

T. C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**SOĞANDA DİP ÇÜRÜKLÜĞÜ HASTALIĞI'NA (*Fusarium oxysporum* f. sp.
cepae(W.C Snyder & H.N Hansen) KARŞI ARBUSKÜLER MİKORHİZAL
FUNGUS(AMF) ve *Trichoderma harzianum* Rifai'un ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Abdulaziz YAĞMUR
DANIŞMAN: Prof. Dr. Semra DEMİR

VAN-2019

T. C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**SOĞANDA DİP ÇÜRÜKLÜĞÜ HASTALIĞI'NA (*Fusarium oxysporum* f. sp.
cepae(W.C Snyder & H.N Hansen) KARŞI ARBUSKÜLER MİKORHİZAL
FUNGUS(AMF) ve *Trichoderma harzianum* Rifai'un ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Abdulaziz YAĞMUR

VAN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Semra DEMİR danışmanlığında, Abdulaziz YAĞMUR tarafından sunulan "Soğanda Dip Çürüklüğü Hastalığına (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*(W.C Snyder & H.N Hansen) Karşı Arbusküler Mikorhizal Fungus(AMF) ve *Trichoderma harzianum Rifai*'un Etkilerinin Belirlenmesi" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 27/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Semra DEMİR

İmza:

Üye : Dr. Öğrt. Ü. M. Hadi AYDIN

İmza:

Üye : Dr. Öğrt. Ü. Emre DEMİRER DURAK

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28/06/2019 tarih ve 2019/35-I sayılı kararı ile onaylanmıştır.



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Abdulaziz YAĞMUR



ÖZET

SOĞANDA DİP ÇÜRÜKLÜĞÜ HASTALIĞI'NA (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (W.C Snyder & H.N Hansen) KARŞI ARBUSKÜLER MİKORHİZAL FUNGUS (AMF) ve *Trichoderma harzianum* Rifai'un ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

YAĞMUR, Abdulaziz
Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semra DEMİR
Haziran 2019, 92 sayfa

Bu çalışmada, soğanda büyük sorun olan ve kimyasal mücadelesi olmayan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* W.C. Snyder & H.N Hansen'nin neden olduğu dip çürüklüğü hastalığına karşı farklı arbusküler mikorhizal fungus (AMF) ve biyolojik kontrol elemanı *Trichoderma harzianum*'un etkileri araştırılmıştır. Çalışmada öncelikle Ankara Polatlı ilçesinden toplanan soğan bitkilerinden izolasyon yapılmıştır. Hem klasik hem de moleküler teşhis yöntemleri sonucunda izole edilen fungus'un *F. oxysporum* f.sp. *cepae* olduğu belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci aşaması iklim odası koşullarında yürütülmüştür. Kontrollü şartlarda yetiştirilen ve hastalığa karşı duyarlı olduğu belirlenen soğan bitkilerine iki farklı AMF izolatı (*Glomus mosseae* ve Ticari AMF), *Trichoderma harzianum* ve *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'nin ikili ve üçlü inokulasyonları yapılmıştır. AMF türlerinin soğan bitkisindeki kolonizasyon, spor yoğunluğu ve mikorhizal bağımlılık oranları sırasıyla %8.91-%24, 16.4-50.4 spor/10 g toprak ve %18.3-%51.9 olarak belirlenmiştir. En iyi kolonizasyon, mikorhizal bağımlılık ve spor yoğunluğu sırasıyla *G. mosseae* + *F. oxysporum* f.sp. *cepae* ve *G. mosseae* uygulamalarında elde edilmiştir.

Çalışmada hastalığın baskılanması açısından AMF izolatları ve *T. harzianum*'un % 13.5 - % 23.5 arasında etkili olduğu ve en yüksek baskılanmanın *G. mosseae* tarafından gerçekleştiği saptanmıştır. Bunun yanı sıra *G. mosseae*'nin, bitkinin bazı morfolojik gelişim parametreleri ve besin elementi (fosfor) içeriğini genel olarak kontrol bitkilerine göre arttırdığı bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF), *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, Soğan, *Trichoderma harzianum*.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGUS AND *Trichoderma harzianum* Rifai AGAINST BASAL ROT DISEASE (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* W.C. Snyder &H.N Hansen) ON ONION

YAĞMUR Abdulaziz
M. Sc. Thesis, Plant Protection Science
Supervisor: Prof. Dr. Semra DEMİR
June, 2019, 92 Pages

In the study, the effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and *Trichoderma harzianum* were investigated against basal rot agent by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* W.C. Snyder &H.N Hansen which has been known as an important problem of onion with no reasonable chemical control. Firstly, isolations were made from the onion plants collected in Ankara - Polatlı district. As a result of both classical and molecular diagnostic methods, the fungus isolated has been identified as *F. oxysporum* f.sp. *cepae*.

In a climate chamber under controlled conditions, two different AMF application (*Glamus mosseae* and commercial AMF isolate), *T. harzianum* and *F. oxysporum* f.sp. *cepae* were inoculated to the susceptible onion variety with different combinations (as single, double and triple). The rates of colonization, spore density and mycorrhizal dependency of AMF species on onion plants were found to be 8.91% -24%, 16.4-50.4 spore / 10 g soil and 18.3% -51.9% respectively. The best colonization, mycorrhizal dependency and spore density were determined as *G. mosseae* + *F. oxysporum* f.sp. *cepae* and *G. mosseae* applications respectively.

It was found that AMF species and *T. harzianum* were effective by suppression of disease between 13.5% - 23.5% and the highest suppression was performed by *G. mosseae*. In addition, it has been found that *G. mosseae* increases some morphological development parameters and phosphorus content of the plant compared to control plants.

Keywords: Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF), *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, Onion, *Trichoderma harzianum*.



ÖN SÖZ

Bu çalışmanın her aşamasında yanımda olan, hem maddi hem manevi desteğini esirgemeyen, büyük bir sabırla benimle ilgilenen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Semra DEMİR'e, laboratuvar çalışmaları sırasında yardımcı olan Sayın Dr. Sirel CANPOLAT, Dr. Filiz ÜNAL, Dr. Emel ÇAKIR, Senem TÜLEK'e ve istatistik analizlerin yorumlanmasındaki yardımlarından dolayı Dr. Mustafa ALKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Her şeyimle beni var eden, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme, çalışmanın farklı aşamalarında katkılarından dolayı bana tezimde yardımcı olan Birol KILIÇARSLAN'a çok teşekkür ederim.

2019

Abdulaziz YAĞMUR



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	9
2.1. Soğan (<i>Allium cepae</i>).....	9
2.2. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> (W.C Snyder & H.N Hansen)	10
2.3. Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) Hakkında Genel Bilgi	14
2.4. <i>Trichoderma harzianum</i> Hakkında Genel Bilgi	18
2.5. AMF - <i>Trichoderma</i> spp.	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Bitkisel materyal.....	23
3.1.2. Biyolojik savaş elemanları.....	23
3.1.3. Patojen izolatu	23
3.1.4. Çalışmada kullanılan mikrobiyolojik besiyerleri.....	24
3.1.5. Bitki yetiştirme ortamı	24
3.1.6. Araştırmanın gerçekleştirildiği laboratuvar ve iklim odası	25
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. Örnek toplama	25
3.2.2. Fungal etmenlerin izolasyonu	26
3.2.3. Fungal etmenlerin teşhisi	27
3.2.3.1. Klasik metotla teşhis	27

	Sayfa
3.2.3.2 Moleküler metotla teşhis.....	27
3.2.4. Hassas soğan çeşidinin belirlenmesi.....	30
3.2.5. <i>Fusarium</i> izolatlarının virülensliklerinin belirlenmesi	30
3.2.6. Bitki yetiştirme ortamı ve muamele grupları.....	32
3.2.7. Soğan AMF inokulasyonu	32
3.2.8. <i>Trichoderma harzianum</i> inokulasyonu.....	33
3.2.9. Patojen inokulumunun hazırlanması ve bulaştırılması	33
3.2.10. Denemeye ait yapılacak değerlendirmeler.....	33
3.2.11. Bitkinin morfolojik parametrelerinin saptanması	34
3.2.11.1. Bitki boyunun ölçülmesi.....	34
3.2.11.2. Kök-yeşil aksamın yaş ve kuru ağırlıklarının belirlenmesi	34
3.2.12. AMF kök kolonizasyonunun belirlenmesi.....	35
3.2.13. AMF'un kolonizasyon yüzdesinin hesaplanması	36
3.2.14. Toprakta AMF spor yoğunluğunun belirlenmesi	37
3.2.15. Mikorhizal bağımlılığın belirlenmesi	38
3.2.16. Hastalık şiddetinin belirlenmesi	38
3.2.17. Bitkilerde fosfor analizi	39
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	39
4. BULGULAR	41
4.1 Teşhis Çalışmaları.....	41
4.1.1 Fungusun mikroskopik özellikleri	41
4.1.2 Fungusun moleküler teşhisi	41
4.2. Hassas Soğan Çeşidinin Belirlenmesi.....	42
4.3. Patojenisite Denemesi.....	43
4.4. Soğanda <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> 'nin Meydana Getirdiği Hastalık Belirtileri.....	43
4.5. AMF Türlerinin (<i>Glomus mossseae</i> ve Ticari AMF izolatı) Kolonizasyonu, Mikorizal Bağımlılık ve Spor Yoğunluğu	44
4.6. <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> 'nin Muamele Gruplarına Göre Soğan Bitkilerinde Oluşturduğu Hastalık Şiddeti.....	45
4.7. Muamele Gruplarına Göre Soğan Bitkisine Ait Bazı Morfolojik Gelişim Parametreleri.....	46

	Sayfa
4.8. Muamele Gruplarına Göre Soğan Bitkisine Ait Fosfor (P) Elementi Değerleri	49
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
KAYNAKLAR.....	59
ÖZ GEÇMİŞ.....	69



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Dünya kuru soğan verileri (bin ton)	2
Çizelge 1.2. 2016 yılında kuru soğan üretiminde dünyadaki önemli ülkeler (%)....	2
Çizelge 1.3. Türkiye’de kuru soğan verileri (bin ton)	3
Çizelge 2.1. Fusarium oxysporum alt türlerinin neden olduğu hastalıklar.....	10
Çizelge 3.1. PDA besiyerinin bileşenleri ve miktarları (1000 ml)	24
Çizelge 3.2. SNA besiyerinin bileşenleri ve miktarları (1000 ml)	24
Çizelge 3.3. WA besiyerinin bileşenleri ve miktarları (1000 ml)	24
Çizelge 3.4. Araziden alınan alanların büyüklüğü (da) ve örnek sayısı	26
Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan Fusarium türlerinin NCBI sonuçları.....	42
Çizelge 4.2. <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> ’nın soğan çeşitlerine karşı oluşturduğu hastalık şiddeti oranları (%).....	43
Çizelge 4.3. Farklı muamele gruplarının AMF kolonizasyon oranları(%), Mikorizal bağımlılık ve AMF spor yoğunluğuna (adet/10 g) etkisi....	44
Çizelge 4.4 <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> ile inokule edilmiş soğan bitkilerindeki hastalık şiddeti değerleri	46
Çizelge 4.5. Soğan bitkisine ait morfolojik parametreler	48
Çizelge 4.6. Muamele gruplarına göre soğan bitkisi fosfor elementi değerleri(ppm)	49



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> hastalık etmeninin yumru üzerindeki belirtisi.	5
Şekil 2.1. <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> ait mikrokondia ve makrokonidia	11
Şekil 2.2. Endo ve ektomikoriza'nın kökte oluşturdıkları yapılar	15
Şekil 3.1. Araştırmanın gerçekleştirildiği laboratuvar.	25
Şekil 3.2. Patojen inokulumunun hazırlanması ve bulaştırılması.....	33
Şekil 3.3. AMF varlığını saptamak için bitki köklerine uygulanan boyama işlemleri.	36
Şekil 3.4. Boya çözeltisinin hazırlanması ve köklere aktarılması.	36
Şekil 3.5 Grid-Line Intersect Metodu.....	37
Şekil 3.6. a) AMF'lu toprağın beher glass içerisinde toplanması. b) 80 ve 45 µm'luk elekler.....	38
Şekil 4.1. <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> 'nin petride gelişimi(a), (b) mikrokonidi ve makrokonidi	41
Şekil 4. 2. PCR testi sonucunun jel görüntüleme sisteminde çekilmiş görünümü..	42
Şekil 4.3. Bioedit programında düzgün dizilimli nükleotid sekans sonuçları.....	42
Şekil 4.4. Soğanda kök ve yapraklarda <i>F.oxysporum</i> 'un neden olduğu hastalık belirtileri	44
Şekil 4.5. Bazı muamele gruplarına ait kök yapıları	47



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
br	Birim
Ca	Kalsiyum
Cd	Kadmiyum
Cm	Santimetre
°C	Santigrad Derece
Cm²	Santimetre Kare
da	Dekar
dk	Dakika
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
K	Potasyum
KOH	Potasyum Hidroksit
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
mg	Magnezyum
ml	Mikrometre
mm	Milimetre
µm	Mikrometre
N	Azot
Na	Sodyum
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
NaH	Sodyum Hidrür
NaHS	Sodyum Hidrosülfit

Ni	Nikel
Simgeler	Açıklama
nm	Nanometre
P	Fosfor
Pb	Kurşun
pH	Power Hidrojen
ppm	Milyonda bir kısım
%	Yüzde
Zn	Çinko

Kısaltmalar	Açıklama
AFA	Alkol / Formaldehit / Asetik asit karışımı sıvısı
AMF	Arbüsküler Mikorhizal Fungus
IAA	İndol Asetik Asit
PDA	Potato Dextrose Agar
SNA	Synthetic Nutrient Agar
WA	Water Agar
VAM	Vesiküler Arbüsküler Mikorhiza

1. GİRİŞ

Evrenin var oluşundan günümüze kadar geçen sürede yerkürede bulunan canlıların temel yaşam formları barınma ve beslenme üzerine olmuştur. Tarih boyunca insanlar yaşam formlarının devamı için besin arayışında olmuş ve bu süreç insanoğluna doğayı ve canlıları tanıma fırsatı doğurmuştur. Eski çağlarda besin için konar-göçer (avcılık) yapıda olan insanlığın yaşam şekli zamanla bitkisel ürünlerin yerleşik (yerinde) üretimine geçilmesiyle kabuk değiştirerek yerini kısmen avcılıktan çiftçiliğe bırakmıştır (Büyükcan, 2012).

Bu değişim ve dönüşümle birlikte insanlar toprak kullanım ve yönetim modellerini oluşturmuş, farklı bitkisel ürün çeşitliliğine yönelmiştir. Toprağı, suyu ve üretim tekniklerini öğrenen toplumlar bulunduğu yerlerde yerleşik düzene geçerek çoğalmaya başlamıştır. Yerleşik düzeni benimseyen insanoğlu her geçen gün nüfus olarak artmış ve günümüzde de bu artış hızlı bir şekilde devam etmiştir (Büyükcan, 2012).

Bu dönüşüm birçok bitkinin kitlesel üretiminde beraberinde getirmiştir. Bu bitkiler arasında soğan bitkisi de bulunmaktadır. Arkeologların yaptığı çalışmalarda eski çağlardan beri soğan bitkisinin varlığına rastlanmaktadır. Kimi zaman bir lahit üzerinde bulunan soğan yiyen çiftçi kabartmaları şeklinde karşımıza çıkan soğan bitkisi, kimi zamanda seyahatnamelerde adından sıkça söz edilen şifalı bitki olarak karşımıza çıkmaktadır (Anonim 2019a).

Soğanın anavatanı konusunda değişik rivayetler olmakla birlikte Orta-Asya olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Akdeniz havzası ve Yakın Doğu-Asya olduğunu belirten yazarlarda bulunmaktadır (Shrestha, 2007). Çin, Hindistan, Mısır, Mezopotamya bölgelerinde yaygın bir şekilde yetiştiriciliği ve tüketimi yapıldığı bilinmektedir. Kimi tarihçiler Romalılar zamanında Avrupa'ya yayıldığını düşünülmektedir. Geçmiş dönemlerde şifacılar ve rahipler tarafından hastalık tedavilerinde etkin kullanıldığı ve iyileştirici özelliği olduğu düşünülmekle birlikte günümüzde de bu ritüel devam etmektedir (Anonim 2019b).

Günümüzde dünya mutfağında vazgeçilmezler arasında yer alan soğan *Alliaceae* familyasında yer almaktadır. Soğan çeşitleri arasında üretimi ve tüketimi en yaygın olan baş soğan ya da kuru soğan olarakta bilinen *Allium cepae L.*'dir (Günay, 2005).

Kuru ve yeşil olarak tüketimi olan soğan oldukça zengin besin maddeleri, mineraller ve vitaminler içerir. A ve C vitamini olarak zengin olan soğan eterik yağ bakımından da oldukça zengin bir sebzedir. Ortalama 100 gram soğan yaklaşık olarak %90 oranında su ve %10 oranındada kuru madde bulundurmaktadır. Bu %10 luk kuru madde içerik olarak 130 mg K₂O, 45 mg P₂O₅, 20 mg Ca, 15 mg Mg, 11 mg C vitamini ve 0.5 mg Fe barındırmaktadır (Günay, 2005).

Dünya mutfağında önemli bir yere sahip olan soğan dünyada birçok ülkede üretilmektedir. Dünya kuru soğan verilerine ait bilgiler çizelge 1' de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Dünya kuru soğan verileri (bin ton)

	2012	2013	2014	2015	2016	Değişim (%)
Alan (bin ha)	4.469	4.688	4.811	4.834	4.955	2.5
Verim (ton/ha)	18.46	18.04	18.54	18.86	18.8	-0.3
Üretim	82.492	84.578	89.217	91.170	93.169	2.2
İthalat	6.314	6.754	6791	7.032	7.261	3.3
İhracat	6.534	7.008	6.936	6.890	7.299	5.9

FAO verilerine göre dünyada 144 ülkede soğan üretimi yapılmaktadır.2016 yılında bir önceki yıllara göre üretim alanı %2.5 artış göstererek yaklaşık 5 milyon hektar olmuştur. Üretimde %2.2 lik artış ile yaklaşık 93 milyon ton olmuştur (Anonim, 2018a).

Çizelge 1.2. 2016 yılında kuru soğan üretiminde dünyadaki önemli ülkeler (%)

Ülkeler	2014	2015	2016
ÇİN	25.0	25.8	25.7
HİNDİSTAN	21.7	20.8	20.8
MISIR	2.8	3.3	3.3
ABD	3.5	3.3	3.2
İRAN	2.3	2.7	2.5

Dünyada kuru soğan üretiminde ilk sırayı ortalama %25 ile Çin almaktadır. Sırasıyla Hindistan, Mısır, Amerika Birleşik Devletleri ve İran takip etmektedir.

Çizelge 1.3. Türkiye’de kuru soğan verileri (bin ton)

	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	Değişim % ¹
Alan (bin ha)	72.23	61.63	60.04	57.70	60.40	4.68
Verim (kg/da)	24.03	30.91	29.81	32.57	35.11	7.80
Üretim	1.736	1.905	1.790	1.879	2.121	12.88

2017 yılında Türkiye’de soğan ekiliş alanları 2016 yılına göre %4.49 oranında azalarak yaklaşık 58 bin hektar alanda üretim gerçekleşmiştir. Ülkemizde yoğunluklu olarak Trakya Bölgesi ile Ankara, Balıkesir, Eskişehir, Adana, Bursa, Amasya, Çorum, Tokat, Kastamonu, ve Hatay illerinde üretim yapılmaktadır (Vural ve ark., 2000; Eşiyok, 2012). Ankara 523 bin ton kuru soğan üretimi ile ekim alanında olduğu gibi üretimde de ilk sırada yer almaktadır. Ankara’yı sırasıyla 272 bin tonluk üretimle Amasya, 198 bin tonluk üretimle Hatay ve sırasıyla Eskişehir, Adana ve Çorum izlemektedir. Türkiye’deki kuru soğan üretiminin %68.6’sı bu illerde gerçekleştirilmektedir (Anonim, 2018b).

Morfolojik olarak soğan bitkisini incelediğimizde kökler gövdeden tek tek çıkış yapar nadir olarak dallanma gösterir. Yoğun şekilde kök kütlesi oluşturmakla birlikte köklerin yaklaşık %75’i toprağın 20-25 cm’lik kısmında bulunur, daha derinlere ulaşan kökler nadiren görülmektedir. Soğan yaprakları boru şeklinde olup çevre koşulları ve çeşidine bağlı olarak 20-60 cm arasında değişiklik göstermektedir. Çiçekleri, soğanın enine kesitinde kolayca görülen ve çiçek demeti sapı diye adlandırılan, yukarı çıktıkça genişleyerek karın yapan, çiçeklerin bulunduğu üst kısma doğru incelen, yapraklara göre dayanıklı olan 40-100 cm’ye kadar boylanan bir yapının uç kısmında dizilmiş yüzlerce çiçekten oluşur (Vural ve ark. 2000).

Kültür bitkilerinde verim kayıplarına neden olan birçok hastalık ve zararlı bulunmaktadır. Soğan bitkisi toprak, hava ve tohum kökenli fungal patojenler tarafından hastalandırılabilen ve buna bağlı olarak ciddi verim kayıpları oluşabilmektedir. Soğan ekim alanlarında verim kaybına neden olan etmenler çoğunlukla toprak kökenli patojenler olup kök çürüklüğü etmenleri en yaygın olanlarındandır. *Pyrenochaeta* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp. gibi kök çürüklüğü etmenleri dünya

genelinde en yaygın olanlar olup ciddi verim kayıpları oluşturmaktadırlar (Hartman ve Datnoff 1997).

Toprak kökenli patojenler arasında *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseoli*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. önemli olanlardan bazılarıdır. Bunlar arasında *F. oxysporum* f. sp. *cepae* önemli bir dip çürüklüğü hastalığı etmenidir. İtalya, Japonya, Güney Afrika, Türkiye ve A.B.D.'nin de aralarında bulunduğu birçok ülkede soğan üretim alanlarında bu hastalık etmenine rastlanmaktadır (Havey, 1995). Bu hastalık etmeni fide döneminde başlayarak bitkiye zarar vermekte ve depo sürecinde de etkisi devam etmektedir. Bitkide tohum çimlenmesi, çıkış öncesi ve sonrası fidelerin hastalanmasına, ölmesine ayrıca bin dane ağırlığının azalmasına neden olan etmenddir (Srivastava ve Qadri 1984, Barnoczkine-Stoilova 1986, Köycü ve Özer 1997).

