



**BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILAN
TRICHODERMA HARZIANUM'UN UZUN ÖMÜRLÜ
TAŞIYICILARININ BELİRLENMESİ**

Yasemin Esra KARA

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Elif TOZLU

Bitki Koruma AnaBilim Dalı

2023

(Her Hakkı Saklıdır)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

**BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILAN TRICHODERMA HARZIANUM'UN
UZUN ÖMÜRLÜ TAŞIYICILARININ BELİRLENMESİ**

Determination of long lasting carriers for *Trichoderma harzianum* used in biological control

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin Esra KARA

Danışman: Doç. Dr. Elif TOZLU

Erzurum
Mayıs, 2023

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Yasemin Esra KARA tarafından hazırlanan “**Biyolojik Mücadelede Kullanılan *Trichoderma harzianum*’un Uzun Ömürlü Taşıyıcılarının Belirlenmesi**” başlıklı çalışması 02/05/2023 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Fitopatoloji Bilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Recep KOTAN	Aslı Islak İmzalıdır
	<i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Danışman:	Doç. Dr. Elif TOZLU	Aslı Islak İmzalıdır
	<i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ	Aslı Islak İmzalıdır
	<i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) Lisansüstü Tez Projelei (LÜTP) kapsamında desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, tablo, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Doç. Dr. Elif TOZLU danışmanlığında sunulan “**Biyolojik Mücadelede Kullanılan *Trichoderma harzianum*’un Uzun Ömürlü Taşıyıcılarının Belirlenmesi**” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	24	30
Kuramsal Temeller	1	30
Materyal ve Yöntem	33	35
Bulgular	11	20
Tartışma	16	20
Tezin Geneli	22	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5’den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Yasemin Esra KARA	Doç. Dr. Elif TOZLU
04.05.2023	04.05.2023
İmza:	İmza:
Aslı Islak İmzalıdır	Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var - ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca derslerimin ve çalışmalarımın tüm aşamalarını takip edip yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif TOZLU'ya, değerli fikirlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Recep KOTAN'a, Doç. Dr. Fatih DADAŞOĞLU'na, sağladığı idari kolaylıktan dolayı Bitki Koruma Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Göksel TOZLU'ya, bu süreçte maddi-manevi destekleri ile sabır ve anlayışlarından dolayı aileme, tez yazım aşamasında kıymetli bilgilerinden yararlandığım sevgili babam Doç. Dr. Abdurrahman KARA'ya, beni her zaman motive eden sevgili annem Mukaddes KARA'ya ve çalışmamı destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Yasemin Esra KARA

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILAN TRICHODERMA HARZIANUM'UN UZUN ÖMÜRLÜ TAŞIYICILARININ BELİRLENMESİ

Yasemin Esra KARA

Danışman: Doç. Dr. Elif TOZLU

Amaç: Zirai mücadelede kullanılan kimyasalların doğaya ve insan sağlığına olumsuz etkileri ve zamanla gelişen dayanıklılık sorunları bilim insanlarını alternatif mücadele yöntemleri üzerinde çalışmaya yöneltmiştir. Bu yöntemler içerisinde önemli bir yere sahip olan biyolojik mücadelede funguslar özellikle de *Trichoderma*'lar çok önemli bir yer tutmakta ve ticari ürün olarak ruhsatlandırılarak tarım alanlarında etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, daha önceki çalışmalarda farklı patojenlere karşı etkili olduğu tespit edilmiş olan ET 4 ve ET 14 *Trichoderma harzianum* izolatlarının ruhsatlandırılabilmesi ve sanayide büyük miktarlarda üretilmesine imkan sağlayabilmek için uzun raf ömrüne sahip taşıyıcıların tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: ET 4 ve ET 14 izolatlarının başlangıçta *Alternaria solani*'nin ET 66 izolatına karşı etkililiği in vitro ve in vivo şartlarda test edilerek teyit edilmiştir. Daha sonra patates dekstrozu agarda (PDA) geliştirilen fungus izolatlarının sporları taşıyıcı formülasyon olarak hazırlanan 5 farklı sıvı ortama (soya yağı, neem yağı, kanola yağı, parafin yağı ve gliserin) aktarılarak 10 ay boyunca oda sıcaklığı ve buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Formülasyonlardan aylık olarak alınan numunelerden PDA'ya ekim yapılarak biyoajan fungusun canlılık testleri yapılmıştır. Ayrıca onuncu ayın sonunda biyoajan fungal izolatların etkinliği patojen fungusa karşı hem in vitro hem de in vivo ortamda test edilmiştir.

Bulgular: Beş farklı biyoformülasyonda on ay boyunca yapılan aylık canlılık test sonuçlarına göre tüm taşıyıcılarda biyoajan fungusun canlılığını 10. Ayın sonunda da koruduğu tespit edilmiştir. Raf ömrü çalışması sonucunda en uygun taşıyıcının neem yağı olduğu ve 10. ayın sonunda da biyoajan gelişiminin çok yoğun gözlemlendiği tespit edilmiştir. Biyoajan gelişimi in vitroda %37.85 ile %52.33 arasında in vivo ise %14.26 ile %3.95 arasında değişmiştir.

