

**TRICHODERMA HARZIANUM İLE  
TOPRAK KÖKENLİ BAZI BİTKİ  
PATOJENLERİNİN KONTROLÜ**

**ÇİĞDEM KÜÇÜK**  
Yüksek Lisans Tezi

**Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
ŞUBAT 2000**

**"Bu Tez Çalışması Anadolu Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.**

**Proje No: 99 10 31"**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Çiğdem KÜÇÜK'ün *Trichoderma harzianum* ile Toprak Kökenli Bazı Bitki Patojenlerinin Kontrolü başlıklı Biyoloji Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi 18.02.2000 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof.Dr. Merih KIVANÇ	
Üye	: Doç.Dr. Engin KINACI	
Üye	: Yrd.Doç.Dr. Kıymet GÜVEN	

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
28.02.2000... tarih ve ...5/7..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü  
Prof. Dr. Orhan ÖZER  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Müdürü

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### *TRICHODERMA HARZIANUM* İLE TOPRAK KÖKENLİ BAZI BİTKİ PATOJENLERİNİN KONTROLÜ

ÇİĞDEM KÜÇÜK

Anadolu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Merih KIVANÇ  
2000

Günümüzde patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırmada pestisidler ve organik kimyasallar kullanılmaktadır. Pestisidler ve organik kimyasallar zor parçalandığı için bitki ve hayvanlarda depolanarak besin zinciri yolu ile canlılarda toksik etki yapmaktadır. Bu nedenle biyolojik mücadelenin önemi son yıllarda artmıştır.

*Trichoderma* spp. biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılan funguslardan birisidir. Bu çalışmada, Eskişehir bölgesindeki toprak örneklerinden izole edilen *Trichoderma harzianum* izolatlarının toprak kökenli bitki patojenlerine etkileri gösterilmiştir.

İnhibisyon deneylerinde, *F.oxysporum* ve *G.graminis*'e karşı T20, *D.sorokiniana*'ya karşı T18, *F.culmorum*'a karşı T1, *R.solani* ve *F.moniliforme*'e karşı T8, *F.solani*'ye karşı T15, *R.cerealis*'e karşı T4, *S.rolfsii*'ye karşı T11 etkili olmuştur. T4 izolatının diğer izolatlara oranla daha fazla bitki patojeninin gelişmesini engellediği bulunmuştur. *T.harzianum* izolatlarının tümü enzim aktiviteleri testlerinde farklı özellikler göstermiştir.

*T.harzianum*'un T8 ve T20 izolatları ile hazırlanan preparatların üçer dozları ( $1 \times 10^3$  spor/ml,  $1 \times 10^5$  spor/ml,  $1 \times 10^7$  spor/ml) kullanılmıştır. En iyi sonuç T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml olan dozları ile mısır, domates, fasulyede; T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml olan dozu ile buğdayda elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Trichoderma harzianum*, Bitki Patojenleri, Biyolojik

Mücadele

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

CONTROL OF SOME SOILBORNE PLANT PATHOGENS BY  
*TRICHODERMA HARZIANUM*

ÇİĞDEM KÜÇÜK

Anadolu University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology: Major BiologySupervisor: Prof.Dr. Merih KIVANÇ  
2000

Nowadays, pesticides and organic compounds are being widely used to inhibit pathogen microorganisms. Degradation of these compounds is very difficult and accumulation of them in food chains leading to toxicity in living environmental at higher level. As a result, biological control is becoming increasingly important in recent years.

It is showed that *Trichoderma spp.* could be used as a biocontrol agent. In this study; *Trichoderma harzianum* isolates from soil samples in Eskişehir region are identified. These isolates against soil borne pathogen fungi were investigated.

We have found that T20 against *F.oxysporum* and *G.graminis*, T18 against *D.sorokiniana*, T1 against *F.culmarum*, T8 against *R.solani* and *F.moniliforme*, T4 against *R.cerealis*, T11 against *S.rolfsii* were effective. It is determined T4 isolate prevented the improvement growth of the plant pathogens more than the other isolates. All isolates showed different features in enzymatic activity test.

Under glasshouse conditions, *T.harzianum* was applied to soils. 3 dosages ( $1 \times 10^3$  spore/ml,  $1 \times 10^5$  spore/ml,  $1 \times 10^7$  spore/ml) of each T8 and T20 isolates were used for biological struggle and the best result is obtained from the dosage  $1 \times 10^7$  spore/ml of T8 which was effective on corn, bean and tomato;  $1 \times 10^7$  spore/ml of T20 was effective on wheat.

Key Words: *Trichoderma harzianum*, Plant Pathogens, Biological Control

## TEŞEKKÜR

Çevre kirliliğinin önlenmesi ve canlıların sağlığı açısından önemi her geçen gün daha iyi anlaşılan biyolojik mücadele de, Eskişehir çevresinden izole edilen *Trichoderma harzianum*'un biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabilirliğinin araştırılmasında ve yüksek lisans tezimin hazırlanmasında değerli yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Prof.Dr. Merih Kıvanç'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Toprak kökenli bitki patojenlerinin neden olduğu bitki hastalıkları konusundaki değerli bilgilerinden yararlandığım Sayın Dr.Hüseyin Aktaş'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında değerli yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç.Dr. Engin Kınacı, Sayın Dr.Necmettin Bolat'a, seraları kullanmama olanak sağlayan Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürü Doç.Dr. Fahri Altay'a ve yazımdaki desteğinden dolayı kardeşim Murat Küçük'e teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un Genel Özellikleri .....	2
1.2. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un Biyolojik Kontroldeki Rolü .....	3
1.3. Biyolojik Kontrol Mekanizmaları .....	8
1.4. Metabolit Üretimi .....	10
2. MATERYAL VE YÖNTEM .....	14
2.1. Materyal .....	14
2.1.1. Kullanılan Mikroorganizmalar .....	14
2.1.2. Kullanılan Test Bitkileri .....	14
2.1.3. Kullanılan Besiyeri ve Kimyasal Maddeler.....	14
2.1.3.1. Patates Dekstroz Agar (Merck) .....	14
2.1.3.2. Kullanılan Çözgenler .....	15
2.1.2.3. Chapek-Dox Agar .....	15
2.1.2.4. Bazal Ortam .....	15
2.1.2.5. A Ortamı .....	16
2.1.2.6. B Ortamı .....	16
2.1.2.7. Nutrient Agar (Fluka) .....	16
2.1.2.8. Sakkaroz Nitrat Agar .....	17
2.1.2.9. Ashby Besiyeri.....	17
2.1.3.10. Malt Ekstrat Agar (Merck).....	18

2.2.Yöntem .....	19
2.2.1.Fungal İnhibisyon Testleri .....	19
2.2.2. <i>T.harzianum</i> İzolatlarının Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi ..	19
2.2.2.1. Aesculin Hidrolizi .....	19
2.2.2.2. Nişasta Hidrolizi .....	20
2.2.2.3. Tween 80 Hidrolizi .....	20
2.2.2.4. Sellüloz Hidrolizi .....	20
2.2.2.5. Kazein Hidrolizi .....	20
2.2.2.6. Jelatin Hidrolizi .....	21
2.2.2.7. Tellur Hidrolizi .....	21
2.2.2.8. Poypeptate Hidrolizi .....	21
2.2.2.9. Tetrazolium İndirgenmesi .....	21
2.2.3. <i>T.harzianum</i> 'unSeradaki Uygulamaları .....	22
2.2.4. Tohum İnokulasyonlarının Hazırlanması .....	22
2.2.5. Tarla Toprağındaki Mikroorganizma Sayısının Bulunması .....	24
3. BULGULAR .....	25
3.1. <i>T.harzianum</i> İzolatlarının Bitki Patojenlerinin Gelişimine Olan Etkileri .....	25
3.2. <i>T.harzianum</i> İzolatlarının Enzim Aktiviteleri .....	29
3.3. Sera Koşullarında Ham Topraktaki <i>T.harzianum</i> Uygulamaları .....	33
3.4. Sera Koşullarında Ham Topraktaki <i>T.harzianum</i> İzolatlarının İnokulesiz Bitkilerin Gelişimi Üzerine Etkileri .....	43
3.5. Tarla Toprağının Kullanıldığı Sera Denemelerinde <i>T.harzianum</i> İzolatlarının Etkileri .....	48
3.6. Tarla Toprağının Kullanıldığı Sera Denemelerinde <i>T.harzianum</i> İnokulesiz Bitkilerin Gelişimi Üzerine Etkileri .....	59
3.7. <i>T.harzianum</i> İzolatlarının Topraktaki Mikroorganizmalara Etkisi ..	64
4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	66
4.1. Fungal İnhibisyon .....	66
4.2. <i>T.harzianum</i> ile Sera Denemeleri .....	69

5. KAYNAKLAR ..... 74

## ŞEKİLLER DİZİNİ

1.1. T20'nin <i>G.gramini</i> 'i inhibisyonu .....	27
1.2. T8'in <i>R.solani</i> 'yi inhibisyonu .....	27
1.3. T14'in <i>S.rolfsii</i> 'yi inhibisyonu .....	28
2.1. T20'nin Aesculin içeren ortamda gelişimi .....	31
2.2. T22'nin Aesculin içeren ortamda gelişimi .....	31
2.3. Tween 80 içeren ortamda T8'in gelişimi .....	32
2.4. Jelatin içeren ortamda T8'in gelişimi .....	32
3.1. <i>Trichoderma harzianum</i> T20 izolatının buğdaylara etkisi .....	34
3.2. <i>Trichoderma harzianum</i> T8 izolatının mısıra etkisi .....	34
3.3. <i>T.harzianum</i> T8 izolatının mısır boy uzunluğuna etkisi .....	36
3.4. <i>T.harzianum</i> T20 izolatının buğday boy uzunluğuna etkisi .....	36
3.5. <i>T.harzianum</i> T20 izolatının domates boy uzunluğuna etkisi .....	36
3.6. <i>T.harzianum</i> T20 izolatının domates boy uzunluğuna etkisi .....	37
3.7. <i>T.harzianum</i> T8 izolatının domates boy uzunluğuna etkisi .....	37
3.8. <i>T.harzianum</i> T8 izolatının fasulye boy uzunluğuna etkisi .....	37
4.1. T20'nin buğday boy uzunluğuna etkisi .....	43
4.2. T20'nin domates boy uzunluğuna etkisi .....	43
4.3. T8'in mısır boy uzunluğuna etkisi .....	44
4.4. T20'nin fasulye boy uzunluğuna etkisi .....	44
4.5. T8'in domates boy uzunluğuna etkisi .....	45
4.6. T8'in fasulye boy uzunluğuna etkisi .....	45
5.1. <i>G.graminis</i> ile infekteli buğdaya T20'nin etkisi .....	50
5.2. <i>R.solani</i> ile infekteli fasulyeye T8'in etkisi .....	50
5.3. <i>R.solani</i> ile infekteli fasulyede T8'in etkisi .....	51
5.4. <i>R.solani</i> ile infekteli domateste T8'in etkisi .....	51
5.5. <i>F.moniliforme</i> ile infekteli mısırdaki T8'in etkisi .....	52
5.6. <i>G.graminis</i> ile infekteli buğdayda T20'nin etkisi .....	52
5.7. <i>F.oxysporum</i> ile infekteli domateste T8'in etkisi .....	53
5.8. <i>F.oxysporum</i> ile infekteli domateste T8'in etkisi .....	53
6.1. Fasulyede boy uzunluğuna T8'in etkisi .....	59

6.2. Domates boy uzunluğuna T8'in etkisi .....	59
6.3. Mısır boy uzunluğuna T8'in etkisi .....	60
6.4. Buğday boy uzunluğuna T20'nin etkisi .....	60
6.5. Domates boy uzunluğuna T20'nin etkisi .....	61
6.6. Fasulye boy uzunluğuna T20'nin etkisi .....	61

## ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. <i>T.harzianum</i> izolatlarının bitki patojenlerinin inhibisyonu .....	26
1.2. <i>T.harzianum</i> izolatlarının enzim aktiviteleri .....	30
3.1. Sera koşullarında ham topraktaki <i>T.harzianum</i> 'un test bitkilerine etkileri .....	35
3.2. <i>F.oxysporum</i> ile inokuleli domatesin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	38
3.3. <i>F.moniliforme</i> ile inokuleli mısırın ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	38
3.4. <i>G.graminis</i> ile inokuleli buğdayın ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	38
3.5. <i>F.oxysporum</i> ile inokuleli fasulyenin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	39
3.6 <i>R.solani</i> ile inokuleli domatesin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	39
3.7. <i>R.solani</i> ile inokuleli fasulyenin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	39
3.8. Mısır- <i>F.moniliforme</i> -T8 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	40
3.9.Domates- <i>F.oxysporum</i> -T20 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	40
3.10.Fasulye- <i>F.oxysporum</i> -T20 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	40
3.11.Buğday- <i>G.graminis</i> -T20 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	41
3.12. Domates- <i>R.solani</i> -T8 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	41
3.13. Fasulye- <i>R.solani</i> -T8 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	41
3.14.Test bitkilerinde hastalıklara karşı denenen <i>T.harzianum</i> izolatlarının etki dereceleri yönünden Duncan testine göre sıralanışları .....	42
4.1.Domates bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi .....	46
4.2. Mısırın bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi .....	46
4.3. Buğday bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi .....	46

4.4. Fasulye bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi .....	47
4.5. Fasulye bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi .....	47
4.6. Domates bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi .....	47
5.1. Tarla topraklarında <i>T.harzianum</i> 'un test bitkilerine etkisi .....	49
5.2. <i>R.solani</i> ile infekteli fasulyenin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	54
5.3. <i>R.solani</i> ile infekteli domatesin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	54
5.4. <i>F.moniliforme</i> ile infekteli mısırın ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları ..	54
5.5. <i>F.oxysporum</i> ile infekteli fasulyenin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	55
5.6. <i>F.oxysporum</i> ile infekteli domatesin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	55
5.7. <i>F.oxysporum</i> ile infekteli fasulyenin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları .....	55
5.8. Domates- <i>F.oxysporum</i> -T20 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	56
5.9. Buğday- <i>G.graminis</i> -T20 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	56
5.10. Fasulye- <i>F.oxysporum</i> -T20 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	56
5.11. Mısır- <i>F.moniliforme</i> -T8 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	57
5.12. Fasulye- <i>R.solani</i> -T8 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	57
5.13. Domates- <i>R.solani</i> -T8 uygulamasının varyans analizi tablosu .....	57
5.14. Tarla topraklarında test bitkilerindeki hastalıklara karşı denenen <i>T.harzianum</i> izolatlarının hastalık şiddetine etkileri yönünden Duncan Testine göre sıralanışları .....	58
6.1. İnokulesiz fasulyenin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi ..	62
6.2. İnokulesiz domatesin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi ..	62
6.3. İnokulesiz mısırın ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi .....	62
6.4. İnokulesiz fasulyenin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi .....	63
6.5. İnokulesiz domatesin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi .....	63

6.6. İnokulesiz buğdayın ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi .....	63
7.1. Tarla toprağındaki toplam bakteri miktarı .....	64
7.2. Tarla toprağındaki toplam maya+küf miktarı .....	64
7.3. Tarla toprağındaki azotobakter miktarı .....	65
7.4. Tarla toprağındaki aktinomiset miktarı .....	65
7.5. Tarla toprağına eklenen T8 ve T20'nin .....	65

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ÇO : Çimlenme oranı (%)  
RI : İnhibisyon değeri (%)  
R<sub>1</sub> : Antagonistin patojen yönündeki büyüme çapı (cm)  
R<sub>2</sub> : Antagonist ile patojenin aşılama durumları arasındaki mesafe  
Spor/ml : 1 ml'deki spor sayısı  
S : Saksıdaki sağlam bitki sayısı  
T : Saksıya ekilen tohum adedi  
Tek. : Tekerrür

## 1. GİRİŞ

Tarım alanlarında sorun olan zararlılara, hastalık etmenlerine ve yabancı otlara karşı pestisit kullanımını doğal dengenin bozulmasına ve çevre kirliliğine neden olmakta, doğrudan veya dolaylı olarak da insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Kimyasal bitki ilaçlarının çevre ve insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri konusunda giderek artmakta olan endişe, biyoteknolojideki büyük gelişme ile birlikte, daha güvenli çevre dostu kontrol alternatifleri bulmak için araştırmaların yapılmasına neden olmuştur [1].

Kullanılan kimyasal ilaçlara karşı dayanıklılığın ortaya çıkması, kimyasal mücadelede en önemli problemlerden birini oluşturmaktadır. Bu durum, alternatif kontrol metodlarına yönelmeyi ve bunları bir sistem içinde uygulamayı zorunlu kılmaktadır [2].

Biyolojik kontrol, biyolojik etmenler kullanılarak hastalık yada zararlıların kontrol altına alınmasıdır. Ayrıca biyolojik kontrol bitki genlerinin yada gen ürünlerinin zararlı popülasyonunu azaltmak yada hastalık süresince ana adımları engellemek için kullanılmasını da içermektedir. Biyolojik etmenler; bakteri, virüs, yüksek bitkiler, funguslar, faydalı böcekler olabilir. Zararlılar ise bitki sağlığını ve verimini olumsuz yönde etkileyen böcekler, akarlar, yabancı otlar, nematodlar, kemirgenler, salyangozlar, fitopatogenik funguslar, bakteriler ve virüsler gibi biyolojik canlılardır. Patojenik funguslar, bakteri ve virüsler tarafından oluşturulan hastalıkların bitki sağlığını ve verimini olumsuz olarak etkileyerek bitkilerde belli semptomların oluşmasına neden olduğu saptanmıştır [4].

Mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar, infeksiyonla başlar ve mikroorganizmanın hasta veya ölü bitkide üremesiyle son bulur. Zararlı, bir organizma yada bir etmen iken, hastalık iki etmen yada organizmanın interaksyonu sonucu oluşur (bitki ve patojen). Bitkilerde görülen hastalıkların bazıları bitkilerin patojenlere reaksiyonuna göre (sarı cücelik, çizgi gibi) adlandırılırken, bazıları da bitkilerde hastalığın görüldüğü kısım ya da organlara göre hastalık dokularına göre (kök çürüklüğü, yaprak lekesi, başak yanıklıkları) adlandırılır [3-7]. Hastalığın, patojen ve duyarlı konukçu arasındaki sürekli ilişkiler sonucunda tanımlanabilir semptomların oluşmasıyla meydana geldiği

saptanmıştır [5]. Hastalıkların kontrol altına alınması hem bitkinin hem de bitki sağlığını etkileyen etmenlerin gözönünde bulundurulmasını gerektirmektedir [6,7].

Biyolojik mücadele modern ziraatte acilen ihtiyaç duyulan bir unsurdur. Biyolojik mücadelede kullanılan etmenler içerisinde fungusların türce fazla olmaları, konukçularının iyi bilinmesi yanında birçok fungus türünün yapay besi ortamında kolaylıkla geliştirilebilmesi ve ticari üretim için uygun olmaları gibi nedenler biyolojik mücadele açısından bu etmen grubunun önemini artırmaktadır [1,8].

Biyolojik mücadele, her ne kadar ilaçlı mücadelenin tam bir alternatifi değilse de, ilaç tüketiminin azaltılması ve daha sağlıklı çevre oluşturulmasında önemli bir potansiyele sahip olduğu saptanmıştır. Biyolojik kontrolün, kimyasal kontrolle karşılaştırıldığında ekolojik dengeyi bozmayan alternatif bir mücadele yöntemi olduğu bildirilmiştir [1]. Toprakta ve az sayıda da bitkinin toprak üstü organları üzerinde bulunan bazı fungusların antagonistik özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. *Trichoderma*, *Penicillium*, ve *Gliocladium* gibi cinsler bitkilerde hastalık oluşturan funguslara karşı konukçu bitki üzerinde veya yakın çevresinde yani tohum, tohum taslağı veya yaralı doku etrafında antagonistik etki göstererek patojenik fungusun gelişmesini engellemektedir [2-9].

*Trichoderma* türleri, bitki gelişmesini hızlandırdığı, bitki savunma mekanizmalarını stimüle ederek, bitkileri toprak kaynaklı patojenlere karşı dirençli hale getirdiği ve çeşitli antibiyotik bileşikler ürettiği için biyokontrolde tercih edilmektedir [2,3,12].

### 1.1. *Trichoderma harzianum*'un Genel Özellikleri

*Trichoderma* türlerinin çeşitli topraklarda bulunduğu, mikrobiyal inhibitörlere karşı dirençli oldukları, ürettikleri değişik metabolitler ile organik substratları indirgeyebilme yeteneklerinin olduğu bildirilmiştir [3,9]. *T.harzianum*, *T.viride*, *T.hamatum*'un ıslah edilmiş doğal topraklarda, doğal bitki kalıntılarında, steril topraklarda, toprak ekstratlarında ve sıvı fermantasyon ortamlarında klamidospor üretebildikleri saptanmıştır [9]. *Trichoderma harzianum* izolatlarının çoğunun

suni ortamda çok hızlı gelişerek, çok sayıda küçük yeşil ve beyaz konidia ürettiği saptanmıştır [10]. *T.harzianum* ile yapılan çalışmalarda, klamidospore çapları 4-12µm, konidia çapları ise 2-3µm veya 1,5-2,5µm olarak belirlenmiştir [9].

*T.harzianum* izolatlarının çeşitli besi ortamlarında değişik pigmentler ürettiği [9] ve izolatların en çok azot kaynakları içeren besi ortamlarında gelişme gösterdikleri belirlenmiştir [9]. Karbon ve enerji kaynağı olarak; monosakkaritler, disakkaritler, kompleks polisakkaritler, organik asitler, uzun zincirli yağ asidi partikülleri, metanol ve metil amini kullanmakla birlikte, azot kaynağı olarak; amonyum, aminoasitler, üre, nitrat ve nitritte de gelişme gösterdiği bildirilmiştir [9]. *T.harzianum*'un gelişmesinin topraktaki tuzlar, S kaynakları ve vitamin bileşimince de etkilendiği bildirilmiştir [9].

*T.harzianum*'un pH 6,5 veya daha altındaki topraklarda oldukça aktif antagonistik özellik gösterdiği saptanmıştır [3]. Wells ve ark. [11] tarafından *T.harzianum*'un toprak sıcaklığı 22°C'de veya üzerinde gelişebildiği bildirilmiştir.

## 1.2. *Trichoderma harzianum*'un Biyolojik Kontroldeki Rolü

*Trichoderma* türlerinin zararlılarla mücadelede kullanılabilir mikoparazit ajan olduğu, antibiyotik aktivite gösterdiği ilk kez Weedling tarafından 1932 ve 1934 yıllarında belirlenmiştir. Modern biyoteknolojik uygulamalarda bu fungus, biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmaktadır [9]. Rifaii'nin 1969'da tarım topraklarında yaygın olarak bulunan *Trichoderma* türlerini toplayarak, temel morfolojik özelliklerini incelediği bildirilmiştir [4,10]. 1972 yılında *Trichoderma*'nın tarla şartları altında ilk biyolojik kontrol deneyleri Weels ve ark. [11] tarafından yapılmıştır. Otoklavlanmış topraklara *Trichoderma harzianum* inokule edilerek çavdarda hastalık oluşturan *Sclerotium rolfsii*'ye karşı başarı elde edildiği bildirilmiştir [11,12].

Bitki patojeni funguslara karşı, *T.harzianum* suşlarının sahip olduğu antifungal özelliklerin etkili olduğu belirlenmiştir [13-15]. Bitki patojeni mikroorganizmaların genç bitki tohumlarına saldırılarıyla damping-off (çökerten) olarak bilinen kollektif bir hastalık oluşmaktadır. Ticari fidanlıklarda amatör bahçivancılıkta yaygın olarak görülen bu hastalık *Phyitium*, *Fusarium*,

*Rhizoctonia* gibi bitki gelişmesini engelleyen ve özellikle ilkbaharın soğuk şartlarında gelişen sürgüne yada zayıf tohumlara saldıran fırsatçı patojenler tarafından meydana getirilmektedir [16-22].