Hastalık etmeni bitki köklerinde enfeksiyon oluşturarak köklerin bağlı bulunduğu bölgede ve köklerin üzerinde kahverengi koyu renkte lekeler oluşturmaktadır (Şekil 1.1) ayrıca şiddetli enfeksiyonlarda yumrunun dış kısmındaki yumru pullarında enfekte olmakta ve bu enfekteli kısmın etrafında beyaz renkli miselyumlar oluşabilmektedir (Cramer, 2000). Hastalık etmeni yumruda enfeksiyon yaparak yumruda çürümelere, lekelenmelere ve yumru ağırlığının azalmasına yol açmaktadır (Abawi ve Lorbeer, 1972; Koç, 2007). Bu durum bitkide diğer hastalık, zararlı ve iklimsel çevre koşullarına karşı hassasiyet oluşturmaktadır. Patojen depo süresince tüm yumru çürüyene kadar gelişimini devam ettirebilmektedir (Fantino ve Shiavi, 1987; Standik ve Dehingra, 1995; Özer ve Koç, 2009).



Şekil 1.1. *F. oxysporum* f.sp. *cepae* hastalık etmeninin yumru üzerindeki belirtisi.

Patojen toprak kökenli olduğu için toprak ve tohumla taşındığı bilinmektedir (Kodama, 1983; Abd-El Razık vd., 1990; Boff vd., 1995; Köycü ve Özer, 1997; El-Zawahry vd., 2000; Özer ve Koç, 2009). Bulaşık alanlarda üretilen tohumlar ile arpacıklar kullanıldığında hastalıktan ari olan alanlara buluşması ve beraberinde toprakta canlılığını devam ettirerek yaşamını sürdürmesi kaçınılmazdır.

Hastalık etmeni toprak kökenli bir patojen olması sebebiyle mücadelesi zordur. Bu hastalığın bitkinin sağlıklı büyümesine, kalite ve verimliliğe olan etkisinin azaltılması noktasında kültürel mücadele yöntemleri önem arz etmektedir. Kültürel önlemlerin ve kimyasal mücadelenin yetersiz kaldığı noktalarda doğada mevcut halde yaşam döngüsü içinde yer alan biyolojik mücadele ajanlarının kullanılmasının alternatif mücadele yöntemi sağlayabileceği düşünülebilir. Son zamanlarda organik ürün tüketimi, temiz çevre, çevreci yaşam temalı güncel konuların popülerliği, toplumun bu konulara olan eğilim ve talepleri göz önüne alındığında hastalıklarla mücadelede bu alternatif biyolojik preparatların kullanımının göz ardı edilemeyeceği anlaşılmaktadır.

Biyolojik mücadelede hastalık ile mücadele noktasında etkili biyolojik kontrol ajanları arasında yer alan Arbusküler Mikorhizal Funguslar (AMF) ın kullanılmasının bitki sağlığı ve bitki gelişimi üzerine çevreci bir çözüm olabileceği görülmektedir.

Bir Alman orman fitopatoloğu olan Frank yüzyıllar önce yaptığı çalışmalarda toprakta bazı bitkilerin köklerinde bulunan fakat ona zarar vermeyen fungusların olduğunu belirlemiş ve bunlara 1885 yılında “**mikorhiza**” adını vermiştir. Mikorhiza

kök ve fungusun kelimelerinin birleşimi ile oluşmuştur ve kök fungusu anlamına gelmektedir (Gai ve ark., 2006; Martin ve Slater 2007).

Mikhoriza, bitki kökleri ile toprakta bulunan belli fungus türleri arasındaki karşılıklı simbiyotik yaşam biçimi olarak tanımlanmaktadır. Bu yaşam biçiminde bitki ve fungus karşılıklı kazan-kazan anlayışı ile hareket etmektedir (Demir, 1998). Bu ilişki topraktaki fungus spor ve hiflerinin bitki köklerinden gelen sinyalleri karşılıklı olarak okuyarak birbirlerine yönelmesi ile gerçekleşmektedir (Peterson ve Farquhar.,1994).

Mikhorizal funguslar bitkinin kökleri ile aralarında kurdukları simbiyotik ilişki ile morfolojik, spor ve misel yapıları bakımından çeşitli gruplara ayrılmaktadır (Marschner, 1995). Bitkiye sağladığı yarar açısından bakıldığında özellikle endomikorizal diye adlandırılan yaşam şekli içinde olan Arbusküler Mikorhizal Funguslar (AMF) önem arz etmekte ve araştırmacılar bunlara odaklanmaktadır (Demir, 1998). AMF ler bitki gelişiminde, besin maddelerince noksan olan topraklardan bitki besin elementlerinin alınımını pozitif yönde etkiler, bu etki topraktan fosfor alınımının artırılması ve temel makro ve mikro bitki besin maddelerinin alınması şeklinde açıklanabilir. Bu durum bitkiyi stresten korumakla birlikte bitkinin gelişimi ve yaşam fonksiyonlarını korumada yardımcı olur. Funguslar ise buna karşılık bitkiden karbonhidratları ve organik maddeleri almak suretiyle fayda sağlamaktadırlar (Demir, 1998; Rhodes, 1980; Bolan et al., 1987; Li ark., 1991; Demir ve Özrenk 2009; Güneş; 2018).

AMF 'lerin gübre ihtiyacını azalttığı, kalite ve verimi arttırdığı, kök yenilenmesini teşvik ettiği bilinmektedir (Kara ve Tilki, 2001). Kök hastalıklarına karşı mücadelede olumlu yönde etkili olduğu, nematodlara karşı dayanıklılık sağladığı ve hastalık etmenlerine karşı önemli avantaj sağladığı görülmüştür (Ocak ve Demir, 2012).

Brassicaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae ve Urticaceae familyalarına bağlı bazı türlerin AMF' ler ile negatif ilişki içinde olduğu ve simbiyotik yaşam oluşturamadıkları bilinmektedir (Smith ve Read, 2008; Brundrett 2009; Tushar ve Satish, 2013). Bunun sebepleri arasında bitki ile fungus arasında karşılıklı iletişimi kuran kimyasalların salgılarının yapılamaması, bitkinin fungus kolonizasyonunu engelleme faaliyetleri ve bitki tarafından anti-fungal bileşenlerin salgılanması gösterilmektedir (Sosa-Rodriquez ve ark., 2013).

Hastalıklar ile biyolojik mücadelede kullanılabilen kontrol araçlarından bir diğeri de doğada neredeyse bütün topraklarda, habitatta ve organik madde içeriği yüksek yerlerde bulunan antagonistler arasında yaygın olarak kullanılan *Trichoderma*'lar dır. Hastalıklar ile mücadelede kimyasal kullanımına alternatif olarak geliştirilmiş olan *Trichoderma*'lar patojenlere karşı farklı etki mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlar patojene karşı antibiyotik üretimi, mikoparazitizm, bitkide gelişimi teşvik etme ve besin-alan yarışı şeklinde sıralanabilir (Aydın, 2015).

1794 yılında Persoon tarafından genus düzeyinde teşhisi yapılan *Trichoderma*'larda 4 tür teşhis edilmiş daha sonra 1960 yılında Rifai' nin de yaptığı olduğu çalışmalarla birlikte 9 tür daha tespit edilmiş bulunmaktadır. Moleküler çalışmalar 1990'lı yıllardan itibaren artış göstermiştir (Samuels, 2006; Aydın, 2015).

Günümüzde biyolojik kontrol ajanı olarak biyostek şeklinde pazara sunulan *Trichoderma*'lar bitki köklerinin ertafında (rizosfer) kolonize olmasıyla mikrobiyal denge sağlamak üzere yayılım gösterir ve patojenlerle çeşitli mekanizmalar kullanarak alan-rekabet ilişkisine girer ve kontrol altına almaya çalışırlar. Ayrıca bitkide kök gelişimini desteklemek suretiyle bitkinin sağlıklı gelişimi konusunda avantaj sağlamaktadır (Harman ve ark., 2004).

Trichoderma türlerinin bazı toprak kökenli fitopatojen fungusları kontrol altına alabileceği yönünde çeşitli çalışmaların yapıldığı günümüzde bilinmektedir (Dennis ve Webster, 1971; Chet ve Baker, 1980; Elad ve ark., 1980; Bell ve ark., 1982). Hastalıklara karşı kullanılan bazı pestisitlere karşı dayanıklı *Trichoderma* alt türlerinin (ırklarının) bulunması ve bunların mutasyonla geliştirilebilir olması toprak patojeni hastalıkları kontrol altına alma noktasında kültürel mücadele yöntemleri ile birlikte kombinasyon şeklinde kullanılmalarının etkili olabileceği düşünülebilir (Kredics ve ark., 2003; Aydın ve Turhan, 2013)

Dünyada çevre ve insan sağlığı konusunda hassasiyetin her geçen gün artması araştırmacıları biyolojik mücadele yöntemleri ve ekolojik tarım araştırmalarına yönlendirmiştir. Biyolojik savaş yöntemleri, insan sağlığına olumsuz etkisinin olmaması, kalıcı ve etkili mücadele potansiyeline sahip olması hasebiyle her geçen gün daha fazla ilgi görmektedir.

Bu çalışmada, soğan yetiştiriciliğinde oldukça önemli sorun olan ve verim kayıplarına yol açan *Fusarium* dip çürüklüğü hastalığına karşı biri ticari olmak üzere iki

AMF izolatu ve *Trichoderma harzianum* biyolojik kontrol ajanlarının tekli ve kombine uygulamalarının etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. Soğan (*Allium cepae*)

Soğan, birçok bitki türü için gen kaynağı konumunda olan ülkemizde üretimi, tüketimi ve kullanım alanlarına bakıldığında ekonomik önemi olan bir kültür bitkisidir (Vural ve ark., 2000).

Soğanın anavatanının Orta-Asya olduğu düşünülmektedir ayrıca Akdeniz havzası ve Yakın Doğu-Asya olduğunu belirten yazarlarda bulunmaktadır (Shrestha, 2007). Ülkemizde yoğunluklu olarak Trakya Bölgesi ile Ankara, Balıkesir, Eskişehir, Adana, Bursa, Amasya, Çorum, Tokat, Kastamonu, ve Hatay illerinde üretim yapılmaktadır (Vural ve ark., 2000; Eşiyok, 2012).

Soğanın sığağa karşı dayanıklılığı olduğu bilinmesine rağmen serin iklimde daha yüksek verim veren bir sebze olduğu bilinmektedir (Beşirli, 2002). Ticari yetiştiricilikte tek yıllık üretimi yapılan soğan bitkisi erken gelişme döneminde 12-13 °C, baş bağlama döneminde 18-20 °C, olgunluk döneminde ise 23-27 °C sıcaklık isteği bulunmaktadır. Gün ışığı süresi isteği erkenci ve gecçi çeşitlere göre değişkenlik gösterip 8-15 saat arası gün uzunluğu istemektedir (Vural ve ark., 2000; Beşirli, 2002).

Soğan bitkisi toprak isteği bakımından verimli kumlu, kumlu-killi ve turba toprakları sever, ağır killi ve kaba kumlu topraklarda yetiştiriciliği zordur. Azot ve fosfor içeriği yüksek olan gübreler gelişimini olumlu etkilemektedir (Yamaguchi, 1983).

Soğan yetiştiriciliğinde verim kaybına ve pazar kalite kaybına neden olan unsurlar; iklimsel faktörler ve hastalık- zararlılardır. Bunlar, Beyaz çürüklük hastalığı (*Sclerotinium cepivorum* Berk.), Kurşuni küf (*Botrytis cinera* Pers.), Mildiyö (*Peronospora destructor* Berc.), Soğan dip çürüklüğü hastalığı (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*), Septoria leke hastalığı (*Septoria apiicola* Speg.), Soğan pisilidi (*Bactericera tremblay* Wagner), Soğan sineği (*Delia antiqua* Meigen.), Tripsler (*Thrips tabaci* Linderman) olarak sıralanabilir (Anonim 2019c).

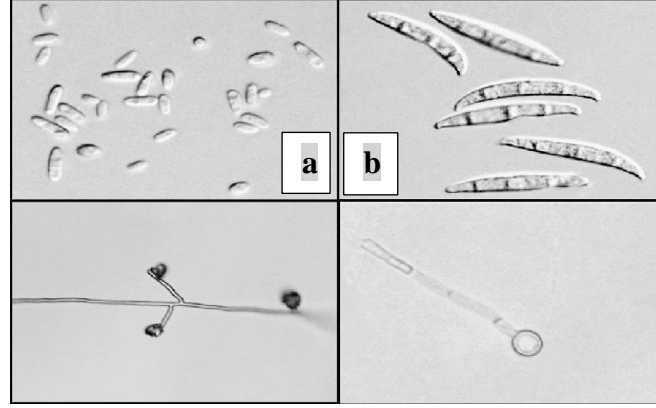
2.2. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (W.C Snyder & H.N Hansen)

Dünyanın en zararlı patojenlerinden biri olarak kabul edilen *Fusarium oxysporum* (Correll, 1991; Schwartz ve Mohan, 1995), 120 den fazla forma specialis (f. sp.) bulunan yüksek konukçu özgülüğüne sahip yaygın toprak kökenli patojenlerden biridir. *F.oxysporum* f. sp. *cepae* soğan bitkisinde %50 ye yakın verim kaybına yol açan ciddi hastalıklara neden olur (Lacy ve Roberts, 1982).

Çizelge 2. 1. *Fusarium oxysporum* alt türlerinin neden olduğu hastalıklar

F. oxysporum	Hastalık	Kaynaklar
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	Dip çürüklüğü hastalığı	Schwartz & Mohan 1995
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	Muzda solgunluk hastalığı	Agrios 2005
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i>	Salatalık solgunluk hastalığı	Jenkins & Wehner 1983
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	Domates solgunluk hastalığı	Agrios 2005
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>niveum</i>	Karpuz solgunluk hastalığı	Zhang et al. 2005

F. oxysporum f.sp. *cepae* dünya çapında soğan ve sarımsak bitkilerinin yanı sıra diğer *Allium* türlerinde de solgunluk hastalığına neden olur (Brayford, 1996). *Fusarium* türleri, miselyum olarak veya topraktaki bitki kalıntıları üzerinde spor olarak yaşayabilir (Agrios, 2005). *F. oxysporum* f.sp. *cepae* miselyumun yanı sıra üç aseksüel spor türü üretir; mikrokonidia, makrokonidia ve klamidosporlar (Cramer, 2000). Mikrokonidia en çok üretilen sporelerdir ve 5-12 µm uzunluğundadır, tipik olarak şekil bakımından ovalden böbrek şekline doğru değişiklik gösterir ve bölmesizdirler. Makrokonidialar, kolayca tanımlanabilen karakteristik hilal (kanca) şekline sahiptirler ve tipik olarak üç veya dört bölmeye sahiptirler (Cramer,2000; Agrios, 2005). Klamidosporlar, eski miselyum içinde veya üzerinde çoğalır, bir veya iki yuvarlak hücreye sahiptir bunu yanı sıra hücrelerini, bozulmaya ve antagonistlere karşı koruyan kalın hücre duvarlarına sahiptir. Bu tür *F. oxysporum* f.sp. *cepae* sporları toprakta konukçu olmadan çok uzun süre genellikle süresiz olarak hayatta kalabilirler (Agrios, 2005).



Şekil 2.1. *F. oxysporum* f.sp. *cepae* ya ait mikrokonidi (a) ve makrokonidi (b).

F. oxysporum f.sp. *cepae*'nin genellikle toprakta soğan bitkisi ile temas etmesiyle enfeksiyon başlar (Abawi ve Lorbeer, 1972). Fungus sporları hem zarar görmüş hemde sağlıklı kök dokularına nüfuz ederek çimlenip miseller oluştururlar. Etmen kök diplerinden giriş yaparak çoğalır ve yukarıya etli yapraklara doğru ilerler. Etmenin miselyumları hücre içi boşluklar ve kök hücrelerinin dokularının yanı sıra bitkinin vasküler sistemine yani ksilemine etki eder. Etmen ksilemde bitkinin su taşıma sistemine etki ederek bitkinin sarkmasına neden olur (Everts et al.,1985; Schwartz & Mohan, 1995).

Fidelerin yaprakları üzerinde hastalığın ilk belirtilerini görmek zor olabilir ve hastalık etmeninin diğer belirtileri tanımlanmadan (görünmeden) önce bitkileri öldürebilir (Cramer, 2000). Fidelerdeki belirtileri, geç çıkış, erken solma ve bodur büyüme şeklinde görülebilir. Olgun yumruların yüzeyinde kloroz ve tüm yaprakların kıvrılması şeklinde belirtiler görülebilir (Schwartz & Mohan, 1995; Tahvonen, 1981; Cramer, 2000). Çürüme köklerden gövdeye doğru olur ve yumrunun dış renginin solmasına neden olur, etkilenen dokular ikiye ayrıldığı zaman kahverengi veya kırmızımsı kahverengi olur ve sulu bir görünüm oluştururlar. Köklerde genellikle kahverengi renk değişikliği ve beyaz miselyumların kök etrafında kümelenmesi şeklinde belirtiler gösterir, kök çürür ve bitkinin ölmesine neden olur. Enfekteli yumrular sağlam görüncede ilerleyen zamanda depolarda çürümelere neden olabilir (Brayford, 1996).

Özer, (1995) Tekirdağ ilinde tarla ve depolarda bulunan soğanlarda yaptığı çalışmada *F. oxysporum*'un varlığını tesbit etmiş, kontrollü depoculuğun yapıldığı yerlerde hastalığın düşük oranda olduğunu belirlemiştir.

Türkkan ve Karaca, (2006) tarafından yapılan çalışmalarda Amasya ilinde soğan ekiliş alanlarında fungal kök çürüklüğü hastalık etmenleri, yayılışları ve yoğunlukları belirlenmiştir. Bu çalışma sonunda ilk yılda soğan ekim alanlarının % 95.7'sinin, ikinci yılda ise % 100'ünün kök çürüklüğü etmeniyle bulaşık olduğu ve hastalığın bitkilerde ilk yılda % 49.1 ikinci yılda ise %70.7 oranında yaygın olduğu tesbit edilmiştir. Hastalık etmeni ile bulaşık bitkilerden yapılan izolasyonlardan, % 91.6 *Fusarium spp.*, % 4.2 oranında *Rhizoctonia spp.*, % 1.9 oranında *Sclerotium cepivorum*, % 1.5 oranında *Pythium oligandrum* ve % 0.8 oranında *Trichoderma harzianum* belirlenmiştir. Yapılan patojenisite çalışmalarında *F. oxysporum* ve *R. solani* AG-4 ün virülenslerinin yüksek olduğu tesbit edilmiştir.

Çakır ve Maden, (2016) tarafından yapılan çalışmada Türkiye kuru soğan üretiminin ve depolanmasının büyük bir kısmının Ankara ilinin Polatlı ilçesinde olduğu belirlenmiştir. 2014-2015 yılları arasında yürütülen çalışmada Polatlı ilçesinde kapasitesi 200 ton üzerinde olan 5 depoda örneklemeler yapılmış, soğanlarda depo çürüklüğüne neden olan fungal etmenlerin, çıkış oranları ve patojenisiteleri tespit edilmiştir. Depolarda çürüklük belirtisi gösteren soğan örneklerinden yapılan izolasyonlarda, *Fusarium oxysporum* % 3.49, *Fusarium solani* % 7.69, *Fusarium equiseti* %4.89, *Alternaria alternata* % 5.59, *Alternaria porri* % 6.29, *Aspergillus niger* % 17.48, *Aspergillus ochraceous* % 2.09, *Botrytis allii* % 4.19, *Fusarium verticilloides* % 13.28, *Gliocladium roseum* % 4.89, *Paecilomyces sp.* % 1.39 ve *Penicillium spp.* % 30.06 oranında olduğu belirlenmiştir. Patojenisite çalışmalarında yumruların boyun kısımlarından yaralar açılıp yerlerine inokülasyon yapılarak araştırılmış ve yumruda meydana getirdikleri % hastalık oranlarına göre sırasıyla *B. allii*, *F. equiseti*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. verticilloides*, *Penicillium spp.*, *A. niger*, *A. ochraceous*, *Alternaria spp.* etmenlerinin patojen oldukları tesbit edilmiştir.

Bayraktar ve ark., (2014) yapmış oldukları çalışma kapsamında ülkemizde soğan üretimi ile ilişkili farklı *Fusarium* türleri arasındaki genetik akrabalık PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmış. *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. proliferatum*, *F. redolens* ve *F. culmorum*' u temsil eden 42 fungus izolatının ribozomal DNA ITS bölgesi ITS1/4 primerleri ile çoğaltıldıktan sonra *Hinf*I, *Alu*I, *Msp*I, *Eco*RI restriksiyon enzimleri ile kesilmiştir. PCR analizi sonucunda tüm izolatlardan 550-570 bp büyüklüğünde tek bir DNA fragmenti çoğaltılmıştır. Enzim kesimleri ise *Fusarium*

türlerinin birbirinden ayrılmasını sağlayan 17 farklı enzim profili oluşturmuştur. ITS bölgesinin RFLP analizi ile oluşturulan dendogramda tüm *Fusarium* türleri farklı gruplar içerisinde yer almıştır. *Fusarium* türleri arasındaki benzerlik oranının ise 0.70-0.13 arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bulgular sonucunda enzim profillerinin soğan üretim alanlarında ekonomik yönden önemli kayıplara yol açan *Fusarium* türlerinin ayrılmasında oldukça faydalı olduğu belirlenmiştir.

2010 yılında İsviçre' nin doğu kıyılarında bulunan Öland adasında soğanlarda kalite ve verimi düşüren bazal çürüklüğün oldukça yaygın olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada bazal çürüklüğe yol açan etmenlerin *Fusarium* türleri olduğu belirlenmiştir. Çalışmada surveyler iki üretim dönemi boyunca yapılmıştır. İzolasyon ve DNA çalışmalarının ardından ITS primerleri ile PCR çalışmaları tamamlanmıştır. Yapılan survey ve izolasyonlar sonucunda izolatların % 63.3' ünün *F. oxysporum*, %22.4'ünü ise *F. redolens* olduğu tespit edilmiştir. *F. oxysporum* ve *Trametes* sp. soğanların % 2 sinde, aynı şekilde *F. oxysporum* ve *F. culmorum* ile birlikte karışık enfeksiyon yaptığı belirlenmiştir. İkinci surveylerde ise enfekteli soğanların çoğunluğundan *F. oxysporum* elde edilirken ayrıca *Sclerotium cepivorum*, *Penicillium* sp. ve bakterilerin karışık enfeksiyon yaptığı da belirlenmiştir (Larger, 2011).

