

T.C.  
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RİZE'DE DOMATES FİDELERİ VE TOPRAKLARINDAN *Fusarium*  
İLE *Trichoderma* spp. SUŞLARININ İZOLASYONU VE  
BİYOKONTROL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YAŞAR KASAP

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. ŞENGÜL ALPAY KARAOĞLU

TEZ JÜRİLERİ

DR. ÖĞR. ÜYESİ UĞUR UZUNER

DR. ÖĞR. ÜYESİ YEŞİM AKTÜRK DİZMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

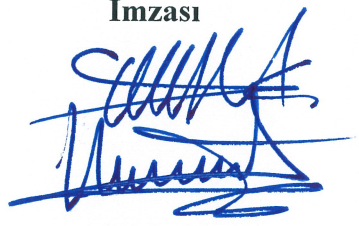
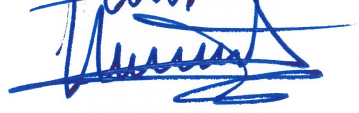

RİZE-2018

Her Hakkı Saklıdır

T.C.  
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RİZE'DE DOMATES FİDELERİ VE TOPRAKLARINDAN *Fusarium* İLE  
*Trichoderma* spp. SUŞLARININ İZOLASYONU VE BİYOKONTROL  
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU danışmanlığında Yaşar KASAP tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 04/07/2018 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı Adı Soyadı	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Uğur UZUNER	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Yeşim AKTÜRK DİZMAN	

  
Doc. Dr. Ferhat KALAYCI  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



## ÖNSÖZ

Rize ili Pazar ilçesinden alınan domates bitkilerinde gözlenen solgunluk ve kök çürüklüğü hastalığının fungal etkenlerinin ve biyolojik mücadelesinde kullanılabilecek potansiyel *Trichoderma* spp. suşlarının izolasyonu, identifikasyonu ve karakterizasyonunun araştırıldığı bu çalışma, Recep Tayip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmayı yapmama olanak sağlayan, yüksek lisans eğitimim boyunca, tez çalışmamın her anında önerileri ve paylaşımlarıyla yardımını ve desteğini esirgemeyen, çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU'na teşekkürlerin en büyüğünü borç bilirim. Yüksek lisans hayatım boyunca bilgi ve deneyimlerini bizlere aktaran RTEÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyelerine, çalışmam sırasında bana yardımlarını eksik etmeyen araştırma görevlisi, doktora ve yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkür ederim. Özellikle Arif BOZDEVECİ, Cemre TARAKÇI, Gökhan VEYİSOĞLU ve Müberra PINARBAŞ'a tezin hazırlanmasına sunduğu katkı ve yardımlardan ötürü ayrıca teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca, attığım her adımda desteklerini her zaman arkamda hissettiğim maddi ve manevi olarak yanımda olan canım ailem; babam Ramazan, annem Şenay, kız kardeşlerim Esra, Damla ve Selenay'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

**Yaşar KASAP**

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Rize’de Domates Fideleri ve Topraklarından *Fusarium* İle *Trichoderma* spp. Suşlarının İzolasyonu ve Biyokontrol Aktivitelerinin Belirlenmesi” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.

  
04/07/2018  
Yaşar KASAP

**Uyarı:** Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

### RİZE'DE DOMATES FİDELERİ VE TOPRAKLARINDAN *Fusarium* İLE *Trichoderma* spp. SUŞLARININ İZOLASYONU VE BİYOKONTROL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Yaşar KASAP

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi  
Danışmanı: Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU

Domates bitkisinde solgunluk, devrilme (kök ve kök boğazı çürüklüğü) hastalıkları etkeni olan *Fusarium*'lar, ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Çalışmamızın amacı, domates fidelerinde solgunluk ve devrilme hastalığı görülen bir bahçede hastalık etkeni mikrofungusların ve potansiyel biyokontrol aktiviteli *Trichoderma* suşlarının izolasyonu ve karakterizasyonudur. Bu amaçla Rize'nin Pazar ilçesi Kirazlık mahallesinde, hastalıklı sebze bahçesinden 2014-2015 yılları arasında yılda iki kez olmak üzere örnekleme yapıldı. Çalışma kapsamında toplamda 108 izolat elde edildi. Geleneksel tanı yöntemleri ile Ascomycota ve Zygomycota filumuna ait 17 farklı cins belirlendi. Sıklıkla *Trichoderma* (%24,6), *Fusarium* (%12,1) ve *Mucor* (%8,6) cinsleri gözlemlendi. *Trichoderma* ve *Fusarium* cinslerinin tür tanıları, moleküler yöntemlerle teyit edildi. Toplam 13 adet *Fusarium*'dan en fazla gözlenen tür; *F. oxysporum* (6) ile *F. sambucinum* (4), 22 adet *Trichoderma*'dan ise *T. harzianum* (%52) ve *T. atroviride* (%9,5) olduğu belirlendi. Morfolojik özelliklerine göre seçilen *Trichoderma* (11 adet) suşlarının *Fusarium* (6adet) suşlarına karşı antagonistik aktiviteleri test edildi. *Trichoderma* suşlarından 3'ünde (Yp1a, Yp4a ve Yp24b) güçlü antagonistik etkinlik belirlendi. *Fusarium* suşlarının domates tohumu çimlenmesi üzerine patojeniteleri su agar besiyerinde incelendi. En yüksek patojenik etki ve en düşük vigor indeksi *F. sambucinum* Yp13b suşunda belirlendi. *Trichoderma* (Yp1a, Yp4a ve Yp24b) suşlarının domatesin gelişimi üzerine etkinliği incelendi. *F. sambucinum* Yp13b'nin tohum için patojen ancak domates bitkisi için patojen olmadığı belirlendi. *Trichoderma harzianum* Yp1a suşunun en etkili biyokontrol ajanı olduğu ve ticari suş olabilme potansiyelinin bulunduğu belirlendi.

2018, 132 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Solgunluk ve devrilme hastalığı, *Fusarium*, *Trichoderma*, Biyokontrol

## ABSTRACT

### THE ISOLATION OF *Fusarium* AND *Trichoderma* spp. STRAINS FROM TOMATO SEEDLINGS AND SOILS AND DETERMINATION OF BIOCONTROL ACTIVITIES

Yaşar KASAP

Recep Tayyip Erdoğan University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology  
Master Thesis  
Supervisor: Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU

*Fusariums*, the factors of the wilt and damping-off (decay in the root and root collar) in the tomato plant cause dramatic economic loss. The aim of our study is the isolation and characterisation of micro fungi, the disease factor in a garden where the wilt and damping-off of the tomato seedlings are observed and the *Trichoderma* strains that are with potential biocontrol activity. With this intention, from a diseased tomato garden in Kirazlık street, Pazar, Rize, samplings were carried out twice between 2014 and 2015. As part of the study, 108 isolate were obtained in total. Through conventional diagnosis methods, 17 various genus belonging to Ascomycota and Zygomycota filum were specified. Frequently, the genus of *Trichoderma* (%24,6), *Fusarium* (%12,1) and *Mucor* (%86) were observed. The genus diagnosis of *Trichoderma* ve *Fusarium* were verified through molecular methods. Of the total 13 *Fusariums*, the most frequently observed ones were *F. oxysporum* (6) and *F. sambucinum* (4), and of the 22 *Trichoderma*, the most frequently observed ones were *T. harzianum* (%52) and *T. atroviride* (%9.5). Selected according to their morphological qualities, *Trichoderma* (11 pieces) strains antagonistic activities against *Fusarium* (6 pieces) strains were tested. In the three *Trichoderma* strains, strong effectiveness (Yp1a, Yp4a and Yp24b) were specified. The pathogeny of *Fusarium* strains on tomato seeds germination were examined within water agar medium. The highest pathogenic effect and the lowest vigor index were observed to be in *F. sambucinum* Yp13b strain. The effectiveness of *Trichoderma* (Yp1a, Yp4a and Yp24b) strains on the development of tomato were examined. *F. sambucinum* Yp13b was determined to be pathogen for the seed but not for the tomato. *Trichoderma harzianum* Yp1a was specified as the most efficient biocontrol agent and had the potential to be a commercial strain.

2018, 132 pages

**Keywords:** Paleness and the disease of root decay, *Fusarium*, *Trichoderma*, Biocontrol

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET .....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş .....	1
1.2. Mantarların Sistematiği .....	7
1.3. Mantarların Genel Özellikleri.....	8
1.4. <i>Fusarium</i> 'ların Sınıflandırılması .....	10
1.5. <i>Fusarium</i> 'lar İle İlgili Genel Bilgi.....	11
1.6. <i>Trichoderma</i> 'ların Sınıflandırılması.....	13
1.6.1. <i>Trichoderma</i> sect. <i>Trichoderma</i> .....	17
1.6.2. <i>Trichoderma</i> sect. <i>Pachybasium</i> .....	18
1.6.3. <i>Trichoderma</i> sect. <i>Longibrachiatum</i> .....	19
1.6.4. <i>Trichoderma afroharzianum</i> .....	20
1.7. <i>Trichoderma</i> 'ların Habitatları .....	20
1.8. <i>Trichoderma</i> Suşlarının Biyokontrol Etkeni Olarak Kullanılması.....	21
1.9. <i>Trichoderma</i> spp.'nin Fungal Patojenlerin Kontrolünde Etki Mekanizmaları .	22
1.9.1. Antibiyozis.....	23
1.9.2. Yer ve Besin (karbon, azot, mikro elementler) İçin Rekabet .....	23
1.9.3. Mikoparazitizm.....	24
1.9.4. Mikorizosfer Bitki Direnci ve Bitki Savunma Mekanizmalarının Uyarımı .....	24
1.10. Fungusitler .....	26
1.11. Literatür Özeti.....	29
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	37
2.1. Materyal.....	37
2.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar .....	37

2.1.2.	Çalışmada Kullanılan Suşlar .....	39
2.1.3.	Çalışmada Kullanılan Besiyerleri .....	39
2.1.3.1.	Malt Ekstrakt Sıvı Besiyeri (ME).....	39
2.1.3.2.	Potato Dekstroz Agar (PDA).....	39
2.1.3.3.	Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBCA) .....	40
2.2.	YÖNTEM .....	41
2.2.1.	Toprakтан Örneklerin Alınması.....	41
2.2.2.	Toprakтан Bitki Kısımlarının Örneklerinin Alınması .....	41
2.2.3.	Toprakтан Mikrofungus İzolasyonu .....	42
2.2.4.	Bitki Kısımlarından Mikrofungus İzolasyonu .....	43
2.2.5.	Tek Koloni İzolasyonu ve Tür Teşhisi .....	44
2.2.6.	<i>Trichoderma</i> ve <i>Fusarium</i> Mikrofunguslarının DNA İzolasyonu ve PCR Analizi .....	45
2.2.7.	<i>Trichoderma</i> ve <i>Fusarium</i> Mikrofunguslarının Sekans Analizi.....	46
2.2.8.	<i>Trichoderma</i> ve <i>Fusarium</i> 'ların Morfolojik ve Kültürel Tanımlanması .....	46
2.2.9.	<i>Trichoderma</i> spp. Suşlarında Dual Teknikle Patojen İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi .....	48
2.2.10.	Su Agar da Domates Çimlenme Deneyi / Petri Kaplarında Ön Patojenite Testi .....	49
2.2.11.	<i>Fusarium</i> Toprak İnokulum Preparatı (FTIP) Hazırlanışı .....	50
2.2.12.	Domates Tohumlarına <i>Trichoderma</i> Spor Süspansiyonunun Uygulanması ve Saksı Deneyi .....	51
3.	BULGULAR .....	55
3.1.	Örneklerden Mikrofungus İzolasyonu ve Karakterizasyonu .....	55
3.2.	<i>Trichoderma</i> spp. Suşlarında Dual Teknikle Patojen İnhibisyon Aktiviteleri .....	72
3.3.	Su Agarda Patojenite Testi .....	82
3.4.	Saksıda Patojenite Deneyi .....	85
4.	TARTIŞMA ve SONUÇLAR .....	92
4.1.	Mikrofungus İzolasyonu ve Karakterizasyon.....	92
4.2.	<i>Trichoderma</i> spp. Suşlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Biyokontrol Etkinlikleri .....	99
4.3.	Tohum Çimlenmesinde Patojenite Testi.....	102
4.4.	Saksı Deneyi .....	105
5.	ÖNERİLER .....	111



KAYNAKLAR.....	113
ÖZGEÇMİŞ.....	132



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b>	<i>Trichoderma</i> cinsinin Bisset (1984, 1991a-c) tarafından izoenzim ve DNA verileriyle morfolojik temelli taksonomisinin karşılaştırmalı sınıflandırması.....	16
<b>Şekil 2.</b>	Araziden alınan hastalıklı domates bitkisi kök ve meyve resimleri .....	42
<b>Şekil 3.</b>	<i>Fusarium</i> spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde soldan sağa sırasıyla petri alt, üst ve mikroskopik görüntüleri. ....	61
<b>Şekil 4.</b>	<i>Fusarium</i> spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde soldan sağa petri alt, üst ve mikroskopik görüntüleri. ....	62
<b>Şekil 5.</b>	<i>Fusarium</i> spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde soldan sağa petri alt, üst ve mikroskopik görüntüleri. ....	63
<b>Şekil 6.</b>	<i>Trichoderma</i> spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde soldan sağa doğru sırasıyla petri alt, üst ve mikroskopik görüntüleri. ....	66
<b>Şekil 7.</b>	<i>Trichoderma</i> spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde soldan sağa sırasıyla petri alt, üst ve mikroskopik görüntüleri. ....	67
<b>Şekil 8.</b>	<i>Trichoderma</i> izolatlarının ITS1 - 5.8-ITS2 sekans sonuçlarına göre filogenetik ağacı.....	71
<b>Şekil 9.</b>	<i>Fusarium</i> izolatlarının ITS1-5.8 - ITS2 sekans sonuçlarına göre filogenetik ağacı.....	72
<b>Şekil 10.</b>	Potansiyel biyokontrol ajanı olabilecek <i>Trihoderma</i> spp. suşlarının, kontrol suşları ( <i>B. cinerea</i> , <i>S. sclerotia</i> ) ve potansiyel bitki patojeni olabilecek <i>Fusarium</i> spp. suşu (Yp9b) ile PDA besi ortamında dual teknikle çaprazlanmasının 4. gün ve 10. gün resimleri.....	74
<b>Şekil 11.</b>	Potansiyel biyokontrol ajanı olabilecek <i>Trihoderma</i> spp. suşlarının, potansiyel bitki patojeni olabilecek <i>Fusarium</i> spp. suşları (Yp1c ve Yp13b) ile PDA besi ortamında dual teknikle çaprazlanmasının 4. ve 10. gün resimleri .....	75
<b>Şekil 12.</b>	<i>Trichoderma</i> (Yp1a, Yp2a ve Yp3b) suşlarının bitki patojenlerine karşı yüzde (%) inhibisyon sonuçlarının dağılımları.....	78
<b>Şekil 13.</b>	<i>Trichoderma</i> (Yp4a, Yp9a ve Yp16a) suşlarının bitki patojenlerine karşı yüzde (%) inhibisyon sonuçlarının dağılımları. ....	79
<b>Şekil 14.</b>	<i>Trichoderma</i> (Yp17a, Yp18c ve Yp20a) suşlarının bitki patojenlerine karşı yüzde (%) inhibisyon sonuçlarının dağılımları. ....	80
<b>Şekil 15.</b>	<i>Trichoderma</i> suşlarının (Yp24b, ID11C ve <i>T. harzianum</i> 1585) bitki patojenlerine karşı yüzde (%) inhibisyon sonuçlarının dağılımları. ....	81
<b>Şekil 16.</b>	Domates tohumlarının 12. günde su agarda çimlenme görüntüleri. ....	83
<b>Şekil 17.</b>	Saksıda patojenite testi. Deney gruplarının sonlandırılmadan (45. gün) önceki görüntüleri. ....	88

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b>	2005-2013 yılları arasında Türkiye’de domates üretimi.....	3
<b>Tablo 2.</b>	Domateste görülen mikroorganizma kaynaklı hastalıklar.....	4
<b>Tablo 3.</b>	Fungi aleminin sınıflandırılması .....	8
<b>Tablo 4.</b>	<i>Trichoderma</i> spp.'nin sınıflandırması.....	14
<b>Tablo 5.</b>	Ticari olarak satılan <i>Trichoderma</i> kaynaklı biyokontrol ürünleri.....	26
<b>Tablo 6.</b>	Bazı fungusit çeşitleri ve özellikleri. ....	28
<b>Tablo 7.</b>	Çalışmada kullanılan cihazlar. ....	37
<b>Tablo 8.</b>	Çalışmada kullanılan kimyasal sarf maddeler.....	38
<b>Tablo 9.</b>	ITS1-5.8-ITS2 gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan PCR karışımı ..	46
<b>Tablo 10.</b>	Çalışmada kullanılan <i>Trichoderma</i> spp. ve <i>Fusarium</i> spp. suşları. ....	48
<b>Tablo 11.</b>	Çimlenen tohumlarda hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan tanımsal skala.....	50
<b>Tablo 12.</b>	Saksı deneyi düzeneği.....	52
<b>Tablo 13.</b>	Fidelerde yüzde hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan tanımsal skala.....	54
<b>Tablo 14.</b>	Parsel Bahçeden alınan örnek numuneler ve numune numaraları. ....	55
<b>Tablo 15.</b>	Toprak ve bitki örneklerinden izole edilen mikrofungus izolat sayısı ve numaraları. ....	56
<b>Tablo 16.</b>	İzole edilen mikrofungusların geleneksel yöntemlere göre cins düzeyinde dağılımları .....	57
<b>Tablo 17.</b>	İzolatların cins dağılımı ve yüzde (%) oranları.....	58
<b>Tablo 18.</b>	<i>Fusarium</i> spp. izolatlarının mikroskopik ve morfolojik özellikleri .....	60
<b>Tablo 19.</b>	18S rRNA analizine göre <i>Fusarium</i> izolatlarının moleküler tanısı. ....	64
<b>Tablo 20.</b>	PDA besiyerlerinde <i>Trichoderma</i> 'ların morfolojik esaslara göre gruplandırılması Bisset. ....	65
<b>Tablo 21.</b>	18S rRNA analizine göre <i>Trichoderma</i> izolatlarının moleküler tanısı. ....	68
<b>Tablo 22.</b>	<i>Trichoderma</i> suşlarının tür ve yüzde (%) dağılımları. ....	70
<b>Tablo 23.</b>	Dual kültürle test edilen mikrofungusların moleküler bilgi temelli sınıflandırmaya göre gruplandırılması.....	73
<b>Tablo 24.</b>	Çalışmada test edilen örneklerin dual kültür sonuçlarının yüzde (%) inhibisyon değerleri .....	77
<b>Tablo 25.</b>	Domates tohumunun çimlenmesi üzerine <i>Fusarium</i> ve <i>Trichoderma</i> spp.'lerin etkinliği ve vigour indeksi.....	82

<b>Tablo 26.</b> Domates tohumu çimlenme deneyi verilerinin Anova testine göre analizleri.....	85
<b>Tablo 27.</b> <i>Trichoderma</i> spp. suşları ve <i>Fusarium sambucinum</i> (Yp13b) izolatlarının biyokontrol/patojenite sonuçlarına göre bitki gelişim parametre değerleri. ....	86
<b>Tablo 28.</b> Saksı deneyi verilerinin Anova testine göre analizleri.....	89
<b>Tablo 29.</b> Saksı deneyinde gövde çapı verilerinin homojen alt grupların dağılımına (Student Newman-Keuls) göre analizleri. ....	91



## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
aW	Su Potansiyeli
BKA	Biyolojik Kontrol Ajansı
BKrA	Bitki Kuru Ağırlık
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BU	Bitki Uzunluğu
BYA	Bitki Yaş Ağırlık
Cfu	Koloni Oluşturabilen Birim
cm	Santimetre
CM	Çimlenme Başarısı
CMC	Karboksi Metil Selüloz
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
da	Dekar
dH <sub>2</sub> O	Distile Su
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DRBCA	Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar
EtOH	Etil Alkol
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FOL	<i>Fusarium oxysporum</i> f. spp. <i>Lycopersici</i>
FORL	<i>Fusarium oxysporum</i> f. spp. <i>Radici lycopersici</i>
FTIP	Fusarium Toprak İnokülüm Preparatı
G	Dünyanın Yerçekimi İvmesi
GC	Gövde Çapı
gr	Gram
ha	Hektar
HR	Hipersensitif Reaksiyon; Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

IGS	Intergenik Spacer
ISR	Induced Systemic Resistance; Uyarılmış sistemik direnç
ITS	Internal Transcribed Spacer
Kg	Kilogram
KLS	Kökte Lezyon Skalası
KU	Kök Uzunluğu
MEA	Malt Ekstrakt Agar
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
NCBI	Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	Potato Dextrose Agar
pH	Hidrojen İyon Konsantrasyonu
PR	Patojen ile bağlantılı proteinler
RNA	Ribonükleik Asit
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
SAR	Systemic Acquired Resistance; Sistemik kazanılmış direnç
SEM	Scanner Electron Mikroskop; Taramalı elektron mikroskobu
Sn	Saniye
SS	Saçak Sayısı
SU	Sürgün Uzunluğu
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviyole
Vb.	Ve Benzeri
Vd.	Ve Diğerleri
VGI	Vigour İndeksi
YPD	Yeast Peptone Dextrose
YS	Yaprak Sayısı

# 1. GENEL BİLGİLER

## 1.1. Giriş

Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill, 1768), patlıcangiller (*Solanaceae*) ailesinden anavatanı Güney ve Orta Amerika olan tek yıllık yenebilen bir otsu bitki türüdür. 1-3 metre boya sahip olabilen domates bitkisinin hafif odunsu bir gövdesi vardır. 10-25 cm uzunluğunda olan yapraklarının üzerinde 5-9 yaprakçık bulunur. Yapraklar tüylüdür. 1-2 cm uzunluğunda ve genellikle sarı olan domates çiçekleri bir sap üzerinde 3-12 adet olabilir. Genellikle kırmızı, yenilebilen meyvesi yabani bitkilerde 1-2 cm çapında iken, kültür bitkilerinde daha büyüktür. ABD'de 1893 yılında, mahkeme domatesi, sebzelerle birlikte saklanıp yenildiğinden sebze diye sınıflandırmıştır. Domates bitkisinin tarihine bakılacak olursa, Bolivya ve Peru da yabani sarı renkli bir domates türü bulunmuş ve sonra Meksika'da yetiştirilip, Amerika'nın keşfinden sonra Avrupa'ya gemilerle gönderilmiştir. İtalyanlar sarı renginden ötürü onu Altın Elma olarak adlandırdı, ama çok geçmeden kırmızı türleri ortaya çıktı. Domates Amerika'da ilk defa Thomas Jefferson tarafından yetiştirildi. Ama pek çok insan, domatesin zehirli olduğuna inanarak yemeyi reddetmiş ve 1900 yılına kadar domates bitkisi, bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilmiştir (URL-1).

Domates ılık ve sıcak iklimleri tercih eder. Yaz mevsimi güneşli sıcak olduğunda meyveleri şekerce zengin, renkleri koyu ve olgun olur. Serin ve çok bulutlu geçtiğinde ise tam olgunlaşamaz. Fidelerin yetiştirildiği dönemde en uygun sıcaklıklar gündüz 18-22 °C, gece 13-14 °C'dir. Kök gelişimi için ise toprak sıcaklığının 12-15 °C'nin üzerinde olması gereklidir. Domates bitkisi, yetiştirildiği toprak bakımından seçici olmamakla birlikte süzek, humus ve organik maddece zengin, su tutma kabiliyeti iyi, tınlı toprakları tercih eder. Kumlu-tınlı topraklarda erkencilik gözlenir. Killi ağır topraklarda bitki gelişmesi daha yavaş, ancak bitki sürekli olarak gelişip yeni sürgünler meydana getirdiğinden, verim daha yüksek olur. Domates pH 5.5-7.0 olan topraklarda daha iyi yetişirken pH 5'ten aşağı düştüğü ortamlarda kireç uygulaması yapmak gerekir (Abak vd., 2000).

Domatesin taze tüketimi yanında gıda sanayinde dondurulmuş, sos, salça, ketçap, turşu, domates suyu, domates püresi, dilimlenmiş domates, doğranmış domates, kurutulmuş domates, domates konservesi gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması önemini artırmaktadır (Uylaşer, 1996; Keskin ve Gül, 2004). Gıda sanayinde önemli hammaddelerden biri olan ve çok geniş bir kullanım alanı bulunan domates ile ilgili sanayi, meyve ve sebze işleme sanayi olmakla birlikte, bu sanayinin tüm alt dallarında da hammadde olarak kullanılmaktadır (Anonim, 2007).

Türkiye'nin tarım ve gıda sanayisinde önemli bir yere sahip olan domatesin Türkiye'ye I. Dünya Savaşı yıllarında geldiği bildirilmektedir (Demiray ve Tülek 2008). Domates yetiştiriciliği ülkemizde 1900'lü yıllarda Adana'da başlamıştır (Yoksuloğlu, 2001). Ülkemizde 1970'li yıllardan itibaren domates sanayisinin kurulmaya başlanması ve hızla gelişmesi ile domates üretimi hız kazanarak dünya sıralamasında İtalya ve Amerika gibi domates üretiminde başı çeken devletler arasına girmeyi başarmıştır. (Düzyaman ve Duman 2003). Türkiye sahip olduğu ekolojik özelliklerden dolayı, tarımsal üretim açısından dünyadaki önemli ülkelerden biri durumundadır. Ülkemizde 63.000.000 tonluk üretimle en fazla üretimi yapılan tarım ürünlerini tahıllar oluştururken, ikinci sırada yer alan sebze üretimi ise, yaklaşık 800.000 ha alanda yapılmakta olup, bu alandan toplam 22.000.0000 ton üretim elde edilmektedir (Anonim, 2001).

Domatesin dünyadaki üretim miktarı 5.227.883 ha alanda 129.649.883 tondur. Türkiye, üretim miktarı bakımından 10.985.400 ton ile Çin ve Amerika'dan sonra 3. sırada yer almakla birlikte, yetiştirme alanı bakımından 300.000 ha alanla diğer domates üreticiliği yapan ülkeler arasında 4. sıradadır. 2010 yılı itibariyle dünya taze domates üretiminin % 7,7'si Türkiye tarafından gerçekleştirilmiştir (FAO, 2010). Türkiye'de yine 2013 yılı itibariyle toplam 8.084.876 ha sebze bahçesi alanının % 23,39'u domates tarımı için kullanılmıştır (Anonim, 2014). Tablo 1 incelendiğinde Türkiye'de 2005 yılında 10,05 milyon ton olan domates üretiminin, yıldan yıla değişmekle birlikte bir artış trendi içinde olduğu ve % 14,97 oranında bir artışla 2013 yılında 11.820.000 tona ulaştığı görülmüştür. Domates verimi 2005 yılında 4.997 kg/da iken verim artışı yıllar itibariyle devam ederek 2013 yılında 6.250 ton/da ulaşmıştır (Tablo 1). Bu değer, dünya



ortalamasının (dünya ortalaması 2012 FAO verilerine göre 3.368 ton/da) üzerindedir. Ülkemizde domates verimi son yıllarda kaliteli tohum ve teknolojik üretim sistemlerinin kullanılmasına bağlı olarak artış göstermektedir (Erdal, 2006).

**Tablo 1.** 2005-2013 yılları arasında Türkiye’de domates üretimi (Anonim, 2014)

Yıllar	Ekilen alan (dekar)	Üretim miktarı (ton)	Verim
2005	2.011.160	10.050.000	4.997
2006	1.939.096	9.854.877	5.082
2007	1.835.329	9.936.552	5.414
2008	1.952.052	10.985.355	5.628
2009	1.869.462	10.745.572	5.748
2010	1.791.247	10.052.000	5.612
2011	1.810.182	11.003.433	6.079
2012	1.892.022	11.350.000	5.999
2013	1.891.222	11.820.000	6.250

Türkiye’de üretilen yaklaşık 12 milyon ton domatesin % 25-30’u işlenmekte, kalan miktar taze olarak tüketilmektedir. İşlenen miktarın % 80’i salça, % 15’i konserve, kalan kısım ise ketçap, domates suyu vb. domates ürünlerinin imalatı için kullanılmaktadır. Ülkemizde bu denli önemli olan ve salça sanayi amacıyla üretimi giderek artan domatesin 1.230.976 da alanda 7.935.110 ton sofralık ve 599.314 da alanda 3.914.890 ton da salçalık üretimi gerçekleşmektedir. Taşıdığı öneme karşın, vejetasyonun değişik aşamalarında ortaya çıkan bazı hastalıklar ürünlerde önemli kayıplara neden olmakta ve bazı yıllarda üreticileri tarladaki ürününü hiç toplayamadığı gözlenmektedir (Anonim, 2014).

Son yıllarda ülkemizde domatesin, çok amaçlı tüketimi ve gıda sanayisinin önemli bir ürünü olması nedeniyle ekim alanları artmıştır. Ancak, üretim sırasında oluşan ürün kayıpları ve bunları önlemek için yapılan mücadele masrafları üretim maliyetini arttırmaktadır. Zirai mücadelenin kimyasal mücadele olarak algılandığı ülkemizde, pestisitlerin %19’u sebze alanlarında kullanılmaktadır. Bu durum sebzelerde üretim maliyetini artırırken üründe kalıntı ve benzeri sorunları beraberinde getirmektedir (Erkin ve Kışmır, 1996).

**Tablo 2.** Domateste (*Lycopersicon esculentum* Mill.) görülen mikroorganizma kaynaklı hastalıklar (URL-2).

Hastalık tipi	Hastalık adı	Hastalık etkenleri
Bakteriyel Hastalıklar	Bakteriyel Kanser	<i>Corynebacterium michiganense</i> pv. <i>michiganense</i>
	Bakteriyel Gövde ve Meyve Çürüklüğü	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>
	Güney Bakteriyel Solgunluğu	<i>Pseudomonas solanacearum</i>
	Bakteriyel Benek	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
	Alternaria Yaprak Lekesi	<i>Alternaria alternata</i> f.spp. <i>lycopersici</i>
	Tırnak Başı Lekesi	<i>Alternaria tomato</i>
	Erken Yanıklık	<i>Alternariasolani</i>
	Antraknoz	<i>Alternaria porri</i>
	Fusarium Solgunluğu	<i>Colletotrichum coccodes</i>
	Fusarium Kök Çürüklüğü (Crown)	<i>C. dematium</i>
Fungal Hastalıklar	Fusarium Kök Çürüklüğü	<i>C. gloeosporioides</i>
	Kurşuni Küf	<i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
	Verticillium Solgunluğu	<i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>radicis-lycopersici</i>
	Septoria Yaprak Lekesi	<i>Fusarium solani</i>
	Yaprak Küfü	<i>Botrytis cinerea</i>
	Mildiyö (Geç Yanıklık)	<i>Verticillium albo-atrum</i>
	Kök ve Meyve Çürüklüğü	<i>Verticillium dahliae</i>
	Domates Sarı Yaprak Kıvrıkcık Virüsü	<i>Septoria lycopersici</i>
	Domates Leke Solgunluk Virüsü	<i>Fulvia fulva</i>
	Domates Halkalı Leke Virüsü	<i>Phytophthora infestans</i>
Viral Hastalıklar	Domates Cüce Çalılık Virüsü	<i>Phytophthora capsici</i>
	Domates Tepe Çalılık Viroidi	<i>P. dreshleri, P. Nicotianae</i>
	Domates Mozaik Virüsü Hastalığı	Tomato Yellow Leaf Curl Virus
		Tomato Spotted Wilt Virus
		Tomato Ringspot Virus
		Tomato Bushy Stunt Virus
		Tomato Bunchy Top Viroidi
	Tomato mosaic tobamovirus	

Domates bitkisinde görülen mikroorganizma kaynaklı hastalıklar (Tablo 2), üretim aşamasında ve sonrasında verimi düşürdüğü gibi üretim maliyetlerini de arttırmaktadır. Özellikle *Fusarium* spp. türleri gibi patojen fungusların neden olduğu hastalıklardan *Fusarium solgunluğu* ve *Fusarium kök çürüklüğü* gibi hastalıklar bu anlamda başı çeken hastalıklar arasındadır. *Fusarium* türleri içinde domateste en yaygın olarak görülen ve patojenik etki gösteren *Fusarium oxysprum*'dur. *Fusarium oxysporum*'un domateste hastalık yapan *Fusarium oxysporum* f. spp. *lycopersici* (FOL) ve *Fusarium oxysporum* f. spp. *radicis lycopersici* (FORL) olmak üzere iki ayrı formu bulunmaktadır. FOL *Fusarium solgunluğuna*, FORL ise *Fusarium kök ve kök boğazı çürümelerine* neden olmaktadır (Attitalla vd., 2004). FORL, ilk kez Japonya'da görülmüş olup daha sonra Kanada, Amerika, Avrupa ve İsrail'i de kapsayan birçok ülkede de tespit edilmiştir. Aynı zamanda 1988 yılında İngiltere'de kaydedilmiştir (Omar vd., 2006). Türkiye'de ise ilk olarak Can vd. (2004) tarafından saptanmıştır. Bu hastalıkların uzun bir süredir domates yetiştirilen bölgelerde çok yaygın olduğu ve önemli kayıplarına neden olduğu da bilinmektedir. Hastalığın erken semptomları arasında domates fidelerinde bodurlaşma, sararma, olgunlaşmamış çenekler ve yaprakların azalması olarak görünürken, ileri semptomlarda kök çürümelere, solma ve ölümler kendini göstermektedir (Roberts vd., 2000). Kök bölgesindeki çürüklük ve gövde iletim demetlerindeki nekroz, toprak yüzeyinden en fazla 15-30 cm yüksekliğe kadar çıkmaktadır. Hastalık etmeni bitkinin toprak yüzeyine yakın kısımlarındaki gövde üzerinde beyaz-pembe renkte sporulasyon vermektedir (Can vd., 2003).

Domates bitkisi, Türkiye'de açıkta tarla sebzeçiliği ve örtü altı üretimi şeklinde üretilmektedir. Açık alanlarda yetiştirilen domates bitkisi birçok hastalığın etkisi altındadır. Bitkilerin hastalanması ve dolayısıyla bitki hastalık epidemilerinin gelişimi ekolojik koşullarla sıkı sıkıya ilgilidir. Bu nedenle, bir bitki hastalığının oluşması için patojen ve konukçu faktörlerinin yanında; özellikle sıcaklık, ıslaklık, nisbi nem, pH, besin durumu, rüzgar, ışık ve o çevrede bulunan diğer organizmalar hep belirleyici unsurlardır. Tüm bu etken koşulların uygun olması durumunda bir bitki hastalığı gelişebilecektir. Bir bitki hastalığının vücut bulması durumunda onun zaman ve mekan içerisinde artış kaydetmesi yine ekolojik koşulların el vermesine bağlıdır. Bu hastalık artışının ekolojik koşullar paralelinde devam etmeyip durması da olasıdır. Bütün bu

nedenlerle bir bitki hastalığı ile mücadele etmek için öncelikle bu hastalığın meydana gelmesine iştirak eden dinamikler üzerinde durmak gerekir. Böyle bir yaklaşım ekolojik bir olay olan bitki hastalığının gelişiminde etkili olan birden çok faktörün yönetimi demektir. Bu bakımdan bir bitki hastalığı ile mücadelede; patojenleri ürün ekosistemlerinden dışlamak, patojenlerin popülasyonlar halinde artış yapamayacakları bir ürün ekosistemi kurarak onlardan sakınmak, patojenleri yok etmek veya azaltmak, patojenlerin hastalandıramayacakları dayanıklı ürün çeşitleri yetiştirmek, bitkileri patojenlerden korumak ve hastalıkların gelişebilecekleri koşulları önceden tahmin ederek, gereken birden fazla yöntemi birlikte uygulamak gibi esas yöntemlere başvurulur. Bitki hastalıklarıyla mücadele stratejisi böyle de olsa çiftçiler, tarım uzmanları ve resmi otoriteler bitki hastalıkları ile mücadelede çoğu kez daha çabuk ve kesin sonuç veren, ancak çevreye ve insana olan toksik etkileri göz ardı edilebilen kimyasalların kullanıldığı koruma işlevlerine yönelirler. Modern tarımda bitki patojenlerinin kontrol edebilmek adına kimyasal pestisitlerin kullanımı oldukça önemli ve yaygındır. Fungisit ve fumigantların yaygınlığının, biyotas üzerine herbisit ve insektisitden daha ciddi etkisinin olduğu bilinmektedir (Fraser, 1994). Bu metotlar, atmosferi kirletmekle beraber çevreye ve toprağa zararlı kimyasalların karışmasına neden olmaktadır (Nannipieri, 1994). Kimyasallarla bitki hastalıklarının önlenmesi için önce hastalık nedeni mikroorganizmanın, hastalık epidemiyolojisinin ve hastalıklara karşı kullanılan kimyasallar olan fungisitlerin iyi bilinmesi gerekir. Aksi takdirde hastalık önlenemediği gibi zaman ve parasal kayıpla birlikte çevre kirliliği oluşur. Bu bakımdan bitki hastalıkları ile mücadelede kullanılan kimyasalların doğru ve zamanında uygulanması büyük önem taşır.

Bitkiler milyonlarca yıldır, çevrelerinde bulunan mikroorganizmalarla birlikte yaşayarak hayatlarını devam ettirmişlerdir. Bitkilerin birçoğu mikrobiyal saldırılara karşı doğal bir dayanıklılığa sahiptir. Hayvanlardaki bağışıklık sisteminden yapı ve işleyiş bakımından farklı olsalar da, bitkiler hastalık etmeni mikroorganizmalara karşı dayanıklılıkta rol oynayan çeşitli mekanizmalara sahiptir. Bitki hastalıklarıyla etkili bir şekilde mücadele edebilmek için hastalıklara dayanıklılığın mekanizmasının iyi bilinmesi gerekmektedir. Patojen mikroorganizmanın konukçusu olmama durumu dayanıklılığın esasını oluşturmaktadır. Günümüzde dayanıklılığın uyarılmasına yönelik

çalışmalarda patojen olmayan türler kullanılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

Son yıllarda, mikrobiyal biyoinokulantların kullanımı bitki patojenlerinin kontrol edilmesi konusunda önemli bir strateji haline gelmiştir. Ayrıca biyokontrol ajanlarının kullanımı bitki patojenlerinin kontrolü için kullanılan kimyasalların kullanım dozunun azaltılmasına da neden olmuştur (Chet ve Inbar, 1994). Günümüzde giderek artan bir şekilde biyokontrol potansiyele sahip mantarlar, bitki patojeni (fitopatojen) mantarlarla, zararlı böceklerle ve nematodlarla mücadelede kimyasal ilaçlara (pestisitler) alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır. Dünyada bitki patojeni mantarlara karşı bu tür antagonistik mikroorganizmaların kullanıldığı biyopreparat sayısı 40'ın üzerindedir (Yiğit, 2005). Antagonist mantarlar diğer mantarların gelişimlerini, salgıladıkları antibiyotik maddeler aracılığıyla engelleyebildikleri gibi; doğrudan temas ettikleri mantarların hücre duvarlarını salgıladıkları enzimler aracılığıyla parçalamak suretiyle baskılayabilmektedirler (Küçük, 2000). Toprakta doğal olarak bulunan birçok antagonistik mikroorganizma, insan etkisi olmaksızın, bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıklar üzerinde belirli miktarda biyolojik mücadele sağlar (Garbeva vd., 2004). *Trichoderma*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Sporidesmium* gibi saprofitik karakterli mantar cinsleri ile patojen olmayan *Fusarium*, *Pythium* gibi cinsler, toprak patojenlerinin antagonistleri olarak tanımlanırlar. Bunlar gibi saprofitik karakterli mantar gruplarının topraktaki varlığı toprakların bitki patojenlerine karşı baskılayıcı özellik kazanmasında önemli rol oynar.

## 1.2. Mantarların Sistematığı

Mantarlar aleminde yer alan canlıların yaşam formlarının karmaşıklığı ve çok sayıda tür çeşitliliğine sahip olması sebebiyle, sınıflandırılması oldukça zor olup halen tam olarak tamamlanamamıştır. Bugüne kadar 80000 ila 120000 arasında mantar türü tanımlanmıştır, ancak toplam tür sayısı yaklaşık 1,5 milyon olarak tahmin edilmektedir (Hawksworth, 2001; Kirk vd., 2001). En çok bilinen sınıflandırmalardan biri, Alexopolus'a göre olup 8 grupta toplanmıştır (Alexopoulos vd., 1996). Son yayınlanan kaynaklarda ise biraz daha güncellenip revize edilerek aşağıdaki gibi (Tablo 3)

verilmektedir (Webster ve Weber, 2007).

**Tablo 3.** Fungi aleminin sınıflandırılması

ALEM : PROTOZOA	
	Myxomycota
	Plasmodiophoromycota
ALEM	: STRAMINIPILA
	Hyphochytriomycota
	Labyrinthulomycota
	Oomycota
ALEM	: FUNGI (EUMYCOTA)
	Chytridiomycota
	Zygomycota
	Ascomycota
	Basidiomycota

Mantarlar aleminin en geniş grubunu Ascomycota (Ascomycetes) phylumu oluşturmaktadır (Tablo 3). Bu phylum içinde 3400 cinsi (genus) kapsayan 32000 binden fazla türü içerir (Kirk vd., 2001). İsmi Yunancada askos (bir deri şişe, çanta ya da mesane) ve mykes (mantar) terimlerinden türetilmiş kese (saç) mantarlarıdır. Bu grubun karakteristik özelliği eşeyli üreme sporlarını askospor kese (askus) içinde meydana getirmesidir. Genellikle bu kese içinde 8 askospor bulundurmaktadır. Grup içinde bazıları saprofit, bazıları bitkiler, hayvanlar ve insanlar için nekrotrofik veya biyotrofik parazitlerdir. Tanınmalarında makroskobik ve mikroskobik yapıları, fruting-body'leri veya askokarpları önem taşımaktadır.

### 1.3. Mantarların Genel Özellikleri

Genel olarak, mantarlar; şapkalı mantarlar, küf ve maya mantarları olmak üzere üç gruptan oluşan dünya üzerinde oldukça geniş bir çeşitliliğe sahip olan mikroskobik ve makroskobik organizmalardır. Mantarların büyük çoğunluğu tek hücreli (mikroform) filamentöz küfleri (*Ascomycetes*, *Zygomycetes*, *Deuteromycetes*) ve çok hücreli (makroform) saplı ve sapsız mantarları (*Basidiomycetes*) daha az sayıda ise maya (mukoid) mantarlarını (*Candida*, *Saccharomyces*) kapsamaktadır. Mantarlar, gerçek hücre çekirdeklerine sahip olan ökaryotik organizmalardır. Fotosentetik pigmentlerin yokluğunda mantarların heterotrofik bir beslenme şekli vardır. Besinlerini katı parçalar

halinde alarak beslenen hayvanların aksine, mantarlar salgılanan enzimlerin aktivitesinden dolayı ekstraselüler sindirim yoluyla besinlerini alırlar, ardından parçalanma ürünleri emilir. Ekstraselüler sindirim ve emilimin kombinasyonu, fungal yaşam tarzının nihai belirleyicisi olarak görülebilir. Evrim sırasında, mantarlar, çeşitli ekosistemlerde önemli rolleri yerine getiren, hayret verici geniş bir yaşam alanı yelpazesini ele geçirmişlerdir (Dix ve Webster, 1995). Üreme özellikleri bakımından eşeysiz ve eşeyli olarak üreyebilen mantarlar, somatik yapıları dallanmış iplikçikler halinde ya da maya formunda olan ve genellikle kitin ihtiva eden hücre duvarına sahip canlılardır. Deacon (2005) tarafından, hücresel organizasyonları ve davranışlarıyla diğer tüm canlılardan farklılık gösteren mantarlar, eşsiz organizma grubu olarak tanımlanmakta ve çok hücreli organizmaların üç ana evrimsel dalından birini temsil etmektedirler.

Mantarlarda, vejetatif yapılar hareketsiz olup, hücre duvar yapıları türe göre değişmekte olup genellikle gluklan-kitin, nadiren de gluklan-selüloz içeren ökaryotik mikroorganizmalardır. Diğer ökaryotik hücrelerde bulunan organellerden farklı olarak, hücre duvarı litik enzimlerinin salgılanmasında görev alan Spitzenkürper, hücreyi turgor basıncına karşı koruyan sitoskeleton ve tubulin gibi yapılar da bulunmaktadır. Tallusu (vücut hücresi) homokaryotik (tek çekirdekli) ya da heterokaryotik (genetik olarak farklı iki hifadan köken alan çekirdekler), haploid (n), diploid (2n) veya dikaryotik (iki çekirdekli) çekirdekli olabilmektedir. Funguslar, basitten karmaşığa değişen yaşam döngüsüne sahip, mikroskobik yada makroskobik organizmalardır. Genelde renksizdirler, ancak bazı türlerinde hücre çeperinde melanin bulundurmaları neticesinde renkli olabilmektedirler.

Mantarların üremeleri, seksüel (eşeyli; nukleer füzyon veya mayoz), paraseksüel (diploidizasyondan sonra nukleer füzyon) veya aseksüel (eşeysiz; mitoz) olarak meydana gelebilir. Mantarların üremeleri çevreye yayılmaları ve neslini devam ettirmeleri için oluşturdukları yapılara 'spor' adı verilir. Birçok spor, yerçekimi, hava veya su akıntıları, yağmur sıçraması veya hayvanlar, özellikle de böcekler tarafından çevreye dağılır. Sadece birkaç mantar spor yapmaksızın çoğalır, sadece miselyum ve sklerotia ile hayat döngüsünü sürdürebilir. Mantar sporlarının morfolojisi ve yapısı tek

hücreli hücrelerden büyük değişkenlik gösterir. Mantar sporlarının morfolojisi ve yapısı tek hücreli, çok hücreli, dallı veya dallanmamış veya bazen spiral şeklinde sarılmış, ince veya kalın hyalin veya pigmentli duvarlarla çevrelenmiş, kuru veya yapışkan, pürüzsüz veya müsilaj uzantılar yapan, dikenler, kıvrımlar veya retikülasyonlar ile süslenmiş yapılarla büyük bir değişkenlik gösterir. Eşeysiz üreme sporları konidiofor (konidium taşıyıcısı) adı verilen bir hifin ucunda tek tek, küme veya zincirler halinde oluşur ve konidiospor adını alır. Ya da bölmeli hiflerin zarlarının kalınlaşp serbest kalmasıyla oidyum denilen sporlar oluşur. Her spor bir çeperle çevrili olup protoplazma kitlesi içerir. Sporlar uygun şartlarda çimlenerek bir “çimlenme borucuğu” oluşturduktan sonra hifler ve misel meydana gelir. Sporlar; sarı, yeşil, kırmızı, kahverengi, siyah veya renksiz olabilirler. Hücre sayıları ve şekilleri tür ve cinslere göre; oval, küremsi, silindir, iplik, böbrek, iğ ve benzeri şekiller gösterebilirler. Bütün mantarlar hiflerle gelişmez. Bazıları, bölünme ile bölünen veya daha sık tomurcuklanan ayrı maya hücreleri olarak büyür. Mayalar, özellikle substratın etkili bir şekilde nüfuz etmesinin gerekli olmadığı durumlarda yaygındır, örn. bitki yüzeylerinde veya hayvanların sindirim sistemlerinde (Carlile, 1995). Mantarlarda eşeyli üreme, “gamet” denilen üreme hücrelerinin birleşmesi (döllenme) ile meydana gelmektedir. İlk etapta plazmogami (protoplazmaların birleşmesi ve çift çekirdekli (dikaryot) olma), sonra karyogami (çekirdeklerin birleşmesiyle çift takım kromozomlu (diploid) olma), daha sonra mayoz bölünme geçirme ile tek takım kromozomlu (haploit) sporlar meydana getirilmesi safhaları gerçekleşmektedir. Genel olarak mantarlar aleminde görülen eşeysiz üreme sporları sporangiospor, konidiospor (makro ve mikro konidium), tallosporlar (blastospor, klamidiospor, artrospor) ve eşeyli üreme sporları ise oospor, zigospor, askospor ve bazidiospor şeklinde bilinmektedir. Eşeyli sporların oluşmasında izogami, anizogami, oogami, gametangiogami ve somatogami olayları gerçekleşir (De Hoog vd., 2003).