Çökerten hastalığındaki belirti; ya hemen tohum çürümesi şeklinde ortaya çıkar yada tohum çimlenir fakat bitki toprak seviyesinde veya toprak seviyesinin biraz üzerinde iken patojenin saldırısına uğrar ve hipokotil ve gövde çürümesi sonucunda bitki çökmesi şeklinde görülür. Çökerten hastalığı mücadelesinin biyolojik olarak *Trichoderma harzianum* ve *Trichoderma hamatum* ile yapılabileceği bildirilmiştir. Toprağa yada tohuma inoküle edilen, *Trichoderma* türlerinin patojenlere antagonistik etki yaptığı saptanmıştır [23-27].

*T.harzianum* ile muamele edilmiş salatalık ve biber fidelerinin daha iyi geliştiği hem yüksek klorofil içeriğine sahip olduğu hem de *Phyitium* spp. ve *R.solani*'nin neden olduğu çökerten hastalığına karşı dirençli oldukları yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [28,29]. *Trichoderma* türlerinin etkilediği bazı funguslar Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Toprak kaynaklı patojenlerin fungus biyokontrol birimleri ile sera ve tarlada uygulanabileceği yapılan çalışmalarla belirlenmiş [1,35] ve *Trichoderma harzianum* ile hazırlanan preparatlar fasulye, domates, patlıcan tohumlarındaki *Rhizoctonia solani*'yi kontrol etmede sera şartlarında uygulanmıştır [30,31].

Tahıllarda kök çürümelerine neden olan *Fusarium* spp., buğday köklerini enfekte eden *Gaeumannomyces graminis* funguslarına karşı *T.harzianum* ile yapılan çalışmalar başarılı olmuştur [32,33]. *Fusarium* türleri, kök yaralarından vasküler sisteme (iletim demetlerine) girerek orada çoğalır ve ksilemden solgunluklara ve yapraklarda sararmalara neden olurlar. Bitkilerde solgunluk oluşturan funguslar, simptom oluşumundan sorumlu pek çok ekstrasellüller bileşik üretmektedir. *Fusarium oxysporum* domates üzerinde fusarik asit (5-bütülpikonik asit) ve likomarasmin (N-(hipoksiyopropiyonik asit)-glisil asparajin) üretmektedir. Fusarik asitin fungus yokluğunda bile solgunluk belirtileri oluşturduğu enfekteli bitkilerde tespit edilmiştir. Solgunluk belirtisinin konukçu ve patojen arasında bir seri kompleks reaksiyonların sonucu olarak ortaya çıktığı saptanmıştır [34].

Çizelge 1.1. *Trichoderma* türlerinin etkilediği toprak kökenli funguslar [1]

Antagonist Fungus	Etkilediği Fungus
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Verticillium dahliae</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Phytophthora citrophthora</i> , <i>Botrytis allii</i> , <i>Pythium ultimum</i> <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Gaeumannomyces graminis</i>  <i>Heterobasidion annosum</i> <i>Sclerotinia homeocarpa</i> ,
<i>Trichoderma lignorum</i>	<i>Colletotrichum spp.</i> , <i>F. solani</i>
<i>Trichoderma aureoviride</i>	<i>Rosellinia necatrix</i> <i>Sclerotium cepivorum</i> ,
<i>Trichoderma polysporum</i>	<i>Heterobasidion annosum</i>
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Trichoderma viride</i>	<i>Verticillium dahliae</i>

*Fusarium* türlerinin çeşitli bitkilerde özellikle fasulyede çürümelere neden olduğu, *F.culmorum* ve *F.avenacerum*'un tahıllarda tüm dünyada kök çürümelerine neden olduğu bildirilmiştir [34]. *F.oxysporum* ve *F.moniliforme* özellikle mısır üzerinde gelişme dönemlerinde toksin üreterek yaprak hastalıklarına neden olduğu saptanmıştır [35,36].

*Fusarium moniliforme* ile enfekteli mısır bitkisinin aniden solduğu ve yaprak renginin parlak yeşilden tamamen gri-yeşile döndüğü bildirilmiştir [35]. Sapların alttaki boğum aralarının saman renginden ziyade koyu kahverengi olarak görüldüğü ve pith kısmının parçalandığı, sadece damarlarının sağlam kaldığı tespit edilmiştir. bazen sap yüzeyinde siyah lekelerin oluştuğu görülmüştür. Pith içerisinde sık sık pembemsi-kırmızı renklenme olmaktadır ve bu renklenmenin bazen sap yüzeyine de çıktığı belirlenmiştir [35]. Patojenin bitkiye bulaşmasının en çok kökler ile olduğu bildirilmiştir [35].

Buğday köklerini enfekte eden daha spesifik bir patojen ise *Gaeumannomyces graminis*'dir. Bu fungus, fide döneminde yada daha sonraki gelişme devrelerinde bitkiyi enfekte ederek başakların erken olgunlaşmasına, köklerin çürüyerek ölmesine neden olur [37]. Bu fungusların neden olduğu hastalıkların kontrolünün *Trichoderma harzianum* ve *Trichoderma koningii* ile yapılabileceği bildirilmiştir [38].

Tahıllarda büyümeyi engelleyen patojenlerden biride *Rhizoctonia solani*'dir. Tahılların ekiminden 3-4 hafta sonra hastalık görülebilir, enfekteli bitkilerin kökleri, fungusun tahrip ettiği yerlerde kahverengi mızrak uçlu, yuvarlanmış şekille sonlanan yumrular oluşturur. *Rhizoctonia*'nın sürülmemiş topraklarda bir misel ağı oluşturarak topraktaki besini bu ağ sayesinde aldığı ve kökleri etkilediği saptanmıştır [12,34].

Köklerin besin emme kapasitesine kök hastalıklarının etkisi büyüktür. *Phythium* spp.'nin tahıllarda ve çimenlerde besleyici kılcal kökçükleri ve kök tüylerini enfekte ettiği saptanmıştır [34]. Bu nedenle, bitki 10-15 cm derinlikteki besin maddelerini alamaz hale gelmektedir. Bu üç hastalıktan herhangi biri veya herhangi bir kombinasyonunun ilk 15-30 cm'deki buğday kök yoğunluğunu

genellikle % 25-50 ve bazen de % 75-80 oranında azalttığı saptanmıştır [1,3,39,40].

Buğday kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalık etmenleri *Fusarium culmorum* Sacc., *Fusarium graminearum* Schwabe ve *Gaeumannomyces graminis* Sacc. Arx et Oliver var *tritici* Walker olarak tespit edilmektedir. Sıcaklık ve topraktaki su potansiyeli bu etmenlerin gelişmesini etkilemektedir. *F.culmorum* ise diğerlerine göre daha kuru koşullarda etkili olduğu bildirilmiştir [3,39].

*Trichoderma harzianum*'un T-35 izolatu ile inokule edilmiş topraklara domates fideleri dikilmiştir. Bu fideler domatesteki taç çürüklüğünün nedeni olan *Fusarium oxysporum f.sp. radidis lycopersici* tarafından doğrudan inokule edilmiştir. Hastalık kontrolünün %48 oranında *T.harzianum* ile azaltıldığı saptanmıştır. Azaltılmış dozda metil bromid (300 kg/ha) ile, aynı yöntem kullanılarak *T.harzianum*'un T-203 izolatu ile salatalık ve biber fidelerindeki hastalığın düşüşünün sağlandığı belirlenmiştir [1].

Inbar [29] tarafından yapılan bir çalışmada; *Fusarium oxysporum* ile inokuleli tohumlar metil bromid (500 kg/ha) uygulanmış topraklara ekilmiştir, sonuçlar *Trichoderma*'ya tabi tutulmuş bitkilerin hastalığa karşı daha dirençli olduklarını göstermiştir.

*R.solani*'nin neden olduğu salatalık ve biber fidelerindeki çökerten hastalığına karşı *T.harzianum* ile yapılan hastalık kontrolü % 52, *S.rolfsii*'nin neden olduğu fasulye, pamuk ve domates kök çürüklüğünün kontrolü % 60 oranında olmuştur [41-43].

*Trichoderma harzianum*'un T-39 izolatu ile yapılan Trichodex isimli ürünün *Botrytis cinerea*'nın kontrolünde başarılı olduğu bildirilmiştir [13]. Trichodex'in uzun süre etkili olduğu, seralarda sebze yetiştiriciliği ve üzüm bağlarında başarılı bir şekilde kullanıldığı saptanmıştır. *T.harzianum*'dan hazırlanan Trichodex ürünü üzüm bağlarında tek başına uygulandığında hastalığın %84 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Kimyasal fungisit olan İprodione ve Trichodex'in beraber kullanılmasının, bu ürünlerin her birinin tek başına kullanılmasından daha etkili olduğu belirlenmiştir. Biyokontrol ajanı olan *T.harzianum*'un fungusit ile nöbetleşe kullanılmasında etkili olduğu, böylece fungusit kullanımında bir düşüş sağlandığı bildirilmiştir [1]. Ayrıca bezelye,

salatalık, domates ve biberde *Pythium aphanidermatum*'un neden olduğu zararı kontrol etmede *T.harzianum* ve mutantlarının kullanıldığı bildirilmiştir [13].

*T.harzianum*'un T-95 izolatının turp ve domates bitkilerinin gelişmesini arttırdığı saptanmıştır. Windham ve ark. [44] tarafından *T.harzianum*'un T-8, T-12 ve T-95 izolatları ile inokule edilen topraklarda turp, domates, tütün ve mısırın yeşil aksam ve kök yaş ve kuru ağırlıklarının *T.harzianum* izolatları ile inokulesiz denemelere oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir.

### 1.3.Biyolojik Kontrol Mekanizmaları

Toprak kökenli bitki patojenlerine birçok fungus parazittir. Patojenik fungusların biyolojik kontrolünde *T.harzianum* ve *T.hamatum* biyolojik ajanlar olarak kullanılmaktadır. Biyokontrolde kullanılan ajanların biyokontrol mekanizmaları; antibiosis, liziz, rekabet ve mikoparazitizm olarak bildirilmiştir [13].

Barnett ve Binder [45] tarafından, mikoparazitizm; biyotrofik ve nekrotrofik olarak iki kısımda incelenmiştir. Araştırmacılar; biyotrofik mikoparazitlerin kısıtlanmış konukçu oranına sahip olduğunu ve konukçudan besin ihtiyaçlarını karşılamak için özel yapılar ürettiğini bildirmişlerdir [45].

Nekrotrofik mikoparazitlerin ise (*Trichoderma* spp.) daha saldırgan olduğu, daha geniş konukçu oranına ve çeşitliliğine sahip olduğu bildirilmiştir. Doğada yaygın olarak bulunmaları ve saprofitik özellikleri nedeniyle biyokontrolde kullanılan mikoparazitlerin çoğunluğunun nekrotroflar olduğu saptanmıştır [45-47]. Mikoparazitlerin sahip oldukları hidrolitik enzimler ile, konukçu hücre duvarının içine nüfuz ettikleri saptanmıştır [48,49].

Fungus hücre duvarının enzimsel küçülmesinin, hücre duvarından glukonaz ve kitinaz enzimlerinin ayrılmasıyla oluştuğu bildirilmiştir. Her bir *Trichoderma* izolatının toprak kaynaklı patojenleri kontrol etme özelliğinin yüksek glukonaz ve kitinaz aktiviteleri ile ilgili olabileceği bildirilmiştir [48].

İn vitro olarak yapılan araştırmada *T.harzianum*'un bitki patojenlerine karşı etkisinin antibiosis ile ilişkili olduğu belirlenmiştir [50-53]. *Trichoderma* türlerinin in vitro'da birçok toksik metabolit ürettiği, ayrıca topraktaki organik

materyalde de toksik metabolitler üretebildiği kanıtlanmıştır [54-56]. Rizosferdeki çeşitli iyon ve karbon faktörleri için rekabet etme, patojenik funguslara parazitizm etkisi göstermek *Trichoderma* spp.'nin antagonistik yeteneğinden dolayı olduğu bildirilmiştir [57,58].

TEM (Transmission Electron Microscopy) kullanılarak parazit ile antagonist arasındaki etkileşimler incelenmiştir [59,61,62]. Benhamou ve Chet [62] tarafından, *Trichoderma harzianum* ile toprak kökenli bitki patojenleri arasındaki etkileşimler incelenmiştir; *Trichoderma harzianum*'un hifleri ile konukçuyu çevirerek, konukçu hiflerini sardığı ve appressorium benzeri yapı oluşturup mikoparazit etki yaptığı bildirilmiştir.

*Trichoderma harzianum* ve *Trichoderma hamatum*'un *S.rolfsii* ve *R.solani*'ye etki ettikleri saptanmıştır ve parazitizm aşamasının sadece yüzeyde olmadığı, konukçu hücresi içinde plazma membranının çekilmesi, stoplazmanın toplanması gibi geniş çapta değişikliklerin olduğu saptanmıştır. *T.harzianum* ve *S.rolfsii*'nin etkileşimli alanlarında alınan örneklerde; *S.rolfsii* hücre duvarının *Trichoderma harzianum* hifleri ile çevrildiği ve hemen penetre olduğu Elad ve ark. [62] tarafından incelenmiştir.

*Trichoderma harzianum*'un hiflerinin, *R.solani*'yi sararak sınırlandırdığı ve *R.solani* hiflerinin turgorunun azalarak hızla çöktüğü incelenmiştir. [61]. *T.harzianum*-*R.solani* çift kültürünün etkileşimli alanı TEM'de (Transmission Electron Microscopy) incelenmiş ve etkileşimin en iyi *R.solani*'nin dış matriksinde görüldüğü belirlenmiştir [62]. *Trichoderma*'nın hifinin *R.solani* hücrelerine adhezyonundan hemen sonra *R.solani* hücre duvarında değişiklik olduğu ve parçalanmaya başladığı saptanmıştır. Ayrıca *R.solani*'nin dış duvar katmanında önemli olarak N-asetil glukoz aminin azalmasını, *Trichoderma* spp.'nin ürettikleri kitinazdan dolayı olduğu bildirilmiştir [65]. Konukçunun iç duvar katmanlarındaki N-glukoz amin miktarının değişikliğinin *Trichoderma* spp.'nin ürettiği hidrolitik enzimlerin difüzyonundan dolayı olduğu bildirilmiştir [66].

*F.oxysporum*'un hücre duvarının *R.solani* ve *S.rolfsii*'ye göre daha dirençli olduğu saptanmıştır. Elad ve ark. [65] tarafından yapılan çalışmada *Fusarium* spp.'nin hücre duvarını, parçalanmaya karşı hiflerindeki musilaj

tabakasının koruduğu bildirilmiştir. *F.oxysporum*'un hücre duvarının diğer funguslara göre daha fazla protein içerdiği belirlenmiştir [61,65].

Funguslarda, antagoniste karşı azalan biyolojik ve kimyasal dirençlilik yeteneğinin, içerdikleri melanin miktarından kaynaklandığı bildirilmiştir [61]. Antagonistik fungusların konukçu hücre duvarını sindirmelerinin, kitinaz ve  $\beta$ -(1,3)-glukonaz gibi ekstrasellüler enzimlerin aktiviteleri ile olduğu bildirilmiştir [59,60]. Elad ve ark. [65] tarafından, *Trichoderma* türlerinin miselyumları ile konukçu hücre arasındaki etkileşiminin, osmofilik durumlara neden olduğu saptanmıştır. Benzer durumların *A.oligospora*-nematod arasında bulunduğu belirtilmiştir [62]. *Trichoderma*'nın birçok türünün bitki patojenlerine etki yaptığı açıklanmıştır; bu etki içerdikleri antibiyotikler, temel besinlerde rekabet, hücre duvarını parçalayıcı enzimler, bitki savunma mekanizmalarının teşviki veya bunların kombinasyonu şeklindedir [67].

Chet ve Baker [26] tarafından, *Trichoderma harzianum* izolatlarının gelişme gösterebilmesi, konidia ve klamidospore üretebilmeleri için, toprak pH'sının 5,2-6' dan daha düşük olması gerektiği bildirilmiştir.

Inbar ve ark. [29] tarafından *T.harzianum*'un T-203 izolatı ile inokule edilmiş topraklarda yetiştirilen biber ve salatalık ürünlerinin yapraklarındaki klorofil içeriğinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yaprak alanları, bitki boyları ve kuru ağırlıklarını *T.harzianum* ile inokuleli olan ürünlerde daha yüksek olduğu saptanmıştır [1,44,68,69].

#### 1.4. Metabolit Üretimi

*Trichoderma* türlerinin toksik metabolit üretimine ait ilk geniş bilgiler Weindling tarafından verilmiştir. Weindling *T.lignorum*'un antifungal metabolit ürettiğini kanıtlamıştır. *Rhizoctonia solani*'ye karşı toksik kristal formda organik metabolit olan gliotoksin izole edilmiştir. Ayrıca *T.viride* tarafından üretilen viridin'in oldukça etkili bir antibiyotik olduğu kanıtlanmıştır [64].

Oldukça basit teknikler kullanılarak *Trichoderma* türlerinden toksik özellikteki metabolitlerle çalışılmıştır. Yeni teknikleri içeren çeşitli endüstriyel mikrobiyoloji çalışmaları ile metabolit üretiminde başarılı bir şekilde ilerleme

kaydedilmiştir. Bu ilerleme ile *Trichoderma*'nın taksonomisi, *Trichoderma* spp.'nin toksik metabolit üretme yeteneği üzerine çalışmalar yapılmıştır. *Trichoderma* spp.'nin gliotoksin ve viridin'den farklı antibiyotikler ürettiği belirlenmiştir [64].

*Trichoderma* türleri farklı ışıklarda; viridin, viridiol, gliovirin, heptolidik asit, gliotoksin gibi farklı antibiyotikleri üretmektedir. Özellikle *T.harzianum* esas uçucu antibiyotik olan 6-penty- $\alpha$ -pyrone (6-PAP) üretmektedir [2].

*Trichoderma harzianum* Rifaii'nin *Trichoderma* türleri içinde en çok çalışıldığı ve biyolojik kontrol çalışmalarında en etkili olduğu bildirilmiştir [19,64]. *T.harzianum*'un iki izolatının hindistan cevizi aromalı ürünler ürettiği saptanmıştır. İki izolatın da 6-n-pentyl-2H-pyran-2-1 (6PP,1) ve dehidroanalogue ürettiği bulunmuştur [64]. 6PP ürününün *Ceratocystis (=Ophiostoma) ulmi* (Buism) Nannf. ve *Botrytis cinerea* Pers'in gelişmesini engellediği saptanmıştır [65]. Bu bileşiğin *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* Walker ve sklerotiaya sahip diğer patojenlere karşı geniş oranda etkili olduğu saptanmıştır [64].

*Trichoderma harzianum*'un 70 izolatınının 1-hidroksi ve 1,8 dihidroksi-3-metilan-trakuinan'ı sıvı ortamlarda ürettiği ve *G.graminis*'in gelişmesini engellediği belirlenmiştir. *T.harzianum*'un bazı izolatlarının da bu fungusunun agarlı ortamda gelişimine az oranda etkili olduğu fakat bu izolatların, patojen yokluğunda veya buğdayda patojen varlığında bitkinin kök uzunluğunu arttırdığı bildirilmiştir [64].

*T.hamatum*'un trichoviridin, isocyanide, isonitrile antibiyotiklerini ürettiği saptanmıştır. Isonitrile'nin ayrıca *T.harzianum*, *T.koningii*, *T.polysporum* (= *Tolypocladium niveum*) ve *T.viride* Pers ex Gray türleri tarafından da üretildiği belirtilmiştir [64]. *T.hamatum*'un sıvı ortamda üç farklı isonitril ürettiği Ghisalberti ve ark. [65] tarafından bildirilmiştir. Isonitril A; gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler, mayalar ve filamentli funguslara karşı oldukça etkili olarak bulunmuştur, diğer iki bileşiğin etki alanının oldukça sınırlı olduğu belirtilmiştir [65].

Dermadin (II) ilk kez *T.viride*'nin izolatlarından üretilmiştir. Ayrıca *T.viride* izolatlarında 6-pentenyl- $\alpha$ -pyrone, 6PP, trichoviridin, heptelitik asit, trichodermin üretildiği bildirilmiştir [64].

İlk antibiyotik bileşiklerin *T.koningii*'nin izolatlarında üretildiği bildirilmiştir. *T.koningii*, Dermadin ve trichoviridin metabolitlerini üretir. Dermadin'in; gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere, geniş çeşitlilikte funguslara karşı etki gösterdiği, trichovirinin ise; *Escherichia coli* Castell ve Chalm *Trichophyton asteroides*'e (= *T.mentagrophytes* (Robin) Blanch.) etkili olduğu bildirilmiştir [64]. Ayrıca *Phytophthora cinnamoni* Rands'ın oosporlarına karşı *T.koningii*'ni bazı izolatlarının uçucu metabolitler ürettiği saptanmıştır. *T.koningii* ve *T.viride* izolatlarının Heptelitik asit ürettikleri saptanmıştır. Heptelitik asitin, *R.solani*, *Bacteriodes fragilis* gibi anaerobik bakterilerde ve fare hücrelerinde etkili olduğu bildirilmiştir [64].

*T.koningii*'nin ürettiği uçucu antibiyotiklerin *R.solani* ve *Heterobasidion annosum*'a karşı etkili olduğu ve ayrıca bir çok izolatının da uçucu olmayan antibiyotik ürettiği saptanmıştır [64].

*Trichoderma* spp.'nin ürettiği mikolitik enzimlerin konukçu hücrelerini parçalanmasındaki önemi kanıtlanmıştır. *T.harzianum* ile konukçu hücre duvarının parçalanması üretilen kitinaz ve  $\beta$ -(1-3)-glukonaz gibi ekstrasellüler enzimlerin aktivitesiyle olmaktadır. *T.harzianum*'un ürettiği kitinaz ve  $\beta$ -(1-3)-glukonaz gibi enzimleri ile *Pythium* spp.'nin hücre duvarlarındaki glukani azaltıp, patojeni etkisiz hale getirdiği belirlenmiştir.  $\beta$ -(1-3)-glukonaz ve kitinaz gibi anahtar enzimlerin sklerotial duvar lizisi ve fungal hücrelerinin her birinin parçalanmasında etkili olduğu saptanmıştır [70].

Basidiomycetes ve Ascomycetes'in hücre duvarının yıkımında da *Trichoderma harzianum*'un ürettiği kitinolitik enzimler rol oynamaktadır. Biyokontrolde ve bitki patojenlerine karşı bu fungusun içerdiği kitinazdan dolayı antagonistik etki gösterdiği bildirilmiştir [71].

Son yıllarda fungal teknolojisinde endüstriyel ürün ve metabolitlerin üretilmesinde önemli ilerlemeler olmuştur. Sera ve laboratuvar çalışmalarında kullanılacak *Trichoderma* türlerinin katı besi ortamında çabuk geliştiği belirlenmiştir. *Trichoderma polysporum* ve *Trichoderma harzianum*'dan elde edilen peletler arpa veya buğday tohumlarına uygulanarak yada buğday- kepek karışımları ile beraber tarlada biyolojik kontrol amacı ile uygulanmaktadır.

Ayrıca yüksek ozmatik basınca karşı toleranslı olan bu türlerin ürettiği sporların sıvı gübre şeklinde de topraklara eklenebildiği bildirilmiştir [1,12].

Günümüzde kimyasal ilaç kullanımını mümkün olduğu kadar azaltarak, çevreyi kirletmeden verimli bitki yetiştiriciliği amaçlanmaktadır. Bundan yola çıkarak, toprak kökenli bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıkları azalttığı belirlenen *Trichoderma harzianum*'un biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılarak çevre kirlenmesinin önlenmesi ve ilaç tüketiminin azaltılması amaçlanmıştır.

## 2. 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. MATERYAL

#### 2.1.1. Kullanılan Mikroorganizmalar

Otuz bir tarla ve orman toprak örneğinden daha önce laboratuvarımızda izole edilen *Trichoderma harzianum*'un T1, T3, T4, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T14, T15, T18, T19, T20, T21, T22 izolatları kullanılmıştır. Bitki patojeni funguslardan *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia solani*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Sclerotium rolfsii* suşları Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesinden, *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia cerealis*, *Drechslera sorokiniana* suşları ise Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden sağlanarak kullanılmıştır. Mikroorganizma kültürleri kullanılıncaya kadar +4°C'de saklanmıştır.