2013 yılında soğanlarda bazal kök çürüklüğü hastalığına neden olan *Fusarium* türlerine karşı Azerbaycan' ın batısında yürütülen çalışmada hastalıklı soğanlardan 50 adet *Fusarium* izolatu elde edilmiştir. Yapılan çalışmada seçilen 38 izolattan 17'sinin soğanlarda patojen olduğu bildirilmiştir. Yapılan morfolojik ve moleküler teşhisler sonucunda etmenlerin *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. proliferatum* ve *F. redolens* olduğu tespit edilmiştir. *F. redolens* İran için ilk kayıt niteliği taşımaktadır. *F. oxysporum* izolatları hem kök çürüklülüğü hemde fidelerde çökertene yol açtığı ve yüksek virülent olduğu, *F. solani* ve *F. redolens* izolatlarının daha düşük virülensliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Ghanbarzadeh ve ark.,2013).

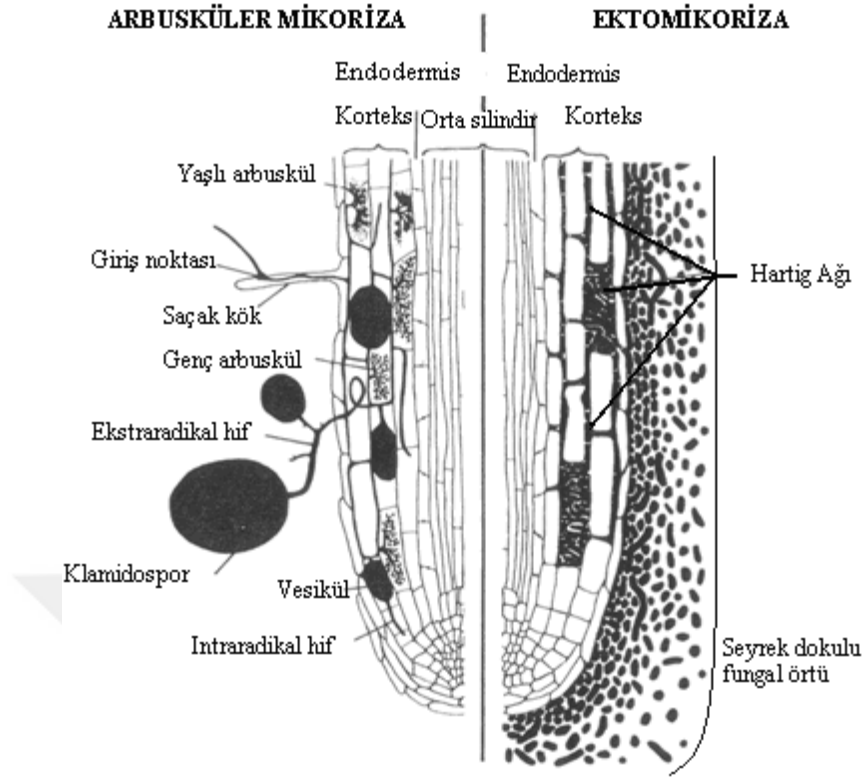
Rafika ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada Tunus'da depolarda çürüyen soğanlardan yapılan izolasyonda tespit edilen funguslar arasında en yaygın olanlar arasında *Fusarium oxysporum*'un da bulunduğunu, bunun yanı sıra soğan rengine bağlı olarak kırmızı renkli soğanların beyaz renkli olanlara göre daha uzun süreli depolama ömürlerinin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Abdel-Sater ve Eraky (2002) tarafından yapılan çalışmalarda Mısır'da tarladan hasat edilen soğanlarda *F. oxysporum*'un sıklıkla görüldüğü belirtilmektedir.

2.3. Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) Hakkında Genel Bilgi

Mikorhiza kelime anlamı olarak topraktaki funguslar ile bitki köklerinin karşılıklı fayda sağlayarak ortak yaşam kurmaları şekli olarak tanımlanabilir. Mikorhiza terimi ilk defa 1885 yılında Bernhard Frank tarafından odunsu bitkilerin içerisinde bulunan canlı mikroorganizmaların, daha sonra ektomikorhizal fungus olduğu anlaşılan, tanımlanması üzerine kullanılmıştır (Strack ve ark., 2003; Koide ve Mosse., 2004). Mikorhiza kelimesi kök fungusu olarak tanımlanmaktadır (Gai ve ark., 2006; Martin ve Slater., 2007). Mikorhizal funguslar 7 farklı bitki grubu ile simbiyotik ilişki kurabilirler ve bunları; Arbusküler Mikorhiza, Ektomikorhiza, Ektendomikorhiza, Erikoid Mikorhiza, Arbutoid Mikorhiza, Orkid Mikorhiza, Monotropoid Mikorhiza olarak gruplandırabiliriz. Bunlar arasında en iyi bilinen Arbusküler Mikorhizal Funguslar (AMF) olduğu belirtilmiştir (Hodge, 2000; Strack ve ark., 2003).

Tarımsal açıdan iki grup daha fazla önem arz etmektedir. Bunlar Endomikorizalar (Arbusküler Mikorhizal) ve Ektomikorizalar olarak sıralanabilir. Endomikorizal yaşamda fungus, bitki kök dokusundaki kortekse yerleşerek kök dışına misel ve üremeye yönelik yapılarını çıkarırlar ve bu yapılar bitki besin elementi alımı yanı sıra su alımı görevini üstlenirler (Erzurumlu ve Kara, 2014). Bu mikorizal yaşantıda dikkat çekici olan yapı "Arbuskül"dür ve bu Arbuskül çok sayıda dallanmış, ince duvarlı, oldukça sağlam yapısıyla konukçu hücre içinde yer almaktadır. Ektomikorizal yaşam formunda ise fungus sadece bitki kök dokuları içinde hücreler arası boşluklarda misellerini bulundurur ve çoğunlukla fungal biomasını kök dışında meydana getirir. Bu sayede bitkinin kökünün alım gücü normalinden daha fazla artmaktadır (Erzurumlu ve Kara, 2014).



Şekil 2.2. Endo ve ektomikoriza'nın kökte oluşturdukları yapılar (Kendrick,1992)

AMF'lerin kök hastalıklarının azaltılmasında bilinen en önemli etkisinden biri, besin maddesi özellikle de fosfor ve mineral madde alınımını arttırarak bitkinin sağlıklı gelişmesini ve hastalıklara direncini arttırmada olumlu katkı yapmasıdır (Linderman, 1996). Köklerin absorpsiyon kapasitesinin artması ile besin ve su alımı artar böylelikle köklerde hücre yenilenmesi olumlu yönde etkilenir. Fosfor dışında, azot (N), kalsiyum (Ca), bakır (Cu), mangan (Mn), kükürt (S) ve çinko (Zn) gibi diğer besin maddelerinin alınmasına yardımcı olur (Sieverding, 1991; Ortas, 2002).

Rizosferde bulunan bitki kökünün canlılığının korunması, gerekli temel ihtiyaçların karşılanması için ulaşılamayan yerlere bitki kökünde oluşan fungal örtü vasıtasıyla bir bağlantı kurmaktadır. Böylece bitki de mikorhizanın gelişimi ve sürekliliği için gerekli olan fotosentetik maddelerden yararlanma olanağı oluşmaktadır (Demir, 1998; Erzurumlu ve Kara., 2014; Öztürk ve ark., 2017).

AMF özelliğini taşıyan özel yapılar tropik yağmur alanlarında, tuzlu ve sodalı topraklarda bulunarak çeşitli çevre koşulları ile birliktelik oluştururlar (Quilambo, 2003; Strack ve ark., 2003). Funguslar ile karşılıklı yarar ilişkisi kuran köklerin, öncelikle fosfor olmak üzere bazı makro ve mikro besin elementlerince zengin olduğu

belirtilmiştir (Demir, 1998). Bu yarar ilişkisinin toprak koşullarını iyileştirdiği, erozyona mani olduğu ve toprak fraksiyonlarının oluşumunu arttırdığı söylenmektedir. Toprakta bulunan AMF sporlarından çeşitli yöntemler ile saf kültür elde edilebilir, bu ıslak eleme yöntemi veya tek spor yöntemiyle gerçekleştirilebilir. Bu nedenle sınıflandırılma; sporların şekilleri, büyüklükleri, renkleri buldukları toprak yapısına ve morfolojisine göre yapılmaktadır (Sing ve ark., 2010)

Şensoy ve ark., (2007) tarafından yapılan çalışmada (*Glomus intraradicea* ve *Gigaspora margarita* AMF türlerinin (*Capsicum annuum* L.) biber bitkisinin kuru ağırlığını arttırdığı ve aralarında pozitif yönde ilişki kurdukları gözlemlenmiştir. Ayrıca mikorhizal bağımlılığın ve kolonizasyonun yüksek olduğu belirtilmiştir.

Mikoriza soğan, pırasa ve sarmısak gibi mikorizaya bağımlı ve kükürt seven bitkilerin köklerinde yüksek oranda kolonizasyon oluşturmaktadır. Soğan fidelerine (*Allium cepa* L.) *G.versiforme* ve *G. intraradices* mikoriza türü uygulamasında sürgün kuru madde veriminde artış sağladığı belirtilmiştir (Guo ve ark., 2006).

Burke, (2008) tarafından yapılan çalışmada Arbusküler Mikorhizal Funguslar'ın sarımsak otu (*Alliaria petiolata*) bitkisi üzerine olan etkisi üzerinde çalışılmıştır. Orman koşullarında yetişen bitkinin AMF kök kolonizasyonu ve yapısı incelenmiş sonuç olarak aralarında simbiyotik ilişkinin olduğu gözlemlenmiştir.

Karaarslan, (2012) tarafından yapılan çalışmada soğan bitkisi ile birlikte beş farklı (*Glomus mossea*, *Glomus deserticola*, *Glomus caledonium*, *Glomus intraradicea* ve *Glomus clustroforme*) mikoriza türü kullanarak soğandaki en yüksek infeksiyon oranı belirlenmeye çalışılmıştır. Aynı yetiştirme ortamları kullanılarak yapılan çalışmada soğanda farklı infeksiyon oranları elde edilmiştir. Mikorizalar arasında en yüksek infeksiyon oranına *Glomus deserticola* ile aşılınmış bitkilerde ulaşılmıştır. Uygulanan farklı mikoriza türlerine bağlı olarak bitkide bazı gelişim parametreleri ile mikro ve makro besin elementleri kapsamlarında farklılıklar olduğu ve bu verilerin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

Demir, (2002) tarafından yapılan çalışmada Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) *Glomus intraradices*'in farklı familyalara ait sebze bitkilerindeki kolonizasyon oranının belirlenmesi çalışılmıştır. Bu çalışmada bitkisel materyal olarak domates, biber, patlıcan (Fam: *Solanaceae*), hıyar, kabak (Fam: *Cucurbitaceae*), soğan, sarımsak, pırasa (Fam: *Liliaceae*), maydanoz (Fam: *Apiaceae*) ve fasulye (Fam: *Fabaceae*)

bitkileri kullanılmıştır. *G. intraradices* bu bitkilerin hepsinde değişen oranlarda kolonize olduğu ve simbiyotik yaşam ilişkisi kurabildiği belirlenmiştir. En yüksek kolonizasyon oranları ise % 53.9 ile *Liliaceae* familyası ve % 66.0 ile bu familyaya ait olan pırasa bitkisinde olduğu belirlenmiştir.

Akköprü ve ark., (2005) tarafından yapılan çalışmada 13 farklı nonpatojenik *Fluoresant Pseudomonas* (FP) izolatı ile Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) *Glomus intraradices* Schenck&Smith'in domates bitkisinin bazı morfolojik parametreleri (bitki boyu, yaş ve kuru ağırlık) ve *Fusarium* solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.) (FOL) karşı etkileri, saksı testleriyle iklim odasında çalışılmıştır. *G. intraradices* (*G.i.*) inokulasyonu tohum ekimi esnasında FP süspansiyonları da domates fidelerinin köklerine uygulanmıştır. *G.i.* kontrol % 48 oranında hastalığı baskı altına alırken, FP+FOL % 12-68, FP+FOL+*G.i.* uygulamalarında ise hastalık şiddetinde % 48-92 oranında bir azalma olduğu belirlenmiştir.

1996 yılında soğanda beyaz çürüklük hastalığına neden olan *Sclerotium cepivorum* Berk. etmeni ile bulaşık tarlalarda *Glomus sp. Zac-19'* nin etkisinin araştırıldığı bir çalışma yürütülmüştür. İki hafta boyunca hastalığın gelişimi beklenmiş ve ardından mikoriza uygulamaları yapılmıştır. On bir hafta sonunda mikoriza uygulaması olmayan alanlara kıyasla beyaz çürüklük hastalığına karşı önemli ölçüde koruma sağlandığı belirlenmiştir. Hastalığın olmadığı sadece mikoriza uygulamalarının yapıldığı alanlarda % 22 verimde artış sağlanmıştır (Barragán ve ark., 1996).

Hollanda'da organik ve konvansiyonel tarım sistemlerini karşılaştırmak için soğan köklerinde doğal olarak oluşan arbusküler mikorhizal fungusların (AMF) çeşitleri ve kolonizasyon seviyeleri incelenmiştir. 2004 yılında, Zeeland ve Flevoland bölgesinde 20 adet soğan tarlasında surveyler yapılmıştır. Arbusküler mikorhizal fungusların filotipik çalışması rDNA sekansı ile tanımlanmıştır. Soğan köklerinde Zeeland' da organik tarlalardan elde edilen soğanlarda geleneksel tarlalardan elde edilen soğanlardan kolonizasyonun daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Genel olarak 14 tane AMF filotip tanımlanmıştır. Yapılan çalışmada en yaygın olarak bulunan *Glomus mosseae-coronatum* ve *G. caledonium-geosporum* tür kompleksleri ile ilişkili iki filotip olmuş diğer filotipler ise daha az miktarda bulunmuştur. Organik ve konvansiyonel tarım sistemlerinde tarla başına benzer sayıda filotip olduğu belirlenmiştir. *Glomus-B*,

Archaeospora ve *Paraglomus* cinsleri ile bağlantılı filotipler bazı organik ve konvansiyonel tarım sisteminde belirlenmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda tarım uygulamalarının AMF çeşitliliğini etkilemediği belirtilmiştir (Guillermo ve ark., 2009). 2006 ve 2008 yılında toprakta bulunan AMF çeşitliliğini belirleyebilmek için yapılan benzer çalışmalarda 18S-ITS1–5.8S-ITS2 rDNA bölgesin kullanılmış ve çalışma sonunda en çok bulunan *GloA6* (*G. mosseae–coronatum* türleri ile ilişkili kompleks türler) ve *GloA5* (*G. caledonium–geosporum* kompleks türleri) filotipler olduğu bildirilmiştir (Hijri ve ark., 2006; Appoloni ve ark., 2008).

2012 yılında soğanın üretimini ve besin değerini artırmak için mikorizal ve saprofit fungusların inokulasyonunun yapıldığı bir çalışma yürütülmüştür. Yapılan çalışmada denemeler iki faktörlü olarak kurulmuştur. AMF lerden ticari ürün olan Symbiyit (*Glomus etunicatum*, *G. microaggregatum*, *G. intraradices*, *G. claroideum*, *G. mosseae* ve *G. geosporum*) M1 olarak ve tek fungus inokulumu *G.intraradices* BEG140 M2 olarak, saprofitik funguslarla önceden aşılınmış kabuk cipsleri ise (*Gymnopilus* sp., *Agrocybe praecox* karışımı ve *Marasmius androsaceus*) S olarak adlandırılarak kullanılmıştır. Taze yumru büyüklüğündeki artış M1 karışımında % 100 olmuş, AMF kolonizasyonu ile soğan yumrusunun gelişimi arasında güçlü bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Tüm inokulasyon çalışmaları ve tek fungus çalışmaları total antioksidan seviyesini ve soğanın biyokütlesini artırırken en yüksek değer M1, S + M1 ve S + M2 karışımlarından elde edilmiştir. Bazı minerallerin artışında ise (Mg ve K) M2, S ve S +M2 uygulamalarında olduğu tespit edilmiştir (Albrechtova ve ark., 2012).

2.4. *Trichoderma harzianum* Hakkında Genel Bilgi

Tarımda hastalık ve zararlılarla mücadelede mikroorganizmaların kullanımı biyolojik mücadelenin etkin stratejileri arasındadır. Mikrobiyal biyolojik ajanlar biyopestisit, biofertilizer, büyüme teşvik ediciler ve doğal bağışıklığı stimüle ediciler şeklinde gruplandırılmaktadırlar. *Trichoderma* orjinli preparasyonlar, dünya çapında farklı bitki patojenlerine karşı ürünlerin korunmasında veya çeşitli ürünlerde, tarla, sera, bahçelerde bitki büyüme ve verimliliğini arttırılmasında kullanılmaktadır. *Trichoderma* generusu, *Ascomycota* alt bölümü *Hypocreales* takımına ait rhizo kompeten bir fungus olmakla birlikte Dünya’da çeşitli ekosistemlerde bulunmaktadır (Szekers ve ark., 2005).

Trichoderma genusuna ait funguslar, 1930 yıllardan beri biyolojik kontrol ajanları olarak bilinmekte olup bitki hastalıklarının karşı günümüzde de kullanılmaktadır, 1990'lardan itibaren ticari tarımda birçok ülkede oldukça yaygın kullanımı bulunmaktadır. Bununla birlikte, etki mekanizmaları ve potansiyel kullanımlarına dair bilgilerin yeterli seviyede olmadığı düşünülmektedir (Harman, 2011).

Trichoderma özellikle patojenik funguslarla interaksyon kurar. Bu interaksyonlar hiperparazitizm, antibiyozis ve rekabet şeklinde olur (Blaszczyk ve ark., 2014).

Antibiyozis, *Trichoderma* spp. tarafından fungal patojenlere karşı yaygın olarak kullanılır, halen tam olarak çözümlenememiş mekanizmaya sahiptir (Shi ve ark., 2012). Evrim boyunca, *Trichoderma* türleri farklı fungal türler ile rekabet edebilecek çeşitli mekanizmalar geliştirmiş olup bu tip rekabet aktiviteleri için genomik bilginin daha fazla depolanmasına gerek duyulmuştur. Bu durum parazitik türler olan *T. virens* ve *T. atroviride*'nin genomlarının daha geniş olduğunu ve daha ılımlı türlere göre 3000'den fazla geni içerdiği belirtilmiştir (Kubicek ve ark., 2011). Rekabet ve mikoparazitizmde, miselyal gelişim için çevre koşullarının uygun olmaması durumunda bile *Trichoderma*'nın ekstraselüler enzim sistemleri aktif kalabilmekte ve bu durum da daha iyi stres toleransı için strainlerin geliştirilebileceği düşünülmektedir (Kredics ve ark., 2003)

Trichoderma cinsinin bazı izolatları biyokontrol ajanları olarak birçok fungal patojene karşı kullanılmaktadır bunlar; *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium* spp., *Pythium ultimum*, *Phytophthora* spp., *Armillaria* spp., *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* spp. ve *Gauemannomyces graminis* gibi etmenlerdir. Biyokontrolde en çok kullanılan türleri ise, *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. polysporum*, *T. Viride* şeklindedir. Biyolojik ürünlerin büyük bir kısmı *T. harzianum* (% 83) ile kombine *T. viride* (% 55) ve *T. koningii*' (% 28)'den oluşmaktadır (Woo ve ark., 2014).

Trichoderma'nın çevresel rollerinden biri de topraktaki bitki kalıntılarının ayrışmasına yardımcı olmaktır. *Trichoderma* türlerinden bazıları çok iyi selüloz üretmektedirler; böylece biyoteknoloji endüstrisi için önem arz ederler (Réczey ve ark., 1996; Aydın, 2015). Rizosferde rekabetçi hidrokarbonlar, klorofenolik bileşikler, polisakaridler ve tarımda kullanılan xenobiotik bileşikleri parçalayıp ayrıştırabilirler

(Harman ve ark., 2004). Tarım açısından önemi ise, bazı *Trichoderma* türlerinin *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Sclerotinia* türleri gibi bitki patojenlerine karşı antagonistik yeteneğe sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Antagonistik etki *Trichoderma* 'lar tarafından antifungal metabolitlerin üretimi, besin ve yer için yarışma ve mikoparazitlik gibi farklı mekanizmalar tarafından gerçekleştirilir (Kredics ve ark., 2003).

Türkiye'de geçmişte yapılan çalışmalarda elde edilen *Trichoderma* türleri; *T. harzianum*, *T. viride*, *T. pseudokoningii*, *T. hamatum*, *T. virens*, *T. koningii* ve *T. aureoviride* olarak tanımlanmıştır (Turhan, 1973; İren ve ark., 1988; Çeliker ve Nemli, 1994; Turak, 1997). Ancak Aydın ve Turhan, (2009) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'nin değişik coğrafik bölgelerinden alınan toprak örneklerinden izolasyon yapılmış ve 14 farklı *Trichoderma* türü izole edilmiştir. Bu türler, *T. asperellum* Samuels, Lieckf & Nirenberg, *T. atroviride* Bissett., *T. crassum* Bissett., *T. croceum* Bissett , *T. gamsii* Samuels & Druzhin, *T. hamatum* (Bonard.) Bainer, *T. harzianum* Rifai, *T. inhamatum* Veerkamp & W. Gams, *T. neokoningii* Samuels & Soberanis, *T. spirale* Bissett, *T. strigosum* Bissett, *T. tomentosum* Bissett, *T. virens* J.H., Mill., Giddens & A.A Foster ve *T. viride* Pers. olarak kayıt altına alınmıştır. Bu türlerden *T. harzianum*, *T. viride*, *T. hamatum* ve *T. virens* (=G. *virens*) dışındaki 10 *Trichoderma* türünün ülkemiz için ilk kayıt olduğu belirtilmiştir. Demirer Durak, (2011) çilekte yapmış oldukları çalışmada *Trichoderma rossicum*'u ilk kayıt olarak tespit etmişlerdir.

Akan ve Özer, (2009) tarafından yapılan çalışmada yemeklik soğanda (*Allium cepa* L.) çürümeye neden olan *Aspergillus niger* van Tieghem ve *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *cepae* (Hans) Synder&Hans üzerine bazı antagonist fungusların etkileri araştırılmıştır. *Trichoderma sp.* 'ne ait iki izolat (TRIC3 ve TRIC8) her iki patojenin kontrolü için, *Penicillium sp.* (PEN15) ve *Aspergillus sp.* (ASP3)'ne ait birer izolat sırasıyla *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae*'nin kontrolü için kullanılmıştır. *A. niger* antagonist uygulaması yapılmamış elmalar (Kontrol) üzerinde lezyon oluştuğu ancak elmada herhangi bir lezyon ya da kolonizasyona neden olamadığı görülmüştür. *A. niger* üzerine antagonist fungusların etkinliği kullanılan test bitkileri ve ölçülen parametrelere göre farklılık gösterdiği ve TRIC8 izolatının 10^7 konidi ml¹ konsantrasyon yoğunluğundaki uygulaması ölçülen tüm parametreler açısından *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae* enfeksiyonunu yüksek oranlarda azalttığı belirtilmiştir.

