T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

*TRICHODERMA SP.*NİN MUTANT İZOLATLARININ ANTAGONİSTİK POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

Tülay GEZER

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2017

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

*TRICHODERMA SP.*NİN MUTANT İZOLATLARININ ANTAGONİSTİK POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

Tülay GEZER

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2017

Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK danışmanlığında, Tülay GEZER'in hazırladığı "***Trichoderma Sp*.nin Mutant İzolatlarının Antagonistik Potansiyellerinin Belirlenmesi"** konulu bu çalışma 12/05/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK ……

Üye : Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ ……

Üye : Yrd. Doç. Dr. M. Sait İZGİ ……....

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

Prof. Dr. Halil Murat ALĞIN
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: 16207

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ v
SİMGELER DİZİNİ vi
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
3. MATERYAL ve YÖNTEM 13
3.1. Materyal 13
3.1.1. Kullanılan mikroorganizmalar 13
3.1.2. Kullanılan besiyeri ve çözeltiler 13
3.1.2.1. Patates dekstroz agar (PDA) (MERCK) 13
3.1.2.2. Patates dekstroz broth (PDB) (MERCK) 14
3.1.2.3. Trikloroasetik asit (TCA, %10'luk) 14
3.1.2.4. Tris-HCl (50Mm Ph 8.1) 14
3.1.2.5. 1 M NaOH hazırlama 14
3.1.2.6. 1 M HCl hazırlama 14
3.2. Yöntem 15
3.2.1. *Trichoderma sp*. izolatlarından mutant izolatların eldesi 15
3.2.2. Mutant izolatların sıcaklığa toleranslılıkları 15
3.2.3. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişmeleri 15
3.2.4. Sıcaklığın mutant izolatlarının kültür yaşına etkileri 16
3.2.5. Mutant izolatlarının kuraklık stresine toleranslılığı 16
3.2.6. Fungal inhibisyon testleri 16
3.2.7. *Trichoderma sp*. mutant izolatlarının proteaz enzim aktivitesinin incelenmesi 17
3.2.8. Protein ölçümü 17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 18
4.1. *Trichoderma sp.*'nin Mutant İzolatları 18
4.2. Mutant İzolatların Mikroskopta İncelenmesi 19
4.3. Fungal İnhibisyon Testleri 21
4.4. Stres Faktörlerinden NaCl, Sıcaklık ve Kuraklığın Mutant İzolatların Gelişmelerine Etkisi 27
4.5. *Trichoderma sp*. Mutant İzolatların Proteaz Aktiviteleri 35
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 39
KAYNAKLAR 43
ÖZGEÇMİŞ 49

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRICHODERMA SPP.'NİN MUTANT İZOLATLARININ ANTAGONİSTİK POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

Tülay GEZER

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr .Çiğdem KÜÇÜK
Yıl: 2017, Sayfa: 49

Tarımsal ürünlerde toprak kökenli bitki patojeni funguslar ciddi kayıplara neden olurlar. Biyolojik kontrol, tarımsal ürünlerin korunması için diğer metodlara alternatif olarak ortaya çıkan, bitki hastalıklarının kontrolünde antagonistik fungusların artan kullanımını içermektedir. Bu amaçla kullanılan en yaygın fungal türlerden biri, *Trichoderma* türleridir. Bu çalışmada, *Trichoderma spp*. mutant izolatları izole edilmiştir. Mutant izolatların *Macrophomina phaseolina*'ya karşı antagonistik aktiviteleri ve *Trichoderma spp*.'nin mutant izolatlarının proteaz enzim aktiviteleri incelenmiştir. İzolatlar tarafından İn vitro proteaz üretim farklı koşullar altında değerlendirilmiştir. İzolatların tümü proteaz aktivite üretmiştir. *Trichoderma spp*. mutant izolatları çift kültürde *M.phaseolina*'ya karşı antagonistik aktivite göstermiştir. *Trichoderma spp*.'nin mutant izolatlarının abiyotik strese toleranslılığı in vitro koşullarda incelenmiştir. *M.phaseolina*'ya karşı en yüksek inhibisyon oranı (%98) 35˚C'de alınmıştır.

A**NAHTAR KELİMELER**: UV ışığı, *Trichoderma spp*., mutant izolat, *Macrophomina phaseolina*, antagonistik aktivite, proteaz

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF ANTAGONISTIC POTENTIALITY OF MUTANT ISOLATES OF *TRICHODERMA SPP.*

Tülay GEZER

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK
Year: 2017, Page: 49

Soilborne plant pathegenic fungi also cause serious lasses in agricultural products. Biological control, antagonistic fungi for the control of plant diseases have increased efficiency and use of space has emerged as an alternative to other methods for the protection of agricultural products. For this purpose one of the most common fungal species are *Trichoderma* species. In this study, mutant ısolates of *Trichoderma spp.* were isolated. The antagonistic activities of mutant isolates against *Macrophomina phaseolina* and protease enzyme activities of mutant isolates of *Trichoderma spp*. were observed. In vitro production of protease by isolates was examined under various conditions. All of them were screened for protease activity. *Trichoderma spp.* mutant isolates showed antagonistic activity against *M.phaseolina* in dual culture. *Trichoderma spp*. mutant isolates were evaluated for their in in vitro conditions abiotic stress tolerance ability. The highest ınhibition value (98%) was obtained against *M.phaseolina* in 35˚C.

KEY WORDS: UV irridiation, *Trichoderma spp*., mutant isolate, *Macrophomina phaseolina*, antagonistic activity, protease

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında çalışmamı gerçekleştirdiğim süreçte yardımlarını esirgemeyen, her zaman desteğini yanımda hissettiğim, bana her konuda yardımcı olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK'e, manevi olarak desteğini hissettiğim ve bana her konuda yardımcı olan hocam sayın Doç. Dr. Cenap CEVHERİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve yüksek lisans eğitim hayatım boyunca bana her zaman maddi ve manevi olarak destek veren aileme çok teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 4.1. *Trichoderma spp*.'nin Tm1, Tm4, Tm7, Tm17 mutant izolatları 18
Şekil 4.2. Tm14 Mutant izolatının mikroskoptaki görünümü 19
Şekil 4.3. Tm9 Mutant izolatının mikroskoptaki görünümü 19
Şekil 4.4. Tm1 Mutant izolatının görünümü 20
Şekil 4.5. Tm7 Mutant izolatının görünümü 20
Şekil 4.6. Tm5 Mutant izolatının görünümü 21
Şekil 4.7. 25˚C'de M.phaseolina gelişimi üzerine Tm13'ün etkisi 23
Şekil 4.8. Mutant izolatlardan Tm11, Tm12, Tm15, Tm16, Tm17 ve Tm18'in M.phaseolina gelişmesine etkisi 24
Şekil 4.9. 35˚C'de *Trichoderma spp*. mutant izolatları ile M.phaseolina arasındaki etkileşim 25
Şekil 4.10. 45˚C'de *Trichoderma spp*. mutant izolatlarının M.phaseolina gelişmesine etkileri 26
Şekil 4.11. 240 mM NaCl içeren ortamda Tm1, Tm4, Tm5 ve Tm8 mutant izolatların gelişimi 28
Şekil 4.12. İzolatların farklı NaCl konsantrasyonlarına toleranslılıkları 29
Şekil 4.13. Mutant *Trichoderma spp*. izolatlarının farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişimleri 30
Şekil 4.14. İzolatların farklı sıcaklık derecelerine toleranslılıkları 31
Şekil 4.15. Mutant Trichoderma spp. izolatlarının 25˚C'deki gelişimleri 32
Şekil 4.16. İzolatların farklı PEG konsantrasyonlarına (kuraklığa) toleranslılıkları 33
Şekil 4.17. İzolatların 30˚ C'de farklı kültür yaşlarının gelişimi 34
Şekil 4.18. İzolatların 35˚ C'de farklı kültür yaşlarının gelişimi 34
Şekil 4.19. *Trichoderma sp*. mutant izolatların proteaz enzim aktivitesi üzerine NaCl'un etkisi 36
Şekil 4.20. *Trichoderma sp*. mutant izolatların proteaz enzim aktivitesi üzerine kuraklığın etkisi 36
Şekil 4.21. *Trichoderma sp*. mutant izolatlarının proteaz enzim aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi. 37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1 Ticari olarak satılan bazı biyokontrol etmenleri 2
Çizelge 2.1 Bitki hastalıklarının kontrolünde kullanılan *Trichoderma* türleri..... 10
Çizelge 4.1. Mutant *Trichoderma spp*. izolatlarının farklı sıcaklık derecelerinde *M.phaseolina* gelişiminin inhibisyon oranları (%)..... 22

SİMGELER DİZİNİ

ß	Beta
HCl	Hidroklorik asit
mM	milimolar
µg	mikrogram
ml	mililitre
M	Molar
NaOH	Sodyum hidroksit
NaCl	Sodyum klorür
TCA	Trikloroasetik asit
Tris	2 - Amino - 2 hidroksimetilpropan - 1,3 - diol
PDA	Patates Dekstroz Agar
PDB	Patates Dekstroz Broth
PEG	Polietilen glikol
UV	Ultraviyole
U	Ünite
v/v	Hacim/hacim
w/v	Ağırlık/hacim

1. GİRİŞ

Tarımsal ürünleri hastalıklardan korumak için kullanılan metodlar içerisinde kimyasal pestisidlerin kullanımı oldukça yaygındır. Fungisid ve fumigantlar, tarımsal üretimde herbisid ve insektisidlerden daha fazla kullanılmaktadır (Benitez ve ark., 2004; Ghanbarzadeh ve ark., 2014). Kimyasal ilaç kullanımı, ekonomik olmamakla birlikte, atmosfer kirliliğine, çevre zararlarına neden olmaktadır. Çevrede bıraktığı kalıntılarla ve sürekli kullanımları ile hedef organizmalar arasında dirençli izolatların gelişmesine neden olabilirler (Benitez ve ark., 2004).

Sentetik pestisid uygulamalarının azaltılması ve mümkünse kullanılmaması insan ve çevre sağlığı açısından önemli olduğundan, son yıllarda mikroorganizmaların bitki hastalık etmenlerine karşı biyokontrol etmeni olarak kullanımı gündeme gelmiştir (Rao ve ark.,2016). Bu etmenlerin, tek başına hastalık kontrolünde uygulanması veya düşük dozlu kimyasal ilaçlar ile birlikte kullanımı sonucunda çevrede kimyasal ilaçların etkisinin en aza indirilerek çevre sağlığını korumak esas alınmıştır (Benitez ve ark., 2004).

Günümüzde biyolojik kontrol etmeni olarak bitki hastalıklarının kontrolünde kullanılan mikroorganizmalar, biyolojik kontrol etmenleri olarak adlandırılmıştır. Günümüzde biyolojik kontrol etmenleri olarak; *Agrobacterium, Pseudomonas, Streptomyces* ve *Bacillus* gibi bakterilere ait izolatlar ve *Gliocladium, Trichoderma, Ampelomyces, Candida* ve *Coniothyrium* gibi fungal türlere ait izolatlarla yapılan ticari preparatlar mevcuttur (Spadaro ve Droby, 2016 Junaid ve ark., 2013). Mikroorganizmalarla yapılan ve tarımda çeşitli ürünlerde hastalık oluşturan bitki patojenlerine karşı kullanılan ticari preparatlar Çizelge 1.1.'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Ticari olarak satılan bazı biyokontrol etmenleri (Junaid ve ark., 2013, Droby ve ark.,2016)

Biyokontrol etmen	**Ticari ismi**	**Hedef organizma**	**Ürün**
Bacillus subtilis GB34	GB34	*Rhizoctonia sp.* *Fusarium sp.*	Soya fasulyesi
Bacillus subtilis GB03	Koidac	*Rhizoctonia sp.* *Aspergillus sp.*	Buğday, arpa, bezelye
Pseudomonas fluorescens	Frostban	Ateş yanıklığı etmenleri	Meyve, domates
Streptomyces griseoviridis	Mycostop	Toprak kökenli patojenler	Süs bitkileri, ağaçlar
Gliocladium virens	Prima stop Soil guard	Toprak kökenli patojenler	Sebzeler
Aspergillus flavus AF36	Alfa guard	*Aspergillus flavus*	Pamuk
Ampelamyces quisguallis M10	AQ10	Pas hastalık etmenine karşı	Meyve, sebze, süs bitkileri
Trichoderma harzianum T-39	*Trichodex*	*Botrytis cinerea*	Çoğu tarım ürünlerinde
Aureobasidium pullulans	Boni Protect Bio-Ferm	Hasat sonu hastalıkları	Tarımsal ürünler
Bacillus subtilis	Avogreen	*Cercospora sp.*	Avakado
Metschnikowia fructicola	Shemer	Hasat sonu hastalıklar	Meyve ağaçları çeşitli meyve, sebzelerde

Trichoderma sp.,'nin bitki kök bölgesinde yoğun olarak bulunan ve kolaylıkla izole edilen toprak fungusu olduğu belirtilmiştir (Harman ve ark., 2004). *Trichoderma* izolatlarının, bitki simbiyantı olup, birçok fitopatojen fungusa karşı antagonist özellik gösterdiği yapılan birçok çalışmada saptanmıştır (Rao ve ark., 2016; Poosapati ve ark., 2014; Gajera ve ark., 2015; Mendoza ve ark., 2015). *Trichoderma spp*.'nin en fazla çalışılan biyokontrol etmeni olduğu; biyogübre, biyopestisid olarak ticari preparatlarının kullanıldığı bildirilmiştir (Verma ve ark.,

2007). İzolatlara bağlı olarak *Trichoderma*'nın tarımda kullanımının sağladığı avantajlar;

- Rizosferde stabil mikrobiyal komüniteler içinde hızlı geliştiği için, rizosfer kolonizasyonu oluşturarak rekabetlilikte rol oynadığı;
- Farklı mekanizmaları kullanarak mikrofloranın baskılanmasında, patojen kontrolünün sağlanmasında;
- Bitki sağlığının iyileştirilmesi, geliştirilmesi;
- Kök gelişimini stimüle ettiği şeklinde açıklanmıştır (Harman ve ark., 2004)

Trichoderma sp.'nin birçok izolatı, fungal bitki patojenlerine karşı antagonistik özellik göstermektedir (Mohammed ve Haggag, 2006). *Trichoderma* izolatlarından etkili antagonistik özellik gösterenler, bitki hastalıklarının biyolojik kontrolünde potansiyel aday olarak gösterilmiştir (Verma ve ark., 2007).

Günümüzde hiçbir biyokontrol etmeninin ve fungisitin bitki patojenlerini tamamen öldüremediği bilinmekle birlikte, birçok durumda *Trichoderma* izolatları tarımda yaygın kullanılan fungisitlerin yerine başarı ile geçirilebilmektedir (Martinez-Medina ve ark., 2014). Birçok kimyasal ilaç, kısa zamanda toprakta parçalanırken *Trichoderma sp*. toprakta canlı kalmakta, hatta çoğalabilmektedir (Martinez-Medina ve ark., 2014). Mutant *Trichoderma spp.* izolatlarının, ana izolata göre bitki patojenlerine karşı daha agresif olduğu, topraklarda canlı kalma sürelerinin daha uzun olduğu yapılan çalışmalarda açıklanmıştır (Mohammed ve Haggag, 2006)

Mutant *Trichoderma* izolatları ile ilgili çalışmalar ülkemizde oldukça az ve birbirinden uzaktır. Günümüzde organik tarıma önem verilmesi ve bu alanda çalışmaların artırılması, insan ve çevre sağlığı konularına daha fazla önem verilmesi mikroorganizmalardan hazırlanan preparatları gündeme taşımıştır. Bu amaçla, çalışmamızda daha önce Şanlıurfa ve çevresindeki tarla topraklarından izole edilmiş *Trichoderma sp*.'nin 18 izolatı ultraviyole ışığına maruz bırakılarak mutant izolatları elde edilmiştir. Elde edilen mutant izolatların bölgemizde biberde hastalığa neden

olan *Macrophomina phaseolina'a* karşı anatagonistik aktiviteleri ve proteaz aktiviteleri'in vitro koşullarda incelenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Trichoderma türlerinin yaygın bulunduğu habitatların toprak ve çürüyen odun parçacıkları olduğu, toprak çevrelerinde *sklerotia* ve diğer üreme formlarında bulundukları açıklanmıştır (Schuster ve Schmoll, 2010). *Trichoderma spp*. izolatlarının bitkilerin kökleri, taneleri ve yapraklarında kolaylıkla kolonize olabildikleri, ayrıca kabuklu deniz hayvanlarından ve termitlerden de izole edilebildikleri bildirilmiştir (Btaszczyk ve ark., 2014). *Trichoderma* genusunun türleri, *sklerotia* üretebildikleri gibi bol miktarda konidial sporları üretmeleri ve hızlı gelişme göstermeleri ile karakterize edilmişlerdir (Btaszczyk ve ark., 2014). *Trichoderma* türlerinin bazısının renksiz pigment oluşturmasına karşın, çoğunun; yeşil, sarı, kırmızımsı ve kahverenkli pigment oluşturdukları rapor edilmiştir (Schuster ve Schmoll, 2010). *Trichoderma* genusu; Ascomycetes grubu, *Sordariomycetes* sınıfı, *Hypocreales* ailesine aittir. 1969 yılında morfolojik özellikleri dikkate alınarak 9 türe ayrılmıştır; *T.harzianum Rifai*, *T.viride, T.hamatum* (Bonord.) *Bainier, T.koningii* (Oudem.) Duche R. Helim, *T. polysporum* (Link) Rifai, *T. piluliferum* J. Webster Rifai, *T.aureoviride Rifai, T. longibrachiatum* Rifai ve *T.pseudokoningii* Rifai (Btaszcyk ve ark., 2014).