#### 2.1.2. Kullanılan Test Bitkileri

Test bitkileri olarak,

-Buğday (*Triticum* spp.) –Bezostaja-1

-Domates (*Lycopersion esculentum* L.) –H-2274

-Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) –ESK 855

-Mısır (*Zea Mays*) –FR 632 tohumları, Anadolu Tarımsal

Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden sağlanarak kullanılmıştır.

#### 2.1.3. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler

##### 2.1.3.1. Patates Dekstroz Agar (Merck)

Patates infüsyonu	4.0g/l
D (+)glukoz	20.0g/l
Agar	15.0g/l

Patates Dekstroz Agar 39g/l olacak şekilde distile suda eritilerek otoklavda 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika steril edildikten sonra kullanılmıştır.

### 2.1.3.2. Kullanılan Çözgenler

Patates Dekstroz Agar içeren petrilerde geliştirilen fungusların spor ve misellerinin toplanması için %0.2'lik Tween 80 kullanılmıştır.

### 2.1.3.3. Chapek-Dox Agar

Sukroz	30.0 g/l
NaNO <sub>3</sub>	3.0 g/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g/l
MgSO <sub>4</sub>	0.5 g/l
KCl	0.5 g/l
Ferrous sülfat	0.01 g/l
Agar	15.0 g/l
Distile su	1000 ml

Besi yeri içeriği distile suda çözülerek pH 7,3'e ayarlanıp, 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

### 2.1.3.4. Bazal Ortam

Mikolojik pepton	10.0 g/l
NaCl	5.0 g/l
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.1 g/l
Bromkrezol moru	0.05 g/l
Agar	15.0 g/l
Distile su	1000 ml

Besi yeri içeriği pH 5,6 olacak şekilde 1M NaOH ile ayarlanarak, 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

#### 2.1.3.5. A Ortamı

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 g/l
KCl	0.5 g/l
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2 g/l
CaCl <sub>2</sub>	0.1 g/l
Thiamin.HCl	0.001 g/l
(NH) <sub>2</sub> .SO <sub>4</sub>	0.5 g/l
Agar	12.0 g/l
Distile su	1000 ml

Besi yeri içeriği pH 5,6 olacak şekilde 1M NaOH ile ayarlanarak, 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

#### 2.1.3.6. B Ortamı

NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 g/l
KCl	0.2 g/l
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2 g/l
Agar	12.0 g/l
Distile su	1000 ml

Besi yeri içeriği pH 5,6 olacak şekilde 1M NaOH ile ayarlanarak, 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

#### 2.1.3.7. Nutrient Agar (Fluka)

Meat Ekstrat	1.09 g/l
Yeast Ekstrat	2.0 g/l

Pepton	5.0 g/l
Sodyum klorid	5.0 g/l
Agar	15 g/l

Nutrient agar 28g/l olacak şekilde distile suda eritilerek otoklavda 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika steril edildikten sonra kullanılmıştır.

#### 2.1.3.8. Sakkaroz Nitrat Agar

Sakkaroz	30.0 g/l
NaNO <sub>3</sub>	2.0 g/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g/l
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5 g/l
KCI	0.5 g/l
FeSO <sub>4</sub>	0.01g/l
Agar	15.0 g/l
Distile Su	1000 ml

Besi yeri içeriği pH 7-7,3 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

#### 2.1.3.9. ASHBY Besiyeri

Mannitol	15.0 g/l
Dipotasyumfosfat	0.5 g/l
MgSO <sub>4</sub>	0.2 g/l
NaCl	0.1 g/l
CaCO <sub>3</sub>	3.0 g/l
Agar	15.0 g/l
Distile Su	1000 ml

Besi yeri içeriği pH 7-8 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

#### 2.1.3.10. Malt Ekstrat Agar (Merck)

Malt Ekstrat	30.0 g/l
Mikolojik Pepton	5.0 g/l
Agar	15.0 g/l
Distile Su	1000 ml

Malt Ekstrat Agar 50 g/l olacak şekilde distile suda eritilerek 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

## 2.2. YÖNTEM

### 2.2.1. Fungal İnhibisyon Testleri

*Trichoderma harzianum*'un (T1, T3, T4, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T14, T15, T18, T19, T20, T21, T22) 16 izolatu ile toprak kökenli bazı bitki patojenleri (*Sclerotium rolfsii*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Dreschlera sorokiniana*, *Rhizoctonia cerealis*, *Rhizoctonia solani*, *Gaeumannomyces graminis var. tritici*) 7 gün boyunca PDA içeren besi ortamında geliştirilmiştir. Daha sonra her bir *Trichoderma harzianum* izolatının bulunduğu petri kutusundan alınan 7 mm çapında disk farklı bitki patojenlerini içeren petri kutularından alınan 7 mm çapındaki disklerle aralarında 5 cm boşluk olacak şekilde PDA içeren steril petri kutularına ekilmiştir. 25 °C'de 7 gün inkübasyon süresince patojen ve antagonistin büyüme miktarı zon çapları ölçülerek, patojen fungusun büyümesinin antagonist tarafından engellenmesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır [72]. Her bir deney 3 kez tekrarlanmıştır.

$$RI = (R_1 - R_2) \times 100 / R_1 \quad (1-1)$$

Burada;

RI :Büyümenin antagonist tarafından engellenmesi

R<sub>1</sub> :Antagonistin patojen yönündeki büyüme çapı,

R<sub>2</sub> :Antagonist ile patojenin aşılama durumları arasındaki mesafedir.

### 2.2.2. *Trichoderma harzianum* İzolatlarının Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

#### 2.2.2.1. Aesculin Hidrolizi

Chapek-Dox agara 5 g/l sukroz, 3g/l aesculin, 0,2 g/l ferrik sitrat ilave edilerek hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm çapındaki diskleri inokule

edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [73].

#### **2.2.2.2. Nişasta Hidrolizi**

Chapek-Dox agara sukroz yerine 10 g/l eriyebilir nişasta ilave edilerek hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [73].

#### **2.2.2.3. Tween 80 Hidrolizi**

Bazal ortam ve sıvı Tween 80 (v/v %10) ayrı ayrı otoklavlanmıştır. Ortamlar sırasıyla 9:1 oranında karıştırılıp petri kutularına dökülmüştür. Petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [73].

#### **2.2.2.4. Sellüloz Hidrolizi**

B Ortamına 10 g/l sellüloz ilave edilerek hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [74].

#### **2.2.2.5. Kazein Hidrolizi**

A Ortamına 10 g/l glukoz, 25ml (w/v) %15 skim milk ilave edilerek hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [73].

#### 2.2.2.6. Jelatin Hidrolizi

Chapek-Dox agara jelatin 120 g/l olacak şekilde ilave edilmiştir. Otoklavlanıp, petri kutularına döküldükten sonra 1 saat 4<sup>0</sup>C'de soğutulmuştur. Hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [73].

#### 2.2.2.7. Tellur Hidrolizi

Chapek-Dox agara 0,032 g/l potasyum tellur ilave edilerek hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm. çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [73].

#### 2.2.2.8. Polypeptate Hidrolizi

B Ortamına 6 ml (w/v) %10 CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O ve 0,05 g/l bromthymol mavisi ilave edilmiştir. pH 6-8'e 1M NaOH ile ayarlanmıştır. Daha sonra 35 g/l polygalactronic asit eklenerek 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika otoklavlanarak hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [73].

#### 2.2.2.9. Tetrazolium İndirgenmesi

Chapek-Dox agara 0,064 g/l tetrazolium blue klorur eklenerek hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma harzianum* izolatlarının her birinin 7 mm çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir [73].

### 2.2.3. *Trichoderma harzianum*'un Seradaki Uygulamaları

Denemede kullanılan buğdayda hastalık oluşturan *Gaeumannomyces graminis*'e karşı, domates ve fasulyede hastalık oluşturan *Fusarium oxysporum*'a karşı en yüksek inhibisyon oranını veren *Trichoderma harzianum*'un T20 izolatu, fasulye ve domateste hastalık oluşturan *Rhizoctonia solani*'ye ve mısırdaki hastalık oluşumuna neden olan *Fusarium moniliforme*'ye karşı en yüksek inhibisyon oranını veren *Trichoderma harzianum*'un T8 izolatu kullanılmıştır.

*Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının Patates Dekstroz Agar'daki 22°C ve 16 saatlik ışık periyodunda geliştirilmiş 14 günlük kültürlerinden elde edilen  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$  ve  $1 \times 10^7$  spor/ml olan spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Farklı saksılardaki 1kg. toprağa *Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının mililitresinde  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$  ve  $1 \times 10^7$  adet spor bulunan süspansiyonlarından ayrı ayrı 20 şer ml ilave edilmiştir. Biyolojik preparatın 2 gün steril saksı toprağında kolonize olması sağlandıktan sonra inokulumlu tohumlar ekilmiştir.

Biyolojik preparatın ilave edildiği saksılardaki ve kontrol saksılarındaki hasta ve sağlam bitkiler belirlenerek biyolojik preparatın % etkisi aşağıdaki formüle göre tespit edilmiştir [75].

$$\text{İlacın \% Etkisi} = \frac{\text{Kontrol \%Entansitesi} - \text{İlacın \% Entansitesi}}{\text{Kontrol \%Entansitesi}} \quad (3-1)$$

Burada;

Kontrol % Entansitesi : Kontrol saksılarındaki sağlam bitki %si

İlacın % Entansitesi : *T.harzianum*'un ilave edildiği saksılardaki sağlam bitki %sini

göstermektedir.

### 2.2.4. Tohum İnokulasyonlarının Hazırlanması

Reaksiyon çalışmalarında hastalık etmenlerinin tohumlara bulaştırılmasında *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium moniliforme* için  $1 \times 10^8$  spor/ml yoğunluğundaki inokulumu kullanılmıştır. *Gaeumannomyces graminis* ve

*Rhizoctonia solani* için ise diğer patojenler gibi 12-14 günlük Patates Dekstroz Agarda 22<sup>0</sup>C ve 16 saatlik ışık periyodunda geliştirilmiş kültürlerden elde edilen misel süspansiyonu inokulum olarak kullanılmıştır. Patojenlere ilişkin bu inokulumlar gerekli olan tüm inokulasyonlarda kullanılmıştır.

Doğal olarak bulaşık olmayan test bitkilerinin tohumları % 1.0'lık sodyum hipoklorit içerisinde 2-3 dakika yüzeysel olarak dezenfekte edilmiş, steril distile suda yıkandıktan sonra steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur. Tohumlar, patojenlerin ayarlanan spor ve misel süspansiyonları içinde 24 saat tutulduktan sonra steril kurutma kağıtları üzerinde laboratuvarında kurutulmuştur [39].

Deneme, tesadüf blokları deneme desenine göre planlanmış ve 5 tekerrürlü olarak kurulmuştur [75]. Sera kabınınin sıcaklığı 22<sup>0</sup>C ve rutubet %80 olarak ayarlanmıştır. 12 cm çaplı ve 12 cm yüksekliğinde olan ayrı ayrı saksılara uygun patojen ile inokule edilen 5 domates tohumu, 5 mısır tohumu, 4 fasulye tohumu ve 10 buğday tohumu 3 cm derinliğe ekilmiştir. Ekimden 1 hafta sonra bitkiler toprak yüzeyine çıkınca, boy uzunlukları ölçülerek, uygulamalar arasındaki farklılıklar gözlemlenmiştir. Değerlendirmeler ekimden 7 hafta sonra yapılmıştır. Bu süre zarfında bitkilerin gelişmeleri gözlemlenmiştir. Saksılardaki sağlam ve hasta bitki sayıları belirlenerek % hastalık oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır [76].

$$\% \text{Hastalık Oranı} = (1 - S/T \times \text{ÇO}) \times 100 \quad (4-1)$$

Burada;

S : Saksıdaki sağlam fide sayısı

T : Bir saksıya atılan tohum adedi

ÇO: Çimlenme Oranı (%) ni göstermektedir.

Ayrıca saksılardan sökülen bitkilerin kök ve yeşil kısımlarının hem yaş hem de kuru ağırlıkları tartılarak uygulamalar arasındaki farklılıklar ortaya konmuştur. Kuru ağırlıklar 70<sup>0</sup>C'lik etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletilerek elde edilmiştir. Biyolojik preparatların etkililiğini belirlemek için yapılan varyans analizleri ve Duncan testi için MSTAT istatistik programı kullanılmıştır [75]. Aynı işlemler sera koşullarında tarladan alınan topraklarda da

yapılmıştır. Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Eskişehir Araştırma Enst. Müdürlüğünün toprak analiz laboratuvarında kullanılan tarla toprağının pH 7.94, %kireç 0.106, %Organik madde 1.92, bitkilere yararlı  $P_2O_5$  7.77 kg/da,  $K_2O$  241.19kg/da, rutubet % si 8.47, kum %29.19, silt %28.98, kil %41.82 olarak bulunmuştur.

### 2.2.5. Kullanılan Tarla Toprağındaki Mikroorganizma Sayısı

*Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının üç farklı dozlarının ( $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$  spor/ml) verildiği saksılardan ve kontrol saksılarından alınan hava kuru topraklardan, toprakların her birinden 1 gram tartılıp,  $10^{-6}$  lık dilüsyonlar hazırlanmıştır.  $10^{-6}$  lık dilüsyonlardan 1 ml alıp, farklı besi yeri içeren etiketlenmiş petrilere boşaltılmıştır.

Bakteri sayımı için, hazırlanan Nutrient Agar etiketli petrilere 15-20 ml erimiş Nutrient Agar dökülerek, petri 8 hareketi yapılmış ve agar katılaşmaya bırakılmıştır.

Fungus sayımı için, işlem Malt Ekstrakt Agar etiketli petrilere 15-20 ml erimiş Malt Ekstrakt Agar dökülerek tekrarlanmıştır.

Aktinomiset sayımı için, işlem Sakkaroz Nitrat Agar etiketli petrilere 15-20 ml erimiş Sakkaroz Nitrat Agar dökülerek tekrarlanmıştır.

Azotobakter sayımı için, işlem Ashby Agar etiketli petrilere 15-20 ml erimiş Ashby Agar dökülerek tekrarlanmıştır. Tüm petriler ters çevrilerek  $25-30^{\circ}C$ 'ye ayarlanmış inkübatöre konmuştur ve 3-7 gün sonra sayım, aşağıdaki formüle göre yapılmıştır [77].

$$\text{Beher gram Topraktaki Mikroorganizma Adedi} = \frac{(2 \text{ Petrinin Ortalaması}) \times 10 \times \text{Dilüsyon}}{\text{Toprak Ağırlığı (g)}} \quad (5-1)$$

### 3. BULGULAR

#### 3.1. *T.harzianum* İzolatlarının Bitki Patojenlerinin Gelişimine Olan Etkileri

Laboratuvarımızda geliştirilen *Trichoderma harzianum*'un 16 izolatının (T1, T3, T4, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T14, T15, T18, T19, T20, T21, T22), toprak kökenli bitki patojenlerinin (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia solani*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia cerealis*, *Drechslera sorokiniana*) koloni gelişimleri üzerine etkileri belirlenerek karşılaştırılmıştır. Bitki patojeni funguslar ve *Trichoderma harzianum* izolatları aynı anda inkübe edilmiştir. *Trichoderma harzianum* izolatlarının hepsi inkübasyondan 2 gün sonra radyal olarak gelişmeye başlamıştır.

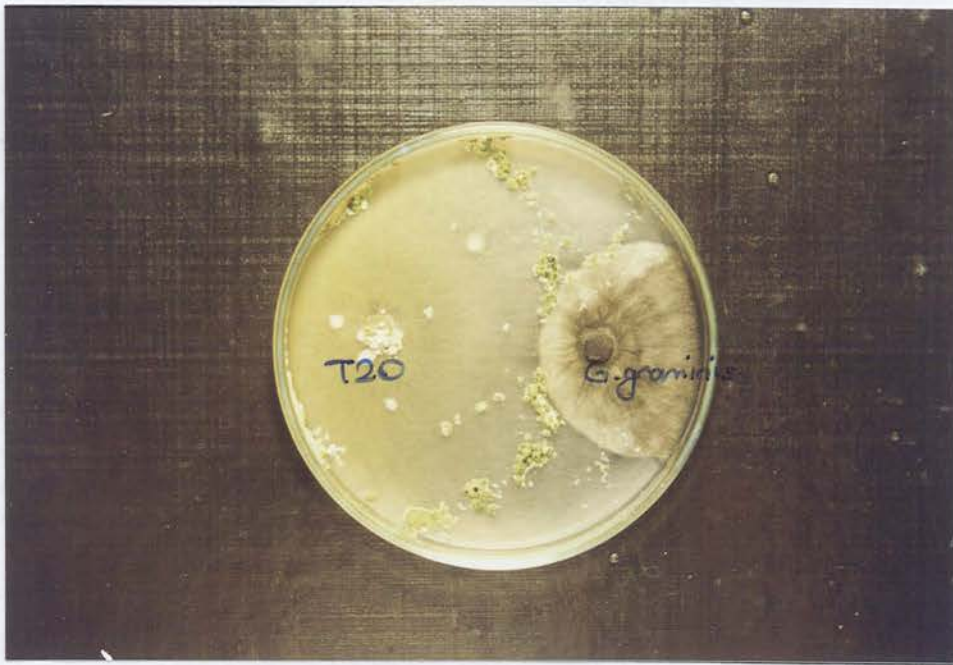
İnhibisyon deneylerinde, %64 RI (inhibisyon değeri) değeri ile *F.oxysporum*'a karşı T20, %80 RI değeri ile *D.sorokiana*'ya T18, %77,2 RI değeri ile *F.culmorum*'a T1, %80 RI değeri ile *R.solani*'ye karşı T8, %60 RI değeri ile *F.solani*'ye karşı T15, %80,8 RI değeri ile *R.cerealis*'e karşı T4, %55,2 RI değeri ile *F.moniliforme*'ye karşı T8, %72 RI değeri ile *G.graminis*'e karşı T20 etkili olmuştur (Çizelge 1.1).

T20'nin *F.oxysporum*'a inhibisyonu Şekil 1.1'de verilmiştir. En yüksek RI (inhibisyon) değeri %95,8 ile T11 *S.rolfsii*'ye, en düşük RI değeri ise *S.rolfsii*'ye karşı T12 izolatu ile elde edilmiştir. T8'in *R.solani*'yi inhibisyonu Şekil 1.2'de, T11'in *S.rolfsii*'yi inhibisyonu Şekil 1.3'de verilmiştir. Çizelge 1.1'den de görüleceği üzere bitki patojenlerinin koloni gelişimine en etkili *Trichoderma harzianum* izolatının T4 olduğu belirlenmiştir.

*Trichoderma harzianum*'un izolatlarına karşı en dirençli patojenlerin *F.oxysporum*, *F.moniliforme*, *F.solani* ve *F.culmorum* olduğu; en hassas patojenlerin ise *S.rolfsii*, *R.cerealis* ve *R.solani* olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1.1). *Trichoderma harzianum*'un T12, T14, T22 izolatlarının patojenler üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 1.1). T14'ün *S.rolfsii*'yi inhibisyonu Şekil 1.4'de görülmektedir.

Çizelge 1.1. *T.harzianum*'un bitki patojenlerini inhibisyonu

Fitopatojenler	<i>Trichoderma harzianum</i> izolatlarının %RI (inhibisyon) değerleri															
	T1	T3	T4	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T14	T15	T18	T19	T20	T21	T22
<i>S.rofsii</i>	50,8	88,8	93,2	76	79,8	86	70,4	95,8	1	5	42,7	64,8	82,8	70	75	32,6
<i>F.oxysporum</i>	55,2	42	51,4	38,8	41,8	60	47,4	43,2	24	50	42,7	42,3	39,6	64	38	9
<i>D.sorokiniana</i>	51,2	40	58,8	57,4	59,8	47,6	56,4	54,4	34	2	48	80	50	40	40	33,2
<i>F.culmorum</i>	77	48	53,8	44,4	47	44,6	50	51,6	27	23	42,7	47	34	38,8	44	4,5
<i>R.solani</i>	47,6	50	75,6	74	89,8	77	88	84,6	15	27,5	56,7	68,8	76,6	61,7	82	31
<i>F.solani</i>	45,1	42	54,6	52,7	47,2	57	45,8	49	34	36,4	60	49,3	32	31,2	50	10
<i>R.cerealis</i>	80,6	52	80,8	53,4	64	51,2	54,4	56,2	45,2	34	57,8	73,8	54	44	58	13,1
<i>F.moniliforme</i>	50	46	53,4	42	55,2	53,4	54,6	49	31	48	45	47,5	46	33,8	54,2	13
<i>G.graninis</i>	63,2	42	55,2	33	33,2	42,4	47	46,6	13,4	38	46,6	45	28	72	33	6,4



Şekil 1.1. T20'nin *G.graminis*'i İnhibisyonu



Şekil 1.2.T8'in *R.solani*'yi inhibisyonu



Şekili 1.3. T14'in *S. rolfsii*'yi inhibisyonu

### 3.2. *Trichoderma harzianum* İzolatlarının Enzim Aktiviteleri

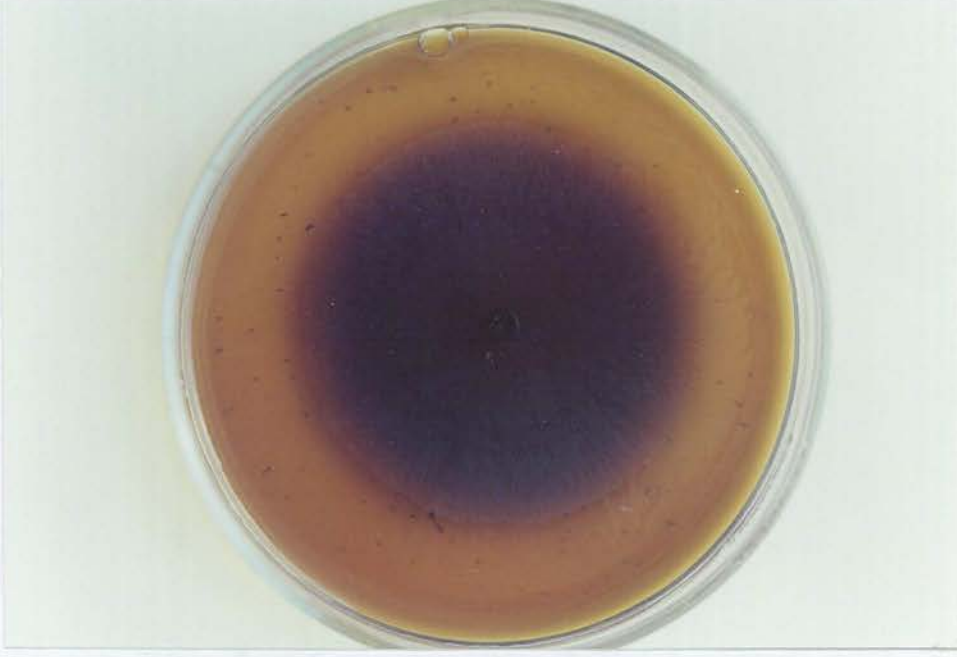
*Trichoderma harzianum*'un T1, T3, T4, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T14, T15, T18, T19, T20, T21, T22 izolatlarının enzim aktiviteleri farklı besi yerlerinde incelenmiştir (Çizelge 2.1).

*Trichoderma harzianum* izolatlarının farklı ortamlarda farklı gelişme gösterdikleri saptanmıştır. T8, T10, T18 ve T20 izolatları ortamların tümünde misel ve spor oluşturmuşlardır. Aesculin ile hazırlanan ortamın rengini T14 ve T22 dışında tüm izolatlar koyu kırmızıya dönüştürmüşlerdir. T20'nin aesculin içeren ortamdaki gelişimi Şekil 2.1'de, T22'nin aesculin içeren ortamdaki gelişimi Şekil 2.2'de verilmiştir. Tween 80 hidrolizinde T22 dışındaki izolatlar ortamda mor pigment oluşturarak hızla gelişmişlerdir. T8'in Tween 80 içeren ortamdaki gelişimi Şekil 2.3'de gösterilmektedir.

