T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TRİCHODERMA SP.'NİN BAZI BİTKİ PATOJENİK FUNGUSLARINA KARŞI MİKOPARAZİTİZMİ

Nazlı KOŞAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2016

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TRİCHODERMA SP.'NİN BAZI BİTKİ PATOJENİK FUNGUSLARINA KARŞI MİKOPARAZİTİZMİ

Nazlı KOŞAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2016

Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜK danışmanlığında, Nazlı KOŞAR'ın hazırladığı **"*Trichoderma sp.* İzolatlarının Bazı Bitki Patojenik Funguslarına Karşı Mikoparazitizmi"** konulu bu çalışma 30/ 05/ 2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman: Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜK .....

Üye: Doç. Dr. A. Cenap CEVHERİ ……..

Üye: Doç. Dr. Ali Osman GÜROL ……..

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof. Dr. Recep GÜNDOĞAN
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: 15139

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET……..…… İ
ABSTARCT…… İİ
TEŞEKKÜR…….. İİİ
ŞEKİLLER DİZİNİ…… IV
ÇİZELGELER DİZİNİ…….. VI
1.GİRİŞ……... 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR…….. 5
3. MATERYAL VE YÖNTEM……. 14
3.1. Materyal……. 14
3.1.1. Kullanılan mikroorganizmalar…… 14
3.1.2. kullanılan besi yerleri ve kimyasal maddeler……... 14
3.1.2.1. Patates dekstroz agar (PDA) (MERCK)…… 14
3.1.2.3. Chapek dox agar…… 14
3.1.2.3. Malt ekstarakt agar (MEA) (MERCK)……..... 15
3.1.2.4. Karbon kaynaklarının asimilasyonu için katı ortam…… 15
3.1.2.5. Karbon kaynaklarının asimilasyonu için sıvı ortam…… 15
3.1.2.6. Azot kaynaklarının asimilasyonu için katı ortam……. 16
3.1.2.7. Azot kaynaklarının asimilasyonu için sıvı ortam…… 17
3.1.2.8. Farklı pH ortamları…… 17
3.1.2.9. Bazal ortam…… 18
3.1.2.10. A ortamı…… 19
3.1.2.11. B ortamı…… 19
3.2. Yöntem…… 20
3.2.1. Karbon kaynaklarının asimilasyonu testi…… 20
3.2.1.1. Katı karbon ortamları…… 20
3.2.1.2. Sıvı karbon ortamlarında gelişme……..... 20
3.2.2. Azot kaynaklarının asimilasyon testleri…… 20
3.2.2.1. Katı azot ortamları…….. 20
3.2.2.2. Sıvı azot ortamları……... 20
3.2.3. Farklı sıcaklık değerlerinde gelişme……. 21
3.2.4. Farklı pH değerlerinde gelişme…… 21
3.2.5. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme……21
3.2.6. İzolatların kuraklığa toleranslılıkları……21
3.2.7. Fungal inhibisyon testleri……21
3.2.8. Uçucu bileşenlerin üretimi……22
3.2.9. Uçucu olmayan metabolitlerin üretimi……23
3.2.10. İzolatların enzim aktivitelerinin belirlenmesi……...23
3.2.10.1. Üreolitik aktivite……23
3.2.10.2. Sellülaz aktivite……23
3.2.10.3. Alkalin fosfatazaktivite……23
3.2.10.4. Lipaz enzim aktivitesi (Tween 20 hidrolizi)……23
3.2.10.5. Nişasta hidrolizi……23
3.2.10.6. Jelatin hidrolizi……24
3.2.10.7. Tellur hidrolizi……24
3.2.10.8. Tetrazolium indirgenmesi……24
3.2.10.9. Kazein hidrolizi……..24
3.2.11. İzolatların fasülye çimlenmesine etkisi……..24
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA…… 26
4.1.Araştırma bulguları…… 26
4.1.1. *Trichoderma* izolatlarının bazı fizyolojik özellikleri…… 26
4.1.1.2. Karbon kaynaklarının asimilasyonu…….. 26
4.1.1.3. Azot kaynaklarının asimilasyonu……... 32
4.1.1.4. Farklı pH ve farklı sıcaklık değerlerinde gelişme…… 38
4.1.1.5. İzolatların farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarında gelişmesi…….. 39
4.1.1.6. İzolatların kuraklığa karşı toleranslılıkları…… 40
4.1.1.7. *Trichoderma sp.* izolatlarının enzim aktivitesi…… 42

4.1.2. *Trichoderma sp.* izolatlarının antifungal özelliklerinin belirlenmesi…….. 48
4.1.2.1. Uçucu olmayan metabolitlerin üretimi…… 48
4.1.2.2. Uçucu metabolitlerin üretimi…… 53
4.1.3. Fungal inhibisyon testleri…… 57
4.1.4.*Trichoderma sp.* izolatının çimlenmeye etkisi…… 61
4.2. Tartışma…… 64
5. SONUÇ ve ÖNERİLER…… 70
KAYNAKLAR…… 71
ÖZGEÇMİŞ…… 79

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRİCHODERMA SP.'NİN BAZI BİTKİ PATOJENİK FUNGUSLARINA KARŞI MİKOPARAZİTİZMİ

Nazlı KOŞAR

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜK
Yıl: 2016, Sayfa: 79

Bitki patojenik funguslar tarımsal ürünlerde ciddi kayıplara neden olmaktadır. *Trichoderma* türleri bitki patojenik funguslara karşı yaygın olarak biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılmaktadır. *Trichoderma sp.'*nin izolatları farklı biyokontrol potansiyele sahiptir. *Trichoderma sp.'*nin 18 izolatı, *Fusarium solani, F.moniliforme, F.chlamydosporum, F. verticillioides, F.culmorum, Macrophomina phaseolina, Bipolaris sorokiniana, Rhizoctonia solani, Phoma sp., A.rabiei'*e karşı uçucu ve uçucu olmayan metabolitler üreterek gelişimlerini engellemişlerdir. Çift kültür deneylerinde *Trichoderma sp.* izolatları ve toprak kökenli bitki patojeni funguslar arasındaki rekabetlilik belirlenmiştir. İzolatlarrın gelişimine farklı karbon ve azot kaynaklarının sıcaklık, tuz, ve kuraklığa etkisi in vitro koşullarında belirlenmiştir. İzolatların tümü gelişme ortamında substrata bağlı olarak, üreaz, alkalin fosfataz, lipaz, amilaz, sellülaz, jelatin hidrolizi, kazein hidrolizi, tetrazolium indirgenmesi, tellur hidrolizi ve jalatinolitik enzim üretmişlerdir. İzolatların fasülye tohumu üzerine çimlenmeye etkileri incelenmiştir. En yüksek çimlenme oranı; T9, T5, T6, T8 izolatlarından alınmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: *Trichoderma sp.*, İzolat, antagonistik aktivite, enzim aktiviteleri

ABSTRACT

MSc Thesis

MYCOPARASITISM OF *TRICHODERMA SP.* AGAINST SOME PLANT PATHOGENIC FUNGI

Nazlı KOŞAR

Harran Universty
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Deparment of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK
Year: 2016, Page: 79

Plant pathogenic fungi cause serious losses in agricultural products. *Trichoderma* species are commonly used as biological control are commonly used as biological control agants againts plant pathogenic fungi. The isolates of *Trichoderma sp.*have diffanetnt biologikal control potential. 18 isolates of *Trichoderma sp.* against *Fusarium solani, F.moniliforme, F.chlamydosporum, F. verticillioides, F.culmorum, Macrophomina phaseolina, Bipolaris sorokiniana, Rhizoctonia solani, Phoma sp., A.rabiei* we used dual culture and productions of volatile and non volatile metabolites in laboratory conditions. Dual culture assay indicated the competitive interction between *Trichoderma sp.* isolates adn plant pathogenic fungi. The effect of different carbon and nitrojen source, temperature, drougth and NaCl on the isolates grown were investigated in in vitro conditions. All of the isolates were capable of producing urease, alkaline phophatase, lipase, amilase, cellulase, jelatin hydrolysis, casin hydrolysis, tetrazolium reduction, tellur hydrolysis in growth medium supplemented with the corresponding substrates. Effects on the germination of bean of isolates were examined. The highest germination vate was treated with, T9, T5, T6, T8 isolates.

KEY WORDS: *Trichoderma sp.*, isolate, antagonistic activity, enzyme activity

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansımın ilk başından sonuna kadar her aşamada desteğini gördüğüm, her konuda daima bilgisiyle ışık tutup hep güler yüzle, anlayışla bana yardımcı olan sayın hocam Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜK'e, her zaman desteğini hissettiğim ve bana her konuda yardımcı olan sayın hocam Doç. Dr. Cenap CEVHERİ'ye teşekkürlerimi sunarım. Gerek lisans eğitimim gerekse yüksek lisansım boyunca bana her zaman destek olan, her ne olursa olsun maddi ve manevi daima arkamda duran ve bana her zaman cesaret veren annem Hava KOŞAR'a, babam Sinan KOŞAR'a ve yüksek lisansa başlamam konusunda bana destek ve cesaret veren aile dostumuz Halil YAZMACI'ya teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 4.1. İzolatlardan T3 ve T2'nin amonyum okzalat içeren ortamdaki gelişmeleri……. 26
Şekil 4.2. T8, T15 ve T10 nolu izolatların glukoz içeren ortamdaki gelişmeleri…… 27
Şekil 4.4. İzolatlardan T9, T16, T7 T11'in Sitrik asitte gelişmeleri…… 28
Şekil 4.5. T15 ve T17'nin kristal viyole içeren ortamda gelişmeleri…… 29
Şekil 4.6. T4, T18, T10 ve T8'in % 0.001'lik CuSO4 içeren ortamlardaki gelişmeleri…… 30
Şekil 4.7. izolatların glisin içeren ortamda gelişmeleri…….. 33
Şekil 4.8. İzolatların glisin içeren ortamda gelişmeleri……. 34
Şekil 4.9. İzolatların üre bulunan ortamda gelişmeleri…….. 35
Şekil 4.10. İzolatlardan T18 ve T7'nin NaNO3 içeren ortamda gelişmeleri……. 35
Şekil 4.11. İzolatların amonyum okzalat içeren ortamda gelişmeleri…… 36
Şekil 4.12. İzolatların farklı pH ortamlarında gelişimleri…….. 38
Şekil 4.13. İzolattların % 10'luk Polietilen glikol (PEG-6000) içeren PDA'da gelişimleri….. 41
Şekil 4.14. İzolatların % 10'luk polietilen glikol içeren ortamda gelişimleri…… 41
Şekil 4.15. İzolatların % 20'lik polietilen glikol içeren ortamda gelişimleri…… 42
Şekil 4.16. İzolatların % 30'luk polietilen glikol içeren ortamda gelişimleri……. 42
Şekil 4.17. İzolatların lipaz (tween 20 hidrolizi) içeren ortamda gelişimleri…….. 43
Şekil 4.18. İzolatların amilaz içeren ortamda gelişimleri……. 43
Şekil 4.19. T14 ve T16'nın sellüloz içeren ortamda gelişimleri…….. 44
Şekil4.20. İzolatların alkalin fosfataz enzim aktiviteleri (µg p-NP/g)……. 44
Şekil 4.21. İzolatların üre bulunan ortamda gelişimleri…….. 45
Şekil 4.22. T17, T3 ve T7 izolatlarının kazein içeren ortamdaki gelişimleri…… 45
Şekil 4.23. İzolatlardan T18, T7, T10'un tellur içeren ortamda gelişimleri…… 46
Şekil 4.24. T5ve T14'ün tetrazolium indirgenmesindeki gelişimleri……. 46
Şekil 4.25. İzolatların *F.solani* ve *F.moniliforme'*ye karşı izolatların filtartlarının etkisi…… 48
Şekil 4.26. *Rhizoctonia* ve *Phome sp.*'nin gelişmesi üzerine izolatların filtratlarının etkisi… 49
Şekil 4.27. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.chlamydosporum*'un gelişimine uçucu Olmayan metabolitlerin etkileri……. 50
Şekil 4.28.*Trichoderma sp.* izolatlarının *F.verticillioides*'in gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri……. 50
Şekil 4.29. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.solani*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri……. 51
Şekil 4.30. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.culmorum*'un gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri……. 51
Şekil 4.31. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.moniliforme*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri…… 51
Şekil 4.32. *Trichoderma sp.* izolatlarının *Phoma sp.*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri……. 52
Şekil 4.33. *Trichoderma sp.* izolatlarının *M.phaseolina*'nın gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri……... 52
Şekil 4.34. *Trichoderma sp.* izolatlarının *A.rabiei*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri……. 52
Şekil 4.35. *Trichoderma sp.* izolatlarının *B.sorokiniana*'nın gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri……. 53
Şekil 4.36. *Trichoderma sp.* izolatlarının *Rhizoctonia solani*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri…… 53
Şekil 4.37. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.solani'*nin gelişimine etkisi….. 54
Şekil 4.38. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.culmorum'*un gelişimine etkisi 54
Şekil 4.39. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.moniliforme'*nin gelişimine etkisi 54
Şekil 4.40. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.verticillioides'*in gelişimine etkisi 55

Şekil 4.41. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.chlamydosporum'*un gelişimine etkisi…… 55
Şekil 4.42. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *Rhizoctonia solani'*nin gelişimine etkisi……..... 55
Şekil 4.43. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *M.phaseolina'*nın gelişimine etkisi 56
Şekil 4.44. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *A.rabiei*'nin gelişimine etkisi……. 56
Şekil 4.45. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *Phome sp.*'nin gelişimine etkisi…. 56
Şekil 4.46. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *B.sorokiniana'*nın gelişimine etkisi 57
Şekil 4.47. T14 ve T9 izolatlarının *F.culmorum'*un gelişimine etkileri……. 60
Şekil 4.48. T1, T4, T7, T15 izolatlarının *M.phseolina'*nın gelişimine etkileri……. 60
Şekil 4.49. T14 ve T10 izolatlarının *F.verticillioides'*in gelişimine etkileri…… 60
Şekil 4.50. T13 ve T8 izolatlarının *F.moniliforme'*nin gelişimine etkileri…….. 61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4.1. *Trichoderma sp.* izolatların farklı karbon kaynaklarını assimilasyonu…… 31
Çizlege 4.2. İzolatların Malt Ekstakt Agar'da CuSO4 ve kristal viyolede gelişimi…….. 32
Çizelge 4.3. Azot kaynaklarının asimilasyonu……. 37
Çizelge 4.4. İzolatların farklı pH ve farklı sıcaklık değerlerinde gelişimleri…… 39
Çizelge 4.5. İzolatların farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişimleri (mm)…… 40
Çizelge 4.6. *Trichoderma sp.* izolatlarının enzim aktiviteleri…… 47
Çizelge 4.7. *Trichoderma sp.*'nin fungal bitki patojenlerine inhibisyonu (%)…….. 59
Çizelge 4.8. Fasülyenin çimlenmesinde *Trichoderma sp.* izolatlarının kültür filtratlarının etkisi 62

1.GİRİŞ

Kimyasal ilaçlar, toprak kökenli bitki hastalıklarının kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat bu kimyasallar toprak ve kök ekosisteminde yaşayan mikroorganizmaların yararlı fonksiyonlarını etkilemekte, çevre kirliliğine de neden olmaktadır (Altınok ve Erdoğan, 2015). Kimyasal metodlar, uzun vadede ekonomik değildir; çünkü atmosfer kirliliğine, çevresel zararlara neden olurlar, zararlı kalıntılar bırakırlar ve sürekli kullanımları ile hedef organizmalar arasında dirençli izolatların gelişmesine neden olurlar (Noseby ve ark., 2000). Tarımsal üretimde, pestisid uygulamalarının azaltılması veya kullanılmaması istenmektedir. Bu amaçla, biyokontrol etmenlerin kullanımı gündeme gelmiştir (Chet ve Inbar, 1994; Harman ve Kubicek, 1998).

Toprakta bulunan mikroorganizmalarla birlikte; toprakta organik maddelerin ayrışması, toksinlerin etkisiz hale gelmesi, karbon, azot, fosfor ve kükürt döngüleri gibi ekosistem zincirinde yer alarak toprağın işlevselliğinin korunmasında toprak fungusları önemli bir yere sahiptir. Ayrıca toprak kökenli bitki hastalıklarının engellenerek bitki gelişimine katkı sağlamada rol oynarlar (Garbeva ve ark., 2004). Mikroorganizmaların çeşitliliği ve aktivitelerinin yüksek olması bulundukları toprakların sürdürülebilir ve verimli olmasını sağlamaktadır (Haktanır ve Arcak 1997).

Biyolojik kontrol ajanları; bitki hastalıklarının tedavisinde uygulanması ve patojenlerin etkilerini azaltarak çevre üzerinde kimyasal ilaçların etkisini en aza indirmek için umut verici alternatifler olarak kullanılmaktadır (De Meyer ve ark. 1998; Yedidia ve ark. 1999; Vinale ve ark. 2008).

Tek başına hastalık kontrolü için veya patojen kontrolünde kimyasalların dozlarının azaltılması ile birlikte kullanımı sonucu, çevrede kimyasal ilaçların etkisini en aza indirgemek için kullanımları da esas alınmıştır (Harman ve Kubicek, 1998).

Günümüzde biyolojik kontrol etmeni olarak; *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Agrobacterium, Bacillus*, gibi bakteriler ve *Gliocladium*, *Trichoderma*, *Ampelamyces, Candida* ve *Coniothyrium* gibi fungus türlerine ait izolatlar ticari olarak kullanılmaktadır (Srivasta ve ark., 2012; Chowdappa ve ark., 2013).

Trichoderma türleri biyolojik kontrol ajanları arasında en çok çalışılmış funguslardandır. Bitki patojenlerine karşı ticari funguslar olarak kulanılmaktadırlar (Verma ve ark., 2007; Dubey ve ark., 2001).

Biyolojik kontrol sentetik fungusitlere alternatif olarak kullanılmaktadır. *Trichoderma* türleri toprakta yaygın olarak bulunan saprofitik funguslardır (Papavizas, 1985). *Trichoderma* türleri kullanılarak üretilen biyolojik ürünler ticarileştirilmiş ve biyofungusid olarak dünyada kimyasal pestisidlere alternatif yaygın olarak kullanılmaktadır (Coşkuntuna ve Özer, 2008). Biyopestisidler çevreyi kirletmeyen, ekonomik, toprak sağlığı için uygun ve birçok tarımsal üründe toprak gübresi ve bitki gelişimini arttırıcı gübre olarak da kullanılmaktadır (Harman ve ark. 2004). *Trichoderma* türleri *Sclerotiniana sclerotiorum* (Lynch, 1987), *Sclerotium rolfsii* (Poosapati ve ark., 2014), *Rhizoctonia solani* (Trillas ve ark., 2006; Nakkeeran ve ark., 2005), *Macrophomina phaseolina* (Gajera ve ark., 2012) *Verticillium dahliae* (Regragui ve Lahlou, 2005), *Botrytis cinerea* (Elad ve Kapat, 1999), gibi birçok bitki patojenine karşı antogonistik özellik göstermektedir. Antogonistik aktivitede farklı mekanizmalar patojenler üzerinde etkili olmaktadır. Bu mekanimalar;

- *Trichoderma* izolatları tarafından antifungal metabolitlerin üretimi (Dennis ve Webster, 1971; Dennis ve Webster, 1971; Ghisalberti ve rowland, 1993).
- Yer ve besin için rekabetlilik (Naar ve Kecskes, 1998),
- Mikoparazitizm (Elad ve ark., 1982) olarak açıklanmıştır.

Saprofitik karakterli funguslar olan *Trichoderma, Penicillium, Gliocladium, Sporidesmium* ve *Fusarium, Pythium* gibi patojen olmayan cinsler toprak patojenlerinin antagonistleri olarak tanımlanmaktadırlar.

Bu fungusların ürettikleri antibiyotiklerin patojenlere temas edip hücre duvarlarını, enzimleriyle hidrolize ederek gelişmelerini engellerler (Küçük, 2000).

Trichoderma, birçok patojenik funguslara karşı mikroparazitik yeteneği olan ve patojenlerin hücre duvarlarını parçalama yeteneğine sahip olan toprak kökenli bir fungustur (Chet ve Henis 1985; Chet 1987). Mikroparazitik *Trichoderma sp.* izolatları proteaz, kitinaz, glukonaz gibi hücre duvarını hidrolize eden enzimler salgılayarak konukçunun hücre duvarına penetre olur. Besin kaynağı olarak konukçu hifinin içeriğini kullanır (Inbar ve Chet, 1992; Papavizas, 1985). Toprağın nem içeriği ve etkinliğinin; *Trichoderma'*nın hayatta kalabilmesi için önemli bir role sahip olduğu belirtilmiştir (Kredics ve ark., 2003).

Fumigant ve tehlikeli fungusitler nedeniyle *Trichoderma* suşları çeşitli yöntemlerle alternatif olarak düşünülmüş ve hastalıkları baskılamak amacıyla biyolojik kontrol etmeni olarak ileri sürülmüştür (Coşkuntuna ve Özer 2008). *Trichoderma* türlerinin patojen/bitki ile etkileşim içinde olması nedeniyle *Trichoderma'*nın farklı suşları kullanılarak uygun biyolojik kontrol mekanizmaları uygulanmıştır (Emmert ve Handelsman 1999; Benitez ve ark., 2004).

Biyolojik kontrol ajanları olarak *Trichoderma'*lar günümüz çalışmalarında çok fazla kullanılmakta ve araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmalar neticesinde *Trichoderma spp.* ticari preparatlar olarak tarım alanlarında kullanılmak üzere hizmete sunulmuştur. *Trichoderma'*ların tarım açısından önemli funguslar arasında sayılmasının nedenlerinden biri; *Fusarium, Pythium, Rhizoctonia* ve *Sclerotinia* türleri gibi patojen funguslara karşı antagonist özellik göstermesinden kaynaklanmaktadır. *Trichoderma sp.'*nin antifungal özelliğinin; yer, besin, mikroparazitlik gibi mekanizmalarından kaynaklandığı açıklanmıştır (Kredics ve ark., 2003).

Çalışmamızda topraktan izole edilmiş *Trichoderma sp.* izolatlarının bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri incelenmiş ve toprak kökenli bitki patojeni fungusların *Fusarium verticillioides, F.solani, F.culmorum, F.moniliforme, F.chlamydosporum, Rhizoctonia solani, Phoma sp., M.phaseolina*

*A.rabiei, B.sorokiniana'*a karşı antagonistik aktiviteleri laboratuvar koşullarında araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ghanbarzadeh ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada *Trichoderma harzianum, T.harzianum'*un T100 izolatı, *T.viride* ve *T.hamatum'*un*; Fusairum oxysporum* ve *F. proliferatum'*a karşı antagonistik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Araştırıcılar *Trichoderma* izolatlarının test edilen bitki patojeni funguslara karşı uçucu ve uçucu olmayan metabolitler üreterek gelişmelerini in vitro koşullarda sınırlandırdıklarını tespit etmişlerdir.

*T.hamatum'*un antifungal bileşikler ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca antifungal bileşiklerden isonitrilin, diğer *Trichoderma sp.*izolatları tarafından da üretildiği tespit edilmiştir. İsonitril'in flamentli funguslara, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Dickinson ve ark., 1989).

Howell ve ark. (1993), sekonder metabolit üretimine göre *Trichoderma virens* izolatlarını 2 gruba ayırmıştır; Q grubu izolatlarının gliotoksin antibiyotiği ürettiği, P grubu izolatların ise gliotoksin yerine gliovirin ürettiğini açıklamışlardır. Araştırıcılar, gliovirin türü metabolitin pamukta *Pythium*'un neden olduğu çürüklüğün kontrolünde kullanılabildiğini belirtmişlerdir.

Arjona – Girona ve ark. (2014), avakado köklerinden izole ettikleri 7 farklı *Trichoderma* izolatının beyaz kök çürüklüğü etmeni olan *Rosellinia necatrix'*e antagonistik aktivite gösterdiklerini saptamışlardır. Aynı araştırıcılar yaptıkları çalışmalarında; *Trichoderma* izolatlarının sıvı kültürde sekonder metabolit üretebildiklerini tespit etmişlerdir. Bu sekonder metabolitlerin; 6PP (6-pently-pyrone), *Harzianolide (*4-hexa-2,4-dienyl-3-(2-hydroxy-propyl)-5H-furan-2-one), T39 *butenolide* (4-hexa-2,4-dienyl-3-(2-oxo-propyl)-5H-furan-2-one), Dehydroharzianolide (4-hexa-2,4-dienyl-3-propenyl-5H-furan-2-one) ve *Cerinolactone* [(3-hydroxy-5-(6-isopropyl-3-methylene-3,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydronaphthalen-2-yl)dihydrafuran-2-one)] olarak beş yeni metabolit olduğunu bildirmişlerdir. *Cerinolactone* ve T39 *butenolide*'nin *R.necatrix'*de oldukça etkili olduğunu, patojen üzerine *Harzianolide* ve *Dehydroharzianolide'*nin çok düşük etkide bulunduğunu belirlemişlerdir.

Vinale ve ark. (2006), *Trichoderma harzianum* T22 ve T39 izolatlarının sekonder metabolitlerinin *Rhizoctonia solani, Pythium ultimum* ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* üzerindeki antagonistik etkilerinin belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında; T22'nin üç önemli bileşik ve bir tane yeni azaphilone ürettiğini, üretilen metabolitlerin ise çalışmada kullanılan fitopatojenlerin gelişmesini inhibe ettiğini açıklamışlardır.

Yapılan bir çalışmada, *T.harzianum* izolatlarının bitki patojenlerinin gelişimlerini engelleyen uçucu metabolitlerin olduğunu gözlemlemişlerdir. *T.harzianum* izolatlarından en etkili olanların T10 ve T19 izolatları olduğunu ve T10 izolatının; *D.sorokiniana, F.culmorum* ve *R.cerealis*'e karşı, T15 izolatının; *F.culmorum, F.moniliforme* ve *G.graminis var.trici'*ye karşı, T19 izolatının ise *F.oxyporum, R.solani* ve *S.rolfsii'*nin uçucu metabolitlerinin etkisiyle gelişimlerini engellediğini tespit etmişlerdir (Kuçuk ve Kıvanç, 2003).

Santamarina ve ark. (2002), *Trichoderma, Aspergillus, Fusarium, Alternaria* ve *Penicillium* cinslerine ait 70 izolatın antibiyotik aktivitelerini araştırmışlardır. Bunların içinden fungisidal, bakterisidal ve insektisidal etkisi olanları tespit etmişlerdir. Sonuçta aktivitesi en iyi olanların üç *Penicillium oxalicum,* bir *Penicillium decumbens* ve bir *Trichoderma harzianum* izolatlarının antibiyotik üretebildiklerini belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalarla *T.harzianum'*un patojenik fungi gelişimini yüksek oranda engellediği saptanmıştır. Araştırıcılar, *T.harzianum* ve *P.oxalicum*'un hızlı metabolit ürettiği, *P.decumbens'*in ise en az aktiviteye sahip olduğunu belirlenmişlerdir (Santamarina ve ark., (2002)).

