

Biological Control of White Mold Disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) on Lettuce by Using Fungal Antagonists

Figen YILDIZ¹ Başak ÇENBERCİ ÇOŞKUN²

¹Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100 Bornova, İZMİR

²Kansas State University, College of Agriculture, Department of Entomology, Manhattan, Kansas, USA

Corresponding author e-mail: figen.yildiz@ege.edu.tr

Accepted by 2 August 2017

ABSTRACT

Sclerotinia sclerotiorum is one of the most destructive fungal disease agent on lettuce. The pathogen cause the watery soft rots and produce the overwintering structures known as sclerotium. Inadequate control by using fungicides on disease agent and increasing the resistance to fungicides is accelerated necessities of the biological control studies. The most virulent isolate of *S.sclerotiorum* was selected among the samples collected from lettuce producing area. The sclerotia collected from the pathogen isolate were used as bait for isolation of biocontrol agent of parasitic fungi. Thirty fungal isolates were tested for their antagonistic characteristics using dual cultures. The isolate H1/2 showed the most strong hyperparasitic activity (67.60%) on detached leaf test. Among them, three isolates having antibiosis effect (A1/1,A3/5, A3/6) and eight isolates (H1/2, H5/1,H7/1, H7/2,H7/3, H10/1,H13/1, H18/2) having hyperparasitic activity were evaluated for ability of control of the disease. *Gliocladium* spp. (H1/2), having hyperparasitic activity, significantly reduced the disease incidence as 54.79% in the pot tests.

Key words: Lettuce, *Sclerotinia sclerotiorum*, antagonist, sclerotium

ÖZET

Marulda Beyaz Çürüklük Hastalığı'nın (*Sclerotinia sclerotiorum*) Fungal Antagonistlerle Biyolojik Mücadelesi

Sclerotinia sclerotiorum, marulun en önemli hastalık etmenlerinden birisidir. Patojen, kök ve kök boğazında yumuşak çürüklüklere neden olur ve toprakta kışlamasına neden olan sklerot yapıları oluşturur. Hastalık etmeni ile savaşmada kullanılan fungusitlerin patojeni engellemekte yetersiz kalması ve fungusun dayanıklılık kazanması nedeniyle biyolojik savaşım çalışmaları hız kazanmıştır. Çalışmada, marul yetiştirilen alanlardan toplanan örnekler içerisinde en virulent *S. sclerotiorum* izolatu seçilmiştir. Bu izolattan elde edilen sklerotlar tuzak olarak kullanılmış ve sklerotları parazitleyen funguslar izole edilmiştir. İn vitroda yapılan ikili testlerde 30 fungus, antagonizma özelliklerine göre testlenmişlerdir. Hiperparazitik etki gösteren funguslar içerisinde H1/2 izolatu koparılmış yaprak testlerinde en yüksek parazitik etkiyi (%67.60) göstermiştir. Daha sonra antibiyosis etkiye sahip 3 (A1/1, A3/5, A3/6) ve hiperparazit etkiye sahip 8 (H1/2, H5/1,H7/1,H7/2,H7/3,H10/1,H13/1, H18/2) antagonistik fungus, saksı koşullarında marul fidelerinde hastalığı kontrol açısından incelenmiştir. Saksı testleri sonuçlarına göre, hiperparazit etkiye sahip *Gliocladium* spp.(H1/2) izolatu kontrole göre %54.79 etkililik göstermiştir.

Anahtar sözcükler: Marul, *Sclerotinia sclerotiorum*, antagonist, sklerot

GİRİŞ

Marul, *Asteraceae* (*Compositae*) familyasının üyesi olup, başta Akdeniz bölgesi olmak üzere dünyada pek çok ülkede yetiştiriciliği yapılan bir sebzedir. Dünyada marul üretimi yapılan toplam alan 1,062,958 hektardır.

BIOLOGICAL CONTROL OF WHITE MOLD DISEASE (*SCLEROTINIA SCLEROTIORUM*) ON
LETTUCE BY USING FUNGAL ANTAGONISTS

Toplam marul üretimi ise; 23,622,366 tondur. Marul üretimi yapan ülkelerin başında %48 üretim miktarı ile Çin,% 20 üretim miktarı ile Amerika Birleşik Devletleri gelmektedir (Anonymous, 2016). Ülkemizde yaygın olarak üretilen sebzelerden birisi olan marul, 2015 yılında 447.492 ton üretilmiş ve bu miktarın 47,470 tonu diğer ülkelere ihraç edilmiştir. Ülkemizde, marul üretiminin yüksek olduğu bölgeler Akdeniz, Marmara ve Ege bölgeleridir. Ege bölgesindeki toplam marul üretimi ise 61.527 tondur (Anonymous, 2015).

Marulda görülen pek çok önemli hastalık etmeni bulunmaktadır. Bunlar içerisinde beyaz çürüklük hastalığına neden olan *Sclerotinia* türleri, toprak kaynaklı patojenler arasında önemli bir yer tutmaktadır. Yoğun olarak enfekteli bitkiler tümüyle ölmekte; daha az enfekteli bitkiler ise ürün, boyut ve ağırlıkta oluşan kayıplar nedeniyle pazar değerini kaybetmektedir (Van Beneden et al., 2009; Clarkson et al., 2014). *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary bitki patojenleri arasında en polifag olanlarından biridir. Kaynaklarda, 64 familyaya bağlı 225 cins ve bu cinslere bağlı 400'den fazla bitki türünün bu patojene duyarlı olduğu bildirilmektedir (Purdy, 1979; Boland and Hall, 1994).

Sıcak ve tropik bölgeler dışında geniş bir konukçu dizisini etkileyen *S. sclerotiorum* nedeniyle oluşan kayıpların, bazı tarlalarda % 5 ile %85 arasında olduğu saptanmıştır (Tu, 1989; Pratt, 1992). Ülkemizde yapılan ve İzmir, Manisa ve Aydın illerini kapsayan bir araştırmada; bölgede görülen zarar derecesinin %2,11 olduğu saptanmıştır (Yıldız, 1969). Ayrıca, bitki çeşitlerinin patojene karşı reaksiyonları üzerine ve toprak solarizasyonuna yönelik araştırmalar da yapılmıştır (Çetinkaya, 1987; Yanar, 2005). Soylu ve ark. (2016) Hatay ili marul ekim alanlarında en sık rastlanılan fungal hastalıkların başında *S.sclerotiorum*'un neden olduğu beyaz çürüklük hastalığının geldiğini bildirmişlerdir.

Serin ve nemli ortamlar etmenin gelişimi için optimum koşullar olmakla birlikte, çok sıcak ve soğukta gelişme göstermemektedirler (Singleton et al., 1992; Pratt., 1992).

S. sclerotiorum toprakta oluşturduğu dayanıklı yapılar nedeniyle savaşımı zor olan bir hastalık etmenidir. Kültürel savaşım, kimyasal savaşım, biyolojik mücadele ve dayanıklı çeşit, *S. sclerotiorum* etmeni ile mücadelede kullanılan yöntemler arasındadır (Subbarao, 1998). Etmen ile savaşta kültürel önlemlerin çok önemli yeri vardır. Örneğin; toprakta fazla nem bulunmasını önlemek için iyi bir drenaj sağlanması, hava neminin fazla yükselmesine yol açan yağmurlama sulamadan kaçınılması, patojenle bulaşık toprakta uzun süreli bir ekim nöbeti programı uygulanması, etmeni zararsız düzeye getirilebilir. Bunun yanı sıra bitki sıklığı da bir diğer faktör olarak önem kazanmaktadır. Sıra aralarının artırılması ve sıra üzerindeki bitki sayısının azaltılması, bitkiler arasında havalandırma sağladığı için, hastalık çıkışında ortaya çıkan uygun koşulların oluşumu riskini de azaltabilmektedir (Saharan and Mehta., 2008). Sklerotlardan arı temiz tohumluk kullanılması, toprakta bulunan sklerotların havasızlıktan çürüyüp ölmesi için tarlanın 23-45 gün gibi uzun bir süre su altında bırakılması, hasattan sonra bitki artıklarının tümüyle toplanarak yakılması veya derine gömülmesi gibi önlemler hastalığı engellemede önemli faktörler olarak görülmektedir. Toprakta bulunan sklerotların apotesyum oluşturmasının önlenmesinde malçlama uygulamaları da önemli kültürel işlemlerden sayılabilir. Bunun yanı sıra seralarda nem ve sıcaklığın kontrol altında tutulması ve havalandırmaya özen gösterilmesi ve ayrıca seralarda buharla toprak sterilizasyonu başarılı sonuç vermektedir (Hall., 1990). Toprak solarizasyonu toprakta bulunan sklerotların yaşamasını ve apotesyum oluşturmasını azaltmaktadır. Bu azalış daha çok toprağın 5 cm gibi üst kısımlarında bulunan sklerotları öldürmekte oldukça etkili olurken, 10-15 cm lik derinliklerdeki etkileri daha az olabilmektedir (Saharan and Mehta,2008).