#### **1.4. *Fusarium*'ların Sınıflandırılması**

*Fusarium* cinsi Ascomycota alt bölümü, Ascomycetes sınıfı, Hypocreales takımı, Nectriaceae familyasında yer almaktadır. *Fusarium* türlerinin teleomorfları ise *Gibberella* cinsinden ve daha az sayıda *Hemanectria* ve *Albonectria* cinsinden



sınıflandırılmıştır fakat birçok *Fusarium* türü için bir teleomorf henüz bulunamamıştır. *Fusarium* tipi konidialar, çeşitli *Nectria* türlerinde ve aynı zamanda ilgili cins *Gibberella* da bildirilmektedir (Samuels ve Blackwell, 2001). Saf kültürde morfolojik karakterler tarafından tanınan türlerin sayısı bir otoriteden diğerine değişmektedir. Booth (1971), 44 tür ve 7 çeşit; Gerlach ve Nirenberg (1982), 73 tür ve 26 çeşit tanımlarken, Nelson vd. (1983), 30 tür tanımlamıştır. Bununla birlikte, moleküler teknikler kullanılarak, morfolojik karakterler tarafından ayırt edilemeyen çok sayıda tür tanımlanmaktadır (O'Donnell, 1996).

*Fusarium* sınıflandırması için ana yaklaşım hala morfolojidir ve *Fusarium* cinsine yerleştirilecek türlerin birincil özelliği, ilk olarak 1809 yılında Link tarafından tanı konan, farklı muz şeklinde makrokonidia olan aseksüel sporların ortaya çıkmasıdır. *Fusarium* türleri üç çeşit spor üretir: makrokonidia, mikrokonidia ve klamidosporeler. *Fusarium* cinsindeki türlerin morfolojik taksonomisi esas olarak aseksüel reproduktif yapıların yapısı ve bolluğu (klamidosporeler, fialidler, mikrokonidia ve makrokonidia) ve kültürel özelliklerine (koloni dokusu, renk ve kültürel aroma) göre yapılmaktadır (Booth, 1971; Edel vd., 2000; Gordon ve Martyn, 1997; Nelson vd., 1983).

### **1.5. *Fusarium*'lar İle İlgili Genel Bilgi**

*Fusarium* türleri, Antartika kıtası hariç tundralarda, çöllerde, tropik ve subtropik iklimlere kolaylıkla adapte olabilen dünya üzerinde çok geniş bir yayılıma sahip mantarlardır (Stoner, 1981). Birçok türü kültür bitkilerinde patojenik olabilmekte aynı zamanda da toprak üstü habitat ve rizosferde de saprofitik olarak yaşayabilmektedirler. Özellikle de toprakta çok fazla sayıda *Fusarium* türünün saprofit olarak yaşadığı bildirilmiştir (Gordon ve Martyn, 1997). *Fusarium* cinsi, bitki patojeni olabilen, tahıllar da dahil olmak üzere tarımsal açıdan önemli birçok mahsulde hastalıklara neden olan ve ayrıca insanlar ve hayvanlar için zararlı olabilecek çok sayıda mantar türü içerir. *Fusarium*'ların birçoğu, olağanüstü kimyasal çeşitliliğe sahip geniş bir yelpazede biyolojik olarak aktif sekonder metabolitler (örneğin, mikotoksinler) üretmektedir. *Fusarium* türlerinin tanısı mikroskopik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. Mikroskopik yöntemlerle tanılamada, fungus hif ucundan veya tek

bir konididen saf olarak çoğaltılmakta ve özel besi yeri ortamlarında kültüre edilmektedir. *Fusarium* türleri pH'ı 6.5-7'ye ayarlanmış kültür ortamında, optimum 22-25 °C'de 7-10 gün sürede inkübasyon süresini tamamlayabilmektedir. Gelişen kolonilerin sporulasyonu gerek UV ışığı gerekse normal floresan lamba ile teşvik edilebilmektedir.

*Fusarium oxysporum* Sch. Fr. türü, dünyadaki her toprak türünde toprak kaynaklı mantar toplulukları arasında iyi temsil edilmektedir (Burgess, 1981). Bu tür aynı zamanda bitkilerin rizosferindeki mantar topluluklarının normal bir bileşeni olarak kabul edilir (Gordon ve Martyn, 1997). *F. oxysporum*'un tüm suşları saprofitiktir, toprakta ve birçok bitki türünün rizosferinde uzun süre boyunca gelişebilmekte ve hayatta kalabilmektedir (Garrett, 1970). Ancak, bazı *F. oxysporum* suşları farklı bitki türlerine patojeniktir; Damar sistemini istila ettiklerinde kök ya da trakeomikozu tetikleyen köklere nüfuz ederler. Diğer birçok suş, köklere nüfuz edebilir, ancak vasküler sistemi istila edemez veya hastalığa neden olmaz (Olivain ve Alabouvette, 1997). *F. oxysporum*'un hastalık indükleyici suşları, ekonomik açıdan önemli birçok bitki türünde ciddi hasarlardan sorumludur. *Fusarium* solgunluk patojenleri yüksek düzeyde konak spesifitesine sahiptir ve enfekte edebileceği bitki türlerine ve bitki çeşitlerine dayanarak 120'den fazla özel forma ve ırka ayrılırlar (Armstrong ve Armstrong, 1981).

*Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (teleomorph = *Nectria haematococca*), fitopatogenik bir mantardır. Kabakta kök ve meyve çürümesi, bezelye ve fasulyede kök çürüğü, patatesin kuru çürüğü, soya fasulyesinin ani ölüm sendromu gibi çeşitli bitki hastalıklarının önemli bir nedenidir. Türler, 1881 yılında İtalyan mikoloji uzmanı Piers A. Saccardo tarafından *Fusarium* cinsine aktarılmıştır. *F. solani* 1941 yılında Snyder ve Hansen tarafından, topraklarda yaygın olarak bulunan ve dünya çapında bitki köklerinde yumru köklere neden olan karmaşık bir tür grubunu oluşturmak üzere tanımlanmıştır. *F. solani* PDA'da bol beyaz krem miselyum üretir. Makrokonidilerinin ortalama üç ila dört tane septası vardır, hafifçe eğimlidir, oldukça geniş ve kalın duvarlıdır ve biraz körleşmiş bir apikal uç olabilir. Mikrokonidiler bol, böbrek şeklinde oval ve çok uzun monofialidlerde uçlarda oluşur. Koloniler hızlı büyür, renk ve dokuda değişkenlik

gösterir, çoğunlukla granüler veya kabarık, gül-kırmızı, mor veya lavanta rengindedir, olgunlaştıklarında beyaz, pamuklu koloniler olarak da görülebilirler. *Fusarium solani*, aseksüel sporlar (mikrokonidya ve makrokonidya) üretir. Enfekte veya ölü dokularda, tohumlarda miselyum veya spor olarak klamidosporelar ve kışlaklar üretir. Sporlar hava ve su ile yayılabilir (URL-3).

*Fusarium sambucinum* Fckl. [teleomorph = *Gibberella pulicaris* (Fr.) Sacc.], iki çiftleşme türüne sahip heterotallik filamentöz bir mantardır (Beremand vd., 1991). *Fusarium sambucinum* patateslerde kuru çürüklüğünün birincil nedeni olup, ılıman bölgeler boyunca, patateslerde (*Solanum tuberosum* L) sert çürük veya kuru çürümeler yaptığı bildirilmektedir. *Fusarium* sporları toprakta birkaç yıl yaşayabilir ve ilkbaharda özellikle patates yumrularının yüzeylerini enfekte edebilen ve hem hasat öncesi hem de hasat sonrası büyük zararlara yol açan bir etkidir.

#### **1.6. *Trichoderma*'ların Sınıflandırılması**

*Trichoderma* cinsi 19. yüzyılın başından beri bilinmesine, *Hypocrea* Fr.'deki teleomorflarla olan ilişkisine ve 1865 yılında Tulasne kardeşler tarafından tanınmasına rağmen, taksonomisi son on yıla kadar karanlık kalmıştır. Türleri ya da daha ziyade “tür kümeleri” ni morfolojik olarak ayırmaya yönelik ilk ciddi girişim, ayırt ettiği dokuz taksonun tek teleomorf türleriyle ilişkili biyolojik varlıklar olduğunun farkında olan Rifai (1969) tarafından yapıldı. Bissett (1991 a,b,c,) tarafından *Trichoderma* cinsinin sınıflandırılması tekrardan ele alınmış ve morfolojik özelliklerine göre *Trichoderma*, *Pachybasium*, *Longibrachiatum* ve *Hypocreanum* olmak üzere farklı 4 gruba ayrılmıştır. Çoğu *Trichoderma* suşları eşeyli bir durumla ilişkilendirilmemiş olup bu suşların mitotik ve klonal olduğuna inanılmaktadır. *Hypocrea* türlerinin ve Hypocreales'daki yakın ilişkili cinslerin *Trichoderma*'ya karşı anamorfları vardır (Tablo 4) ve son yıllarda *Hypocrea*'da artan sayıda teleomorf, makromoleküler araştırmalar yoluyla yaygın olarak ortaya çıkan *Trichoderma* anamorflarına bağlanmıştır. Bununla birlikte, bu grup ile ilgili önemli ilerlemelere rağmen, *Trichoderma*'nın taksonomisi hala tam olarak tamamlanamamıştır ve *Trichoderma* cinsindeki türlerin ayrımı sorunludur (Samuels, 1996).

**Tablo 4.** *Trichoderma* spp.'nin sınıflandırması (Chaverri ve Samuels 2003 ; Webster ve Weber 2007)

Sınıflandırma birimi	Bulunduğu birim
Alem	Fungi
Bölüm	Ascomycota
Alt Bölüm	Pezizomycotina
Sınıf	Sordariomycetes
Takım	Hypocreales
Aile	Hypocreaceae
Cins	<i>Hypocrea</i> (Teleomorf), <i>Trichoderma</i> (Anamorf)
Tür	<i>Hypocrea lixii</i> ( <i>Trichoderma harzianum</i> )
Soy (ırk)	<i>Hypocrea lixii</i> ( <i>T. harzianum</i> Rifai)

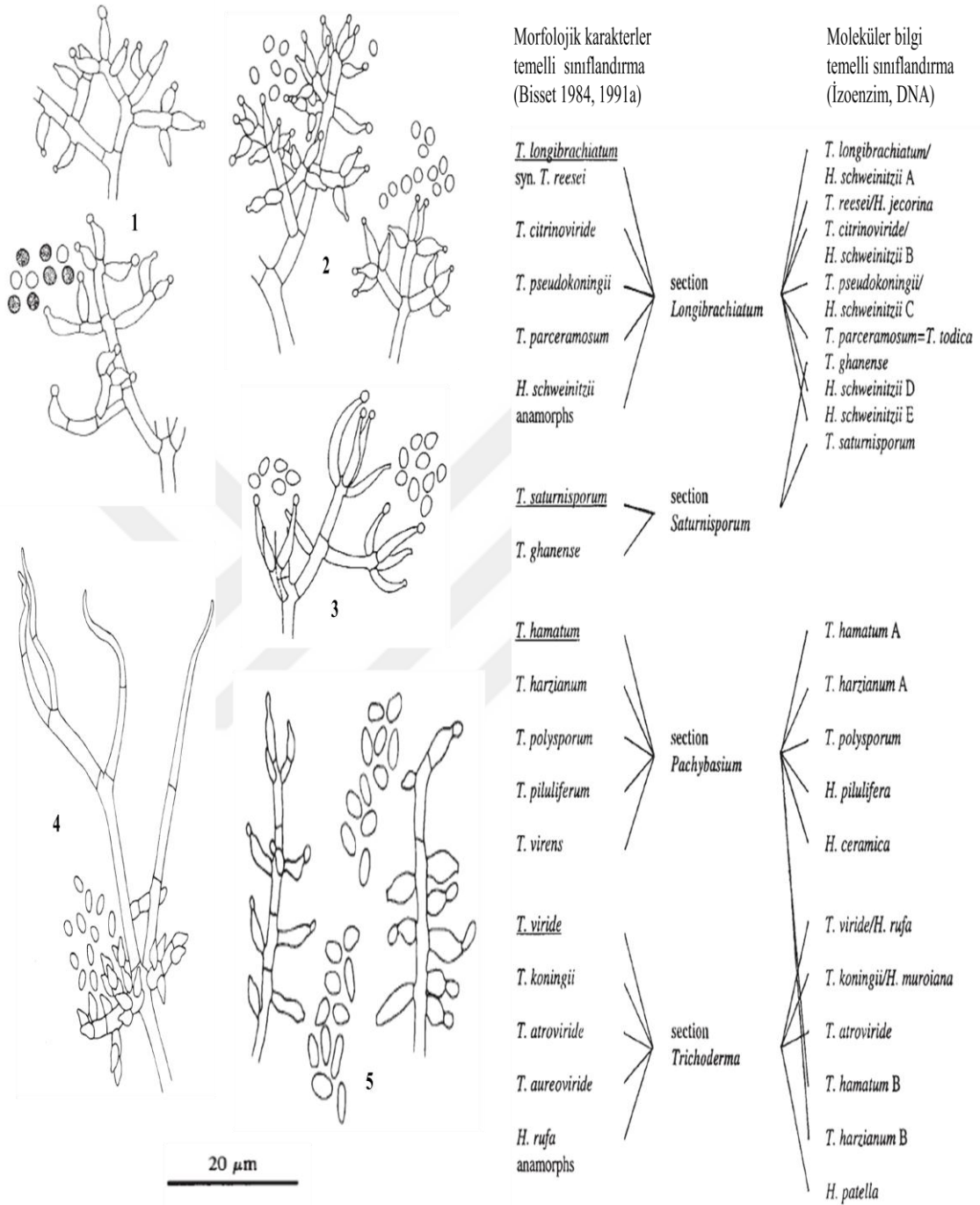
Rifai (1969) ve Bissett (1991a), *Trichoderma* türlerini karakterize etmek ve ayırt etmek için kullandıkları morfolojik karakterleri tartışmışlardır. Her iki yazar da, *Trichoderma*'nın morfolojik türlerini tanımlamada karşılaşılan zorluklara vurgu yapmıştır. Samuels (1996), *Trichoderma*'daki türleri tanımlamak için morfolojik karakterlerin faydası hakkında ayrıntılı gözlemler ve yorumlar sağlamıştır. Birçok *Trichoderma* türleri için iki isim kullanılmaktadır Anamorf *Trichoderma* ve telemorfu *Hypocrea* (Örneğin; *T. Harzianum* Sin: *Hypocrea lixii*, *Trichoderma reesei* Sin: *Hypocrea jecorina*, *T. atroviride* Sin: *H. atroviridis*'i belirtmektedir. Bu durum, iki ismin bir organizmada tek yaşam çemberinde olması anlamına gelmektedir. Samuels (2006), bu isimlendirme şekline gerek olmadığını, çünkü iki döneminde aynı yaşam çemberi içinde meydana geldiğini birbirleriyle bağlantısının kurulması moleküler yöntemlerle yapılabildiğini bildirmiştir. *Trichoderma*'nın anamorf ve telemorf türlerinin morfolojik özelliklerin tek başına tür ayırımında yeterli olmadığı gösterilmiştir (Chaverri ve Samuels, 2003; Druzhinina vd., 2006). Bununla birlikte *Trichoderma* konusunda yapılan birçok araştırmada isimlendirmenin tam oturmamış olması bununla ilgili çalışmalarda güvenilirliği azaltmaktadır. Buna ilaveten *Trichoderma* türlerinin farklı izolatlarının farklı metabolik aktiviteye sahip olduğunun gözlenmesi, potansiyel etken olarak kullanımında dikkat edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Özellikle *Trichoderma*'nın anamorf formları arasındaki morfolojik ve fenetik karakterlerinin Homoplazisi (kalıtsal olmayan benzerlik, biçim benzerliği) nedeniyle *Trichoderma*'nın

morfolojik olarak tanımlanmasında bir çok zorluk görülmektedir (Chaverri ve Samuels, 2003; Druzhinina vd., 2006). *Trichoderma* türleri MEA gibi basit besi yerlerinde konidya oluşumu, dallanma şekli, PDA gibi zengin besi yerlerinde ise pigment üretimi, misel gelişimi konidyaforların yapısı ve morfolojik şekli, büyüklükleri incelenerek türlerin ön tanıları (Şekil 1) yapılmaktadır (Bissett, 1984).

Rifai (1969) ve Bissett (1991a), *Trichoderma* türlerini karakterize etmek ve ayırt etmek için kullandıkları morfolojik karakterleri araştırmışlardır. Her iki araştırmacı da, *Trichoderma*'nın morfolojik türlerini tanımlamada karşılaşılan zorluklara vurgu yapmıştır. Samuels (1996), *Trichoderma*'daki türleri tanımlamak için morfolojik karakterlerin faydası hakkında ayrıntılı gözlemler ve yorumlar sağlamıştır. *Trichoderma* suşlarının kolonisi, sıklıkla hızlı üreyebilmekte ve yaklaşık 4 günde olgunlaşabilmektedir. Başlangıçta tüm besiyeri yüzeyini örten beyaz renkli gevşek bir misel görülür. Daha sonra miseller epeyce sıkılaşıp yünüksü bir örgü görünümüne bürünür ve konidyumların oluşması ile yüzeyde yeşil renkli lekeler belirir, koloni tabanı genellikle renksiz, portakalimsı, ten rengi veya sarımsıdır (Rifai, 1969). Belirgin bir şekilde konsentrik halkalar ve hava hifleri gözlenir ve bazı türlere özgün hindistan cevizi kokusu oluşur (Persoon, 1794). Koloni çapı PDA'da 3 gün 15 °C'de 5–17 mm, 20 °C'de 12–44 mm, 25 °C'de 33–72 mm, 30 °C'de 41–72 mm şeklinde oluşur. 25 °C'de otolitik aktivite not edilmemiş fakat yüksek sıcaklıklarda gözlenmiştir (Rifai, 1969; Persoon, 1794; De Hoog vd., 2003).

Mikroskopta kısa, bölmeli çok fazla dallanmış hifler ve şişe biçiminde konidioforlar görülür. Her konidioforun ucunda tek hücreli, yuvarlak, küçük konidyum kümeleri bulunur (Rifai, 1969). Hiflerin uçlarında ya da orta bölümlerindeki hücrelerin çeperleri kalınlaşarak hifden ayrılmasıyla oluşan klamidiosporlar birçok *Trichoderma* türleri tarafından üretilir. Bu spor tipi hif hücrelerinden yani tallustan oluştuğu için tallospor adını da alır (Gams ve Bissett, 1998). Bunlar fungusların genellikle olumsuz çevre şartlarının atlatılması için oluşturdukları sporelerdir (Persoon, 1794). *Trichoderma* türleri; eşeysiz üreme ile klamidiosporlar ve konidiasporlar oluşturarak çoğalırlar (Gams ve Bissett, 1998). *Trichoderma*'nın aseksüel üremesiyle oluşturulan, ikinci tip sporeler ise “konidi”lerdir (conidium, çoğulu: conidia). Bunlar “konidiofor” adı verilen

farklılaşmış hiflerin ucunda oluşurlar, tek veya çok hücrelidirler (Samuels, 2006).



**Şekil 1.** *Trichoderma* cinsinin Bisset (1984, 1991a-c) tarafından izoenzim ve DNA verileriyle morfolojik temelli taksonomisinin karşılaştırmalı sınıflandırması. 1- *Trichoderma* sect. *Trichoderma*. *T. atroviride*, CBS 351.93. 2- *Trichoderma* sect. *Trichoderma*. *T. harzianum*, CBS 226.95. 3- *Trichoderma* sect. *Trichoderma*. *T. aureoviride*, CBS 283.79. 4- *Trichoderma* sect. *Pachybasium*. *T. hamatum* DAOM 164925 ve 175932. 5- *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum*. *T. longibrachiatum*, CBS 816.68.

### 1.6.1. *Trichoderma* sect. *Trichoderma*

*Trichoderma* section *Trichoderma* koloniler, türlere bağlı olarak yavaş yavaş veya hızlı bir şekilde büyür, havai miseller genellikle sınırlı olup dağınık (araknoide) yayılır, yaşlandıkça rengi renksizden mat sarımtırağa dönüşür. Bazı türleri, Hindistan cevizi benzeri ayırt edici aromatik bir kokuya sahiptir. Klamidiosporlar çoğu izolatta sıklıkla bol miktarda bulunur. Konidioforlar genellikle nispeten dar ve esnektir; düzenli aralıklarla ortaya çıkan birincil dallar, genellikle eşleştirilmiş veya üçlü şekilde, genellikle kısa ve geniş bir şekilde dallanmamıştır. Fialidleri çoğunlukla 2 veya 3 ana uçlu (vertisillat), bazı suşlarda ise 5 veritisillat, lageniform ve subulate'dır. Konidia yeşil (nadiren kahverengimsi), belirgin şekilde verrukoz ve pürüzsüz yüzeyli, şekil olarak da subglobose, obovoid veya elipsoidal dır (Kubicek ve Harman, 2002)

#### 1.6.1.1. *Trichoderma harzianum*

Koloniler 4-7 günde 7-9 cm kadar hızla büyüme göstermektedir. Konidia oluşumu yoğun ve çoğunlukla granüler veya toz halde görünür. Renkleri sarı-yeşil'den koyu yeşile hızla dönüşürken veya beyaz steril miselyumla saçaklanan yığınlar veya püsküller şeklinde gözlenir. Renksizden sönük sarımtırağa dönüşür. Koku belirsiz veya hafifçe toprakkokusunu oluşturur. Kesitteki gibi konidyoforlar, düzenli olarak veritisillatlı olma eğiliminde olup piramidal bir yapı oluştururlar. Fialidler, çoğunlukla 3-4-verticillat, çoğunlukla 3.5-7.5x2.5-3.8 µm boyutlarında, 10 µm'ye kadar uzunluğa ulaşan lageniforma ya da ampulliform terminal fialidler eşlik eder. Konidia subglobose, obovoid, çoğunlukla (2.5-) 2.7-3.5 x 2.1- 2.6 (-3.0) µm boyutlarında, düz duvarlı, şeffaftan soluk yeşile kadar değişen renklerde olabilir (Rifai, 1969). *T. harzianum*'un 2. ve 4. grupları agresif, yenen mantarların patojenleri (kolonizerleri) olup coğrafi konuma özel oldukları bildirilmiştir (Muthumeenakshi ve Mills, 1996). Bu üç *T. harzianum* grubu birbirleriyle filogenetik olarak yakından ilgilidir. Üçüncü grup ise 3 genetik olarak *T. koningii* ve *T. viride*'ye benzediği bildirilmektedir (Muthumeenakshi vd., 1998).

#### **1.6.1.2. *Trichoderma atroviride***

Koloniler hızla büyüyen (5-8 cm), konidialar granül veya yaşlandıkça kabuksu görünen, başlangıçta mat yeşil, yaşlandıkça hızla koyu yeşile dönüşür. Petrinin altı genellikle renksiz, diğer tarafı ise sarımtırak veya kirli sarımsı bir renk alır. Genellikle hoş aromatik hindistan cevizi kokuludur (Bisset, 1984).

#### **1.6.1.3. *Trichoderma aureoviride***

Koloniler yavaş büyür (1-2.5 cm), miseller sıkı olup donuk yeşil veya püstüller oluşturan konidiasyon gözlenir. Petrinin alt tarafı kısmen sarı kristaller ürettiği kahverengimsi sarı renkte gözlenir. Konidiforlar daha düzenli olarak vertisillat ve art arda tabana doğru dallanmış bir piramidal yapı oluşturur. Fialidler genellikle 2 veya 3 verticillat, dar ampulliform veya lageniform şekilli olup, 7-18x2-2.5 µm boyutlarındadır. Konidia soluk yeşil renkli obovoid, kesik tabanlı ve pürüzsüzdür (Rifai, 1969).

#### **1.6.2. *Trichoderma* sect. *Pachybasium***

*Trichoderma* section *Pachybasium* kolonileri, hızla büyüyen ve 4-5 gün içerisinde 2-9 cm arasında değişen çapta olabilirler, renksizden sarıya, kehribar rengi veya eskidikçe kırmızımsı olabilir. Konidialar, sıkı paketlenmiş, kümeler halinde saçılanmış veya daha karakteristik bir biçimde bir araya toplanmış beyaz, gri, yeşil veya kahverengi renklerde olabilir. Konidioforlar sıklıkla fasiküller veya püstüller halinde, düzenli aralıklarla, karmaşık ve tekrarlayan dallara ayrılır; dallar sıklıkla kalabalıktır, nispeten geniştir, genellikle konidyoforun tabanına kadar uzar ve birkaç kez dağılırlar. Birçok türe ait konidyofor uç kısmı (apeks) karakteristik olarak apikalin yakınında kısmen dağılmış veya kısmen steril uzantılara, bazen de diğer konidyofor uçlarıyla anastomoz (kesişerek veya bağlantı kurarak) yaparak genişler. Vertical (dikey) fialitler sıklıkla kalabalıktır (2-7), nispeten kısa ve geniştir, ampulliform (ampül), lageniform (ampül benzeri) dir. Renksiz, grimsi, yeşil veya kahverengi olan konidialar, ışık mikroskopunda yumuşak duvarlı (bazı türlerin conidia'sı SEM gözlemlerinde hassas



biçimde pürüzlendirilmiş olarak) görünür, şekilleri elipsoid, obovoid veya subglobose olur (Bissett, 1991b).

#### **1.6.2.1. *Trichoderma hamatum***

Koloniler orta derecede (3,5-6 cm) hızla büyür. Sıklıkla konsantrik olarak dağıtılan veya koloni sınırının yakınında biriken kompakt püstüllerde kısalma gözlenir, konidyofor apsisleri (uçlarında) steril olması nedeniyle yumuşak, narin, kadifemsi görünen bir yüzey oluştururlar. Alt tarafı renksizdir. Koku belirsizdir. Fialidler, elipsoidal veya ampuliforma benzer,  $3.3-5.6 \times 2.8-3.5 \mu\text{m}$ 'ye boyutlarında, çoğunlukla 3-6 şişkin halka şeklinde ortaya çıkmaktadır. Konidya elipsoidal,  $3.0-4.5 \times 2.1-2.8 \mu\text{m}$ , pürüzsüz ve nispeten ince duvarlı, açık yeşil renktedirler (Kubicek ve Harman, 2002).

#### **1.6.3. *Trichoderma sect. Longibrachiatum***

*Trichoderma* section *Longibrachiatum*, hızlı büyüyen kolonileri PDA besiyerinde 4-7 günde 4,5-7,5 cm çapında, ve petri kabının alt ve üst kısımları sarımsı-yeşil renkte gözlenir. Petride sıkı veya gevşekçe yeşil renkli püskül benzeri miseller gözlenir. Konidioforlar hafifçe dallanmış, birincil dallar uzun, ikincil dallar genellikle kısa ve nadiren dallanmıştır. Fialidler düzensiz olarak, çoğunlukla yalnız, bazen 2 veya 3 verticil de ampulliform, lageniform veya silindir şeklinde yerleşmiştir. Konidialar yeşil, pürüzsüz, elipsoid veya obovoid dirler ve sıklıkla terminal fialidlerin hemen altında üretilir. Konidia yeşil, pürüzsüz, elipsoid, obovoid görünür (Bissett, 1984).

#### **1.6.3.1. *Trichoderma longibrachiatum***

Koloniler hızla büyüyor (6-7 cm). Konidiasyon başlangıçta fasiküler, sonradan birbirine yaklaşarak yığın şeklinde, koyu yeşil; alt tarafı genellikle soluk yeşil-sarı renkte gözlenir. Konidioforları tipiktir. Bağımsız veya 3-vertisillat, lageniform,  $5.3-11.6 \times 2.0-3.2 \mu\text{m}$  veya terminal fialidlerin altında koni biçimli ve  $14 \mu\text{m}$ 'ye kadar uzunlukta, ara fialitler sıklıkla üretilir (Rifai, 1969).

#### 1.6.4. *Trichoderma afroharzianum*

*Trichoderma afroharzianum* PDA besiyerinde 25 °C'de 72 saat sonra 50-65 mm çapında, 96 saat sonra havadaki miselyum bol, pamuklu, ışını yayılan koloni oluşturur; 48-72 saat içinde görünen konidyalar, tipik olarak bol miktarda bulunur ve aşılama noktasının etrafında iki veya üç konsantrik halka şeklinde yerleşir. Sarı pigmentler bazen ortamda, özellikle 35 °C'de ve eski kültürlerde yayılır; bazen 30 °C'de saptanan tatlı bir koku oluşur. *Trichoderma afroharzianum*, yaygın olarak aralıklı, çoğunlukla verticillate konidioforlar için ayırt edicidir. *Trichoderma afroharzianum*, kompleks içerisinde en uzun fialidlere sahiptir ve fialidler için destekleyici hücreler çok dardır (Chaverri vd., 2015).

#### 1.7. *Trichoderma*'ların Habitatlari

*Trichoderma* türleri, dünya'nın her tarafında geniş bir şekilde yayılmış olup, neredeyse tüm toprak ve doğal habitatlarda bulunmaktadır. Bu fungus çeşitli bitkilerin kök yüzeylerinden, çürüyen kabuktan, sklerotlardan veya fungusların diğer üreme organlarının üzerinden izole edilebilmektedir (Papavizas, 1985). Yaşam alanları çok geniş olmakla beraber karada, tatlı sularda ve azda olsa deniz suyunda yaşayabilen türleri barındırmaktadır. *Trichoderma* türleri, orman humus tabakası, nemli odun dokusunda, nemden zarar görmüş binalarda, raf ve şapkalı mantar yetiştirilen yerlerde, tarım toprakları ve tüm topraklardaki mikrofloranın baskın bir bileşenidir (Roiger vd., 1991; Killham, 1994).

Genellikle saprofit bir mantar olarak tanımlanan *Trichoderma* 'lar, misel gelişimi için çok uygun bir ortam olan nemli yaprak yığınlarının olduğu toprakların üst tabakasında sıklıkla bulunurlar (Danielson ve Davey, 1973). Toprakta yaşayan mikroorganizma komünitelerinin biyolojik aktiviteleri, biyokütleleri ve kompozisyonları toprağın kimyasal ve fiziksel faktörlerine bağlıdır. (Garbave vd., 2004; Killham, 1994). Bütün mantar türlerinde olduğu üzere *Trichoderma* suşlarının kolonizasyonunda da pH, nem ve sıcaklık gibi etkenler önemli bir yere sahiptir (Carreiro ve Koske, 1992; Eastburn ve Butler, 1991). *Trichoderma* spp. türleri sıcak

tropikal topraklardan izole edilebildiği gibi soğuk topraklarda da bulunabilirler (Klein ve Eveleigh, 1998). 0 °C ‘den 40 °C’e kadar geniş bir sıcaklık aralığında varlıklarını sürdürebilirler ancak gelişimleri için gerekli olan optimum sıcaklık 22-26 °C arasında değişmektedir (Domsch vd., 1980). Yapılan araştırmalar pH açısından *Trichoderma* cinsi mantarlarının gelişimi ve spor germinasyonlarının (Danielson ve Davey, 1973), asidik substratlı ortamlardan pozitif yönde etkilendiğini ve optimal pH aralığının 3.5-5.6 olduğunu göstermiştir (Domsch vd., 1980).

### **1.8. *Trichoderma* Suşlarının Biyokontrol Etkeni Olarak Kullanılması**

Saprofitler, epifitler, endofitler, patojenler ve yararlı mikroorganizmalar rizosferdeki mikrobiyal komuniteyi oluştururlar. Toprakta denge halinde bulunan bu mikroorganizma populasyonlarının değişmesi ile birlikte, yararlı mikroorganizma populasyonunun azalması ve bitki patojenlerinin toprakta baskın hale gelmesi sonucu bitki üretimi, dolayısıyla bitki verimi olumsuz etkilenmektedir. Yararlı rizosfer mikroorganizmalar iki ana sınıfta gruplandırılmıştır (Kucharski vd., 1996).

- a) Bitki gelişimini direkt olarak etkileyen (teşvik eden)
- b) Bitki gelişimini dolaylı olarak etkileyen biyolojik kontrol etkenleri, (bitki patojenlerini kontrol etmesiyle)

Bu mikroorganizmaların bitki sağlığı ve verimleri üzerindeki etkileri ve önemleri son yıllarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. *Trichoderma* cinsindeki mantarlar 1920'lerden beri bitki patojenlerine karşı biyokontrol ajanları olarak mücadele etme yetenekleri nedeniyle bilinmektedir (Samuels, 1996). *Trichoderma* türleri bitkilerde, hem hastalık kontrolü hem de verim artışı için büyük miktarlarda kullanılmaya başlanmıştır. Son gelişmeler, *Trichoderma*'nın, indüklenmiş sistemik veya lokalize direnç dahil, bitkiler üzerindeki etkilerinin çok önemli olduğunu göstermektedir (Harman, 2006). Bu nedenle, Amerika Birleşik Devletleri'nde bazı bitkilerin korunması ve büyümesi için birkaç *Trichoderma* türünün ticari üretiminde ve Hindistan, İsrail, Yeni Zelanda ve İsveç'te ise *Trichoderma* türlerinin ve türlerin karışımlarının üretiminde yüksek bir kapasiteye ulaşılmıştır (McSpadden ve Fravel, 2002). *Trichoderma* türleri

toprak kaynaklı bitki patojenik funguslarına karşı biyolojik kontrol ajanları olarak çalışılmış olup bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, çeşitli *Trichoderma* suşlarının, sera ve tarla koşulları altında *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phythium aphanidermatium*, *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum* ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* gibi patojenlerin neden olduğu bitki hastalıkları üzerinde önemli bir azaltıcı etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Chet ve Baker, 1981; Chet ve Inbar, 1994).

### **1.9. *Trichoderma* spp.'nin Fungal Patojenlerin Kontrolünde Etki Mekanizmaları**

Biyolojik kontrol biliminin en ilginç yönlerinden biri, hastalık kontrolünü etkilemek için biyokontrol ajanları tarafından kullanılan mekanizmaların incelenmesidir. Bitki hastalıklarının kontrolü ve biyokontrol ajanlarının en etkili şekilde kullanılmasını sağlamak için, ajanların nasıl çalıştığını ve sınırlamalarının ne olduğunu anlamamız gerekir. Daha sonra, hastalık kontrolü için en iyi denemelerden yararlandığımızda, biyokontrol ajanlarının kültürlenmesi, depolanması, uygulanması ve kullanılması için etkili araçlar geliştirebiliriz. Geçmişte yapılan araştırmalar, mekanizmaların *Trichoderma* cinsi içinde bile çok ve çeşitli olduğunu göstermektedir. Bu cinsin tarım açısından önemi ise, bazı *Trichoderma* türlerinin *Fusarium*, *Phythium*, *Rhizoctonia* ve *Sclerotinia* türleri gibi bitki patojenlerine karşı iyi bir antagonistik yeteneğe sahip olmasından gelir. Bu mantarların antagonist olarak davranışları hakkındaki bilgi, etkili kullanımları için çok önemlidir çünkü patojenlere karşı çeşitli şekillerde davranabilirler (Chet, 1987). Antagonistik etki, *Trichoderma*'lar tarafından antifungal metabolitlerin üretimi, besin ve yer için yarışma ve mikoparazitlik gibi farklı mekanizmalar tarafından olur (Kredics vd., 2003).

Biyokontrol ajanları çeşitli şekillerde çalışabilirler: Bir biyokontrol ajanı daha hızlı büyüebilir ya da besin kaynağını patojenden daha verimli bir şekilde kullanabilir, böylece patojeni dışlar. Bu sürece besin yarışması denir. Bir biyokontrol ajanı, bir ürünün yakınında patojenleri yavaşlatan ya da öldüren bir ürün salabilir. Bu sürece antibiyosiz denir. Bir biyokontrol ajanı, bir bitkinin patojeni engelleyen veya öldüren bir ürün yapmasına neden olabilir. Bu sürece indüklenmiş direnç denir. Bir biyokontrol

ajanı doğrudan ya da bir patojen üzerinde beslenebilir. Bu sürece parazitlik denir. Bu şekilde, patojen yok edilir. Bazı biyokontrol ajanları bu stratejilerin sadece birini kullanır, ancak *Trichoderma* gibi en başarılı biyokontrol ajanları bu yollardan birkaçını kullanabilir (Monte, 2001). *Trichoderma* suşlarının önemli etki mekanizmaları bilinmektedir. Bunlardan bazıları;

### **1.9.1. Antibiyozis**

Fungus tarafından üretilen uçucu ve uçucu olmayan antibiyotiklerle oluşturulan etkinliklerdir. Antibiyozis, düşük moleküler ağırlıklı yayılabilir bileşikler veya *Trichoderma* suşları tarafından üretilen diğer mikroorganizmaların büyümesini engelleyen antibiyotikler içeren etkileşimler sırasında ortaya çıkar. Çoğu *Trichoderma* suşu, antagonize mikroorganizmalar tarafından kolonizasyona engel olan uçucu ve uçucu olmayan toksik metabolitler üretir. Bu metabolitler harzianik asit, almetler, trikolin, peptaiboller, antibiyotikler, 6- pentil-a-pirone, massoilakton, viridin, gliovirin, glisopreninler, heptelidik asittir (Vey vd., 2001).

### **1.9.2. Yer ve Besin (karbon, azot, mikro elementler) İçin Rekabet**

Biyokontrol ajanı olarak başarılı bir şekilde kullanılan *Trichoderma* suşlarının üreme ve uygun olmayan koşullarda canlı kalabilme, besinlerden yararlanabilme, rizosferde modifiye olabilme, bitki gelişme ve savunma mekanizmalarını güçlendirebilme ve de patojenik mantarlara karşı direnç gösterebilme yetenekleri oldukça iyi olduğu bildirilmektedir. Bazı *Trichoderma* biyokontrol ajanları yüksek etkinlikte siderofor üreterek demir şelatları oluşturuyor ve diğer fungusların gelişimini durduruyor veya ortamdaki demirden yararlanamadığı için besin kıtlığına maruz kalan patojenlerin ölümüne neden oluyor (Eisendle vd., 2004). *Trichoderma*, diğer organizmalara göre toprak besinlerini harekete geçirmek ve toplamak için üstün bir kapasiteye sahiptir. Mevcut besleyicilerin etkin kullanımı, *Trichoderma*'nın, farklı ortamlardaki metabolizmadan ATP elde etme yeteneğine dayanmaktadır, örneğin, mantar ortamlarında geniş yayılmış polimerlerden elde edilenler gibi: selüloz, glukoz ve kitin ve diğerleri, hepsini glikoza çevirebilirler (Chet vd., 1997). *Trichoderma* genusuna

ait suşların büyük çoğunluğu tarımda kullanılan hidrokarbonları, klorofenolik bileşikleri, polisakkaritleri ve ksenobiyotik pestisitleri parçalayabilirler (Harman vd., 2004; Harman ve Kubicek, 1998). Tüm bu özellikler *Trichoderma*'ya herhangi bir ortamda bulunabilme ve popülasyondaki yoğunluğunun yüksek tutabilme yeteneğini sağlamaktadır (Chet vd., 1997).

### 1.9.3. Mikoparazitizm

Bir fungusun başka bir fungusa (patojen) karşı salgıladıkları enzimlerle miselini delerek beslenmesi ve bu şekilde ölümüne sebebiyet vermesidir. Mantar türleri arasında birbirini parazitize eden mantarlar bilinmekte olup, bunlardan en çok bilineni *Trichoderma* türleridir. *Trichoderma* genusu altındaki funguslar biyokontrol aktivitesi göstermektedir ki bu genusun içinde en çok bilinen biyokontrol fungusu (BKA) türleri; *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma flavofuscum* ve *Trichoderma viride*'dir.

Bir mantarın diğerine doğrudan saldırı süreci; tanıma, saldırı ve müteakip penetrasyon ve ev sahibi öldürme dahil olmak üzere ardışık olayları içeren çok karmaşık bir süreçtir. *Trichoderma* türleri bir dizi mantarları parazitleyerek, diğer mantarları tespit ederek ve bunlara doğru büyüyerek doğrudan biyokontrol uygulayabilir. Mikoparazitizm, konakçıya nüfuz etmeye ve gliserol gibi yüksek ozmotik çözücü konsantrasyonları ihtiva etmeye hizmet eden, appressorium benzeri yapıların sarılması ve oluşumu gibi morfolojik değişimleri içerir (McIntyre vd., 2004).

### 1.9.4. Mikorizosfer Bitki Direnci ve Bitki Savunma Mekanizmalarının Uyarımı

*Trichoderma* suşlarının bitki kök sisteminde oluşturduğu mikorizosfer, kökün gelişimini, ürün verimini ve havalandırma sistemini destekleyerek bitkiye yarar sağlar (Harman ve Kubicek, 1998). *Trichoderma* suşları rizosfere ilave edildiğinde bitkiyi birçok; hava kaynaklı enfeksiyon oluşturan viral, bakteriyel ve fungal patojenlere karşı koruyucu mekanizma geliştirir, bitkide aşırı duyarlılık (HR), sistemik kazanılmış direnç (SAR) ve uyarılmış sistemik direnç (ISR) mekanizmalarına benzer mekanizmaların tetiklenmesine neden olur (Harman, 2006). Biyokontrol ajanı olma özelliği gösteren

*Trichoderma* suşlarının patojen funguslara birleşmesinin yanı sıra bitki ve kökün gelişimini arttırıcı mekanizmalara da sahiptir (Harman, 2000). Bazı *Trichoderma* suşları bitki kökleri ile uzun süreli kolonizasyon oluşturur ve epidermis içine penetre olur. Böylece bölgesel veya sistemik bitki direncinden sorumlu olan maddeler salgılamaya başlar (Hoitink vd., 2006). Fungusların bir kısmının bitki köklerine kolonize oldukları ancak hastalık yapmadıkları bilinmektedir. Konak bitki, fungusa karşı fitoaleksinleri, flavonoidleri, terpenoidleri, fenolik bileşikler, aglikonları ve diğer antimikrobiyal bileşikler sentezlemek ve biriktirmek suretiyle bu funguslara karşı koyar. *Trichoderma* türleri ise bu bileşiklere çoğu türlerden daha dirençlidir. Bu da bitkinin patojenlere karşı direncinin artmasına yol açmaktadır (Harman vd., 2004).

*Trichoderma* suşlarının bitkilerin kök patojenlerine karşı koruyabilme kabiliyeti, saldırıp yayılan patojene karşı antagonistik etkiye bağlı olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir (Chet vd., 1997). *Trichoderma* bazlı biyofungisitler, tarımda dünya çapında kayıtlı ürünler olarak bugün 50'den fazla formülasyonla birlikte kullanılmaktadır (Woo vd., 2006). Bunlardan dünya genelinde en çok kullanılan bazı ticari *Trichoderma* kaynaklı biyokontrol ürünleri Tablo 5'de verilmiştir.

**Tablo 5.** Ticari olarak satılan *Trichoderma* kaynaklı biyokontrol ürünleri (Butt ve Copping, 2000).

Ürün adı	Biyokontrol fungusu	Hedef organizma ya da hastalık	Üretici firma ve ülke
Supresivit	<i>T. harzianum</i>	Çeşitli funguslar	Borregaard ve Reitzel, Danimarka
Trichopel	<i>T. harzianum</i>	Fungal hastalıklar	Agrimm teknoloji Ltd. Yeni Zelanda
Trichodowels, Trichobject, Trichoseal	<i>T. harzianum</i> <i>T. viride</i>	<i>Chondrostereum purpureum</i> ve diğer toprak ve yaprak patojenleri	Agrimm, Yeni Zelanda
Binab T	<i>T. harzianum</i> , <i>T. polysporum</i>		Bio-Innovation, İsveç
<i>Trichoderma</i> 2000	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i> <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Pythium</i>	Mycontrol (EfA1) Ltd. İsrail
Trichodex	<i>T. harzianum</i>	Mantar hastalıkları <i>B. cinerea</i>	Makhteshim-Agan, İsrail, Avrupa ülkeleri
T-22 ve T-22HB Bio-trek, Rootshield	<i>T. harzianum</i>	<i>Phytium</i> , <i>Rhizoctonia</i> <i>Fusarium Sclerotinia</i>	BioWorks (TGT Inc) Geneva, USA

### 1.10. Fungusitler

Mantar hastalıkları, meyvesi yenen sebzelerin büyüme ve gelişmeleri esnasında hüküm süren çevre koşullarına bağlı olarak, ürünün yeşil aksam ve köklerini hastalandırmak suretiyle ciddi ürün kayıplarına neden olurlar. Sebze üreticileri bu tür ürün kayıplarının bilincinde olması nedeniyle ürünlerinde herhangi bir hastalık belirtisi gördüklerinde piyasada mevcut birçok fungusitle, her 7-10 gün ara ile bir mevsimde yaklaşık 12-16 kez fungusit püskürtmesi yaparak ürünlerini korumaya çalışırlar. Böyle bir koruyucu yaklaşım hastalıkları önlemede etkin olabilir. Ancak, bu tür yaklaşımlar çoğu zaman gereksiz fungusit kullanılmasına yol açtığı gibi, sebzelerin üzerine püskürtülmüş kimyasal kalıntıları ile insan sağlığı için bir tehdit oluşturur.



Üreticilerin de kimyasal mücadeleden kesin ve kısa sürede aldıkları sonuçlar onları uzun yıllar kimyasal savaşımdan koparamamıştır. Bu kimyasal savaşın etkisini, dünyada ve Türkiye'deki pestisit üretim rakamlarına bakarak anlamak mümkündür. Dünyadaki toplam pestisit üretimi yıllık 3 milyon ton civarında olup, parasal değeri ise yaklaşık 30 milyar €'dur (Delen, 2008). Türkiye'de pestisit üretimi yıllık ortalama 33.000 ton preparat olup parasal değeri 230-250 milyon \$'dır (Turabi, 2007). Dünya pestisit piyasasındaki payın %80'i gelişmiş ülkelere ait iken Türkiye'nin payı %0.6'dır (Özmen, 2007; Öztürk, 2007). Türkiye'de yıllık pestisit tüketimi, yıllık iniş ve çıkışlara rağmen, 1979-2007 yılları arasında % 270 oranında artmıştır (Delen, 2008). Bu değer yıllık olarak % 9.64'e karşılık gelmektedir. Özellikle son yıllardaki önemli artışlar dikkat çekicidir. Pestisit tüketimimiz, 2002 yılında 12.199 ton iken, 2006 yılında yaklaşık %50 artış ile 18.258 ton ve 2007'de de %24,22 artarak 22.681 ton olmuştur.