Yapılan çalışmada; *Gliocladium* ve *Trichoderma spp.'*nin birkaç izolatlarının gliotoksin üretiminin pH 2 ile pH 6 aralığında elde edildiği; ancak pH 7'nin üzerinde gliotoksin üretiminde azalma olduğu tespit edilmiştir (Weidling; 1941).

Trichoderma tarafından üretilen metabolit salgı biyokontrol için birincil mekanizma yanında patojen fungus üzerinde rekabetçi olabilmektedir (Mukherjee ve Raghu, 1997).

Lifshitz ve ark. (1986), bezelye bitkisi ile yaptıkları çalışmalarda *Phythium* türlerinin kontrolünde *T.harzianum* (T-22) ve *T.koningii* (T-28)'nin etkilerinin, toksik madde üretiminden kaynaklandığını, rekebetten olmadığını tespit etmişlerdir.

Ghisalberti ve ark.(1990), *Trichoderma spp.* tarafından sekonder metabolitlerin üretiminin izolatlara bağlı olduğunu, kimyasal bileşenleri farklı antifungal bileşenler içerdiklerini açıklamışlardır. Bu farklılığa göre bileşikleri 3 farklı gruba ayırmışlardır. Bunlar;

1. Uçucu bileşikler (6-pentil-α-piron(6PP) ve isosiyanid türevlerinin çoğu)
2. Suda çözünür bileşenler; heptelidil asit veya koninjik asid
3. Peptaiboller

Howell ve ark. (1993), *T.viriens* izolatları tarafından üretilen viridiol'ün tohum için biyo-herbisit olarak toprak yüzeyine uygulanabileceğini, tarım ürünlerinde olumsuz etkilerinin olmadığını açıklamışlardır. Ayrıca, *T.viriens*'in bazı izolatlarının bitki savunmasını indükledikleri, pamukta *R.solani* kontrolünde önemli olduğunu saptamışlardır (Howell ve ark., 2000).

İklim koşullarına bağlı olarak meydana gelen abiyotik stres, sonucu oluşan fungal enfeksiyonlar ile tarım ürünlerinde mikotoksin oluşumunun görüldüğü açıklanmıştır (Porsons and Munkuold, 2012). Mısıra bulaşan mikotoksinler, insan ve hayvan sağlığı açısından dünya çapında önemli bir sorundur. İtalya'da mısırda meydana gelen fumonisin en sık karşılaşılan mikotoksin olduğu rapor edilmiştir (Logrieco ve ark., 2002).

Logrieco ve ark. (2002), mısırda fumonisin oluşması ile ilişkili yaptıkları bir çalışmada; mısırdan en sık izole edilen fungusun *Fusarim verticillioides* ve daha az miktarda bulunan *Fusarium proliferatum* olduğunu açıklamışlardır.

Ferrigo ve ark. (2014), mısırda mikotoksin oluşturan *Fusarium verticillioides*'e karşı *T.harzianum* T22 izolatının etkisini araştırmışlardır. Araştırıcılar; yaptıkları 3 yıllık tarla denemesi ile *T.harzianum* T22'nin tohumla muamele edilmesinin, mısır tanelerinde fumonisin depolanmasının ve *F.verticillioides'*in kontrolünün %58 oranında azaldığını tespit etmişlerdir.

Ferre ve Santamarina (2010); farkı çevre koşullarında *Trichoderma harzianum'*un *Fusarium culmorum*'un gelişmesi üzerine etkisini incelemişlerdir. *T.harzianum* tarafından patojeni, inhibisyon oranının, ortam sıcaklığı ve su miktarına göre farklılık gösterdiğini saptamışlardır.

Sempere ve Santamarina (2006), (2007), (2008), (2009), yaptıkları çalışmalarda *Trichoderma harzianum* ile *Alternaria alternata, Fusarium verticillioides, Nigrospora oryzae* arasındaki interaksiyonu incelemişlerdir. Araştırıcılar; *T. harzianum'*un antibiosis, yer ve besin için rekabet, mikoparazitizm gibi mekanizmalarla patojenik funguslara karşı antagonistik özellik gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Rini ve Sulochona (2007), *T. pseudokoningii* TR17 ve *T.harzianum* TR20'nin *R.solani* gelişimini inhibe ettiğini saptamışlardır. *T.harzianum'*un, karbon kaynağı olarak *Sclerotinia sclerotiorum* içeren ortamda geliştirildiğinde kitinaz ve 1,3-β-glukonaz aktiviteleri belirlenmiştir (Menendez ve Godeas, 1998).

Calistru ve ark. (1997), *Trichoderma viride* ve *T. harzianum'*un kültür filtratlarının *Fusarium moniliforme* ve *Aspergillus flavus'*un gelişimlerini ortamdaki karbon ve azot kaynaklarına bağlı olarak farklı oranlarda inhibe ettiklerini rapor etmişlerdir. Araştırıcılar, *Trichoderma* izolatlarının amilolitik, pektinolitik ve sellulolitik aktivite gösterdiklerini ve ürettikleri enzimlerle mikotoksin üreten bazı fungusların biyokontrolünü sağlayan potansiyel aday olabileceklerini savunmuşlardır.

Gal – Hemed ve ark. (2011), ise 2 halotolerant *Trichoderma* izolatları izole etmişlerdir. Yüksek sıcaklığa toleranslı bu izolatların; fasülyede *Rhizoctonia solani'*nin neden olduğu çökerten hastalığını azalttığını ve hıyar fidelerinin

*Pseudomonas syringae, bv. lachrimans'*a karşı dirençlilik kazandırdığını belirlemişlerdir.

Trichoderma izolatlarının çoğunun mezofilik ve in vitro'da gelişimleri için optimum sıcaklıktan daha düşük sıcaklık değerlerinde de rekabetçi olabildikleri Eastburn ve Butler (1991) tarafından açıklanmıştır.

Yapılan çeşitli araştırmalarda; soğuğa dayanıklı izolatların farklı sıcaklıklarda antagonistik özellikleri araştırılmış ve test fungusları ile hifsel etkileşimlerinde sıcaklığın önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Antal ve ark., 2000; Goldfarb ve ark., 1989).

Longa ve ark. (2008), *Trichoderma* izolatlarının farklı çevrelerde (toprak ve filosferde) adaptasyon gösterdiklerini, 10˚C ve 30˚C arasında gelişme gösterdiklerini, optimum gelişmelerinin 25˚C olduğunu bildirmişlerdir. *Trichoderma* izolatlarının geniş pH düzeylerinde de gelişme gösterdiklerini, fakat alkali ortamda özellikle pH ≥ 8 olan ortamlarda gelişmelerinde azalma olduğunu buna karşın çok farklı karbon ve azot kaynaklarını kullanabildiklerini açıklamışlardır (Longa ve ark.,2008).

Tropikal topraklardan izole edilebilen *Trichoderma sp.* türleri soğuk topraklarda da bulunabilmektedirler (Klein ve Eveleigh, 1998), *Trichoderma* izolatının 0˚C ile 40˚C gibi bir sıcaklık aralığında yaşamlarını sürdürebildikleri ancak optimum sıcaklık isteklerinin 22˚C - 26˚C arasında olduğu belirtilmiştir (Domsch ve ark., 1980).

Yapılan araştırmalar sonucunda 360 *Trichoderma* izolatından 40 izolatın 5˚C'de geliştiği, ve bu izolatların *T.viride* grubundan olduğu tespit edilmiştir (Antal ve ark., (2000)).

Kolli ve ark. (2012), orman ve tarım topraklarından izole ettikleri 26 *Trichoderma* izolatının in vitro koşullarda farklı pH düzeylerine toleranslılıklarını incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre araştırıcılar; aynı türün farklı izolatlarının farklı pH düzeylerinde farklı oranlarda biomas ürettiklerini saptamışlardır. Tarım topraklarından izole ettikleri izolatların, orman

topraklarından izole edilen izolatlara oranla pH düzeylerine daha toleranslı olduklarını belirlemişlerdir.

Srivasta ve ark. (2012), *Trichodermanın* iki izolatının nohutta *Rhizoctonia solani'*nin neden olduğu hastalığı %41.4 ve %52.8 oranlarında azalttığını belirlemişlerdir.

Trichoderma izolatı ile hazırlanan preparatlarının buğday kepeği ile karışımlarının; fasulye, domates, patlıcan, kavun ve turp tohumlarındaki *Fusarium, R. solani'*yi kontrol etmede etkili olduğu bildirilmiştir (Sivan ve Chet, 1986; Whips, 1987).

Pamuk tohumları ile yapılan deneylerde de *P. ultimum'*un neden olduğu fide hastalıklarının kontrolünün *Trichoderma spp.*ile sağlandığı bildirilmiştir (Sivan ve Chet, 1986).

Çürümüş organik materyal ve topraktan kolaylıkla izole edilebilen *Trichoderma* türlerinin mikoparazitik aktivitesi ve antibiyotik üretimi ilk kez Weedling tarafından 1932 ve 1934 yıllarında belirlenmiştir (Papavizas, 1985).

*Trichoderma'*nın biyolojik kontrolde kullanılmasında hem geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilmesi, hem de lignosellülozik materyalleri kullanarak gelişebilmesi kadar antibiyosiz ve hiperparazitizm özelliklerinin de etkili olduğu saptanmıştır (Kredics ve ark., 2003).

Biyokontrol ajanları tarafından üretilen glukonaz ve kitinaz enzimlerinin bitki patojenlerini strese maruz bıraktığı tespit edilmiştir. Glukonaz ve kitinaz enzimleri, patojenlerin hücre duvarlarını parçalamıştır (Howell, 2003).

Tohuma veya toprağa inokule edildiğinde *Trichoderma sp.*'nin çok hızlı bir şekilde geliştiği görülmüştür (Harman, 2000).

Trichoderma sp. izolatları biyoteknoloji için önemli sayılmaktadır. İzolatların ürettikleri sellulazın endüstride kullanılabileceği bildirilmiştir (Rezkey ve ark., 1996).

Benitez ve ark. (2000), tarafından yapılan bir araştırmada glukonaz ve kitinaz genlerini *T.hazianum'*a kodlandığında ve saf ırkla karşılaştırıldığında; *T.hazianum'*un hidrolitik etkisinin daha fazla olduğu ve *R.solani'*ye karşı in vitroda daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Fungal antagonistlerin tek başına ve fungusit içeren ortamlarda bitki patojenlerine karşı etkinliklerini Tezcan ve Delen (1986), yaptıkları bir çalışmalarında değerlendirmişlerdir. Araştırıcılar; test ettikleri antagonistler arasından *Penicillium patulum, Trichoderma viride, Myrohecium raridum* ve *Aspergillus flavus'*un tek başlarına kullanıldıklarında, patojenlere karşı fungusitlerle karşılaştırıldıklarında daha etkili olduklarını saptamışlardır. Fungusitlerin ise bazı antagonistlerin gelişimlerini arttırdıklarını belirlemişlerdir. Tarla denemesinde, *A.flavus+thiram* kombinasyonunun *Phytophthora cupsici'*ye karşı etkili olduğunu tespit etmişlerdir (Tezcan ve Delen; 1986).

Sivan ve Chet (1986), buğdayda kök boğazı hastalığına neden olan *F.culmorum*'a karşı *T.harzianum* ile muamele ederek tarla koşullarında *T.harzianum'*un etkinliğini araştırmışlardır. Araştırıcılar; *T.harzianum'*un, *F.culmorum*'un bulaşık olduğu topraklarda hastalığın % 83 oranında azaldığını gözlemlemişlerdir.

Küçük ve Kıvanç (2001), *T.harzianum* izolatlarının *F.oxysporum, F.culmorum, F.moniliforme, R.solani, R.cerealis, S.rolfsii, D.sorokiniana, G.graminis var.tiritici, Ophiobolus graminis'*e karşı etkili olduğunu ve gelişimlerini engellediğini tespit etmişlerdir.

Naar ve Keeskes (1998), *Trichoderma* izolatının antagonistik etkisinin *Sclerotinia minor'*un neden olduğu hastalıklara karşı mancozeb, benomly ve vinclozolinin etkilerini araştırmışlardır. Mancozeb ile vinclozolinin, *Trichoderma*

ile kombine edilmesi ile *Sclerotiniana'*nın neden olduğu hastalığın önemli ölçüde azaldığını saptamışlardır.

Elad (1986), *Trichoderma* türlerinin geniş ölçüde besin ve yer sıkıntısından kaynaklanan rekabet nedeniyle bir biyokontrol ajanı olarak kullanıldığını açıklamıştır.

Mısırda kontrollü olarak bulaşan *Fusarium verticillioide* enfeksiyonuna karşı *Trichoderma'*nın etkili olduğu belirlenmiştir (Ferrigo ve ark., 2014).

Trichoderma sp. populasyonları ve diğer mikroorganizmaların yayılımında toprağın neminin oldukça önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir (Lavelle ve Spain, 2001).

Yapılan bir çalışmada *Trichoderma* cinsi fungusların gelişmesi ve spor oluşturmalarının (Danielson ve Davey, 1973), asidik ortamlarda daha iyi olduğu ve gelişimin optimum 3.5 – 5.6 pH aralığında olduğu tespit edilmiştir (Domsch ve ark., 1980).

Lorita ve ark. (1998), *T.harzianum'*dan kodlanmış olan endokitinaz geninin tütün ve patatese aktarılması ile bitki patojeni funguslara karşı önemli ölçüde dayanıklılık gösterdiklerini saptanmışlardır.

Fasülye yapraklarında *B.cinera'*nın ürettiği hirolitik enzimlerin *T.harzianum* (T-39)'un ürettiği proteaz enzimi tarafından engellendiği, böylece patojenin bitki hücrelerine zarar vermesinin engellediği belirlenmiştir. Bu nedenle patojen bulaşmış fasülye yaprağına proteaz solüsyonu verilmiş ve *Botiytis cinereo* tarafından oluşturulan hastalığın kontrole göre % 56 – 100 arasında azaldığı tespit edilmiştir (Elad ve Kapat, 1999).

Antagonistler tarafından üretilen uçucu metabolitler kolayca toprakta dağılmakta ve toprakta bulunan patojenlerin gelişimini inhibe edebilmektedirler (Dennis ve Webster, 1971b).

Shakeri ve ark. (2007), *T.harzianum* T22, *T.atroviride* P1 izolatlarının sera şartlarında marul üzerine ve tarla ortamında domates ile biber bitkileri üzerine

etkilerini gözlemlemişlerdir. Araştıcılar, *T.harzianum* inokule edilmiş olan tarlada kontrollere göre; biber ve domates bitkilerinde verimin % 300 oranında arttığını saptamışlardır. Ayrıca *Trichoderma* izolatlarının, mangan, magnezyum, demir gibi mikroelementleri, bitkinin kullanabileceği forma dönüştürdüklerini, fosfatın çözünmesinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda *T.harzianum'*un mikroparazitik olduğu ve biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Shakeri ve ark., 2007).

Bitki patojeni funguslara karşı etkili olan ve ticari olarak geliştirilerek fungus ve bakterilerden oluşan biyopreparatların üretimi yapılmaktadır. Bunlardan en yaygın olanları *Trichoderma spp.'*dir (Maplestone ve ark., 1991, Datnoff ve ark., 1995, Lewis and Lumsden, 2001). Bio-Fungus, Supresivit, Root Pro, RootProloto, RootShield, Plant Shield, T-22G, T22, Planter box gibi ticari ürünlerde yer alan biyolojik mücadele etmeni *Trichoderma*'ya bağlı türlerdir (Yiğit, 2005).

Çlışmamızda *Trichoderma'*nın bu özellikleri dikkate alındığında, özellikle ekolojik faktörlere göre de değişebileceği nedeniyle çalışmamızda, Şanlıurfa ve çevresindeki toprak örneklerinden daha önce izole edilen *Trichoderma* izolatlarının bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri araştırılmış, bitki patojenlerinden; *Fusarium chlamydosporum, Fusarium verticillioides, Fusarium solani, Fusarium culmorum, Fusarium moniliforme, Macrophomina phaseolina, Bipolaris sorokiniana, Rhizoctonia solani, Phoma sp., A.rabiei'*e antagonistik özellikleri ile izolatlar arasındaki farklılık belirlenmeye çalışılmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada *Trichoderma sp*.'nin 18 izolatı (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18) kullanılmıştır. Bitki patojenlerinden ise *Fusarium verticillioides, F.solani, F.culmorum, Rhizoctonia solani, F.chlamydosporum, F.moniliforme, Phoma sp., M.phaseolina, A.rabiei, B.sorokiniana* kullanılmıştır.

Fungal kültürlerin tamamı Harran Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarından sağlanmıştır. Mikroorganizma kültürleri kullanılıncaya kadar +4˚C'de saklanmıştır.

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler

3.1.2.1. Patates Dekstroz Agar (PDA) (MECRK)

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

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

3.1.2.2. Chapek – Dox Agar

Sukroz	30.0 g/l
$NaNO_3$	3.0 g/l
K_2HPO_4	1.0 g/l
$MgSO_4$	0.5 g/l

KCl	0.5 g/l
Ferrous sülfat	0.01 g/l
Agar	15.0 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözülmüş, pH 7.3'e ayarlanıp 121˚C'de 15 dakikada otoklavlanarak kullanılmıştır.

3.1.2.3. Malt Ekstrat Agar (MEA) (MERCK)

Malt Ekstrat	30.0 g/l
Mikolojik pepton	5.0 g/l
Agar	15.0 g/l

Malt Ekstrakt Agar 50 g/l olacak şekilde distile suda çözülmüş ve 121˚C'de 15 dakika otoklav edildikten sonra kullanılmıştır.

3.1.2.4. Karbon kaynaklarının asimilasyonu için katı ortam

Chapek – Dox agara ayrı ayrı, %0.05'lik kristal viyole, %0.001'lik kristal viyole ve Malt Ekstrat Agara (MEA) ayrı ayrı %0.05'lik $CuSO_4$, %0.001'lik $CuSO_4$, %0.05'lik kristal viyole ve %0.001'lik kristal viyole ilave edilip hazırlanmıştır. Ortamların pH'sı 4.5'a ayarlanmıştır. Ortamlar 121˚C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra kullanılmıştır.

3.1.2.5. Karbon kaynaklarının assimilasyonu için sıvı ortam

$NaNO_3$	2.0 g/l
KH_2PO_4	1.0 g/l
$MgSO_4$	0.5 g/l

KCl	0.5 g/l
$CaCl_2$	0.5 g/l
Fe SO_4	0.01 g/l
$ZnSO_4$	0.01 g/l
$CuSO_4$	0.05 g/l
Bromkrezol moru	0.05 g/l
Sukroz	20 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriğine ayrı ayrı 30 g/l glukoz, 30 g/l jelatin, 30 g/l fruktoz, 30 g/l sukroz, 10 g/l amonyum okzalat, 10 g/l sitrik asit, 10 g/l laktik asit ilave edilerek farklı besi ortamları elde edilmiştir. Glukoz, fruktoz, sukroz içeren sıvı besi ortamları 121˚C'de 15 dakika; jelatin, amonyum okzalat, sitrik asit ve laktik asit eklenerek hazırlanan ortamlar ise 110˚C'de 15 dakika otoklav edildikten sonra kullanılmıştır.

3.1.2.6. Azot kaynaklarının assimilasyonu için katı ortam

Sukroz	30.0 g/l
K_2HPO_4	1.0 g/l
$MgSO_4$	0.5 g/l
KCl	0.5 g/l
Ferrous sülfat	0.01 g/l
Agar	15.0 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyerine ayrı ayrı 3.0 g/l amonyum okzalat ve 3.0 g/l $NaNO_3$ ilave edilmiş ve iki ayrı ortam elde edilmiştir. Ortam pH'ları 4.2 – 4.8 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanmıştır. 121˚C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

3.1.2.7. Azot kaynaklarının assimilasyonu için sıvı ortam

KH_2PO_4	1.0 g/l
$MgSO_4$	0.5 g/l
KCl	0.5 g/l
$FeSO_4$	0.01 g/l
$CaCl_2$	0.5 g/l
$ZnSO_4$	0.01 g/l
$CuSO_4$	0.01 g/l
Glukoz	10.0 g/l
Bromkrezol moru	0.05 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyerine ayrı ayrı 2 g/l $NaNO_2$, 2 g/l amonyum okzalat, 2 g/l glisin, 2 g/l üre ilave edilerek dört ayrı ortam elde edilmiştir. Ortamların pH'ları 4.2 – 4.8 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanmıştır. Besiyerine üre filtreden geçirilerek eklenmiştir. Ortamlar 110˚C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

3.1.2.8. Farklı pH ortamları

$NaNO_3$	2.0 g/l
KH_2PO_4	1.0 g/l
$MgSO_4$	0.5 g/l

KCl	0.5 g/l
$CaCl_2$	0.5 g/l
$FeSO_4$	0.01 g/l
$ZnSO_4$	0.01 g/l
$CuSO_4$	0.01 g/l
Sukroz	20.0 g/l
Bromkrezol moru	0.05 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriğine; pH 2 olan ortamı elde etmek için 10 g/l sitrik asit eklenip otoklavlanmıştır. pH 10 ortamı için ortamdaki KH_2PO_4 yerine 3.75 g/l glisin ve pH 12 ortamı için ise; KH_2PO_4 yerine 0.2 g/l KH_2PO_4 ilave edilmiştir. Ortamların pH'ları 1M HCl ve 1M NaOH ile ayarlanmıştır. Ortamlar 121˚C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

3.1.2.9. Bazal Ortam

Pepton	1 g/l
Yeast ekstrat	0.1 g/l
Agar	18 g/l
Distile su	990 ml

İçerik 121˚C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır. Steril edilen Tween 20'nin 10 ml'si steril edilen ortama eklenerek bazal ortam hazırlanmıştır.

3.1.2.10. A Ortamı

KH_2PO_4	1g
KCl	0.5g
$MgSO_4$	0.2g
$CaCl_2$	0.1g
Thiamin HCl	0.001g
$(NH_4)_2SO_4$	0.5g
Agar	12g
Distile su	1000ml
Glukoz	10g

İçerik distile suda eritilerek çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan içeriğe 25 ml (w/v) % 15'lik skim milk eklenmiş ve 121˚C'de 15 dk otoklavlanarak hazırlanmıştır.

3.1.2.11. B Ortamı

$NH_4H_2PO_4$	1g/l
KCl	0.2g/l
$MgSO_47H_2O$	0.2g/l
Agar	12g/l
Distile su	1000ml

Besiyeri içeriği pH 5.6 olacak şekilde 1M NaCl ve 1M HCl ile ayarlanmıştır. 121˚C'de 15 dk otoklavlanarak kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Karbon kaynaklarının assimilasyonu testleri

3.2.1.1. Katı karbon ortamları

Katı ortam olarak Chapek – Dox agara ayrı ayrı eklenen %0.05'lik $CuSO_4$, %0.001'lik $CuSO_4$, %0.05'lik kristal viyole, %0.001'lik kristal viyole ve Malt Ekstrakt Agara ayrı ayrı eklenen %0.05'lik $CuSO_4$, %0.001'lik $CuSO_4$, %0.05'lik kristal viyole, %0.001'lik kristal viyole ilave edilip hazırlanan karbon kaynaklarını içeren petri kutularının ortasına 5 gün boyunca Patates Dekstroz Agar (PDA)'da geliştirilen izolatların 5 mm'lik diskleri inokule edilmiştir. 14 gün boyunca 25˚C'de misel oluşumları incelenmiştir.

3.2.1.2. Sıvı karbon ortamlarında gelişme

Sıvı besiyeri içeriğine ayrı ayrı 30 g/l glukoz, 30 g/l jelatin, 10 g/l amonyum okzalat, 10 g/l sitrik asit, 10 g/l laktik asit ilave edilerek hazırlanan farklı besi ortamlarının bulunduğu steril tüplere inokule edilen diskler, 14 gün boyunca 25˚C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra misel, spor ve renk oluşumları incelenmiştir.

3.2.2. Azot kaynaklarının assimilasyon testleri

3.2.2.1. Katı azot ortamları

Katı ortamın azot kaynakları olarak amonyum okzalat ve sodyum nitrit kullanılmıştır. Hazırlanan iki ayrı ortama izolatların diskleri inokule edilerek 14 gün boyunca misel ve spor oluşumları gözlemlenmiştir.

3.2.2.2. Sıvı azot ortamları

Sıvı ortamlardaki azot kaynakları olarak; sodyum nitrit, amonyum okzalat, glisin kullanılarak; izolatların 5 mm'lik diskleri hazırlanan bu ortamlara inokule edilmiştir. 14 gün boyunca 25˚C'de spor, misel ve renk oluşumları incelenmiştir.

Yapılan assimilasyon testleri kontrollerle karşılaştırılmıştır. Negatif kontroller; azot ve karbon kaynaklarının hiçbirini içermemektedir. Pozitif kontrollerin katı ortamına sukroz, sıvı ortamına glukoz ilave edilmiştir. Azot testlerinin katı ve sıvı ortamları sukroz ve $NaNO_3$ içermemektedir. Her bir deney 5 tekrarlı olarak yapılmıştır (Bridge, 1985).

3.2.3. Farklı sıcaklık değerlerinde gelişme

İzolatlar Patates Dekstroz Agar içeren petri kutularının merkezine inokule edilmiştir. İzolatların 4˚C, 37˚C, 40˚C'lik farklı sıcaklıklarda 14 gün boyunca gelişimleri gözlemlenmiştir (Longa ve ark., 2008).

3.2.4. Farklı pH değerlerinde gelişme

pH 2, pH 10 ve pH 12'ye ayarlanan farklı pH değerlerindeki ortamlarda izolatların gelişimleri 25˚C'de 14 gün boyunca gözlemlenmiştir.

3.2.5. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme

PDA içeren besiyerine; 0 mM, 70 mM, 50 mM, 240 mM, 300 mM, 450 mM, 500 mM ve 600 mM NaCl eklenerek farklı ortamlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ortamlar steril petri kutularına dökülmüş, petri kutularının merkezine izolatların 5 mm'lik diskleri inokule edilmiştir. Petri kutuları 25˚C'de 7 gün boyunca inokule edilerek, izolatların koloni çapları ölçülmüştür (Amalraj ve ark., 2010).

3.2.6. İzolatların kuraklığa toleranslılıkları

PDA içeren besiyerlerine polietilen glikol (PEG-6000) ayrı ayrı % 10, % 20, % 30 oranlarında ilave edilerek otoklavlanmıştır. Hazırlanan ortamlara izolatların 5 mm'lik diskleri inokule edilmiş, 25˚C'de 4 gün boyunca inkübe edilmiştir. İzolatların gelişmeleri koloni çapları ölçülerek değerlendirilmiştir (Amalraj ve ark., 2010).

3.2.7. Fungal inhibisyon testleri

Trichoderma sp. izolatları ile toprak kökenli fungal bitki patojenleri 7 gün boyunca PDA (Patates Dekstroz Agar) içeren steril petri kutularında geliştirilmiştir.

