T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MARULDA *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*'YE KARŞI BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ BELİRLENMESİ

Remzi SAĞLIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. Nedim ALTIN

DÜZCE, 2022

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MARULDA *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*'YE KARŞI BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ BELİRLENMESİ

Remzi SAĞLIK tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Nedim ALTIN

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Nedim ALTIN
Düzce Üniversitesi _____

Prof. Dr. Salih KARABÖRKLÜ
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi _____

Doç. Dr. Barış GÜLCÜ
Düzce Üniversitesi _____

Tez Savunma Tarihi: 07/12/2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

14 Ekim 2022

(İmza)

Remzi SAĞLIK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Doç. Dr. Nedim ALTIN'a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi BAP-2020.11.02.1075 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

14 Ekim 2022 **Remzi SAĞLIK**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ vii
ÇİZELGE LİSTESİ viii
KISALTMALAR ix
SİMGELER x
ÖZET xi
ABSTRACT xii
1. GİRİŞ 1
1.1. *FUSARİUM OXYSPORUM* F. SP. *LACTUCAE* ETMENİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ 4
1.1.1. Tanımı ve yayılışı 4
1.1.2. Hastalık belirtileri 7
1.1.3. Mücadelesi 7
1.2. *METARHİZİUM ANİSOPLİAE* FUNGUSUNUN GENEL ÖZELLİKLERİ 10
2. MATERYAL VE YÖNTEM 14
2.1. *FUSARİUM OXYSPORUM* F. SP. *LACTUCAE* İZOLASYONU VE TANILAMASI 14
2.2. PATOJENİSİTE TESTİ 15
2.3. *METARHİZİUM ANİSOPLİAE* İZOLATLARI VE MOLEKÜLER TANILANMASI 16
2.4. *METARHİZİUM ANİSOPLİAE* İZOLATLARININ KÜLTÜR FİLTRATLARININ ELDE EDİLMESİ 17
2.5. ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİN BELİRLENMESİ 17
2.5.1. *In vitro* çalışmaları 17
2.5.1.1. *İkili karşılaştırma yöntemi* 17
2.5.1.2. *Kültür filtratı denemeleri* 18
2.5.2. *In vivo* çalışmaları 19
2.5.2.1. *Metarhizium anisopliae izolatlarının spor süspansiyonu denemesi* 19
2.5.2.2. *Metarhizium anisopliae izolatlarının kültür filtratları denemesi* 20
2.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 20
3. BULGULAR VE TARTIŞMA 21
3.1. BULGULAR 21
3.1.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin izolasyonu, tanılanması ve patojenisitesi 21
3.1.2. *Metarhizium anisopliae* izolatlarının moleküler tanılaması 23
3.1.3. İkili karşılaştırma denemesi 24
3.1.4. Kültür filtratı denemesi 27
3.1.5. Fide denemesi 29
3.2. TARTIŞMA 31
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 36
5. KAYNAKLAR 38

ÖZGEÇMİŞ.....44

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatlarının toplanması 14
Şekil 2.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatının yarıçapının ölçümü..... 18
Şekil 3.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin belirtileri 21
Şekil 3.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatlarının patojenisite testi sonrası hastalık şiddeti değerleri..... 22
Şekil 3.3. *M. anisopliae* izolatlarının flogenetik ağacı 23
Şekil 3.4. İkili karşılaştırma yönteminde *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin misel gelişmesi 24
Şekil 3.5. İkili karşılaştırma yönteminde *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin engelleme bölgesindeki miselleri 25
Şekil 3.6. *Metarhizium anisopliae* izolatlarının oluşturmuş olduğu ortalama engelleme bölgesi genişliği. *Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$)..... 27
Şekil 3.7. *Metarhizium anisopliae* kültür filtratlarının etkisi..... 28
Şekil 3.8. Spor süspansiyonu saksı denemesi 30

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Marul yetiştiriciliğnin en fazla yapıldığı ülekeler ve üretim alanları (FAOSTAT, 2022). 2
Çizelge 1.2. Türkiye'de marul üretim alanı yönüyle ilk 10 sırada yer alan iller (TUİK, 2022)..... 3
Çizelge 2.1. *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatların hastalık şiddetlerinin belirlenmesinde kullanılan skala 16
Çizelge 3.1. *Metarhizium anisopliae* izolatları uygulanmış besi ortamında *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin ortalama misel gelişimi. 25
Çizelge 3.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin misel gelişimi üzerine *Metarhizium anisopliae* izolatlarının etkileri 26
Çizelge 3.3. *Metarhizium anisopliae* kültür filtratının farklı dozlarında *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin ortalama misel gelişimi 28
Çizelge 3.4. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeninin misel gelişimi üzerine *Metarhizium anisopliae* izolatlarına ait kültür filtratlarının etkileri (%)..... 29
Çizelge 3.5. İn vivo koşullarda *Metarhizium anisopliae* izolatlarının *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeni üzerine etkileri 30
Çizelge 3.6. İn vivo koşullarda *Metarhizium anisopliae* izolatlarına ait kültür flitratlarının *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeni üzerine etkileri 31

KISALTMALAR

DMDS	Dimethyl disulfide
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ITS	Internal transcribed spacer
MEGA	Molecular evolutionary genetics analysis
MS	Metam sodyum
NCBI	National Center for Biotechnology Information
nPCR	Nested polimeraz zincir reaksiyonu
PDA	Patates dekstroz agar
PDB	Patates dekstroz broth
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
TEF-1α	Translation elongation factor 1-alpha

SİMGELER

bp	Baz çifti
g	Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
ppm	Milyonda bir (Parts per million)
µm	Mikrometre

ÖZET

MARULDA *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*'YE KARŞI BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ BELİRLENMESİ

Remzi SAĞLIK
Düzce Üniversitesi
Yüksek Lisans, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Nedim ALTIN
Eylül 2022, 44 sayfa

Marul, yaprağı yenen önemli sebzelerden biridir. Marul üretiminde verim kayıplarına neden olan önemli hastalıklardan biri de etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* olan marul solgunluğudur. Bu çalışma *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmenine karşı biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması amacıyla yürütülmüştür. Bu kapsamda özellikle böceklerle biyolojik mücadelede başarı ile kullanılmakta olan aynı zamanda bitki gelişimine ve direncine katkı sağlayan entomopatojen fungus *M. anisopliae*'nin bu etmene karşı kullanım olanakları araştırılmıştır. İn vitro denemelerde ikili karşılaştırma yöntemi ve *M. anisopliae*'nin kültür filtratı kullanılmıştır. Saksı denemelerinde ise *M. anisopliae*'nin spor süspansiyonu ve kültür filtratı ayrı ayrı denenmiştir. Denemeler sonucunda ikili karşılaştırma yönteminde *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*'nin misel gelişimini en iyi engelleyen izolat %60.44 ile *M. anisopliae* YK33 olmuştur. Kültür filtratı denemesinde ise YK34 nolu izolat %72.13 oranında etki göstermiştir. Spor süspansiyonu uygulanan saksı denemelerinde YK33 ve YK43 nolu izolatlar %65 oranında etki göstermiştir. Kültür filtratının uygulandığı saksı denemelerinde ise YK43 nolu izolat %67.62'lik etki elde etmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmenine karşı *M. anisopliae*'nin entegre mücadele kapsamında diğer mücadele yöntemleri ile birleştirilerek kullanılabilme potansiyelinin olduğu düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Biyolojik mücadele, Entomopatojen, Kültür filtratı, Marul solgunluğu

ABSTRACT

DETERMINATION OF BIOLOGICAL CONTROL OPPORTUNITIES AGAINST *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* IN LETTUCE

Student Remzi SAĞLIK
Düzce University
MSc, Department of Plant Protection
Supervisor: Assoc. Doç. Dr. Nedim ALTIN
September 2022, 44 pages

Lettuce is one of the important vegetables. One of the important diseases that cause yield losses in lettuce production is lettuce wilt, which is caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*. This study was carried out to investigate the possibilities of biological control against *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*. In this context, entomopathogenic fungus *M. anisopliae*, which is used successfully in general applications, especially in biological control of insects, and also contributes to plant growth and resistance, was investigated against this pathogen. The dual culture method and culture filtrate of *M. anisopliae* were used in *in vitro* experiments. In the pot trials, spore suspension and culture filtrate of *M. anisopliae* were tested separately. As a result of the trials, *M. anisopliae* YK33 with 60.44% was the most effective isolate inhibiting of mycelial growth of *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* in the daul culture method. In the culture filtrate experiment, the isolate YK34 showed an effect of 72.13%. On the other hand, in the pot trials, spor suspensions of YK33 and YK43 isolates showed an effect of 65% . In the culture filtrate experiments, the isolate YK43 had an effect of 67.62%. When these results are evaluated, it is thought that *M. anisopliae* has the potential to be used in integrated pest management against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* by combining it with other control methods.

Keywords: Biological control, Culture filtrate, Entomopathogen, Lettuce wilt

1. GİRİŞ

Asteracea familyasına dahil olan marul (*Lactuca sativa* L.), tek yıllık sebzeler grubunda yer almaktadır. Sonbahar, kış ve ilkbahar mevsimlerinde açık ve örtü altı koşullarında yetiştirilebilen salata ve taze yeşillik olarak tüketilen bir sebzedir (Anonim, 2021). Tüm Dünya'da yetiştiriciliği yapılan marulun anavatanı Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkistan olarak kabul edilmektedir. Marulun Akdeniz havzasında veya çevresinde ortaya çıkan yabani marul (*Lactuca serriola* L.) 'un soyundan geldiği düşünülmektedir. Ancak bazı literatürlerde yer aldığı gibi bir kısım araştırıcılar marul bitkisinin yabani formlarına Kanarya Adaları, Cezayir gibi Afrika ülkelerinde, Mezopotamya, Kaşmir, Nepal ve hatta Sibirya'da rastlandığını bildirmektedirler (Şalk, Arın, Deveci ve Polat, 2008). Marul yetiştiriciliği, yaklaşık 4500 yıl öncesine Mısır İmparatorluğu'nun Orta Krallığına kadar uzanır (Lindqvist, 1960).

Taze olarak en çok tüketilen sebzeler arasında yer alan marul pazarlarda ve marketlerde tüm yıl boyunca bulunmaktadır. Tek yıllık bir bitki olan marul 2-3 ay gibi bir sürede yetişebilmektedir. Soğuğa dayanıklı olan marul genelde nemi seven, serin ve ılık iklim bitkisidir. Genel olarak optimum gelişme sıcaklığı 15-18^{o}C'dir. Marul; derine giden etli kazık köklere ve bunun etrafına dağılmış saçak köklere sahiptir, kazık kök 1.5-2 metreye kadar inebilir. Marulun yaprakları renk, şekil, irilik, uzunluk, genişlik, düz veya kıvırcık olması bakımından çeşitlere göre farklılıklar gösterir (Aybak, 2002).

Marul içerdiği vitamin ve mineral maddeler ile iştah açıcı sebzeler grubunda yer almaktadır. Bir diyet sebzesi olan marul yaprakları %94-95 oranında su içermektedir. Besleyici değerinin diğer sebzelere göre düşük olduğunun belirtilmesi yanında 100 g taze marul yaprağının 6-8 mg askorbik asit, 1-1.5 g ham protein, 0.2-0.4 g yağ ve 1.5-2.5 g karbonhidrat, 330 iu. Vitamin A, 20-25 mg kalsiyum, 40 mg fosfor ve 1.5 mg demir içerdiği bildirilmektedir (Anonim, 2021). Yaprağı yenen marul bitkisi düşük kaloriye sahip iştah açıcı bir sebzedir. A ve C vitamini yönünden zengin olan marulda protein ve yağ oranları düşüktür. Aynı zamanda nişasta da içermezler. Farklı renklerde yapraklara sahip olması yaprakların farklı oranlarda antosiyanin içermesinden kaynaklanmaktadır. Bu yapraklar karotenoidlerce zengindir (Eşiyok, 2012).

Marul bitkisinin yetiştiriciliği Dünyanın birçok ülkesinde yapılabilmektedir. Dünyada yetiştiriciliğinin en çok yapıldığı ülkeler Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Marul yetiştiriciliğnin en fazla yapıldığı ülekeler ve üretim alanları (FAOSTAT, 2022).

Ülkeler	Marul üretim alanı(ha)				
	2016	2017	2018	2019	2020
Çin	596.612	605.403	609.917	603.979	606.434
Hindistan	174.690	176.253	177.524	176.156	176.644
USA	128.161	131.640	115.580	105.700	107.690
İspanya	35.646	34.508	33.870	35.360	34.300
İtalya	34.343	34.069	34.460	33.690	32.100
Türkiye	22.639	22.944	22.780	23.182	23.954
Meksika	20.066	21.030	20.527	20.778	22.270
Japonya	21.600	21.800	21.700	21.200	21.221
Fransa	18.847	18.588	18.820	18.350	18.060
İran	12.580	14.477	14.725	13.927	14.377

Çizelge 1.1'de görüldüğü üzere marul yetiştiriciliğinde 606.434 ha üretim alanı ile Çin ilk sırada yer almaktadır. Çin'i Hindistan ve Amerika Birleşik Devletleri takip etmektedir. Türkiye ise 23.954 ha üretim alanı ile Dünya genelinde altıncı sırada yer almaktadır.

Ülkemizin hemen her yerinde marul üretimi yapılabilmektedir. Ülkemizde marul üretiminin en fazla yapıldığı iller Çizelge 1.2'de verilmiştir. Ülkemizin her bölgesinde marul üretimi yapılabilmektedir. Ancak ticari amaçlı üretimler incelendiğinde (Çizelge 1.2) marul üretiminde ilk sırda Ankara ilinin yer aldığı görülmektedir. Bu ili sırasıyla Adana, Mersin ve Sakarya illeri izlemektedir.

Marul üretiminde üreticilerin karşısına çıkan önemli unsurlardan birisi de biyotik ve abiyotik faktörlerin oluşturduğu bitki koruma sorunlarıdır. Marul üreticilerinin üretim sezonu boyunca karşılaştıkları bitki koruma sorunlarından birisi de hastalıklardır. Marulda meydana gelen çeşitli hastalıklar, kış ve ilkbaharın ilk aylarında önemli verim kayıplarına neden olabilmektedir. Bu hastalıkların gelişmesinde serin ve nemli iklim koşulları önemli bir faktördür (Koike, Gladders ve Paulus, 2007).

Çizelge 1.2. Türkiye'de marul üretim alanı yönüyle ilk 10 sırada yer alan iller (TUİK, 2022)

İller	Marul üretim alanı(da)				
	2017	**2018**	**2019**	**2020**	**2021**
Ankara	26.531	26.375	27.072	27.134	26.421
Adana	23.101	23.498	22.651	27.460	24.337
Mersin	16.652	16.831	18.062	19.604	19.147
Sakarya	12.469	12.578	13.438	14.842	16.575
Antalya	13.605	14.181	14.672	13.715	14.117
İzmir	11.150	11.107	11.096	11.480	10.101
Samsun	15.760	10.751	10.148	7.100	6.783
Bursa	5.451	5.059	5.371	5.521	5.608
Muğla	6.467	6.669	6.756	5.701	4.081
Hatay	8.468	7.150	4.298	3.069	2.866
Türkiye geneli	**220.558**	**214.619**	**215.861**	**218.208**	**211.352**

Marulda görülen toprak kökenli etmenlerden *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*, *Phoma exigua*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor, Verticillium dahliae* ve *Pythium* spp. marullarda solgunluk, kök ve kök boğazı çürüklüğü gibi hastalıklara sebep olurken, *Microdochium panattonianum*, *Botrytis cinerea*, *Golovinomyces cichoracearum* ve *Bremia lactucae* gibi fungal etmenler, gerek fide döneminde gerekse bitkinin ileri vejetasyon döneminde yapraklarda hastalıklara sebep olup önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Raid, 2004; Koike vd., 2007; Soylu vd., 2017; Anonim, 2021).

Son yıllarda Dünya'da olduğu gibi ülkemizde de marul üretiminde toprak kökenli hastalık etmenlerinden biri olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* J.C. Hubb & Gerik önemli verim kayıplarına neden olmaya başlamıştır.