Sclerotinia gibi patojenik fungusların toprak içerisindeki varlıklarını ortadan kaldırmak için toprak fümigantları içerisinde en etkili uygulamalar arasında yer alan metil bromidin yasaklanmasından sonra, alternatif bazı fümigantlardan 1,3 diclopropene+dazomet ve dimetil disülfid + basamid kombinasyonlarının bu amaca yönelik etkililikleri araştırılmıştır. Bu araştırma kapsamında, gerek örtü altında gerekse açık alanda yapılan yetiştiricilikte, fümigantların kombinasyon halindeki uygulamalarından iyi sonuçlar alınmıştır (Van Wambeke et al., 2010).

Ticari olarak *Sclerotinia* hastalıklarına dayanıklı marul çeşitlerinin bulunmaması, patojenin oldukça geniş bir konukçu dizisine sahip olması nedeniyle, ürün rotasyonu da hastalığın önlenmesinde yeterli olmamaktadır. Bu nedenle; bu hastalığa karşı, fungusit uygulamaları yoğun olarak kullanılmaktadır. *S.sclerotiorum*'a karşı, dicloran, iprodione ve vinclozolin gibi fungusitler, ancak orta derecede bir kontrol sağlayabilmektedir (Matheron and

Porchas., 2004). Bu fungusitler ayrıca, toprakta kısa süre kalarak, hızla parçalanmaktadırlar. Bunun yanı sıra iprodione ve vinclozolin'e karşı gelişen bir dayanıklılık da görülmektedir.

Ülkemizde, *S.sclerotiorum* ile kimyasal savaşım programlarında iprodine, procymidone, fenhexamid ve fludioxanil gibi fungusitler önerilmektedir (Yücer, 2007). Dicarboximide grubu içinde yer alan iprodione ülkemizde hıyarda *Sclerotinia sclerotiorum* için ruhsatlıdır.

Pestisitlerden kaynaklanan ve yaprağı yenen bu sebze grubunda ortaya çıkan kalıntı riskleri, hastalığın önlenmesinde kimyasal olmayan uygulamaların araştırılmasını gündeme getirmektedir (Chitrampalam et al., 2008). Genel savaşım stratejilerinin içerisinde gittikçe önem kazanan biyolojik savaşım çalışmaları, sklerot yapısına sahip bu patojen için de geçerlidir. Biyolojik savaşım çalışmalarında, sklerotların ağırlıklı olarak mikoparazitik funguslar tarafından parazitlenmesi yönündeki araştırmaların yoğunluk kazandığı görülmektedir. Bu çalışmaların başarılı olması sonucunda etkili bulunan bazı antagonistik fungusların ticari olarak da formüle edildiği görülmektedir. Mikoparazit funguslar içerisinde *Trichoderma* spp., *Sporodesmium sclerotivorum* ve *Coniothyrium minitans* *Gliocladium* spp., *Fusarium*, *Hormodendrum*, *Penicillium* gibi mikoparazitler sayılabilir (Adams et al., 1981; Stoneman., 2002). *C.minitans* ve *Gliocladium virens* bu patojenin parazitlenmesinde önemli bir potansiyele sahip antagonistler arasındadır (Mercier and Reeled., 1987; Knudsen et al., 1991; Menendez and Godeas, 1998; Jones and Stewart, 2000; Schmiedeknecht et al., 2001; Fernando et al., 2004., Li et al., 2005; Chitrampalam et al., 2008 ve 2010; Huang and Erickson, 2008; Kim and Knudsen, 2009).

Pek çok toprak patojenine karşı antagonistik bir potansiye sahip bir toprak fungusu olan, *Clonostachys rosea* (*Gliocladium roseum*) *S.sclerotiorum* gibi sklerotlu funguslarda da etkili olmaktadır. Bu fungusun antifungal etkileri petri testlerinde incelenmiş ve *C.rosea*'nın ürettiği antifungal maddelerin patojenin miseliyal gelişimini engelleyerek sklerot oluşumunu durdurduğu ortaya konmuştur. Benzer etkilerin *in vitro* yanısıra saksıda yetiştirilen hıyar ve soya fasulyesi bitkilerde yapılan testlerde de etkili olduğu belirtilmiştir (Rodriguez et al., 2011).

Ülkemizde *Sclerotinia* ile yapılan biyolojik savaşım çalışmalarına bakıldığında *Trichoderma* spp. ve *Bacillus* spp. gibi bazı fungal ve bakteriyel antagonistlerin domates ve hıyar bitkilerinde etkileri üzerinde çalışmaların bulunduğu görülmektedir (Aksay ve ark., 1991). Benzer şekilde hastalığın baskılandığı farklı bölgelerden izole edilen *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp.'ye ait antagonistik bakteri izolatlarının gerek marul ve gerekse diğer sebzelerde sorun olan *S.sclerotiorum*'unda içinde yer aldığı pek çok toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Soylu ve ark., 2005; Soylu, 2011; Kara ve ark., 2016; Kara et al., 2017). Domateslerde *S.sclerotiorum* ve *S.rolfsii*'nin biyolojik ve kimyasal yollarla önlenmesi üzerinde yapılan bir doktora çalışmasında, bazı fungusit, gübre ve bir *Trichoderma* preparatının etkileri incelenmiştir. Bitki gelişimi açısından *Trichoderma* etkili bulunmuştur (Irshad ve Onoğur., 2002).

Erzurum'da ayçiçeğinde *S. sclerotiorum* ve *S.minor* ile yapılan bir biyolojik savaşım çalışmasında, fungal ve bakteriyel antagonistlerin hem *in-vitro* hem de *in-vivo* denemeleri yapılmıştır. Bu araştırma sonucunda, *Alternaria alternata*, *T. harzianum*, *Ulocladium atrum*, *Verticillium tenerum* gibi fungal, *B.subtilis*, *Enterobacter pyrinus* gibi bazı bakteriler etkili bulunmuştur (Tozlu ve Demirci., 2011).

S.sclerotiorum'un marulda neden olduğu hastalıklardan dolayı meydana gelen ürün kayıplarının azaltılması ile ilgili çalışmalar önem kazanmaktadır. Bu amaçla çalışmamızda, marullarda önemli bir çürüklük etmeni olan *S.sclerorum* hastalığının biyolojik mücadele yöntemleriyle azaltılmasına yönelik araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırma, antagonistik nitelikteki bazı fungal etmenlerin izolasyonu ve mikoparazitik etkilerini *in-vitro* ve *in-vivo* koşullarda ortaya koyma çalışmalarını kapsamaktadır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Patojen ve antagonistik fungusların geliştirilmesi için su agar (SA) ve patates dextroz agar (PDA) besi yerleri kullanılmıştır. Laboratuvar ve saksı koşullarında yapılan testlerde, iki farklı marul çeşidi kullanılmıştır. Patojen

BIOLOGICAL CONTROL OF WHITE MOLD DISEASE (*SCLEROTINIA SCLEROTIUM*) ON
LETTUCE BY USING FUNGAL ANTAGONISTS

enfeksiyonunun yaprak şekli açısından daha net olarak görülebildiği yağlık marul *Lactuca sativa capitata* L. Janschen çeşidi laboratuvar koşullarında patojen izolatları belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Patojen izolatları belirleme testlerinde kullanılan marul bitkileri, pazarlardan temin edilmiştir. Etkililik araştırmalarının yapıldığı saksı testlerinde ise; *L. sativa crispa* L. iceberg marul çeşidi kullanılmıştır. Bu bitkiler viyollerde köklendirilmiş olarak hazır olarak temin edilmiş ve kullanılmıştır. Çalışmada, antagonistlerle karşılaştırma yapmak amacıyla iprodione (Rovral WP 50, Bayer) önerilen dozda saksılara uygulanmıştır.