Sonuç: Yapılan bu çalışma ile; başta neem yağı olmak üzere parafin ve gliserinin *T. harzianum* biyoajan fungusu için iyi birer taşıyıcı olduğu, yapılacak ileri çalışmalarla raf ömrünün daha da uzatılabileceği, toksikolojik ve ekotoksikolojik çalışmaların sonucunda biyopestisit olarak ruhsatlandırılabilmesi sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik Kontrol, *Trichoderma harzianum*, Sıvı taşıyıcı

Mayıs 2023, 61 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF LONG LASTING CARRIERS FOR *TRICHODERMA HARZIANUM* USED IN BIOLOGICAL CONTROL

Yasemin Esra KARA

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elif TOZLU

Aim: Negative effects of the plant protection chemicals on environment and human health have led scientists to research alternative control methods. Fungi, especially *Trichoderma* have an important place in biological control, one of the most common alternative methods. Licensed as an agricultural product, it has been effectively used in agricultural lands. In this study, it was aimed to determine long lasting carriers of the ET 4 and ET 14 *Trichoderma harzianum* isolates, proven to be effective against different pathogens in previous studies, to allow licensing for their commercial and mass production in the industry.

Materials and Methods: The efficacy of ET 4 and ET 14 isolates against ET 66 isolate of *Alternaria solani* was initially confirmed by testing in vitro and in vivo conditions. Then, spores of the fungus isolates developed on potato dextrose agar (PDA) were transferred to five different liquid media (soybean oil, neem oil, canola oil, paraffin oil and glycerine) prepared as the carrier formulations. They were kept at room and refrigerator temperatures for 10 months. The viability tests of the bioagent fungus were performed by sowing into PDA from the monthly samples taken from the formulations. In addition, at the end of the tenth month, the efficacy of the bioagent fungal isolates were tested against the pathogenic fungus both in vitro and in vivo conditions.

Results: Even though the most successful carrier was neem oil with a very intense bioagent development, the bioagent fungus maintained its viability in all carriers even at the end of the 10th month, with percent inhibition rates varying between 37.85% and 52.33% in vitro and between 14.26% and 3.95% in vivo conditions.

Conclusion: It was concluded that paraffin, glycerin and especially neem oil were good carriers for the *T. harzianum* bioagent fungus, that the shelf life could be extended even more with further studies, and that it could be licensed as a biopesticide after toxicological and ecotoxicological evaluations.

Keywords: Biological control, *Trichoderma harzianum*, liquid carrier

May 2023, 61 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	5
MATERYAL ve METOT	9
Materyal	9
Yararlanılan cihazlar	9
Çalışmada kullanılan besi ortamları, yağlar ve çözeltilerin hazırlanışı	9
Çalışmada kullanılan biyoajan ve patojen fungus izolatları	10
Metot	10
Saksı denemeleri	11
Sonuçların değerlendirilmesi	12
Sonuçların Analiz Edilmesi.....	12
Taşıyıcı ortamın belirlenmesi.....	13
ARAŞTIRMA BULGULARI	16
TARTIŞMA ve SONUÇ	43
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	50

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 İzolatları	10
Tablo 2. Çalışma Planı.....	14
Tablo 3. In vitro Şartlarda <i>Alternaria solani</i> 'nin ET 66 İzolatına Karşı Test Edilen <i>Trichoderma harzianum</i> 'un ET 4 ve ET 14 İzolatlarının Yüzde Engelleme Oranları	16
Tablo 4. In vivo şartlarda <i>Alternaria solani</i> 'nin ET 66 izolatına karşı <i>Trichoderma</i> <i>harzianum</i> 'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının etkisi	17
Tablo 5. ET 4 ve ET 14 Biyoajan Formülasyonların Aylık Canlılık Test Sonuçları	18
Tablo 6. Uzun Süreli Taşıyıcı Ortamda Muhafaza Edilen <i>Trichoderma harzianum</i> 'un ET 4 ve ET 14 İzolatlarının in Vitro Şartlarda <i>Alternaria solani</i> 'nin ET 66 İzolatına Karşı Yüzde Engelleme Oranları	38
Tablo 7. In vivo Şartlarda <i>Alternaria solani</i> 'nin ET 66 İzolatına Karşı <i>Trichoderma</i> <i>harzianum</i> 'un ET 4 ve ET 14 İzolatlarının Etkisi	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamında gelişimi.....	10
Şekil 2. Patojen fungus <i>Alternaria solani</i> miselinin radyal gelişiminin ölçülmesi.....	11
Şekil 3. Taşıyıcıların oluşturulması a) taşıyıcı ortamlar, b) taşıyıcı ortamların hazırlanması, c) steril edilmesi, d) konidilerin karıştırıcıda homojenize edilmesi, e) taşıyıcı ortamların +4 °C'de muhafaza edilmesi, f) taşıyıcı ortamların oda sıcaklığında muhafaza edilmesi.....	13
Şekil 4. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 (a) ve ET 14 (b) izolatlarının <i>Alternaria solani</i> ET 66 izolatının gelişimi üzerine etkisi.....	16
Şekil 5. Saksı denemeleri	17
Şekil 6. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 izolatlarının 1. ay canlılık testleri	19
Şekil 7. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 2. ay canlılık testleri ...	21
Şekil 8. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 3. ay canlılık testleri ...	23
Şekil 9. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 4. ay canlılık testleri ...	25
Şekil 10. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 5. ay canlılık testleri .	27
Şekil 11. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 6. ay canlılık testleri .	29
Şekil 12. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 7. ay canlılık testleri .	31
Şekil 13. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 8. ay canlılık testleri .	33
Şekil 14. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 9. ay canlılık testleri .	34
Şekil 15. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 10. ay canlılık testleri.....	36
Şekil 16. <i>Trichoderma harzianum</i> ET 4 ve ET 14 izolatlarının in vitro şartlarda <i>Alternaria solani</i> (ET66) gelişimi üzerine etkisi	39
Şekil 17. In vivo şartlarda <i>Alternaria solani</i> 'nin ET 66 izolatına karşı <i>Trichoderma harzianum</i> 'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının etkisi	42