Antagonist *Trichoderma* türleri biyolojik savaşında mikoparazit olarak tanıtılmaktadır (Howell, 2003). Mikoparazitizmin başlıca dört aşamada gerçekleştiği açıklanmıştır (Lopez-Mondejar ve ark., 2011). Bunlar;

1) Mikoparazit etmenin gelişmesi
2) Mikoparazitin konukçuyu tanıması
3) Enzimlerin salgılanması
4) Konukçunun eritilmesidir.

Trichoderma türlerinin konukçuya ulaştığında; hiflerinin konukçu hifinin etrafında kıvrıldığı veya çengel benzeri yapı oluşturarak konukçu hücreye tutunduğu bildirilmiştir (Howell, 1998). *Trichoderma spp.* türlerinin daha sonra appressorium

denilen yapılar oluşturarak, konukçu miselyumunun hücre duvarında çöküntülere neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Lopez-Mondejar ve ark., 2011).

Trichoderma spp. tarafından bitki patojeninin tanınması ve patojen hifine tutunması ile, hife sarılarak gelişme gösterdiği açıklanmıştır (Howell, 1998). Yapılan mikroskobik gözlemler sonucu, *Trichoderma spp.*'nin *Sclerotium rolfsii* ve *Rhizoctonia solani*'nin hücre duvarlarında geliştiği, antagonist fungusun bitki patojenlerinin hücre duvarları üzerinde ß-1,3- glukonaz, kitinaz, proteaz gibi litik enzimleri salgıladıkları bildirilmiştir (Elad ve ark., 1982; Geremia ve ark., 1993; Lopez-Mondejar ve ark., 2011).

Antibiosis; *Trichoderma* izolatları ve bitki patojenik fungusları arasındaki antagonistik etkileşimin özel bir mekanizmasıdır. Antibiosis, parazitik fungusta etkili olan, engelleyici veya öldürücü etki gösteren sekonder metabolitlerin üretimini içerir (Reino ve ark., 2008). Günümüzde *Trichoderma* genusunun fungal türlerinde 180'den fazla, farklı kimyasal bileşimden oluşan sekonder metabolitler karakterize edilmiştir (Reino ve ark., 2008). Bu bileşenler; Uçucu bileşenler, suda çözünen bileşenler ve peptaiboller olarak üç gruba ayrılmıştır (Reino ve ark., 2008).

Trichoderma türleri tarafından üretilen ilk antifungal uçucu bileşiğin, 1932 yılında keşfedildiği bildirilmiştir (Howell, 1998). 6-pentyl-α-pyrone (6PP) metabolitinin *Trichoderma* türleri içinde *Trichoderma atroviride*'de daha yüksek dozda bulunduğu açıklanmıştır (Arjona-Girona ve ark., 2014). *T.viride, T.harzianum* ve *T.koningii*'nin *B.cinerea, R.solani* ve *Fusarium oxysporum* gibi bitki patojeni fungusların biyokontrolünde etkili olan ve uçucu antibiyotiklerin grubuna dahil olan 6PAP (6-pentyl-α-pyrone) ürettikleri yapılan çalışmada bildirilmiştir (Degkolb ve ark., 2003). Peptaiboller, 50-2200 Da ağırlıklı polipeptid antibiyotiklerdir (Degkolb ve ark., 2003). Peptaiboller, bazı virüslere karşı, birçok fungus ve Gram pozitif bakterilere karşı etkili olarak bulunmuşlardır.

Bu sınıfa ait olan bileşikler; *Trichoderma viride* tarafından sentezlenen *trickotoxins* A ve B, *trichodercenins, trichorovirus* ve *trichocellin; T.harzianum*

tarafından sentezlenen *trichorzianin* A ve *trichorzins* HA ve MA, T. Longibrachiatum tarafından üretilen tricholongins BI ve BII *longibrachin*'ler, *T.koningi* tarafından *trichokonin*'ler, *T.atroviride* tarafından üretilen *atroviridin* A-C, *neoatroviridin* A-D'dir. *R.solani, F.oxysporum, Botrytis alli, Penicillium expansum, Aspergillus niger, Escherichia coli, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Bacterioides fragilus* gibi patojenlerin gelişimlerini engelleyen ve etkili olan koninjinler, *viridin, dermadin, trichoviridin, lignoren* ve *koningic* asit içeren diğer bileşiklerin ise antibakteriyal ve fungusidal özellikli olduğu saptanmıştır (Reino ve ark., 2008). *Trichoderma* tarafından üretilen ilk toksinin Gliotoksin olduğu, bu mikotoksinin *T.viride, T. hamatum, T. virens* (*G. virens*), *T.lignorum* gibi bazı *Trichoderma* türleri tarafından üretilebildiği rapor edilmiştir (Reino ve ark., 2008). *Trichoderma* türleri tarafından üretilen Dehidroharzianolid ve Harzianolid metabolitleri ilk kez 1991 yılında tanımlanmıştır (Almassi ve ark., 1991). T39 butenolide metabolitinin ise ilk kez 2006 yılında tanımlandığı Vinale ve ark. (2009), tarafından rapor edilmiştir.

T39 butenolide'nin yüksek dozunun (100 mg) *G.graminis* ve *Rhizoctonia solani*'nin gelişmelerini inhibe ettiği, buna karşın *Pythium ultimum*'un gelişmesi üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir (Vinale ve ark., 2006). Reetha ve ark. (2014), ayçiçeğinde kayıplara neden olan *Macrophomina phaseolina*'ya karşı *Trichoderma sp*. izolatlarının antagonistik aktivitelerini in vitro koşullarda araştırmışlardır. Araştırıcılar, yedi günlük PDA ortamında *M.phaseolina'*ya karşı en etkili *Trichoderma sp*. izolatının TV1 olduğunu ve *M.phaseolina* gelişmesini %74.12 oranında inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

M.phaseolina'nın birçok bitki türlerinde ürün kayıplarına neden olan, çok geniş konukçuya sahip patojen olduğu Indera ve ark. (1986), tarafından açıklanmıştır. Bu fungusun tohum ve toprak kökenli olduğu bildirilmiştir. Manczinger ve ark. (2002); *T.harzianum, T.viride* ve *T.polysporum*'un toprak kökenli patojenlere karşı güçlü antagonist olduğunu açıklamışlardır. Fungusların gelişmesini biotik faktörler (diğer organizmalarla etkileşim) ve su aktivitesi, sıcaklık, gaz bileşimi, pH, besin, kuraklık gibi abiyotik faktörlerin etkilediği açıklanmıştır (Kredics ve ark., 2004).

Sıcaklık; misel gelişimi ve konidia çimlenmesini etkilerken, su aktivitesi ise fungal spor çimlenmesi ve çimlenme hızını etkilemiştir (Lacey ve Magan, 1991). Günümüzde yapılan araştırmalar, yüksek sıcaklığa ve yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı izolatların identifikasyonuna odaklanmıştır (Poosapative ark., 2014). Yapılan bir çalışmada 35˚C'den yüksek sıcaklığa toleranslı *Trichoderma* izolatları belirlenmiştir (Poosapati ve ark., 2014). Ayrıca sıcak bölge topraklarında çimlenme oranı yüksek, yüksek sıcaklığa toleranslı potansiyel *Trichoderma* izolatları identifiye edilmiştir (Poosapati ve ark., 2014). Böyle izolatların, global ısınmanın neden olduğu sıcaklık dalgalanmalarına dayanıklı olduğu, hasat sonrası hastalık oluşturan patojenlere antagonist aktivite gösterdiği saptanmıştır (Poosapati ve ark., 2014). Ferre ve Santamarina (2010) ise; sıcaklık ve su aktivitesinin, *T.harzianum* antagonizminde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Mohammed ve Haggag (2005) *T.harzianum*'un mutant izolatlarının mutant olmayanlara göre tuz stresi altında daha yüksek değerde kitinaz, sellülaz, ß-glukonaz enzimlerini ürettiklerini saptamışlardır. Araştırıcılar mutant izolatların 69 mM NaCl içeren ortamda gelişme gösterdiği ve spor oluşturduklarını bildirmişlerdir. Aynı araştırıcılar, mutant izolatların ürettikleri antimikrobiyal bileşenlerle de F.oxysporum'un gelişimini inhibe ederek domateste solgunluk hastalığının oluşumunun kontrol altına alındığını açıklamışlardır. Melo ve ark. (1997); UV ışığına maruz bırakılarak elde ettikleri *T.harzianum'un* mutant izolatlarının fasulye bitkilerinin rizosfer bölgesinde kolonize olduklarını, ß - glukosidaz ve endoglukonaz enzimlerini ürettiklerini bildirmişlerdir.

UV ışınlarının mutajenik olduğu, *T.viride'*nin bu yolla elde edilen ve benomile dayanıklılık gösteren T1-R9 izolatının; krizantem'de *Fusarium* solgunluğuna ve patateste *Rhizoctonia*'ya karşı etkili bulunduğu açıklanmıştır (Locke ve ark., 1984). *T.harzianum*'un mutant izolatlarının 50-100 µg/ml benomile tolerantlı olduğu saptanmıştır (Harman, 2006). Ayrıca UV ışınları ile mutasyona uğratılan izolatların, doğal izolatlara göre, toprakta canlı kalma süresi ile sporulasyon yeteneklerinin daha fazla olduğu, bezelyede *Pythium ultimum*'un, pamukta *R.solani*'nin ve fasulyede *Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu çökerten hastalığını engelledikleri, soğanda

beyaz kök çürüklüğü etmeni olan *Sclerotium cepivorum*'un gelişmesini engellemede doğal izolatlardan daha başarılı oldukları yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Cook ve Baker, 1984). *Trichoderma* izolatlarının çoğunun mezofilik olduğu bildirilmiştir (Poosapati ve ark., 2014). Eastburn ve Butler (1991) ise *T.harzianum*'un in vitro gelişiminin 15-21˚C aralığında maksimum olduğunu, buna karşın optimum gelişme gösterdiği sıcaklık değerinin altında da geliştiğini bildirmişlerdir.

Son yıllarda bitki hastalıklarına, özellikle toprak kökenli bitki patojenleri ve nematodlara karşı mikroorganizmalar ile yapılan biyolojik kontrol, kimyasal metodlara karşı alternatif olarak kullanılmaktadır (Rao ve ark., 2016). *Trichoderma* cinsi funguslar rizosferde çok bulunan saprofitik toprak funguslardır (Rao ve ark., 2016). *Trichoderma* türlerinin mikoparazitik özelliği, özellikle tarımsal ürünlerde ekonomik olarak zararlara neden olan toprak kökenli bitki patojenleri (Dubey ve ark., 2007) ve nematodlara (Sharon ve ark., 2001) karşı biyokontrol stratejilerinin geliştirilmesine neden olmuştur. Bitki hastalıklarının kontrolünde bazı bitki patojenlerine karşı kullanılan *Trichoderma* türleri ve etkili olduğu konukçu bitki Çizelge 2.1.' de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Bitki hastalıklarının kontrolünde kullanılan *Trichoderma* türleri (Srivastava ve ark., 2015; Whipps, 2001).

Antagonist	**Patojen**	**Konukçu Bitki**
Trichoderma hamatum TRI-4	*Rhizoctonia solani*	Patlıcan
T.harzianum 2413	*Phytophtlora capsici*	Biber
T.harzianum T-22	*Pyrenophora triticis-repentis*	Buğday
T.harzianum T1	*Pythium Ultimum*	Fasulye
	Rhizoctonia solani	
T.harzianum Th-87	*R.solani*	Çim
T.harzianum 1295-22	*R.solani*	Patlıcan
T.harzianum BAFC742	*Sclerotinia Sclerotiorum*	Soya fasulyesi
T.viride WT6	*R.solani*	Bezelye
T.virens GL-21	*Pythium ultimum*	Hıyar
	Rhizoctonia solani	Bezelye
T.virens GL1,GL-21,GL-23	*R.solani*	Patlıcan
T.virens GL-3	*Fusarium graminearum*	Mısır
	Pythium arrhenomanes	Mısır
	P.ultimum	Mısır
T.harzianum, T.viride	*M..phaseolina*	Nohut
	F.oxysporum, Penicillum sp.	
T.harzianum,T.viride, T.longibrachiatum, T.virens	*F.oxysporum f.sp. lycopersici, R.solani*	Domates
	Sclerotium rolfsii	
T.viride, T.harzianum	*S.rolfsii, R.solani*	Pamuk
	Pythium aphanidermatum	

Trichoderma türleri birçok toprak kökenli patojenlerin kontrolünde kullanılmaktadır (Srivastava ve ark., 2015). Rettinassababady ve ark. (2002) *T.viride*'nin *M.phaseolina*'nın neden olduğu hastalığı hem sera hem de tarla koşullarında % 50 oranında azalttığını bildirmişlerdir. Kumari ve ark. (2012) ise *Trichoderma harzianum*'un diğer biyokontrol etmenlerle karşılaştırıldığında; çok etkili olduğunu ve saksı denemelerinde *Trichoderma viride*'nin *M.phaseolina*'nın gelişmesini engellediğini saptamışlardır.

Altınok ve Erdoğan (2015) yaptıkları bir araştırmada; *Trichoderma harzianum'*un iki izolatının etkinliğini laboratuvar ve sera koşullarında *Fusarium oxysporum f.sp. melongenae* (Fomg), *F.oxysporum f.sp. lycopersici* (Fol), *F.oxysporum f.sp. niveum* (Fon) ve *F.oxysporum f.sp. melonis* (Fom)'a karşı test etmişlerdir. Araştırıcılar *T.harzianum* T16 izolatının patlıcan, domates ve kavun da *Fusarium* solgunluğunu önemli ölçüde azalttığını saptamışlardır.

El-Katatny ve ark. (2006) *T.harzianum*'un *Pythium ultimum* ve *Fusarium oxysporum*'a karşı antagonistik aktivitesini laboratuvar koşullarında araştırmışlardır. 12 günlük inkübasyon sonucunda *Trichoderma harzianum*'un çift kültür deneylerinde test edilen bitki patojeni fungusların gelişimini farklı oranlarda inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

Rey ve ark. (2001) tarafından yapılan bir araştırmada *Trichoderma harzianum'*un mutant izolatının *Botrytis cinerea*'nın kontrolünde etkili olduğunu saptamışlardır. *T.harzianum'un* mutant izolatının 4 kat daha fazla enzim ürettiğini, patojenin gelişmesini yüksek oranda inhibe ettiğini açıklamışlardır. Srivastava ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada *Rhizoctonia solani*'e karşı *Trichoderma viridi* ve *Trichoderma harzianum*'un farklı izolatlarının antagonistik etkinliklerini araştırmışlardır. *T.viridi* 1'in *R.solani* gelişmesini %41.4 oranında ve *T.viridi* 2 izolatının ise *R.solani* gelişmesini %52.8 oranında engellediğini saptamışlardır. Başarılı biyolojik kontrol, bitki patojenlerinin aktivitesini azaltan antagonistik mikroorganizmalarla gerçekleştirilmektedir (Rao ve ark., 2016). *Trichoderma* spp.'nin antagonistik özelliği; patojen fungusun hücre duvarını parçalayan enzimlerin

üretimlerini içeren, direk mikoparazitizmi kapsayan birkaç mekanizmanın kombinasyonundan oluşmuştur (Lorito ve ark., 2010; Qualhato ve ark., 2013). *Trichoderma* türlerinin en iyi proteaz üreticisi oldukları bildirilmiştir (Haab ve ark., 1990). Haab ve ark. (1990) tarafından yapılan bir araştırmada; *Trichoderma* izolatlarının ekstrasellüler proteaz üretim potansiyelleri incelenmiştir. Araştırıcılar, üretilen proteazın izolata göre değiştiğini saptamışlardır. Elad ve Kapat (1999) *Trichoderma harzianum*'un proteaz aktivitesinin *Botrytis cinerea*'nın biyokontrolünde etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Nakkeeran ve ark.(2005) *Trichoderma viride*'nin UV-ışınına maruz bırakılarak elde ettikleri mutant izolatının, pamuk kök çürüklüğünün önlenmesinde etkili olduğunu, mutant izolatların ürettikleri sellülaz, kitinaz, ß-1,3-glukonaz enzim aktivitelerinin oldukça yüksek olduğunu açıklamışlardır. Araştırıcılar, *T.viride*'nin mutant izolatı TV6'nın pamuk tohumlarına uygulanması ile pamuk verimi ve kuru madde ağırlığının arttığını, kök çürüklüğünün ise azaldığını bildirmişlerdir (Nakkeeran ve ark., 2005). Szekeres ve ark. (2004) ultraviyoleye maruz bırakılan *Trichoderma harzianum* T334 izolatının, biyokontrol etkinliğinin arttığını, mutant izolatın mutant olmayana göre yüksek miktarda proteaz enzimini salgıladığını tespit etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan mikroorganizmalar

Daha önce izole edilmiş, tanımlanmış ve Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan *Trichoderma sp.*'nin 18 (Tm1, Tm2, Tm3, Tm4, Tm6, Tm7, Tm8, Tm9, Tm10, Tm11, Tm12, Tm13, Tm14, Tm15, T16, Tm17, Tm18) izolatı mutasyona uğratılarak kullanılmıştır.