Sclerotinia sclerotiorum izolatları, marul yetiştiriciliği yapılan İzmir (Torbalı, Ödemiş, Bornova ve Bayındır), Manisa (Salihli), Balıkesir (Bandırma) il ve ilçelerinde açıkta ve örtü altında yetiştirilen marul tarlalarından alınan örneklerden elde edilmiştir.

Yöntem

***Sclerotinia sclerotiorum* izolatlarının toplanması ve izolasyonu**

Marul yetiştiriciliği yapılan alanlardaki hastalık belirtisi gösteren bitkilerden patojen izolasyonları yapılmıştır. Hastalıklı bitki örnekleri laboratuvara getirilerek kök bölgesi çeşme suyu altında yıkanmıştır. Bitki kök boğazından elde edilen sklerotlar, % 0,5 lik sodyum hipoklorit ile 3 dakika yüzey dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra su agar besiyerine ekilmiştir. Gelişen koloninin petri yüzeyini kaplamasından sonra kültürler, PDA besi yerine transfer edilerek saflaştırılmış, daha sonra PDA besi yeri içeren tüplerde saklanmıştır.

Patojenisite testleri

Elde edilen *S. sclerotiorum* izolatlarının virulensliklerini belirlemek için koparılmış yaprak testi uygulanmıştır. Bunun için çeşme suyunda yıkanan marul yaprakları kurutulduktan sonra, patojen izolatların 4 mm çapındaki diskleri yaprağın her iki tarafına karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Kontrol yapraklar üzerine boş PDA diskleri konmuştur. Yapraklar, altlarında nemlendirilmiş kurutma kağıtları bulunan, üzeri kapatılmış plastik kapların içerisinde 20°C'de karanlıkta inkube edilmiştir. Yapraklar üzerinde gelişen lezyonların çapı 3 gün sonra ölçülerek kaydedilmiştir (Van Beneden et al., 2009).

Sklerotlarının kitle halinde üretilmesi

Antagonistik fungusların izolasyonu için çok sayıda sklerot üretimi gerekmektedir. Bu amaçla, küçük parçalar halinde kesilen havuçlar 1 litrelik erlenlerin 1/4 ini kaplayacak şekilde hazırlanıp otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. *S. sclerotiorum*'un 5 günlük kültürlerinden cork borer yardımıyla 1 cm çapında olan 3 disk parçası alınarak soğutulmuş erlenlere aktarılmıştır. Erlenlere inokule edilen patojen kültürler 22°C'de 15 gün boyunca sklerot oluşturunca kadar inkube edilmişlerdir. Elde edilen sklerotlar daha sonra kurutulularak steril cam kaplarda 4°C'de kullanılıncaya kadar bekletilmişlerdir (Gracia-Garza et al., 1997., Zeng et al., 2012).

***S. sclerotiorum*'a karşı antagonist etkideki fungusların elde edilmesinde toprak örneklerinin hazırlanması**

Hastalık belirtilerinin görülmediği marul bitkilerinin yetiştirildiği bahçelerin topraklarından örnekler alınmıştır. Toprağın 10 cm'lik derinliğinden alınan örnekler, PVC torbalar içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Toprak örnekleri 3-5 gün boyunca oda sıcaklığında kurutulmuş ve 2mm lik eleklerden geçirilerek elenmiştir. Toprak örnekleri alındıkları yerlere göre numaralandırılarak, işlem yapılıncaya kadar 10°C'de bekletilmişlerdir (Rabeendran et al., 1998).

Topraktan antagonist adaylarının tuzak sklerotlar ile izolasyonu

Antagonistik fungusların elde edilmesi için 1 litrelik cam beherler kullanılmıştır. Beherler daha önce alındıkları yerlere göre etiketlenmiş ve elenerek hazırlanmış topraklar ile doldurulmuştur. Kültürde çoğaltılarak hazırlanan 5'şer adet sklerot tül torbalara konarak her bir saksıya 5 sklerot torbası gelecek şekilde yaklaşık 5-10 cm derinliğinde gömülmüştür. Yaklaşık 2 hafta sonra topraktan çıkarılan torbalarda bulunan sklerotlar akar su altında yıkanmıştır. Sklerotlar daha sonra %1 lik sodyum hipokloritte (NaOCl) yüzey dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra,

besi yerlerine ekilmiştir. Sklerotlar üzerinden gelişen funguslar PDA besi yerinde saflaştırılmıştır (Gracia-Garza et al., 1997).

Antagonistik fungusların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi

Antagonistik fungusların *in vitro* etkililiklerini belirlemek için PDA içeren besi yerlerinde testler yapılmıştır. Bunun için aday antagonistik fungusun gelişmiş kültüründen alınan 5 mm çapındaki bir disk, petri kabının kenarından 1 cm uzaklığa ekimi yapılmıştır. Fungus kültürleri 23°C de 2 gün boyunca gelişmesi için inkube edilmiştir. Daha sonra yine PDA besi yerinde 3 gün boyunca geliştirilmiş *S.sclerotiorum* kültüründen 5 mm çapındaki disk aynı petri kabının 6 cm uzaklığına ekilmiştir. Petriler 3 gün boyunca inkubatörde geliştirildikten sonra iki fungus arasında gelişen inhibisyon zonu (IZ) ölçülerek ve skala yardımıyla değerlendirilmiştir (Li et al., 2003). Mikoparazitik etki de benzer şekilde skalaya göre değerlendirilmiştir (Bell et al., 1982). Tek başına veya aday antagonist funguslarla birlikte inokule edilmiş petriler 2 ay boyunca sklerot oluşumları beklendikten sonra, gelişen sklerotların yüzey dezenfeksiyonu yapılmış ve daha sonra, su agar içerisine alınarak parazitlenen sklerotlar saptanmıştır.

Mikoparazitlerin seçimi

Sklerotların tuzak olarak kullanılmasıyla elde edilen aday antagonistlerin testlerinde kullanılacak toprak 70°C'de 30 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir. Aday antagonistlere ait kültürler, 5 gün boyunca PDA içeren besi yerlerinde geliştirilerek ve 5×10^3 konidi/g gelecek şekilde spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Sterilize edilmiş ve kurutulmuş topraklar, sklerotlar üzerinden izole edilmiş fungal inokulum ile bulaştırılmış ve iyice karıştırıldıktan sonra 7-8 cm çaplı saksılara aktarılmıştır. Her bir saksıya daha önce hazırlandığı gibi içerisinde 50 sklerot içeren tül torbalardan 1 tanesi yaklaşık 1 cm derinliğe gömülmüştür. Bu işlemler, her bir fungus için 10 saksıda yapılmıştır. İnokule edilen saksılar laboratuvarında 22°C'de karanlıkta bekletilerek düzenli aralıklarla su ile ıslatılmıştır. Yaklaşık 20 gün sonra topraktan çıkarılan sklerotlar çeşme suyunun altında yıkanmıştır. Her saksıdan geri alınan sklerotlar sayılarak kaydedilmiştir (Zizzerini and Tossi., 1985).

Sklerotların canlılıklarını testlemek için, nemlendirilmiş kurutma kağıtları bulunan petri kaplarına yüzey sterilizasyonu yapılmış 5 adet sklerot 9 cm çaplı petri kaplarına göre kesilen marul yaprakları üzerine konmuştur. Marul yaprakları üzerine konan bu sklerotlar 10 gün boyunca 22°C'de 12 h ışık altında inkube edilmişlerdir. Sklerotlar üzerini kaplayan mikoparazitik kolonizasyon mikroskop altında incelenmiştir (Gracia-Garza et al., 1997).

