saf su verildikten 7 gün sonra meyvelerdeki görünüm..... 32
- Resim 4.4.** B. dothidea (Boz 2 M)izolatının tebucanozole (a)ve dodine (b)fungisitlerinin farklı doz serilerindeki misel gelişimleri. 33
- Resim 4.5.** B. dothidea (Naz 5 M)izolatının fluazinam (a)ve dodine (b)fungisitlerinin farklı doz serilerindeki gelişimi 34
- Resim 4.6.** Azoxystrobin+Difenoconazole (a)ve Azoxystrobin (b)’e daldırılmış ve B. dothidea izolatı ile inokule edilmiş domat meyvelerindeki görünüm. 36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Zeytin üreticisi Akdeniz ülkelerinin 2015-2020 yılları arasındaki zeytin üretim alanları (da)(FAO, 2022).	2
Çizelge 1.2. Zeytin üreticisi Akdeniz ülkelerinin 2015-2020 yılları arasındaki üretim miktarları (ton)(FAO, 2022).	3
Çizelge 1.3. Türkiye’de 2017-2021 yılları arasındaki meyve veren ve vermeyen sofralık ve yağlık zeytin ağacı sayısı ve üretim miktarları (TÜİK, 2022).	3
Çizelge 1.4. Türkiye’de 2016-2021 Yıllarında Meyve Veren Yaştaki Sofralık, Yağlık Zeytin Ağacı Sayısının ve Üretim Miktarlarının İllere Göre Dağılımı.....	5
Çizelge 3.1. Zeytinde Botryosphaeria dothidea’a karşı in-vitro ve in-vivo çalışmalarda kullanılan fungusitlerin etkili maddeleri ve yüzdesi, ticari adları, firma adı ve uygulama dozları.....	17
Çizelge 4.1. Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, Botryosphaeria dothidea izolatlarının misel diski ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerleri.....	27
Çizelge 4.2. Yara açılmamış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, Botryosphaeria dothidea izolatlarının misel diski ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerleri.....	29
Çizelge 4.3. Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, Botryosphaeria dothidea izolatlarının spor süspansiyonu ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerleri.	30
Çizelge 4.4. Yara açılmamış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, Botryosphaeria dothidea izolatlarının spor süspansiyonu ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerleri.	31
Çizelge 4.5. B. dothidea izolatlarının denemeye alınan fungusitlere ait ED50 (misel)değerleri.	33
Çizelge 4.6. B. dothidea izolatlarının denemeye alınan fungusitlere ait ED50 (spor çimlenmesi) değerleri.....	35

Çizelge 4.7. Denemeye alına fungusitlerin B.dothidea izolatına (Boz 2M)in-vivo koşullarda etkisi.	36
---	----



EKLER DİZİNİ

- Ek 1.** Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının misel diski ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerlerine ait varyans analiz sonucu (Çizelge 4.1) 49
- Ek 2.** Yara açılmamış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının misel diski ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerlerine ait varyans analiz sonucu (Çizelge 4.2) 49
- Ek 3.** Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının spor süspansiyonu ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerlerine ait varyans sonucu (Çizelge 4.3) 49
- Ek 4.** Yara açılmamış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının spor süspansiyonu ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerlerine ait varyans sonucu (Çizelge 4.4) 49
- Ek 5.** Denemeye alınan fungusitlerin *B.dothidea* izolatına (Boz 2M)*in-vivo* koşullarda etkisine ait varyans sonucu (Çizelge 4.7) 50

ÖZET

ZEYTİNDE MEYVE ÇÜRÜKLÜĞÜ'NE NEDEN OLAN *Botryosphaeria dothidea* 'E KARŞI FUNGİSİTLERİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Avcuoğlu, A., Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Çalışma, *Botryosphaeria dothidea*'nın neden olduğu zeytin meyve çürüklüğüne karşı bazı fungusitlerin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla ele alınmıştır.

Materyal ve Yöntem: 9 *Botryosphaeria dothidea* izolatının Domat, Memecik ve Manzanilla çeşidi meyvelerine yara açarak ve yara açmaksızın misel diski (7 mm) ve spor süspansiyonu ($1, 2 \times 10^6$ spor/ml, 10 μ l) ile inokulasyonu yapılmıştır. İnokule edilen meyveler inokulasyondan 7 gün sonra değerlendirilmiştir. Ayrıca 15 fungusitin farklı doz serilerinin, virülensi yüksek 6 *B. dothidea* izolatının miseliyal gelişimine ve spor çimlenmesine etkisi *in-vitro* koşullarda belirlenmiştir. Bu fungusitlerin *in-vivo* koşullarda virülensi yüksek 1 *B. dothidea* izolatına karşı etkisini belirlemek amacıyla Domat çeşidine ait sağlıklı yeşil meyveler kullanılmıştır. Meyveler önce fungusit süspansiyonuna daldırılmış, kurumaya bırakılmış ve daha sonra izolatın spor süspansiyonu 10^5 spor/ml olacak şekilde yarasız meyvelere püskürtülmüştür. İnokulasyondan 14 gün sonra değerlendirmeler yapılmıştır.

Bulgular: Meyvelere yara açılarak yapılan uygulamalarda, misel diski ile inokulasyonlarda çeşitlerin hepsinde hastalık görülmüş ve en duyarlı çeşitlerin Domat ve Memecik olduğu saptanmıştır. Yara açılmadan miseliyal disk ile yapılan inokulasyonlarda, Domat ve Manzanilla çeşitlerinde hastalık görülmüş ancak Memecik çeşidinde görülmemiştir. Boz 2M ve Naz 5M izolatlarının her iki denemede de virülensi en yüksek izolatlar olduğu belirlenmiştir. Her üç çeşide yara açılıp, spor süspansiyonu ile inokule edildiğinde, *B. dothidea* izolatlarının virülensinin çeşitlere göre değiştiği ve her üç çeşitte de hastalık görüldüğü belirlenmiştir. Meyvelere yara açılmadan spor süspansiyonu uygulandığında sadece Domat çeşidinde hastalık görülmüş, Memecik ve Manzanilla çeşitlerinde görülmemiştir. Bu uygulamada virülensi en yüksek izolatın Naz 5M olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada 6 *B. dothidea* izolatının 15 fungusite ait ED50 değerleri ve fungusitlerin spor çimlenmesine etkileri saptanmıştır. Fungisitlerin *in-vivo*'daki etkisinin belirlendiği denemelerde en etkili fungusitlerin sırasıyla azoxystrobin+difenoconazole, kükürt ve azoxystrobin olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada elde edilen verilerin pratikte uygulanabilmesi için denemelerin doğa koşullarında tekrarlanması ve etkili bulunan fungusitlerin kalıntı analizleri yapılarak sonuçların değerlendirilmesi daha uygun olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *B. dothidea*, Fungisit, Zeytin çeşitleri, Miseliyal disk, Spor süspansiyonu.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE ACTIVITY OF FUNGICIDES AGAINST *Botryosphaeria dothidea* CAUSING FRUIT ROT OF OLIVES.

Avcuoglu, A., Aydin Adnan Menderes University, Institute of Science, Plant Protection, Program, Master of Science Thesis, Aydin, 2022.

Objective: The study was undertaken to determine the efficacy of some fungicides against fruit rot of olive caused by *Botryosphaeria dothidea*.

Materials and Methods: Detached fruits of Domat, Memecik and Manzanilla varieties were inoculated with the mycelial disc (7 mm) and spore suspension ($1, 2 \times 10^6$ spor/ml, 10 μ l) of 9 *Botryosphaeria dothidea* isolates by wounding and non-wounding. The inoculated fruits were evaluated seven days after inoculation. In addition, the effect of different dosage series of 15 fungicides on mycelial development and spore germination of 6 *B. dothidea* isolates with high virulence was determined *in vitro*. Healthy green fruits of the Domat variety were used to assess the effect of these fungicides on against one highly virulent *B. dothidea* isolate in-vivo conditions. The fruits were first immersed in the fungicide suspension, left to dry, and then whole fruits were sprayed with the spore suspension at 10^5 spor/ml concentration. Evaluations were made 14 days after inoculation.

Results: The disease was observed in all cultivars in the applications made with wounds on the fruits and inoculations with the mycelial disc. It was determined that the most susceptible cultivars were Domat and Memecik. In the applications made with mycelial discs without opening the wound, the disease was seen in Domat and Manzanilla cultivars but not in the Memecik cultivar. It was determined that Boz 2M and Naz 5M isolates had the highest virulence in both trials. When wounds were opened and inoculated with spore suspension in all three cultivars, the virulence of *B. dothidea* isolates varied according to cultivars, and disease was observed in all three cultivars. When spore suspension was applied to fruits without wounding, the disease was observed only in the Domat cultivar but not in Memecik and Manzanilla cultivars. In this application, it was determined that the highest virulent isolate

was Naz 5M. In the study, ED50 values of 15 fungicides and their effects on the spore germination of 5 *B. dothidea* isolates were determined. In the trials in which the impact of fungicides *in-vivo* was determined, the most effective fungicides were azoxystrobin + difenoconazole, sulfur, and azoxystrobin, respectively.

Conclusion: For the data obtained in this study to be applied in practice, it would be more appropriate to repeat the experiments in field conditions and evaluate the results by conducting residual analyzes of fungicides.

Keywords: *B. dothidea*, Fungicide, Olive cultivars, Mycelial disc, Spore suspension.



1. GİRİŞ

Zeytin, *Oleaceae* familyasında, meyvesi yenilebilen *Olea europaea* L. türüne ait bir bitkidir. Zeytin, *O. europaea* var. *europaea* Zhukovsk (kültüre alınmış) ve *O. europaea* L. var. *sylvestris* (Miller) Lehr (yabani zeytinler) olarak ikiye ayrılmaktadır (Topuz, 2011). Zeytin ağacı Samiler tarafından M.Ö. 6000-de verimli bir kültür bitkisi haline getirilmiştir (Gözüpek, 2021). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin de içinde bulunduğu Güney Ön Asya ve yukarı Mezopotamya zeytinin anavatanı olarak bilinmektedir (Gülbaş, 2012). Genel olarak zeytin yetiştirme kuşağı Güney ve Kuzey yarımkürenin 30° - 45° enlemleridir (Topuz, 2011). Kalkerli-kumlu, nemli, derin ve besince zengin toprakları seven zeytin olumsuz şartlarda bile ürün verebilmektedir (Gülbaş, 2012). Uzun yıllardır besin kaynağı olarak tüketilen zeytin, verimliliğini de kaybetmediği için “ölümsüz ağaç” olarak adlandırılmaktadır (Güven, 2015).

Zeytin, Resim 1.1'de görüldüğü gibi Akdeniz havzasında yoğun yetiştirilmekte ve sosyo-ekonomik getiri sağlamaktadır. İşlenmesi sonucunda elde edilen zeytinyağı gerek dünyada gerek ülkemizde alıcıyı cezbetmektedir. Belirli bir iklimde ve belirli ülkelerde yetiştirilen zeytin o ülkelere ekonomik katkıda bulunmaktadır. Dünyada hem zeytin hem de zeytinyağı insanları beslemede, tarımsal hammaddeyi karşılamada, Dünya pazarına katkı sağlamada öne çıkmaktadır (Liman, 2021). Aynı zamanda zeytinyağı içerisinde bulunan oleik asit ve antioksidan sebebiyle insan sağlığına olumlu etkide bulunmaktadır (Kayabaş, 2021).

Dünya'da 10 milyon hektarın üzerinde zeytin ağacı bulunmakta ve bu zeytin ağaçlarının %95'inden fazlası Akdeniz ülkelerinde yer almakla beraber, dünyada 25 ülkede zeytin üretimi yapılmaktadır (Yılmaz, 2017).



Resim 1.1. Akdeniz Havzası zeytin üretim alanları (Anonim, 2019).

Zeytin üreticisi bazı Akdeniz ülkelerinde, 2015-2020 yılları arasındaki üretim alanlarına ait veriler incelendiğinde, 2020 yılında 2015 yılına göre zeytin üretim alanlarında %24, 93'lük ve üretim miktarlarında %13, 30'luk bir artış görülmektedir. 2020 yılı itibariyle zeytin üretim alanı bakımından, Akdeniz ülkeleri arasında Tunus %28,84 ile ilk sırada yer almakta, bunu sırasıyla İspanya (%20,77), İtalya (%9,07), Fas (%8,46), Yunanistan (%7,17) ve Türkiye (%7,02) izlemektedir. Zeytin üretim miktarı bakımından karşılaştırıldığında ilk sırada %34,42 ile İspanya yer alırken, bunu İtalya (%9,34), Tunus (8,46), Fas (%5,96), Türkiye (%5,57) ve Yunanistan (%5,20) izlemektedir. Zeytin üretim alanlarında 2018 yılına göre 2019 yılında % 6,34'lük bir düşüş görülmesine rağmen takip eden yıllar dikkate alındığında 2019 yılına göre 2020 yılında % 12,48'lik bir artış olduğu görülmüştür. Zeytin üretim miktarlarında ise üretim alanlarının aksine 2018 yılından itibaren her yıl artış olduğu görülmektedir (Çizelge 1.1.)

Çizelge 1.1. Zeytin üreticisi Akdeniz ülkelerinin 2015-2020 yılları arasındaki zeytin üretim alanları (da)(FAO, 2022).

Ülkeler	Üretim alanı (da)						
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Pay%
İspanya	2.351.370	2.521.694	2.554.829	2.579.000	2.601.900	2.623.720	20,77
Yunanistan	821.206	797.820	792.643	963.120	903.080	906.020	7,17
İtalya	1.147.877	1.144.947	1.141.893	1.142.120	1.139.470	1.145.520	9,07
Türkiye	836.935	845.542	846.062	864.428	879.177	887.077	7,02
Fas	1.006.491	1.008.365	1.020.569	1.045.186	1.073.493	1.068.895	8,46
Suriye	692.324	689.162	692.417	693.064	693.227	696.363	5,51
Tunus	1.624.980	1.646.060	944.560	2.981.882	2.159.004	3.642.569	28,84
Cezayir	406.571	423.683	432.959	431.009	431.506	438.828	3,47
Mısır	69.707	78.968	91.826	89.955	103.000	100.826	0,80
Portekiz	351.340	356.183	358.276	361.180	377.280	379.440	3,00
Ürdün	63.883	63.963	56.214	56.599	56.952	59.761	0,47
Libya	224.513	243.179	240.386	236.026	239.864	238.759	1,89
DÜNYA	10.110.509	102.298.871	9.725.346	11.990.842	11.230.212	12.631.184	

Çizelge 1.2. Zeytin üreticisi Akdeniz ülkelerinin 2015-2020 yılları arasındaki üretim miktarları (ton)(FAO, 2022).

Ülkeler	Üretim miktarı (ton)						
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Pay %
İspanya	5.947.700	7.082.550	6.549.499	9.819.570	5.965.080	8.137.810	34,42
Yunanistan	2.907.866	2.755.431	2.837.778	1.079.080	1.228.130	1.228.130	5,2
İtalya	2.732.894	2.038.303	2.597.974	1.953.540	2.194.110	2.207.150	9,34
Türkiye	1.700.000	1.730.000	2.100.000	1.500.467	1.525.000	1.316.626	5,57
Fas	1.144.238	1.416.107	1.039.117	1.561.465	1.912.238	1.409.266	5,96
Suriye	901.654	657.216	849.919	664.643	844.316	781.204	3,3
Tunus	1.700.000	700.000	500.000	1.617.000	1.184.961	2.000.000	8,46
Cezayir	653.725	696.431	684.461	860.784	868.754	1.079.508	4,57
Mısır	698.927	874.748	1.094.724	1.083.771	981.000	932.927	3,95
Portekiz	722.893	476.003	876.215	738.550	925.950	722.580	3,06
Ürdün	200.896	115.812	145.332	125.150	214.994	173.083	0,73
Libya	162.744	176.391	173.268	170.801	173.487	172.519	0,73
DÜNYA	20.864.198	20.051.703	21.079.668	24.568.944	21.586.902	23.640.307	

Dünyada zeytin üretimi açısından dördüncü sırada yer alan Türkiye’de TÜİK (2022)’e göre kayıtlı toplam 188.679.085 adet ağaç varlığının %57,08’i meyve veren yağlık ağaç iken, %26,57’si meyve veren sofralık ağaçtır. Toplam 1.738.680 ton zeytin üretiminin ise %68,03’ü yağlık olarak kullanılırken, %31,96’sı sofralık olarak kullanılmaktadır. Meyve veren sofralık ağaç sayısında ve meyve veren yağlık ağaç sayısında 2021 yılında %1’lik düşüş görülmektedir. Zeytin üretim miktarında ise, 2020 yılına göre 2021 yılında %32’lik artış olmuştur (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Türkiye’de 2017-2021 yılları arasındaki meyve veren ve vermeyen sofralık ve yağlık zeytin ağacı sayısı ve üretim miktarları (TÜİK, 2022).