Bitki hastalıklarıyla mücadelede en çok kullanılan yöntem, kimyasal ilaçların kullanılması şeklindedir. Kimyasal metodlar aynı zamanda ekonomik de sayılmazlar; en nihayetinde atmosferi kirletme, çevreye verdikleri zarar, zararlı kalıntı bırakma ve hedef organizmalara karşı sürekli kullanılmasıyla dayanıklı ırklarının oluşmasına neden olurlar (Delen, 1991). Toprak kökenli patojenlerle mücadelede etkili bir toprak fumigantı olan Methyl Bromide'in uygulamadan kaldırılmış olması nedeniyle uygulanabilir alternatif mücadele yöntemlerine ihtiyaç vardır. Toprak kökenli hastalıklarla mücadelede birçok fumigant kullanılmakta ve bu kimyasallar, ürünler üzerinde kalıntı bırakarak; toprağı, suyu ve havayı kirleterek, insan ve diğer canlıları olumsuz olarak etkilemektedir (Kaygusuz ve Biçici, 2007). Tarımsal mücadelede kullanılan birçok pestisit çevre ve insan sağlığı açısından son derece risklidir. Bunlardan bazıları toprakta uzun süre kalabilmekte, buralardan yeraltı sularına karışabilmektedir. Bazıları ise besin zinciri ile insanları etkilemektedir. Tüm bu olumsuzlukları gidermenin yolu; bitki hastalık ve zararlılarıyla mücadelede biyolojik savaşımın, kültürel önlemlerin ve dayanıklı bitki ıslahının, kimyasal savaşıma alternatif olarak benimsenmesiyle mümkün olacaktır. Bu nedenlerden dolayı tarımda sentetik pestisitlerin azaltılması veya mümkünse elimine edilmesi arzu edilen bir amaç haline gelmiştir. Bu amaca ulaşmak için en ümitvar araçlardan biri de, biyolojik kontrol ajanlarının (BKA) tek başına veya farklı araçlarla birlikte hastalıklarla mücadelede kullanılması ve çevre üzerinde

kimyasalların etkisini en aza indirmektir (Bora ve Özaktan, 1998).

Fungusitlerin önemli bir bölümünü benzimidazole, phenylamide, triazole gibi bileşikler oluşturmaktadır. Bu bileşikler bitki tarafından alınabilmekte ve buldukları her yerde fungitoksik özellik gösterebilmektedir. Bazı önemli fungusit grupları Tablo 6'da verilmiştir.

**Tablo 6.** Bazı fungusit çeşitleri ve özellikleri (Anonymous, 2009).

Fungusit grubu	Etken madde	Etkisi
Phenylamide	Metalaxyl	Sistemik
Benzimidazole	Benomyl	Sistemik
Carboximide	Carboxin	Sistemik
Sterol Engelleyicileri	Tebuconazole	Sistemik
Dithiocarbamate	Mancozeb	Koruyucu
İnorganikler	Bakır Sülfat	Koruyucu
Dicarboximide	İprodione	Koruyucu
Aromatik Hidrokarbonlar	Dichloran	Koruyucu
Phthalimide	Captan	Koruyucu

Birçok ülkede sağlıklı üretim sistemi ve temiz çevre için biyolojik gübre formülasyonları elde edilmesi amacıyla çalışmalar yapılmaktadır (Aksoy ve Altındişli, 1998). Bu amaçla genellikle *Bacillus* spp., *Azotobacter* spp., *Trichoderma* spp., *Rhizobium* spp., *Azospirillum* spp. ve *Saccharomyces* spp. gibi mikroorganizmalar seçilmektedir. Bunlar arasında *Trichoderma* spp. özellikle fungal kaynaklı biyolojik mücadele ajanı ve aynı zamanda mikrobiyal gübre olarak kullanılan, üzerinde en çok araştırma yapılan mikroorganizmadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Trichoderma harzianum* KUEN 1585 gibi biyolojik mücadele etmenlerinin bitki gelişimini teşvik ettikleri ortaya konmuştur. Bu mikroorganizmaların uygun zamanda ve miktarlarda kullanımları sayesinde kimyasal gübrelerin kullanımları sonucu oluşan problemlerin çözülmesine katkı sağladıkları, tarımsal ürünleri, hastalıklara karşı korudukları ve gelişimlerini arttırdıkları düşünülmektedir (Kucharski vd., 1996).

## 1.11. Literatür Özeti

*Trichoderma* spp., *Hypocrea* Fr. generu, *Hypocreales* takımının (ordo) *Hypocreaceae* ailesinde (familya) yer almakta olup, ilk kez Fries tarafından tanımlanmıştır. *Trichoderma* grubu üyelerinin biyokontrol ajanı olarak kullanımı yakaşık olarak 70 yıldır araştırılmakta fakat suşların ticari olarak kullanımına son yıllarda başlanmış ve gitgide önem kazanmıştır. Biyokontrol ajanı olarak *Trichoderma* spp.'ler özellikle toprak kökenli hatta hava kaynaklı patojenleri ihtiva eden Askomycetes, Deuteromycetes ve Bazidiomycetes grubu mantarlara karşı etkilidir. *T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens* (*Gliocladium virens*) başta olmak üzere *T. aureoviride*, *T. pseudokoningii*, *T. koningii* ve *T. longibrachiatum* gibi birçok suş potansiyel biyokontrol ajanı olarak kullanımı için identifiye edilmiş ve etki ettikleri funguslar belirlenmiştir. Bunlar; *Armillaria*, *Botrytis*, *Chondrostereum*, *Colletotrichum*, *Dematophora*, *Diaporthe*, *Endothia*, *Fulvia*, *Fusarium*, *Fusicladium*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Monillia*, *Nectria*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Pseudoperonospora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Venturia*, *Verticillium* ve odun hastalığı mantarları olarak bildirilmiştir (Howell vd., 1993; Monte, 2001).

*Trichoderma* türlerinin biyolojik mücadele ajanı olma potansiyeli 1930'lu yıllardan beri bilinmektedir (Harman, 2006). Bu grup içerisinde yer alan *Trichoderma harzianum* biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanılan bir ajandır (Elad vd., 1984; Sivan ve Chet, 1986; Bora ve Özaktan, 1998; Küçük ve Kıvanç, 2003).

Kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı toprak kökenli olan *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Bipolaris sorokiniana*, *Gaumannomyces graminis* var. *tritici*, *Pseudocercospora herpotrichoides*, *Pythium* spp., *Sclerotium rolfsii* gibi çok çeşitli türlerce meydana getirilmektedir (Yılmazdemir, 1976; Aktaş vd., 1996; Rossi vd., 1995).

*Trichoderma* spp. toprak kökenli patojen funguslardan; *S. rolfsii*, *R. solani*, *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus niger*'e karşı başarıyla kullanılmıştır (Elad

vd., 1984).

Erdurmuş ve Katircioğlu (2008), yaptıkları çalışmada buğday kök ve kök boğazı patojenleri (*Fusarium culmorum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Bipolaris sorokiniana* ve *Rhizoctonia solani*)'ne karşı *Trichoderma harzianum* izolatlarını steril ve doğal toprak koşullarında test etmiştir. Dual kültürde en yüksek engellemenin T10 izolatında %82.6 olarak *F. culmorum*'a ve T7 izolatında %72.2 *F. pseudograminearum*'a olduğunu bildirmiştir. Steril topraktaki denemesinde *F. culmorum*'a karşı T10 %65.6, *F. pseudograminearum*'a T4 %51.9 olduğunu bildirmiştir.

Yiğit (2011), tarafından yapılan bir çalışmada, biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan *Trichoderma harzianum* (T22) suşunu domateste kök ve kök boğazı çürüklüğüne sebep olan *Fusarium oxysporum* f. spp. *radicis*'e karşı misel gelişimini engelleyici etkisi iki farklı pH (5.0, 8.0) seviyesinde ve beş farklı NaCl konsantrasyonunda (0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25 M) test edilmiştir. Tuzlu koşullara adaptasyon sağlamış olan izolatın normal izolata göre *F. oxysporum* f.spp. *radicis* ile bulaşık seralarda kök ve kök boğazı çürüklüğünü % 3.2 oranla daha fazla kontrol edebildiği belirlenmiştir.

*Trichoderma* türlerinin *F. oxysporum* f. spp. *lycopersici*'nin biyolojik mücadelesinde kullanılmış olan en etkili mekanizmalarından biri de enzim ve antibiyotikler gibi sekonder metabolitlerdir (Dal Soglia vd., 1998; Perez vd., 2002; Benitez vd., 2004).

Sebzelerde çökerten (kök ve kökboğazı çürüklüğü) hastalığının patlıcanlarda % 46, domateslerde % 32, biberde % 21 olduğu; hastalıklı sebzelerden, *Pythium* spp., *Fusarium affine*, *F. arthrosporioides*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata*, *Phytophthora* spp. izole edildiği kaydedilmiştir (Akyalçın, 1971).

Ankara ili Ayaş, Beypazarı ve Nallıhan ilçeleri domates ekili alanlarında solgunluk, kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olan hastalık etmenlerini, bulunuş oranlarını, yaygınlıklarını ve çıkış zamanlarını tespit etmek amacıyla 2003-2004 Mayıs-

Ekim ayları arasında yapılan çalışmada, Ankara ilinde domates ekilen alanlarda solgunluk, kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olan fungusların önemli verim kayıplarına sebep olduğu bildirilmiştir. Hastalıklı bitkilerden elde edilen funguslar ve bulunuş oranları şöyledir: *Pyrenochaeta lycopersici* % 17.2, *Fusarium oxysporum* f.spp. *radicis-lycopersici* % 0.96, *Fusarium solani* % 0.32, *Rhizoctonia solani* % 0.91, *Alternaria alternata* % 2.95, *Verticillium dahliae* % 0.52. *Phytophthora nicotiana* var. *parasitica* ise Nallıhan ilçesinde tek bir tarlada tespit edilmiştir. Joker, Gökçe ve Falcon domates çeşitlerinde yapılan patojenite testlerinde, *Fusarium oxysporum* f.spp. *radicis-lycopersici*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* ve *Verticillium dahliae* patojen bulunmuştur. Solgunluk, kök ve kökboğazı çürüklüğü diğer bölgelerimiz için de önemli olup, bu konuda yapılan çalışmalarda *Fusarium oxysporum* f.spp. *radicis-lycopersici*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* f.spp. *lycopersici*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, *Pyrenochaeta lycopersici* ve *Phytophthora parasitica* etmenlerinin domateste solgunluk ile kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olduğu belirlenmiştir (Ozan ve Maden, 2004).

Elazığ'da yetiştirilen sebzelerde kök ve kökboğazı hastalıklarına *R. solani*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *Verticillium dahliae*, *Pythium* spp., *F. culmorum*, *F. equiseti*, *P. capsici*, *P. parasitica*'nın neden olduğu kaydedilmiştir (Kırbağ ve Parlak, 1996).

Malatya ili ve ilçelerinde sebze alanlarında yapılan bir çalışmada, domateslerde *Rhizoctonia solani* % 10, *Fusarium solani* % 20, *Fusarium oxysporium* % 10, *Phytophthora capsici* % 16.66, *Alternaria solani* % 10, *Alternaria alternata* % 6.66, *Macrophomina phaseolina* % 10, *Sclerotinia sclerotiorum* % 3.33, *Pythium ultimum* var. *ultimum* % 13.33 olarak bulunmuştur (Kırbağ ve Turan, 2006).

Aydın ili ve ilçelerinde açıkta domates tarımı yapılan alanlarda bitkilerin kök ve kök boğazında sorun olan *Fusarium* spp.'yi saptamak amacıyla 1996-1997 yıllarında sörvey çalışmalarında belirti gösteren bitkilerden yapılan izolasyonlarda büyük çoğunlukla *Fusarium* türleri (% 81.08) elde edilmiştir. Patojen olduğu saptanan *Fusarium* türleri içinde en büyük grubu *Fusarium oxysporum* f. spp. *lycopersici* (% 81.08) olarak bulunmuştur.

48.15) oluştururken, bunu *Fusarium solani* (% 33.33) ve *Fusarium equiseti*'nin (% 18.52) izlediği saptanmıştır. Domateste vasküler solgunluğa neden olan toprak kökenli fungal etmenler içinde en başta gelenleri *Fusarium oxysporum*'un alt türleri ve son yıllarda önem kazanan *Fusarium oxysporum* f.spp. *radicis-lycopersici*'nin oluşturduğu *Fusarium* kök boğazı çürüklüğü önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde de sorun olan toprak kaynaklı fungal hastalıklar üzerine yapılan çalışmalarda *Fusarium* türlerinin, özellikle de *F. oxysporum* f. spp. *lycopersici*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium solani*'nin en fazla karşılaşılan etmenler olarak önemli oldukları ifade edilmiştir (Yıldız ve Döken, 2001).

Doğu Akdeniz Bölgesinde örtü altı domates yetiştiriciliğinde önceleri *F. oxysporum* f. spp. *lycopersici* (FOL)'nin neden olduğu solgunluk hastalığının önem arz ettiği bilinirken (Yücel ve Çınar 1989), sonraları (Can vd., 2004), tarafından etmeni *F. oxysporum* f. spp. *radicis-lycopersici* (FORL) olan kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığına rastlandığı açıklanmıştır. Doğu Akdeniz Bölgesi seralarında 2004 yılında tespit edilen FORL hastalığının yaygınlığı ile ilgili bölgede daha önce yürütülmüş bir çalışma bulunmamaktadır. *F. oxysporum*'un bu iki patojenik formu, ekseri domates yetiştirilen bölgelerde mevcuttur. Bu nedenle, aynı tarlada her iki form birlikte mevcut olabilmektedir. Böylece, domates tarlalarındaki bitkiler sadece bunlardan birisi tarafından etkilenenebildiği gibi, aynı domates bitkileri her iki patojen formu tarafından birlikte infekte edilerek karışık enfeksiyonlar gerçekleşebilmektedir (Balmas vd., 2005).

Yapılan bir çalışmada, domateste *F. oxysporum* f.spp. *lycopersici*'ye karşı patojen olmayan *Fusarium*'ların toprağa ve enfeksiyon bölgesine uygulanması sonucu bu hastalığın biyolojik kontrolü sağlanmıştır (Louter ve Edgington, 1990; Benhamou vd., 1994; Komada, 1996). Benzer bir çalışma, Tezuka ve Makino (1992) tarafından da gerçekleştirilmiştir.

(Yigit vd., 2007), tarafından yapılan çalışmada, domateste *F. oxysporum* f.spp. *lycopersici*'ye karşı patojen olmayan *Fusarium* ırkının kullanılması sonucu başarılı sonuç elde edilmiş ve bitkide glukonaz, peroksidaz ve polifenoloksidaz gibi enzimlerin

aktivitesinde bir artış tespit edilmiştir.

Patojenik olmayan mikroorganizmaların da bitkilerde dayanıklılığı uyardığı ve özellikle vasküler solgunluk patojenlerinin kontrolünde patojen olmayan *Fusarium* türlerinin SAR (Systemic Acquired Resistance) mekanizmasını uyarmada oldukça başarılı olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Gordon vd., 1989; Tüzün vd., 1995; Fuchs vd., 1997).

Erzurum ve Maden (1995)'in yaptığı çalışmada, kavunda *Fusarium* solgunluğuna (*F. oxysporum* f. spp. *melonis*) karşı trifluralin ve patojen olmayan *Fusarium*'lar kullanarak dayanıklılığı teşvik edilmeye çalışılmıştır. Trifluralin'in ve *F. oxysporum*'un patojen olmayan iki izolatının dayanıklılığı yüksek oranda teşvik ederek hastalık çıkışını sırasıyla % 46.0, % 46.3 ve % 39.2 oranında azalttığını saptamışlardır.

Biyotik bir elisitör olan mikorizal fungus *Glomus mosseae* ile domates bitkilerinin inokulasyonu sonucunda, domateste *Fusarium* solgunluk hastalığının gelişiminin önemli oranda sınırlandırıldığı belirtilmiştir (Ozeretskovskaya, 1995).

*Fusarium* solgunluk hastalığının genellikle ortalama günlük sıcaklığın 23 °C'nin üzerinde, *Verticillium* solgunluk hastalığının ise 23 °C'nin altında daha yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (Hillocks, 1992).

Yücel (1989), *Fusarium* ve *Verticillium* hastalıklarının neden olduğu vasküler solgunluğun gelişebilmesi için 27-28 °C toprak sıcaklığı, düşük toprak nemi, kısa gün uzunluğu, azot ve fosforca düşük potasyumca zengin düşük pH'lı toprakların uygun olduğunu bildirmiştir.

Soğuğa tolerans konusunda 360 *Trichoderma* izolatıyla laboratuvarında yapılan bir çalışmada; 5 °C'de 14 izolatın iyi geliştiği ve bunların *T. aureoviride*, *T. harzianum* ve *T. viride* olduğu; *T. viride*'nin en yüksek oranda, *T. harzianum*'un ise en düşük oranda bulunduğu belirlenmiştir. Bu izolatların ikili kültür testlerinde 10 °C'de, bitki patojenleri *R. solani* ve *F. oxysporum* f.spp. *dianthi*'ye karşı konakçı dokuya girmeyi sağlayan

yapılar (appressoria) ürettiği ve antagonist etki gösterdiği belirtilmiştir (Antal vd., 2000).

*T. harzianum*'un ılıman iklim bölgelerinde yaygın olarak bulunurken, *T. hamatum* ve *T. koningii* farklı iklim koşullarındaki bölgelerde yayılmıştır. Sıcaklık misel gelişimini ve spor çimlenmesini etkilediği halde, nem fungal sporun çimlenmesi veya hızlı çimlenmesini sağlamaktadır (Santamarina ve Roselló, 2006).

*Trichoderma* türlerinin ekstrasellüler enzimlerinin farklı pH düzeylerinde (pH 3.0-7.0) meydana geldiği, miselin ise pH 2.0-6.0 arasında geliştiği, optimum gelişmenin pH 4.0'da olduğu bildirilmektedir (Kredics vd., 2003).

Jackson vd. (1991), yaptıkları çalışmada, üç *Trichoderma* izolatının optimum biomass üretimini pH 4.6-6.8 arasında indüklediğini belirlemiştir. *Trichoderma* türleri içinde asitli topraklarda *T. viride*'nin daha baskın görüldüğü, alkali topraklarda ise *T. hamatum*'un baskın olduğu vurgulanmıştır (Gibbs, 1967).

Aydın ve Turhan (2009), Türkiye'nin değişik bölgelerinden alınan farklı fiziksel ve kimyasal özellikteki topraklardan 264 *Trichoderma* türü izole etmişlerdir. Araştırmacılar, en fazla *Trichoderma* türünün Van Gölü çevresi ve volkanik bir dağ alanı olan Karacadağ yöresinden izole edildiğini bildirmişlerdir. *T. harzianum*, *T. virens*, *T. inhamatum*, *T. spirale* ve *T. asperellum* türleri birçok bölge toprağını kapsayacak şekilde yaygın olarak izole edilmiştir. En az ise birer tür ile *T. viride*, *T. hamatum* ve *T. tomentosum*, ikişer tür ile *T. crassum*, *T. croceum* ve üçer tür ile *T. gamsii*, *T. Atroviride* ve *T. strigosum* türleri izole edilmiştir. *T. harzianum* gibi bazı türler bütün bölge topraklarından izole edilirken, bazı türler ise sadece bazı bölgelerden izole edilmiştir.

Kullning ve arkadaşları (2000), Rusya, Nepal ve Kuzey Hindistanda beş yeni takson ve birçok yeni tür ( *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. ghanense*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. virens* ve *T. oblongisporum*) rapor etmiştir. Kubicek ve arkadaşları (2003), Güney Asya da *T. asperellum*, *T. atroviridea*, *T. ghanense*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. virens* ve *T. Oblongisporum*, *T. koningii*, *T. spirale*, *T. viride* ve *H.*



*jecorina* (anamorf: *T. reesei*) türlerini bildirmiştir.

Sadfi-Zouaoui ve arkadaşları (2009), Tunusda yaptıkları çalışmada en sık olarak *T. harzianum* izole etmişler. Bunun dışında; *T. longibrachiatum*, *T. saturnisporum*, *T. atroviride*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. velutinum*, *T. cernum*, *T. sinensis*, *T. citrinoviride* gibi türleri izole ettiğini bildirmiştir.

Nitrobenzenden türetilen organik kimyasal bir fungusit olan ve hala birçok ülkede üretilip kullanılan, Pentachloronitrobenzene (PCNB) yoğun olarak *Rhizoctonia* spp., *Sclerotium rolfii*, *S. cepivorum* gibi toprak kaynaklı fungal patojenlerin kontrolünde kullanılmaktadır, fakat, *Pythium*, *Fusarium* ve *Phytophthora* türlerine etkisizdir (Subhash ve Vyas, 1989).

Toprak kaynaklı sorunlardan en önemlilerini kök çürüklüğü etmenleri ve nematodlar oluşturmaktadır. Birçok üretici, kök çürüklüğü etmenlerine karşı pentachloronitrobenzene (PCNB) içerikli preparatlar kullanma alışkanlığı kazanmıştır. Üretici, her yıl dikimden önce mutlaka bu tip bir fungusidi uygulamaktadır. Buna rağmen kök çürüklüğü hastalıklarında bir artış görülmektedir. Toprak kaynaklı funguslarca oluşturulan bu kök ve kökboğazı hastalıkları ise üretimi etkileyen en önemli faktörlerden biri olup mücadelede başarı şansı istenilen düzeyde olmamaktadır.

Pentachloronitrobenzen'in (PCNB) domates seralarında kök çürüklüğü etmenlerinin niceliği, niteliği ve hastalığın yaygınlığı üzerine etkisini saptamak amacıyla yapılan bu çalışmada; PCNB uygulanmış ve kontrol amaçlı 10'ar adet sera seçilerek hastalıklı bitkiler sayılmış ve her bir seradan tesadüfen seçilen 6'şar adet hastalıklı bitkiden izolasyon yapılmıştır. Araştırma sonucunda *Fusarium* türleri kontrol seralara göre %20.9 daha fazla tespit edilmiştir. Toplam funguslar içindeki *Fusarium* oranları PCNB'li serada %85.05, kontrolde ise %75.67 oranında kaydedilmiştir. Ayrıca PCNB ile ilaçlanmış seralardaki hastalıklı bitkilerin %85.60'ında, kontrol seralardaki bitkilerin %66.4'ünden *Fusarium* türleri izole edilmiştir. *Rhizoctonia solani* ve *Colletotrichum coccodes* kontrole göre sırasıyla %71.43 ve %60 oranında daha az tespit edilmiştir. Yıllardır en çok kullanılan fungusitlerden biri de PCNB'dir.

Hidrokarbonlardan olan bu bileşik, kalıcı olup toprakta parçalanabilmesi için yıllar geçmesi gerekir. Bu nedenle, insan ve çevre sağlığı açısından önemli risk teşkil etmektedir. Yoğun bir şekilde kullanılmasına rağmen kök çürüklüğü hastalığının kontrolünde önemli bir değişikliğe neden olmadığı, sadece hastalık etmeninin niteliğini değiştirdiği görülmüştür (Yiğit, 2003).

Yiğit (1977), tarafından Marmara Bölgesi'nde birçok sebze ve meyvede çeşitli pestisit kalıntıları araştırılmış ve örneklerin %83'ünde DDT (Diklorodifeniltriokloreten), lindane, aldrin ve malathion kalıntılara rastlanmıştır. Analize alınan örneklerin ortalama %4,6'sında, %10-16 arasında değişen oranlarda tolerans üstü kalıntı saptanmıştır.

Muğla ili Fethiye ilçesinde sera koşullarında yetiştirilen ülkemiz için ekonomik öneme sahip domates bitki etiketlerinde önerilen dozlarda Akrobat (%9 dimetomorf + %60 mancozeb) ve Sandofan (%10 oksadiksil + %56 mancozeb) fungisitleri uygulamış ve bunların domates bitkisi üzerindeki olası anatomik ve fizyolojik etkileri incelenmiştir. Her iki fungisit uygulamasında kontrol gruplarına göre stoma indeksi, yaprak ile gövde enine kesit tabaka kalınlıkları ve meyvedeki içsel hormonlardan indol-3-asetik asit (IAA) ile absisik asit (ABA) miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, uygulama gruplarında anormal stomalara rastlanmış, yaprak enine kesitlerde palizat ile sünger parankimasi hücrelerindeki deformasyonları açıkça gözlenmiştir (Tort vd., 2004).

Bu çalışmada; Rize'nin Pazar ilçesi Kirazlık mahallesinde (Enlem 41,1784, boylam 40,9081) bulunan bir sebze bahçesinde (domates, biber ve patlıcan) gözlenen solgunluk ve kök çürüklüğü hastalığının fungal etkenlerinin ve biyolojik mücadelesinde kullanılacak potansiyel *Trichoderma* spp. suşlarının izolasyonu, identifikasyonu ve karakterizasyonu hedeflenmiştir. Biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılma potansiyeli olan birçok fungal antagonistlerden bu çalışma ile izole edilen ve *in vitro* testlerde etkili bulunan izolatların, toprak ve tohum kökenli patojen mantarlara karşı kullanılabilme potansiyellerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların yapılması planlanmıştır. Bu çalışmayla, belirtilen hastalıklara karşı kullanılacak yerel, potansiyel bir biyokontrol ajan (*Trichoderma* spp.) veya ajanların belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan tüm cihazlar Tablo 7’de ve kimyasal sarf maddeler Tablo 8’de verilmiştir.

**Tablo 7.** Çalışmada kullanılan cihazlar.

Cihaz adı	Model	Firma
Soğutmalı Santrifüj	2-16PK	SIGMA
pH metre	Orion 420A	Thermo
Çalkalayıcı	3005	GFL
Thermoblok	MS-100	NOSHENG
İnkübatör	Model 600	MEMMERT
İnkübatör		BİNDER
Jel Görüntüleme Sistemi	Digi-Doc It	UVP
İklimlendirme Kabini	WGC-P4	DAIHAN
Bidistile Su Cihazı	2108	GFL
Güvenlik kabineti	MN-20	NÜVE
Işık mikroskobi	E100	NİKON
Güç kaynağı	OSP-500	OWL
Koloni mikroskobu		
Pastör fırını	FN-500	NÜVE
Otoklav	OT-40L	NÜVE
Hassas Terazı	PL-214	DENVER
Vorteks	REAX TOP	HEİDOLPH
Araştırma Mikroskobu		OLYMPUS
Faz Kontrast Mikroskobu		OLYMPUS
Stereo Mikroskob		OLYMPUS

Çalışmada kullanılan Nucleospin Plant kit (50 preps) (Clontech), DNA polimeraz enzimi, sıvı azot ve dNTP kimyasal sarf malzemeleri ticari olarak Sigma'dan temin edilmiştir. Cam ve plastik malzemeler çeşitli ticari firmalardan temin edilmiştir.

**Tablo 8.** Çalışmada kullanılan kimyasal sarf maddeler.

Kimyasal adı	Firma	Katalog no
Agar	FLUKA	05039
PDA	MERCK	1.10130
Maya Eksratı	MERCK	1.03753
Pepton	FLUKA	68971
Corn Meal	SIGMA	C6304
Malt Eksrat Agar	MERCK	1.05398
Mg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	SIGMA	M7506
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	MERCK	8.22286
NaCl	MERCK	1.06404
Sodyum asetat	KİMETSAN	KIM-SAT/01CP
Asetik asit	SIGMA	27225
NaOH	MERCK	1.06494
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	MERCK	1.12040
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	MERCK	1.05101
Glukoz	MERCK	1.08342
DRBC	MERCK	1.00466
HCl	FLUKA	84434
Gliserol	MERCK	1.04092
Bromocresol	MERCK	1.03025
Karboksi Metil Seluloz	SIGMA	C1909
Amonyum sülfat	SIGMA	11225
Tween 20	MERCK	S6386784
Etanol	Merko Kimya	-----

### 2.1.2. Çalışmada Kullanılan Suşlar

Çalışmada kullanılan mikrofunguslar, Rize ili Pazar-Merkez ilçesinde bahçe topraklarından izole edilen (*Trichoderma* spp. ve *Fusarium* spp.) suşlarıdır (Tablo 10).

Kontrol suş olarak kullanılan; *T. harzianum* KUEN 1585 ticari olarak, *Rhizoctonia solani* (AG4 den ZB30, ZB34, B227 ve AG5 den B1, ZB15 ve ZB18 ) izolatları Karadeniz Teknik Üniversitesi (Demirci, E.), *Botrytis cinerea* Ankara Üniversitesi'nden (Karakaya, A.), *Sclerotinia sclerotiorum* Gazi Osmanpaşa (Yanar, Y.) Üniversitesi'nden, temin edildi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *Trichoderma harzianum* (ID11D, ID11C), *Trichoderma asperellum* (ID20G) suşları kullanıldı.

### 2.1.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

#### 2.1.3.1. Malt Ekstrakt Sıvı Besiyeri (ME)

Malt Ekstrakt	6,0 g
Maltoz	1,8 g
Glukoz	6,0 g
Maya Ekstrakt	1,2 g
ddH <sub>2</sub> O	1.000 mL, pH: 4.7 ± 0.2

Besiyeri, ticari olarak temin edilen maddelerden yukarıda verilen oranlarda karıştırılarak hazırlandı. Genel fungus üretim besiyeri ve DNA izolasyonu için kullanıldı. Bu besi yeri 250 ml miktarında şişelere dağıtıldı ve 121 °C'de 1.1 atmosfer basıncında 20 dakika otoklavlandı, +4 °C'de bekletildi.

#### 2.1.3.2. Potato Dekstroz Agar (PDA)

Ticari firmanın önerisi doğrultusunda litrede 39 gram tartılarak otoklavda 121 °C'de 20 dakika steril edildikten sonra steril petrilere tevzi edildi. Kullanılan süreye

kadar +4 °C’de bekletildi. Genel üretim besiyeri olarak kullanıldı.

Patates infüzyonu	4 g
Glukoz	20 g
Agar	15 g
ddH <sub>2</sub> O	1000 mL, pH: 5.6± 0.2

#### **2.1.3.3. Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBCA)**

Ticari firmanın önerisi doğrultusunda litrede 31,6 gram tartılarak otoklavda 121 °C’de 20 dakika steril edildikten sonra steril petrilere tevzi edildi. Kullanılincaya kadar +4 °C’de bekletildi. Spor canlılığı ve spor sayımı için kullanıldı.

#### **2.1.3.4. Yeast Peptone Dekstrose Sıvı Besiyeri (YPD)**

Ticari firmanın önerisi doğrultusunda litrede 50 gram tartılarak otoklavda 121 °C’de 20 dakika steril edildi. Fungal toprak inokülüm preparatı hazırlamada kullanıldı.

Yeast extract	10 g
Glukoz	20 g
Peptone	20 g
ddH <sub>2</sub> O	1000 mL, pH: 6.0- 7.0

#### **2.1.3.5. Su Agar Besiyeri**

1 litre distile suya 15 gram olacak şekilde otoklavda 121 °C’de 20 dakika steril edildikten sonra steril petrilere eklendi. Fungusların hifa ve misel yapılarının belirlenmesi ve ön patojenite testinde domates tohumlarının çimlendirilmesi için kullanıldı.

## **2.2. YÖNTEM**

### **2.2.1. Toprakta Örneklerin Alınması**

Toprak örnekleri, Rize ilinin Pazar ilçesinin Kirazlık mahallesi mevkisinden 2014-2015 yıllarında Ağustos ve Ekim aylarında bahçe toprağından alındı. Örnek alım işlemi steril malzemelerle bahçenin dört farklı noktasından toprağın 20 cm derinliğinden alınarak steril falcon tüplere konuldu. Laboratuvara getirilen örnekler işlem yapıncaya kadar derin dondurucuda (-20 C°) bekletildi.

### **2.2.2. Toprakta Bitki Kısımlarının Örneklerinin Alınması**

Bitki kısımlarının örnekleri Rize ilinin Pazar ilçesinin Kirazlık mahallesi mevkisinden 2014-2015 yıllarında, Eylül ve Ekim aylarında bahçedeki hastalık şüphesi olan bitkiler steril polietilen poşetler içerisine konularak laboratuvara örneklem almak için getirildi. Laboratuvara getirilen örnekler işlem yapıncaya kadar derin dondurucuda (-20 C°) bekletildi.



**Şekil 2.** Araziden alınan hastalıklı domates bitkisi kök ve meyve resimleri.

### **Toprak Örneklerinin Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi**

Örnek olarak alınan toprak kırmızı sarı podzolik toprak olup, toprak ısısı örnek alımı esnasında termometre ile 25 cm derinlikten ölçülmüş ve 22-23 °C olarak kaydedilmiştir. pH tayini, elektrometrik yöntem kullanılarak 1:25 toprak su oranında Orion 420-A model pH metre ile analizler yapılmıştır (Sağlam, 1978). Nem oranını hesaplamak için örneklerden 10'ar gram alınıp 105 °C'de 24 saat tutulmuş ve tekrar tartılmıştır. Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$\text{Nem Oranı (\%)} = \frac{(\text{Yaş Ağırlık} - \text{Kuru Ağırlık})}{\text{Kuru Ağırlık}} \times 100$$

### **2.2.3. Topraktan Mikrofungus İzolasyonu**

Topraktan mikrofungusların izole edilmesinde, toprak mikrobiyolojisine



bakteriyolojiden adapte edilen “Toprağı Sulandırma Metodu” kullanılmıştır. Metodun uygulanışı aşağıda açıklandığı şekildedir. Araştırmamızda 1 gr fırın kurusu toprakta bulunan mikrofungusların kalitatif ve kantitatif analizleri dikkate alındığından, toprak örneklerinden alınan belirli kısımların nem miktarları tespit edilerek, 10 gr fırın kurusu toprağa karşılık gelecek nemli toprağın kaç gr olduğu bulunmuştur (Öner, 1973). Bunun için toprak örneklerinin her birinden 10 gr toprak alınarak, Pastör fırınında 105°C 'de 24 saat tutulup, tartılıp kaybettikleri su miktarı tespit edilmiştir. Sonra bu ağırlık kaybının 10 gr fırın kurusu toprağa karşılık miktarı oranlama ile bulunmuştur. Bu şekilde bütün örnekler için 10 gr fırın kurusu toprağa karşılık gelecek nemli toprak miktarları hesaplanarak, bu miktardaki topraklar 100 ml'lik steril dereceli kaplar içerisine konulmuş, üzerlerine 100 ml'ye tamamlanacak şekilde steril damıtık su ilave edilmiştir. Bu şekilde 1/10'luk süspansiyon hazırlanmıştır. Elde edilen 1/10'luk süspansiyon, çalkalayıcıda 30 dakika süre ile çalkalanmıştır (Hasenekoğlu, 1980).

Elde edilen 1/10'luk süspansiyondan steril bir dereceli kap içerisinde sırasıyla 1/100, 1/1000, 1/10.000'lik dilüsyonlar hazırlandı. Dilüsyonların hazırlanmasında kontaminasyonun önlenmesi için gerekli titizlik gösterildi. Süspansiyon haline getirdiğimiz toprak örneklerinden mikrofungus izolasyonu için Patates Dekstroz Agar (PDA) ve Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBCA) besi yeri kullanıldı. Steril bir pipetle 1/10.000'lik dilüsyonlardan her bir petriye 1 ml olacak şekilde ekim yapıldı. Her bir toprak örneğinden 2 farklı dilüsyondan ekim yapıldı ve ekimi tamamlanan petri kapları 28°C 'de 7-10 gün inkübasyona bırakıldı.

#### **2.2.4. Bitki Kısımlarından Mikrofungus İzolasyonu**

Domates bitki örneklerinin kök, gövde ve meyve kısımlarından alınan numuneler her biri 10 gram olacak şekilde tartıldı. Örnekler % 10'luk çamaşır suyunda 3 dakika bekletildikten sonra 3 kez steril distile su ile yıkandı. Daha sonra örnekler % 70'lik alkol içinde 3 dakika bekletildikten sonra steril distile su ile 3 kez yıkandı. Bu işlemlere tabi tutulan örnekler, 90 mililitrelik steril su içerisinde blenderdan geçirilerek parçalandı. Sıvı hale gelen örnekler önceden hazırlanan DRBC ve PDA, besiyerlerine yayma ekimi şeklinde ekimleri yapıldı. DRBC ve PDA besiyerleri ise 28 °C' de 7-10

gün inkübe edildiler. DRBC ve PDA besiyerlerinde üreyip farklı koloni morfolojileri gösteren küf örnekleri makroskopik ve koloni mikroskobunda incelendikten sonra saf kültür için pasajları yapıldı.

### 2.2.5. Tek Koloni İzolasyonu ve Tür Teşhisi

Tek koloni izolasyonu ve tür teşhisi için 28 °C 'de 7-10 günlük inkübasyon periyodu sonunda petri kaplarında (PDA ve DRBC) gelişen kolonileri incelenmiştir. Farklı koloniler tespit edilerek saf kültür elde etmek üzere PDA besiyerine tek nokta ekimi yapıldı. PDA'da 7 gün sonunda gelişen mikrofungusların mikroskobileri yapıldı ve pamuk mavisi boyasıyla boyanarak lam üzerinde izole bant tekniği ile mikroskopta incelendi (Buttler ve Mann, 1959). Mikrosopta *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* ve *Apsidia* gibi atmosferik fungusların varlığı belirlenip kaydedildi ancak dikkate alınmayıp saklanmadı. Petri kaplarında gelişen izole *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait mikrofungusların tür seviyesindeki teşhisleri Smith (1971)'in takip ettiği yol esas alınarak yapılmıştır.

Toprak kökenli olduğu düşünülen diğer fungusların ileri tetkik için saf pasajları yapıldı ve derin dondurucuda (-20 ve -80 °C de) % 20 - % 50 gliserol içerisinde saklandı. Günlük çalışma için vida kapaklı tüplerde yatık PDA besiyerine pasajları yapılarak kültür edildi ve oda sıcaklığında bekletildi. Mikrofungusların geçici olarak incelenmesinde Buttler ve Mann (1959)'ın selofan bant metodu uygulanmış ve başarı sağlanmıştır. Bu işlem için, yapışkan bir selüloz banttan koparılan uygun büyüklükteki parçalar, incelenmek istenen koloninin genç bölgeleri üzerine hafifçe bastırılmış, daha sonra lam üzerindeki preparat vasatına yapışkan taraf altta kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Bant iyice gerilerek iki tarafı lama yapıştırılıp, mikroskopta incelenecek hale getirilmiştir. Mikrofungusların preparatı hazırlanarak incelenmeleri yapıldığı gibi, çok önemli olan bazı özelliklerin tespiti için, petriler doğrudan mikroskop altına konulması suretiyle küçük objektifler kullanılarak da incelenmiştir. Örneklerin tür ve cins seviyesindeki teşhislerinde Hasenekoğlu (1991), Seung-Hun Yu ve Gun-Sik Seo (2002), Rifai (1969), Arx (1987), Barnett ve Hunter (1972), Smith (1971), Gerlach ve Nirenberg (1982), Ellis ve Ellis (1985), Davis ve Raid (2002), Kubicek ve Harman,

(2002) kaynak olarak kullanılmıştır. Mikrofungusların sistematığının yapılmasında Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi (9th Edition) kullanılmıştır (URL-4).

#### **2.2.6. *Trichoderma* ve *Fusarium* Mikrofunguslarının DNA İzolasyonu ve PCR Analizi**

Tek koloni düşürme yöntemiyle elde edilen saf kültürler DNA izolasyonu yapmak için Malt Ekstrakt sıvı besi yerine (MEB) 1 ml ( $1 \times 10^6$  kob/ml) spor solüsyonu inoküle edildi. Sıvı besiyerinde 7-10 gün 28 °C de 150 rpm'de çalkalamalı inkübatörde inkübe edildi. Daha sonra miseller besi yerinden steril tülbent vasıtasıyla süzülerek ayrıldı. Elde edilen miseller steril bir havan içerisine konularak üzerine sıvı azot eklendi ve ezme işlemi 3 kez tekrarlandı. İşlem sonucunda toz haline getirilen misellerin bir kısmı -20 C° ve -80 C° de tekrardan kullanılmak üzere saklamaya alındı. (Chen vd., 1999). Bir kısımdan da Nucleospin Plant kiti (50 preps) (Clontech) (ALMANYA), kullanılarak üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

*Trichoderma* spp. suşlarından izole edilen DNA'ların ITS1-5.8S-ITS2 intragenik gen bölgelerinin sekans analizleri için PCR karışımı hazırlandı (Tablo 9). Oligoprimlerin baz dizileri QT4: 5'- TCC TCC GC TTA TTGA TAT GC – 3' ve QT5: 5'-GGAA GTAAAA GTCGTAA CAAGG GG – 3'şeklinde olup ticari olarak temin edildi.

*Trichoderma* spp. suşlarından izole edilen DNA'lardan 1 µl'si 49 µl PCR karışımına ilave edilerek Tablo 9'de verilen PCR şartlarında çoğaltıldı. PCR ürünü kontrollerle birlikte %1'lik agaroz jelde, 100 baz çiftlik moleküler ağırlık (Vivantis) markırı kullanılarak 60 voltta jel elektroforezinde yürütüldü. UV transiluminatör ve jel görüntüleme sistemi kullanılarak fotoğraflandı.

**Tablo 9.** ITS1-5.8-ITS2 gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan PCR karışımı

PCR karışımı	1X ( $\mu$ L)	10x ( $\mu$ L)
10X PCR Buffer	5	50
25 mM MgCl <sub>2</sub>	3	30
2.5 mM dNTP mix	4	40
P1 10 pmol/ $\mu$ L	1	10
P2 10 pmol/ $\mu$ L	1	10
DNA polimeraz	0.4	4
DNA	1	10
ddH <sub>2</sub> O	34.6	346
Toplam	50	500

### 2.2.7. *Trichoderma* ve *Fusarium* Mikrofunguslarının Sekans Analizi

*Trichoderma* spp. ve *Fusarium* spp. suşlarından elde edilen ITS1-5.8-ITS2 gen bölgelerini içeren PCR ürünleri ticari olarak sekans edildi. Elde edilen bütün ITS1-5.8-ITS2 gen bölgesi verileri BioEdit (Hall, 1999, version 7.09) programı ile düzenlendi ve NCBI GenBank'ta Blast analizi programı kullanılarak, GenBank'ta yer alan diğer ITS1-5.8-ITS2 gen dizileri ile yüzde benzerlikleri belirlendi (Tablo 19 ve Tablo 21).

Genbanktan elde edilen veriler, izolatların morfolojik tanımlamalarının doğrulanması için kullanıldı. ITS1-5.8-ITS2 gen dizileri Cluster analizi, aynı şekilde BioEdit programını kullanarak ClustalW programı ile yapıldı ve buradan elde edilen veriler MEGA (Tamura vd., 2011, version 5) filogenetik analiz programı yardımıyla Neighbor-joining (NJ) analizinde kullanıldı. Hizalama boşlukları kayıp veri olarak değerlendirildi. Oluşturulan dendrogramların güvenilirliği, MEGA 5.0 programı kullanarak seç-bağla (bootstrap) analizi ile 1.000 tekrarlı olacak şekilde test edildi.

### 2.2.8. *Trichoderma* ve *Fusarium*'ların Morfolojik ve Kültürel Tanımlanması

*Fusarium* türlerinin tanımlanmasında en önemli ölçüt morfolojik özelliklerdir. *Fusarium* türü funguslar tek veya çok dallı fiyalitler üzerinde yapışkan spor, enterblastik spor, ya da bir dinlenme formu olan klamidosporeler üretirler. Konidiler bölmesiz ya da

bir bölmeli, pyriform, fusoid-oval düz ya da kavisli mikrokonidi ve 0-10 veya daha fazla bölmeli makro konidi şeklinde olabilmektedir (Booth, 1971; Burgess vd., 1994). *Fusarium*'lar sporodokyum üzerinde ürettikleri şeffaf, bölmeli, orak ya da kano şeklinde makro konidi üretimi ve bazı türlerde ise havai miselyumda mikro konidi üretimi ile karakterize edilir. *Fusarium* türlerinin tanımlanmasında makrokonidilerin ve mikrokonidilerin oluşum biçimi, şekli, klamidosporeların varlığı veya yokluğu, PDA (Potato Dextrose Agar) üzerindeki koloni morfolojisi ile gelişme oranı (koloni çapı, rengi vb.) gibi özellikleri esas alınmaktadır (Burgess vd., 1994; Devika Rani, 2008). Çalışmamızda da bu özellikler incelendi.

PDA besi yerinde 28 °C'de 7-15 gün kültür edildi. Petrinin alt ve üst tarafının koloni rengi misel gelişim şekli, radyal büyüme, spor oluşumu, makrokonidia, mikrokonidia ve kalmidiasporların büyüklüğü gözlemlendi. Buna göre yukarıdaki morfolojik özelliklere dayanılarak fusariumların morfolojik olarak tanımlanması yapıldı (Burgess vd., 1994; Devika Rani, 2008; Naik, 2006).

Yaygın olarak *Trichoderma* türlerinin tanımlanması için iki teknik; petri kaplarında görsel gözlem ve slayt kültüründe mikro-morfolojik yapıların şekli kabul edilmektedir. Görsel gözlem için, izolatlar 7-15 gün boyunca PDA besiyeri üzerinde büyütüldü. Her izolat için misel büyümesi, rengi, kokusu ve orta renkteki değişiklikler her gün incelendi. Mikromorfolojik çalışmalar için slayt kültür tekniği kullanıldı (Leahy vd., 1990). Konidiyoforların veya fialidlerin şekil, boyut, düzenleme ve gelişiminin incelenmesi, *Trichoderma* spp'nin geleneksel yöntem ile tanımını sağladı. Numuneler, *Trichoderma* cinsi için bir taksonomik anahtarla karşılaştırılmıştır (Rifai, 1969). Bu çalışmalar sonucunda cins düzeyinde tanımlanan *Trichoderma* spp. ve *Fusarium* spp. suşları Tablo 10' da verilmiştir.

**Tablo 10.** Çalışmada kullanılan *Trichoderma* spp. ve *Fusarium* spp. suşları.

Suş no	Cins adı	Suş no	Cins adı
Yp 1a	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 1c	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 2a	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 3f	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 2c	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 3g	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 2d	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 4c	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 2e	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 4e	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 3a	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 7b	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 3b	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 9b	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 4a	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 13a	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 7a	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 13b	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 9c	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 14c	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 11	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 18b	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 16a	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 19	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 16c	<i>Trichoderma</i> spp.	Yp 22a	<i>Fusarium</i> spp.
Yp 17a	<i>Trichoderma</i> spp.		
Yp 17b	<i>Trichoderma</i> spp.		
Yp 18c	<i>Trichoderma</i> spp.		
Yp 18d	<i>Trichoderma</i> spp.		
Yp 18e	<i>Trichoderma</i> spp.		
Yp 20a	<i>Trichoderma</i> spp.		
Yp 23e	<i>Trichoderma</i> spp.		
Yp 24b	<i>Trichoderma</i> spp.		
Yp 25c	<i>Trichoderma</i> spp.		
ATCC 1585	<i>Trichoderma</i> spp.		