Saksı testleri

Topraklar otoklavda sterilize edildikten sonra, 1 lt' lik saksılara doldurulmuştur. Hazırlanan saksıların her birisine daha önce kitle halinde üretilen sklerotlardan 9 tanesi bulaştırılmıştır. Antagonistik özellik gösteren fungusların kültürlerinden elde edilen spor süspansiyonları, 100 ml su içerisinde hazırlanarak, sklerot verilen saksı topraklarına inokule edilmiştir. Etmene bulaştırılan topraklar ertesi gün 10 cm derinliğe kadar elle karıştırılarak fide dikilinceye kadar inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemlerden yaklaşık 15 gün sonra 3-4 yapraklı marul fideleri 9 tekrarlı olarak, her bir saksıya 1 fide gelecek şekilde dikilmişlerdir. Uygulamalarda, sklerot ve antagonist uygulaması yapılanlar, sadece sklerot verilen saksılar ve fungusit (İprodione) uygulaması yapılan kontrol uygulaması yer almıştır. Hastalıklı bitki sayıları dikimden 40 gün sonra, 0-10 skalası (0=hastalık belirtisi yok, 1-9=%10-90 nekrotik lezyon, 10=%100 nekrotik yaprak belirtisi ve ölü bitki) yardımıyla değerlendirilmiştir (Fiume and Fiume, 2005). Hastalık şiddeti değerleri Tawsend-Heuberger formülüne göre hesaplanmıştır.

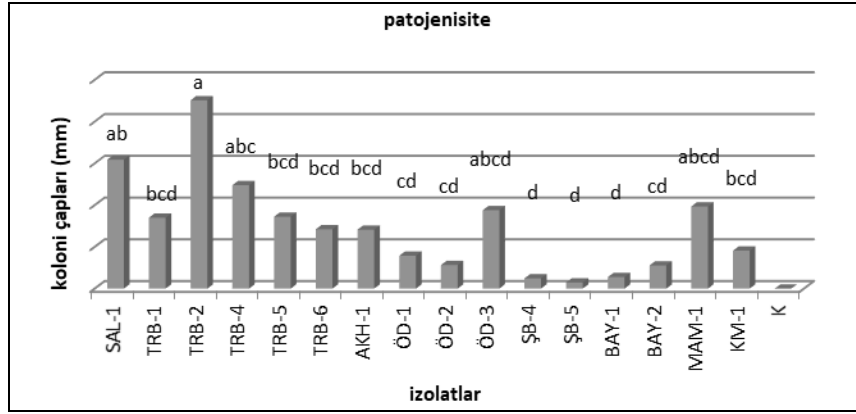
SONUÇLAR

***Sclerotinia sclerotiorum* izolatları ile patojenisite testi sonuçları**

İzmir, Manisa ve Balıkesir'e bağlı ilçelerdeki marul yetiştirilen alanlardan kök boğazlarında yumuşama ve çürüklük belirtisi gösteren veya sklerot içeren bitkiler toplanarak laboratuvara getirilmiştir. Patojen izolatlarının elde edilmesi için kök boğazı bölgelerinden yapılan izolasyonlarda, 17 adet *S.sclerotiorum* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlardan bir tanesinde (ŞB-3) yapraklar üzerinde lezyon gelişimi gözlenmemiştir. Bu izolatlarla kesilmiş

BIOLOGICAL CONTROL OF WHITE MOLD DISEASE (*SCLEROTINIA SCLEROTIORUM*) ON LETTUCE BY USING FUNGAL ANTAGONISTS

yapraklarla yapılan patojeniste testleri sonucunda elde edilen izolatlar ve oluşan hastalık şiddeti değerleri Şekil 1’de verilmektedir. Yaprak testleri sonucunda izolatlar arasında en yüksek lezyon çapı oluşturarak virulensi en yüksek olarak bulunan izolat, Torbalı-2 (TRB-2) olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 1. Patojeniste testi sonucunda *Sclerotinia sclerotiorum* izolatlarının virulenslik düzeyleri

Antagonistik funguslarla *in vitro* testler

Marul yetiştirilen topraklardan yöntem kısmında belirtildiği şekilde, tuzak olarak kullanılan sklerotlar üzerinde antagonistik özellik gösteren fungusların izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Sklerotların üzerinden izole edilen aday antagonistlerin etki mekanizmalarından antibiyosis ve hiperparazitik etkileri saptamak için *in vitro*'da testler yapılmıştır. Bu amaçla en yüksek virulenslik düzeyine sahip *S.sclerotiorum* (TRB-2) izolatı seçilerek, aday antagonistler PDA besiyerlerinde karşılıklı olarak geliştirilmişlerdir. Antibiyotik etki funguslar arasındaki zonların (IZ) ölçülmesi ile hiperparazitik etki ise; bir skala yardımıyla değerlendirilmiştir (Şekil 2). *In vitro* testlerde elde edilen izolatların antagonistik test sonuçları Çizelge 1’de görülmektedir.

Çizelge 1. Aday antagonistik fungusların *Sclerotinia sclerotiorum* karşısındaki durumları

İzolat	Engelleme zonu genişliği (IZ) (mm)	Skala değeri (1-5)	Etki biçimine göre durum	İzolat	Engelleme zonu genişliği (IZ) (mm)	Skala değeri (1-5)	Etki biçimine göre durum
A1/1	12.13	-	*KA	H7/3	0	1	KH
H1/2	0	1	***KH	H10/1	0	1	KH
1/3	0	5	Etkisiz	H10/1	0	1	ZA
3/1	0	5	Etkisiz	H13/1	0	1	KH
3/2	0	5	Etkisiz	H13/2	0	1	KH
A3/3	0.25	-	**ZA	16/1	0	5	Etkisiz
3/4	0	5	Etkisiz	18/1	0	5	Etkisiz
A3/5	6.57	-	KA	H18/2	0	1	KH
A3/6	7.19	-	KA	21/1	0	5	Etkisiz
4/1	0	5	Etkisiz	23/1	0	5	Etkisiz
4/2	0	5	Etkisiz	A23/2	1.86	-	ZA
H5/1	0	1	KH	25/1	0	5	Etkisiz
6/1	0	5	Etkisiz	25/2	0	5	Etkisiz
H7/1	0	1	KH	25/3	0	5	Etkisiz
H7/2	0	1	KH	26/1	0	5	etkisiz

* KA: kuvvetli antibiyosis (engellenme zonu 7-10 mm)

**ZA: zayıf antibiyosis (engellenme zonu <3mm)

***KH: Hiperparazit skala değerleri (1-5 skalası): 1:hiperparazit tüm yüzeyi kaplıyor,2: ortam yüzeyinin 3/2'sini kaplıyor.3: Patojen ve hiperparazit ortamda yarı yarıya gelişiyor, 4: Patojen ortamın en az 3/2'sini kaplıyor, 5: Patojen hiperparazitin üzerini tamamen kaplıyor.

Mikoparazitlerin Seçimi

Hiperparazitik etki gösteren 8 fungal izolat, toprak içerisinde sklerotların tuzak olarak kullanılması yöntemi ile incelenmişlerdir. Mikoparazitik etki gösteren funguslar sterilize edilmiş topraklara, yöntemde belirtildiği şekilde inokule edilmişlerdir. Saksılardaki tül torbalar içerisinde bırakılan 50 sklerot, 20 gün sonra topraktan çıkarılmıştır. Çıkarılan torbalar içerisindeki sklerotlar çeşme suyu altında yıkanmış, sklerotlar sayılmış ve değerlendirilmiştir. Sklerotların canlılığının testlemek amacıyla steril kurutma kağıtlı petri kaplarının içerisine marul yaprakları yüzey dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra konmuştur. Filtre kağıtları ıslatılarak yaprakların kuruması önlenmiştir. Her bir petri kabına 5 adet sklerot bırakılmış ve 10 gün süresince 22°C de inkube edilmişlerdir. Sklerotlar daha sonra binokuler altında miselyum gelişimi, mikoparazit gelişimi ve sporulasyonları açısından incelenmişlerdir. Test sonuçlarına göre hiperparazitik funguslar tarafından parazitlenen sklerotlar topraklarda geri alındıktan sonra değerlendirilmişlerdir. Değerlendirmede sklerotlardaki parazitlenme skala değerlerine, topraktan geri alınan sklerot sayılarına ve parazitik etkilerine göre yüzde olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Sklerotlar üzerinde mikoparazitik etki gösteren fungusların durumu

Hiperparazit etki gösteren İzolatlar	Skala değerlerine göre sklerot sayıları*					Topraktan geri alınan sklerot sayıları	Parazitik etki (%)
	1	2	3	4	5		
H1/2	6	6	1	2	28	43	67.60
H5/1	50	-	-	-	-	50	00.00
H7/1	40	6	3	-	1	50	26.40
H7/2	39	3	1	1	2	46	24.80
H7/3	42	8	-	-	-	50	23.20
H10/1	35	7	4	2	2	50	31.60
H13/1	35	8	0	5	2	50	32.40
H18/2	40	1	0	0	9	50	32.80
Kontrol	50	0	0	0	0	50	-

*: Skala değerleri: 1: sklerotta parazitlenme yok; 2: sklerotta %25 parazitlenme; 3: sklerotta %50 parazitlenme; 4: sklerotta %75 parazitlenme; 5: sklerotta %100 parazitlenme.