Daha sonra her bir *Trichoderma sp.* izolatlarının bulunduğu petri kutularından alınan 5 mm çapındaki disk, farklı bitki patojenlerini içeren petri kutularından alınan 5 mm çapındaki disklerle aralarında 5 cm boşluk olacak şekilde, PDA içeren steril petri kutularına ekilmiştir. Patojen ve antagonist fungusun büyüme zon çapları ölçülüp aşağıdaki formülle patojenin gelişme inhibisyonu hesaplanmıştır (Küçük ve Kıvanç, 2003).

Gelişmenin % inhibisyon=(y-z/y)x100

y=patojenin misel gelişmesi (mm) (kontrol petride)

z=antagonist ile beraber ekili patojenin misel gelişimi (mm)

3.2.8. Uçucu bileşenlerin üretimi

Yedi günlük *Trichoderma* sp. izolatlarının herbirinden alınan 5 mm çaplı diskler Patates Dekstroz Agar içeren petri kutularına ekilerek geliştirilmiştir. Aynı büyüklükteki Patates Dekstroz Agar içeren başka bir petrinin ortasına 5 mm çaplı bitki patojenleri ekilerek petrilerin üst kısımları üst üste getirilip parafilmle kapatılmıştır. Fungusların koloni çapları ölçülerek inhibisyon oranları değerlendirilmiştir (Qualhato ve ark., 2013).

3.2.9. Uçucu olmayan metabolitlerin üretimi

Ayrı ayrı hazırlanan 50 ml Patates dekstroz broth'lara *Trichoderma* kültürlerinin her birinden 7 mm çaplı diskler eklenip, 25˚C'de 200 rpm'de inkübe edilmiştir. 10 gün sonra, kültürler, steril milipor membrane filitre ile filitre edilmiştir. Elde edilen supernatant, 121 ^{o}C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Kültür filtratı, 12 ml içeren Patates Dekstroz Agar içeren petri kutularına eklenip karıştırılmıştır. Filtrat içeren petri kutusunun ortasına bitki patojeni funguslar inokule edilmiş ve 48 saat inkübe edilmiştir. Patojenin misel gelişim çapı ölçülerek, inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır (Eslaminejad Parizi ve ark., 2012).

3.2.10. İzolatların enzim aktivitelerinin belirlenmesi

3.2.10.1. Üreolitik aktivite

Patates Dekstroz Broth (PDB) içeren ortama inokule edilen izolatlar 15 gün süre ile inkübe edilmiştir. İzolatları gelişimleri ortam rengindeki değişim 15 gün boyunca incelenmiştir (Omar ve Abd-Alla, 2000).

3.2.10.2.Sellülaz aktivite

B ortamına 10g/l selüloz ilave edilerek hazırlanan ortamı içeren, petri kutularının her birinin merkezine *Trichoderma sp.* izolatlarının her birinin 5 mm çapındaki diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişme ve renk oluşumları incelenmiştir (Lynch ve ark. 1981).

3.2.10.3. Alkalin fosfataz aktivite

Alkalin fosfataz enzim aktivitesi hidrolitik parçalanma sonucu oluşan fenolün renk maddesi ile renklendirilerek oluşan mavi rengin spektrofotometrik olarak okunması ile belirlenmiştir (Tabatabai ve Bremner, 1969).

3.2.10.4. Lipaz enzim aktivitesi (Tween 20 Hidrolizi)

Bazal ortam ve Tween 20 (10 ml/ litre) ayrı ayrı otoklavlanmıştır. Otoklavlanan ortamlar 9:1 oranında karıştırılıp petri kutularına dökülmüştür. Petri kutularının her birinin merkezine izolatların 5mm'lik diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca gelişimleri, renk oluşumları incelenmiştir (Bridge, 1985).

3.2.10.5. Nişasta hidrolizi (Amilaz)

Chapek – Dox agara sukroz yerine 10 g/l eriyebilir nişasta ilave edilerek hazırlanan ortamı içeren petri kutularının her birinin merkezine, izolatların 5 mm'lik diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmesi ve renk oluşumları incelenmiştir (Bridge, 1985).

3.2.10.6. Jelatin hidrolizi

Chapek dox agara, 12 g/l jelatin eklenmiştir. Ortam otoklavlandıktan sonra, petri kutularına dökülmüş ve 1 saat 4˚C'de soğutulmuştur. Hazırlanan petri kutularının merkezine, izolatların 5 mm'lik diskleri inokule edilmiş, 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir (Bridge, 1985).

3.2.10.7. Tellur Hidrolizi

Chapek dox agara 0.032 g/l potasyum tellur ilave edilerek hazırlanan ortamı içeren petri kutularının merkezlerine, izolatların 5mm'lik diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişimleri ve renk oluşumları incelenmiştir (Bridge, 1985).

3.2.10.8. Tetrazolium İndirgenmesi

Chapek dox agara 0.064 g/l tetrazolium blue klorür eklenerek hazırlanan ortam, 121˚C'de 15 dakika otoklavlanmış ve petri kutularına dökülmüştür. Ortamı içeren petri kutularının, merkezine izolatların 5 mm'lik diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişmeleri ve renk oluşumları incelenmiştir (Bridge, 1985).

3.2.10.9. Kazein Hidrolizi

Hazırlanan A ortamına izolatların her birinin 5 mm'lik diskleri inokule edilmiştir. 21 gün boyunca izolatların gelişimleri ve renk oluşumları incelenmiştir (Omar ve Abd-Alla, 2000; Gupta ve ark., 2013).

3.2.11. İzolatların fasülye tohumunun çimlenmesine etkisi

Trichoderma sp. izolatlarını 7 gün boyunca PDB'de geliştirilip daha sonra süpernatantları alınmıştır. İçersinde steril filtrelerin bulunduğu petrilere süpernatantlardan %100 ve %50'lik oranlarda ayrı ayrı 3'er ml petrilere eklenmiştir. Daha sonra streril edilmiş fasülye tohumlarından izolatların süpernatantlarının bulunduğu ortamlara 5'er tane eklenmiştir ve 10 gün çimlenmeye bırakılmıştır. Kontrolde ise süpernatant yerine distile su kullanılmıştır.

İzolatların tohumların çimlenmesine etkileri belirlenmiştir (Srisvastava ve ark.,2012). Tohumlar Karadeniz Araştırma Enstitüsünden sağlanmıştır

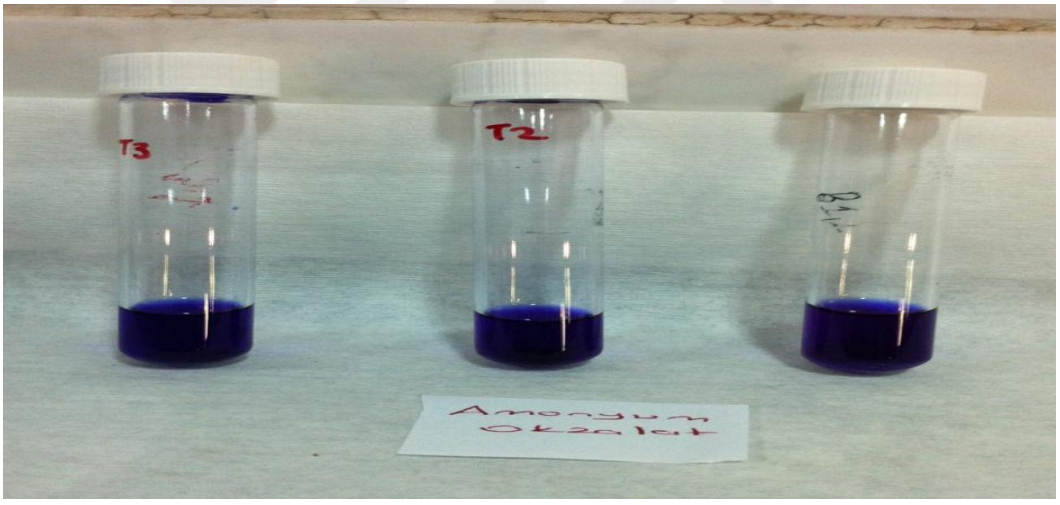
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Araştırma Bulguları

4.1.1. *Trichoderma* izolatlarının bazı fiyolojik özellikleri

4.1.1.2. Karbon kaynaklarının assimilasyonu

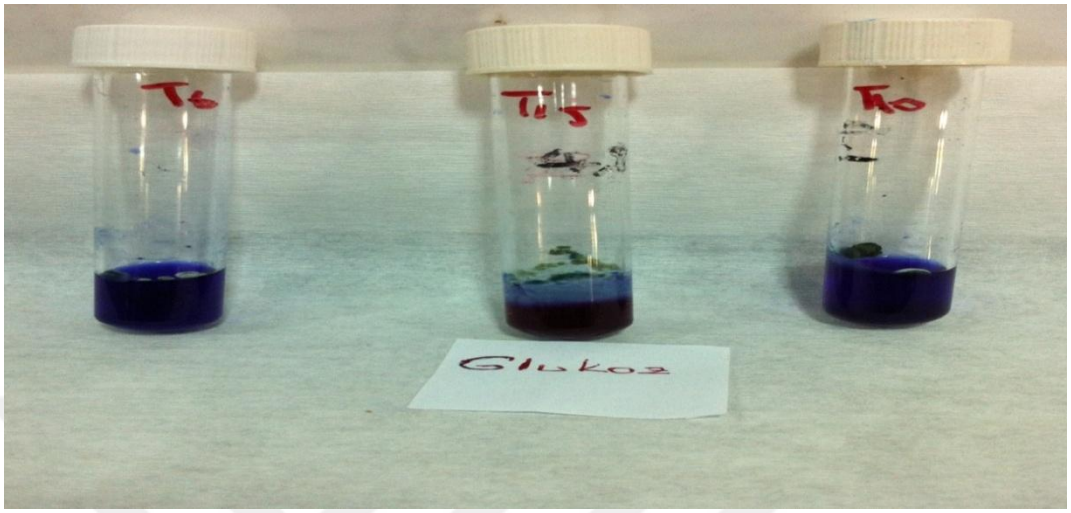
Karbon kaynaklarının assimilasyonu için hazırlanan sıvı ortamlar 14 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. 14. gün sonunda izolatların gelişmeleri incelenmiştir. Amonyum okzalat içeren ortamda; T1, T5, T2, T9, T13, T8, T11,T15, T16, T17 nolu izolatların sadece misel oluşturdukları gözlemlenmiştir. T3, T4, T6, T7, T10, T12, T14 ve T18 izolatlarda ise gelişme görülmemiştir. Şekil 4.1'de izolatların sıvı kültürde amonyum okzalatlı ortamlardaki gelişmeleri verilmiştir.



Şekil 4.1. İzolatlardan T3 ve T2'nin amonyum okzalat içeren ortamdaki gelişmeleri

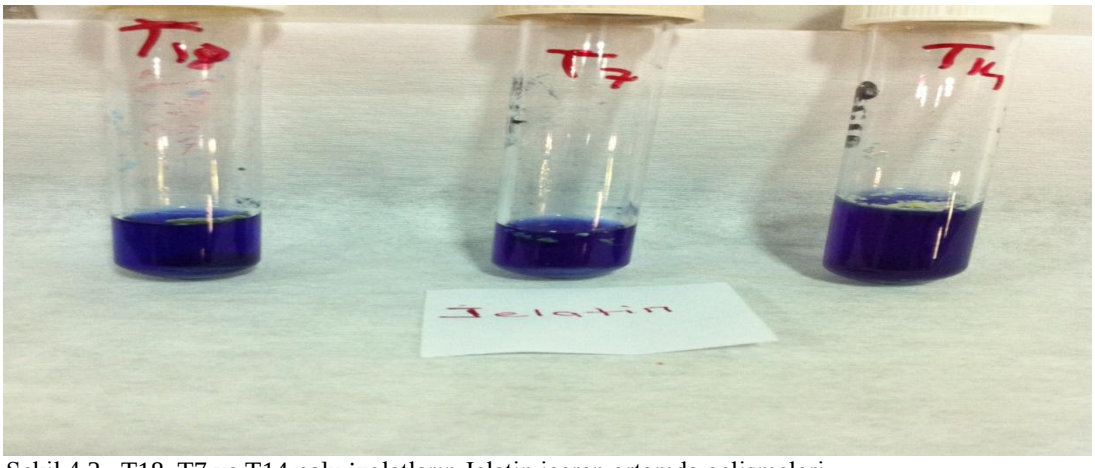
Glukoz içeren sıvı ortamlardaki gelişmeler incelendiğinde; T18 izolatında gelişme görülmemiştir. Buna karşın, T1, T2, T3, T5, T6, T7, T8, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16 ve T17 nolu izolatlar hem misel hem de spor oluşturmuşlardır. T4 ve T9 izolatlarında ise sadece misel gelişimi görülmüştür. Ayrıca izolatlardaki spor gelişmelerine bakıldığında; T2 ve T8 izolatlarının sporları yeşil renkte; T3 ve T11 izolatlarında sporların beyaz renkte olduğu

görülmüştür. Şekil 4.2'de glikozlu ortamda bulunan T8, T15 ve T10 nolu izolatların gelişmeleri verilmiştir.



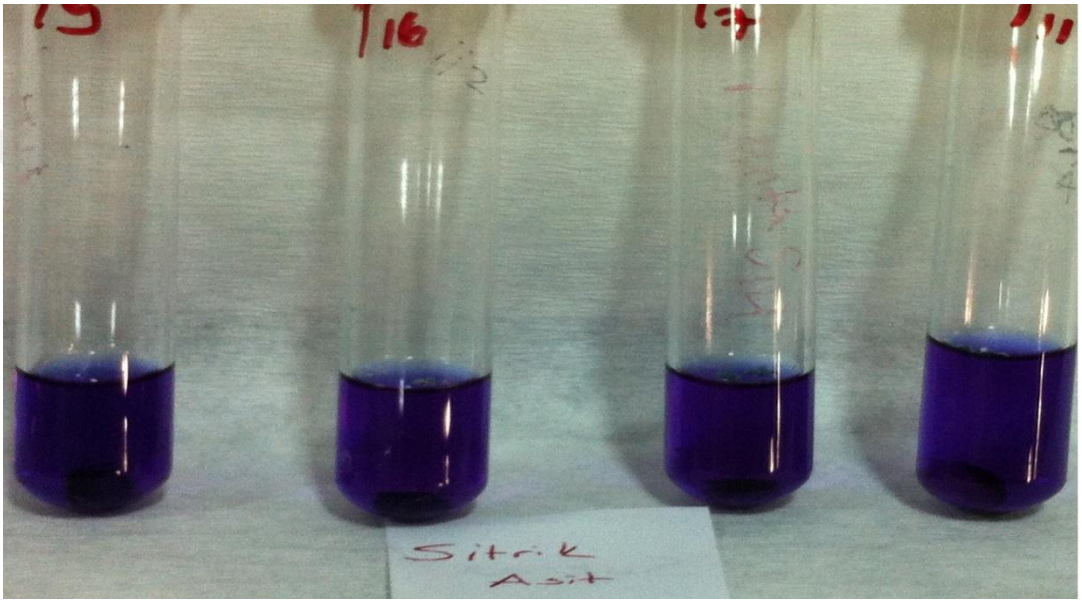
Şekil 4.2. T8, T15 ve T10 nolu izolatların glukoz içeren ortamdaki gelişmeleri

Jelatin ilave edilen ortamlar incelendiğinde 18 izolatın hepsi gelişme göstermiştir. İzolatlardan, T1, T4 ve T15'te sadece misel gelişimi görülürken, T2, T3, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18'de hem misel hem de spor oluşumu belirlenmiştir. Şekil 4.3.'te T18, T7 ve T14 nolu izolatların jelatinli ortamlardaki gelişmeleri verilmiştir. T3 ve T14'ün ortamda çok yoğun spor oluşturdukları belirlenmiştir.



Şekil 4.3. T18, T7 ve T14 nolu izolatların Jelatin içeren ortamda gelişmeleri

Karbon kaynaklarının assimilasyon testlerinden sıvı ortama ilave edilen sitrik asitteki izolatların gelişmeleri incelendiğinde; izolatlardan sadece T18'de gelişme olmamıştır. T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T16, T17 nolu izolatlarda hem misel hem de spor gelişimi, T1 ve T15 izolatlarında ise sadece misel gelişimi belirlenmiştir. Şekil 4.4'te sitrik asitteki gelişmeler verilmiştir. T5 ve T11 izolatlarının diğer izolatlara göre daha yoğun spor oluşturduğu görülmüştür.



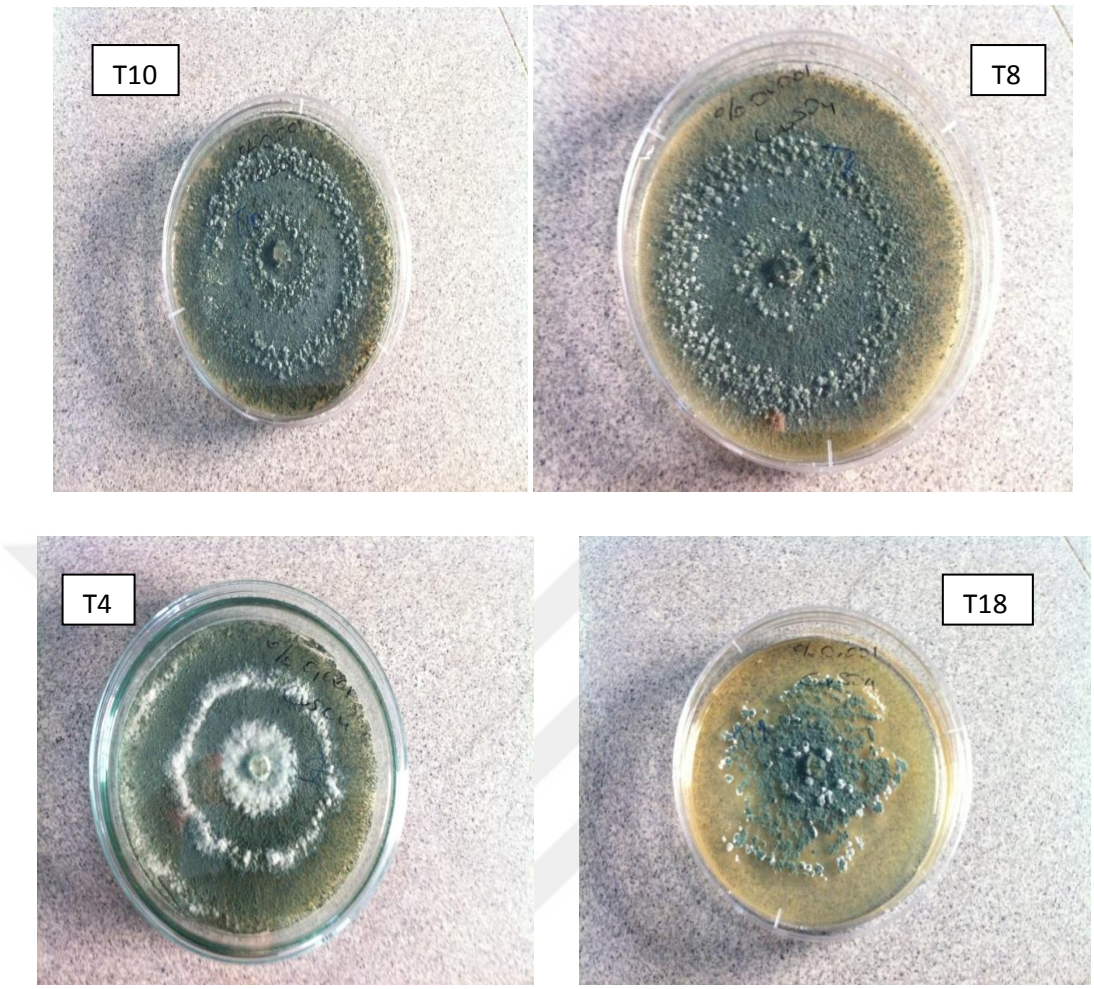
Şekil 4.4. İzolatlardan T9, T16, T7 T11'in Sitrik asitte gelişmeleri

Czapek Dox Agar ve Malt Ekstrat Agara ayrı ayrı eklenen % 0,001 ve % 0,05'lik kristal viyole ve % 0,001 ve % 0,05'lik $CuSO_4$ içeren ortamlarda izolatların gelişmeleri incelendiğinde; Kristal viyole içeren ortamlarda; T2, T3, T4 ve T13 izolatlarında gelişme olmamıştır. T1, T5, T6, T7, T8, T11, T16, T17 izolatlarının sadece % 0,001'lik kristal viyolede gelişme göstermiş, buna karşın T9, T10, T12, T14 ve T15 izolatları ise hem % 0,001 hem de %0,05'lik kristal viyole içeren ortamlarda gelişme göstermiştir. Şekil 4.5'te kristal viyole içeren ortamda T15 ve T17 nolu izolatların gelişmeleri verilmiştir.



Şekil 4.5. T15 ve T17'nin kristal viyole içeren ortamda gelişmeleri

% 0,001 ve % 0,05'lik $CuSO_4$ içeren ortamlarda, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13,T14, T15, T16, T17, T18 izolatlarının hepsinde gelişme görülmüştür. Şekil 4.6'da izolatların $CuSO_4$'taki gelişmeleri verilmiştir. T4 % 0,001'lik $CuSO_4$'ta beyaz renkte spor oluşturmuştur. T18 izolatı ise yeşil ve beyaz renkte sporlar oluşturmuş, diğer izolatlara göre gelişmesi daha az olmuştur. T10 ve T8'de ise sporlarının yeşil renkte olduğu ve misellerin petrinin tamamını kapladığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6. T4, T18, T10 ve T8'in % 0.001'lik CuSO4 içeren ortamlardaki gelişmeleri

Karbon kaynaklarının assimilasyon testlerinde *Trichoderma sp.* izolatlarının gelişimleri Çizelge 4.1 – 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Trichoderma sp.* izolatların farklı karbon kaynaklarını assimilasyonu

	İzolatlar																	
Karbon kaynakları	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18
Glukozda gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Glukozda sporlanma	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sitrik asitte gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sitrik asitte sporlanma	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Amonyum okzalatta gelişme	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-
Amonyum okzalatta sporlanma	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Jelatinde gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Jelatinde sporlanma	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Fruktozda gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sukrozda gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Gelişme var, - = Gelişme yok

Çizlege 4.2. İzolatların Malt Ekstakt Agar'da $CuSO_4$ ve kristal viyolede gelişimi

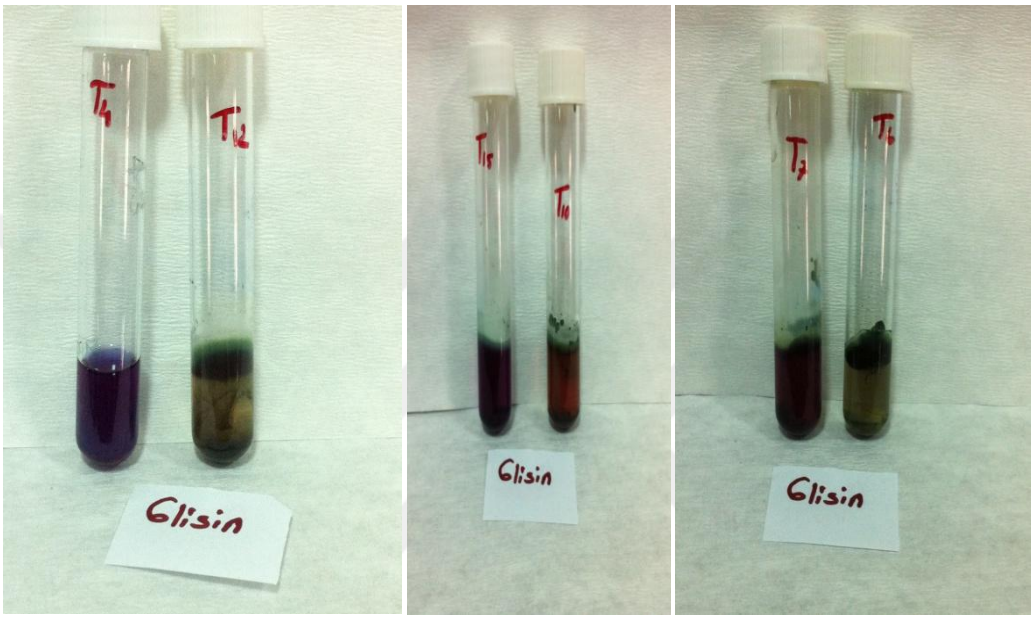
	Ortamlar			
İzolatlar	MEA'da koloni çapı >8 cm	$CuSO_4$ (% 0,001) içeren MEA'da > 3,1 koloni çapı	Kristal viyole (%0,001)içeren MEA'da >2,5 koloni çapı	Kristal viyole (%0,001)içeren MEA'da >3,1 koloni çapı
T1	+	+	+	-
T2	+	+	-	-
T3	+	+	-	-
T4	+	+	-	-
T5	+	+	+	+
T6	+	+	+	-
T7	+	+	+	-
T8	+	+	+	+
T9	-	+	+	+
T10	+	+	+	-
T11	+	+	+	-
T12	-	+	+	-
T13	+	+	-	-
T14	+	+	+	+
T15	+	+	+	+
T16	+	+	+	+
T17	+	+	+	+
T18	-	+	+	-

4.1.1.3. Azot kaynaklarının assimilasyonu

Azot kaynaklarının assimilasyonu için hazırlanan sıvı ortamlarda *Trichoderma sp.* izolatları 14 gün boyunca inkübasyona bırakılmış ve gelişmeleri gözlemlenmiştir. Çizelge 4.3'te izolatların azot kaynaklarının asimilasyon sonuçları verilmiştir. Hazırlanan sıvı ortamlardan glisin içeren ortamda T4 dışında *Trichoderma* izolatlarının spor oluşturmuştur. T4 izolatının ise sadece misel

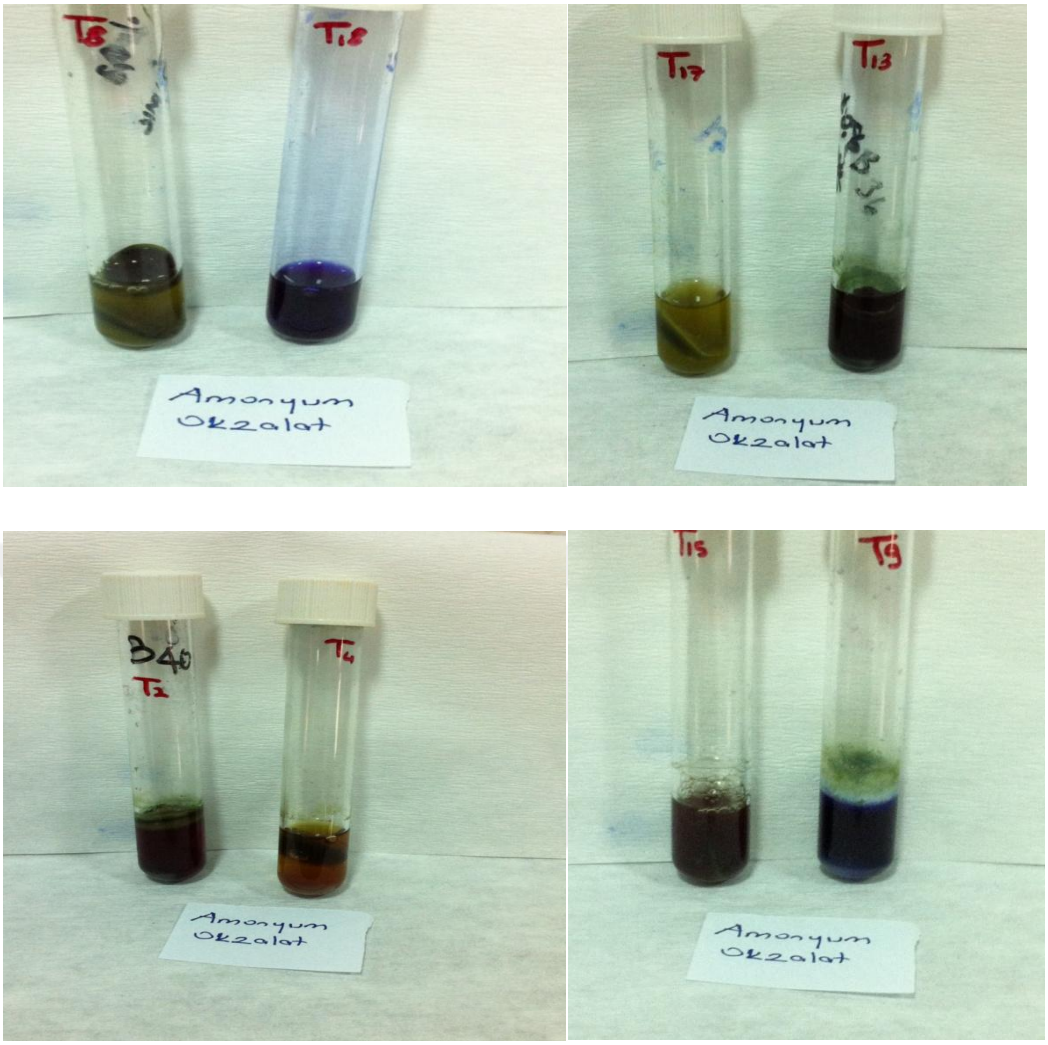
oluşturduğu görülmüştür. Glisin içeren ortamlarda geliştirilen izolatların ayrıca besiyeri rengini değiştirdikleri saptanmıştır.