*Trichoderma harzianum*'un T1, T4, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T14, T15, T18, T19, T20, T22 izolatları jelatini hidrolize etmişlerdir. T8'in jelatin içeren ortamdaki gelişimi Şekil 2.4'de görülmektedir. Tellur içeren ortamda ise, T3, T8, T9, T10, T15, T18 ve T20 izolatları gelişmiştir. Ortamlarda T14 ve T22 izolatlarının gelişmeleri diğerlerine göre daha yavaş olmuştur. Polygalaktronik asit içeren ortamda T22 dışındaki tüm izolatlar misel ve spor üretmiştir. Tetrazolium klorür içeren ortamda ise T22 dışındaki izolatların tümü misel ve spor oluşturmuşlardır.

Çizelge 2.1 *Trichoderma harzianum* izolatlarının enzim aktiviteleri

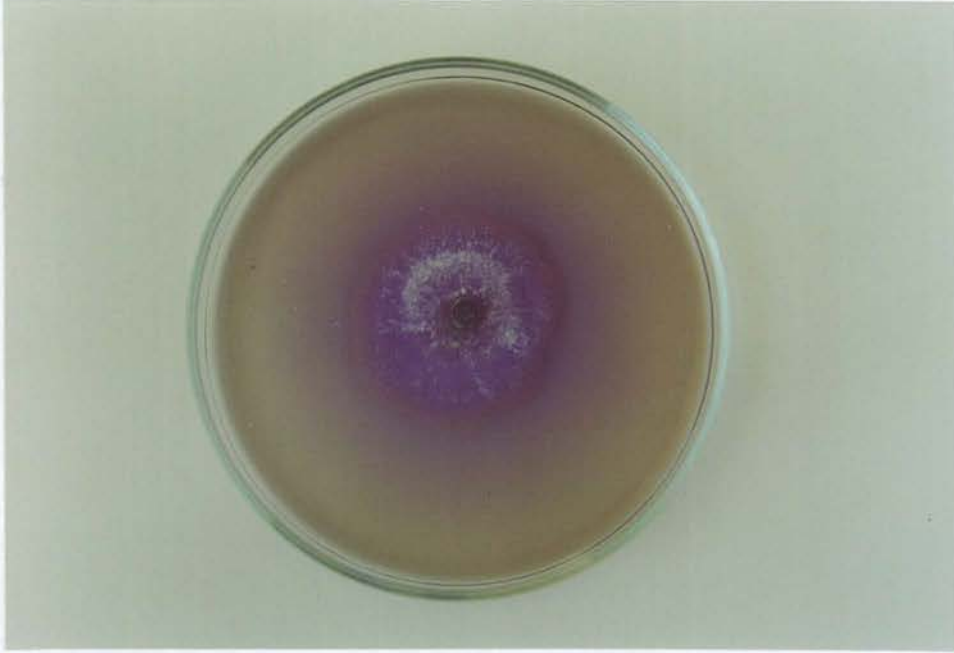
	<i>Trichoderma harzianum</i> izolatları															
	T1	T3	T4	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T14	T15	T18	T19	T20	T21	T22
Aesculin Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Nişasta Hidrolizi	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Tween 80 Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Jelatin Hidrolizi	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Tellur İndirgenmesi	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Sellüloz Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Kasein Hidrolizi	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Polypektat Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetrazolium Klorür	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-



Şekil 2.1. T20'nin Aesculin içeren ortamda gelişimi



Şekil 2.2. T22'nin Aesculin içeren ortamda gelişimi



Şekil 2.3. T8'in Tween 80 içeren ortamdaki gelişimi



Şekil 2.4. T8'in jelatin içeren ortamdaki gelişimi

### 3.3. Sera koşullarında ham topraktaki *T.harzianum*'un uygulamaları

*T.harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının uygulanan üç farklı dozlarının test bitkilerinde hastalık oluşturan toprak kökenli bitki patojenlerine olan etkilerini saptamak için kurulan denemede, her saksıdaki hastalık şiddeti ve değerlendirme sonucu elde edilen biyolojik preparatın yüzde etkileri Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

*T.harzianum* ile uygulanmamış *F.oxysporum* ile inokuleli domatesteki ortalama hastalık şiddeti %73 *R.solani* ile inokuleli domatesteki ortalama hastalık şiddeti %30,5 *G.graminis* ile inokuleli buğdayda ortalama hastalık şiddeti %68 (Şekil 2.1), *F.moniliforme* ile inokule edilen mısırdaki ortalama hastalık şiddeti %63 olarak bulunmuştur (Şekil 2.2). *F.oxysporum* ile inokuleli fasulyede %97,2 ve *R.solani* ile inokuleli fasulyede ortalama hastalık şiddeti %47 olmuştur. Patojenleri ile inokule edilen mısır ve domateste *Fusarium*'ların oluşturduğu simptomlar ekimden 20 gün sonra yapraklarda solgunluk ve mısır yaprak uçlarında kurumalar şeklinde görülmüştür.

*T.harzianum*'un T20 izolatının  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu uygulandığında, *F.oxysporum*'un domateste oluşturduğu hastalık oranı %27, fasulyede oluşturduğu hastalık oranı %28, *G.graminis*'in buğdayda oluşturduğu hastalık oranı ise %35 olarak bulunmuştur.

Çizelge 3.1'de görüldüğü üzere, *Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının en fazla  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozlarının bitkilerde hastalık üzerine etkili olduğu belirlenmiştir.

T8'in  $1 \times 10^5$  spor/ml ve  $1 \times 10^7$  spor/ml olan dozlarının domates ve mısırdaki boy uzunluğuna  $1 \times 10^3$  spor/ml lik doza ve kontrole göre daha etkili olduğu, T20'nin  $1 \times 10^5$  spor/ml ve  $1 \times 10^7$  spor/ml olan dozlarının da uygulanan bitkilerde aynı etkiyi yaptığı görülmüştür (Şekil 3.3-3.8). Ayrıca uygulamalarda bitkilerin kök ve yeşil aksamalarının kuru ve yaş ağırlıkları arasında önemli farklılığın olmadığı bulunmuştur (Çizelge 3.3-3.7).

*Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının, patojenler ile inokule edilmiş bitkiler üzerindeki  $1 \times 10^3$  spor/ml,  $1 \times 10^5$  spor/ml ve  $1 \times 10^7$  spor/ml olan dozlarının yüzde etkililiklerinin varyans analizleri Çizelge 3.8-3.13'de sunulmuştur.



Şekil 3.1. *Trichoderma harzianum*'un T20 izolatının buğdaylara etkisi

- 6:  $10^7$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 55:  $10^5$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 47:  $10^3$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 2: Kontrol



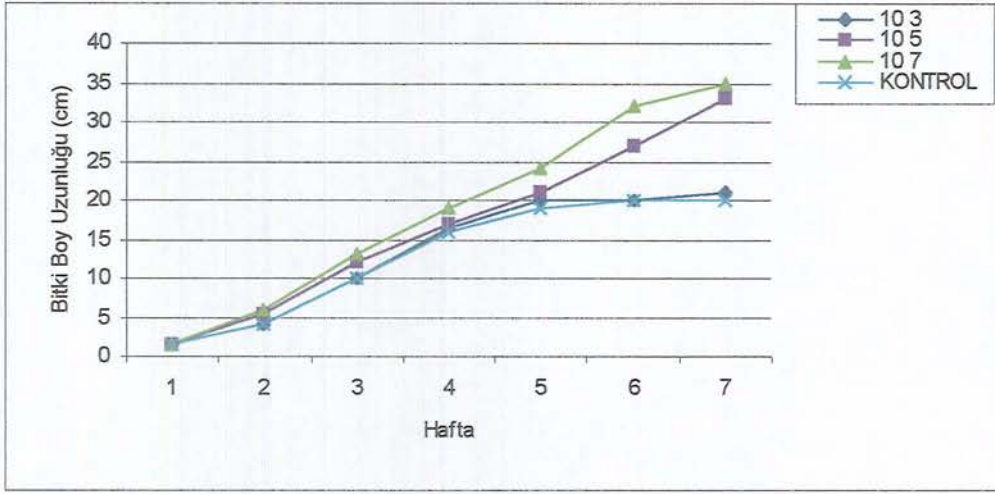
Şekil 3.2. *Trichoderma harzianum*'un T8 izolatının mısıra etkisi

- 39:  $10^7$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 32:  $10^5$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 87:  $10^3$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 87: Kontrol

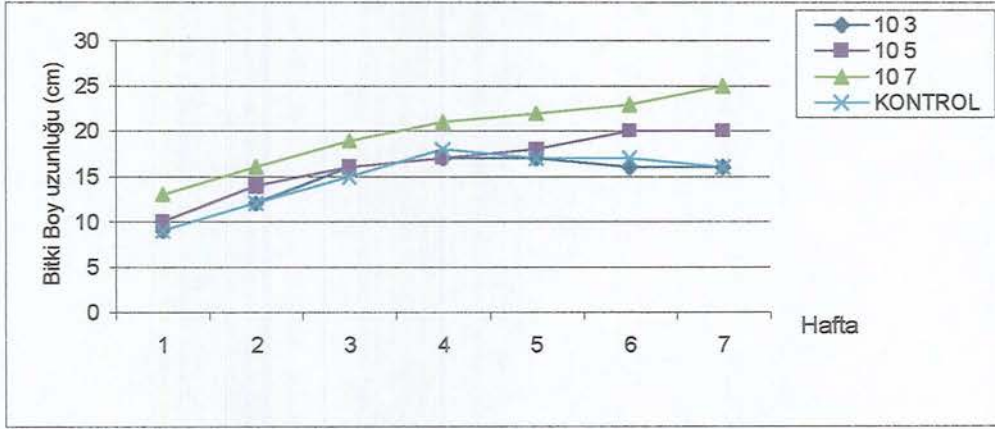
Çizelge 3.1. Sera koşullarında ham topraktaki *T.harzianum*'un test bitkilerine etkileri

Test Bitkisi	Biyopreparatın Adı	Kullanılan Doz	Ort. Hastalık Şiddeti (%)						Biyolojik Preparatların Ort. Etkisi (%)					
			1.Tek	2.Tek	3.Tek	4.Tek	5.Tek.	Ort.	1.Tek	2.Tek	3.Tek	4.Tek	5.Tek.	Ort.
Mısır	T8	Kontrol	63	63	63	63	63	63	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	55	47	38	51	55	49,2	12,7	25,4	39,7	19	12,7	21,9
		10 <sup>5</sup>	32	59	53	44	47	47	49,2	6,3	15,9	30,2	25,4	25,4
		10 <sup>7</sup>	10	11,7	12,1	11	14	11,8	84,1	81,4	80,8	82,5	77,8	81,3
Domates	T20	Kontrol	73	73	73	73	73	73	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	67	67	48	68	59	61,8	8,2	8,2	34,2	6,8	19,2	15,3
		10 <sup>5</sup>	37	50	38	54	34,4	42,7	49,3	31,5	47,9	26	52,9	41,5
		10 <sup>7</sup>	27	35	28	40	45	35	63	52,1	61,6	45,2	33,4	52,1
Buğday	T20	Kontrol	68	68	68	68	68	68	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	52	62,4	59	55	57	57,1	23,5	8,2	13,2	19,1	16,2	16,1
		10 <sup>5</sup>	59	34	32	47	43	43	13,2	50	52,9	30,9	36,8	36,8
		10 <sup>7</sup>	35	19	33	27	26	28	48,5	72,1	51,5	60,3	61,8	58,8
Fasulye	T20	Kontrol	97,2	97,2	97,2	97,2	97,2	97,2	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	78	93	91	87	92	88,2	19,8	4,3	6,4	10,5	5,3	9,3
		10 <sup>5</sup>	72	60,5	58,2	47,3	54,5	58,5	25,9	37,8	40,1	51,3	43,9	39,8
		10 <sup>7</sup>	28	37	25	19	16	25	71,2	61,9	74,3	80,5	83,5	74,3
Domates	T8	Kontrol	30,5	30,5	30,5	30,5	30,5	30,5	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	22,7	21	29	25	18,5	23,2	25,6	31,1	4,9	18	39,3	23,8
		10 <sup>5</sup>	8,7	14	11	16	13	12,5	71,5	54,1	63,9	47,5	57,4	58,9
		10 <sup>7</sup>	7,1	10	11	10	15	10,6	76,7	67,2	63,9	67,2	50,8	65,2
Fasulye	T8	Kontrol	47	47	47	47	47	47	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	24	38	33	27	35	31,4	48,9	19,1	29,8	42,6	25,5	33,2
		10 <sup>5</sup>	25	14	17	13	29	19,6	46,8	70,2	63,8	72,3	38,3	58,3
		10 <sup>7</sup>	8	9,5	9,2	10	13	9,9	83	79,8	80,4	78,7	72,3	78,9

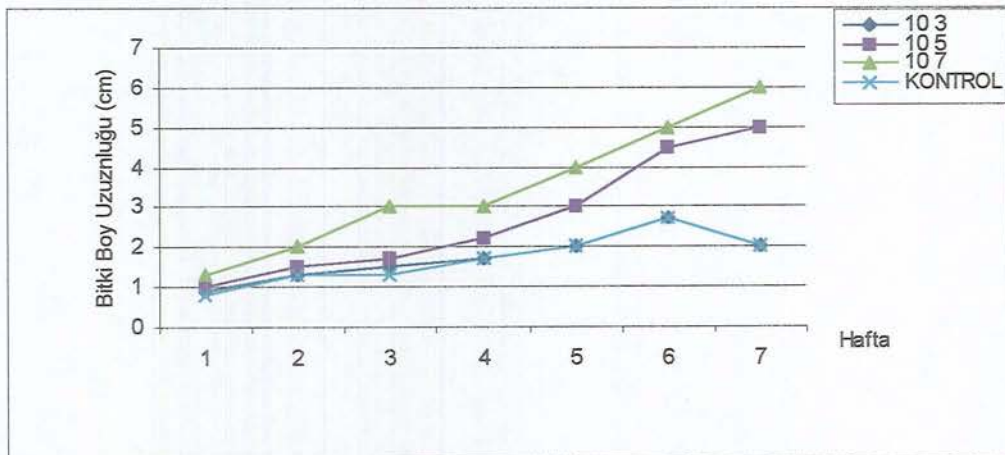
Tek: Tekerrür  
Ort.: Ortalama



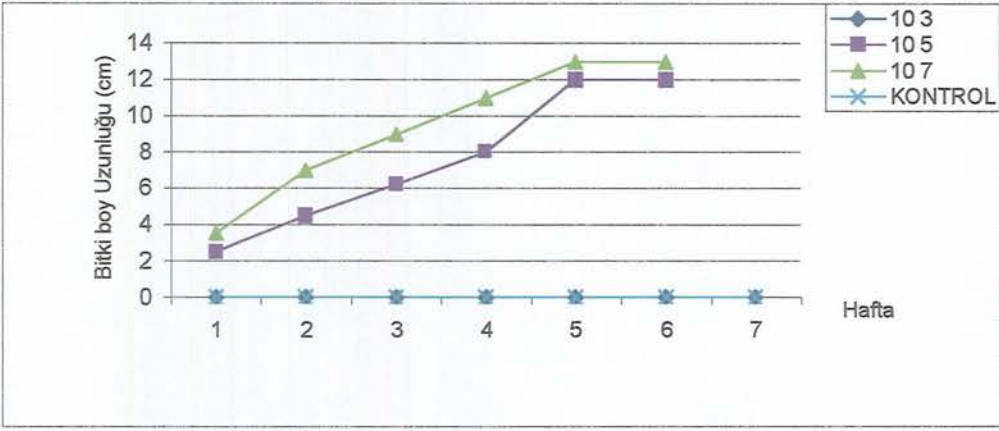
Şekil 3.3. *T.harzianum* T8 izolatının mısır boy uzunluğuna etkisi



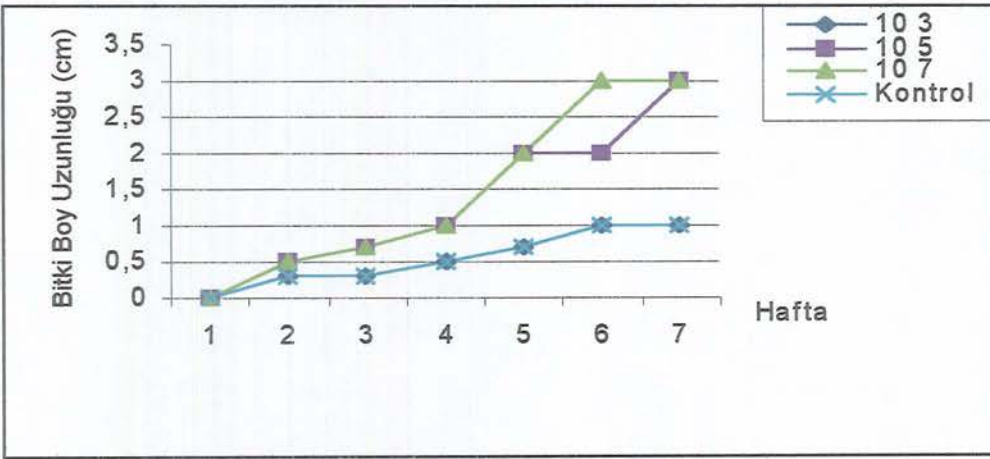
Şekil 3.4. *T.harzianum* T20 izolatının buğday boy uzunluğuna etkisi



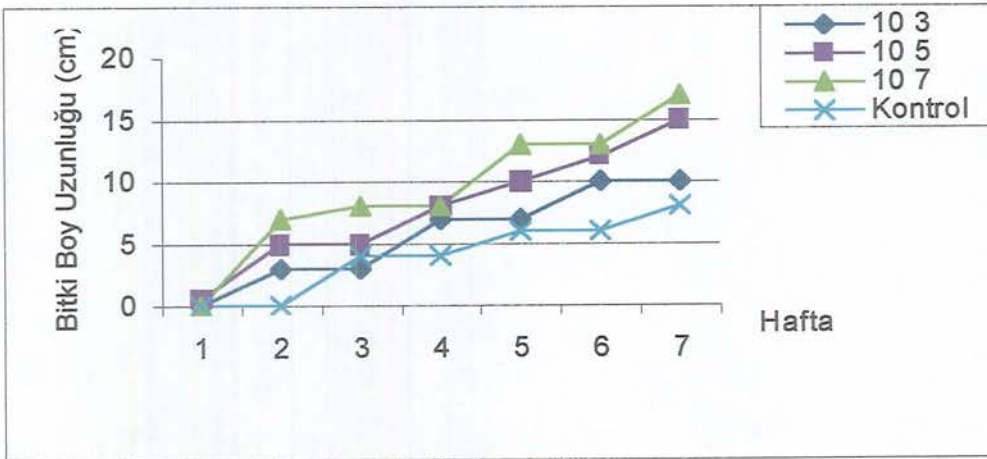
Şekil 3.5. *T.harzianum* T20 izolatının domates boy uzunluğuna etkisi



Şekil 3.6. *T.harzianum* T20 izolatının fasulye boy uzunluğuna etkisi



Şekil 3.7. *T.harzianum* T8 izolatının domates boy uzunluğuna etkisi



Şekil 3.8. *T.harzianum* T8 izolatının fasulye boy uzunluğuna etkisi

Çizelge 3.2. *F.oxysporum* ile inokuleli domates bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T20		
$10^3$	0,1	0,7
$10^5$	0,3	0,83
$10^7$	0,11	0,99
Kontrol	0,1	0,6

<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T20		
$10^3$	0,28	2,4
$10^5$	0,43	3
$10^7$	0,9	3,7
Kontrol	0,25	2,08

Çizelge 3.3. *F.moniliforme* ile inokuleli mısır bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8		
$10^3$	0,53	8,22
$10^5$	0,86	12,6
$10^7$	1,2	14,5
Kontrol	0,51	8,05

<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8		
$10^3$	1	6,2
$10^5$	1,83	10,7
$10^7$	2,98	12
Kontrol	0,9	5,9

Çizelge 3.4. *G.graminis* ile inokuleli buğday bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T20		
$10^3$	1,2	5,9
$10^5$	1,8	7,2
$10^7$	2,8	8,8
Kontrol	1	5,6

<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T20		
$10^3$	0,47	2,7
$10^5$	0,84	3,4
$10^7$	1,1	3,7
Kontrol	0,39	2

Çizelge 3.5. *F.oxysporum* ile inokuleli fasulye bitkisinin kök, yeşil aksam ağırlıkları

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T20		
$10^3$	-	-
$10^5$	0,4	2,35
$10^7$	0,65	3,9
Kontrol	-	-

<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T20		
$10^3$	-	-
$10^5$	1,4	8,7
$10^7$	2,5	11
Kontrol	-	-

Çizelge 3.6. *R.solani* ile inokuleli domates bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8		
$10^3$	0	0,5
$10^5$	0,7	0,9
$10^7$	0,1	1
Kontrol	0	0,5

<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8		
$10^3$	0,18	2,1
$10^5$	0,32	3,4
$10^7$	0,92	4,2
Kontrol	0,17	1,9

Çizelge 3.7. *R.solani* ile inokuleli fasulye bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8		
$10^3$	1,2	2,4
$10^5$	1,7	2,99
$10^7$	1,9	3,4
Kontrol	0,8	1,6

<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8		
$10^3$	1,2	7
$10^5$	2,1	8,9
$10^7$	3	13,7
Kontrol	1	6

Çizelge 3.8. Mısır-*F.moniliforme*-T8 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	193,69	48,422	0,42
Doz	3	18009,68	6003,227	52,22**
Hata	12	1379,42	114,952	
Genel	19	19582,79		

Varyasyon katsayısı = % 33,34

LSD Değeri = 14,77

\*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 3.9. Domates-*F.oxysporum*-T20 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	6048,85	162,211	2,13
Doz	3	8520,27	2840,09	37,33**
Hata	12	913	76,084	
Genel	19	10082,12		

Varyasyon katsayısı = % 32,04

LSD Değeri = 12,02

\*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 3.10. Fasulye-*F.oxysporum*-T20 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	217,26	54,316	1,13
Doz	3	16920,59	5640,195	117,37**
Hata	12	576,64	48,053	
Genel	19	17714,49		

Varyasyon katsayısı = % 22,48

LSD Değeri = 9,552

\*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 3.11. Buğday-*G.graminis*-T20 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	273,64	68,411	0,67
Doz	3	9774,26	3258,087	31,69
Hata	12	1233,63	102,804	
Genel	19	11281,56		

Varyasyon katsayısı = % 36,33

LSD Değeri = 13,97

\*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 3.12. Domates-*R.solani*-T8 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	289,07	72,269	0,8
Doz	3	14071,76	4690,587	51,78**
Hata	12	1087,11	90,593	
Genel	19	15447,95		

Varyasyon katsayısı = % 25,76

LSD Değeri = 13,12

\*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 3.13. Fasulye-*R.solani*-T8 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	449,11	112,278	1,9
Doz	3	16667,64	5559,212	94,03**
Hata	12	709,46	59,112	
Genel	19	17836,21		

Varyasyon katsayısı = % 18,03

LSD Değeri = 10,60

\*\* %1 seviyesinde önemli

Mısırdaki *F.moliforme*'ye karşı T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %81,32, fasulyede *R.solani*'ye karşı T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %78,66, *F.oxysporum*'a karşı fasulyede T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %74,28, *R.solani*'ye karşı domateste T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %65,14 ve  $1 \times 10^5$  spor/ml lik dozu %58,88, *G.graminis*'e karşı buğdayda T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %58,84, *F.oxysporum*'a karşı domateste T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %52,06 ve  $1 \times 10^5$  spor/ml lik dozu %41,52 değerleri ile etkili olmuştur (Çizelge 3.14).

*R.solani*'ye karşı fasulyede T8'in  $1 \times 10^3$  spor/ml lik dozu  $1 \times 10^5$  spor/ml lik doza göre, *G.graminis*'e karşı buğdayda T20'nin  $1 \times 10^3$  spor/ml lik dozu  $1 \times 10^5$  spor/ml lik doza göre ve *F.oxysporum*'a karşı fasulyede T20'nin  $1 \times 10^3$  spor/ml lik dozu  $1 \times 10^5$  spor/ml lik doza göre etkili olduğu Çizelge 3.14'te Duncan Testine göre verilmiştir.