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
da	Dekar
dH ₂ O	Distile su
dk	Dakika
g	Gram
HR	Hypersensitive Reaction
kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
LB	Luria Broth
mg	Miligram
MIS	Microbial Identification System
ml	Mililitre
N	Azot
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
P	Fosfat
PDA	Potato Dextrose Agar
sa	Saat
sdH ₂ O	Steril ve distil su
sH ₂ O	Steril su
sn	Saniye
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

GİRİŞ

İnsanoğlunun yeryüzündeki yaşamını sürdürebilmesi için tarım zorunlu bir üretim faaliyetidir. Bu faaliyetler içerisinde yer alan bitkisel üretim önemli bir unsurdur. Hastalık, yabancı ot ve zararlılar bitkisel üretimi kısıtlayan faktörlerdendir. Bilim insanları hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadele için çok sayıda yöntem geliştirmeye çalışmışlardır. Kontrol amaçlı kullanılan bu yöntemler teknolojiye, üretim şartlarına ve üreticilerin imkanlarına bağlı olarak değişiklik göstermiştir. 20. yüzyılın başından itibaren endüstriyel tarımın yaygınlaşmasıyla tarımsal üretimde ekonomik kayıplara sebep olan etmenlere karşı uygulanan mücadele faaliyetlerinin önemi artmıştır. Bu dönemde dünya nüfusunun beslenmesine yetecek miktarda üretimi gerçekleştirmek için verim artışına katkı sağlayacak her türlü teknik ve teknoloji imkanlarının kullanılması ve yaygınlaştırılması temel anlayış olmuştur. (Yıldırım, 2012)

Özellikle ikinci dünya savaşından sonra çok sayıda yeni pestisit devreye sokulması ile dünyada pestisit kullanımı yaygınlaşmıştır. Kimyasal mücadele amacıyla yapılan çalışmalar, 1940'lı yıllarda sentetik pestisitlerin bulunması ile hızla artış göstermiş, hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadelede tek alternatif olarak görülmüş, 1950'li yıllara kadar da uzun süreli olumsuz etkileri fark edilememiştir. 1962 yılında Rachel Carson tarafından “Sessiz İlkbahar” (Silent Spring) isimli kitapta kimyasalların uzun sürede çevreye olan geri dönülemez olumsuz etkileri anlatılmıştır. Bu kitabın içeriğinde araştırmacılara (biyolog, ekolog vb.) ve çevrecilere çok önemli mesajlar verilmiş, bundan sonra da bu konudaki çalışmalar hızla devam etmiştir (Carson, 1962).

DDT 1940'lı yıllarda keşfedilmiş, onun keşfinden önceki dönemde zararlılar tarafından üründe meydana gelen kaybın dünya ortalaması %7 iken, 1980'lerin sonuna doğru bu kayıp %13'e yükselmiştir (Erzincanlı, 2021). Keşfinden sonraki dönemde ise, doğal düşmanların da kullanılan ilaçla ölmesi sonucu doğal denge bozulmuş, daha önce potansiyel zararlı durumunda olanlar ana zararlı durumuna geçerek ekonomik kayıplar oluşturmışlardır. Zararlılarda ilaçlara karşı dayanıklılığın artması ile ürün kaybında da artış meydana gelmiş, buna paralel olarak da aynı dönem içerisinde ilaç kullanımında 12 katlık artış meydana gelmiştir (Poppy, 1997). Bunlara ilaçların insan ve hayvan sağlığının tehdit etmesi, gıda maddelerindeki ilaç kalıntıları, çevre kirlenmesi ve yüksek ilaç fiyatları da ilave olunca, kimyasal mücadeleye alternatif çevre dostu ve daha ucuz mücadele yöntemlerine geçilmesi zorunlu hale gelmiştir (Kotan, 2020). Çevre bilincinin artması ve doğada yararlanılabilecek canlıların varlığı nedeniyle “**Biyolojik Mücadele**” gibi insan ve çevre sağlığına herhangi bir zararı olmayan mücadele yöntemlerine

yöneliş artmıştır (Lampkin, 1994). Biyolojik mücadele çalışmalarına yönelmenin sebepleri arasında, kimyasal mücadelenin olumsuz etkilerinden kurtulmanın yanı sıra doğada zararlıları yüksek oranda baskı altına alabilecek potansiyelde olan yararlı mikro ve makro organizmalardan yararlanılmak istenmesi ve doğadaki canlılar arasındaki dengenin korunmasının arzulanması yer almaktadır (Uygun ve ark., 2010).

Bu kapsamda uzun yıllar boyunca yapılan araştırmalar, fungusların doğada bulunan hastalık etmenleri, yabancı otlar ve zararlı popülasyonları üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermiştir (Eken ve Demirci, 1997). Günümüzde birçok biyolojik kontrol ajanı ruhsatlandırılmış ve bitkisel üretimde etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Avan ve Kotan, 2021). Bu ajanlar içinde Ascomycota alt bölümü, Hypocreales takımı ve Hypocephales familyasında yer alan *Trichoderma*'lar önemli bir yer tutmaktadır (Aydın, 2015).