T1 izolatı besi yerinin rengini açmıştır. T6 açık yeşil, T9, T10, T11, T12, T13 izolatları yeşil, T16 izolatının ise ortamın rengini griye dönüştürdüğü gözlemlenmiştir. Şekil 4.7'de glisinde gelişme gösteren izolatlar verilmiştir.



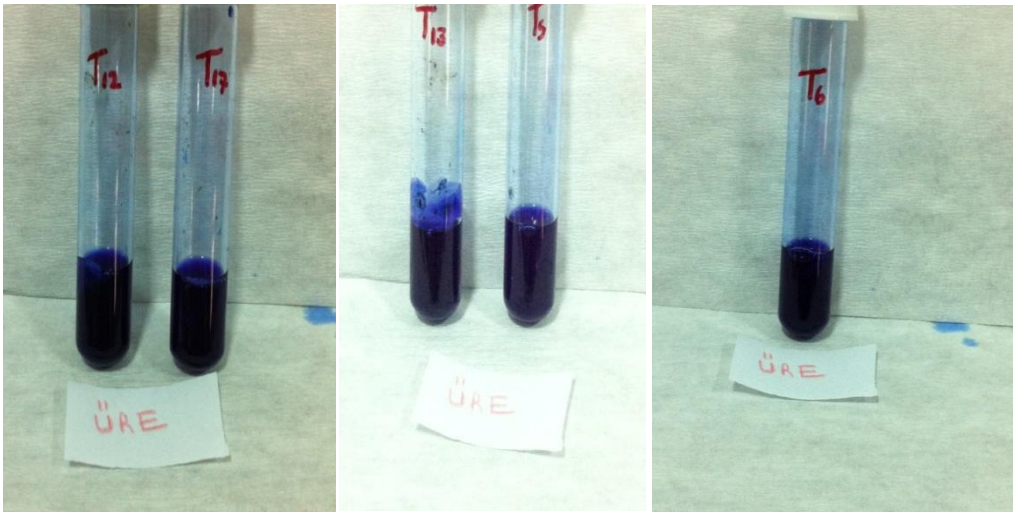
Şekil 4.7. izolatların glisin içeren ortamda gelişmeleri

Amonyum okzalat içeren sıvı ortamda T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17 ve T18 izolatlarının hepsinde hem spor hem de misel oluşumu görülmüştür. Şekil 4.8'de amonyum okzalatta gelişme gösteren izolatlar verilmiştir. T7, T9, T11, T13, T18 izolatların bulunduğu besiyerinin renginin değişmediği görülmüştür. T1, T2, T3, T4, T5, T6, T8, T10, T12, T14, T15, T16 ve T17 izolatlarının besiyerinin rengini değiştirdiği, ortam renginin açık sarı ile açık kahverengine dönüştüğü saptanmıştır.



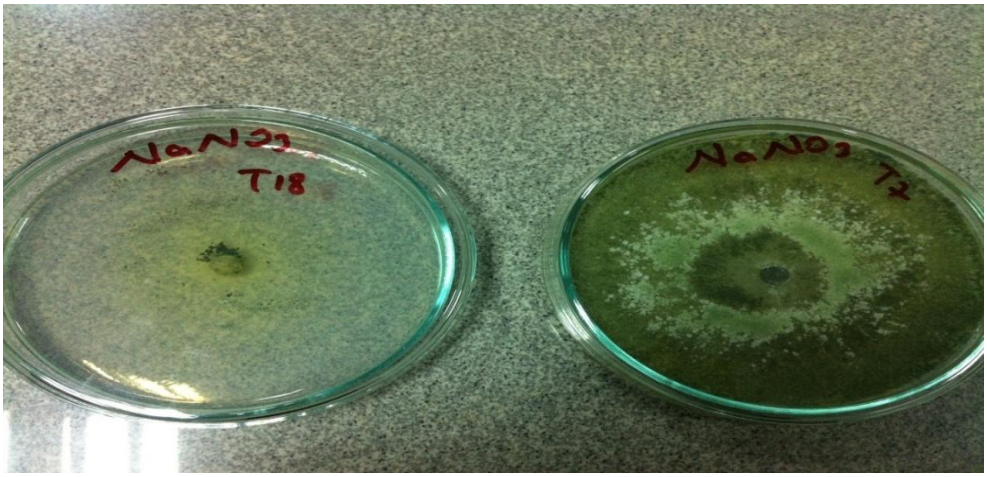
Şekil 4.8. İzolatların glisin içeren ortamda gelişmeleri

Üre eklenen sıvı ortamlarda bulunan *Trichoderma* izolatlarının gelişmeleri 14 gün boyunca izlenmiştir. Üre içeren sıvı ortamda T6, T8, T10, T15, T16 ve T18 izolatlarında gelişme görülmemiştir. T13 izolatının ise diğer izolatlara göre ortamda daha fazla spor oluşturduğu gözlemlenmiştir. Şekil 4.9'da üre eklenen ortamlardaki izolatların gelişimleri verilmiştir.



Şekil 4.9. İzolatların üre bulunan ortamda gelişmeleri

Azot kaynaklarının asimilasyonu için hazırlanan $NaNO_3$ içeren katı ortamlarda test edilen 18 *Trichoderma* izolatının tümünün geliştiği görülmüştür. Şekil 4.10'da T18 ve T17 izolatlarının $NaNO_3$ içeren ortamdaki gelişimleri verilmiştir. İzolatlardan, T5 ve T7'nin yoğun yeşil renkte spor oluşturduğu belirlenmiştir. T16'nın ise oluşturduğu sporların beyaz renkli olduğu incelenmiştir. İzolatlardan T18'nin diğer izolatlara göre oldukça zayıf misel ve spor oluşturduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.10. İzolatlardan T18 ve T7'nin NaNO3 içeren ortamda gelişmeleri

Amonyum okzalat içeren katı ortamlara ekilen *Trichoderma sp.* izolatlarının 14 günlük inkübasyonları sonucunda, 18 izolatın tümünde gelişme

olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.11'de izolatların gelişmeleri verilmiştir. T10 ve T16 izolatların gelişmeleri diğer izolatlara göre daha fazla olmuştur.



Şekil 4.11. İzolatların amonyum okzalat içeren ortamda gelişmeleri

Çizelge 4.3. Azot kaynaklarının asimilasyonu

	İzolatlar																	
Özellikler	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18
Glisinde gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glisinde sporlanma	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ürede gelişme	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
Ürede sporlanma	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Amonyum okzalatta gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Amonyum okzalatta sporlanma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$NaNO_3$'te gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$NaNO_3$'te sporlanma	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+

+ = pozitif, -= negatif

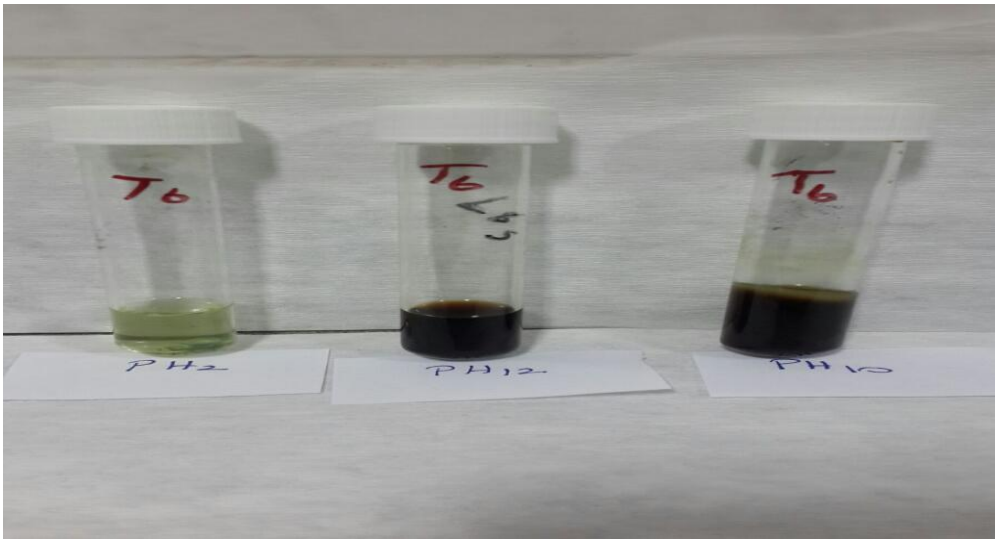
4.1.1.4. Farklı pH ve farklı sıcaklık değerlerinde gelişme

Farklı pH ve sıcaklık değerlerinde geliştirilen izolatların gelişimleri incelenmiştir. Çizelge 4.4.'te izolatların farklı pH ve farklı sıcaklık değerlerindeki gelişimleri verilmiştir.

Çizelge 4.4'te pH 10 olan besiyerinde; *Trichoderma sp.* izolatlarının gelişimi verilmiştir. T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T11, T12, T13, T14, T15, T16 ve T17 izolatlarının tümünde misel ve spor oluşumu belirlenmiştir. T18 izolatı ise diğer izolatlara göre oldukça zayıf gelişme göstermiştir.

pH'ın 2 olan ortamda ise T1,T2, T3, T4, T7, T9, T11, T15, T16, T17 izolatları gelişme göstermişlerdir. İzolatlardan; T5, T6, T8, T10, T12, T13, T14 ve T18'de ise gelişme olmamıştır (Çizelge 4.4).

pH'ın 12 olan besiyerinde bulunan *Trichoderma sp.* izolatları T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9,T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17 ve T18 gelişmemiştir. Şekil 4.12'de T6 ve T6 izolatlarının pH10 pH2 ve pH12 ortamlarındaki gelişimleri verilmiştir.



Şekil 4.12. İzolatların farklı pH ortamlarında gelişimleri

Çizelge 4.4. İzolatların farklı pH ve farklı sıcaklık değerlerinde gelişimleri

	pH			Sıcaklık		
İzolatlar	pH 2	pH 10	pH 12	4˚C	37˚C	40˚C
T1	+	+	-	-	+	+
T2	+	+	-	-	+	+
T3	+	+	-	-	+	+
T4	+	+	-	-	+	+
T5	-	+	-	-	+	+
T6	-	+	-	-	+	+
T7	+	+	-	-	+	+
T8	-	+	-	-	+	+
T9	+	+	-	-	+	+
T10	-	+	-	-	+	+
T11	+	+	-	-	+	+
T12	-	+	-	-	+	+
T13	-	+	-	-	+	+
T14	-	+	-	-	+	+
T15	+	+	-	-	+	+
T16	+	+	-	-	+	+
T17	+	+	-	-	+	+
T18	-	+	-	-	+	+

4.1.1.5. İzolatların farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarında gelişmesi

Farklı konsantrasyonlarda NaCl içeren ortamda *Trichoderma sp.*izolatlarının misel gelişimleri incelenmiştir. Ortama 70 mM NaCl ilave edildiğinde, izolatların gelişimleri farklılık göstermiştir. 150 mM içeren ortamda ise izolatlardan en fazla etkilenen T9 olmuştur. T9'un misel gelişimi kontrolle karşılaştırıldığında % 104.5 oranında azalmıştır. Bunu T18, T14, T5, T6, T1, T2, T15 izlemiştir (Çizelge 4.5). 240 mM NaCl içeren ortamda; gelişimi en fazla

engellenen % 81.3 ile T18 olurken, bunu T10 (% 60.7) ve T12 (% 52.5) izolatları izlemiştir (Çizelge 4.5).

300 mM NaCl içeren ortamda, % 69.5 ile T18 izolatının gelişmesinde en fazla azalma belirlenmiştir (Çizelge 4.4). 450 mM, 500 mM ve 600 mM'da izolatların gelişimlerinin kontrolle karşılaştırıldığında azaldığı Çizelge 4.4'te görülmektedir.

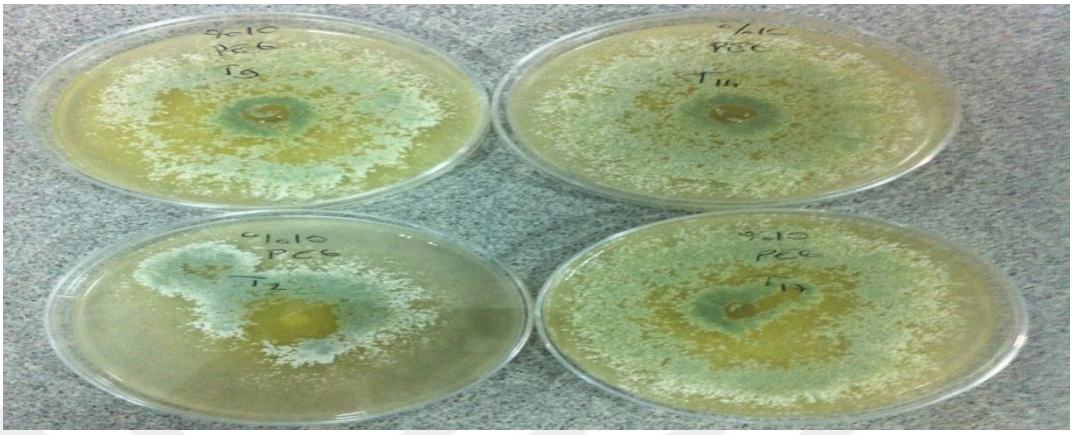
Çizelge 4.5. İzolatların farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişimleri (mm)

	NaCl konsantrasyonları (mM)							
İzolatlar	70	150	240	300	450	500	600	0
T1	7.6	6	9	8	2.7	2.6	3	9
T2	7.8	6	9	9	2.9	2.8	2.7	9
T3	7.3	7.2	9.6	9	2.6	3.8	2.7	9
T4	8.2	6.2	9.3	9	4.2	4	3.4	9
T5	8.0	5.8	9.4	9	2.8	3.7	4	9
T6	6.8	5.8	6.9	9	4.5	3.7	4	9
T7	7. 5	7.5	7.9	8.6	3.7	4	3.3	9
T8	8	8	7.8	7.6	5	5	4.3	9
T9	7.4	4.4	7.2	6.9	2.7	3	2.7	9
T10	5.6	4	5.6	5.6	3.3	4.4	3.3	9
T11	8.1	8.6	7.9	7.8	4.3	4	3.3	9
T12	6.5	8.7	5.9	6.9	4	3.1	3.2	9
T13	7	8.3	8	7.9	3	2.8	2.8	9
T14	7.1	5.5	9	8.2	3	3	2.6	9
T15	7.2	6.4	9	9	2.2	2.2	2.5	9
T16	8.2	8.8	9	6.1	3	2.5	2.6	9
T17	8	7	7.7	7.5	3.1	2.7	2.4	9
T18	5.6	5	4.3	4.6	2	1.5	1.5	9

4.1.1.6. İzolatların kuraklığa karşı toleranslılıkları

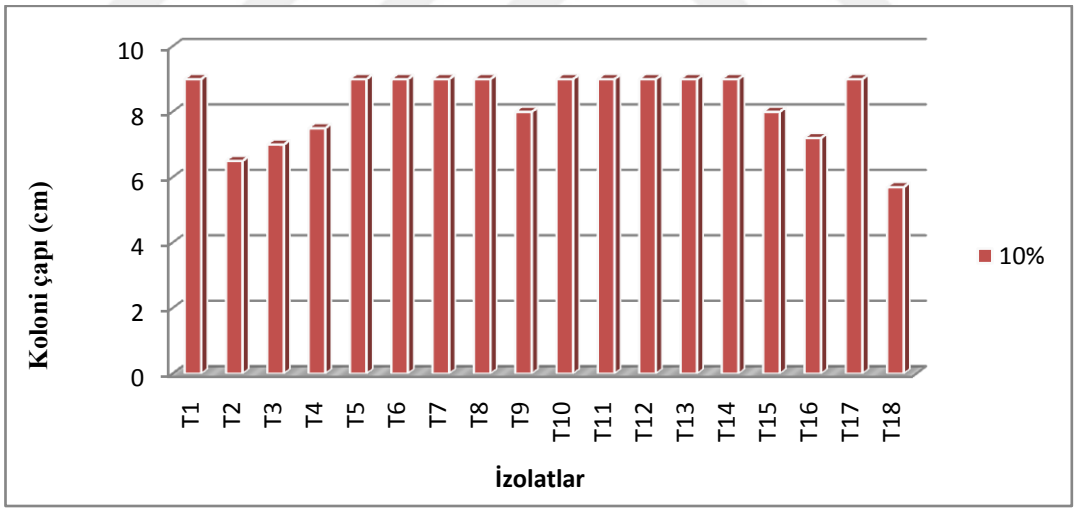
Patates dekstroz agara eklenen; % 10, % 20 ve % 30'luk polietilen glikol (PEG) içeren ortamlarda *Trichoderma sp.* izolatlarının gelişimleri incelenmiştir. % 10'luk ve % 20'lik polietilen glikol içeren ortamda; tüm izolatların çok iyi

gelişme gösterdiği ve spor oluşturduğu görülmüştür. İzolatların % 10'luk PEG içeren ortamda gelişimleri Şekil 4.13'te verilmiştir..

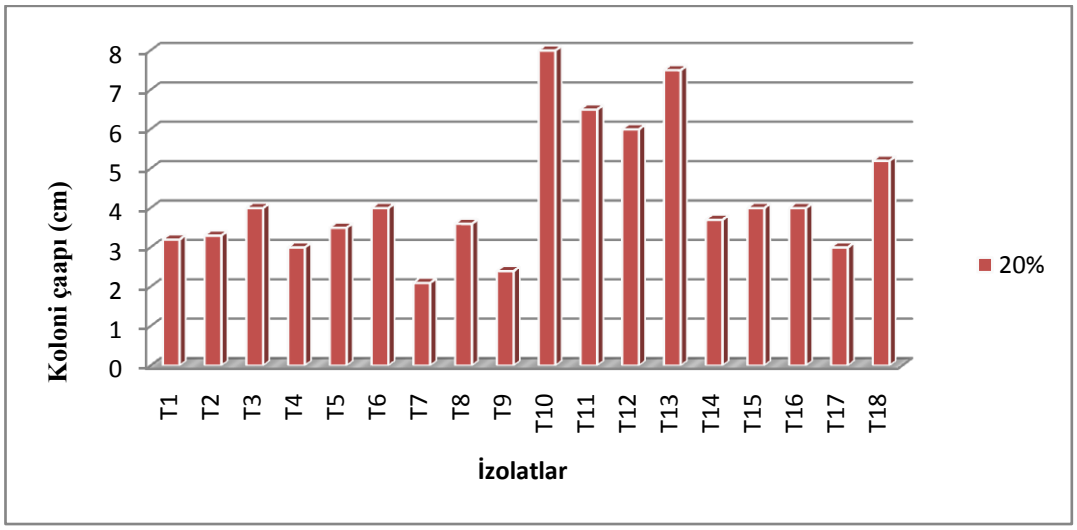


Şekil 4.13. İzolattların % 10'luk Polietilen glikol (PEG-6000) içeren PDA'da gelişimleri

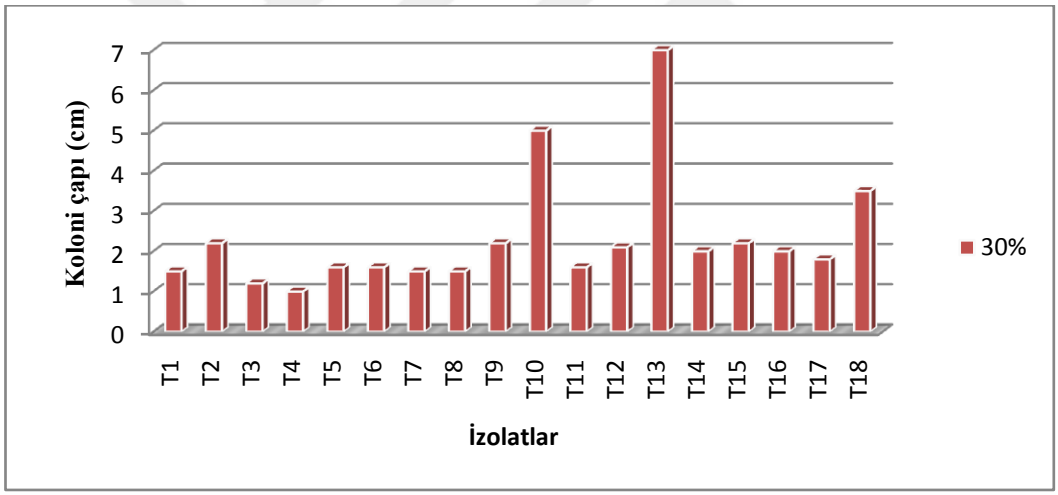
% 30'luk polietilen glikol içeren ortamda ise tüm izolatlarda gelişme olduğu tespit edilmiştir. Ancak spor oluşumu görülmemiştir. Şekil 4.14-4.16'da izolatların PEG içeren ortamda izolatların koloni gelişimleri gösterilmiştir.



Şekil 4. 14. İzolatların % 10'luk polietilen glikol içeren ortamda gelişimleri



Şekil 4. 15. İzolatların % 20'lik polietilen glikol içeren ortamda gelişimleri

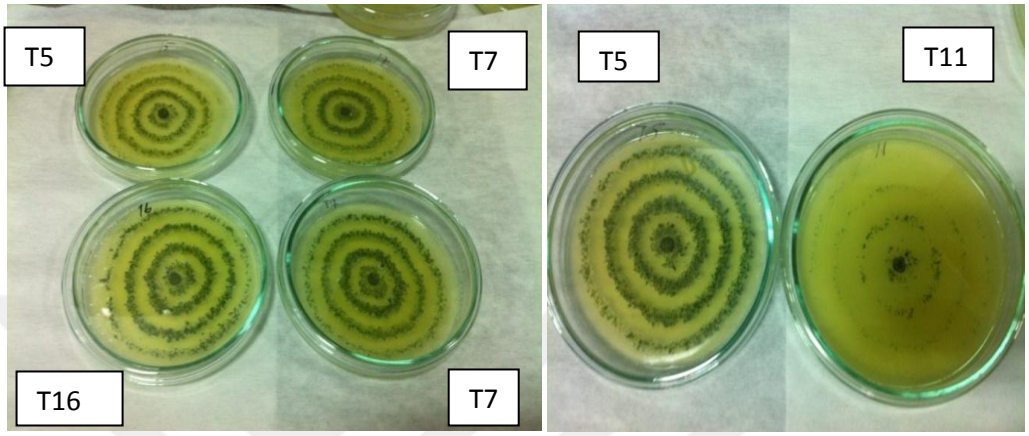


Şekil 4. 16. İzolatların % 30'luk polietilen glikol içeren ortamda gelişimleri

4.1.1.7. *Trichoderma sp.* izolatlarının enzim aktiviteleri

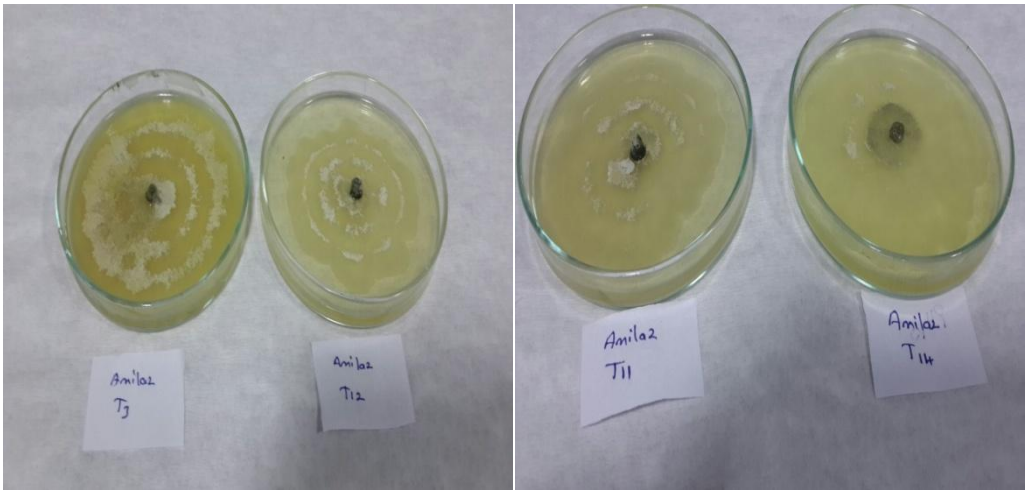
Trichoderma sp.'nin T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18 izolatlarının enzim aktiviteleri farklı besiyerlerinde incelenmiştir (Çizelge 4.5). *Trichoderma* izolatlarının farklı ortamlada farklı gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir. Lipaz içeren ortamda bulunan izolatların tümünde gelişme görülmüştür. *Trichoderma sp.* izolatlarından; T1, T12, T6, T5, T15, T16, T14, T7, T2, T13 ve T17'nin fazla miktarda spor oluşturduğu

görülmüştür. T3, T8, T9, T10, T4, T11 ve T18 izolatları ise diğer izolatlara göre zayıf gelişme göstermiştir. T5, T7, T16, T17 ve T11'in Tween 20 içeren ortamdaki gelişimleri Şekil 4.17'te verilmiştir. T5, T7, T16, T17'nin gelişimleri diğer izolatlara göre daha hızlı olmuştur.