		2017	2018	2019	2020	2021
Sofralık Zeytin Çeşidi Ağaç Sayısı (Adet)	Meyve Veren	47.675.780	42.288.347	48.032.207	50.469.104	50.141.848
	Meyve Vermeyen	8.552.278	8.681.448	10.002.011	9.337.984	8.965.436
	Toplam	56.228.058	50.909.795	58.034.218	59.807.088	59.107.284
Yağlık Zeytin Çeşidi Ağaç Sayısı (Adet)	Meyve Veren	100.587.005	108.781.087	106.005.008	108.912.926	107.707.625
	Meyve Vermeyen	17.779.084	18.093.084	18.036.904	18.443.238	21.864.176
	Toplam	118.366.089	126.874.171	124.041.912	127.356.164	129.571.801
Üretim Miktarı (Ton)	Sofralık	460.000	426.995	415.000	513.140	555.833
	Yağlık	1.640.000	1.073.472	1.110.000	803.486	1.182.847
	Toplam	2.100.000	1.500.467	1.525.000	1.316.626	1.738.680

Ülkemizde zeytin üretimi yapılan bölgeler Ege, Akdeniz, Marmara, Güney Doğu Anadolu ve Karadeniz'dir. Bu bölgeler içinde ilk sırada Ege Bölgesi yer almaktadır. Ülkemizde yetişen zeytin çeşitleri bölgelere göre ayrılmaktadır. Ege Bölgesi'nde bulunan çeşitler Ayvalık, Memecik, Domat, Eşek zeytini, Erkence, Çekişte, Uslu, Ak zeytin, Aşı Yeli, Çakır Çilli, Dilmit, Girit zeytini, Hurma Kaba, Hurma Karaca, İzmir Sofralık, Kara Yaprak, Kiraz, Memeli, Taş arası, Tavşan Yüreği, Yağ zeytini ve Yerli yağlıktır. Marmara Bölgesi'nde bulunan çeşitler Gemlik, Samanlı, Çelebi, Akdeniz Bölgesi'nde Büyük Topakulak, Sarıulak, Saurani, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Kilis yağlık, Nizip yağlık, Halhalı ve Karadeniz Bölgesi'nde ise Marantelli, Patos, Otur çeşitleri bulunmaktadır. Ege Bölgesi'nde yaygın olarak kullanılan çeşitler arasında Memecik, Domat, Eşek zeytini, Erkence, Çekişte ve son yıllarda yaygınlaşan Gemlik (Trilye) yer almaktadır (Anonim, 2021a). Ege Bölgesi'nde zeytin yetiştiriciliği açısından en önemli illere (Aydın, Manisa, Balıkesir, Muğla ve Çanakkale) ait ağaç sayıları ile sofralık ve yağlık zeytin üretim miktarları Çizelge 1. 4'te verilmiştir.

Çizelge 1.4. Türkiye’de 2016-2021 Yıllarında Meyve Veren Yaştaki Sofralık, Yağlık Zeytin Ağacı Sayısının ve Üretim Miktarlarının İllere Göre Dağılımı (TÜİK, 2022).

		Yıllar	Aydın	Balıkesir	Manisa	Muğla	Çanakkale
		2016	4.731.558	2.248.488	14.731.657	7.756.78	349.836
Ağaç Sayısı(adet)	Sofralık Zeytin	2017	4.476.765	2.170.692	13.940.180	777.468	337.279
		2018	4.849.560	2.066.869	11.163.793	802.548	427.374
		2019	4.603.617	2.056.940	12.088.640	794.226	352.028
		2020	4.615.103	2.090.685	12.113.207	747.241	356.487
		2021	4.693.611	2.175.883	12.404.093	770.474	355.703
	Yağlık Zeytin	2016	17.897.360	8.652.093	4.561.311	15.498.422	4.584.450
		2017	17.704.684	8.622.027	4.734.199	15.443.923	4.546.701
		2018	17.538.194	8.971.755	7.510.586	15.418.843	4.505.497
		2019	17.589.733	9.028.611	7.051.689	14.982.126	4.662.277
		2020	17.558.183	9.211.314	9.219.967	14.852.447	4.692.879
		2021	17.600.402	9.222.434	9.579.286	11.617.691	4.715.599
Üretim Miktarı (ton)	Sofralık Zeytin	2016	49.581	24.606	155.345	8.722	6.363
		2017	63.182	32.764	121.066	15.929	7.703
		2018	31.985	26.455	147.647	2.998	7.750
		2019	73.195	41.632	87.749	7.426	5.215
		2020	45.179	22.658	166.775	3.269	2.723
		2021	58.931	35.778	149.958	10.989	5.858
	Yağlık Zeytin	2016	209.656	156.396	68.265	181.919	105.830
		2017	392.196	221.436	45.666	196.180	61.722
		2018	168.904	83.447	162.422	38.700	36.538
		2019	310.832	121.500	47.563	141.570	31.534
		2020	75.526	107.916	187.494	43.808	40.087
		2021	228.776	141.934	119.202	171.539	28.760

Bu iller arasında sofralık ağaç sayısı, en fazla Manisa ilinde (12.404.093 ağaç) iken, yağlık ağaç sayısı en fazla Aydın'da (17.600.402 ağaç) bulunmaktadır. Yine bu verilere paralel olarak sofralık zeytin üretimi en fazla Manisa'da (149.958 t), yağlık zeytin üretimi 2021 yılında Aydın (228.776 t)'da gerçekleşmiştir (Çizelge 1. 4).

Ülkemizde yetiştirilen ve işlenmeden ham olarak tüketimi gerçekleştirilemeyen zeytin, işlendikten sonra zeytinyağı, sofralık zeytin, sabun, prina, lambalarda yakacak, kozmetik ürünü olarak kullanılmaktadır (Sivri, 2012). Zeytinin önemi, 3573 sayılı “zeytinciliğin ıslahı ve yabancılarının aşılattırılması” hakkındaki kanuna göre, Tarım ve Köyişleri Bakanlığının izni olmadan zeytin ağaçları sökülemez hükmünden anlaşılmaktadır (Anonim, 2021b).

Ülkemiz ve bu çalışmayı yürüttüğümüz Ege Bölge'si açısından son derece önemli olan zeytinin, önemli hastalıkları sırasıyla; Zeytin Halkalı Leke Hastalığı [*Spilocaea oleaginea* (Cast.) Hughes], *Verticillium* Solgunluğu (*Verticillium dahliae* Kleb.) ile Zeytin Dal Kanseri Hastalığı [*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (ex Smith.) Gardan et al.]'dır (Güven, 2015).

Spilocaea oleaginea zeytinin ana hastalığı olarak kabul edilen fungal kaynaklı bir etmendir. Hastalığın en tipik belirtileri, zeytin yapraklarının üstündeki sarımtırak haleler ve iç içe geçmiş halkalardır. Hastalığın ilerlemesiyle yapraklar sararır ve nekroze olarak dökülür. Hastalık duyarlı çeşitlerde, uygun hava koşullarında ve sık dikim yapılmış bahçelerde şiddetli görülmektedir. Kültürel önlemler ve fungisit uygulamalarının kombinasyonu kullanılarak kontrol edilmektedir (Akbaş, 2019).

Verticillium solgunluğunda zeytin ağaçlarında akut veya kronik biçimde ortaya çıkan solgunluk ve kurumalar görülmektedir. Zeytin ağaçlarındaki kurumalar nedeniyle zeytinin ana sorunları arasında görülmektedir. Hastalık etmeni kışı toprakta veya bitki artıklarında mikrosklerot olarak geçirmektedir (Demirtaş, 2019). Bu hastalık ile kültürel önlemler kullanılarak mücadele edilebilir ancak kimyasal mücadelesi bulunmamaktadır.

Diğer bir önemli hastalık Zeytin Dal Kanseri Hastalığıdır. Hastalığa neden olan etmen *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* 'dır. Bu etmen bitkinin gövde ve dallarında hastalık belirtisi oluşturur. Bu belirti ur ve siğil olarak isimlendirilen yapılar ile tanımlanır. Ur ve siğiller önce yeşil renklidir, sonra grileşir. Uurlar başlarda düz süngerimsi bir görünümde iken olgunlaştıkça sertleşir, odunlaşır ve koyu renk alır. Genç yaşta yakalanan bitkiler yaşlı olanlara göre daha fazla etkilenmekte ve kurumalar görülmektedir. Bunun yanında yaşlı dallarda hastalık şiddetine bağlı olarak bitki gelişiminde gerileme ve verimde azalma

meydana gelmektedir. Bu hastalık ile mücadelede kültürel önlemler ve bakırlı preparatlar kullanılmaktadır (Doksöz, 2020).

Bu etmenlere ek olarak son yıllarda iklim değişiklikleriyle beraber zeytinde meyve çürüklüğüne neden olan *Botryosphaeriaceae* familyası öne çıkmaktadır. *Botryosphaeriaceae* spp. direkt olarak meyvede zarar yaptığı ve özellikle sofralık meyvedeki kalite kayıplarına neden olduğu için önem kazanmıştır. Bu etmenler *Ascomycota* şubesinin *Dothideomycetes* sınıfının *Botryosphaeriales* takımının *Botryosphaeriaceae* familyasında yer almaktadır (EPPO, 2012). *Botryosphaeriaceae*, büyük, ovalimsi dikdörtgen, genellikle hiyalin, bölmesiz askosporlar ile karakterize edilmektedir. Bu familyanın üyeleri, özellikle odunsu bitkilerde patojenik, nekrotrofik veya saprofitik özellik göstermektedir. Bu odunsu bitkiler arasında zeytin, badem, antep fıstığı, ceviz, şeftali, kiraz, elma, armut, bağ gibi ekonomik getirisi önemli olan ürünler yer almaktadır (Phillips vd., 2013). *Botryosphaeriaceae*, bitkilere doğal açıklıklardan, *Bactrocera olea* (Zeytin Sineği) vuruklarından ve budama yaralarından giriş yapmaktadır. Zeytin meyvelerinde “Escudete ”hastalığına karşı zeytin sineği ile mücadele patojene karşı en etkili yöntem olarak tavsiye edilmektedir (Eldesouki-Arafat, 2013). Optimum miselyal büyüme 26°C ve konidial çimlenme 30°C’de olmakla birlikte yüksek yaz sıcaklarına adapte olabilmektedir (Moral vd., 2010). Hastalık etmeninin istediği koşulların devam etmesi sonucunda epidermiste piknit ve konidi oluşumu gerçekleşmektedir (Latinoviç vd., 2013).



Resim 1.2. *Botryosphaeriaceae dothidea'* nın zeytin meyvesinde oluşturduğu karakteristik “escudete” görüntüsü (a) ve kuruyup suyunu kaybetmiş (mumyalaşmış) hastalıklı meyveler (b) (Moral, 2019a)

Zeytinde Dalmaçya hastalığı, ilk olarak 1883’de Hırvatistan’ın Dalmaçya bölgesinde zeytin meyvesini etkileyen bir hastalık olarak tanımlanmıştır (Moral, 2010). Daha sonraki birçok çalışmada, olgun zeytin meyvelerinin de etmene duyarlılığının artması ile *Botryosphaeriaceae* türleri ve birçok fungusun meyvede rklk yaptığı görülmüştür (Moral vd., 2019a). Bu rklk Akdeniz Havzasında İspanyolca ve Portekizce’de “escudete” (küçük rozet) olarak tanımlanmaktadır (Resim 1.2a). Karakteristik belirtisi kenarları belirgin, dokuya batık, nekrotik, dairesel bir lezyon şeklindeyir (Moral vd., 2010). Kış mevsiminde, meyve olgunlaştığında enfekte olmuş meyveler yere düşmekte ve mumyalaşmaktadır (Resim 1.2b). İspanya’da zeytin sürgünlerinde batık kanserler veya yanıklık belirtileri görülmüştür (Moral vd. 2010, 2017). Bu belirtilere ek olarak zeytin dallarında l tomurcuklar, yapraklarda solgunluk ve kloroz, meyve rklğ ve u sürgünlerde kuruma tanımlanmıştır (Moral vd., 2017).

Hastalığın Akdeniz havzasında Fransa, İtalya, Karadağ, Portekiz, İspanya ve Tunus gibi zeytin yetiştiriciliğinin yoğun olduğu ülkelerde yaygın olarak görülmesi ne kadar önemli olduğunu açıkça göstermektedir (Moral vd., 2019a).

Moral vd. (2017), zeytin meyvelerinde yapmış oldukları bir çalışmada türlerin ülkeler bazında gösterdiği belirtilere bakıldığında, *Diplodia olivarum*’un İtalya’da, *D. seriata*’nın İspanya’da ve Avustralya’da, *Neofusicoccum luteum*’un olgun meyvelerde çürümelere neden olduğunu belirtmiştir. Bunun aksine, olgun olmayan zeytin meyvesinde *Botryosphaeria dothidea* haricinde çürümeye neden olan önemli bir patojenin olmadığı belirtilmektedir.

Ülkemiz ve Ege Bölgesi’nde, gerek sofralık gerek yağlık açıdan önem arz eden ve zeytinde zarara neden olan *Botryosphaeriaceae* türleri hakkında çok az çalışmanın olduğu görülmektedir. Fakat son yıllarda ifti şikayetlerinin artması nedeniyle çalışmalara başlanmıştır. 2011-2012 yıllarında “‘Batı Anadolu’da Zeytin Meyve rklklerinin Saptanması ve rklklerin Bazı Kalite zelliklerine Etkilerinin Araştırılması ” isimli bir Doktora alışmasında Aydın, Balıkesir, Manisa, İzmir illerinden hastalıklı ve sağlıklı zeytin meyve örnekleri toplanmıştır. Elde edilen 254 adet patojen izolatın 73 tanesi *Botryosphaeria* spp., 54’ *Alternaria* spp., 16’sı *Fusarium* spp., 12’si *Phoma* spp., 11 izolat *Colletotrichum* spp., 8 tanesi *Trichothecium* spp. olarak belirlenmiştir (Körükmez, 2018).

Yine Aydın ili’nde 2017-2019 yılında 103 zeytin bahçesinden hastalıklı zeytin meyve örnekleri toplanmış ve 104 izolat elde edilmiştir. Bu 104 izolattan 53’ *Alternaria* spp., 44’ *Botryosphaeriaceae*, 6’sı, *Colletotrichum* spp. ve 1’i *Fusarium* spp. olarak belirlenmiştir.

Patojeniste testi sonrasında elde edilen izolatların patojen olduğu görülmüştür. *Botryosphaeriaceae* izolatlarının konidileri genel olarak iğ şeklinde, bölmesiz ve şeffaf olarak bulunmuştur. Yapılan moleküler çalışmalar sonunda (ITS1 / ITS4, EF278 / EF986 ve T1 / ßt2b primer çiftleri) 17 izolat *Botryosphaeria dothidea* (Moug.: Fr.) Cesati & De Notaris, 1 izolat *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips olarak tanımlanmıştır (Tabaklı, 2019).

Zeytin gerek ülkemizde gerekse Ege Bölgesi'nde yağlık ve sofralık olarak önemli bir gelir kaynağı ve insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Çalışma, son zamanlarda artan şikayetler nedeniyle zeytinde *Botryosphaeria dothidea*'nın neden olduğu meyve çürüklüğüne karşı bazı fungusitlerin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla ele alınmıştır. *Botryosphaeriaceae* ile kimyasal mücadele konusunda dünyada birçok çalışma yapılmış ve özellikle sert kabuklu meyvelerde pratiğe yansıyan sonuçlar elde edilmiştir. Ancak tedavi edici fungusitlerin çoğunun zeytin yağında çözülmesi ve kalıntı sorunu nedeniyle birçok fungusitin zeytinde kullanılmasının getireceği problemler, bu hastalığın mücadelesinde fungusit seçimini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle de çalışmada, ülkemizde Zeytin Halkalı Leke Hastalığı'na karşı ruhsatlı ve yağda çözünmeyen bazı koruyucu fungusitler ile mevcut kaynaklar dikkate alınarak seçilen diğer fungusitlerin *B. dothidea*'a karşı etkisinin belirlenmesi de amaçlanmıştır.

2.KAYNAK ÖZETLERİ

Brown-Rytlewski vd. (2000), *Botryosphaeria dothidea* ve *B. obtusa* izolatlarının virülensliğini elma meyvesi, 2 yaşındaki elma ağaçlarının gövdeleri ve olgun elma ağaçlarının dallarında karşılaştırmışlardır. Genel olarak, *B. dothidea* izolatlarının *B. obtusa* izolatlarından daha virulent olduğunu belirlemişlerdir. Benomyl, kresoxim-methyl ve trifloxystrobin'in yapraktan uygulama için önerilen dozda uygulandıklarında, su uygulanan kontrole kıyasla kanserlerin varlığını ve büyüklüğünü azalttığı, ancak karanfil yağı, sarımsak ekstraktı ve neem yağının kontrole göre kanserlerin varlığını ve büyüklüğünü azaltmadığı belirtilmiştir. Fungisitler *B. dothidea* ve *B. obtusa* enfeksiyonunu azaltsa da, ksilem dokularından bu fungusların izole edilmesi mücadelede uzun süreli etki olmayacağını gösterdiği ifade edilmiştir.

Kexiang vd. (2002) *Trichoderma harzianum* T88 ve *T. atroviride* T95'in elma halka çürüklüğüne neden olan *Botryosphaeria berengeriana* f. sp. *piricola* 'ya karşı etkisini *in-vitro* ve tarla koşullarda denemişlerdir. T88 ve T95 izolatları patojenin miseliyel gelişimini baskılayan uçucu ve uçucu olmayan antibiyotikler üretmiştir. Işık ve elektron mikroskopundaki çalışmalar, *Trichoderma* spp.'nin *B. berengeriana* f. sp. *piricola*'nın hifsel hücrelerinin bozulmasına ve patojenin sitoplazmasının incelmesine neden olduğunu göstermiştir. Biyokontrol tarla denemesi, elma sürgünlerindeki ve çürüyen meyvelerdeki *B. berengeriana* f. sp. *piricola* kanserinin, *T. harzianum* T88 ve *T. atroviride* T95 spor süspansiyonlarının uygulanmasıyla etkin bir şekilde kontrol edildiğini göstermiştir.

Denman vd. (2004), benomyl, clorothanil, fenarimol, fosetyl-al, iprodione, kresoxim-methyl, quintozone, prochloraz mc, tebucanazole, thiam'ı *Botryosphaeria protearum*'un miseliyel gelişime etkileri açısından *in vitro* koşullarda değerlendirmişler ve etkili olan fungisitleri tarla koşullarında denemişlerdir. *In vitro* testlerde en etkili fungisitlerin tebuconazole, benomyl, prochloraz mc, iprodione ve fenarimol olduğu belirlenmiştir. Tarla denemelerinde, fungisit uygulandığında veya budama yapılarak sanitasyonun uygulanması sonrası *B. protearum*'un neden olduğu kanserlerin oluşumunda %25-85 oranında bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. En iyi mücadele, mancozeb ile prochloraz mc'nin dönüşümlü uygulanması ile elde edilmiştir. Fenarimol uygulamasının da kanser oluşumunu önemli ölçüde azalttığını belirlemişlerdir.