Dünyanın her yerine yayılmış olan *Trichoderma* türleri, genelde doğal habitatlarda ve tüm topraklarda mevcuttur. Bu fungus türü bitkilerin kökleri, çürümüş kabukları, sklerotlar veya fungusların diğer üreme organlarının üzerinden izole edilebilmektedir (Papavizas, 1985). Ayrıca, *Trichoderma* türlerinin mikoparazitik etkileri ve oluşturdukları antibiyotiklerin etkili olması çalışmaların bu türler üzerinde yoğunlaşmasına sebep olmuştur. Bu fungusların antifungal etkisi ilk defa Weindling (1934, 1941) tarafından ortaya konulmuş ve günümüze kadar biyolojik mücadele potansiyeli farklı yönleriyle araştırılmıştır. Weindling, (1932), *Rhizoctonia solani*'ye karşı *Trichoderma viride*'nin antifungal aktivitesi ilk kaydolara verilmiştir. *T. viride* ve *T. harzianum* türleri ile 1980'li yıllara kadar in vitro şartlarda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bitki hastalıklarıyla biyolojik mücadelenin in vitro şartlardan arazide uygulama aşamasına geçmesi ve biyopreparat formülasyonlarının geliştirilmeye başlanması 1980'lerin sonlarına kadar devam etmiştir. Bu süreç içerisinde *Trichoderma* türleri, ilk başta toprak patojenlerine karşı kullanılmaya başlanmış ve günümüzde de oluşturulan biopreparatları çok sayıda patojene karşı tarımda kullanılır hale gelmiştir (Aydın, 2015).

Biyolojik ürünlerin etkinliklerinin yanı sıra raf ömürlerinin de uzun olması arzu edilmektedir. Bazı biyopestisitler ve diğer faydalı organizma bazlı formülasyonlardan laboratuvar koşullarında çok etkili sonuçlar alınmış, ancak in vivo çalışmalarında ve arazi koşullarında her zaman aynı başarı sağlanamamıştır. Bunun nedenleri, uygulamadan önce depolama sırasında ürünün zayıf stabilitesi, alan hedefine gerçekten ulaşan çok az aktif madde, kuruma nedeniyle kullanılan antagonistin ölümü, formülasyonun kontaminasyonu ve aktif maddenin hedef üzerinde hızlı bozulmasıdır. Formülasyon türü bu sorunların çözülmesine yardımcı olmakta ve bir formülasyonun tarlalarda dahi çok etkili hale getirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, su/yağ emülsiyonları, mikroorganizmaların sulu ortamlara

depolanması ve iletilmesi için umut verici, ancak yeterince kullanılmayan bir yöntem gibi görünmektedir. Su/yağ emülsiyonlarının diğer formülasyon yöntemlerine göre avantajlarından biri, yağın suyu organizmanın etrafında tutması ve uygulandığında suyun buharlaşmasını yavaşlatmasıdır. Bu durum özellikle kurumaya duyarlı organizmalar için fayda sağlamaktadır (Jean et al., 2006).

Kumar et al. (2014), ideal bir formülasyonun özelliklerini sıralarken uzun raf ömrü, kültürü yapılan bitkilere toksik etkilerinin olmaması, olumsuz çevre koşullarını tolere edebilme, düşük maliyetli ve bitki hastalıklarını güvenli bir şekilde kontrol etme, su içerisinde çözünbilme ve diğer bitki kimyasalları ile uyumlu olma gibi özellikler üzerinde durmaktadır.

Bu çalışma kapsamında da uzun raf ömrü sağlamak için sıvı taşıyıcı formülasyon imkanları araştırılan *T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının daha önce yapılan birçok çalışmada farklı patojenlere karşı etkililikleri test edilmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır (Tozlu et al., 2018a; Tozlu et al., 2018b; Çamlıca and Tozlu, 2019; Tekiner vd., 2019; Tekiner et al., 2020).

Ülkemizde tarımsal alanlarda biyolojik mücadelede yaygın şekilde kullanılan biyopreparatların tamamı ithaldir (Anonim, 2023). Genel olarak ithal ürünlerin yüksek maliyetli olması, sürdürülebilir kullanımı açısından tedarik edilme sürecinin uzaması, raf ömrü nedeniyle kısıtlı ithalat gibi olası aksaklıklar söz konusu ürünlerin yerli ve milli olarak üretilmesini anlamlı ve gerekli kılmaktadır.

Bitki hastalıkları önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Kayıpları önlemek amacıyla, kısa vadede hastalık etmenleri ile mücadelede kimyasalların kullanımı basit ve başarılı olmaktadır. Ancak, bunların uzun süreli kullanımları sonucu patojenler pestisitlere karşı direnç kazanmış ve kontrolleri güçleşmiştir. Ayrıca, ülkede yeni kullanılmaya başlayan pestisitlere karşı da çok çabuk direnç geliştirmeye başlamışlardır. Bunun yanı sıra, gereğinden fazla ilaçlama tarımsal üretim sistemlerinin sürdürülebilirliğini riske atmış, doğal kaynakların insan sağlığını tehdit eden boyutta bozulmasına ve kirlenmesine neden olmuş, toprakta kimyasalların birikmesi sonucu son yılların en önemli sorunlarından biri olan kalıntı problemi gündeme gelmeye başlamıştır. Özellikle yoğun tarım ilacının kullanıldığı alanlarda herbisitler başta olmak üzere birçok aktif maddenin topraktaki yararlı mikroorganizmalar üzerinde de olumsuz etkilerinin olduğu düşünülmekte olup bu olumsuz sonuçlar, yapılan laboratuvar testleri ile de ortaya konulmuştur (Kotan and Tozlu, 2021).