Şekil 4.17. İzolatların lipaz (tween 20 hidrolizi) içeren ortamda gelişimleri

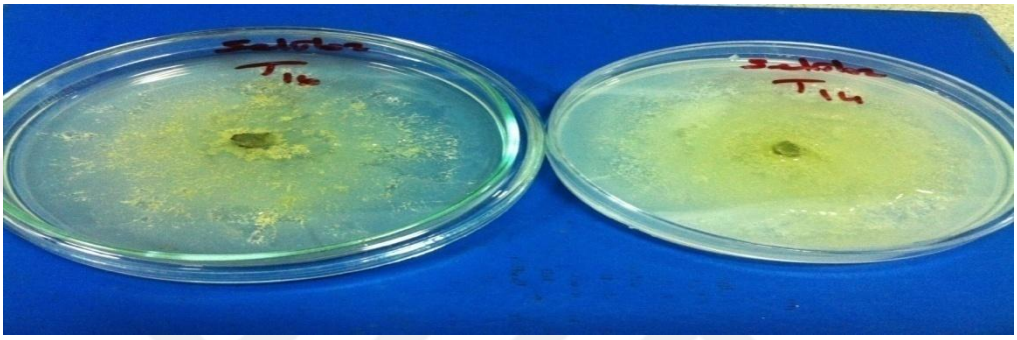
Amilaz içeren ortamda *Trichoderma sp.*'nin; T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18 izolatları gelişmiş ve koloni etrafında açık sarı zon oluşturmuşlardır. *Trichoderma sp.* izolatlarının tümünde amilazın pozitif olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.18'te T3, T12, T11, T14'ün amilaz içeren ortamda gelişimleri verilmiştir.



Şekil 4.18. İzolatların amilaz içeren ortamda gelişimleri

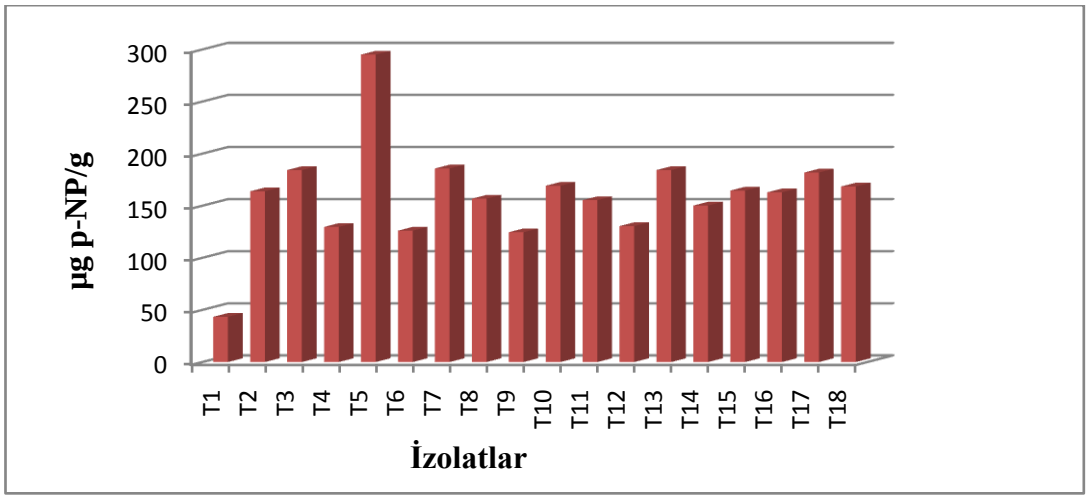
Selluloz içeren besiyerinde izolatlardan; T1, T2, T5, T6, T11, T13, T16 ve T17'nin ortamın rengini açtıkları; T3, T4, T9, T10, T12 ve T15'in ise zayıf gelişme gösterdikleri belirlenmiştir. T8'in diğer izolatlara göre oldukça zayıf gelişme göstermiştir.

Ayrıca T14 izolatında ise renk değişimi ve zon oluşumu gözlenmemiştir. Şekil 4.19'de T16 ve T14'ün selüloz içeren ortamda gelişimleri verilmiştir.



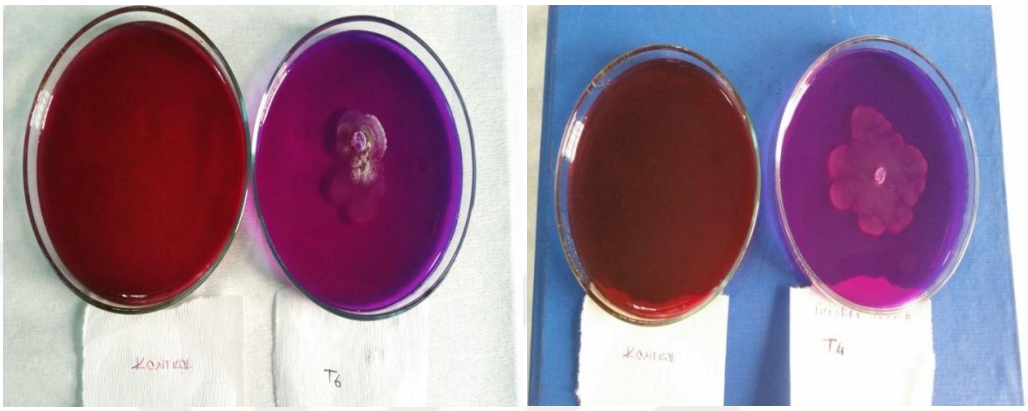
Şekil 4.19. T14 ve T16'nın sellüloz içeren ortamda gelişimleri

İzolatların alkalin fosfataz enzim aktiviteleri incelenmiştir (Şekil4.20). Şekil 4.20 incelendiğinde en yüksek alkalin fosfataz aktivitesi T5 izolatında 295.1 µg p-NP/gml olarak belirlenmiştir. T5'i sırasıyla; T7, T3 ve T17 izolatları izlemiştir. En düşük alkalin fosfataz aktivitesi T1 izolatında 43.4 µg p-NP/gml olarak alınmıştır (Şekil4.20).



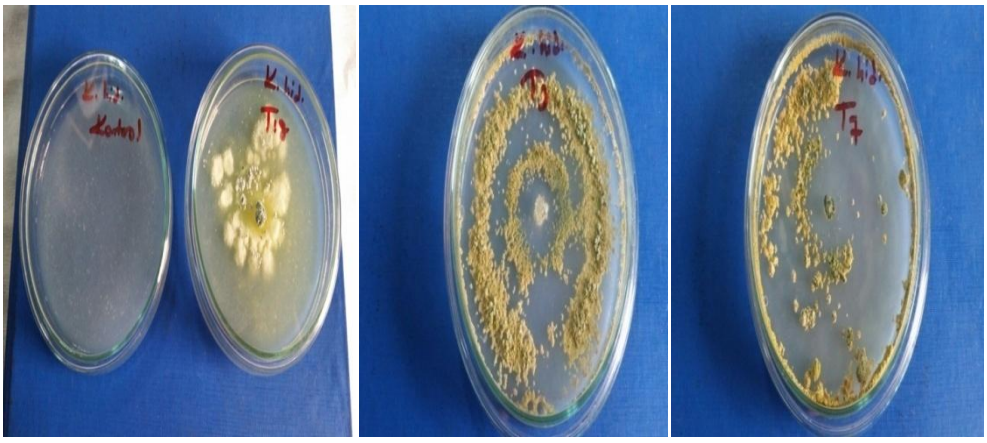
Şekil4.20. İzolatların alkalin fosfataz enzim aktiviteleri (µg p-NP/g)

Trichoderma sp. izolatlarının üreaz enzim aktiviteleri incelendiğinde, izolatların üre içeren ortamda tümünün geliştiği saptanmıştır. İzolatlardan T18, T5, T10, T16 ve T6'nın spor oluşturduğu tespit edilmiştir. İzolatların tümü ortam rengini değiştirmiştir. T6, T4'ün üreaz içeren ortamdaki gelişimleri Şekil 4.21'da verilmiştir.



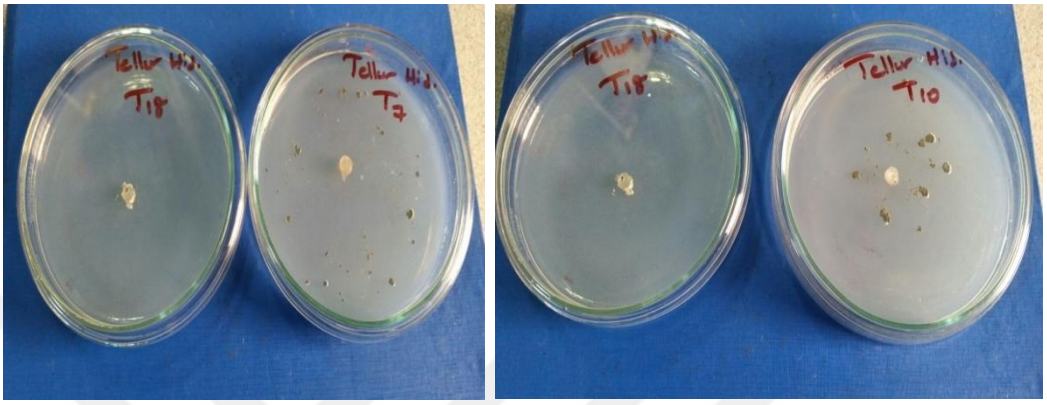
Şekil 4.21. İzolatların üre bulunan ortamda gelişimleri

Trichoderma sp. izolatlarından; T3, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11,T15 ve T16 izolatları kazein içeren ortamda geliştirildiklerinde, koloni etrafında açık zon oluşturmuşlardır ve kazeini hidroliz etmişlerdir. T1, T2, T4, T12, T13, T14, T17 ve T18 izolatlarının ise kazeini hidroliz etmediği incelenmiştir. Şekil 4.22'de T7, T3, T18 izolatlarının kazein hidrolizi verilmiştir.



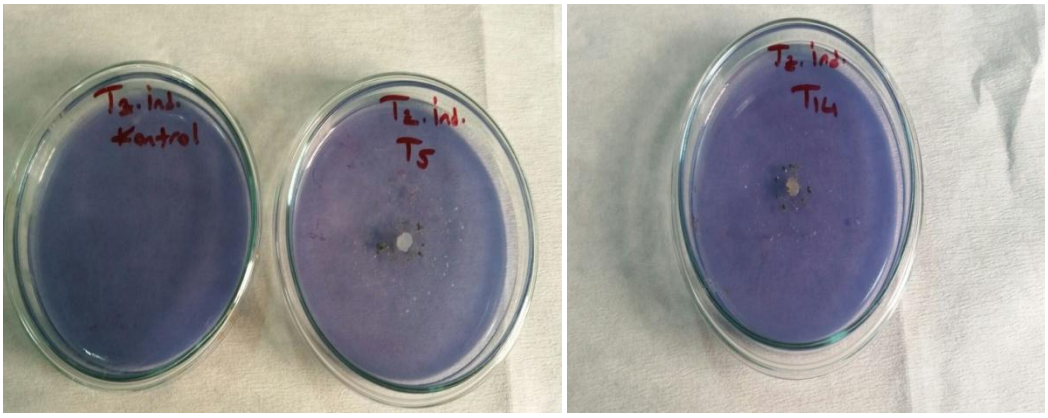
Şekil 4.22. T17, T3 ve T7 izolatlarının kazein içeren ortamdaki gelişimleri

Tellur içeren ortamda T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17 izolatlarının gelişme göstermiştir. T7 izolatında misel ve spor oluşturduğu, buna karşın T18'in ise sadece misel oluşturduğu belirlenmiştir. Şekil 4.23'de T18, T10, T17'nin tellur içeren ortamda gelişimleri verilmiştir.



Şekil 4.23. İzolatlardan T18, T7, T10'un tellur içeren ortamda gelişimleri

Tetrazolium blue klorür eklenen ortamda bulunan *Trichoderma sp.* izolatlarının tümünde gelişme görülmüştür. T16 izolatı diğer izolatlara göre hızlı gelişme göstermiştir. Ayrıca daha yoğun spor oluşturmuştur. Şekil 4.24'de T5 ve T14 izolatının tetrazolium blue klorür içeren ortamdaki gelişimleri verilmiştir.



Şekil 4.24. T5ve T14'ün tetrazolium indirgenmesindeki gelişimleri

Çizelge 4.6. *Trichoderma sp.* izolatlarının enzim aktiviteleri

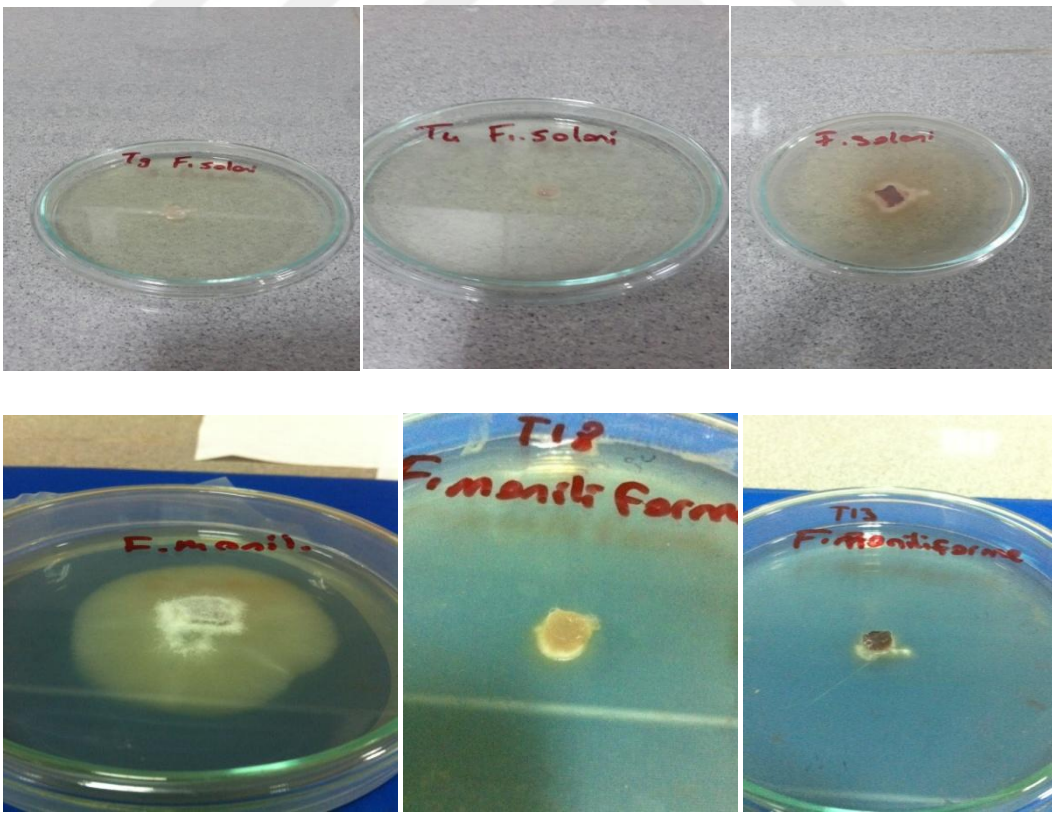
	***Trichoderma sp.* izolatları**																	
Özellikler	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18
Nişasta Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kazein Hidrolizi (amilaz)	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-
Selluloz Hidrolizi (sellülaz)	+	+	+	+	+	+	+ z	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ z
Tween 20 Hidrolizi (lipaz)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ z	+	+	+	+	+	+	+	+ z
Jelatin Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Alkalin fosfataz aktivite (µg P-NP/g)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetrazolium İndirgenmesi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ z
Tellur Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Üreolitik aktivite	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Z = zayıf gelişme, + = pozitif, - = negatif

4.1.2. *Trichoderma sp.* izolatlarının antifungal özelliklerinin belirlenmesi

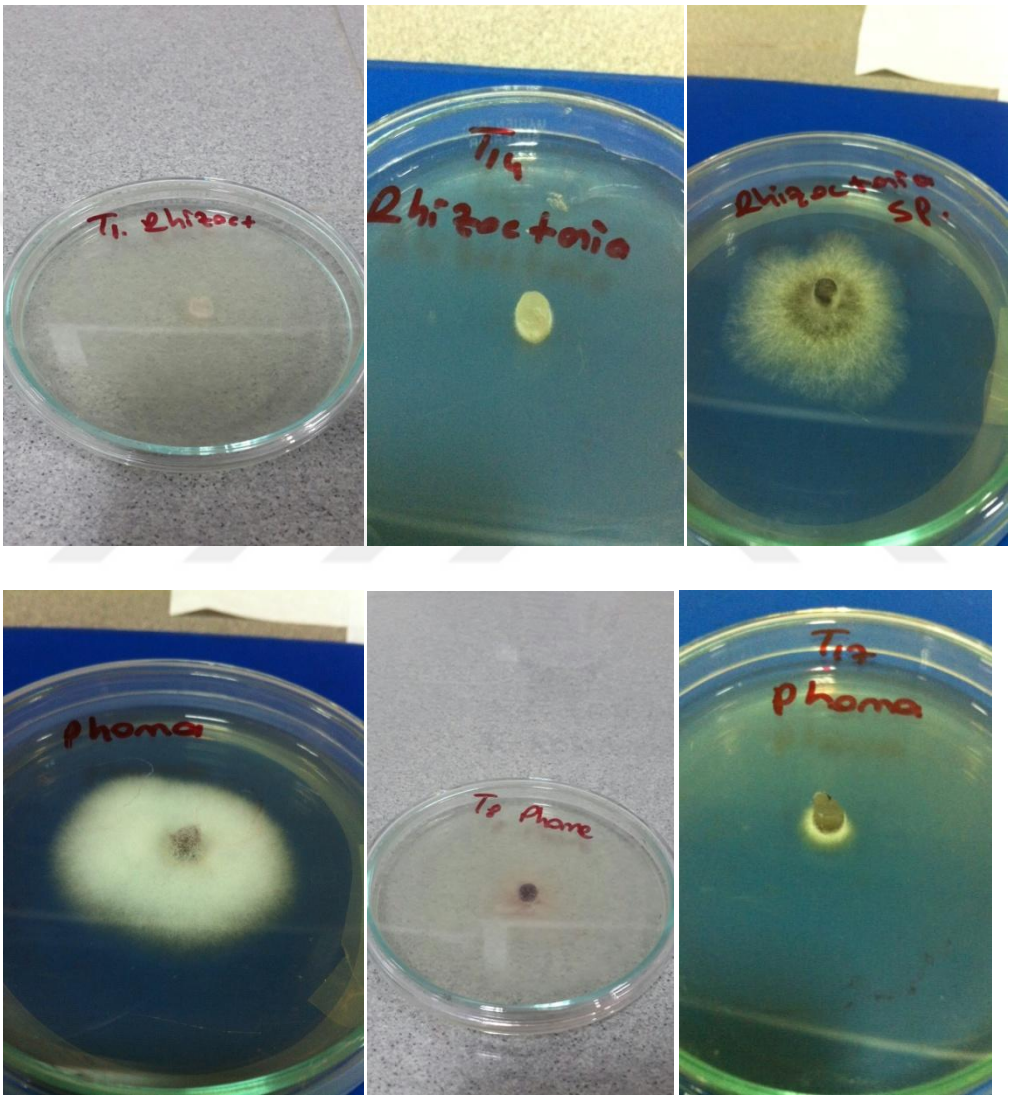
4.1.2.1. Uçucu olmayan metabolitlerin üretimi

Filtrat ile yapılan deneylerde *F.chlamydosporum'*a karşı; T11, *F.moniliforme'*ye; T3, T6, *F.culmorum'*a;T13, T14, T18, *F.solani'*ye; T5, T6, T7, T9, T15, T16, *F.verticillioides'*e; T2, T3, T4, *Phome'*ye; T3, T4, T12, *A.rabiei'*ye; T2, T4, T5, T7, *B.sorokiniana'*ya; T11, T12, T13, T15, *M.phaseolina'*ya; T12, T13, T15, T17, T18, *Rhizoctonia'*ya; T14, T15 ve T16 en etkili izolatlar olmuştur. Bütün patojenlere karşı etkili tek bir *Trichoderma sp.* izolatı olmamakla birlikte, *Trichoderma sp.* izolatlarından T14 ve T15 izolatlarının fitratı diğer izolatların filtratlarına göre daha fazla patojene etkili olmuştur. Patojenler içinde filtratlara en dirençli; *B.sorokiniana*, *M.phaseolina* olarak belirlenmiştir (Şekil 4.25). Patojenlerin *Trichoderma sp.* izolatlarının filtratlarının bulunduğu besiyerindeki gelişimleri Şekil 4.25 – 4.26'da verilmiştir.



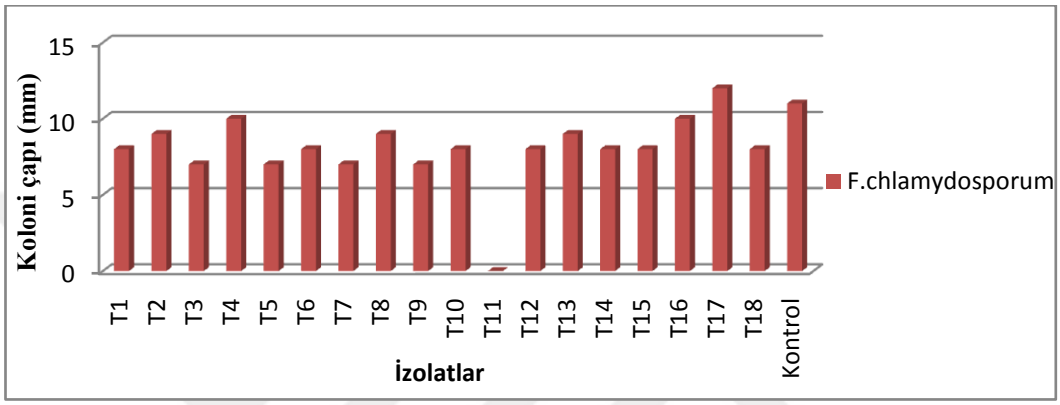
Şekil 4.25. İzolatların *F.solani* ve *F.moniliforme'*ye karşı izolatların filtartlarının etkisi

Trichoderma sp. izolatlarının bitki patojenlerinin gelişmesini uçucu metabolit üreterek engelledikleri belirlenmiştir. T1 ve T14 izolatları uçucu olmayan metabolitler üreterek *Rhizoctonia solani*'nin gelişimini, T8 ve T17 izolatları ise *Phoma sp.*'nin gelişimini uçucu olmayan metabolitler ile engellemişlerdir (Şekil 4.26).

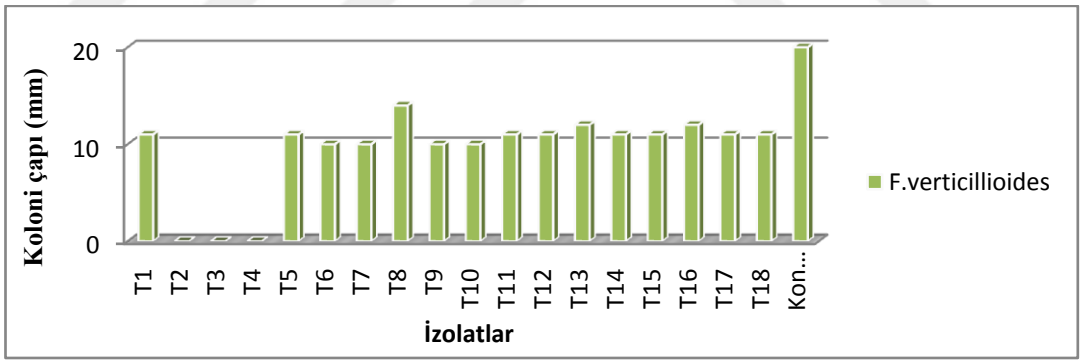


Şekil 4.26. *Rhizoctonia* ve *Phome sp.*'nin gelişmesi üzerine izolatların filtratlarının etkisi

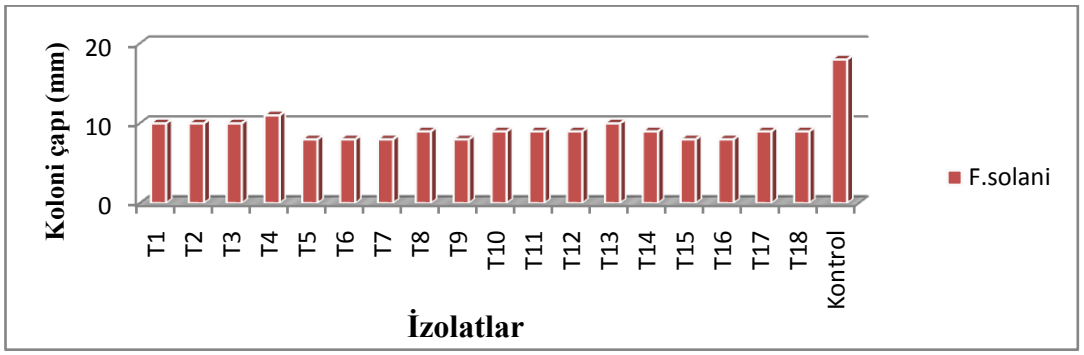
F.chlamydosporum'un T11 izolatının filtratında, *F.culmorum*'un T18 izolatının filtratında, *F.verticillioides*'in T2, T3 ve T4 izolatlarının filtratlarının bulunduğu besiyerinde gelişim göstermedikleri tespit edilmiştir. *Trichoderma sp.* izolatlarının uçucu olmayan metabolitlerinin bitki patojenlerinin gelişimlerine etkileri Şekil 4.27 - 4.36'te verilmiştir.