İlk kez Japonya'da 1960 yılında marulda kök çürüklüğüne neden olan etmenin *Fusarium* sp. olduğu rapor edilmiştir (Motohashi, Abe ve Ogawa, 1960). Yapılan çalışmalar sonucunda 1967 yılında etmen *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* olarak tanımlanmıştır (Matuo ve Motohashi, 1967). Bu ilk tespitin ardından Amerika Birleşik Devletleri'nde 1993 yılında (Hubbard ve Gerik, 1993), İran'da 1995 yılında, Tayvan'da 1998 yılında, Brezilya'da 2000 yılında, İtalya'da 2001 yılında, Kore'de 2006 yılında, Arjantin'de 2014 yılında etmenin varlığı belirlenmiştir (Gordon ve Koike, 2015). *F. oxysporum* f.sp.

lactucae etmeni İtalya'da 2001 yılında tespit edildikten sonra Avrupa kıtasında yaygınlığı artmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda marul alanlarında etmenin varlığı Portekiz'de 2004 yılında, Belçika'da 2015 yılında (Claerbout vd., 2018), Fransa'da 2016 yılında (Gilardi vd., 2017a), İrlanda'da 2016 yılında, İngiltere'de 2017 yılında (Taylor, Jackson ve Clarkson, 2019) tespit edilmiştir.

1.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* ETMENİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ

1.1.1. Tanımı ve yayılışı

Marulda fusarium solgunluğuna neden olan etmen *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'dır. Toprak kökenli bir etmen olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* Fungi alemi içerisinde bulunan Ascomycota bölümünde yer almaktadır.

Etmen morfolojisi ve koloni özellikleri ile diğer *F. oxysporum* funguslarına benzemektedir. PDA besi yerinde başlarda beyaz olan miseller koloni yaşlandıkça morumsu veya pembemsi renge dönmektedir. Miseller yoğun, pamuksu ve kalındır. Etmene ait makrokonidiosporlar genelde 3 bölmelidir. Kanca benzeri apikal hücre ve sivri ayak şekinde bazal hücreye sahip olup düz veya hafif kavislidir. Oval veya böbrek şeklinde olan mikrokonidiosporlar kısa monofialitler üzerinde bulunmaktadır. Çeşitli aratışmalarda *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine ait makrokonidiospor, mikrokonidiospor ve klamidiospor büyüklükleri ölçümüştür. Yapılan ölçümler sonucunda makrokonidiosporlarının 20.3-38.1 µm X 2.9-5.5 µm mikrokonidiosporlarının 4.3-17 µm X 3.7-5.6 µm, klamidiosporlarının ise 5.5-10.80 µm aralığında olduğu belirlenmiştir (Gilardi vd., 2017a; Claerbout vd., 2018; Taylor, Jackson ve Clarkson, 2019).

İtalya, Japonya ve Amerika'daki *F. oxyporum* f.sp. *lactucae* izolatlarının somatik olarak uyumlu olduğu bildirilmiş olup bu da patojenin küresel alanda dağılımının, bu patojenin diğerlerinden belli konukçularındaki virülensliklerine göre ayrılan alt tür özelliğinde (patotip) olmasından ziyade benzer klonal soya ait izolartların yayıldığını göstermektedir. Bu da patojenle bulaşık tohumların kıtalar arası taşınabilmesi için fırsat oluşturmaktadır (Gordon ve Koike, 2015).

Fusarium oxyporum f.sp. *lactucae* bulaşık alanlardan temiz alanlara bulaşık toprak ve bulaşık tohum olmak üzere iki türlü taşınabilmektedir (Gordon ve Koike, 2015). Etmenin toprakta canlı kalma süresini belirlemek amacıyla Amerika Birleşik Devletleri'nde bir

çalışma yapılmıştır. Nadas durumunda tutulan doğal bulaşık tarladan 34 ay boyunca toprak örnekleri alınmıştır. Yapılan analizler sonucunda etmenin topraktaki spor yoğunluğunun 6 ay sonra %71 oranında, 8 ay sonra % 86 oranında azaldığı belirlenmiştir. Spor yoğunluğundaki düşüş hızı giderek azalmış ve 34 ay sonra başlangıç inokulumunun %0.5 oranında olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda etmenin topraktaki popülasyonunun yarılanma ömrünün 5.9±0.7 ay olduğu belirlenmiştir (Scott vd., 2012). Ancak marul ile münavebeye sokulan ürünler etmenin topraktaki canlılık süresini artırabilmektedir (Scott, McRoberts ve Gordon, 2014). Bunun yanısıra etmen marul bitkisinde hastalık oluşturabilecek inokulum seviyelerine ulaşmadan önce toprakta uzun süre canlı kalabilmektedir. Tarladaki marul bitkilerinin hastalanmaması o tarlanın patojenden temiz olduğunu göstermemektedir. Bu nedenle etmenin kısa mesafelerde toprakla taşınmasını önlemek amacıyla marul bitkilerinde hiçbir hastalık belirtisi olmasa bile tarlalar arasındaki geçişlerde tarım ekipmanlarının temizlenmesi gerekmektedir (Gordon ve Koike, 2015).

Etmenin kıtalar ve ülkeler arasındaki yayılışı daha çok bulaşık tohumlarla gerçekleşmektedir. Daha önce hiç hastalık görülmemiş bölgelerde hastalığın birden ortaya çıkması hastalık etmeninin tohumla taşanabileceğini düşündürmüştür. İtalya'da yapılan çalışmada hastalığın %20 ile %60 arasında görüldüğü ticari tohumluk üretimi yapılan farklı tarlalardan 27 farklı ticari marul tohumu toplanmıştır. Tohumlar Komada seçici besiyerine ekilmiş ve fungus delişimleri gözlenmiştir. Denemeler sonucunda 27 adet örneğin dokuzunda etmen tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma etmenin tohumla taşınabildiğini ortaya konmuştur (Garibaldi, Gilardi ve Gullino, 2004). Marul tohumlarında *F.* oxyporum f.sp. *lactucae* etmenini moleküler yöntemle tespiti yapabilmek amacıyla yürütülen bir çalışmada nested polimeraz zincir reaksiyonu (nPCR) tekniği kullanılmıştır. Çalışmada GYCF1, GYCR4C ve R943 olmak üzere üç farklı primer kullanılmıştır. Çalışma sonucunda yöntemin tohumlarda %0.1 oranına kadar olan bulaşıklıkları tespit edebildiği ortaya konulmuştur (Mbofung ve Pryor, 2010).

Etmenin tohumla taşınabilmesi Dünya genelinde yayılmasına neden olmuştur. Günümüzde etmenin Asya kıtasında (İran, Japonya, Güney Kore, Tayvan), Avrupa kıtasında (Belçika, Fransa, İrlanda, İtalya, Hollanda, Norveç, Portekiz, İspanya, İngiltere) Afrika Kıtasında (Mısır) ve Amerika kıtasında (Amerika Birleşik Devletleri, Arjantin ve Birezilya) tespiti yapılmıştır (El-Sayed, Reyad, Abdel-Wahab ve Hanafy, 2018; CABI, 2022).

Fusarium oxysporum f.sp. *lactucae* etmeninin dört adet ırkı bulunmaktadır. Etmenin 1 nolu ırkı 1967 yılında Japonya'da belirlenmiştir. Etmenin ırklarının belirlenmesinde Patriot, Costa Rica No.4, Romabella ve Banchu Red Fire marul çeşitleri kullanılmaktadır. Buna göre; Irk 1, Patriot ve Banchu Red Fire marul çeşitlerinde hassas Costa Rica No.4, Romabella çeşitlerinde yüksek dayanıklı reaksiyon vermektedir. Bu ırk Japonya, Amerika Birleşik Devletleri, İran, Tayvan, Brazilya, Portekiz, Arjantin ve İtalya'da en yaygın olan ırktır. Irk 2, Patriot ve Costa Rica Marul çeşitlerinde hassas Banchu Red Fire marul çeşidinde yüksek dayanıklı reaksiyon vermektedir ve sadece Japonya'da belirlenmiştir. Irk 3; Patriot, Costa Rica ve Banchu Red Fire marul çeşitlerinde hassas reaksiyon vermekte olup Japonya ve Tayvan'da bulunmaktadır (Fujinaga vd., 2005; Franco Ortega vd., 2018). Irk 4 ise Patriot, Costa Rica ve Banchu Red Fire marul çeşitlerinde patojenite testleri ve moleküler analizlerle Hollanda'da tespit edilmiştir (Pintore, Garibaldi, Gullino ve Garibaldi, 2017).

Topraktaki esas inokulum kaynağı hastalıklı bitki artıklarıdır. Etmenin oluşturduğu kladimidiosporlar inaktif formda yıllarca canlı kalabilir ve koşullar uygun hale geldiğinde konukçunun genç köklerinden aldıkları besin uyarısıyla çimlenirler. Bu şekilde tekrar aktif hale geçen klamidosporlar önce misel, sonra konidiospor oluştururlar. Dinlenme halinde kalma ve tekrar aktivite kazanma açısından, patojenik formlarla, diğer Fusarium'lar arasında fark yoktur. Diğer Fusarium solgunluk patojenleri gibi, *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*, güçlü klamidosporların üretimi nedeniyle toprakta uzun süre yaşayabilmektedir (Koike, Gladders ve Paulus, 2007). *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*, öncelikle marul bitkilerinin kılcal köklerini enfekte eder daha sonra besinleri köklerden bitki yapraklarına taşıyan ksilem dokusuna ulaşır. Patojen bitkinin kazık köküne ve kökboğazına doğru ilerledikçe ksilem dokusu etmen tarafından tıkanır. Bu durum bitkinin su alımının azalmasına, bodurlaşmasına, solmasına ve ölümüne neden olur.

Hastalığın son döneminde, gövde üzerinde artık dışarıdan bakınca da fark edilen nekrozlar oluşur. Hastalığın tipik belirtilerinin, yani solgunluğun nedeni iletim demetlerinin tıkanması ve fungusun oluşturduğu enzim ve toksinlerdir. Fusarium solgunluğu etmenleri, konukçu olmayan bitkilerin köklerine de girer ve kolonize olabilir, ancak onlarda belli belirsiz simptom oluştururlar. Bu tip bitkiler, hastalığın gizli taşıyıcısıdır ve patojen inokulumunun sürekli artmasına neden olurlar (Yıldız, 2012).

1.1.2. Hastalık belirtileri

Marul bitkisinde *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeniniden kaynaklanan hastalık belirtilerini çeşitlerin hastalığa karşı duyarlılığı, etmenin topraktaki inokulum yoğunluğu ve sıcaklık etkilemektedir. Toprak kökenli etmen olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* genelde bitkinin kılcal köklerinden ve yaralardan giriş yapar. Ksilem dokusuna yerleşerek bitkinin su ve besin maddesi alımını sekteye uğratır. Buna bağlı olarak bitkilerde genel olarak sararma, solgunluk ve bodurluk görülebilmektedir. Bazı durumlarda bu belirti tipi şiddetli olabilmektedir. İletim demetlerini tıkanması sonucunda bitkinin baş kısmında asimetrik gelişim söz konusudur. Marul bitkisinin yaşlı yapraklarında klorotik veya nekrotik belirtiler görülür. Bu tip yapraklar marul hasat olgunluğuna ulaşmadan önce ölebilir. Altı-sekiz yapraklı genç bitkilerde de benzer yaprak belirtileri görülebilmektedir (Gordon ve Koike, 2015).

Köklerde dışarıdan gözle görülen belirtiler oluşmayabilir. Ancak kök boyuna kesildiğinde iç kısımda kırmızımsı kahverengi renk değişikliği görülmektedir. Kökün merkezinde çürüklük meydana gelebilir. Bazı durumlarda köklerde görülen bu tür belirtiler yeşil aksamda herhangi bir belirti görülmeden gerçekleşebilir (Gordon ve Koike, 2015; Matheron, 2015).

1.1.3. Mücadelesi

Bitiklerde solgunluk meydana getiren *F. oxysporum* etmenlerinin mücadelesi oldukça zordur. Bu hastalık etmenleriyle mücadelede, dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi, bulaşık olan bitkilerin üretim ortamından uzaklaştırılması, hastalık etmeniyle temas etmemiş sağlıklı ve sertifikalı üretim materyalinin kullanılması, münavebe uygulanması, sulama ve toprak işlemeye dikkat edilmesi, aşırı azotlu gübrelerden kaçınılması, toprak fumigasyonu, solarizasyon ve biyolojik mücadele yöntemlerinin birlikte uygulanması gerekmektedir (Boyraz ve Baştaş, 2005). Marulda solgunluk hastalığına neden olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeni ile mücadelede de benzer yöntemler önerilmektedir. Bu mücadele yöntemleri; ürün rotasyonu (münavebe), ürün yönetimi (ekim tarihleri gibi), toprak dezenfeksiyonu (solarizasyon, chloropicrin gibi), tolerant çeşitlerin seçilmesi ve biyolojik kontrol ajanlarının kullanımı olarak sıralanabilir (Gordon ve Koike, 2015).

Matheron, McCreight, Tickes ve Porchas (2005), tarafından Ekim tarihinin *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin neden olduğu hastalık yoğunluğu üzerindeki etkisini belirlemek üzere bir çalışma yürütülmüştür. Marul tohumları Eylül, Ekim ve Aralık ayında ekilmiştir.

Bitkiler hasat olgunluğuna geldiğinde ekim tarihlerine göre hastalık yoğunluğu 2002 yılında %92.3, %15.1 ve %2 olarak, 2003 yılıda da %74.2, %5.1 ve %0.7 olarak belirlenmiştir.

Gilardi, Tinivella, Gullino ve Garibaldi (2005), tarafından *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin neden olduğu Fusarium marul solgunluğuna karşı etkili bir tohum uygulaması geliştirmek için altı deneme yapılmıştır. İki marul çeşidine ait tohumların %30'u patojenle bulaştırılmış ve bazı fungisit ve biyolojik ürünle işleme tabi tutulmuştur. Yapılan çalışma sonucunda tohum kaplaması yönteminde en iyi sonuçlar carbendazim, ve prochloraz aktif maddelerinde elde edilmiştir. Bunu mancozeb ve dichlofluanid aktif maddeleri izlemiştir. Denemede kullanılan *F. oxysporum* MSA 35 biyolojik mücadele ajanı fungisitler ile karşılaştırıldığında kabuledilebilir etki sağlamıştır.

Gilardi, Garibaldi ve Gullino (2007), *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin neden olduğu hastalığa karşı farklı biyolojik mücadele ajanlarını test etmek amacıyla beş farklı deneme yürütmüşlerdir. Hastalığın kontrolü ve bitkilerin büyümesi üzerine olan etkiler değerlendirildiğinde en iyi etkiyi *Trichoderma harzianum* T 22 (RootShield)'nin gösterdiği belirlenmiştir. Biyolojik mücadele ajanlarından biri olan *F. oxysporum* IF 23'un hastalık kontrolünde başarılı olduğu ancak beş denemeden ikisinde bitki gelişimini azalttığı kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenini kontrolünde biyolojik mücadelenin de rol alabileceği ortaya konmuştur.

Scott, Kirkpatrick ve Gordon (2010), bazı marul çeşitlerinin *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine karşı reaksiyonlarını belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada kök daldırma, bulaşık toprağa tohum ekimi ve bulaşık tarlaya fide dikimi olmak üzere üç farklı yöntem denemişlerdir. Hastalık şiddeti 1-4 skalasına göre değerlendirilmiş ve dört çeşidin hem kök daldırma hem de bulaşık saksıya tohum ekimini yönteminde indeks değerlerinin 1.3'den aşağıda olduğu belirlenmiştir. Etmene karşı dayanıklı reaksiyon gösteren bu çeşitlerin tarla denemesinden elde edilen sonuçlarıda benzerlik göstermiştir. Diğer çeşitlerin özellikle kök daldırma yönteminde oldukça hassas reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir.