Bitki patojenlerinden *Macrophomina phaseolina* Harran Üniversitesi Bitki Koruma Bölümünden sağlanmıştır.

3.1.2. Kullanılan besiyeri ve çözeltiler

3.1.2.1. Patates dekstroz agar (PDA) (MERCK)

Patates infüsyonu	4 g
D (+) glukoz	20 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Patates dekstroz agar 39 g/l olacak şekilde distile suda eritilmiş, 121˚C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

3.1.2.2. Patates dekstroz broth (PDB) (MERCK)

Patates pepton	4 g
Glukoz	20 g
Distile su	1000 ml

Patates Dekstroz Broth 24 g/l olacak şekilde distile suda eritilmiş, 121˚C 'de 15 dakika otoklav edildikten sonra kullanılmıştır.

3.1.2.3. Trikloroasetik asit (TCA, % 10'luk)

Trikloroasetik asit 10 g tartılarak 60 ml distile suda çözünmüştür. Daha sonra hacim 100 ml'e tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.1.2.4. Tris-HCl (50 mM pH 8.1)

Tris (hydroxymethyl) aminomethane'dan 6.057 g tartılıp distile suda çözünmüştür. Hacim 1000 ml'e tamamlanmıştır. İçeriğin pH'ı 8.1'e ayarlanmıştır.

3.1.2.5. 1 M NaOH hazırlama

40.82 g NaOH bir miktar distile suda çözünmüş ve hacim 1000 ml'e tamamlanmıştır.

3.1.2.6. 1 M HCl hazırlama

82.81 ml HCl (% 37'lik) 1000 ml distile suya tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. *Trichoderma sp.* izolatlarından mutant izolatların eldesi

Çalışmada 18 *Trichoderma sp*. izolatı kullanılmıştır. *Trichoderma sp.* izolatları Harran Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarında mevcuttur. İzolatların mutantlarını elde etmek için, izolatlar PDA (Patates Dekstroz Agar) besiyerinde 5 gün 25˚C'de geliştirilmiştir. Petri kutularında geliştirilen izolatlar UV-lambası ile (254 nm) arasında 7 cm uzaklık olacak şekilde yerleştirilmiştir. 5 gün boyunca, hergün 30 dakika süre ile, izolatlar UV ışığına maruz bırakılmıştır (Nakkeeran ve ark., 2005; Valero ve ark., 2007). 5 gün sonunda petri kutularından alınan herbir mutant izolata ait misel, patates dekstroz broth (PDB) besiyerinde 25˚C'de 5 gün boyunca geliştirilmiş ve deneylerde kullanılmak üzere +4˚C'e kaldırılmıştır.

3.2.2. Mutant izolatların sıcaklığa toleranslılıkları

PDA içeren petri kutularının merkezine mutant *Trichoderma sp.* izolatlarının herbirinin ayrı ayrı 5 mm çaplı diskleri inokule edilmiştir. İzolatların farklı sıcaklık derecelerinde (25, 30, 35, 45, 50˚C) gelişimleri misel çapları ölçülerek belirlenmiştir (Mukherjee ve Raghu, 1997).

3.2.3. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişmeleri

Farklı konsantrasyonlarda (70, 150, 240, 300 ve 350 mM NaCl) tuz içeren PDA'lı petri kutularının merkezine mutant *Trichoderma sp*. izolatlarının herbirinin ayrı ayrı, 5 mm çaplı diskleri inokule edilmiştir. İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişimleri misel çapları ölçülerek belirlenmiştir (Abdel - Latif ve ark., 2005).

3.2.4. Sıcaklığın mutant izolatlarının kültür yaşına etkileri

5, 10, 15 ve 30 günlük mutant *Trichoderma sp*. izolatlarının gelişimleri PDA içeren petri kutularında 30˚C ve 35˚C 'de incelenmiştir. 5, 10, 15 ve 30 günlük *Trichoderma sp.* mutant izolatlarının herbirinin 5'er mm çaplı diskleri ayrı ayrı PDA içeren petri kutularının merkezine inokule edilmiştir. Petri kutuları 30˚C ve 35˚C de 5 gün geliştirilmiş ve koloni çapları ölçülerek sıcaklığın izolatların kültür yaşı üzerine etkisi belirlenmiştir (Poosapati ve ark., 2014).

3.2.5. Mutant izolatlarının kuraklık stresine toleranslılığı

PDA içeren besiyerine ayrı ayrı %10, %20, %30, %35 ve %40 polietilen glikol (PEG, 6000 Da) eklenerek hazırlanan ortamlar steril edilmiş ve steril edilen petri kutularına 15'er ml olacak şekilde dökülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda PEG ilaveli PDA'lı petri kutularının merkezlerine izolatların 5 mm çaplı misel diskleri ayrı ayrı inokule edilmiştir. İzolatlar 5 gün boyunca 30˚C de inkübe edilmiştir. PEG-6000 içeren PDA'lı petri kutularında izolatların misel gelişimleri ölçülerek kuraklığın etkisi incelenmiştir (Amalraj ve ark., 2011).

3.2.6. Fungal inhibisyon testleri

Trichoderma sp.'nin mutant izolatları ile *Macrophomina phaseolina* 7 gün boyunca PDA (Patates Dekstroz Agar) içeren steril petri kutularında geliştirilmiştir. Daha sonra *Trichoderma sp.*'nin her bir mutant izolatlarının bulunduğu petri kutularından alınan 5 mm çaplı disk *Macrophomina phaseolina*'nın geliştiği petri kutularından alınan 5 mm çapındaki disk ile aralarında 3 cm boşluk kalacak şekilde ayrı ayrı PDA içeren petri kutularına inokule edilmiştir. Patojen ile mutant izolatların büyüme zon çapları ölçülüp, gelişmenin % inhibisyonu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Küçük ve Kıvanç, 2003; Mendoza ve ark., 2015).

Gelişmenin % inhibisyonu (%) = (y-z/y)x100

y= Kontrol petrideki patojenin misel gelişmesi (cm)

z= Antagonist ile aynı petride ekili patojenin antagonist yönündeki misel gelişimi (cm)

3.2.7. *Trichoderma sp*. mutant izolatlarının proteaz enzim aktivitesinin incelenmesi

Patates dekstroz agar içeren petri kutularında 5 gün boyunca geliştirilen *Trichoderma sp*.'nin mutant izolatlarının herbirinin ayrı ayrı 3 mm'lik diskleri, steril ependorf tüplerine yerleştirilmiştir. Misel disklerin üzerine 50 mM Tris HCl (Ph 8.1) ile hazırlanan % 1'lik (w/v) azokazein eklenmiştir. İçerik oda ısısında 1 saat inkübe edilmiş ve 300 ml (% 10 (w/v) soğuk trikloroasetik asit (TCA) eklenerek reaksiyon sonlandırılmıştır. (Lopez-Mondejar ve ark., 2011). Bu deney kontrol olarak kullanılmıştır.

Sıcaklığın ve kuraklığın etkisini belirlemek için izolatların en iyi gelişme gösterdikleri değerler dikkate alınarak proteaz aktiviteleri yukarıda anlatıldığı gibi yapılmıştır. İçerikler 15.000 xg' de 10 dk santrifüj edilmiş, 350 ml'lik supernatant alınarak 300 ml 1 M NAOH ile karıştırılmıştır. Tekrar 15.000 xg' de 10 dk santrifüj edilen içerik 440 nm' de spektrofotometrede ölçülmüştür (Gajera ve ark., 2012). Enzim aktivitesi; önceden oluşturulmuş tirozin standart grafiğinin eğimi kullanılarak hesaplanmıştır. İzolatların proteaz aktivitesi; U/ml cinsinden ifade edilmiştir.

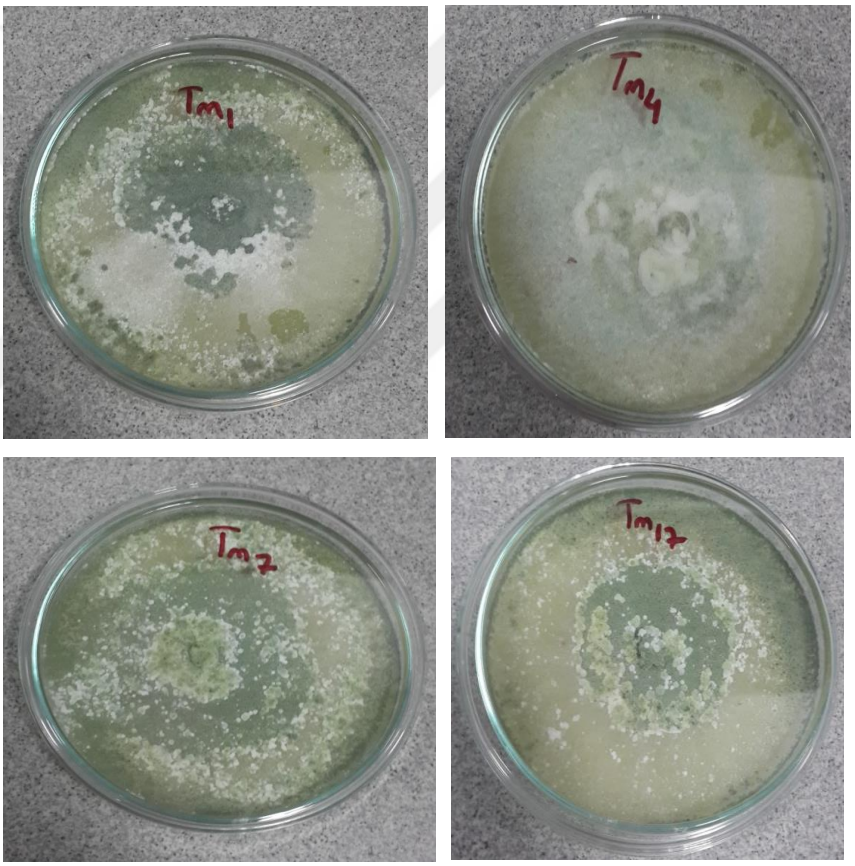
3.2.8. Protein ölçümü

Protein ölçümü Coomassie brillant blue G-250 yöntemine göre yapılmıştır (Bradford, 1976). Bu yöntemde, Coomassie brilliant blue G-250 'den 5ml alınıp, protein örnekleri ile karıştırılmıştır. Protein ölçümünde bovine serum albumin standard olarak kullanılmıştır. 10-100 Mg arasında değişen protein konsantrasyonları 595 nm'de ölçülmüştür. Elde edilen linear grafiğe göre örneklerin protein değerleri belirlenmiştir (Bradford, 1976).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. *Trichoderma sp.*'nin Mutant İzolatları

Şanlıurfa ve çevresinde tarım yapılan çeşitli tarlalardan daha önce izole edilerek tanımlaması yapılmış *Trichoderma sp.*' nin 18 izolatı ultraviyolenin ışığına maruz bırakılmış ve mutant izolatlar elde edilmiştir. İzolatlardan Tm1, Tm4, Tm7, Tm17'nin petri kutularındaki görünümleri Şekil 4.1.'de verilmiştir.

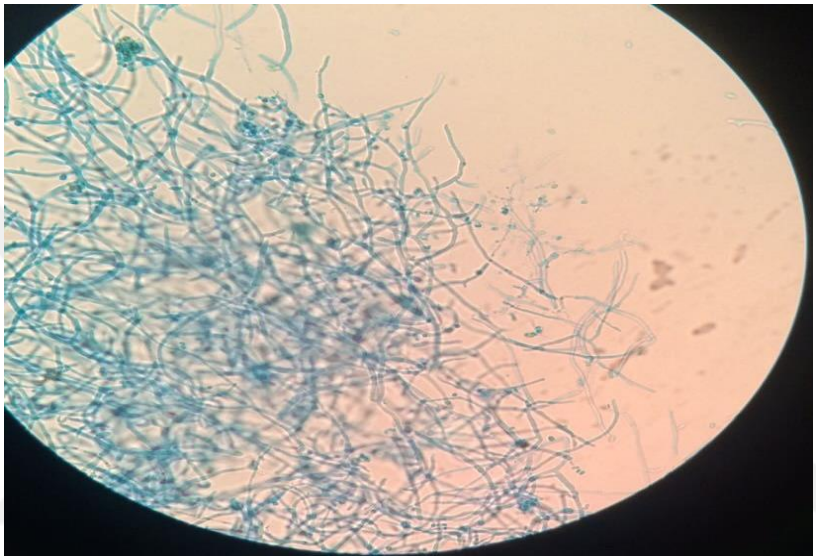


Şekil 4.1. *Trichoderma sp.*'nin Tm1, Tm4, Tm7, Tm17 mutant izolatları

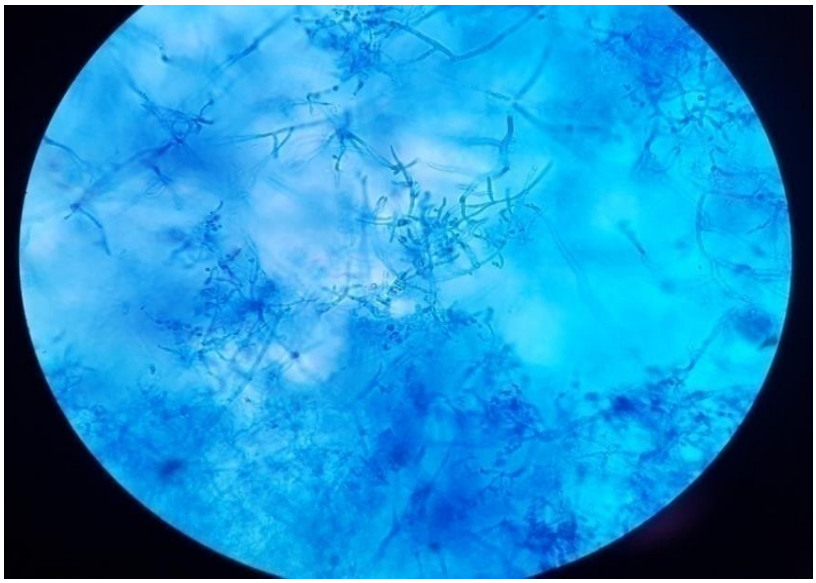
İncelenen izolatlar, petri kutularında *Trichoderma sp.*'nin tipik özelliği olan halka görünümünü oluşturmuştur. İzolatlar yeşil renkli ve beyaz renkli miselyum oluşturmuşlardır. Bu özellikler, bu fungus için önceden tanımlanan özelliktir (Samuels, 2006).

4.2. Mutant İzolatların Mikroskopta İncelenmesi

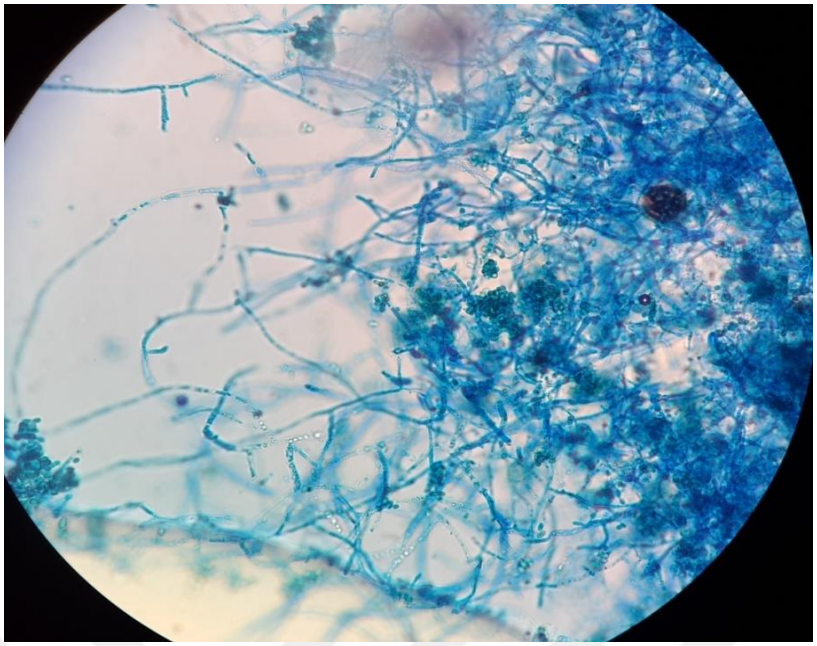
Ultraviyole ışığına maruz bırakılarak elde edilen mutant izolatlarımız mikroskopta incelenmiştir. Mikroskobik olarak incelenen mutant izolatların spor oluşumları konidioforlarının benzediği belirlenmiştir. İzolatlarımızdan Tm14, Tm9, Tm12, Tm7 ve Tm5'in mikroskobik görünümleri Şekil 4.2. ve şekil 4.6.'da verilmiştir.