Bester vd. (2007), on fungusitin Güney Afrika'da asmalarda hastalığa neden olan *Botryosphaeriaceae*'nin en yaygın dört patojenik türünün (*Botryosphaeria obtusa*, *Neofusicoccum australe*, *N. parvum* ve *Lasiodiplodia theobromae*) miselyal gelişimine etkisini *in-vitro* koşullarda araştırmışlardır. Bu fungusitler içerisinde iprodione, pyrimethanil, bakır amonyum asetat, kresoxim-methyl ve boscalid'in (testlenen en yüksek konsantrasyonda, bakır amonyum asetat için 20 µg/ml, diğerleri için 5 µg/ml) miselyal gelişmeyi azaltmada etkisiz olduğu görülmüştür. Benomyl, tebuconazole, prochloraz mc ve flusilazole'ün farklı türler için sırasıyla 0.36-0.55, 0.07-0.17, 0.07-1.15 ve 0.04-0.36 µg/ml EC50 değerleri ile en etkili fungusitler olduğu kaydedilmiştir. Bir yaşındaki "Chenin Blanc" asma çeşidinin sürgünleri üzerinde yapılan çalışmada benomyl, tebuconazole ve prochloraz manganez klorid'in fungusit uygulamasından sonra *Botryosphaeriaceae* türleri ile inokule edilen budama yaralarındaki lezyon uzunluğunu azaltmada en etkili olduğu belirlenmiştir.

Rego vd. (2009), bağ fidanlıklarında zarara neden olan *Cylindrocarpon* spp., *Botryosphaeriaceae*, *Phomopsis viticola* ve *Phaeomoniella chlamydospora*'nın enfeksiyonlarını önlemek için cyprodinil + fludioxonil, pyraclostrobin + metiram, fludioxonil ve cyprodinil'i iki farklı yerde denemişlerdir. Aşılama yapmadan 50 dk önce anaç ve kalem çelikleri fungusit süspansiyonunda bekletilmiş, süspansiyonda bekletilen anaç ve kalem çelikleri, daha önce bağ yetiştiriciliği yapılan ve yapılmayan alanlara dikilmiş ve 9 ay sonra enfeksiyon açısından değerlendirilmiştir. *Botryosphaeriaceae* patojenlerinin varlığı ve enfeksiyon şiddetini, hem cyprodinil + fludioxonil hem de cyprodinil'in önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, aşılama kalemleri ve anaçlarının cyprodinil + fludioxonil ve cyprodinil süspansiyonuna daldırılması ile *Cylindrocarpon* spp. ve *Botryosphaeriaceae* enfeksiyonlarının azaldığı ve üretim materyali kalitesinin arttığı belirtilmiştir.

Amponsah vd. (2012), 16 fungusitin bağda kansere neden olan *Neofusicoccum australe*, *N. luteum* ve *Diplodia mutila*'nın miseliyal gelişme ve konidial çimlenmesine etkisini ve budama yaralarını enfeksiyonlardan koruması açısından değerlendirmiştir. *In vitro*'da bu fungusitlerden 9'unun her üç türün üçer izolatının miseliyal gelişmesi ve/veya konidial çimlenmesini azaltmada etkili olduğu belirlenmiştir. *N.luteum* fungusitlere en az duyarlı olmasına rağmen, her fungusitin bu türe etkinliğinin farklı olduğunu bildirmişlerdir. Saksı ve bahçedeki bağların sürgün budama yaralarına, 9 fungusit uygulandığında ve bunu takiben budama yaralarına *N. luteum*'un konidileri uygulandığında, bazı fungusitlerin

enfeksiyonları etkili bir şekilde önlediği belirtilmiştir. En etkili fungusitler flusilazole, carbendazim, tebuconazole, thiophanate-methyl ve mancozeb olup, bunların tarla koşullarında sırasıyla %100, %93, %87, %83 ve %80 etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu araştırmada, uygulanan fungusitlerin üç *Botryosphaeriaceae* türünün konidi enfeksiyonlarından bağları koruyabileceği sonucuna varılmıştır.

Pitt vd. (2012), Avusturalya’da bağcılıkta diğer hastalıklarda ruhsatlı olan 20 fungusitin, *Botryosphaeriaceae* familyası içinde yer alan 4 türün misel gelişime etkileri in- vitro koşullarda değerlendirilmiştir. Denenen fungusitler arasında en etkili olanların EC50 değerleri <1.0 mg / litre olan fludioxonil, carbendazim, fluazinam, tebuconazole, flusilazole, penconazole, procymidone, iprodione, myclobutanil ve pyraclostrobin olduğu belirlenmiştir. Bu fungusitler, budama sonrası yara kapatmada kullanılan Bacseal Super, Garrison ve ATCS biyolojik kontrol ajanı Vinevax ile birlikte tarla koşullarında denenmiştir. Tarla denemelerinde, kesilmiş budama yaralarına uygulanan carbendazim, fluazinam, tebuconazole, Garrison ve ATCS en etkili olmuş ve *Diplodia seriata*, *D. mutila* enfeksiyonunda %41-65 oranında azalma olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, budama sonrası bu fungusitlerin kullanılmasının bağda *Botryosphaeria* kanserinin oluşumunun azaltılabileceğini göstermiştir.

Torres vd. (2013), bağdan izole edilen *Botryosphaeria* türlerinden *Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Neofusicoccum australe* ve *N. parvum*’a karşı DMI fungusitlerini in-vitro koşullarda denemişlerdir. Deneme sonucunda tebuconazole, myclobutanil, prochloraz ve prochloraz+ epoxiconazole’ün *D. mutila*, *D. seriata*, *N. australe* ve *N. parvum*’un miseliyal gelişimini engelleyerek ve konidial çimlenmesini durdurarak etkili olduğu belirlenmiştir. Konidial çimlenme için elde edilen EC50 değerleri, genellikle miseliyal gelişim için elde edilen EC50 değerlerinden daha yüksek olmuş, bu da miselin DMI fungusitlerine konidilerden daha duyarlı olduğunu göstermiştir.

Dai vd. (2017), *Botryosphaeria dothidea*’nın Chinese hickory (*Carya catalensis*)’de gövde kanserine neden olan ve üretimi tehdit eden en önemli hastalık olduğunu belirtmektedir. Çalışmada 8 farklı fungusit grubundan 17 fungusit (mancozeb, thiram, chlorothalonil, carbendazim, iprodione, procymidone, difenoconazole, tebuconazole, prochloraz, boscalid, fluopyram, kresoxim-methyl, trifloxystrobin, picoxystrobin, hymexazol, dimethomorph), *Botryosphaeria dothidea*’a karşı in-vitro aktiviteleri açısından denenmiştir. Deneme sonucunda difenoconazole, tebuconazole ve prochloraz miseliyal gelişiminin önlenmesinde en etkili fungusitler olmuştur. Trifloxystrobin’in, 1.78 ± 0.61 mg /

L EC50 ile spor çimlenmesine karşı en etkili fungusit olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 107 *B. dothidea* tek spor izolatının konidial çimlenme denemelerinde trifloxystrobin'e duyarlılık değerlendirilmiştir. İzolatların EC50 değerleri 0.29-8.38 mg/L, ortalama 3.16 ± 0.85 mg/L olarak kaydedilmiştir. Duyarlı ve dayanıklı izolatların EC50 değerleri arasında 28.9 katlık bir varyasyon belirlenmiştir. Duyarlılık ile ilgili bu veriler, *B. dothidea* izolatlarının trifloxystrobin'e duyarlılık azalışını saptamada temel olarak kullanılabilir.

Xu vd. (2018), Çin'de *Carya cathayensis*'e en çok zarar veren hastalığın *Botryosphaeria* gövde kanseri olduğunu, bu hastalığa karşı Gram-pozitif bir bakteri olan *Paenibacillus polymyxa*'nın CF05 strain'ini *in-vitro* koşullarda denediklerini ve bu ırkın *B. dothidea*'nın gelişimini engellediğini belirtmişlerdir. Bir karboksimetilselüloz / polivinil alkol (CMC / PVA) karışımında CF05 strain'i endosporlarının formülasyonunun, 12 aylık bir süre boyunca yüksek stabilite gösterdiğini belirtmişlerdir. İki yıllık tarla denemesi sonunda, CMC / PVA ile formüle edilmiş CF05 strain'nin hem yeni kanserlerin hem de daha önce oluşmuş kanserlerin varlığını azalttığı, thiophanate-methyl ile yakın etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak *Paenibacillus polymyxa* CF05 straini'nin CMC / PVA ile formülasyonu, *Carya cathayensis* gövde kanseri için iyi bir biyokontrol ajanı ve çevre dostu olarak bildirilmiştir.

İtalya'da zeytinde önemli kayıplara yol açan yaprak lekesi, antraknoz, *Cercosporiosis* ve meyve çürüklüğü hastalıklarına neden olan *Fusicladium oleaginum*, *Colletotrichum* spp., *Pseudocercospora cladosporioides*, *Botryosphaeria dothidea*'a karşı bazı fungusitlerin (mancozeb, Thiopron (kükürt esaslı), pyraclostrobin, bakır oxychloride) etkinliği araştırılmıştır. Güney İtalya'da yapılan yoğun bahçe denemeleri, klasik fungusitlerin ve kükürt gibi organik olarak onaylanmış bitki koruma ürünlerinin uygun zamanlarda kullanılmasıyla entegre bir yaklaşım içinde zeytinin hava yolu ile taşınan hastalıkları ile etkili bir şekilde mücadele edilebileceği belirtilmiştir. Özellikle Thiopron'un hem *Cercosporiosis* hem de bazı fungal türlerin neden olduğu meyve çürüklüğüne klasik fungusitler kadar etkili olduğu bildirilmektedir. *B. dothidea* ve diğer *Neofusicoccum* spp.'nin neden olduğu meyve çürüklüğüne karşı çiçek öncesi, meyve tutumu sonrası, meyve gelişme evresi (Eylül) olmak üzere 3 ilaçlama yapılmış ve en iyi sonuç Thiopron'dan elde edilmiş, bunu mancozeb ve bakır oksiklorid izlemiştir (Nigro vd., 2018).

Tennakoon vd. (2019), *Botryosphaeriaceae* türlerinin dünyanın farklı yerlerinde yaban mersininde gövde kanseri, sürgün yanıklığı ve geriye doğru ölüme neden olduğunu belirtmektedir. Yeni Zelanda'da yaban mersininde geriye doğru ölüme neden olan *Neofusicoccum* türlerine karşı fungusitlerin *in-vitro* ve *in-vivo* koşullarda etkisini araştırmak

amacıyla yapılan denemede 9 fungusit kullanılmıştır. In-vitro’da yapılan denemede dokuz fungusitten dördünün *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, *N. parvum* ve *N. ribis*’in herbirinin 3 patojen izolatının miseloyal gelişimi ve/veya konidial çimlenmesi ve çim tüpü oluşturmada azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Saksı ve tarla denemelerinde, yaralı ve yarasız yaban mersinine uygulanan fungusitler içinde, *Neofusicoccum* türlerinin enfeksiyonlardan korunmasında carbendazim ve tebuconazole’ün en etkili olduğu ifade edilmiştir. Bu deneme sonucunda hem yara hem de yarasız dokuların korunmasının önemli olduğu ve doğal inokulumun varlığı durumunda budama sonrası birden fazla uygulamanın önemli olduğu vurgulanmıştır.

Moral vd. (2019b), 1 ve 4 yaşındaki ceviz sürgünlerine thiophanate-methyl (Topsin MTM 2) püskürtüldüğünde ve daha sonra *Lasiodiplodia citricola* inokule edildiğinde, her iki yaştaki sürgünlerdeki kanserin varlığında önemli bir farklılık görülmediğini belirtmiştir. Bununla birlikte, thiophanate-methyl uygulaması sonrası, 4 yaşındaki sürgünlerde kanser uzunluğunda kontrole göre azalma görüldüğü bildirilmektedir. Ayrıca 4 yaşındaki sürgünlerdeki kanser uzunluğunun 1 yaşındaki sürgünlere göre iki kat daha fazla olduğunu da tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, İspanya’da badem ağaçlarında her yıl budama yapılmasının Kaliforniya’nın aksine yaygın bir uygulama olduğunu ve Olmo vd. (2017)’e atfen 4 *Botryosphaeriaceae* türü ile inokule edilen genç badem ağaçlarının (cv. Ferragnes) budama yaralarını korumada thiophanate-methyl’in iyi bir etki gösterdiğini belirtmektedir.

Moral vd. (2019b), Michailides vd. (2006)’a atfen, Kaliforniya’da badem ağacı gövdesinde kansere neden olan *Botryosphaeriaceae* türlerine karşı farklı enzimleri kullanarak diğer funguslara karşı etkili *Trichoderma viridae* (36E1) ve *T. harzianum* (Plant Shield) mikoparazitlerinin denendiğini ancak her iki biyolojik ajanında *Botryosphaeriaceae*’e etkisiz olduğunu belirtmişlerdir.

Ülkemizde ise *Botryosphaeriaceae* türleri ile mücadele konusunda yapılan çalışmalar son derece sınırlıdır. Bu çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Botryosphaeriaceae familyasından dört fungus türünün (*Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae* ve *Neofusicoccum parvum*), 5 asma anacı ve 10 asma çeşidinde laboratuvar koşullarında sıcak suya duyarlılığı araştırılmıştır. Tüplerin içine konulan fungus diskleri kuru blok ısıtıcı içerisinde 47 °C, 48 °C, 49 °C, 50 °C, 51 °C, 52 °C’de ve 30, 45 ve 60 dakika bekletilmiştir. Bekletilen fungal diskler, PDA’a ekim yapılarak 24°C’de 5 gün gelişime bırakılmıştır. İkinci deneme olarak 30 cm asma çubukları, 30 ve 45

dk 51 °C, 52 °C, 53 °C sıcak suda bekletildikten sonra 15 °C'lik soğuk su banyosuna alınmışlardır. Uygulamadan sonra, iklim odasında 24 °C sıcaklıkta, 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık, %85 nispi nemde köklendirme ortamına bırakılmışlar ve 15 gün sonra değerlendirilmişlerdir. Labaratuvar koşullarında sıcak su koşullarına en dayanıklı olanın *L. theobromae*, en duyarlı olanın ise *D. seriata* olduğu belirlenmiştir. Anaç ve çeşitlerden en tolerant olan İtalya ve Kober-5BB olurken, 53°C'de 45 dakikalık uygulama sonucunda göz canlılıklarında %37, 3 ve %46, 7'lik azalma olduğu da kaydedilmiştir (Akgül vd., 2016).

Son yıllarda Kurt vd., (2020) tarafından cevizlerde yapılan çalışmada, cevizde *Botryosphaeria dothidea*'nın Hatay'da varlığı rapor edilmiştir. Etmeneye karşı fluazinam (0.001-0.015 µg/ml), thiophanate-methyl (0.1-10.0 µg/ml), boscalid + pyraclostrobin (1.0-50.0 µg/ml), trifloxystrobin (0.5-50.0 µg/ml), kresoxim-methyl (0.1-50.0 µg/ml) ve tebuconazole (0.5-50.0 µg/ml) gibi 6 farklı fungusitin farklı konsantrasyonlarının *in-vitro*'da antifungal etkileri belirlenmiştir. Fungisitlerin ortalama etkili konsantrasyon (EC50) değerlerine göre, hastalık etmenine karşı en etkili fungusit fluazinam (0.002 µg/ml) olarak kaydedilmiş olup, bu fungusiti thiophanate-methyl (0.275 µg/ml), tebuconazole (0.994 µg/ml), boscalid + pyraclostrobin (3.993 µg/ml) ve trifloxystrobin (4.262 µg/ml)'in izlediği belirtilmiştir. En düşük antifungal etkinlik fungusitler arasında misel gelişimini %37, 5 oranında engelleyen kresoxim-methyl'de görülmüştür.

Aydın İli'nde yaygın olarak yetiştirilen Memecik, Domat, Yamalak, Eşek zeytini ile Manzanilla çeşitlerinin virülensi yüksek 3 *Botryosphaeriaceae* izolatına (Naz-6M, SÖ-10M, Ef-4M) karşı duyarlılıklarının tespit edildiği çalışmada, izolatlar arasında farklılıklar olduğu, virülensi en yüksek izolatın SÖ-10M olduğu belirlenmiştir. İzolat farklılıkları dikkate alınmaksızın, çeşitlerin duyarlılığı incelendiğinde en duyarlı çeşitlerin Domat ve Yamalak Kabası olduğu, bunu sırasıyla Palamut ve Memecik çeşitlerinin izlediği, Manzanilla çeşidinde ise skala değerlerinin çok düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca, bazı fungusitlerin virülensi yüksek bir *Botryosphaeria* spp. izolatına *in-vivo*'da etkisinin değerlendirildiği ön çalışmada, azoxystrobin+difenoconazole ve fluazinam'ın en etkili fungusitler olduğu belirlenmiştir. myclobutanil, penconazole, tebuconazole, triadimenol, boscalid, cyprodinil, bakıroksiklorid, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil, fludioxonil ise etkisiz bulunmuştur (Tabaklı, 2019).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

ADÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Ana Bilim Dalı kültür stoklarında bulunan virülensi yüksek, morfolojik ve moleküler düzeyde tanılaması yapılmış 9 *B. dothidea* izolatu (Boz 1M, Boz 2M, Boz 10M, Naz 5M, Kuş 2M, Di 3M, Me 4M, Me 5M, Me 6M), patojenisite çalışmasının fungal materyalini oluşturmuştur. Patojenisite çalışmasında Aydın'da yaygın olarak yetiştirilen Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerine ait olgunlaşmamış meyveler kullanılmış ve zeytin meyveleri Özege Teknik Fidancılık (Bozdoğan-Aydın)'a ait bahçeden tarafımızca seçilerek toplanmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. Zeytin meyvelerinin ağaçlardan toplanması (Bozdoğan-Aydın).