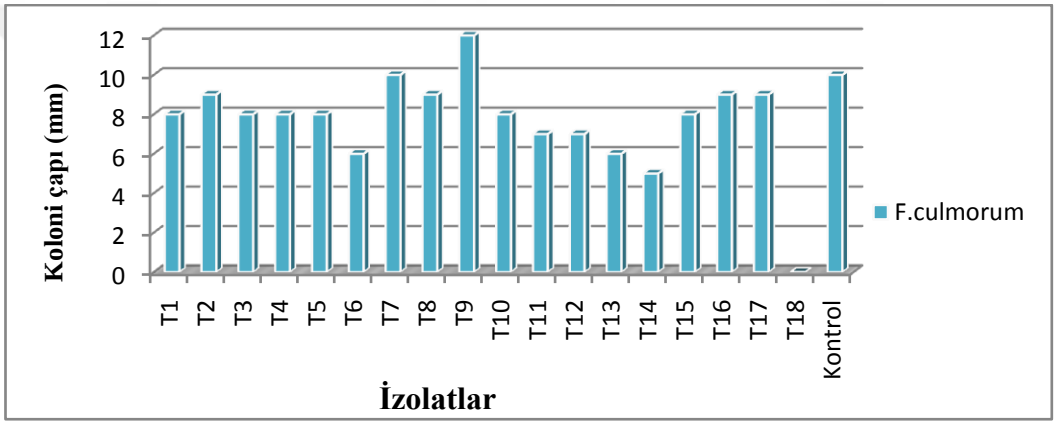
Şekil 4.27. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.chlamydosporum*'un gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



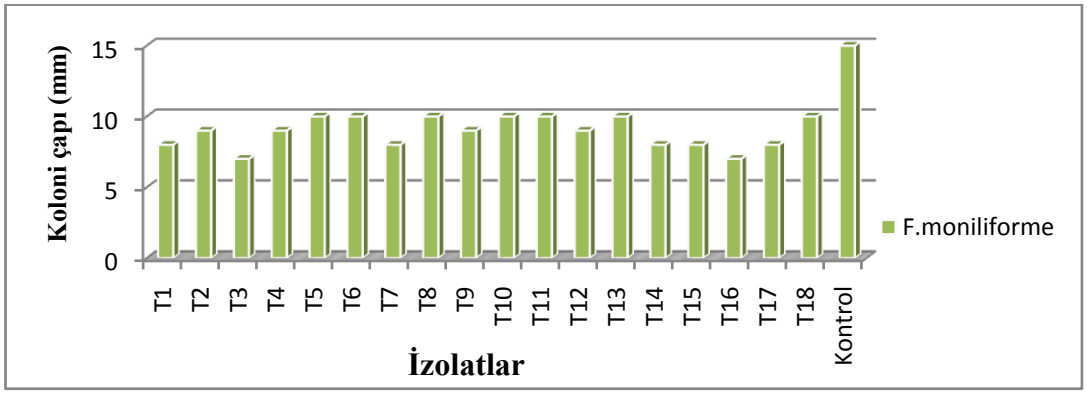
Şekil 4.28. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.verticillioides*'in gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



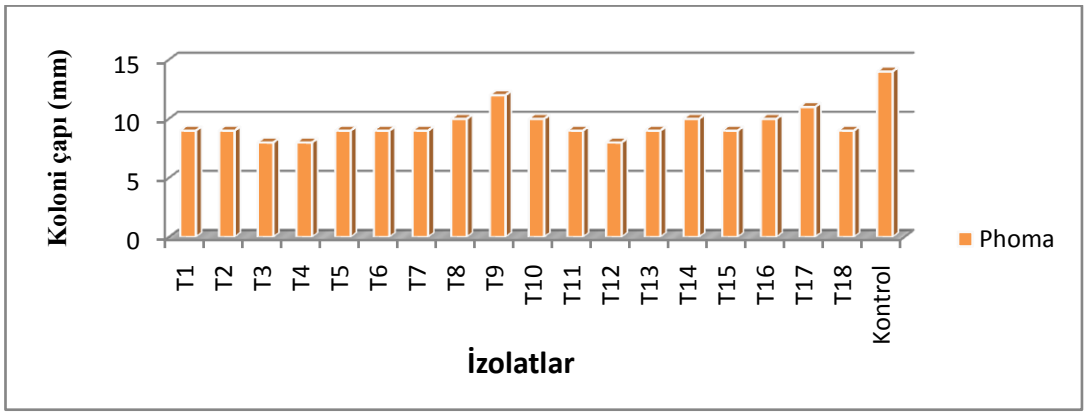
Şekil 4.29. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.solani*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



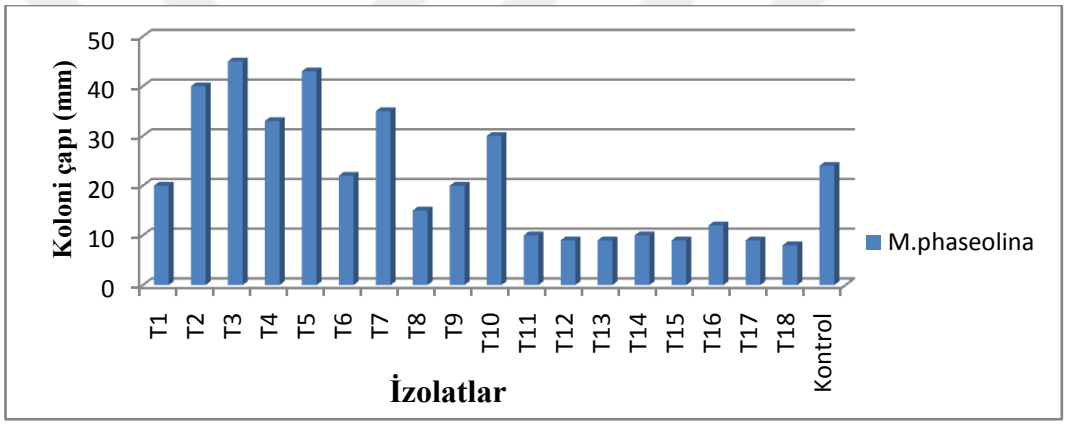
Şekil 4.30. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.culmorum*'un gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



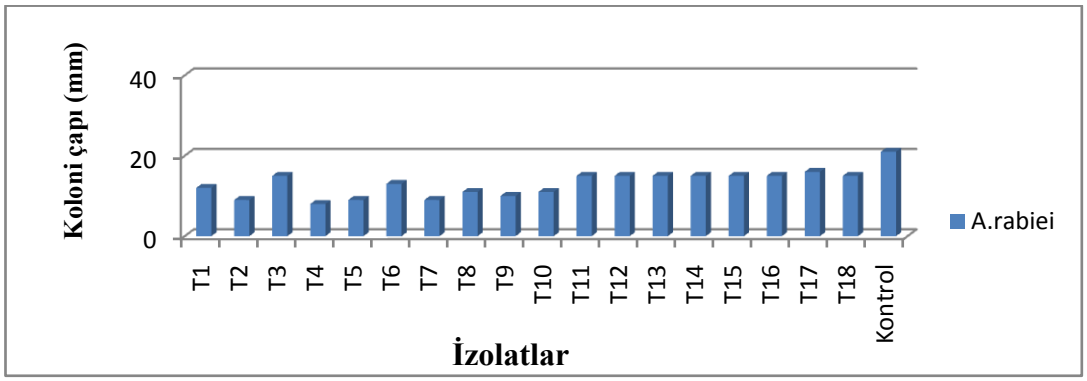
Şekil 4.31. *Trichoderma sp.* izolatlarının *F.moniliforme*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



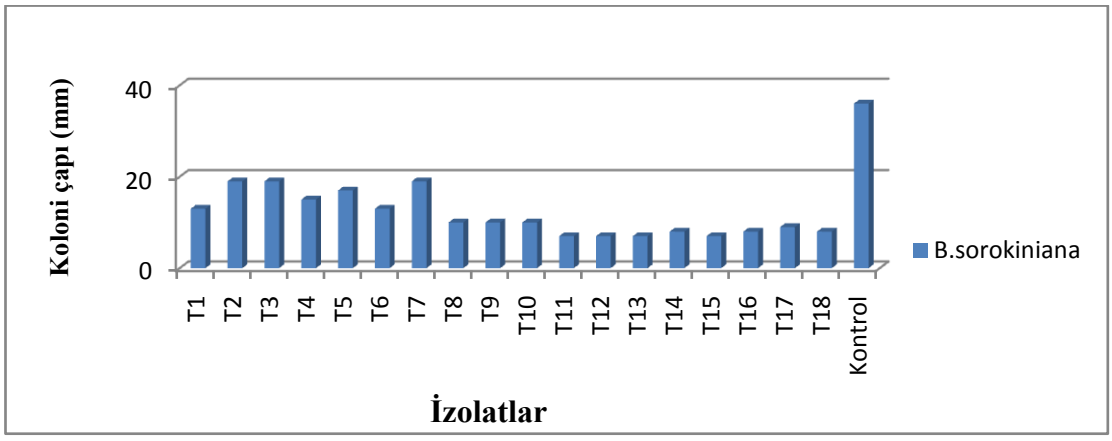
Şekil 4.32. *Trichoderma sp.* izolatlarının *Phoma sp.*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



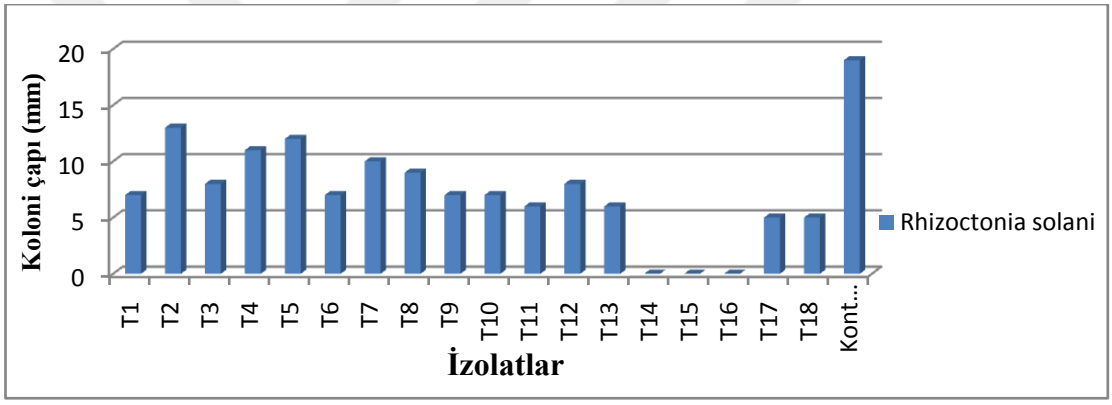
Şekil 4.33. *Trichoderma sp.* izolatlarının *M.phaseolina*'nın gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



Şekil 4.34. *Trichoderma sp.* izolatlarının *A.rabiei*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



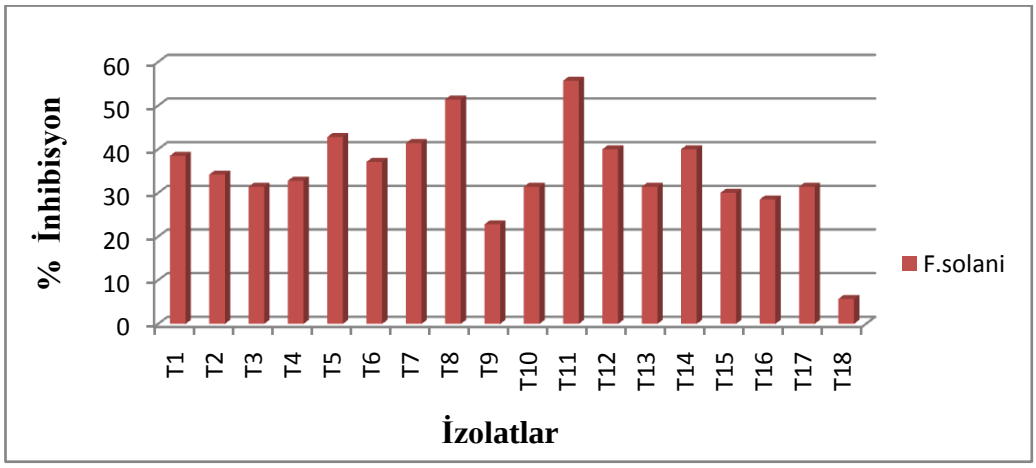
Şekil 4.35. *Trichoderma sp.* izolatlarının *B.sorokiniana*'nın gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri



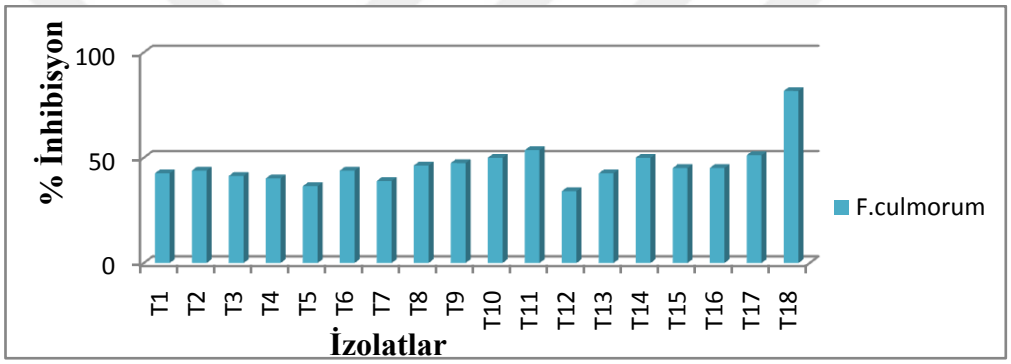
Şekil 4.36. *Trichoderma sp.* izolatlarının *Rhizoctonia solani*'nin gelişimine uçucu olmayan metabolitlerin etkileri

4.1.2.2. Uçucu metabolitlerin üretimi

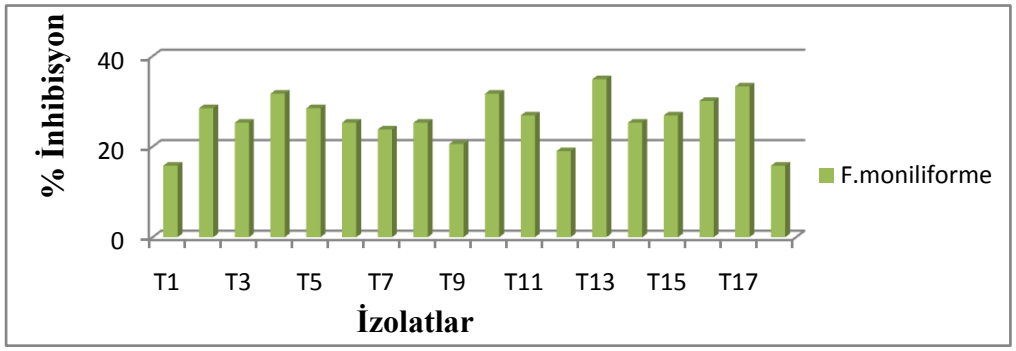
Şekil 4.37 – 4.46'te patojenlerin gelişimleri üzerine *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin etkisi verilmiştir.



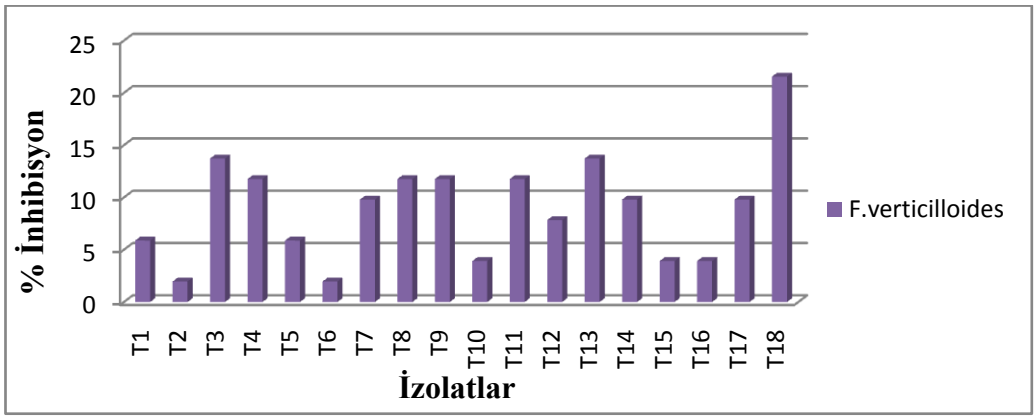
Şekil 4.37. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.solani'*nin gelişimine etkisi



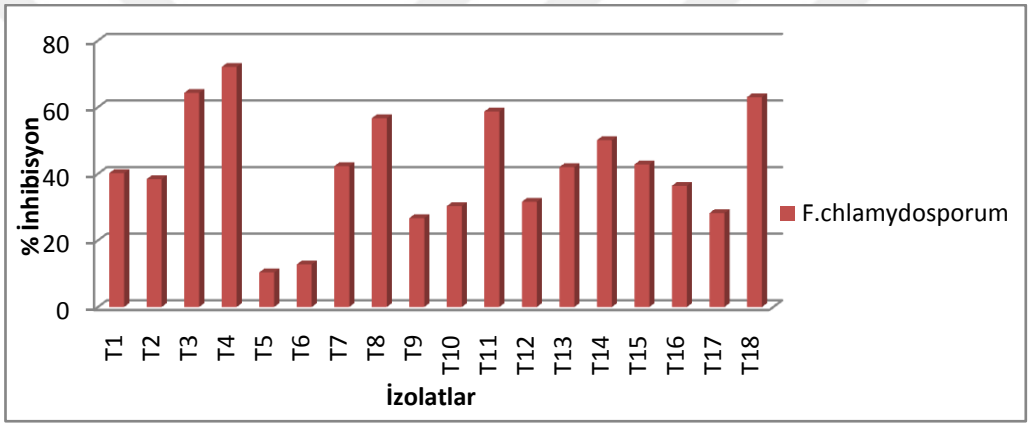
Şekil 4.38. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.culmorum'*un gelişimine etkisi



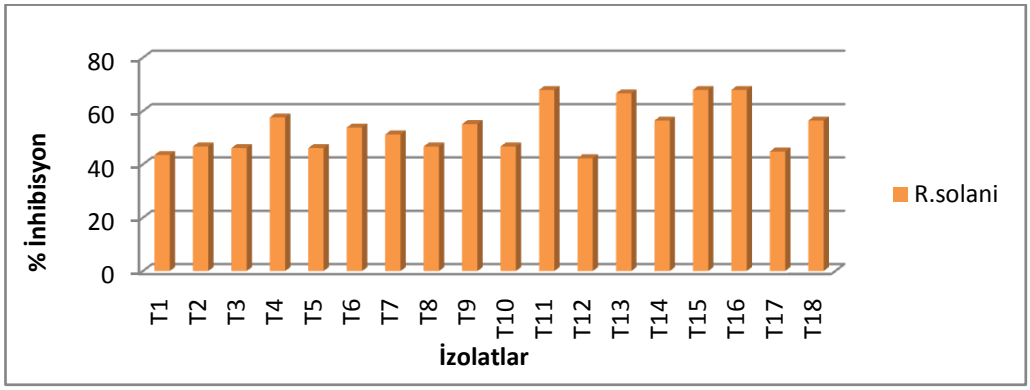
Şekil 4.39. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.moniliforme'*nin gelişimine etkisi



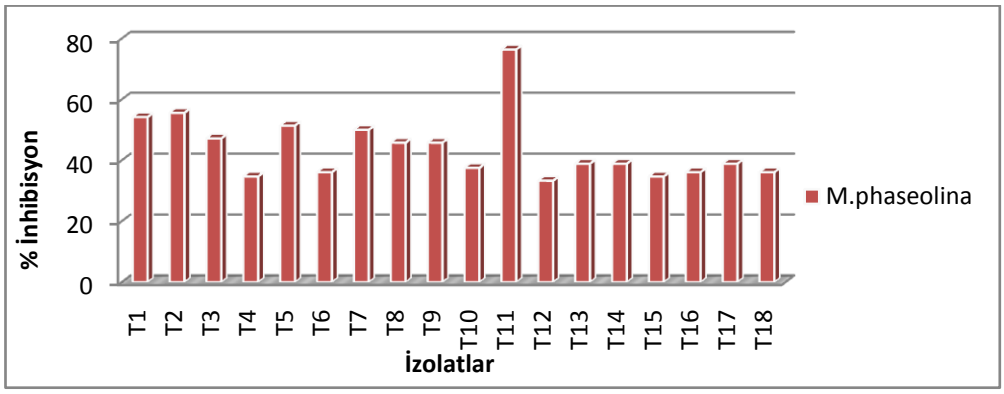
Şekil 4.40. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.verticillioides'*in gelişimine etkisi



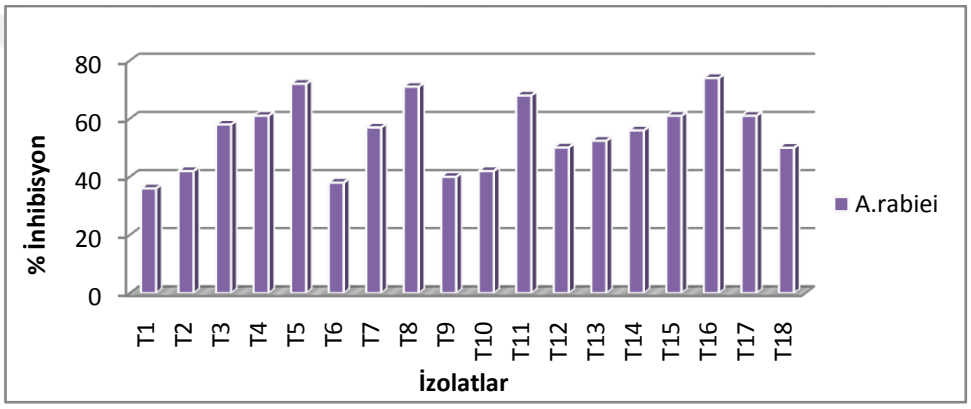
Şekil 4.41. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *F.chlamydosporum'*un gelişimine etkisi



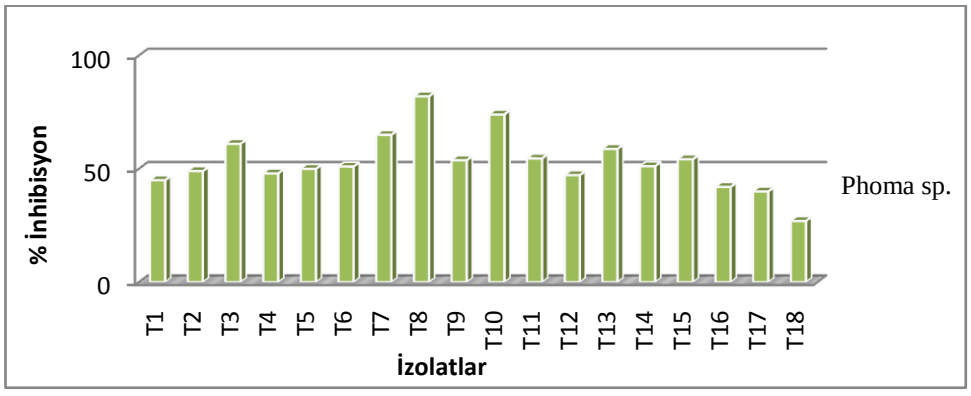
Şekil 4.42. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *Rhizoctonia solani'*nin gelişimine etkisi



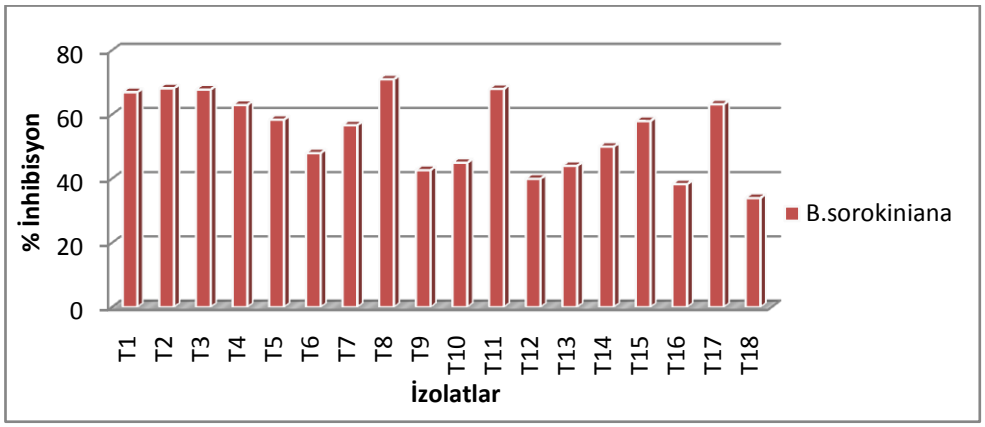
Şekil 4.43. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *M.phaseolina'*nın gelişimine etkisi



Şekil 4.44. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *A.rabiei*'nin gelişimine etkisi



Şekil 4.45. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *Phoma sp.*'nin gelişimine etkisi



Şekil 4.46. *Trichoderma sp.* izolatının uçucu metabolitlerinin *B.sorokiniana'*nın gelişimine etkisi

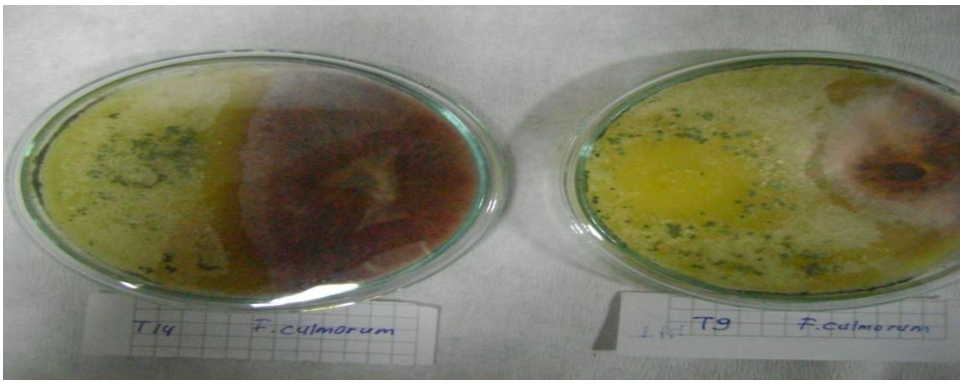
4.1.3. Fungal inhibisyon testleri

PDA içeren ortama bitki patojeni funguslar ve *Trichoderma sp.* izolatları aynı anda inokule edilmiştir. *Trichoderma sp.* izolatlarının hepsi inkübasyondan 2 gün sonra hızla gelişmeye başlamıştır. *Trichoderma sp.* izolatlarının, patojen funguslar; *F.chlamydosporum, F.moniliforme, F.verticillioides, F.solani, F.culmorum, Rhizoctonia solani, Phoma sp., M.phaseolina, A.rabiei, B.sorokiniana'*a karşı inhibisyon oranları karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.7). İzolatlardan T16, T10 ve T8; *F.solani'*yi % 84.4, % 82.2 ve % 82.2 oranında inhibe etmişlerdir. *F.solani'*nin en düşük inhibisyonu % 60 ile T17'den alınmıştır (Çizelge 4.7). *Rhizoctonia solani'*ye karşı T6, T9 ve T16 izolatları % 68.8 ile etkili bulunmuşlardır. *Rhizoctonia solani'*ye karşı en düşük inhibisyon değeri T7 ve T13 izolatlarından alınmıştır (Çizelge 4.7). *F.moniliforme'*ye karşı en yüksek inhibisyon %'si T10'dan, en düşük inhibisyon %'si T17'den alınmıştır. *Phoma sp.'*e karşı en yüksek inhibisyon ortamı T2 ve en düşük inhibisyon %'si ise T18'den alınmıştır. *A.rabiei'*ye karşı en yüksek % inhibisyon T21'den alınırken en düşük inhibisyon %'si T18'den alınmıştır. *B.sorokiniana'*ya karşı en yüksek inhisyon %86.1 ile T4'ten alınırken, en düşük inhibisyon % 45 ile T12 izolatından alınmıştır (Çizelge 4.7).