Mikoparazitik fungusların sklerotlar üzerindeki parazitlenme durumları makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir. Bazı petri kaplarında yer alan sklerotlar değişik saprofitik funguslar (*Mucor* spp., *Aspergillus* spp vs) ile bulaştığı için değerlendirme yapılamamıştır. Skala değeri 1 ve 2 olan izolatların verildiği sklerotlarda çimlenme görülürken, 3-5 değerleri aralığındaki sklerotlarda çimlenme görülmemiştir. Parazitlemenin belirlenmesi amacıyla, her bir izolat için toplam 50 sklerot toprağa gömülmüştür. Bu sklerotlar daha sonra topraktan çıkarılarak sayılmış ve erime sonucu toprakta parçalanmış sklerotlar bu yolla saptanmıştır. Geriye alınan sklerot sayıları bakımından en iyi etki gösteren izolat 43 sklerot sayısı ve en yüksek skala değeri verilen 28 adet sklerot ile H1/2 izolatı olmuştur. Skala değerlerine göre parazitlenme özelliğini gösteren bu izolatın % 67.60 gibi bir etki oranına sahip olduğu görülmüştür. Diğer hiperparazitik etki gösteren izolatlar % 24.80 ile %32.80 gibi değişen oranlarda parazitik etki göstermişlerdir. Parazitik etki gösteren tüm izolatların genel durumları Şekil 3'de görülmektedir.

BIOLOGICAL CONTROL OF WHITE MOLD DISEASE (*SCLEROTINIA SCLEROTIUM*) ON LETTUCE BY USING FUNGAL ANTAGONISTS



Şekil.2. Antagonistik funguslarla yapılan *in vitro* testlerde antibiosis ve hiperparazitik etki gösteren funguslar ile parazitlenmenin görüldüğü sklerotlar



Şekil 3. Sklerotları parazitleyen aday antagonistlerin durumu

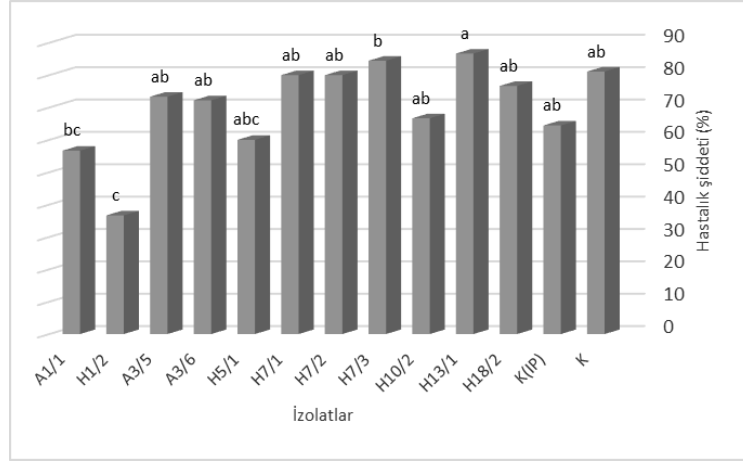
Saksı Testleri

Antagonist adaylarının saksı koşullarında *S.sclerotiorum* üzerindeki etkileri belirleyebilmek amacıyla, iklim odasında yürütülen testlere geçilmiştir. Etki mekanizması antibiosis ve hiperparazitik etki olan antagonist adaylarının daha önce yapılan testlere göre seçimleri yapılmıştır. Bunun için antibiosis etki gösteren 3 izolat (A1/1, A3/5 ve A3/6) ile hiperparazitik etki gösteren; 8 izolat (H1/2,H5/1,H7/1,H7/2,H7/3,H/10/1,H13/1 ve H18/2) seçilmiştir. Yöntem bölümünde açıklandığı şekilde yapılan saksı testlerinde bitkiler, 0-10 skalasına göre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonuçları Çizelge 3 ve Şekil 4'de verilmektedir. Denenen izolatlar içerisinde en yüksek etkililik H1/2 (%54.79) numaralı izolatta görülmüştür.

Çizelge 3. Saksı denemesinde marul bitkileri üzerinde antagonistik fungusların etkileri

Karakterler	Hastalık şiddeti* (%)	sağlam yaprak sayısı	Etkililik (%)	Karakterler	Hastalık şidd.%	Sağlam yaprak sayısı	Etkililik (%)
Kontrol (+)	81.10 ab	9	-	H7/1	79.99 ab	3	1.36
Kontrol(iprodione)	64.44 ab	10	20.54	H7/2	79.99 ab	10	1.36
A1/1	56.66 bc	12	30.13	H7/3	84.44 b	8	0
H1/2	36.66 c	21	54.79	H10/1	66.66 ab	10	17.80
A3/5	73.33 ab	14	9.58	H13/1	86.66 a	18	0
A3/6	72.22 ab	9	10.94	H18/2	76.66 ab	9	5.47
H5/1	59.99 abc	17	26.02				

*Ortalamalar Duncan ($P \leq 0.01$) testine göre ayrılmıştır.



Şekil 4. Antagonistik izolatların hastalık çıkışı üzerindeki etkileri

İn-vitro ve yarı *in-vivo* koşullarda en virulent izolat ve aday antagonistler belirlenmiştir. Bu testlerden sonra, aday antagonistlerin seçilen virulent *S.sclerotiorum*'ile etkileşimlerinin incelemek amacıyla, iklim odası koşullarında saksılarda yetiştirilen marul bitkileri ile testler gerçekleştirilmiştir. Bu testler sonucunda genus düzeyinde tanılamaları yapılan iki izolattan hiperparazitik etki gösteren ve *Gliocladium* spp. olarak tanılanan H1/2 izolatu ile antiobiosis etkiye sahip *Fusarium* spp. olarak tanılanan A1/1 izolatları hastalık şiddetini kontrole göre sırasıyla %54.79 ve %30.13 oranında baskılayan bir biyoetkinlik ortaya koymuşlardır.

TARTIŞMA

Dünyada ve Ülkemizde gerek açık alanda gerekse örtü altında yetiştirilen marul bitkilerinin en önemli sorunlarından birisi Sclerotinia türlerinin neden olduğu beyaz çürüklük hastalığıdır. Bu hastalığı oluşturan etmenler *S.sclerotiorum* ve *S.minor* olarak bilinmektedir. Hastalık etmenlerinin yüksek oranda virulensliğe sahip olmaları nedeniyle, marul gibi suca zengin, yumuşak gövdeli olan bu sebze grubunda hastalık, büyük ölçüde zarar yapmakta ve üründe nitel ve nicel kayıplara neden olmaktadır.

Sclerotinia hastalıklarında, hastalık gelişimi için sklerot yapıları son derecede önemlidir. Bu yapıların ortadan kaldırılmasının oldukça zor olmasından kaynaklanan ve sonraki bitki yetiştirme periyotlarında yeniden enfeksiyon yapma yeteneğinden dolayı savaşımında güçlükler yaşanmaktadır (Yıldız.,1969; Mert-Türk ve Mermer, 2004; Kara ve ark., 2016; Soylu, 2011; Soylu ve ark., 2016).