Bazı fungusitlerin *in-vitro*'da *B. dothidea*'a etkinliğinin saptanacağı çalışmada ise virülensi yüksek 6 izolat (Boz 1M, Boz 2M, Boz 10M, Di 3M, Naz 5M, Kuş 2M) kullanılmıştır.Çalışmada kullanılacak fungusitlerin, ticari isimleri ile ait oldukları firmalar ve

meyve testlerinde kullanılacak olan dozlar Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Fungisitlerin etkisinin değerlendirildiği meyve denemelerinde Domat zeytin çeşidine ait olgunlaşmamış meyveler kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Zeytinde *Botryosphaeria dothidea*'a karşı *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarda kullanılan fungisitlerin etkili maddeleri ve yüzdesi, ticari adları, firma adı ve uygulama dozları.

Sıra No	Etkili Madde ve Yüzdesi	Ticari İsmi	Firma Adı	Uygulama Dozu (1 l)
1	Bakır oksiklorid, %50*	Best Bakır50 WP (İmal)	Agrobest	4 g
2	Metalik bakıra eşdeğer Bakır hidroksit, 361, 1 g/l*	Zazala	FMC	2, 5 ml
3	Metalik bakıra eşdeğer Bakır oksit, %75*	Nordox 75 WG	Doğal Kimya	2, 5 g
4	Metalik bakıra eşdeğer yağ ve rosin asitlerinin bakır tuzları, 51, 4g/l*	Fatcho EC	Doğal Kimya	3, 5 ml
5	Kükürt, 800g/l	Sulflow 800 SC	Agrofarm	4 ml
6	Captan, %50	Agrofarm Captan 50 WP	Agrofarm	1, 5 g
7	Dodine, 500g/l*	Magnezya SC (İmal)	Astranova	800 µl
8	Pyraclostrobin, 100/1	Seltima 100 g/1 CS	BASF	500 µl
9	Trifloxystrobin, %50	Flint WG 50	Bayer	150 mg
10	Kresoxim-methyl, %50	Candit WG 50	BASF	150 mg
11	Fluazinam, 500 g/l	Brave SC	Agrinova	1 ml
12	Fluazinam (375g/l)+Azoxystrobin (150g/l)	Fiado SC	FMC	750 µl
13	Tebuconazole, %25	Folicur WP 25	Bayer	250 mg
14	Azoxystrobin, 250g/l	Caira	Hektaş	750 µl
15	Azoxystrobin (200g/l)+ Difenacozole (125g/l)*	Quadris Max	Syngenta	1 ml

*Ülkemizde Zeytin Halkalı Leke Hastalığı'na ruhsatlı fungisitlerdir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Patojenisite Testi

Bölümümüzde daha önce yürütülen yüksek lisans çalışmasında yapılan patojenisite testinde Domat çeşidine ait zeytin meyvelerinin yüzey dezenfeksiyonundan sonra sapa yakın kısmında kapak şeklinde yara açılarak 7 günlük *B. dothidea* izolatlarının kenarından alınan 4 mm çapındaki miseliyal disk ile inokule edilmiştir (Tabaklı, 2019). Ancak bu çalışmada, Tabaklı (2019)'daki çalışmadan farklı olarak 9 *B. dothidea* izolatı (Boz 1M, Boz 2M, Boz

10M, Naz 5M, Kuş 2M, Di 3M, Me 4M, Me 5M, Me 6M), 3 çeşide (Domat, Memecik ve Manzanilla) ait yaralı (2mm derinliğinde, 0,8 mm genişliğinde steril iğne ile açılmış) ve yarasız yeşil zeytin meyveleri ile iki farklı yöntemle (miseliyal disk ve spor süspansiyonu ile inokulasyon) patojenisite testine alınmıştır.

İnokulasyon öncesi sağlıklı, yeşil zeytin meyveleri yıkanıp, daha sonra 1 dakika %1'lik NaOCl ile yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuş, steril kurutma kağıdında kurutulmuş ve içerisinde steril kurutma kağıdı bulunan ve steril saf su ile nemlendirilmiş plastik kutular içindeki delikli strafor üzerine yerleştirilmiştir (Resim 3.2 a,b).

3.2.1.1. Miseliyal Disk İle İnokulasyon

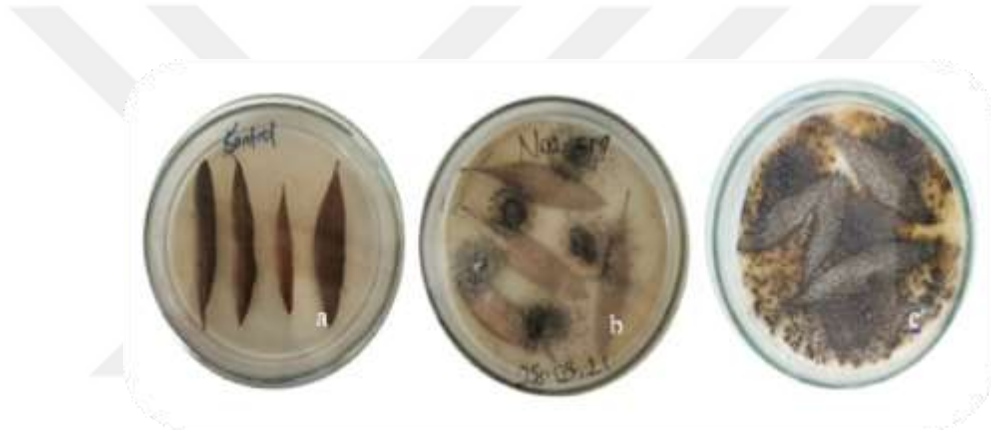
Dokuz *B. dothidea* izolatı için her üç çeşide ait yeşil zeytin meyvelerinde steril iğne ile 2 mm derinliğinde, 0,8 mm genişliğinde yara açılmış (Resim 3.2c), 7 günlük *B. dothidea* izolatlarından alınan 7 mm çapındaki disk yara yerine gelecek şekilde inokule edilmiş (Resim 3.2d) ve plastik kutuların kapakları kapatılmıştır. Kontrol meyvelerindeki yaralar 7 mm çapındaki steril PDA diski ile inokule edilmiştir.



Resim 3.2. Plastik kaplara steril kurutma kağıdının yerleştirilmesi (a), yüzey dezenfeksiyonu yapılmış meyvelerin plastik kap içerisindeki straforlara yerleştirilmesi (b), inokulasyon için meyvelere steril iğne ile 2 mm derinliğinde, 0,8 mm genişliğinde yara açılması (c), 7 mm çapındaki miseliyal disklerin meyve yüzeyine inokulasyonu (d), $1,2 \times 10^6$ spor/ml spor süspansiyonundan 10 µl spor süspansiyonun yaralı ve yarasız meyvelere mikropipet ile inokulasyonu (e) .

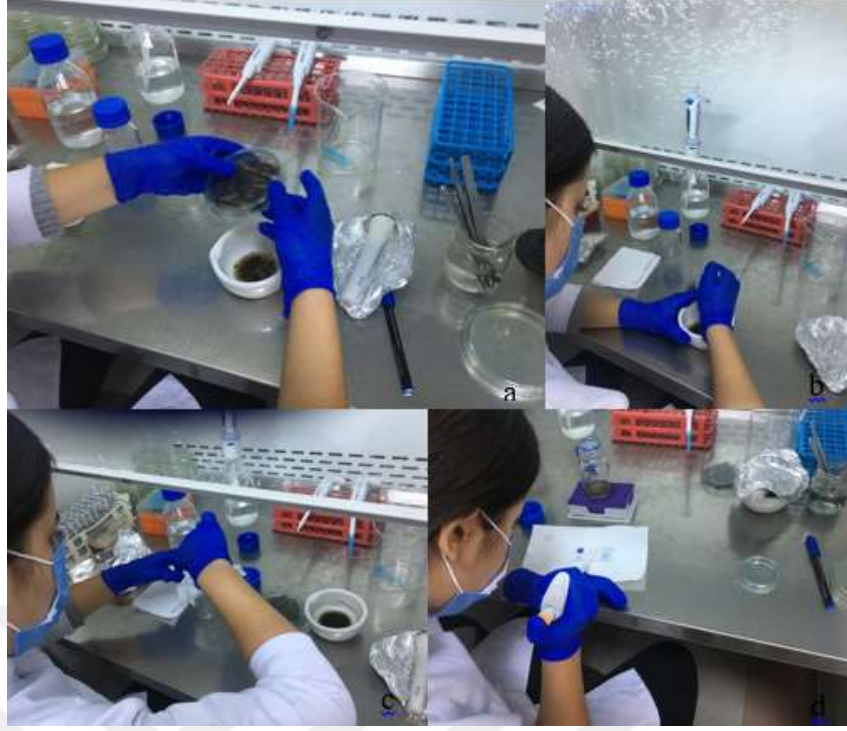
3.2.1.2. Spor Süspansiyonu İle İnokulasyon

Botryosphaeriaceae'e ait türlerde sporulasyonu teşvik etmek için çam ibrelerinde piknit oluşumu teşvik edilmiştir. Bu amaçla %2'lik Su Agar (SA) hazırlanmış ve SA içeren petrilere 120°C'de 2 kez otoklav edilmiş çam ibreleri yerleştirilmiştir. Daha sonra bu petrilere ibreler üzerine *Botryosphaeriaceae* izolatlarının inokulasyonu yapılmış ve petrilere 25±2 °C'de 30-40 gün inkubasyona bırakılmıştır (Phillips vd., 2013). Bu yöntemde piknitlerin oluşumu için geçen süre oldukça uzun olduğu için çam ibresi yerine zeytin yaprağı kullanılmış ve zeytin yaprakları 2 kez otoklav edilmiş, SA'a yerleştirilmiş ve 9 *B. dothidea* izolatı inokule edildikten sonra 25±2 °C'de 15-20 gün inkubasyona bırakılmıştır (Resim 3.3).



Resim 3.3. Petriye dökülmüş PDA içerisine yerleştirilmiş zeytin yaprakları (a), *B. dothidea* izolatının inokulasyonundan 3 gün sonraki görünüm (b), inokulasyondan 20 gün sonra zeytin yapraklarında oluşan piknitler (c).

Her bir *B. dothidea* izolatına ait çok sayıda piknit içeren yapraklar, içerisinde Tween %80 olan steril su ile steril havan içerisinde ezilmiş (Resim 3.4a,b) ve piknitlerden sporların çıkışı sağlanmıştır. Daha sonra elde edilen süspansiyon çift kat steril tülbentten steril tüpler içerisine süzölmüş (Resim 3.4c) ve hemositometre'de (Resim 3.4d) spor sayımı yapılmıştır. 9 *B. dothidea* izolatına ait spor süspansiyonlarının her biri $1,2 \times 10^6$ spor/ml'e ayarlanmış ve yaralı ve yarasız her bir meyveye 10 µl mikropipet yardımıyla inokule edilmiştir. Kontrol meyvelere ise 10 µl steril saf su verilmiştir (Resim 3.2e). İnokule edilen meyveler ve kontrol meyveleri içeren steril saf su ile nemlendirilmiş plastik kutular kapakları kapatılarak 23 ± 2 C'de, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık koşullardaki iklim odasına yerleştirilmiştir (Resim 3.5).



Resim 3.4. *B. dothidea* izolatlarına ait piknitlerin steril bistüri ile kazınarak piknitlerin petri kaplarına konan Tween %80 içeren steril suya geçmesi sonrası süspansiyonun steril havana aktarılması (a), steril havan içinde piknitlerin ezilmesi (b), spor içeren süspansiyonun steril tülbentten süzülmesi (c), Spor süspansiyonunun hemositometre' e mikropipetle verilmesi (d) .



Resim 3.5. Patojenisite çalışması sonrası 23 ± 2 C' de, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık koşullardaki iklim odasına yerleştirilmiş plastik kaplar.

3.2.1.3. Patojenisite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Meyvelerdeki hastalık şiddeti, inokulasyondan 14 gün sonra 0-5 skalasına göre (0 = gözle görülür belirti yok, 1 = Meyve yüzeyinin %25'inden daha az gözle görülür belirti, 2 = %25-%50'inde, 3 = %50-%75'inde, 4 = %75-%100'ünde belirti, 5 = meyve tamamen çürümüş) değerlendirilmiş (Moral vd., 2008, Moral vd., 2010) ve reizolatlar elde edilmiştir.

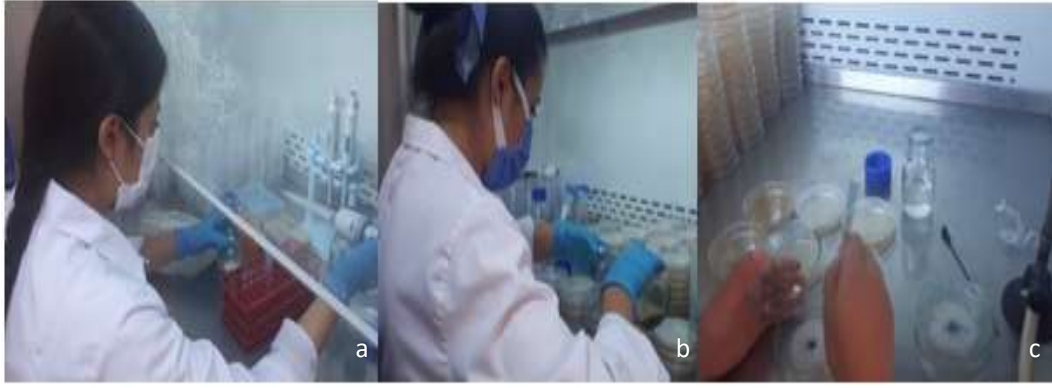
Deneme Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre, her izolat için ayrı ayrı olmak üzere 3 faktörlü (9 izolat x 3 çeşit x 2 inokulasyon yöntemi) ve 7 tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. Elde edilen veriler, JMP 13.0 istatistik programı yardımıyla varyans analizi ve ortalamaların mukayesesi LSD testi ile değerlendirilmiştir.

3.2.2. *B. dothidea* İzolatlarının *in-vitro*'da Bazı Fungisitlere Duyarlılıklarının Belirlenmesi

3.2.2.1. Miseliyal Gelişime Etkisi

Çizelge 3.1'deki 15 fungusitin *in-vitro*'da *B. dothidea* izolatlarının miseliyal gelişimine etkinliğinin saptanacağı çalışmada virülensi yüksek 6 izolat (Boz 1M, Boz 2M, Boz 10M, Naz 5M, Kuş 2M, Di 3M) kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan fungusitlerden bakırlı fungusitler için 50; 100; 250; 500; 1000; 1500 µg/ml, kükürt ve captan için, 10; 50; 100; 250; 500; 1000 µg/ml, trifloxystrobin, pyraclostrobin, kresoxim-methyl, tebuconazole, fluazinam, azoxystrobin, azoxystrobin+ difenocanazole, fluazinam+ azoxystrobin için 0, 01; 0, 05; 0, 1; 0,5; 1; 5; 10; 25; 50 µg/ml, dodine için ise 25; 50; 100; 250; 500 µg/ml dozları kullanılmıştır.

Her bir fungusitin aktif madde miktarı esas alınmış ve fungusitler steril saf suda çözünerek stok solüsyonları hazırlanmıştır (Resim 3.6a). Fungisitler, sterilize edilmiş ve 50 °C'e kadar soğutulmuş PDA'ya mikropipet yardımıyla ilave edilmiş ve steril bir enjektör yardımıyla 9 cm çapındaki petri kaplarına 14 ml dağıtılmıştır (Resim 3.6b). QoI grubuna ait fungusitler için PDA'ya salicylhydroxamic asit (SHAM, 100 mg/l) ilave edilmiştir (Dai vd., 2017). Daha sonra 6 *B. dothidea* tek spor izolatının 6 günlük kültürlerinin kenarlarından alınan 5 mm çapındaki diskler, fungusitlerin doz serilerini içeren ve içermeyen kontrol petrilere inokule edilmiş (Resim 3.6c) ve petriler 25°C'de 3 gün inkubasyona bırakılmıştır. Üçüncü günün sonunda izolatlara ait koloni çapları ölçülerek kaydedilmiştir (Pitt vd., 2012).



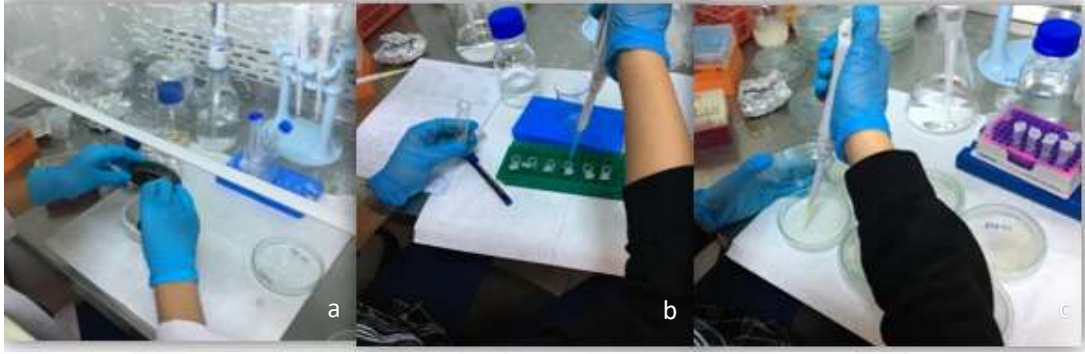
Resim 3.6. Her bir fungusite ait stok solüsyonunun hazırlanması (a), Fungisit doz serisini içeren PDA' nın steril petrilere dökülmesi (b), Fungisit doz serisini içeren PDA' lı ortama izolatların inokulasyonu (c).

Deneme Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre 16 karakter ve 3 tekerrürlü olarak olarak kurulmuştur. Herbir izolata ait miseliyal gelişimi %50 engelleyen doz (ED₅₀) değerleri, JMP13.0 programı yardımıyla probit analiz ile hesaplanmıştır.