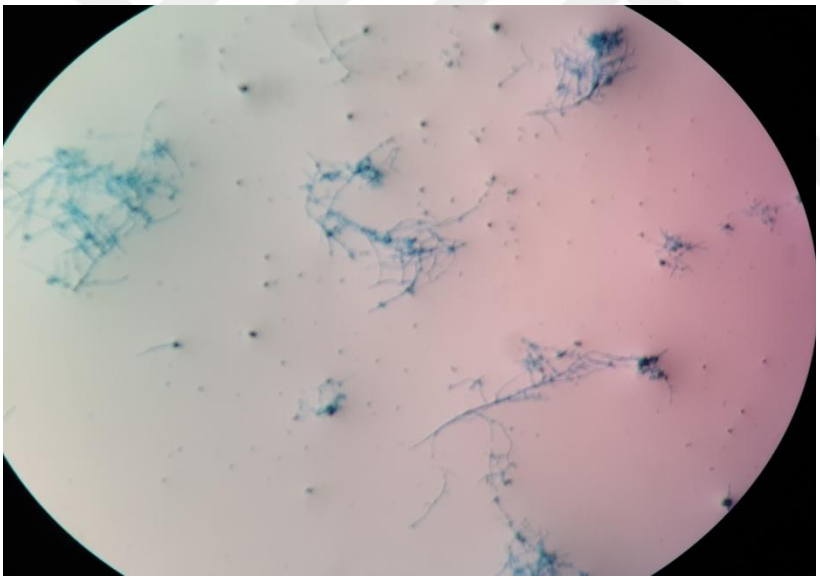
Şekil 4.2. Tm14 Mutant izolatının mikroskoptaki görünümü



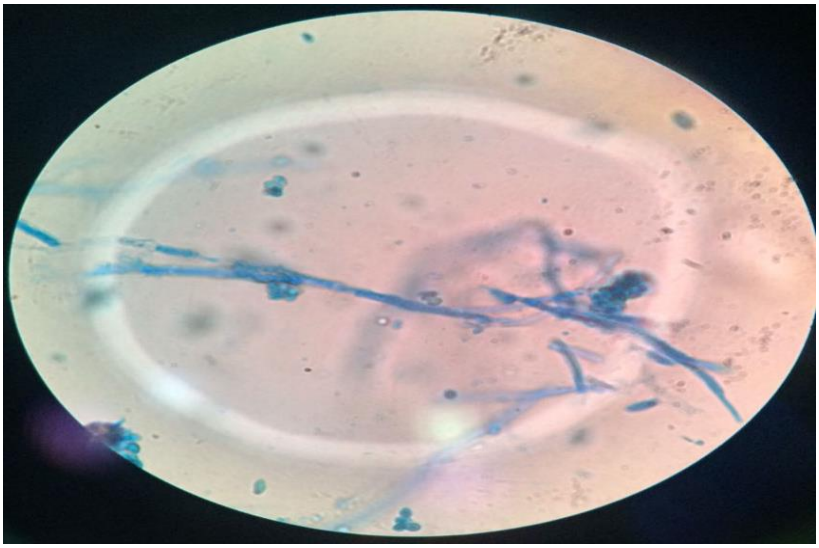
Şekil 4.3. Tm9 Mutant izolatının mikroskoptaki görünümü



Şekil 4.4. Tm1 Mutant izolatının mikroskoptaki görünümü



Şekil 4.5. Tm7 Mutant izolatının mikroskoptaki görünümü



Şekil 4.6. Tm5 Mutant izolatının mikroskoptaki görünümü

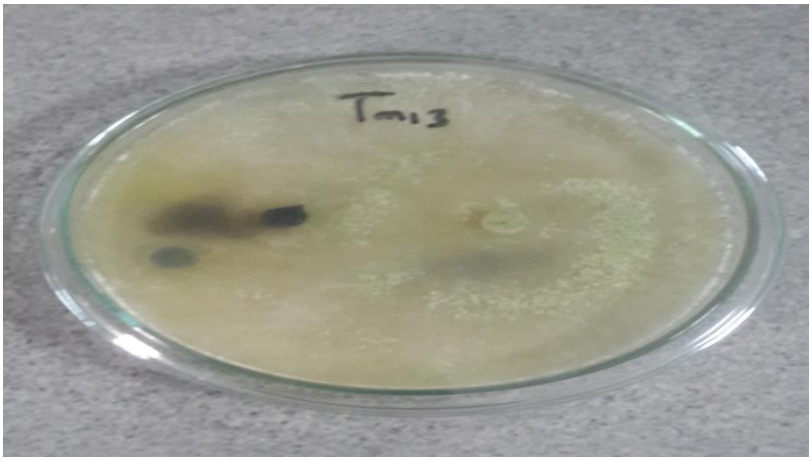
4.3. Fungal İnhibisyon Testleri

Trichoderma sp.'nin mutant izolatlarının biberde hastalık etmeni olan *Macrophomina phaseolina*'ya karşı antagonistik aktivitesi farklı sıcaklık değerlerinde (25˚C, 30˚C, 35˚C, 45˚C) incelenmiştir. *Trichoderma sp.*'nin 18 mutant izolatının test edilen sıcaklık değerlerinde, *M.phaseolina* gelişimini inhibisyon oranları Çizelge 4.1.' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Mutant *Trichoderma sp*. izolatlarının farklı sıcaklık derecelerinde *M.phaseolina* gelişimini inhibisyon oranları (%)

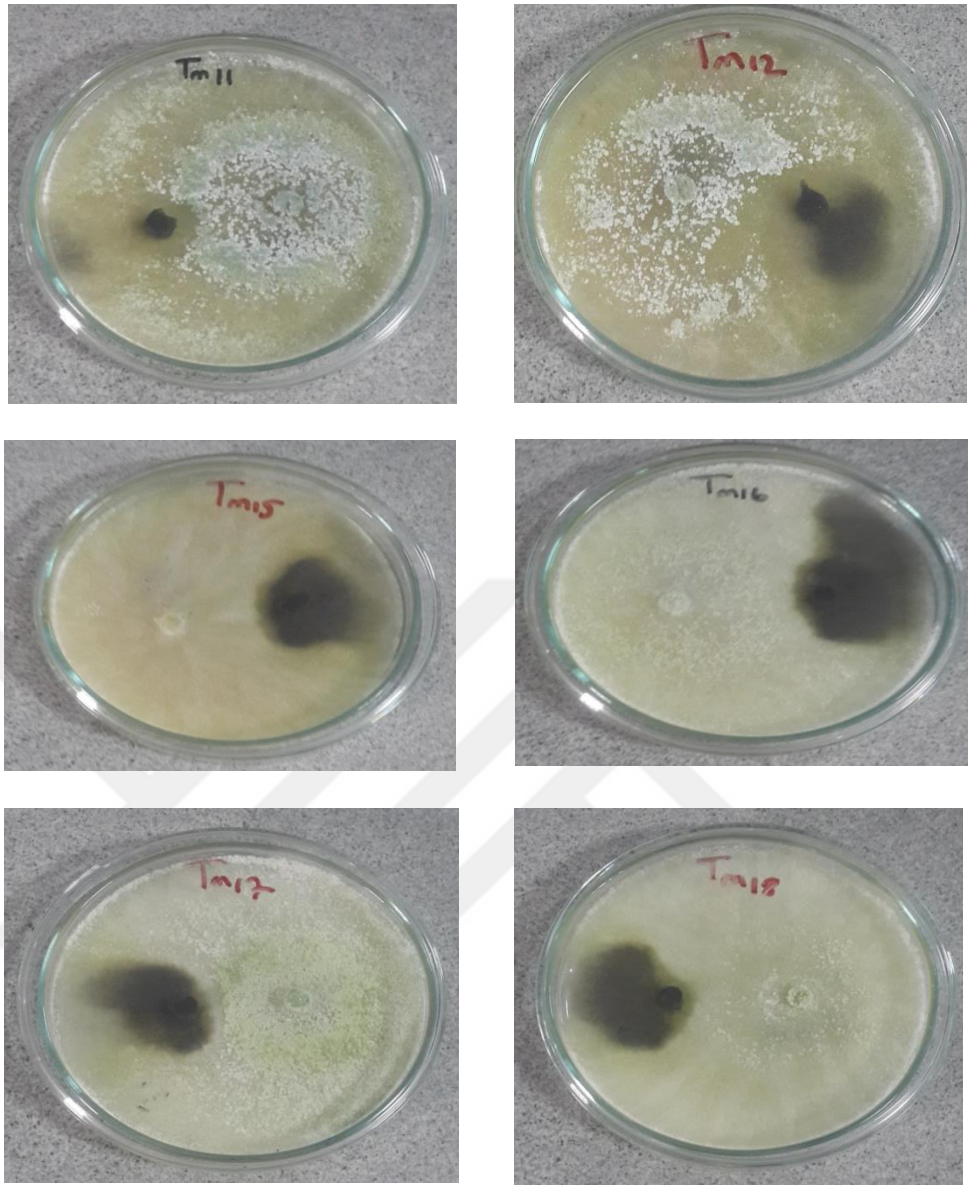
İzolatlar	FARKLI SICAKLIK DEĞERLERİ (˚C)			
	25˚C	**30˚C**	**35˚C**	**45˚C**
Tm1	66,7	91,2	98	95,8
Tm2	70	87,7	97,1	95,8
Tm3	76,7	91,2	97,1	95,8
Tm4	83,3	96,4	97,9	79,2
Tm5	67	91	97,9	95,3
Tm6	76,7	81	97,7	95,3
Tm7	76,7	89,4	94	95,8
Tm8	76,7	82,4	96	91,7
Tm9	76,7	98,2	95,3	95,8
Tm10	66,6	91,2	95,8	95,8
Tm11	83,3	91,2	93,7	95,8
Tm12	83,3	87,7	97,2	95,8
Tm13	93,3	87,8	95,8	91,7
Tm14	83,3	85,9	97,8	91,6
Tm15	83,3	79	93,8	91,7
Tm16	83,3	88	95,8	91,7
Tm17	83,3	91,2	97,2	95,8
Tm18	83,3	85,9	97,2	95,8

Çizelge 4.1. incelendiğinde, *Trichoderma sp.* izolatları tarafından *M.phaseolina*'nın gelişmesinin engellemesi farklı sıcaklıklarda farklılık gösterdiği görülmektedir. 25˚C'de *M.phaseolina* gelişimini en yüksek % 93.3 ile Tm13 izolatı inhibe etmiştir (Çizelge 4.1.) Bunu % 83.3 inhibisyon oranı ile Tm4, Tm11, Tm12, Tm14, Tm15, Tm16, Tm17 ve Tm18 izlemiştir. 25˚C'de en düşük inhibisyon % 66.6 ile Tm10 izolatından alınmıştır. 30˚C'de en yüksek inhibisyon %98.2 ile Tm9 izolatından alınmıştır (Çizelge 4.1.) Patojen fungusun gelişimi sıcaklığın artmasıyla azaldığından izolatlarımızın 35˚C ve 45˚C'de patojen içeren ortamlarda gelişimi hızlanmıştır. *Trichoderma sp.* Tm13 nolu izolatın *M.phaseolina* gelişimine olan etkisi Şekil 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. 25˚C'de *M.phaseolina* gelişimi üzerine Tm13'ün etkisi

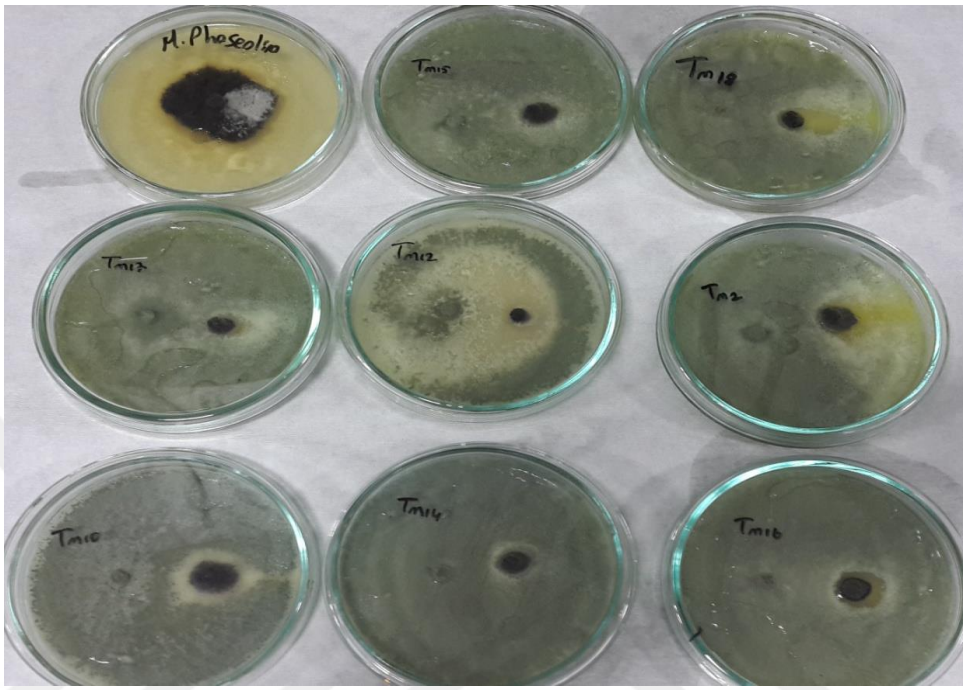
25˚C'de *Trichoderma sp.*'nin mutant izolatlarından Tm4, Tm11, Tm12, Tm14, Tm15, Tm16, Tm17 ve Tm18'in *M.phaseolina*'nin inhibisyonu Şekil 4.8.'de verilmiştir.



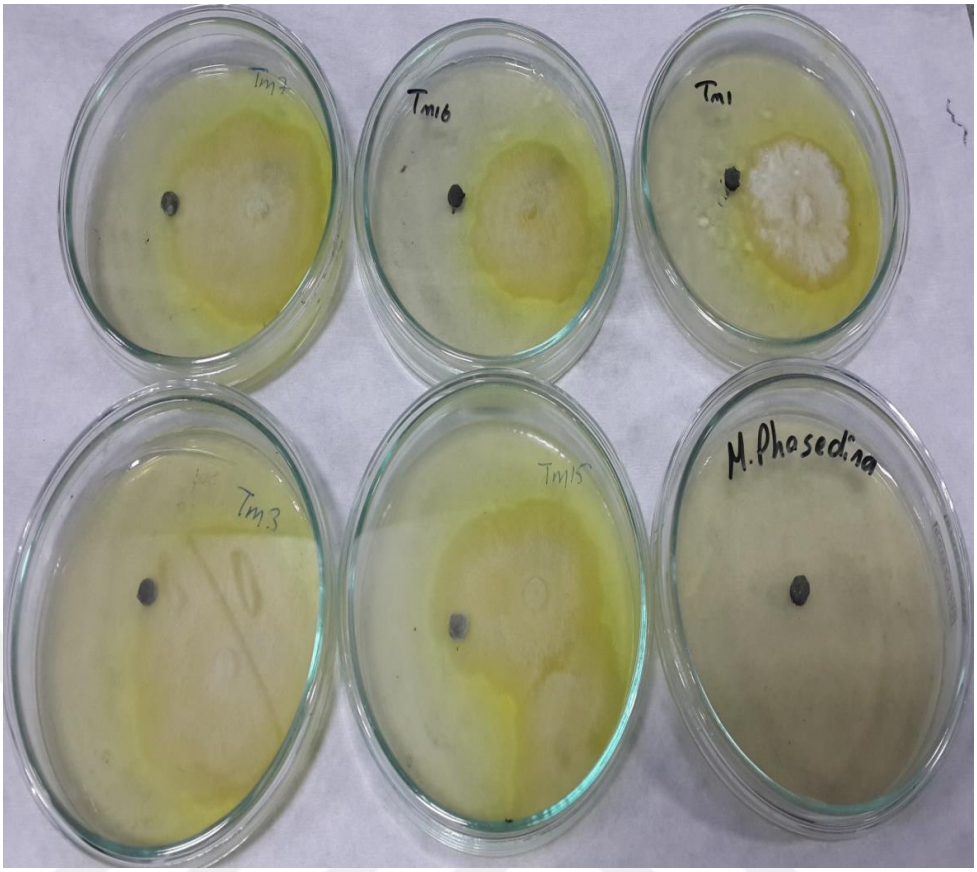
Şekil 4.8. Mutant izolatlardan Tm11, Tm12, Tm15, Tm16, Tm17 ve Tm18'in *M.phaseolina* gelişmesine etkisi

Gajere ve ark. (2012), *Trichoderma sp*. 'nin yedi türünün *Macrophomina phaseolina'* ya karşı antagonistik aktivitesini çift kültür tekniği ile araştırmışlardır. Araştırıcılar, *Trichoderma koningi* MTCC796 izolatının *M. phaseolina*' yı %74.3 oranında inhibe ettiğini saptamışlardır. Çalışmamızda da, mutant izolatlarımızın antagonistik aktiviteleri çift kültür tekniği ile farklı sıcaklık derecelerinde araştırılmıştır. *Trichoderma spp.* mutant izolatlarının gelişimi sıcaklığın artması ile hızlanmıştır. *M.phaseolina*'nın en yüksek inhibisyonu 35˚C ve 45˚C'de alınmıştır. *M.phaseolina* gelişiminin 35˚C 'de inhibisyonu Şekil 4.9. 'da verilmiştir. 45˚C'de

Trichoderma sp.'nin mutant izolatları ve *M.phaseolina* arasındaki antagonistik etkileşim Şekil 4.10.'da verilmiştir.