Bütün bu olumsuzluklar ve pestisitlerin çevreye ve insan sağlığına zararlı etkileri konvansiyonel tarımda çevre dostu mücadele uygulamalarına ilginin giderek artmasına neden olmuştur. Bu amaçla yapılan çalışmalarda, kültür bitkilerinde ürün kaybına neden olan

patojenlere karşı doğada mevcut yararlı organizmaların kullanılmasının hem çevre hem de insan sağlığı açısından önemli olduğunu ortaya koymuştur.

Bu çalışmanın temel amacı; son yıllarda fungal patojenlerle mücadelede çevre dostu olan biyolojik mücadele yöntemlerinin uygulanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda en fazla kullanılan ümitvar fungal biyoajan *T. harzianum* için taşıyıcı formülasyonlar geliştirmek ve raf ömrü daha uzun mikrobiyal ürün geliştirme çalışmalarına katkıda bulunmaktır.

Bu çalışma ile tarımda kullanım potansiyeli olan *T. harzianum* için raf ömrü uzun taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Geliştirilecek bu taşıyıcılar zamanla biyopestisit özelliği olan pek çok fungusun da formülasyon haline dönüştürülmesinde kullanılabilecektir. Formülasyon haline getirilen bu ürünler zaman içerisinde T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'nın ilgili yönetmelikleri doğrultusunda ruhsatlandırılabilir. Böylece, yerli fungus izolatlarından geliştirilebilecek olan ürünler sayesinde yurtdışından ithal edilerek tarımda kullanılan yabancı kaynaklı ürünlere olan talep ve döviz çıkışı azaltılabilecektir. Ayrıca, çevre dostu ürünlerin yaygın kullanılması sağlanacak ve tarımda kullanılan kimyasallardan kaynaklanan olumsuzlukların da önüne geçilmiş olacaktır.

KURAMSAL TEMELLER

Biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılan biyoajanların en önemli problemlerinden birisi raf ömürlerinin kısa olmasıdır. Bu nedenle ticari formülasyona dönüştürülmek istenilen biyoajanlar için en uygun taşıyıcıların hazırlanması ve bu taşıyıcıların raf ömrünün uzatılması büyük önem arz etmektedir (Kotan, 2020). Bu amaçla son zamanlarda hastalıkların kontrolünün yanı sıra raf ömrünün de artırılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Sınırlı sayıda yapılan bu çalışmalar sıvı ve katı formülasyonlar kullanılarak yürütülmüştür (Jayaraj et al., 2006; Khan et al., 2011; Mbarga et al., 2014; Ahamedemujtaba and Kulkarni, 2017).

Yapılan bir çalışmada; sıvı formülasyonun katı formülasyona kıyasla kuruma eğiliminden dolayı *T. harzianum*'un kurutulmuş konidial peletlerinin, *Rhizoctonia solani*'nin sklerotiyal çimlenmesini önlemede sıvı formülasyondan daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Cumagun and Ilag, 1998).

Prasad et al. (2002) yaptıkları çalışmada; katı ve sıvı fermantasyon yoluyla üretilen *T. harzianum*'un konidi ve kladidosporlarının toz formülasyonlarının biyoetkinlik ve raf ömrü açısından fark göstermediğini kaydetmişlerdir.

Taşıyıcı formülasyonların geliştirilebilmesi için yapılan bir çalışmada; *Pythium aphanidermatum*'un büyümesini engelleyen karbendazim dirençli *T. harzianum* M1 izolatının yedi farklı formülasyonunun (talk, linyit, linyit + uçucu kül bazlı toz formülasyonu, ıslanabilir toz, bentonit macunu, polietilen glikol-macun ve jelatin-gliserin-jel) raf ömrü, 24 °C'de dokuz ay değerlendirilmiştir. Propagül popülasyonu, üç aylık depolamaya kadar tüm formülasyonlarda optimum olmuş, *Trichoderma* formülasyonları ile yapılan tohum muamelesinde domateste patojenin etkisi %74'e kadar azaltılmıştır. Ayrıca sera ve tarla koşullarında bitki biyokütlesinin arttığı da tespit edilmiştir (Jayaraj et al., 2006).

Yapılan bir başka çalışmada; sükroz, melas ve gliserol gibi şekerlerle mikrokapsülasyonun, konidinin hayatta kalma yüzdesini önemli ölçüde ($P<0.05$) arttırdığı, konidinin %2 sükroz solüsyonu ile mikrokapsülasyonunun ise diğer sükroz konsantrasyonları ile karşılaştırıldığında en yüksek hayatta kalma yüzdesi sağladığı tespit edilmiştir (Jin and Custis, 2011).