### 2.2.9. *Trichoderma* spp. Suşlarında Dual Teknikle Patojen İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi

Dual teknik *Trichoderma* spp. ile *Fusarium* spp. ve kontrol olarak *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* suşlarının birbirlerine olan etkinliklerinin saptanabilmesi amacıyla yapıldı. Steril koşullarda hazırlanan PDA besiyerlerinde, aralarında 4 cm uzaklık bulunan iki köşeye karşılıklı olarak, 5 mm çapında. karşılıklı 2 tane kuyucuk açıldı. Açılan karşılıklı kuyucuklardan birine 4 günlük *Trichoderma*

kültürü, diğer kuyucuğa ise 4 günlük olan *Fusarium* izolatu kültürlerinin 5 mm çaplı kültür diskleri yerleştirildi. Kültürler 28 °C'de inkübasyona bırakıldı (Şekil 10 ve Şekil 11). Kültürler günlük takip edildi ancak 4. ve 10. günlerde, antagonist (*Trichoderma* spp.) ve *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea* ve *Sclerotinia sclerotiorum* büyüme zon çapları ölçülerek değerleri kaydedildi. Ayrıca fotoğrafları çekildi. Aşağıda verilen formüle göre inhibisyon yüzdesi hesaplandı (Royse ve Ries, 1978).

$$\%PIRG = (RI) = \frac{(R1 - R2) \times (100)}{(R1)}$$

RI; Engelleme oranı

R1; Patojenin büyüme yarıçapı

R2; Patojenin antagonist yönündeki büyüme yarıçapı

#### **2.2.10. Su Agar da Domates Çimlenme Deneyi / Petri Kaplarında Ön Patojenite Testi**

Patojenite testi için farklı araştırmacıların (Muyolo vd., 1993; Sneh ve Ichievlevich- Auster, 1998) uyguladıkları yöntem modifiye edilerek kullanıldı. Deney için önceden *Trichoderma* ve *Fusarium* izolatları, PDA agarda 7 günlük kültürleri hazırlandı.

Distile su ile % 1.5'lik agar hazırlandı ve 121 °C'de 1,1 atmosfer basıncında 15 dakika otoklav edildi. Steril şartlarda 90 mL' lik petri kaplarına dağıtıldı. Çalışmada kullanılacak olan domates tohumları (Ankara avşa cinsi domates tohumları) % 50'lik NaOCl'de 3 dakika yüzeysel dezenfeksiyonu yapıldı. Bir kaç kez (koku gidene kadar) steril distile su ile yıkandı. Daha sonra % 70'lik etil alkolde 2 dakika bekletildi ve tekrar steril distile su ile birkaç kez (koku gidene kadar) yıkandı. Sterilizasyonu tamamlanan domates tohumları oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra her bir petride 10'ar adet olacak şekilde petri merkezinden 3 cm uzaklıkta dairesel olarak su agar plaklarına yerleştirilip 25 °C'de 24 saat ön çimlenme için etüvde bekletildi. Ön çimlenmeden sonra petrilere 7 günlük kültürü yapılmış olan *Trichoderma* ve *Fusarium* funguslarının her birinden 10 mm çaplı diskler alınarak su agar petrilерinin ortasına ekimi yapıldı.

*Fusarium* spp. yavaş ürediği için tohumlarla birlikte, *Trichoderma* spp. ise hızlı üredikleri için çimlenmenin 2. gününden sonra petrinin ortasına yerleştirildiler. Petriler, 25 °C’de 12 saat fotoperiyotta, ışık altında, 6-12 gün boyunca inkübe edildi. Domates tohumlarından gelişme/filizlenme parametreleri gözlemlendi ve fotoğraflandı. Kontrole göre elde edilen sonuçlar ANOVA (Duncan  $p \leq 0.05$ ) istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve gruplar arasındaki fark saptanmıştır. Filizlerin gelişim parametreleri;

- a. Kök ve gövde uzunlukları cetvel yardımıyla ölçüldü,
- b. Saçaklanma sayısı belirlendi,
- c. Hastalık şiddeti tanımsal skala kullanılarak belirlendi . (Tablo 11)
- d. Tartım yapılarak yaş ağırlığı belirlendi
- e. 3 gün 60 °C’ de bekletilerek kuru ağırlıkları belirlendi.

**Tablo 11.** Çimlenen tohumlarda hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan tanımsal skala

Hastalık derecesi	Tanımı
0	Sağlıklı (hipokotilde hiç lezyon yok)
1	Hipokotillerinde, çok az açık- koyu kahverenginin belirginleşmesi ve yüzeysel çürüme odaklarının gözlenmesi
2	Hipokotillerinde, saçak / kazık kökte bolca bozulma ve çürümenin oluşması
3	Hipokotillerinde, yaygın kök çürüklüğü
4	Ölü fidanlar

Çimlenme başarısı (yüzdesi) ve Vigour indeksi aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır (John Christopher vd., 2010).

$$\text{Vigour İndeksi} = (\text{Sürgün Uzunluğu} + \text{Kök Uzunluğu}) \times \text{Çimlenme Yüzdesi}$$

$$\text{Çimlenme Yüzdesi} = \frac{\text{Çimlenen Tohum Sayısı}}{\text{Toplam Ekilen Tohum Sayısı}} \times 100$$

### 2.2.11. *Fusarium* Toprak İnokulum Preparatı (FTIP) Hazırlanışı

Bu deney için John vd. (2010) ve Abd-El-Aziz vd. (2013)'in kullandığı



yöntemler modifiye edilerek kültür vasatı hazırlandı.

Patojenite testine göre en patojen olarak seçilen bir adet *Fusarium* spp. (Yp13b) suşu bu deney için materyal olarak kullanılmıştır. Öncelikle 50 gr kum + 50 gr nohut taneleri tartılarak 250 ml'lik erlen mayere yerleştirildi ve 100 ml su ilave edilerek otoklovda steril edildi. Daha sonra PDA besiyerinde yaklaşık 7 günlük *Fusarium* kültürlerinden, 1cm çaplı 4 funguslu agar diski mantar deliğiyle alınarak, steril koşullarda erlene eklendi. Kültürü hızlandırmak için üzerine 50 ml Yeast Peptone Dextrose (YPD) sıvı besiyeri ilave edildi. Miselin tohumları tam sardığı güne kadar (Yaklaşık 20-25 gün) 25 °C de inkübasyona bırakıldı. Kültürün homejenizasyonu için her gün bir iki kez karıştırıldı.

### **2.2.12. Domates Tohumlarına *Trichoderma* Spor Süspansiyonunun Uygulanması ve Saksı Deneyi**

Bu çalışmada materyal olarak çimlenme başarısı yüksek, antagonist testinde de etkili olan *Trichoderma* spp. (Yp1a, Yp4a, Yp24b) suşları kullanılmıştır. *Trichoderma* spp. suşları, PDA besi yerinde 28 °C'de 7-10 gün inkübasyon yapılarak bol sporlanması sağlandı. Kültürlerinden sporları steril distile su ile yıkanarak steril erlen içerisine alındı ve dilüsyon yardımıyla  $4,4 \times 10^7$  -  $4,8 \times 10^7$  cfu/mL yoğunlukta spor süspansiyonu hazırlandı. Spor sayımı için Neubaver lamı kullanıldı (Goettel ve Inglis, 1997). Sporların tohuma yapışması için spor solüsyonu ve % 2'lik CMC (Karboksi Metil Selüloz) 1:1 oranında karıştırıldı. Steril erlen içerisinde bulunan, sterilizasyonu tamamlanmış tohumlara toplam 20 ml ilave edilip yaklaşık 30 dakika yatay çalkalayıcıda sporların tohumları kaplaması için beklendi (Mihuta-Grimm ve Rowe, 1986). İstisna olarak spor oluşturmeyen bir suşda (Yp-1a) spor solüsyonu hazırlanamadı. Bunun yerine besiyerinden alınan 1cm çaplı 5 adet diskler kullanıldı.

Saksı deneyi için 1500 ml'lik saksılar altlıkları ile birlikte çamaşır suyundan geçirilerek dezenfekte edildi. Önceden ticari olarak temin edilen torf toprağı (Dr. Green - Dr4) kullanıldı. Toprağın başlıca özellikleri pH 5.5-6.5, karbon oranı (C); % 48, azot içeriğı 20.2 mg/l, fosfat içeriğı (PO<sub>4</sub>); 1.9 mg/L, azot içeriğı (NO<sub>3</sub>); 4.8 mg/l, amonyum içeriğı (NH<sub>4</sub>); 2.7 mg/L değerlerindedir. Uygulama için toprak, 121 °C'de 1.1 atmosfer

basıncında birbirini takip eden iki ayrı gün 1'er saat otoklavlanarak steril edildi. Aynı şartlarda steril edilen pellet ile steril şartlarda 3:1 (1000 ml toprak 500 ml pellet) oranında karıştırılarak steril saksılara saksı boyutunun 3/2'sini geçecek şekilde dolduruldu (Ekmekçi ve Terzioğlu, 1998). Deney düzeneğinde 8 farklı grupta 3'er tekrardan oluşan toplam 24 saksı hazırlandı (Tablo 12 ve Şekil 17).

**Tablo 12.** Saksı deneyi düzeneği

No	Grup	Saksı deney düzeneği (3 Tekerrürlü)
1	Negatif Kontrol	Steril edilmiş 10 adet domates tohumu
2	Yp13 b Kontrol	16 adet FTIP kaplanmış nohut tohumu + 10 adet steril domates tohumu
3	Yp1a Kontrol	Yp1a spor solüsyonu ile kaplanmış 10 adet domates tohumu
4	Yp4a Kontrol	Yp4a spor solüsyonu ile kaplanmış 10 adet domates tohumu
5	Yp24b Kontrol	Yp24b spor solüsyonu ile kaplanmış 10 adet domates tohumu
6	Yp1a-Yp13b Test	16 adet FTIP kaplanmış nohut tohumu + Yp1a spor solüsyonu ile kaplanmış 10 adet domates tohumu
7	Yp4a-Yp13b Test	16 adet FTIP kaplanmış nohut tohumu + Yp4a spor solüsyonu ile kaplanmış 10 adet domates tohumu
8	Yp24b- Yp13 Test	16 adet FTIP kaplanmış nohut tohumu + Yp24b spor solüsyonu ile kaplanmış 10 adet domates tohumu

Negatif kontrol ve *Trichoderma* kontrollerinde *Fusarium* olmadığından domates tohumları saksıya yerleştirildikten sonra üzerine 1 cm kalınlığında toprakla kaplandı ve can suyu olarak 200 ml steril musluk suyu verildi. *Fusarium* (Yp13b) kontrol grubunda ise saksıya öncelikle yaklaşık her santimetre kareye bir adet gelecek şekilde 16 adet FTIP kaplanmış nohut tohumu yerleştirildi. Daha sonra üzerine 1 cm steril edilmiş toprakla kaplandı ve tekrar üzerine steril edilmiş 10 adet domates tohumu konularak üzeri yaklaşık 1-2 cm kalınlığında toprakla örtüldü. Deney gruplarında ise patojen olarak *Fusarium* (Yp13b) ile biyokontrol ajanı olarak 3 farklı *Trichoderma* suşu

kullanıldı. Pelet-toprak (3:1) karışımı doldurulmuş (3/2'sini geçecek şekilde) saksıların her birine 16 adet FTIP kaplanmış nohut tohumu yerleştirildi ve üzeri 1 cm kalınlığında toprak ile kaplandı. Daha sonra her bir grup için kullanılan *Trichoderma* sporları ile kaplanmış 10 ar adet domates tohumları yerleştirilerek üzeri 1-2 cm kalınlığında toprak ile kapatılıp can suyu olarak 200 ml steril musluk suyu verildi.

Saksıların tümü iklimlendirme kabini (WGC-P4, DAIHAN) 26 °C'de 16 saat ışık 8 saat karanlık ve  $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  ışık yoğunluğunda 5 hafta inkübe edildi. Tüm saksılar 2 gün arayla 200 ml steril musluk suyu ile sulandı. 15 gün sonunda çimlenen filizlerin daha sağlıklı gelişebilmesi için çimlenenler arasından güçlü olan iki fide bırakıldı ve bundan sonraki süreç her saksıda iki fide olacak şekilde dizayn edildi. Bu aşamadan sonraki 3 hafta sonunda deney sonlandırıldı. Saksılardaki bitkiler değerlendirme için sökülerek, musluk suyunda kökleri yıkandı. Gövde çapı kumpas yardımıyla ölçüldü. Ana kök uzunluğu ve gövde uzunluğu cetvel yardımıyla ölçüldü. Saçak sayısı, yaprak sayısı ve patojen uygulanan fidelerde kökte lezyon sayısı sayıldı. Saçaklanma bölgesinin üzerinden kök ve gövde birbirinden makas yardımıyla ayrılarak yaş ağırlıkları hassas terazide ölçüldü. Her bir kısım makas yardımıyla parçalanarak cam petrilere konuldu ve 60 °C'de 2 gün bekletildikten sonra kuru ağırlıkları hassas terazi ile ölçülerek kaydedildi. Patojen (YP13b) uygulanan fidelerde hastalık şiddeti (Tablo 13) ile ilgili değerler ortaya konmasında; Tawsend-Heuberger formülü uygulandı (Muyolo vd., 1993). Bitki gelişim parametrelerine göre elde edilen sonuçlar ANOVA (Duncan  $p \leq 0.05$ ) istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve gruplar arasındaki fark saptanmıştır.

**Tablo 13.** Fidelerde yüzde hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan tanımsal skala

Hastalık derecesi	Tanımı
0	Sağlıklı bir fide, beyaz kökler, semptom yok
1	Hafif enfekteli fideler, normal fide gelişimi, gövde damarlarında hafif renk bozulmaları
2	Köklerde % 50 enfeksiyon, gelişmede hafif derecede gecikme, kotiledonlarda hafif sarılaşma
3	Köklerde şiddetli enfeksiyon, gövdede şekil bozukluğu, kotiledonlarda orta ya da şiddetli sararma, solma
4	Ölü bitkiler

Yüzde hastalık şiddeti skala değeri Huh ve Om (2002) ve Ay (2008)'e göre modifiye edilen 0-4 skala değerleri (Tablo 13) kullanılarak su agarı şartlarında % hastalık oranı Townsend-Heuberger (Tinline vd, 1975) formülüne göre elde edilmiştir.

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

n : Skalada farklı hastalık derecelerine isabet eden örnek adedi

V : Skala değeri

Z : En yüksek skala değeri

N : Gözlemi yapılan toplam örnek adedi

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Örneklerden Mikrofungus İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji ve Moleküler Biyoloji laboratuvarında 2014-2017 yılları arasında yapılmıştır. Pazar merkez (Rize) sahil kesiminde bahçe toprağından (100 m<sup>2</sup>'lik alandan) alınan 12 toprak ve 13 adet devrilme (kök çürüklüğü ve solgunluk hastalığı) hastalığına maruz kalmış domates ile biber (gövde, yaprak, kök ve meyve) örnekleri çalışmanın materyalini oluşturdu (Tablo 14). Çalışmada örnekleme hastalığın görüldüğü dönem ve hasat sonu dönem olmak üzere yıl içinde iki kez yapıldı. Örnekler toprak ve hastalıklı bitkilerden (kök, gövde ve meyve) alınarak laboratuvara getirilip çalışılacağı zamana kadar derin dondurucuda (-20 °C) bekletildi.

**Tablo 14.** Parsel Bahçeden alınan örnek numuneler ve numune numaraları.

Sayı	2014 Numuneleri	Sayı	2015 Numuneleri
1	Toprak	15	Biber gövde + yaprak
2	Toprak	16	Toprak
3	Toprak	17	Toprak
4	Toprak	18	Toprak
5	Domates gövde + yaprak	19	Domates gövde
6	Domates meyve	20	Toprak
7	Domates kök	21	Toprak
8	Domates gövde + yaprak	22	Domates meyve
9	Domates kök	23	Toprak
10	Domates gövde + yaprak	24	Toprak
11	Domates kök	25	Toprak
12	Domates gövde + yaprak		
13	Domates meyve		
14	Domates kök		

Çalışmada toprak ve bitki kısımlarından yapılan PDA ve DRBC besiyerlerindeki ekim sonucuna bakılarak koloni morfolojisine ve mikroskopik görünümüne göre toplam 108 farklı fungus izolatu elde edildi (Tablo 15).

**Tablo 15.** Toprak ve bitki örneklerinden izole edilen mikrofungus izolat sayısı ve numaraları.

Örnek No	İzolat kodları	İzolat sayısı	Örnek no	İzolat kodları	İzolat sayısı
1	Yp1a Yp1b, Yp1c, Yp1d, Yp1e, Yp1f, Yp1g, Yp1h, Yp1i, Yp1j	10	15	Yp15a, Yp15b, Yp15c	3
2	Yp2a, Yp2b, Yp2c, Yp2d, Yp2e, Yp2f, Yp2g, Yp2h, Yp2i	9	16	Yp16a, Yp16b, Yp16c, Yp16d	4
3	Yp3a, Yp3b, Yp3c, Yp3d, Yp3e, Yp3f, Yp3g, Yp3h	8	17	Yp17a, Yp17b, Yp17c	3
4	Yp4a, Yp4b, Yp4c, Yp4d, Yp4e, Yp4f, Yp4g	7	18	Yp18a, Yp18b, Yp18c, Yp18d, Yp18e	5
5	Yp5a, Yp5b	2	19	Yp19a	1
6	Yp6a, Yp6b, Yp6c, Yp6d, Yp6e, Yp6f, Yp6g	7	20	Yp20a, Yp20b, Yp20c	3
7	Yp7a, Yp7b	2	21	Yp21a	1
8	Yp8a	1	22	Yp22a, Yp22b	2
9	Yp9a, Yp9b, Yp9c, Yp9d	4	23	Yp23a, Yp23b, Yp23c, Yp23d, Yp23e, Yp23f	6
10	Yp10a, Yp10b, Yp10c, Yp10d, Yp10e, Yp10f, Yp10g	7	24	Yp24a, Yp24b, Yp24c, Yp24d, Yp24e	5
11	Yp11a	1	25	Yp25a, Yp25b, Yp25c, Yp25d, Yp25e, Yp25f, Yp25g	7
12	Yp12a, Yp12b, Yp12c, Yp12d, Yp12e	5			
13	Yp13a, Yp13b	2			
14	Yp14a, Yp14b, Yp14c	3			
TOPLAM		68	TOPLAM		40

Çalışmada izole edilen örneklerin geleneksel yöntemlere göre (makroskopik ve mikroskopik özellikleri) incelenerek ve metod kısmında verilen kaynakçalardan yararlanılarak cins düzeyinde tanımlanmıştır (Tablo 16). Örneklerin büyük

çoğunluğunda doğal olarak atmosferik funguslar (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* ve *Rhizopus* vb.) olduğu gözlenmiştir ve bu izolatlar cins düzeyinde tanımlanmıştır. Spor oluşturmeyen izolatların (PDA ve MEA besiyerinde 7 - 30 gün 28 °C'de) geleneksel yöntemlerle tanımlanması yapılamadı. Çalışmanın bu aşamasından sonraki kısmında sadece biyokontrol ajanı olma potansiyeli taşıyan *Trichoderma spp.* ve bitki patojeni olarak kabul edilen *Fusarium spp.* suşları dikkate alınmıştır.

**Tablo 16.** İzole edilen mikrofungusların geleneksel yöntemlere göre cins düzeyinde dağılımları (N= 108).

Örnek no	Geleneksel tanıma cinsler	Örnek no	Geleneksel tanıma cinsler	Örnek no	Geleneksel tanıma cinsler
YP-1a	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-6a	<i>Byssoschlamys</i> spp.	YP-16b	<i>Mucor</i> spp.
YP-1b	<i>Mucor</i> spp.	YP-6b	<i>Dothideomycetes</i> spp.	YP-16c	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-1c	<i>Fusarium</i> spp.	YP-6c	Tanımlanamadı	YP-16d	<i>Mucor</i> spp.
YP-1d	<i>Mucor</i> spp.	YP-6d	Tanımlanamadı	YP-17a	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-1e	<i>Aspergillus</i> spp.	YP-6e	<i>Cladosporium</i> spp.	YP-17b	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-1f	<i>Aspergillus</i> spp.	YP-6f	Tanımlanamadı	YP-17c	<i>Mucor</i> spp.
YP-1g	<i>Penicillium</i> spp.	YP-6g	Tanımlanamadı	YP-18a	<i>Paracedosporium</i> spp.
YP-1h	<i>Chrysosporium</i> spp.	YP-7a	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-18b	<i>Fusarium</i> spp.
YP-1i	Tanımlanamadı	YP-7b	<i>Fusarium</i> spp.	YP-18c	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-1j	Tanımlanamadı	YP-8	Tanımlanamadı	YP-18d	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-2a	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-9a	<i>Fusarium</i> spp.	YP-18e	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-2b	Tanımlanamadı	YP-9b	<i>Fusarium</i> spp.	YP-19	<i>Fusarium</i> spp.
YP-2c	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-9c	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-20a	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-2d	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-9d	Tanımlanamadı	YP-20b	Tanımlanamadı
YP-2e	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-10a	<i>Paracedosporium</i> spp.	YP-20c	Tanımlanamadı
YP-2f	<i>Penicillium</i> spp.	YP-10b	Tanımlanamadı	YP-21	Tanımlanamadı
YP-2g	Tanımlanamadı	YP-10c	Tanımlanamadı	YP-22a	<i>Fusarium</i> spp.
YP-2h	Tanımlanamadı	YP-10d	Tanımlanamadı	YP-22b	<i>Aerobasidium</i> spp.
YP-2i	<i>Penicillium</i> spp.	YP-10e	Tanımlanamadı	YP-23a	<i>Rhizopus</i> spp.
YP-3a	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-10f	Tanımlanamadı	YP-23b	<i>Mucor</i> spp.
YP-3b	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-10g	<i>Epicoccum</i> spp.	YP-23c	<i>Geotrichum</i> spp.
YP-3c	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-11	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-23d	<i>Byssoschlamys</i> spp.
YP-3d	<i>Penicillium</i> spp.	YP-12a	<i>Basisiobolus</i> spp.	YP-23e	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-3e	<i>Cladosporium</i> spp.	YP-12b	Tanımlanamadı	YP-23f	<i>Cephalosporium</i> spp.
YP-3f	<i>Fusarium</i> spp.	YP-12c	<i>Ascodesmidacea</i> spp.	YP-24a	<i>Rhizopus</i> spp.
YP-3g	<i>Fusarium</i> spp.	YP-12d	Tanımlanamadı	YP-24b	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-3h	Tanımlanamadı	YP-12e	Tanımlanamadı	YP-24c	<i>Rhizopus</i> spp.
YP-4a	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-13a	<i>Fusarium</i> spp.	YP-24d	<i>Mucor</i> spp.
YP-4b	<i>Mucor</i> spp.	YP-13b	<i>Fusarium</i> spp.	YP-24e	<i>Mycogone</i> spp.
YP-4c	<i>Fusarium</i> spp.	YP-14a	Tanımlanamadı	YP-25a	<i>Rhizopus</i> spp.
YP-4d	Tanımlanamadı	YP-14b	Tanımlanamadı	YP-25b	<i>Rhizopus</i> spp.
YP-4e	<i>Fusarium</i> spp.	YP-14c	<i>Fusarium</i> spp.	YP-25c	<i>Trichoderma</i> spp.
YP-4f	<i>Penicillium</i> spp.	YP-15a	Tanımlanamadı	YP-25d	Tanımlanamadı
YP-4g	Tanımlanamadı	YP-15b	Tanımlanamadı	YP-25e	<i>Mycogone</i> spp.
YP-5a	Tanımlanamadı	YP-15c	<i>Mortierella</i> spp.	YP-25f	Tanımlanamadı
YP-5b	Tanımlanamadı	YP-16a	<i>Trichoderma</i> spp.	YP-25g	<i>Penicillium</i> spp.

Çalışmada cins düzeyinde yapılan tanımlamada toprak ve bitki örneklerinde toplam 17 farklı cins tanımlanmıştır ancak geleneksel yöntemlerle tür düzeyinde tanımlama yapılamamıştır. Tanımlanan türlerin 56'sı (% 51.85) Ascomycota ve 15'inin (% 18.8) Zygomycota bölümlerinde yer aldıkları belirlendi. Ayrıca toplam 37 (% 38.57) izolat spor formu gözlenemediğinden dolayı cins düzeyinde tanımlanamadı (Tablo 17).

**Tablo 17.** İzolatların cins dağılımı ve yüzde (%) oranları.

Cins dağılımı (Teleomorf)	Şube (Phylum)	İzolat No	Sayı (N)	Yüzde (%)
<i>Trichoderma</i> spp. ( <i>Hypocrea</i> spp.)	Ascomycota	1a, 2a, 2c, 2d, 2e, 3a, 3b, 3c 4a, 7a, 9c, 11, 16a, 16c, 17a, 17b, 18c, 18d, 18e, 20a, 23e, 24b, 25c	23	24,61
<i>Fusarium</i> spp. ( <i>Nectria</i> spp.)	Ascomycota	1c, 3f, 3g, 4c, 4e, 7b, 9b, 13a, 13b, 14c, 18b, 19, 22a	13	12,14
<i>Mucor</i> spp.	Zygomycota	1b, 1d, 4b, 16b, 16d, 17c, 23b, 24d	8	8,56
<i>Penicillium</i> spp. ( <i>Eupenicillium</i> spp.)	Ascomycota	1g, 2f, 2i, 3d, 4f, 25g	6	6,42
<i>Aspergillus</i> spp. ( <i>Byssochlamys</i> spp.)	Ascomycota	1e,1f,	2	2,14
<i>Rhizopus</i> spp.	Zygomycota	23a, 24a, 24c, 25a, 25b	5	5,32
<i>Basidiobolus</i> spp.	Zygomycota	12a	1	1,07
<i>Aureobasidium</i> spp.	Ascomycota	22b	1	1,07
<i>Byssochlamys</i> spp.	Ascomycota	23d	1	1,07
<i>Mycogone</i> spp. ( <i>Hypomyces</i> )	Ascomycota	24e, 25e	2	2,14
<i>Chrysosporium</i> spp. ( <i>Ctenomyces</i> spp.)	Ascomycota	1h	1	1,07
<i>Cladosporium</i> spp. ( <i>Mycosphaerella</i> spp.)	Ascomycota	3e, 6e	2	2,14
<i>Dothideomycetes</i> spp. ( <i>Tyrannosorus</i> spp.)	Ascomycota	6b	1	1,07
<i>Paracedosporium</i> spp.	Ascomycota	10a, 18a	2	2,14
<i>Epicoccum</i> spp.	Ascomycota	10g	1	1,07
<i>Mortierella</i> spp.	Zygomycota	15c	1	1,07
<i>Galactomyces</i> spp. ( <i>Geothricum</i> spp.)	Ascomycota	23c	1	1,07
Tanımlanamayan		1i, 1j, 2b, 2g, 2h, 3h, 4d, 4g, 5a, 5b, 6a ,6c, 6d, 6f, 6g, 8, 9d, 10b, 10c, 10d ,10e, 10f, 12b, 12c ,12d, 12e, 14a , 14b ,15a, 15b, 20b, 20c, 21, 23f , 25d, 25f,	36	38,52
<b>TOPLAM</b>			<b>107</b>	<b>100</b>

Tanımlanamayan izolatlar dikkate alınmadığı takdirde en fazla izole edilen izolatlar çalışmanın da hedefi olan *Trichoderma* spp. (% 24.61) ve *Fusarium* spp. (% 12.14) olarak belirlendi (Tablo 17).



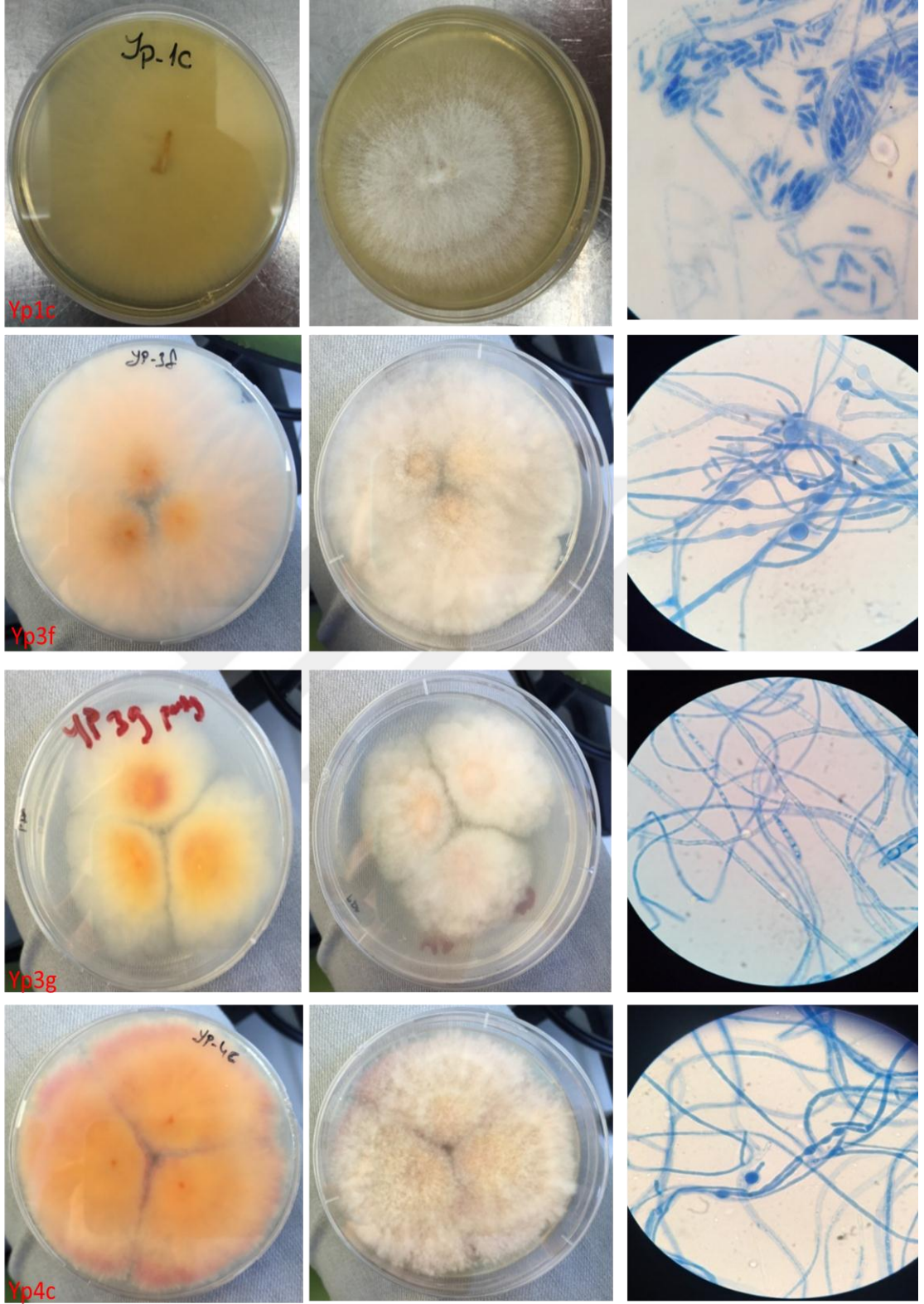
Çalışmada hastalık etkeni olarak topraktan ve bitkilerden alınan toplam 10 örnekten 14 adet *Fusarium spp.* izole edildi. Bir izolat (Yp9a) pasajlar esnasında kaybedildi. Suşların PDA ve su agar besiyerinde ışıklı ve karanlık ortama, paralel ekimlerle yapılan inkübasyonları sonucunda oluşan kolonilerin morfolojik ve mikroskobik özellikleri Tablo 18'de, Şekil 3'de, Şekil 4'de ve Şekil 5'de verilmiştir.



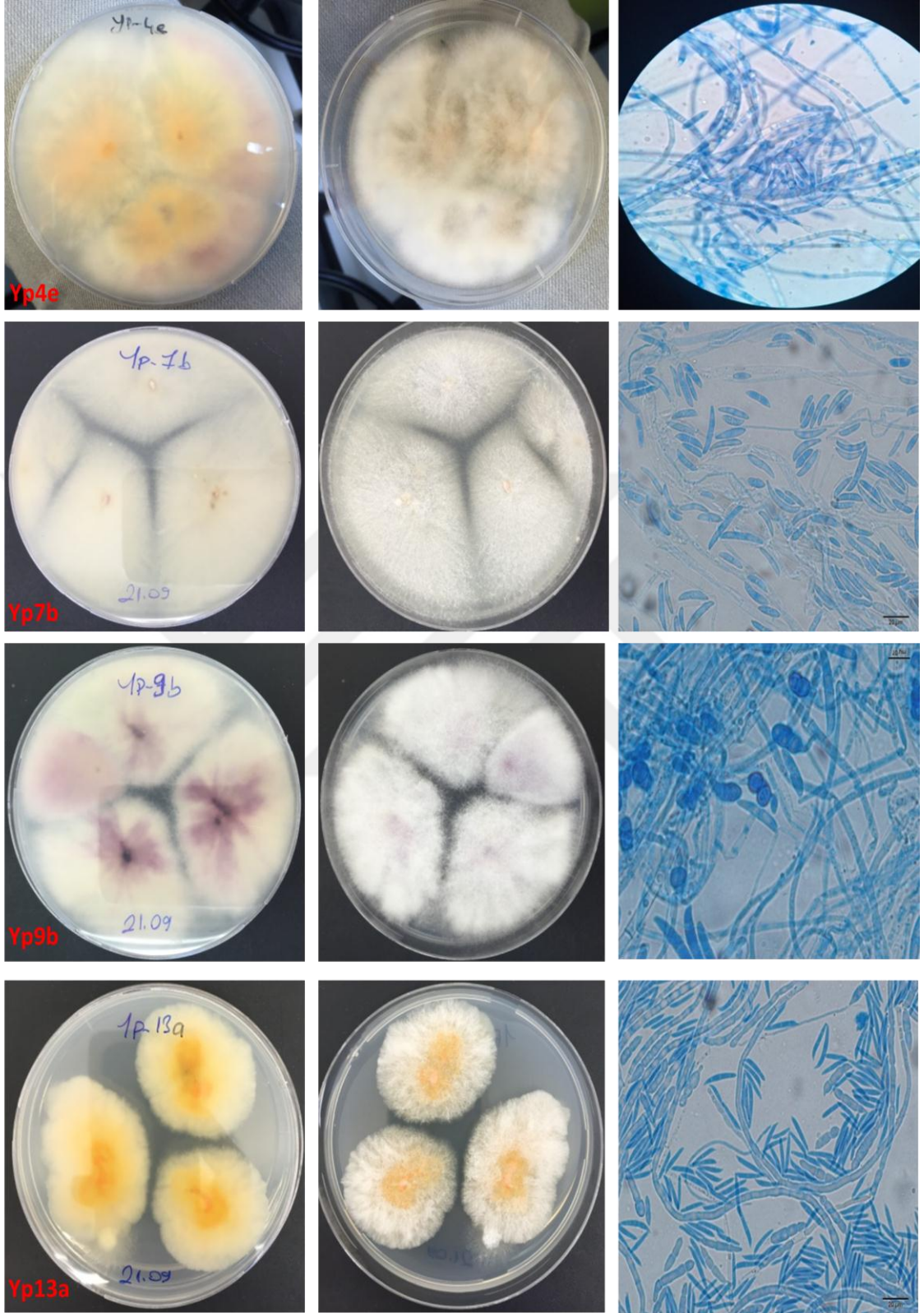
**Tablo 18.** *Fusarium* spp. izolatlarının mikroskopik ve morfolojik özellikleri (N=13).

Örnek yeri	Suş no	Mono fialid	Poli fialid	Makro spor	Mikro spor	Klamidiaspor terminal interkalar	Su agar ve PDA'da etüv	morfolojik görünüm ışık	
Toprak	Yp1c	+	-	+*	+	+	-	Alt üstte merkez açık yeşil dışa doğru koyulaşan yeşil	Üst beyaz-yeşilimsi alt, merkez açık yeşil dışa doğru koyulaşan yeşil
Toprak	Yp3f	-	-	+	-	-	+	Üst, beyaz derinlerde hafif pembe altı açık kırmızı	Beyaz hafif pembe alt taraf açık pembemsi kırmızı
Toprak	Yp3g	-	-	+	-	-	+	Beyaz pembemsi üst alt ise kırmızı pembemsi	Üst beyaz pamuksu alt koyu dışa doğru açılan koyu kırmızı pembemsi
Toprak	Yp4c	-	-	+	-	-	+	Üst beyaz pamuksu alt kırmızı pembemsi	Üst beyaz pamuksu yer yer pembe alt pembemsi yer yer koyu pembe bölgeler
Toprak	Yp4e	-	-	+	+	-	+	Üst beyaz beyazımsı sporlar alt merkezde mor-gri renk etraf sarımtırak	Üst beyaz merkez koyu gri çevreye doğru sarımtırak
Domates kök	Yp7b	+	-	+	+	-	+	Sarımtırak beyazımsı alt üst aynı	Üst kirli beyazımsı sarımtırak alt beyaz sarımtırak
Domates kök	Yp9b	-	-	+	+	+	-	Üst kar beyazı alt beyaz pamuksu	Üst kar beyazı alt beyaz
Domates meyve	Yp13a	+	-	+	-	-	+	Üst beyaz ariel hifa pamuksu alt taraf hafif turuncu	Üst beyaz ariel hifalar pamuksu alt taraf turuncu-yavru ağzı
Domates meyve	Yp13b	+	-	+	-	+	-	Üst beyaz pamuksu alt sarı-turuncu	Üst beyaz pamuksu alt sarı-turuncu
Domates kök	Yp14c	+	-	+	+	+	-	Üst kirli beyaz alt kirli beyaz yeşil noktamsı yapılar hem üstte hem altta	Üst kirli beyaz alt sarımtırak beyazımsı
Toprak	Yp18b	-	-	-	+	+	-	Üst beyaz pamuksu alt beyaz hafif krem	Üst beyaz pamuksu alt beyaz hafif krem
Domates gövde	Yp19	-	-	+	-	+	+	Üst beyaz alt merkezde hafif yeşerme onun dışında beyaz	Üst beyaz alt merkezde hafif yeşilimsi dış beyaz alt ve üstte yeşil noktamsı bölgeler
Domates meyve	Yp22a	-	-	+	+	+	-	Üst alt beyaz pamuksu	Üst beyaz pamuksu alt hafif krem renk alt ve üstte yeşilimsi noktalar

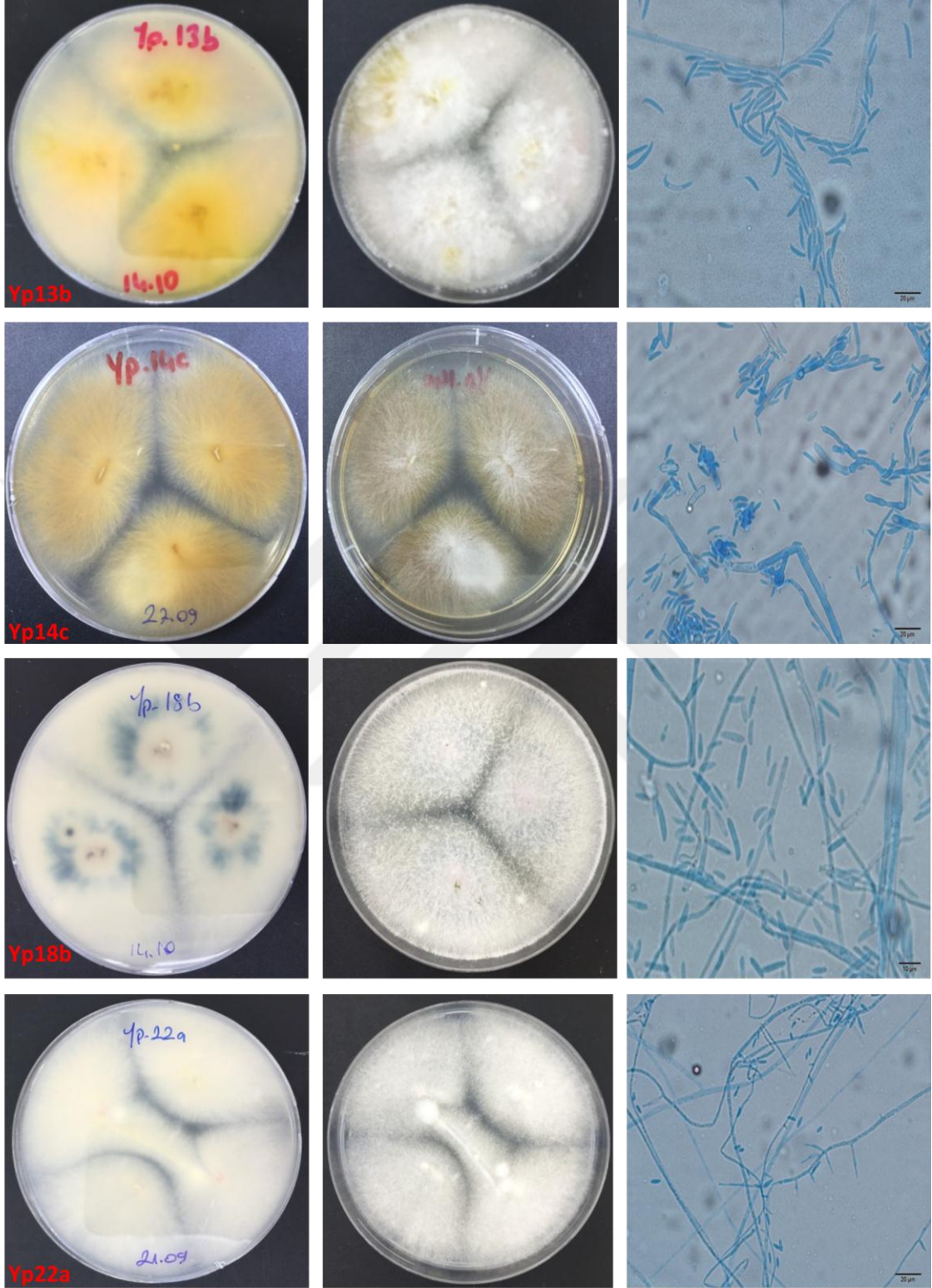
\* (küt)



**Şekil 3.** *Fusarium* spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde soldan sağa sırasıyla petri alt, üst ve mikroskobik görünüşleri. Mikroskopi görüntülerinde barı olmayanlar 40x büyütmede çekilmiştir. Yp1c: *Fusarium solani*, Yp3f: *Fusarium sambucinum*, Yp3g: *Fusarium* spp., Yp4c: *Fusarium sambucinum*



**Şekil 4.** *Fusarium* spp. Türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde sırasıyla soldan sağa petri alt, üst ve mikroskobik görüntüleri. Mikroskopi görüntülerinde barı olmayanlar 40x büyütmede çekilmiştir. Yp4e: *Fusarium oxysporum*, Yp7b: *Fusarium* spp., Yp9b: *Fusarium oxysporum*, Yp13a: *Fusarium sambucinum*



**Şekil 5.** *Fusarium* spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde sırasıyla soldan sağa petri alt, üst ve mikroskobik görünüşleri. Mikroskopi görüntülerinde barı olmayanlar 40x büyütmede çekilmiştir. Yp13b: *Fusarium sambucinum*, Yp14c: *Fusarium oxysporum*, Yp18b: *Fusarium oxysporum*, Yp22a: *Fusarium oxysporum*

Geleneksel tanıyı doğrulamak amacıyla 18S rRNA dizin analizi kullanılarak yapılan moleküler tanıda *Fusarium*'ların tür dağılımı Tablo 19'da verilmiştir. İzolatların 6'sı geleneksel metodlardaki tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bunlar sırasıyla *Fusarium sambucinum* (Yp4c), *Fusarium oxysporum* (Yp9b ve Yp18b) ve *Fusarium* spp. (Yp14c ve Yp19) dir.

**Tablo 19.** 18S rRNA analizine göre *Fusarium* izolatlarının moleküler tanısı.

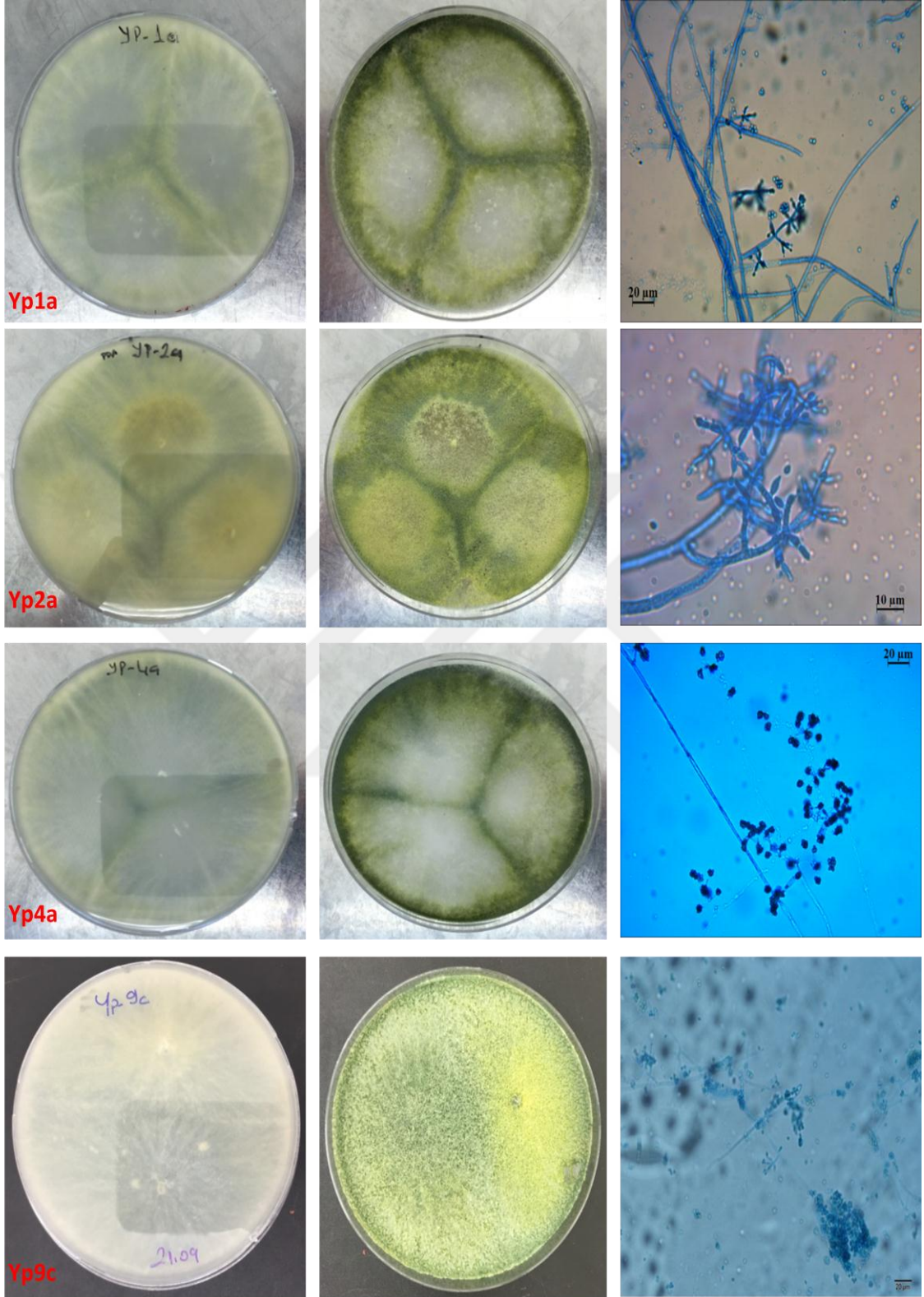
İzolat	ITS 1- 5.8- ITS 2	Örtüşme(%)	Benzerlik (%)	Genbank no
Yp1c	<i>Fusarium solani</i> strain FsD7A27	99%	98%	KC202941.1
	<i>Fusarium solani</i>	98%	99%	LN624513.1
	<i>Fusarium solani</i> isolate S10	97%	99%	KT224788.1
Yp3f	<i>Fusarium sambucinum</i> isolate ZZ349	98%	99%	KP264667.1
	<i>Fusarium sambucinum</i> strain CBS 146.95	98%	99%	KM231813.1
	<i>Fusarium sambucinum</i> isolate M123	98%	99%	KP265350.1
Yp3g	<i>Fusarium</i> sp. CPK3465	55%	98%	FJ840527.1
	<i>Fusarium sacchari</i> isolate B-3853	41%	98%	GU205422.1
	<i>Fusarium sacchari</i> isolate B-3853	41%	98%	GU205420.1
Yp4c	<i>Fusarium sambucinum</i> strain CBS 146.95	88%	99%	KM231813.1
	<i>Fusarium sambucinum</i> isolate M123	88%	99%	KP265350.1
	<i>Fusarium sambucinum</i> isolate ZZ347	88%	99%	KP264666.1
Yp4e	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i> strain ZJ-02	76%	99%	HM179530.1
	<i>F. oxysporum</i> strain TW9	77%	99%	KT803066.1
	<i>F. oxysporum</i> isolate DO1	76%	99%	KP050556.1
Yp7b	<i>Fusarium</i> sp. FSSC_5 strain GJS 09-1469	79%	100%	KT313636.1
	<i>Fusarium</i> sp. FSSC_5 strain GJS 09-1462	79%	100%	KT313630.1
	<i>Fusarium</i> sp. FSSC_5 strain GJS 09-14621	79%	100%	KT313629.1
Yp9b	<i>F. oxysporum</i> isolate 107	94%	99%	KU847855.1
	<i>F. oxysporum</i> strain EECC-643	93%	99%	KP942940.1
	<i>Fusarium</i> sp. strain P1704	93%	99%	KT268977.1
Yp13a	<i>Fusarium sambucinum</i> strain CBS 146.95	94%	99%	KM231813.1
	<i>Fusarium sambucinum</i> strain Fsa0555-B	93%	99%	KC899115.1
	<i>Fusarium</i> sp. BAB-4678	93%	99%	KT186209.1
Yp13b	<i>Fusarium sambucinum</i> strain CBS 146.95	92%	98%	KM231813.1
	<i>Fusarium sambucinum</i> isolate M123	88%	99%	KP265350.1
	<i>Fusarium sambucinum</i> isolate MF13	88%	99%	KP292801.1
Yp14c	<i>F. oxysporum</i> isolate AFIC35	85%	99%	KU872840.1
	<i>F. oxysporum</i> isolate AFIC23	85%	99%	KU872828.1
	<i>Fusarium</i> sp. strain P1754	85%	99%	KT269026.1
Yp18b	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>vanilae</i> strain HJAG10	88%	99%	KM005087.1
	<i>F. oxysporum</i> strain GENF001	86%	99%	KX196807.1
	<i>F. oxysporum</i> isolate AFIC21	87%	99%	KU872826.1
Yp19	<i>F. oxysporum</i> f. <i>gladioli</i> isolate FOG	94%	98%	KU721005.1
	<i>F. oxysporum</i> isolate F87-Kr1T9	93%	98%	KC304806.1
	<i>F. oxysporum</i> isolate F53-MB2P1d	95%	97%	KC304803.1
Yp22a	<i>F. oxysporum</i> isolate LK FI 28	56%	96%	KF897851.1
	<i>F. oxysporum</i> isolate SMS16	56%	96%	KR085974.1
	<i>F. oxysporum</i> strain JZB3110003	56%	96%	KX640811.1

Çalışmada alınan 25 örneğin 14'ünde toplam 22 adet *Trichoderma* cinsi mikrofungus izole edildi. *Trichoderma* spp. türleri 12 toprak örneğinin 11' inde toplam 18 (Yp1a, Yp2a, Yp2c, Yp2d, Yp2e, Yp3a, Yp3b, Yp4a, Yp16a, Yp16c, Yp17a, Yp17b, Yp18c, Yp18d, Yp18e, Yp20a, Yp23e, Yp24b, Yp25c ) ve 4 domates kök örneğinin 3'ünde toplam 3 tane (YP7a, Yp9c, Yp11) belirlendi (Tablo 14 ve Tablo 17). *Trichoderma* izolatları, MEA ve PDA besiyerlerinde 28 °C'de 5-10 günlük kültürleri makroskobik ve mikroskobik görünümüne göre gruplandırıldı (Tablo 20). Buna göre morfolojik ve mikroskobik olarak 4 farklı gruba ayrıldığı belirlendi.