Matheron ve Porchas (2010), Arizona'da yürüttükleri çalışmada solarizasyonun Fusarium solgunluğu üzerine olan etkisini araştırılmıştır. Doğal bulaşık alanda 2 ile 8 hafta arasında yapılan solarizasyon sonucunda marul bitkilerinin büyümelerinin solarizasyon yapılmamış alanlardakine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yapılan dört deneme

sonucunda kontrol ile karşılaştırıldığında hastalık yoğunluğunun solarizasyon yapılan yerde %91 oranında azaldığı belirlenmiştir.

Lopez-Reyes, Gilardi, Garibaldi ve Gullino (2014), *F. oxysporum* f.sp *lactucae*'ye karşı bazı antagonist izolatların, ticari biyolojik preparatların ve bazı fungisitlerin etkilerini serada kontorllü koşullarda araştırmışladır. Denemede tohum kaplama yöntemi kullanılmıştır. Yapay olarak etmen ile bulaştırılmış tohumlara antagonist izolatlar, biyolojik preparatlar ve fungisitler tohum kaplaması şeklinde uygulanmıştır. Değerlendirme sonucunda en düşük hastalık indeksi %1.1 ile prochloraz aktif maddesi uygulamasında görülmüştür. Farklı *Pseudomonas* izolatlarının uygulandığı saksılarda ise hastalık indeksi %4.2 ile %8.3 arasında değişiklik göstermiştir. Ticari biyolojik perparatlarında benzer etki gösterdiği belirlenmiştir. Etmeni kontrol etmek için biyokontrol ajanları ile test edilen tohum uygulamalarının etkinliği tamamen tatmin edici olmasa da diğer tohum sanitasyonu stratejileri ile kombinasyon için uygun bulunmuştur.

Ahmed, Yadav ve Lee (2016), Nikel nanoparçacıklarının Fusarium solgunluğuna karşı alternatif bir mücadele yöntemi olarak antifungal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Bu amaçla, *in vitro* ve sera koşullarında marul ve domates üzerinde *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ve *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin mücadelesinde uygulamalar yapılmışlardır. Araştırmacılar *in vitro* koşullarda 100 ppm konsantrasyonundaki nikel nanopartiküllerinin, patojenlerin misel proliferasyonunu ve sporülasyon aktivitelerini önemli ölçüde inhibe ettiğini belirlemişlerdir. *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ve *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin misel büyümesinin engellenmesi sırasıyla %60.23 ve %59 olurken, sera koşullarında 50 ppm konsantrasyonundaki nikel nanopartikülleri hastalık şiddetinde marul ve domateste sırasıyla %58.4 ve %57 oranında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, nikel nanoparçacıklarının Fusarium solgunluğunu kontrol etmek için kullanılabileceği kaydedilmiştir.

Gilardi, Gullino ve Garibaldi (2017c), marul fusarium solgunluğuna karşı dimethyl disulfidin (DMDS) tek başına ve metham sodium ile kombinasyonlarının etkilerini araştırmıştır. DMDS 60g/m^2 dozda hastalığı hassas çeşitlerde %70, %97 ve %99 oranında orta hassas çeşitlerde ise %87, %97 ve %100 oranında azaltmıştır. DMDS'nin 40g/m^2 ve metham sodiumun 35.9g/m^2 dozu birlikte uygulandığında da benzer sonuçların elde edildiği belirtilmiştir.

El-Sayed, Reyad, Abdel-Wahab ve Hanafy (2018), Mısır'da marul arazilerinde *F.*

oxysporum f.sp. *lactucae* etmenini farklı arazilerde tespit etmişler ve marulda ciddi verim kayıplarna neden olduğu bildirilmişlerdir. Üç biyolojik mücadele ürünü; T34 (*Trichoderma asperellum* streyni ($1x10^9$spor/g), ESRU (*Bacillus polymyxa*'nın üç streyini, *B. macerans*'nın iki streyni ve *B. circulans*'nın bir streyni ve *Enterobacter agglomerans*'nın bir streyni) ve alg ekstraktı (*Anabaena flos aquae* ve *Nostoc muscorum*'u içeren sıvı fazda ticari olmayan mavi-yeşil alg özütü) sera koşullarında hastalığa karşı uygulanmıştır. Arazi çalışmaları, 2015-2016 yıllarında doğal bulaşıklık olan tarlada sürdürülmüş olup, en etkili biyolojik mücadele ürününün T34 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, solarizasyon, metam sodyum (MS) ve tebuconazole 6% FS fungusit uygulaması da yapılmıştır. Sonuçlara göre, 2015 ve 2016 yıllarında hastalıkla mücadelede en iyi sonuç %6.66 ve %2.22 hastalık şiddeti ile solarizasyon uygulamasında elde edilmiştir. Solarizasyon uygulamasını sırasıyla Metam sodyum, tebuconazole ve T34'ün izlediği belirlenmiştir.

Yadav, Adhikari, Kim, Kim ve Lee (2021), tarafından bazı antagonistik rizobakteriler kullanılarak verimi artırmak için bir çalışma yürütülmüştür. Kore'nin çeşitli üretim alanlarında bulunan bitkilerin rizosfer bölgesinden 118 bakteri izolatı elde edilmiş ve bu bakterilerin hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmenine karşı antifungal etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 14 bakteri izolatının *F. oxysporium* f.sp. *lactucae*'nın misel gelişimini önemli oranda engellediğibelirlenmiştir. Yapılan tür teşhisleri sonucunda bu bakterilerin *Arthrobacter sulfonivorans*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas proteolytica* ve *Bacillus subtilis* olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, izolatlar arasından EN4 (*P. proteolytica*) ve EN21 (*Bacillus siamensis*) izolatlarının, sürdürülebilir ürün üretimi için ticarileştirilebileceği ve biyogübre veya biyopestisit olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir.

1.2. *Metarhizium anisopliae* FUNGUSUNUN GENEL ÖZELLİKLERİ

Tarımsal üretimde hastalık ve zararlılara karşı yapılan kimyassal mücadeleye alternatif mücadele yöntemlerinin en ömemlilerinden biri biyolojik mücadeledir. Biyolojik mücadele kapsamında kültür bitkilerinde hastalık meydana getiren etmenlere karşı mikrobiyal kökenli antagonistler kullanılmaktadır. Son yıllarda hastalıklara karşı kullanım olanakları araştırılan diğer bir grupta entomopatojen funguslardır. Günümüzde daha çok böceklere karşı kullanılan entomopatojen fungusların tür sayısının 750'den fazla

olduğu bilinmektedir (Reddy, Praveen Kumar ve Reddy, 2013). Entomopatojen funguslar arasında özellikle *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* (*Verticillium lecanii*), *Isaria fumosorosea* (*Paecilomyces fumosoroseus*) ve *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*) türleri ön plana çıkmaktadır. Üzerinde çok fazla sayıda çalışmalar yapılan bu türler birçok ülkede ticari preparat haline getirilmiş olup üreticiler tarafından zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Rath, 2000; Meyling vd., 2018).

Son yılarda entomopatojen fungusların böceklere karşı kullanımlarının araştırılması yanında bitkilerle olan ilişkileri, bitki patojenleri ile ilişkileri ve bitkilerin sağlığını ve büyümesini teşvik etmedeki rolleri üzerine araştırmalarda yürütülmektedir. Entomopatojen fungusların bu özellikleri esas konukçuları olan böceklerin olmadığı dönemde toprakta ve bitkiler üzerinde hayatta kalmalarını sağlamaktadır.

Bitkiler hem endofit mikroorganizmalara hem de mikorizalara konukçuluk yapmakta ve onlara besin sağlamaktadırlar. Endofitizm, bitkide herhangi bir hastalığa neden olamadan mikro organizmanın bitkide bulunmasıdır. Endofitler, bitki patojenlerine karşı dayanıklılığı artırarak veya alkaloidler gibi savunma bileşiklerinin üretimini teşvik ederek bitki direncini artırmaktadır. Bunun yanısıra endofitik funguslar, bitkilerin abiyotik stres faktörlerine dayanmalarına, türler arası rekabet yeteneklerini geliştirmelerine ve büyümelerini teşvik etmelerine yardımcı olabilmektedir (Carroll, 1988; Bacon, 1993; Saikkonen, Wali, Helander ve Faeth, 2004; Rua, McCulley ve Mitchell, 2013).

Metarhizium spp. hem sıvı ortamda hem de katı ortamda sekonder metabolit üretebilmektedirler. Üretilen bu sekonder metabolitlerin birçoğunun fungisidal, bakterisidal, repellent veya zehirleyici etkileri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda bu metabolitlerin destruxins, serinocyclins, metachelins, ferricrocin, tyrosine betaine, metacytofilin, fungerins, aurovertins, metacridamides, JBIRs, helvolic acid, metarhizins, ovalicins, taxanes, cytochalasins, swainsonine, viridoxins, *N*-(Methyl-3-Oxodec-6-Enoyl)-2-Pyrroline, *N*-(Methyl-3-Oxodecanoyl)-2-Pyrroline, 1-0cten-3-Ol ve 3-Octanone olduğu belirlenmiştir (Yadav, vd., 2019).

Entomopatojen funguslardan biri olan *M. anisopliae* Sordariomycetes sınıfı içersinde yer almaktadır. Genelde böceklere karşı kullanılan *M. anisopliae*'nin bitki patojenlerine karşı etkileri son yıllarda yapılan çalışmalar ile de ortaya konmuştur.

Roberti, Ghisellini ve Innnocenti (1993), Entomojen funguslardan *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* ve *Verticillium lecanii*'nin *Phoma betae*'ye karşı antifungal etkilerini belirlemek amacıyla sera ve tarlada koşullarında çalışmalar yürütmüşlerdir. *Phoma betae* ile bulaştırılmış toprağa entomopatojen fungus uygulanmış pancar tohumaları ekilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda *Metarhizium anisopliae*'nin 37 ve 36 nolu izolatları ile *B. bassiana*'nin 142 ve 140 nolu izolatları kontrol ile karşılaştırıldığın hastalığı önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. En düşük hastalık şiddeti %41.9 ile *M. anisopliae*'nin 37 nolu izolat ile yapılan uygulamada elde edilmiştir.

Sasan ve Bidochka (2013), fasulyenin önemli patojenlerinden biri olan *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*'ye karşı *Metarhizium robetsii*'nin antifungal etkilerini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırmışlardır. *İn vitro* koşullarda ikili karşılatırma yöntemine göre yapılan denemede *M. robetsii* etmeninin *F. solani* f.sp. *phaseoli* etmeninin misel gelişmini %60 oranında engellemiştir. *M. robetsii*'nin kültür filtratları ise patojenin sporlarının çimlenmesini %83 oranında engellemiştir. Kökleri *M. robetsii* ile kolonize edilmiş fasulye bitkilerine patojen uygulandığında bu bitkilerin kontrole göre daha sağlıklı büyüdükleri ve hastalık şiddetinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma fasulye bitkisini kök patojenlerine karşı korumada endofitik özellikte olan *M. robetsii*'nin kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Yun, Kim, Gwak, Shin ve Woo (2017), entomopatojen funguslardan *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium attenuatum* ve *Purpureocillium lilacinum*'un hem *Myzus persicae* hem de *Botrytis cinerea* etmenlerine karşı etkilerini araştırmışlardır. Entomopatojen fungusların *B. cinerea* patojenine karşı olan etkilerini belirlemek amacıyla hem ikili karşılaştırma hem de kültür filtratları yöntemi kullanılmıştır. *M. persicae* zararlısına karşı ise hem kültür filtratı hem de entomopatojen fungusların blastosporları kullanılmıştır. Yürürütlen çalışmalar sonucunda *B. bassiana* SD15 ve *M. anisopliae* SD3 nolu izolatların hem *M. persicae*'ye karşı virülensliklerinin yüksek olduğu hem de *B. cinerea* patojenine karşı antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Sarven vd. (2020), tartafından önemli bitki patojenlerden biri olan *Botrytis cinerea*'ya karşı yürütülen çalışmada *Metarhizium anisopliae* kullanılmıştır. *Metarhizium anisopliae* ikili karşılaştırma denemesinde *B. cinerea*'ya karşı 6.3 mm engelleme bölgesi oluşturmuş ve patojenin misel gelişimini %43.9 oranında engellemiştir. *Metarhizium anisopliae* tarafından üretilen uçucu bileşiklerin patojenin misel gelişmini engellediği ve hasat

sonrası domates meyvelerinde kurşuni küfün hastalık şiddetini %41 azalttığı belirlenmiştir. *Metarhizium anisopliae*'nın kültür filtratının %10'luk konsatrasyonunun *B. cinerea*'nın misel gelişimi üzerinde %88.62 oranında etkili olduğu aynı zamanda patojenin sklerot çimlenmesini de %63.85 oranında engellediği saptanmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar, *M. anisopliae*'nin serada ve hasat sonrası aşamada domates kurşuni küfüne karşı bir biyokontrol ajanı olarak kullanım potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Hao vd. (2021), buğdayda başak yanıklığına neden olan *Fusarium graminearum*'a karşı *Metarhizium anisopliae*'nin etkilerini araştırmışlardır. İkili karşılatırma yönteminde *M. anisopliae*'nin *F. graminearum*'un misel gelişimini önemli ölçüde engellediği ve hif uçlarında deformasyonlar oluşturduğu belirlenmiştir. Benzer etkiler %1'lik kültür filtratı uygulamasında da görülmüştür. Ancak *M. anisopliae*'nin uçucu bileşiklerinde benzer etkiler elde edilememiştir. Çalışmada *M. anisopliae*'nin buğday köklerinde kolonize olabildiği bununda 1000 dane ağırlığı üzerinde gözle görülebilir bir etki oluşturduğu saptanmıştır. Tarla denemelerindeki uygulamalar buğday tohumlarının *M. anisopliae*'nin sporları ile kaplanması ve başaklara *M. anisopliae*'nin spor süsüpansiyonun püskürtülmesi olmak üzere iki şekilde yapılmıştır. Erken çiçeklenme döneminde yapılan değerlendirme sonucunda sırasıyla %38.6 ve %40 etki elde edilmiştir. Bu sonuçlar, *M. anisopliae*'nin buğdayda başak yanıklığı hastalığına neden olan *F. graminearum*'a karşı umut verici bir biyokontrol ajanı olduğunu ve fungistatik sekonder metabolitler üreterek, buğday büyümesini artırdığını ve buğday savunma reaksiyonlarını ortaya çıkararak bitkinin başak yanıklığı hastalığına karşı koyabildiğini ortaya koymuştur.

Bu tez çalışmasında, genel uygulamalarda özellikle böceklerle biyolojik mücadelede başarı ile kullanılmakta olan aynı zamanda bitki gelişimine ve direncine katkı sağlayan entomopatojen fungus *M. anisopliae*'nin marulda önemli fungal hastalık etmenlerinden biri olan *F. oxysporium* f.sp. *lactucae*'ya karşı biyolojik mücadelede kullanım olanağının araştırılması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* İZOLASYONU VE TANILAMASI

Marul üretimi yapılan tarlalara gidilerek solgunluk belirtisi gösteren marul bitkileri toplanmış (Şekil 2.1) ve bu bitkilerden izolasyonlar yapılmıştır. Hastalıklı bitkilerden 1 cm'lik parçalar alınmış ve % 1'lik sodyum hipoklorit içerisinde 1-2 dk bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyon yapılmıştır. Hastalıklı bitki parçaları steril su ile durulandıktan sonra kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuş ve PDA (Potato Dextrose Agar) besiyeri içeren petrilere yerleştirilerek, 24±1°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkubasyon süresinin sonunda petrilerde gelişen *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* kolonileri PDA besiyeri içeren petrilere aktarılarak saf kültürler elde edilmiştir. Bu saf kültürlerden tek spor kültürleri elde edilmiş ve test tüplerine aktarılarak, çalışmanın bundan sonraki aşamalarında kullanılmak üzere 4°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatlarının toplanması.

Elde edilen tek spor kültürlerinden yola çıkılarak Hubbard ve Gerik 1993'e göre patojenin

kültürel özellikleri ve spor yapıları dikkate alınarak izolatların morfolojik olarak tanılamaları yapılmıştır.