3.2.2.2. Spor Çimlenmesine Etkisi

Bu çalışma için öncelikle steril petri kaplarının tabanına ve kapağın iç kısmına ince olacak şekilde SA dökülmüştür. Daha sonra her bir petri kabının taban kısmındaki SA üzerine 3 adet steril lamel yerleştirilmiştir. 6 *B. dothidea* izolatının spor süspansiyonu 3.2.1'de verildiği gibi hazırlanmış (Resim 3.7a) ve spor süspansiyonu 2×10^5 spor/ml olarak hazırlanmıştır. Bu spor süspansiyonundan alınan 200 µl'lik konidi süspansiyonu ve herbir fungusite ait yukarıda belirtilen dozların her birinin 200 µl'lik solüsyonu 1 ml'lik steril ependorf tüplere aktarılmıştır (Resim 3.7b). Ependorf tüpler tüm işlem sırasında soğutulmuş ependorf tüp taşıma kaplarında tutulmuştur. Her bir izolatın her bir fungusit dozuna ait ependorf tüpler vorteks'de karıştırıldıktan sonra SA içeren petri kabındaki 3 lamelin her birine 10 µl olacak şekilde mikropipet yardımıyla verilmiştir (Resim 3.7c). Kontrol uygulamasında ise 6 *B. dothidea* izolatının her birine ait spor süspansiyonu (200 µl), 200 µl steril saf su ile ependorf tüpte karıştırılmış ve lamel üzerine damlatılmıştır. Bu işlemi takiben SA dökülmüş petri kapağı kapatılmıştır. 25°C'de 24 saat inkubasyondan sonra, petri kaplarındaki lameller alınmış ve konidiler lactofenol asit fuksin ile boyanmıştır (Moral vd., 2018 modifiye

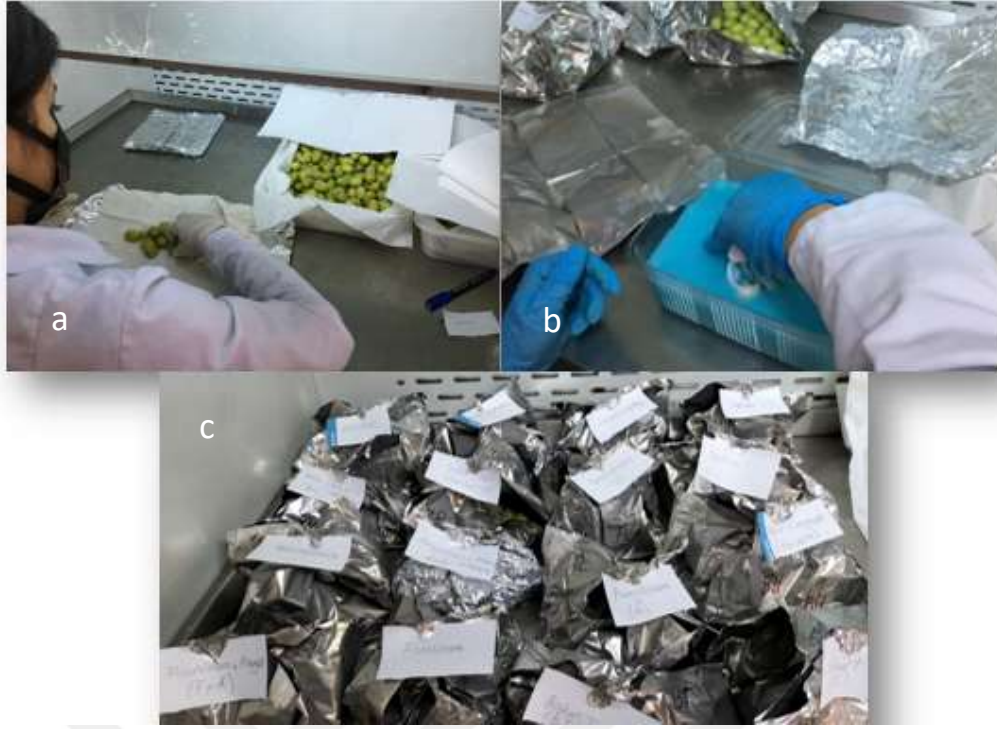
edilmiştir). Her lamelde rastgele seçilen 50 konidi çimlenen ve çimlenmeyen olarak sayılmıştır. Deneme, herbir izolat-fungisit konsantrasyonu kombinasyonu için üç tekerrürlü olarak kurulmuştur.



Resim 3.7. *B. dothidea* izolatlarına ait spor süspansiyonu hazırlanması(a), fungusit doz serisi ve spor süspansiyonu stoklarının hazırlanması (b), fungusit dozu ve spor süspansiyonu karışımının lamel üzerine damlatılması (c).

3.2.3. Bazı Fungisitlerin *in-vivo*'da *B. dothidea* İzolatına Etkisinin Belirlenmesi

Bu çalışmada virülensi en yüksek *B. dothidea* (Boz 2M)izolatı kullanılmıştır. Çalışmada *B. dothidea* izolatlarına karşı duyarlı olduğu saptanan Domat çeşidine ait sağlıklı ve yeşil meyveler kullanılmıştır (Tabaklı, 2019). Meyveler öncelikle yıkanmış, daha sonra 1 dakika %1'lik NaOCl ile yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuş ve steril kabininde kurutulmuştur. Zeytin meyveleri Çizelge 3.1'de yer alan fungusitlerin belirtilen dozlarını içeren solüsyonlara daldırılmış (Resim 3.8b)ve steril kabinde kurumaya bırakılmıştır (Resim 3.8c).

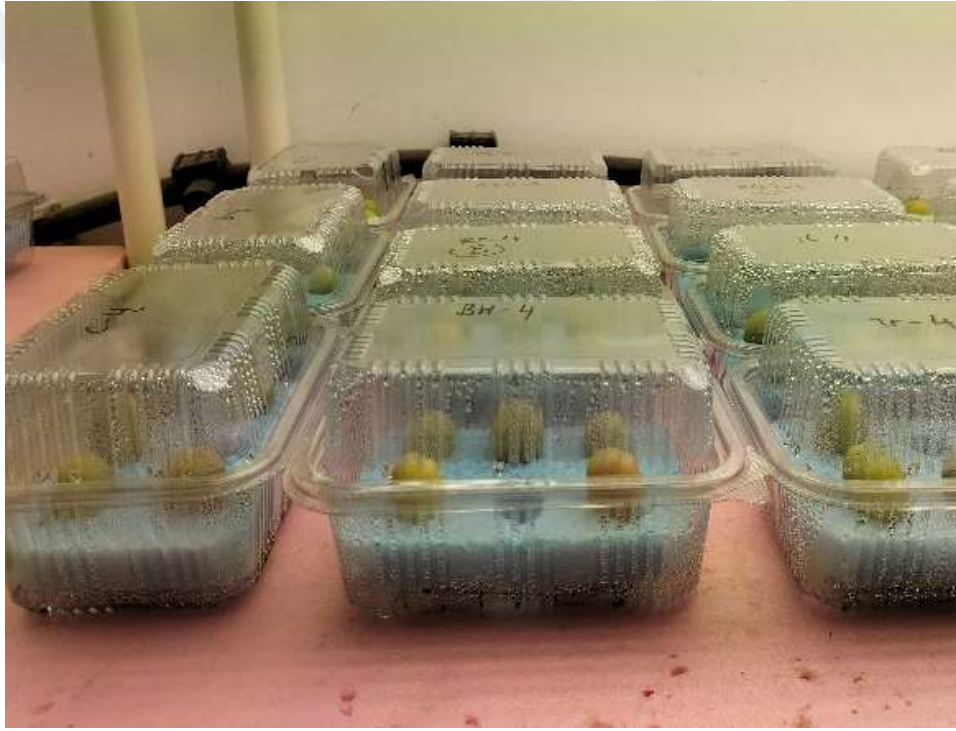


Resim 3.8. Domat çeşidine ait sağlıklı ve yeşil meyvelerin %1’lik sodyum hipoklorid ile yüzey dezenfeksiyonu sonrası steril tülbente alınması (a), tülbente alınan meyvelerin fungusitlerin uygulama dozlarına daldırılması (b), fungusit solüsyonuna daldırılan meyvelerin steril kabinde 12 saat kurumaya bırakılması (c).

Fungisit uygulamasından 12 saat sonra, BOZ 2M izolatının konidi süspansiyonu 3.2.1’de belirtildiği gibi hazırlanmış (Resim 3.9a) ve spor süspansiyonu 10^5 spor/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Meyveler, içerisinde steril saf su bulunan plastik kutular içerisindeki delikli strafor üzerine yerleştirilmiş (Resim 3.9b) ve spor süspansiyonu el spreyi ile püskürtülmüştür (Resim 3.9c). Kontrol olarak bırakılan meyvelere ise steril saf su püskürtülmüştür. İçerisine steril saf su konulmuş plastik kutuların kapakları kapatılarak 23 ± 2 C’de, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık koşullardaki iklim odasına yerleştirilmiştir (Resim 3.10).



Resim 3.9. *B. dothidea* (BOZ 2M) izolatına ait spor süspansiyonun hazırlanması için piknitlerin steril havanda parçalanması (a), fungusit solüsyonuna daldırılmış sağlıklı ve yeşil Domat meyvelerinin strafordaki deliklere yerleştirilmesi (b), meyvelere spor süspansiyonun (10^5 spor/ml) el spreyi ile püskürtülmesi (c).



Resim 3.10. Fungisitlerin *B. dothidea* (BOZ 2M) izolatına etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 23 ± 2 °C’de, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık koşullardaki iklim odasına yerleştirilmiş her bir fungusitin her bir tekerrürüne ait plastik kaplar.

Hastalık şiddeti, inokulasyondan 14 gün sonra 0-5 skalasına göre (0 = gözle görülür belirti yok, 1 = Meyve yüzeyinin %25’inden daha az gözle görülür belirti, 2= %25-%50’inde, 3= %50-%75’inde, 4=%75-%100’ünde belirti, 5=meyve tamamen çürümüş) değerlendirilmiştir (Moral vd., 2008, Moral vd., 2018).

Hastalık Şiddeti İndeksi (DSI) her karakter için aşağıdaki formüle göre değerlendirilmiştir.

$$DSI = [(\sum ni \times i) / (N \times 6)] \times 100 \text{ (Moral vd., 2008).}$$

i: Hastalık şiddeti,

ni: Her hastalık şiddetindeki (i) meyve sayısı,

N: Toplam meyve sayısı

Deneme, Tesadüf Blokları Deneme Desenine göre, 16 karakter ve 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 7 meyve olacak şekilde yapılmıştır. Elde edilen veriler, JMP 13.0 istatistik programı ile değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Patojenisite Testi

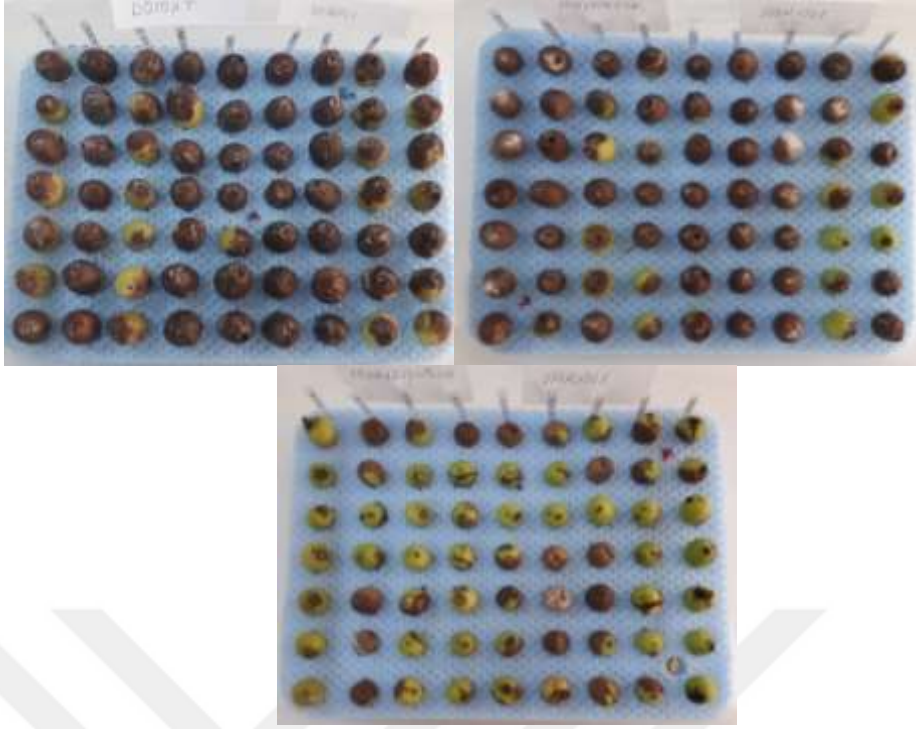
4.1.1. Miseliyal Disk İle İnokulasyon

Dokuz *Botryosphaeria dothidea* izolatının miselyal disk ile patojenisite testleri 3.2.1’de belirtildiği gibi Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinde yara açılarak yapılmış ve her izolat için 7 tekerrürden elde edilen ortalama skala değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Yara açılmış meyvelere miseliyal diskin inokule edildiği patojenisite testinde, 9 *B. dothidea* izolatının virülens değerleri ve çeşitler arasındaki farkın önemli ($p<0.0001$) (EK1), çeşit x izolat interaksiyonunun ise önemsiz ($p=0,0693$) olduğu bulunmuştur. Virülensi en yüksek izolatların sırasıyla Boz 2M, Boz 1M ve Naz 5M olduğu, virülensi en düşük izolatların ise sırasıyla Me 5M, Me 6M ve Di 3M olduğu belirlenmiştir. *B. dothidea* izolatlarının patojenisite testinde her 3 çeşide ait sağlıklı ve yeşil meyvelerde yara açıldığında hastalık görülmüş ancak en duyarlı çeşidlerin Domat Memecik olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1, Resim 4.1).

Çizelge 4.1. Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının misel diski ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerleri.

İzolatlar	Çeşit			Ort. *
	Domat	Memecik	Manzanilla	
Boz 2M	4,3	4,4	4,0	4,10 A
Boz 1M	4,1	4,4	2,7	3,76 AB
Naz 5M	4,4	3,3	3,6	3,76 AB
Boz 10M	3,9	3,7	2,6	3,38 BC
Kuş 2M	3,7	2,7	2,3	2,90 C
Me 4M	2,1	3,0	3,1	2,81 CD
Di 3M	2,6	2,3	1,9	2,24 DE
Me 6M	2,6	2,4	1,4	2,14 E
Me 5M	1,9	2,7	1,3	1,95 E
K	0,0	0,0	0,0	0,00 F
Ortalama*	2,96 A	2,91 A	2,24 B	
Çeşit x İzolat	$p=0,0693$			

*Aynı satır ve aynı sütün içinde aynı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak fark yoktur. İki yönlü varyans analizi, LSD testi ($p<0.0001$)



Resim 4.1. Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinde *B. dothidea* izolatlarının miseliyal diski ile inokulasyondan 7 gün sonraki görünümü.

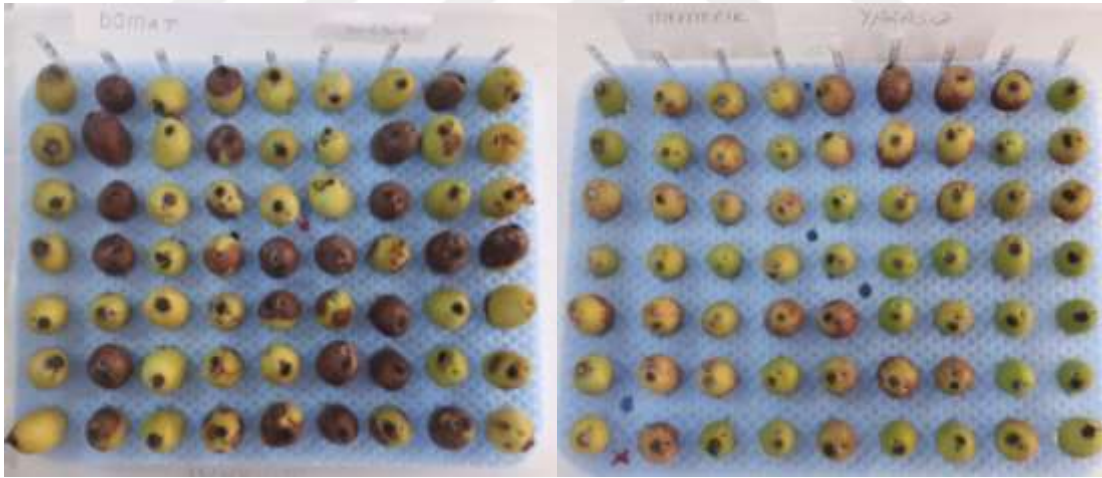
Her üç zeytin çeşidine ait sağlıklı, yeşil zeytin meyvelerine yara açılmadan *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının miseliyal diski inokule edildiğinde elde edilen ortalama skala değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi 9 *B. dothidea* izolatının virülens değerleri ve çeşitler arasındaki farkın önemli ($p < 0.0001$), çeşit x izolat interaksiyonunun da önemli ($p < 0.0001$) olduğu belirlenmiştir (EK2). Yani *B. dothidea* izolatlarının virülensi çeşitlere göre değişmiştir. Domat ve Manzanilla çeşitlerinde virülensi en yüksek izolatların Boz 2M ve Naz 5M olduğu, virülensi en düşük izolatların Manzanilla çeşidinde Me 6M ve Me 4M, Domat çeşidinde Me 6M olduğu, Me 4M ve Me 5M’nin Domat çeşidinde hastalık oluşturmadığı belirlenmiştir. Her üç çeşide ait meyvelere yara açılmadan *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının miseliyal diski inokule edildiğinde, Manzanilla ve Domat çeşitlerinde hastalık görülmüş ancak yara açılarak miseliyal diskin uygulandığı patojenisite çalışmasının aksine Memecik çeşidinde hastalık oluşmadığı görülmüştür (Çizelge 4.2, Resim 4.2).

Çizelge 4.2. Yara açılmamış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının misel diski ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerleri.