**Tablo 20.** PDA besiyerlerinde *Trichoderma*'ların morfolojik esaslara göre gruplandırılması Bisset (1984, 1991a-c).

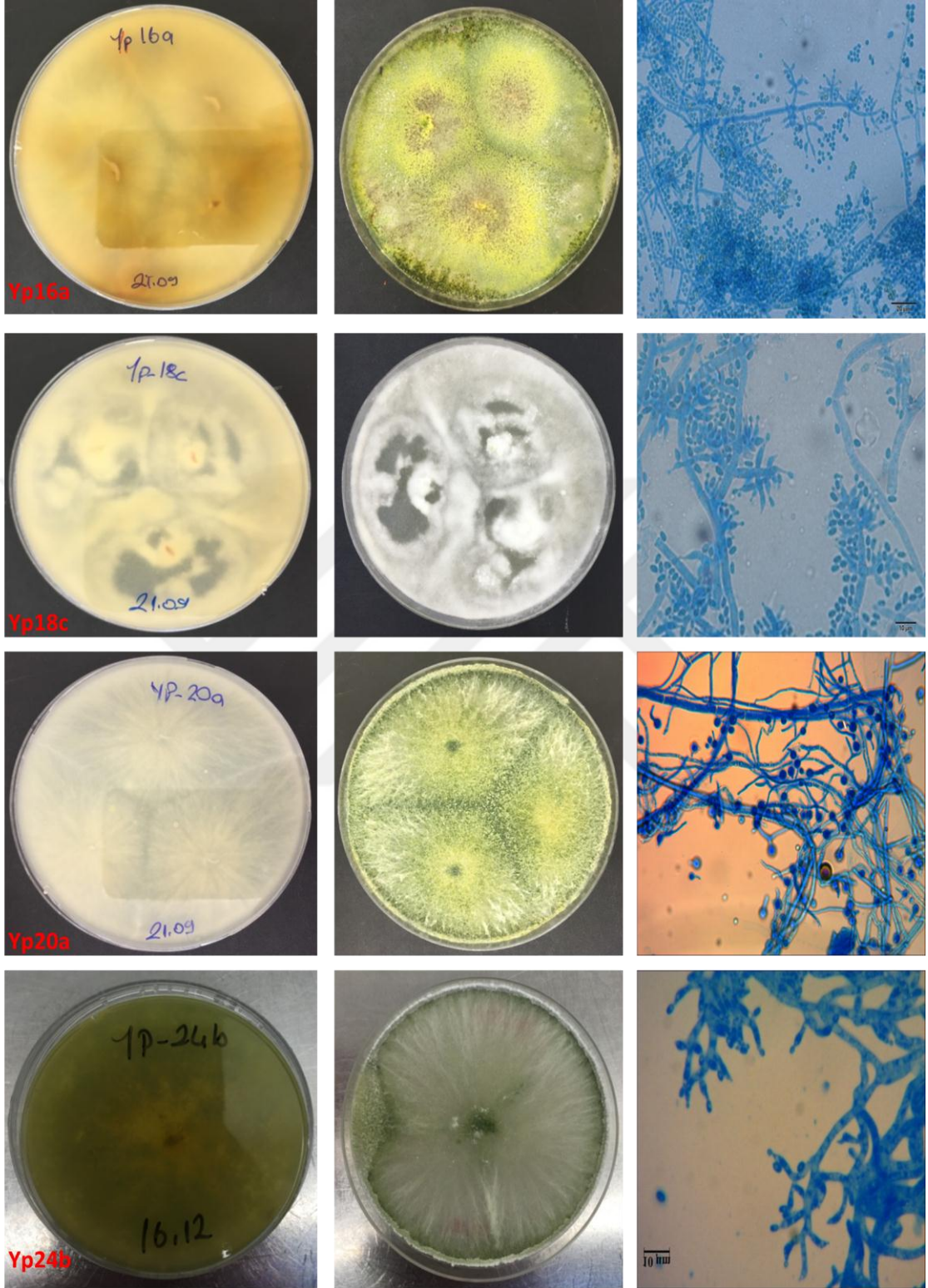
Gruplar	İzolatlar (n=21)	PDA da genel morfolojik özellikleri
1. grup <i>Tichoderma</i> benzeri	Yp1a , Yp2a, Yp2c, Yp3a, Yp7a, Yp9c, Yp11, Yp16a, Yp17a, Yp17b, Yp18d, Yp18e, Yp20a Yp23e, Yp25c	PDA: Çoğunluğunda Üst sarı yeşil sporlu, spor sayısı az veya çok, Alt tarafı açık beyazdan sarı kahverengiye değişen renk, kültür eskidikçe renk daha koyulaşmakta (Yp17a: altı kırmızı kahverengi üstü kısmı bol sarı yeşil sporlu ve beyaz pamukçuklu) (Yp18c : altı sarımtırak beyaz üstü beyaz ve beyaz sporlu)
2. Grup <i>Longibrachiatum</i> benzeri	Yp24b	PDA: Üst yeşil beyaz misel ve az sayıda yeşil spor Alt tarafı sarı, yeşil renkli
3. Grup <i>Pachybasium</i> benzeri	Yp18c	PDA: Üst sarı-yeşil bol sayıda sporlu ve beyaz üreme kurulları oluşmuş, alt tarafı beyaz veya koyu sarı - yeşil renkli
*4.Gruplandırılmayan <i>Trichoderma</i> spp.	Yp3c, Yp4a, Yp3b, Yp16c	

\* Tür tanısı yapılamadığı için oluşturulan grup



**Şekil 6.** *Trichoderma* spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde soldan sağa doğru sırasıyla petri alt, üst ve mikroskopik görüntüleri. Mikroskopi görüntülerinde barı olmayanlar 40x büyütmede çekilmiştir. Yp1a: *Hypocrea lixii*, Yp2a: *Trichoderma aureoviride*, Yp4a: *Trichoderma* spp., Yp9c: *Trichoderma atroviride*





**Şekil 7.** *Trichoderma* spp. türlerinin PDA agarda 10 günlük kültürde soldan sağa sırasıyla petri alt, üst ve mikroskobik görünüşleri. Mikroskobik görüntülerinde barı olmayanlar 40x büyütmede çekilmiştir. Yp16a: *Hypocrea lixii*, Yp18c: *Trichoderma hamatum*, Yp20a: *Trichoderma harzianum*, Yp24b: *Trichoderma longibrachiatum*

Geleneksel tanıyı doğrulamak amacıyla 18S rRNA dizin analizi kullanılarak yapılan moleküler tanıda *Trichoderma* spp.'lerin tür ve cins düzeyinde dağılımı Tablo 21'de verilmiştir.

**Tablo 21.** 18S rRNA analizine göre *Trichoderma* izolatlarının moleküler tanısı.

İzolat	ITS 1- 5.8- ITS 2 (Benzer olduğu funguslar)	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	Genbank no
Yp1a	<i>Hypocrea lixii</i> isolate MIAE00042 18S	98%	99%	HM176572.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain VRU-Th13	96%	99%	KJ000320.1
	<i>Hypocrea lixii</i> strain DAOM 176235B	98%	99%	AY605751.1
Yp2a	<i>Trichoderma aureoviride</i> strain NR6931	99%	99%	AF194012.1
	<i>Trichoderma virens</i> isolate TV005	99%	99%	KX092004.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate TH004	99%	99%	KX092003.1
Yp2c	<i>Trichoderma harzianum</i> strain F1B(1)	81%	100%	KX610398.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain LESF346	81%	100%	KT278883.1
	<i>Trichoderma atroviride</i> strain TriAt-JSB2	81%	100%	JQ665257.1
Yp3a	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate CTCCSJ-ASC50299	98%	94%	KU896324.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> G.J.S. 00-18	98%	93%	AF443929.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate CTCCSJ-ASC50306	98%	93%	KU896326.1
Yp3b	<i>Trichoderma</i> sp. BAB-3544	86%	99%	KM066576.2
	<i>Trichoderma</i> sp. HYKHK/B2	86%	99%	AY514867.1
	<i>Trichoderma</i> sp. HYKH2/B2	86%	99%	AY514864.1
Yp3c	<i>Trichoderma</i> sp. BAB-3544	100%	99%	KM066576.2
	<i>Trichoderma</i> sp. HYKHK/B2	99%	99%	AY514867.1
	<i>Trichoderma</i> sp. HYKH2/B2	99%	99%	AY514864.1
Yp4a	<i>Trichoderma</i> sp. 13 BRO-2013	91%	99%	KF367543.1
	<i>Trichoderma</i> sp. BAB-4613	91%	99%	KU571497.1
	<i>Trichoderma</i> sp. BAB-4585	91%	99%	KR154938.1
Yp7a	<i>Trichoderma harzianum</i> strain I 33	95%	99%	KT351798.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate 8227	95%	99%	KF454872.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain VRU-Th108	94%	99%	KJ000324.1
Yp9c	<i>Trichoderma atroviride</i> strain TriAt-JSB2	89%	95%	JQ665257.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain LESF346	87%	96%	KT278883.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate TV127	87%	96%	JQ665263.1
Yp11	<i>Trichoderma harzianum</i> strain I 33	67%	99%	KT351798.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain UA-STP-8	67%	99%	KR011318.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate UASWS1122	67%	99%	KM280048.1
Yp16a	<i>Hypocrea lixii</i> isolate MIAE00042	98%	99%	HM176572.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain VRU-Th137	96%	99%	KJ000320.1
	<i>Hypocrea lixii</i> strain DAOM 176235B	96%	99%	AY605751.1
Yp16c	<i>Trichoderma</i> sp. 7 BRO-2013	62%	96%	KF367487.1
	<i>Trichoderma</i> sp. 6 BRO-2013	62%	96%	KF367486.1
	<i>Trichoderma</i> sp. isolate KK19L1	57%	95%	KX462885.1
Yp17a	<i>Hypocrea lixii</i> strain JB T2276	94%	99%	AY605716.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain VRU-Th137	93%	99%	KJ000320.1
	<i>Hypocrea lixii</i> isolate MIAE00042	94%	99%	HM176572.1

**Tablo 21 (devam).** 18S rRNA analizine göre *Trichoderma* izolatlarının moleküler tanısı.

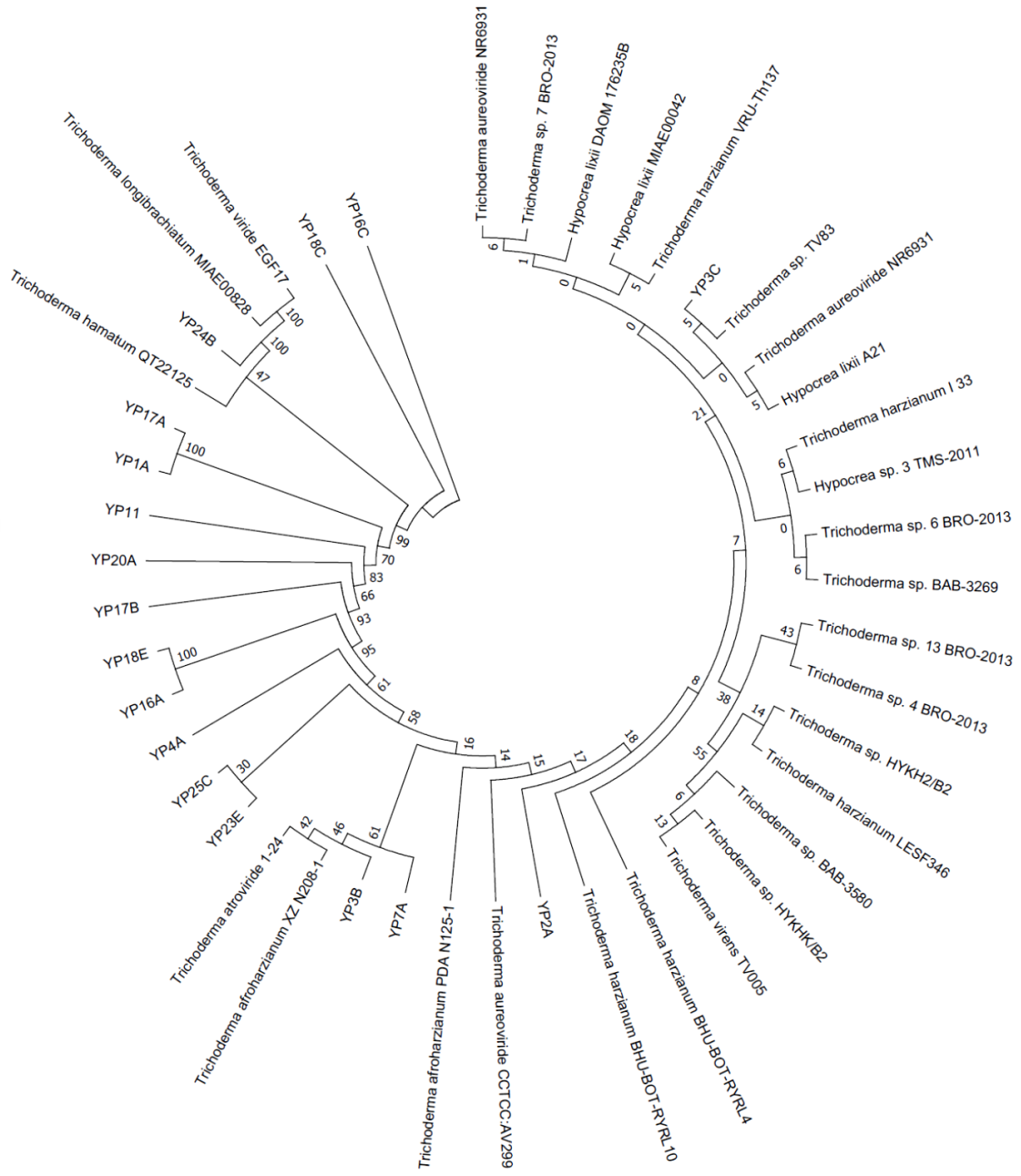
İzolat	ITS 1- 5.8- ITS 2 (Benzer olduğu funguslar)	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	Genbank no
Yp17b	<i>Hypocrea lixii</i> isolate MIAE00042	94%	99%	HM176572.1
	<i>Hypocrea lixii</i> strain A21	94%	98%	GU566193.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain BHU-BOT-RYRL10	94%	98%	KR856216.1
Yp18c	<i>Trichoderma hamatum</i> strain CEN693	72%	83%	KC576720.1
	<i>Trichoderma hamatum</i> strain PPRC-ET44	70%	83%	FJ461577.1
	<i>Trichoderma hamatum</i> strain PPRC-ET36	70%	83%	FJ461569.1
	<i>Trichoderma afroharzianum</i> voucher PDA N1251	75%	99%	MF116250.1
Yp18d	<i>Trichoderma afroharzianum</i> voucher XZ N208-1	75%	99%	MF116249.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate 1-2-F_B04	75%	99%	KX529079.1
	<i>Hypocrea lixii</i> isolate MIAE00042	98%	99%	HM176572.1
Yp18e	<i>Trichoderma harzianum</i> strain VRU-Th137	96%	99%	KJ000320.1
	<i>Hypocrea lixii</i> strain DAOM 176235B	96%	99%	AY605751.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain LESF346	70%	96%	KT278883.1
Yp20a	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate TV127	70%	96%	KP263625.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> strain F1B(1)	69%	96%	KX610398.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> mitochondrial genomic DNA containing 16S-23S intergenic spacer region, isolate CRPL5	76%	99%	HG938369.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate TH004	76%	99%	KX092003.1
Yp23e	<i>Trichoderma harzianum</i> G.J.S. 00-18	74%	99%	AF443929.1
	<i>Trichoderma longibrachiatum</i> strain AN4	97%	99%	KY859792.1
	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	96%	99%	LT707585.1
	<i>Trichoderma viride</i> strain EGF17	95%	99%	KJ406563.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> mitochondrial genomic DNA containing 16S-23S intergenic spacer region, isolate CRPL5	86%	98%	HG938369.1
Yp25c	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate TH004	85%	98%	KX092003.1
	<i>Trichoderma harzianum</i> G.J.S. 00-18	83%	99%	AF443929.1

Geleneksel ve moleküler yöntemlerle karakterize edilen *Trichoderma* suşlarının tür dağılımları ve yüzdeleri Tablo 22'de verilmektedir. En fazla izole edilen türün *Trichoderma harzianum* olduğu gözlenmektedir. Dört izolat ise tür düzeyinde tanımlanamadı.

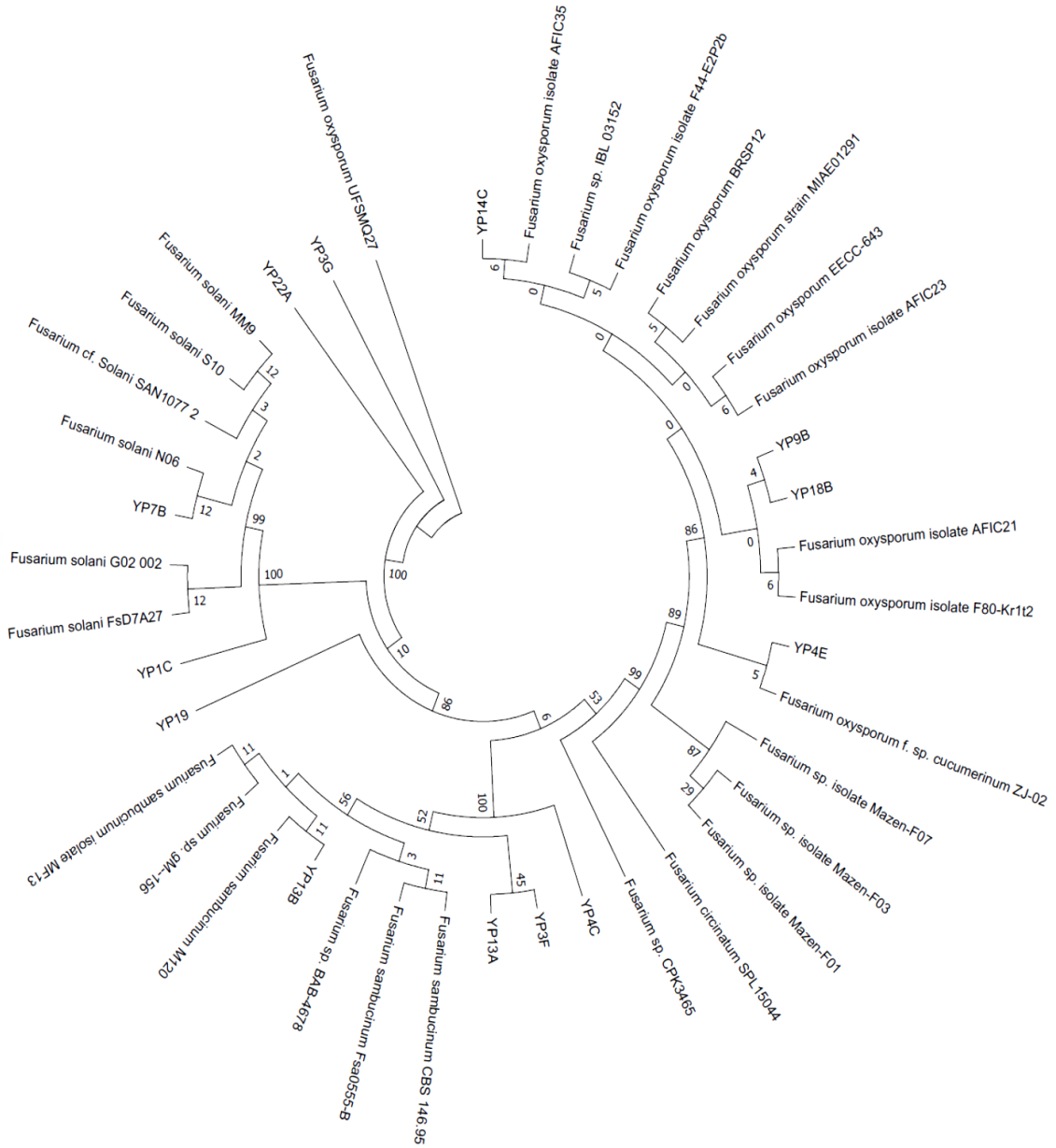
**Tablo 22.** *Trichoderma* suşlarının tür ve yüzde (%) dağılımları.

Cins ve tür adı	Sayı	% (Yüzde)
<i>Trichoderma harzianum (Hypocrea lixii)</i>	11	52,38
<i>Trichoderma aureoviride</i>	2	9,52
<i>Trichoderma atroviride</i>	1	4,76
<i>Trichoderma afroharzianum</i>	1	4,76
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	1	4,76
<i>Trichoderma hamatum</i>	1	4,76
<i>Trichoderma</i> spp.	4	19,04
Toplam	21	100

Çalışmadan izole edilip, geleneksel ve moleküler yöntemlerle tanımlanan *Trichoderma* ve *Fusarium* spp. suşlarının kendi aralarındaki filogenetik akrabalıklarını belirlemek amacıyla; *Trichoderma* ve *Fusarium* spp. suşlarından elde edilen ITS1-5.8-ITS2 gen dizileri MEGA filogenetik analiz programı yardımıyla Neighbor-joining (NJ) analizinde kullanılarak fiogenetik ağaçları oluşturuldu (Şekil 8 ve Şekil 9).



Şekil 8. *Trichoderma* izolatlarının ITS1-5.8 - ITS2 sekans sonuçlarına göre filogenetik ağacı.



Şekil 9. *Fusarium* izolatlarının ITS1-5.8 - ITS2 sekans sonuçlarına göre filogenetik ağacı.

### 3.2. *Trichoderma* spp. Suşlarında Dual Teknikle Patojen İnhibüsyon Aktiviteleri

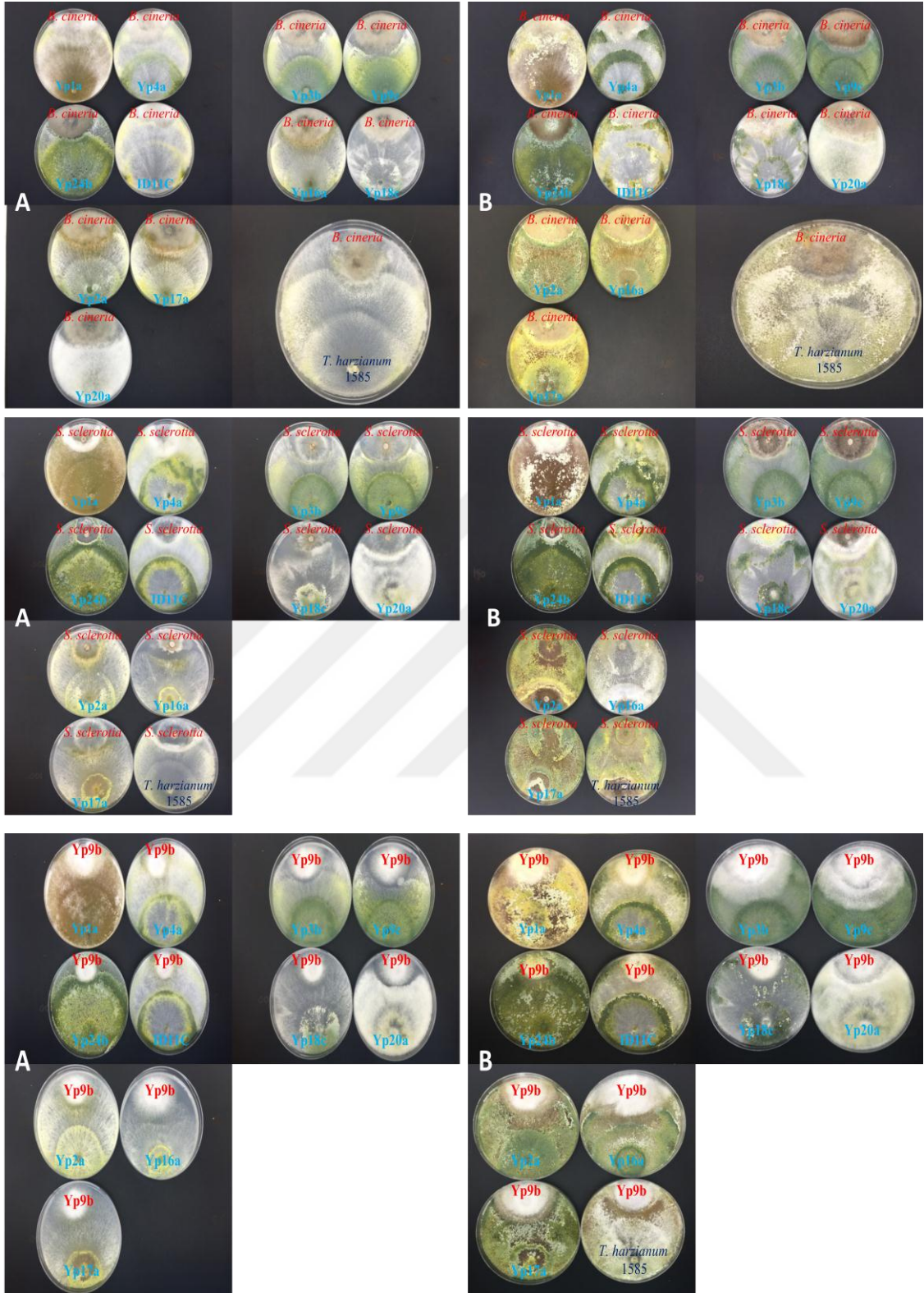
Potansiyel biyokontrol ajanı olabilecek yeni *Trichoderma* suşlarının belirlenebilmesi amacıyla, elimizdeki *Trichoderma* suşlarının çalışmada izole edilen ve patojen olduğu düşünülen *Fusarium* spp. suşlarının gelişimini engelleme yeteneği araştırıldı. Bu amaçla belirtilen grupları temsilen toplam 11 *Trichoderma* izolatı ile hastalıklı domates örneklerinden izole edilen toplam 13 *Fusarium* örneğinden 6 izolat seçilerek test edildi. Kontrol olarak *T. harzianum* 1585, ID11C, *R. solani* ve *S. sclerotia*

suşları kullanıldı (Tablo 23).

**Tablo 23.** Dual kültürle test edilen mikrofungusların moleküler bilgi temelli sınıflandırmaya göre gruplandırılması.

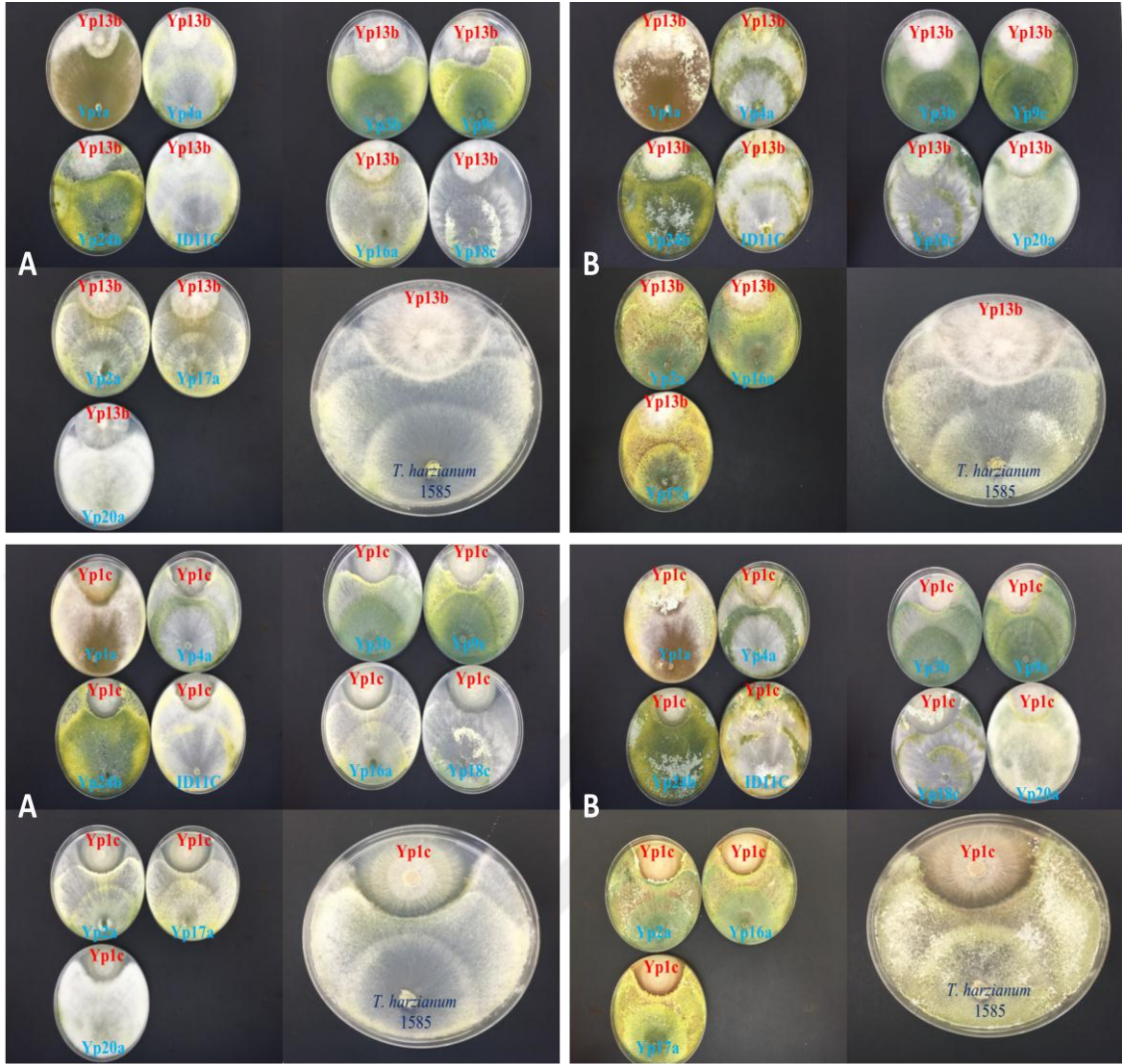
Gruplar	<i>Trichoderma</i> spp.	Bitki patojeni suşlar
1. Grup	<i>Trichoderma harzianum</i> Yp1a	<i>Fusarium solani</i> Yp1c
Like <i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma aureoviride</i> Yp2a	<i>Fusarium</i> spp. Yp3f
	<i>Trichoderma harzianum</i> Yp16a	<i>Fusarium oxysporum</i> Yp9b
	<i>Trichoderma harzianum</i> Yp17a	<i>Fusarium sambucinum</i> Yp13a
	<i>Trichoderma harzianum</i> Yp20a	<i>Fusarium sambucinum</i> Yp13b
		<i>Fusarium oxysporum</i> Yp18b
2. Grup	<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Yp24b	<i>S. sclerotia</i> *
Like <i>Longibrachiatum</i>		<i>B. cineria</i> *
3. Grup		
Like <i>Pachybasium</i>	<i>Trichoderma hamatum</i> Yp18c	
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Trichoderma</i> spp. Yp4a	
	<i>Trichoderma</i> spp. Yp9c	
	<i>Trichoderma</i> spp. Yp16c	
	<i>Trichoderma</i> spp. Yp3b	
	<i>T. harzianum</i> ID11C*	
	<i>T. harzianum</i> 1585*	

\* Kontrol suşlarıdır



**Şekil 10.** Potansiyel biyokontrol ajanı olabilecek *Trioderma* spp. suşlarının (Yp1a, Yp2a, Yp3b, Yp4a, Yp9c, Yp16a, Yp17a, Yp18c, Yp20a, Yp24b, ID11C ve *T. harzianum* 1585), kontrol suşları (*B. cinerea*, *S. sclerotia*) ve potansiyel bitki patojeni olabilecek *Fusarium* spp. suşu (Yp9b) ile PDA besi ortamında dual teknikle çaprazlanmasının 4. gün (A) ve 10. gün (B) resimleri





**Şekil 11.** Potansiyel biyokontrol ajanı olabilecek *Trichoderma* spp. suşlarının (Yp1a, Yp2a, Yp3b, Yp4a, Yp9c, Yp16a, Yp17a, Yp18c, Yp20a, Yp24b, ID11C ve *T. harzianum* 1585), potansiyel bitki patojeni olabilecek *Fusarium* spp. suşları (Yp1c ve Yp13b) ile PDA besi ortamında dual teknikle çaprazlanmasının 4. gün (A) ve 10. gün (B) resimleri

Dual kültür sonuçlarının 4. ve 10. gün değerleri dikkate alınarak da yüzde (%) inhibisyon değerleri belirlendi (Tablo 24 ve Şekil 10-11). Kültürlerin dördüncü günü genel olarak kolonilerin birbirine temas ettiği, onuncu gün ise genellikle kültürlerin duraklama dönemine girdiği gün olduğu için özellikle bu günlerdeki sonuçlar dikkate alındı.

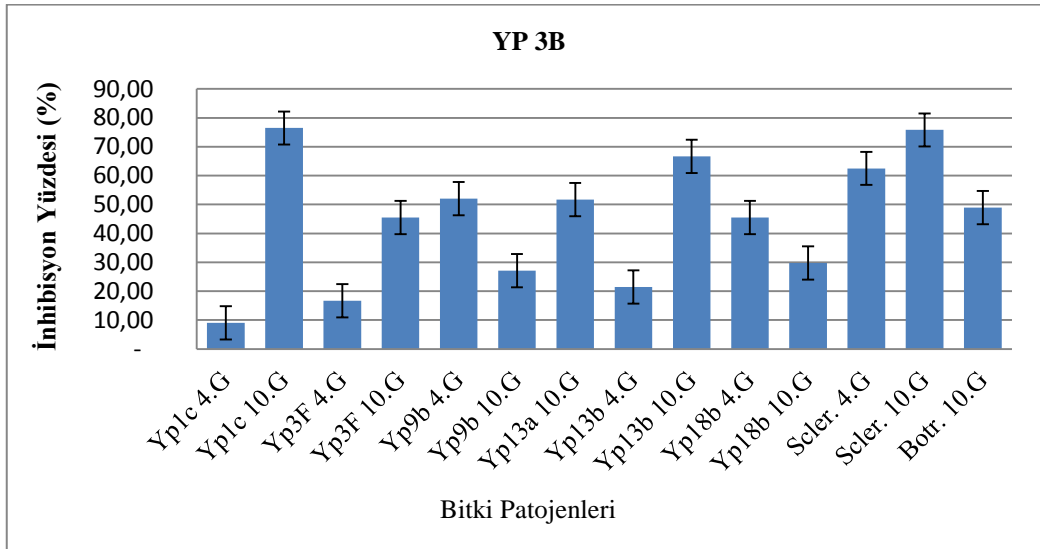
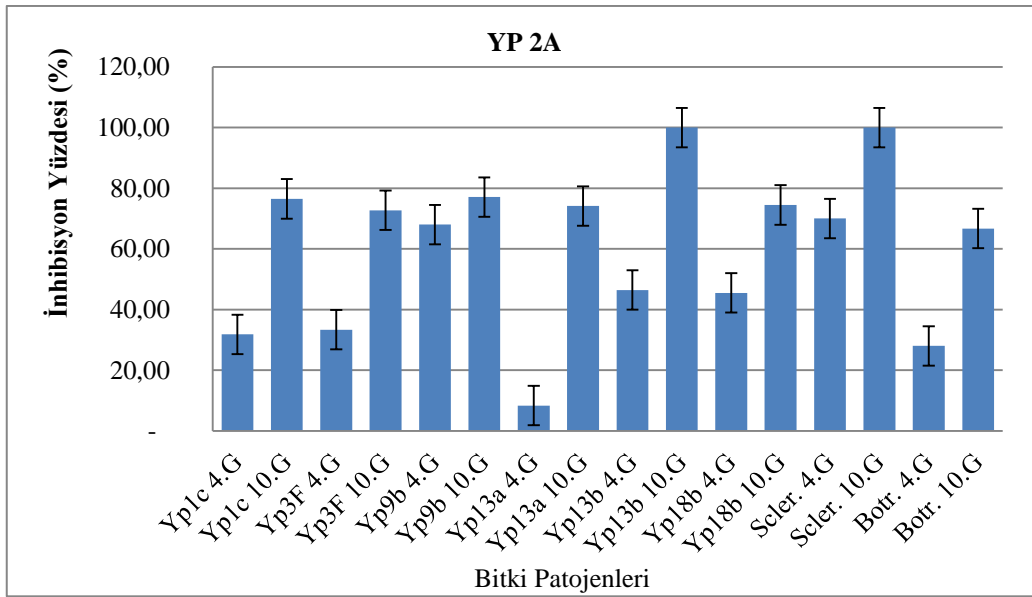
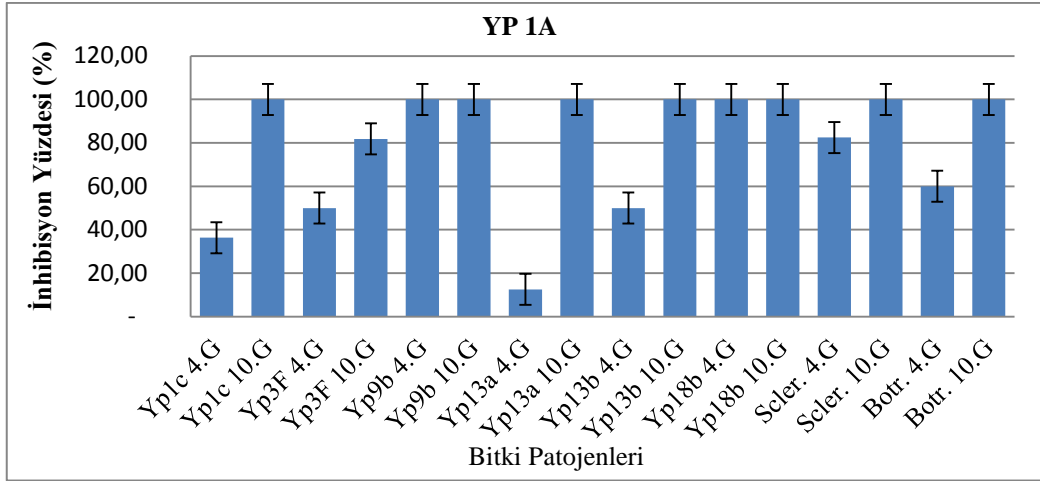
Test edilen *Trichoderma* suşları *Fusarium* suşlarının büyümelerini engellese de, *Fusarium*'un sporüle edilen kısımları üzerinde daha az etkili olduğu gözlenmiştir (Şekil

10-11). *Trichoderma*, patojenin daha fazla büyümesini bastırmak için petrilerdeki patojen mantarın (*Fusarium*) olası tüm taraflarında büyüdü. Her iki patojen, uzun süreli inkübasyon sonrasında kontrol plakalarında tam olarak gelişti. *Trichoderma* suşlarının bazıları patojenle temas etmeyip bir inhibisyon zonu oluştururken bazıları tüm patojeni kapladı ya da patojenin etrafına sarılması ile patojenin spor oluşumunu engellediği gözlemlendi. Bu sonuçlar *Trichoderma* spp.'nin tahrip edici mikoparazitik etkisini göstermektedir. Bu sonuçlar, mevcut *Trichoderma* suşlarından özellikle 3 tanesinin (Yp1a, Yp4a ve Yp24b), test edilen fungal patojenlere karşı bir biyolojik kontrol maddesi olarak kullanılabileceğini gösterdi.