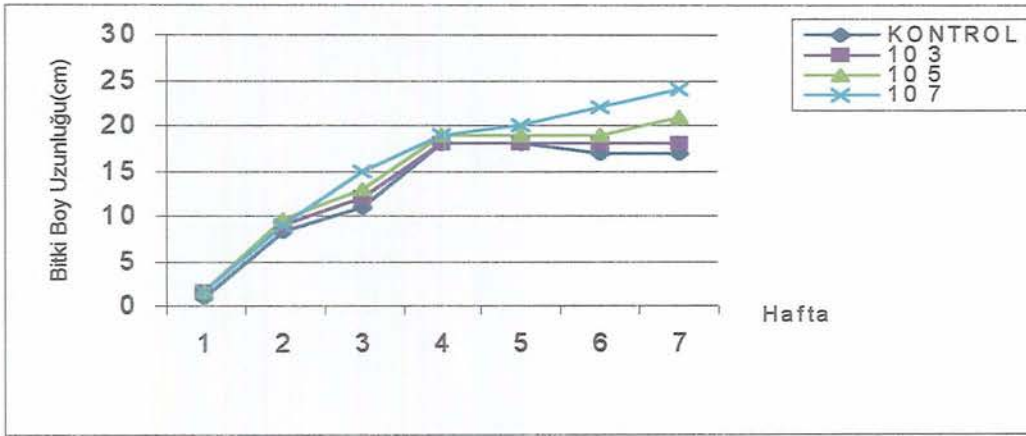
Çizelge 3.14. Test bitkilerinde hastalıklara karşı denenen *Trichoderma harzianum* izolatlarının etki dereceleri yönünden Duncan testine göre sıralanışları

Test Bitkileri	<i>T.harzianum</i> İzolatları	Dozları(spor/ml)	Ortalama Etki Dereceleri (%)	Duncan Sınıfları
Mısır	T8	$1 \times 10^7$	81,32	A
Fasulye	T8	$1 \times 10^7$	78,66	A
Fasulye	T20	$1 \times 10^7$	74,28	A
Domates	T8	$1 \times 10^7$	65,14	A
Domates	T8	$1 \times 10^5$	58,88	A
Buğday	T20	$1 \times 10^7$	58,84	A
Domates	T20	$1 \times 10^7$	52,06	A
Domates	T20	$1 \times 10^5$	41,52	A
Fasulye	T8	$1 \times 10^5$	55,9	B
Fasulye	T20	$1 \times 10^5$	39,8	B
Buğday	T20	$1 \times 10^5$	36,76	B
Mısır	T8	$1 \times 10^5$	25,4	B
Domates	T8	$1 \times 10^3$	23,78	B
Mısır	T8	$1 \times 10^3$	21,9	B
Domates	T20	$1 \times 10^3$	15,32	B
Fasulye	T8	$1 \times 10^3$	36	C
Buğday	T20	$1 \times 10^3$	16,04	C
Fasulye	T20	$1 \times 10^3$	9,26	C

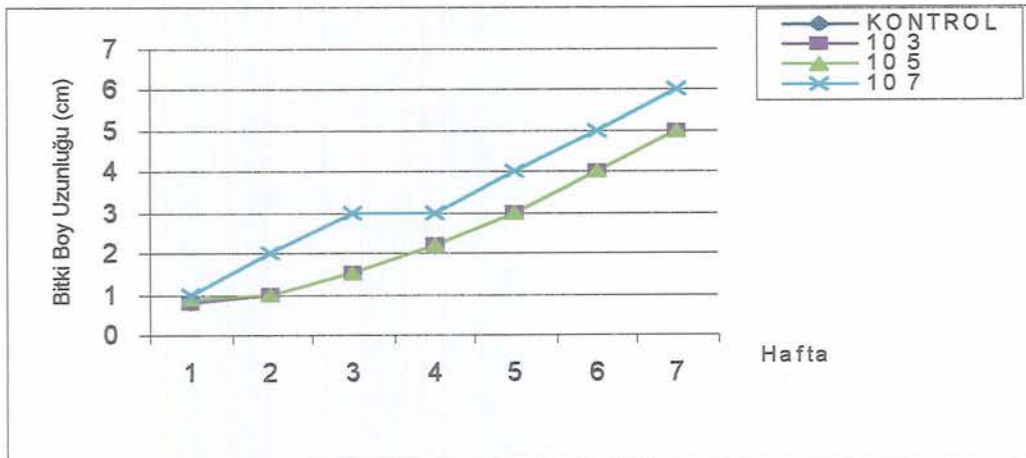
### 3.4. Sera Koşullarında Ham Topraktaki *Trichoderma harzianum* İzolatlarının İnokulesiz Bitkilerin Gelişimi Üzerine Etkileri

*Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 suşları ile uygulanan ve patojenler ile inokule edilmemiş test bitkilerinin boy büyüklüğüne ilişkin bulgular Şekil 4.1-4.6'de verilmiştir.

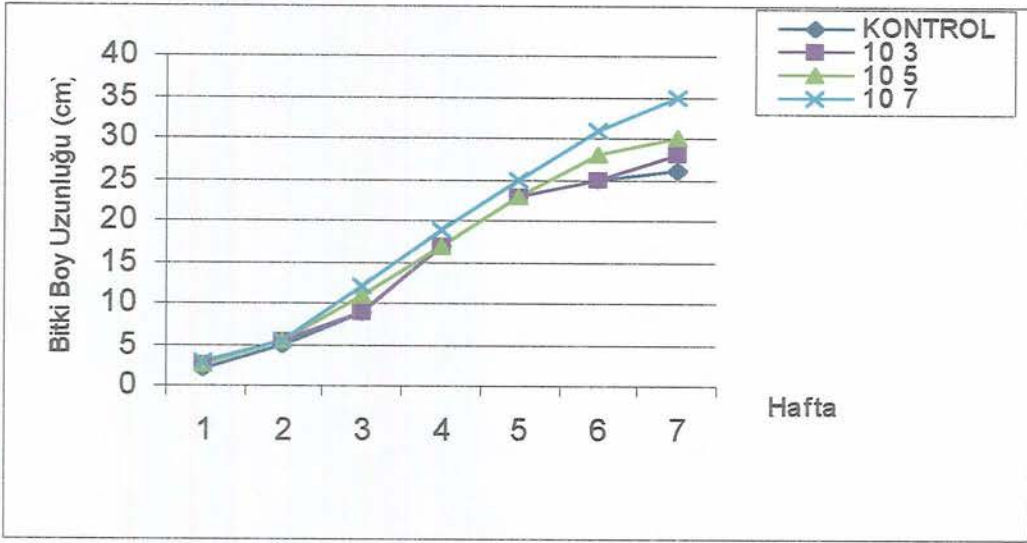
*Trichoderma harzianum* uygulanmış topraklardaki bitki boy büyüklükleri kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında önemli bir farklılık göstermemekte birlikte diğer dozlara göre biyolojik preparatların  $1 \times 10^7$  spor/ml içeren dozları bitki boy uzunluklarını arttırmıştır.



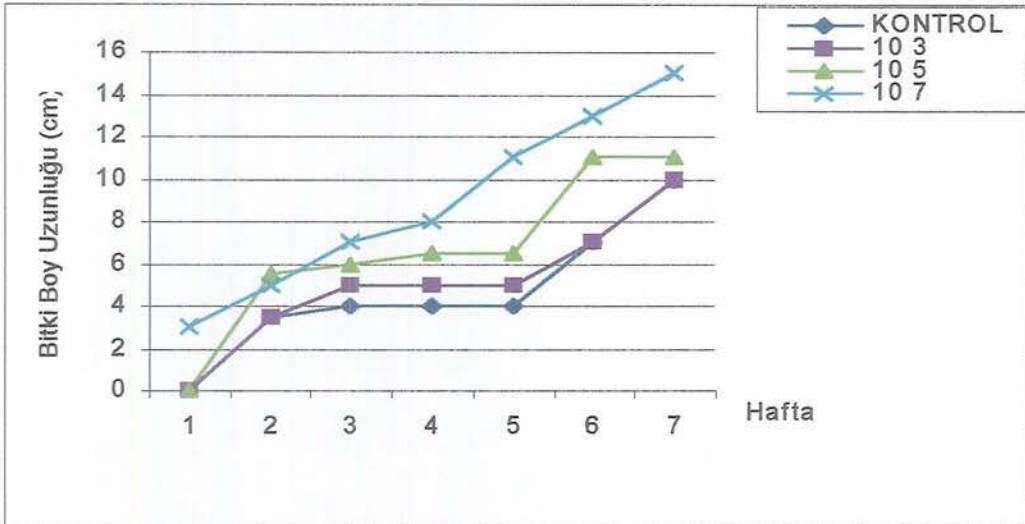
Şekil 4.1. T20'nin buğdayın boy uzunluğuna etkisi



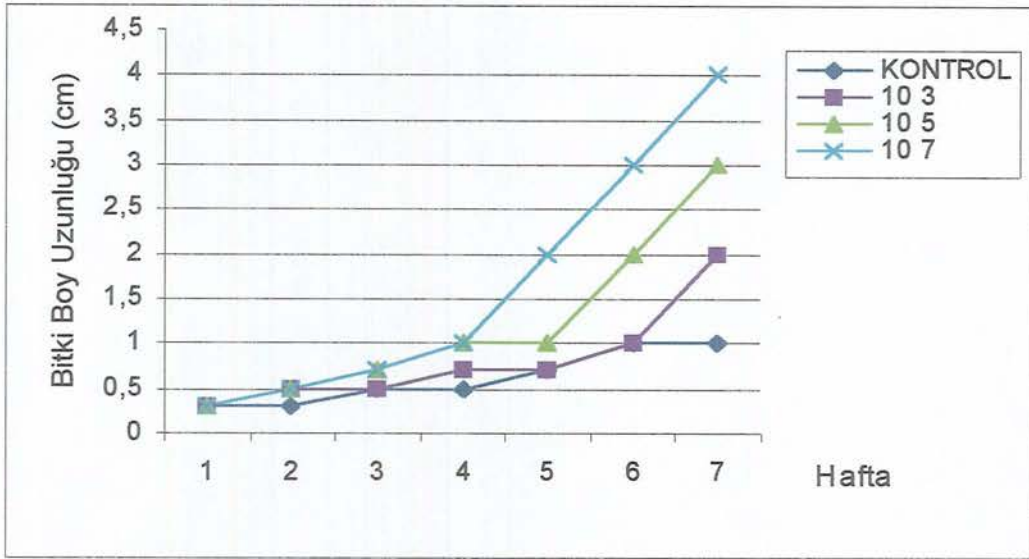
Şekil 4.2. T20'nin Domatesin Boy Uzunluğuna Etkisi



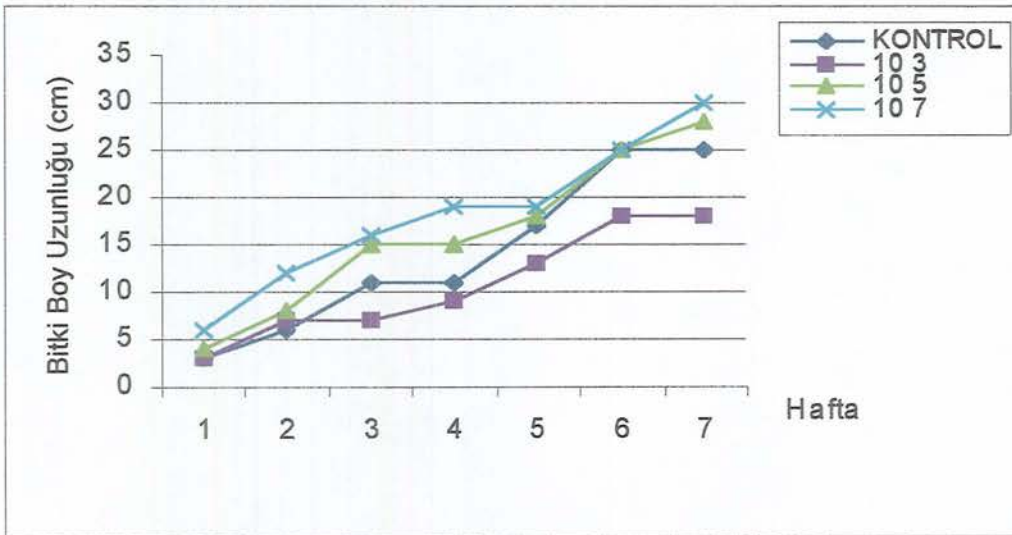
Şekil 4.3. T8'in mısır boy uzunluğuna etkisi



Şekil 4.4. T20'nin fasulye boy uzunluğuna etkisi



Şekil 4.5. T8'in domates boy uzunluğuna etkisi



Şekil 4.6. T8'in fasulye boy uzunluğuna etkisi

T8 ve T20'nin patojenler ile inokule edilmeyen bitkilerin kök ve yeşil aksamalarının kuru ve yaş ağırlıkları üzerine etkileri belirlenmiştir (Çizelge 4.1-4.6). Uygulamalar arasında önemli farklılık bulunmamakla birlikte, T8'in  $10^7$  spor/ml lik dozu mısırın yeşil aksam ve kök yaş ağırlığını, T20'nin  $10^7$  spor/ml lik dozu ise buğdayın kök kuru ağırlığını kontrol ve diğer iki doza göre arttırmıştır

Çizelge 4.1. Domates bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)		<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	T20	Kuru Ağırlık		Yaş Ağırlık	T20
$10^3$	0,3	0,8	$10^3$	0,4	0,6
$10^5$	0,3	1,4	$10^5$	0,7	1,7
$10^7$	0,5	1,5	$10^7$	0,9	2,9
Kontrol	0,3	0,8	Kontrol	0,4	0,6

Çizelge 4.2. Mısır bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)		<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	T8	Kuru Ağırlık		Yaş Ağırlık	T8
$10^3$	1	6,5	$10^3$	0,9	5,5
$10^5$	1,2	6,8	$10^5$	1,7	9,6
$10^7$	1,8	12,7	$10^7$	1,9	11,8
Kontrol	1	6,5	Kontrol	0,8	5

Çizelge 4.3. Buğday bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)		<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	T20	Kuru Ağırlık		Yaş Ağırlık	T20
$10^3$	1	5,5	$10^3$	0,8	2,5
$10^5$	1,4	5,7	$10^5$	1,1	2,8
$10^7$	3,2	7,4	$10^7$	2,4	3,2
Kontrol	0,8	5	Kontrol	0,8	2,4

Çizelge 4.4. Fasulye bitkisinin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıklarına T20'nin etkisi

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)		<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T20			T20		
$10^{-3}$	0,4	2,3	$10^{-3}$	0,9	5,7
$10^{-5}$	0,5	2,5	$10^{-5}$	1,4	7,2
$10^{-7}$	0,75	3	$10^{-7}$	2	8,9
Kontrol	0,4	2,3	Kontrol	0,9	5,4

Çizelge 4.5. Fasulye bitkisinin ortalama kök ve yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)		<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8			T8		
$10^{-3}$	0,5	2,5	$10^{-3}$	1	6,2
$10^{-5}$	0,6	2,8	$10^{-5}$	1,7	8,3
$10^{-7}$	0,9	3,3	$10^{-7}$	2,8	9
Kontrol	0,5	2,5	Kontrol	1	6,1

Çizelge 4.6. Domates bitkisinin ortalama kök ve yeşil aksam ağırlıklarına T8'in etkisi

<i>T.harzianum</i>	Kök Ağırlığı (g)		<i>T.harzianum</i>	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8			T8		
$10^{-3}$	0,1	0,8	$10^{-3}$	0,2	2,7
$10^{-5}$	0,5	0,78	$10^{-5}$	0,2	3,2
$10^{-7}$	0,5	1	$10^{-7}$	0,27	4,5
Kontrol	0,1	0,8	Kontrol	0,19	2,4

### 3.5. Sera Koşullarında Tarla Topraklarındaki *Trichoderma harzianum* İzolatlarının Uygulamaları

*Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının 3 farklı dozlarının test bitkilerindeki hastalık üzerine etkilerinin incelendiği, tarla topraklarında yetiştirilen bitkilerin hastalık şiddeti ve biyolojik preparatların % etkileri Çizelge 5.1.'de sunulmuştur.

*Fusarium oxysporum*'un domateste oluşturduğu kontrol saksılarındaki hastalık şiddeti %59 iken, T20'nin  $10^7$  spor/ml lik dozunun uygulanması ile hastalık şiddeti %25'e düşmüştür. Aynı biyolojik preparatın *Fusarium oxysporum* ile inokuleli fasulyede etkisiz olduğu görülmüştür. *Fusarium moniliforme*'nin mısırdaki hastalık şiddeti; kontrol saksılarda %100 iken, biyolojik preparatın artan dozları hastalık şiddetini düşürmüştür ve  $1 \times 10^7$  spor/ml'nin verilmesiyle bu değer %49,2 olarak bulunmuştur. *R.solani* ile inokuleli fasulyede hastalık şiddeti, kontrol saksılarında %69 ve domatesin kontrol saksılarında %70 iken, T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozunun hastalığı, fasulyede %12,2'e, domateste ise %26,8'e düşürdüğü belirlenmiştir.

T20'nin  $1 \times 10^5$  ve  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozları buğdayda *G.graminis*'e karşı sırasıyla %34 ve %35 oranında etkili olurken (Şekil 5.1), T20'nin  $1 \times 10^5$  ve  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozları domateste *Fusarium oxysporum*'a karşı  $1 \times 10^3$  spor/ml lik doza göre daha etkili bulunmuştur. T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu mısırdaki *Fusarium moniliforme*'ye karşı %50,8 değeri ile, T8'in *Rhizoctonia solani*'nin etkilediği fasulye (Şekil 5.2.) ve domateste  $1 \times 10^5$  spor/ml ve  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozlarının  $1 \times 10^3$  spor/ml'ye göre daha etkili olduğu saptanmıştır (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1.Sera koşullarında tarla topraklarındaki *T.harzianum* 'un test bitkilerine etkisi

Test Bitkisi	Biyopreparatın Adı	Kullanılan Doz	Ort. Hastalık Şiddeti (%)					Biyolojik Preparatların Ort. Etkisi (%)						
			1.Tek	2.Tek	3.Tek	4.Tek	5.Tek.	Ort.	1.Tek	2.Tek	3.Tek	4.Tek	5.Tek.	Ort.
Mısır	T8	Kontrol	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	83	88	81	83	78	82,6	17	12	19	17	22	17,4
		10 <sup>5</sup>	79	81	60	77	78	75	21	19	40	23	22	25
		10 <sup>7</sup>	53	53	44	53	43	49,2	47	47	56	47	57	50,8
Domates	T20	Kontrol	59	59	59	59	59	59	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	50	49	51	45	48	49	15	16,9	13,5	23,7	18,6	17,5
		10 <sup>5</sup>	35	37	41	31	43	38	40	37	30,5	47	27	36,3
		10 <sup>7</sup>	31	30	27	35	37	25	47	49	40	40,6	37	42,7
Buğday	T20	Kontrol	83	83	83	83	83	83	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	73	73	76	69	77	73,6	12	12	8,4	16,9	7,2	11,3
		10 <sup>5</sup>	55	59	51	53	63	54,6	33	39,5	38,5	36	39	34
		10 <sup>7</sup>	52	51	50	61	50	53,4	37	38,5	39	26	25	35
Fasulye	T20	Kontrol	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>5</sup>	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>7</sup>	98	99	87	81	98	88	2	1	13	19	2	7,4
Domates	T8	Kontrol	70	70	70	70	70	70	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	51	45	40	42	41	43,8	27	35,7	42,8	40	41	37,3
		10 <sup>5</sup>	37	35	36	31	38	35,4	47	50	48,5	55	45	49,1
		10 <sup>7</sup>	27	30	25	17	35	26,8	61	57	64	75	50	61,4
Fasulye	T8	Kontrol	69	69	69	69	69	69	0	0	0	0	0	0
		10 <sup>3</sup>	51	50	43	52	45	40	26	27	37	24	34	29,6
		10 <sup>5</sup>	17	21	39	14	10	20,4	75	69	43	78	85	70
		10 <sup>7</sup>	3	10	18	15	15	12,2	95	85	73	78	78	81,8

Tek.: Tekerrür  
Ort.: Ortalama Değerler



Şekil 5.1. *Gaeumannomyces graminis* ile infekteli buğdaya T20'nin etkisi

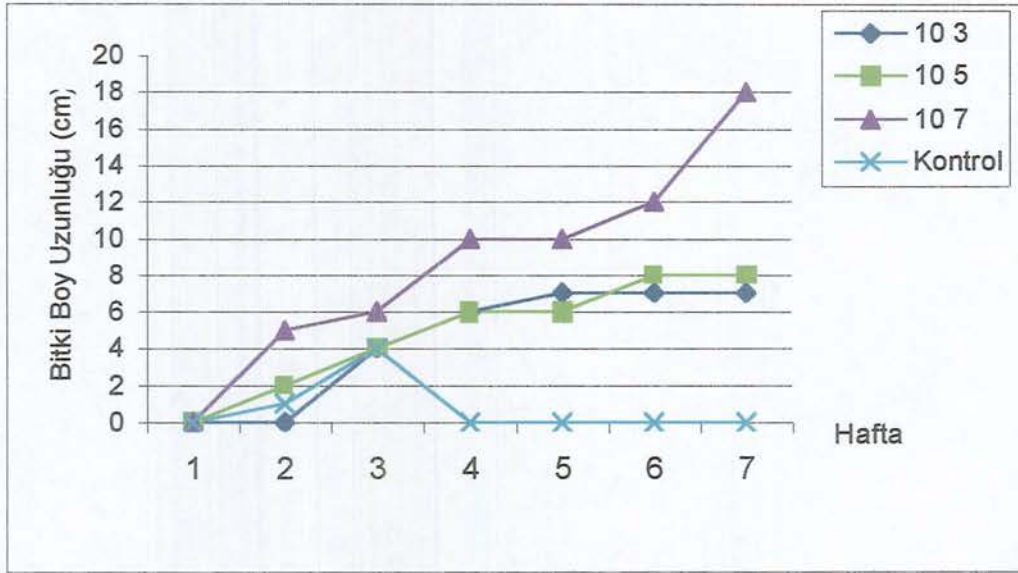
- 1:  $10^7$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 19:  $10^5$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 37:  $10^3$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 61: Kontrol



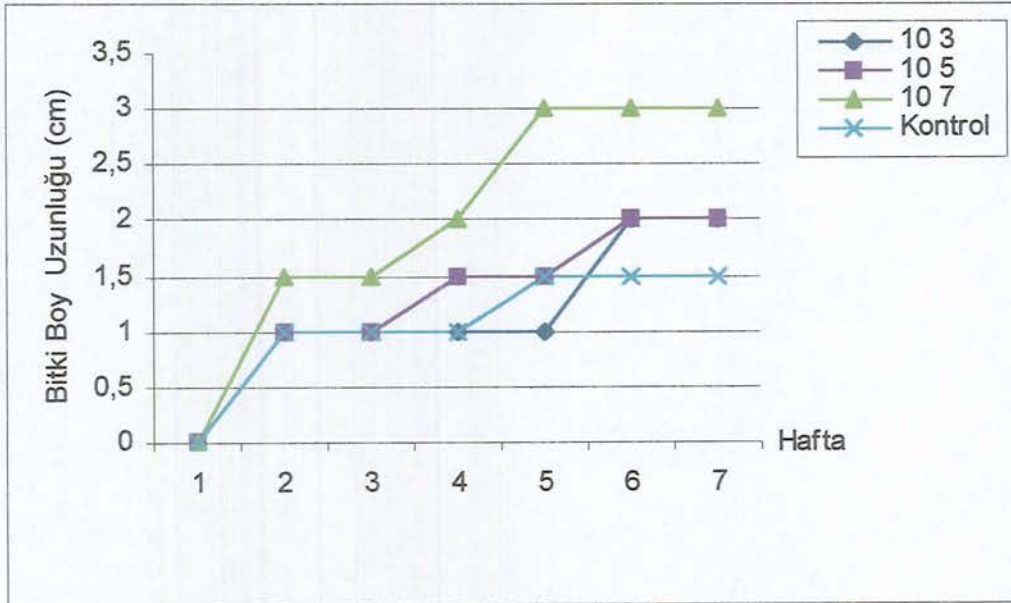
Şekil 5.2. *Rhizoctonia solani* ile infekteli fasulyeye T8'in etkisi

- 64:  $10^7$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 83:  $10^5$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 101:  $10^3$  spor/ml dozunun ilave edildiği saksı
- 118: Kontrol

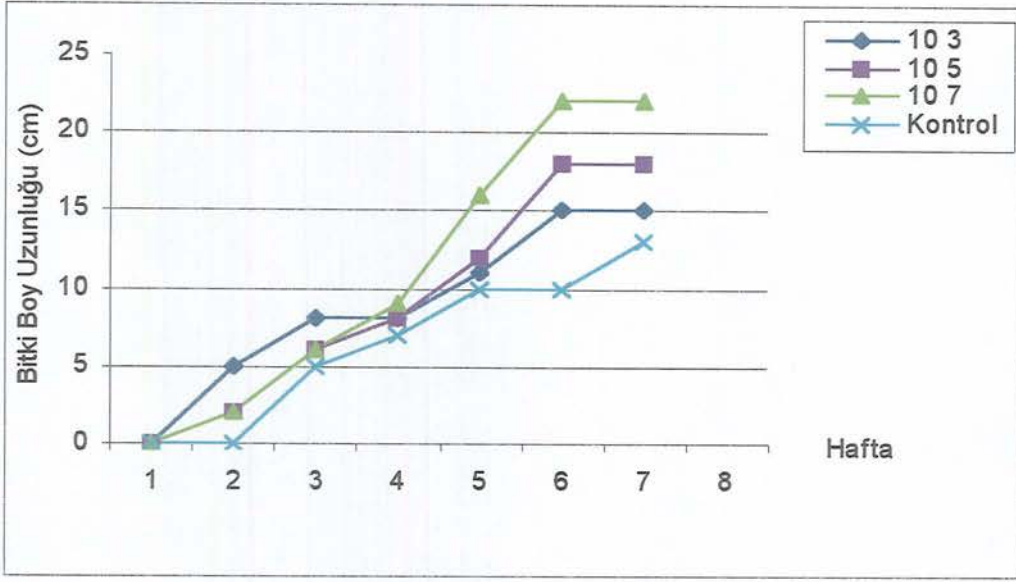
T8 ve T20 izolatlarının test bitkilerinin boy uzunluklarına olan etkileri Şekil 5.3-5.8'de, kök ve yeşil aksam ağırlıkları üzerine olan etkileri Çizelge 5.2-5.7'de verilmiştir.