Şekil 4.9. 35˚C'de *Trichoderma sp*. mutant izolatları ile *M.phaseolina* arasındaki etkileşim



Şekil 4.10. 45˚C'de *Trichoderma sp.* mutant izolatlarının *M.phaseolina* gelişmesine etkileri

Mendoza ve ark. (2015), *Trichoderma sp.* izolatlarının *Macrophomina phaseolina*'nın gelişmesini engellediklerini bildirmişlerdir. Araştırıcılar, *Trichoderma* izolatlarından HTE808'in çok hızlı geliştiğini, *M. phaseolina*'nın gelişmesini engelleyerek tüm petri yüzeyini kapladığını ve hızla spor oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da *Trichoderma sp*.'nin mutant izolatlarının tümünün gelişimi *M.phaseolina*'ya göre hızlı olmuştur. Bu da, araştırıcıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

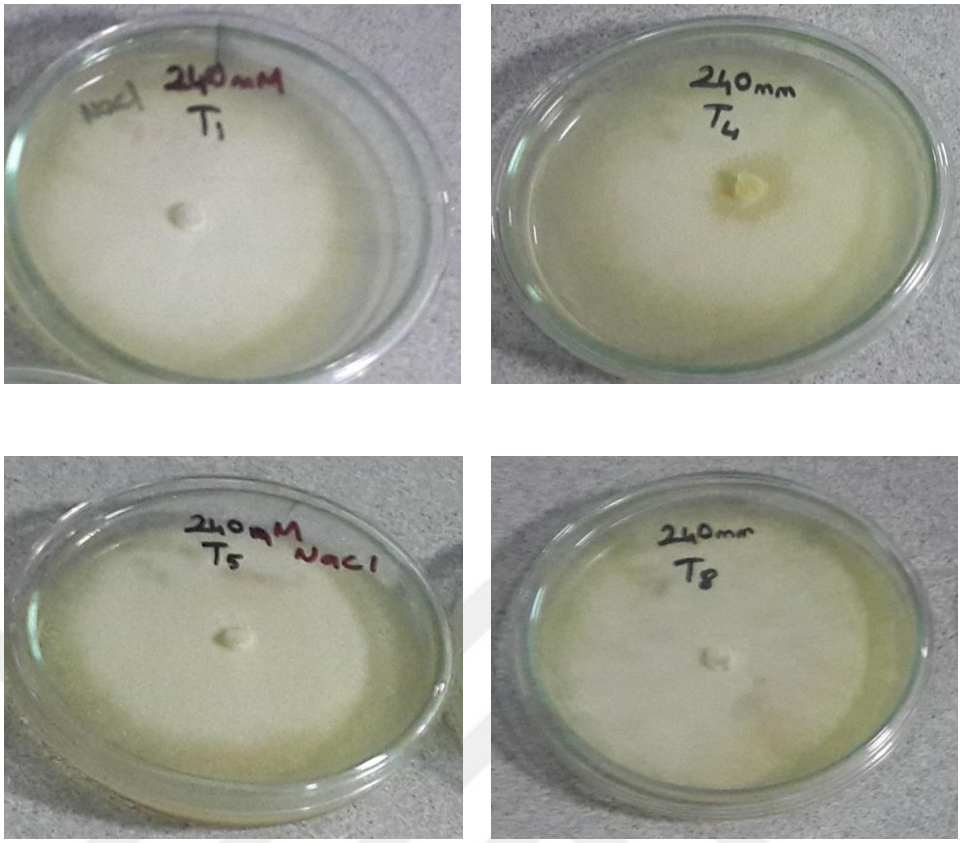
Ayçiçeğinde zarara neden olan *Macrophomina phaseolina*'ya karşı *Trichoderma sp*'nin antagonistik aktivitesi değerlendirilmiştir (Karmel-Reetha ve ark., 2014). PDA içeren ortamda *Trichoderma* izolatlarının *M. phaseolina*'nın gelişmesini engelledikleri incelenmiştir. İzolatlar arasında Tv1 'in *M. phaseolina'* nın koloni gelişimini %74.12 oranında inhibe ettiği saptanmıştır (Karmel - Reetha ve

ark., 2014). Rey ve ark. (2001), *Trichoderma harzianum*' un mutant izolatlarının *Botrytis cinerea* ve *Rhizoctonia solani'* nin gelişimini inhibe ettiklerini saptamışlardır. Mohammed ve ark. (2005), ise *Trichoderma harzianum* mutant izolatlarının domateste solgunluk hastalığı oluşturan *Fusarium oxysporum*'un gelişmesini engellediğini, mutant izolatların ise yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir.

UV ışığına maruz bırakarak elde ettiğimiz mutant izolatlarımız, test ettiğimiz patojen fungusun gelişimini inhibe etmiştir. Mutant izolatlarımız ile patojen fungus arasında oluşan inhibisyon zonlarının meydana gelmesi araştırıcıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir (Regragui ve Lahlou, 2005; Qualhato ve ark., 2013).

4.4. Stres Faktörlerinden NaCl, Sıcaklık ve Kuraklığın Mutant İzolatların Gelişmelerine Etkisi

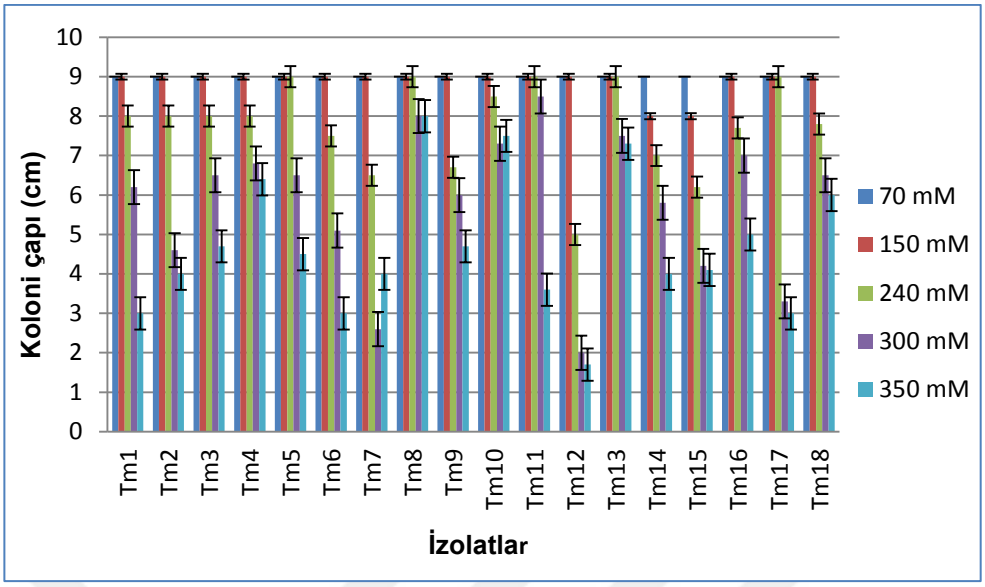
Çalışmamızda da, mutant izolatlarımızın farklı konsantrasyonlarda NaCl'e dayanıklılıkları incelenmiştir. 70 mM NaCl içeren ortamda, tüm izolatlar petri yüzeyini kaplamışlardır. 240 mM NaCl içeren ortamda ise, izolatlarımızdan Tm1, Tm2, Tm3, Tm4' ün gelişimi %12.5 oranında, Tm7' nin gelişimi %38.4, Tm9'un gelişimi %34.3, Tm10' un gelişimi %5.8 oranında azalma göstermiştir. 240 mM NaCl içeren ortamın mutant izolatlara etkisi Şekil 4.11.'da verilmiştir.



Şekil 4.11. 240 mM NaCl içeren ortamda Tm1, Tm4, Tm5 ve Tm8 mutant izolatların gelişimi

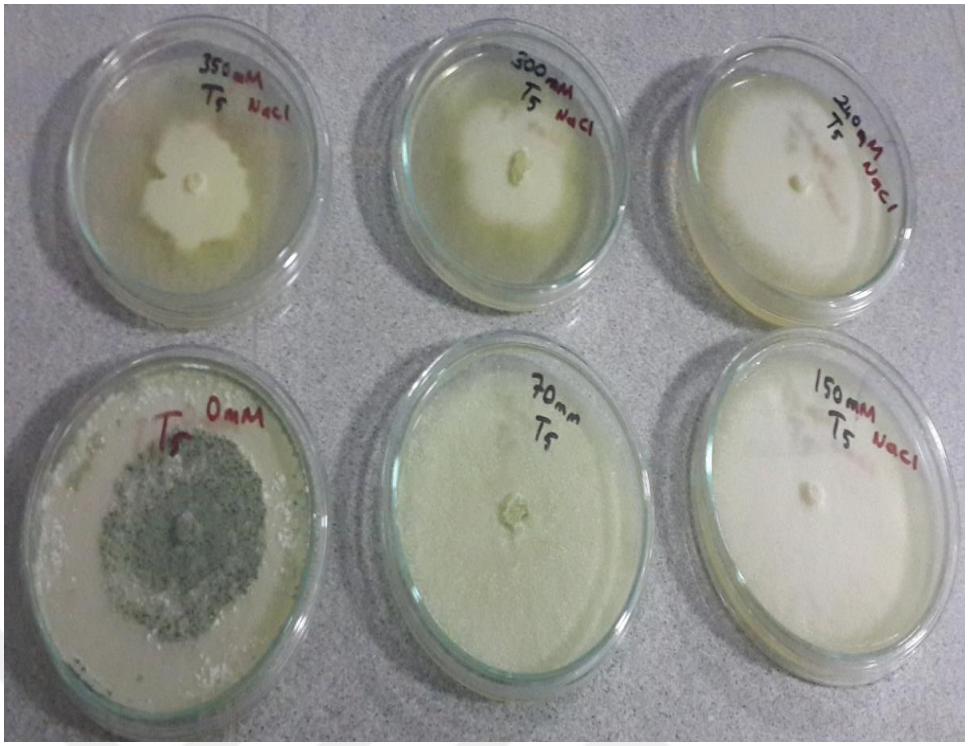
Ortama eklenen 240 mM NaCl'de; ayrıca Tm14'ün gelişimini % 28.5, Tm15' in gelişimini %45.1, Tm16' nın gelişimi %16.8 oranında ve Tm18'in gelişimi ise %15.3 oranında azaltmıştır. Tm5, Tm8, Tm11, Tm13 ve Tm17 nolu mutant izolatlar 240 mM NaCl'den etkilenmemiştir.

300 mM NaCl içeren ortamda ise gelişmesi en çok engellenen %246.1 ile Tm7 izolatı olarak belirlenmiş, bunu sırası ile Tm17 (% 172.7) ve Tm15 (%114.3) izlemiştir. 300 mM NaCl'e en dayanıklı izolatın Tm8 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12.)



Şekil 4.12. İzolatların farklı NaCl konsantrasyonlarına toleranslılıkları

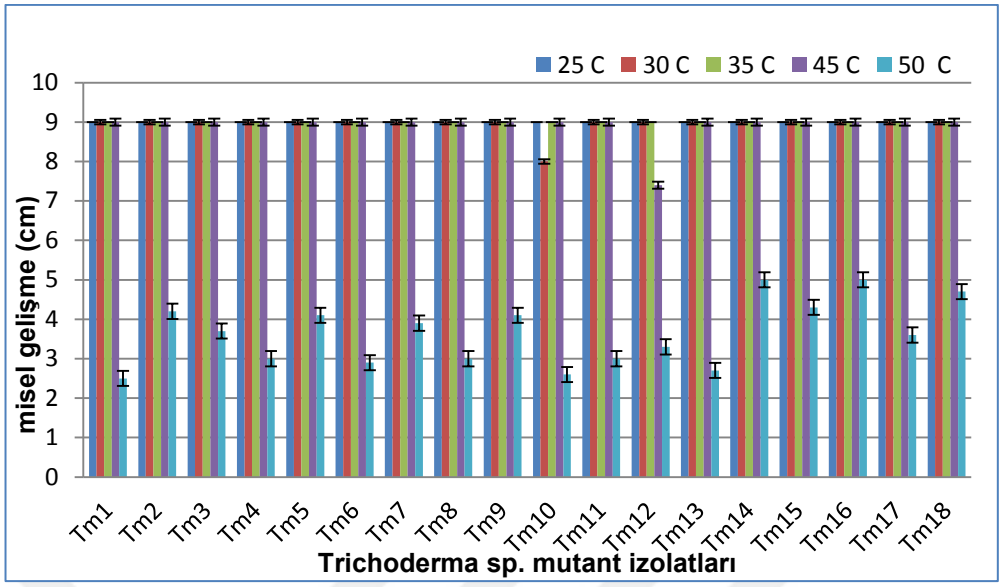
350 mM NaCl içeren ortamda ise, en dayanıklı izolatın Tm8 olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12.) En hassas izolat ise Tm12 olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.12.) Mohammed ve ark. (2005), *Trichoderma harzianum* mutant izolatlarının 69 mM NaCl içeren ortamda hızlıca spor oluşturduklarını, tuz stresi altında da, gliotoksin, gliovirin ve trikodermin antibiyotiklerini üretebildiklerini tespit etmişlerdir. Araştırıcılar, mutant izolatların ayrıca tuz stresi altında; kitinaz, selülaz ve ß - glukosidaz enzim aktivitelerini de salgıladıklarını bildirmişlerdir. Mutant *Trichoderma spp*. izolatlarının farklı tuz konsantrasyonlarındaki görünümü Şekil 4.13.'de verilmiştir.



Şekil 4.13.Mutant *Trichoderma sp.* izolatlarının farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişimler

İzolatlarımızın 70 mM ve 150 mM NaCl içeren ortamlarda hızlı misel oluşturmaları, araştırıcıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Regraui ve Lahlou (2005), *Trichoderma*'nın antagonistik aktivitesini sınırlandıran en önemli çevresel faktörün tuzluluk olduğunu bildirmiştir. *Trichoderma sp.* İzolatlarının saprofitik kapasitesinin; pH, sıcaklık, kuraklık gibi çevresel faktörler tarafından da etkilendiği açıklanmıştır (Eastburn ve Butler, 1991).

Farklı sıcaklık derecelerinin izolatlarımızın gelişmeleri üzerine etkilerinin incelendiği çalışmamızda ise, 25˚C, 30˚C ve 35˚C'de izolatların misel gelişmelerinin etkilenmediği belirlenmiştir (Şekil 4.14.) 45˚C'de tüm izolatlar gelişmiştir. 50˚C'de izolatların koloni gelişmeleri azalma göstermiştir. 50˚C'lik sıcaktan en fazla etkilenen sırasıyla; Tm1, Tm10, Tm13, Tm4, Tm11, Tm8, Tm6 ve Tm17 nolu izolatlar olmuştur (Şekil 4.14.)



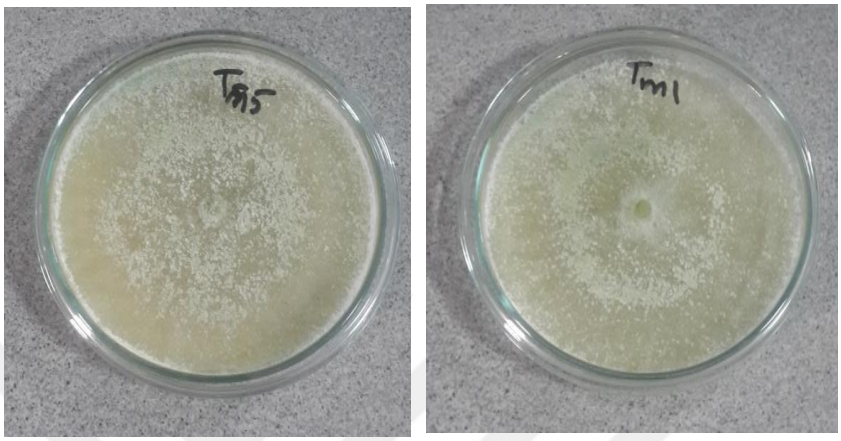
Şekil 4.14. İzolatların farklı sıcaklık derecelerine toleranslılıkları

Nikolajeva ve ark. (2012) farklı *Trichoderma* izolatlarının gelişmeleri üzerine sıcaklığın etkisinin önemli olduğunu saptamışlardır. Danielson ve Davey (1973) ise, bazı *Trichoderma* türlerinin (*T.viride, T.polysporum*) soğuk iklime sahip bölgelerde tipik olduğunu, diğer türlerin (*T.koningii, T.hamatum, T.harzianum, T.pseudokoningii, T.saturnisporum*) ise sıcak iklim bölgelerinde dominant olduğunu rapor etmişlerdir. *T.polysporum*'un psikrofil *Trichoderma* türü olduğu bildirilmiştir (Goldfarb ve ark., 1989), İsveç topraklarından izole edilen *T.polysporum*'un 4˚C'de hızlı gelişme gösterdiği tespit edilmiştir (Nikolajeva ve ark., 2012).

Çalışmamızda ise izolatlarımız 30˚C, 35˚C, 45˚C'de hızlı gelişmişlerdir (Şekil 4.15.) Ayrıca 50˚C'de de gelişebilmişlerdir. Bölgemiz sıcak iklime sahip olduğundan, izolatlarda Şanlıurfa'daki tarım arazilerinden izole edildiğinden dolayı izolatlarımızın yüksek sıcaklığa adapte oldukları ve test edilen yüksek sıcaklık değerlerin toleranslılık gösterdikleri düşünülmektedir.

