



Marulda Solgunluğa Neden Olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* Etmenine Karşı *Metarhizium anisopliae*'nin Biyokontrol Potansiyelinin Belirlenmesi

Remzi Sağlık^{1,2}, Nedim Altın^{3*}

^{1*} Düzce Üniversitesi, Lisansüstü Enstitüsü, Düzce, Türkiye

² Sakarya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Sakarya, Türkiye (ORCID: 0000-0001-8270-2505), remzisaalik0102@gmail.com

³ Düzce Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki koruma Bölümü, Düzce, Türkiye (ORCID: 0000-0003-1267-7951), nedimaltin@duzce.edu.tr

(İlk Geliş Tarihi 27 Ocak 2022 ve Kabul Tarihi 31 Mart 2022)

(DOI: 10.31590/ejosat.1063983)

ATIF/REFERENCE: Sağlık, R. & Altın, N. (2022). Marulda Solgunluğa Neden Olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* Etmenine Karşı *Metarhizium anisopliae*'nin Biyokontrol Etkisinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (35), 335-340.

Öz

Bu çalışma entomopatojen fungus olan *Metarhizium anisopliae*'nin marulda solgunluk hastalığına neden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine karşı antagonistik etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Marul tarlalarından alınan hastalıklı bitkilerden *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* izolasyonu yapılmıştır. Daha önceki çalışmalardan elde edilen *Metarhizium anisopliae* izolatlarının antagonistik etkileri *in vitro* koşullarda ikili karşılaştırma yöntemine göre belirlenmiştir. *In vivo* koşullarda ise saksı denemeleri yapılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda *in vitro* koşullarda *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine karşı en iyi yüksek etkiyi % 60.44 ile YK33 izolatı göstermiştir. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* patojeni ile *Metarhizium anisopliae*'nin YK33-c izolatı arasında ise 15.12 mm'lik engelleme bölgesi oluşmuştur. Saksı denemelerinde ise en az hastalık şiddeti % 30 ile YK33-c ve Yk43-b izolatlarında görülmüştür. Kontrole göre yapılan etki değerlendirmesinde her iki izolat hastalığa karşı % 65 etki göstermiştir. Elde edilen bu sonuçlar marulda solgunluğa neden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine karşı entomopatojen fungus olan *Metarhizium anisopliae*'nin kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Entomopatojen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*, Marul, *Metarhizium anisopliae*

Determination of the Biocontrol Potential of *Metarhizium anisopliae* Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* Causing Wilt in Lettuce

Abstract

This study was carried out to determine the antagonistic effect of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*, which causes wilt disease in lettuce. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* was isolated from diseased plants taken from lettuce fields. The antagonistic effects of *Metarhizium anisopliae* isolates obtained from previous studies were determined according to dual culture methods *in vitro* conditions. Pot experiments were carried out under *in vivo* conditions. As a result of the experiments, YK33 isolate showed the highest effect with 60.44% against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in vitro conditions. A 15 mm inhibition zone was formed between the pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* and the YK33-c isolate of *Metarhizium anisopliae*. In pot experiments, the least disease severity was determined with 30% in YK33-c and Yk43-b isolates. Both isolates showed 65% effect against disease in the effect evaluation compared to the control. These results revealed that the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* can be used against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*, which causes wilt in lettuce.

Keywords: Entomopathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*, Lettuce, *Metarhizium anisopliae*

* Sorumlu Yazar: nedimaltin@duzce.edu.tr

1. Giriş

Marulda solgunluk hastalığına neden olan *Fusarium oxysporum* Schldl.: Fr. f. sp. *lactucae* Matuo ve Motohashi son yıllarda Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de marul üretiminde ciddi sorunlara yol açmaktadır. *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmeni ilk kez 1955 yılında Tokyo’da tespit edilmiştir (Matuo ve Motohaski, 1967). Bu ilk tespitin ardından Amerika Birleşik Devletlerinde 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 vd. 2019) tespit edilmiştir.