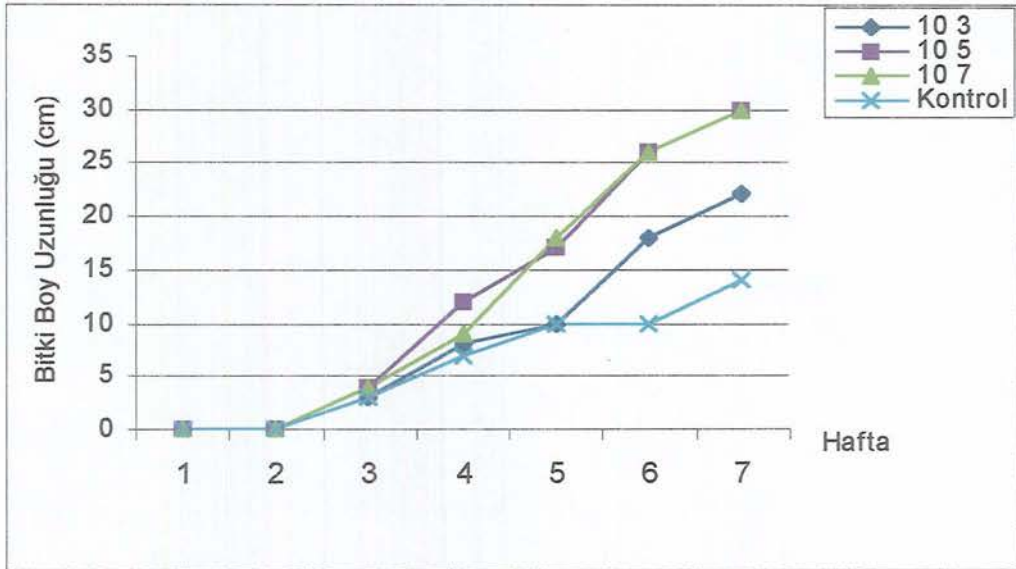
Şekil 5.3. *R.solani* ile infekteli fasulyede T8'in boy uzunluğuna etkisi



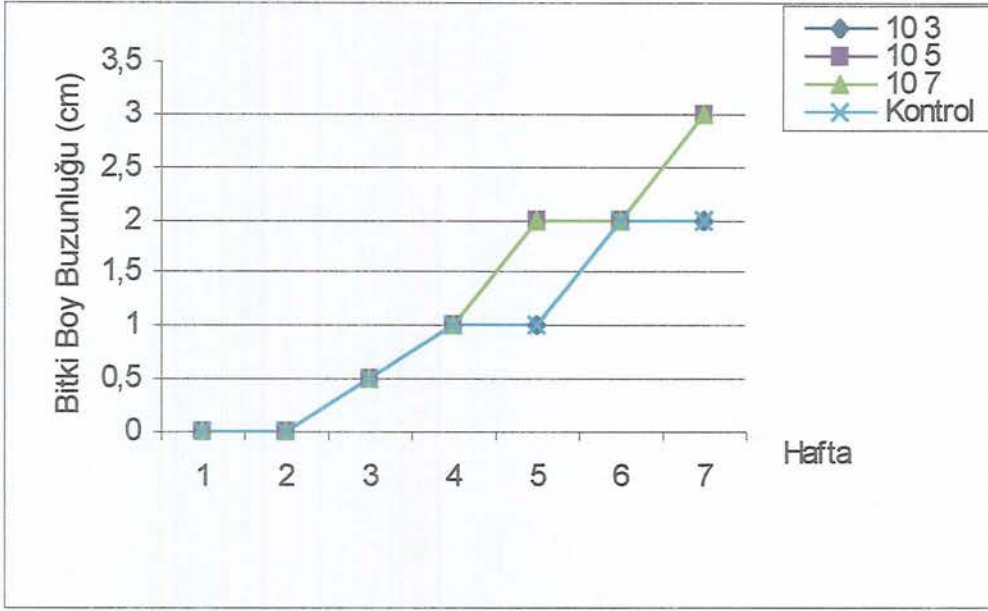
Şekil 5.4. *R.solani* ile infekteli domateste T8'in boy uzunluğuna etkisi



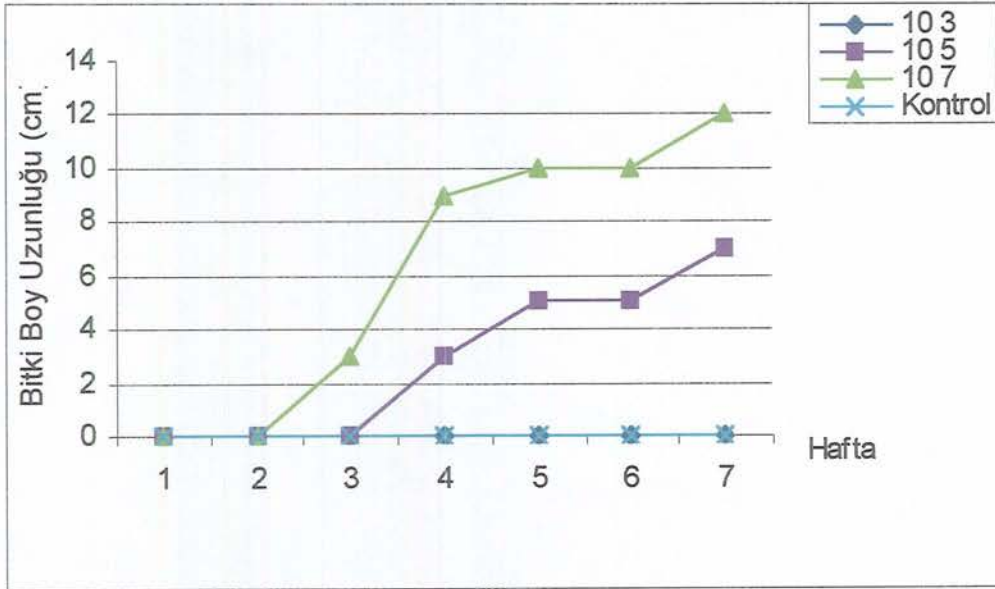
Şekil 5.5. *F.moniliforme* ile infekteli mısırdaki T8'in boy uzunluğuna etkisi



Şekil 5.6. *G.graminis* ile inokuleli buğdayda T20'nin boy uzunluğuna etkisi



Şekil 5.7. *F.oxysporum* ile infekteli domatese T20'nin boy uzunluğuna etkisi



Şekil 5.8. *F.oxysporum* ile infekteli fasulyeye T20'nin boy uzunluğuna etkisi

*R.solani* ile infekteli fasulyenin kök ve yeşil aksam ağırlığına T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu, *F.moniliforme* ile infekteli mısırın kök ve yeşil aksam ağırlığına T8'in  $1 \times 10^5$  ve  $1 \times 10^7$  spor/ml olan dozları, *F.oxysporum* ile infekteli domatesin kök ve yeşil aksam ağırlığına T20'nin  $1 \times 10^5$  ve  $1 \times 10^7$  spor/ml dozları,  $1 \times 10^3$  spor/ml olan doza göre daha etkili olmuştur. *G.graminis* ile infekteli buğdayın kök ve yeşil aksam ağırlığını T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml olan dozu arttırmıştır (Çizelge 5.2-5.7). Uygulamalar arasındaki farklılıklar varyans analizleri yapılarak belirlenmiştir (Çizelge 5.8-5.13).

Çizelge 5.2. *R.solani* ile infekteli fasulye'nin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

	Kök Ağırlığı (g)			Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8			T8		
$10^3$	0	0,5	$10^3$	0,7	5,2
$10^5$	0,7	0,9	$10^5$	0,8	6,2
$10^7$	0,1	1	$10^7$	0,9	8,3
Kontrol	0	0,5	Kontrol	0,2	1,8

Çizelge 5.3. *R.solani* ile infekteli domates'in ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

	Kök Ağırlığı (g)			Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8			T8		
$10^3$	0	0,01	$10^3$	0,04	0,5
$10^5$	0,01	0,06	$10^5$	0,05	0,5
$10^7$	0,2	0,08	$10^7$	0,05	0,6
Kontrol	0	0,01	Kontrol	0,03	0,5

Çizelge 5.4. *F.moniliforme* ile infekteli mısır'ın ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

	Kök Ağırlığı (g)			Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
T8			T8		
$10^3$	0,3	2,1	$10^3$	0,5	2,4
$10^5$	0,3	4,01	$10^5$	0,5	2,8
$10^7$	0,4	4,06	$10^7$	0,7	3,6
Kontrol	0,3	1,8	Kontrol	0,4	2,1

Çizelge 5.5. *F.oxysporum* ile infekteli fasulye'nin ortalama kök, yeşil aksam ağırlıkları

T20	Kök Ağırlığı (g)		T20	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	-	-	$10^3$	-	-
$10^5$	0,04	0,06	$10^5$	0,02	0,1
$10^7$	0,64	0,9	$10^7$	0,3	3
Kontrol	-	-	Kontrol	-	-

Çizelge 5.6. *F.oxysporum* ile infekteli domates'in kök, yeşil aksam ağırlıkları

T20	Kök Ağırlığı (g)		T20	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	0,01	0,07	$10^3$	0,03	0,3
$10^5$	0,03	0,1	$10^5$	0,04	0,5
$10^7$	0,05	0,15	$10^7$	0,07	0,7
Kontrol	0	0,04	Kontrol	0,01	0,1

Çizelge 5.7. *G.graminis* ile infekteli Buğday'ın kök, yeşil aksam ağırlıkları

T20	Kök Ağırlığı (g)		T20	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	0,25	0,61	$10^3$	0,25	1,8
$10^5$	0,31	1,1	$10^5$	0,38	2,5
$10^7$	0,44	2,01	$10^7$	0,46	4,2
Kontrol	0,2	0,5	Kontrol	0,23	1,5

Çizelge 5.8. Domates-*F.oxysporum*-T20 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	39,5	9,875	0,87
Doz	3	2167,35	722,45	63,33**
Hata	12	136,9	11,408	
Genel	19	2343,75		

Varyasyon katsayısı = %7,63

LSD Değeri = 6,526      \*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 5.9. Buğday-*G.graminis*-T20 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	23,3	5,825	0,32
Doz	3	3061,2	1020,4	56,61**
Hata	12	216,3	18,025	
Genel	19	3300,8		

Varyasyon katsayısı = %6,39

LSD Değeri = 8,203      \*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 5.10. Fasulye-*F.oxysporum*-T20 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	66,3	16,575	1
Doz	3	205,35	68,45	4,13**
Hata	12	198,9	16,575	
Genel	19	470,55		

Varyasyon katsayısı = %4,15

LSD Değeri = 5,611      \*\* %0,5 seviyesinde önemli

Çizelge 5.11. Mısır-*F.moniliforme*-T8 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	218,2	54,55	2,8
Doz	3	6684,2	2228,067	114,36**
Hata	12	233,8	19,483	
Genel	19	50136,2		

Varyasyon katsayısı = %5,75

LSD Değeri = 8,526      \*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 5.12. Fasulye-*R.solani*-T8 uygulamasının varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	145,7	36,425	0,79
Doz	3	10196,15	3398,717	74,01**
Hata	12	551,1	45,925	
Genel		10892,95		

Varyasyon katsayısı = %18,10

LSD Değeri = 13,09      \*\* %1 seviyesinde önemli

Çizelge 5.13. Domates-*R.solani*-T8 uygulamasının varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F.Değerleri
Tekerrür	4	110,5	27,625	1,9
Doz	3	5229,5	1743,067	120**
Hata	12	174,3	14,525	
Genel		5514		

Varyasyon katsayısı = %8066

LSD Değeri = 7,364      \*\* %1 seviyesinde önemli

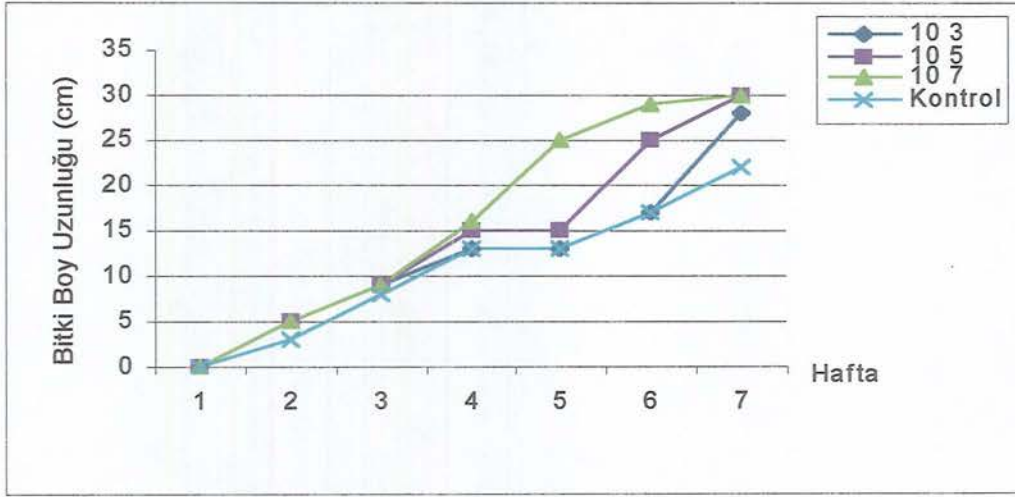
Uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testine göre gösterilmiştir (Çizelge 5.14). Çizelge 5.14'den de görüleceği üzere, kontrol saksılarında hastalık şiddeti çok yüksektir. T20'nin 3 dozu, fasulyede etkili olmamıştır.

Çizelge 5.14. Tarla topraklarında test bitkilerindeki hastalıklara karşı denenen *T.harzianum* izolatlarının hastalık şiddetine etkileri yönünden Duncan testine göre sıralanışları

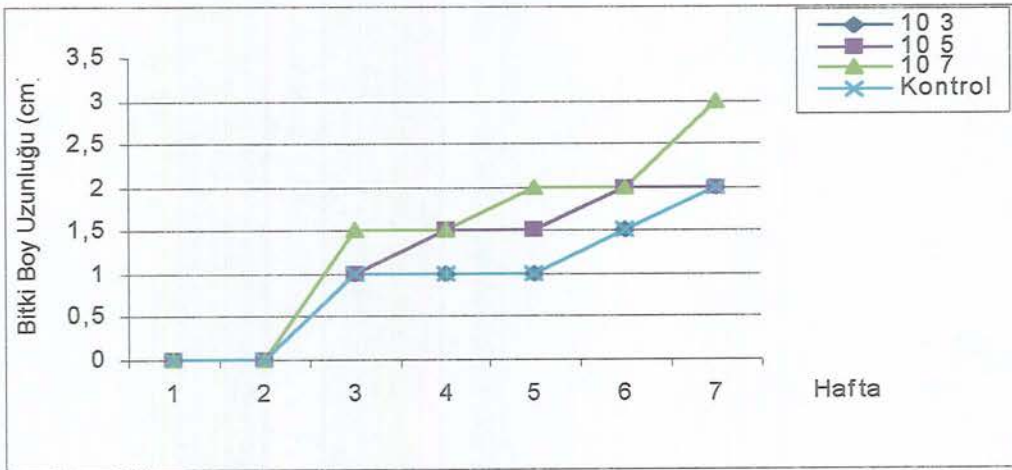
Test Bitkileri	<i>T.harzianum</i> İzolatları	Dozları(spor/ml)	Ortalama Hastalık Şiddetleri (%)	Duncan Sınıfları
Fasulye	T20	Kontrol	0	A
Fasulye	T20	$1 \times 10^3$	0	A
Fasulye	T20	$1 \times 10^5$	0	A
Fasulye	T20	$1 \times 10^7$	7,4	A
Buğday	T20	Kontrol	0	A
Mısır	T8	Kontrol	0	A
Domates	T8	Kontrol	0	A
Fasulye	T8	Kontrol	0	A
Domates	T20	Kontrol	0	A
Mısır	T8	$1 \times 10^3$	17,4	B
Mısır	T8	$1 \times 10^5$	25	B
Buğday	T20	$1 \times 10^3$	26,4	B
Domates	T20	$1 \times 10^3$	51,4	B
Fasulye	T8	$1 \times 10^3$	51,8	B
Domates	T8	$1 \times 10^3$	56,2	B
Buğday	T20	$1 \times 10^5$	44,6	C
Buğday	T20	$1 \times 10^7$	46,4	C
Mısır	T8	$1 \times 10^7$	50,8	C
Domates	T20	$1 \times 10^5$	62,8	C
Domates	T8	$1 \times 10^5$	64,6	C
Domates	T20	$1 \times 10^7$	68	C
Fasulye	T8	$1 \times 10^5$	79,6	C
Fasulye	T8	$1 \times 10^7$	87,8	C
Domates	T8	$1 \times 10^7$	73,2	D

### 3.6. Sera Koşullarında Tarla Toprakları Kullanıldığında *Trichoderma harzianum*'un İnokulesiz Test Bitkilerine Etkisi

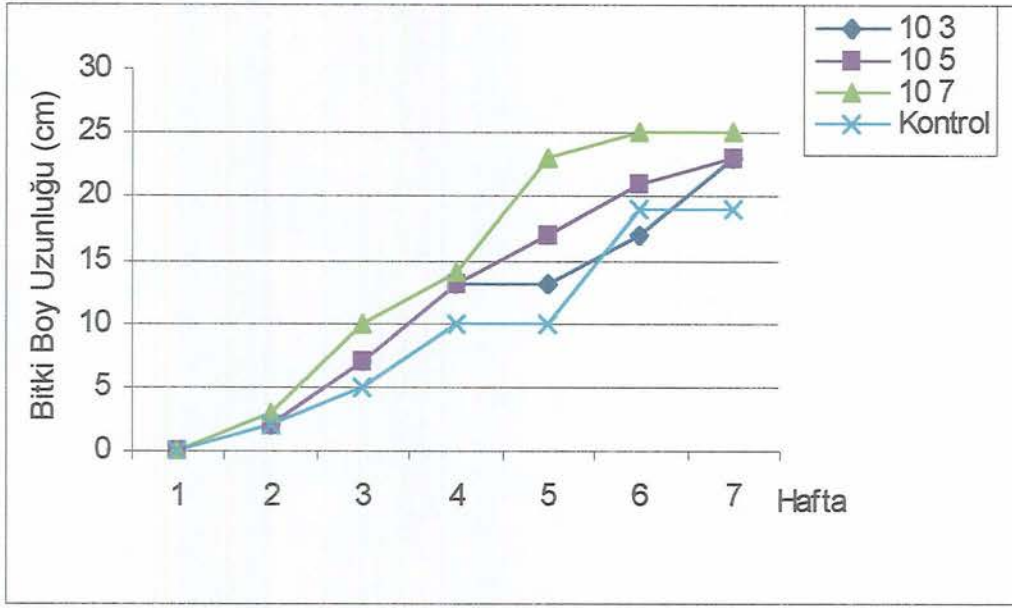
T8 ve T20 izolatlarının test bitkilerinin boy uzunluklarına olan etkileri Şekil 6.1-6.6'da verilmiştir. Uygulamalar arasında önemli bir farklılık bulunmamakla birlikte, T8 ve T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozunun diğer iki doza göre bitki büyümesini daha hızlı arttırdığı belirlenmiştir.