İzolatlar	Çeşit*		
	Domat	Memecik	Manzanilla
Boz 2M	3,29 ABC	0,00 G	3,86 A
Naz 5M	3,43 ABC	0,00 G	3,57 AB
Boz 1M	2,29 CDE	0,00 G	2,86 ABCD
Kuş 2M	1,86 DE	0,00 G	2,43 BCDE
Boz 10M	1,43 EF	0,00 G	2,43 BCDE
Di 3M	1,57 EF	0,00 G	1,29 EF
Me 5M	0,00 G	0,00 G	2,00 DE
Me 6M	0,43 FG	0,00 G	0,43 FG
Me 4M	0,00 G	0,00 G	0,57 FG
K	0,00 G	0,00 G	0,00 G
Ortalama*	1,43 B	0,00 C	1,94 A
Çeşit x İzolat*	P<0.0001		

* Aynı satır ve aynı sütun içinde aynı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak fark yoktur. İki yönlü varyans analizi, LSD testi (p<0.0001)



Resim 4.2. Yara açılmamış Domat ve Memecik zeytin çeşitlerinde *B. dothidea* izolatlarının miseloyal diski ile inokulasyondan 7 gün sonraki görünümü.

4.1.2. Spor Süspansiyonu İle İnokulasyon

Botryosphaeria dothidea izolatlarının spor süspansiyonu ile patojenisite testi 3.2.1’de belirtildiği gibi Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinde yara açılarak (Çizelge 4.3) ve yara olmaksızın yapılmış (Çizelge 4.4) ve elde edilen ortalama skala değerleri çizelgelerde verilmiştir.

Her üç çeşide ait yara açılmış meyvelere spor süspansiyonunun inokule edildiği patojenisite testinde, 9 *B. dothidea* izolatının virülens değerleri ve çeşitler arasındaki farkın önemli ($p<0.0001$), çeşit x izolat interaksiyonunun da ise önemli ($p=0.001$) olduğu bulunmuştur (EK3). *B. dothidea* izolatlarının virülensi çeşitlere göre değişmiştir. Buna göre Domat çeşidinde virülensi en yüksek izolatın Kuş 2M, Manzanilla çeşidinde Kuş 2M ve Naz 5M olduğu, virülensi en düşük izolatların ise Domat çeşidinde Boz 1M, Manzanilla çeşidinde Me 6M ve Me 4M olduğu, Memecik çeşidinde Me 4M, Me 6M, Boz 1M ve Boz 10M izolatlarının virülens değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. *B. dothidea* izolatlarının patojenisite testinde her 3 çeşide ait sağlıklı ve yeşil meyvelerde yara açıldığında hastalık görülmüş ancak en duyarlı çeşidin Domat olduğu, Memecik Manzanilla çeşitlerinde de hastalık görüldüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.3, Resim 4.3).

Çizelge 4.3. Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının spor süspansiyonu ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerleri.

İzolatlar	Çeşit*		
	Domat	Memecik	Manzanilla
Kuş 2M	3,86 A	1,86 DEFGH	3,86 A
Naz 5M	2,86 BC	1,86 DEFGH	3,71 AB
Me 5M	2,86 BC	2,00 CDEFG	1,43 EFGH
Di 3M	2,57 CD	1,71 DEFGH	1,43 EFGH
Boz 2M	2,14 CDEF	1,57 EFGH	1,57 EFGH
Boz 10M	2,00 CDEFG	1,14 GH	1,43 EFGH
Me 4M	2,14 CDEF	1,00 H	1,29 FGH
Me 6M	2,29 CDE	1,00 H	1,14 GH
Boz 1M	1,14 GH	1,14 GH	1,71 DEFGH
Kontrol	0,00 I	0,00 I	0,00 I
Ortalama*	2,19 A	1,33 C	1,76 B
Çeşit x İzolat	P=0.001		

* Aynı satır ve aynı sütun içinde aynı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak fark yoktur. İki yönlü varyans analizi, LSD testi ($p<0.0001$)

Her üç çeşide ait yara açılmadan meyvelere spor süspansiyonunun inokule edildiği patojenisite testinde, 9 *B. dothidea* izolatının virülens değerleri ve çeşitler arasındaki farkın önemli ($p<0.0001$), çeşit x izolat interaksiyonunun da önemli ($p<0.0001$) olduğu bulunmuştur (EK 4). Bu yöntemle yapılan patojenisite testinde de *B. dothidea* izolatlarının virülensi çeşitlere göre değişmektedir. Domat çeşidinde virülensi en yüksek izolatların sırasıyla Naz5M, Boz1M, Boz10 M ve Me5M olduğu, diğer izolatların virülensinin düşük olduğu belirlenmiştir. Her üç çeşide ait meyvelere yara açılmadan *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının spor süspansiyonu inokule edildiğinde, sadece Domat çeşidinde hastalık görülmüş (Resim 4.3c), Memecik ve Manzanilla çeşitlerinde hastalık oluşmadığı (Resim 4.3a,b) görülmüştür (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Yara açılmamış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının spor süspansiyonu ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerleri.

İzolatlar	Çeşit*		
	Domat	Memecik	Manzanilla
Naz 5M	4,14 A	0,00 E	0,00 E
Boz 1M	3,29 B	0,00 E	0,00 E
Boz 10M	3,00 BC	0,00 E	0,00 E
Me 5M	3,00 BC	0,00 E	0,00 E
Di 3M	2,86 BC	0,00 E	0,00 E
Boz 2M	2,71 BCD	0,00 E	0,00 E
Me 4M	2,71 BCD	0,00 E	0,00 E
Kuş 2M	2,57 CD	0,00 E	0,00 E
Me 6M	2,14 D	0,00 E	0,00 E
K	0,00 E	0,00 E	0,00 E
Ortalama*	2,64 A	0,00 B	0,00 B
Çeşit x İzolat	P<0.0001		

* Aynı satır ve aynı sütun içinde aynı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak fark yoktur. İki yönlü varyans analizi, LSD testi ($p<0.0001$)



Resim 4.3. Memecik, Domat, Manzanilla (Boz 2M) çeşitlerinde yaralı meyvelerde, Domat (Di 3M, Naz 5M) yarasız meyvelerde inokülasyon sonrası görünüm.

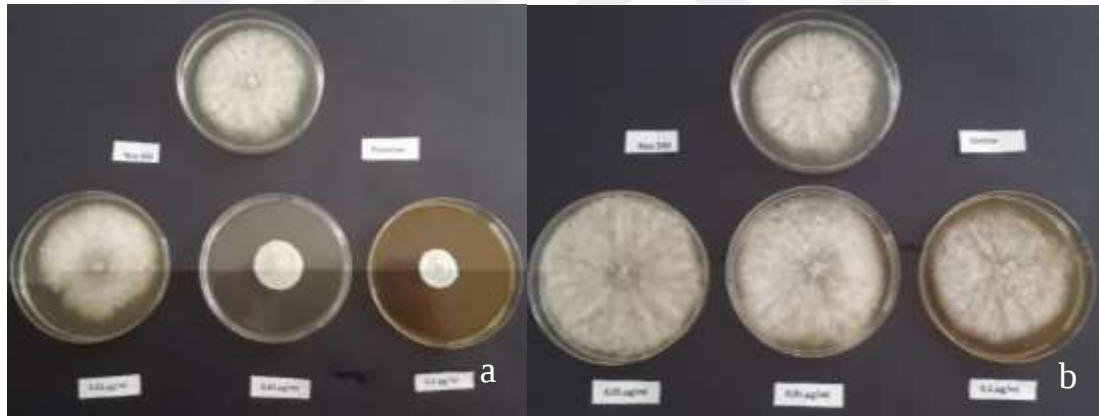
4.2. *B. dothidea* İzolatlarının *in-vitro*'da Bazı Fungisitlere Duyarlılıklarının Belirlenmesi

4.2.1. Miseliyal Gelişime Etkisi

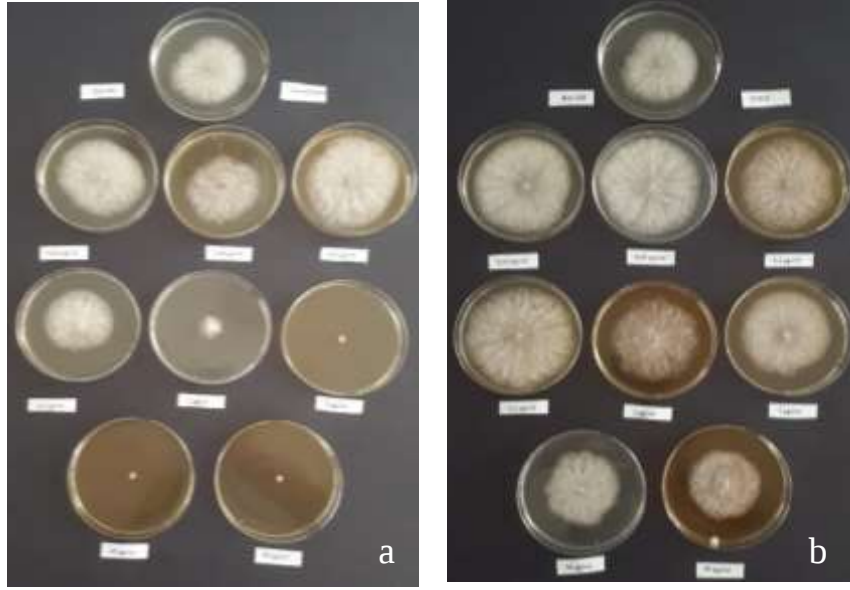
Denemeye alınan 15 fungusitin, *B. dothidea* izolatlarının miseliyal gelişimine ait ED50 değerleri Çizelge 4. 5'de verilmiştir. *B. dothidea* izolatlarının bakırlı fungusitler içerisinde bakır hidroksit'e ait ED50 değerleri 86,40-375,44 $\mu\text{g/ml}$, bakır oksit için 277,58-377,58 $\mu\text{g/ml}$, bakır oksiklorid için 113,48-259,21 $\mu\text{g/ml}$, yağ ve rosin asitlerinin bakır tuzları için 16,16-83,37 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişmiştir. Kükürt için Boz 1M izolatu hariç tüm izolatların ED50 değerleri $>1000 \mu\text{g/ml}$, captan için 9, 2-251,45 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. Dodine için izolatların ED50 değerleri 54,72-188,51 $\mu\text{g/ml}$ (Resim 4.4b ve 4.5b) arasında değişmiştir. Strobilurin grubunda yer alan fungusitlerden azoxystrobin için *B. dothidea* izolatlarının ED50 değerleri $<0,01-0,03 \mu\text{g/ml}$, pyraclostrobin için $<0,01-0,13 \mu\text{g/ml}$, trifloxystrobin için 0,00-0,02 $\mu\text{g/ml}$, kresoxim-methyl için $<0,01-0,34 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. Ayrıca azoxystrobin+difenoconazole için ED50 değerleri 0,01-0,16 $\mu\text{g/ml}$, fluazinam için 0,02-0,05 $\mu\text{g/ml}$ (Resim 4.5a), fluazinam+azoxystrobin için 0,04-0,08 $\mu\text{g/ml}$, tebuconazole için ise 0,76-2,03 $\mu\text{g/ml}$ (Resim 4.4a) olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *B. dothidea* izolatlarının denemeye alınan fungisitlere ait ED50 (misel) değerleri.

Fungisitler	ED50 (µg/ml)					
	Boz 10M	Boz 1M	Boz 2M	Di 3M	Kuş 2M	Naz 5M
Tebuconazole	2,03	1,14	1,10	1,63	0,99	0,76
Fluazinam	0,03	0,05	0,02	0,03	0,03	0,03
Fluazinam+Azoxystrobin	0,06	0,07	0,04	0,04	0,06	0,08
Azoxystrobin	<0,01	0,01	<0,01	0,01	0,03	0,01
Azoxy.+Difenoconazole	0,03	0,01	0,03	0,05	0,16	0,02
Pyraclostrobin	<0,01	0,02	0,01	0,01	0,13	0,05
Trifloxystrobin	<0,01	<0,01	0,00	0,00	0,02	<0,01
Kresoxim-methyl	0,03	0,05	<0,01	0,07	0,34	0,12
Bakır hidroksit	310,59	259,16	306,30	86,40	375,44	279,21
Bakır oksit	319,98	277,58	362,86	310,73	366,79	377,58
Bakır oksiklorid	224,55	239,00	259,21	113,48	222,53	243,60
Yağ ve rosin asitlerinin bakır tuzları	65,22	16,16	65,83	36,23	83,37	34,98
Dodine	18851	43,96	161,49	153,30	231,12	54,72
Kükürt	>1000	15,87	>1000	>1000	>1000	>1000
Captan	96,84	9,22	35,91	75,35	38,05	251,45



Resim 4.4. *B. dothidea* (Boz 2 M) izolatının tebuconazole (a) ve dodine (b) fungisitlerinin farklı doz serilerindeki misel gelişimleri.



Resim 4.5. *B. dothidea* (Naz 5 M) izolatının fluazinam (a) ve dodine (b) fungusitlerinin farklı doz serilerindeki gelişimi

4.2.2.Spor Çimlenmesine Etkisi

Denemeye alınan 15 fungusitin *B. dothidea* izolatlarının spor çimlenmesine ait ED50 değerleri Çizelge 4.6’da verilmiştir. *B. dothidea* izolatlarının bakırlı fungusitler içerisinde bakır hidroksit ve bakır oksiklorid’e ait ED50 değerleri Boz 2M hariç $>50 \mu\text{g/ml}$, bakır oksit için 20, 17- $>50 \mu\text{g/ml}$, yağ ve rosin asitlerinin bakır tuzları için 3 izolat için 5,99-17,02 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişirken 3 izolat için $>50 \mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. 6 izolatın da kükürt’e ait ED50 değerleri $>50 \mu\text{g/ml}$, captan için 3,68-23,95 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. Dodine için *B. dothidea* izolatlarının spor çimlenmesine ait ED50 değerleri 9,38- $>50 \mu\text{g/ml}$ arasında değişmiştir. Strobilurin grubunda yer alan fungusitlerden azoxystrobin için *B. dothidea* izolatlarının ED50 değerleri 1,51- $>50 \mu\text{g/ml}$, pyraclostrobin için 0,23-9,99 $\mu\text{g/ml}$, trifloxystrobin için 0,28- $>50 \mu\text{g/ml}$, kresoxim-methyl için 0,31- $>50 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. Ayrıca azoxystrobin+difenoconazole için ED50 değerleri 0,58- $>50 \mu\text{g/ml}$, fluazinam için 0,49-11,22 $\mu\text{g/ml}$, fluazinam+azoxystrobin için 0,29-16,49 $\mu\text{g/ml}$, tebuconazole için ise $>50 \mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *B. dothidea* izolatlarının denemeye alınan fungusitlere ait ED50 (spor çimlenmesi) değerleri.

Fungisitler	ED50 ((µg/ml))					
	Boz 2M	Kuş 2M	Naz 5M	Boz 1M	Di 3M	Boz 10M
Tebuconazole	>50	>50	>50	>50	>50	>50
Fluazinam	7,10	1,52	0,49	6,21	0,78	11,22
Fluazinam+Azoxystrobin	0,29	3,43	1,42	6,75	14,67	16,49
Azoxystrobin	1,51	33,18	>50	>50	9,28	17,91
Azoxystrobin+Difenoconazole	0,58	2,00	>50	38,77	2,80	45,83
Pyraclostrobin	0,23	4,46	7,69	4,36	7,10	9,99
Trifloxystrobin	0,28	>50	>50	>50	>50	31,75
Kresoxim-methyl	0,31	>50	>50	28,91	>50	>50
Bakır hidroksit	10,57	>50	>50	>50	>50	>50
Bakır oksit	26,58	24,92	>50	25,40	20,17	31,48
Bakır oksiklorid	37,15	>50	>50	>50	>50	>50
Bakır tuzları	17,02	>50	5,99	6,37	>50	>50
Dodine	9,38	16,93	14,47	12,28	17,82	>50
Kükürt	>50	>50	>50	>50	>50	>50
Captan	4,43	8,24	3,68	5,27	8,91	23,95

4.3. Bazı Fungisitlerin *in-vivo*'da *B. dothidea* İzolatına Etkisinin Belirlenmesi

Çalışma 3.2.3'e göre iki kez yapılmıştır. İlk denemede her blokta 7 sağlıklı ve yeşil Domat meyvesi kullanılmış, ikinci denemede ise her blokta 5'er meyve kullanılmıştır. Değerlendirmeler ikinci denemeden elde edilen veriler üzerinden yapılmıştır. İkinci denemede inokulasyondan 14 gün sonra elde edilen hastalık şiddeti ve % etki değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir. Yapılan istatistiki değerlendirme sonunda fungusitler arasındaki farkın önemli ($p=0.0054$), bloklar arasındaki farkın ise önemsiz olduğu ($p=0.3122$) belirlenmiştir (EK5). Çizelge 4.7 incelendiğinde, *B.dothidea* izolatına (Boz 2M) sırasıyla azoxystrobin+difenoconazole'ün %79,07, kükürt'ün %69,78, azoxystrobin'in %58,14 oranında etkili, diğer fungusitlerin etkisiz olduğu (Resim 4.6) belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Denemeye alına fungusitlerin *B.dothidea* izolatına (Boz 2M) *in-vivo* koşullarda “etkisi.”

Fungisitler	Hastalık Şiddeti	Etki (%)
Fluazinam	63,33 A	0,00
Captan	60,00 AB	0,00
Kresoxim-methyl	50,00 ABC	0,00
K(+)	47,78 ABCD	0,00
Dodine	45,56 ABCD	4,65
Tebuconazole	44,44 ABCDE	6,99
Fluazinam+Azoxystrobin	42,22 ABCDE	11,64
Metalik bakıra eşdeğer yağ ve rosin asitlerinin	38,89 ABCDEF	18,61
Bakır oksiklorid	35,55 BCDEF	25,60
Pyraclostrobin	34,44 CDEFG	27,92
Bakır oksit	31,11 CDEFG	34,89
Trifloxystrobin	28,89 CDEFG	39,54
Bakır hidroksit	23,33 DEFG	51,17
Azoxystrobin	20,00 EFG	58,14
Kükürt	14,44 FG	69,78
Azoxystrobin+Difenoconazole	10,00 G	79,07

* Aynı sütun içinde aynı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak fark yoktur. Tek yönlü varyans analizi, LSD testi (p=0.0054)



Resim 4.6. Azoxystrobin+Difenoconazole (a) ve Azoxystrobin (b)’e daldırılmış ve *B. dothidea* izolatı ile inokule edilmiş domat meyvelerindeki görünüm.