Etmenin Dünya genelinde 4 adet ırkı bulunmaktadır. İrk 1 ilk kez 1967 yılında Japonya’da tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu ırk ABD, İran, Tayvan, Brezilya, Portekiz, Arjantin ve İtalya’da da belirlenmiştir. Şu ana kadar yapılan çalışmaların sonucuna göre İrk 2 sadece Japonya’da bulunmaktadır. İrk 3 ise Japonya ve Tayvan’da belirlenmiştir. Avrupa kıtasında son yıllarda 4 nolu ırk da yayılmaya başlamıştır. İlk olarak 2015 yılında Hollanda’da tespit edilen 4 nolu ırk daha sonra Belçika, İrlanda ve İngiltere’de de tespit edilmiştir (Gilardi vd. 2017a).

Marul yetiştiriciliğinde son yıllarda sorun oluşturmaya başlayan bu hastalık ile mücadele oldukça zordur. Toprak ve tohumla taşınabilen etmenle mücadelede daha çok entegre mücadele yaklaşımı ön plana çıkmaktadır. Bu kapsamda dayanıklı çeşit, hastalıktan ari ve ilaçlı tohum kullanma, bulaşık toprakların tarla içi ve yakın çevresine olan hareketinin engellenmesi, münavebe, dikim tarihinin ayarlanması ve biyolojik mücadele gibi konular çalışılmaktadır (Gordon ve Koike, 2015).

F. oxysporum f.sp. *lactucae* etmenine karşı biyolojik mücadele çalışmaları kapsamında *Pseudomonas chlororaphis* (Cedomon), *Bacillus subtilis* strain QST 713 (Serenade), *Bacillus subtilis* strain FZB 24 (Natürlich), *Bacillus subtilis* strain MBI 600 (Subtilex), *Streptomyces griseoviridis* strain K61 (Mycostop MIX), *Pythium oiygandrum* (Polyversum), *Trichoderma harzianum* T 22 (RootShield) ve *T. harzianum* + *T. viride* (Remedier) gibi ticari biyofungisitlerin etkileri araştırılmıştır (Gilardi vd. 2005; Gilardi vd. 2007).

Hastalıklar ile biyolojik mücadelede son yıllarda dikkati çeken diğer bir antagonist grup da entomopatojen funguslardır. Esas olarak zararlı böceklere karşı kullanılan entomopatojen fungusların son yıllarda bazı hastalık etmenlerine karşı da etkileri araştırılmaktadır. Günümüze kadar tanımlanan yaklaşık 700 entomopatojen fungus türü arasında *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*) ve *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) türleri ticari olarak üretilerek çeşitli zararlılara karşı kullanılmaktadır (Rath, 2000; Meyling vd. 2018). Zararlılara karşı etkili olan *M. anisopliae*’nın aynı zamanda *Fusarium oxysporum*, *Curvularia clavata* ve *Cladosporium herbarum* (Ravindran vd. 2014), *Alternaria porri* (Gothandapani vd. 2015), *Botrytis cinerea* (Sarven vd. 2020), *Rhizoctonia solani* (Nair vd. 2021) ve *Fusarium graminearum* (Hao vd. 2021) gibi bitki patojeni

funguslara karşı da antagonistik etki gösterdiği yapılan çalışmalarda belirlenmiştir.

Bu çalışmada entomopatojen fungus olan *M. anisopliae*’nin marulda solgunluk hastalığına neden olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine karşı antagonistik etkileri araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Patojen İzolasyonu

Marul üretimi yapılan tarlalara gidilerek solgunluk belirtisi gösteren marul bitkileri toplanmış ve bu bitkilerden izolasyonlar yapılmıştır. Hastalıklı bitki parçalarından 1 cm’lik parçalar alınmış ve %1’lik sodyum hipoklorit içerisinde 1-2 dk yüzeysel dezenfekte edilmiştir. Hastalıklı bitki parçaları steril su ile durulandıktan sonra kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuş ve PDA içeren petrilere yerleştirilerek, 24°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda petrilere gelişen *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* kolonileri PDA içeren petrilere aktararak saf kültürler elde edilmiştir. Bu saf kültürlerden tek spor kültürleri elde edilmiş ve test tüplerine aktararak, çalışmanın bundan sonraki aşamalarında kullanılmak üzere +4°C’de muhafaza edilmiştir.