Bir başka çalışmada; melas ve soya unu suyu ortam olarak kullanılarak, sıvı fermantasyon teknolojisi ile *T. viride* toplu miktarda üretilmiş, fungusun maksimum

biyokütlesi, 27°C’de pH 7.0, %40 çözünmüş oksijen ortamında karıştırma hızı ilk iki gün 250 rpm ve 3. gün 450 rpm olan 72 saatlik fermentasyondan sonra elde edilmiştir. Köpük önleyici madde olarak başlangıçta polietilen glikol (%10), daha sonra da üretim maliyetini azaltmak için onun yerine silikon kullanılmıştır. Hasattan sonra *T. viride* kütlesi, yağı alınmış hint keki, alçı, talk, vermikompost ve iyi ayrıştırılmış çiftlik gübresi içinde formüle edilmiş, ürünlerin raf ömrü 30°C’de incelenmiştir. Vermikompost, yağı alınmış hint keki ve çiftlik gübresi formülasyonları, depolamadan sonra alçıtaşı ve talk tozuna kıyasla sırasıyla 220, 190 ve 180 gün raf ömrünü korumuştur. Mevcut araştırmanın sonuçları, vermikompost, yağı alınmış hint keki ve çiftlik gübresi formülasyonlarının, bu biyokontrol ajanlarının pazarlanması için büyük bir avantaj olan *T. viride*’nin depolama sırasında büyümesini desteklediğini göstermiştir (Khan et al., 2011).

2011 yılında yapılan bir çalışmada; üretim ortamında bir ozmotik olan gliserol ilavesinin *T. harzianum*’un raf ömrü üzerindeki etkisi incelenmiştir. %3 veya %9 oranında gliserol ilavesinin ortamdaki su aktivitesini azalttığı gözlemlenmiştir. Hem çalkalayıcı kültürde hem de fermentörde, üretim ortamına %3 ve %6 oranında gliserol ilave edilmesinin talk formülasyonunun raf ömrünü uzattığı görülmüştür. Gliserol eklenmeden elde edilen formülasyonların 4-5 aylık raf ömürlerine kıyasla gliserol eklenen formülasyonlarda raf ömrünün 7-12 aya kadar uzadığı gözlemlenmiştir. Biyo-etkinlik testlerinde, 12 ay süreyle depolamadan sonra bile gliserol ilave edilen formülasyonların domates bitkilerinde sorun olan *Fusarium* solgunluğundan %44-50 oranında koruyabildiği tespit edilmiştir. Çalışmada, sıvı fermentasyonda üretilen fungal formülasyonların raf ömrünü artırmak için üretim ortamına ozmotikantların eklenmesinin kullanımı önerilmiştir (Sriram et al., 2011).

Yapılan başka bir çalışmada; biyopolimer matrislerde biyolojik kontrol ajanlarının spreyle kurutma yoluyla mikrokapsüllenmesinin daha uzun raf ömrüne sahip formülasyonlar üretmeye alternatif olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada, ortam olarak omaltodekstrin DE10 (MD10), maltodekstrin DE20 (MD20), arap zambkı (GA), ve MD10-GA’nın 1:1 oranında karışımı kullanılmıştır. Sprey kurutmalı *T. harzianum* konidinin canlılığı üzerindeki aktivasyon enerjisi (Ea) değerlendirilmiş, spreyle kurutmadan sonra (%86) ve 4°C’de 8 hafta depolamadan sonra %40 oranında en yüksek konidi canlılığı elde edilmiştir (Celaya et al., 2012).

T. harzianum konidilerinin kurutulması ve depolanması sırasında hücresel hasara neden olan termal stres ve dehidrasyon seviyelerinin (su aktivitesi, $a_w = 0.1-0.7$) sporların hayatta kalması üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, sıvı kültürde üretilen *T. harzianum* sporlarının, termal strese karşı oldukça hassas olduğu ancak, dehidrasyon seviyesi açısından değerlendirildiğinde, kuruma sırasında spor ölümüne etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Sandoval et al., 2012).

Bir başka çalışmada; kök büyümesini artırarak oradaki viridin, gleotoksin gibi enzimleri salgılayan bu nedenle de biyopestisit olarak çevre dostu hastalık yönetiminde önemli bir yere sahip olan *Trichoderma*'nın katı bazlı formülasyonunun, daha kısa raf ömrü ile ticari üretim için pratik olmadığı, sıvı *Trichoderma* formülasyonunun ise daha iyi raf ömrüne sahip olduğu ve alt kültürleme nedeniyle özelliklerini kaybetmediği, yüksek sıcaklıktan etkilenmediği, tipik fermente kokusuyla tanımlanabildiği, alt kültürlemede özelliğinin kaybolmadığı ve tohum ile toprakta daha iyi hayatta kalabildiği kaydedilmiştir (Hiralkar, 2012).

Trichoderma 'lar katı hal, sıvı hal fermentasyonundan elde edilen konidi ile stabil emülsiyon formülasyonunda bitkisel mineral yağların bir kombinasyonu ile karıştırılarak hazırlandığı bir çalışmada ise, mikrobiyal ajanlar, petrol fraksiyonu (dizel, mineral yağlar) ve bitkisel yağlar (yer fıstığı vb.) gibi suyla karışmayan çözücüler içinde süspanse edilmiştir. Bu emülsiyon konsantrelerin, suda seyreltildiğinde anında homojen bir emülsiyon oluşumu sağlamak için yüksek konsantrasyonda yağda çözünür bir emülsiyonlaştırıcı madde ile muamele edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Kumar et al., 2014). *Trichoderma* 'nın bu tür formülasyonları çalışmada yaprak spreyleri olarak kullanılmış, yağ bazlı formülasyonların kuru havada yaprak spreyleri için uygun ve uzun raf ömrüne sahip oldukları belirlenmiş, sporların kurumaya karşı 5 °C'yi koruyan yağla kaplandığında kuru havalarda bile bitki yüzeyinde daha uzun süre hayatta kalabildikleri kaydedilmiştir. Aynı çalışmada *Botrytis cinerea* 'nın neden olduğu elma hasat sonrası çürümesinin kontrolü için *T. harzianum* 'un bir emülsiyon formülasyonu geliştirilmiştir (Kumar et al., 2014).