Fusarium oxysporum f. sp. *lactucae*'nin DNA izolasyonu için etmen patates dekstroz broth (PDB; Sigma Aldrich) besiyerinde 24±1°C'de 10 gün boyunca çalkalayıcılı inkübatörde 120 rpm'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, Whatman filtre kağıdından süzülerek miselyum elde edilmiştir. Misellerden DNA izolasyonu hazır ticari kit (GeneMATRIX plant & Fungi DNA Purification Kit, EURx, Gdańsk, Polonya) kullanılarak yapılmıştır. DNA izolasyonu ticari kitin protokolünde belirtildiği adımlar izlenerek yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar -18±1°C'de saklanmıştır. Tanılama için mikroorganizmaların TEF1-α bölgelerini tanıyan EF-1 ve EF-2 (EF-1 5′-ATGGGTAAGGAAGACAAGAC-3′ EF-2 5′-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3′) primerleri kullanılmıştır (O'Donnell, Kistler, Cigelnik ve Ploetz, 1998). Elde edilen PCR ürünü, %1.5'lik agaroz jel üzerine yüklenmiş ve yürütülmüştür. Oluşan bantlar jelden alınarak saflaştırılmış ve BM Labosis (Ankara, Türkiye) tarafından her iki yönde dizi analiz yapılmıştır. Diziler BLASTn programı kullanılarak daha önce NCBI gen bankasına kayıtlanmış *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatları ile karşılaştırılmıştır.

2.2. PATOJENİSİTE TESTİ

Denemelerde kullanılan toprak (1:1:1 oranında toprak, kum, torf karışımı) bir gün ara ile otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle iki kez sterilize edilmiştir. Tek spor kültürleri yapılan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatları PDA besiyerinde 24±1°C'de 10 gün süreyle geliştirilmiştir. Bu sürenin sonunda her petriye 5 ml steril saf su ilave edilmiş ve steril spatül kullanılarak sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Thoma lamı yardımıyla spor süspansiyonun konsantrasyonu 10^6 spor/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Viyollerde yetiştirilen 30 günlük Maritima çeşidi marul fidelerinin kökleri torflardan arındırılmıştır. Marul fidelerinin kökleri spor süspansiyonuna daldırılıp 5 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda marul fideleri saksılara (15 cm çapında ve 20 cm derinliğinde) dikilmiştir. Saksılar gündüz sıcaklığı 33°C, gece sıcaklığı 23°C olacak şekilde 14 saatlik fotoperiyotta bekletilmiştir (Cabral ve Reis, 2013; Paugh ve Gordon, 2020). Deneme tesadüf parsellerine göre 7 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Uygulamadan 15 gün sonra marul fideleri sökülmüş kökleri yıkanmış ve değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirme 0-4 skalasına göre yapılmıştır (Çizelge 2.1.) (Gilardi, Pons, Gard, Franco-Ortega ve Gullino, 2017b).

Çizelge 2.1. *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatların hastalık şiddetlerinin belirlenmesinde kullanılan skala.

Skala değeri	Tanım
0	Sağlıklı bitki
1	Hafif yaprak klorozu, gelişmede hafif azalma, hafif vasküler kahverengileşme,
2	Şiddetli yaprak klorozu, gelişimde belirgin azalma, bazen baş kısmının asimetrik gelişimi, belirgin vasküler kahverengileşme
3	Yaprak klorozu ve büyümenin engellenmesi, belirgin deformasyon ve günün en sıcak saatlerinde vasküler kayverengileşmeden kaynaklanan solgunluğun ilk belirtileri
4	Klorozlu veya tamamen nekrotik yapraklı kuvvetli deforme olmuş bitki, bitki tamamen solmuş

Skala değerleri Townsend-Heuberger formülüne uygulanarak hastalık şiddeti değeri belirlenmiştir.

$$\text{Hastalık şiddeti } \% = (\Sigma (n.V)) / (Z*N)*100 \quad (2.1)$$

n : Skalada farklı hastalık derecelerine isabet eden örnek adedi

V : Skala değeri

Z : En yüksek skala değeri

N : Gözlem yapılan toplam örnek adedi

2.3. *Metarhizium anisopliae* İZOLATLARI VE MOLEKÜLER TANILANMASI

Bu tez çalışmasında Düzce'de daha önce yürütülen çalışmalardan elde edilen ve *Tenebrio molitor* larvaları üzerinde yüksek etki göstermiş olan *M. anisopliae* izolatları kullanılmıştır. *Metarhizium anisopliae* izolatlarının morfolojik karakterizasyonu önceki çalışmalarda yapılmıştır (Karabörklü, Altın ve Keskin, 2019). Düzce Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü stok kültürlerinden alınan izolatlar PDA besiyerinde 24±1°C'de 2 hafta süreyle geliştirilmiştir. DNA izolasyonu için petri kaplarından miselyum ve sporlar kazınarak toplanmıştır. DNA izolasyonu hazır kit (GeneMATRIX plant & Fungi DNA Purification Kit, EURx, Gdańsk, Polonya) kullanarak yapılmıştır. DNA izolasyonu hazır kitin protokolüne göre yapılmıştır. *Metarhizium anisopliae* izolatların tür tanımlaması için elde edilen DNA'ların hedef gen bölgeleri, ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3'), ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') primerleri ile çoğaltılmıştır (White, Bruns, Lee ve Taylor, 1990). PCR analizi için Taq

polimeraz enzimi "Solis Biodyne FIREPol ® DNA polimeraz" kullanılmıştır. PCR karışımı bu enzimin protokolünde yazıldığı gibi hazırlanmıştır. İlk denatürasyon için 95°C'de 5 dakikalık PCR reaksiyonlarını, 95°C 45 saniye denatüre, 57°C 45 saniye bağlama, 72°C 60 saniye uzama olmak üzere 40 döngü izlemiştir. PCR reaksiyonu, 72°C'de ile 5 dakika boyunca son bir uzatma aşaması ile sonlandırılmıştır. PCR ürünü, %1.5'lik bir agaroz jeli üzerine yüklenmiş ve yürütülmüştür. Yürütme işlemi sonunda jelde oluşan tek bantlar, ticari kit (Exo SAP-IT™ PCR Ürün Temizleme Reaktifi) prosedürü izlenerek saflaştırılmıştır. Saflaştırılan DNA'nın dizi analizi ticari şirket BMLabosis (Ankara, Türkiye) tarafından yapılmıştır. Diziler, NCBI veri tabanına daha önce kayıtlanmış *M. anisopliae* izolatları ile karşılaştırılmıştır. Filogenetik analizleri değerlendirmek için Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) yazılımı sürüm 11 programı kullanılmış ve komşu birleştirme (neighbour-joining) ve önyükleme ağacı (bootstrap tree) yöntemleri (1000 önyükleme çoğaltmasına dayalı) kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

2.4. *Metarhizium anisopliae* İZOLATLARININ KÜLTÜR FİLTRATLARININ ELDE EDİLMESİ

Metarhizium anisopliae kültür filtratını elde etmek amacıyla 250 ml erlen içerisinde 100 ml PDB (Patates dekstroz broth) besiyeri hazırlanmıştır. Besiyeri otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. PDA besiyerinde geliştirilen *M. anisopliae*'nın 10 günlük kültürlerinden alınan 10 adet 5 mm çapındaki misel diskler içerisinde steril PDB besiyeri bulunan erlenlere ilave edilmiştir. Erlenler çalkalıyıcılı inkübatörede 150 rpm'de 28°C'de 10 gün süre ile çalkalanmıştır. Bu sürenin sonunda PDB besiyeri dört katlı steril tülbentten süzülmüştür. Bulaşmaları en aza indirebilmek amacıyla kültür filtratları 0.22 µm selülose nitrat (Millipore Sigma, USA) filtrelerinden geçirilmiştir. Kültür filtratları daha sonra yapılacak olan çalışmalarda kullanılmak üzere -86°C'de saklanmıştır (Yun, Kim, Gwak, Shin ve Woo, 2017; Sarven vd., 2020; Hao vd., 2021).

2.5. ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİN BELİRLENMESİ

2.5.1. *In vitro* çalışmaları

2.5.1.1. *İkili karşılaştırma yöntemi*

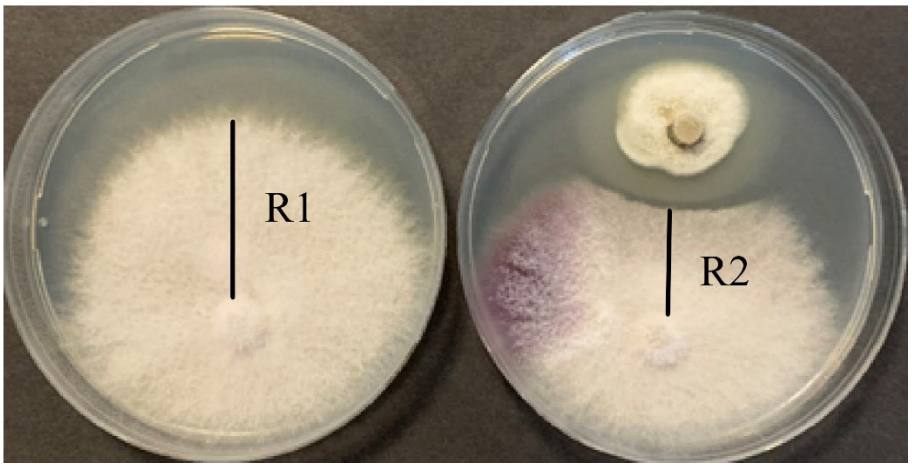
Metarhizium anisopliae izolatlarının antagonistik etkileri ikili karşılaştırma yöntemine

göre belirlenmiştir. PDA besiyerinde geliştirilen bir haftalık *M. anisopliae* izolatlarından 5 mm çapında misel diskler alınmıştır. Bu misel diskleri PDA besiyeri bulunan petrilere petri kenarından 2 cm uzağa yerleştirilmiştir. Petriler 24±1°C'de 2 gün süre ile inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda bir haftalık *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* kültüründen alınan 5 mm çapındaki misel diskler *M. anisopliae* disklerinin tam karşısına petri kenarından 2cm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiştir. Kontrol gurubundaki petrilere ise tek başına *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* kültüründen alınan diskler yerleştirilmiştir. Değerlendirme, kontrol grubundaki petrilerde bulunan patojen fungusun *M. anisopliae* disklerinin yerleştirildiği mesafeye ulaştığında yapılmıştır. Çalışma, her bir petri kutusu bir tekerrür kabul edilerek, 5 tekerrürlü kurulmuştur. Değerlendirmede kontrol petrideki patojenin yarı çapı ve antagonist uygulaması yapılan petrilerdeki potojenin yarı çapı ölçülmüştür (Şekil 2.2.). Elde edilen veriler ile aşağıdaki formül kullanılarak *M. anisopliae* izolatlarının engelleme oranları belirlenmiştir (Bucarei vd., 2020; Sarven vd., 2020; Hao vd., 2021).

*Engelleme oranı %=(R1-R2)/R1*100* (2.2)

R1 = Kontrol petrideki patojen fungusun yarıçapı

R2 = İkili kültür petrilerindeki patojen fungusun yarıçapı



Şekil 2.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatının yarıçapının ölçümü.

2.5.1.2. *Kültür filtratı denemeleri*

Denemede daha önce elde edilen *M. anisopliae* izolatlarının kültür filtratları %5, %10 ve %20 (v/v) konsantrasyonlarda kullanılmıştır. PDA besiyeri %5 konsantrasyon için 95 ml, %10 konsantrasyon için 90 ml ve %20 konsantrasyon için 80 ml hazırlanmış ve 121°C'de

30 dakika sterilize edilmiştir. Besiyerleri dökme sıcaklığına gelene kadar 50°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilmiştir. Besiyerlerini petrilere dökmeden hemen önce %5, %10 ve %20 konsantrasyonlarını elde etmek amacıyla gerekli olan kültür filtratı miktarı ortama ilave edilmiştir. Kontrol olarak kültür filtratı ilave edilmemiş steril PDB besiyeri kullanılmıştır. Bir haftalık *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* kültüründen alınan 5 mm çapında misel diskler misel bulunan kısmı besiyerine değecek şekilde petrilerin orta noktasına yerleştirilmiştir. Petriler 7 gün süreyle inkübatörde 24±1°C'de inkübe edilmiştir. Deneme 5 tekerrürlü olarak kurulmuştur. İnkübasyondan bir hafta sonra petrilerde gelişen kolonilerin çapları elektronik kumpas ile ölçülmüştür. Ölçümler misel kolonisinin merkezinden geçmek şartıyla en az ve en çok gelişim gösteren noktalardan yapılmış ve ortalamaları alınmıştır. Elde edilen ortalama misel çapları kullanılarak Abbott formülüne göre her bir *M. anisopliae* izolatının kültür filtratlarının engelleme oranları belirlenmiştir (Sarven vd., 2020).

*Engelleme oranı %=(A-B)/A*100* (2.3)

A = Kontrol petrideki patojen fungusun çapı

B = Kültür flitratı uygulanan petrilerdeki patojen fungusun çapı

2.5.2. *In vivo* çalışmaları

2.5.2.1. *Metarhizium anisopliae izolatlarının spor süspansiyonu denemesi*

Fusarium oxysporum f. sp. *lactucae* izolatı kepek ortamında 14 gün süreyle geliştirilmiş ve sterilize edilmiş toprak ile 1:19 oranında karıştırılmıştır (Seki vd., 2020). PDA besiyerinde 7 gün süreyle geliştirilmiş her bir *M. anisopliae* izolatı ile 10^7 spor/ml konsantrasyonunda spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Viyollerde bulunan marul fidelerine saksılara dikimden 2 gün önce her bir fideye 20 ml olacak şekilde bu spor süspansiyonundan verilmiştir. *Metarhizium anisopliae* spor süspansiyonu verilen marul fideleri 2 gün sonra içerisinde *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ile bulaşık toprak bulunan saksılara dikilmiştir. Saksılar gündüz sıcaklığı 33°C, gece sıcaklığı 23°C olacak şekilde 14:10 saatlik (aydınlık/karanlık) fotoperiyotta bekletilmiştir (Paugh ve Gordon, 2020). Dikim işleminden 15 gün sonra marul fideleri patojenisite denemesinde kullanılan 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir. Skala değerleri Townsend-Heuberger formülüne uygulanarak hastalık şiddeti değeri belirlenmiştir.