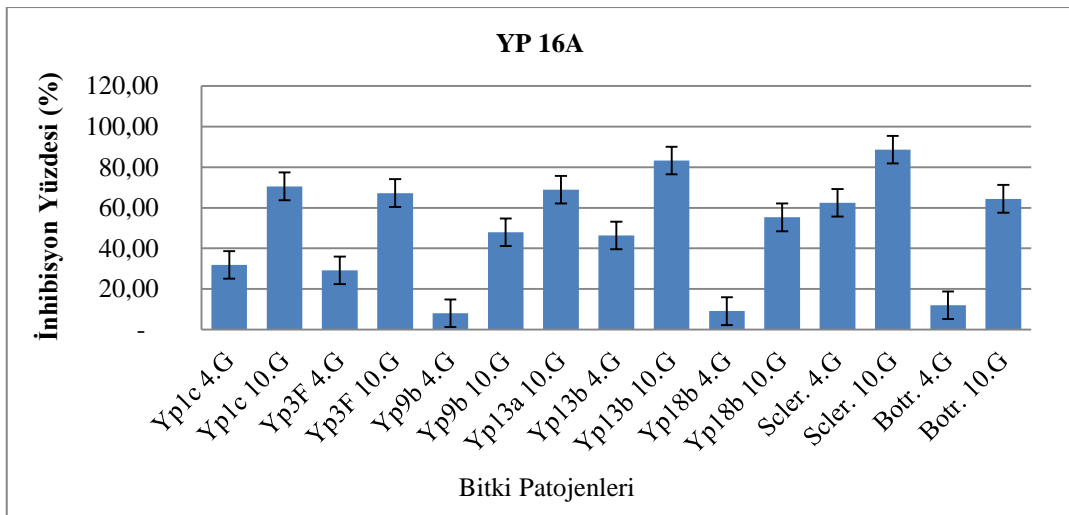
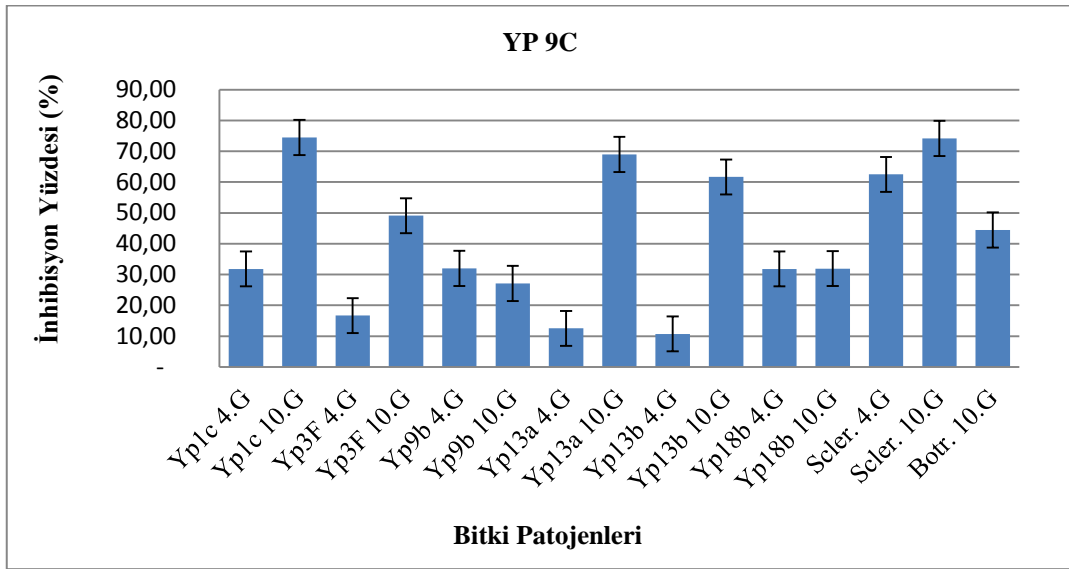
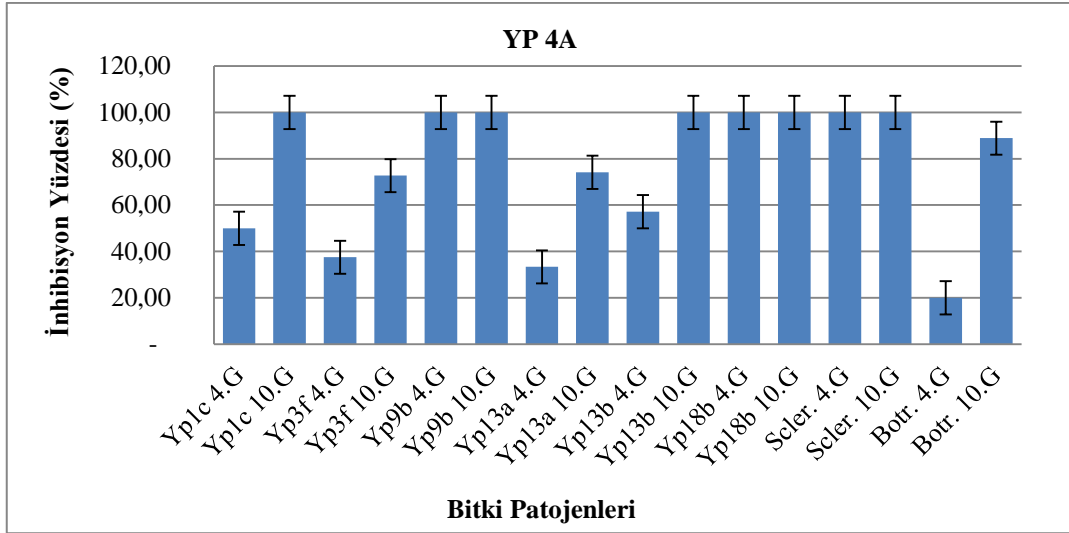
Test sonucunda tüm *Trichoderma* suşlarının test edilen patojen suşlara karşı inhibisyon etkinliğinin var olduğu gözlemlendi. En etkili olarak Yp1a suşunun Yp3f dışındaki bütün potansiyel patojenlere karşı 10. günde %100 inhibisyon oluşturduğu gözlemlendi. En iyi ikinci suş olarak ise Yp4a suşunun Yp3f, Yp13a ve *B. cineria* dışındaki bütün potansiyel patojenlere karşı 10. günde %100 inhibisyon oluşturduğu gözlemlendi. En iyi üçüncü suş olarak ise Yp24b belirlendi. (Tablo 24 ve Şekil 10-11-12-13-14-15)

**Tablo 24.** Çalışmada test edilen örneklerin dual kültür sonuçlarının yüzde (%) inhibisyon değerleri

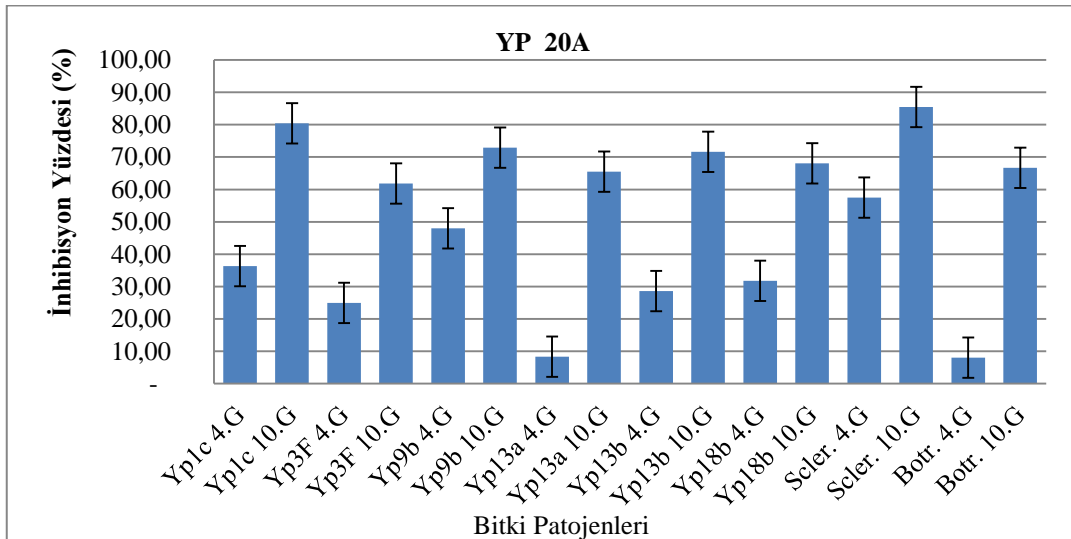
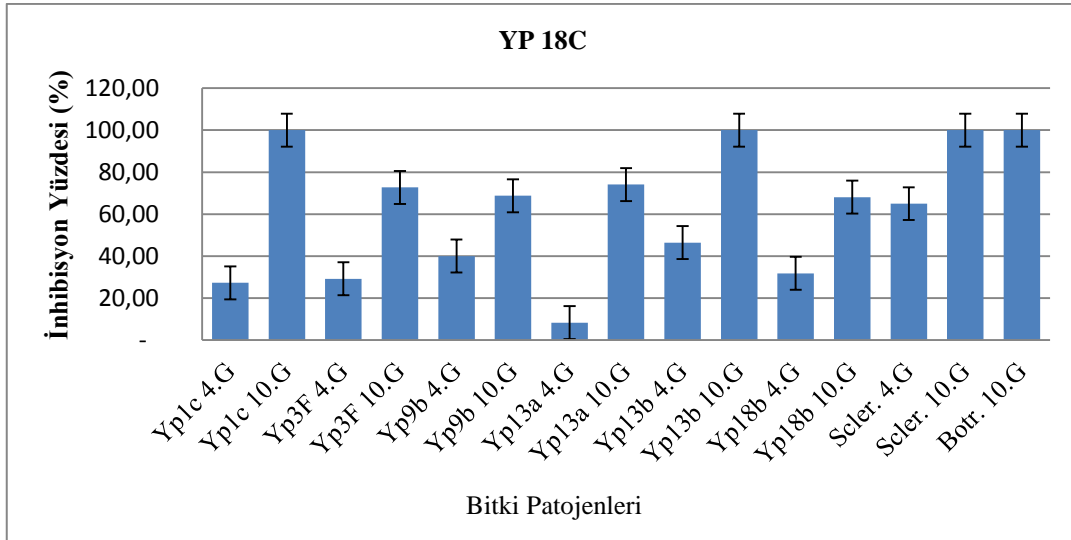
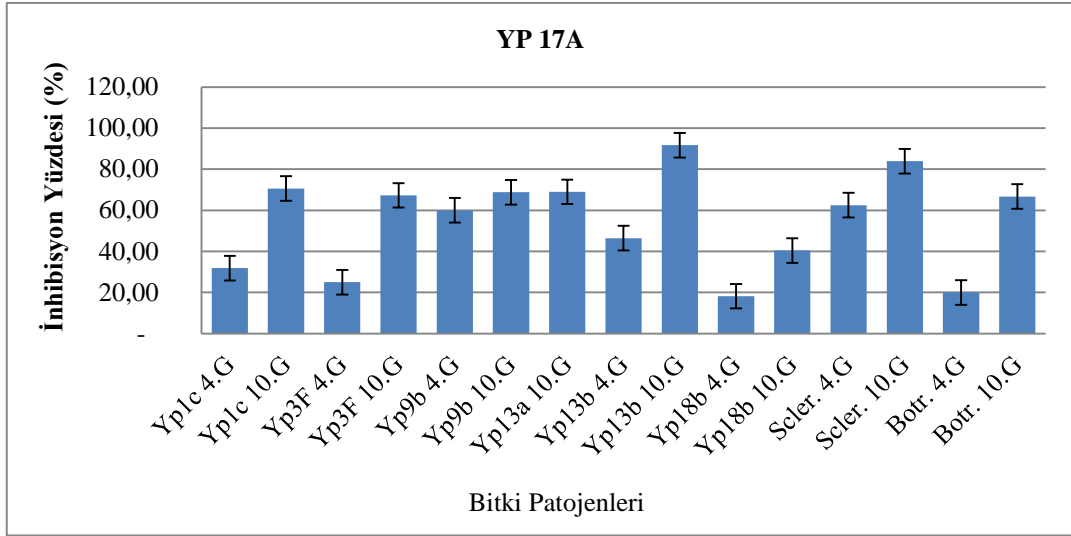
<i>Trichoderma</i> suşlarının 4. ve 10. günlerdeki yüzde (%) inhibisyon değerleri													
Patojenler	Yp1a	Yp 2a	Yp3b	Yp4a	Yp9c	Yp16a	Yp 17a	Yp18c	Yp20a	Yp24b	ID11C	1585	
YP1c	4.g	36,36	31,82	9,09	50,00	31,82	31,82	31,82	27,27	36,36	31,82	36,36	27,27
	10.g	100,00	76,47	76,47	100,00	74,51	70,59	70,59	100,00	80,39	74,51	100,00	70,59
YP3f	4.g	50,00	33,33	16,67	37,50	16,67	29,17	25,00	29,17	25,00	41,67	33,33	25,00
	10.g	81,82	72,73	45,45	72,73	49,09	67,27	67,27	72,73	61,82	72,73	63,64	69,09
YP9b	4.g	100,00	68,00	27,08	100,00	32,00	8,00	60,00	40,00	48,00	100,00	100,00	52,00
	10.g	100,00	77,08	51,72	100,00	27,08	47,92	68,75	68,75	72,92	100,00	100,00	75,00
YP13a	4.g	12,50	8,33	21,43	33,33	12,50	-	-	8,33	8,33	25,00	29,17	41,67
	10.g	100,00	74,14	66,67	74,14	68,97	68,97	68,97	74,14	65,52	70,69	74,14	53,45
YP13b	4.g	50,00	46,43	45,45	57,14	10,71	46,43	46,43	46,43	28,57	46,43	46,43	42,86
	10.g	100,00	100,00	29,79	100,00	61,67	83,33	91,67	100,00	71,67	91,67	81,67	43,33
YP18b	4.g	100,00	45,45	62,50	100,00	31,82	9,09	18,18	31,82	31,82	31,82	100,00	50,00
	10.g	100,00	74,47	75,81	100,00	31,91	55,32	40,43	68,09	68,09	68,09	100,00	74,47
Scler.	4.g	82,50	70,00	-	100,00	62,50	62,50	62,50	65,00	57,50	82,50	80,00	80,00
	10.g	100,00	100,00	48,89	100,00	74,19	88,71	83,87	100,00	85,48	93,55	100,00	100,00
Botr.	4.g	60,00	28,00	9,09	20,00	-	12,00	20,00	-	8,00	20,00	68,00	68,00
	10.g	100,00	66,67	76,47	88,89	44,44	64,44	66,67	100,00	66,67	100,00	100,00	100,00



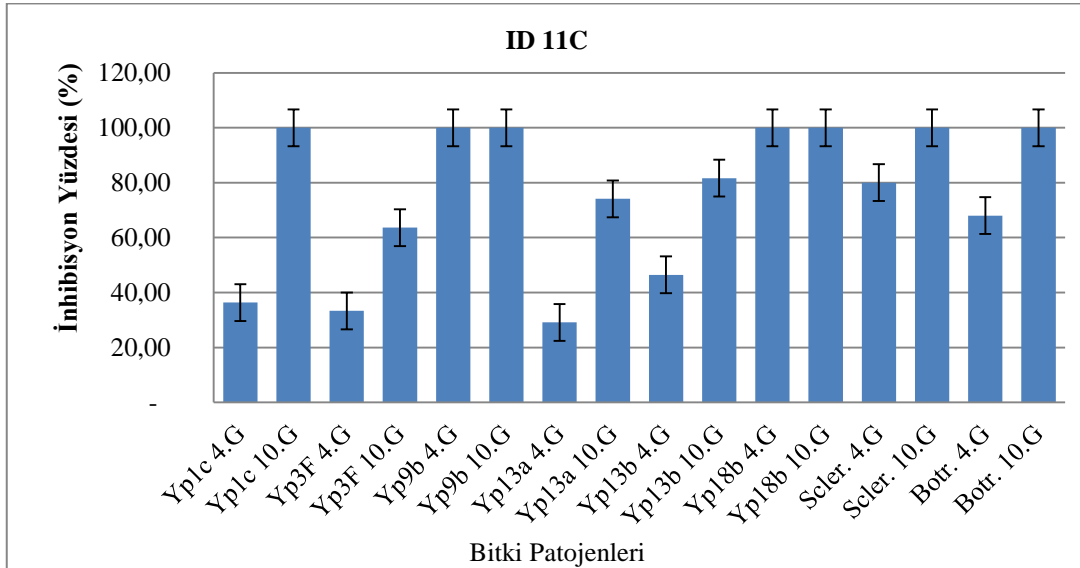
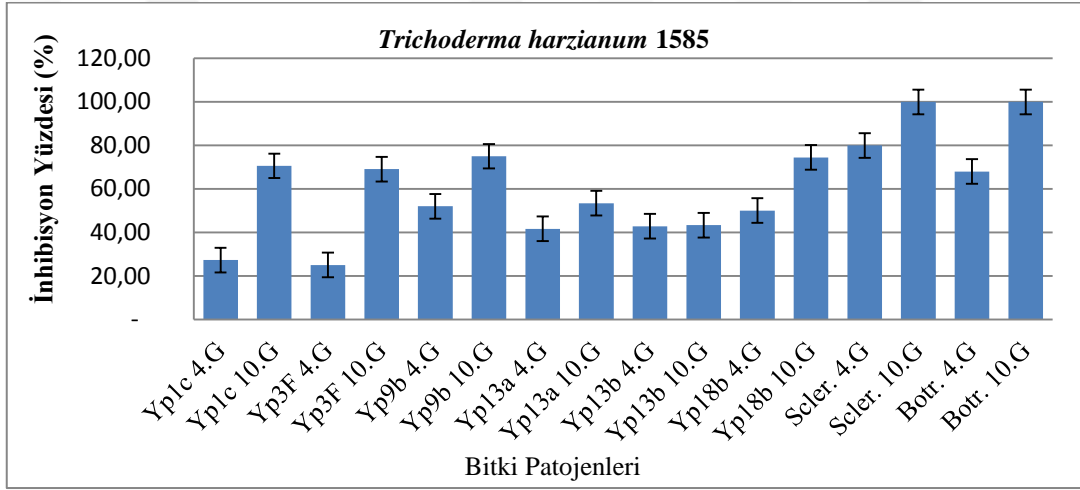
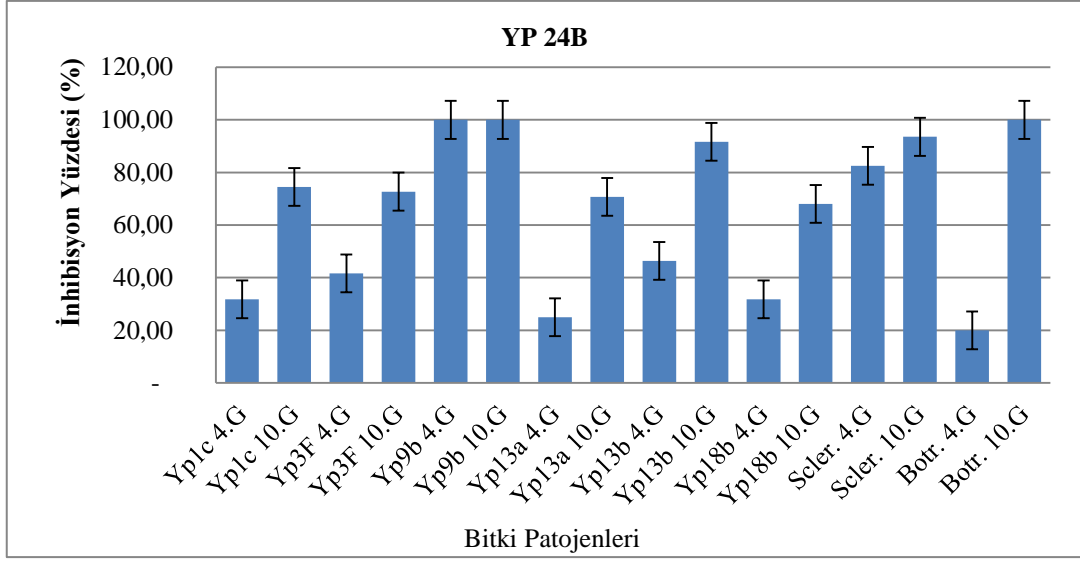
**Şekil 12.** *Trichoderma* ( Yp1a, Yp2a ve Yp3b) suşlarının bitki patojenlerine karşı (Yp1c, Yp3f, Yp9b, Yp13a, Yp13b, Yp18b, *S. sclerotia* ve *B. cineria*) yüzde (%) inhibisyon sonuçlarının dağılımları.



**Şekil 13.** *Trichoderma* ( Yp4a, Yp9a ve Yp16a) suşlarının bitki patojenlerine karşı (Yp1c, Yp3f, Yp9b, Yp13a, Yp13b, Yp18b, *S. sclerotia* ve *B. cineria*) yüzde (%) inhibisyon sonuçlarının dağılımları.



**Şekil 14.** *Trichoderma* ( Yp17a, Yp18c ve Yp20a) suşlarının bitki patojenlerine karşı (Yp1c, Yp3f, Yp9b, Yp13a, Yp13b, Yp18b, *S. sclerotia* ve *B. cineria*) yüzde (%) inhibisyon sonuçlarının dağılımları.



**Şekil 15.** *Trichoderma* suşlarının ( Yp24b, ID11C ve *T. harzianum* 1585) bitki patojenlerine karşı (Yp1c, Yp3f, Yp9b, Yp13a, Yp13b, Yp18b, *S. sclerotia* ve *B. cineria*) yüzde (%) inhibisyon sonuçlarının dağılımları.

### 3.3. Su Agarda Patojenite Testi

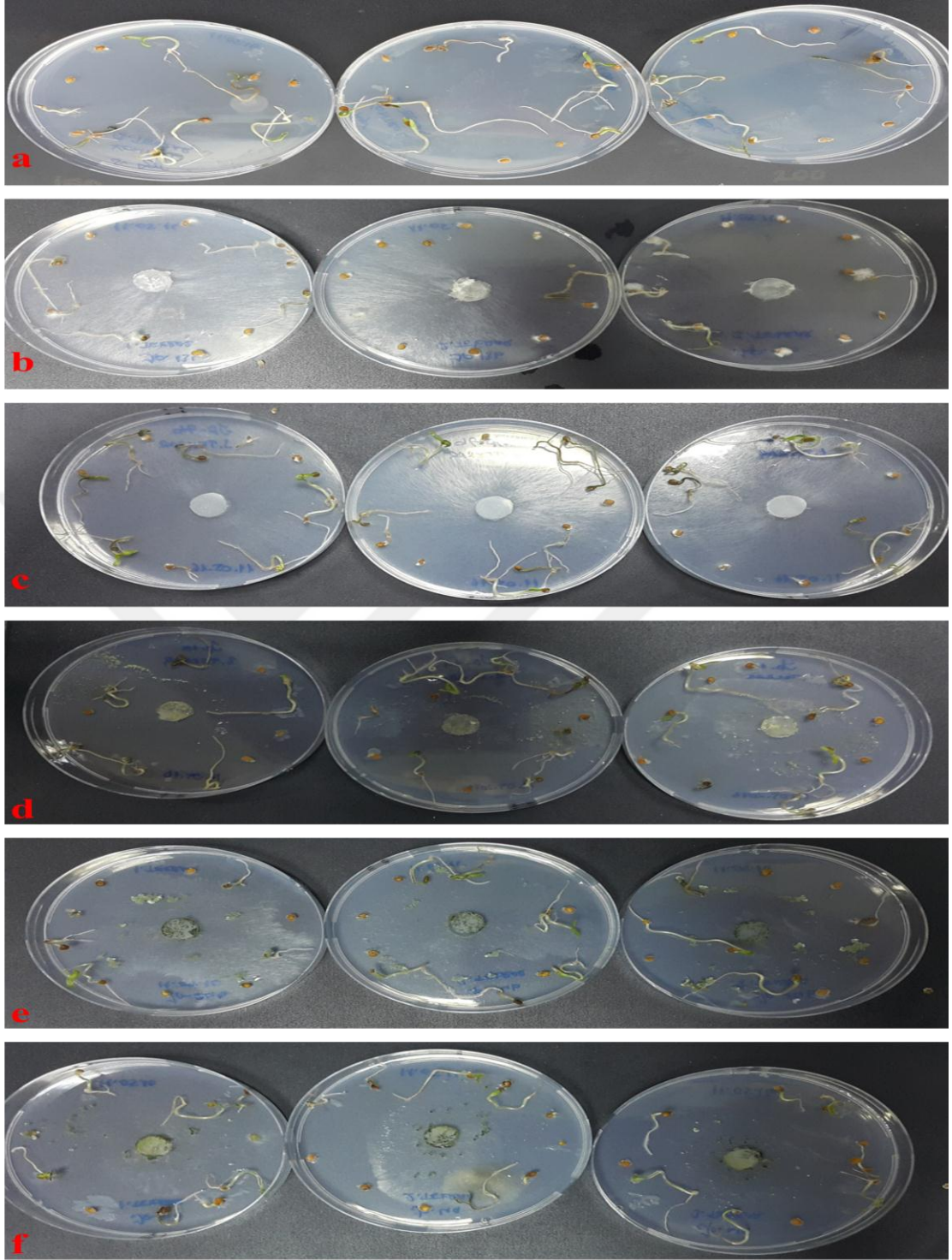
Çalışmada izole edilen *Trichoderma* ve *Fusarium* spp. türlerinin domates tohumu çimlenmesi üzerine patojen etkisinin olup olmadığının belirlenmesi amacıyla su agarı ihtiva eden petri plaklarında test edildi (Şekil 16). Bu amaçla *Fusarium*'lar: Yp1c, Yp3g, Yp4c, Yp4e, Yp7b, Yp9b, Yp13a, Yp13b, Yp14c, Yp18b, Yp19, Yp22a ve *Trichoderma*; Yp1a, Yp4a ve Yp24b suşları kullanıldı. Deneyin 12. gününde çimlenme yüzdesi, ortalama kök ve sürgün uzunluğu değerleri alınarak vigor indeksi hesaplandı (Tablo 25). En yüksek çimlenme başarısı sırasıyla; Yp7b (% 83,3) ve Yp13a (% 76,6), en düşük çimlenme başarısı ise Yp13b (% 36,6) suşlarında gözlemlendi. Test edilen 3 adet *Trichoderma* spp. suşları arasından Yp1a ve Yp4a'nın çimlenme başarısı kontrole en yakın değerde olduğu (sırasıyla % 70, % 66,6) belirlendi. Yp24b'nin ise, çimlenme başarısını % 50 oranında olumsuz etkilediği gözlemlendi. Çimlenen tohumlarda hastalık şiddeti incelendi (Tablo 11). Kontrol grubundaki tohumlarda dahil olmak üzere tüm tohumlarda, hastalık şiddeti 0-4 skala değerleri arasında olduğu gözlemlendi ancak bu verilere tabloda yer verilmemiştir.

**Tablo 25.** Domates tohumunun çimlenmesi üzerine *Fusarium* ve *Trichoderma* spp.'lerin etkinliği ve vigour indeksi (John Christopher vd., 2010).

Gruplar	12. gün ortalama çimlenme başarısı (%)	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Ortalama kök uzunluğu (cm)	Vigour indeksi
Kontrol grubu	70 ± 0	1,96 ± 0,25	2,44 ± 0,4	3,05 ± 0,1
YP1c	53,33 ± 5,77	1,60 ± 0,38	2,04 ± 0,31	1,94 ± 0,6
YP3g	56,66 ± 20,81	1,51 ± 0,24	1,78 ± 0,09	1,85 ± 0,6
YP4c	50 ± 20	1,43 ± 0,46	0,91 ± 0,25	1,17 ± 0,59
YP4e	56,66 ± 11,54	1,35 ± 0,15	1,93 ± 0,11	1,86 ± 0,43
YP7b	83,33 ± 11,54	1,83 ± 0,40	1,74 ± 0,17	2,82 ± 0,16
YP9b	66,66 ± 5,77	1,89 ± 0,40	2,03 ± 0,6	2,59 ± 0,54
YP13a	76,66 ± 25,16	1,02 ± 0,28	1,19 ± 0,15	1,74 ± 0,85
YP13b	36,66 ± 25,16	1,58 ± 0,38	1,70 ± 0,50	1,15 ± 0,86
YP14c	56,66 ± 11,54	1,47 ± 0,24	1,6 ± 0,36	1,73 ± 0,43
YP18b	53,33 ± 5,77	1,08 ± 0,16	1,47 ± 0,54	1,37 ± 0,43
YP19	60 ± 0	1,53 ± 0,69	1,79 ± 1,14	2 ± 1,10
YP22a	53,33 ± 15,27	1,5 ± 0	1,62 ± 0,34	1,66 ± 0,66
<i>Trichoderma</i> spp.				
YP- 1a	70 ± 10	1,7 ± 0,18	1,71 ± 0,04	2,39 ± 0,45
YP- 4a	66,66 ± 5,77	1,67 ± 0,24	1,27 ± 0,03	1,97 ± 0,33
YP- 24b	50 ± 10	1,94 ± 0,29	1,98 ± 0,32	1,83 ± 0,73
ID11C	53,33 ± 20,81	1,36 ± 0,48	1,54 ± 0,21	1,46 ± 0,40

\* tüm örneklemeler 3 tekrarlüdür.





**Şekil 16.** Domates tohumlarının su agarda çimlenme görüntüleri, a: Kontrol grubu, Deney Grupları: b: Tohumlar + Yp13b (*Fusarium sambicum*), c: Tohumlar + Yp7b (*Fusarium* spp.), d: Tohumlar + Yp1a (*Trichoderma* spp.), e: Tohumlar + Yp24b (*Trichoderma*), f: Tohumlar + Yp4a (*Trichoderma* spp.).

Çimlenme deneyi verileri, Shapiro-Wilks'e göre normal dağılım gösterdiğinden dolayı Tukey, Dunnet ve One-way Anova testi yapıldı. Bu testlere göre gruplar arasında çimlenme yüzdesi ve sürgün uzunluğu bakımından kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktur ( $p>0,05$ ). Ancak kök uzunluğu ve vigour indeksi bakımından kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı bir fark olduğu ( $p< 0,05$ ) gözlenmiştir (Tablo 26). Tukey'e göre de Yp7b ile Yp13b (%36,6) arasında çimlenme başarısında anlamlı fark olduğu ( $<0,05$ ) belirlendi (Bu veriler tablo olarak verilmedi).

Dunnet testine göre; çimlenme yüzdesi bakımından kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı bir fark yoktur ( $p> 0,05$ ) ancak sürgün uzunluğunda kontrol ile Yp13a arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu ( $p< 0,05$ ) gözlemlendi (Bu veriler tablo olarak verilmedi). Dunnett testine göre Vigour indeksinde kontrol ile Yp4c, Yp13b, Yp18b ve ID11C suşları arasında ve Tukey'e göre kontrol ile Yp4c ve Yp13b istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ( $p< 0,05$ ). Ortalama değerler sırasıyla Kontrolde  $\bar{x} = 3,05$ , Yp4c de  $\bar{x} = 1,179$ , Yp18b de  $\bar{x} = 1,38$ , Yp13b de  $\bar{x} = 1,15$  olarak belirlendi ve bu suşların kontrole göre çimlenme gelişimini anlamlı bir şekilde azalttıkları gözlemlendi. *Trichoderma*'lar da ise kontrole göre en iyi olan suş Yp1a olduğu ( $\bar{x} = 2,40$ ) bunu sırasıyla Yp24b ( $\bar{x} = 2,02$ ) ve Yp4a ( $\bar{x} = 1,98$ ) izlediği belirlendi (Tablo 26).

**Tablo 26.** Domates tohumu çimlenme deneyi verilerinin Anova testine göre analizleri.

ANOVA	Karelerin toplamı	Serbestlik derecesi	Ortalamanın karesi	F	Önem derecesi
Gruplar arasında	6192,157	16	387,010	1,880	,060
CM Gruplar içinde	7000,000	34	205,882		
Toplam	13192,157	50			
Grouplar arasında	3,373	16	,211	1,741	,086
SU Grouplar içinde	4,117	34	,121		
Toplam	7,490	50			
Grouplar arasında	6,269	16	,392	2,195	,027
KU Grouplar içinde	6,069	34	,178		
Toplam	12,338	50			
Grouplar arasında	13,745	16	,859	2,529	,011
VGI Grouplar içinde	11,549	34	,340		
Toplam	25,294	50			

CM: Çimlenme Başarısı, KU: Kök Uzunluğu, SU: Sürgün uzunluğu, VGI: Vigour indeksi

### 3.4. Saksıda Patojenite Deneyi

Bu çalışma, patojen etken varlığında (biyotik stres) bitki gelişimini teşvik eden *Trichoderma* spp. suşlarının etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır. Bu amaçla ikili kültür (anti fusarial etkinlik) deneyinde en iyi (*Fusarium* türlerini en fazla engelleyen) olarak belirlenen üç adet *Trichoderma* spp. (Yp1a, Yp4a ve Yp24b) suşu kullanıldı (Tablo 24, Şekil 12-13-14-15). Patojen olarak *Fusarium* spp. seçiminde ise çimlenme deneyi sonucunda elde edilen verilerle hesaplanan vigour indeksi ve diğer parametrelere göre çimlenmeye en yüksek patojen etkinlik gösteren suş (*Fusarium sambucinum* - Yp13b) belirlendi ve kullanıldı. Saksı deney düzeneği Tablo 12' ye göre düzenlendi.

Çalışma laboratuvar şartlarında iklim dolabında gerçekleştirilmiş olup kırk beş gün süren deneyin sonucunda büyütülen domates bitkilerinin her birinin gövde çapı,

bitki uzunluğu gibi bir dizi parametreler belirlenerek gözlem ve ölçümleri yapılmıştır (Tablo 27, Şekil 17).

**Tablo 27.** *Trichoderma* spp. suşları ve *Fusarium sambucinum* (Yp13b) izolatlarının biyokontrol/patojenite sonuçlarına göre bitki gelişim parametre değerleri.

Gruplar	Saksı numa rası	Gövde çapı (mm)	Bitki uzunluğu (cm)	Saçak sayısı	Yaprak sayısı	Kökte lezyon skalası*	Bitki yaş ağırlık (gr)	Bitki kuru ağırlık (gr)
Kontrol	1	2,73	36,5	27	11	0	10,865	1,418
	2	2,455	46,75	20	9,5	0	9,67	0,8695
	3	1,19	21,5	11	6	0	3,433	0,2365
Ort.		2,25	34,91	19,33	8,83	0	7,98	3,365
Yp 13b Kontrol	1	3,375	34,5	19,5	10	1	11,015	0,931
	2	2,38	38	27,5	9	1	8,315	0,618
	3	2,63	32,25	28	9	1	8,255	0,619
Ort.		2,795	34,91	25	9,33	1	9,19	0,722
Yp 1a Kontrol	1	3,83	43	27,5	11	0	8,655	1,1905
	2	3,965	45,75	27,5	9,5	0	12,51	0,9425
	3	3,89	47,25	40	11,5	0	15,99	1,773
Ort.		3,89	45,33	31,66	10,66	0	12,38	1,302
Yp 1a + Yp 13b	1	1,925	26,25	25,5	6,75	1	5,92	0,5265
	2	2,325	31	20,5	9	0	8	0,7585
	3	2,46	40	28	9,5	2	11	1,005
Ort.		2,23	32,41	24,66	8,416	1	8,30	0,763
Yp 4a Kontrol	1	3,35	36,25	25,5	10,5	0	11,66	0,9205
	2	3,905	51,5	23	9,5	0	12,14	0,864
	3	3,34	46,25	31	9	0	11,09	1,1225
Ort.		3,53	44,66	26,5	9,66	0	11,63	0,969
Yp 4a + Yp 13b	1	3,405	41,75	29	9,25	0	10,65	1,012
	2	1,925	29	13	7	0	6,225	0,433
	3	1,62	15,5	11,5	5	0	2,82	0,211
Ort.		2,31	28,75	17,83	7,08	0	6,56	0,552
Yp 24b Kontrol	1	3,17	38,25	25	9,5	0	12,705	1,394
	2	3,17	39,25	29,5	11,5	0	12,445	1,2885
	3	2,73	39	31	10	0	10,815	1,068
Ort.		3,02	38,83	28,5	10,33	0	11,98	1,25
Yp 24b + Yp 13b	1	2,465	52	32	10,5	1	16,75	1,1755
	2	2,57	47,5	21	10	0	10,805	0,948
	3	1,285	9,25	7	3	1	1,14	0,0805
Ort.		2,1	36,25	20	7,83	0,66	9,56	0,73

\*Huh ve Om (2002) ve Ay (2008) göre modifiye edilen 0-4 skalası kullanıldı.

Çimlenme deneyinin sonucunda patojenik etki en yüksek ve vigor indeksi en düşük olduğu için seçilen *F. sambucinum* (Yp13b) suşunun çimlenme deneyinde aynı patojenik etkinliği göstermediği belirlendi. Sadece kökte lezyon skalasında ve kuru ağırlık değerlerinde negatif kontrole göre daha düşük (patojen etki) değerler elde edildi. Diğer ölçüm sonuçlarında negatif kontrol grubu ile benzer ya da daha yüksek veriler gözlemlendi.

*Trichoderma* suşları tek başına kullanıldığında kökte lezyon oluşturmadığı dolayısıyla domates bitkisi için patojenik bir etki göstermediği teyit edildi. *Trichoderma* (Yp1a)'nın tek başına negatif kontrol ve *F. sambucinum* (Yp13b) kontrol grupları ile kıyaslandığında bitki kuru ağırlığı hariç tüm parametrelerde daha yüksek değerler (daha iyi) verdiği belirlendi. Dolayısıyla *Trichoderma*'lar arasında en yüksek biyokontrol yeteneğine sahip suş olduğu gözlemlendi. Yp24b, biyokontrol aktivite olarak gövde çapı ve bitki uzunluğu parametreleri dışındaki değerleri Yp4a'ya göre daha etkili olduğu, dolayısıyla ikinci en iyi biyokontrol ajanı olduğu gözlemlendi.



Şekil 17. Saksıda patojenite testi. Deney gruplarının sonlandırılmadan (45. gün) önceki görünümleri.

Yapılan istatistiksel analizde Anova testine göre gruplar arasında gövde çapı (P=0,008) ve kökte lezyon skalası (P=0,010) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu (P<0,05) gözlemlendi (Tablo 28). Çoklu karşılaştırmada (Dunnnett testine) gövde çapı verilerinde, kontrol grubu ( $\bar{x}$  : 2,125) ile *Trichoderma* Yp1a ( $\bar{x}$  : 3,895) ve Yp4a ( $\bar{x}$  : 5,2975) suşları içeren gruplar arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi.

**Tablo 28.** Saksı deneyi verilerinin Anova testine göre analizleri.

ANOVA		Karelerin toplamı	Serbestlik derecesi	Ortalamanın karesi	F	Önem derecesi
GC	Gruplar arasında	9,763	7	1,395	4,268	,008
	Gruplar içinde	5,229	16	,327		
	Toplam	14,992	23			
BU	Gruplar arasında	689,685	7	98,526	,782	,612
	Gruplar içinde	2015,000	16	125,938		
	Toplam	2704,685	23			
SS	Gruplar arasında	486,740	7	69,534	1,290	,316
	Gruplar içinde	862,667	16	53,917		
	Toplam	1349,406	23			
YS	Gruplar arasında	31,531	7	4,504	1,062	,430
	Gruplar içinde	67,833	16	4,240		
	Toplam	99,365	23			
KLS	Gruplar arasında	4,667	7	,667	4,000	,010
	Gruplar içinde	2,667	16	,167		
	Toplam	7,333	23			
BYA	Gruplar arasında	93,419	7	13,346	,911	,523
	Gruplar içinde	234,415	16	14,651		
	Toplam	327,835	23			
BKrA	Gruplar arasında	1,471	7	,210	1,435	,259
	Gruplar içinde	2,344	16	,147		
	Toplam	3,816	23			

GC: Gövde Çapı      BU : Bitki Uzunluğu      SS : Saçak Sayısı      KLS : Kökte Lezyon Skalası

BYA : Bitki Yaş Ağırlığı      BKrA : Bitki Kuru Ağırlığı

Çoklu karşılaştırmada (Dunnnett testine) kökte lezyon sayısına bakıldığında kökte lezyon skalasında (KLS) Kontrol ( $\bar{x}$  : 0) grubuna göre *Fusarium* Yp13b ( $\bar{x}$  : 1) ve *Trichoderma* Yp1a + *Fusarium* Yp13b ( $\bar{x}$  : 1) grupları arasında anlamlı bir farklılığın (P<0,05) olduğu gözlemlendi (Anova). Diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

Bitki yaş ağırlığının analizinde Student-Newman-Keuls testine göre ortalama değerler 6,5650 ile 12,3850 gr arasında değiştiği gözlemlendi. *Trichoderma* Yp4a - *Fusarium* Yp13b'nin birlikte uygulandığı grubun, tüm kontrol gruplarına göre daha düşük değerler verdiği belirlendi. En yüksek bitki yaş ağırlığın (BYA) *Trichoderma* kontrol gruplarında (sırasıyla Yp1a, Yp24b ve Yp4a) olduğu belirlendi. Bitki yaş ağırlığı bakımından, *Trichoderma* Yp1a - *Fusarium* Yp13b ( $\bar{x}$  : 8,3067) grubu, *Fusarium* Yp13b grubundan ( $\bar{x}$  : 9,1950) daha az olmasına karşın, *Trichoderma* Yp24b - *Fusarium* Yp13b ( $\bar{x}$  : 9,5650) birlikteliği daha yüksek ağırlığa sahipti. Bu sonuçlar, bitki yaş ağırlığı bakımından *Trichoderma* Yp1a kontrol grubunun tek başına, *Trichoderma* Yp24b'nin ise *Fusarium* Yp13b ile birlikte daha güçlü teşvik edici mikroorganizma olduğunu göstermektedir (Tablo 27 ve Tablo 28).

Bitki kuru ağırlığının analizinde Student-Newman-Keuls testine göre ortalama değerler 0,5520 ile 1,3020 g arasında değiştiği gözlemlendi. Kontrol grubuna ( $\bar{x}$  : 0,8413 g) göre sırasıyla daha düşük değer taşıyan gruplar *Trichoderma* Yp4a - *Fusarium* Yp13b ( $\bar{x}$ : 0,5520), *Fusarium* Yp13b kontrol ( $\bar{x}$ : 0,7227), *Trichoderma* Yp24b - *Fusarium* Yp13b ( $\bar{x}$ : 0,7347) ve *Trichoderma* Yp1a - *Fusarium* Yp13b ( $\bar{x}$ : 0,7633)'de gözlemlendi. *Trichoderma* kontrol gruplar ise, negatif kontrole göre daha iyi oldukları, sırasıyla en yüksek değer *Trichoderma* Yp1a ( $\bar{x}$ : 1,3020), Yp24b ( $\bar{x}$ : 1,2502), ve Yp4a ( $\bar{x}$ : 0,96900)'da gözlemlendi. Bu sonuçlara göre; *Trichoderma* Yp1a'nın hem tek başına hemde patojen ile birlikteliğinde kuru, yaş ağırlığı açısından en iyi teşvik edici ajan olduğu gözlemlendi (Tablo 27 ve Tablo 28).

Verilerin homojen alt grupların dağılımına bakıldığında (Student Newman-Keuls) gövde çapı (GC) açısından 3 grup oluşturduğu gözlemlendi. Ortalama gövde çapı en düşük (2,1067-2,3167) grup sırasıyla düşükten yükseğe *Trichoderma* Yp24b-*Fusarium* Yp13b, Kontrol, *Trichoderma* Yp1a - *Fusarium* Yp13b ve *Trichoderma* Yp4a - *Fusarium* Yp13b şeklinde sıralanmıştır. İki grubun kesişiminde yer alan ikinci grup ise ( $\bar{x}$ : 2,7950 - 3,5317) sırasıyla *Fusarium* Yp13b kontrol, *Trichoderma* Yp24b kontrol ve *Trichoderma* YP4a kontrol grubundan oluşmaktadır. Üçüncü grup ise *Trichoderma* Yp1a kontrol grubundan oluşmakta olup en kalın ( $\bar{x}$ : 3,8950) gövde yapısına sahip olduğu belirlendi (Tablo 29).



**Tablo 29.** Saksı deneyinde gövde çapı verilerinin homojen alt grupların dağılımına (Student Newman-Keuls) göre analizleri.

GC	Grup	N	1 Küme	2 Küme
Student- Newman- Keuls <sup>a</sup>	1. <i>Trichoderma</i> Yp24b - <i>Fusarium</i> Yp13b	3	2,1067	
	2. Negatif Kontrol grubu	3	2,1250	
	3. <i>Trichoderma</i> Yp1a - <i>Fusarium</i> Yp13b	3	2,2367	
	4. <i>Trichoderma</i> Yp4a - <i>Fusarium</i> Yp13b	3	2,3167	
	5. <i>Fusarium</i> Yp13b kontrol	3	2,7950	2,7950
	6. <i>Trichoderma</i> Yp24b kontrol	3	3,0233	3,0233
	7. <i>Trichoderma</i> Yp4a kontrol	3	3,5317	3,5317
	8. <i>Trichoderma</i> Yp1a kontrol	3		3,8950
	p Değeri ( $\leq 0,05$ )		0,087	0,126

GC: Gövde Çapı

Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında Yp1a suşunun tek başına kullanıldığında iyi bir biyokontrol ajan olduğu, Yp13b ile kullanıldığında ise saçaklanma sayısı ve su tutma kapasitesi açısından hem negatif hem de pozitif kontrole göre daha yüksek olumlu etkinliğe sahip olduğu gözlemlendi.

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Bu çalışma 2014-2015 yılları arasında Rize'nin Pazar ilçesi Kirazlık mahallesinde (Enlem 41,1784, boylam 40,9081) bahçe toprağından alınan toprak ve hastalıklı sebze örneklerinin mikolojik incelemesini içermektedir. Sebze (domates başta olmak üzere biber ve patlıcan) bahçesinde gözlenen fungal kökenli hastalık etkenlerinin belirlenmesi ve bu etkenlere karşı doğal biyokontrol özellik gösterebilecek fungal ajanların varlığının araştırılması temel hedef olarak belirlendi. Dolayısıyla bu çalışma domates büyüme ve verim parametrelerini arttırmak ve *in vivo*, *in vitro* koşullar altında *Fusarium* solgunluğu ve kök çürüklüğü hastalıklarına karşı biyokontrol etkinlik gösterebilecek yerel *Trichoderma* spp. türlerinin belirlenmesi ve etkinliğinin ortaya konması amaçlandı.

##### 4.1. Mikrofungus İzolasyonu ve Karakterizasyon

Çalışmada toplam 25 örnekleme yapılmış, hem toprak hem de bitki materyali incelenmiştir (Tablo 14). Örneklerden yapılan ekimlerde toplam 108 mikro fungus izole edilmiştir (Tablo 15). Geleneksel yöntemlere göre yapılan tür tanısında örneklerin büyük bir kısmının atmosferik fungusları içerdiği belirlendi (Tablo 16). Tanımlanan türlerin buldukları bölümlere bakıldığında tümünün *Zygomycota* ve *Ascomycota* takımında yer aldıkları gözlemlendi (Tablo 17).

Çalışmamızda en sık izole edilen türlerden biri olan *Mucor* spp., Mucorales takımında yer almaktadır. Bu türler, toprakta, hayvan gübresinde ve her yerde bulunabilen çoğunlukla saprofit olan, ancak bir kaç bitkiler ve hayvanlar üzerinde parazit olabilen mikrofunguslardır (Webster ve Weber, 2007). *Aureobasidium pullulans*, ana yaşam alanları canlı ve yaşlanan bitkilerin yaprak yüzeyi ve diğer yüzeyleri olup, her yerde bulunan bir saprotrof mikrofungustur. Toprakta bolca bulunmakta olup semptomsuz bir endofit olarak da bitkilerde bulunabilir (Domsch vd., 1980). Teleomorfu, *Discosphaerina fulvida* olup *Mycosphaerella* spp. ile akraba olduğu bildirilmektedir (Yurlova vd., 1999).

Pratik mikoloji Eurotiales ordosunda yer alan *Aspergillus* ve *Penicillium* spp.

türleri, mantarların en önemli grupları arasında yer alır çünkü *Aspergillus* ve *Penicillium* anamorfik cinsleri başta olmak üzere birçok yerde kolayca tanınan türleri barındırır. Hemen hemen her çevresel ortamda; toprak, su, rizosfer, hava ve kapalı veya açık gıda ortamlarında bolca bulunan mikrofunguslardır. Birçok *Aspergillus* ve *Penicillium* türünün önemli bir özelliği, bunların kseroofilik olması yani diğer bir deyişle 0.85 veya daha düşük bir su potansiyeline (aW) sahip olmasıdır. Bu durum da çok geniş habitatlarda yaşamasını mümkün kılmaktadır (Lacey, 1994; Filtenborg vd., 2002). *Epicoccum spp.* çürüten bitki materyali ve topraklarda çok yaygın bulunmakta olup *Epicoccum nigrum* türü, Webster, (1966) tarafından bildirilmiştir.

Birçok *Hypocreales* grubu mantarlar (*Mycogone spp.* gibi ) bitki alt katmanlarının zemin üstünde, toprakta veya tatlı suda çürümesinde aktif olan saprofit türlerdir. *Nectria* ve *Fusarium spp.* gibi diğer türler ciddi bitki patojenidir. Diğer mantarları parazitlenme kabiliyeti *Trichoderma*, *Gliocladium* ve *Clonostachys* türlerini kullanarak, bitkilerin mantar patojenlerinin biyolojik kontrolü için çalıştırılmıştır (Webster ve Weber, 2007).

*Mortierella*'nın yaklaşık 90 türü, çoğunlukla topraktan, rizosferden ve toprağa temas eden bitki veya hayvan kalıntılarında varlığı bilinmektedir (Gams, 1977; Domsch vd., 1980). Bu mantarlar, daha kuvvetli kalıpların büyümesini önleyen, besin maddelerinden yoksul ortamlarda kolaylıkla izole edilebilir. Birçok tür psikofilitiktir ve izolasyon ortamı 0 °C' ye yakın yerde inkübe edilirse topraktan mantar izolatlarının bir kısmını içerebilir (Carreiro ve Koske, 1992).

*Paracedosporium spp.* Microascales takımında yer alan saprofitik mantar türlerini içermektedir. *Dothideomycetes spp.* türü, *Dothidomycetes*, (*Loculoascomycetes* olarak da bilinir) *Ascomycete* mantarlarının en geniş ve en çeşitli sınıfıdır. Bu, 11 ordo, 90 familya, 1300 cins ve 19.000'in üzerinde bilinen türden oluşur (Kirk vd., 2001). *Dothidomycetes* sıklıkla canlı bitkilerin patojenleri olabildiği, ayrıca yaprak çöpü veya gübresi içinde ölü veya kısmen sindirilmiş bitki maddelerinde selüloz ve diğer karmaşık karbohidratları indirgeyen saprofit tür oldukları bildirilmektedir. Bununla birlikte beslenme biçimleri bitkilerle olan ilişkilerle sınırlı değildir. Bazı türleri likenlerde, bazıları diğer mantar veya hayvanlar alemi üyeleri üzerinde parazitler olarak

görüldükleri bildirilmektedir (URL 5).

*Cladosporium spp.* (Teleomorfu *Mycosphaerella spp.*) Ascomycota filumunda en fazla bulunan, 2000'in üzerinde tanımlanmış tür içeren bir gruptur (Corlett, 1991). Bununla birlikte, isimlerden çoğu esas olarak bir *Mycosphaerella*'nın belirli bir konakçı bitki ile birleşmesine dayanmaktadır. *Cladosporium* türleri sporları (konidia) en bol bulunan mantar türlerinden biri olup, muhtemelen gıda maddeleri, tekstil ve boya sanayinde en sık rastlanan kontaminant türdür. Laboratuvarında diğer mantarların kültürlerini sıkça kontamine eder. *Cladosporium herbarum* ve *Alternaria alternata* ve *Aspergillus fumigatus* gibi diğer yaygın türler ile birlikte insanlarda ciddi astım etkeni olarak ilişkilendirilmektedir (Zureik vd., 2002).