Sivan ve Chet (1986) tarafından yapılan çalışmada, *T. harzianum*'un T35 izolatu *Fusarium* ile enfekteli tarla topraklarında yetişen pamuk bitkilerinin rizosferinden izole edilmiş ve bu izolat, domates ve kavun fidelerinin köklerine uygulanmıştır. Çalışma sonunda kavunda fusarium solgunluğunun % 33; domates taç çürüklüğünün ise % 18 oranında azaldığı belirlenmiştir.

Rajendran ve Ranganathan (1996), yaptıkları çalışmada in vitro denemeleri, tarlada ve saksıda yaptıkları denemelerinde *Trichoderma viride* ve *Pseudomonas fluorescens* kombinasyonunun tohuma uygulanması ile *F. oxysporum f. sp. cepae* tarafından soğanlarda meydana gelen dip çürüklüğü hastalığını azalttığını bildirmişlerdir.

Coşkuntuna ve Özer (2008), yaptıkları çalışmada *Trichoderma harzianum* içerikli ticari biyolojik preparatın (Sim ®Derma) arpacık soğanlara uygulanması ile patojenle bulaşık topraklarda soğan çürüklüğü hastalığının azaldığını, bunun yanı sıra baş soğan çapı ve ağırlığının arttığını bildirmişlerdir.

2.5. AMF - *Trichoderma* spp.

AMF ve *Trichoderma* türlerinin tek tek veya birlikte de uygulanmasında toprak kaynaklı patojenlere karşı etkili olmakta bunun yanı sıra birbirlerini sinergistik olarak etkilediği bilinmektedir (Johnson ve ark., 1987).

Soğanlarda bazal kök çürüklüğüne neden olan en önemli funguslardan olan *Fusarium proliferatum* ile mücadele çalışması yapılmıştır. Bu amaçla *F. poliferatum* ile enfekteli topraklarda *Trichoderma harzianum* strain T100 1×10^6 cfu/g oranında kullanılmıştır. Ayrıca her saksıya *Glomus mosseae* kombine edilmiştir. *Glomus* ile inokulasyondan 23.30 ve 36 gün sonra sökümler gerçekleştirilmiştir. Arbusküler mikoriza uygulaması etkin şekilde soğan büyümesini teşvik ettiği görülmüş ancak hastalığın biyolojik kontrolünde etkisi olmadığı tesbit edilmiştir. *Trichoderma* uygulanmış topraklarda hastalık oranı % 25 oranında azaldığı ancak zamanla bu etkinin düştüğü belirtilmiştir. *Trichoderma*'nın varlığında AMF kök kolonizasyonunun bitkilerde azaldığı tesbit edilmiştir. Hastalığın kontrolünde kombinasyonun aksine *Trichoderma* ve *Glomus mosseae* ayrı ayrı kullanıldığında daha etkili olduğu bildirilmiştir (Ghanbarzadeh ve ark., 2016).

Turhan ve Demir, (2013) tarafından yapılan çalışmada, çilekte sorun olan ve kimyasal mücadelesi olmayan *Rhizoctonia solani* Kühn'ün neden olduğu siyah kök çürüklüğü hastalığına karşı farklı arbusküler mikorhizal fungus (AMF) ve biyolojik mücadele elemanı *Trichoderma harzianum*'un tekli, ikili ve üçlü kombinasyonlarının etkileri çalışılmıştır. Bu çalışma İklim odasında kontrollü şartlarda yetiştirilen çilek bitkilerine iki farklı AMF izolatu (*Glomus mosseae*, ve Ticari AMF izolatu), *Trichoderma harzianum* ve hastalık etmeni *Rhizoctonia solani*'nin ikili ve üçlü inokulasyonları uygulanmıştır. AMF türleri çilek bitkisinde % 31-66 arasında kolonize olmuş ve kolonizasyon bakımından en iyi sonuç *Glomus mosseae*'nin tek başına uygulandığı muamele grubunda görülmüştür. Çalışmada hastalığın kontrol altına alınması açısından AMF izolatları ve *T. harzianum*'un sırasıyla % 9.09-% 91 oranları arasında etkili olduğu belirtilmiştir ve besin elementi içeriğini genel olarak kontrol bitkilerine göre önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir.

Yogendra ve ark. (2003)'nin yapmış oldukları çalışmada, tropikal bitki olan *Gmelina arborea*'nin tohum gelişimi ve çimlenmesi üzerine; *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens*, organik materyal ve AMF'un etkileri araştırılmıştır. Kök kolonizasyonu AMF tarafından en yüksek, *Trichoderma harzianum* + AMF ile birlikte oluşturdukları kombinasyon da % 92.5 oranında olumlu etki göstermişlerdir. Ayrıca *T. harzianum* + AMF + *Fusarium oxysporum* kombinasyonu % 90 etkili olmuştur. Çalışma sonucunda *Gmelina arborea* tohumlarının sağlıklı gelişmesi ve hastalıklarla kontrolünde birçok kombinasyonun etkili olduğu bildirilmiştir.

Datnoff ve ark. (1995) tarafından Florida'da yapılan çalışmada ise domates bitkisinde *Fusarium solgunluğuna* karşı *Trichoderma harzianum* ve *Glomus intraradices*'in ticari formülasyonları kullanılarak uygulamalar yapılmış ve *Trichoderma harzianum* + *Glomus intraradices* kombinasyonunun hastalık şiddetini önemli oranda azalttığı belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak; Seç, Gence ve Şampiyon ticari isimli *Alliaceae* familyasına ait *Alliaceae cepae* (soğan) tohumları kullanılmıştır

3.1.2. Biyolojik savaş elemanları

AMF izolatu

Çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji laboratuvarı kültür stoklarında bulunan *Glomus mosseae* AMF türü, AMF Bioglobal Ltd. Şirketinden temin edilen ERS Endo Roots Soluble ticari isimli AMF (*Glomus intraradices*, *Glomus aggregatum*, *Glomus mosseae*, *Glomus clarum*, *Glomus monosporus*, *Glomus deserticola*, *Glomus brasillianum*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita*) türleri içeren preparat kullanılmıştır.

Trichoderma izolatu

Çalışmada *Trichoderma harzianum*'un ticari formülasyonu olan T22-PLENTERBOX kullanılmıştır.

3.1.3. Patojen izolatu

Polatlı soğan üretim alanlarından elde edilen dip çürüklüğü *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* ile bulaşık soğan bitkilerinden elde edilen ve patojenite çalışmasında virulensliğinin yüksek olduğu (%70.66) tespit edilen izolat kullanılmıştır.

3.1.4. Çalışmada kullanılan mikrobiyolojik besiyerleri

Çalışmada izolatların çoğaltılması ve uzun süre saklanması için Patates Dekstroz Agar (PDA), SNA (Sentetik Besi Ortamı Agar)ve WA (Su agarı) besiyerleri kullanılmıştır. PDA besiyerlerinin bileşenleri ve miktarları Çizelge 3.1 de, SNA besiyerlerinin bileşenleri ve miktarları Çizelge 3.2 de ve WA besiyer ortamı ve miktarları da Çizelge 3.3 de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1 PDA besiyerinin bileşenleri ve miktarları (1000 ml)

Madde	Miktar
Dekstroz	20 g.
Kaynatılmış patates suyu	200 ml.
Agar	20 g.
Saf Su	1000 ml.

Çizelge 3.2. SNA besiyerinin bileşenleri ve miktarları (1000 ml)

Madde	Miktar
Potasyum Fosfat (KH ₂ PO ₄)	1 g
Potasyum Nitrat (KNO ₃)	1 g
Magnezyum Sülfat (MgSO ₄ 7H ₂ O)	0.5 g
Potasyum Klorür (KCL)	0.5 g
Sucrose	0.2 g
Glukoz	0.2 g
Agar agar	20 g
Distile su	1000 ml
Ampicilin	100 mg
Streptomycin	50 mg (45 °C)

Çizelge 3.3. WA besiyerinin bileşenleri ve miktarları (1000 ml)

Madde	Miktar
Agar agar	20 g
Distile su	1000 ml

3.1.5. Bitki yetiştirme ortamı

Çalışmada 3.5 kg karışım alabilen 16 x 18 cm ebatlarında plastik saksılar kullanılmıştır. Bütün saksı ortamı 121°C ve 1 atmosfer basınçta 20 dakika otoklavda

sterilize edilmiştir. Uygulamalarda 1:1 oranında torf-perlit karışımından oluşan harç materyali kullanılmıştır.

3.1.6. Araştırmanın gerçekleştirildiği laboratuvar ve iklim odası

Çalışmalar Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Fitopatoloji Bölümü laboratuvar ve iklim odalarında yürütülmüştür (Şekil 3.1.). Soğan Bitkileri; 4000-6000 lux ışık şiddetine sahip ışık ile 12 saat ışıklanma süresi ve 22 ± 2 °C sıcaklık ve % 60-70 orantılı nem koşullarına sahip olan iklim odasında yetiştirilmişlerdir.



Şekil 3. 1 Araştırmanın gerçekleştirildiği laboratuvar.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örnek toplama

Ankara ili Polatlı ilçesinde daha önce çalışılmış “Ankara ve Kastamonu İli Soğan ve Sarımsak Alanlarındaki Hastalık, Zararlı ve Faydalı Türlerin Tespiti İle Önemli Böcek Türünün Popülasyon Gelişimi Üzerinde Araştırmalar” (Proje No: Tagem-Bs-12 / 09-07/01-14) isimli projede kapsamında hastalıklı olduğu bilirlenen soğan alanlarında hasada yakın dönemde kontroller yapılarak hastalık belirtileri görülen bitkiler alınmıştır. Numuneler kâğıt torba içerisine konularak etiketlenmiştir ve +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Yaklaşık olarak her 5 da alandan hastalık belirtisi gösteren bir örnek alınmıştır.

Çizelge 3. 4. Araziden alınan alanların büyüklüğü (da) ve örnek sayısı

İlçe/Köy	Tarla Alanı (da)	Örnek Sayısı
Polatlı/Yassıhöyük köyü	50	10
Polatlı/Yassıhöyük köyü	25	5
Polatlı/Yassıhöyük köyü	60	12
Beylikköprü	30	6
Beylik köprü/Kanlıgeçit	30	6
Beylik köprü/Askeri Birlik Karşısı	8	2

3.2.2. Fungal etmenlerin izolasyonu

Laboratuvara getirilen dip çürüklüğü ile bulaşık olduğu düşünülen soğan örneklerinin kökleri musluk suyu altında temizlenmiştir. Daha sonra, hastalıklı ve sağlıklı kısımları içeren parçalar halinde kesilmiş ve yüzeysel dezenfeksiyon için %1'lik NaOCl içinde 2-3 dakika bekletilmiştir. Dezenfeksiyon işleminden sonra kök parçacıkları steril saf su ile yıkanmış ve steril kurutma kağıtları arasında kurutulmuştur. Kurutulan parçacıklar PDA ortamına her petriye 4 kök parçacığı olacak şekilde yerleştirilmiş ve kültürler gelişmesi için $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

Ortamlarda gelişen *Fusarium* benzeri izolatlar, SNA(Synthetic Nutrient Agar) , Patates Dekstroz Agar (PDA) ve Su Agar (WA) gibi ortamlarda saflaştırma yapılmıştır. Saf kültürler elde edildikten sonra eğik tüplere aktararak stok kültür olarak saklanmıştır.

3.2.3. Fungal etmenlerin teşhisi

3.2.3.1. Klasik metotla teşhis (Makroskopik ve mikroskopik teşhis)

İzole edilerek eğik agara alınmış olan *Fusarium* benzeri izolatların tür teşhislerinin yapılması amacıyla SNA (Synthetic Nutrient Agar) ortamına alınmıştır. Bu ortama aktarılan izolatlar $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 gün inkübasyondan sonra, fialit ve konidi özelliklerinin belirlenmesi amacıyla mikroskopta 40'luk objektif altında incelenmiştir. Her izolat için 50 makrokonidi ve varsa 50 mikrokonidi ölçümü yapılarak cins düzeyinde teşhisleri yapılmıştır. Daha sonra cins düzeyinde teşhis edilen izolatların Su agar kullanılarak tek spor izolasyonu yapılmıştır. Tek spor izolasyonu için, daha önce SNA'da geliştirilen funguslardan konidi süspansiyonunun hazırlanması için ilk olarak test tüpleri içine 10 ml su konulmuş ve bu tüpler otoklav edilmiştir. Tamamen soğumuş olan bu tüplerin içine ortamda gelişen fungusun hifinden küçük bir kısım alınarak konulmuştur ve 1-2 dakika konidilerin su içinde yayılması için vortexte karıştırılmıştır. Bu konsantrasyondan bir damla alınmış ve WA (su agar) üstünde yayılarak 25°C 'de 18-20 saat inkube edilmiştir. İnkübasyondan sonra petriyer mikroskop altında incelenmiştir. Çimlenen tek bir konidi küçük bir kare agar parçası ile alınmış ve spesifik ortamına yerleştirilmiş $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır (Burgess ve ark. 1994).

Değişik kaynaklardan yararlanılmak suretiyle makroskopik ve mikroskopik olarak tür teşhisi yapılmıştır. (Barnett 1960, Ellis 1993 a, Ellis 1993 b, Anonymous 1996).

3.2.3.2 Moleküler metotla teşhis

Klasik olarak teşhis edilen funguslar teyit amacıyla DNA Sekans analizi de yapılmıştır.

DNA izolasyonu

PDA besi yerinde 10-12 günlük gelişen izolatların miselleri kazınmış, sıvı azot yardımıyla ezilmiş, DNA ekstraksiyonu, Qiagen Plant Mini DNA Kit kullanılarak protokollerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

QIAGEN Plant Mini Kit Quick Start Protokol'un uygulanması dikkat edilen hususlar:

- Tüm santrifüj işlemleri oda sıcaklığı (15-25 °C)'nda yapılmıştır.
- AP1 ve AW 1 çözeltilerinde oluşan her hangi bir çökelti çözdürülmüştür.
- AW 1 ve AW 2 çözeltilerine etanol (etil alkol) eklenmiştir.
- Sıcak su banyosu önceden 65 °C'ye ayarlanmıştır.

DNA İzolasyon Aşamaları

1. Bitki parçaları (≤ 100 mg yaş ağırlık veya ≤ 20 mg liyofilize doku) doku parçalayıcı (TissueRuptor veya TissueLyser II) kullanılarak parçalanmıştır.

2. 400 μ l Buffer AP1 ve 4 μ l RNase A eklenerek. Vorteks yapılmış ve 10 dakika için 65 oC' de inkubasyona bırakılmıştır. Tüpler inkubasyon sırasında 2-3 defa alt-üst olacak şekilde çevrilmiştir.

3. 130 μ l Buffer AP3 eklenmiştir. Karıştırılmış ve buz üzerinde 5 dakika inkube edilmiştir.

4. Lysate 5 dakika için 20,000 x g (14,000 rpm)'de santrifüj edilmiştir.

5. Pipet yardımıyla Lysate, 2 ml toplama (collection) tüpüne konulmuş olan QIA shredder spin column'a aktarılmıştır. 20,000 x g'de 2 dakika süreyle santrifüj yapılmıştır.

6. Süzülen kısım (flow-through) çökelti (peleti) bozulmadan yeni tüpe aktarılmıştır. 1,5 hacim Buffer AW1 eklenmiş ve pipetleme ile karıştırılmıştır.

7. 650 μ l karışım 2 ml toplama (collection) tüpüne konulmuş olan DNeasy Mini spin column'a transfer edilmiştir. ≥ 6000 x g (≥ 8000 rpm)'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Süzülen kısım (flow-through) atılmıştır. Bu işlem örneğin geri kalan kısmı ile tekrar edilmiştir.

8. Spin kolon yeni 2 ml toplama (collection) tüpüne konulmuş ve. 500 μ l Buffer AW2 eklenmiştir. 1 dakika ≥ 6000 x g'de santrifüj edilmiştir. Süzülen kısım (flowthrough) atılmıştır.

9. Yeniden 500 μ l Buffer AW2 eklenmiş ve 2 dakika 20,000 x g'de santrifüjleme yapılmıştır.

10. Spin kolon toplama (collection) tüpünden kolon süzülen kısma (flow-through) dokunmayacak şekilde dikkatlice çıkarılmıştır.

11. Spin kolon yeni 2 ml 'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.

12. DNA'yı aşağı akıtılabilmek için (elution) 100 µl Buffer AE eklenmiştir. Oda koşullarında (15–25°C) 5 dakika inkube edilmiştir. Akabinde 1 dakika $\geq 6000 \times g$ 'de santrifüj edilmiştir.

13. Spin kolon yeni 2 ml 'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmak suretiyle tekrar edilmiştir.

PCR Çalışmaları

PCR reaksiyon karışımı ve koşulları Cobos ve Martin (2008)'e göre yapılmıştır. Son hacmi 50 µl olan PCR reaksiyon karışımı; 5 µl buffer [75 mM Tris HCl, pH 9.0, 50 mM KCl, 20 mM (NH₄)₂SO₄], 5 µM lik her bir primerden 2 µl, 1.5mM MgCl₂' den 3 µl, 10 mM deoxy nucleoside triphosphates (dNTPs)' den 1 µl, 5 U Taq polymerase (Fermatas)'dan 0.5 µl, 4 µl bovine serum albumin (BSA: 10 mg/ml) ve her bir reaksiyon için 4 µl DNA template olacak şekilde hazırlanmış (DNA lar nanodropta ölçülmüş ve fazla ise sulandırılmış, az ise konsantrasyon optimum 45-50 µg/ml olacak şekilde reaksiyona katılarak DNA miktarı ayarlanmıştır) su ile 50µl'ye tamamlanmıştır. DNA çoğaltımı Techne TC-5000 thermal cycler aşağıdaki döngüler kullanılarak yapılmıştır.

PCR döngü programı:

96° C → 5 dk ön denatürasyon

94° C → 30 sn DNA'nın çift iplikçığının ayrılması denatürasyon

52° C → 30 sn primer bağlanması annealing

72° C → 90 sn yeni iplikçığın yazılımı extension

72° C → 7 dk son yazılım

} 36 döngü

ITS bölgelerinin amplifikasyonu için ITS-4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') ve ITS-5 (5'GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAGG 3') primerleri kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri %1.5'luk agaroz jele yüklenerek 1X TBE (40 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH:8.0) buffer içerisinde elektroforezde yürütülerek

görüntülenmiştir. PCR çalışmaları tamamlanan izolatların sekans analizleri BM (Gene Research and Biotechnology Company, Ankara, Türkiye) firması tarafından yapılmıştır. PCR ürünlerinin nükleotid sekans sonuçları BIOEDIT software programı kullanılarak açılmış, bu DNA dizileri NCBI (National Center for Biotechnology Information)'daki ilgili sekans dizileri ile karşılaştırılmıştır, % 99' un üzerinde benzerlik gösteren izolatlar değerlendirilmeye alınmıştır.

3.2.4 Hassas soğan çeşidinin belirlenmesi

Çalışmada hastalık etmenine karşı en hassas soğan çeşidini belirlemek amacıyla ön patojenisite testi yapılmıştır. Saksılara steril (torf ve perlit) doldurulmuş, tohumlar % 1 lik NaOCl içinde 3 dakika bekletilip yüzüsel dezenfeksiyona tabi tutulduktan sonra 2 seri saf sudan geçirilip steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuş ve her saksıya 5 tohum olacak şekilde ekilmiştir ve iklim odasında bakım işlemleri yürütülmüştür.

Önceden PDA ortamına aşılınmış hastalık etmenin üzerine 10-15 ml saf su konulmuş ve öze yardımı ile kazınarak sıvı hale getirilip spor yoğunluğu 1×10^5 spor/ml olacak şekilde hemositometre kullanılarak ayarlanmıştır. Köklendirilmiş olan soğan bitkilerinin kökleri 1-1,5 cm olacak şekilde kesilerek fungus süspansiyonuna daldırılmış ve 20 dakika bekletilmiştir. Deneme her izolat için her saksı bir tekerrür olacak şekilde 5 tekerrürlü kurulmuş ve her tekerrüre 5 adet arpacık soğan dikilmiştir. Kontrol saksılarında herhangi bir inokulasyon yapılmamış sadece steril su kullanılmıştır. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre kurulmuştur. 4 hafta sonra değerlendirilmeye alınan hastalıklı bitkiler, saksılardan tek tek sökülerek hastalık şiddeti değerlendirmesi, Karaca (1968) tarafından oluşturulan 1-5 skalasına göre yapılmıştır. Hastalık şiddetinin saptanmasında Tawsend-Heuberger formülü kullanılmıştır (Karman 1971). Hastalıklı bitkilerden reizolasyon yapılmış ve denemede kullanılacak en hassas çeşit belirlenmiştir.

3.2.5 *Fusarium* izolatlarının virülensliklerinin belirlenmesi

Soğan bitkisinden izolasyonları sonucu elde edilen *Fusarium* izolatları farklı iki metotla ön patojenisite testine tabi tutulmuştur. Bu şekilde hem en uygun metot hemde

izolatların virülensliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla elde edilen her bir izolat PDA ve SNA ortamına aşılınıp, ön patojenisite çalışmaları iki metotla yürütülmüştür.

Birinci metot denemesinde, kullanılacak olan izolatlar PDA'ya aşılınımıştır. Petrilerde agarlı ortam üzerinde geliştirilmiş olan izolatlar steril bistüri ile küçük parçalar haline getirilmiştir. Daha sonra önceden saksılarda yetiştirilmiş soğan fideleri saksılardan çıkarılarak su altında topraklarından arındırılmıştır. Steril makas yardımı ile kökleri 1,5-2 cm olacak şekilde kesilip, funguslu agar parçaları dikimi yapılacak soğan fidelerinin köklerinin altına her bitkiye 4 adet disk olacak şekilde konulmuştur ve üzeri toprakla örtülüp gelişmeye bırakılmıştır (Soran 1978). Deneme düzenli olarak kontrol edilmiş ve bitkiler sulama işlemleri yapılarak gelişimleri gözlemlenmiştir. 4 hafta sonra değerlendirilmeye alınan hastalıklı bitkiler, saksılardan tek tek sökülerek hastalık şiddeti Karaca tarafından oluşturulan 1-5 skalasına göre yapılmıştır. Bu skalaya göre; (1=Sağlıklı bitki, 2=Köklerin 1/4'ünde kahverengileşme, 3=Köklerin 2/4'ünde kahverengileşme, hafif çürüme 4=Köklerin 3/4'ünde kahverengileşme, orta derecede çürüme, 5=Tamamen kahverengileşmiş veya çürümüş kökler).Hastalık şiddetinin saptanmasında (formül 3.1) Tawsend-Heuberger formülü kullanılmıştır (Karman 1971). Hastalıklı bitkilerden reizolasyon yapılmıştır.

$$\text{Hastalık Şiddeti (\%)} = \Sigma [(n.V) / Z.N] \quad (3.1)$$

(n: skalada farklı hastalık derecelerine isabet eden örnek adedi, V:skala değeri, Z: en yüksek skala değeri, N: gözlem yapılan toplam örnek adedi)

İkinci metot denemesinde, önceden PDA ortamına aşılınımış hastalık etmenin üzerine 10-15 ml saf su konulmuş ve öze yardımı ile kazınarak sıvı hale getirilip spor yoğunluğu 1×10^5 spor/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Köklendirilmiş olan soğan bitkilerinin kökleri 1-1,5 cm olacak şekilde kesilerek fungus süspansiyonuna daldırılmış ve 20 dakika bekletilmiştir. Deneme her izolat için her saksı bir tekerrür olacak şekilde 5 tekerrürlü kurulmuş ve her tekerrüre 5 adet arpacık soğan dikilmiştir. Kontrol saksılarında herhangi bir inokulasyon yapılmamış sadece sulama suyu kullanılmıştır. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre kurulmuştur. 4 hafta sonra değerlendirilmeye alınan hastalıklı bitkiler, saksılardan tek tek sökülerek hastalık şiddeti Karaca (1968) tarafından oluşturulan 1-5 skalasına göre değerlendirmesi yapılmıştır.