2.5.2.2. *Metarhizium anisopliae izolatlarının kültür filtratları denemesi*

Denemede kullanılan toprak (1:1:1 oranında toprak, kum, torf karışımı) bir gün ara ile otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle iki kez sterilize edilmiştir. Sterilize edilen toprak kepek ortamında 14 gün süre ile geliştirilmiş *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatı ile 1:20 oranında karıştırılmıştır. Maritima çeşidi 30 günlük marul fideleri bu saksılara dikilmiştir. Son konsantrasyon %20 olacak şekilde *M. anisopliae* kültür filtratları su ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu karışımdan her saksıya 30 ml verilmiştir. Saksılar gündüz sıcaklığı 33°C ve gece sıcaklığı 23°C olacak şekilde 14 saatlik bir fotoperiyotta tutulmuştur (Paugh ve Gordon, 2020). Marul fideleri dikimden 15 gün sonra patojenisite testinde kullanılan 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Gilardi, Pons, Gard, Franco-Ortega ve Gullino, 2017b). Skala değerleri Townsend-Heuberger formülüne uygulanarak hastalık şiddet değeri belirlenmiştir. Kültür filtratlarının etkisi Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

2.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Misel gelişimindeki engelleme oranları ile saksı denemelerindeki hastalık şiddeti değerleri Abbott formülü kullanılarak antagonist izolatlara ait etkiler hesaplanmıştır. Antagonist izolatlara ait etkilerin karşılaştırılmasında SPSS programı (SPSS 17.0 commercial software, SPSS, Inc., Chicago, IL) kullanılarak varyans analizi (tek-faktör ANOVA) yapılmıştır. Ortalamalar %95'lik güven aralığında Tukey testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. BULGULAR

3.1.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin izolasyonu, tanılanması ve patojenisitesi

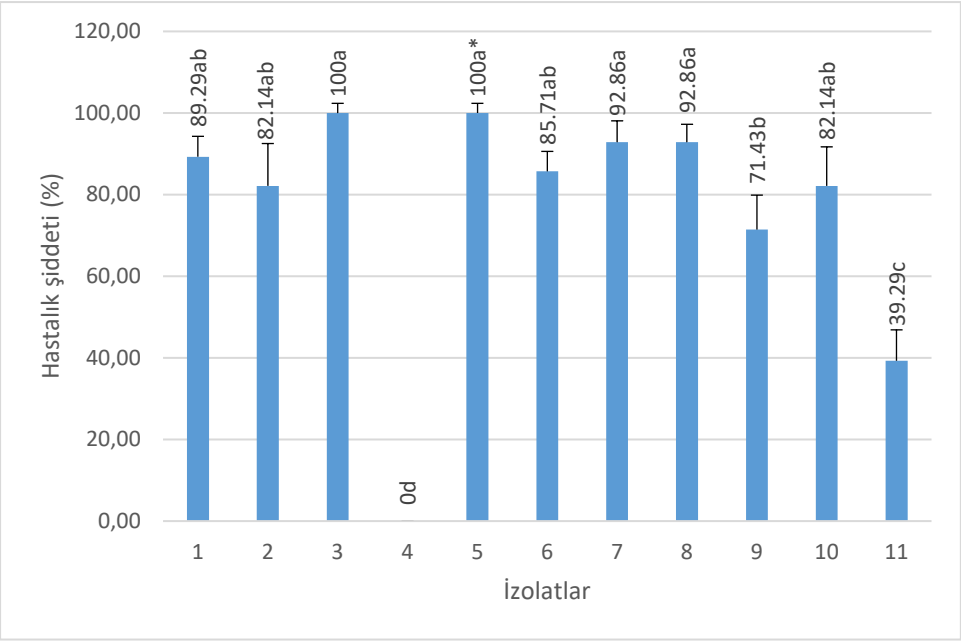
Sakarya ilinde marul yetiştiriciliği yapılan bölgede üretici şikayetleri üzerine gerçekleştirilen tarla ziyaretleri esnasında bazı bitkilerde solgunluk belirtileri görülmüştür. Solgunluk belirtisi gösteren bitkilerin gelişiminin sağlıklı bitkilerden daha az olduğu, dış yaprakların sarardığı, ilk başlarda sararmanın bitkinin bir tarafında olduğu ilerleyen dönemlerde ise bitkinin tümünde görüldüğü belirlenmiştir. Sararan yaprakların solmaya başladığı ve hastalığın ileri dönemlerinde bu yaprakların kuruduğu görülmüştür. Hasta bitkiler kök ucundan boyuna doğru kesildiğinde iletim demetlerinin kök ucundan itibaren kırmızımsı kahverengi renk aldığı görülmüştür (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin belirtileri.

Farklı tarlalardan alınan hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucunda 11 adet izolat elde edilmiştir. Her izolatın tek spor kültürleri yapılarak çalışmalarda kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır. İzolatlar morfolojik tanılamada kullanılan bir özellik olan PDA besi ortamında beyaz havai gelişen koloni oluşturmuştur. Fungus kültürü yaşlandıkça bazı izolatlarda koloni renginin merkezden başlamak üzere mor renge bazı izolatlarda ise krem renginden pembeye dönmeye başladığı görülmüştür. Çoğu makrokonidiosporun üç veya dört bölmeli olduğu belirlenmiştir. Kültür yaşlandıkça klamidiosporların uç veya orta kısımlarda tek tek veya çiftler halinde oluştuğu saptanmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda mikrokonidiosporların ortalama 7.34 x 3.23 µm, makrokonidiosporların ortalama 24.32 x 3.88µm ve klamidiosporların ortalama 8.37 µm olduğu belirlenmiştir.

İzolasyon sonucunda elde edilen izolatların patojen olup olmadığını belirlemek amacıyla patojenisite testi yapılmıştır. Patojenisite testi sonucunda 11 izolattan 10 adedinin patojen olduğu ve bu izolatların meydana getirmiş olduğu hastalık şiddetinin farklı oranlarda olduğu belirlenmiştir. Değerlendirme sonucunda 3 ve 5 nolu izolatların hastalık şiddetinin %100 olduğu belirlenmiştir. Diğer izolatların hastalık şiddeti değerlerinin ise %39.29 ile %92.86 arasında değiştiği saptanmıştır (Şekil 3.2.). Patojenisite testi sonucunda izolatların hastalık şiddeti değerlerinin yüksek olduğu görüşmüştür.



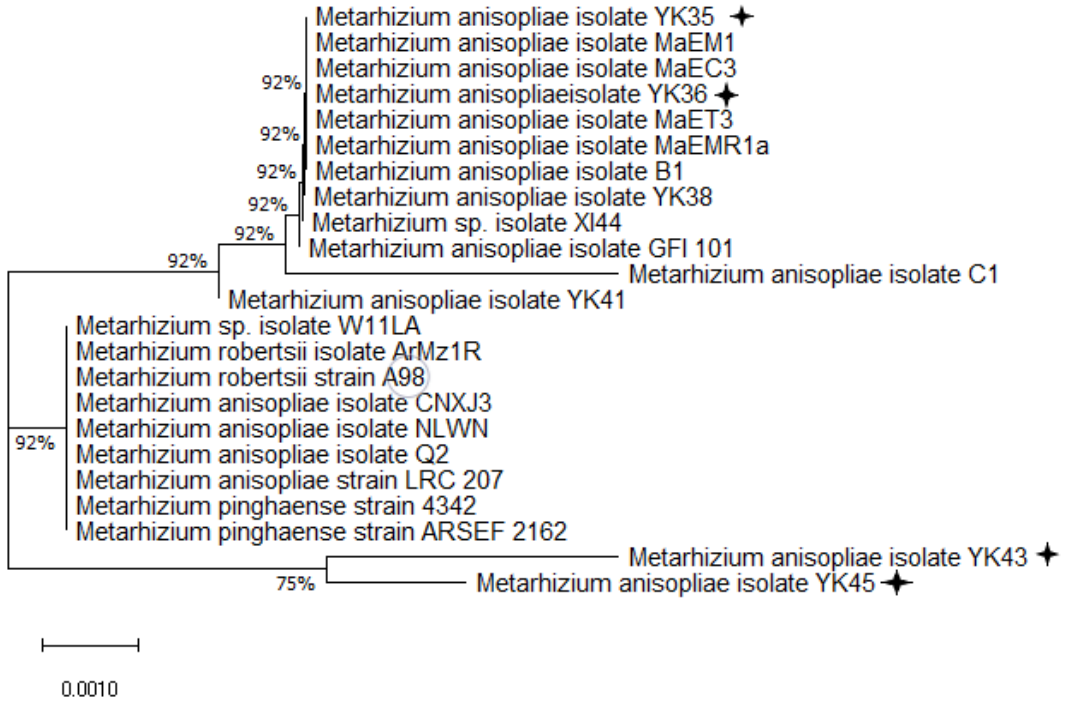
*Farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır (P ≥ 0.05).

Şekil 3.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatlarının patojenisite testi sonrası hastalık şiddeti değerleri.

Patojenisite testi sonuçlarına göre hastalık şiddeti değeri %100 olan izolatlardan biri olan 5 nolu izolat ileri denemelerde kullanılmak üzere seçilmiştir. Seçilen bu izolatın moleküler tanılaması yapılmıştır. PCR işelmi sonrası elde edilen ilgili gen bölgesine ait izolasyonu sonucu dizi NCBI veri bankasındaki dizilerle karşılaştırıldığında 5 nolu izolatın erişim numarası MK059958.1 olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatı ile %100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Denemede kullanılan 5 nolu izolat için NCBI veri bankası tarafından OM144472 erişim numarası verilmiştir.

3.1.2. *Metarhizium anisopliae* izolatlarının moleküler tanılaması

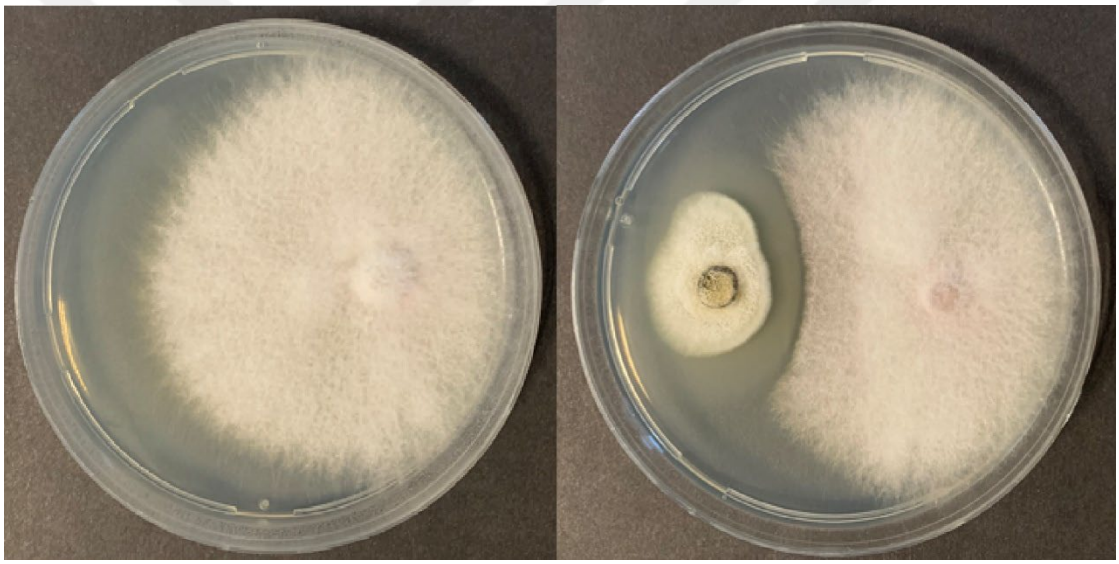
Önceki çalışmalarda sadece morfolojik tanılaması yapılan bazı *M. anisopliae* izolatlarının (YK35, YK36, YK43 ve YK45) moleküler yöntem tanılamaları da yapılarak bu izolatların tür doğrulamaları yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda YK35, YK36 ve YK43 NCBI veri bankasında daha önce kaydı yapılmış ve MH104861.1 kayıt numarası verilmiş *M. anisopliae* izolatı ile %100 benzerlik göstermiştir. YK45 izolatı ise aynı izolat ile %99.5 oranında benzerlik göstermiştir. NCBI veri bankasına YK35 nolu izolat OM200357, YK36 nolu izolat OM200358, YK43 nolu izolat OM200356 ve YK45 nolu izolat ise MZ781315 kayıt numaları ile kaydedilmiştir. İzolatlarımız NCBI veri bankasında bulunan diğer *M. anisopliae* izolatları ile karşılaştırılarak flogenetik analizlari yapılmıştır (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. *M. anisopliae* izolatlarının flogenetik ağacı.

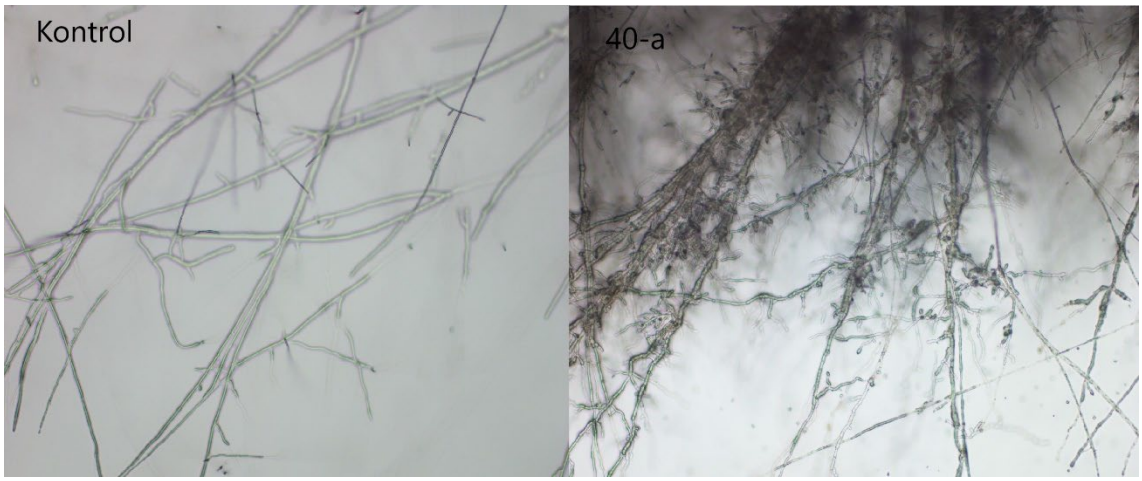
3.1.3. İkili karşılaştırma denemesi

Metarhizium anisopliae izolatlarının antifungal etkileri ikili karşılaştırma yöntemine göre belirlenmiştir (Şekil 3.4.). Çalışma sonucunda kontrol grubuna ait petrilerde *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine ait misel gelişiminin ortalama 53.14 mm olduğu saptanmıştır. YK33 izolatı *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeninin misel gelişmesini en çok engelleyen izolat olmuştur. İkili karşılaştırma yöntemine göre YK33 izolatı bulunan petride *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin misel gelişmesi ortalama 21.02 mm olmuştur. Kontrol grubuna ait petrilerdeki *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin misel gelişmesine en yakın gelişme gösteren ancak aralarında istatistiksel açıdan fark bulunanYK40 izolatının bulunduğu petride misel gelişimi ortalama 31.52 mm olmuştur (Çizelge 3.1.).



Şekil 3.4. İkili karşılaştırma yönteminde *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin misel gelişmesi.

İkili karşılaştırma petrilerinde *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeninin miselleri mikroskop altında incelendiğinde engelleme bölgesinde misel uçlarının deforme olduğu görülmüştür (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. İkili karşılaştırma yönteminde *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin engelleme bölgesindeki miselleri.

Çizelge 3.1. *Metarhizium anisopliae* izolatları uygulanmış besi ortamında *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin ortalama misel gelişimi.