*Geothricum spp.* (anamorfik *Galactomyces*) ise toprakta, suda, havada ve kanalizasyonda olduğu gibi bitkilerde, tahıllarda ve süt ürünlerinde bulunan mantarların bir türüdür. Yaygın bir toprak mantarı olup süt ve süt ürünleri kontaminantı olarak da bilinmektedir (Webster ve Weber, 2007).

Çalışmamızda *Trichoderma* ve *Fusarium* dışında izole edilen tüm izolatların, geleneksel tanı metodlarıyla yapılan tanımlamada kaynakçada verilen kaynaklardan yararlanılmış olup toprakta yaygın bulunan saprofit türler olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle bu izolatlar toprak mikrobiyal çeşitliliğini değerlendirmek üzere cins düzeyinde tanımlanmış ve daha fazla üzerinde durulmamıştır. Mikofungus çeşitliliği açısından bakıldığında Ascomycota ve Zygomycota takımına ait toplam 17 farklı tür izole edilmiş olup oldukça zengin bir flora olduğu gözlenmektedir (Tablo 17).

*Fusarium* türleri, her türlü iklime adapte olabilen, geniş tür çeşitliliğine sahip ve çok sayıda bitkide hastalık meydana getirebilen kompleks bir gruptur. Toprakta ve organik materyaller üzerinde çok yaygın bir tür olup kutuplardaki donmuş topraklardan Sahra çölündeki kumlara kadar çok geniş bir yayılım alanı vardır. Hayvanlarda ve insanlarda hastalık oluşturabilen ve yine insan ve hayvanlar için depo edilmiş ürünlerin üzerinde toksin üreten suşlar içermektedir. Bir çok toprak mantarının yüksek oranda hayatta kalma imkanı; yeni çevrelere, gerek morfolojik gerekse fizyolojik olarak hızlı

bir değişim kapasitesine sahip olması ile açıklanabilir. Farklı çevre şartlarına bağlı olarak besiyeri çeşitliliği *Fusarium* türlerinin gerek morfolojik olarak gerekse koloni rengi olarak farklılıklarının oluşmasına neden olur. Bu yüzden minimal besi ortamında koloni rengi ve şeklinin incelenmesi birçok bitki patoloğları tarafından kabul edilmektedir (Booth, 1971). *Fusarium* cinsinin tanımlanması çeşitli yönlerden karmaşıktır. Makrokonidyumun şekli ve boyutu, mikronidyum ve klamydosporların varlığı veya yokluğu ve koloni morfolojisi gibi morfolojik özellikler genellikle tür seviyesinde tanımlanmaya izin vermek için yetersizdir. Buna ek olarak, bu gözlemlerin bazı uygulamalara ihtiyacı vardır ve uzman olmayan kişiler için zordur (Windels, 1991; Bluhm vd., 2002).

Buna istinaden çalışmamızda da koloni morfolojisi için su agarı ve PDA besiyeri kullanıldı (Tablo 18). İzolatların morfolojik olarak; mono veya polifialid içeriği, makro veya mikrokonidia oluşturması, clamidiaspor varlığı ve karanlık, aydınlık ortamda, petrilerin alt ve üst yüzey görünümleri karakterize edildi. İzolatların belirlenen özellikleri geleneksel yöntemle tanıda önemli kriterler olmasına rağmen çok sayıda tür içermesinden dolayı bu veriler karakterizasyon için kullanılmış olup moleküler tanıyla desteklenmeye gerek duyulmuştur (Tablo 19). Yp1c moleküler yöntemle *Fusarium solani* olarak tanımlanmış olup geleneksel yöntemle belirlenen özelliklerin (monofialid oluşu makro ve mikrokonidya içeriği, klamidyasporun terminal, interkalar olabileceği, koloninin hızlı gelişebilme özelliği, petri alt ve üst yüzeylerde farklı renk içerikleri) kaynaklarda belirtilen özelliklerle benzer olduğu gözlenmiştir. *F. solani* en yaygın olan ve en iyi bilinen türdür (Gerlach ve Nirenberg, 1982).

*Trichoderma*'da morfolojik gözlemler için farklı laboratuvarlar gereçleri ve çeşitli besiyeri kültürleri kullandı. Genel olarak, malt özü agar (% 2) gibi nispeten basit bir ortam, konidinin üretimi ve kompleks dallanma konidyoforlarının (makronematöz) gözlenmesi için yararlıdır. Patates dekstroz agar (PDA) gibi zengin bir kültür ortamı, pigment üretimini gözlemlenmek ve DNA izole etmek için miselyum hasadı için yararlıdır. Konidiyaför yapısı ve morfolojisi konidya olgunlaştığında (genellikle inkübasyon 4-7 gün sonra) konidyojen püstüller veya kültürün kenarından (fascicles) alınan conidioforlar gözlenir. Konidyanın morfolojisi ve boyutu, büyümenin yaklaşık

14. gününden sonra olgunlukla gözlemlenir. Karakteristik morfolojilere dayanan tür veya tür topluluklarının ön tanımlanması, mevcut taksonomik literatürde anahtarlar ve tanımlar kullanılarak yapılır (Bissett 1984, 1991a, b, c, 1992; Gams ve Bissett, 1998). Buna istinaden çalışmamızda da *Trichoderma* izolatlarının karakterizasyonunda her iki besiyeri, literatürde belirtilen anahtarlar ve tanımlar kullanılarak geleneksel yöntemle göre morfolojik olarak tanımlanmış olup üç farklı grupta toplanmıştır (Tablo20).

Çalışmamızda hem geleneksel hem de moleküler yöntemlerle identifikasyon yapılmış olup, toplam 24 *Trichoderma* izolatu tanımlanmış, bunların 15'i *Tichoderma* benzeri, birer örnek ise *Longibrachiatum* ve *Pachybasium* benzeri olarak tanımlanmıştır (Tablo 20 ve Tablo 21). Çalışmamızda 15 izolatu *Trichoderma* benzeri spor ve kültür özelliklerine sahip olduğu gözlemlendi. Tür dağılımı açısından bakıldığında ise; *T. atroviridea* ve *T. auroviride* türleri belirlendi. Bir izolatu (Yp24b) *Longibrachiatum* benzeri başka bir izolatu ise (Yp18c) *Pachybasium* bezneri olduğu belirlendi (Tablo 20 ve Şekil 6-7).

*Trichoderma*'nın taksonomisi ve biyoçeşitliliği üzerine pek çok ülkede kapsamlı çalışmalar yapılmıştır (Bissett 1991a, b, c, 1992). Bu çalışmalar *Trichoderma*'ların heterojen bir dağılım ve biyoçeşitlilik gösterdiğini, iklime ve tarımsal yönetim uygulamalarına, mikroklimatik bileşenlere, substratın bulunabilirliğine, rizosfer birliklerine, toprak kimyasına, kompleks ekolojik etkileşimlere ve daha birçok faktöre bağlı olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda bu bilgilerle benzerlik göstermekte olup üç grup içinde toplam 6 farklı tür *Trichoderma* spp. belirlenmiştir (Tablo 20 ve Şekil 6-7).

*Trichoderma harzianum*, cinsin en yaygın türüdür ve iki nedenden ötürü *Trichoderma*'nın en ekonomik türüdür. Bazı suşları bitki hastalıklarına neden olan mantarların biyolojik kontrolünde kullanılır. *T. harzianum* türü, tam anlamıyla, bitki patojenik mantarların biyolojik kontrolünde sıklıkla kullanılan suşları içermektedir. Diğer ekonomik öneminin nedeni ise bazı suşların ticari olarak ciddi antagonist etkili mantar türü olmasıdır. Büyüme için optimum sıcaklık, 30 °C'de, günlük malt agarda 3.3 cm artarken, maksimum büyüme sıcaklığı 36 °C'dir (Gams ve Meyer, 1998). *T.*

*harzianum* grup 1'in dünya çapında dağılım gösteren ve birçoğu biyolojik kontrol maddelerini ihtiva eden suşlar olduğu bildirilmektedir (Muthumeenakshi, 1996). *Trichoderma afroharzianum* tıpkı diğer mantarlarda olduğu gibi toprak, kök ve konukçu olduğu diğer mantarların üzerinden izole edilmiştir (Chaverri ve Samuels, 2013). *Trichoderma afroharzianum* en iyi karakterize edilen *Trichoderma* türlerinden biridir ve suşlarının bitki hastalık baskılayıcısı olarak kullanıldıkları bildirilmektedir (Zhang vd., 2015). Çalışmamızda da bir izolat (Yp18d) moleküler yöntemlerle *T. afroharzianum* olarak belirlenmiştir.

Sistematikte geleneksel tanı yöntemlerinin önemi büyüktür. Ancak günümüzde modern tekniklerin kullanılması geleneksel yöntemle tanıya büyük destek sağlamıştır. Çalışmamızda da geleneksel yöntemlerle tanımlanan izolatların moleküler tekniklerin desteğiyle daha güvenli bir tür tanısı hedeflenmiştir. Ribozomal DNA'nın ITS bölge dizilerinin tanımlanması, tüm mantar türleri için yeterli olduğu varsayılmıştır ancak, türlerin tanımlanması için BLAST'ın (örneğin Genbank'ta) popüler uygulaması yetersiz tanımlamalara sebep olabilmektedir (Lieckfeldt ve Seifert, 2000). Kopchinskiy vd., (2005) Genbank'ta tevdi edilen diziler arasında, zaman zaman cinsin tüm türlerini içermeyen çok sayıda tanımlama hatası bulmuştur. Yakın tarihli araştırmalarla gösterilen *Trichoderma*'da yakından ilgili türlerin çözümünde tek başına ITS'in yeterince bilgilendirici olmadığını bildirmektedirler. Ek olarak, RNA kodlayan genlerin paralog kopyaları *Hypocreales*'in bazı cinslerinde bulunmuştur ve bu da tek başına ITS'ye dayalı yanıltıcı tanımlamalara neden olabileceğini bildirmiştir (O'Donnell, 2000; Lieckfeldt ve Seifert, 2000, Chaverri vd., 2003b, Hoyos vd., 2009).

Çalışmamızda izole edilen *Fusarium*'lardan bir izolat (Yp7b) ve *Trichoderma*'dan 4 izolat (Yp3b, Yp3c, Yp4a ve Yp16c) cins düzeyinde tanımlanabilmiştir (Tablo 19 ve Tablo 21). Çalışmamız temelde patojenite veya biyokontrol özellikleri önemli olan suşların belirlenmesini hedeflediğinden dolayı, morfolojik ve ITS tabanlı tanı yöntemleri yeterli bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalarda elde edilen üstün biyokontrol veya patojen suşların tür tanıları daha detaylı moleküler karakterizasyon yöntemleri kullanılarak yapılmalıdır.

Çalışmamızda moleküler yöntemler kullanılarak izolatların 6'sı (Yp4e, Yp9b, Yp14c, Yp18b, Yp19, Yp22a) *Fusarium oxysporum* olarak tanımlanmış olup gözlenen morfolojik özelliklerin, kaynakta belirtilen türün özellikleri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Bu tür ekonomik olarak *Fusarium* genusunun en önemli türünü oluşturmaktadır olup çok yoğun ve yaygın olarak bulunan bir türdür. Yüzlerce farklı form ve ırkları bulunmaktadır. Konak spesifikliğı süs bitkilerinden ziyade odunsu bitkiler, tarla bitkileri ve sebzelerdir. Yüzlerce farklı konak bitkide; kök çürüklüğü, devrilme ve damar solgunluğu hastalığına sebep olur (Gerlach ve Nirenberg, 1982).

İzolatların 4'ü (Yp3f, Yp4c, Yp13a, Yp13b) moleküler olarak *Fusarium sambucinum* olarak tanımlanmış olup gözlenen morfolojik özelliklerin, kaynakta belirtilen türün özellikleri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. *Fusarium sambucinum* birçok araştırmacı tarafından çalışılmış özellikle Akdeniz iklimine sahip sıcak bölgelerde iyi bilinen bir suştur. Odunsu bitkilerde pamukçuk ve ölüme neden olan çeşitli bitki hastalıklarıyla, ayrıca çok sayıda ekili bitkilerde, şerbetçiotunda diğer bitkilerin kök ve fidelerindeki bazı hastalıklarla ilişkilidir. *Fusarium sambucinum* Fuckel (teleomorf *Gibberella pulicaris* (Fr.) Sacc.) patateslerin (*Solanum tuberosum* L.) en önemli kuru çürüklük hastalık etkenlerinden biridir ve depolamadaki yumruları ve dikim sonrası tohum parçalarını etkiler (Hanson vd., 1996). Patates bitkisinde kuru kök hastalığına neden olduğundan büyük ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir. Çürüme depoda yavaş gelişir, genellikle salgınlara neden olur. Patojenlerin sporları, yumrulara özellikle hasatta ıslak koşullar altında yara ve kovucuk olarak adlandırılan lentisellerden girer ve çimlenir (Boyd, 1947).

Çalışmada izole edilen *Fusarium*'lardan ikisi Yp7b ve Yp3g hem geleneksel hem de moleküler yöntemlerle cins düzeyinde tanımlanabilmiş fakat türü belirlenememiştir. Yp3g'nin %41 kapsam ve %98 benzerlikle *Fusarium sacchari* türü olarak tanımlanmış olup birçok özelliğı (geç üremesi, yüzeyinin tüysü olması, uçlarının beyaz orta kısımlarının parlak pembemsi olması) açısından benzerlik göstermektedir (Gerlach ve Nirenberg, 1982). Muhtemelen bu suşlar yeni kayıt olabilecek suşlar olup daha ileri moleküler tekniklerle tanımlanmalıdır.



Domates bitkisinin farklı kısımlarından (kök, gövde ve meyvelerinde) üç farklı grup *Fusarium* izole edildi. Bunlar *Fusarium* spp. (Yp7b), *Fusarium oxysporum* (Yp9b, Yp14c, Yp18b, Yp19, Yp22a) ve *Fusarium sambucinum* (Yp13a ve Yp13b) olarak gözlemlendi. Bu sonuç, populasyonda domates bitkisinde farklı *Fusarium* türlerinin birlikteliğini de göstermektedir. Özellikle *Trichoderma* anamorf formları arasında morfolojik ve fenotik (morfolojik) karakterlerin homoplazmasına bağlı olarak *Trichoderma*'nın morfolojik tanımlanmasında birçok zorluk bulunmaktadır (Chaverri ve Samuels, 2013; Druzhinina vd., 2006).

DNA dizileri düzeyinde yapılan bir karşılaştırma, mantar türlerinin doğru sınıflandırılmasını sağlayarak çeşitli türler arasındaki evrimsel ve ekolojik ilişkileri aydınlatır. Son yıllarda patojenik *Fusarium* popülasyonundaki değişkenliği incelemek için DNA tabanlı yöntemler giderek daha fazla kullanılmaktadır (Kiprop vd., 2002; Sivaramakrishnan vd., 2002). DNA parmak izi, bireysel izolatların karakterizasyonu ve bunları standart ırk sınıflarına göre gruplandırmasında *Fusarium* için başarıyla kullanılmıştır. Basit sekans tekrarları, incelenen mantar genomlarındaki çeşitlilikleri ve dağılımları hakkında önceden bilgi sahibi olmaksızın, çeşitli filamentli mantarların ve mayaların genetik tiplendirmesi için sayısız DNA ve PCR parmak izi oluşturma deneyleri kullanılmaktadır (Meyer vd., 2003). Takson seçimli ITS amplifikasyonu, *Fusarium* ve *Verticillium* spp. gibi mantar patojenlerinin tespiti için kullanılmıştır (Nazar vd., 1991). Ribozomal DNA kümesi, üç ITS gen bölgesindeki (18S, 5.8S ve 28S) sıralı tekrarından, iki kodlanmayan ITS'den (ITS1 ve ITS2) ve Intergenik spacer bölgesinden (IGS) oluşur. Internal Transcribed Spacer (ITS) bölgeleri, yakından ilgili mantar türlerini ayırt edebilen spesifik primerler oluşturmak için başarıyla kullanılmaktadır (Bryan vd., 1996). Tüm bunlara bağlı olarak da bu araştırmada izole edilen ve kullanılan *Fusarium* izolatlarının moleküler tanımlanmasında ITS' e dayalı moleküler tanımlamanın yeterli olacağı düşünülmüştür.

#### **4.2. *Trichoderma* spp. Suşlarının *In Vitro* Şartlarda Biyokontrol Etkinlikleri**

*Trichoderma* cinsi, bitki büyüme teşviki ve bitki patojenlerine karşı biyolojik kontrolde kullanılan en yaygın ve en önemli olan organizmalardır (Papavizas, 1985;

Tronsmo ve Hjeljord, 1998). Filamentöz Deuteromycetes'lerdir ve yaygın olarak tüm topraklarda bulunurlar (Samuels, 1996). Genusun çoğu türü, doğal ve suni ortamda kolayca üreyip ve sporulasyon yapabilmektedir (Papavizas, 1985). Ayrıca, *Trichoderma* spp. ekonomik önemi olan pek çok üründe bitki patojenlerini kontrol etmek için kullanılmıştır (Lewis vd., 1996; Ahmed vd., 1999; Mathre vd., 1999; Harman, 2000). *Trichoderma* türleri bitki gelişimini hızlandırdığı, bitki savunma mekanizmalarını teşvik ederek bitkileri toprak kaynaklı patojenlere karşı dirençli hale getirdiği ve çeşitli antibiyotik bileşikler ürettiği için biyolojik mücadelede tercih edilmektedir (Basım,1999; Brewer, 2005). *Trichoderma harzianum* T9, T10, T15 ve T19'un tüm filtratlarının, bitki patojenlerine karşı (*Fusarium culmarum*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* ve *Drechslera sorokiniana*) etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu izolatların arasında *T. harzianum* T19, bitki patojenlerinde geniş bir engelleyici etki sergilediği, *F. oxysporum*'un, yukarıdaki suşların süzüntülerine en dirençli suş olduğu bildirilmektedir (Küçük ve Kıvanç, 2003).

Devrilme hastalığı, fidanlıklarda yetiştirilen sebzeler için ciddi hastalıklarından biridir. Hastalıktan sorumlu olduğu bildirilen en yaygın mantarlar *Pythium* spp., *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* spp. ve *Rhizoctonia solani* vb. türlerdir (Singh, 1984; Ahmed ve Hossain, 1985). *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* ve *Rhizoctonia solani*, geniş konakçı aralığına sahip toprakları inhibe edebilen patojendir ve bu nedenle onları kontrol etmek çok zordur (Talukder, 1974; Elango, 1986; Das, 1984; Martin ve Torres, 1989). Fidelerin solgunluk hastalığını kontrol etmek için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* vb. gibi toprak kaynaklı bitki patojen funguslarına karşı *Trichoderma* spp. etkili bir biyo-kontrol ajanı olarak tanınmaktadır (Chet ve Inbar, 1994). *T. harzianum* doğada birçok faydalı mikroorganizmayı korumak için çevre dostu bir seçenek olarak kullanılabilir. Bu biyolojik kontrol ajanı fidanları çeşitli toprak kaynaklı patojen funguslardan korumak için potansiyel bir kaynaktır. Ayrıca *Trichoderma*'nın bitki büyümesinde umut verici katkısı olduğu da bildirilmektedir (Baker, 1988; Burr vd., 1978). John vd. (2010)'nın yaptığı çalışmada *Trichoderma viride*, soya fasulyesinde iki mantar patojene (*Fusarium oxysporum* ve *Pythium arrhenomanes*) karşı etkin bir biyokontrol ajan olduğunu

bildirmişlerdir. *Trichoderma*'nın, patojenleri etkin bir şekilde kontrol ettiği ve aynı anda soya fasulyesi bitkisinin büyümesini ve sekonder enfeksiyonuna karşı direnci arttırdığı bildirilmiştir.

Antibiyotik üretimi, mikoparazitizm, hücre duvarını parçalayan enzimlerin üretimi ve besin maddeleri ya da yaşam alanı için rekabet, patojenlerin biyolojik kontrolünde yer alan eylemler olarak düşünülür (Zeilinger ve Omann, 2007; Vinalo vd., 2008). *Trichoderma* ve mantar patojeni arasındaki mikoparazitik etkileşimler sırasında fiziksel temastan önce konakçıdan salınan difüze edilebilir bir faktör, hidrolitik enzimlerin indüksiyonundan sorumlu olduğu bilinmektedir (Cortes vd, 1998; Zeilinger vd., 1999; Zeilinger ve Omann, 2007). Direkt temas sırasında konakçı hücre duvarındaki lektinler, konakçı hifaları çevresinde *Trichoderma*'nın sarılmasını indükleyebilir ve mikoparazit, patojenleri yok etmek için appressorium benzeri yapılar üretebilir (Zeilinger ve Omann, 2007). Zeilinger ve Omann (2007)'e göre, enzim üretimi ve enfeksiyon yapısının oluşumu, difüzyon faktörü tarafından aktive edilen uyarılmış yanıtlardır. Benhamou ve Chet (1993)'e göre *Trichoderma*'nın patojenlerle (*Rhizoctonia* ve *Pythium*) birçok etkileşimi gösterilmiş olup, ya patojene paralel büyüdüğü, ya patojen boyunca büyüdüğü ya da patojen etrafında büyüdüğü bilinmektedir. Patojenin misellerinin bozulması, appressorium benzeri yapılara nüfuz ettikten sonra gerçekleştiğini ve patojendeki trikhodermal hiflerin büyüdüğünü gözlemişlerdir (Benhamou ve Chet, 1993). Yapılan çalışmalar neticesinde, *Trichoderma*'nın fungal toprak patojenlerine karşı çevre dostu biyokontrol ajanı olarak biyolojik kontrol maddeleri üreten bir model organizma olduğu bilinmektedir. *Trichoderma*'ların, topraklarındaki patojenlere karşı biyolojik kontrol maddeleri olarak etkinliğini güvence altına alıyor olması *Trichoderma*'nın çevre dostu bir biyokontrol ajanı olması çalışmamız ve benzeri çalışmalarda model olarak kullanılmasına sebep teşkil etmektedir.

Çalışmamızda alınan örneklerden potansiyel patojen etken olarak *Fusarium* ve potansiyel biyokontrol ajan olarak *Trichoderma* cinsleri belirlenmiştir. Çalışmamızda 12 adet *Trichoderma* suşu 6 adet *Fusarium*, birer adet *Sclerotium* ve *Botrytis* suşlarına karşı dual kültürle antogonistik etkinlikleri test edildi. Genel olarak test edilen

*Trichoderma*'ların *Fusarium* suşlarına karşı benzer inhibisyon etkinliği göstermiş olduğu ve tümünün potansiyel bitki patojenlerine karşı etkili olduğu gözlenmekle birlikte en etkili suş olarak Yp1a, Yp4a ve Yp24b suşları olduğu belirlendi. Bu suşlar seçilerek saksı ve çimlenme deneylerinde kullanıldı (Tablo 24 ve Şekil 10-11-12-13-14-15). Bu belirlenen suşların daha ileriki çalışmalarda patojen suşlara karşı antagonist etkinliklerinin daha detaylı bir şekilde araştırılması gerekmektedir. Dual kültürlerin 4. ve 10. günündeki sonuçlara bakılarak belirlenen bu suşların *in vivo* olarak çimlenme ve saksı deneylerinde bitki gelişimi üzerine etkilerinin araştırılması planlandı. Kullanılmayan diğer *Trichoderma* suşlarının etkinliğinin *Fusarium* dışındaki başka bitki patojeni funguslara karşı test edilmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

### 4.3. Tohum Çimlenmesinde Patojenite Testi

Domates (*Lycopersicon*) dünyanın en çok yetiştirilen sebze mahsullerinden biridir ve çoğu *F. oxysporum* tarafından sebep olan *Fusarium* solgunluğu ciddi ekonomik kayıplardan sorumlu olan önemli hastalıklardan biridir (Snyder ve Hanson, 1940). Genellikle hastalık hava ve toprak sıcaklıkları yüksek olduğunda yaz ortasında görülür. Hastalıklı bitkilerde genellikle sararma eski yapraklarda (yere yakın olanlar) başlar, bitkinin veya yaprak sapının bir tarafı ile devam eder. Fidan aşamasında, *F. oxysporum* tarafından enfekte olan bitkiler, semptomlar görüldükten kısa bir süre sonra solup ölürler (Kennelly, 2007). Dünyanın her yerinde olduğu gibi bölgemizde de yetiştirilen domates bitkilerinde sık görülen bir hastalık olması nedeniyle çalışmada domates bitkisi materyal olarak kullanılmıştır.

Patojen baskılamada rol alan organizmalar besin maddeleri için rekabet, antibiyotik ve konukçu direnci indüksiyonu gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla bunu yapar (Mark, 2002). Biyokontrol ajanlarının çoğu, doğal olarak baskılanan topraklardan *Fusarium* solgunluğuna karşı izole edilmiştir (Silva ve Wagner 2005). Çalışmamızda da hastalık etkeni *Fusarium*'ların yanında *Trichoderma* suşlarının da izole edilmesi, bu hastalıkların baskılanmasında antagonistik mikroorganizma olarak *Trichoderma*'nın en yüksek potansiyel etkinlik taşıyacağını göstermekte olup literatür bilgisi ile uyum sağlamaktadır.

Biyokontrol açısından iyi olduğu düşünölen *Trichoderma* (Yp1a, Yp4a ve Yp24b) suşları ile alınan örneklerden domates ve biber bitkilerinde solgunluk ve devrilme hastalığına sebep olduğu düşünölen *Fusarium* türlerinin (Yp1c, Yp3g, Yp4c, Yp4e, Yp7b, Yp9b, Yp13a, Yp13b, Yp14c, Yp18b, Yp19, Yp22a) domates tohumunun çimlenmesi üzerindeki etkinliği petri kaplarında test edildi (Tablo 25 ve Şekil 16). Çalışmada deneyin 12. gününde çimlenme başarısı açısından bakıldığında en yüksek çimlenme başarısı sırasıyla Yp7b (% 83,3) ve Yp13a (% 76,6) gruplarında gözlenmiş olup, bu değer kontrol grubuna (% 70) göre daha iyi olduğu, ancak arasında istatistik olarak (Tukey) anlamlı fark olmadığı gözlendi ( $p>0,05$ ). Bununla birlikte Yp7b ile Yp13b (% 36,6) arasında çimlenme başarısında Tukey'e göre anlamlı fark olduğu ( $<0,05$ ), dolayısıyla saksı deneyinde Yp13b'nin kullanılması nedenlerinden birini oluşturmuştur. Bu sonuçlar dikkate alındığında domates tohumunun çimlenmesinde *Fusarium* suşlarının çoğunun çimlenmeyi engellediği (patojen/çürükçöl) ve dolayısıyla tohum çimlenme başarısına olumsuz etki gösterdikleri düşünölmektedir.

Joshi vd. (2013) tarafından Hindistan'da dokuz farklı coğrafi bölgeden toprak ve bitki örneklerinin toplanması ile yapılan bir çalışmada toprak ve bitki örneklerinden *Fusarium* türlerinin toplam 60 izolat elde edildi. Bunlardan 39 izolat, morfolojik ve moleküler tanılarına göre *Fusarium oxysporum* olarak tanımlandı. Domates bitkisindeki patojenite testi sonucu hastalık insidansı sıfırdan % 78.74'e kadar değişen oranlarda olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada *F. oxysporum* izolatları arasında beşinin patojenik olmayan ve üçünün ise güçlü bir patojen olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda izole edilen *F. oxysporum* türlerinin patojenitesinin domates tohum çimlenmesinde Yp13b (*F. sambucinum*) suşuna göre daha az patojen olduğu belirlenmiştir. Silva ve Bettiol (2005) yaptıkları çalışmada domates bitkilerinde patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının etkisini belirlemek için, yaptıkları çalışmalar sonucunda, patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının domates bitkisinde patojen olmadığı görölmüştür. Patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatları, hastalığın ciddiyetini azaltmada ve normal bitki gelişimini sürdürmede etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının, patojen olan *F. oxysporum* tarafından oluşturulan vasküler solgunluğun kontrolünde antagonistik etkinliği gösterdiğini kanıtlanmıştır.

Çalışmamızda da aynı örnekten izole edilen Yp13a ve Yp13b suşlarının moleküler tanımlamaya göre aynı *Fusarium sambucinum*'un iki ayrı izolatu olmasına rağmen petri kaplarındaki ön patojenite testinde çimlenme başarısı üzerine farklı etkinlikler göstermektedir. Bu bağlamda çalışmamızda Yp13a suşunun domates tohumlarında çimlenmeyi teşvik ederken (%76,6 çimlenme başarısı), Yp13b suşunun ise domates tohumlarının çimlenmesini olumsuz etkilediği (%36,6 çimlenme başarısı) gözlenmiştir. Bu sonuçlar, yukarıda belirtilen çalışmalarla uyumlu olup patojen olan suşlar, bitki gelişimini olumsuz etkilerken patojen olmayan suşların bitki çimlenmesini teşvik edebileceğini göstermiştir.

Çalışmamızda kontrol grubunda çimlenme başarısının %70 olması, tohum kalitesinin iyi olmadığını, bu durumun da özellikle *Trichoderma*'ların çimlenme başarısını olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Test edilen 3 adet *Trichoderma* spp. suşları arasında da istatistiksel açıdan fark olmamakla birlikte Yp1a çimlenme başarısı (%70) en iyi olup kontrole aynı sonucu vermiştir. Yp4a'nın da çimlenme başarısı kontrole yakın bir değer (%66,6) taşıdığı, Yp24b'nin ise %50 olduğu gözlemlendi. *Trichoderma*'ların tohum çimlenme başarısına daha iyi etkinlik yapması beklenirken, tohumlardan da kaynaklanmış olabilecek sebeplerden dolayı istenilen sonuçlar alınamamıştır. Bu nedenle, daha detaylı deneylerin yapılması ve çimlenme başarısı %95'in üstünde olan lisanslı tohumların kullanılması uygun olacaktır.

Kök uzunluğunda Dunnett testine göre kontrol ile Yp4c, Yp13a ve Yp4a suşları arasında, Tukey'e göre de kontrol ile Yp4c arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi ( $p < 0,05$ ). Ortalama kök uzunluğu, Kontrol  $\bar{x} = 2,44$ , Yp4c  $\bar{x} = 0,92$ , Yp13a  $\bar{x} = 1,19$ , Yp18b  $\bar{x} = 1,47$  olarak gözlemlendi. Sırasıyla, *Fusarium*'larda kök uzunluğuna etki bakımından en patojen olan suşlar Yp4c ve Yp13a gelmektedir. *Trichoderma*'larda ise kök uzunluğu gelişimine en olumlu etki yapan suşun Yp24b olduğu bunu sırasıyla Yp1a ve Yp4a izlemiştir. Ayrıca *Trichoderma*'lar arasında sürgün uzunluğu bakımından Yp24b'nin kontrole en yakın değere sahip suş olduğu gözlenmiştir (Tablo 25 ve Tablo 26).

*Fusarium* türleri, hububat, tahıl bitkileri ile tarım ve ormancılıkta önemli diğer

birçok bitkinin kozmopolit nekrotrofik patojenleridir (Leslie ve Summerell 2006). Dawson vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada test edilen bir çok *Fusarium* türlerinde (*Fusarium fujikuroi*, *F. dlamini*, *F. beomiforme*, *F. thophilum*, *F. verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. scirpi*, *F. acutatum* ve *F. nygamai*) hastalık görülme potansiyeli taşıdığı gösterilmiştir. Dut fidelerine patojen olan ve bitki boyu, gövde çevresi, yaprak sayısı ve yaprak alanlarında belirgin azalmaya neden olan türlerin aslında zararsız olarak bilinen türler olduğu belirtilmektedir. Çalışmamızda da izole edilen *F. sambucinum* Yp13b suşu ön patojenite testlerinde domates tohumlarında en patojen suş olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar saprofit olan suşların da bitki çeşidine göre patojen olabileceğini göstermektedir. Tüm bu çalışma sonuçlarına bakıldığında, *Fusarium* spp. suşları arasında çimlenme ve gelişim parametrelerini olumsuz yönde en çok etkileyen türün Yp13b'nin olması, bundan sonraki araştırmalarda bu suşun kullanılmasına neden olmuştur.

#### 4.4. Saksı Deneyi

Çalışmamızda saksı deneyinde Yp13b ile üç adet *Trichoderma* birlikteliği (8 farklı parametre açısından) test edildi. Yapılan istatistiksel analizlere göre saksı deneyi verileri sonucunda hem Anova hem de Dunnet testine göre gruplar arasında gövde çapı ve kökte lezyon skalası açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ( $P < 0,05$ ) belirlendi diğer parametrelerde ise anlamlı farklılığın olmadığı gözlemlendi (Tablo 28).

*F. sambucinum* (Yp13b) suşunun tek başına patojen etkinliğinin olmadığı ancak *Trichoderma* ile birlikte test edildiğinde patojenitesinin olduğu gözlemlendi. Bunun muhtemel nedenlerinden biri *Fusarium*'un *Trichoderma*'ya karşı savunma sistemlerinin tetiklenmiş olması ya da domates fidelerinin iki farklı suşa karşı immunitésinin azalması olabilir. Bitkiler birçok savunma mekanizması bulundurduğundan çok sayıda farklı mekanizma bunun nedeni olabilir. Bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Yp4a tek başına domates bitkisinin gelişimini güçlü bir şekilde teşvik ettiği ancak *F. sambucinum* Yp13b birlikteliğinde ise bitki uzunluğu, saçaklanma sayısı, yaprak sayısı, bitki yaş ve kuru ağırlığı parametreleri açısından değerlendirildiğinde domates bitkisinin gelişimini pozitif ve negatif kontrollere göre

azalttığı gözlemlendi. Bundan dolayı *F. sambucinum* Yp13b patojenik etkinliği en fazla Yp4a ile olan birlikteliğinde gözlenmiştir (Tablo 27 ve Şekil 17).

Gövde kalınlığı bitki gelişimi ile ilgili bir parametredir. Negatif kontrol grubunda herhangi bir stres faktörü olmadığında kalınlığın düşük olduğu, patojen veya biyokontrol olarak kullanılan *Trichoderma* varlığında ise kalınlığın arttığı gözlemlendi. *Trichoderma* Yp1a'nın tek başına gövde kalınlığını en fazla arttırdığı buna karşın *Trichoderma* Yp1a - *Fusarium* Yp13b kontrol birlikteliğinde kontrolle benzer olduğu fakat *Fusarium* Yp13b kontrole göre daha düşük olduğu belirlendi (Tablo 27). Bu durum *Trichoderma* Yp1a'nın tek başına gelişimi teşvik eden ajan olarak etkinliğinin daha iyi olduğunu göstermektedir. Gövde çapı açısından *Trichoderma* Yp24b - *Fusarium* Yp13b birlikteliği ise en azaltıcı etkiyi oluşturduğu belirlendi.

Bitki uzunluğunda (BU) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ancak, negatif kontrole ve Yp13b kontrol gruplarına göre *Trichoderma* Yp4a - *Fusarium* Yp13b ve *Trichoderma* Yp1a - *Fusarium* Yp13b birlikteliğinin daha düşük gövde uzunluğuna sahip olduğu belirlendi. *Fusarium* Yp13b kontrol grubunun negatif kontrole aynı olduğu, yani patojen etkinlik göstermediği gözlemlendi. *Trichoderma* suşlarının bitki uzunluğu açısından gelişmeyi teşvik edici ajan oldukları ve sırasıyla en güçlü teşvik edici suşlar *Trichoderma* Yp1a, Yp4a ve Yp24b şeklinde sıralandı. Ayrıca *Trichoderma* Yp24b - *Fusarium* Yp13b birlikteliği de kontrol gruplarına göre daha iyi olduğu belirlendi.

Saçaklanma sayısında (SS) göre; *Trichoderma* Yp4a - *Fusarium* Yp13b grubunun negatif kontrole en düşük olduğu, diğer tüm grupların ise negatif kontrole göre daha iyi sonuçlar verdiği belirlendi. Ancak istatistiğe göre anlamlı bir fark gözlenmedi. Saçaklanma sayısı bakımından en güçlü teşvik edici suşların sırasıyla; *Trichoderma* Yp1a, Yp4a ve Yp24b şeklinde olduğu belirlendi.

Yaprak sayısı (YS) tüm gruplarda 7,0833-10,6667 olarak değişirken aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. Negatif ve pozitif kontrol gruplarına göre sırasıyla en iyi *Trichoderma* Yp1a ve *Trichoderma* Yp24b olduğu en düşük ise



*Trichoderma* Yp4a ve *Trichoderma* Yp24b'nin *Fusarium* Yp13b ile birlikteliklerinde olduğu gözlemlendi. Bu veriye göre de *Trichoderma* Yp1a'nın yaprak sayısı bakımından en iyi teşvik edici suş olduğu belirlendi.

Bitki yaş ağırlığının (BYA) analizinde *Trichoderma* Yp4a - *Fusarium* Yp13b grubunun tüm kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu belirlendi. En yüksek yaş ağırlığının *Trichoderma* kontrol gruplarında (sırasıyla Yp1a, Yp24b ve Yp4a) olduğu belirlendi.

Bitki kuru ağırlığının analizinde negatif kontrol grubuna göre sırasıyla daha düşük değer taşıyan grup *Trichoderma* Yp4a - *Fusarium* Yp13b' de gözlemlendi. *Trichoderma* kontrol grupları ise, negatif kontrole göre daha iyi oldukları, en yüksek değerlerin ise *Trichoderma* Yp1a ve Yp24b'de olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlara göre *Trichoderma* Yp1a'nın hem tek başına hem de patojen ile birlikteliğinde kuru yaş ağırlığı açısından en iyi teşvik edici ajan olduğu gözlemlendi.

Tüm parametreler açısından bakıldığında (bitki kuru ağırlığı hariç) hem negatif hem de pozitif kontrole göre, *Trichoderma* Yp1a suşunun gelişmeyi en iyi teşvik edici ajan olduğu belirlendi. Yp13b nin *Trichoderma* birliktelikleri arasındaki etkinliğe bakıldığında Yp1a'nın saçaklanma sayısı, yaprak sayısı ve bitki kuru ağırlık parametrelerinde en iyi olduğu, Yp24'nin ise bitki uzunluğu ve yaş ağırlığı parametrelerinde daha iyi olduğu gözlemlendi. Genel olarak bakıldığında tüm *Trichoderma* ve *Fusarium* birlikteliklerinde elde edilen değerlerin daha düşük olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar neticesinde *Trichoderma*'ların tek başına bitki gelişimini teşvik ederken patojen ile birlikte bitki gelişimini sınırlandırdığı gözlemlenmiştir.

Marra vd. (2006), yaptığı çalışmada üretilen diferansiyel proteinleri analiz etmek için proteomik bir yaklaşım kullanarak *Trichoderma*'nın bitki ve farklı mantar patojenleriyle üç yönlü etkileşimlerini incelemiştir. Çalışmaya göre, bitkide proteom spesifik PR proteinleri ve diğer hastalığa neden olan faktörlerin (yani potansiyel direnç genleri) üç yönlü etkileşimi düzenleyebileceğini ve antagonistin varlığının bir patojen saldırısına karşı niceliksel ve niteliksel olarak modüle tepki verebileceğini gösterdi.

Bazı durumlarda, antagonistik mantar bazı savunma proteinlerinin üretimini azalttı, ancak diğerlerinin daha yüksek bir birikimi ile sonuçlandı. Bu gözlemler, bitki tepkisinin, ilgili üç ortağın her birine bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Akrami ve Yousefi, (2015), yılında yapılan çalışmada üç *Trichoderma* spp. (*Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* ve *T. virens*) ile tedavi edilen *Fusarium* spp. (*F. solani* ve *F. oxysporum*) enfekte grupların semptomları birbirine kıyaslandığında aralarında ihmal edilebilir anlamlı farklılık olduğu bildirilmiştir. Ghazalibiglar vd. (2016) yaptıkları bir çalışmada, *Fusarium oxysporum* f. spp. *lycopersici* domates patojenine karşı iki adet izolatu, biyokontrol olarak test edilmiştir. Bir izolat domates bitki gelişimi üzerinde % 50 veya daha fazla etkinlik gösterirken diğer izolatın bitki gelişimi parametreleri üzerine hiçbir etkinliği bulunmadığı gözlenmiştir. Yapılan çalışmada *Trichoderma* izolatu LU140 izolatının *Fusarium* varlığında domatesin büyümesini geliştirdiği ancak patojenin yokluğunda bitki büyümesini teşvik etmediği bildirilmektedir.

Biyolojik mücadeledeki mekanizmalar belki de birincil öneme sahip olmamakla birlikte, *Trichoderma* türleri, konukçu bitkilere olan etkileşimler sırasında hastalık direncine veya hastalığa hoşgörüyeye katkıda bulunabilecek diğer özellikleri de sergileyebilmektedir. Biyokontrol ajanları tarafından bitki hastalıklarının biyolojik kontrolünü etkilemek için kullanılan mekanizmalar çok karmaşıktır ve bunların kullanımı, etkileşimde yer alan biyolojik kontrol ajanı, patojen ve konukçu bitkinin türüne göre değişir. Mekanizmalar aynı zamanda toprak tipi, sıcaklık, ph, bitki su içeriği, toprak ortamı ve diğer mikroflora ortamından da etkilenir (Harman, 2000). Yapılan bir başka çalışmada ise *F. sambucinum*'un Arjantin'deki domates meyvelerinde hasat sonrası yumuşak çürümeye neden olduğu belirtilmektedir (Mourellos vd., 2016).

Bu sistemlerin karmaşıklığına ilişkin bilginiz, şu anda onları algılama kabiliyetimizle sınırlıdır ve biyolojik kontrol süreci sonucunda tam olarak neler olduğunu anlamak için çok sayıda araştırma yapılmalıdır. Bilimin diğer birçok yönünde olduğu gibi biyokontrol sürecinde de yer alan mekanizmalar hakkında temel bilgi için gerekli yöntemlerin, daha fazla geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu arada, *Trichoderma*

sekonder metabolitlerinin etki mekanizmalarını ve tarımda kullanılan diğer bileşiklerle muhtemel etkileşimleri daha iyi anlamak için ileri deneyler yapılmalıdır. Bu sonuçlar neticesinde *Trichoderma*' ların tek başına bitki gelişimini teşvik ederken patojen ile birlikte bitki stresini arttırmış olabileceği dolayısıyla kontrole göre daha düşük verilerin oluşmasına neden olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda petride çimlenme deneyinde en patojen suş olarak Yp13b belirlenmiş olup saksıda patojenite deneyinde kullanılmış ancak aynı sonuçlar alınamamıştır. Domatesgillerde bulunan  $\alpha$ -Tomatin, steroidal bir glikoalkaloiddir. Domates bitkilerinin yaprakları, kökleri, ve yeşil meyvelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur; bunun da patojenlere karşı direnç sağlayabileceği bildirilmektedir.  $\alpha$ - tomatinin toksik etkileri, membran sterollerini ile kompleks yapma kabiliyetine, dolayısıyla gözenek oluşumuna ve hücre içeriklerinin sızmasına neden olur. Tohumda, bu madde çimlenme esnasında olmadığı, büyüme ve gelişme evresinde olduğu için tohumda *Fusarium sambucinum* (Yp13b) patojen etki gösterirken büyüme ve gelişme evresinde olumsuzluk gözlenmemiştir. Domatesin patojen mantarları, diğer bitki türlerinin ve saprofitlerin patojenlerine göre genellikle tomatine daha az duyarlıdır. *Fusarium sambucinum* (*Gibberella pulicaris*)'daki son çalışmalar, aglison (Glikasil grubunun bir glikolizid'ten bir hidrojen atomu ile değiştirilmesinden sonra kalan şekersiz bileşiktir.) yan molekülünün tomatidin'in (Domatesin kök, yeşil yaprak ve yeşil meyvesinde bulunan hafif toksik steroidal alkaloidlerdir. Ayrıca antifungal ve antibakteriyel etkinliğe sahiptir.) hidrosilasyonunun, tomatinin etkilemesinden sonra ortaya çıkmasına rağmen, bugüne kadar fitopatojenik funguslar ile  $\alpha$ -tomatine metabolizması bilgisi neredeyse sadece molekülün şeker kalıntılarının giderilmesi ile sınırlıdır. *F. oxysporum* tomatinazı, glukoz varlığında tam olarak bastırmakta olup, tomatinin *Botrytis cinerea* glikoz baskılamasında gözlenmesi de, tomatinin detoksifikasyonunun yanı sıra, beslenmede olası bir rolüne işaret etmektedir (Perez-Espinosa vd., 2001).

Bu çalışmada, petri deneyinde test edilen *Fusarium*' lardan en patojen suş Yp13b olarak belirlenmiş, ancak saksı deneyinde ise muhtemelen yukarıda belirtilen nedenden dolayı beklenen patojenik etki gözlenmemiştir. Dolayısıyla moleküler tanıda da, test

edilen suşun *F. oxysporum* değil, *F. sambucinum* olduğunun doğrulanması ile bu non-patojenik etkinin açıklandığını düşünmekteyiz. Yukarıda da belirtildiği gibi domates bitkisinin yaprakları, kökleri ve yeşil meyvelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunan  $\alpha$ -Tomatin maddesi petride çimlenme deneylerinde domates tohumu tarafından yüksek konsantrasyonlarda üretilemediğinden dolayı Yp13b (*F. sambucinum*) bu deneyde en yüksek patojeniteye sahip suş olarak tespit edildi. Ancak saksı deneylerinde domates bitkisinin yaprakları, kökleri ve yeşil meyvelerinde yüksek oranda üretildiğinden Yp13b (*F. sambucinum*) 'nin beklenen patojenik etkiyi göstermediği düşünülmektedir. Bu konuda daha kapsamlı çalışmaların tekrar edilmesi ve belirtilen suşun bu maddeye olan duyarlılığının ortaya konması gerekmektedir.

Sonuç olarak çalışmada solgunluk, kök ve kök boğazı çürüklüğü etkeni olan *Fusarium* spp. türleri ve biyokontrol aktivitesi yüksek olan *Trichoderma* spp. türleri izole ve karakterize edilmiştir. *Trichoderma* Yp1a suşunun güçlü bir biyokontrol aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. İzole ve identifiye edilen patojen ve potansiyel biyokontrol ajan olan suşların, başka bitki türleri ile çalışılmasının benzer veya farklı sonuçlar elde edilmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

## 5. ÖNERİLER

Bu çalışma, 2014-2015 tarihleri arasında Rize'nin Pazar ilçesi Kirazlık mahallesinde (Enlem 41,1784, boylam 40,9081) sebze bahçesinden (özellikle domates bitkisi) toprak ve hastalıklı örneklerin mikolojik incelemesini, potansiyel patojen fungal etkenlerin ve potansiyel fungal biyokontrol ajanlarının tespitini içermektedir.

Bu çalışma, iklimsel olarak farklı özellikler taşıyan Rize bölgemizde, domateste solgunluk ve kök çürüklüğü hastalıkları üzerine yapılmış ilk çalışma niteliği taşımaktadır. Bölgede sebze yetiştiriciliğinde üreticilerin karşılaştığı bu ve benzeri hastalıkların çözümüne yönelik daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Çalışmada izole edilen bazı *Trichoderma* ve *Fusarium* türleri hem geleneksel hem de moleküler yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanamamıştır. Muhtemelen bu suşlar yeni kayıt olabilecek suşlar olup, daha ileri moleküler tekniklerle tanımlanmalıdır.