Hastalık etmeninin polifag olmasından ve ticari olarak bu hastalığa dayanıklı çeşit olmamasından kaynaklanan nedenlerle, savaşımında daha çok kimyasallar kullanılmaktadır. Kimyasal savaşımında kullanılan fungusitlerin toprakta parçalanmaları çok hızlı olduğu için, sklerotların ortadan kaldırılmasında çok yeterli olamamaktadır (Bardin and Huang.,2001). Bunun yanı sıra toprağa uygulanan fungusitlerin toprak içerisindeki yararlı organizmalara olan olumsuz etkilerinden dolayı, Sclerotinia gibi toprakta yerleşen patojenleri etkili bir şekilde baskılayacak biyolojik savaşım çalışmaları ön plana çıkmıştır. Bu yönlü çalışmalardan, önemli ölçüde etkili olabilecek nitelikte mikroorganizmalar elde edilmiştir.

Biyolojik savaşım çalışmalarında sklerotları parazitleyerek çimlenmeyi önleyen bazı mikrobiyal ajanlar üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu mikroorganizmalar içerisinde *Coniothyrium minitans*, *Gliocladium* spp. ve *Trichoderma* spp gibi fungal antagonistler, üzerinde en çok çalışma yapılanlar arasında sayılabilir. Bu funguslar içerisinde *C.minitans*, ticari olarak Contans WG adı ile formülize edilmiştir (Budge and Whipps., 2001; Zeng et al., 2012).

BIOLOGICAL CONTROL OF WHITE MOLD DISEASE (*SCLEROTINIA SCLEROTIORUM*) ON
LETTUCE BY USING FUNGAL ANTAGONISTS

Çalışmamız, bu patojeni önlemeye yönelik olarak, yararlı mikroorganizmaların etkinliklerinin incelendiği bir biyolojik savaşım çalışmasıdır. Bu amaçla ilk aşamada İzmir ve Balıkesir illerine bağlı ilçelerinde örtü altı veya açıkta marul üretimi yapılan alanlar gezilmiş ve hastalık belirtisi gösteren örnekler toplanmıştır. Örneklemede farklı marul çeşitlerinden (göbekli, kıvrıkcık ve iceberg gibi) bitki örnekleri toplanmıştır. Vegetasyonun farklı dönemlerinde toplanan bitki örneklerinden *S.sclerotiorum* izolasyonları yapılmıştır. Bu izolasyonlar sonucunda elde edilen patojen izolatlar içerisinde en yüksek virulensliğe sahip izolatu belirleyebilmek için koparılmış yaprak testleri yapılmıştır. Patojenisite testlerinde 16 *S.sclerotiorum* izolatu marul yaprakları üzerinde inokule edilmiştir. Yapraklar üzerinde gelişen lezyonlar çap ölçümleri ile değerlendirilmiş ve izolatlar izolatlar karşılaştırılmıştır. Yaprak testlerinde Torbalı 2 (TRB-2) izolatu, en yüksek hastalık şiddeti gösteren izolat olmuş ve diğer testlerde kullanılmak üzere seçilmiştir.

İkinci aşamada, marul yetiştirilen alanlarda bu kez sağlıklı bitkilerin bulunduğu topraklardan örnekler alınmış ve bu toprakların içerisine seçilmiş patojen izolatın elde edilen sklerotlar gömülmüştür. Bu şekilde sklerotlar, antagonistleri yakalamak amacıyla tuzak olarak kullanılmıştır. Bu sklerotlar daha sonra topraktan geri alınmış ve uygun besi yerlerinde kültüre alınarak, üzerlerinde gelişen olası parazitler saptanmıştır (Grazia-Garza et al., 1997).

Sonraki aşamada, sklerotlar üzerinden alınarak saflaştırmalar yapılmıştır. Elde edilen funguslar *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., *Fusarium* spp., *Myrothecium* spp., *Aspergillus* spp.gibi 30 kadar farklı fungal genusa bağlı izolat, patojene olan biyolojik etki şekline göre incelenmişlerdir. Etki biçimlerinin araştırıldığı bu testlerde, izolatlar petri kaplarında patojenik izolat ile karşılıklı ekilmiş, patojen fungusun petriyi doldurduğu süre sonunda gelişen kolonilerdeki etkileşimler antibiosis ve hiperparazitik etki olarak ayrılmışlardır (Rodriguez et al., 2011). Bu izolatlar içerisinde 6 izolat, petri testlerinde 7-10 mm den daha fazla inhibisyon zonu oluşturarak kuvvetli antibiosis göstermişlerdir. Yine aynı testlerde 8 fungal izolatu, patojen fungusun üzerini tamamen örterek, yüksek oranda parazitlenme gösterdiği saptanmıştır. Bu izolatların *Trichoderma* spp. ve *Gliocladium* spp. gibi mikoparazit olarak bilinen funguslar olduğu görülmüştür.

Mikoparazitik etkiye sahip antagonistlerin *Sclerotinia* hastalıklarının engellenmesindeki etkileri üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda sklerotlar üzerinden izole edilen ve parazitik etki gösterenler arasında; *Coniothyrium minitans*, *Trichoderma* sp. *Gliocladium* spp., *Sporidesmium sclerotivorum*, *Clonostachys rosea* bunlar arasında en çok çalışılan funguslardır (Tu., 1997; Jones et al., 1997; Bardin and Huang., 2001; Budge et al., 1995; Kim and Knudsen.,2009; Elias et al., 2016; Rabeendran et al.,2006; Rodriguez et al., 2011). Bazı bakteriyel antagonistlerle de çalışmalar bulunmaktadır (Bonaldi et al., 2014; Huang et al., 1993).

Çalışmada daha sonra, izolasyonlar sonucunda elde edilen funguslardan 8 tanesi ile steril toprakta antagonizma testi yapılmış ve sklerotlardaki ölüm oranları saptanmıştır. Bu testlerde hiperparazit etki gösteren *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., genuslarındaki antagonistlerin toprak içerisindeki sklerotlarda parazitlenme gerçekleştirdikleri ve bir *Gliocladium* spp. (H1/2) izolatu geriyeye alınan sklerot sayılarında azalma ile birlikte, %67.60 oranında bir parazitlik oluşturduğu belirlenmiştir.

Saksı koşullarında marul bitkileri ile yapılan in-vivo testlerde, çeşitli kademelerde etki gösteren izolatlar içerisinde antibiosis etki mekanizmasını gösteren dört izolat ile hiperparazitik etkiye sahip 7 izolatu hastalık çıkışı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bitki dikiminden 40 gün sonra yapılan hastalık değerlendirmelerinde hastalık şiddeti ve etkililik oranları saptanmıştır. Buna göre, antibiosis etki gösteren *Fusarium* spp. (A1/1) kontrole göre yapılan karşılaştırmada % 30.13 etki gösterdiği, buna karşın *Gliocladium* spp. (H1/2) antagonistinin %54.79 etkililik oranı ile *S.sclerotiorum* üzerinde bir engelleme oluşturduğu saptanmıştır. Patojenin önleminde kontrol karakteri olarak uygulanan fungisit (iprodione), antagonistik organizmadan daha düşük bir etkililik (%20.54) göstermiştir.

Trichoderma ve *Gliocladium* genusu üyelerinin özellikle sklerotları parazitleyen genuslar olduğuna ilişkin çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu araştırmalar, in-vitro, in-vivo saksı ve tarla denemeleri yapılarak denenmiştir (Chitrampalam et al., 2008; Rabeendran et al., 2006;Budge et al., 1995;Kim and Knudsen., 2009; Villalta et al.,2012; daSilva et al., 2015).