5.TARTIŞMA

Aydın İli'nde yaygın olarak yetiştirilen Memecik, Domat, Manzanilla zeytin çeşitlerinde yara açılarak ve 9 *B. dothidea* izolatına ait miseliyal disk ile yapılan patojenisite çalışmasında, her üç çeşide ait meyvelerde hastalık belirtileri görülmüş ve en duyarlı çeşitlerin Domat ve Memecik olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1). Aynı izolatlar ile yara açılmadan miseliyal disk ile yapılan inokulasyonlarda, Domat ve Manzanilla çeşitlerinde hastalık görülmüş ancak Memecik çeşidinde hastalık görülmemiştir (Çizelge 4.2). Yara açılarak ve yara açılmadan miseliyal diskin kullanıldığı her iki denemede de, Boz 2M ve Naz 5M izolatlarının virülensinin en yüksek olduğu belirlenmiştir. Patojenisite testlerinde zeytin meyvelerinde ilk belirtiler Naz 5M izolatında gözlenmiş ve bu belirtiler çekirdeğe doğru ilerleyen nekrotik çürüklük şeklinde olmuştur. Boz 2M izolatı ise meyvenin tamamını kaplamış ve meyve üzerinde piknit oluşturmıştır.

Her üç çeşide yara açıldıktan sonra 9 *B. dothidea* izolatına ait spor süspansiyonu inokule edildiğinde, izolatların virülensinin çeşitlere göre değiştiği, her üç çeşitte de hastalık görüldüğü, en duyarlı çeşidin Domat olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Domat çeşidinde virülensi en yüksek izolatın Kuş 2M, Manzanilla çeşidinde Kuş 2M ve Naz 5M olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3). Meyvelere yara açılmadan aynı izolatların spor süspansiyonu uygulandığında sadece Domat çeşidinde hastalık görülmüş, Memecik ve Manzanilla çeşitlerinde görülmemiştir. Bu uygulamada virülensi en yüksek izolatın Naz 5M olduğu (Çizelge 4.4), Boz 2M izolatının ise spor süspansiyonu ile inokulasyon denemelerinde virülensinin orta düzeyde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3, 4.4).

Aydın İli'nde 2017-2019 yılları arasında yürütülen bir çalışmada, yara açılmış Memecik, Domat, Yamalak, Eşek zeytini ile Manzanilla çeşitleri, virülensi yüksek 3 *Botryosphaeriaceae* izolatının (Naz-6M, SÖ-10M, Ef-4M) miseliyal diski ile inokule edilmiştir. Çalışma sonunda izolatlar arasında farklılıklar olduğu, virülensi en yüksek izolatın SÖ-10M olduğu belirlenmiştir. İzolat farklılıkları dikkate alınmaksızın, çeşitlerin duyarlılığı incelendiğinde, en duyarlı çeşitlerin Domat ve Yamalak Kabası olduğu, bunu sırasıyla Palamut ve Memecik çeşitlerinin izlediği, Manzanilla çeşidinde ise skala değerlerinin çok düşük olduğu görülmüştür (Tabaklı, 2019). Yara açılmış sağlıklı zeytin meyvelerinin *B. dothidea* izolatlarına ait misel diski ile inokule edildiği çalışmamızda da en duyarlı çeşitlerin Domat ve Memecik olduğu belirlenmiş ve sonuçlarımız Tabaklı (2019) ile örtüşmüştür.

Ancak çalışmamızda ele alınan 3 zeytin çeşidine ait meyveler yara açılmadan da misel disk ile inokule edilmiş ve Memecik çeşidinde hiçbir *B. dothidea* izolatının hastalık oluşturmadığı saptanmıştır. Ayrıca yara açılmadığında aynı izolatların aynı çeşitlerdeki skala değerlerinin daha düşük olduğu ve bazı izolatların aynı çeşitte hastalık oluşturmadığı (Domat çeşidinde Me 4M ve Me 5M) da görülmüştür (Çizelge 4.2). Dokuz *B. dothidea* izolatına ait misel disk ile yapılan patojenisite çalışmasında meyvede yara olmadığında özellikle Memecik çeşidinin (Çizelge 4.2.), spor süspansiyonu ile yapılan çalışmada ise Memecik ve Manzanilla çeşitlerinin hiç hastalanmadığı (Çizelge 4.4.) görülmüştür. Moral vd. (2019), Eldesouki-Arafat (2013)'e atfen, zeytin sineği (*Bactrocera oleae*) yumurtalarının predatörü *Prolasioptera berlesiana* (Diptera: Cecidomyiidae: Lasiopterini)'nin karın bölgesinde mycangium adı verilen özel bir yapıda *B. dothidea* sporlarını taşıdığını belirterek Dalmaçya hastalığının yaşam döngüsünü aydınlattığını bildirmiştir. Zeytin sineğinin meyve yüzeyinde ovipozitörü ile delik açıp yumurtalarını bıraktığını ve bu deliklerin *P. berlesiana*'ı cezbederek kendi yumurtalarını zeytin sineğinin yumurtalarının yanına bıraktığını ifade etmiştir. Böylece *P. berlesiana*'nın *B. dothidea* sporlarını taşıdığını bildirmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda meyve yüzeyindeki yaranın etmenin penetrasyonunda son derece önemli olduğu görülmektedir. Nitekim çalışmamızda da yara açıldığında, her üç çeşidin *B. dothidea* izolatlarının hem misel disk hem de spor süspansiyonu ile enfekte olduğu görülmüştür. Bununla birlikte zeytin meyvelerinde yara açılmadan yapılan inokulasyonlarda izolatların misel disk ile Domat ve Manzanilla çeşitlerinin, spor süspansiyonu ile sadece Domat çeşidinin enfekte olduğu belirlenmiştir. İzmir'de 1984-1988 yılları arasında bazı yağlık ve sofralık zeytin çeşitlerinin (Çakır, Çilli, Memecik, Domat ve Ayvalık) zeytin sineğine duyarlılıklarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada zeytin sineği popülasyonunun yanısıra ele alınan çeşitlerin zeytin meyve kriterleri de belirlenmiştir. Meyve kabuğu penetrometer yardımıyla ölçülmüş ve her sezonun başında meyve kabuğu sertliği ölçümlerinin birbirine çok yakın çıktığı, Ekim ayından sonra meyve kabuğu dayanıklılığının meyve olgunluğuna bağlı olarak farklılıklar gösterdiği, sezonun sonunda meyvelerin sertliğinin Domat çeşidi dışında tüm çeşitlerde belirgin şekilde düştüğü ve zeytin sineğine duyarlılık ile meyve kabuğu sertliği arasında bir korelasyonun olmadığı bildirilmiştir (Gümüşay vd., 1990).

In-vitro koşullarda, 15 fungusitin 6 *B. dothidea* izolatının misel disk gelişimlerini ve spor çimlenmelerini %50 engelleyen ED50 değerleri saptanmıştır.

Strobilurin grubunda yer alan fungusitlerden azoxystrobin, pyraclostrobin, trifloxystrobin ve kresoxim-methyl için *B. dothidea* izolatlarının misel disk gelişimini %50

engelleyen dozlar <0, 01-0, 34 µg/ml arasında saptanmış ve bu gupta yer alan fungusitlerin izolatların miseliyal gelişimini engellediği belirlenmiştir. Aynı fungusitlerin spor çimlenmesini %50 engelleyen dozları 0, 23->50 µg/ml olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5, Çizelge 4.6). Amponsah vd. (2012), pyrimethamil ve azoxystrobin'in bağlarda geriye doğru ölüm ve kansere neden olan *Neofusicoccum. australe*, *N. luteum* ve *Diplodia mutila* izolatlarının miseliyal gelişimini en yüksek konsantrasyonda (1000 µg/ml) bile engellemediği belirtmişlerdir. Bu sonuçlar *B. dothidea* izolatları ile yapılan çalışmamızda elde edilen sonuçlar (<0, 01-0, 03 µg/ml) ile örtüşmemektedir.

Ayrıca çalışmamızda *B. dothidea* izolatlarının miseliyal gelişimine ait ED50 değerleri azoxystrobin+difenoconazole için 0, 01-0, 16 µg/ml, fluazinam için 0, 02-0, 05 µg/ml, fluazinam+azoxystrobin için 0, 04-0, 08 µg/ml, tebuconazole için ise 0, 76-2, 03 µg/ml olarak belirlenmiş olup, miseliyal gelişimi engellemiştir (Çizelge 4.5). Avustralya'da bağlarda Botryosphaeria kanserine karşı 17 fungusitin etkisinin in-vitro ve tarla koşullarında araştırıldığı çalışmada, 4 Botryosphaeriaceae türü ele alınmıştır. Bunlar içerisinde *B. dothidea* türüne ait izolatın ele alınan fungusitlere ait miseliyal gelişimi %50 engelleyen değerleri (EC50) incelendiğinde, fluazinam için EC50 değeri 0, 05 µg/ml, tebuconazole için 0, 03 µg/ml olarak belirlenmiş ve en etkili fungusitler arasında oldukları vurgulanmıştır. Fluazinam ve tebuconazole ile diğer bazı fungusitlerin tarla koşullarında taze budama yaralarının *Diplodia seriata* ve *D. mutila*'a karşı uygulandığı çalışmada bu etmenlerin enfeksiyonunu %41 ve %65 oranında azalttığı belirtilmiştir (Pitt vd., 2012). Fluazinam ve tebuconazole'e ait ED50 değerlerimiz bu çalışma sonuçları ile örtüşmektedir. Bağlarda geriye doğru ölüm ve kanserlere neden olan Botryosphaeriaceae türlerinden *Neofusicoccum australe*, *N. luteum* ve *D. mutila*'nın miseliyal gelişimi ve spor çimlenmesine karşı in-vitro denemelerde 16 fungusitin denendiği çalışmada 9 fungusitin etkili olduğu belirlenmiştir. Bu fungusitlerden tebuconazole için 3 Botryosphaeriaceae türünde EC50 değeri 0, 010-0, 098 µg/ml, bakır hidroksit için 68, 64-106, 83 µg/ml arasında değişirken, spor çimlenmesi için EC50 değerleri tebuconazole için 0, 60-6, 23 µg/ml, bakır hidroksit için 4, 16-8, 70 µg/ml arasında değişmiştir. Seçilen 9 fungusit saksı ve tarladaki bağların budama yaralarına püskürtülüp daha sonra *N. luteum*'un konidi süspansiyonu ile inokule edildiğinde, etkili fungusitler içerisinde yer alan tebuconazole'ün tarladaki asmaların %87'sinde korunma sağladığı bildirilmiştir (Amponsah vd., 2012). Çalışmamızda *B. dothidea* izolatlarının tebuconazole'e ait hem miseliyal gelişimi hem de spor çimlenmesi için ED50 değerleri bu çalışmada elde edilen değerlerden çok daha yüksek bulunmuştur. Aynı durum bakır hidroksit için de geçerlidir.

Torres vd. (2013), bağdan izole edilen *Botryosphaeriaceae* familyasından *Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Neofusicoccum australe* ve *N. parvum*'a karşı DMI fungusitlerini in-vitro koşullarda denemiş ve deneme sonucunda tebuconazole, myclobutanil, prochloraz ve prochloraz+ epoxyconazole'ün *D. mutila*, *D. seriata*, *N. australe* ve *N. parvum*'nın konidiyal çimlenmesini durdurduğu, miseliyal gelişimini engellediğini belirtmişlerdir. Bu fungusitlerden tebuconazole'ün, *D. mutila*, *D. seriata*, *N. australe* ve *N. parvum*'a ait miseliyal gelişimini %50 engelleyen değerlerinin sırasıyla 0,1; 0,3; <0,1 -0,4; 0,4 mg/l, konidi çimlenmesi için ise 0,5-1,0; 0,3-0,5; 0,3 ve 0,4 mg/l olduğunu bildirmiş ve konidiyal çimlenme için elde edilen EC50 değerlerinin genellikle misel gelişimi için elde edilen EC50 değerlerinden daha yüksek olduğunu, bunun da miselin DMI fungusitlerine konidiumlardan daha duyarlı olduğunu gösterdiğini vurgulamıştır.

Dai vd. (2017), Çin'de endemik bir ağaç olan cevizde (*Carya cathayensis*) 8 fungusit grubuna ait 17 fungusitin (mancozeb, thiram, chlorothalonil, carbendazim, iprodione, procymidone, difenoconazole, tebuconazole, prochloraz, boscalid, fluopyram, kresoxim-methyl, trifloxystrobin, picoxystrobin, hymexazol, dimethomorph) *B. dothidea*'a karşı in-vitro aktivitelerini araştırmışlardır. Bu fungusitlerden difenoconazole, tebuconazole ve prochloraz'ın miseliyal gelişimin önlenmesinde en etkili fungusitler oldukları belirtilmiştir. Ortalama EC50 değerleri sırasıyla $0,42 \pm 0,10$ mg / l; $0,74 \pm 0,09$ mg / l ve $1,79 \pm 0,84$ mg / l olarak bulunmuştur. *B. dothidea*'nın spor çimlenmesini engellemede en önemli engelleyicinin trifloxystrobin olduğu belirlenmiş ve EC50 değeri 1.78 ± 0.61 mg / l olarak saptanmıştır. Kresoxim-methyl ise $4,60 \pm 0,38$ mg/l'lik EC50 değeri ile spor çimlenmesine biraz etki göstermiştir. Çalışmamızda tebuconazole'e ait hem miseliyal gelişim hem de spor çimlenmesine ait elde ettiğimiz veriler, bu çalışma ile örtüşmektedir. Trifloxystrobin ve kresoxim-methyl için ise miseliyal gelişime ait ED50 değerlerimiz Dai vd. (2017)'den çok daha düşük, spor çimlenmesi için de çok daha yüksek (bir izolat hariç >50 µg/ml) bulunmuştur.

Çalışmamızda bakırlı fungusitler içerisinde *B. dothidea* izolatların miseliyal gelişimini %50 engelleyen en düşük değerler, bakır tuzlarına aittir (16,16-83, 37 µg/ml). Kükürte ait ED50 değerleri 15,87->1000 µg/ml, captan için 9,22-251,45 µg/ml olarak belirlenmiştir. Dodine için ise *B. dothidea* izolatlarının ED50 değerleri 54,72-188,51 µg/ml arasında değişmiştir. Bakırlı fungusitlerin *B. dothidea* izolatların spor çimlenmesini %50 engelleyen değerleri açısından da en düşük değerler bakır tuzları (5,99- >50 µg/ml) ve bakır oksit (20,17- >50 µg/ml) için elde edilmiştir.

Fungisitlerin *in-vivo* 'daki etkisinin belirlendiği çalışmada, Boz 2M izolatu kullanılmış ve en etkili fungisitlerin sırasıyla azoxystrobin+difenoconazole (%79,07), kükürt (%69,78), azoxystrobin (%58, 14) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Bu sonuçlar, Boz 2M izolatının kükürt dışında azoxystrobin ve azoxystrobin+difenoconazole'e ait misel ve spor çimlenmesini %50 engelleyen doz değerleri ile uyumlu olmasına rağmen diğer strobilurin grubu fungisitler ve DMI fungisitleri ile kombinasyonlarında elde edilmemiştir. Ülkemizde *B. dothidea*'a karşı bazı fungisitlerin etkisinin sadece *in-vivo* koşullarda değerlendirildiği bir ön çalışmada azoxystrobin+difenoconazole ve fluazinam'ın etkili olduğu ve diğer fungisitlerin etkili olmadığı belirtilmiştir (Tabaklı, 2019).

Çalışmamızda kükürt ile ilgili *in-vivo* deneme sonuçları *in-vitro* sonuçları ile örtüşmemiştir. Ancak İtalya'da zeytinde önemli kayıplara yol açan yaprak lekesi, antraknoz, Cercosporiosis ve meyve çürüklüğü hastalıklarına neden olan *Fusicladium oleaginum*, *Colletotrichum* spp., *Pseudocercospora cladosporioides*, *Botryosphaeria dothidea* ve diğer *Neofusicoccum* spp. 'nin neden olduğu meyve çürüklüğüne karşı bazı fungisitlerin (mancozeb, kükürt , pyraclostrobin, bakır oxychloride) etkisinin araştırıldığı arazi çalışmasında, özellikle çiçek öncesi, meyve tutumu sonrası, meyve gelişme evresinde kükürt uygulaması en iyi sonucu verdiği, bunu mancozeb ve bakır oksiklorid'in izlediği, pyraclostrobin'in ise etkisiz bulunduğu belirtilmiştir (Nigro vd., 2018).

Çalışmamızda sadece metalik bakıra eşdeğer yağ ve rosin asitlerinin bakır tuzları'na daldırılan meyvelerde kahverengi küçük lekelenmeler şeklinde fitotoksik etki görülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Aydın, Ege Bölgesi'nde yağlık zeytin ağaç sayısı ve üretimi açısından birinci, sofralık ağaç sayısı ve üretimi açısından ise ikinci sırada yer alan önemli bir ilimizdir. Bölümümüzde 2017-2019 yılları arasında yapılmış çalışmada hastalıklı zeytin örneklerinden elde edilen izolatların *Botryosphaeria dothidea* olduğu belirlenmiştir. Etmen zeytinde meyve kalitesini olumsuz yönde etkileyerek meyve çürüklüğüne neden olmaktadır. Tez çalışması Dalmaçya Hastalığı'na neden olan *Botryosphaeria dothidea* 'nin misel ve sporlarının yaralı veya yarasız bazı zeytin çeşitlerini hastalandırma durumunu belirlemek ve etmene karşı bazı fungusitlerin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla ele alınmış ve aşağıda belirtilen sonuçlar elde edilmiştir.

1. *B. dothidea* izolatlarının miseliyal disk yara açılarak ve yara açılmaksızın Memecik, Domat, Manzanilla zeytin çeşitlerine inokule edilerek yapılan patojeniste çalışmasında, her iki yöntemde de meyvelerde hastalık belirtileri görülmüş ve en duyarlı çeşidin Domat olduğu saptanmıştır. Yara açılmadan miseliyal disk ile yapılan inokulasyonlarda, Domat ve Manzanilla çeşitlerinde hastalık görülmüş ancak Memecik çeşidinde görülmemiştir. Boz 2M ve Naz 5M izolatlarının her iki denemede de virülensi en yüksek izolatlar olduğu belirlenmiştir.