Samuels ve ark. (1996) tarafından yapılan bir araştırmada *Trichoderma asperellum'un* izolatlarının gelişimi için en uygun sıcaklığın 30˚C olduğu rapor edilmiştir. Benzer sonuçlar diğer *Trichoderma* türleri içinde rapor edilmiştir (Begoude ve ark., 2007). Mukherjee ve Raghu (1997), *Sclerotium rolfsii* üzerine

Trichoderma spp.'nin biyokontrol etkisinin incelendiği araştırmalarında; *Trichoderma sp*. için en uygun sıcaklığın 25-30˚C arasında olduğunu saptamışlardır. *Trichoderma sp.* mutant Tm1 ve Tm5 nolu izolatların 25˚C'deki gelişimleri Şekil 4.15.'de verilmiştir.



Şekil 4.15. Mutant *Trichoderma spp.* izolatlarının 25˚C'deki gelişimleri

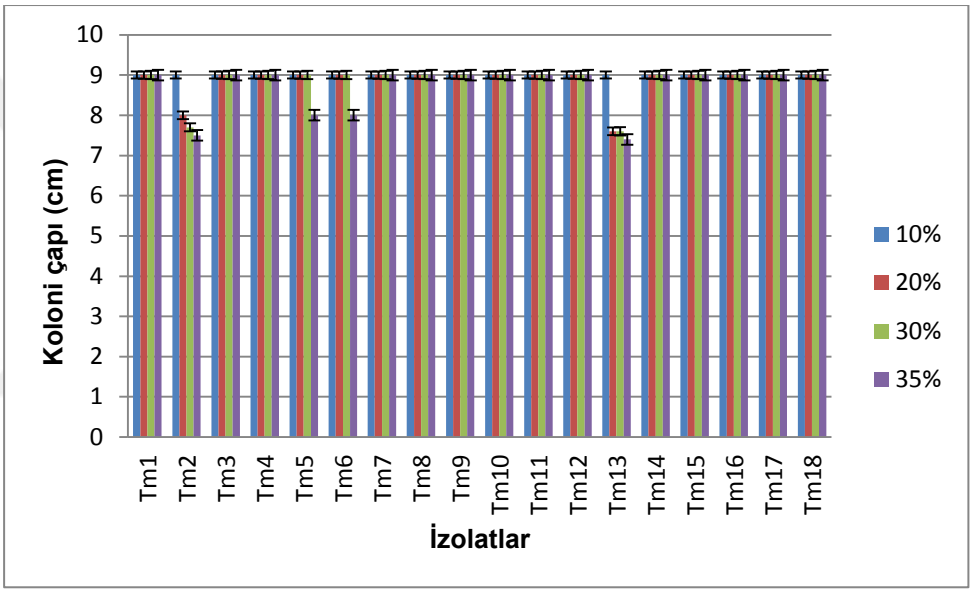
Begoude ve ark. (2007) ise *Trichoderma asperellum*'un gelişimine en uygun sıcaklığın 30˚C olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da 25˚C, 30˚C, 35˚C ve 45˚C'lik sıcaklıklar izolatlarımızın gelişmelerini sınırlandırmamıştır. 25˚C ve 30˚C'de izolatlarımızın hızla gelişme göstermeleri araştırıcıların çalışmaları tarafındanda desteklenmektedir. 50˚C 'de izolatlarımız misel oluşturmalarına karşın, spor oluşumları azalma göstermiştir.

Poosapati ve ark. (2014) ise yaptıkları çalışmalarında test ettikleri *Trichoderma sp.* izolatlarının gelişmelerinde 35˚C'lik sıcaklık olumsuz etki göstermemiştir. Bizim çalışmamızda da izolatlarımızın tümü 35˚C'de gelişme göstermiştir. Poosapati ve ark. (2014) tarafından yapılan araştırma, bizim çalışmamızı desteklemektedir. Ayrıca araştırıcılar tarafından bildirilen sıcaklığın artışıyla *Trichoderma sp*. tarafından spor oluşumundaki azalış, çalışmamızla uyumludur.

Biyofungisid olarak kullanılan *Trichoderma* türlerinin gelişmini sınırlandıran en önemli faktörlerden birinin kuraklık olduğu açıklanmıştır (Kredics ve ark., 2003). Fungusun geliştiği çevre ve substrattaki mevcut su miktarının, fungal gelişme için

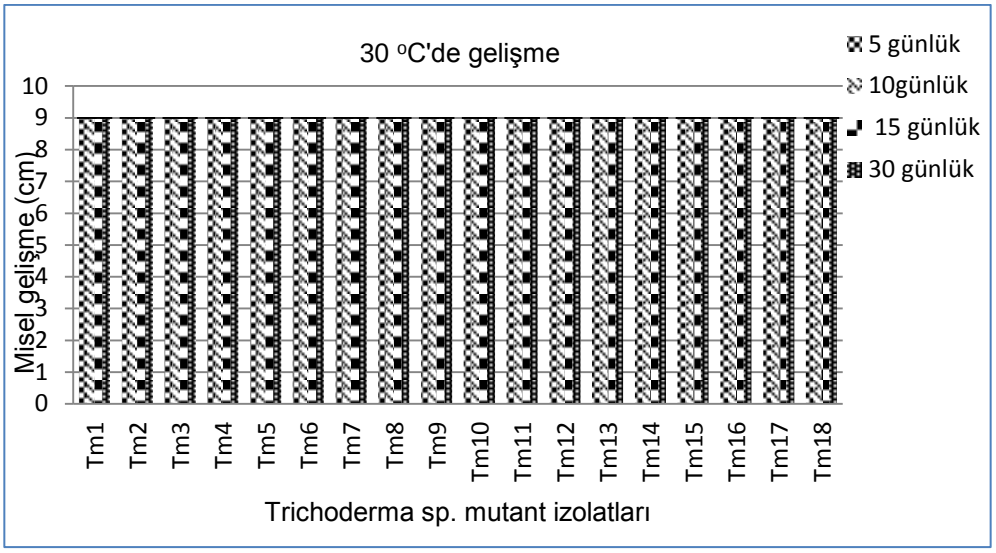
oldukça önemli olduğu bildirilmiştir (Verscheure ve ark., 2002). Begoude ve ark. (2007), *Trichoderma asperellum*'un kuraklığa dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda 18 mutant *Trichoderma spp.* izolatının kuraklığa karşı dayanıklılıkları araştırılmıştır.

İzolatlarımızdan Tm2 ve Tm13 dışındakiler, test edilen tüm kuraklık koşullarına dayanıklı olarak bulunmuştur. Tm2 ve Tm13 izolatlarının artan PEG konsantrasyonuna bağlı olarak misel gelişimleri azalma göstermiştir. Bu izolatları Tm5 ve Tm6 nolu izolatlar izlemiştir (Şekil 4.16.)



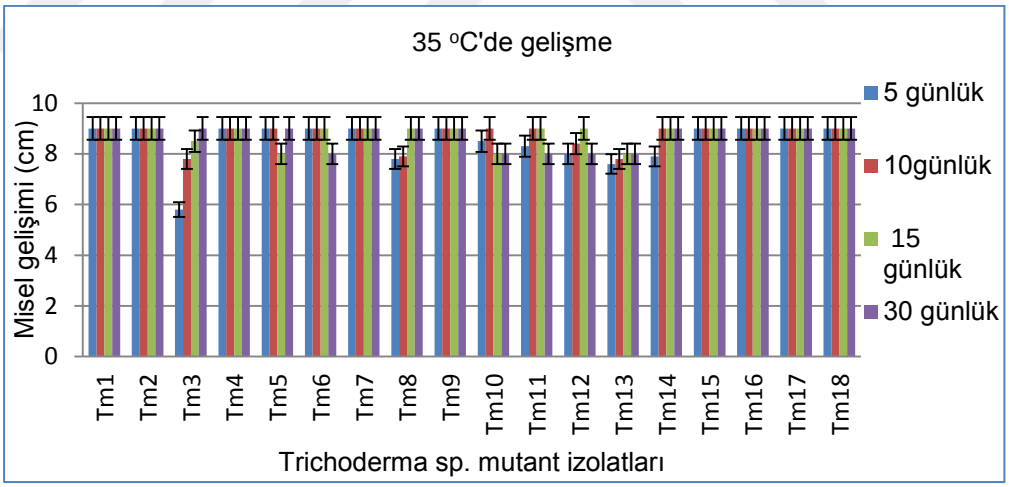
Şekil 4.16. İzolatların farklı PEG konsantrasyonlarına (kuraklığa) toleranslılıkları

Çalışmamızda izolatların 5, 10, 15 ve 30 günlük kültür yaşlarına sıcaklığın etkisinin incelendiği araştırmamızda, 30˚C'de farklı günlük kültür yaşlarındaki tüm mutant izolatlar gelişmiştir (Şekil 4.17.)



Şekil 4.17. İzolatların 30˚ C'de farklı kültür yaşlarının gelişimi

35˚C'de ise; izolatlardan Tm3, Tm8, Tm12, Tm13, Tm14'ün 5 günlük kültürlerinin misel gelişmeleri diğer uygulamalara göre düşük bulunmuştur (Şekil 4.18.)



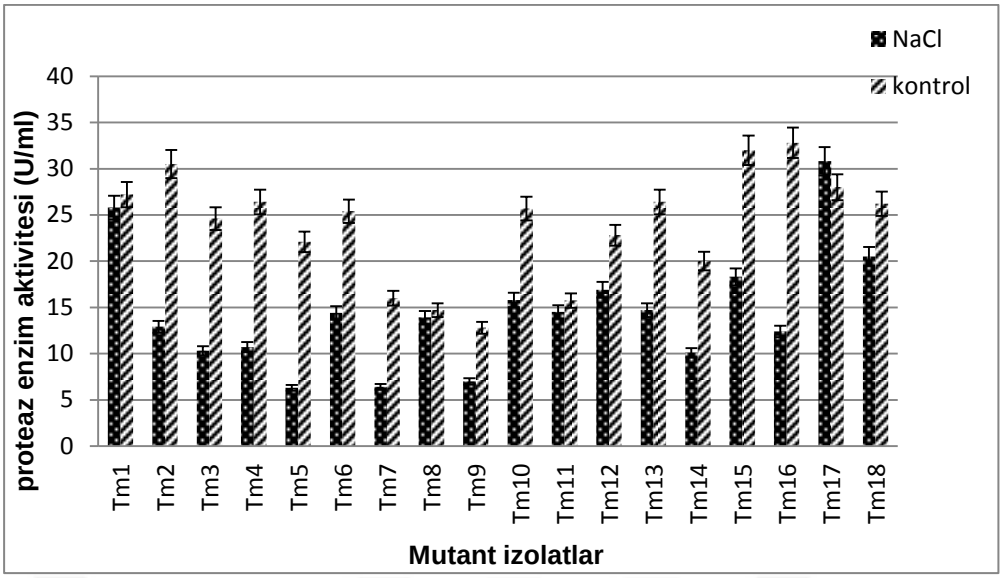
Şekil 4.18. İzolatların 35˚ C'de farklı kültür yaşlarının gelişimi

Tm1, Tm2, Tm4, Tm7, Tm9, Tm15, Tm16, Tm17 ve Tm18'in farklı kültür yaşları 35˚C'de etkilenmemiştir.

4.5. *Trichoderma sp.* Mutant İzolatlarının Proteaz Aktiviteleri

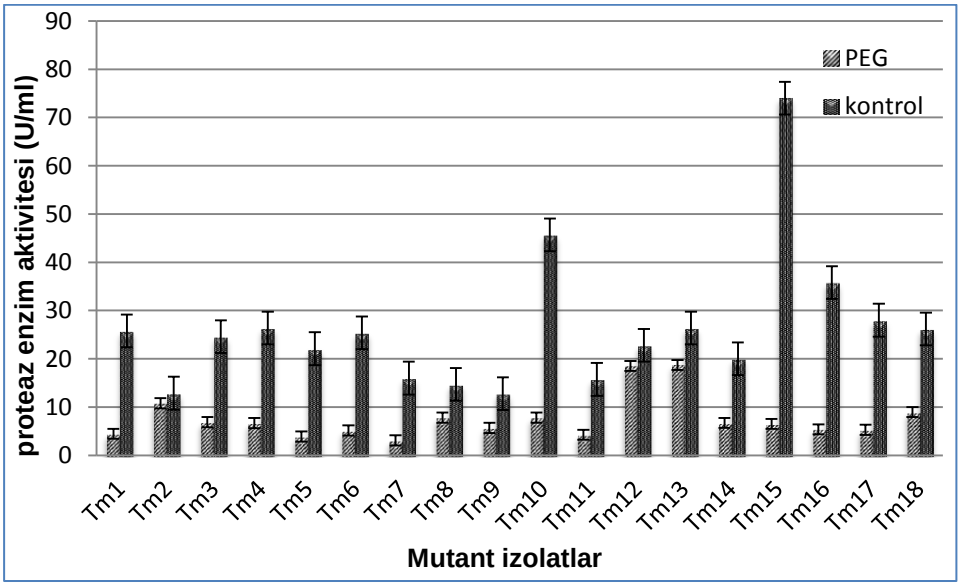
Trichoderma türleri son 20-30 yıldan beri tarımsal zararlılara karşı potansiyel biyokontrol etmenleri olarak kullanılmaktadır. Rekabetlilik ve mikoparazitizm için önemli olan ve *Trichoderma* izolatları tarafından üretilen ekstrasellüler enzim sistemlerinin, misel gelişimi için uygun olmayan koşullarda bile, aktif kalabildiği Kredics ve ark. (2003) tarafından bildirilmiştir. *Trichoderma* antagonizmine karışan birçok mekanizma bulunmaktadır. Antagonist fungus, antibiyotik üretmekte ve besinler için diğer mikroorganizmalarla rekabet etmektedir. Mikoparazitizm'de; *Trichoderma sp.* izolatları kitinaz, ß-1,3-glukonaz ve proteaz gibi litik enzimleri salgılayarak bitki patojeninin gelişmesini direk engellemiştir (Mendoza ve ark., 2015). Patojenik fungusun hücre duvarları kitin, glukan ve proteinler içerdiğinden patojenin hücre duvarının parçalanmasında, başarılı antagonist varlığında salgılanan enzimler önemli rol oynamaktadır (Lorito ve ark., 1994). Filamentli fungal hücre duvarları; lipid ve proteinleri içermektedir. Dolayısıyla antagonist fungusun sentezlediği proteazın, konukçu fungal patojenin hücre duvarını parçalayabildiği belirlenmiştir (Lorito ve ark., 1994). Çalışmamızda kültür ortamında mutant izolatlarımız tarafından üretilen proteaz enzim aktivitesi ve stres faktörlerinden NaCl, kuraklık ve sıcaklığın izolatlar tarafından üretilen enzim aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. İzolatlarımızın en iyi gelişme gösterdiği stres faktörleri dikkate alınarak proteaz aktiviteleri incelenmiştir. Buna göre proteaz aktiviteleri izolatların en iyi geliştiği 45˚C'de, 240 mM NaCl ve %30 PEG içeren ortamlarda incelenmiştir. Tuz içeren ortamda izolatların ürettikleri proteaz aktivite izolata göre değişiklik göstermekle birlikte; 6.31-30.8 U/ml arasında belirlenmiştir.

İzolatlarımızdan en yüksek proteaz aktivite Tm15 izolatından (74 U/ml) elde edilmiştir. Bunu sırası ile Tm16 (35.8 U/ml) ve Tm17 (28 U/ml) izolatları izlemiştir. İzolatlar tarafından üretilen proteaz aktivite 12.8-74 U/ml arasında değişiklik göstermiştir. En düşük aktivite Tm9 izolatında incelenmiştir (Şekil 4.19.)



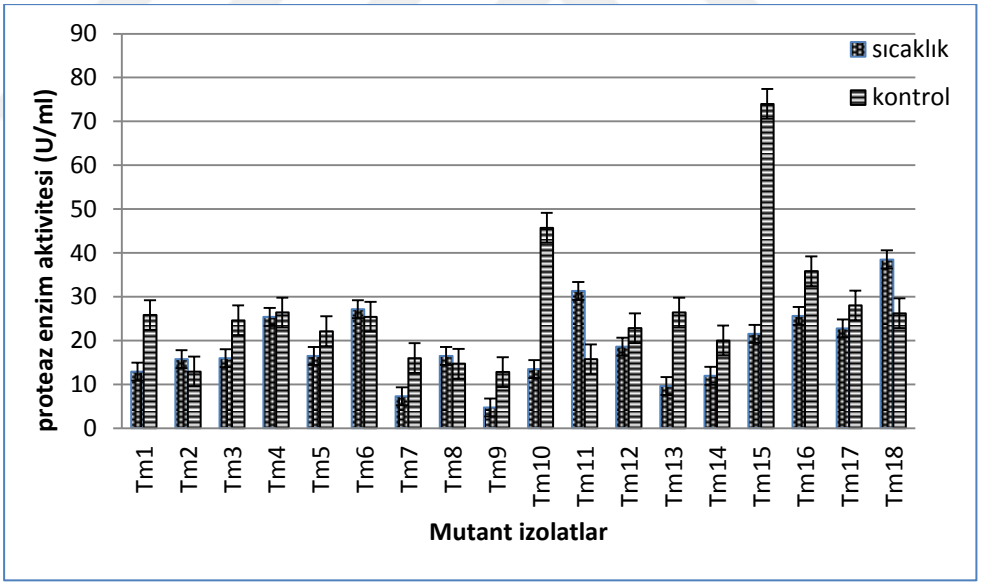
Şekil 4.19. *Trichoderma sp*. mutant izolatların proteaz enzim aktivitesi üzerine NaCl'un etkisi (kontrol= 0 mM, NaCl=240mM)

Kontrolle karşılaştırıldığında en fazla proteaz aktivitede % azalış; Tm5 izolatında saptanmıştır. Tm5 izolatını sırasıyla Tm16, Tm3, ve Tm2 izolatları izlemiştir. Stres faktörlerinden kuraklık oluşturan %30 PEG ortama ilave edildiğinde ise izolatlarımızca üretilen proteaz aktivite 3.1-18.73 U/ml arasında değişmiştir (Şekil 4.20.)