T. viride 'nin canlılığının ve nem içeriğinin değerlendirilmesi için tebeşir tozu, talk tozu, kömür tozu, tebeşir tableti gibi yedi farklı taşıyıcı baz formülasyonu kullanılarak yapılan bir çalışmada, en iyi sonuç (80×10^7 cfu/g) %15 kömür tozunda kaydedilmiş, ardından kapsüller (78.67×10^7 cfu/g), 260 güne kadar depolamada etkili olmuştur (Baghel et al., 2014).

Üç farklı formülasyonun etkisinin kıyaslandığı bir başka çalışmada ise, *T. harzianum* 'un 199 kodlu izolatının katı, yarı katı ve sıvı formülasyonları *Tilletia laevi* 'in kontrolünde test edilmiş, katı formülasyonun enfeksiyonu (%39.07) azalttığı, verim ve verim bileşenlerinde yarı katı formülasyona göre daha iyi etki gösterdiği, ancak, sıvı formülasyonun kümelenme oranını (%25.31) arttırdığı, verim ve verim bileşenleri açısından da katı formülasyon ile hemen hemen aynı ve yarı katı formülasyondan ise daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir (Booshehri, 2014).

Kamerun'da yapılan bir çalışmada; ıslatılabilir toz halinde formüle edilen *Trichoderma asperellum* 'un *Phytophthora megakarya* 'ya karşı etkili olduğu, bununla birlikte, bu tip formülasyonla, raf ömrü ve konidilerin kapsüller üzerindeki kalıcılığının sınırlı olduğu, soya

fasulyesi yağı bazlı bir yağ dispersiyonunda ise konidilerin yarı ömrünün sulu süspansiyondaki 5 haftaya karşılık 22.5 haftaya ulaştığı tespit edilmiştir (Mbarga et al., 2014).

Sıvı kültür fermantasyonu kullanılarak *T. harzianum* T-22 izolatı üzerinde yapılan bir çalışmada ise; daha yüksek karbon konsantrasyonuna (36 g L⁻¹) sahip sıvı ortamın, test edilen tüm C:N oranlarında mikrosklerotia (MS) oluşumunu desteklediği, havada kurutulmuş MS granüllerinin (< %4 nem), soğuk ve soğutulmamış depolama koşullarında konidial üretimde kayıp olmadan mükemmel raf ömrünü koruduğu tespit edilmiştir (Kobori et al., 2015).

Yapılan bir başka çalışmada; *Botryotinia ricini* ve *Alternariaster helianthi*'ye karşı *T. harzianum* Th4dSC ve *T. asperellum* sıvı formülasyonlarının oda sıcaklığında saklandığında 540 günde 8,0 ila 7,4 log CFU'luk canlı spor sayıları ile iyi bir raf ömrü sağladığı ortaya konulmuştur (Navaneetha et al., 2015).

Batta (2005) tarafından yürütülen bir çalışmada ise; çeşitli yağlar (soya, hindistan cevizi, mısır) ile gliserin, distile steril su ve/veya suda çözünen mum kullanılarak %50-%50 su ve yağ fazları olarak ayrı ayrı hazırlanıp daha sonra su fazının yağ fazı üzerine eklenmesiyle elde edilen dokuz farklı formülasyonun elmada *B. cinera*'ya karşı etkinliği araştırılmış olup, suda çözünen mumun kullanıldığı formülasyonun 36 aya kadar raf ömrünün olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı formülasyonun yer fıstığında toprak kaynaklı hastalıklara karşı da etkili olduğu bildirilmiştir (Kumar et al. 2014).

Trichoderma'ların raf ömrünü uzatmak için kanola yağı, parafin yağı, soya fasulyesi yağı, neem yağı ve gliserol gibi yağlar ve bunların farklı kombinasyonlarının kullanıldığı bir çalışmada ise; $+3.00 \times 10^4$ Cfu / ml ve 2.00×10^4 Cfu / ml canlı konidi içeren gliserol bazlı formülasyon ve parafin yağı bazlı formülasyon, on iki aylık saklama süresinde en iyi raf ömrü sonuçlarını vermişlerdir (Ahamedemujtaba and Kulkarni, 2017).

MATERYAL ve METOT

Materyal

Yararlanılan cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır.

- Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)
- Derin dondurucu (Nuaire, U. S. A, -86 Ultralow Freezer, SN P07K-476316-PK)
- Hassas terazi (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42-90908239)
- Hematolojik çalkalayıcı (GERMANY, GEL-3025, SN 10365703 F)
- İklimlendirme odası (Digital ayarlanabilir oda)
- İnkübatör (Nüve, TÜRKİYE, ES 500, SN 03-0591)
- Magnetik karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE, MK-418, SN 05-1083)
- Mikroskop (Olympus, JAPAN, B x 50, ODO4368)
- Otoklav (Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)
- Otomatik pipetler (Eppendorf, GERMANY)
- Plastik petri kapları (90 mm, 60 mm)
- Saf su cihazı (Ateks, 7x35, Eu)
- Steril kabin (LABCAIRE)
- Sterilizatör (Nüve, TÜRKİYE, FN 500, SN 303-3051)
- Vorteks (Velp Scientifica)