2.2. Patojenisite Testleri

Tek spor kültürleri yapılan *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatları PDA besiyerinde 24°C’de 10 gün süreyle geliştirilmiştir. Bu sürenin sonunda her petriye 5 ml steril saf su ilave edilmiş ve spatül ile sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Thoma lamı yardımıyla spor süspansiyonu konsantrasyonu 10⁶ 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 steril toprak bulunan saksılara dikilmiştir. Her izolat için 7 saksı kullanılmıştır. Saksılar gündüz sıcaklığı 33°C, gece sıcaklığı 23°C olacak şekilde 14 saatlik fotoperiyotta bekletilmiştir (Paugh ve Gordon, 2020). Deneme tesadüf parsellerine göre 7 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Değerlendirme inokulasyondan 15 gün sonra 0-4 skalasına (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) göre yapılmıştır (Gilardi vd. 2017b). Skala değerleri Townsend-Heuberger formülüne uygulanarak hastalık şiddeti değeri belirlenmiştir.

$$\text{Hastalık şiddeti \%} = \frac{\sum (n.V)}{Z * N} * 100$$

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. Entomopatojen *Metarhizium anisoplae* İzolatları

Çalışmada Düzce ilinde yapılan çalışmalar esnasında elde edilmiş ve *Tenebrio molitor* larvaları üzerinde yüksek etki göstermiş *M. anisoplae* izolatları kullanılmıştır (Karabörklü vd. 2019). Düzce Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümündeki stok kültürlerinden alınan izolatlar denemede kullanılmak üzere Patates Dekstroz Agar (PDA) besisi ortamına ekilmiş ve 24 °C’de inkübe edilmiştir.

2.4. Antifungal Aktivitelerin Belirlenmesi

2.4.1. *In vitro* Denemeleri

M. anisoplae izolatlarının antagonistik etkileri ikili karşılaştırma yöntemine göre belirlenmiştir. PDA besisi ortamında geliştirilen bir haftalık *M. anisoplae* izolatlarından 5 mm çapında misel diskler alınmıştır. Bu misel diskleri PDA besisi ortamı bulunan petrilere petri kenarından 2 cm uzağa yerleştirilmiştir. Petriler 24°C’de 2 gün süre ile inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda bir haftalık *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* kültüründe alınan 5 mm çapındaki misel diskler *M. anisoplae* disklerinin tam karşısına petri kenarından 2 cm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiştir. Kontrol grubundaki petrilere ise tek başına *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* kültüründen alınan diskler yerleştirilmiştir. Değerlendirme, kontrol grubundaki petrilere patojen fungus petriyi tamamen kapladığında yapılmıştır. Çalışma, her bir petri kutusu bir tekerrür olarak kabul edilerek, 5 tekerrürlü kurulmuştur. Değerlendirmede kontrol petrideki patojenin yarı çapı ve antagonist uygulaması yapılan petrilere patojenin yarı çapı ölçülmüştür. Elde edilen veriler ile aşağıdaki formül kullanılarak antagonistlerin (izolatların) yüzde engelleme oranları belirlenmiştir (Bucarei vd. 2020).

$$\text{Engelleme oranı \%} = \frac{R1 - R2}{R1} * 100$$

R1 = Kontrol petrideki patojen fungusun yarıçapı

R2 = İkili kültür petrililerindeki patojen fungusun yarıçapı

2.4.2. *In vivo* Denemeleri

F. oxysporum f. sp. *lactucae* izolatı kepek ortamında 14 gün süreyle geliştirilmiş ve sterilize edilmiş toprak ile 1:20 oranında karıştırılmıştır. PDA besisi ortamında 7 gün süreyle geliştirilmiş her bir *M. anisoplae* izolatı ile 10⁷ spor/ml konsantrasyonunda spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Marul fidelerine saksılara dikimden 2 gün önce her bir fideye 20 ml olacak şekilde bu spor süspansiyonundan verilmiştir. Antagonist 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 saatlik 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. İstatistiksel Analiz