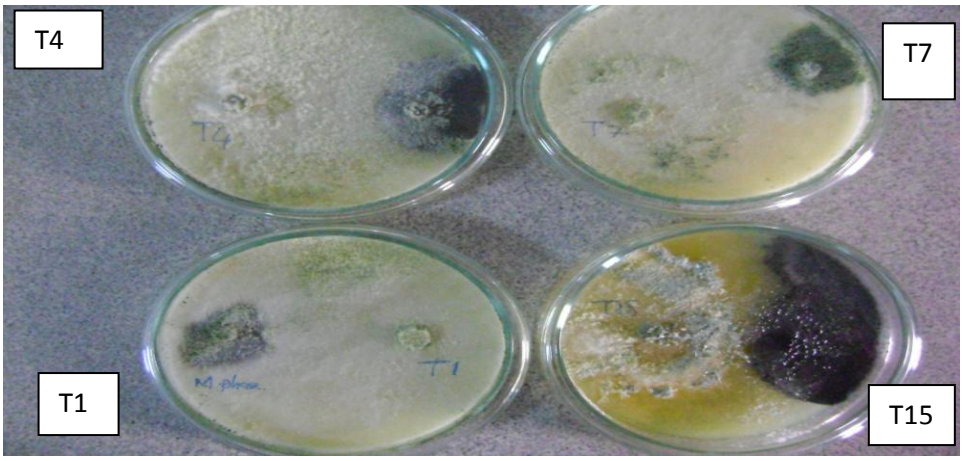
İzolatların *M.phaseolina'*yı inhibisyonları % 41.7 ile % 83.3 arasında değişiklik göstermiştir. *M.phaseolina'*ya karşı en etkili izolat T17 olarak belirlenirken, en düşük inhibisyon T7'den alınmıştır. *F.culmorum'*a karşı en yüksek inhibisyon % 70 ile T6'dan alınırken, bunu % 67.5 ile T3 izlemiştir (Çizelge 4.7). % 83.3 *F.verticillioides'*in gelişimini T3 ve T8 inhibe etmiştir. İzolatların *F.chlamydosporum'*un gelişimi üzerindeki inhibisyon oranları diğer patojenlere göre daha yüksek olmuştur. İzolatlarımız *F.chlamydosporum'*un gelişimini % 92.6 ile % 77.9 arasında engellemişlerdir (Çizelge 4.7). İzolatların patojenlerin gelişimleri üzerindeki antagonistik aktiviteleri Şekil 4.47 – 4.50'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. *Trichoderma sp.*'nin fungal bitki patojenlerine inhibisyonu (%)

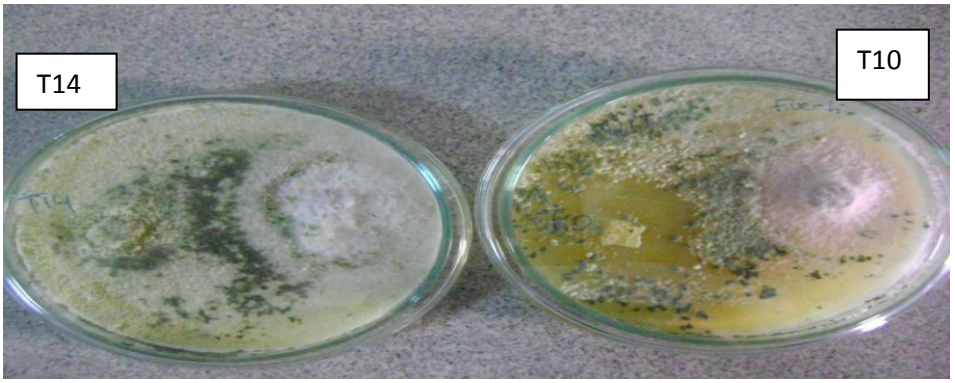
	Fungal bitki patojenleri									
***Tricchoderma sp.* izolatları**	*F.solani*	*F.moniliforme*	*F.chlamydosporum*	*F.verticillioides*	*F.culmorum*	*R.solani*	*M.phaseolina*	*A.rabiei*	*B.sorokiniana*	*Phoma sp.*
T1	71,1	65,7	92,6	56,7	60	65	73,3	72,8	75,7	62
T2	77,8	71,4	83,8	63,3	45	62,5	63,3	64,1	64	86
T3	64,4	65,7	88,2	83,3	67,5	60	73,3	65	56,1	77
T4	77,8	71,4	79,4	83,3	50	62,5	66,7	82,4	86,1	60
T5	77,8	57,1	92,6	33,3	63	62,5	66,7	55,5	65,4	47,6
T6	17,8	65,7	82,3	53,3	70	68,8	53,3	80	60	71
T7	77,8	68,5	82,3	50	40	50	41,7	51,2	80,6	57
T8	82,2	71,4	85,2	60	25	68,5	73,3	77	73,4	76
T9	77,8	65,7	91,1	56,7	37,5	68,8	56,7	68,8	79,8	61
T10	82,2	82,8	85,2	50	40	58,8	66,7	63,4	72,1	64
T11	80	57,1	80,8	53,3	50	60	43,3	57,8	73,8	56,8
T12	73,3	65,7	86,7	46,7	47,5	65	60	86,1	45	52
T13	77,8	71,4	83,8	50	52,5	50	60	48,4	58	60
T14	73,3	71,4	77,9	63,3	42,5	62,5	60	60,4	51	53,4
T15	73,3	62,5	79,4	56,7	35	60	50	56,7	47,5	45,8
T16	84,4	68,5	82,3	50	55	68,8	53,3	84,6	54,6	54,6
T17	60	60	85,2	60	35	57,1	83,3	54,4	46,6	51
T18	64,4	62,8	79,4	40	37,5	50,4	50	45,2	49,6	44,6



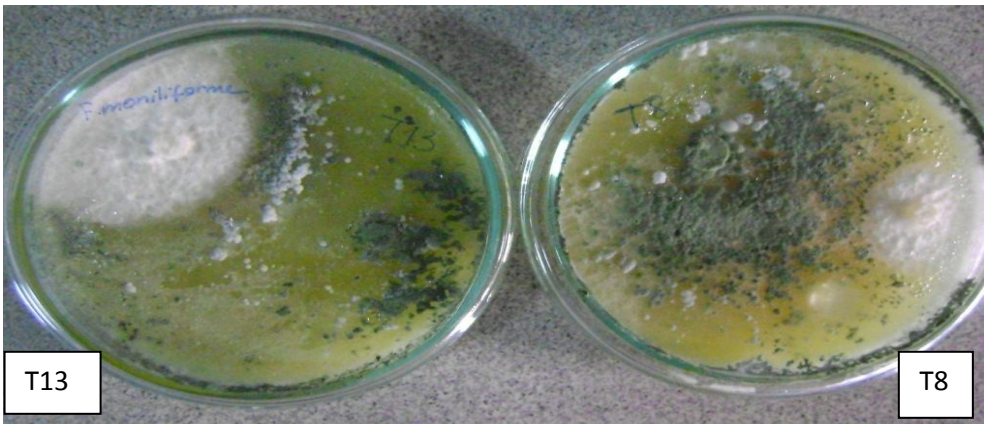
Şekil 4.47. T14 ve T9 izolatlarının *F.culmorum'*un gelişimine etkileri



Şekil 4.48. T1, T4, T7, T15 izolatlarının *M.phseolina'*nın gelişimine etkileri



Şekil 4.49. T14 ve T10 izolatlarının *F.verticillioides'*in gelişimine etkileri



Şekil 4.50. T13 ve T8 izolatlarının *F.moniliforme'*nin gelişimine etkileri

4.1.4. *Trichoderma sp.* izolatının çimlenmeye etkisi

İzolatların filtratları ile bulaştırılan sterilizasyonları yapılmış fasülye tohumları petri kutularında çimlendirilmiştir. 10 gün sonra çimlenme oranlarına baktığımızda en iyi çimlenmenin T5, T8, T10 ve T16 izolatlarının % 100 süpernatantlarının bulunduğu ortamda olduğu görülmüştür. Kök uzunluğunun T16'da 4.5cm olduğu tespit edilmiştir. T12'de ise çimlenme görülmemiştir. izolatların %50'lik filtratlarının bulunduğu ortamlarda çimlenme en iyi T9'da olmuştur. T3'te kök uzunluğu 5.5 cm olarak ölçülmüştür. T10, T11, T16'nın filtratları ile bulaştırılan fasülye tohumlarında çimlenme görülmemiştir. Fasülye tohumları üzerinde *Trichoderma sp.* izolatlarının kültür filtratlarının etkisi Çizelge 4.8'de verilmiştir. En yüksek çimlenme T5 izolatının % 100'lük kültür filtratından alınmıştır. Bunu T6, T8, T10 ve T16 izolatlarının % 100'lük kültür filtratları izlemektedir. En düşük çimlenme yüzdesi izolatların % 100'lük kültür filtratlarının bulunduğu ortamlardan T12'de hiç çimlenme görülmezken bunu % 20'lik oranla T4, T7, T15 ve T17 izlemektedir (Çizelge 4.8). İzolatların % 50'lik kültür filtratlarından en yüksek çimlenme yüzdesi T9'dan alınırken, bunu T6, T7, T12, T13 izolatları izlemiştir. En düşük çimlenme yüzdesi ise T10, T11 ve T16 izolatlarının kültür filtratlarından alınmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Fasülyenin çimlenmesinde *Trichoderma sp.* izolatlarının kültür filtratlarının etkisi

İzolatlar	Konsatrasyon (%)	Çimlenme oranı (%)	Kök uzunluğu (mm)
T1	% 100	40	3,5
	% 50	40	2
T2	% 100	60	2
	% 50	40	3,5
T3	% 100	40	1,8
	% 50	40	7,5
T4	% 100	20	2
	% 50	60	3,2
T5	% 100	80	3
	% 50	40	1,5
T6	% 100	80	3
	% 50	80	1,8
T7	% 100	20	1,2
	%50	80	3,5
T8	% 100	80	3
	% 50	20	1
T9	% 100	40	2
	% 50	100	2,1
T10	% 100	80	2,2
	% 50	—	—
T11	% 100	40	2,2
	% 50	—	—
T12	% 100	—	—
	%50	80	4,5
T13	% 100	40	2
	%50	80	1,5
T14	% 100	60	2,7
	%50	20	0,5
T15	% 100	20	2,5
	% 50	60	4,5
T16	% 100	80	4,5
	%50	—	—
T17	% 100	20	2,5
	% 50	20	2

Çizelge 4.8 **(devam)**

T18	**% 100**	**60**	**1,8**
	% 50	**60**	**1,5**

4.2. Tartışma

T.viride; yer, besin ve rekabetten kaynaklanan etkiyle bitki patojeni fungusların büyümesini engellemekte ve patojenden çok daha hızlı büyüyerek ortamdaki bitki patojeni fungusları inhibe etmektedir. Fungal patojenlerin biyokontrolünde mikroorganizmaların rekabeti sonucu, ortamda besinlerin azalmasının ölümlere neden olduğu açıklanmıştır (Siameto ve ark., 2010). İzolatlarımız, patojenlere karşı daha hızlı gelişme göstermiş, bu nedenle patojenlerin gelişmeleri azalmıştır. Bu da izolatlarımızın patojenler üzerinde etkili rekabetçi olduğunu göstermektedir.

Almeida ve ark., (2007), tarafından yapılan çalışmada *T.viride* ve *R.solani* arasındaki etkileşim ve büyüme inhibisyonunun 3-4 gün içerisinde meydana geldiği bildirilmiştir. Çalışmamızda da izolatlarımız inokulasyondan sonra hızla gelişme göstermiş ve izolatlardan; T6, T9, T16'nın *R.solani* gelişimini % 68,8 oranında engellemişlerdir.

Kakde ve Chavan (2011a), *T.harzianum'*un *Penicillium* ve *Penicillium chrysogenum'*un büyümesi üzerine etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda bitki patojenlerinin büyümesini engelleyen en etkili inhibitör olarak *T.viride* ve *T.harzianum* olarak bildirilmiştir (Poddar ve ark. 2004; Lone & Bowen 2005; Dubey ve ark. 2007; Hajieghrari ve ark. 2008).

Trichoderma izolatları tarafından, *Trichodernin, Trichodermol, Harzianum A* ve *Harzianolide* gibi antibiyotiklerin ürettildiği bilinmektedir (Siameto ve ark., 2010; Dennis ve ark., 1971). Kültür ortamında *Trichoderma* izolatları tarafından üretilen filtratların patojenler üzerinde toksik etki yaptığı tespit edilmiştir ((Siameto ve ark., 2010; Dennis ve ark., 1971). Çalışmamızda da, T2, T3 vee T4 izolatları tarafında üretilen filtrat içeren ortamlarda *F.verticillioides'*in gelişme göstermemesi araştırıcıların bulgularıyla uyumlu olduğu belirlenmiştir. T2, T3 ve T4 izolatlarının fitratları *F.verticillioides* gelişimi üzerine toksik etki yaparak gelişimini engellemiş olabilir. Ayrıca; T1 ve T4 izolatlarının filtratları *R.solani* gelişimini, T8 ve T17 izolatlarının filtratları *Phoma sp.'*nin gelişimini engelleyerek etkili olmuşlardır.

Çift kültürdeki *P.ultimum* ve *T.harzianum* arasındaki etkileşim ve inhibisyon bölgesinin oluşması, uçucu ve uçucu olmayan metabolit üretimini esas alarak *T.harzianum*'un ekstraselüler mikolitik enzim aktivitesi üzerinde çalışmalar yapılmıştır (El-Katatny, 2001).

Cutler ve ark. (1986-1989), *T.harzianum* ve *T.koningii* tarafından sekonder metabolitlerin üretimi ve tanımlamasını yapmışlardır. Araştırıcılar *Trichoderma* izolatları tarafından üretilen metabolitlerin bitki büyümesini arttıran düzenleyiciler olarak kullanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Trichoderma türlerinin sekonder metabolitleri; yüksek konsantrasyonlarda patojen gelişmesini önleyici olarak bulunmuştur ve bu metabolitlerin 10^{-5} ve 10^{-6} M arasında optimum etkinliğe sahip olduğu oksin benzeri bileşikler özellikler göstererek bitki gelişimini arttırdığı ileri sürülmüştür (Thimann, 1937; Cleland, 1972; Brenner, 1981).

Monterio ve ark. (2010); *T.harzianum'*un oluşturdukları appersoryum ile patojen hiflerinin etrafını sarması, *R.solani* ve *M.phaseolina* büyümesini engelleyici etkiler yapmasının, *R.solani* ve *M.phaseolina* üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

*Trichoderma spp.'*nin hiperparazitizm, inhibisyon ve antibiyosis gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla etki yaptığı bilinmektedir. Ramezani (2001), *T.harzianum* ve *T.viride'*nin, *M.phaseolina'*nın büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiğini bildirmiş ve *M.pahaseolina* üzerinde *T.harzianum'*un *T.hamatum'*dan daha büyük bir inhibisyona sahip olduğunu açıklamıştır (Ramezani, 2001). İzolatlarımızdan, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17 ve T18 tarafından üretilen uçucu olmayan metabolitler *M.phaseolina'*nın gelişimini kontrole göre oldukça azaltmıştır (Şekil 4.33). izolatlarımızla yapılan çift kültürlerimizde de izolatlarımız % 41.7 – 83.3 oranlarında *M.phaseolina* gelişimini engelledikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.7). *M.phaseolina'*a karşı en etkili izolat T17 olarak belirlenmiştir.

Birkaç bilim adamı *Trichoderma* türlerini bitki patojenlerine karşı test etmişlerdir. Pushapavati ve Chandrasekharrao (1999), tarafından yapılan bir

çalışmada fıstık ağacında kök çürüklüğüne neden olan ve sıklıkla görülen, *Sclerotium rolfsii*'e karşı *T.harzianum*'un antagonistik aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Patale ve Mukadam (2011), *Trichoderma* izolatlarında üç türün, *Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Phytophthora sp., Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani, Penicillium notatum* ve *Alternaria solani'*ye karşı antagonistik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Ambuse ve ark. (2012), *Trichoderma'*nın üç türü yani *T.viride, T.koningii* ve *T.pseudokoningii'*nin *Alternaria tenuissima'*ya karşı % 80 oranında antagonistik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Coşkuntuna ve Özer (2008), çift kültür testlerinde *F.oxysporum f. sp. cepae'*e antagonistik aktivite gösterdiğini *T.harzianum* KUEN 1585 (SimsDerma, Simbiyotek Inc.)'un, % 73,3 oranında olduğunu bildirmişlerdir. Beş farklı *Trichoderma spp.* arasından, *T.harzianum'*u takiben *T.viride'*nin in vitroda *F.oxysporum'*a karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir (Sahi 2012). İzolatlarımızdan, T16 % 84.4 ile *F.solani'*ye, T2, T4, T8, T13, T14 izolatları % 71.4 ile *F.moniliforme*'ye; T1 ve T5 izolatları % 92.6 ile *F.chlamydosporum'*a; T3 ve T4 % 83.3 ile *F.verticillioides'*e; T6 izolatı % 70 ile *F.culmorum'*a karşı antagonistik aktivite göstermişlerdir. *A.rabiei'*ye karşı T16 (% 84.6) izolatı etkili bulunurken *B.sorokiniana'*ya karşı T4 (%86.1) izolatı ve *Phoma sp.*'e karşı T2 (% 86) izolatı etkili bulunmuştur.

*T.viride'*nin uçucu metabolitlerinin *F.oxysporum, f. sp. lycopersici* (Podmodaya & Reddy 1996) ve *Rhizoctonia solani'*yi kontrol etmede etkili olduğu bildirilmiştir (Dubey & Potal 2001).

R.solani'nin meydana getirdiği pamuk fidelerindeki hastalıkların kontrolü için *T.viriens* izolatları fitoaleksinleri indüklemek için başarılı bulunmuştur (Howell ve ark., 2000).

Trichoderma bulaştırılmış olan fasülye köklerinde PAL aktiviyesi ve yapraklardaki salisilik asit seviyesinin arttığı belirlenmiştir (Harman ve ark., 2004).

Trichoderma sp. izolatlarının farklı pH düzeylerindeki gelişmelerinde farklılık gözlenmiştir. Miguel ve ark. (2007), *Trichoderma* türlerinin izolatları arasında pirinç ekili topraklarda optimum büyümeleri için pH 5.5 ve 6.5 aralığında olduğunu açıklamıştır (Miguel ve ark., 2007).

Yapılan bir araştırmada asidik pH ve alkali pH değerlerinde fungal gelişimin daha hızlı olduğu gösterilmiştir (Rousk ve ark., 2009). Benitez (2004), *Trichoderma* büyümesinin alkali topraklara göre asidik topraklarda daha hızlı olduğunu ve toprağın asitleştirilmesi ile rizosfer toprağınında etkilendiğini rapor etmiştir (Benitez, 2004). Çalışmamızda da izolatlarımızın yüksek pH derecesinde gelişme göstermemesi araştırıcıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Shafique ve ark. (2009), *T.reesei'*nin pH 4-6 arasında maksimum büyüme gösterdiğini bildirmişlerdir. *T.reesei* ve izolatlarının da *R.solani'*nin gelişmesi üzerinde etkili olduğu özellikle pH 4-6 aralığında inhibisyonun oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir (S.K. Chakravarthy ve ark., 2007).

Jackson ve ark. (1991), *T.harzianum* izolatlarının pH 4.8 ve 6.8 arasında optimum misel büyümesi gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, yüksek pH değerlerinde misel ve spor oluşumunun azaldığı belirlenmiştir. Bu da araştırıcıların çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur.

Yamanaka (2003), fungusların in vitro olarak büyümeleri için bu fungusların orman topraklarından izole edildiğinde bu toprakların pH değerinin önemli olduğunu bildirdi. Bu pH seviyeleri orman topraklarıdan izole edilen fungusların adapte olmaları için önemlidir.

Delgado ve ark., tarafından yapılan çalışmada pH'ın β-1,6-glukonaz üzerine etkisi belirtildiği gibi ekstraselüler enzim üretiminin düzenlemeside rol oynamaktadır.

Bazı bitki patojanlerinin ve üç farklı *Trichoderma* türlerinin soğuğa karşı toleranslı izolatlarının misel gelişimleri için pH'ın etkisi araştırılmıştır (Kredics ve

ark., 2000). Araştırıcılar değerlendirilen *Trichoderma* izolatlarının optimum pH 4 ve pH 2-6 arasında geniş oranda gelişme gösterebildiğini saptamışlardır. Araştırıcıları sonuçlarına benzer olarak çalışmamızda da izolatlarımızdan, T1, T2, T3, T4, T7, T9, T11, T15, T16 ve T17 pH 2'de gelişme göstermiştir.

Jackson ve ark., (1991), 4,6-6,8 pH aralığında üç *Trichoderma* izolatının biyomas üretimin optimum olduğunu bulmuşlardır.

Kredics ve ark. (2000), *Trichoderma*'nın in vitro enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Optimum pH değerleri chymotrypsin benzeri aktivitesi için pH 6-7, tripsin benzeri proteaz aktivitesi için pH 6, β-xylosidaz için pH 3, sellobihidrolaz ve NAGaz için pH 5 olarak bulunmuştur. İncelenen mikroparazitik *Trichoderma* strainlerinin geniş pH aralıklarında aktivitelerinin görüldüğü tespit edilmiştir.

Antal ve ark. (2000), 360 *Trichoderma* straininin soğuğa toleranslılığını araştırmışlardır. 40 tanesinden, *T.aureoviride, T.harzianum, T.viride* minal ve yeast ekstrakt agar ortamının her ikisinde de 5˚C'de iyi gelişmiştir. Soğuk toleranslı izolatlar *T.viride* grubunun içindedir.

Widden ve Abitbol'a (1980) göre, *T.viride* orman topraklarında erken sonbahar ve ilkbaharda çok bol bulunun türlerdir. Soğuğa toleranslı olan 142 *T.harzianum* izolatından 6'sının ve 78 *T.viride* izolatında 7 tanesinin yüksek sıcaklığa toleranslı bulunmuştur. İzolatlarımızın tümünün 37˚C ve 40˚C'de gelişme gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). izolatlarımız ülkemizin en sıcak bölgelerinden biri olan Şanlıurfa ve çevresindeki topraklardan daha önce izole edilmiş olduğundan yüksek sıcaklık derecelerine toleranslılık gösterdiği düşünülmektedir. İzolatların sıcaklığa toleranslılıklarının izole edilen bölge topraklarımıza göre değişiklilik gösterdiği, Kredics ve ark. (2003), tarafından yapılan çalışmada da açıklanmıştır. Bu bağlamda izolatlarımızın farklı sıcaklıklarda gelişimleri araştırıcıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

10˚C'de çift kültür türlerinde; soğuk toleranslı *Trichoderma* strainleri apperesoryum üretmişler, *F.oxysporyum, F.sp.dianthi* ve *Rhizoctonia solani*'e karşı antagonistik özellik göstermişler (Antal ve ark., 2000).

Antal ve ark. (2000), *T.aureoviride* ve *T.viride* strainleri *P.deberyanum*'a karşı *T.harzianum* strainlerinden in vitroda daha etkili bulunmuştur. Mikroparazitizmde önemli olan tüm enzimler; tripsin ve chyromotrypsin benzeri proteaz, β-glukosidaz, β-1,4-N-asetil glukozaminidaz (NAGaz)'ın aktivitesi ve enzimler üzerinde düşük sıcaklığın etkisi belirlenmiştir ve bu enzimlerin 10˚C'de de üretilebildiği belirlenmiştir. Özellikle soğuk toleranslı izolatlarda 5˚C'de yüksek enzim aktivitesi belirlenmiştir (Antal ve ark., 2000).

Trichoderma spp. toprağın pH'nı düşürerek, fosfatların çözünmesini sağlamakta ve bitki beslenmesi için gerekli olan ; demir, manganez, magnezyum gibi mineral kotyonların çözünmesini sağlayan glukonik, sitrik ve fumarik asit gibi organik asitler ürettiği Benitez ve ark., 2004, Harman ve ark., 2004, tarafından açıklanmıştır.

*Trichoderma sp.'*nin toprakta yaygın olmaları nedeniyle bitki patojeni fungusların ve birçok toprak kökenli patojenlerin neden olduğu hastalık oranını azaltmasından dolayı tarımda biyokontrol etmeni olarak kullanılmaktadırlar (Papavizas, 1985; Dubey ve ark., 2007).

Marra ve ark. (2006), farklı bitki patojenlerine karşı *Trichoderma* tarafından üretilen diferansiyel proteinlerin analizi için proteomik yaklaşım kullanarak üç yolla etkileşimleri incelenmiştir. Triptik sindirim, kütle spektrometrisi ve sliko analizi kullanarak proteinler karakterize edilmiştir.

5. SONUÇ

İzolatlarımız, faklı karbon ve azot kaynaklarında farklı pH değerlerinde, farklı sıcaklıkta ve tuz konsantrasyonlarında geliştirilmiştir. 18 *Trichoderma sp.* izolatının farklı ortamlarda gelişmeleri birbirinden farklılık göstermiştir. Bu da izolatlarımızın birbirinden faklı olduğunu göstermektedir.

Ortamlarda uçucu ve uçucu olmayan metabolitler üreterek, 10 bitki patojeninin gelişmesini farklı oranlarda inhibe etmişlerdir. Ayrıca izolatlarımızın enzim aktiviteleri değerlendirilmiştir ve izolatların tümünün enzim aktiviteleri pozitif olarak bulunmuştur. İzolatlarımızın filtratlarının çimlenme üzerine olan etkilerine fasülye tohumları üzerinde bakılmıştır ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

İzolatlar arasında farklılık bulunmakla birlikte T18'in aktivitesi diğerlerine göre oldukça düşük bulunmuştur. En etkili izolatlar ise T8, T10 ve T14 olarak belirlenmiştir. İleride yapılacak sera ve tarla demelerinde izolatların biyokontrol etmeni olarak kullanılması ile etkinlikleri hakkında kesin hüküm verilecektir.

KAYNAKLAR

ALMEİDA, F. CERGUEİRA F, SILVA R, ULHOA C, LIMA A. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evalution of coiling and hydroltic enzyme production. Biotechnology Letters 2007: 29(8):1189-93.

ALTINOK, H.H., ERDOĞAN, 0.2015. Determination of the in vitro effect of *Trichoderma harzianum* on phytoparhogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Not-Bot. Horti. Agrobo. 43, 49-500.

AMALRAJ, L.D., KUMAR, P. DESAI, S., ALEMED, M H. 2010. In vitro chanacterization of *Trichaderma viride* for abiatre stres tolerance and feld evalution against root rot disease in vigna mungo L.İ. Biofertil. Bipesticid. 2,2-5.