Hastalık şiddetinin saptanmasında Tawsend-Heuberger formülü kullanılmıştır (Karman 1971). Hastalıklı bitkilerden reizolasyon yapılmıştır.

3.2.6. Bitki Yetiştirme Ortamı ve Muamele Grupları

Fide yetiştirme ortamı olarak 1:1 oranında torf+perlit harç hazırlanmış ve viyollere doldurulmuştur. Örtü kapağı olarak ise vermükülit kullanılmıştır. Patojen inokulasyonu denemesi tesadüf parselleri deneme desenine göre 10 farklı muamele grubu oluşturulmuş ve her muamele 5 tekrür olacak şekilde kurulmuştur.

Muamele grupları aşağıdaki gibi oluşturulmuştur.

1. Muamele grubu: Kontrol
2. Muamele grubu: *G. mosseae*
3. Muamele grubu: Ticari AMF izolatu
4. Muamele grubu: *T. harzianum*
5. Muamele grubu: *Fusarium oxysporum*
6. Muamele grubu: *G. mosseae* + *Fusarium oxysporum*
7. Muamele grubu: Ticari AMF izolatu + *Fusarium oxysporum*
8. Muamele grubu: *Trichoderma harzianum* + *Fusarium oxysporum*
9. Muamele grubu: *G. mosseae* + *Fusarium oxysporum* + *T. harzianum*
10. Muamele grubu: Ticari AMF izolatu + *Fusarium oxysporum* + *T. harzianum*

Deneme süresince olabilecek herhangi bir hatadan dolayı fidelerin ölüm riskine karşı, her muamele grubundan 3'er adet fideli saksı hazırlanmıştır.

3.2.7. Soğan AMF İnokulasyonu

Saksılar torf + perlit karışımından oluşan harç materyali ile doldurulmuş ve tohum yatağına 2 farklı AMF türü ayrı ayrı (*Glomus mosseae* ve Ticari AMF izolatu) 2.5

gr mikorhizal inokulum ilave edilerek üzerine soğan tohumları bırakılmak suretiyle üzeri torf+ perlit karışımı ile kapatılarak ekim işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.2.8. *Trichoderma harzianum* inokulasyonu

Çalışmada ikinci biyolojik kontrol ajan olarak *Trichoderma harzianum* Rifai ırk KRL-AG2 orijinli T22 PLANTER BOX biyolojik fungusit kullanılmıştır. Preparat'ın granül formülasyonu kullanılmış ve deneme harç toprağına firma tarafından etikette belirtilen dozlarda karıştırmak suretiyle uygulanmıştır.

3.2.9. Patojen inokulumunun hazırlanması ve bulaştırılması

Patojen inokulumun hazırlanması ve bitkiye uygulanmasında ön patojenite çalışmaları sonucu en etkili metot olarak belirlenen bitki köklerinde yara açmak suretiyle süspansiyona daldırma yolu izlenmiştir. Önceden PDA ortamına aşılınmış hastalık etmeninin üzerine 10-15 ml saf su konulmuş ve öze yardımı ile kazınarak sıvı hale getirilip spor yoğunluğu 1×10^5 spor/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Köklendirilmiş olan soğan bitkilerinin kökleri 1-1,5 cm olacak şekilde kesilerek fungus süspansiyonuna daldırılmış ve 20 dakika bekletilmiştir. 4 hafta sonra değerlendirilmeye alınan hastalıklı bitkiler, saksılardan tek tek sökülerek hastalık şiddeti Karaca (1968) tarafından oluşturulan 1-5 skalasına göre değerlendirmeye alınmıştır.



Şekil 3.2. Patojen inokulumunun hazırlanması ve bulaştırılması.

3.2.10. Denemeye ait yapılacak değerlendirmeler

İklim odasında toplam 10 hafta süresince tutulan soğan bitkileri bu süre sonunda;

- ✓ Bitkiye ait morfolojik parametreler (yaş ve kuru ağırlık, bitki boyu)
- ✓ AMF kolonizasyonu,
- ✓ AMF spor yoğunluğu,
- ✓ Hastalık şiddeti
- ✓ Fosfor içeriği

belirlenerek veriler üzerinde istatistiki değerlendirmeler yapılmıştır.

3.2.11. Bitkinin morfolojik parametrelerinin saptanması

3.2.11.1. Bitki boyunun ölçülmesi

AMF ve patojen etkileşimlerinin bitkiye yansıma şekillerini morfolojik (bitki boyu, yaş ağırlık, kuru ağırlık) olarak belirlemek için hasat edilen bitkinin kökleri musluk suyu altında daha sonra saf su ile yıkanarak köklere yapışan toprak parçacıklarından arındırılmıştır. Daha sonra temizlenen bitkilerin kök ve yeşil aksam ağırlıkları ayrı ayrı tartılmıştır. Akabinde bitki boyu ve kök uzunluğu ölçülmüştür. Kökün uç kısmından yeşil aksamın en uç kısmına kadar olan bitkinin boy uzunluğu cetvelle ölçülmüştür. Daha sonra kök boğazından kökün bir diğer uç kısmına kadar kök uzunluğu cetvelle ölçülmüştür.

3.2.11.2. Kök-yeşil aksamın yaş ve kuru ağırlıklarının belirlenmesi

Soğan bitkilerinin kök ve yeşil aksamlarının yaş ve kuru ağırlık ölçümleri ayrı ayrı yapılmıştır. Bitkilerin yeşil aksam, kök ağırlıkları ayrı ve daha sonra ikisinin toplamı şeklinde hassas terazide yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Yaş ağırlıkları tespit edilen bitkiler daha sonra kese kâğıtlarına konularak 70 °C'de 48 saat süresince kurutma dolaplarında tutulup kurutulmuş ve kurutma dolabından çıkarılan bitkiler tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Kacar, 1984).

3.2.12. AMF kök kolonizasyonunun belirlenmesi

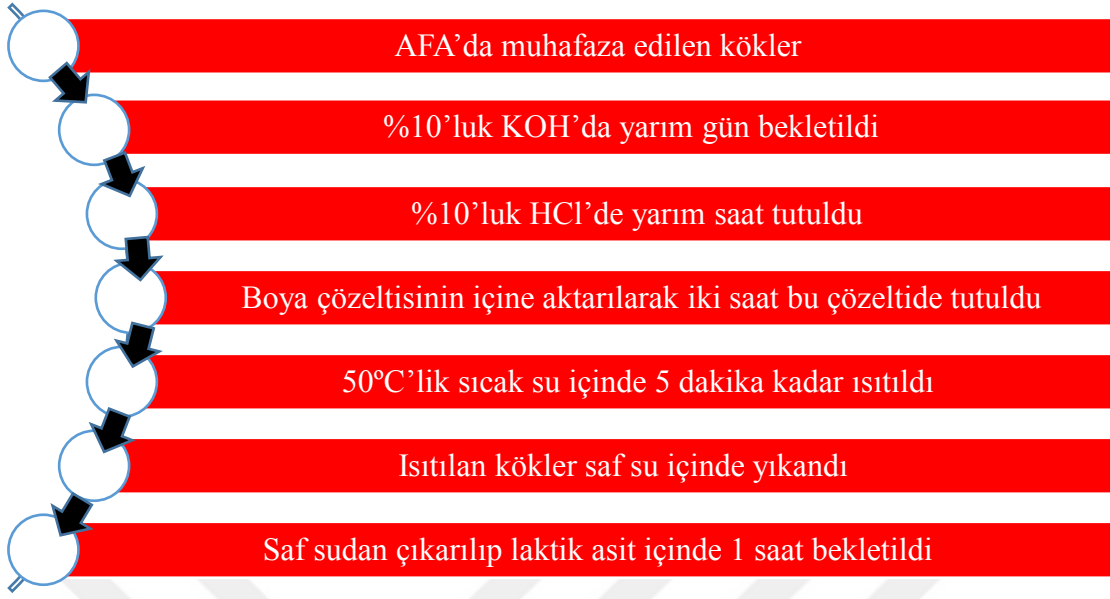
Fiksasyon

AMF'nin inokule edildiği soğan bitkilerinde denemelerin sonunda morfolojik parametreler belirlendikten sonra bitkilerin toprak üstü aksamaları kesilerek kök ve kök boğazı kısmının yavaşça ve dikkatli bir şekilde topraktan ayrılması sağlanmıştır. Topraktan ayrılan kökler musluk suyu altında iyice yıkanarak köklere yapışan toprak parçacıkları temizlenmiştir.

Köklerden daha sonra 1-0.5 gr'lık parçalar alınarak AFA Fiksasyon sıvısına (% 70'lik 90 ml Alkol, 5 ml Formaldehit ve 5 ml Asetik asit) bırakılmış ve kökler boyama işlemine kadar bu sıvı içinde muhafaza edilmiştir (Phillips ve Hayman, 1970).

Boyama

AFA sıvısı içinde bekletilen kökler, mikorhizal fungusun varlığını ve kolonizasyon yüzdesini belirlemek amacıyla Laktofenol mavisi ile boyanmıştır (Şekil 3.3). Boya çözeltisi içerik olarak % 0.05'lik Laktofenol mavisi eklenerek; laktik asit (40 ml) + gliserin (80 ml) + saf su (40 ml)' dan oluşan boya çözeltisi kullanılmıştır (Phillips ve Hayman 1970'den modifiye edilmiştir) (Şekil 3.3). Boyalı köklerdeki AMF kolonizasyon yüzdesini saptamak için *Grid-Line Intersect* Metodu kullanılarak köklerdeki AMF kolonizasyonunun oranı % olarak belirlenmiştir (Giovenetti ve Mosse, 1980).



Şekil 3.3. AMF varlığını saptamak için bitki köklerine uygulanan boyama işlemleri.



Şekil 3.4. Boya çözeltisinin hazırlanması ve köklere aktarılması.

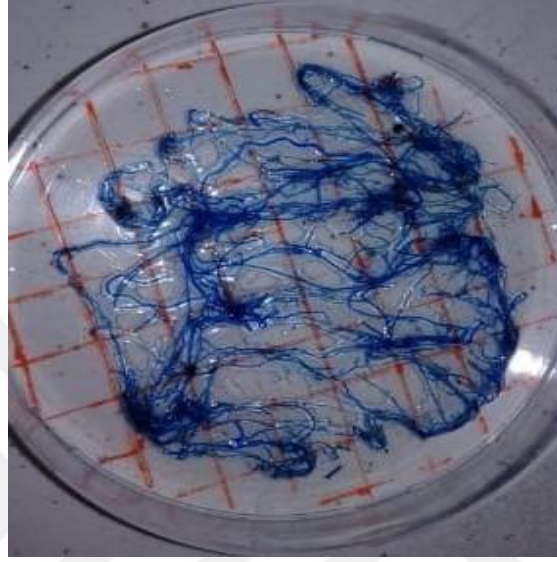
3.2.13. AMF'un kolonizasyon yüzdesinin hesaplanması

Laktofenol mavisi ile boyanmış olan köklerdeki AMF kolonizasyon yüzdesini saptamak üzere Grid-Line Metodu kullanılmıştır (Giovenetti ve Mosse, 1980) (Şekil 3.14).

Boyanmış olan kılcal kökler 1-1.5 cm uzunluğunda kesilmiş, bu köklerden yaklaşık 0.5 gr'lık örnek alınmış ve 1 cm²'lik alanlara ayrılmış plastik bir petri kabında homojen olarak dağıtılmıştır. İçinde kök parçaları bulunan petri stereomikroskop altında incelenmiştir. Stereoskopik incelemelerde petri kabındaki bölümler arası gridleri dik olarak kesen her bir kök segmenti için bir butona, eğer o vertikal kök segmenti

parçasında AMF propagülü (hif, vesikül, klamidospor) varsa iki butona beraber basılmıştır. AMF kolonizasyon yüzdesi ise formül 3.2 ile hesaplanmıştır.

$$\%AMF \text{ kolonizasyon} = \frac{\text{AMF ile kolonize olmuş kök sayısı}}{\text{Toplam kök sayısı}} \times 100 \quad (3.2)$$



Şekil 3.5 Grid-Line Intersect Metodu.

3.2.14. Toprakta AMF spor yoğunluğunun belirlenmesi

AMF funguslarının inokule edildiği bitkilerin rizosfer bölgesine ait topraklardaki AMF spor yoğunluğu ıslak eleme metodu yardımıyla elde edilmiştir (Gerdemann ve Nicholson, 1963). 2 mm'lik elekde elenerek kaba unsurlarından ayrılan AMF izolatlarına ait toprak örneğinden ortalama 10 gr toprak alınarak içinde 100 ml steril saf su bulunan beher glass içine eklenmiştir. Karışım 3-5 defa bir baget yardımıyla karıştırılmış, kaba toprak partikülleri ve bitki parçacıkları dibe çökmek üzere 10-15 dakika bekletilmiştir. Cam kap içinde üstte kalan sıvı yavaşça önce 80 µm'luk elekten ardından 45 µm'luk elekten geçirilerek ve elek üzerinde kalan ıslak materyal bir pipet yardımıyla su ile yıkanarak bir beher glassta toplanılmıştır (Şekil 3.6). Toplanan bu sıvı bir petri kabına boşaltılarak, stereoskopik mikroskop altında sağlıklı görünen sporlar belirlenerek gr topraktaki spor yoğunluğu belirlenmiştir.



Şekil 3.6 a) AMF'lu toprağın beher glass içerisinde toplanması. b) 80 ve 45 µm'luk elekler .

3.2.15. Mikorhizal bağımlılığın belirlenmesi

Mikorhizal fungus inokule edilen ve edilmeyen soğan bitkisi 8 haftalık gelişme periyodu sonunda kökleriyle birlikte hasat edilerek, yaş olarak tartılmıştır. Yaş ağırlıkları tespit edilen bitki örnekleri daha sonra kese kâğıtlarına konularak 70 °C'de 48 saat süresince kurutma dolaplarında tutularak kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Kacar, 1984).

Mikorhizal bağımlılık (%) = mikorhizal bitkinin toplam kuru ağırlığı – mikorhizal olmayan bitkinin toplam bitki ağırlığı x 100 / mikorhizal bitkinin toplam kuru ağırlığı (Declerc ve ark., 1995).

3.2.16. Hastalık şiddetinin belirlenmesi

Soğan bitkilerinde *Fusarium*'un neden olduğu hastalık şiddetini belirlemek amacıyla, hastalık etmeninin bulaştırıldığı periyottan itibaren gözlemler yapılmış ve bitkideki hastalık belirtileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla 1-5 skalası kullanılmıştır. Bu skalaya göre; (1=Sağlıklı bitki, 2=Köklerin 1/4'ünde kahverengileşme, 3=Köklerin 2/4'ünde kahverengileşme, hafif çürüme 4=Köklerin 3/4'ünde kahverengileşme, orta derecede çürüme, 5=Tamamen kahverengileşmiş veya çürümüş kökler).

Bu değerlendirme sonuçları aşağıdaki formül 3.3 ve 3.4 yardımıyla hesaplanarak hastalık şiddeti (%) olarak tespit edilmiştir.

$$\% \text{ Hastalık şiddeti} = \frac{(\text{Skala değ.} \times \text{frekans}) + (\text{Skala değ.} \times \text{frekans})}{\text{Toplam bitki sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri}} \times 100 \quad (3.3)$$

$$\text{Hastalık kontrol \% hastalık şiddeti} - \text{Uygulama grubu hastalık şiddeti} = X$$

$$\% \text{ Baskılama Oranı} = \frac{X}{\text{Hastalık kontrol \% hastalık şiddeti}} \times 100 \quad (3.4)$$

Hastalık şiddeti ve baskılama oranları belirlendikten sonra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* uygulaması yapılmış gruplardan reizolasyon yapılmıştır. Bitkilerin hastalıklı kısımlarından doku parçaları alınarak (3-4 mm) 2 dakika % 0.5'lik sodyum hipokloritte bekletildikten sonra yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulan doku parçaları 3 defa steril saf sudan geçirildikten sonra kurutma kağıtlarında kurutulmuştur. Daha sonra kurutulan örnekler Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamı içeren petri kaplarına yerleştirilmiştir. 24±2°C'de 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık 7 gün bekletirilip inkübasyon dönemini tamamlayan izolatlarda oluşan fungal kolonilerin mikroskop altında morfolojik yapılarına bakılarak cins düzeyinde teşhisleri yapılmıştır (Singleton ve ark., 1992)

3.2.17. Bitkilerde fosfor analizi

Çalışmaya ait fosfor analizleri Tarım ve Orman Bakanlığı Toprak, Gübre ve Su Kaynakları Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından yapılmıştır.

3.3. İstatiksel Değerlendirme

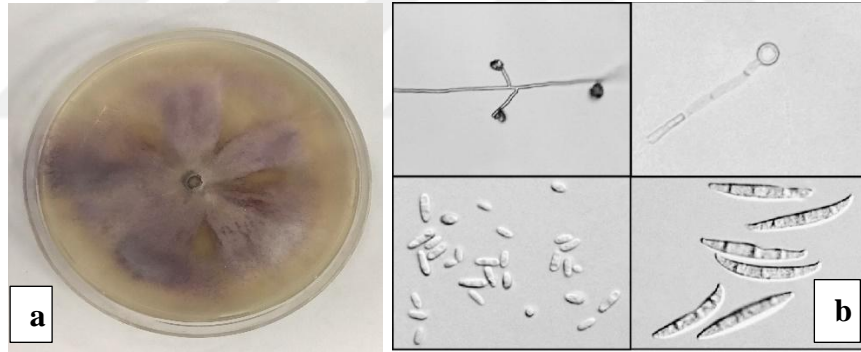
Çalışma sonunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi yapılmış ve buna ek olarak muameleler arasındaki farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testiyle analiz edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler MINITAB Release 14 (McKenzie & Goldman, 2005) paket programı yardımıyla yürütülmüştür.

4. BULGULAR

4.1 Teşhis Çalışmaları

4.1.1 Fungusun mikroskopik özellikleri

F. oxysporum f.sp. *cepae*'nın besi yerinde geliştirilen kültürlerinden teşhis amaçlı preparatlar hazırlanmış ve mikroskopik özellikleri belirlenmiştir (Şekil 4.1.a) . Miselyumun yanı sıra iki aseksüel spor türü olan; mikrokonidia ve makrokonidialar mikroskop altında incelenmiştir. Mikrokonidilerin ovalden böbrek şekline doğru değişiklik gösterdiği ve bölmesiz olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1.b). Makrokonidilerin ise hilal (kanca) şeklinde olduğu ve üç veya dört bölmeye sahip oldukları görülmüştür (Şekil 4.1.b). Değişik kaynaklardan yararlanılmak suretiyle tür teşhisi yapılmıştır(Anonymous 1996).



Şekil 4.1.(a) *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'nın petride gelişimi, (b) mikrokonidi ve makrokonidi.

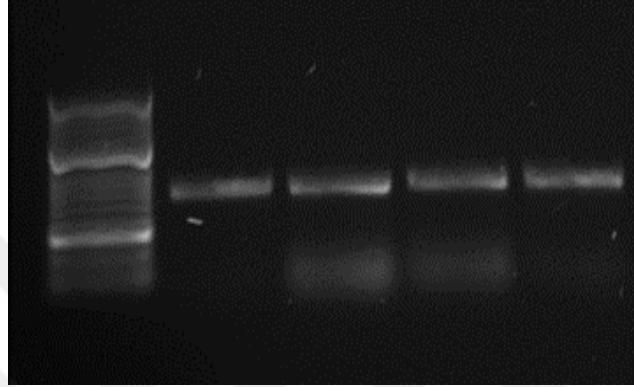
4.1.2 Fungusun moleküler teşhisi

ITS 4 ve ITS 5 (650 bp) genel primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin DNA sekansları çıkartılmış (Şekil 4.2.) ve bu DNA dizileri NCBI (National Center for Biotechnology Information)'daki ilgili sekans dizileri ile karşılaştırılmıştır (Şekil 4.3.). Morfolojik olarak teşhis edilen *Fusarium* türleri moleküler olarak da teyit edilmiştir. S-2 ve S-6 izolatlarının NCBI' da veri tabanında yapılan BLAST analizi sonucu diğer *Fusarium* izolatları ile % 100 benzerlik gösteren *Fusarium* türleri; *Fusarium equiseti* ve *F. oxysporum*

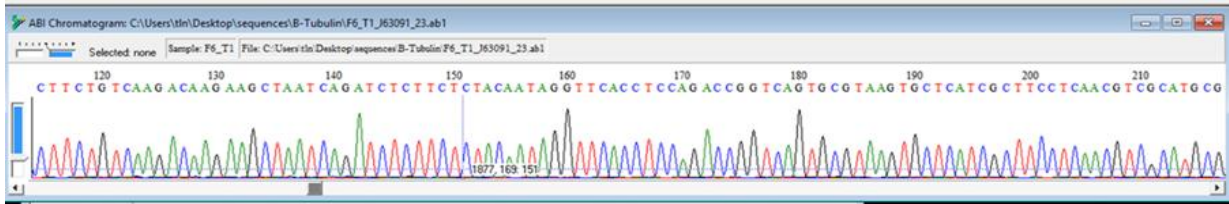
olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). *Fusarium oxysporum* izolatu tez çalışmasında kullanılmıştır.

Çizelge 4. 1 Çalışmada kullanılan *Fusarium* türlerinin NCBI sonuçları.

İzolat No	Etmen	Benzerlik Oranı (%)
S-2	<i>Fusarium equiseti</i>	100
S-6	<i>Fusarium oxysporum</i>	100



Şekil 4.2. PCR testi sonucunun jel görüntüleme sisteminde çekilmiş görünümü, ITS (650 bp).