Şekil 4.20. *Trichoderma sp*. mutant izolatların proteaz enzim aktivitesi üzerine kuraklığın tkisi (kontrol=0 PEG=%30)

Kuraklığın uygulandığı koşullarda en yüksek aktivite Tm13 izolatından alınmıştır (Şekil 4.20.) Kontrolle karşılaştırıldığında ise proteaz aktiviteden en fazla % azalış; sırasıyla Tm15, Tm16, Tm10, Tm1 ve Tm5 nolu izolatlarda tespit edilmiştir. Kurak koşulda kontrolle karşılaştırıldığında proteaz üretimi bakımından en az etkilenen ise Tm12 izolatı olmuştur. Sıcaklığın stres faktörü olarak uygulandığı çalışmamızda izolatlar tarafından üretilen proteaz aktivite 4.71-38.5 U/ml arasında değişmiştir (Şekil 4.21.) Haggag ve ark. (2006) yaptıkları bir çalışmada farklı sıcaklık değerlerinin *Tallaromyces flavus* ve *Trichoderma harzianum* tarafından üretilen proteaz aktivite üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırıcılar, *T.harzianum* tarafından salgılanan en yüksek proteaz aktivite için en uygun sıcaklığın 30-40˚C olduğunu, *T.flavus* tarafından salgılanan en yüksek proteaz aktivitenin ise 20-40˚C aralığında incelendiğini açıklamışlardır. Aynı araştırıcılar, bakla yapraklarında *Botrytis cinerea* gelişiminin *T.flavus* ve *T.harzianum* tarafından salgılanan proteaz enzimi ile önlendiğini tespit etmişlerdir.



Şekil 4.21. *Trichoderma sp*. mutant izolatlarının proteaz enzim aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi (kontrol=25˚C, sıcaklık=45˚C)

Sıcaklık etkisinin incelendiği çalışmada ise en yüksek proteaz aktivite Tm18 izolatından alınırken, en düşük aktivite Tm9 izolatında belirlenmiştir (Şekil 4.18.) Kontrolle karşılaştırıldığında ise proteaz aktivitede en fazla % azalış sırasıyla Tm15 ve Tm10'da belirlenmiştir. Proteaz üretiminde kontrolle karşılaştırıldığında

sıcaklıktan en az etkilenen Tm4 olmuştur. Sıcaklık uygulaması, Tm6, Tm8, Tm18 nolu izolatlarımız tarafından üretilen proteaz aktiviteyi kontrole göre arttırmıştır. Uygulanan stres faktörlerine karşı izolatların farklı tepkiler vermesi, izolatların birbirinden farklı olduğu şeklinde düşünülebilir. Simkovic ve ark. (2008), yaptıkları bir çalışmada ise *Trichoderma viride* tarafından en yüksek proteaz aktivitenin 40˚C'lik sıcaklıkta alındığını rapor etmişlerdir. Antal ve ark. (2000) ise farklı sıcaklıklarda *Trichoderma* türleri tarafından ekstrasellüler enzimlerin salgılanmasını araştırmışlardır. Soğuğa toleranslı izolatların 10˚C'de proteaz ürettikleri ve enzimin 5˚C'de de aktif olduğunu açıklamışlardır. Ayrıca araştırıcılar, izolatlar tarafından üretilen proteaz aktivitedeki farklılıkların izolatların farklı olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, *Trichoderma*'nın mutant izolatlarının çift kültür deneylerinde, *M.phaseolina*'nın gelişimini sınırlandırdığı belirlendiğinden, izolatlarımız *M.phaseolina* tarafından oluşturulan ürün kayıplarını önleyebilir. *M.phaesolina*'nın gelişiminin engellenmesi, ortam pH'nın değişiminden, *Trichoderma sp*. mutant izolatları ile patojen fungus arasındaki rekabetten kaynaklanan ortamdaki besin maddelerinin azalmasından kaynaklanabilir. Ayrıca izolatlarımız ile patojen fungus arasında oluşan inhibisyon zonlarının, izolatlarımızca üretilen metabolitlerden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla izolatlarımızın *M.phaseolina* kontrolünde biyolojik etmen olarak potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Çift kültürde, izolatlarımızın patojen fungusa göre daha hızlı gelişme göstermesi rekabetçi olduğunu göstermektedir. İzolatlarımızın hızlı gelişme göstererek misel oluşturmaları, patojen hücre duvarını parçalayabilen proteaz enzimini salgılamalarıyla da ilişkili olabilir. *Trichoderma*'nin endokitinaz, kitinaz, proteaz, glukonaz gibi hücre duvarını parçalayan enzimler, antibiyotik benzeri metabolitlerin salgısı, mikoparazitik özelliği ve hızlı gelişimi ile patojen funginin gelişmesinin inhibe edildiği yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir (Altınok ve Erdoğan, 2015; Arjona-Girona ve ark; 2014; Küçük ve Kıvanç, 2003; Melo ve ark., 1997).

İzolatlar, abiyotik stres faktörlerine karşı toleranslılık göstermeleri yanında, saprofitik özellikleri ve rekabetçi olmaları ile de olumsuz koşullarda etkili olabilirler. Abiyotik strese toleranslı olan mikroorganizmaların bazısının bitkileri tuzluluk, yüksek sıcaklık, diğer organizmalar tarafından oluşturulan yaralanma, kuraklık gibi stres faktörlerinden koruyabildikleri açıklanmıştır (Ali-Barka ve ark., 2006; Amalraj ve ark., 2011; Han ve ark., 2006). Ayrıca *Trichoderma* türü fungal izolatların abiyotik stres düzenleyicisi oldukları yapılan birçok çalışmada da rapor edilmiştir. *Trichoderma* ile muamele edilen bitkilerin kök uzunluklarının arttığı, toprak profili içinde köklerin daha derinlere inerek, bitkilerin kuraklık stresine karşı toleranslılık kazandırdığı açıklanmıştır (Harman, 2000). *T.hamatum* ile muamele edilen kakao bitkisinin artan kök gelişimiyle kuraklığa toleranslılık gösterdiği bidirilmiştir

(Harman, 2000). Çalışmamızda test edilen *Trichoderma sp*.'nin mutant izolatlarının farklı abiyotik stres faktörlerine tepkileri farklılık göstermekle birlikte, stres faktörlerinin olduğu ortamlarda inokulant olarak kullanılabilirlikleri ümit vaad etmektedir. İzolatlarımız tarafından üretilen proteaz enzim aktivitesi test edilen abiyotik faktörlerden yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzlu ortamda farklılık göstermiştir. Her üç stres faktöründe en yüksek aktivite gösteren tek bir izolat bulunmamakla birlikte, izolatlar stres faktörlerinde farklı değerlerde aktivite üretmişlerdir. Yüksek sıcaklıkta en yüksek proteaz aktivite Tm18 ve Tm11 nolu izolatlardan, tuz içeren ortamda ise Tm17 ve Tm1 nolu izolatlardan en yüksek proteaz aktivite elde edilmiştir.

Mikroorganizmalar tarafından bitki patojenlerinin biyolojik kontrolü, kimyasal uygulama metodlarına alternatif olarak kabul edilebilen doğa ve çevre ile dost uygulamalar olarak düşünülmektedir (Cook ve Baker, 1984). *Trichoderma* türü fungal izolatlar, dünya genelinde oldukça yoğun araştırmaya sahip biyolojik kontrol etmenleridir.

Sonuç olarak; çalışmamızda test edilen mutant izolatlar, *M.phaseolina*'ya karşı etkili olarak bulunmuştur ve abiyotik stres faktörlerine toleranslı potansiyel izolatlar olarak belirlenmiştir. Şanlıurfa ve benzer iklime sahip bölgeler için izolatlarımız çiftçilerin hastalık kontrolünde kimyasal ilaçlara karşı ekonomik olarak kullanılabileceği alternatif olabilir. Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında, yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzlu topraklarda tarımsal ürünlerin korunmasında izolatlarımızın değerlendirilmesi için ilave çalışmaların yapılması gerekmektedir. İzolatlarımızın hızlı gelişme göstermeleri, antagonist aktiviteye sahip olmaları, yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzlu koşullarda proteaz enzimini üretebilmeleri, onların biyokontrol etmenler olarak kullanımı için umut verici aday olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda, *Trichoderma*'nın mutant izolatlarının çift kültür deneylerinde, *M.phaseolina*'nın gelişimini sınırlandırdığı belirlendiğinden, izolatlarımız *M.phaseolina* tarafından oluşturulan ürün kayıplarını önleyebilir. *M.phaesolina*'nın gelişiminin engellenmesi, ortam pH'nın değişiminden, *Trichoderma sp*. mutant izolatları ile patojen fungus arasındaki rekabetten

kaynaklanan ortamdaki besin maddelerinin azalmasından kaynaklanabilir. Ayrıca izolatlarımız ile patojen fungus arasında oluşan inhibisyon zonlarının, izolatlarımızca üretilen metabolitlerden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla izolatlarımızın *M.phaseolina* kontrolünde biyolojik etmen olarak potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Çift kültürde, izolatlarımızın patojen fungusa göre daha hızlı gelişme göstermesi rekabetçi olduğunu göstermektedir. İzolatlarımızın hızlı gelişme göstererek misel oluşturmaları, patojen hücre duvarını parçalayabilen proteaz enzimini salgılamalarıyla da ilişkili olabilir. *Trichoderma*'nin endokitinaz, kitinaz, proteaz, glukonaz gibi hücre duvarını parçalayan enzimler, antibiyotik benzeri metabolitlerin salgısı, mikoparazitik özelliği ve hızlı gelişimi ile patojen funginin gelişmesinin inhibe edildiği yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir (Altınok ve Erdoğan, 2015; Arjona-Girona ve ark; 2014; Küçük ve Kıvanç, 2003; Melo ve ark., 1997).

İzolatlar, abiyotik stres faktörlerine karşı toleranslılık göstermeleri yanında, saprofitik özellikleri ve rekabetçi olmaları ile de olumsuz koşullarda etkili olabilirler. Abiyotik strese toleranslı olan mikroorganizmaların bazısının bitkileri tuzluluk, yüksek sıcaklık, diğer organizmalar tarafından oluşturulan yaralanma, kuraklık gibi stres faktörlerinden koruyabildikleri açıklanmıştır (Ali-Barka ve ark., 2006; Amalraj ve ark., 2011; Han ve ark., 2006). Ayrıca *Trichoderma* türü fungal izolatların abiyotik stres düzenleyicisi oldukları yapılan birçok çalışmada da rapor edilmiştir. *Trichoderma* ile muamele edilen bitkilerin kök uzunluklarının arttığı, toprak profili içinde köklerin daha derinlere inerek, bitkilerin kuraklık stresine karşı toleranslılık kazandırdığı açıklanmıştır (Harman, 2000). *T.hamatum* ile muamele edilen kakao bitkisinin artan kök gelişimiyle kuraklığa toleranslılık gösterdiği bidirilmiştir (Harman, 2000). Çalışmamızda test edilen *Trichoderma sp.*'nin mutant izolatlarının farklı abiyotik stres faktörlerine tepkileri farklılık göstermekle birlikte, stres faktörlerinin olduğu ortamlarda inokulant olarak kullanılabilirlikleri ümit vaad etmektedir. İzolatlarımız tarafından üretilen proteaz enzim aktivitesi test edilen abiyotik faktörlerden yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzlu ortamda farklılık göstermiştir. Her üç stres faktöründe en yüksek aktivite gösteren tek bir izolat bulunmamakla birlikte, izolatlar stres faktörlerinde farklı değerlerde aktivite

üretmişlerdir. Yüksek sıcaklıkta en yüksek proteaz aktivite Tm18 ve Tm11 nolu izolatlardan, tuz içeren ortamda ise Tm17 ve Tm1 nolu izolatlardan en yüksek proteaz aktivite elde edilmiştir.

Mikroorganizmalar tarafından bitki patojenlerinin biyolojik kontrolü, kimyasal uygulama metodlarına alternatif olarak kabul edilebilen doğa ve çevre ile dost uygulamalar olarak düşünülmektedir (Cook ve Baker, 1984). *Trichoderma* türü fungal izolatlar, dünya genelinde oldukça yoğun araştırmaya sahip biyolojik kontrol etmenleridir.

Sonuç olarak; çalışmamızda test edilen mutant izolatlar, *M.phaseolina*'ya karşı etkili olarak bulunmuştur ve abiyotik stres faktörlerine toleranslı potansiyel izolatlar olarak belirlenmiştir. Şanlıurfa ve benzer iklime sahip bölgeler için izolatlarımız çiftçilerin hastalık kontrolünde kimyasal ilaçlara karşı ekonomik olarak kullanılabileceği alternatif olabilir. Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında, yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzlu topraklarda tarımsal ürünlerin korunmasında izolatlarımızın değerlendirilmesi için ilave çalışmaların yapılması gerekmektedir. İzolatlarımızın hızlı gelişme göstermeleri, antagonist aktiviteye sahip olmaları, yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzlu koşullarda proteaz enzimini üretebilmeleri, onların biyokontrol etmenler olarak kullanımı için umut verici aday olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

ABDEL-LATİF, H., MOHAMMED, A., HAGGAG, W. M. 2005. Biocontrol patential of Salinity Tolerant Mutants of Trichoderma Harzianum Against Fusarium Oxysporumcausing Tomato Wilt Disease. Arab.J. Biotechnol, 8: 35- 48.

ALİ-BARKA, S., SANDHYA, V., MİNAKSHİ, G., KİSHORE, N., VENKATESWAR, R.L., 2006. *Pseudomonas* sp. Strain AKM-P6 Enhances Tolerance of Sorghum Seedlings to Elevated Temperatures. Biol. Fertil. Soil., 46: 45-55.

ALMASSİ, F., GHİSALBERTİ, E. L., NARBEY, M. J., SİVASİTHAMPARAM. K., 1991. New Antibioties From Strains of *Trichoderma Harzianum.* J. Nat. Prod., 54: 396-402.

ALTINOK, H. H., and ERDOĞAN, O., 2015. Determination of The in Vitro Effect of *Trichoderma Harzianum* on Phytopathogenic Strains of *Fusarium Oxysporum*. Not. Bot. Agrobo, 43: 494-500.

AMALRAJ, L. D., KUMAR, P. G., DESAİ, S., AHMED, S. K. M. H., 2011. In Vitro Charac Terization of *Trichoderma Viride* For Abiotic Stress Tolerance and Field Evaluation Aainst Root Rot Disease in Vigna Mungo L. J. Biofertil. Biopesticid., 2:111-116.

ANTAL, Z., MANCZİNGER, L., SZAKACS, G., TENGERDY, R.P., FERENCZY., 2000. Colony Growth, in Vitro Antagonism and Secretion of Extracellular Enzymes in Cold Tolerant Strains of *Trichoderma*species. Mycol. Res., 104: 545-549.

ARJONA - GİRONA, I., VİNALE, F., RUANO - ROSA, D., LORİTO, M., LOPEZ - HERRERA, C. J., 2014. Effect of Metabolites From Different *Trichoderma* Strains on The Growth of *Rosellinia Necatrix,* The Causal Agent of Avocado White Roat Rot. Eur. J. Plant Pathol., 140: 385-397.

BEGOUDE, B. A. D., LAHLALİ, R., FRİELD, D., TONDJE, P. R., JİJAKLİ, M. H., 2007. Response Surface Methodology Study of The Combined Effects of Temperature, Ph, and Aw on The Growth Rate of *Trichoderma Asperellum.* J. Appl. Microbiol., 103: 845-854.

BENITEZ, T., RINCON, A. M., LİMON, M.C., CODON, A.C., 2004. Biocontrol Mechanisms of *Trichoderma* Strains. International Journal of Microbiology Research., 7: 249-260.

BRADFORD, M.M., 1976. Arapiol and Sensitive Method For The Quantitation of Mikrogram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.

BTASZCZYK, L., SİWULSKİ, M., SOBİERALSKİ, K., LİSİECKA, J., JEDRYCZKA, M., 2014. *Trichoderma Spp.*-Application and Prospects For Use in Organic Farming and İndustry. Journal of Plant Protection Research., 54: 310-317.

COOK, R. J., and BAKER, K. F., 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. American Phytopathologycal Society, St. Paul, MN.

DANİELSON, R. M., DAVEY., 1973. Non Nutrional Factors Affecting The Growth of *Trichoderma* Culture. Soil Biol Biochem., 5:495-504.

DENGKOLB, T., BERG, A., GAMS, W., SCHLEGEL, B., GRAFE, U., 2003. The Occurrence of Peptaibols and Structurally Related Peptabiotics in Fungi and Their Mass Spectrometric İdentification Via Diagnostic Fragment İans. J. Pept. Sci., 9: 666-678.

DUBEY, S. C., SURESH, M., SİNGH, B., 2007. Evaluation of *Trichoderma* Species Against *Fusarium Oxysporum*sp. *Ciceris* For İntegrated Management of Chickpea Wilt. Biol. Control, 40: 118-127.