2. *B. dothidea* izolatlarının spor süspansiyonu her üç çeşide yara açılarak inokule edildiğinde, *B. dothidea* izolatlarının virülensinin çeşitlere göre değiştiği ve her üç çeşitte de hastalık görüldüğü belirlenmiştir. Zeytin meyvelerine yara açılmadan spor süspansiyonu uygulandığında, sadece Domat çeşidinde hastalık görülmüş, Memecik ve Manzanilla çeşitlerinde görülmemiştir. Bu uygulamada virülensi en yüksek izolatın Naz 5M olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma zeytin meyvesinde zeytin sineğinden kaynaklanan yaraların etmenin hastalık oluşturma açısından son derece önemli olduğunu göstermiş ve Memecik çeşidinde yara olmadığında miselin giriş yapamadığını, Memecik ve Manzanilla çeşitlerinde ise spor süspansiyonunun giriş yapamadığını göstermiştir. Ancak Domat çeşidinde yara olmasa da etmenin hem miselinin hem de sporunun hastalık oluşturduğu belirlenmiştir.

3. *İn-vitro* koşullarda fungusitlerin etkinliklerinin miseliyal gelişim açısında değerlendirildiği çalışmada, 6 *B. dothidea* izolatının 15 fungusite ait ED50 değerleri saptanmıştır. Quinone Dış Engelleyiciler (QoI), Triazole ve Quinone İç Engelleyiciler (QiI) grubunda yer alan fungusitler ile QiI+QoI ve QoI+Triazole karışımı fungusitlerin *B. dothidea* izolatlarının miseliyal gelişimini engelledikleri ancak tebuconazole'ün spor çimlenmesini

engellemediği, QoI içerisinde yer alan fungusitlerin spor çimlenmesini %50 engelleyen dozlarında izolatlara göre önemli varyasyonlar görüldüğü belirlenmiştir. Bakırlı fungusitlerin ve kükürdün *B. dothidea* izolatlarının hem miseliyal gelişimi hem de spor çimlenmesine etkisiz olduğu, dodine ve captan'ın izolatların spor çimlenmesine ait ED50 değerlerinin miseliyal gelişime ait ED50 değerlerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir.

4. Fungisitlerin *in-vivo*'daki etkisinin belirlendiği denemelerde en etkili fungusitlerin sırasıyla azoxystrobin+difenoconazole, kükürt ve azoxystrobin olduğu belirlenmiştir. Azoxystrobin+difenoconazole ve azoxystrobin ile ilgili sonuçların *in-vitro* sonuçlar ile örtüştüğü ancak kükürt ile ilgili sonuçların örtüşmediği görülmüştür.

Bu çalışma *B. dothidea* izolatlarının misel ve sporunun denemeye alınan zeytin çeşitlerinin duyarlılıkları farklı olmakla beraber, yara bulunduğu hastalık yaptığı ancak aynı çeşitlerde yara bulunmadığında aynı izolatlara ait misellerin Memecik çeşidi hariç her iki çeşidi de hastalandırmakla beraber spor süspansiyonlarının sadece Domat çeşidini hastalandırdığı belirlenmiştir. Bu nedenle bu etmenin doğa koşullarında başka bir vektöre ihtiyaç duymadan bazı zeytin çeşitlerinin meyvesine giriş yapabileceği ve uygun koşullarda zarar oluşturabileceği kanısına varılmıştır. Çalışmanın özellikle *in-vivo* denemelerde bazı fungusitlerden ümitvar sonuçlar alınmıştır. Bu fungusitlerden azoxystrobin+difenoconazole Zeytin Halkalı Leke Hastalığı'na karşı ruhsatlıdır. Bununla birlikte bu fungusitlerin pratikte uygulanabilmesi için doğada hastalığın yaygın görüldüğü bahçelerde uygulama zamanları ve etkinlikleri de belirlenerek daha ayrıntılı çalışmaların yapılması uygun olacaktır. Ayrıca bu fungusitlerin meyve ve yağda kalıntı analizlerinin yapıldıktan sonra değerlendirmelerin buna göre yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Akbaş, L. (2019).(*Spilocaea oleagina* (Cast.)Hughes'nın Neden Olduğu Zeytinde Halkalı Leke Hastalığının Yaygınlık Oranı İle Bazı Hava Koşulları Arasındaki İlişki Üzerine Çalışmalar Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Akgöl, D. S., Savaş, Y., Savaş, N. G., & Yağcı, A. (2016). *Kontrollü koşullarda sıcak su uygulamalarının Botryosphaeriaceae funguslarının büyümesine, asma kalem ve çeliklerinde göz canlılığına etkileri*. Ege Üniversitesi Ziraat Faköltesi Dergisi, 53(1), 99-107.
- Amponsah N. T., Jones E., Ridgway H. J., & Jaspers M. V. (2012). Evaluation of fungicides for the management of *Botryosphaeria* dieback diseases of grapevines. *Pest management science*, 68(5), 676-683.
- Anonim, (2019). 2019 Yılı Zeytin ve Zeytin Yağı Raporu. <https://esnafkoop.ticaret.gov.tr/data/5d44168e13b876433065544f/2019%20Zeytinya%C4%9F%C4%B1%20Raporu.pdf> [Erişim tarihi: 21.11.2021]
- Anonim, (2021a). <http://zeytindostu.org.tr/zeytin/zeytin-cesitleri> [Erişim tarihi: 25.12.2021]
- Anonim, (2021b). Zeytinciliğin Islahı Ve Yabanilerinin Aşılatırılması Hakkında Kanun, <https://www.Mevzuat.Gov.Tr/Mevzuatmetin/1.3.3573.Pdf> [Erişim Tarihi: 21.11.2021]
- Bester W., Crous P. W., & Fourie P. H. (2007) . Evaluation of fungicides as potential grapevine pruning wound protectants against *Botryosphaeria* species. *Australasian Plant Pathology*, 36(1), 73-77.
- Brown-Rytlewski D. E., & McManus P. S. (2000). Virulence Of *Botryosphaeria dothidea* And *Botryosphaeria obtusa* On Apple And Management Of Stem Cankers With Fungicides. *Plant Disease*, 84(9), 1031-1037.
- Dai D. J., Wang H. D., Wang Y. P., & Zhang C. Q. (2017). Management Of Chinese Hickory (*Carya Cathayensis*)Trunk Canker Through Effective Fungicide Application Programs And Baseline Sensitivity Of *Botryosphaeria dothidea* To Trifloxystrobin. *Australasian Plant Pathology*, 46(1), 75-82.

- Demirtaş, A.E. (2019). *Zeytinde Verticillium Solgunluk Hastalığı (Verticillium Dahliae Kleb.)'Na Karşı Bazı Preperatların Etkinliğinin Belirlenmesi* Yüksek Lisans Tezi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Isparta.
- Denman S., Crous P. W., Sadie A., & Wingfield M. J. (2004). Evaluation of fungicides for the control of *Botryosphaeria protearum* on *Protea magnifica* in the Western Cape Province of South Africa. *Australasian Plant Pathology*, 33(1), 97-102.
- Doksöz, S.F. (2020). *Hatay İlinde Zeytin Dal Kanseri (Pseudomonas Savastanoi Pv. Savastanoi) Hastalığının Tespiti Ve Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması* Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Eldesouki-Arafat, I. (2013). *Interacciones de Batrocera oleae Gmel. (Mosca del olivo) con Botryosphaeria dothidea Moug. (Escudete de la aceituna) y de Phloeotribus scarabaeoides Bern. (Barrenillo del olivo) con Verticillium dahliae Kleb. causante de la Verticilosis del olivo*. Ph.D. Thesis, University of Cordoba, Cordoba, Spain.
- EPPO, (2012). <https://www.eppo.int/>, [Erişim Tarihi:26.12.2021]
- FAO, (2022). Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://www.fao.org/home/en/> [Erişim Tarihi:24.05.2021]
- Gözüpek, K. (2021). *Karadeniz Bölgesinde Yetişen Patos Zeytin Çeşidinden Elde Edilen Zeytinyağlarının Kalitesi Üzerine Zeytin Yaprağı İlevesi Ve Depolama Koşullarının Etkileri* Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Giresun.
- Gülbaş, D., (2012). *Kilis İli Zeytin Bahçelerindeki Zeytin Sineği [Bactrocera Oleae (Gmelin)(Dip.: Tephritidae)]'nin Populasyon Yoğunlukları Ve Zarar Oranlarının Belirlenmesi* Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay/Antakya.
- Gümüşay, B., ÖOzilbey, U., Ertem, G., & Oktar, A. (1989, September). Studies on the susceptibility of some important table and oil olive cultivars of Aegean Region to olive fly (*Dacus oleae* Gmel.) in Turkey. In *International Symposium on Olive Growing* 286 (pp. 359-362).
- Güven, H., (2015). *Ege Bölgesinde Zeytin Halkalı Leke (Spilocaea Oleagina (Cast.) Hughes) Hastalığının Mücadelesinde Elektrostatik ve Geleneksel İlaçlama Tekniklerinin Etkililiklerinin Belirlenmesi* Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

- Kayabaş, F. (2021). *Kilis Ve Yöresinde Yetiştiriciliği Yapılan Zeytin Çeşitlerinin Farklı Hasat Zamanlarında Elde Edilen Zeytinyağlarının Kalitesi* Yüksek Lisans Tezi, Eğitim Enstitüsü, Kilis.
- Kexiang, G., Xiaoguang, L., Yonghong, L., Tianbo, Z., & Shuliang, W. (2002). Potential of *Trichoderma harzianum* and *T. atroviride* to control *Botryosphaeria berengeriana* f. sp. *piricola*, the cause of apple ring rot. *Journal of Phytopathology*, 150(4-5), 271-276.
- Körükmez, N. (2018). *Batı Anadolu'da Zeytinlerde Görülen Meyve Çürüklük Etmenlerinin Saptanması ve Çürüklüklerin Bazı Kalite Özelliklerine Etkisi Üzerinde Araştırmalar* Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova-İZMİR.
- Kurt, Ş., Soylu, S., Uysal, A., Soylu, E. M., & Kara, M. (2020). Ceviz gövde kanseri hastalığı etmeni *Botryosphaeria dothidea*'nın tanılanması ve bazı fungusitlerin hastalık etmenine karşı İn- vitro antifungal etkinliklerinin belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniv. Tarım Bilimleri Dergisi*, 25 (1)46-56s.
- Latinoviç, J., Mazzagliab, A., Latinovic, N., Ivanovic, M., Gleasond, M.A. (2013). Resistance of olive cultivars to *Botryosphaeria dothidea*, causal agent of olive fruit rot in Montenegro. *Crop Protection*, 48: 35-40.
- Liman, K. (2021). *Zeytin Ve Zeytinyağında Uygulanan Destekleme Politikalarının Hatay İli Altınözü İlçesinde Üreticilere Yansımaları Ve Üretici Görüşleri* Yüksek Lisans Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Moral J., Muñoz-Díez C., González N., Trapero A., & Michailides T. J. (2010). Characterization and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* species collected from olive and other hosts in Spain and California. *Phytopathology*, 10 (12):1340-1351.
- Moral, J., Agustí-Brisach, C., Agalliu, G., Rodrigues, de O., P´erez-Rodríguez, M., Roca, L. F., Romero, J., Trapero, A., (2018). Preliminary selection and evaluation of fungicides and natural compounds to control olive anthracnose caused by *Colletotrichum* species . *Crop Protection* 114 (2018)167-176 p.
- Moral, J., Agustí-Brisach, C., P´erez-Rodríguez, M., Xav´ier, C., Raya-Ortega, M. C., Rhouma, A., and Trapero, A. (2017). Identification of fungal species associated with branch dieback of olive and resistance of table cultivars to *Neofusicoccum mediterraneum* and *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Dis.* 101: 306-316.

- Moral, J., Bouhmidi, K., and Trapero, A. (2008). Influence of fruit maturity, cultivar susceptibility, and inoculation method on infection of olive fruit by *Colletotrichum acutatum*. *Plant Dis.* 92: 1421-1426.
- Moral, J., Morgan, D., & Michailides, T. J. (2019b). Management of *Botryosphaeria* canker and blight diseases of temperate zone nut crops. *Crop Protection*, 126, 104927.
- Moral, J., Morgan, D., Trapero, A., Michailides, T.J. (2019 a). Ecology and epidemiology of diseases of nut crops and olives diseases caused by *Botryosphaeriaceae* fungi in California and Spain. *Plant Dis.*, 103:1809-1827.
- Nigro F., Antelmi I., & Sion V. (2018). Integrated control of aerial fungal diseases of olive., *Acta Hortic.* 1199. ISHS 2018. DOI 10. 17660/ActaHortic.2018.1199.51 Proc. VIII Int. Olive Symposium Eds.: S. Perica et al. (2018, October), pp. 327-332.
- Phillips, A.J.L., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Slippers, B., Wingfeld, M.J., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. (2013). The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, 76: 51–167.
- Pitt W. M., Sosnowski M. R., Huang R., Qiu Y., Steel C. C., & Savocchia S. (2012). Evaluation of fungicides for the management of *Botryosphaeria* canker of grapevines. *Plant Disease*, 96(9), 1303-1308.
- Rego C., Farropas L., Nascimento T., Cabral. A., Oliveira and Silva M. J. (2009). Control of grapevine wood fungi in commercial nurseries. *Phytopathologia Mediterranea*. 48: 128–135.
- Sivri, N. (2012). *Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis İllerindeki Zeytin Üretim Alanlarında Görülen Zeytin Dal Kanseri Hastalığı Etmeni Pseudomonas Savastanoi Pv. Savastanoi Tanılanması* Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Tabaklı, S. (2019). *Aydın İli'nde Zeytin Meyve Çürüklüklerinin Saptanması Ve Mücadelesi* Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Tennakoon K. M. S., Ridgway H. J., Jaspers M. V., Langford G., & Jones E. E. (2019). Evaluation of fungicide efficacy against *Neofusicoccum* species causing dieback disease of blueberries in New Zealand. *Australasian Plant Pathology*, 48(1), 75-84.

- Topuz, H. (2011). *İzmir ve Manisa İllerinde Bazı Zeytin Sineği [Bactrocera oleae (Gmelin)(Dip.:Tephritidae)] Zararına, Zeytinyağı Verim ve Kalitesine Etikleri Üzerinde Araştırmalar* Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Torres C., Latorre B. A., Undurraga P., & Besoainn X. (2013). Evaluation of DMI fungicides against species of *Diplodia* and *Neofusicoccum* associated with *Botryosphaeria* canker of grapevine. Cien. Inv. Agr. 40 (1): 131-138. *Ciencia e investigación agraria*, 40(1), 131-138.
- TÜİK, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu Resmi İnternet Sitesi Verileri , <http://www.tuik.gov.tr/Start.do> [Erişim Tarihi: 15.04.2022]
- Xu S., Yao J., Wu F., Mei L., & Wang Y. (2018). Evaluation of *Paenibacillus polymyxa* carboxymethylcellulose/poly (vinyl alcohol) formulation for control of *Carya cathayensis* canker caused by *Botryosphaeria dothidea*. *Forest pathology*, 48(6), e12464.
- Yılmaz E. (2017). Dünyada ve Türkiye’de Zeytin ve Zeytin Yağı İhracatı. https://www.academia.edu/35307396/D%C3%9CNYADA_VE_T%C3%9CRK%C4%B0YEDE_ZEYT%C4%B0N_VE_ZEYT%C4%B0NYA%C4%9EI_%C4%B0HRACATI . [Erişim Tarihi: 30.03.2020]

EKLER

Ek 1. Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının misel diski ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerlerine ait varyans analiz sonucu (Çizelge 4.1)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	29	328, 26667	11, 3195	10, 4259
Error	180	195, 42857	1, 0857	Prob > F
C. Total	209	523, 69524		<.0001

Ek 2. Yara açılmamış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının misel diski ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerlerine ait varyans analiz sonucu (Çizelge 4.2)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	29	362, 49524	12, 4998	8, 5783
Error	180	262, 28571	1, 4571	Prob > F
C. Total	209	624, 78095		<.0001

Ek 3. Yara açılmış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının spor süspansiyonu ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerlerine ait varyans sonucu (Çizelge 4.3)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	29	202, 90000	6, 99655	9, 1449
Error	180	137, 71429	0, 76508	Prob > F
C. Total	209	340, 61429		<.0001

Ek 4. Yara açılmamış Domat, Memecik ve Manzanilla zeytin çeşitlerinin, *Botryosphaeria dothidea* izolatlarının spor süspansiyonu ile inokulasyonundan 7 gün sonra elde edilen ortalama skala değerlerine ait varyans sonucu (Çizelge 4.4)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	29	397, 45238	13, 7053	32, 2176
Error	180	76, 57143	0, 4254	Prob > F
C. Total	209	474, 02381		<.0001

Ek 5. Denemeye alınan fungusitlerin *B.dothidea* izolatına (Boz 2M)*in-vivo* koşullarda etkisine ait varyans sonucu (Çizelge 4.7)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Fungisit	15	10468, 287	697, 886	2, 9742	0, 0054*
Tekerrur	2	568, 056	284, 028	1, 2105	0, 3122
Error	30	7039, 352	234, 645		
C. Total	47	18075, 694			

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“ZEYTİNDE MEYVE ÇÜRÜKLÜĞÜ’NE NEDEN OLAN *Botryosphaeria dothidea* ‘E KARŞI FUNGİSİTLERİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Ayla AVCUOĞLU

03.11.2022

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayla AVCUOĞLU

Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM DURUMU

<u>Derece</u>	<u>Kurum</u>	<u>Mezuniyet Tarihi</u>
Lisans	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi	03.06.2019

İŞ DENEYİMİ

<u>Yıl</u>	<u>Yer</u>	<u>Unvan</u>
2021	2026 Sayılı Sarıkemer Tarım Kredi Kooperatifi	Ziraat Mühendisi