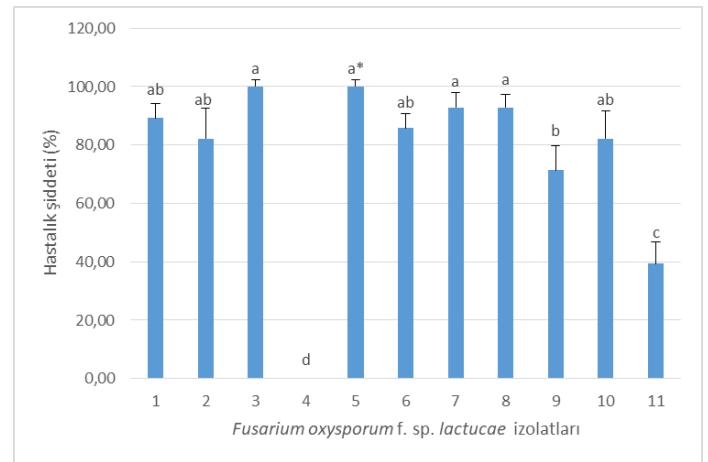
Misel gelişimindeki engelleme oranları ve hastalık şiddeti değerleri Abbott formülü kullanılarak antagonist izolatları ait etkiler hesaplanmıştır. Antagonist izolatları ait etkilerin karşılaştırılmasında SPSS programı (SPSS 17.0 commercial software, SPSS, Inc., Chicago, IL) kullanılarak varyans analizi

(tek-faktör ANOVA) yapılmıştır. Ortalamalar %95’lik güven aralığında Tukey testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

3.1. Patojen İzolasyonu ve Patojenisite Testi

Hastalıklı marul bitkilerden alınan örneklerden yapılan izolasyonlar sonucunda 11 adet izolat elde edilmiştir. Bu izolatlar 11 farklı marul tarlasını temsil etmektedir. Bu izolatlar ile yapılan patojenisite denemesi sonucunda 4 nolu izolatın patojen olmadığı belirlenmiştir. *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin 3 ve 5 nolu izolatlarına ait hastalık şiddeti % 100 olarak belirlenmiştir. En düşük hastalık şiddeti değeri ise % 39.29 ile 11 nolu izolatta elde edilmiştir. *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatlarının çoğunun virülensliğinin yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 1). Antifungal aktivitelerinin belirlenmesi denemelerinde 5 nolu izolat kullanılmıştır.



Şekil 1. *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* izolatlarının patojenisite sonuçları (Figure 1. Pathogenicity results of *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* isolates)

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

3.2. Antifungal Aktivitelerin Belirlenmesi

Bu çalışmada marulda solgunluk hastalığına neden olan *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* etmenine karşı entomopatojen fungus *M. anisoplae* kullanılmıştır. *In vitro* denemeleri ikili karşılaştırma yöntemine göre yürütülmüştür. Deneme sonucunda kontrol petrilere *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* etmenine ait misel gelişimi 53.14 mm olarak ölçülmüştür. İkili karşılaştırma yöntemine göre hem *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* hem de *M. anisoplae* etmenlerinin bulunduğu petrilere *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* etmenine ait en fazla misel gelişimi 30.18 mm ile YK35 izolatının olduğu petride gerçekleşmiştir. En az misel gelişimi ise 21.02 mm ile YK33 izolatının olduğu petride belirlenmiştir. Diğer petrilere *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* etmeninin misel gelişimi bu iki değer arasında gerçekleşmiştir (Tablo 1).