Şekil 4.3. Bioedit programında düzgün dizimli nükleotid sekans sonuçları.

4.2. Hassas soğan çeşidinin belirlenmesi

Soğan çeşitleri arasında hastalık etmenine karşı en hassas çeşidi belirlemek amacıyla iklim odası koşullarında bölüm 3.2.4.'te anlatıldığı üzere üç farklı yerel soğan çeşidine (Gence, Seç ve Şampiyon) *F. oxysporum* f.sp. *cepae* inokule edilmiştir. 4 haftalık gelişme periyodu sonucunda değerlendirmeye alınan hastalıklı bitkiler, saksılardan tek tek sökülerek hastalık şiddeti Karaca tarafından oluşturulan 1-5 skalasına göre yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.2.'de verilmiştir

Çizelge 4.2. *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'nin soğan çeşitlerine karşı oluşturduğu hastalık şiddeti oranları (%)

Soğan Çeşidi	Hastalık Etmeni	Hastalık Şiddeti (%)
GENCE	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	70.66 ± 5.00 a
SEÇ	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	42.66 ± 1.63 b
ŞAMPIYON	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	26.66 ± 2.11 c

Aynı sütündeki ortalamaları takip eden farklı harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova P<0,05, Tukey test).

Çizelge 4.2'den de görüleceği üzere soğan çeşitlerinin *F. oxysporum* f.sp. *cepae*' ya karşı reaksiyonları değerlendirilmiştir. Şampiyon, Seç ve Gence çeşitlerinden Şampiyon'un %26,66 hastalık şiddeti oranı ile en dayanıklı çeşit olduğu belirlenmiştir. Ayrıca % 70,66 hastalık şiddeti oranı ile Gence en hassas çeşit olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre hastalık etmenine en hassas çeşit olan Gence çeşidi ile denemeler yürütülmüştür.

4.3 Patojenisite denemesi

Hastalıklı soğan bitkilerinden izolasyonlar sonucu elde edilen *Fusarium* izolatları bölüm 3.2.5'te yer alan farklı iki metotla ön patojenisite testine tabi tutulmuş ve en uygun metodun spor süspansiyonuna daldırma metodu olduğu belirlenmiştir.

4.4. Soğanda *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*'nin meydana getirdiği hastalık belirtileri

F.oxysporum inokulasyonu yapılmış saksılardaki soğan bitkilerinde kontrol bitkilerine oranla gelişme farklılıkları ve hastalık belirtileri gözlenmiştir.

Hastalık belirtisi gösteren bitkilerde yapılan gözlemlerde hastalığın kök kısmından başlayarak köklerde kahverengileşmeye, gelişme geriliğine üst kısımlara doğru yapraklarda sararma ve solgunluk, ilerleyen dönemlerde bitkilerde ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.4. a, b).



Şekil 4. 4 a, b. Soğanda kök ve yapraklarda *F.oxysporum*'un neden olduğu hastalık belirtileri.

4.5. AMF türlerinin (*Glomus mosseae* ve Ticari AMF izolatı) kolonizasyonu, mikorizal bağımlılık ve spor yoğunluğu

Soğan bitkilerinin kökleri, bölüm 3.2.12.'de belirtildiği şekilde fiksasyon ve boyama işlemlerine tabi tutulmuş ve mikroskop incelemesi (4x10 ve 10x10 büyütme derecelerinde) sonucunda mikorhizal fungusların, arbuskül dışındaki temel bütün yapılarıyla karşılaşılmıştır. Yapılan gözlemlerde, kökleri sarmış bir şekilde ve kök korteks bölgesinde interselüler hifler ve vesiküller belirlenmiştir. AMF türlerinin kök içindeki klamidosporeleri kolaylıkla gözlenmiştir. Kök dokularında da spor ve hif oluşumları dikkati çekmiştir.

Mikroskopla yapılan incelemeler sonucu tespit edilen AMF izolatlarının soğan bitkilerinin köklerinde oluşturduğu kolonizasyon yoğunluğu Grid-Line metodu yardımıyla saptanmıştır. Çizelge 4.3.'de uygulamalara göre bitki köklerindeki fungal kolonizasyon yoğunluğu, mikorhizal bağımlılık ve spor yoğunluğu verilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı muamele gruplarının AMF kolonizasyon oranları(%), Mikorizal bağımlılık ve AMF spor yoğunluğuna (adet/10 g) etkisi.

Muamele Grupları	AMF Kolonizasyon Oranı(%)	Mikorhizal Bağımlılık (%)	Spor yoğunluğu (adet/10 gr)
<i>G. mosseae</i>	20.85 ± 2.150 ab	51.98 ± 4.25 a	50.40 ± 1.36 a
Ticari AMF	20.86 ± 1.66 ab	23.58 ± 5.58 bc	17.2 ± 1.07 c
<i>G. mosseae</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	24.078 ± 0.96 a	36.02 ± 4.69 abc	34.2 ± 2.94 b
Ticari AMF + <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	14.60 ± 1.87 bc	18.33 ± 3.24 c	21.8 ± 1.68 c
<i>G.mosseae</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> + <i>T.harzianum</i>	24.09 ± 0.69 a	44.39 ± 6.69 ab	48.6 ± 2.32 a
Ticari AMF+ <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> + <i>T. harzianum</i>	8.91 ± 0.68 c	23.50 ± 4.39 bc	16.4 ± 1.50 c

* Aynı sütundaki ortalamaları takip eden farklı harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova P<0,05, Tukey test).

Çizelge 4.3'den de görüleceği üzere tüm muamele gruplarına ait AMF kolonizasyon oranları %8.91-24.09 arasında değişmiştir. En yüksek kolonizasyon oranı sırasıyla *Glomus mosseae* + *F. oxysporum* + *T. harzianum* ve *Glomus mosseae* + *F. oxysporum*'un yer aldığı muamele grubunda, en düşük kolonizasyon oranı ise Ticari AMF + *F. oxysporum* + *T. harzianum* muamele grubunda tespit edilmiştir.

Yürütülen denemeler sonucunda elde edilen bulgulara göre; *F. oxysporum* kök çürüklüğüne karşı duyarlı olan soğan bitkisinin *Glomus mosseae* + *F. oxysporum* + *T. harzianum* ve *Glomus mosseae* + *F. oxysporum*'un kolonizasyon oranı açısından ümitvar düzeyde olduğu saptanmıştır. Ticari AMF + *F. oxysporum* + *T. harzianum*'un yer aldığı muamele grubunda ise kolonizasyon oranlarının düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.1.).

Çalışmada kullanılan muamele grubu inokulasyonlarındaki spor sayıları değerlendirildiğinde, en yüksek spor sayısı sırasıyla *Glomus mosseae* (50.40 adet/10g) ve *Glomus mosseae* + *F. oxysporum* + *T. harzianum* (48.60 adet/10g) muamele gruplarından elde edilmiştir. Spor sayısı açısından elde edilen değerlerin istatistiki açıdan birbirinden farklı ve önemli olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 4.3).

Mikorizal bağımlılık açısından uygulamaların hepsinde mikorizal bağımlılık oluşmuş olup, en yüksek kombinasyonlar sırasıyla *Glomus mosseae* (% 51.98) ve *Glomus mosseae* + *F. oxysporum* + *T. harzianum* (% 44.39) uygulamaları olmuştur.

4.6. *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'nin muamele gruplarına göre soğan bitkilerinde oluşturduğu hastalık şiddeti

F. oxysporum f.sp. *cepae* inokulasyonu yapılmış soğan bitkilerinde uygulamalar 4 hafta sonra değerlendirilmiş ve patojen inokulasyonu yapılmayan bitkilere oranla gelişmede farklılıklar gözlenmiştir. Hastalık belirtisi gösteren bitkiler 1-5 skalasına göre değerlendirilmiş ve hastalık şiddeti Çizelge 4. 4' de verilmiştir.

Çizelge 4. 4 *F. oxysporum* f.sp. *cepae* ile inokule edilmiş soğan bitkilerindeki hastalık şiddeti değerleri.

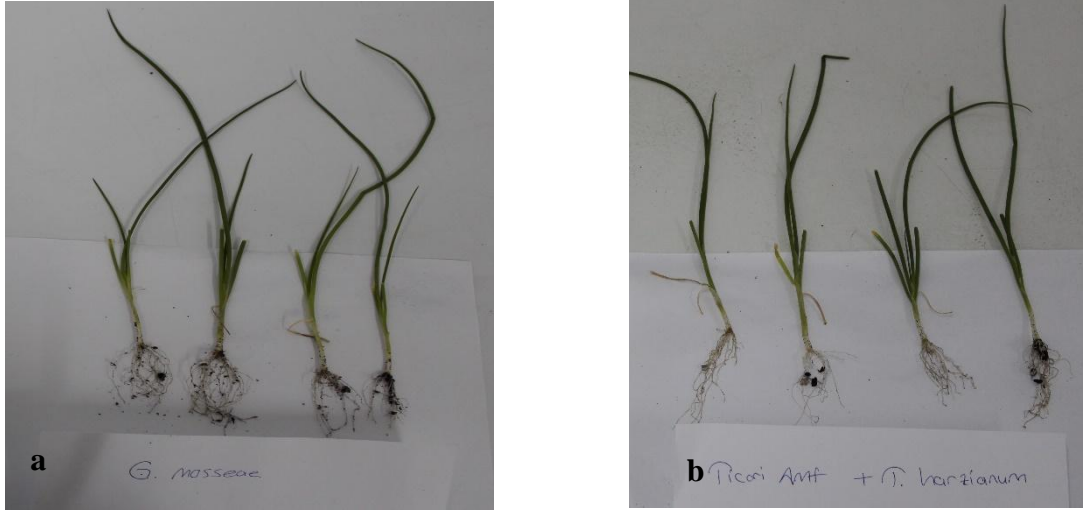
Muamele Grupları	Hastalık Şiddeti(%)	Hastalığın Baskılanma Oranı(%)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	90 ± 4.45 a	
<i>G. mosseae</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	68.88 ± 5.73 b	23.55
Ticari AMF izolatu + <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	75.55 ± 4.17 ab	16.05
<i>T. harzianum</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i>	77.77 ± 8.62 ab	13.58
<i>G. mosseae</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> + <i>T.harzianum</i>	70.55 ± 2.43 ab	21.61
TicariAMF izolatu + <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> + <i>T. harzianum</i>	71.10 ± 2.73 ab	21.00

* Aynı sütundaki ortalamaları takip eden farklı harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova P<0,05, Tukey test).

Soğan bitkilerindeki hastalık şiddeti değerlendirildiğinde uygulamalara göre *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'nin hastalık şiddeti istatistiki olarak p <0.05 düzeyinde önemli farklılıklar göstermiştir. En yüksek hastalık şiddeti değeri kontrol (% 90) uygulamasında, en düşük değer ise *G. mosseae* + *F.oxysporum* (% 68.88) uygulamasında tespit edilmiştir. Bu uygulamaları sırasıyla; *G. mosseae* + *F. oxysporum* + *T. harzianum* (% 70.55), Ticari AMF izolatu + *F. oxysporum* + *T. harzianum* (% 71.10), Ticari AMF izolatu + *F. oxysporum* (% 75.55) ve *T. harzianum* + *F. oxysporum* (% 77.77) uygulamaları takip etmiştir.

4.7. Muamele gruplarına göre soğan bitkisine ait bazı morfolojik gelişim parametreleri

Soğan bitkilerinin uygulamalara göre bazı morfolojik gelişim parametreleri (Bitki kuru ve yaş ağırlığı, kök uzunluğu ve ağırlığı ve bitki boyu) incelenmiş (Şekil 4.6 a, b) ve elde edilen değerler Çizelge 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.1 a, b. Bazı muamele gruplarına ait kök yapıları.



Çizelge 4.5. Soğan bitkisine ait morfolojik parametreler.

Muamele Grupları	Morfolojik Parametreler				
	Bitki Yaş ağırlık(g)	Bitki Kuru ağırlık(g)	Kök uzunluğu(cm)	Kök ağırlığı(g)	Bitki boyu(cm)
Kontrol	2.06 ± 0.62 a	0.25 ± 0.03 cde	4.74 ± 1.43 abcd	0.058 ± 0.019 a	38.1 ± 4.61 a
<i>G. mosseae</i>	1.90 ± 0.46 abc	0.54 ± 0.05 a	7.42 ± 1.04 a	0.041 ± 0.008 ab	38.6 ± 2.43 a
T.AMF	0.66 ± 0.06 cd	0.33 ± 0.02 bcde	4.18 ± 0.31 bcd	0.018 ± 0.002 b	27.3 ± 1.20 bcd
<i>T. harzianum</i>	0.98 ± 0.19 bcd	0.14 ± 0.02 e	1.94 ± 0.14 cd	0.019 ± 0.001 b	24.6 ± 1.03 cd
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	1.20 ± 0.05 abcd	0.16 ± 0.02 de	1.85 ± 0.26 d	0.019 ± 0.001 b	24.2 ± 1.06 cd
<i>G. mosseae</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	1.68 ± 0.27 abcd	0.40 ± 0.03 abc	3.82 ± 0.49 bcd	0.030 ± 0.002 ab	34.2 ± 1.37 ab
Ticari AMF izolatu + <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	0.40 ± 0.08 d	0.37 ± 0.06 abc	3.74 ± 0.53 bcd	0.013 ± 0.002 b	25.5 ± 1.27 bcd
<i>T. harzianum</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i>	0.44 ± 0.05 d	0.18 ± 0.03 de	1.82 ± 0.19 d	0.016 ± 0.008 b	22.3 ± 1.70 d
<i>G. mosseae</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> + <i>T. harzianum</i>	1.90 ± 0.17 abc	0.46 ± 0.03 ab	3.94 ± 0.43 bcd	0.020 ± 0.003 b	39.3 ± 1.06 a
T. AMF izolatu + <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> + <i>T. harzianum</i>	1.16 ± 0.04 abcd	0.34 ± 0.01 bcd	5.50 ± 0.47 ab	0.015 ± 0.002 b	33.9 ± 1.31 abc

Aynı sütundaki ortalamaları takip eden farklı harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova P<0,05, Tukey test)..

Çizelge 4.5'te Soğan bitkisine ait morfolojik gelişim parametreleri incelendiğinde bitki yaş ağırlığı üzerine Ticari AMF izolatu + *F. oxysporum* ve *T. harzianum* + *F. oxysporum*'un etkisinin en az olduğu tespit edilmiştir. Diğer muamele grupları ile *G. mosseae* ve + *F. oxysporum* + *T. harzianum* muamele grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Kuru ağırlık değerlerinde en yüksek değer *G. mosseae* uygulamasında elde edilirken en düşük değer *T. harzianum* grubundan elde edilmiştir.

Kök uzunluğu değerleri incelendiğinde en yüksek değeri *G. mosseae* muamelesi alırken en düşük değeri ise *T. harzianum* + *F. oxysporum* ve *F. oxysporum*'un tek başına yapılan muamelesi almıştır.

Kök ağırlığı parametresine bakıldığında kontrolden sonra en etkili muamele grubu sırasıyla *G. mosseae* ve *G. mosseae* + *F.oxysporum* f.sp. *cepae* olmuştur. Diğer bir morfolojik parametre olan bitki boy uzunluğu sonuçlarına göre *G. mosseae* + *F. oxysporum* + *T. harzianum* (39.3 cm) ve *G. mosseae* (38.6 cm) kontrol (38.1 cm) uygulamasına göre en yüksek değeri almıştır.

4.8. Muamele gruplarına göre soğan bitkisine ait Fosfor (P) elementi değerleri

Muamele gruplarına göre soğan bitkisinin fosfor elementi değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Muamele gruplarına göre soğan bitkisi fosfor elementi değerleri(ppm).

Muamele Grupları	Fosfor (P) Değerleri(ppm)
Kontrol	0.78 ± 0.19 a
<i>G. mosseae</i>	0.71 ± 0.06 a
Ticari AMF izolatu	0.88 ± 0.10 a
<i>T. harzianum</i>	-
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i>	0.61 ± 0.08 a
<i>G. mosseae</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i>	1.01 ± 0.09 a
Ticari AMF izolatu + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i>	0.94 ± 0.12 a
<i>T. harzianum</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i>	0.81 ± 0.18 a
<i>G. mosseae</i> + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> + <i>T. harzianum</i>	0.78 ± 0.06 a
Ticari AMF izolatu + <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> + <i>T. harzianum</i>	0.74 ± 0.16 a

Aynı sütündeki ortalamaları takip eden farklı harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova P<0,05, Tukey test).

Çizelge 4.6.'da görüldüğü üzere muamele gruplarına göre soğan bitkisinin fosfor içeriği birbirinden istatistiki olarak farklılık göstermemekle beraber, en yüksek fosfor değeri *G. mosseae* + *F. oxysporum* f.sp. *cepae* muamele grubunda (1.01 ppm), en düşük değer ise *F. oxysporum* f.sp. *cepae* muamele grubunda (0.61 ppm) tespit edilmiştir.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, soğan yetiştiriciliğinde oldukça önemli sorun olan ve verim kayıplarına yol açan *Fusarium* dip çürüklüğü hastalığına karşı biri ticari olmak üzere iki AMF izolatu ve *Trichoderma harzianum* biyolojik kontrol ajanlarının tekli ve kombine uygulamalarının etkileri araştırılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında sürveyler yürütülmüş hastalıklı bitkiler toplanıp hastalık etmeni izole edilmiştir. Morfolojik kriterler ve moleküler teşhis yöntemleri ile hastalık etmeninin *F. oxysporum* f.sp. *cepae* olduğu belirlenmiştir. Özer (1995) tarafından Tekirdağ ilinde tarla ve depolarda bulunan soğanlardan yapılan çalışmada da soğan dip çürüklüğüne neden olan etmenin *F. oxysporum* f.sp. *cepae* olduğu bildirilmiştir. Türkkan ve Karaca, (2006) tarafından yapılan çalışmalarda da hastalıklı soğan bitkilerinden yapılan izolasyonlardan, *F. oxysporum* ve *R. solani* AG-4 ün virülenslerinin yüksek olduğunu tesbit etmişlerdir. Ayrıca Çakır ve Maden, (2016) tarafından yapılan çalışmada depolarda çürüklük belirtisi gösteren soğan örneklerinden, *Fusarium oxysporum* tespit edilmiştir.

Etmenin moleküler olarak tespiti ile ilgili olarak Bayraktar ve ark., (2014) tarafından yapılan çalışmada ITS bölgesi ITS1/4 primerleri ile RFLP analizi yapılmış ve bu analiz yönteminin *Fusarium* türlerinin ayrılmasında oldukça faydalı olduğu belirlenmiştir. Larger, (2011) tarafından İsviçre’de yapılan bir diğer çalışmada izolasyon ve DNA çalışmalarının ardından ITS primerleri ile PCR çalışmaları tamamlanmış ve izolatların %63.3’ ünün *F. oxysporum* olduğu belirlenmiştir.

Arazi surveyleri sonucunda toplanan örneklerden elde edilen etmenlerin virülenslikleri patojenisite testleri ile ortaya konmuştur. Denemelerde kullanılmak üzere üç soğan çeşidi (Seç, Gence ve Şampiyon) ile ön patojenisite testleri yürütülmüş ve hastalığa en hassas çeşit tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında hastalık etmeni *F. oxysporum* f.sp. *cepae*’ye karşı en hassas soğan çeşidinin Gence olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen izolatların virülensliklerini belirlemek için patojenisite testinde uygulanacak etkili inokulasyon metodunu belirlemek için spor süspansiyonuna daldırma ve disk yöntemleri denenmiştir. Bu denemeler sonucunda en etkili inokulasyon metodunun spor süspansiyonuna daldırma metodu olduğu belirlenmiş ve çalışmalarda bu metod kullanılmıştır.

F. oxysporum f.sp. *cepae*'nin hastalık gelişimi ve belirtileri iklim odası koşullarında kurulan saksı çalışmasında çeşitli literatürlerde açıklanan hastalık gelişimi ve belirtileri ile paralellik göstermiştir. Hastalıklı bitkilerde solgunluk, sararma, kök kısmında çürümeler, yumrular üzerinde kahverengi lekeler ve ileri aşamalarda yapraklarda kıvrılmalar gözlemlenmiştir. Hastalık sonucu gözlenen belirtiler literatürde belirtilen hastalık gelişimi ile benzerlik göstermiştir. Abawi ve Lorbeer, (1972) yapmış oldukları çalışmalarda da hastalık etmeninin toprakta bitki ile temasıyla başladığını bildirmişlerdir. Hastalığın sağlıklı ve zarar görmüş kök dokularından giriş yaparak bitkinin iletim demetleri ve hücre dokularına zarar verdiği böylece bitkide solgunluğa neden olduğu bildirilmiştir (Everts et al.,1985; Schwartz & Mohan, 1995). Ayrıca hastalığın ilerleyen dönemlerinde bitkilerde solgunluğa neden olduğu, bitki yapraklarında kıvrılmalar ve olgun yumruda kloroz şeklinde lekelenmeler meydana getirdiğini belirlemiştir (Tahvonen, 1981; Schwartz & Mohan, 1995; Cramer, 2000). Hastalığın son dönemlerinde bitkinin kök kısmında beyaz miselyumların kümelendiği, köklerin renk değiştirerek kahverengi rengini aldığı ve ilerleyen aşamalarda da bitkide kök çürüklüğü ve ölümlerin yaşandığı bildirilmiştir (Brayford, 1996).

Hastalık etmeninin re-izolasyonu için yapılan çalışmalarda, hastalık belirtisi gösteren bitkilerin kök ve kök boğazı kısımlarında yapılan re-izolasyonlar sonucunda *F. oxysporum* f.sp. *cepae* tekrar elde edilmiştir.