S.sclerotiorum, çok sayıda kültür bitkisinde hastalık oluşturan bir patojendir. Literatür kayıtlarında marulla yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu hastalığın biyolojik savaşımında başta *C.minitans* (Rabeendran et al.,2006;Budge and Whipps.,2001;Jones and Whipps.,2002; Jones et al., 2003; Chitrampalam., 2009), *Trichoderma* spp. ve *Gliocladium virens* (Tu., 1980; Budge et al.,1995;Rodriguez et al., 2011; Huang.,1980;Tozlu ve Demirci.,2011) gibi antagonistik funguslarla yapılan çalışmaların bulunduğu ve araştırma sonuçlarında etkili olanların bir bölümünün tarla koşullarında da başarılı sonuçlar verdiği görülmektedir. Benzer şekilde, ülkemizde marulda *S.sclerotiorum* etmenine karşı *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp ve *Lysobacter* spp. ait antagonistik bakteri izolatlarının kullanıldığı biyolojik mücadele çalışmaları yapılmıştır. Söz konusu izolatların *in vitro* ve *in vivo* koşullarda hastalık çıkışını önemli düzeyde engellediği, bazı bakteri izolatlarını fungus hiflerinde morfolojik deformasyonlara neden olduğu, bazılarının ise; sklerot çimlenmesini tamamen baskıdığı belirlenmiştir (Soylu, 2011; Kara ve ark., 2016; Soylu ve ark., 2016; Kara ve ark., 2017).

Teşekkür

Bu araştırmaya maddi destek sağlayan E.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (2012 ZRF- 034 no'lu proje) katkıları için teşekkür ederiz.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Anonymous, 2016, Food and Agriculture Organization, <http://www.faostat3.fao.org>. (Erişim tarihi: 17 Eylül 2016)
- Anonymous, 2015, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, <http://www.tarim.gov.tr>. (Erişim tarihi: 22 Eylül 2016)
- Adams, P.B., Ayers, W.A., 1981. *Sporidesmium sclerotivorum*: distribution and function in natural biological control of sclerotial fungi. *Phytopathology*, 71: 90-93.
- Aksay, A., Biçici M., Çınar Ö., 1991. Beyaz çürüklük etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary'a karşı antagonistlerin belirlenmesi. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Derg., 6 (2): 55- 62.
- Bardin S.D. and Huang, H.C. 2001. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. *Can. J. Plant Pathol.*, 23: 88–98.
- Bell, D K.Wells,H.D., Markham, C.R. 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species, Against six fungal pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382.
- Boland G.J. ve Hall,A, 1994. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Plant Pathol*, 2,:93-108.
- Boland, G.J., 2004. Fungal viruses, hypovirulence, and biological control of *Sclerotinia* species. *Can. J. Plant Pathol.*, 26: 6–18.
- Bonaldi,M., Kunova,A., Saracchi, M., Sardi, P. and Cortesi, P., 2014. Streptomycetes as biological control agents against basal drop. *Acta Horticulturae*, Volume 1044:313-318.
- Budge, S.P., McQuilken, M.P., Fenlon, J.S. and Whipps, J.M., 1995. Use of *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma* species for control of *S. sclerotiorum* in celery and lettuce, *Plant Pathol.* 40, 59–66.
- Budge, S. P., and Whipps, J. M. 2001, Potential for integrated control of *S. sclerotiorum* in glasshouse lettuce using *Coniothyrium minitans* and reduced fungicide application. *Phytopathology*, 91:221-227.
- Clarkson, J.P., Fawcett, L., Anthony, S.G. and Young C., 2014. A Model for *Sclerotinia sclerotiorum* Infection and Disease Development in Lettuce, Based on the Effects of Temperature, Relative Humidity and Ascospore Density. *PloS ONE*, 9(4): e94049.
- Chitrampalam, P., Figuli, P. J., Matheron, M. E., Subbarao, K. V., and Pryor, B. M., 2008. Biocontrol of lettuce drop caused by *S. sclerotiorum* and *S.minor* in desert agroecosystems. *Plant Dis.*, 92:1625-1634.
- Chitrampalam,P., 2009, Biological Control of Lettuce Drop Caused by *Sclerotinia* spp. using *Coniothyrium minitans* and elucidation of biochemical Interactions during Mycoparasitism,University of Arizona Dissertation thesis, 263pp.

BIOLOGICAL CONTROL OF WHITE MOLD DISEASE (*SCLEROTINIA SCLEROTIUM*) ON
LETTUCE BY USING FUNGAL ANTAGONISTS

- Chitrampalam P., Cox C.A., Turini T.A. and Pryor, B.M, 2010. Efficacy of *Coniothyrium minitans* on lettuce drop caused by *S. minor* in desert agroecosystem. *Biological Control*, 55 92–96.
- Çetinkaya,N., 1987. Bazı Ayçiçeği Çeşit ve Hatlarının Sclerotinia türlerine karşı Reaksiyonları Üzerinde Çalışmalar, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı,Yüksek Lisans Tezi, 43 s.
- da Silva, G.B.P.Heckler, L.I.Dos Santos, R.F.Durigon, M.R. and Blume, E.2015. Identification and utilization of *Trichoderma* spp. Stored and native in *Sclerotinia sclerotiorum* biocontrol. *Revista Caatinga*, Volume 28, Issue 4, October 2015, 33-42.
- Elias, L.M., Domingues M.V.P.F., Moura, K.E., Salomão, D., Harakava, R. And Patricio, F.R.A., 2016. Selection of *Trichoderma* isolates for biological control of *S. minor* and *S. sclerotiorum* in lettuce. *Summa Phytopathologica*, V:42, No 3:216-221.
- Fernando, W.G.D.,S.Nakkeeran., Y.Zhang.,2004. Ecofriendly methods in combating *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Recent Res. Devel. Environ. Biol.*, 1: 329-347.
- Fiume, F. and Fiume G., 2005, Biological control of Botrytis gray mold and Sclerotinia drop in lettuce. *Comm. Appl. Biol. Sci*, Ghent University, 70/3pp.
- Gracia-Garza, J.A., Reeleder, R.D. and Paulitz, T.C. 1997. Degradation of sclerotia of *S.sclerotiorum* by fungus gnats (*Bradysia coprophila*) and the biocontrol fungi *Trichoderma* spp. *Soil Biol. Biochem.*, 29: 123–129.
- Hall, R., 1990. Compendium of Bean Diseases. APS Press.,73p.
- Huang,H.C., 1980. Control of Sclerotinia wilt of dsunflower by hyperparasites. *Can.J.Plant Pathol.*,2:26-32.
- Huang, H.C., Kokko, E.G., Yanke, L.J., and Phillippe, R.C. 1993. Bacterial suppression of basal pod rot and end rot of dry peas caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Microbiol.*, 39: 227–233.
- Huang H.C. and Erickson R.C, 2008. Factors Affecting Biological Control of *S.sclerotiorum* by Fungal Antagonists. *J. Phytopathology*, 156, 628–634.
- Irshad, M.,E.Onoğur,2002. Evolution of broccoli plant material incorporation into soil for the control of *Sclerotium rolfsii* Sacc. and *Sclerotinia sclerotirum* (Lib.) de Bary in tomato plant under greenhouse conditions. *J. Turk. Phytopathology*, 30:47-50.
- Jones E.E. and Stewart A. 1997. Biological control of *Sclerotinia minor* in lettuce using *Trichoderma* species. *Proc. 50th N.Z. Plant Protection Conf.*, 154-158.
- Jones, E.E. Stewart, A., 2000. Selection of mycoparasites of sclerotia of *S. sclerotiorum* isolated from New Zealand soils. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.*, 28, 105–114.
- Jones E.E. and Whipps J.M., 2002. Effect of inoculum rates and sources of *Coniothyrium minitans* on control of *S. sclerotiorum* disease in glasshouse lettuce. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 527–538.
- Jones E.E., Mead A, and Whipps J.M., 2003. Evaluation of different *Coniothyrium minitans* inoculum sources and application rates on apothecial production and infection of *S. sclerotiorum* sclerotia. *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 409–419.
- Kara, M.,Soylu,E.M., Kurt, Ş., Soyly, S.2016. Determination of Antagonistic Efficiencies of Endophytic Bacterial Isolates Against *S.sclerotiorum* On Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Plants. Turkey 6th Plant Protection Congress with International Participation. September 5-8, 2016,Konya, Turkey, p.157.
- Kara,M., Bozkurt,I.A., Soyly,S.2017. Isolation, identification and in vitro screening antagonistic potentials of endophytic and epiphytic bacterial isolates from cotton plants against *S.sclerotiorum*. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOT), 15-17 May 2017, Cappadocia, Turkey,Pp.1112.
- Kim,G.T. and Knudsen,G.R.,2009. Colonization of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia by a biocontrol isolate of *Trichoderma harzianum* and effects on myceliogenic germination. *Biocontrol Science and Technology*,Vol. 19, No. 10: 1081-1085.