AMBUSE, MG. CHATAGE VS and BHALE, UN, 2012. Influence of *Trichoderma spp* against Alternaria tenuissima inciting leaf spot of Rumex acetosa L., Bioscience Discovery. 3(2) :259-262. Backman PA and Rodriguez-kabana R, 1974. A system for the growth and delivery of biological control to the soil. Phytopathology, 65: 819-821. Dohroo NP, Gupta SK, Shyam KR and Sharma K, 1990. Antagonistic studies on casual fungi of wire stem and stalk rot of cauliflower. Indian Journal of plant Pathology, 8: 77-78. Edington LV, Khew KL and Barron Gl, 1971. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. Phytopath., 61:42-44. Elad Y,Chet I and Katan J,1980.

ANTAL, Z., MANCZINGER, G., SZAKACS, R., TENGERDY, P., FERENCZY, L., 2000. Colony growth, in vitro antagonism and secretion of extracellular enzymes in cold-tolerant strains of *Trichoderma* species. *Mycology Research*, 104: 545-549.

ARJONA- GİRANA, ̇I., VINALE, F., RUANO-ROSA, D., LORITO, M., LOPEZ-HERRERA, C.J.2014. Effect of metabolilites from different *Trichaderma* strains on the growth of Rosellina necatrix, the causal agant of avocado white root rot. Eur. J. Plant Pathol. 140,385-397.

BAE, H., SICHER, R.C., KIM, M.S., KIM, S.H., STREEM, M.D., MELNICE, R.L., BAILEY, B.A., 2009. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in Theobroma cacao. *Journal of Experimental Botany*, 60: 3279-3295.

BATTİALANG, P-PIETRI A. BARBANO C. S, A, UERTUZZI: T. MARACCO, A. 2008. Logistic regression modeling of cropping sytems to prediict fumonisin contamination in maize- ̇I- Agric food Chem.56-10433 104 38.

BENITEZ, Increased antifungal and chitinase specific activates of *Trichoderma harzinaum* CECT 2413 by addition of a cellulose binding-domaain, Appl. Micrbiol. Biotechnol. 64 (2004) 675-685.

BENITEZ, T., RINCON, A.M., LIMON, M.C., CODON, A.C., 2004. Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. International Microbiology 7, 249-260.

BENİTEZ,T., REY, M., DELGADO-JARANA, J., RINCON, A.M., Limón, M.C., 2000. Improvement of *Tricoderma* strains for biocontrol. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 17(1): 31-36.

BENİTEZ,T., Rey, M., DELGADO-JARANA, J., RINCON, A.M., Limón, M.C., 2000. Improvement of *Tricoderma* strains for biocontrol. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 17(1): 31-36. biochemical and physiological features. Turk J Biol.27: 247-253. biological control of the blackpoint complex of wheat in Argentina. World Biyoteknoloji Dergisi, 25 (2) ; 85-92 Biyoteknoloji Dergisi, 25 (2) ; 85-92.

BRİDGE, P.D. 1985. An evalution of some physiological and biochemical methads as and aid to the characterization of species of *Penicillium subisection fasciculata*. Jaurnal of species of General Microbiology. 131, 1887-1895.

CAKRAVARTHY. A. NAGAMONI. (2007), Efficaccy of non valatile and valatile compounds of *Trichoderma* species on *Rhizoctonia solani* J.Mycol. PI. Pathol. 37 82-86.

CALİSTRU, C., Mc LEAN M., BERJAK, P.1997. In vitro studies on the potential for biological control of Aspergillus flavus and *Fusarium moniliforme* by *Trichodema* species. Mycopathhologia. 137,115,-124.

CHET, I. 1987. *Trichaderma*-Application, made of action and patential asa biocontrol agent of soilborne plant pathagens. In: Chet I, editor. Innovative Appraaches to Plant Disease Control, John Wiley and sons, New YORK. Pp.137-160.

CHET, I. 1987. *Trichaderma*-Application, made of action and patential asa biocontrol agent of soilborne plant pathagens, Proceedings of section 5 of the 4 th Internatiol congress of plant pathology, St. Paul. MN. Pp.110-72

CHET, I. 1987. *Trichoderma* – Aplication, mode of action and potential as a biocontrol agent of soil borne plant pathogens. In: Chet Iİ editor. Innovative Aproaches to Plant Disease Control, John Wiley and Sons, New York.

CHET, I. HENNİS Y. 1985, *Trichoderma* as a biologikal control agent against soil borne root pathogens. In: Parker CA, Rovina AD, Moore KI, Wong PTW, Koumorgen JF, editors. Ecology avd Management of soil borne pathogens, Proceedings of section 5 of the 4th International Congress of Plant Pathology, St. Paul, MN. Pp. 110-112.

COŞKUNTUNA, A, ÖZER N. 2008. Biological control of onion basal rot disease using *Trichoderma harzianum* and induction of antifungal compounds in onion set following seed treatment. Crop Prot. 27:330-336.

CUTLER, H.G., Cox, R.H., CRUMLEY, F.G., COLE, P.D., 1986. 6-Pentyl-a-pyrone from *Trichoderma harzianum*: its plant growth inhibitiory and antimicrobial properties. Agricultural and Boilogical Chemistry 50, 2943-2945.

CUTLER, H.G., HIMMETSBACH, D.S., ARRENDALE, R.F., COLE, P.D., Cox, R.H., 1989. Koninginin A:a novel plant regulator from *Trichoderma koningii*. Agricultural and Biological Chemistry 53, 2605-2611.

DE MEYER, G., BIGIRIMANA, J., ELAD, Y. and HÖFTE, M. (1998) Incuded systemic resistance *in Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of Bitrytis cinirea. Eur J Plant Pathol 104, 279-286.

DENNİS, C. WEBSTER J (1971) Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* : III. Hyphal interection. Transactions of British Mycological Society 57: 363-369.

DENNİS, C., WEBSTER, J. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* : II. Production of volalite antibioties. Trans.Br. Mycol. Soc. 57, 41-48.

DICKINSON, J.M., HANSON, J.R., HITCHOOK, P.B., Clydon, N., 1989. Structure and biosentesis of harzianopyridone an antifungal metabolite of *T. harzianum*. *Journal of Chemical Society, Chemical Communications*, 1: 1885-1887.

DOMSCIT, KIT., GAMS, W. And ANDERSON, T-H., 1980.com pendium ot soil fungi. London; Newyork: Academic Pres.

DRUZHİNİNA, I.S., SEIDL-SEIBOTH, V., HERRERA-ESTRELLA, A., Horwitz, B.A., KENERLY, C.M., MONTE, E., MUKHERJEE, P.K., ZEILINGER, S., GRIGORIEV, I., KUBICEK, C.P., 2011. *Trichoderma*-The genomics of opportunistic success. *Nature Reviews* Microbiology, 9: 749-759.

DUBEY, S. POTAL, B., 2001. Evaluation of fungal antagonists against Thanatephorus cucumeris causing web blight of urd and mung bean. Indian Phytopathol. 54:206-209.

DUBEY, SC. SUREH M, SING B. 2007. Evalution of *Trichoderma* species against *Fusairum oxysporum* f. Sp. Ciceris for integrated management of chickpea wilt. Biol Control. 40:118-127.

EASTBURN, D.M., BUTLER, E.E.1991. Effect of soil moisture and temperature on saprophtytic ability of *Trichoderma harzianum*. Mycologia.83,257-263. Ed.by V. Jensensenetal, Elsevier Applied Science Publishers, 89-95. Ed.by V. Jensensenetal, Elsevier Applied Science Publishers, 89-95.

ELAD, 4.1996. Mechanisms involved in the biological control of *Batrytis cinema* incited diseases. Eurj. Plant pathol. 102.719.732.

ELAD, Y., KAPAT A.1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of Botrts cinerea. Europan Journal of plant pathology. 105, 177-189.

ELAD,Y., BARAK, R. and CHET, I. 1984. Parasitism of *Sclerotium rolfsii* sclerotia By *Trichoderma harzianum.* Soil. Bio. Biochem, 16 ; 381-386.

EL-KATTANY, MH. 2001. Studies on the productions and activities of polysaccharide degrading enzymes produced by some *Trichoderma* isolates. PhD Thesis, Faculty of science, El-Minia University, El-Minia, Egypt.

EMMERT, EAB. HANDELSMAN F, Iggg Biocontrol of plant disease. A(gram-) positive pers perctive- FEMS microbol Lett-171:1-9

FERRE, F.S., SANTAMARINA, M.P.2010. Effcacy of Trichaderma harziannum in suppersion of *Fusarium culmorum*. Ann. Microbiol. 60,335-340.

FERRIGO, D. PANOLA A… PICCOLA E. SCOPEL. C. CAUSIN R. 2014. *Trichoderma harzianum* T22 induces in maize systemic resistance agalnst *Fusarium verticillioides*. I. Plant pathol. 96-133-142 from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease, 84 (4) ; 377 393. *Fusarium culmorum.* Ochrana Rostlin, 31(3) ; 177-184.

GAJERA, H.P., BAMBHAVOLAIA, R.P., PATEL, s.v., kHATRONI, T.J., GOALKIYA, B.A.2012. Antagonism of *Trichoderma spp*. Aganist

Macrophima phaseolina: Evaluation of coiling anal cell wall degrading enzymatic activities. Plant Pathol. and Microbial. 3,1-7.

GAL-HEMED, I., ATANASOVA, L., KOMON-ZELAZOWSKA, M., DRUZHININA, S.I., VITERBO, A.,YARDEN, o.2011. Marine isolates of Tricloderma as potential halotolerant agents of biological control for arid zone agriculture. Appl. Envvinon. Microbiol.77,5100-5109.

GARBEVA, P. VAN VEEN, J.A. and VAN ELSAS J.D., 2004. Microbial Diversity In Soil: Selection Of Microbial Populations By Plant and Soil Type and Implications For Disease Suppressiveness. Annu. Rev. Phytopathol. 42:243–70

GHISALBERT, E. L., NARBEY, M. J. DEWAN, M. M. SIVASITHAMPARAM, K., 1990. Variability among strains of *Trichoderma harzianum* in their ability to reduce take-all and to produce pyrones. Plant and Soil 121, 287-291.

GUPTA, V.K., TUAHU, M-6, Ayyachamy, m, TUMER, K-M, O' Dovovan, A-(Eds)-2013-Laboratory proctocolssin fungal Biology- springes science, Business mdia, LLC.

HAJİEGHRARI, B. TORABI-GIGLOUM, MOHAMMADI MR, DAVARI M.2008. Biological potantial of some Iranian Trichoderma isolates in the control of soil borne plant pathogenic fungi. Afr J Biotechnol. 7:967-972.

HAKTANIR, K. ve ARCAK, S. 1997. Toprak Biyolojisi (Toprak Ekosistemine Giris). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, 409s., Ankara.

HARMAN, G.E., 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *T. harzianum* T-22. *Plant Diseases*, 84: 377-393.

HARMAN, G.E., HOWELL, C.R., VITERBO, A., CHET, I. and Lorito, M.(2004) Trichoderma species-opportunitic, avirulent plant symbionts. Nat Rev Microbiol 2, 43-56.

HARPER, SHT, Lynch FM.1981. The kinetics of strw decampasition in relation to its potential to praduce the phytotoxin acetic acid. & soil sci 32:627-637

HOWELL, C. R. STIPANOVIC, R. D., LUMSDEN, R. D., 1993, Antibiotic production by strains of gliocladium virens and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. Biocontrol Science and Tecnology 3, 435-441.

HOWELL, C. R., 1998 The role of antibiosis in biocontrol. In: Harman, G.E., Kubicek, C.P. (EDS), *Trichoderma* and *Gliocladium*, Enzymes, biological control and Commercial Application, vol. 2. Taylor and Francis Ltd. London, pp. 173-183.

HOWELL, C.R., HANSON, L.E., STIPANOVIC, R.D.,and PUCKHABER, L.S., (2000) Induction of terpeniod synhesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichaderma virens*. Phytopathology 90, 248-252.

HOWELL, CR., (2003) Mechanisms employed by Tricho dermaa species in the biological control of plant diseases the history and evolutin of current concepts. Plant. Dis 87:4-10

INBAR, J. & CHET, I.(1992). Biomimics of fungal cell-cell recognition by use of lectin-coated nylon fibers. *J Bacteriol* 140, 651-657.

INBAR, J., ABRAMSKY, D.C. ve CHET, i. (1994). Plant growth enhancement and disease control by T.harzianum in vegetable seedling growtn under commercial conditions. Plant Pathol. 100, 337346.

JACKSON, A. M. J.M. WHIPPS, J.M. LYNCH, Effect of temperature, pH and water potential, World. J.Microbiol. Biotechnol. 7(1991) 491-508.

KLEIN, D. And EVELEIGH, E.,1998. Ecology ot Trichoderma. In Trichoderma and Gliocladium, pp. 57-69. Edited by C.İ.KUBICEK and G.E. Hormon. London; Bristol, D A: Taylor and Francis.

KOLLI, S.C., NAGAMANIA, A., RAHEL Ratnakumari, y.2012. Growth respanse of Trichoderma isolates aganist varying pH levels. International Journal of Environmental Biology. 2, 180-182.

KREDICS, L., ANTAL, Z., MANCZINGER, L., SZEKERES, A., KEVEI, F., NAGY, E., 2003. Trichderma strains with biocontrol potential. Food Technology and Biotechnology, 41(1): 37-42.

KREDİCS, L. MANCZINGER, Z. ANTAL, Z. PENZES, K. SZEKEREZ, F. KEVEL, E. NAGY, In vitro water activity and pH dependence of mycelial growth and extracellular enzyme activites of *Trichoderma* strains with biocontrol potential, J. Appl. Mirobiol. 96 (2004) 491-498.

KUBICEK, CP. MACH RL. PETERBAUER CK. LORITO M(2001) *Trichoderma*: from genes to biocontrol. İ plant pathol 83:11-24

KUCUK, Ç. 2000. Trichoderma harzianum ile Toprak Kökenli Bazı Bitki Patojenlerinin Kontrolü, Anadolu Üniversitesi, Yayınlanmamıs Yüksek Lisans Tezi. 80s., Eskisehir.

KUCUK, Ç. and KIVANÇ, M. 2003. Isolation of Trichoderma spp. and their antifungal,

KUCUK, Ç. ve KIVANÇ, M. 2001. Sera ve laboratuvar kosullarında *Trichoderma harzianum'*un toprak kökenli bazı fungal bitki patojenleri üzerine etkisi.

LANE S, BOWEN N. 2005. Revisiting the use of Iprodione and *Trichoderma* in the integrared management of onion white rot. Arch Phyopathol Plant Prot. 38:133-138.

LAVELLE, P.and SPAInı. A.v., 2011. Soil. Ecology. Dordrecht, Boston: Kluwer Academic Publishers.

LİFSHİTZ, R., WINDHAM, M.T., BAKER, R., 1986. Mechanism of biological control of pre-emergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76: 720-725.

LOGRIECO, A.MULE G… MORETTI A… BOTTAICO. A.. 2002.Toxigenic pusarium specie and my catoxins associated with maize ear not 597-609.

LONGA, C.M.O., PERTOT, I., Tosi, S. 2008. Ecophysiological reguirements anal survival of a Trichoderma atrivide isolate with blocontrol potential. J.Basic Microbial.48,269-277. Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E.L., Lorita, M., sivasithamparam, K. 2006. Major secondary metobolites produced by two commercial *Trichamderma* starins active against different phytogathogens. Letters in Applled Mic robiology. 43,143-148.

LORİTA, M., Woo, S.L., FERNANDEZ, I.G., COLLUCCI, G., HARMAN, G.E., PINTOR-TOROS, J.A., Filippone, E., MUCCIFORA, S., LAWRENCE, C.B., ZOINA, A., TUZUN, S., SCALA, F., 1998. Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 95: 7860-7865.

LYMCH, M-F SLATER F-H, BENNET, F-A HERPER, S.H.T- 1981. Cellulase activities of some gerabic microorganismis isaleted from soil journal of general microbiology 127,231-236.

MARRA, R., AMBROSINO, P., CARBONE, V., Vinale, F., Woo, S.L., Ruocco, M., CILIENTO, R., LANZUISE, S., FERRAIOLO, S., SOIRENTE, I., GIGANTE, S., TURRA, D., FOGLINA, V., SCALA, F., LORITO, M., 2006. Study of the three-way interection between Trichoderma atroviride, plant and fungal pathogens by using a proteomic apporoach. Current Genetics 50, 307-321.

MENON SK, WILLIAMS LE. 1957. Effecth ot crop, crop residuus, temperature and moisture on soil fungi. Phytopethology 47:559-564.

MICHRINA, J., MICHALIKOVA, A., ROHACIK, T. and KULICKOVA, R. 1995. Antibiosis as Monaco C., Sisterna, M., Perello, A. and Dal Bello, G. 2004. Preliminary studies on

MİGUEL, M.A. MORENA-MATEOS, J. DELGADO –JARANA, A. C. CODON, T. BENİTEZ, pH and Pac I control development and antifungal activity in *Trichoderma harzianum*, Fungal. Genetics. Biol. 44 (2007) 1355-1367.

MONTEİRO VN, SILVA RN, STEINDORF AS, COSTA FT, NORONHA EF,et al.(2010) New insights in Trichoderma harzianum antagonism of fungal plant pathogens by secreted protein analysis. Curr Microbiol 61: 298-305.

MUKHERJEE PK. .RAGHU k(1997). Effect of temperature on antagonistic and biocontrol patentiol of Trichoderma sp.. on s derotium rolfsü. Mycopothologia 139:15-155. muskmelon by *Trichoderma harzianum.* In Microbial Communities In Soil Ed.by V. Jensensenetal, Elsevier Applied Science Publishers, 89-95. muskmelon by *Trichoderma harzianum.* In Microbial Communities In Soil,muskmelon by *Trichoderma harzianum.* In Microbial Communities In Soil,

NAAR, Z., KECSKES, M. 1995. A METHED for selecting *Trichoderma* starins anttagonitic against *Sclerotinia minor*. Microbial. Res. 150, 239-246.

NAAR, Z., KEESKES, M., 1998. Factors influencing the competitive saprophytic ability of *Trichoderma* species. *Microbiological Research*, 153(2): 119-129.

NASEBY, D. C., PASCUAL, J. A., LYNCH, J. M., 2000. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* population, soil microbial communities and soil enzyme activities. Journal of applied Microbiology 88, 161-169.

NEW TM, ROSALES A-1985. Infuluence of *Trichoderma* on survival of Thanatephorus cucumeris in assaaciation with rice in the tropics In: Parker CA, Rovira AD, moore KI, Wona PTW, Kollmorgen Tf. Editors. Ecology and manegement of soil-Borne Pothogens. Procedings of section 5 of the 4 th International Congress of Plant Pathology, St. Paul. MN. Pp.110-112 Of *Triccoderma harzianum* groups toward the commercial mushroom Agaricus bisporus. Appl Environ microbiol 69:4192-4199.

OMER S. A. and M. H. ABD-ALLA , 'Physiological aspects of fungi isolated from root nodules of faba bean (Vicia faba L.) MICROBI RES, 2000, pp. 339-347.

P. WİDDEN, J. J. ABITBOL, Mycoligia, (1980), 72-775-784

PADMOYA B, Reddy H. 1996. Screening of *Trichoderma* spp. Against *Fusarium oxysporum* f. Sp. Lycopersici causing wilt in tomato. Indian J Mycol Plant Pathol.26:266-270.

PAPAVİZAS GC(1985) *Trichoderma* and Glicladium: Biology, Ecology and potentail for biocontrol. Annu Rev Phytopathol 23:23-54.

PARSONS. M-W.. MUNKUALD. GP..2012.Effects of planting cate and environmental factors on *fusarium* ear not symptoms an fumonisin B, accumulation in maize grown in siv Narth American locations. Plants pathol.61.1130-1142.

PODDAR R, SING D, DUBEY S. 2004. Integrated application of *Trichoderma harzianum* mutants and carbendazim to manage chickpea wilt (fusarium oxysporum sp. ciceris). Indian J Agr Sci.74:346-348.

POSAPATI, S., RAVULAPALLI, P.D., TIPPIRISHETTY, N., VISHVANATHASWAMY, D.K. 2014. Selection of high temperature and salinity tolerantt Trichoderma isalates with antagonistic activity against scleratium rolfsii. Springer plus. 3, 641-652. Possible mechanism of antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against

RAMEZANI H (2001) Biological Control of Root-Rot of Eggplant Caused by Macrophomina phaseolina. Am Eurasian J Agric Environ Sci 4: 218-220.

RECZEY, K., SZENGYEL, R., ZACCHI, G., 1996. Cellulase production by *T.reesei*. *Bioresource Technology*, 57: 25-30.

REGRAGUI, A., Lahlou, H. 2005. Effect of salinity on in vitro *Trichoderma harzianum* antagonism against *Verticillium dahliae*. Pakistan Journal of Biological Sci. 8,872-876.

RINI, C.R., SULOCHANA, K.K., (2007). Usefulness of *Trichoderma* and Pseudomonas against *Rhizoctonia* Agriculture. 45,21-28.

SAFIGUE, R.Bajwa, S.SHAFIGUE. Cellulase biosynthesis by selected *Trichoderma* species, Pak. J. Bot41 (2009). 907-916.

SAHI IY. 2012. In vitro biological control of *Fusarium oxysporum*-causing wilt in Capsicum annuum. Mycopathologia. 5:85-88.

SANTAMARINA, M.P., ROSELLO, J., LlLACER, R. and SANCHIS, V. 2002. Antagonistic Activity Of Penicillium oxalicum Corrie and Thom, Penicillium decumbens Thom and *Trichoderma harzianum* Rifai _solates Against Fungi, Bacteria and _nsects En InVitro. Rev Iberoam Micol., 19: 99-103

SEMPERE, F-, SANTAMARINA M-P-(2008). Biological control of one of species belanging to the dominant mycobiota of nice of Valencia. Ann. Microbioal.58,7-17,

SEMPERE, F-, SANTAMARINA, M.P-2006. Microscopis and Microscopis study of the interaction between *Alternaria alternata* (Fr.) keissler and Nigrospora oryzae (Berk. & Broome). Petch. Ann. Microbiol. 56, 101-107.

SEMPERE, F., ,SANTAMARINA, M.P.2007. In vitra biocontrolanalysis of Alternaria alternata (Fr.) Keissler under different enviromental conditions. Mycopathologia. 163,183-190.

SEMPERE, SANTAMARINA, M.P.(2009). Antagonistic interactions. Between fugal rice pathagen fusarium verticillioides (sace). Nivenberng and *Trichaderma harzianum* Rİfai. Ann. Microbial. 59,259-266.

SIAMETO EN, OKOTH S. AMUGUNE NO. CHEGE NC. Antagonism of *Trichoderma harzianum* isolates on soil borne plant pathogenic fungi from Embu District, Kenya. Journal of Yeast and Fungal Research 2010:1(3):47-54. Özellikleri. S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 19 (36): 70-77

SIVAN, A., CHET. 1.1986. Biological control of *fusairum spp*. İn cotton, wheat and muskmelon by *Trichaderma harzianum*. Phytopathology. 116,39-47.

SRISVASTAVA, R.K, SINGH, R-K PROSAD, R-D-2012-Relavite antargonistic effect of different I'solanttes of *trichaderma viridi* and *Trichoderma harzianum* aganist *Rhizactnia soloni*-Nat, Acod-sei. Lett-35-49-52.

TABATABAI, M. A. and J. M. BREMNER. 1969. Use of p- nitrophenylphophate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biol Biochem 1: 301-307.

TEZCAN, H. ve DELEN, N. 1986. Bazı Toprak Potojenleriyle _laçlı Savasımda Antagonist Organizmalardan Yararlanma Olanakları. Türkiye Birinci Biyolojik Mücadele Kongresi Adana, 355-362

TRİLLAS, M.1., CASANOVA, E., COT XARRERA, L., ORDOVAS, J., BORRERO, C., AVİLES, M. 2006. Composts from agricultural waste and the Trichaderma asperellum strain T-34 suppress Rhizoctonia solani Lynch, J.M. 1987. In vitro identification of Trichoderma harzianum as a potential antagonist of plant pathagens. Current Microbiol. 16, 49-53.

VINALE, F., MARRA, R., SCALA, F., GHISALBERTI, E.L., LORITA, M., SIVASITHAMPARAM, K., 2006. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 43: 143-148.

VINALE, F., SIVASITHAMPARAM, K., GHISALBERTIi, E.L., MARRA, R., WOO, S.L., and LORITA, M. (2008). Trichoderma-plant-pathogen interactions. Soil Biol Biochem 40, 1-10.

WEİNDLİNG, R., 1941. Experimental consideration of the mold toxin of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology*, 31: 991-1003.

WHIPPS, M.J.1987.Effect of media on growth and intesectians between a range of soilborne glasshaouse pathogens and antagonistic fugi. New.Phytepathol. 107,127-142.

WILLIAMS F-CLARKSON FM, mills PR Cooper RM.2003. Saprotrophic and mycoparasitic components of aggressiveness.

YAMANAKA, The effect of pH on the growth of saprophtic and ectomycorrhizal ammonia fungi in vitro, Mycologia, 95 (2003), 584-589. their antifungal, biochemical and physiological features. Turk. J. Biol., 27 ; 247-253. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent of sclerotium rolfsii and *Rhizoctonia solani*. Phytopahology, 70:119-121. Gaigole AH, Wagh GN and Khadse AC,2011. Antifungal activity of *Trichoderma* species againts soil borne pathogen. Asiatic Journal of Biotechnology Resources. 2(04): 461-465.

YEDIDIA, I.I., BENHAMOU, N. And CHET, I.I., (1999). Induction of defense response in cucumber plants (Cucumis sativus I.) by the biocontrol agent Trichoderma harzianum. Appl Environ Microbiol 65, 1061-1070.

Yigit, F. 2005. Bitki Patojenlerinin Kontrolünde Kullanılan Biyokontrol Ürünler.

ZLATA KS, JELENA L, STEVAN M, JELICA GV, MIRJANA V, SVJETHANA A.2008. Fusairum rot of onion and possible use of bioproduct. Zbornik Matice Srpske za Prirodne. Nauke. 114:135-148.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Nazlı KOŞAR
Uyruğu **:** T. C.
Doğum Tarihi **:** 08.07.1987
Doğum Yeri **:** Viranşehir
Telefon **:** 0541 796 01 64
e-mail **:** nazlican_kosar_63@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	**:** Viranşehir Lisesi, Vıranşehir, Şanlıurfa	2004
Üniversite	**:** Ahi Evran Üniversitesi Biyoloji Bölümü Kırşehir	2014
Yüksek Lisans	**:** Harran Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı	2016

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2013	Viranşehir Devlet Hastanesi	Biyolog

YAYINLAR

KOŞAR, N., KUÇUK, Ç., CEVHERİ, C. 2016. Diversity of rhizobacteria cotton growing regions of Harran Plain, Şanlıurfa, Turkey. Symposium on Euroasian Biodiversty (SEAB 2016), Antalya Turkey. Book of Proceedings.

UZMANLIK ALANI

Mikrobiyoloji

YABANCI DİLLER

İngilizce