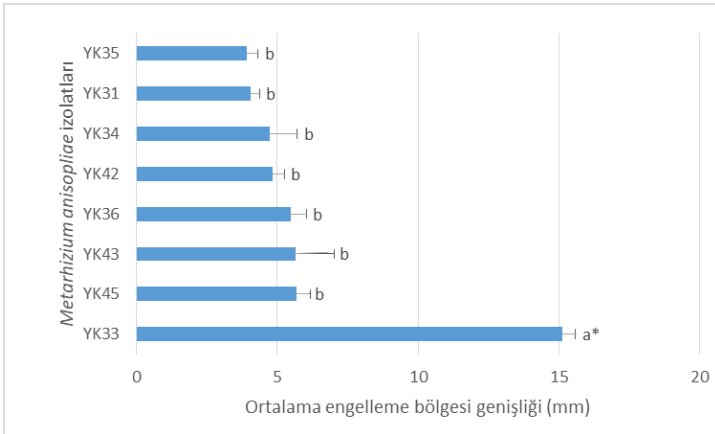
Çalışmada kullanılan *M. anisoplae* izolatları kontrol ile karşılaştırıldığında en yüksek etki % 60.44 ile YK33 izolatında, en düşük etkinin ise % 43.21 ile YK35 izolatında görülmüştür (Tablo 1). Genelde YK 33 izolatı dışındaki diğer izolatların birbirlerine yakın etki değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 1. *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin misel gelişimi üzerine *M. anisopliae* izolatlarının etkileri (Table 1. Effects of *M. anisopliae* isolates on mycelial growth of *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*)

<i>M. anisopliae</i> izolatları	Ortalama misel gelişimi (mm)±SH	Ortalama etki (%)±SH
YK33	21.02±0.54a*	60.44±0.98a*
YK45	27.82±0.62b	47.65±1.196b
YK43	28.26±1.26bc	46.82±2.37b
YK36	28.4±0.87bc	46.55±1.65b
YK42	29.08±0.98bc	45.29±1.84b
YK34	29.36±0.75bc	44.75±1.38b
YK31	29.5±0.68bc	44.47±1.26b
YK35	30.18±0.25c	43.21±0.46b
Kontrol	53.14±0.19d	

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır (P ≥ 0.05). SH: Standart hata

İkili karşılaştırma yönteminde patojen fungus ile *M. anisopliae* arasında bir engelleme bölgesi oluşmaktadır (Şekil 2). Engelleme bölgelerinin ölçümleri sonucunda en yüksek engelleme bölgesi 15.12 mm ile YK33 izolatında elde edilmiştir. Diğer izolatlarda ise engelleme bölgesi 3.92 mm ile 5.68 mm arasında değişmiştir.



Şekil 2. İkili karşılaştırma yöntemine göre *M. anisopliae* izolatları ile *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeni arasındaki engelleme bölgesi genişliği. (Figure 2. The width of the inhibition zone between *M. anisopliae* isolates and *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* according to dual culture method)

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

İn vivo koşullarda Maritima marul çeşidi ile yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar Tablo 2’de verilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda kontrol saksılarda ortalama % 85 hastalık şiddeti belirlenmiştir. En düşük hastalık şiddeti % 30 ile YK33 ve YK43 izolatında elde edilirken en yüksek hastalık şiddeti % 60 ile YK 42 izolatında elde edilmiştir. Abbot formülü kullanılarak yapılan yüzde etki hesaplamalarına göre en yüksek etki % 65 ile YK 33 ve YK43 izolatlarında elde edilirken en düşük etki % 28.33 ile YK 42 izolatında elde edilmiştir.

Tablo 2. *M. anisopliae* izolatlarının *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin hastalık şiddeti üzerine etkileri (Table 2. The effects of *M. anisopliae* on disease severity of *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*)

<i>M. anisopliae</i> izolatları	Ort.Hastalık şiddeti (%)±SH	Ort. Etki (%)±SH
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 harflerle gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır (P ≥ 0.05). SH: Standart hata

Marulda *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmeninin neden olduğu solgunluk hastalığı marul yetiştiriciliğinde % 100’e kadar varabilen ürün kayıplarına neden olmaktadır (Taylor vd. 2019). Bu çalışma sonucunda etmenin önemli marul üretim merkezlerinden biri olan Sakarya ilinde de bulunduğu belirlenmiştir. Sakarya ilindeki marul tarlalarından alınan hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen 11 adet *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatından 10 adedinin virulent olduğu belirlenmiştir. Patojenisite testi sonucunda ise dokuz adet izolatın hastalık şiddeti değeri % 71.43 ile % 100 arasında değişmiş olup bu izolatların virülensliğinin yüksek olduğu görülmüştür. Benzer şekilde yapılan bazı çalışmalarda da elde edilen *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatların genelde virülensliğinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Gilardi vd. 2017b).