Bitki ile fungus arasındaki besin alışverişine bağlı ve karşılıklı beslenme ilişkisi içinde yürüyen bir simbiyotik yaşam şekli olan mikorhizal yaşam konusunda yapılan araştırmaların büyük çoğunluğu bitki lehine olan beslenme yönüne dikkati çekmiş ve AM bitkilerinin daha iyi geliştiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada da bitki açısından beslenmenin artılarını ortaya koymak amacı ile bazı morfolojik parametreler değerlendirilmiştir. Bitki kuru ve yaş ağırlığı, bitki kök uzunluğu ve ağırlığı ile bitki boy uzunluğu gibi morfolojik parametrelerin mikhorizal soğan bitkilerinin mikhorizal olmayanlara göre daha çok teşvik edildiği ve bu parametre değerlerinin mikorhizal olmayanlara göre daha yüksek değerlere sahip olduğu tesbit edilmiştir. *G. mosseae* ve *G. mosseae*'nin içinde bulunduğu muamele gruplarının bitki kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök ağırlığı ve bitki boy uzunluğu kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). AMF nin yeşil aksamdaki morfolojik gelişim parametrelerini ve P içeriğini önemli düzeyde arttırdığını belirten Özgönen ve ark., (1999)'nın sonuçları ile bu çalışma bulguları benzer sonuçlar göstermiştir. AMF ile ilgili yapılan çalışmalarda AMF lerin bitki kök sistemine pozitif

etkisi olduğunu belirten Ross ve Harper (1970), Bodker ve ark. (1998), Sastry ve ark. (2000) gibi araştırmacıların sonuçları bu çalışmanın sonuçlarını doğrulamaktadırlar. Bu konuda yapılan çeşitli araştırmalarda AMF nin miselyumları aracılığı ile koklerin yüzey alanını ve bitki besin elementi alınımını arttırarak kok sisteminin geliştiği belirtilmiştir. Bitki kok sisteminde meydana gelen bu değişimin AMF gelişimi ile bağlantılı olduğu saptanmıştır (Sastry ve ark., 2000). Al-Raddad (1987) yapmış olduğu çalışmasında kullandığı üç farklı *Glomus* türünün domates, biber ve patlıcanda bitkilerin morfolojik gelişimine katkı sunduğu özellikle de gövde yaş ağırlığını önemli oranda arttırdığını bildirmiştir. Karagiannidis ve ark. (2002) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise AMF *G. mosseae*'nin domates ve patlıcan bitkilerinde sürgün ağırlığının % 114 ve ortalama bitki boyunun % 30 oranında arttırdığını bunun yanı sıra domates bitkisinde de sırasıyla % 96 ve % 21 oranında artışlar sağlayarak bitki gelişimini teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Yapılan bir çok çalışma ile başta fosfor olmak üzere bazı makro ve mikro besin elementlerinin AMF ile simbiyotik ilişki kuran bitkilerde fazla olduğu belirtilmiştir (Demir, 1998; Akköprü ve ark., 2005; Demir ve ark., 2015). Yürütülen birçok araştırma sonucuna göre bitkilerin fosfor alımının noksan olduğu zamanlarda AMF li ortamların bitkinin fosfor ihtiyacını karşılamasını kolaylaştırdığı görülmüştür (Hayman ve Mosse, 1972; Smith ve ark., 1992; Srivastava ve ark., 1996). Güneş ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada da AMF türlerinin muamele grupları arasında istatistiki olarak farkın olmadığı belirlenmiştir. Yaptığımız bu çalışmada soğan bitkisinin Fosfor (P) besin elementi içeriği değerlendirilmiş ve tüm muamele grupları ve kontrol grubu arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı ama AMF uygulaması yapılmış olan muamele gruplarında fosfor oranının diğerlerine oranla yüksek olduğu tespit edilmiştir (izelge 4.6).

Soğan bitkisi koklerindeki AMF türlerinin mikorizal bağımlılıkları ve kolonizasyon oranları izelge 4.3'te sunulmuştur. Mikorizal bağımlılıkta en yüksek oranın (% 51.98) *Glomus mosseae*'nin tek başına yer aldığı muamele grubunda olduğu, en düşük oranın ise (% 18.33) Ticari AMF + *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'nin olduğu muamele grubunda olduğu belirlenmiştir. Bitki koklerindeki AMF türlerinin kolonizasyon oran değerlerinin % 8.91 -% 24.07 arasında değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Çalışmada yer alan muamele grupları arasında en yüksek kolonizasyon oranı (% 24.07) *G. mosseae* + *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'yer aldığı muamele grubunda olduğu tespit edilmiştir (izelge 4.3). En düşük kolonizasyon oranı (% 8.91) Ticari AMF ve *Trichoderma harzianum*'un *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'nin olduğu muamele grubunda

olduğu belirlenmiştir. Demir (2002) tarafından yapılan çalışmada da en yüksek kolonizasyon oranlarının % 53.9 ile *Liliaceae* familyasına ait olan soğan-sarımsak ve %66.0 ile bu familyaya ait olan pırasa bitkisinde olduğu bildirilmiştir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde *T. harzianum* ve patojen uygulamasının AMF kolonizasyonu üzerinde negatif etkiye bulunduğu söylenebilir. Nitekim Ghanbarzadeh ve ark., (2016) tarafından soğanlarda bazal kök çürüklüğüne neden olan önemli funguslardan olan *Fusarium proliferatum*'a karşı *T. harzianum* ve AMF *G. mosseae* denenmiş, çalışmanın sonunda *T. harzianum*'un varlığında AMF kök kolonizasyonunun azaldığı tesbit edilmiştir. Turhan ve Demir, (2013) tarafından yapılan çalışmada, çilekte *Rhizoctonia solani* x AMF x *T. harzianum* patosisteminde AMF türlerinin çilek bitkisinde % 31-66 arasında kolonize olduğu ve kolonizasyon bakımından en iyi sonucun *Glomus mosseae*'nin tek başına uygulandığı muamele grubunda görüldüğü belirtilmiştir.

Bu çalışmada, *G. mosseae*, Ticari AMF ve *Trichoderma harzianum*'un *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'nin hastalık şiddetine etkileri ve hastalığın baskılanma oranları araştırılmış ve muamele gruplarına göre farklılığın olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.4).

Hastalık şiddeti değerlerine bakıldığında kontrole göre genel olarak AMF'lerin *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'yi % 68.88-% 70.55 oranlarında baskıladığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Uygulanan muamele gruplarının tümünün hastalığı bastırmada başarılı olduğu görülmektedir. Hastalığı baskılama oranlarının ise % 13.58-23.55 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Mevcut çalışmada *Glomus* türevli AMF lerin bitkilerde hastalığı baskılama oranının *Trichoderma*'lı bitkilere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda benzer sonuçlar olduğunu görmekteyiz. Toprak kökenli patojenler üzerine AMF funguslarının etkisi ve baskılama mekanizması farklı patojenlerde incelenmiş ve bu mikroorganizmaların özellikle fungal kök patojenleri üzerinde engelleyici ve baskılayıcı etkisinin olduğu bildirilmiştir (Dehne, 1982; Linderman, 1992; Demir ve Akköprü, 2007). Akköprü ve ark., (2005) tarafından yapılan çalışmalarda domates fidelerinde *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.)a karşı farklı *Glomus* türlerinin etkileri incelenmiş ve bu uygulamaların hastalığı baskı altına aldığı bunun yanı sıra hastalık şiddetinde %48-92 oranında bir azalma olduğu belirlenmiştir. Caron ve ark. (1985) *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* ve *Glomus intraradices* nin domates bitkisindeki interaksyonları üzerine yetiştirme ortamının etkisinin araştırıldığı çalışmalarında, kullanılan tüm yetiştirme

ortamlarında *G. intraradices*'in varlığı durumunda patojenin kök nekrozlarının azaldığını belirlemişlerdir. Barragán ve ark., (1996) tarafından yapılan diğer bir çalışmada soğanda beyaz çürüklük hastalığına neden olan *Sclerotium cepivorum* etmeni ile bulaşık tarlalarda *Glomus sp. Zac-19*' nin etkisi araştırılmış ve on bir hafta sonunda mikoriza uygulaması olmayan alanlara kıyasla beyaz çürüklük hastalığına karşı önemli ölçüde koruma sağlandığı belirlenmiştir.

AMF'lerin hastalık şiddetini baskılamadaki mekanizmalarına yönelik olarak yapılan çalışmalarda arbüsküler mikorizal fungusların simbiyotik yaşam kurdukları bitkilerde savunma mekanizmasını aktive ederek hormon ve enzim aktivitelerini arttırdıkları ve özellikle ilk dönemde en üst seviyeye çıktığı belirtilmiştir (Hayman ve Mosse, 1972; Rhodes, 1980; Marschner, 1995; Azcon-Aguilar ve Barea 1996; Morandi, 1996). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda hipersesitif reaksiyon, lignifikasyon ve hidrozyproline ile oluşmuş olan zengin hücre duvarının fiziksel bariyerler oluşturduğu ve sonrasında yeni enzimlerin üretildiği bu enzimlerinde antifungal etki gösterdikleri ve bitkiye dayanıklılık sağladığı bildirilmiştir (Poza ve ark., 1999; Demir ve Akköprü, 2007).

Mevcut çalışmada, önemli fungal biyolojik kontrol etmenlerinden biri olan *Trichoderma harzianum*'un da tekli ve AMF ile ikili kombinasyonları *F. oxysporum* f.sp. *cepae*'ye karşı denenmiş ve hem tekli hemde ikili kombinasyonlarda hastalık etmenine karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4.). Soğan bitkisinde kök çürüklüğü hastalıklarına karşı *Trichoderma* spp.'nin etkisine yönelik olarak yapılan diğer çalışmaların bulguları, tarafımızdan elde edilen bulgularla örtüşmekte olup, patojenle bulaşık topraklarda, *Trichoderma*'nın soğan çürüklüğü hastalığını azalttığını, bunun yanı sıra baş soğan çapı ve ağırlığının arttığını bildirmişlerdir (Coşkuntuna ve Özer, 2008; Akan ve Özer, 2009). *Trichoderma* spp. bitki patojeni funguslara karşı antibiosis, hiperparazitizm ve yarışma gibi farklı antagonistik mekanizmalar ile direkt etki gösterebildiği gibi fiziksel ve kimyasal çevrenin mikrobiyal antogonizmi ya da konukçu üzerine olan etkisi ile dolaylı olarak etkide bulunabilmektedir (Bora ve ark, 1995; Aydın, 2015). Son yıllardaki çalışmalar *Trichoderma* spp.'nin ayrıca bitkilerde dayanıklılığın uyarılması, köklerdeki mikroflora kompozisyonunu değiştirmesi, besin maddesi alımını arttırması ve kök gelişimini teşvik etmesi gibi etkilerinin de olduğunu göstermiştir (Harman, 2006). *Trichoderma* spp.'nin köklerin gelişmesine katkıda bulunarak toprağın derinliklerine inmesini sağladığı böylece bitkilerin toprak üstü aksamalarının daha iyi gelişerek kuraklığa karşı direnci arttırdığı, ayrıca fosfor, mangan, demir gibi maddeleri çözünür bir forma dönüştürebildiği ifade edilmektedir

(Bora ve ark, 1995). Mevcut çalışmamızda *Trichoderma harzianum*'un bitkideki morfolojik gelişim parametreleri üzerinde teşvik edici etkileri olmamakla birlikte (Çizelge 4.5.) fosfor alımı üzerinde, istatistiki olarak önemli olmamakla beraber, kontrol grubuna göre artış sağladığı belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

AMF ve *Trichoderma* türlerinin tek tek veya birlikte de uygunlanmasında toprak kaynaklı patojenlere karşı etkili olmakta bunun yanı sıra birbirlerini sinergistik olarak etkilediği bilinmektedir (Johnson ve ark., 1987). Datnoff ve ark. (1995) ve Yogendra ve ark. (2003)'ün yapmış oldukları çalışmalarda da AMF ve *Trichoderma harzianum*'un ikili inokulasyonlarında *Fusarium* solgunluk hastalığına karşı hastalığı baskılamada da etkili olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmada da AMF ile *T. harzianum* ikili kombinasyon olarak hastalık şiddeti üzerinde kontrol uygulamasına göre etkili olmuş, ancak bu etki AMF *G. mosseae*'nin tek başına gösterdiği baskılama oranından daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.4). İkili kombinasyondaki baskılamanın AMF tekli uygulamadaki baskılamadan düşük olmasının nedeni *T. harzianum*'un AMF gelişimi üzerinde negatif etkiden kaynaklandığı söylenebilir (Ghanbarzadeh ve ark., 2016). Nitekim bu çalışmada elde edilen mikorhizal gelişim parametreleri (kolonizasyon, spor yoğunluğu ve bağımlılık) incelendiğinde genel olarak *T. harzianum*'un yer aldığı uygulamalarda bu gelişim parametrelerinin AMF pozitif kontrol uygulamasına göre düşük çıktığı söylenebilir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ışığında;

- Çalışma kapsamında yer alan üç farklı soğan çeşidi olan Seç, Gence ve Şampiyon çeşitleri arasında kök çürüklüğü etmeni olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*'ya karşı en dayanıklı çeşidin Şampiyon çeşidinin olduğu ve en hassas çeşidin de Gence olduğu belirlenmiştir.
- Soğan çeşitlerinin farklı AMF türleri ile inokulasyonu sonucunda kolonizasyon oranları açısından farklılıklar olduğu görülmüştür. Çalışma kapsamında yer alan Gence soğan çeşidinin *Glomus mosseae*, ve ticari AMF izolatu olan ERS Endo Roots Soluble ticari isimli mikorizalar ile uyumu ve mikorhizal bağımlılığı açısından en iyi sonuçlardan birisi *Glomus mosseae*'nin tek başına uygulandığı kombinasyonda verdiği belirlenmiştir.
- Genel olarak AMF uygulamalarının soğan bitkisinin bazı morfolojik gelişim parametrelerini arttırdığı ve bitki gelişimini pozitif yönde etkilediği ortaya konmuştur.

Benzer durum olarak bitkideki AMF'nin makro besin elementi olan fosforun alınımını da artırdığı tespit edilmiştir.

- AMF ve *Trichoderma* uygulamalarının tekli ve kombine uygulanmalarının *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*'yi baskıladığı, bu etkinin *Glomus mosseae*'nin tek başına kullanıldığı uygulamalarda daha baskın olduğu belirlenmiştir.

Yukarıda tespit edilen sonuçlar ışığında oluşturulacak AMF ve *Trichoderma* uygun kombinasyonlarının, bitki sağlığı ve verimliliğinin artırılması yönünde olumlu katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Günümüzde kimyasalların insan sağlığı üzerine etkileride göz önünde bulundurulduğunda farklı konukçu ve mikroorganizma kompozisyonlarının etkinlikleri üzerinde yapılacak olan bu tür çalışmalar hız kazanmalı ve artırılmalıdır. İleriki araştırmalarda bölgede soğan bitkilerinin kök bölgesinde doğal ortamda bulunan mikorizanın izole edilip, uygun yetiştirme ortamlarında üretilmesi amaçlanmalıdır.

AMF funguslarının bitkinin hastalıklara dayanıklılığını ve kuraklığa toleransını geliştirmesi ve hareketliliği az olan besin elementlerinin alınımını artırması nedeniyle AMF'nin tarla bitkileri yetiştiriciliğinde kullanılması yönünde farklı çalışmalar yürütülebilir.



KAYNAKLAR

- Abawi, G.S., Lorbeer, J.W., 1972. Several aspects of the ecology and pathology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Phytopathology*, **62**:870-876.
- Abd-El Razik, A.A., Fahmy, F.G., Amein, A.M., El Amein, A.L., 1990. Role of onion seeds in transmission of damping-off causal fungi and chemical control of the disease. *Review of Plant Pathology*, **71**:3456.
- Abdel Sater MA, Eraky SA., 2002. Bulbs mycoflora and their relation with three stored product mites. *Mycopathologia*, **153**: 33-39.
- Agrios, G.N., 2005. *Plant pathology. Fifth edition*. Elsevier Academic Press. London. UK. 922 pp.
- Akan, F., Özer, N., 2009. *Hasat Sonrasında Soğanda (Allium cepa L.) Aspergillus niger ve Fusarium oxysporum f.sp. cepae Üzerine Bazı Antagonist Fungusların Etkisi*. (yayınlanmamış yüksek lisans tezi). NKÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Akköprü, A , Demir, S , Özaktan, H., 2005. Farklı *Fluoresant Pseudomonas* (FP) izolatları ve arbusküler mikorhizal fungus (AMF) *Glomus intraradices*'in domates'teki bazı morfolojik parametrelere ve *Fusarium solgunluğuna (Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici (Sacc) Syd. Et Hans.)* etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, **15**(2): 131-138.
- Albrechtova J1, Latr A, Nedorost L, Pokluda R, Posta K, Vosatka M., 2012. Dual inoculation with mycorrhizal and saprotrophic fungi applicable in sustainable cultivation improves the yield and nutritive value of onion. *ScientificWorldJournal*. Art. No. 374091.
- Al-Raddad, A.M., 1987. Effect of va mycorrhizal isolates on growth of tomato, eggplantand pepper in field soil. *Dirasat (Jordan)*, **14**(11): 161-168.
- Anonim (1996). *Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences. National Research Council Guide for the care and use of Laboratory Animals Washington*, D.C. National Academy Press p. 46.
- Anonim, 2018a. Tarım Ürünleri Piyasası Kuru Soğan, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, <https://arastirma.tarim.gov.tr/teppe>. Erişim tarihi:25.03.2019
- Anonim, 2018b. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. Erişim tarihi: 25.08.2018.
- Anonim, 2019a. <http://www.ebitki.com/index.php?hq=Allium%20cepa&gr=Latince>. Erişim tarihi:27.03.2019.
- Anonim, 2019a. https://www.bbc.com/turkce/haberler/2015/01/150105_soganin_faydalari. Erişim tarihi:28.03.2019.
- Anonim, 2019b. <http://bagtarimurunleri.com.tr/sogan-tarihcesi/>. Erişim tarihi:28.03.2019.
- Anonim, 2019c. <http://traglor.cu.edu.tr/objects/objectFile/hGEIBU-812013-39.pdf>. Erişim tarihi: 20.05.2019.
- Appoloni S, Lekberg Y, Tercek MT, Zabinski CA, Redecker D., 2008. Molecular community analysis of arbuscular mycorrhiza fungi in roots of geothermal soils in Yellowstone National Park (USA). *Microb Ecol* **56**:649–659.
- Aydın, M.H., Turhan, G., 2009. *Rhizoctonia solani*'nin fungal antagonistlerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, **19**(2): 49-72.

- Aydın, M. H., 2015. Bitki Fungal Hastalıklarıyla Biyolojik Savaşta *Trichoderma*'lar. **Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi**, (2): 135-148.
- Aydın, M. H., Turhan, G., 2013. Patateste *Rhizoctonia solani*' ye Karşı *Trichoderma* Türlerinin Etkinliği ve Bazı Fungusitlerle Kullanılması. **Anadolu, Journal of AARI**, 23 (1); 12-31.
- Azcon-Aguilar, C., Barea, J. M., 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens an overview of the mechanisms involved. **Mycorrhiza**. 6: 457-464.
- Bagyaraj, D. J. ve Manjunath, A., 1981. Influence of Soil Inoculation With Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphate-Dissolving Bacterium (*Bacillus circulans*) on Plant Growth and 32p-Uptake. **Soil. Biol. Biochem** 13:105-108.
- Barnoczkine-Stoilova E (1986). Possibilities of controlling Fusarium infection on onion. **Review of Plant Pathology**, 66: 5423.
- Barragán A. T., -Mejía E. Z., Chávez C. G., Cerrato R. F., 1996. The use of arbuscular mycorrhizae to control onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.) under field conditions **Mycorrhiza**, 6(4); pp 253–257.
- Bayraktar, H., Tekin, K., Özer, G., 2014. Soğan Üretimi İle İlişkili Farklı *Fusarium* Türlerinin PCR-RFLP Analizi. **Anadolu Tarım Bilim. Dergisi**. 29(3):194-198.
- Bell D. K., H. D. Weels, and C. R. Markham, 1982. In Vitro Antagonism of *Trichoderma* Species Against Six Fungal Plant Pathogens, **Phytopathology**, 72: 379-382.
- Beşirli, G., 2002. **Soğan Yetiştiriciliği. Çiftçi Broşürü**, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yalova. 2s.
- Błaszczak L, Siwulski M, Sobieralski K, Lisiecka J, Jedryczka M (2014). *Trichoderma* spp.- application and prospects for use in organic farming and industry. **J of Plant Prot Res**, 54: 310-317.
- Bodker, L., KJoller, R., Rasmus, S., 1998. Effect of phosphate and arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on disease severity of root rot of peas (*Pisum sativum*) caused by *Aphanomyces euteiches*. **Mycorrhizae**, 8:169-174.
- Boff, P., Stadnik, M.J., Ferrari, R., Da Silva, T.O., 1995. Assessment of seed health of the onion seeds commercialized in the state of Santa Catarina. **Revista Brasileira de Sementes**, 17:165-170.
- Bolan, N.S., Robson A.D. and Barrow N.J., 1987. Effects of Vesicular - Arbuscular Mycorrhizae the Availability of Iron Phosphates to Plants. **Plant and Soil**, Vol: 99, p: 401 - 410.
- Bora, T., Yıldız, M., Özaktan H., 1995. **Ege Bölgesinde Kavun Ve Karpuzlarda Görülen Fusarium Solgunluklarının Antagonistik Fluoresent Pseudomonas'larla Önlenmesi Olanakları Üzerinde Araştırmalar**. Ege Üniversitesi Araştırma Fonu 92-ZFR-035 Sayılı Proje Kesin Raporu, İzmir. 26.
- Brayford, D. 1996. IMI description of fungi and bacteria, set 127, No. 1263 *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. **Mycopathologia**, 133:39-40.
- Brundrett, M. C., 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. **Plant and Soil**, 320 (1-2): 37-77.
- Burgess LW, Summerell BA, Bullock S, Gott KP, Backhouse D., 1994. **Laboratory Manual for Fusarium Research Sydney**. University of Sydney; pp. 116-117
- Burke, D.J., 2008. Effects of *alliaris petiolata* (garlic mustard; brassicaceae) on mycorrhizal colonization and community structure in three herbaceous plants in a mixed deciduous forest, **American Journal of Botany**, 95(11): 1416–1425.