Özellikle belirli sebzelerin seçilerek daha spesifik fungal hastalık etmenleri araştırılması ve potansiyel biyokontrol ajanlarının belirlenmesi için çalışılmalar yapılmalıdır.

Fungal hastalık etmenlerine karşı etkili olabilecek daha fazla antagonist etkili fungal biyokontrol etmenleri belirlenmelidir.

Çalışmamızda izole edilen toplam 21 *Trichoderma* suşundan yalnızca 10 tanesi dual kültür testi ile test edilmiş ve bunlardan yalnızca en iyi olan 3 tanesi patojenite testlerine tabi tutulmuştur. Diğer test edilmeyen suşların da *Fusarium* veya diğer fungal bitki patojenlerine karşı biyokontrol potansiyelleri test edilmelidir.

Ayrıca patojenite testinde hem tohum hem de fidelerde domates dışında başka bitkilerin de kullanılmasının farklı sonuçların elde edilmesine sebep olacağı düşünülmektedir.

Çalışmamızda patojen olan suşlar, bitki gelişimini olumsuz etkilerken, patojen olmayan suşların bitki çimlenmesini teşvik edebileceğini gözlemledik. Patojen olmayan bu suşların da biyokontrol aktivitesi olabileceği göz önüne alınarak test edilmesi ve farklı bitkilerde veya patojenlerdeki etkinliklerinin ortaya konması gerekmektedir.

Çalışmamızda kontrol grubunda çimlenme başarısının %70 olması, tohum kalitesinin iyi olmadığını göstermiştir. Bu çalışmanın tekrarı veya benzeri çalışmalarda lisanslı tohumların kullanılması daha yararlı olacaktır.

*Trichoderma*'nın taksonomisi ve biyoçeşitliliği üzerine pek çok ülkede kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır. Ülkemizde de bu alanda daha fazla çalışmanın yapılması ve özellikle organik tarımın desteklenmesi çalışmalarında, kaynak biyokontrol ajanlarının tedariki için suş bankası oluşturulmalıdır. Zira çalışmamızdan Yp1a suşunun, ticari kullanımda olan *T. harzianum* KUEN 1585 suşundan daha etkili olduğu gözlenmiştir. Muhtemelen farklı patojenlere karşı farklı özelliklere sahip pek çok ticari öneme sahip suşlar bulunmaktadır. Bu suşunda (Yp1a) ticarileştirilmesi ile ilgili çalışmalar yapılmalıdır.

Bu sonuçlar laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiş testlerden elde edilmiştir. Suşların etkinliği gerçek ortamda farklı olabilmektedir. Multidisipliner faktörlerin var olduğu doğal ortamlarda da antagonistik etkinliğin varlığı araştırılmalıdır.

Doğal ortamlarında patojenlere karşı yüksek oranda etkili olan biyokontrol suşlarının, ticarileştirilmesi ile ilgili çalışmaları yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

- Abak, K., H.Y., Duşgan ve Sarı, N., 2000.** Güneydoğu Anadolu bölgesinde domates yetiştiriciliği. TÜBİTAK, Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları, TÜBİTAK Matbaası, Ankara, 25 s.
- Abd El- Aziz, A.R.M., Mahmoud, M.A., Al-Othman, M.R., Abdel-sattar, M.A., El-sherif, E.M., El-Marzouky, H., 2013.** Differential interaction between isolates of *Rhizoctonia solani* AG-3 and potato cultivars. African Journal of Microbiology Research, 7 (12), 1045-1054. DOI: 10.5897/AJMR12.2074, ISSN 1996-0808.
- Ahmed, H.U. and Hossain, M.M., 1985.** Final report of project crop disease survey and establishment of a herbarium at Bari, Plant Pathology Division, Bari, Joydeber, Gazipur, Bangladesh, 1670 pp.
- Ahmed, S.A., Sánchez, P.C., Egea, C., Candela, M.E., 1999.** Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. Plant Pathology, 48, 58-65.
- Akrami, M., Yousefi, Z., 2015.** Biological control of *Fusarium* wilt of tomato (*Solanum lycopersicum*) by *Trichoderma* spp. as antagonist fungi. Biological Forum Journal, 7 (1), 887-892.
- Aksoy, U., Altındişli, A., 1998.** Ekolojik (organik, biyolojik) Tarım. Ekolojik Tarım Organizasyonu Derneği, İzmir, 125 s.
- Aktaş, H., Bostancıoğlu, H., Tunalı, B., Bayram, E., 1996.** Sakarya yöresinde buğday kök ve kök çürüklüğüne neden olan hastalık etmenlerinin belirlenmesi ve bu etmenlerin buğday yetiştirme teknikleri ile ilişkileri üzerinde araştırmalar, Bitki Koruma Bülteni, 36 (3-4), 151-167.
- Akyalçın, N., 1971.** Çukurova bölgesinde sebzelerde çökerten hastalığı ve mücadelesi üzerinde araştırmalar, Bitki Koruma Bülteni, 11 (1), 33-52.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, M., 1996.** Introductory Mycology (4th edition). John Wiley & Sons, New York., ISBN: 978-0-471-52229-4, 880 pp.
- Anonim, 2001.** Devlet Planlama Teşkilatı, Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı. Bitkisel Üretim Özel İhtisas Komisyonu, Sebzeçilik, Ankara, Türkiye, 120 s.
- Anonim, 2007.** T.C. Başbakanlık, Türkiye İstatistik Kurumu verileri, www.tuik.gov.tr
- Anonim, 2014.** Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> Erişim Tarihi: 25 Haziran 2014.

- Anonymous, 2009.** Biological Control. <http://www.nysaes.cornell.edu> (Erişim tarihi: Haziran 2017).
- Antal, Z., Manczinger, G., Szakács, R., Tengerdy, P. and 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.
- Armstrong, G.M, Armstrong, J.K., 1981.** Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ, eds. *Fusarium: disease, biology, and taxonomy*. University Park, P.A., USA, State University Press, 391 - 399.
- Arx, J.A., 1987.** Plant Pathogenic Fungi. J. Cramer. in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart. ISBN3-489-20900-1, 288 pp.
- Attitalla, H.I., Fatehi, J., Levenfors, J., Brishammar, S., 2004.** A rapid molecular method for differentiating two special forms (*lycopersici* and *radicis lycopersici*) of *Fusarium oxysporum*. *Polish Journal of Microbiology*, 53, 111- 116.
- Ay, T., 2008.** Çukurova'da Karpuz *Fusarium* Solgunluğu Etmeni, *Fusarium oxysporum* f. spp. *niveum*, Irklarının ve Bu Irklara Karşı Karpuz Çeşitlerinin Reaksiyonlarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 121 s., 49-58.
- Aydın, M.H. ve Turhan, G., 2009.** *Rhizoctonia solani*'nin fungal antagonistlerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. *Anadolu*, 19 (2), 49-72.
- Baker, R., 1988.** *Trichoderma* spp. as plant growth stimulants. *Critical Reviews Biotechnology*, 7, 97-106.
- Balmas, V., Scherm, B., Ghignone, S., Salem, A.O.M., Cacciola, S.O. and Migheli, Q., 2005.** Characterization of *Phoma tracheiphila* by RAPD- PCR, microsatellite primed PCR and ITS rDNA sequencing and development of specific primers for *in planta* PCR detection. *European Journal of Plant Pathology*, 111, 235-247.
- Barnett, H.L., Hunter, B.B., 1972.** Illustrated Genera of Imperfect Fungi. ISSN: 0-02-306395-5. 216 p.
- Basım, H., Öztürk, ř.B., Yeęen, O., 1999.** Biyolojik bir fungusit (Planter box *Trichoderma harzianum* Rifai T22)'in pamuk fide kök çürüklüğü etmenlerine (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp.) karşı etkinliğinin araştırılması. GAP I. Tarım Kongresi, 26-28 Mayıs 1999, Bildiri Kitabı, şanlıurfa, 137-144.
- Benhamou, N. and Chet, I., 1993.** Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani* ultrastructure and gold chemistry of the mycoparasitic process. *Phytopathology*, 83, 1062-1071.



- Benhamou, N., Lafontaine, P.J., Nicole, M., 1994.** Induction of systemic resistance to *Fusarium* crown rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. *Phytopathology*, 84, 1422-1444.
- Benitez, T., Rincon Ana, M., Limon, M., Carmen and Codon, A.C., 2004.** Bioncontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 4, 249-260.
- Beremand, M.N., Desjardins, A.E., Hohn, T.M., Van Middlesworth, F., 1991.** A survey of *Fusarium sambucinum* (*Gibberella pulicaris*) for mating type, trichothecene production and other selected traits. *Phytopathology*, 81, 1452-1458
- Bissett, J., 1991a.** A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.*, 69, 2357–2372.
- Bissett, J., 1991b.** A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Can. J. Bot.*, 69, 2373–2417.
- Bissett, J., 1991c.** A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Can. J. Bot.*, 69, 2418-2420.
- Bissett, J., 1984.** A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov. *Canadian Journal of Botany*. Vol. 62, No. 5, ISSN 1480-3305, 924-931 pp.
- Bluhm, B.H., Flaherty, J.E., Cousin, M.A., Woloshuk, C.P., 2002.** Multiplex polymerase chain reaction assay for the detection of trichothecene and fumonisin-producing species of *Fusarium* in cornmeal. *Journal of Food Protection*, 65, 1955-1961.
- Booth, C., 1971.** The Genus *Fusarium*. Kew: Common Wealth Mycological Institute, 55 pp.
- Bora, T. ve Özaktan, H., 1998.** Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı. Prizma Matbaası 1479 sk., No:22/B, Alsancak/İzmir, 205 s.
- Boyd, A., 1947.** Some recent result of potato dry rot research *Annals of Applied Biology*, 34, 634-636.
- Brewer, M.T., Larkin, R.P., 2005.** Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. *Crop Protection*, 24, 939-950.
- Bryan, G.T., Farrall, L., Orbach, M., Kang, S., Sweigard, J.A. and Valent, B., 1996.** Functional analysis of the *Magnaporthe grisea* avirulence gene AVR2-YAMO. In: *Proceedings of the 8th International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions*. Knoxville, USA, 5 pp.

- Burgess, L.W., 1981.** General Ecology of the Fusaria. In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ, eds. *Fusarium* diseases, biology and taxonomy. University Park, P.A., USA, The Pennsylvania State University Press, 225-235.
- Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P., Backhouse, D., 1994.** Laboratory manual for *Fusarium* research. Sydney, University of Sydney, 116–117 pp.
- Burr, T.J., Schroth, M.M. and Suslow, T., 1978.** Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas flurescens* and *P. putida*. *Phytopathology*, 68, 1378-1385.
- Butt, T.M. and Copping, L.G., 2000.** Fungal biological control agents. *Pesticide Outlook*, 11 (5), 186-191.
- Buttler, E.E. and Mann, M.P., 1959.** Use of cellophane tape for mounting and photographing phytopathogenic fungi. *Phytopathology*, 49, 231-232.
- Can, C., Elekcioglu, H., Yücel, S., Özasan, M., 2003.** Seralarda domates *Fusarium* solgunluğuna neden olan türlerin tanısı, hastalık oluşumunda nematodlar ile ilişkileri ve Mücadele olanaklarının belirlenmesi. TUBİTAK TARP-2371 No'lu Proje Sonuç Raporu.
- Can, C., Yucel, S., Korolev, N. and Katan, T., 2004.** First report of *Fusarium* crown and root rot of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.spp. *radicis-lycopersici* in Turkey, *Plant Pathology*, 53 (6), 814 -814.
- Carlile, M.J., 1995.** The success of the hypha and mycelium. In *The Growing Fungus*, ed. N. A. R. Gow & G. M. Gadd. London, Chapman & Hall, pp. 3-19.
- Carreiro, M.M. and Koske, R.E., 1992.** Effect of temperature on decomposition and development of microfungal communities in leaf litter microcosms. *Canadian Journal of Botany*, 70, 2177-2183.
- Chaverri, P. and Samuels, G.J., 2002.** *Hypocrea lixii*, the teleomorph of *Trichoderma harzianum*. *Mycological Progress*, 1, 283-286.
- Chaverri, P., Samuels, G.J. 2003.** *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): species with green ascospores. *Studies in Mycology*, 48, 1-116.
- Chaverri, P., Castlebury, L., Samuels, G. and Geiser, D., 2003.** Multilocus phylogenetic structure within the *Trichoderma harzianum/Hypocrea lixii* complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 27, No. 2, (September 2002), ISSN 1055-7903, 302-313 pp.
- Chaverri. P. and Samuels, G.J., 2013.** Evolution of habitat preference and nutrition mode in a cosmopolitan fungal genus with evidence of interkingdom host jumps and major shifts in ecology. *Evolution*, 7, 2823–2837. DOI: 10.1111/evo.12169

- Chaverri, P., Branco-Rocha, F., Jaklitsch, W., Gazis, R., Degenkolb, T. and Samuels, G.J., 2015.** Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the reidentification of commercial biocontrol strains. *Mycologia*, 107 (3), 558–590. DOI:10.3852/14-147.
- Chen, X., Romaine, C.P., Tan, Q., Schlaghauser, B., Giraldo, M.D., O., Royse, D.J., Huff, D.R., 1999.** PCR-Based genotyping of epidemic and preepidemic *Trichoderma* isolates associated with green mold of *Agaricus bisporus*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.65, No.6, 2674-2678.
- Chet, I. and Baker, R., 1981.** Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *R. solani*. *Phytopathology*, 71, 286-290.
- Chet, I. and Inbar, J., 1994.** Biological control of fungal pathogens. *Appl Biochem Biotechnol*, 48 (1), 37-43. DOI: 10.1007/Bf02825358
- Chet, I., 1987.** *Trichoderma* Application, Mode of Action and Potential as a Biocontrol Agent of Soil-borne Plant Pathogenic Fungi. In: *Innovative Approaches to Plant Disease Control*, ed. Chet I., Wiley, New York, 137-160 pp.
- Chet, I., Inbar, J. and Hadar, I., 1997.** Fungal antagonists and mycoparasites. In: Wicklow DT, Söderström B (eds) *The Mycota IV: Environmental and microbial relationships*, 165-184 pp.
- Corlett, M., 1991.** An annotated list of the published names in *Mycosphaerella* and *Sphaerella*. *Mycologia Memoir*, 18, 1-328.
- Cortes, C., Gutierrez, A., Olmedo, V., Inbar, J., Chet, I. and Herrera-Estrella, A., 1998.** The expression of genes involved in parasitism by *Trichoderma harzianum* is triggered by a diffusible factor. *Molecular Genetics and Genomics*, 260, 218-225.
- Dal Soglio, F.K., Bertagnolli, B.L., Sinclair, J.B., Yu, G.Y. and Eastburn, D.M., 1998.** Production of chitinolytic enzymes and endoglucanase in soybean rhizosphere in the presence of *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*. *Biological Control*, 12 (2), 111-117.
- Danielson, R.M. and Davey, C.B., 1973.** The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 5, 485-494.
- Das, A.C., 1984.** Effect of cultural practices on the damping off incidence of TPS seedlings and its chemical control in vitro. M.Sc.Ag. Thesis, Bangladesh Agricultural University, 50 pp.
- Davis, R.M. and Raid, R.N., 2002.** Crown, Root, and Wilt Diseases. *Compendium of Umbelliferous Crop Diseases*, 25-40.

- Dawson, W.A.J., Jestoi, M., Rizzo, A., Nicholson, P., Bateman, G.L., 2004.** Field evaluation of fungal competitors of *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*, casual agents of ear blight of winter wheat, for the control of mycotoxin protection in grain. *Biocontrol Science and Technology*, 14, 783–799.
- De Hoog, G.S., Guarro, J., Gene, J., Figuras, M.J., 2003.** Atlas of Clinical Fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 41 (10), 4767-78.
- Deacon, J.W., 2005.** Fungal Biology. Blackwell Publishing Professional; 4 Edition, ISBN: 1405130660, pp.372.
- Delen, N., 1991.** Patojenlerin fungusitlere dayanıklılık sorunu. TYUAP Ege-Marmara Dilimi, ABAV Toplantısı, 12-14 Mart, Menemen/İzmir, syf. 5.
- Delen, N., 2008.** Fungusitler. Nobel Yayın Dağıtım. Nobel Yayın No: 1360, Ankara, 12 Kasım, 320 s.
- Demiray, E. ve Tülek, Y., 2008.** Domates kurutma teknolojisi ve kurutma işleminin domatesteki bazı antioksidan bileşiklere etkisi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 9-20.
- Devika Rani, G.S., Naik, M.K., Patil, M.B. and Patil, M.G., 2008.** Screening of chilli genotypes against *Fusarium* wilt caused by *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. *Vegetable Science*, 35 (1), 49-54.
- Dix, N. J. and Webster, J., 1995.** Fungal Ecology. London: Chapman & Hall, ISBN 0-412-22960-9, 332-333 pp.
- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H., 1980.** Compendium of Soil Fungi. Academic Press, New York, USA, 1156 pp.
- Druzhinina, I., Kopchinskiy, A. and Kubicek, C., 2006.** The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*. Vol. 47, No. 2, ISSN 1618-2545, 55–64 pp.
- Duzyaman, E. ve Duman, I., 2003.** Dried tomato as a new potential in export and domestic market diversification in Turkey, Proceedings of the Eighth International ISHS Symposium on the Processing Tomato, *Acta Horticulture*, 613, 433-436.
- Eastburn, D.M. and Butler, E.E., 1991.** Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. *Mycologia*, 83, 257-263.
- Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N. and Alabouvette, C., 2000.** Ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probe and PCR assay specific for *Fusarium oxysporum*. *Mycological Research*, 104, 518-526.

- Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Recorbet, G., Alabouvette, C., 2001.** Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* populations isolated from different soils in France. FEMS Microbiology Ecology, 36, 61-71.
- Eisendle, M., Oberegger, H., Buttinger, R., Illmer, P. and Haas, H., 2004.** Biosynthesis and uptake of siderophores is controlled by the PacC-mediated ambient-pH Regulatory system in *Aspergillus nidulans*. Eukaryot Cell, 3 (2), 561-563.
- Ekmekci, Y. ve Terzioğlu, S. 1998.** Interactive effects of vernalization, day length and light intensity on the number of leaves and flag leaf area in some wheat cultivars. Turkish Journal of Botany, 22, 303-312.
- Elad, Y., Barak, R. and Chet, I., 1984.** Parasitism of *Sclerotium rolfsii* sclerotia by *Trichoderma harzianum*. Soil Biology and Biochemistry, 16, 381-386.
- Elango, F., 1986.** A simple greenhouse incubation techniques for screening true potato seedlings for their tolerance to *Rhizoctonia solani* induced damping off. Phytopathology, 59, 466-467.
- Ellis, B.M. and Ellis, P.J., 1985.** Micro Fungi in Land Plants. An Identification Handbook. ISBN:0- 7099-0950-0, 818 pp.
- Erdal, G., 2006.** Tarımsal ürünlerde üretim – fiyat ilişkisinin Koyck yaklaşımı İle analizi (domates örneği). Gazi Osman Paşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2, 17-24.
- Erdurmuş, D. ve Katircioğlu, Y.Z., 2008.** Buğdayda önemli kök ve kök boğazı hastalık etmenlerine karşı *Trichoderma harzianum*'un etkinliğinin araştırılması. Bitki Koruma Bülteni, 48 (1), 37-48
- Erkin, E. ve Kışmır, A., 1996.** Dünya'da ve Türkiye'de tarım ilaçlarının kullanımı. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, II. Ulusal Zirai Mücadele İlaçları Sempozyumu, Ankara, 18-20 Kasım, 3-11.
- Erzurum, K. and Maden, S., 1995.** Evolution of various treatments of inducing resistance to *Fusarium* wilt on melon. The Journal of Turkish Phytopathology, 24 (3), 121-134.
- Filtenborg, O., Frisvad, J.C. and Samson, R.A., 2002.** Specific association of fungi to foods and influence of physical environmental factors. In Introduction to Food and Airborne Fungi, 6th edn, ed. R. A. Samson, E. S. Hoekstra, J. C. Frisvad & O. Filtenborg. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 306-320.
- Fraser, P.M., 1994.** The impact of soil and crop management practices on soil macrofauna. In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR, Grace PR (eds) Soil biota-management in sustainable farming systems. CSIRO, Australia, 125-132.

- Fuchs, J.G., Loccoz, Y.M. and Défago, G., 1997.** Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato. *Plant Disease*, 81, 492-496.
- Gams, W., 1977.** A key to the species of *Mortierella*. *Persoonia*, 9, 381–391.
- Gams, W. and Bisset, J., 1998.** Morphology and identification of *Trichoderma* and *Gliocladium*.. Edited by C.P. Kubicek and G.E. Harman. London; Bristol, PA: Taylor and Francis. 3-31 pp.
- Gams, W. and Meyer, W., 1998.** What exactly is *Trichoderma harzianum* Rifai. *Mycologia*, 90 (in press).
- 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. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 243-270.
- Garrett, S.D., 1970.** Pathogenic root-infection fungi. London, UK: Cambridge University Press, 294.
- Gerlach, W. and Nirenberg, H.I., 1982.** The Genus *Fusarium* a Pictorial Atlas. Berlin-Dahlem: Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft, 209, 1-406.
- Ghazalibiglar, H., Kandula, D.R.W. and Hampton, J.G., 2016.** Biological control of *Fusarium* wilt of tomato by *Trichoderma* isolates. *New Zealand Plant Protection*, 69, 57-63.
- Gibbs, J.N., 1967.** A study of the epiphytic growth habit of *fomes annosus*. *Annals of Botany*, 31 (4), 755- 774.
- Goettel, M.S. and Inglis, D.G., 1997.** Fungi: Hyphomycetes. In: Lacey L.A. (ed.) *Manual of techniques in insectpathology*. Academic Press, London, UK., 213-249.
- Gordon, T.R. and Martyn, R.D., 1997.** The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*, 35, 111-128.
- Gordon, T.R., Okomoto, D. and Jacobson, D.J., 1989.** Colonization of muskmelon and nonsusceptible crops by *Fusarium oxysporum* f. spp. melonis and other species of *Fusarium*. *Phytopathology*, 79, 1095-1100.
- Hall, T.A., 1999.** A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Hanson, L.E., Schwager, S.J., Loria, R., 1996.** Sensitivity to thiabendazole in *Fusarium* species associated with dry rot potato. *Phytopathology*, 86, 378-384.

- Harman, G.E. and Kubicek, P.K., 1998.** *Trichoderma* and *Gliocladium*. Enzymes, biological control and commercial applications. Taylor and Francis, London, 2, 1-393.
- Harman, G.E., 2000.** Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84 (4), 377-393. DOI: 10.1094/Pdis.2000.84.4.377.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M., 2004.** *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2 (1), 43-56. DOI: 10.1038/Nrmicro797
- Harman, G.E., 2006.** Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96, 190-194.
- Hasenekoğlu, İ., 1980.** Sarıkamış Civarı Orman, Çayır ve Tarla Topraklarının Mikrofungus Florası. Doktora tezi. Atatürk Üniversitesi, Temel Bilimler ve Yabancı Diller Yüksek Okulu, Erzurum, Türkiye, 1-242.
- Hasenekoğlu, İ., 1991.** Toprak mikrofungusları, Cilt I-VII. Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Basımevi, No: 689, Erzurum, 57-60.
- Hawksworth, D.L., 2001.** The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105, 1422-1432.
- Hillocks, R.J., 1992.** *Fusarium* Wilt. (Hillocks, R. J., ed), *Cotton Diseases C.A.B., International*, UK, 127-160.
- Hoitink, A. J. F., Hoekstra, P. and Van Maren, D.S., 2006.** Comment on "On the role of diurnal tides in contributing to asymmetries in tidal probability distribution functions in areas of predominantly semi-diurnal tide" by P.L. Woodworth, D.L. Blackman, D.T. Pugh and J.M. Vassie [*Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64 (2005) 235-240]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 67 (1-2), 340-341. DOI: 10.1016/j.ecss.2005.10.008
- 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 Technology*, 3 (4), 435-441. DOI: 10.1080/09583159309355298
- Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S. and Bissett, J., 2009.** Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. *Fungal Genetics and Biology*, ISSN 1087-1845, 46 (9), 615–631
- Huh, Y.C. and Om, Y.H., 2002.** Utilization of citrullus germplasm with resistance to *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f.spp. *niveum*) for watermelon rootstocks. *Proc. 2 nd International Symposium on Cucurbits*, 127-132.

- Jackson, A.M., Whipps, J.M., Lynch, J.M., 1991.** In vitro screening for identification of potential biocontrol agents of allium white rot. *Mycological Research*, 95 (4), 430-434.
- John, Christopher, D., SuthinRaj, T., UshaRani, S. and Udhayakumar, R., 2010.** Role of defense enzymes activity in tomato as induced by *Trichoderma virens* against *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum f. spp. lycopersici*. *Biopesticides*, 3 (1), 158-162.
- John, R.P., Tyagi, R.D., Prévost, D., Brar, S.K., Pouleur, S., Surampalli, R.Y., 2010.** Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum f. spp. adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. *Crop Protection*, 29, 1452-1459. DOI:10.1016/j.cropro.2010.08.004
- Joshi, M., Srivastava, R., Sharma A.K. and Prakash, A., 2013.** Isolation and characterization of *Fusarium oxysporum*, a wilt causing fungus, for its pathogenic and non-pathogenic nature in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Applied and Natural Science*, 5 (1), 108-117.
- Kaygusuz, Y.K. ve Biçici, M., 2007.** Adana yöresi sebze yetiştirilen alanlarda fungal hastalıklara karşı kullanılan fungusitlerin hastalıklarla mücadele ve çevre yönünden etkileri. *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri*, Isparta, 2 -29 Ağustos, 61-64.
- Kennelly, M., 2007.** Wilt, Nematode, and Virus Diseases. Kansas State University, 723.
- Keskin, G. ve Gül, U., 2004.** Domates. *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, T.E.A.E Bakış*, Sayı:5, Nüsha:13, Ankara, 17 s.
- Kırbağ, S. ve Parlak, Y., 1996.** Elazığ'da yetiştirilen bazı sebzelerde görülen fungusların tespiti ve önemli bulunanın biyolojisi ve savaşı üzerine araştırmalar, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 8 (2), 69-81.
- Kırbağ, S. ve Turan, N., 2006.** Malatya'da yetiştirilen bazı sebzelerde kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olan fungal etmenler. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18 (2), 159-164.
- Killham, K., 1994.** *Soil Ecology*, 1st edn. Cambridge; Newyork, Cambridge University Press, 242.
- Kiprop, E.K., Baudoin, J.P., Mwang'ombe, A.W., Kimani, P.M., Mergeai, G. and Maquet, A., 2002.** Characterization of Kenyan Isolates of *Fusarium udum* from pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Mill spp.] by cultural characteristics, aggressiveness and AFLP analysis. *Journal of Phytopathology*, 150, 517-525.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C., Stalpers, J.A., 2001.** *Dictionary of the fungi*. 9th ed. Wallingford, UK: CABI., 655 p.



- Klem, D. and Eveleigh, E., 1998.** Ecology of *Trichoderma*. In *Trichoderma and Gliocladium*. Edited by C.P. Kubicek and G.E. Harman. London; Bristol, PA: Taylor and Francis, 57-69.
- Komado, H., 1996.** Biocontrol of tomato by previous inoculation with nonpathogenic *Fusarium oxysporum* in soilness culture. First International *Fusarium* Biocontrol Workshop, Bletsville, Oct, 28-31, 35.
- Kopchinskiy, A., Komon, M., Kubicek, C. and Druzhinina, I., 2005.** Mycological research news. Mycological Research, 109 (6), 657-660, ISSN 1469- 8102.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., Nagy, E., 2003.** Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. Food Technology and Biotechnology, 41 (1), 37-42.
- Kubicek, C.P. and Harman, G.E., 2002.** *Trichoderma and Gliocladium* Volume 1, Basic biology, taxonomy and genetics Taylor & Francis Ltd., 271, 14-18. ISBN 0-7484-0572-0
- Kubicek, C., Bissett, J., Druzhinina, I., Kulling-Grandiger, C. and Szakacs, G., 2003.** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma*: a case study on South East Asian isolates. Fungal Genetics and Biology, Vol: 38, No: 3, 310-319. ISSN 1087-1845.
- Kucharski, J., Cieccko, Z., Niewolak, T., Niklewska Larska, T., 1996.** Activity of microorganisms in soil of different agricultural usefulness complexes fertilized with mineral nitrogen. Acta Academy of Agriculture Technology, 62, 25-35.
- Kulling, C., Szakacs, G. and Kubicek, C., 2000.** Molecular identification of *Trichoderma* species from Russia, Siberia and the Himalaya. Mycological Research, 104 (9), 1117-1125. ISSN 1469-8102.
- Küçük, Ç. and Kıvanç, M., 2003.** Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. Turkish Journal of Biology, 27, 247-253.
- Küçük, Ç., 2000.** *Trichoderma harzianum* ile Toprak Kökenli Bazı Bitki Patojenlerinin Kontrolü. Yüksek lisans tezi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ana bilim dalı, 80 s.
- Lacey, J., 1994.** Aspergilli in feeds and seeds. In The Genus *Aspergillus*. From Taxonomy and Genetics to Industrial Application, ed. K. A. Powell, A. Renwick & J. F. Peberdy. New York: Plenum Press, 73-92.
- Leahy, J.G. and Colwell, R.R., 1990.** Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiol Reviews, 54 (3), 305-315.

- Leslie, J.F. and Summerell, B.A., 2006.** The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Professional, Ames, Iowa, USA, 87-96.
- Lewis, J.A., Lumsden, R.D., Locke, J.C., 1996.** Biocontrol of damping-off diseases caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum* with alginate prills of *Gliocladium virens*, *Trichoderma harzianum* and various food bases. *Biocontrol Science and Technology*, 6, 163-173.
- Lieckfeldt, E. and Seifert, K., 2000.** An evaluation of the use of ITS sequences in the taxonomy of the Hypocreales. *Studies in Mycology*, 45 (1), 35-44. ISSN 0166-0616.
- Louter, J.H. and Edgington, I.V., 1990.** Indication of cross-protection against *Fusarium* crown rot of tomato. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 12, 283-288.
- Mark, M., 2002.** Mechanisms of natural soil suppressiveness to soilborne diseases. Kluwer Academic Publishers, 81, 557-564.
- Marra, R., Ambrosino, P., Carbone, V., Vinale, F., Woo, S.L., Ruocco, M., Ciliento, R., Lanzuise, S., Ferraioli, S., Soriente, I., Gigante, S., Turra, D., Fogliano, V., Scala, F., Lorito, M., 2006.** Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens by using a proteomic approach. *Current Genetics*, 50, 307-321.
- Martin, C. and Torres, H., 1989.** Comparative sensitivity of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia* like fungi to selected fungicides *in vitro*. *Phytopathology*, 74 (7), 778-781.
- Mathre, D.E., Cook, R.J., Callan, N.W., 1999.** From discovery to use: Traversing the world of commercial biocontrol agents for plant disease control. *Plant Disease*, 83, 972-982.
- McIntyre, M., Nielsen, J., Arnau, J., 2004.** Proceedings of the 7th European Conference on Fungal Genetics. Copenhagen, Denmark, 78-80.
- McSpadden Gardener, B.B. and Fravel, D.R., 2002.** Biological control of plant pathogens: Research commercialization and application in the USA. *Plant Health Progress*, 231-340. DOI:10.1094/PHP-2002-0510-01-RV.
- Meyer, W., Castaneda, A., Jackson, S., Huynh, M. and Castaneda, E., 2003.** The Ibero American cryptococcal study group. Molecular typing of Ibero American *Cryptococcus neoformans* isolates. *Emerging Infectious Diseases*, 9, 189-195.
- Mihuta Grimm, L. and Rowe, R.C., 1986.** *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-off of radish in organic soil and comparison of four delivery systems. *Phytopathology*, 76 (3), 306-311.

- Monte, E., 2001.** Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *International Microbiol*, 4 (1), 1-4. DOI: 10.1007/s101230100001
- Mourellos, C.A., Malbrán I., Lori, G.A. and Dal Bello, G.M., 2016.** First report of *Fusarium sambucinum sensu stricto* causing postharvest fruit rot of tomato in Argentina. *APS Journals*, 100, 1952-1953. DOI : 10.1094/PDIS-09-15-1045-PDN
- Muthumeenakshi, S. and Mills, P.R., 1996.** Molecular differentiation and detection of aggressive *Trichoderma* taxa from mushroom compost. Abstract, Mushroom Green Mold Round Table Conference, Pennsylvania, USA, 67-74.
- Muthumeenakshi, S., 1996.** Molecular taxonomy of the genus *Trichoderma*. Ph. D. thesis, The Queen's University of Belfast, 124-129.
- Muthumeenakshi, S., Brown, A.E. and Mills, P.R., 1998.** Genetic comparison of the aggressive weed mould strains of *Trichoderma harzianum* for mushroom compost in North America and the British Isles. *Mycological Research*, 457-461.
- Muyolo, N.G., Lipps, P.E., Schmitthenner, A.F., 1993.** Anastomosis grouping and variation in virulence among isolates of *Rhizoctonia solani* associated with dry bean and soybean in Ohio and Zaire. *Phytopathology*, 83, 438-444.
- Naik, M.K., 2006.** Wilt of chilli with special reference to cultural, morphological, molecular characterization and pathogenic variability of *Fusarium* isolates of India. In: Proceedings of Midterm Review Meeting of the Project, Indian Institute of Vegetable Research, Varanasi, 62 (2), 190-198.
- Nannipieri, P., 1994.** The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainable farming systems In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta, VVSR, Grace PR (eds.) CSIRO, Australia, 238–244.
- Nazar, R.N., Hu, X., Schmidt, J., Culham, D. and Robb, J., 1991.** Potential use of PCR-amplified ribosomal intergenic sequences in the detection and differentiation of *Verticillium* wilt pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 39, 1-11.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O., 1983.** *Fusarium* Species. An Illustrated Manual for Identification. London, PA: Pennsylvania State University Press, 135.
- O'Donnell, K., 1996.** Progress towards a phylogenetic classification of *Fusarium*. *Sydowia*, 48, 57-70.
- O'Donnell, K., Kistler, H., Tacke, B., and Casper, H., 2000.** Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America, 14, 7905–7910. ISSN 1091-649097.

- Olivain, C. and Alabouvette, C., 1997.** Colonization of tomato root by a non pathogenic strain of *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*, 137, 481-494.
- Omar, I., O'Neill, T.M., Rossall, S., 2006.** Biological control of *Fusarium* crown and root rot of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicide carbendazim. *Plant Pathology*, 55, 92-99.
- Ozan, S. ve Maden, S., 2004.** Ankara ili domates ekiliş alanlarında solgunluk ve kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olan fungal hastalık etmenleri. *Bitki Koruma Bülteni*, 44 (1-4), 105-120.
- Ozeretskovskaya, O.L., 1995.** Induced Resistance in the Solanaceae. (R. Hammerschmidt and J. Kuc, eds.) *Induced Resistance to Disease in Plants*. Kluwer Academic Publishers, London, 31-62.
- Öner, M., 1973.** Atatürk Üniversitesi, Erzurum çiftliği, Ereğli Dağı kuzey yamacı ve Trabzon Hopa sahil şeridi mikrofungus florası ile ilgili bir araştırma. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Sevinç Matbaası, Ankara, 1971, 71 s.
- Özmen, Y., 2007.** AB Müktesabatına göre hazırlanan bitki koruma ürünlerinin piyasaya arzı ile ilgili yönetmelik'in genel bir değerlendirilmesi. TMMOB Kimya ve Ziraat Mühendisleri Odaları Bildiri Kitabı, Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi, Ankara, 25-26 Ekim 2007, 1-12.
- Öztürk, S., 2007.** Tarım İlaçları. Genişletilmiş 2. Baskı. Ak Basımevi, İstanbul, 553 s.
- Papavizas, G.C., 1985.** *Trichoderma* and *Gliocladium* biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review Phytopathology*, 23, 23-54.
- Perez, L.M., Besoain, X., Reyes, M., Pardo, G. and Montealegre, J., 2002.** The expression of extracellular fungal cell wall hydrolytic enzymes by different *Trichoderma harzianum* isolates correlates with their ability to control *Pyrenochaeta lycopersici*. *Biological Research*, 35 (3-4), 401-410.
- Perez Espinosa, A., Roldan Arjona, T. and Ruiz Rubio, M., 2001.** Pantothenate synthetase from *Fusarium oxysporum* f. spp. *lycopersici* is induced by alpha-tomatine. *Molecular Genetics and Genomics*, 265, 922-929.
- Persoon, C.H., 1794.** *Disposita methodica fungorum*. Römer's Neues Mag. publication. Research, commercialization, and application in the USA. *Plant Health Progress*, 1, 81-128. DOI:10.1094/PHP-2002- 0510-01-RV
- Rifai, M.A., 1969.** A revision of the genus *Trichoderma*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. *Mycological*, 116.
- Roberts, P.D., McGovern, R.J. and Datnoff, L.E., 2000.** *Fusarium* Crown and Root Rot of Tomato in Florida. *Plant Pathology Fact Sheet*, 4 p.

- Roiger, D.J., Jeffers, S.N. and Caldwell, R.W., 1991.** Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 23, 353-359.
- Rossi, V., Cervi, C., Chusa, G. and Languasco, L., 1995.** Fungi associated with foot rots on winter wheat in Northwest Italy. *Phytopathology*, 143, 115-119.
- Royse, D.J. and Ries, S.M., 1978.** The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology*, 68, 603-607.
- Sadfi Zouaoui, N., Hannachi, I., Rouaissi, M., Hajlaoui, M.R., Rubio, M.B., Monte, E., Boudabous, A. and Hermosa, M.R., 2009.** Biodiversity of *Trichoderma* strains in Tunisia. *Canadian Journal of Microbiolog*, 55 (2), 154-162.
- Sağlam, M.T., 1978.** Toprak kimyası tatbikat notları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, Erzurum. 78 s.
- Samuels, G.J., 1996.** *Trichoderma* a review of biology and systematics of the genus. *Mycological Research*, 100, 923-935.
- Samuels, G.J., 2006.** *Trichoderma* systematics, the sexual state and ecology. *Phytopathology*, 96, 195-206.
- Samuels, G.J. and Blackwell, M., 2001.** Pyrenomycetes fungi with perithecia. In: McLaughlin DJ, McLaughlin EG, Lemke PA, eds. *The Mycota VII Part A*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 221–255.
- Santamarina, M.P., Roselló, J., 2006.** Influence of temperature and water activity on the antagonism of *Trichoderma harzianum* to *Verticillium* and *Rhizoctonia*. *Crop Protection*, 25, 1130-1134.
- Seung Hun Yu and Gun Sik, S., 2002.** Integrated Control of Green Mould in Oyster Mushroom, 64-71.
- Silva, J.C. and Bettol, W., 2005.** Potential of non pathogenic *Fusarium oxysporium* isolate for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Fitopatologia Brasileira*, 30, 409-412.
- Singh, R.S., 1984.** Diseases of vegetable crops. Oxford & IBH Publishing Company, New Delhi, 512 p.
- Sivan, A. and Chet, I., 1986.** Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. In *Microbial Communities In Soil*, Ed.by V. Jensesenetal, Elsevier Applied Science Publishers, 89-95.
- Sivaramakrishnan, S., Kannan, S. and Singh, S.D., 2002.** Detection of genetic variability in *Fusarium udum* using DNA markers. *Indian Phytopathology*, 55, 258-263.

- Smith, R.H., 1971.** Red turpentine beetle. Forest Pest Leaflet 55, USDA Forest Service, 8 p.
- Sneh, B., Ichievlevich Auster, S., 1998.** Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) isolates. *Phytoparasitica*, 26 (1), 27-38.
- Snyder, W. and Hanson, H., 1940.** The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 27, 64-67.
- Stoner, M.F., 1981.** Ecology of *Fusarium* in Noncultivated Soils. (P.E. Nelson, T.A. Toussoun and R.J. COOK, eds.) *Fusarium Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, University Park., p. 276-286.
- Subhash, C. and Vyas, M., 1989.** Nontarget effects of agricultural fungicides. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 258 p.
- Talukder, M.J., 1974.** Plant Diseases in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 1 (1), 61-68.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011.** Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731-2739.
- Tezuka, N. and Makino, T., 1992.** Biological control of *Fusarium* wilt of strawberry by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolated from strawberry. *Annals Phytopathological Society of Japan*, 57, 506-511.
- Tinline, R.D., Ledingham, R.J. and Sallans, B.J., 1975.** Appraisal of loss from common root rot in wheat. In 'Biology and Control of Soil-borne Plant Pathogens'. *American Phytopathological Society*, 22-26.
- Tort, N., Öztürk, İ. ve Tosun, N., 2004.** Fungisit uygulamalarının domates'in anatomik yapısı ve fizyolojisi üzerine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (2), 111-122.
- Tronsmo, A., Hjeljord, L.G., 1998.** Biological control with *Trichoderma* species. In: Boland GJ, Kuykendall DL, eds, *Plant-Microbe Interactions and Biological Control*. New York: Marcel Dekker Inc., 111-126.
- Turabi, M.S., 2007.** Bitki Koruma Ürünlerinin Ruhsatlandırılması. Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi Bildirileri, Ankara, 25- 26 Ekim 2007, 50-61.
- Tüzün, S., Liu, L. and Kleopfer, J.W., 1995.** Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant promoting *Rhizobacteria*. *Phytopathology*, 85, 695-698.

- URL-1, 2018.** <https://www.diyadinnet.com/YararliBilgiler-1365&Bilgi=domates> (02 Nisan 2018).
- URL-2, 2018.** [http://www.bitkisagligi.net/Domates\\_Hastaliklari.htm](http://www.bitkisagligi.net/Domates_Hastaliklari.htm) (05 Nisan 2018).
- URL-3, 2018.** [https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Fusarium%20solani/Fusarium\\_solani.htm](https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Fusarium%20solani/Fusarium_solani.htm) (19 Nisan 2018).
- URL-4, 2016.** <http://www.cabri.org/HyperCat/index.html> (21 Haziran 2016).
- URL-5,2014.** <http://tolweb.org/Dothideomycetes> (12 Aralık 2017).
- Uylaşer, V., 1996.** Salça Üretim Aşamalarına Göre Bakteri ve Maya Florasındaki Değişim. Doktora Tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye, 2-8.
- Vey, A., Hoagland, R.E. and Butt, T.M., 2001.** Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. In: Butt TM, Jackson C, Magan N (eds) fungi as biocontrol agents, progress, problems and potential. CAB International, Bristol, 311-346.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Barbetti, M.J., Li, H., Woo, S.L., Lorito, M., 2008.** A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72, 80-86.
- Webster, J., 1966.** Spore projection in *Epicoccum* and *Arthrinium*. *Transactions of the British Mycological Society*, 49, 339-343.
- Webster, J. and Weber, R., 2007.** Introduction to Fungi. First published. The Edinburgh Building, Cambridge CB2 8RU, UK, Cambridge University Press, 164-184; 338-339; 235.
- Windels, C.E., 1991.** Current status of *Fusarium* taxonomy. *Phytopathology*, 81, 1048-1051.
- Woo, S.L, Scala, F., Ruocco, M., 2006.** The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*, 96, 181-185.
- Yıldız, A. ve Döken, T., 2001.** Aydın ili Domates Ekim Alanlarında Saptanan *Fusarium* spp. ve Bazı Domates Çeşitlerinin Bu Etmenlere Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi Üzerinde Çalışmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi 3-8 Eylül, Trakya Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları, 45, 364-371.
- Yılmazdemir, F.Y., 1976.** Edirne, Tekirdağ ve Kırklareli İllerinde Buğday Kök Hastalıklarının Fungal Etmenleri ve Bu Hastalıkların Dağılışına Toprak Ph ve Nem'inin Etkisi Üzerinde Araştırmalar. Uzmanlık Tezi. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, İzmir, 107 s.

- Yiğit, F., 2003.** Pentachloronitrobenzen (PCNB) uygulanmış seralardaki domateslerde kök çürüklüğü etmenlerinin tespiti ve hastalığın Yaygınlığı. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 17 (31), 1-4.
- Yiğit, F., 2005.** Bitki patojenlerinin kontrolünde kullanılan biyokontrol ürünler ve özellikleri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19 (36), 70-77.
- Yiğit, F., 2011.** *Trichoderma harzianum* T22 ırkının farklı pH ve tuz konsantrasyonlarına adaptasyonu ve domateste *Fusarium oxysporum* f. spp. *radicis lycopersici* 'in biyolojik kontrolünde kullanılması. Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 25 (4), 6-10. ISSN:1309-0550
- Yiğit, F., Arıkan, K. ve Balaban, Y.Y., 2007.** Patojen olmayan *Fusarium* türleri İle domateste *Fusarium* kök çürüklüğü hastalığının biyolojik kontrolü üzerinde bir araştırma. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21 (42), 59-63.
- Yiğit, V., 1977.** Türkiye'de meyve ve sebzelerde bulunan pestisit kalıntıları üzerine araştırmalar. TÜBİTAK Marmara Bil. Araş. Enst., Yayın No: 21, 70s.
- Yoksuloğlu, F., 2001.** Domates Yetiştiriciliği ve Domates Virüs Hastalıkları. Mezuniyet Tezi. Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana, Türkiye, 76 s.
- Yurlova, N.A., De Hoog, G.S. and Van Den Ende, A.H., 1999.** Taxonomy of *Aureobasidium* and allied genera. Studies in Mycology, 43, 63-69.
- Yücel, S. ve Çınar, A., 1989.** Domates *Fusarium* Solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* Schl. f. spp. *lycopersici*) Karşı Biyolojik Kontrolde Antagonistlerin ve Toprak Solarizasyon Uygulamasının Etkileri. Doğa Bilim Dergisi, 13 (36), 1372-1393 s.
- Yücel, S., 1989.** Domates *Fusarium* Solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* Schlecht f. spp. *lycopersici* (Sacc.) Syn. and Hans.) Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Araştırma Yayınları Serisi, No:64, Adana, 108 s.
- Zeilinger, S., Galhaup, C., Payer, K., Woo, S.L., Mach, R.L., Fekete, C., Lorito, M., Kubicek, C.P., 1999.** Chitinase gene expression during mycoparasitic interaction of *Trichoderma harzianum* with its host. Fungal Genetics Biology, 26, 131-140.
- Zeilinger, S. and Omann, M., 2007.** *Trichoderma* biocontrol signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism. Gene Regulation and Systems Biology, 1, 227-234.
- Zhang, X., Harvey, P. R., Stummer, B. E., Warren, R.A., Zhang, G., Guo, K., Li, J. and Yang, H., 2015.** Antibiosis functions during interactions of *Trichoderma afroharzianum* and *Trichoderma gamsii* with plant pathogenic *Rhizoctonia* and *Pythium*. Functional & Integrative Genomics, 15, 599-610. DOI: 10.1007/s10142-015-0456-x



**Zureik, M., Neukirch, C., Leynaert, B., 2002.** Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European community respiratory health survey. *British Medical Journal*, 325, 411-414.



## ÖZGEÇMİŞ

Yaşar KASAP, 30/07/1984 tarihinde Rize/Merkez’de doğdu. İlköğretimini Atatürk İlkokulu’nda, ortaöğretimini Mehmet Akif Ersoy Ortaokulu’nda, lise öğrenimini Fener (YDA) Lise’sinde tamamladı. 2008 yılında Atatürk Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Öğretmenliği Bölümü’nden mezun oldu. 2008 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda başladığı yüksek lisans öğrenimine hala devam etmektedir.