İzolat no	**Misel gelişimi (mm)**					
	1.Tekerrür	2.Tekerrür	3.Tekerrür	4.Tekerrür	5.Tekerrür	Ortalama±Standart hata
YK33	20.3	19.6	22.1	20.7	22.4	21.02±0.61g*
YK45	28.9	26.3	26.6	28.4	28.9	27.82±0.67f
YK43	24.6	29.9	30.3	30.7	25.8	28.26±1.27ef
YK36	29.6	25.4	28.3	29.3	29.4	28.4±.090def
YK42	28.9	32.7	26.3	27.8	29.7	29.08 ±0.97cdef
YK34	27.3	32.4	29.4	28.4	29.3	29.36±0.74cdef
YK31	30.9	29.3	30.2	27.2	29.9	29.5±0.59cdef
YK37	33.2	30.6	28.4	29	28.3	29.9±0.89bcde
YK35	29.7	30.8	29.3	29.8	31.3	30.18±0.35bcde
YK41	30.4	29.4	30.2	31.4	29.6	30.2±0.47bcde
YK38	29.6	30.3	32.3	29.1	30.2	30.3±0.52bcd
YK39	31.2	31.4	32.3	29.7	30	30.92±0.42bc
YK44	30.8	33.1	31.1	29.9	30.2	31.02±0.43bc
YK40	31.7	33.3	31.1	30.4	31.1	31.52±0.36b
Kontrol	53.1	53.3	52.5	53.6	53.2	53.14±0.24a

*Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

Misel gelişimlerinin değerlendirmesi sonucunda elde edilen veriler Abbott formülü ile dönüştürülerek *M. anisopliae* izolatlarının yüzde etkileri belirlenmiştir. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeninin misel gelişmesini en fazla engelleyen %60.44 etki ile

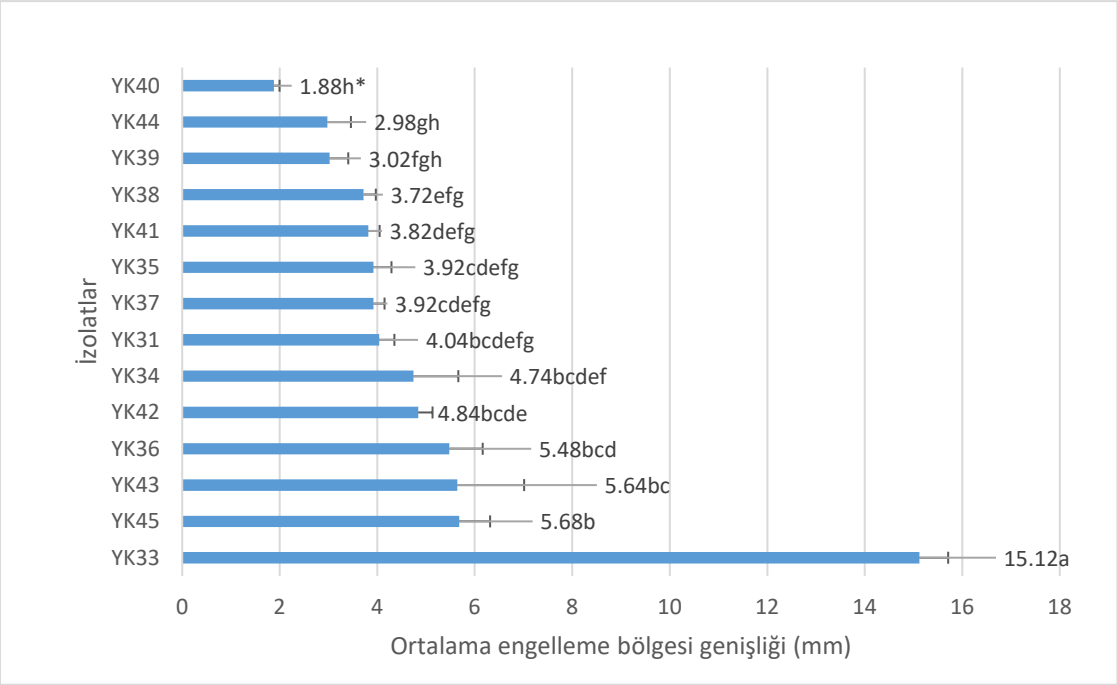
YK33 izolatı olmuştur. Ortalama etkilerin %47.65 ile %40.68 arasında değiştiği görülmüştür (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin misel gelişimi üzerine *Metarhizium anisopliae* izolatlarının etkileri.

	Etki (%)					
İzolat no	1.Tekerrür	2.Tekerrür	3.Tekerrür	4.Tekerrür	5.Tekerrür	Ortalama±Standart hata
YK33	61.77	63.23	57.90	61.38	57.89	60.44±1.13a*
YK45	45.57	50.66	49.33	47.01	45.68	47.65±1.28b
YK43	53.67	43.90	42.29	42.72	51.50	46.82±2.39bc
YK36	44.26	52.35	46.10	45.34	44.74	46.55±1.71bc
YK42	45.57	38.65	49.90	48.13	44.17	45.29±1.84bcd
YK34	48.59	39.21	44.00	47.01	44.92	44.75±1.39bcd
YK31	41.81	45.03	42.48	49.25	43.80	44.47±1.09bcde
YK37	37.48	42.59	45.90	45.90	46.80	43.73±1.68cde
YK35	44.07	42.21	44.19	44.40	41.17	43.21±0.67cde
YK41	42.75	44.84	42.48	41.42	44.36	43.17±0.89cde
YK38	44.26	43.15	38.48	45.71	43.23	42.97±0.98cde
YK39	41.24	41.09	38.48	44.59	43.61	41.80±0.77de
YK44	42.00	37.90	40.76	44.22	43.23	41.62±0.79de
YK40	40.30	37.52	40.76	43.28	41.54	40.68±0.66e

*Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

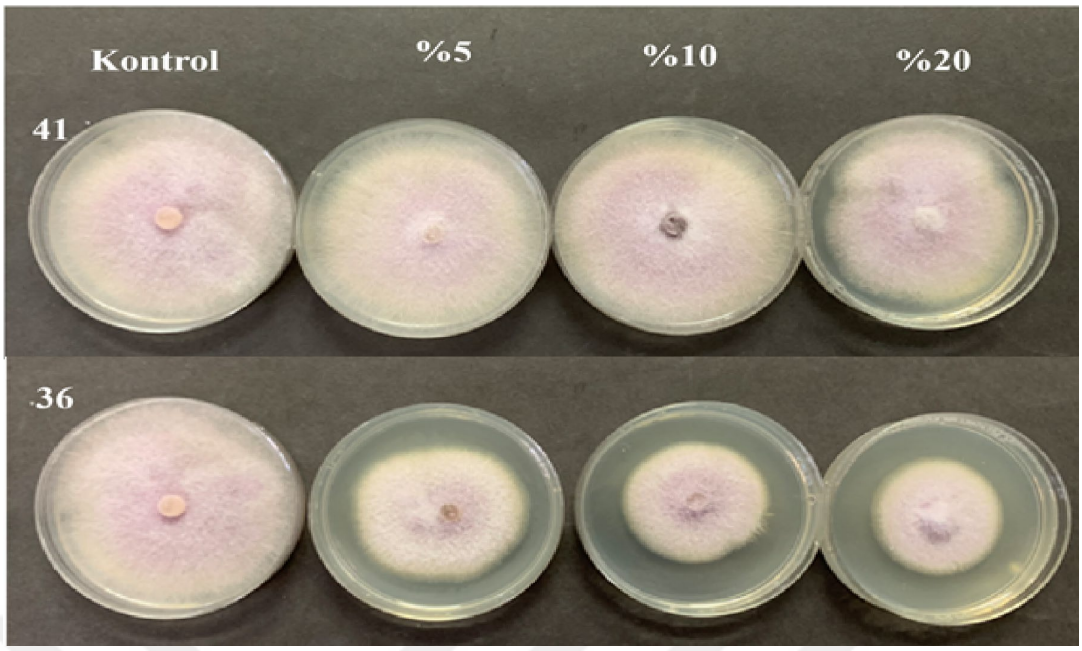
İkili karşılaştırma denemelerinde *M. anisopliae* izolatları ile *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeni arasında oluşan engelleme bölgesi genişliği izolatlara göre farklı büyüklüklerde oluşmuştur (Şekil 3.6.). En düşük engelleme bölgesi 1.88 mm ile YK40 izolatında görülürken en geniş engelleme bölgesi 15.12 mm ile YK33 izolatında elde edilmiştir.



Şekil 3.6. *Metarhizium anisopliae* izolatlarının oluşturmuş olduğu ortalama engelleme bölgesi genişliği. *Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

3.1.4. Kültür filtratı denemesi

Metarhizium anisopliae izolatlarının kültür filtratları *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmenine karşı %5, %10 ve %20 konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde genelde kültür filtratının konsantrasyonu arttıkça *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeninin misel gelişiminin azaldığı görülmüştür (Şekil 3.7.) (Çizelge 3.3.). Kontrol grubuna ait petrilerde 55.73 mm çapında gelişme görülmüşken YK34 izolatına ait kültür filtratınını %20 konsantrasyonunda *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeninde 15.53 mm gelişme olmuştur. Kontrolden sonra *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenin en fazla misel gelişimi 49.45 mm ile YK 41 izolatına ait kültür filtratının bulunduğu %20 konsantrasyonda gerçekleşmiştir.



Şekil 3.7. *Metarhizium anisopliae* kültür filtratlarının etkisi.

Çizelge 3.3. *Metarhizium anisopliae* kültür filtratının farklı dozlarında *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin ortalama misel gelişimi.

İzolat no	Dozlar		
	%5 Etki±Standart hata	%10 Etki±Standart hata	%20 Etki±Standart hata
YK34	22.85±0.97ı*	17.77±1.02j*	15.53±0.57g*
YK31	32.35±0.51h	30.57±0.49ı	23.98±0.40f
YK35	52.96±0.89bc	48.09±1.68d	30.23±1.49e
YK43	38.40±1.73f	31.91±0.51hı	30.52±0.40e
YK36	36.75±0.90fg	34.20±0.50gh	31.24±0.41e
YK33	36.04±0.33g	34.82±0.70g	33.10±0.53e
YK40	42.70±0.99e	39.36±0.93f	37.30±0.71d
YK44	47.71±1.19d	44.44±0.68e	38.27±0.89d
YK37	51.13±0.72c	47.41±1.46d	45.48±1.17c
YK39	53.98±0.35ab	50.63±0.71bc	47.22±1.10bc
YK42	52.73±0.65bc	48.34±1.12cd	48.09±1.31bc
YK45	53.58±0.41ab	52.33±0.32b	48.73±1.01b
YK38	53.66±0.21ab	51.51±0.33b	49.41±1.15b
YK41	54.16±0.28ab	51.37±0.73b	49.45±1.97b
Kontrol	55.73±0.19a	55.73±0.22a	55.73±0.26a

*Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

Kültür filtratları bulunan petrilerde *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenin misel ölçümleri

abbott formülüne uygulanarak kültür filtratlarının yüzde etki değerleri elde edilmiştir. *Metarhizium anisopliae* izolatlarına ait kültür filtratlarının hepsinde en yüksek etki izolatların %20'lik konsantrasyonlarında elde edilmiştir (Çizelge 3.4.). En yüksek etki %20 konsantrasyonda %72.13 ile YK34 nolu izolata ait kültür filtratında elde edilmiştir. En düşük etki ise yine aynı konsantrasyonda YK41 nolu izolata ait kültür filtratında (%11.27) gerçekleşmiştir.

Çizelge 3.4. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeninin misel gelişimi üzerine *Metarhizium anisopliae* izolatlarına ait kültür filtratlarının etkileri (%)

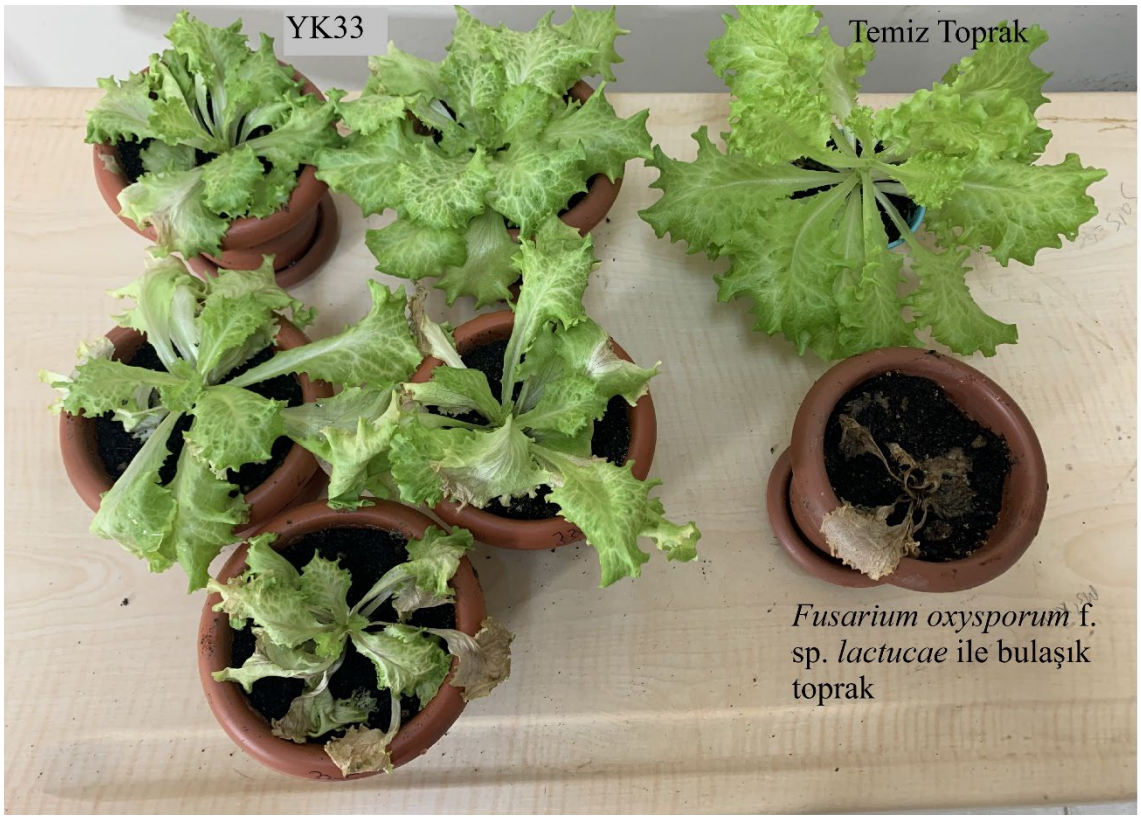
	Dozlar		
	%5	%10	%20
İzolat no	Etki±Standart hata	Etki±Standart hata	Etki±Standart hata
YK34	59.00±1.72a*	68.11±1.82a*	72.13±1.01a*
YK31	41.96±0.92b	45.15±0.88b	56.98±0.71b
YK35	4.97±1.59fg	13.72±3.00gh	45.77±2.66c
YK43	31.10±3.09c	42.74±0.91bc	45.24±0.71c
YK36	34.07±1.64c	38.63±0.90cd	43.95±0.74c
YK33	35.33±0.62c	37.52±1.26d	40.61±0.96c
YK40	23.38±1.77d	29.38±1.65e	33.08±1.27d
YK44	14.40±2.17e	20.26±1.22f	31.33±1.58d
YK37	8.26±1.29f	14.94±2.63g	18.40±2.09e
YK39	3.14±0.65g	9.16±1.27hı	15.27±2.00ef
YK42	5.40±1.16fg	13.26±2.00gh	13.72±2.37ef
YK45	3.86±0.72g	6.11±0.57ı	12.57±1.79f
YK38	3.72±0.39g	7.58±0.59ı	11.34±2.08f
YK41	2.82±0.40g	7.83±1.33ı	11.27±3.53f

*Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

3.1.5. Fide denemesi

Saksı denemelerinde *M. anisopliae* izolatlarının hem spor süspansiyonları hem de kültür filtratları kullanılmıştır. *İn vitro* deneme sonuçlarına göre seçilen sekiz izolat ile denemeler yürütülmüştür. Spor süspansiyonun kullanıldığı denemede 0-4 skalasına göre kontrol grubuna ait saksılarda hastalık şiddeti %85 olarak belirlenmiştir. En düşük hastalık şiddeti ise %30 ile YK33 ve YK43 izolatlarında saptanmıştır. Abbott formülüne göre belirlenen etkilere bakıldığında YK33 ve YK43 nolu izolatların %65 ile en yüksek etki gösteren izolatlar oldukları belirlenmiştir (Şekil 3.8.). En düşük etki ise %28.33 ile

YK42 nolu izolatta görülmüştür (Çizelge 3.5.).



Şekil 3.8. Spor süspansiyonu saksı denemesi.

Çizelge 3.5. İn vivo koşullarda *Metarhizium anisopliae* izolatlarının *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeni üzerine etkileri.

İzolat no	Ortalama Hastalık şiddeti (%) ± Standart hata	Ortalama Etki (%) ± Standart hata
YK33	30±3.40e*	65.00±4.34a*
YK43	30±3.40e	65.00±4.34a
YK34	35±3.96de	60.00±5.69ab
YK45	35±6.60de	58.33±6.67ab
YK36	45±3.96cd	48.33±5.08abc
YK31	45±4.61cd	46.67±5.93bc
YK35	55±6.27bc	35.00±7.87cd
YK42	60±3.97b	28.33±5.08d
Kontrol	85±3.98a	

*Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

Kültür filtratları kullanılarak yapılan saksı denemelerinde ise kontrol grubuna ait

saksılarda hastalık şiddeti %78.13 olarak belirlenmiştir. *Metarhizium anisopliae* izolatlarında ise hastalık şiddetinin %25 ile %46.88 arasında değiştiği görülmüştür. En düşük hastalık şiddeti YK43 nolu izolatta %25 olarak belirlenmiştir. Abbott formülü ile belirlenen etki değerlerine göre en yüksek etkinin %67.62 ile YK43 nolu izolata ait olduğu görülmektedir. En düşük hastalık şiddeti ise %39.52 ile YK35 izolatında belirlenmiştir (Çizelge 3.6.).