- Kurt, Ş., Erkiş, A., 1997. Marul'da beyaz çürüklüğe (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) karşı sarmısak ekstraktı ve Iprodione'un etkinliğinin belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 13: 111-119.
- Knudsen, G.R., D.J. Eschen, L.M. Dandurand., 1991. Potential for biocontrol of *S. sclerotiorum* through colonization of sclerotia by *T. harzianum*. The American Phytopathological Society. Plant Dis., Vol. 75. No. 5: 466-470.
- Li, G.Q., Huang H.C. and Acharya S.N. 2003. Antagonism and biocontrol potential of *Ulocladium atrum* on *Sclerotinia sclerotiorum*. Biological Control, 28: 11-18.
- Li, G.Q., Huang, H.C., Acharya, S.N., Erickson, R.S., 2005. Effectiveness of *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma atroviride* in suppression of *Sclerotinia* blossom blight of alfalfa. Plant Pathology, 54: 204-211.
- Matheron, M. E. and Porchas, M., 2004. Activity of boscalid, fenhexamid, fluazinam, fludioxonil and vinclozolin on growth of *S. minor* and *S. sclerotiorum* and development of lettuce drop. Plant Dis., 88: 665-668.
- Menendez, A.B., Godeas, A., 1998. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* attacking soybean plants. degradation of the cell walls of this pathogen by *Trichoderma harzianum* (BAFC 742) - biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Trichoderma harzianum*. Mycopathologia, 142: 153-160.
- Mercier, J., and Reeleder, R.D. 1987. Interactions between *Sclerotinia sclerotiorum* and other fungi on the phylloplane of lettuce. Can. J. Bot., 65: 1633-1637.
- Mert-Türk, F. D. Mermer., 2004. Çanakkale'de Örtüaltında Yetiştirilen Marullarda *Sclerotinia sclerotiorum*'un Yaygınlığının ve Miselyal Uyum Gruplarının Saptanması. MKU Ziraat Fakültesi Dergisi 9 (1-2): 1-8.
- Pratt, R.G., 1992. *Sclerotinia sclerotiorum* in Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi. APS Press, 74-78.
- Purdy, L. H., 1979. *S. sclerotiorum*: History, Diseases and Symptomatology Host Range, Geographic Distribution, and Impact. Phytopathology, Vol. 69, No. 8: 875-880.
- Rabeendran, N., E.E. Jones, A., Stewart, 1998. Isolation and *in vitro* screening of soil fungi for biological control of *Sclerotinia sclerotiorum*. Microbial control of plant pathogens, Proc. 51st N.Z. Plant Protection Conf. 102-106p
- Rabeendran, N., Jones, E.E., Moot, D.J. and Stewart, A., 2006. Biocontrol of *Sclerotinia* lettuce drop by *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma hamatum*. Biological Control, 39: 352-362.
- Rodriguez, M.A., G. Cabrera, F.C. Gozzo, M.N. Eberlin and Godeas A., 2011. *Clonostachys rosea* BAFC3874 as a *S. sclerotiorum* antagonist: mechanisms involved and potential as a biocontrol agent. Journal of Applied Microbiology, 110: 1177-1186.
- Saharan, G.S. and Mehda, N., 2008. *Sclerotinia* Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management. Springer Pub., 481pp.
- Schmiedeknecht, G., Issoufou, I., Junge, H., Bochow, H., 2001. Use of *Bacillus subtilis* in glasshouse lettuce using *Coniothyrium minitans* and reduced *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Molecular Plant Pathology, 7(1): 1-16.
- Singleton, L.L., Mihail, J. D., Rush, C. M., 1992. Methods For Research on Soilborne Sons Inc. USA. 433p.
- Stoneman, W. F. 2002. *Coniothyrium minitans* for practical control of *Sclerotinia* diseases. (Abst.) Phytopathology, 92, 105.
- Subbarao K.V., 1998. Progress toward integrated management of lettuce drop. Plant Disease, Vol. 82 No. 10, 1068-1078.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, Ş. and Ekici, Ö.K. 2005. Antagonistic Potentials of Rhizosphere-Associated Bacterial Isolates Against Soil Borne Diseases of Tomato and Peper Caused by *S. sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. Pakistan Journal of Biological Sciences 8: 43-48.
- Soylu, S. 2011. Marul (*Lactuca sativa* L.) Bitkisinde Beyaz Çürüklük Hastalığına (*S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary) karşı Kök Bakterilerinin Kullanım Olanakları. Alatarım 10: 85-93.

BIOLOGICAL CONTROL OF WHITE MOLD DISEASE (*SCLEROTINIA SCLEROTIORITY*) ON
LETTUCE BY USING FUNGAL ANTAGONISTS

- Soylu,S.,Sertkaya,E.,Kurt,Ş., Üremiş,I.,Bozkurt,İ.A.2016. Prevalence and Incidence of Important Disease Agents, Insects and Weed Species of Lettuce (*Lactuca sativa L.*) Plants Growing in Hatay Province. Turkey 6.th Plant Protection Congress with International Participation Sptember 5-8, 2016 Konya, Turkey,p.663.
- Tozlu,E. and Demirci, E., 2011. Ayçiçeğinde *Sclerotinia sclerotiorum* ve *S. minor*'a karşı Potansiyel Biyokontrol Organizmalarının Belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilim. Derg.*,(2):101-106.
- Tu,J.C., 1980. *Gliocladium virens*, a destructive mycoparasite of *S.sclerotiorum*. *Phytopathology*, 70:670-674.
- Tu, J.C., 1989. Management of white mold of white beans in Ontario. *Plant Dis.*, 73 (4):281-285.
- Tu.J.C., 1997. An integrated control of white mold (*S.sclerotiorum*) of beans with emphasis on recent advances in biological control. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 38:73-76.
- Van Beneden, S., J.Pannecourucque.,J.Debode.,G.De Backer., M.Höfte., 2009. Characterization of fungal pathogens causing basal rot of lettuce in Belgian greenhouses. *Eur J. Plant Pathol*, 124:9–19.
- Van Wambeke, E., Ceustermans, A., De Landtsheer A., Gybels, K. and Coosemans, J., 2010. Combinations of chemical soil fumigants for broad spectrum soil disinfestation. *Acta Horticulturae*, Volume 883, 25: 145-15.
- Villalta,O.N.,Wite, D., Hunt, J., Stewart, A. and Porter, I.J., 2012. Biological control of *Sclerotinia minor* on lettuce using *Trichoderma* and *Coniothyrium* species (Conference Paper) *Acta Horticulturae*, Volume 944, 26 April 2012,51-58 pp.
- Vural,H., Eşiyok, D. ve Duman İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Bornova-İzmir, 440s.
- Yanar, Y., 2005. Tokat iklim koşullarında *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary'un sclerotium canlılığı üzerine solarizasyonun etkisi. *G.O.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(1):15-19.
- Whipps, J. M., Bennett,A., Challen, M., Clarkson,J., Coventry,E., Muthumeenakshi,S.,Noble, R and Roger, C., Sreenivasaprasad, S. and Jones, E., 2007. Control of Sclerotial pathogens with the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. M. Vurro and J. Gressel (eds.), *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*, Springer pub, 223–241pp.
- Yıldız,M., 1969. İzmir, Manisa ve Aydın illerinde Marullarda Zarar Yapan *Sclerotinia sclerotiorum* Türleri, Taksonomileri, Yayılışları, Zarar Peceseleri ve Patojenisiteleri Üzerinde Araştırmalar, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Fitopatoloji ve Zirai Botanik Kürsüsü, Doktora Tezi,90s.
- Yücer, M.M., 2007. Ruhsatlı Tarım İlaçları 2007. Hasad Yayıncılık.
- Zizzerini, A. and Tossi. L., 1985. Antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia of *S.sclerotiorum*, *Biological control*, 34, 415–421.
- Zeng W, Wang D, Kirk W, Hao J.,2012. Use of *Coniothyrium minitans* and other microorganisms for reducing *S. sclerotiorum*. *Biological Control*, 60: 225–232.