DROBY, S., WISNIEWSKI, M., TEİXİDON., SPADARO, D., JİJAKLİ, M. H., 2016. The Science, Development and Commerci Alization of Postharvest Biocontrol Products. Postharvest Biology and Technology, 122: 22-29.

ELAD, Y., CHET, I., HENİS, Y., 1982. Degradation of Plant Pathogenic Fungi by *Trichoderma Harzianum*. Canadian Journal of Microbiology, 28: 719-725.

ELAD, Y., KAPAT, A., 1999. The Role of *Trichoderma Harzianum* Protease in The Biocontrol of *Botrytis Cinerea*. European Journal of Plant Pathology, 105: 177-189.

EASTBURN, D. M., BUTLER, E. E., 1991. Effect of Soil Moisture and Temperature on The Saprophytic Abitity of *Trichoderma Harzianum*, Mycologia, 83: 257-263.

EL-KATATNY, M., ABDELZAHER, H. M. A., SHOULKAMY, M.A., 2006. Antagonistic Actions of *Pythium Oligandrum* and *Trichoderma Harzianum* Against Phytopathogenic Fungi (*Fusarium oxysporum* and *Pythium ultimum* var. *ultimum*). Archives of Phytopathology and Plant Protection, 39: 289-301.

FERRE, F. S., SANTAMARİNA, M.P., 2010. Efficacy of *Trichoderma Harzianum* in Suppression of *Fusarium Culmorum*. Ann. Microbiol., 60: 335-340.

GAJERA, H. P., BAMBHAROLİNA, R. P., PATEL, S.V., KHATRANİ, T. J., GOALKİYA, B. A., 2012. Antagonism of *Trichoderma Spp.* Against *Macrophomina Phaseolina*: Evaluation of Coiling and Cell Wall Degrading Eneymatic Activities. Journal of Plant Pathology and Microbiology, 3: 1-7.

GEREMİA, R. A., GOLDMAN, G. H., JACOBS, D., AVİLES, W., VİLA, S.B., VAN MOTAGU, M., HERRERA-ESTRELLA, A., 1993. Molecular Characterization of The Proteinase-Encoding Gene, Prb 1, Related to Mycoparasitism by *Trichoderma Harzianum*, Molecular Microbiology, 8: 603-613.

GHANBARZADEH, B., SAFAİE, N., GOLTAPEH, E.M., 2014. Antagonistic Activity and Hyphal İnteractions of *Trichoderma Spp.* Against *Fusarium Proliferatum* and *F.oxysporum* in Vitro Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47: 1979-1987.

GOLDFARB, B., NELSON, E. E., HANSEN, E. M., 1989. *Trichoderma Spp.*: Growth Rates and Antagonism to *Phellinus Weirii* in Vitro. Mycologia, 81: 375-381.

HAAB, D., HAGSPİEL, K., SZAKMARY, K., KUBİCEK, C.P., 1990. Formation of The Extracellular Protease From *Trichoderma* Reesei QM9414 İnvolved in Cellulase Degradation. J. Biotechnol., 16: 187-198.

HAN, H. S., LEE, K.D., 2006. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Effect on Antioxidant Status Photosynthesis, Mineral Uptake and Growth of Lettuce Under Soil Salünity. Res.J.Agric.Biol.Sci., 1: 210-215.

HARMAN, G.E., 2000. Myths and Dogmas of Biocontrol: Changes in Perceptions Derived From Research on *Trichoderma Harzianum* T-22. Plant Disease, 84: 377-393.

HARMAN, G.E., HOWEL, C.R., VİTERBO, A., CHET, I., LORİTO, M., 2004. Trichoderma Species-Opportunistic, Avirulent and Plant Symbionts. Nature Review of Microbiology, 2: 43-56.

HARMAN, G.E., 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma Spp*. Phytopathology, 96: 190-194.

HAGGAG, W.M., KANSOH, A.L., ALY, A.M., 2006. Proteases From *Talamyces Flavus* and *Trichoderma Harzianum:* Purification, Characterization and Antifungal Activity Against Brown Spot Disease on Faba Bean. Plant Pathology Bulletin, 15: 231-239.

HOWELL, C.R., 1998. The Role of Antibiosis in Biocontrol: *Trichoderma* and *Gliocladium*. Basic Biology, Taxonomy, and Genetics. in: C.P. Kubicek, Harman, G.E. (Eds.) Taylor and Francis Ltd. pp., 173-184.

HOWELL, C.R., 2003. Mechanisms Employed by *Trichoderma* Species in The Biological Control of Plant Diseases: The History and Evolution of Current Concepts. Plant Diseases, 87: 4-10.

INDERA, K., SİNGH, T., MACHADO, C. C., SİNCLAİR, J. B., 1986. Histopathology of Soybean Seed İnfection by *Macrophomina Phaseolina*. Phytopathology, 76: 532-535.

JUNAİD, J.M., DAR., N. A., BHAT, T. A., BHAT, A.H., BHAT, M. A., 2013. Commercial Biocontrol Agents and Their Mechanism of Action in The Management of Plant Pathogens. Int. J.Modern Plant and Animal Sci., 1: 39-57.

KARMEL-REETHA, A., PAVANİ, S. L., MOHAN, S., 2014. Ecofriendly Management of Fungal Antagonistic *Trichoderma Sp.* Against Charcoal Rot of Sunflower Caused by *Macrophomina Phaseolina* (Tassi) Goid. J. Biopest, 7: 73-76.

KREDİCS, L., ANTAL, Z., DOCZİ, I., MANCZİNGER, L., KEVEİ, F., NAGY, E., 2003. Clinical İmportance of The Genus *Trichoderma*. A review. Acta Microbiol. Immunol. Hung., 50: 105-117.

KREDİCS, L., MANCZİNGER, L., ANTAL, Z., PENZES, Z., SZEKERES, A., KEVEİ, F., NAGY, E., 2004. In Vitro Water Activity and Ph Dependence of *Trichoderma* Strains With Biocontrol Potential. J. Appl. Microbiol., 96: 491-498.

KUMARİ, R., SHEKHAWAT, K. S., GUPTA, R., KHOKHAR, M., 2012. Integrated Management Against Root-Rot of Mungbean (*Vigna Radiata* (L.) Wilczek) İncited by *Macrophomina Phaseolina*. Journal of Plant Pathology and Microbiology, 3: 136.

KÜÇÜK, Ç., KIVANÇ, M., 2003. Isolation of *Trichoderma Spp.* and Determination Their Antifungal and Biochemical, Physiological Features. Turk J. Biol., 27: 247-253.

LACEY, J., MAGAN, N., 1991. Fungi Relationships in Cereal Grains: Their Occurrence and Water and Temperature. In: Chelkowski, L. (Ed.), Cereal Grain, Mycotexins, Fungi and Quality in Drying and Storage. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Pp., 77-118.

LOCKE, J. C., MAROİS, J. J., PAPAVİZAS, G.C., 1984. Biological Control of *Fusarium* Wilt of Greenhouse Grown Chrysanthemums. Plant Dis., 69: 167-169.

LORİTO, M., HAYES, A., Dİ PETRO, A., WOO, S. L., HARMAN, G. E., 1994. Purification, Characterization and Cynergistic Activity of A Glucan ß-1,3 Glucosidase and An N-Acetyl-ß-Glucosaminidase From *Trichodermaharzianum* Phytopathology, 84: 398-405.

LORİTO, M., WOO, S. L., HARMAN, G. E., MONTE, E., 2010. Translational Research on *Trichoderma:* From Amics to The Field. Annu. Rev. Phytopathol, 48: 395-417.

LOPEZ-MONDEJAR, R., ROS, M., PASCUAL, J. A., 2011, Mycoparasitism-Related Genes Expression of *Trichoderma Harzianum* İsolates to Evaluate Their Efficacy As Biological Control Agent. Biological Control., 56: 59-66.

MANCZİNGER, L., ANTAL, Z., KREDİCS, L., 2002. Ecophysiology and Breeding of Mycoparasitic *Trichoderma* Strains. Acta Microbiol. Immunol. Hung., 49: 1-14.

MARTİNEZ-MEDİNA, A., ALGUACİL, M.D.M. PASCUAL, J. A., VAN WEES, S.C.M., 2014. Phytohormone Profiles İnduced by *Trichoderma* İsolates Correspond With Their Biocontrol and Plant Growth Promoting Activity on Melon Plants. J. Chemical Ecology, 40: 804-815.

MİSHRA, N., KHAN, S.S., SUNDARİ, S. K., 2016. Native İsolate of *Trichoderma:*a Biocontrol Agent With Unigue Stress Tolerance Properties. World J.Microbiol. Biotechnol., 32: 130-153.

MELO, I. S., FAULL, J. L., GRAEME-COOK, K.A., 1997. Relationship Between in Vitro Cellulase Production of UV-İnduced Mutants of *Trichoderma Harzianum* and Their Bean Rhizosphere Competence. Mycol. Res., 101: 1389-1392.

MENDOZA, J.L.H., PEREZ, M.I.S., PRİETO, J.M.G., VELASGUEZ, J.D.Q., OLİVARES, J.G.G., LANGARİCA, H.R.G., 2015. Antibiosis of *Trichoderma Spp*. Strains Native to Northeastem Mexico Against The Pathegenic Fungus *Macrophomina Phaseolina*. Brazilian Journal of Microbiology, 46: 1093-1101.

MOHAMMED, H.A., HAGGAG, W.M., 2005. Biocontrol Potential of Salinity Tolerant Mutants of *Trichoderma Harzianum* Against *Fusarium Oxysporum* Causing Tomato Wilt Disease. Arab.J.Biotechnol., 8: 35-48.

MOHAMMED, H.A., HAGGAG, W.M., 2006. Biocontrol Potential of Salinity Tolerant Mutants of *Trichoderma Harzianum* Against *Fusarium Oxysporum*. Brazilian Journal of Microbiology, 37: 181-191.

MUKHERJEE, P.K., RAGHU, K., 1997. Effect of Temperature on Antagonistic and Biocontrol Potential of *Trichoderma Sp*. on *Sclerotium Rolfsii*. Mycopathologia, 139: 151-155.

NAKKEERAN, S., RENUKADEVİ, P., MARİMUTHU, T., 2005. Antagonistic Potentiality of *Trichodermaviride* and Assessment of İts Efficacy For The Management of Cotton Root Rot. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 38: 209-225.

NİKOLAJEVA, V., PETRİNA, Z., VULFA, L., ALKSNE, L., EZE, D., GRANTİNA, L., GAİTNİEKS, T., LİELPETERE, A., 2012. Growth and Antagonism of *Trichoderma Spp.* and Conifer Pathogen *Heterobasidion Annosum* S.L. İn Vitro at Different Temperature. Advances in Microbiology, 2: 295-302.

POOSAPATİ, S., RAVULAPALLİ, P.D., TİPPİRİSHETTY, N., VİSHWANATHASWAMY, D. K., 2014. Selection of High Temperature and Salinity Tolerant *Trichoderma* İsolates With Antagonistic Activity Against *Sclerotium Rolfsii*. Springerplus, 3: 641-651.

QUALHATO, T. F., LOPES, F.A.C., STEİNDORFF, A. S., BRANDAO, R, S., JESUİNO, R. S., ULHOA, C. J. 2013., Mycoparasitism Studies of *Trichoderma* Species Against Three Phytopathologenic Fungi: Evaluation of Antagonism and Hydrolytic Enzyme Production. Biotechnol. Lett., 35: 1461-1468.

RAO, K.L.N.M., RAJU, K. S., RAVİSANKAR, H., 2016. Cultural Conditions on The Production of Extracellular Enzymes by *Trichoderma* İsolates From Tobacco Rhizosphere. Brazilian Journal of Microbiol., 47: 25-32.

REETHA, A. K., RAVANİ, S. L., MOHAN, S., 2014. Ecofrienolly Management of Fungal Antagonist *Trichoderma Sp*. Against Charcoal Rot of Sunflower Caused by *Macrophomina Phaseolina* (Tassi) Goid. J. Biopest, 7: 73-76.

REGRAGUİ, A., LAHLOU, H., 2005. Effect of Salinity on İn Vitro *Trichoderma Harzianum* Antagonism Against *Verticillium Dahliae*. Pakistan Journal of Biological Sci., 8: 872-876.

REİNO, J. L., GUERRERO, R. F., HERNANDEZ-GALAN, R., COLLADO, I.G., 2008. Secondary Metabolites From Species of The Biocontrol Agent *Trichoderma*. Phytochem. Rev., 7: 89-123.

RETTİNASSABABADY, C., RAMADOSS, N., THİRUMENİ, S., 2002. Management of Root Rot (*Macrophomina Phaseolina* (Tassi.) Goid.) of Rice Fallow Blackgram by Resident İsolates of *Trichoderma Viride.* İndian Journal of Agriculture Research., 36: 118-122.

REY, M., DELGADO-JARANA, J., BENİTEZ, T., 2001. Improved Antifungal Activity of A Mutant of *Trichoderma Harzianum* CECT2413 Which Produces More Extracellular Proteins. Appl. Microbiol. Biotechno., 55: 604-608.

SAMUELS, G. J., 1996. *Trichoderma*: A Review of Biology and Systematics of The Genus. Mycol. Res., 100: 923-935.

SAMUELS, G. J., 2006. *Trichoderma*: Systematics, The Sexual State, and Ecology. Phytopath.Ology, 96: 195-206.

SHARON, E., BAR-EYAL, M., CHET, I., HERRERA-ESTRELLA, A., KLEİFELD, O.SPİEGEL, Y., 2001. Biological Control of Root Knot Nematode *Meloidogyne Javanica* by *Trichoderma Harzianum*. Phytopathology, 91: 687-693.

SİMKOVİC, M., KURUCOVA, A., HUNOVA, M., VERECKA, L., 2008. Induction of Secretion of Extracellular Protease from *Trichoderma Viride.* Acta Chimica Slovaca, 1: 250-264.

SCHUSTER, A., SCHMOLL, M., 2010. Biology and Biotechnology of *Trichoderma*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 87: 787-799.

SPADARO, D., DROBY, S., 2016. Development of Biocontrol Products For Postharvest Diseases of Fruit: The İmportance of Elucidating The Mechanisms of Action of Yeast Antagonists. Trends in Food Sci. Technol., 47: 39-49.

SRİVASTAVA, M. P., TEWARİ, R., SHARMA, N., 2013. Effect of Different Cultural Variables on Siderophores Produced by *Trichoderma Spp.* Int. J. Adv. Res., 1: 1-6.

SRİVASTOVA, M., SHAHİD. M., PANDEY, S., KUMAR, V., SİNGH, A., TRİVEDİ, S., SRİVASTOVA, Y. K., 2015. Trichoderma: A Scientific Approach Against Soil Borne Pathogens. African Journal of Microbiology Research., 9: 2377-2384.

SZEKERES, A., KREDİCS, L., ANTAL, Z., KEVEİ, F., MANCZİNGER, L., 2004. Isolation and Characterization of Protease Overpreducing Mutants of *Trichoderma Harzianum*. FEMS Microbiology Letters, 233: 215-222.

VALERO, A., BEGUM, M., LEONG. S. L., HOCKİNG, A. D., RAMOS, A. J., SANCHİS, V., MARİN, S., 2007. Effect of Germicidal UVC Light on Fungi İsolated From Grapes and Raisins. Letters in Appl. Microbiology, 45: 238-243.

VERMA, M., BRAR, S., TYAGİ, R., SURAMPALLİ, R., VALERO, J., 2007. Antagonistic Fungi, *Trichoderma Spp.*: Panoply of Biological Control: Biochem. Eng. J., 37: 1-20.

VERSCHEURE, M., LOGNAY, G., MARLİER, M., 2002. Revue Bibliographigue: lesmethodes Chimigues Diendification Et De Classification Des Champignons. Biotechnol.Agron.Soc. Enviro., 6: 131-142.

VINALE, F., MARRA, R., SCALA, F., GHİSALBERTİ, E. L., LORİTO, M., SİVASİTHAMPARAM, K., 2006. Major Secondary Metabolites Produced by Two Commercial *Trichoderma* Strains Active Against Different Phytopathogens. Letters on Applied Microbiology, 43: 143-148.

VINALE, F., GHİSALBERTİ, E. L., SİVASİTHAMPARAM, K., MARRA, R., RİTİENİ, A., FERRECANE, R., WOOS., LORİTO, M., 2009. Factors Affecting The Production of *Trichoderma Harzianum* Secondary Metabolites During The İnteraction With Different Plant Pathogens. Letters on Applied Microbiology, 48: 705-711.

WHIPPS, J. M., 2001. Microbial İnteractions and Biocontrol in The Rhizosphere. Journal of Experimental Botany, 52: 487-511.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Tülay GEZER
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Şanlıurfa /01/01/1992
Telefon : 0(545) 441 72 62
e-mail : tulaygezer63@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı	İlçe / İl	Bitirme Yılı
Lise	Şanlıurfa Orhan Gazi Lisesi	Şanlıurfa	2009
Üniversite	Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği	Ağrı	2014
Y.Lisans	Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	Şanlıurfa	2017

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2016	Görenler ortaokulu	Öğretmen
2017	Tenekeci Mahmut Güzelgöz Ortaokulu	Öğretmen

UZMANLIK ALANI Mikrobiyoloji
YABANCI DİLLER İngilizce