Çizelge 3.6. İn vivo koşullarda *Metarhizium anisopliae* izolatlarına ait kültür flitratlarının *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeni üzerine etkileri.

İzolat no	Ortalama Hastalık şiddeti (%) ± Standart hata	Ortalama Etki (%) ± ,Standart hata
YK43	25.00±7.15c*	67.62±8.73a*
YK45	28.13±9.01bc	65.83±11.76ab
YK36	28.13±2.97bc	63.81±4.30ab
YK42	28.13±4.82bc	63.21±5.60ab
YK34	28.13±4.82bc	63.21±5.60ab
YK31	37.50±5.29bc	53.33±7.82ab
YK33	37.50±8.28bc	51.31±9.86ab
YK35	46.88±9.78b	39.52±13.31b
KONTROL	78.13±5.11a	

*Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

3.2. TARTIŞMA

Fusarium oxysporum f.sp. *lactucae* etmeninin ilk tespitinin yapıldığı 1955 yılından günümüze kadar hem yaygınlığı hem de meydana getirmiş olduğu zarar giderek armıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda etmenin Japonya, Amerika Birleşik Devletleri, İran, Tayvan, Brezilya, İtalya, Kore, Arjantin, Portekiz, Belçika, Fransa, İngiltere ve İrlanda gibi ülkelerde varlığı belirlenmiştir (Hubbard ve Gerik, 1993; Gordon ve Koike, 2015; Gilardi vd., 2017a; Claerbout vd., 2018; Taylor, Jackson ve Clarkson, 2019).

Ülkemizde marul yetiştiriciliği hem açık alanda hem de örtü altında yapılabilmektedir. Islah edilen yeni çeşitler nedeniyle bazı bölgelerimizde tüm yıl boyunca marul yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Son yıllarda marul yetiştiriciliği yapılan bazı bölgelerde

F. oxysporum f.sp. *lactucae* etmeninin neden olduğu solgunluk belirtileri görülmeye başlamıştır. Bu belirtiler diğer bitkilerde meydana gelen solgunluk belirtilerine benzemekle beraber özellikle marul bitkisinin bir kısmıdaki gelişimin yavaşlaması nedeniyle bitkide asimetrik bir gelişim ortaya çıkmaktadır. Hasta bitkilerde özellikle dış yapraklar sararmakta ve solmaktadır. Hastalanan bitkilerin kökleri kök ucundan kök boğazına doğru kesildiğinde iletim demetlerinin kök ucundan başlamak üzere kırmızımsı kahverengi renk aldığı görülmüştür. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda da marul tarlalarında benzer belirtilerin görüldüğü ifade edilmektedir (Garibaldi, Gilardi ve Gullino, 2002)

Çalışmamızda marul tarlalarında solgunluk belirtisi gösteren bitkiler alınarak laboratuvarda izolasyon yapılmış ve 11 adet *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatı elde edilmiştir. İzolasyonu yapılan bu *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatları PDA besiyerinde geliştirildiğinde bazı izolatların kolonilerinin yaşlandıkça rengi mora bazılarının ise pembemsi renge dönüştüğü belirlenmiştir. Bu durum *F. oxysporum* etmenlerinde genelde karşılaşılan bir olgudur. *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeni ile yapılan çalışmalarda da bazı izolatların koloni rengi yaşlandıkça mor renge bazı izolatlarında pembemsi renge dönüştüğü görülmüştür (Taylor, Jackson ve Clarkson, 2019; Herrero, Nagy ve Solheim, 2021) Etmen besi ortamında geliştirildiğinde mikrokonidiospor, makrokonidiospor ve klamidiospor oluşturabilmektdir. Makrokonidiosporları genel olarak üç veya dört bölmeli olabilmektedir (Hubbard ve Gerik, 1993). Yapılan bir çalışmada Fus1.01 ve Fus1.02 olmak üzere iki farklı izolata ait sporların büyüklükleri sırasıyla mikrokonidiosporlarda ortalama 6.98 x 3.32 µm ile 8.42 x 3.61 µm, makrokonidiosporlarda ortalama 27.27 x 3.84 µm ile 22.58 x 3.98 µm, klamidiosporlarda ise ortalama 8.55 µm ile 8.25 µm olarak belirlenmiştir (Claerbout vd., 2018). Etmenin morfolojisine ait bu genel özellikler yapmış olduğumuz çalışmada da belirlenmiştir. Yapmış olduğumuz ölçümler sonucunda mikrokonidiosporların ortalama 7.34 x 3.23 µm, makrokonidiosporların ortalama 24.32 x 3.88µm ve klamidiosporların ortalama 8.37 µm olduğu belirlenmiştir. Spor büyüklükleri dikkate alındığında diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Genellikle *Fusarium oxysporum* funguslarının moleküler teşhislerinde TEF1-α gen bölgesinden yararlanılmaktadır. TEF1-α gen bölgesi *Fusarium oxysporum* içerisinde yer alan alt türleri flogenetik olarak ayırt etmede güvenilir sonuçlar vermektedir (O'Donnell, Kistler, Cigelnik ve Ploetz, 1998; Castano, Scherm ve Aviles, 2014) Çalışmamızda TEF1-α gen bölgesinin EF-1 ve EF-2 primerleri ile çoğaltılması sonucunda 711bp

büyüklüğünde gen dizilişi elde edilmiştir. Bu gen dizilişinin NCBI veri bankasında daha önce tanılaması yapılmış izolatlar ile benzerlik gösterdiği ortaya konmuştur. Bu sonuç morfolojik olarak *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* olduğunu belirlediğimiz izolatı doğrulamıştır.

Çalışma esnasında izole etmiş olduğumuz izolatların biri dışında diğerlerinin virülensliklerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Patojenisite denemelerinde izolatların hastalık şiddeti değerleri %39.29 ile %100 arasında değişmiştir. Japonya'da yapılan bir çalışmada altı farklı *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatının farklı marul çeşitlerinde meydana getirmiş olduğu hastalık indeksi 0-4 skalası kullanılarak belirlenmiştir. İzolatlar çeşitler karşısında farklı hastalık indexs değerleri oluşturmuştur. Yapılan çalışma sonucunda izolatlar 3 farklı patojenik grupta toplanmıştır (Yamauchi, Horiuchi ve Satou, 2001).

Entomopatojen funguslar genelde tarım alanlarında zarar oluşturan böceklerle mücadelede kullanılmaktadır. Ancak *Alternaria porri* (Gothandapani vd., 2015), *Rhizoctonia solani* (Nair, Simon ve Lal, 2021) gibi bazı fungal patojenlere karşı antagonistik etkilerinin olduğu da belirlenmiştir. Çalışmamızda *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmenine karşı *Metarhizium anisopliae*'nın antagonistik etkisi *in vitro* koşullarda ikili karşılaştırma yöntemi ve kültür filtratı olmak üzere iki farklı metot ile belirlenmiştir. İkili karşılaştırma yönteminde *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine karşı en yüksek etkiyi %60.44 ile YK33 izolatı elde etmiştir. Bu yöntemde patojen ile antagonist arasındaki engelleme bölgesi YK33 izolatında 15.12 mm olarak belirlenmiştir. Önemli bitki patojenlerinden biri olan *Rhizoctonia solani*'ye karşı *Metarhizium anisopliae*'nın etkisi ikili karşılaştırma yöntemine göre denenmiştir. Deneme sonucunda *Rhizoctonia solani*'nin misel gelişmesi %60 oranında engellenmiştir (Nair, Simon ve Lal, 2021). İkili karşılaştırma yöntemi kullanılarak yürütülen bir çalışmada *Botrytis cinerea* etmenine karşı *Metarhizium anisopliae*'nin antifungal etkisi araştırılmıştır. Değerlendirmeler sonucunda *Botrytis cinerea* etmeninin misel gelişiminin %43.9 oranında engellendiği belirlenmiştir. Ayrıca bu yöntemde patojen ile antagonist arasında oluşan engelleme bölgesi de ölçülmüş ve bu bölgenin 6.3 mm olduğu saptanmıştır (Sarven vd., 2020). Kore'de yürütülen bir çalışmada aralarında *Metarhizium anisopliae*'nında bulunduğu bazı emtomopatojen fungusların etkileri *Myzus persicae* zararlısı ve *Botrytis cinerea* etmenine karşı araştırılmıştır. Yürütülen ikili karşılaştırma yönteminde sadece patojen ve antagonist arasında oluşan engelleme bölgesi

değerlendirilmiştir. *Metarhizium anisopliae* 1 mm engelleneme bölgesi oluştururken en yüksek engelleme bölgesini ise 5.2 mm ile *Beauveria bassiana* SD15 izolatı oluşturmuştur (Yun, Kim, Gwak, Shin ve Woo, 2017). Entomopatojen funguslardan biri olan *Metarhizium robertsii*'nin *Fusairum solani* patojenine karşı olan etkisinin araştırıldığı çalışmada kullanılan yöntemlerden birisi de ikili karşılaştırma yöntemidir. Bu yönteme göre *Metarhizium robertsii* patojenin misel gelişimini %59.4 oranında engellemiştir. Patojen ile *M. robertsii* arasında ise 5.9 mm engelleme bölgesi oluştuğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalardan da görüldüğü gibi bu yönteme göre entomopatojen fungusların etkileri %60 civarında gerçekleşmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Entomopatojen fungusların bitki patojenlerine karşı antifungal etkilerinin araştırıldığı diğer bir yöntemde entomopatojen fungusların kültür filtratlarının kullanılmasıdır. Çalışmamızda *M. anisopliae* izolatlarının kültür filtratları elde edilmiştir. Her bir izolata ait kültür filtratları %5, %10 ve %20 konsantrasyonlarda denenmiştir. Denemeler sonucunda konsantrasyonlar arttıkça kültür filtratların etkisinin de arttığı belirlenmiştir. En yüksek etki YK34 nolu izolatta elde edilmiştir. Bu izolat %5, %10 ve %20 konsantrasyonlarda sırasıyla %59, %68.11 ve %72.13 etki göstermiştir. Buğdayda başak yanıklığına neden olan *Fusarium graminearum* etmenine karşı *M. anisopliae*'nın kültür flitratının %1, %5, %10 ve %20 konsantrasyonları denenmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda %20 konsantrasyonda %81.1 oranında etki elde edilmiştir (Hao vd., 2021). *Botrytis cinerea* etmenine karşı *M. anisopliae*'nın kültür filtratının %1, %2, %5 ve %10'luk konsantrasyonlarının etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda *Botrytis cinerea* etmenine karşı %10 konsantrasyonunda %86.7 oranında etki elde edilmiştir. Ayrıca kültür filtratının %5 konsantrasyonunda gelişen *Botrytis cinerea* kolonilerine ait miseller mikroskop altında incelendiğinde hücre içi organellerinin büyük oranda yıkıma uğradığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada %10 konsantrasyonundaki kültür flitratının *Botrytis cinerea* etmeninin sklerotlarının çimlenmesi üzerine olan etkileri de araştırılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda sklerot çimlenmesinin %63.85 oranında engellendiği belirlenmiştir (Sarven vd., 2020).

İn vitro sonuçlarına göre seçilen sekiz adet *M. anisopliae* izolatının hem spor süspansiyonları hem de kültür filtratları saksı denemelerinde kullanılmıştır. Spor süspansiyonu denemesinde *M. anisopliae* izolatlarına ait spor süspansiyonları denemeden iki gün önce marul fidelerine uygulanmıştır. Deneme sonucunda en yüksek etki %65 ile

YK33 ve YK43 nolu *M. anisopliae* izolatlarında görülmüştür. *Metarhizium anisopliae*'ninde içerisinde yer aldığı entomopatojen funguslar bitkilerde endofit olarak bulunabilmektedir (Tadych, White ve Moselic, 2009). Bu funguslar bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılık mekanizmasını teşvik etmektedir (Jaber ve Ownley, 2018). Buğday başak yanıklığı hastalığına karşı yapılan bir çalışmada buğday tohumları *M. anisopliae* spor süspansiyonu ile kaplanmış ve çimlenmesi sağlanmıştır. Yapılan denemeler sonucunda *M. anisopliae*'nin çimlenen buğdayların hem kök yüzeyinde hem de kök içerisinde kolonize olduğu belirlenmiştir (Hao vd., 2021).

Kültür filtratı denemelerinde filtratlar; marul fidelerinin *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ile bulaştırılmış toprak bulunan saksılara dikiminden hemen sonra saksı topraklarına uygulanmıştır. Deneme sonrasında en yüksek etkiyi %67.62 ile YK43 izolatı elde etmiştir. Domates bitkisinin önemli patojenlerinden biri olan *Botrytis cinerea* etmenine karşı *M. anisopliae* izolatına ait kültür filtratının antifungal etkisinin araştırıldığı bir çalışma yürütülmüştür. Kültür filtratı koparılmış yaprak testinde %84.24 oranında etki göstermiştir. Kültür filtratı tüm bitkiye uygulandığında hastalığı önlemede %72.38 oranında etkili olmuştur. *Botrytis cinerea* etmeninin domates meyvesinde meydana getirmiş olduğu çürüklüğü önlemek amacıyla kültür filtratının %10'luk konsatrasyonu kullanılmış ve deneme sonucunda filtratın % 78 oranında etkili olduğu görülmüştür (Sarven vd., 2020). Fasulye bitkisinde kök çürüklüğüne neden olan *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* patojenine karşı *Metarhizium robertsii*'nin kültür filtratlarının antifungal etkisi araştırılmıştır. Çalışmada yapılan ölçümlerde kültür filtratının patojenin sporlarının çimlenmesini %65 oranında engellediği belirlenmiştir.

Metarhizium spp. çok sayıda metabolit üretmektedir. Bu metabolitler arasında destruxins, swainsonine, serinocyclins ve cytochalasins yer almaktadır (Krasnoff vd., 2007). Ancak bu metabolitler insektisidal ve fitotoksik etkiye sahiptir. Bitki patojenlerine etkileri henüz ortaya konmamıştır. Hem yapmış olduğumuz çalışma hem de şimdiye kadar yapılan çalışmalar *Metarhizium* spp.'lerin *F. oxysporum*, *Botrytis, Alternaria solani* gibi bitki patojenlerine karşı etkili olduğunu ortaya konmuştur (Sasan ve Bidochka, 2013).

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Marul üretim alanlarında ilk görüldüğü 1960'lı yıllardan sonra Dünya geneline yayılmaya başlayan *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmenin neden olduğu marul solgunluğu hastalığı, bulunduğu üretim alanlarında ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır. Hastalığın mücadelesine yönelik yapılan çalışmalarda dayanıklı çeşit geliştirmek, ekim dikim tarihlerinin ayarlanması gibi kültürel önlemler, kimyasal ve biyolojik mücadele konuları üzerinde durulmaktadır.

Çalışmamızda daha çok zararlılara karşı kullanılan entomopatojen fungus *Metarhizium anisopliae*'nin *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine karşı antifungal etkileri araştırılmıştır. Yürütülen çalışmalar sonucunda;

İn vitro koşullarda ikili karşılaştırma yöntemine göre patojenin misel gelişimini engellemede en yüksek etki YK 33 nolu izolatta %60.44 olarak belirlenmiştir. Bu yöntemde *Metarhizium anisopliae* ile temas eden patojene ait misellerinin büyüme noktalarında deformasyonlar görülmüştür.

Kültür filtratının kullanıldığı *in vitro* denemelerinde en etkili izolatın patojenin misel gelişimini %72.13 oranında engeleyen YK34 izolatı olduğu saptanmıştır.