- Büyükcan Sayılır, Ş. 2012. Göçebelik, Konar-Göçerlik Meselesi ve Edelesesi ve Coğrafi Bakımdan Konar-Göçerlerin Farklılaşması Arklılılaşması. *Türk Dünyası İncelemeleri Dergisi / Journal of Turkish World Studies*, **XII**(1) , s.563-580.
- Caron, M., Fortin, J. A., Richard, C., 1985. Effect of glomus intraradices on infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici* in tomatoes over a 12-week period. *Cant. J. Bot.*, **64**:552-556.
- Chet, I. and R. Baker., 1980. Induction of Suppressiveness to *Rhizoctoni solani* in soil. *Phytopathology*, **70**: 994-998.
- Cobos, R. and Martín, M.T. 2008. Molecular characterisation of Phaeomoniella chlamydospora isolated from grapevines in Castilla y León (Spain). *Phytopatho Mediterr.***47**: 20–27.
- Correll, J.C. 1991. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, **81**: 1061-1064.
- Cramer, C.S., 2000. Breeding and genetics of *Fusarium* basal rot resistance in onion. *Euphytica*, **115**: 159–166.
- Coşkuntuna A, Özer N. 2008. *Trichoderma harzianum* ile soğanda dip çürüklüğü hastalığının tarla koşullarında biyolojik kontrolü. *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri*. 27-29 Ağustos 2008, Isparta, s. 325.
- Çakır, E., Maden, S. 2016. Ankara (Polatlı) Soğan Depolarında Tespit Edilen Fungal Depo Çürüklüğü Etmenleri. *Bitki Koruma Bülteni*, **56**(2): 135 – 143.
- Çeliker, N.M., Nemli, T., 1994. Investigation on biocontrol of white root rot [*Rosellinia necatrix* (Hartig)] Berlese. *Türkiye III. Biyolojik Mücadele Kongresi*, 25-28 Ocak, İzmir, s. 110-115.
- Datnoff, L.E., Nemeč, S., Pernezny, K., 1995. *Biological Control Regular Article*, **(5)** 427-431.
- Declerck, S., Plenchette, C., Strullu, D.G., 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant Soil*.**176**: 183-187.
- Dehne, H. W., 1982. Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology*, **72**: 1115-1119.
- Demir, S., 1998. *Bazı Kültür Bitkilerinde Vesiküler-Arbusküler Mikorhiza (VAM) Oluşumu ve Bunun Bitki Gelişimi ve Dayanıklılıktaki Rolü Üzerine Araştırmalar* (doktora tezi basılmamış). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir.
- Demir, S., 2002. Mikorhizal fungus *Glomus intraradices* (Schenck&Smith)'in bazı sebze bitkilerinin köklerinde kolonizasyonu. *YYÜ Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, **12**(1): 53-57.
- Demir, S., Akköprü, A., 2007. Using of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens. **In: Biological Control of Plant Diseases**. Eds.S.B. Chincholkar, K.G. Mukerji, Haworth Press, NY, USA, p:17-37.
- Demir, S., Özrenk, E., 2009. Effects of whey on the colonization and sporulation of arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices*, in lentil (*Lens orientalis*). *African Journal of Biotechnology*, **8**(10): 2151-2156.
- Demir, S., Şensoy, S., Ocak E., Tüfenkçi, Ş., Demirer Durak E., Erdinç, Ç., Ünsal H., 2015. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), humic acid and whey on wilt disease caused by *Verticillium dahliae* Kleb. in three *Solanaceous* crops. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **39**: 300-309.
- Dennis, C. and J. Webster., 1971. Antagonist properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non- volatile Antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **57**: 25-39.

- Durak Demirer, E., 2011. Anastomosis groups, pathogenicity and biological control of *Rhizoctonia* strawberry plants in Erzurum province. from in *Phytopathology*, **80**(9):785-788.
- El Zawahry, A., El Aref, H.M., Ahmed, N.G., Aly, A.A., 2000. Protein patterns of certain isolates of *Fusarium oxysporum* and *F. moniliforme* and their relation to virulence. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, **31**:59-78.
- Elad, Y., I. Chet, and J. Katan. (1980). *Trichoderma harzianum* a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, **70**, 119-121.
- Erzurumlu Sandal, G., Kara Erman, E., 2014. Mikoriza Konusunda Türkiye’de Yapılan Çalışmalar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, **7**(2): 55-65.
- Eşiyok, D., 2012. *Kışlık ve Yazlık Sebze Yetiştiriciliği*, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü 27(1): 63-118.
- Everts, K.L., Schwartz, H.F., Epsky, N.D., & Capinera, J.L. 1985. Effects of maggots and wounding on occurrence of *Fusarium* basal rot of onions in Colorado. *Plant Disease*, **69**:878-882.
- Fantino, N.G., Schiavi, M., 1987. Onion breeding for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, **26**:108-112.
- Gai, J.P., Christie, P., Feng, G., Li, X.L., 2006. Twenty years of research on community composition and species distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in china, *Mycorrhiza*, **16**: 229-239.
- Gerdemann L.W., Nicholson T.H., 1963. Spores of mycorrhizal endogene extracted from soil by wet sieving and decanting, *Trans. Br. Mycol. Soc.* **46**: 235-244.
- Ghanbarzadeh B. , Goltapeh E. M., Safaie N., 2013. Identification of *Fusarium* species causing basal rot of onion in East Azarbaijan province, Iran and evaluation of their virulence on onion bulbs and seedlings. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. **47**(9): Pages 1050-1062.
- Ghanbarzadeh B., Safaie N., Mohammadi E., Danesh Y. R. and Khelghatibana F., 2016. Biological control of *Fusarium* basal rot of onion using *Trichoderma harzianum* and *Glomus mosseae*. *J. Crop Prot.* **2016**, **5**(3): 359-368.
- Giovanetti, M., Mosse, B., 1980. An evaluation of techniques for measuring vesiculararbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, **84**: 489-500.
- Guillermo A. Galván, István Parádi, Karin Burger, Jacqueline Baar, Thomas W. Kuyper, Olga E. Scholten, and Chris Kik., 2009. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in onion roots from organic and conventional farming systems in the Netherland. *Jun*; **19**(5): 317–328.
- Guo, T., Zhang, J., Christie, P., LI, X. 2006. Influence of nitrogen and sülfür fertilizers and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on yield and pungency of spring onion. *Journal of plant nutrition*. **29**(10): 1767- 1778.
- Günay, A., 2005, *Sebze yetiştiriciliği*, cilt II, Nadir Kitap Evi, ISBN.975-00725-2-9, İzmir,403-417.
- Güneş, H., Demir, S., Melik, A., 2015. *Brassicaceae, Chenopodiaceae ve Urticaceae familyalarına ait bazı bitkilerin arbusküler mikorhizal fungus (AMF)’la ilişkisi*. (Lisans Tezi). Y.Y.Ü. Ziraat Fakültesi, Van.
- Güneş, H., 2018. *Brassicaceae, Chenopodiaceae, Urticaceae Familyalarına Ait Bazı Bitkilerin Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rhizobakterler’le İlişkisi* (Yayınlanmamış yüksek lisans tezi). Y.Y.Ü. Ziraat Fakültesi, Van.

- Harman, G. E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M., 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, **2**: 43-56.
- Harman, G. E., 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, **96**:190-194.
- Harman G. E., 2011. *Trichoderma*- not just for biocontrol anymore. **Phytoparasitica**, **39**: 103-108.
- Hartman, G. L. and L. E. Datnoff. 1997. Vegetable Crops. In: Soilborne Diseases of TropicalCrops. P: 151-170 Ed.: **CAB International, Wallingford, Oxon.**
- Havey, M.J., 1995. *Fusarium* basal plate rot. In, “**Compendium of Onion and Garlic Diseases**”, (eds, Schwartz, H.F. and Mohan, S.K.), APS Press, St., Paul, Minnesota, U.S.A., pp. 10-11.
- Hayman, D., Mosse, B., 1972. Plant growth to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labille P from soil, **New Phytol**, **71**: 41- 47.
- Hijri I, Sýkorová Z, Oehl F, Ineichen K, Mäder P, Wiemken A, Redecker D Mol Ecol. (2006). Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. **July**, **15**(8):2277-89.
- Hodge, A., 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. **FEMS Microbiology Ecology**, **32**: 91-96.
- İren, S., Maden, S., Katircioğlu, Y.Z., Erzurum, K., 1988. *Trichoderma* species determined in Turkey. **The Journal of Turkish Phytopathology**, **17**(3): 107.
- Jenkins, S. F., & Wehner, T.C. (1983). Occurrence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* on greenhouse-grown *Cucumis sativus* seed stocks in North Carolina. **Plant Disease**, **67**: 1024-1025.
- Johansen, A., Jacobsen, I., Jensen, E.S., 1994. Hyphal N Transport by a Vesicular - Arbuscular Mycorrhizal Fungus Associated With Cucumber Grown of Three Nitrogen Levels. **Plant and Soil**, **160**: 1-9.
- Johnson L.F., E.C. Berrand & P. Qan. (1987). Isolation of *Trichoderma* spp at low temperatures from Tennessee and Alaska soils. **Plant Disease**, **71**: 137-140.
- Kacar, B., 1984. **Bitki Besleme Uygulama Klavuzu**. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 900 Uygulama Klavuzları: 214.
- Kara Ö. ve Tilki F., 2001. Mikoriza ve Ormancılıkta Kullanımı. **İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi**, **51**(1): pp. 127-139.
- Karaarslan, E., 2012. Doğal Yollarla Organik Madde Kazandırılmış Kum Ortamında Yetiştirilen Soğan (*Allium cepa* L.) Bitkisine Aşıl原因an Beş Farklı Mikoriza Sporunun İnfeksiyon Oranlarının Belirlenmesi. **Selçuk Üniversitesi Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi**, **26** (2): 46-54.
- Karaca, İ., 1968. **Sistemik Bitki Hastalıkları, Cilt 3 "Ascomycetes"**. E.Ü.Ziraat Fakültesi Yayınları, 217, Bornova, İzmir.
- Karagiannidis, N., Bletsos, F. and Stavropoulos, N., 2002. Effect of *Verticillium* Wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and Mycorrhizae (*Glomus mosseae*) on Root Colonization, Growth and Nutrient Uptake in Tomato and Eggplant Seedlings. **Scientia Horticulture**, **94**:145-156.
- Karman, M., 1971. **Bitki koruma araştırmalarında genel bilgiler. Denemelerin kuruluşu ve değerlendirme esasları**. Bornova-İzmir, 279s.
- Kendrick, B., 1992. **The Fifth Kingdom. Mycologia Publications**, 379 pp.

- Koç M (2007). *Tekirdağ İli Soğan Üretim Alanlarında Görülen Dip Çürüklüğü Hastalığı Yönünden Toprak Fungistasisinin Belirlenmesi*. Master Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye.
- Kodama, F., 1983. Studies on basal rot of onion caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and its control. *Review of Plant Pathology*, **62**: 45-62.
- Koide, R. T., Mosse, B., 2004. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*, **14**(3): 145-163.
- Köycü, N.D., Özer, N., 1997. Determination of seed-borne fungi in onion and their transmission to onion sets. *Phytoparasitica*, **25**: 25-31.
- Kredics, L., Z. Antal, L.Manczinger, A. Szekeres, F. Kevei, and E.Nagy., 2003 *Trichoderma* strains with biocontrol potential, *Food Technol. Biotechnol.* **41**(1): 37-42.
- Kubicek CP, Herrera-estrella A, Seidl-Seiboth V, Martinez DA, Druzhinina IS, Thon M, Zeilinger S, Casas-Flores S, Horwitz BA. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biol.*, **12** (4): 40 p.
- Lacy, M.L., & Roberts, D.L. (1982). Yield of onion cultivars in Midwestern organic soils infested with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and *Pyrenochaeta terrestris*. *Plant Disease*, **66**: 1003-1006.
- Larger, S., 2011. *Survey of Fusarium species on yellow onion (Allium cepae) on Öland. Second cycle, A2E. Uppsala: SLU, Dept. of Forest Mycology and Plant Pathology*. Master thesis, Biology and Agronomy program, 30 hp.
- Li, X. L., Marschner, H. and George, E., 1991. Extension of the Phosphorus Depletion Zone in VA Mycorrhizal White Clover in a Calcareous Soil. *Plant and Soil*, **135**, p: 41 - 48.
- Linderman, R. G., 1992. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae and soil microbial interactions. *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*, **54**: 45-71.
- Linderman, R.G., 1996. Role of VAM fungi in Biocontrol. In: *Mycorrhizae and Plant Health*. Ed. Pflieger, F.L. and Linderman R.G. Symposium Series, APS Press, 1-25 p.
- Marschner, H., 1995. *Mycorrhizas, Mineral Nutrition of Higher Plants* (Second Edition) Academic Press. 566-595.
- Martin, F., Slotter, H., 2007. An evolving host for mycorrhizal research, *New Phytologist*, **174** (2): 225-228.
- Mckenzie, J. D. & R. Goldman., 2005. *The Student Guide to MINITAB Release 14 Manual. Pearson Education*, Boston, MA.
- Morandi, D., 1996. Occurrence of Phytoalexins and Phenolic Compounds in Endomycorrhizal Interactions and Their Potential Role in Biological Control. *Plant and Soil*, **2**: 241 - 251.
- Ocak, E., Demir, S., 2012. Toprak verimliliği ve bitki gelişiminde peyniraltı suyu ve Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF)'ün önemi, *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi*, **22**(1): 48-55.
- Ortas, 2002. *Do Plants Depend on Mycorrhizae In Terms of Nutrient Requirement International Conference on Sustainable Land Use and Management*, Çanakkale.
- Özer N., 1995. Soğan yumrusu üzerinde gelişen fungal etmenlerin tespiti ve kimyasal savaşım olanakları üzerine bir araştırma. *Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları*, **226**, 34s, Tekirdağ.
- Özer N., Koç M., Der B., 2009. The sensitivity of *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum* f sp *cepae* to fungistasis in onion growing soils, *Journal Of Plant Pathology*, **91**: pp. 401-410.

- Özgönen, H., Biçici, M., Erkiş, A., 1999. The effect of salicylic acid and endomycorrhizal fungus *Glomus etunicatum* on plant development of tomatoes and *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **25**: 25-29.
- Öztürk, N., Basım, E., Basım, H., 2017. Tarımda Mikorizal Fungusların Etkinliği. **Mantar Dergisi/ The Journal of Fungus**, **8**(1): 20-34.
- Peterson, R.L., Farquhar, M.L., 1994. Mycorrhizas-integrated development between root and fungi, **Mycologia**, **86** (3): 311-326.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved Procedure for Cleaning Roots and Staining Parasitic and Vesicular - Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, **55**: 158-161.
- Pozo, M.J., Azcon-Aguilar, C., Dumas-Gaudot, E. and Barea, J.M., 1999. β -1,3-Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. **Plant Science**, **141**: 149-157.
- Rafika SB, Mejda DR, Mohamed BK, Hatem C (2006). Onion storage ability and an inventory of onion post-harvest fungi in Tunisia. **Tropical Science**, **46**: 105-112.
- Rajendran K, Ranganathan K, (1996). Biological control of onion basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*) by combined application of fungal and bacterial antagonists. **Journal of Biological Control**, **10**: 97-102.
- Réczey, K., Szengyel, R., Zacchi, G., 1996. Cellulase production by *T. reesei*. **Bioresource Technology**, **57**: 25-30.
- Rhodes, L.H., 1980. The use of Mycorrhizae in Crop Production systems. **Outlook on Agriculture**, **10**(6): 275 - 281.
- Ross, J.P. and J.A. Harper., 1970. Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yields. **Phytopathology**, **60**: 1.552-1.556.
- Samuels, G.J., 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, **96**(2): 195-206.
- Sastry, M.S.R., Sharma, A.K., Johri, B.N., 2000. Effect of an AM fungal consortium and *Pseudomonas* on the growth and nutrient uptake of Eucalyptus hybrid. **Mycorrhiza**, **10**: 55-61.
- Schönbeck F., 1980. **Endomycorrhiza in Relation to Plant Disease**. In: Soil-borne Pathogens Schippers B and Gams W (eds). Academic Press, New York. pp.271-280.
- Schwartz, H.F., & Mohan, S.K. (1995). **Compendium of Onion and Garlic Diseases**. The American Phytopathological Society. APS press, Minnesota. USA. 54 pp.
- Sharif M, Moawad AM (2006). Arbuscular Mycorrhizal Incidence and Infectivity of Crops in North West Frontier Province of Pakistan. **World Journal Agriculture Science**, **2**(2): 123-132.
- Shi M, Chen L, Wang XW, Zhang T, Zhao PB, Song XY, Sun CY, Chen XL, Zhou BC, Zhang YZ (2012). Antimicrobial peptides from *Trichoderma pseudokoningii* induce cell death in fungal pathogens. **Microbiol**, **158**: 166-175.
- Shrestha, H., 2007. **A Plant Monograph on Onion (*Allium cepa* L.)**. The School of Pharmaceutical and Biomedical Sciences Pokhara University Simalchaur, Pokhara, Nepal, 6s.
- Sieverding, E., 1991. **Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae Management in Tropical Agrosystems**. Technical Cooperation. Federal Republic of Germany 372 pp.

- Sing, S.R., Ummed, S., Ak, C., M₁, B., 2010. Mycorrhizal fungi for sustainable agriculture-a review. *Agricultural Reviews*, **31**(2): 93-104.
- Singleton, L.L., J.D. Mihail ve C.M. Rush., 1992. *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Press, 265pp.
- Sivan, A. ve Chet, I. (1986). Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *T. harzianum*. *Phytopathology*, **116**: 39-47.
- Smith, S.E., Robson, A.D. and Abott, L.K., 1992. The Involvement of mycorrhizas in assement of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use. *Plant and Soil*, **146**: 169-172.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3 th Ed., Academic Press. 800.
- Sosa-Rorriguez, T., Decklerck, S., Granet, F., Gaurel S., Van Damme, E.J.M., Boulois, H.D., 2013. Hevea brasiliensis and Urtica dioica, impact the in vitro mycorrhization of neighbouring Medicago truncatula seedlings. *Symbiosis Journal*, **60**: 123-132.
- Soran, H., 1978. Ankara, Edirne, Sakarya illerinde kavun solgunluk hastalığı etmenlerinin tesbiti üzerinde araştırmalar. *TÜBİTAK VI. Bilim Kongresi*, Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu Tebliğleri (Bitki Koruma Seksiyonu), 17-21 Ekim 1977, Ankara,407.
- Srivastava, K.J., Qadri, S.M.H., 1984. Some studies of damping-off disease of onion (*Allium cepa* L.). *Indian Botanical Reporter*, **3**: 147-148.
- Srivastava, D., Kapoor, R., Srivastava, S. K., Mukerji, K. G., 1996. Vesicular arbuscular mycorrhiza-an overview. *Concepts in Mycorrhizal Research*. 1-39 p.
- Stadnik, M.J., Dehingra, O.D., 1995. Reaction of onion seed and seedlings to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and its relation to bulb basal rot. *Fitopatologia Brasileira*, **20**: 429-433.
- Strack, D., Fester, T., Hause, B., Schliemann, W., Walter, M.W., Walter, M.W., 2003. Arbuscular mycorrhiza: biological, chemical and molecular aspects. *Journal of Chemical Ecology*, **(29)**: 1955-1979.
- Szekeres A, Leigteb B, Kredics L, Antal Z, Hatvan L, Manczinger L, Vagvolgyi C (2005). Peptaibols and related peptaibiotics of *Trichoderma*. Review. *Acta Microbiol Immunol Hung*, **52**: 137-168.
- Şavur, O. B., Demir, S., 2013. *Domates Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğü Hastalığına (Fusarium oxysporum f.sp. radicis- lycopersici Jarvis & Shoemaker) Karşı Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) ve Salisilik Asit Uygulamalarının Domates (Lycopersicon esculentum L.)'in Bazı Gelişim ve Verim Parametreleri İle Hastalık Şiddetine Etkisi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Y.Y.Ü. Ziraat Fakültesi, Van.
- Şensoy, S., Demir, S., Turkmen, Ö., Erdinc, Ç., Savur, O.B., 2007. Responses of some different pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*, **113**: 92-95.
- Tahvonen, R. (1981) Storage of onion and their control. *Journal of the scientific agricultural society of Finland*, **52**: 27-41.
- Turak, S., 1997. Erzincan ili fasulye ekim alanlarında kök çürüklüğü oluşturan fungal etmenlerin belirlenmesi ve bunların bazı fasulye çeşitlerinde patojeniteleri ile antagonist *Trichoderma* türleri ile etkileşimlerinin incelenmesi. www.erkincanbk.gov.tr/sb32.htm (Erişim tarihi: 01.05.2015).
- Turhan, G., 1973. Fungi isolated from the roots of diseased vegetable seedlings. *Journal of Turkish Phytopathology*, **2**: 100-112.
- Turhan, P., Demir, S., 2013. Çilekte siyah kök çürüklüğü (*Rhizoctonia solani* Kühn.) hastalığına karşı bazı biyolojik mücadele elemanlarının etkileri. *Türk. biyo. мүc. derg.*, **4**(2): 125-140.

- Tushar, K., Satish, B., 2013. Incidences of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)'in urban farming of mumbai and subursbs, india. *International Research Journal of Environment Sciences*, **2**(1): 12-18.
- Türkkan, M., Karaca, G. (2006). Amasya İli Soğan Ekiliş Alanlarında Bulunan Fungal Kök Çürüklüğü Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, **12**(4): 357-363.
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ. (2000). *Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme)*. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 440s. 2009;6(1):91-101.
- Yamaguchi, M., 1983, **World Vegetables, Department of Vegetables Crops University of California at Davis**, California, 184-195.
- Yıldız, A., 2009. Mikoriza ve Arbüsküler Mikoriza Bitki Sağlığı İlişkileri. *ADÜ Ziraat Fakültesi dergisi*, **6**(1): 91-101.
- Yogendra, S., Verma, R.K., Jamaluddin., 2003. *Indion Journal of Tropikal Biodiversity*, **11**(1-2): 74-84s.
- Quilambo, O. A., 2003. The Vesicular- arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal of Biotechnolog*, **2**(12): 539-546.
- Zhang, Z., Zhang, J., Wang, Y., & Zheng, X. (2005). Molecular detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* and *Mycosphaerella melonis* in infected plant tissues and soil. *FEMS Microbiology Letters*, **249**: 39-47.
- Woo SL, Ruocco M, Vinale F, Nigro M, Marra R, Lombardi N, Pascale A, Lanzuise S, Manganiello G, Lorito M (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycol J*, **8**(4): 71-126.



ÖZ GEÇMİŞ

Abdulaziz YAĞMUR, 1989 yılında Diyarbakır merkezde dünyaya geldi. İlköğrenim, ortaöğrenim ve liseyi Diyarbakır Fatih Lisesi'nde okudu. 2007 yılında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünü kazandı ve 2012 yılında aynı fakülteden mezun oldu. 2016 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisansa başladı. 2013 yılında Tarım ve Orman Bakanlığı'nda göreve başladı. 2015 yılından itibaren Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Bitki Hastalıkları Bölümü'nde görev yapmaktadır.



T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 27/06/2019

Tez Başlığı / Konusu: Soğanda Dip Çürüklüğü Hastalığına (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (W.C. Snyder & H.N. Hansen) Karşı Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) ve *Trichoderma harzianum* Rifai'un etkilerinin belirlenmesi

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 89 (Seksek dokuz) sayfalık kısmına ilişkin, 27/06/2019 tarihinde şahsım tarafından intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 16 (Onaltı) dır.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

27.06.2019



Adı Soyadı: Abdulaziz YAĞMUR

Öğrenci No: 149101137

Anabilim Dalı: Bitki Koruma

Programı: Tezli

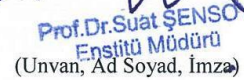
Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR


Prof. Dr. Semra DEMİR

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR


Prof. Dr. Suat ŞENSOY
Enstitü Müdürü
(Unvan, Ad Soyad, İmza)