F. oxysporum f. sp. *lactucae* etmeninin mücadelesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden birisi de biyolojik mücadeledir. Bu çalışmalarda *Pseudomonas chlororaphis* (Cedomon), *Bacillus subtilis* strain QST 713 (Serenade), *Bacillus subtilis* strain FZB 24 (Natürlich), *Bacillus subtilis* strain MBI 600 (Subtilex), *Streptomyces griseoviridis* strain K61 (Mycostop), *F. oxysporum* strains MSA 35 (Agroinnova), *Pythium oiygandrum* (Polyversum) gibi biyolojik preparatlar kullanılmıştır. Bunların içerisinde en iyi etkiyi *F. oxysporum* strains MSA 35 elde etmiştir (Gilardi vd. 2005).

Son zamanlarda bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede kullanım olanakları araştırılan diğer bir grupta entomopatojen funguslardır. Bu funguslar entomopatojen özellikleri dışında bitkilerde endofitik yaşama, uyarılmış dayanıklılığı teşvik etme, bitki büyümesini teşvik etme, besin alınımını artırma ve bitki hastalıklarına karşı antagonistik etki gibi avantajlara sahiptir (Dara, 2019). Yapılan bazı çalışmalarda *M. anisopliae*’nin *Rhizoctonia solani* (Nair vd. 2021), *Fusarium graminearum* (Hao vd. 2021), *Botrytis cinerea* (Sarven vd. 2020), *Alternaria porri* (Gothandapani vd. 2015) gibi bitki patojenlerine karşı etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmalarda entomopatojen fungus olan *M. anisopliae*’nin bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

Çalışmamızda ikili karşılaştırma yöntemine göre yapılan denemede *M. anisopliae*’nin YK33 izolatı *F. oxysporum* f. sp.

lactucae'nin misel gelişimini engellemede % 60.44 oranında etkili olmuştur. Aynı zamanda bu izolat ile *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* arasında 15.12 mm'lik engelleme bölgesi olduğu belirlenmiştir. *M. anisopliae*'nin *Botrytis cinerea* etmenine karşı etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada *Botrytis cinerea*'nin misel gelişimini engelleme oranının % 43.9 ve engelleme bölgesi genişliğinin 6.3 mm olduğu saptanmıştır (Sarven vd. 2020). İkili karşılaştırma yöntemine göre yapılan diğer bir çalışmada *M. anisopliae*'nin bitki patojeni *Rhizoctonia solani*'nin misel gelişimini engelleme oranı % 62.2 olarak belirlenmiştir (Nair vd. 2021). Dara vd. (2018) tarafından *M. anisopliae*'nin çilekte patojen olan *Macrophomina phaseolina* etmenine karşı fungitoksik etki gösterdiği bildirilmektedir. Farklı bir tür olan *M. robertsi* ile yapılan çalışmada *Fusarium solani* etmeninin misel gelişimini engelleme oranı % 59.4, engelleme bölgesi ise 5.9 mm olarak belirlenmiştir (Sasan, 2012).

M. anisopliae ile iklim odası, sera ve tarla koşullarında çeşitli hastalıklara karşı yapılan çalışmalarda farklı yöntemler kullanılmıştır. Tohum kaplama yöntemi ile yapılan çalışmada *M. anisopliae* 37 izolat *Phoma betae* etmenin neden olduğu hastalığı % 62.2 oranında, *M. guizhouense* Bk41 izolatının ise mısırdaki *Fusarium graminearum* etmeninin meydana getirdiği kök çürüklüğü belirtilerini % 22 oranında azalttığı belirlenmiştir (Roberti vd. 1993; Franco, 2018). Kaliforniya'da izole edilen *M. anisopliae* izolatı ile saksılarda bulunan çilek fideleri ile bir çalışma yürütülmüştür. Yapılan çalışmada saksı toprağına *Macrophomina phaseolina* etmeni bulaştırmadan bir hafta önce *M. anisopliae* izolatı verilen saksılarda en iyi sonuç elde edilmiştir (Dara vd. 2018). Çalışmamızda da saksı denemelerinde patojenden 2 gün önce *M. anisopliae* izolatları toprağına uygulanmıştır. Denemenin sonucunda en düşük hastalık şiddeti ortalama % 30 oranında YK33 ve YK43 izolatında elde edilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında bu izolatların ortalama etkisinin % 65 olduğu saptanmıştır. Özellikle toprak kökenli hastalıklara karşı *M. anisopliae*'nin patojenlerden önce toprağına bulaştırılmasının elde edilen etkiyi arttırdığı görülmektedir.