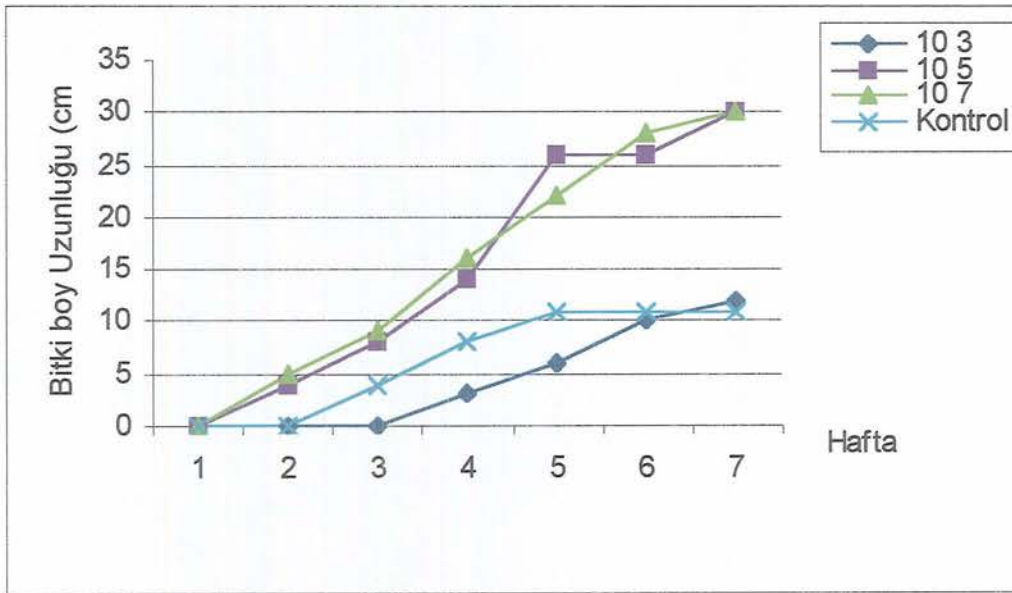
Şekil 6.1. Fasulye boy uzunluğuna T8'in etkisi



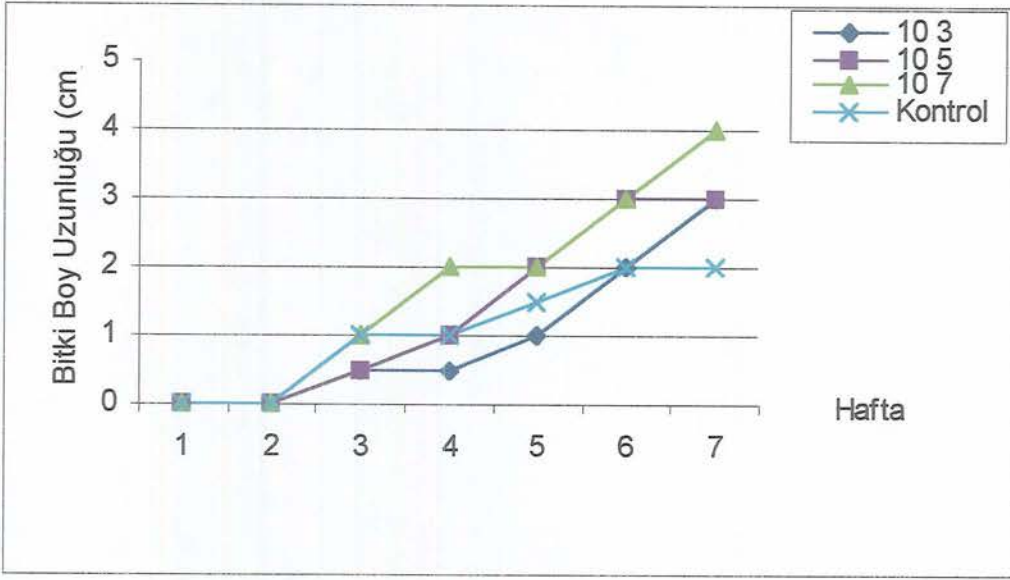
Şekil 6.2. Domates boy uzunluğuna T8'in etkisi



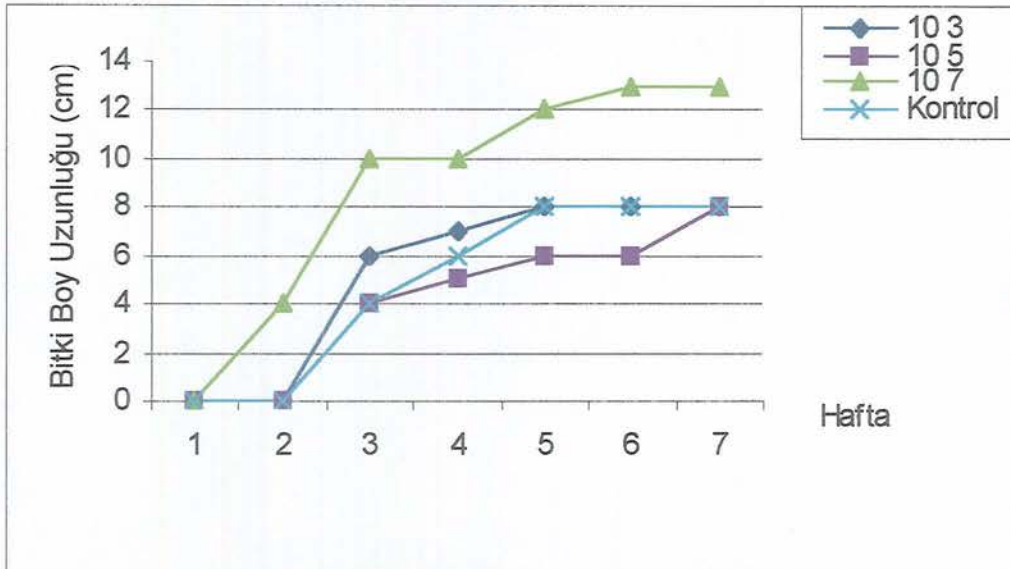
Şekil 6.3. Mısır boy uzunluğuna T8'in etkisi



Şekil 6.4. Buğday boy uzunluğuna T20'nin etkisi



Şekil 6.5. Domates boy uzunluğuna T20'nin etkisi



Şekil 6.6. Fasulye boy uzunluğuna T20'nin etkisi

Bitkilerin kök ve yeşil aksam ağırlıkları Çizelge 6.1.-6.6.'da verilmiştir. T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu fasulye kök ve yeşil aksam ağırlığını, T8'in  $1 \times 10^5$  ve  $1 \times 10^7$  spor/mllik dozları da, domates ve mısırın kök ağırlığını arttırmıştır. T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/mllik dozu domatesin kök ağırlığını, buğdayın ise hem kök hem de yeşil aksam ağırlığını arttırdığı belirlenmiştir.

Çizelge 6.1. İnokulesiz fasulyenin ortalama kök, yeşil aksam ağırlığına T8'in etkisi

	Kök Ağırlığı (g)			Yeşil Aksam (g)	
	T8	Kuru Ağırlık		Yaş Ağırlık	T8
$10^3$	0,3	1,9	$10^3$	0,7	5,2
$10^5$	0,8	3,3	$10^5$	0,8	8,2
$10^7$	1,8	6,7	$10^7$	3,04	22,6
Kontrol	0	1,2	Kontrol	0,5	5,25

Çizelge 6.2. İnokulesiz domatesin ortalama kök, yeşil aksam ağırlığına T8'in etkisi

	Kök Ağırlığı (g)			Yeşil Aksam (g)	
	T8	Kuru Ağırlık		Yaş Ağırlık	T8
$10^3$	0,03	0,9	$10^3$	0,02	1,2
$10^5$	0,03	0,9	$10^5$	0,05	3,5
$10^7$	0,09	0,17	$10^7$	0,09	4
Kontrol	0,01	0,1	Kontrol	0,03	0,5

Çizelge 6.3. İnokulesiz mısırın ortalama kök, yeşil aksam ağırlığına T8'in etkisi

	Kök Ağırlığı (g)			Yeşil Aksam (g)	
	T8	Kuru Ağırlık		Yaş Ağırlık	T8
$10^3$	0,4	2,7	$10^3$	0,7	4,1
$10^5$	0,4	5,4	$10^5$	0,7	4,4
$10^7$	0,9	7,5	$10^7$	1,5	8,5
Kontrol	0,4	2	Kontrol	0,6	3,8

Çizelge 6.4. İnokulesiz fasulye ortalama kök, yeşil aksam ağırlığına T20'nin etkisi

T20	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	0,1	3
$10^5$	0,29	3,17
$10^7$	0,38	3,19
Kontrol	0,7	2,7

T20	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	0,33	3,14
$10^5$	3,35	4,16
$10^7$	0,53	5,5
Kontrol	0,18	3,1

Çizelge 6.5. İnokulesiz domatesin ortalama kök, yeşil aksam ağırlığına T20'nin etkisi

T20	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	0,02	0,08
$10^5$	0,04	0,1
$10^7$	0,09	0,17
Kontrol	0,02	0,08

T20	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	0,04	0,5
$10^5$	0,07	0,6
$10^7$	0,14	0,8
Kontrol	0,04	0,5

Çizelge 6.6. İnokulesiz buğdayın ortalama kök, yeşil aksam ağırlığına T20'nin etkisi

T20	Kök Ağırlığı (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	0,21	0,7
$10^5$	0,23	1,3
$10^7$	0,46	2,2
Kontrol	0,13	0,4

T20	Yeşil Aksam (g)	
	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
$10^3$	0,25	1,7
$10^5$	0,47	2,5
$10^7$	0,5	3,8
Kontrol	0,18	1,1



Çizelge 7.3. Tarla toprağındaki azotobakter miktarı

	Dozlar	1.Hafta	2.Hafta	3.Hafta	4.Hafta	5. Hafta	6. Hafta	7.Hafta
T8	$10^3$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$
	$10^5$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$
	$10^7$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$
T20	$10^3$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$
	$10^5$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$
	$10^7$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$
Kontrol		$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$

Çizelge 7.4. Tarla toprağındaki aktinomiset miktarı

	Dozlar	1.Hafta	2.Hafta	3.Hafta	4.Hafta	5. Hafta	6. Hafta	7.Hafta
T8	$10^3$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
	$10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
	$10^7$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
T20	$10^3$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
	$10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
	$10^7$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
Kontrol		$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$

Çizelge 7.5. Tarla toprağına eklenen T8 ve T20'nin miktarı

	Dozlar	1.Hafta	2.Hafta	3.Hafta	4.Hafta	5. Hafta	6. Hafta	7. Hafta
T8	$10^3$	-	-	-	-	-	-	$1 \times 10^6$
	$10^5$	-	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$
	$10^7$	-	$1 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$4 \times 10^6$	$4 \times 10^6$	$5 \times 10^6$	$5 \times 10^6$
T20	$10^3$	-	-	-	-	-	-	$1 \times 10^6$
	$10^5$	-	-	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$
	$10^7$	-	-	$1 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$4 \times 10^6$	$4 \times 10^6$

## 4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

### 4.1.Fungal İnhibisyon

Eskişehir bölgesi topraklarından izole edilen *Trichoderma harzianum* izolatları bitki patojenlerine karşı farklı etkiler göstermişlerdir. İnhibisyon deneylerinde, %64 RI değeri ile *Fusarium oxysporum*'a karşı T20, %80 RI değeri ile *Dreshclera sorakiana*'ya T18, %77,2 RI değeri ile *Fusarium culmorum*'a karşı T1, %80 RI değeri ile *Rhizoctonia solani*'ye karşı T8, %60 RI değeri ile *Fusarium solani*'ye karşı T15, %80,8 RI değeri ile *Rhizoctonia cerealis*'e karşı T4, %55,2 RI değeri ile *Fusarium moniliforme*'ye karşı T8, %72 RI değeri ile *Gaeumannomyces graminis*'e karşı T20, %95,8 RI değeri ile *Sclerotium rolfsii*'ye karşı T11 etkili olarak bulunmuştur (Bkz. Çizelge 1.1). *T.harzianum* izolatlarında ortaya çıkan bu farklılıklar, patojenlerin farklı dirence sahip olmalarından ileri gelebileceği gibi, *T.harzianum* izolatlarının farklı kimyasallar üretmelerinden de kaynaklanmış olabilir. Ghisalberti ve ark. [64] da, *T.harzianum* izolatlarının farklı kimyasallar ürettiklerini, mikoparazit olarak besin ve çevre şartlarından etkilendiklerini, patojenlerin *T.harzianum* izolatlarına farklı direnç gösterdiklerini bildirmişlerdir. Yapılan benzer çalışmalarda bitki patojenlerine karşı *T.harzianum*'un etkili olduğu belirlenmiştir [2, 10, 25].

Wells ve ark. [11] tarafından; kumlu kili topraklardan izole edilen *Trichoderma harzianum*'un T35 ve T203 izolatlarının *F.oxysporum* ve *S.rolfsii*'ye etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmaya göre; T35 izolatının *F.oxysporum*'un gelişimini sınırlandırdığı, *T.harzianum*'un T203 izolatının ise; *S.rolfsii*'ye karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda *R.solani*'ye karşı en etkili *T.harzianum* izolatının T8, *S.rolfsii*'ye karşı en etkili izolatın ise; T11 olduğu belirlenmiştir. T20, diğer izolatlara göre daha hızlı misel üreterek, patojenlerin gelişmesini engellemiştir.

Hadar ve ark. [13] tarafından yapılan bir çalışmada, *T.harzianum* izolatının *R.solani* ve *P.aphanidermatum*'un gelişmesini engellediği, fakat *S.sclerotium* ve *F.oxysporum*'un gelişmesine etkili olmadığı gösterilmiştir. *Trichoderma harzianum* izolatlarının bitki patojenlerine karşı gösterdikleri farklı inhibisyon

oranlarının, izolatların patojenlere karşı seçici olduğu ve farklı patojenlere farklı etki göstermelerinden kaynaklandığı bildirilmiştir [13].

Çalışmamızda bütün patojen türlerine etkili olan tek bir *T.harzianum* izolatu bulunmamakla birlikte *T.harzianum*'un T1 ve T4 izolatları diğer izolatlara göre daha fazla sayıda patojene etkili olmuş, bunları T8, T9 ve T20 izlemiştir. Chet ve Inbar [2] tarafından yapılan çalışmada da seçilen bitki patojenlerine karşı etkili olan tek bir *Trichoderma* izolatu bulunamamıştır. *T.harzianum*'un T12, T14 ve T22 izolatlarının patojenlere karşı etkisi diğer izolatlara göre çok az olmuştur.

Çalışmamızda *Trichoderma harzianum* izolatlarının enzim aktivitelerini belirlemek amacıyla yapılan deneyde, T8, T10, T18 ve T20 izolatlarının besi ortamlarında diğer izolatlara göre daha hızlı geliştiği belirlenmiştir. İzolatların  $\beta$ -glukosidaz aktivitelerini belirlemek amacıyla yapılan aesculin deneylerinde, T1, T3, T4, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T15, T18, T19, T20 ve T21'in misel ve spor oluşturarak aesculin içeren ortamda geliştiği, T14 ve T22 izolatlarının ise gelişmediği bulunmuştur (Bkz. Çizelge 2.1). Esteraz aktivitelerinin belirlenmesi için yapılan Tween 80 hidrolizi deneylerinde; T3 ve T21 dışındaki tüm izolatlar ortamda gelişmiş ve besi ortamının rengini mavi-mora dönüştürmüşlerdir. Gondona ve ark. [55] tarafından yapılan deneylerde de, *Trichoderma harzianum* izolatlarının Tween 80 içeren ortamın rengini mavi-mora dönüştürdükleri bildirilmiştir. Sellüloz üretiminin belirlenmesi için, sellüloz hidrolizi deneyi yapılmıştır. Sellüloz içeren ortamda T14 ve T22 dışındaki tüm *Trichoderma harzianum* izolatları gelişmiştir.

İzolatların ortamda gelişme göstermelerinin enzim aktivitesine bağlı olduğu Lynch ve ark. [74] tarafından yapılan çalışmada saptanmıştır. Sellülozun *Trichoderma* türlerinin endüstriyel kullanımlarında da etkili olduğu bildirilmiştir [74]. Proteaz aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan jelatin ve kazein hidroliz deneylerinde izolatların gelişmeleri gözlemlenmiştir. T3 ve T22 dışındaki izolatlar jelatini hidrolize etmişlerdir. Kazein hidrolizinin mikroorganizmaların ürettiği asit ile ilgili olduğu ve gelişen kolonilerin etrafında beyaz bir zonun olduğu Bridge ve ark. [73] tarafından bildirilmiştir.

Çalışmamızda T3, T9, T12, T14, T15, T21 ve T22'nin kazein içeren ortamda gelişmediği belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 2.1). *Trichoderma* türlerinin,

bitki patojenlerinin hücre yapılarını ürettikleri sellüloz, kitinaz, glukonaz gibi enzimler ile parçaladıkları bildirilmiştir [74]. Litik enzimler içinde, pektik maddeleri depolimerize eden enzimlerin önemli olduğu saptanmıştır [73]. Çalışmamızdaki polygalaktronik asit içeren polypektat hidrolizi deneyinde ise, *Trichoderma harzianum* izolatlarının tümünün misel ve spor oluşturduğu görülmüştür. İzolatların polypektat hidrolizi deneyinde gelişme göstermelerinin ürettikleri polygalakturazdan dolayı olduğu bildirilmiştir [73].

Lynch ve ark. [74] tarafından, *Trichoderma* türlerinden *T.viride*'nin nişasta, sellüloz, maltoz, laminarin, laktoz, ksiloz, glukoz, mannitol ve gliserol içeren ortamlarda gelişerek enzim ürettiği bildirilmiştir. Yüksek konsantrasyonda laminarin içeren ortamda da, *Trichoderma harzianum*'un geliştiği ve enzimatik aktivite gösterdiği saptanmıştır [74]. *Trichoderma harzianum*'un litik enzim üretimindeki  $\beta$ -1,3-glukonaz aktivitesinin, kitinaz aktivitesinden daha fazla olduğu ve bu enzimlerin *R.solani*'nin hücre duvarının yıkımında etkili olduğu bildirilmiştir [70,71]. Benzer bir çalışmada da, *T.viride* tarafından üretilen  $\beta$ -1,3-glukonaz ile *S.sclerotiorum*'un gelişmesinin engellendiği ve *S.rolfsii* ile infekteli topraklarda proteolitik aktivite gösterdiği bildirilmiştir [70]. Elad ve ark. [65] tarafından, *Trichoderma harzianum*'un farklı izolatlarının, *R.solani*'nin hücre duvarını tek karbon kaynağı olarak kullanarak  $\beta$ -1,3-glukonaz ve kitinaz enzimleri ürettiği böylece patojenin gelişmesini önlediği bildirilmiştir.

*T.harzianum*'un T12, T14, T22 izolatlarının, bitki patojenlerine karşı düşük etki göstermelerinin sebebi enzim aktiviteleri ile ilgili olabilir. Söz konusu izolatların enzim aktiviteleri düşük olarak bulunmuştur (Bkz. Çizelge 2.1). Bu nedenle *T.harzianum* T12, T14, T22 izolatlarının biyokontrol ajanı olarak kullanılamayacağı ortaya çıkmıştır.

Bridge ve ark. [73] yaptıkları benzer çalışmada düşük ekstrasellüler aktivite gösteren izolatların biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılamayacağını belirlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, RI değeri düşük olan izolatların diğer izolatlara göre düşük düzeyde litik enzimatik aktivite gösterdiği ve eksik protein salgıladığını bildirmişlerdir [73].

Çalışmamızda bitki patojenlerinden *Fusarium* türleri diğer bitki patojenlerine göre *T.harzianum* izolatlarına daha dirençli olarak bulunmuştur.

*T.harzianum*'un ürettiği ekstrasellüler enzimleri ile parçalanın *R.solani* ve *S.rolfsii*'nin hücre duvarına göre *Fusarium* türlerinin, içerdiği proteinlerden dolayı daha dirençli oldukları saptanmıştır [4, 65]. Yapılan benzer çalışmada da, *Fusarium* türlerinin *Trichoderma* spp.'ye karşı dirençli olduğu bildirilmiştir [37].

*T.harzianum*'un *R.solani*'ye karşı etkili olduğu ve *G.graminis* var. *tritici*'nin gelişmesinin *Trichoderma* spp. tarafından oluşturulan metabolitlerle engellendiği saptanmıştır [10].

Yapılan bir çalışmada, sera şartları altında toprak kökenli hastalıkların kontrolünün *T.harzianum* izolatları ile olabileceği ileri sürülmüştür [2]. Çalışmamızda, *T.harzianum* T8'in *R.solani* ve *F.moniliforme*'ye karşı, T20'nin *G.graminis* ve *F.oxysporum*'a karşı etkili olduğu belirlenerek sera denemelerinde kullanılabileceği belirlenmiştir.

#### 4.2. *Trichoderma harzianum* ile Sera Denemeleri

Tarım ürünlerindeki kök hastalıklarına, yabancı otlar ile birçok iklimsel ve biyolojik faktörlerin neden olduğu ve bunların ürünlerin gelişme ve yetiştirme devrelerinde etki yaptıkları saptanmıştır [1]. Kök hastalıklarının; tohumların çimlenememesi, çimlenmiş olsa bile toprak yüzeyine çıkamaması ya da çıktuktan sonra ölmesi gibi bitkinin yetiştirme sezonunun erken devresinden itibaren kendini gösteren belirtileri olması yanında, bitkideki esas semptomların kardeşlenme döneminden sonra daha açık bir şekilde görüldüğü bildirilmiştir [3]. Kök hastalıklarını oluşturan toprak kökenli patojenlerin, ülkeden ülkeye sayısal olarak değişebildiği gibi, bir ülkedeki bölgelere ve hatta bitkilere göre de değiştiği bildirilmiştir [3].

Çalışmamızda Orta Anadolu koşullarında; seçilen test bitkilerine etkili olduğu bilinen patojenler kullanılmıştır. Bu patojenlere karşı en yüksek RI değerini veren *T.harzianum* izolatları biyolojik preparat olarak kullanılmıştır.

Ham toprak ile yapılan sera denemelerinde, *F.moniliforme* ile inokuleli mısırdaki T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %81,3 ile, *R.solani* ile inokuleli domateste T8'in  $1 \times 10^5$  spor/ml lik dozu %58,9,  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %65,2, *R.solani* ile inokuleli fasulyede T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %78,9 ile etkili olmuştur.

*F.oxysporum* ile inokuleli domateste T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu %52,1 ile etkili olurken, fasulyede bu değer %74,3 ile etkili olmuştur. *G.graminis* ile inokuleli buğdayda T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu diğer iki doza göre etkili bulunmuştur (Bkz. Çizelge 3.1). Hastalık şiddeti yüzdesi biyolojik preparatların artan dozlarında azalma göstermiştir.

Tarla toprakları kullanılarak yapılan çalışmada hastalıklara karşı T8 ve T20'nin etkisi belirlenmiştir. Buğdayda hastalık şiddeti T20'nin  $1 \times 10^5$  spor/ml ve  $1 \times 10^7$  spor/ml dozu ile sırasıyla %55,4 ve %53,6'ya *F.oxysporum* ile inokuleli domateste hastalık şiddeti T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu ile %25'e *F.moniliforme* ile inokuleli mısırdaki T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu ile %49,2'e, *R.solani* ile inokuleli fasulyede T8'in  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu ile %12,2'e, domateste ise, T8'in  $1 \times 10^5$  spor/ml dozu ile %35,4 ve  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozu ile %26,8'e düşmüştür (Bkz. Çizelge 5.1).

Domateste hastalık oluşumuna neden olan *F.oxysporum*'a karşı *Trichoderma* spp. ile biyolojik mücadelenin yapılabileceği ve hastalığın, *Trichoderma harzianum*'un hazırlanan süspansiyonu ile %80 oranında düşürülebileceği bildirilmiştir [7,68]. Ham toprakta T20'nin  $10^7$  spor/ml lik dozu, *F.oxysporum* ile inokuleli domateste hastalık üzerine %52,1 ile etkili olmuştur. Kullanılan tarla toprağında ise bu değer, %42,7'e düşmüştür. *F.oxysporum* ile inokuleli fasulyede T20'nin  $10^7$  spor/ml lik dozunun etkisi, ham toprakta %74,3 iken, bu değer tarla toprağı kullanıldığında %7,4'e düşmüştür.

Sivan ve Chet [33] tarafından *F.oxysporum*'un kavunda oluşturduğu hastalığa karşı *Trichoderma harzianum*'un etkili olduğu bildirilmiştir. *Trichoderma harzianum* ile muamele edilmemiş kontrol ekimlerinde 20. gün sonunda kavunda solgunluk oluşmuştur. *Trichoderma harzianum*'un uygulanan ( $5 \times 10^9$  konidia/kg toprak) süspansiyonunun kavunda *F.oxysporum*'un neden olduğu solgunluğu geciktirdiği ve hastalığı %30 azalttığı saptanmıştır [33]. Ham toprak kullandığımız denemede, *R.solani* ile infekteli fasulyede kontrol saksılarında hastalık şiddeti %47 iken, T8'in artan dozlarında hastalık şiddeti azalmıştır ve  $10^7$  spor/ml ile hastalık şiddeti %9,9'a düşmüştür.

*T.harzianum* ile muameleli patlıcan tohumlarının *R.solani*'nin neden olduğu çökerten hastalığına (damping-off) karşı dayanıklı olduğu ve hastalık

şiddetinin *T.harzianum* ile %80 oranında düşürüldüğü Hadar ve ark. [13] tarafından bildirilmiştir. Elad ve ark. [23] yaptıkları benzer bir çalışmada *R.solani* ile infekteli tarlalarda yetiştirilen, *Trichoderma harzianum* ile muamele edilmiş fasulye ve patatesteki hastalık yüzdesinin düşürüldüğünü bildirmişlerdir.

Tarla toprağının kullanıldığı sera denemesinde, T8 ve T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozunun diğer iki doza göre bitki gelişmesini daha hızlı arttırdığı belirlenmiştir (Bkz. Şekil 5.3-5.8). Ayrıca  $1 \times 10^7$  spor/ml lik dozun kuru ve yaş madde ağırlıkları üzerinde de etkili olduğu bulunmuştur.

Windham ve ark. [44] tarafından, pH'sı 5,6 olan kumlu killi topraklarda uygulanan *T.harzianum*'un T8 ve T95 izolatlarının turpun gelişmesinde etkili olduğu ve kök kuru ağırlığını kontrollere göre arttırdığı saptanmıştır. *Trichoderma harzianum* uygulanmış, patojen ile inokule edilmemiş tütün ve domates fidelerinin boy uzunlukları Windam ve ark. [44] tarafından gözlemlenmiştir. *Trichoderma harzianum* uygulanmış bitkilerin boy uzunluklarının kontrol bitkiler ile aynı olduğu, fakat kök ve sürgün ağırlıklarının arttığı belirlenmiştir [44]. Denememizde, bitkilerin boy uzunluklarında T8 ve T20'nin kontrollere göre etkili olduğu saptanmıştır (Bkz. Şekil 3.3-3.8).