Saksı denmelerinde ise *Metarhizium anisopliae*'nın spor süspansiyonu kullanıldığı uygulamada en iyi sonuç %65 ile YK33 ve YK43 izolatlarının kullanıldığı saksılarda belirlenmiştir. Kültür filtratının kullanıldığı denemede ise en iyi sonuç %67.62 ile YK 43 nolu izolatta elde edilmiştir.

Toprak kökenli bir patojene karşı hem *in vitro* hem de *in vivo* denemeleri sonucunda elde edilen bu veriler umut vericidir. Bu tür antagonist mikroorganizmalar özellikle entegre mücadele kapsamında diğer mücadele yöntemleri ile kombine edilerek kullanılabilmektedir. Bu grup mikroorganizmalar bitki köklerinde endofitik olarak bulunabilmektedir. Bitkilerde gelişimi ve dayanıklılığı teşvik edebilmektedirler. Aynı zamanda salgılamış oldukları sekonder metabolitlerin bazıları da antifungal etkiye sahiptir.

Entomopatojen fungusların böceklere karşı kullanımı bilinmektedir. Bu özelliklerine ilave olarak fungal patojenlere karşıda umutvar olmaları onları biyolojik mücadele

kapsamında önemli bir noktaya getirmektedir. İleride yapılacak olan çalışmalarda bu durumda göz önüne alınarak aynı anda hem zararalılara hem de hastalıklara karşı kullanım olanakları araştırılmalıdır. Diğer araştırılması gereken önemli bir konu da salgılamış oldukları metabolitlerdir. Bu metabolitlerin neler olduğu, hangi koşullarda maksimum salgılandığı ve hem zararlılara hem de hastalıklara karşı etkilerinin neler olduğu araştırılmalıdır.

5. KAYNAKLAR

Ahmed, A. I., Yadav, D. R., & Lee, Y. S. (2016). Applications of nickel nanoparticles for control of fusarium wilt on lettuce and tomato. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology,5*(5), 7378-7385.

Anonim, (2021, 3 Ocak). *Marul hastalıkları.* [Online]. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/ 128584/mod_resource/ content/0/12%20Marul.pdf

Aybak, Ç. H. (2002). *Salata ve Marul Yetiştiriciliği.* Hasad Yayıncılık. (s.96)

Bacon, C.W. (1993). Abiotic stress tolerances (moisture, nutrients) and photosynthesis in endophyte-infected tall fescue. *Agriculture, Ecosystems &Environment*, 44, 1–4.

Boyraz, N. & Baştaş, K.B. (2005). Kavun fusarium solgunluğuna bazı biotik ve abiyotik uyarıcıların etkileri. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*,19(37), 106-112.

Bucarei, L.B., Iglesias, A.F., González, M.G., Aguayo, G.S., Carrasco-Fernández, J., Castro, J. F. & Ampos, J. O. (2020). Antifungal activity of *Beauveria bassiana* endophyte against *Botrytis cinerea* in two solanaceae crops. *Microorganisms*, *8*(65),1-15.

CABI, (2022, 5 Haziran). *Invasive species compendium*. [Online]. https://www.cabi.org/isc/datasheet /24654#toDistributionMaps

Cabral, C. S. & Reis, A. (2013). Screening of lettuce accessions for resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 1. *Tropical Plant Pathology*, *38*(8), 275-281.

Carroll, G. (1988). Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology*, *69*, 2–9.

Castano, R., Scherm, B. & Aviles, M. (2014). Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in Southern Spain. *Journal of Mycology*, (3),1-14.

Claerbout, J., Venneman, S., Vandevelde, I., Decombel, A., Bleyaert, P., Volckaert, A., Neukermans, J. & Höfte, M. (2018). First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 4 on lettuce in Belgium . *Plant Disease*, *102*(5), 1037.

El-Sayed, S. F., Reyad, N. E. H. A., Abdel-Wahab, A., & Hanafy, A. M. (2018). Occurrence of lettuce fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in Egypt and its management by using solarization, metam sodium and certain of bioproducts. *Bioscience Research*, *15*(2), 602-609.

Eşiyok, D. (2012). *Kışlık ve Yazlık Sebze Yetiştiriciliği*. Meta Basım Matbaacılık

Hizmetleri. (s.404).

FAOSTAT (2022, 3 Ocak). *Crops and livestock products*. [Online]. https://www.fao.org/faostat/en /#data/QCL

Franco Ortega, S., Tomlinson, J., Gilardi, G., Spadaro, D., Gullino, M. L., Garibaldi, A., & Boonham, N. (2018). Rapid detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on soil, lettuce seeds and plants using loop-mediated isothermal amplification. *Plant Pathology*, *67*(7), 1462-1473.

Fujinaga, M., Ogiso, H., Shinohara, H., Tsushima, S., Nishimura, N., Togawa, M., & Nozue, M. (2005). Phylogenetic relationships between the lettuce root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* races 1, 2, and 3 based on the sequence of the intergenic spacer region of its ribosomal DNA. *Journal of General Plant Pathology*, *71*(6), 402-407.

Garibaldi, A., Gilardi, G. & Gullino, M. L. (2002). First report of *Fusarium oxysporum* on lettuce in Europe. *Plant Disease*, *86*, 1052.

Garibaldi, A., Gilardi, G. & Gullino, M.L. (2004). Seed transmission of *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*, *3*2(1), 61-65.

Gilardi, G., Tinivella, F., Gullino, M. L., & Garibaldi, A. (2005). Seed dressing to control *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *112*(3), 240-246.

Gilardi, G., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2007). Effect of antagonistic *Fusarium* spp. and of different commercial biofungicide formulations on fusarium wilt of lettuce. *Phytoparasitica*, *35*(5), 457-465.

Gilardi, G., Franco Orteg, S., van Rijswick, P. C. J., Ortu, G., Gullino, M. L. & Garibaldi, A. (2017a). A new race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* of lettuce. *Plant Pathology*, *66*, 677–688.

Gilardi, G., C. Pons, B. Gard, S. Franco-Ortega & Gullino, M. L. (2017b). Presence of fusarium wilt, incited by *Fusarium oxysporum* f.sp. l*actucae*, on lettuce in France. *Plant Disease, 101*(6), 1053.

Gilardi, G., Gullino, M.L. & Garibaldi, A. (2017c). Soil disinfestation with dimethyl disulfide for management of fusarium wilt on lettuce in Italy. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *124*(4), 361-370.

Gordon, T. R. & Koike. S. T. (2015). Management of fusarium wilt of lettuce. *Crop Protection*, *73*, 45-49.

Gothandapani, S., Boopalakrishnan, G., Prabhakaran, N., Chethana, B. S., Aravindhan, M., Saravanakumar, M. & Ganeshan, G. (2015). Evaluation of entomopathogenic fungus against *Alternaria porri* (Ellis) causing purple blotch disease of onion. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *48*(2), 135-144.

Hao, Q., Albaghdady, D. M. D., Yannong Xiao, Y., Xiao, X., Mo, C., Tian, T. & Wang, G. (2021). Endophytic *Metarhizium anisopliae* is a potential biocontrol agent against wheat fusarium head blight caused by *Fusarium graminearum, Journal of Plant Pathology, 103*(3), 875–885.

Herrero, M. L., Nagy, N. E., & Solheim, H. (2021). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* race 1 causing fusarium wilt of lettuce in Norway. *Plant disease*, *105*(8), 2239.

Hubbard, J. C. & Gerik, J. S. (1993). A new wilt disease of lettuce incited by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucum* forma specialis nov. *Plant Disease, 77*, 750–754.

Jaber, L. R., & Ownley, B. H. (2018). Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? *Biological Control 116*, 36–45.

Karabörklü S., Altın, N. & Keskin, Y. (2019). Native entomopathogenic fungi isolated from Duzce, Turkey and their virulence on the mealworm beetle *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Philippines Agricultural Scientist, 102*(1), 82-89.

Krasnoff, S. B., Keresztes, I., Gillilan, R. E., Szebenyi, D. M. E., Donzelli, B. G. G., Churchill, A. C. L. & Gibson, D. M. (2007). Serinocyclins A and B, cyclic heptapeptides from *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Natural Products*, *70(12)*, 1919–1924.

Koike, S. T., Gladders, P., & Paulus, A. O. (2007). *Vegetable Diseases: a Color Handbook*. Gulf Professional Publishing. (s.448)

Lindqvist, K. (1960). On the origin of cultivated lettuce. *Hereditas*, *46*(3-4), 319-350.

Lopez-Reyes, J. G., Gilardi, G., Garibaldi, A. & Gullino, M. L. (2014). Efficacy of bacterial and fungal biocontrol agents as seed treatments against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* on lettuce. *Journal of Plant Pathology*, *96* (3), 535-539.

Matheron, M. E., McCreight, J. D., Tickes, B. R., and Porchas, M. (2005). Effect of planting date, cultivar, and stage of plant development on incidence of fusarium wilt of lettuce in desert production fields. *Plant Disease*, *89*(6),565-570.

Matheron, M. E., & Porchas, M. (2010). Evaluation of soil solarization and flooding as management tools for fusarium wilt of lettuce. *Plant Disease*, *94*(11), 1323-1328.

Matheron, M. E. (2015, 12 Haziran). *Biology and management of fusarium wilt of lettuce*. [Online]. College of Agriculture, University of Arizona (Tucson, AZ). https://desertagsolutions.org/sites/desertagsolutions.org/files/Fusarium%20wilt%20of%20lettuce%20-%20Coop %20Extension%20pub_MM.pdf

Matuo, T. & Motohashi S. (1967). On *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* n.f. causing root rot of lettuce. *Transactions of the Mycological Society of Japan*, *8*, 13–15.

Mbofung, G. C. Y. & Pryor, B. M. (2010). A PCR-based assay for detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in lettuce seed. *Plant Disease*, *94*(7), 860-866.

Meyling, N. V., Arthur, S., Pedersen, K. E., Dhakal, S., Cedergreen, N. & Fredensborg, B. L. (2018). Implications of sequence and timing of exposure for synergy between the pyrethroid insecticide alpha-cypermethrin and the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Pest Management Science*, *74*(11), 2488–2495.

Motohashi, S., Abe, Z. & Ogawa, T. (1960). Root rot of lettuce caused by *Fusarium* sp. *Annual Phytopathology society of Japan*. 25, 47.

Nair, M. M. Simon, S. & Lal, A. A. (2021). Effect of *Metarhizium anisopliae* on *Rhizoctonia solani* and *Meloidogyne graminicola* in rice seedlings. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 10*(03), 895-903.

O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E. & Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(5), 2044 –2049.

Paugh, K. R. & Gordon, T. R. (2020). The population of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in California and Arizona. *Plant Disease*, *104*(6),1811-1816.

Pintore I, Gilardi G, Gullino ML & Garibaldi A, (2017). Analysis of vegetative compatibility groups of Italian and Dutch isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*. *Journal of Plant Pathology*, *99*(2), 517–21.

Raid, R. N. (2004). Lettuce diseases and their management. İçinde *Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II* (ss. 121-147). Springer.

Rath, A. C. (2000). The use of entomopathogenic fungi for control of termites. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 563-581.

Reddy, K. R. K., Praveen Kumar, D., & Reddy, K. R. N. (2013). Entomopathogenic fungi: a potential bioinsecticide. *Kavaka*, *41*, 23-32.

Roberti, R., Ghisellini, L. & Innocenti, G. (1993). Biological control of blackleg of beet (*Phoma betae*) by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Plant Diseases and Protection 100*(2), 203-210.

Rua, M. A. McCulley, R. L. & Mitchell, C. E. (2013). Fungal endophyte infection and host genetic background jointly modulate host response to an aphid-transmitted viral pathogen. *Journal of Ecology*, *101*, 1007–1018.

Saikkonen, K., Wali, P., Helander, M. & Faeth, S. H. (2004). Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends in Plant Science*, *9*(6), 275–280.

Sarven, M.S., Hao, Q., Deng, J. Yang, F., Wang, G., Xiao, Y. & Xiao, X. (2020). Biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea* with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Pathogens*, *9*(3), 1-17.

Sasan, R. K. & Bidochka, M. J. (2013). Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *35*(3), 288-293.

Scott, J.C., Kirkpatrick, S.C. & Gordon, T.R. (2010). Variation in susceptibility of lettuce cultivars to fusarium wilt caused by *Fusairum oxysporum* f.sp. *lactucae*. *Plant Pathology*, 59; 139-146.

Scott, J. C., Gordon, T. R., Kirkpatrick, S. C., Koike, S. T., Matheron, M. E., Ochoa, O. E., Truco, M. J. & Michelmore, R.W. (2012). Crop rotation and genetic resistance reduce risk of damage from fusarium wilt in lettuce. *California Agriculture*, *66*(1), 20-24.

Scott, J. C., McRoberts, D. N. & Gordon, T. R. (2014). Colonization of lettuce cultivars and rotation crops by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*, the cause of fusarium wilt of lettuce. *Plant Pathology*, *63*(3), 548-553.

Seki, K., Komatsu, K., Hiraga, M., Tanaka, K., Uno, Y. & Matsumura, H. (2020). Identification off two QTLs for resistance to fusarium wilt race 1 in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Euphytica*, *216*(11), 1-11.

Soylu, S., Sertkaya, E., Üremiş, İ., Bozkurt, İ. A. & Kurt, Ş. (2017). Hatay ili marul (*Lactuca sativa* L.) ekim alanlarında görülen önemli hastalık etmenleri, zararlı ve yabancı ot türleri ve yaygınlık durumları. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *22*(1), 23-33.

Şalk, A., Arın, L. Deveci, M. & Polat, S. (2008). *Özel Sebzecilik.* Sevil Cilt Evi ve Matbaası. (s. 488)

Tadych, M., White, J. F. & Moselio, S. (2009). Endophytic microbes. İçinde *Encyclopedia of Microbiology*. (ss.431–442).Elsevier.

Taylor, A., Jackson, A. C. & Clarkson, J. P. (2019). First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 4 causing lettuce wilt in England and Ireland. *Plant Disease*, *103*(5),1033.

TUİK (2022, 4 Ocak). *Bitkisel Üretim İstatistikleri.* [Online]. https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. İçinde *PCR Protocols: A Guide to methods and applications* (ss. 315–322). New York, Academic Press.

Yamauchi, N., Horiuchi, S. & Satou, M. (2001). Pathogenicity groups in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on horticultural types of lettuce cultivars. *Journal of General Plant Pathology*, *67*, 288-290.

Yadav, D. R., Adhikari, M., Kim, S. W., Kim, H. S., & Lee, Y. S. (2021). Suppression of fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* and growth promotion on lettuce using bacterial isolates. *Journal of Microbiol Biotechnology*, *31*(9),1241-1255.

Yadav, R.N., Rashid, Md. M., Zaidi, N.W., Kumar, R. & Singh, H.B. (2019). Secondary metabolites of *Metarhizium* spp. and *Verticillium* spp. and their agricultural applications. İçinde *Secondary metabolites of plant growth promoting rhizomicroorganisms* (s. 404) Springer.

Yıldız, F. (2012, 4 Ocak). *Bitki Fungal Hastalıkları*. [Online]. https://avesis.ege.edu.tr/resume/ download file/figen.yildiz?key=7ca65174-1af8-42b5-ae7a-740b582c4b72

Yun, H. G., Kim, D. J., Gwak, W. S., Shin, T. Y. & Woo, S.W. (2017). Entomopathogenic fungi as dual control agents against both the pest *Myzus persicae* and phytopathogen *Botrytis cinerea*. *Mycobiology*, *45*(3), 192-198.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Remzi SAĞLIK

Yabancı Dili :İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü	Çukurova Üniversitesi	2014
Lise	Sayısal Bölümü	Mehmet Orhun Yaylacı Anadolu Lisesi	2010

YAYINLAR

Sağlık R., Altın, N. (2022) Marulda Solgunluğa Neden Olan *Fusarium oxysporum f. sp. Lactucae* Etmenine Karşı *Metarhizium anisopliae*'nın Biyokontrol Potansiyelinin Belirlenmesi Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 35(5), 335-340