4. Sonuç

Yapılan çalışma entomopatojen bir fungus olan *M. anisopliae*'nin marulda solgunluğa neden olan *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* etmenine karşı mücadelede umutvar olduğunu ortaya koymuştur. *M. anisopliae*'nin bitki hastalıklarına karşı antagonistik etkilerinin yanı sıra uyarılmış dayanıklılığı teşvik etme, bitki büyümesini teşvik etme, besin alınımını artırma gibi etkilerinin de olması önemlidir. *M. anisopliae*'nin hem entomopatojen özelliklere sahip olması hem de patojenlere karşı etkili olması dikkate alındığında entegre mücadelede en önemli argümanlardan birisi haline gelebileceği düşünülmektedir.

5. Teşekkür

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından Yüksek Lisans Tez projesi olarak desteklenmiştir (Proje no: 2020.11.02.1075).

Yazarlar *Metarhizium anisopliae* izolatlarının temini için Prof. Dr. Salih KARABÖRKLÜ'ye teşekkür eder.

Kaynakça

Bucarei, L.B., Iglesias, A.F., González, M.G., Aguayo, G.S., Fernández, J.C., Castro, J.F. & Campos, J.O. (2020).

Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two Solanaceae Crops. *Microorganisms*, 8, 65.

Claerbout, J., Venneman, S., Vandeveld, 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, 1037.

Dara, S.K. (2019). Non-Entomopathogenic Roles of Entomopathogenic Fungi in Promoting Plant Health and Growth. *Insects*, 10, 277.

Dara, S.S.R., Dara, S.S. & Dara, S.K. (2018). Preliminary Report on the Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* s.l. in Antagonizing the Charcoal Rot Causing Fungus *Macrophomina phaseolina* in Strawberry. *E-J. Entomol. Biol.* Erişim:10.01.2022, <<https://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=28274>>

Franco, F.R. (2018). A new approach for delivery of entomopathogenic fungi for plant protection against insect pests and plant diseases via maize seed coating. Lincoln University, Thesis of Doctoral, Christchurch-New Zealand.

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., Franco Orteg, S., van Rijswijk, 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. *lactucae*, on Lettuce in France. *Plant Disease*, 101(6), 1053.

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.

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., Xueqiong Xiao, X., Chenmi 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, 875-885.

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.

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.

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, 13-5.

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, 2488–2495.
- Nair, M.N., Simon, S. & Lal, A.A. (2021). Effect of *Metarhizium anisopliae* on *Rhizoctonia solani* and *Meloidogyne graminiicola* in Rice Seedlings. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.*, 10(03), 895-903.
- Paugh, K.R. & Gordon, T.R. (2020). The population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* in California and Arizona. *Plant disease*, 104,1811-1816.
- Rath, A.C. (2000). The use of entomopathogenic fungi for control of termites. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 563-581.
- Ravindran, K., Chitra, S., Wilson, A. & Sivaramakrishnan, S. (2014). "Evaluation of antifungal activity of *Metarhizium anisopliae* against plant phytopathogenic fungi," in *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security* (New Delhi: Springer), 251–255.
- 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.
- Sarven, M.S., Hao, Q., Deng, J., Fang 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. (2012). The analysis of *Metarhizium robertsii* potential as endophytic plant root coloniser, plant growth enhancer and antagonist to bean root pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseolis*. Brock Universty, Thesis of MSc, St. Catharines, Ontario
- 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), 1033-1033.