Ham toprak ve tarladan alınan toprak ile yaptığımız sera denemelerinde, *Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının  $10^7$  spor/ml olan dozlarının patojenler ile inokule edilen bitkilerin boy uzunluklarını arttırdığı belirlenmiştir. Ham toprakta T8 ve T20'nin uygulanan üç dozunda patojenler ile inokuleli bitkiler üzerinde, tarladan alınan topraklarla yapılan denemelere göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Biyolojik preparatların etkisi ham toprakta bitkiler üzerine daha etkili olurken, tarla toprakları ile yapılan sera denemesinde bu etki azalmıştır. T8 ve T20'nin uygulanan  $10^7$  spor/ml olan dozunun bitkilerin çimlenmesinde de etkili olduğu görülmüştür.

Inbar ve ark. [29] tarafından yapılan benzer bir çalışmada; *Trichoderma harzianum*'un topraklara inokule edilen T203 izolatının salatalık ve biber fidelerinin boy büyüklüğünü arttırdığı, yaprak alanı ve kök kuru ağırlıklarında önemli artışlara neden olduğu saptanmıştır. *Trichoderma harzianum* ile infekteli topraklarda yetiştirilen salatalık ve biber fidelerinin *Pythium* spp. ve *R.solani*'nin neden olduğu çökerten hastalıklarına karşı son derece dirençli oldukları

bildirilmiştir [29]. Denememizde de, *R.solani* ile infekteli fasulye ve domatesin *Trichoderma harzianum* T8'in artan dozlarında hastalık şiddetinde düşüş olduğu görülmüştür. *Trichoderma harzianum* izolatının pamukta solgunluk oluşturan *F.oxysporum*'a karşı etkisi belirlenerek, hastalıkta %90 oranında düşüş elde edildiği Sivan ve ark. [33] tarafından bildirilmiştir. Uyguladığımız T8 ve T20'nin  $10^7$  spor/ml dozlarının toprakta 4. haftadan sonra çoğaldığı belirlenmiştir. *R.solani* ile infekteli turpta çökerten hastalığına karşı *T.harzianum* %72 oranında ve T35 izolatın da, *R.solani* ile infekteli kavunda %55 oranında etkili olduğu belirlenmiş, izolatların  $10^6$  spor/ml lik dozların toprakta çok hızlı bir şekilde çoğaldığı saptanmıştır [33].

Bir çok *Trichoderma* türünün 8 cm lik kök derinliğinde bulunduğu, toprakta 5,2-6'dan daha düşük pH düzeylerinde fazla miktarda spor ürettiği saptanmıştır [7,31]. Kullandığımız tarla toprağının pH'sı 7,94 olmasına rağmen, bu pH'da da *Trichoderma harzianum* T8 ve T20 izolatlarının gelişebildiği ve bitkilerdeki hastalık üzerine etkili olduğu bulunmuştur. *T.harzianum*'un bitki kök korteksinde bulunduğu ve buradan patojene penetre ettiği bildirilmiştir [28]. Kök ve gövdede lignin düzeyini arttırdığı [28], ürettiği litik enzimler ile bitkinin savunma mekanizmalarını uyardığı bildirilmiştir [71]. Araştırmacılar, *T.harzianum* ile hazırlanan preparatın toprağa bulaştırılması ile yapılan deneyler ve tohuma bulaştırılması ile yapılan deneyler arasında önemli bir farklılığın olmadığını her iki uygulamanın da hastalık üzerine benzer etkiler yaptığını bildirmişlerdir.

Değişen ekolojik şartlara sahip ortamlardaki çevre şartları biyolojik kontrol organizmalarının hayatta kalması popülasyonlarının gelişebilmesi için genellikle uygun olmamaktadır. Zorunlu olarak tek bir türle yapılan biyolojik kontrol, çoğu üründe değişik mikroorganizmaların bulunmasından dolayı genellikle yeterli sonuç vermemektedir [1,3]. Bununla birlikte, biyolojik kontrol kimyasal mücadelenin mümkün olmadığı birçok durumda da başvurulabilecek etkili bir yol olarak gözükmektedir. Ayrıca fazla masraf gerektirmemektedir. Biyokontrol ajanları olarak kullanılan mikroorganizmalar kimyasal ilaçlar gibi ortamda birikip, toksisite oluşturmamaktadır. Birçoğu da, insanlar üzerinde patojen olmadığı için insanlara zarar vermemekte ve her şeyden önemlisi çevreyi

kirletmemektedir. Tarımsal zararlılar için kullanılan pestisidler ve organik kimyasalların çeşitli bitki ve hayvanlarda depolanarak, besin zinciri yolu ile insanlara ve diğer canlılara toksik etki yapması, yine bu kimyasalların doğada parçalanmasının zor olması biyokontrol ajanı olarak mikroorganizmaların kullanımını gündeme yerleştirmektedir. Bu amaçla kullanılacak ajanların spesifik, güvenilir, stabil ve ekonomik olması gerekmektedir. Bitki patojeni funguslara karşı *Trichoderma harzianum* izolatları bu konuda ümit vaatmektedir [1].

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre; Eskişehir bölgesi topraklarından izole edilen *Trichoderma harzianum* izolatları bitki patojeni funguslara karşı etkili olarak bulunmuştur. *Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının toprak kökenli bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıkları azaltıcı etkilerinin olması nedeniyle sera denemeleri ile biyolojik mücadelede kullanılabileceği belirlenmiştir.

Saksı denemelerinin sonuçları, laboratuvarında yapılan çalışmaların sonuçlarını desteklemiş ve biyolojik preparatların tesbit edilen etkinliğini güçlendirmiştir. Uygulanan dozlar arasında istatistiki olarak farklılık bulunmuştur. Biyolojik preparatların artan dozlarının etki derecelerinin yüksek olmasının, *Trichoderma harzianum*'un artan dozlarının toprakta çok çabuk kolonize olmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Ayrıca *Trichoderma harzianum*'un T8 ve T20 izolatlarının diğer organizmalara karşı herhangi olumsuz bir etkisinin bulunmadığı yapılan mikrobiyolojik deneyler ile belirlenmiştir.

Sonuç olarak; gerek laboratuvarında, gerekse saksı denemelerinde *T.harzianum* izolatlarının fungal bitki patojenlerine karşı etkili olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, sera denemelerinin sonuçlarını desteklemiş ve biyolojik preparatların tesbit edilen etkinliğini güçlendirmiştir. T8 ve T20'nin  $1 \times 10^7$  spor/ml dozlarının bitkiler üzerinde hastalıklara karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, *T.harzianum* izolatlarının çevre ve besin şartlarından etkilenebileceği düşünüldüğünde farklı pH ve farklı toprak özelliklerindeki gelişmeleri incelendikten sonra, tarla şartları altında da uygulanmaları yapıldıktan sonra kullanılabilirliği ortaya çıkacaktır.

## KAYNAKLAR

1. ANKE, T., *Fungal Biotechnology*, Chapman and Hall, London, pp. 65-76, 1997.
2. CHET, I., INBAR, J., *Biological Control of Fungal Pathogens*, Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol.48, pp.37-43, 1994.
3. COOK, J.R., and BAKER, K.F., *The Nature and Practise of Biological Control of Plant Pathogens*, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, pp. 297-299, 1983.
4. PAPAŪZAS, G.C., *Trichoderma and Gliocladium: Biology, Ecology, and Potential for Biocontrol*, Ann. Rev. Phytopathol., Vol.23, pp. 23-54, 1985.
5. BAKER, K.F., *Evolving Concepts of Biological Control of Plant Pathogens*, Ann. Rev. Phytopathology., Vol. 25, pp.67-85, 1987.
6. WELLER, D.M., *Biological Control of Soilborne Pathogens with Fungal Antagonists in Combination with Bacteria*, Phytopathology, Vol.26, pp.376-407, 1988.
7. BAKER, R., ELAD, Y., AND CHET, I., *The Controlled Experiment in the Scientific Metod with Special Emphasis on Biological Control*, Phytopathology, Vol.74, pp.1019-1021, 1984.
8. BOLAND, G.J., *Biological Control of Plant Diseases with Fungal Antagonists: Challenges and Opportunities*, Can. J. Plant Pathol., Vol.12, pp.295-299, 1990.
9. BEAGLE-RISTAINO, J.E., PAPAŪZAS, G.C., *Survival and Proliferation of propagūles of Trichoderma spp. and Gliocladium virens in Soil in Plant Rhizospheres*, Phytopathology, Vol.75, pp.729-732, 1985.
10. WHIPPS, J.M., *Effect of Media on Growth and Interactions between a Range of Soilborne Glasshouse Pathogens and Antagonistic Fungi*, Phytopathology, Vol.10, pp.127-142, 1987.
11. WELLS, H.D., BELL, D.K. and JAWORSKI, C.A., *Efficacy of Trichoderma harzianum as a Biocontrol Agent for Sclerotium rolfsii*, Phytopathology, Vol.62, pp.442-447, 1971.
12. HADAR, Y., CHET, I. and HENIS, Y., *Biocontrol Control of Rhizoctonia solani Damping-Off with Wheat Bran Culture of Trichoderma harzianum*, Phytopathology, Vol.69, pp.64-68, 1979.

13. HADAR, Y., CHET, I., KATAN, I., *Trichoderma harzianum* a Biocontrol Agent Effective Against *S.rolfsii* and *R.solani* Damping-Off with Wheatbran Culture of *T.harzianum*, *Phytopathology*, Vol.9, pp.64-68, 1979.
14. BAKER, R., DRURY, R., *Inoculum Potential and Soilborne Pathogens: The Essences of every Model is within the Frame*, *Phytopathology*, Vol.71, pp.363-372, 1981.
15. LEWIS, J.A., and PAPAVIDAS, G.C., *A New Approach to Stimulate Population Proliferation of Trichoderma spp. and other Potential Biocontrol Fungi Introduced into Natural Soils*, *Phytopathology*, Vol.74, pp.1240-1244, 1984.
16. HADAR, Y., HARMAN, G.E., and TAYLOR, A.G., *Evaluation of Trichoderma harzianum from New York Soils for Biocontrol of Seed Rot Caused by Pythium spp.*, *Phytopathology*, Vol.74, pp.106-110, 1984.
17. MIHUTA-GRIMM, I., and ROWE, R.C., *Trichoderma spp. as Biocontrol Agents of Rhizoctonia Damping-Off of Radish in Organic Soil and Comparison of Four Delivery Systems*, *Phytopathology*, Vol.76, pp.306-312, 1986.
18. LIFSHITZ, R., WINDHAM, M.T., and BAKER, R., *Mechanism of Biocontrol Control of Preemergence Damping-Off of Pea by Seed Treatment with Trichoderma spp.*, *Phytopathology*, Vol.76, pp.720-725, 1986.
19. CHET, I., *Trichoderma Application Mode of Action and Potential as a Biocontrol Agent of Soilborne Plant Pathogenic Fungi*, *Plant Disease*, Vol. 62, pp.137-160, 1987.
20. COOK, J., *Fusarium Foot Rot of Wheat and Its Control in the Pacific Northwest*, *Plant Disease*, Vol.64, pp.1061-1066, 1980.
21. SIVAN, A., ELAD, Y., and CHET, I., *Biological Control Effects of a New Isolate of Trichoderma harzianum on Pythium aphanidermatum*, *Phytopathology*, Vol.74, pp.884-889, 1984.
22. BAKER, R., *Measures to Control Fusarium and Phialophora Wilt Pathogens of Carnations*, *Plant Disease*, Vol.64, pp.743-749, 1980.
23. ELAD, Y., CHET I. and KATAN, J., *Trichoderma harzianum: A Biocontrol Agent Effective Against Sclerotium rolfsii and Rhizoctonia solani*, *Phytopathology*, Vol.70, pp.119-121, 1980.
24. CHUNG, Y.R., HOITINK, H.A.J., *Interactions between Thermophilic Fungi and Trichoderma hamatum in Suppression of Rhizoctonia Damping-Off in a*

- Bark Compost-Amended Container Medium*, *Phytopathology*, Vol.80, pp.73-77, 1980.
25. HARMAN, G.E., CHET, I., and BAKER, R., *Factors Affecting Trichoderma hamatum Applied to Seeds as a Biocontrol Agent*, *Phytopathology*, Vol.71, pp.569-572, 1981.
  26. CHET, I., and BAKER, R., *Isolation and Biocontrol Potential of Trichoderma hamatum from Soil Naturally Suppressive of Rhizoctonia solani*, *Phytopathology*, Vol.71, pp.286-290, 1981.
  27. KWOK, O.C.H., FAHY, P.C., HOITINK, H.A., and KUTTER, G.A., *Interactions between Bacteria and Trichoderma hamatum in Suppression of Rhizoctonia Damping-Off in Bark Compost Median*, *Phytopathology*, Vol.77, pp.1206-1212, 1987.
  28. BENSON, D.M. and BAKER, R., *Rhizosphere Competition in Model Soil Systems*, *Phytopathology*, Vol.60, pp.1058-1061, 1970.
  29. INBAR, J., ABRAMSKY, D.C. and CHET, I., *Plant Growth Enhancement and Disease Control by Trichoderma harzianum in Vegetable Seedling Grown Under Commercial Conitions*, *Plant Pathology*, Vol.100, pp.337-346, 1994.
  30. HARMAN, G.E., CHET, I. and BAKER, R., *Factors Affecting Trichoderma harzianum, Applied to Seeds as a Biocontrol Agent*, *Phytopathology*, Vol.71, pp.569-572, 1981.
  31. PAPAŪZAS, G.C., *Survival of Trichoderma harzianum in Soil and Pea and Bean Rhizospheres*, *Phytopathology*, Vol.74, pp.1019-1021, 1984.
  32. SIMON, A. And SIVASITHAMPARAM, K., *Microbiological Differences between Soils Suppressive and Conducive of the Sprophytic Growth of Gaeumannomyces graminis var. tritici*, *Can. J. Microbiol.*, Vol.34, pp.860-864, 1988.
  33. SIVAN, A. and CHET, I., *Biological Control of Fusarium spp. in Cotton, Wheat and Muskmelon by Trichoderma harzianum*, *Phytopathology*, Vol.116, pp.39-47, 1986.
  34. CAMPBELL, R., *Plant Microbiology*, E.Arnold Ltd. 41 Bedford Square, p.145, London, 1985.
  35. KIRTOK, Y., *Mısır Üretimi ve Kullanımı*, Kocaeluk Basım ve Yayınevi, s.312-340, Tarsus, 1991.
  36. SIVAN, A. and CHET, I., *The Possible Role of Competition between Trichoderma harzianum and Fusarium oxysporum on Rhizosphere Colonization*, *Phytopathology*, Vol.79, pp.108-203, 1989.

37. KINACI, E., *Buğday Hastalıkları 1*, Orta Anadolu Bölge Zir. Arşt. Enst., Bitki Hastalıkları ve Dayanıklılık Islahı Bölümü Teknik Yayınları, No.5, Genel Yayın No.45 s.19-21, 1983.
38. SIMON, A. and SIVASITHAMPARAM, K., *Interactions among Gaeumannomyces graminis var. tritici, Trichoderma koningii and Soil Bacteria*, Can. J. Microbiol., Vol.34, pp.871-876, 1988.
39. AKTAŞ, H., KINACI, E., YILDIRIM, A.F., SAYIN, L., KURAL, A., *Konya Yöresinde Hububatta Sorun Olan Kök ve Kökboğazı Çürüklüğü Etmenlerinin Saptanması ve Çözüm Yollarının Araştırılması*, TÜBİTAK. Proje No:TOGTAG-1254, Ankara, 1997.
40. SIMON, A. and SIVASITHAMPARAM, K., *The Soil Environmental and the Suppression of Sprophytic Growth of Gaeumannomyces graminis var. tritici*, Can. J. Microbiol., Vol.34, pp.865-870, 1988.
41. ZAZZERINI, A. and TOSI, L., *Antagonistic Activity of Fungi Isolated from Sclerotia of Sclerotinia sclerotiorum*, Plant Pathology, Vol.34, pp.415-421, 1985.
42. DE OLIVEIRA, V.L., *Control of White Rot of Garlic by Antagonistic Fungi under Controlled Environmental Conditions*, Can. J. Microbiol., Vol.30, pp.884-889, 1984.
43. ALGABA, A.P., GRONDONA, I., MONTE, E., GARCIAACHA, I., *Trichoderma as Biological Control Agent in Sugarbeet Crops*, University of Salamanca, 37071, Salamanca, Spain.
44. WINDHAM, M.T., ELAD, Y., BAKER, R., *A Mechanism for Increased Plant Growth Induced by Trichoderma spp.*, Phytopathology, Vol.76, pp.518-521, 1986
45. BARNETT, H.L., BINDER, F.L., *The Fungal Hostparasite Relationship*, Phytopathology, Vol. 11, pp.273-292, 1973.
46. ADAMS, P.B., *The Potential of Mycoparasites for Biological Control of Plant Diseases*, Phytopathology, Vol.28, pp.59-72, 1990.
47. SIVAN, A., ELAD, Y. and CHET, I., *Biological Control Effects of a New Isolate of Trichoderma harzianum on Pythium aphanidermatum*, Phytopathology, Vol.74, pp.498-501, 1984.

48. BACKMAN, P.A., RODRIGUEZ-KABANA, R., *A System for the Growth and Delivery of Biological Control Agents to the Soil*, *Phytopathology*, Vol.65, pp.819-821, 1975.
49. AHMAD, J.S., BAKER, R., *Rhizosphere Competence of Trichoderma harzianum*, *Phytopathology*, Vol.77, pp.182-189, 1987.
50. HARAN, S., SCHICKLER, H., OPPENHEIM, A., CHET, I., *Differential Expression of Trichoderma harzianum Chitinases During Mycoparasitism*, *Phytopathology*, Vol.86, pp.980-985, 1996.
51. BRUDGE, S.P., WHIPPS, D.M., *Glasshouse Trials of Coniothyrium minitans and Trichoderma Species for the Biological Control of Sclerotium sclerotiorum in Celery and Lettuce*, *Phytopathology*, Vol.40, pp.59-60, 1991.
52. LEWIS, J.A., and PAPAVIDAS, G.C., *Characteristics of Alginate Pellets Formulated with Trichoderma Gliocladium and Their Effect on the Proliferation of the Fungi in Soil*, *Plant Pathology*, Vol.34, pp.571-577, 1985.
53. ONIONS, A.H.S., ALLOPP, D., EGGINS, W.H.O., *Smith's Introduction to Industrial Mycology*, 7<sup>th</sup> ed. Edward Arnold (Publishers) Ltd., 41 Bedford Square London, pp.157-158, 1981.
54. MAROIS, J.J., and LOCKE, J.C., *Population Dynamics of Trichoderma viride in Steamed Plant Growth Medium*, *Phytopathology*, Vol.75, pp.115-118, 1985.
55. GONDONA, L., HERMOSA, R., TEJADA, M., GOMIS, M.D., MATEOS, P.D., BRIDGE, P.D., MONTE, E., GARCIA-ACHA, I., *Physiological and Biochemical Characterization of Trichoderma harzianum a Biological Control Agent against Soilborne Fungal Plant Pathogens*, *App. And Environmental Microbiology*, pp.3189-3198, 1997.
56. LEWIS, J.A., and PAPAVIDAS, G.C., *Effect of Mycelial Preparation of Trichoderma and Gliocladium on Populations of Rhizoctonia solani and the Incidence of Damping-Off*, *Phytopathology*, Vol.75, pp.812-817, 1985.
57. COOKSEY, D.A., and MOORE, L.W., *Biological Control of Crown Gall with Fungal and Bacterial Antagonists*, *Phytopathology*, Vol.70, pp.506-509, 1980.
58. CHAO, W.L., NELSON, E.B., HARMAN, G.E., AND HOCH, H.C., *Colonization of the Rhizosphere by Biological Control Agents Applied to Seeds*, *Phytopathology*, Vol.76, pp.60-65, 1986.

59. BENHAMOU, V., CHET, I., *Parasitism of Sclerotia of Sclerotium rolfsii by T.harzianum: Ultrastructural and Cytochemical Aspects of the Interaction*, Phytopathology, Vol.86, pp.405-416, 1996.
60. SIVAN, A., and CHET, I., *Degradation of Fungal Cell Walls by Lytic Enzymes of Trichoderma harzianum*, J. Gen. Microbiology, Vol.135, pp.675,682, 1989.
61. BENHAMOU, N., CHET, I., *Hyphal Interactions between T.harzianum and R.solani: Ultrastructure and Gold Cytochemistry of the Mycoparasitic Process*, Phytopathology, Vol.83, pp.1062-1071, 1993.
62. ELAD, Y., BARAK, R., CHET, I., HENIS, Y., *Ultrastructural Studies of the Interaction between Trichoderma spp. and Plant Pathogenic Fungi*, Phytopathology, Vol. 107, pp.167-168, 1983.
63. BARAK, R., ELAD, Y., MIRELMAN, D., CHET, I., *Lectins; A Possible Basis for Specific Recognition in the Interaction of Trichoderma and Sclerotium rolfsii*, Phytopathology, Vol.75, pp.458-462, 1985.
64. GHISALBERTI, E.L., SIVASITHAMPARAM, K., *Antifungal Antibiotics Produced by Trichoderma spp.*, Soil Biol. Biochem., Vol.23, pp.1011-1020, 1991.
65. ELAD, Y., CHET, I., HENIS, Y., *Degradation of Plant Pathogenic Fungi by Trichoderma harzianum*, Can. J. Microbiology, Vol.28, pp.719-725, 1982.
66. WELLS, H.D., BELL, D.K., *Variable Antagonistic Reaction In Vitro of Trichoderma harzianum against Several Plant Pathogens*, Phytopathology, Vol. 69, pp.1048-1049, 1979.
67. HENIS, Y., GHAFFAR, A., BAKER, R., *Integrated Control of Rhizoctonia solani Damping-Off of Radish: Effect of Successive Plantings, PCNB, and Trichoderma harzianum on Pathogen and Disease*, Phytopathology, Vol.68, pp.900-907, 1978.
68. CHANG, Y., BAKER, R., KLEIFELD, O., and CHET, I., *Increased Growth of Plants in the Presence of the Biological Control Agent Trichoderma harzianum*, Plant Disease, Vol70, pp.145-148, 1986.
69. SIVAN, A., UCKO, O., CHET, I., *Biological Control of Fusarium Crown Rot of Tomato by Trichoderma harzianum under Field Conditions*, Plant Disease, Vol.71, pp.587-592, 1987.

70. VAZQUEZ-GARCIDUENAS, S., LEAD-MORALES, C.A., and HERRERA-ESTRELLA, A., *Analysis of the  $\beta$ -1,3-Glucanolytic System of the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum**, Applied and Environmental Microbiology, Vol. pp.1442-1446, 1998.
71. HARAN, S., SCHICKLER, H., CHET, I., *Molecular Mecanisms of Lytic Enzymes Involved in the Biocontrol Activity of *Trichoderma harzianum**, Can. J. Microbiology, Vol.142, pp.2321-2331, 1996.
72. ROYSE , D.J., and RIES, S.M., *The Influence of Fungi Isolated from Peach Twigs on the Pathogenicity of *Cytospora Cincta**, Phytopathology, Vol.68, pp.603-607, 1978.
73. BRIDGE, P.D., *An Evaluation of Some Physiological and Biochemical Methods as an Aid to the Characterization of Species of *Penicillium Subsection Fasciculata**, Journal of General Microbiology, Vol. 131, pp.1887-1895, 1985.
74. LYNCH, M.J., SLATER, J.H., BENNETT, J.A., HARPER, S.H.T., *Cellulase Activities of Some Aerobic Microorganisms Isolated from Soil*, Journal of General Microbiology, Vol. 127, pp.231-236, 1981.
75. DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T., KAVUNCU, O., GÜRBÜZ, F., *Araştırma ve Deneme Metodları*, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, s.33, Ankara, 1987.
- 76 ANONMYMOUS, T.C. *Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Bitki Hastalıkları*, Cilt 2,140, Ankara, 1996.
77. HAKTANIR, K., *Toprak Biyolojisi Ders Notları*, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, Teksir No: 132, s.5, Ankara, 1986.