Çalışmada kullanılan besi ortamları, yağlar ve çözeltilerin hazırlanışı

Araştırma süresince kullanılan ortamları ve çözeltilerin hazırlanışı detaylı olarak aşağıda verilmiştir:

PDA (Patates Dekstroz Agar): Hassas terazide 39 g PDA (Difco) tartılarak 1L dH₂O içerisine aktarılmış ve hazırlanan besi ortamı otoklavda 121°C’de 15 dk steril edilerek 45°C’ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (20 ml). Genel besi ortamı olup, fungusların geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

%70’lik Etil Alkol: 70 ml etil alkol, sdH₂O ile 100 ml’ye tamamlanarak solüsyon hazırlanmış ve hazırlanan solüsyon -20°C’de muhafaza edilmiştir. Dezenfektasyon amacı ile kullanılmıştır.

Soya Yağı: Soya bitkisinden elde edilmiş %100 soya yağı

Neem Yağı: Azadirachta Indica Cas no: 8002-65-1

Kanola Yağı: İçerisinde kanola yağı, hindistan cevizi yağı, hurma yağı, dimetil silikon bulunmaktadır.

Parafin Yağı: Gıda endüstrisi uyumlu parafin yağı kullanılmıştır.

Gliserin: 85%'lik glycerin kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan biyoajan ve patojen fungus izolatları

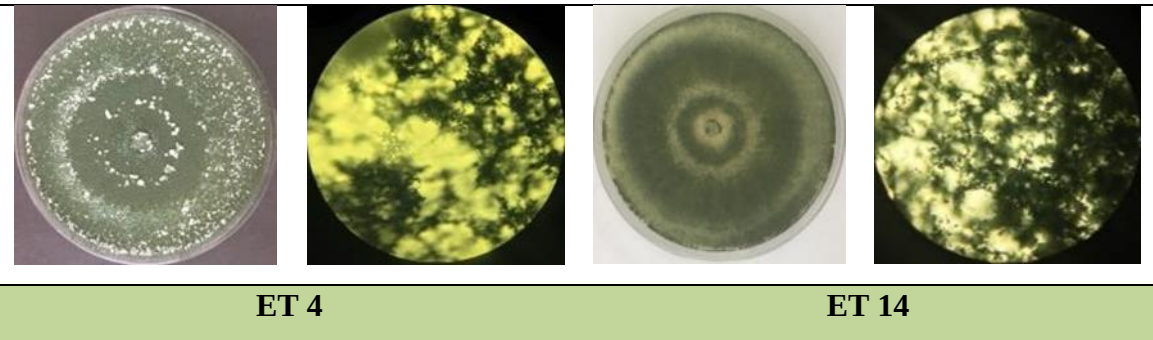
Çalışmada ET 4 ve ET 14 *Trichoderma harzianum* izolatları kullanılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 İzolatları

İzolat	İzole edildiği materyal	ITS tanı sonucu	B*	Erişim numarası**	Kaynak
ET4	At kestanesi	<i>Trichoderma harzianum</i>	87	KT897696	Tozlu et al. 2017
ET14	Sarı çam	<i>Trichoderma harzianum</i>	97	LN864822	Tozlu et al. 2017

B*: Benzerlik oranı, **GenBank

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Mikoloji Laboratuvarı buzdolabında +4 °C'de muhafaza edilen *T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarına ait kültürlerin 6 mm çapındaki misel diskleri Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamı içeren 9 cm çapındaki petrilere bistüri yardımı ile konularak 27 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen saf kültürler çalışmanın diğer aşamalarında kullanılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. *Trichoderma harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamında gelişimi

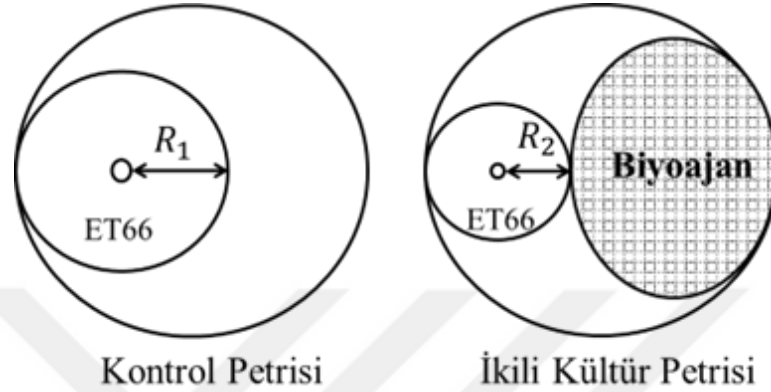
Metot

In vitro testler

Daha önce biyoajan olarak etkililiği birçok patojene karşı test edilmiş olan biyoajan fungus izolatları ET 4 ve ET 14'ün etkinlikleri patojen *Alternaria solani*'nin ET 66 izolatına karşı test edilmiştir. Bu amaçla, söz konusu biyoajan izolatların 6 mm çapındaki misel diskleri ile patojen fungus *A. solani*'nin ET 66 izolatı PDA içeren petrilere aralarında 5 cm uzaklık

olacak şekilde karşılıklı olacak şekilde yerleştirilmiş ve inkubasyona bırakılmıştır. Diğer yandan kontrol petriye ise yalnızca patojen fungus izolatu yerleştirilmiştir.

Hiperparazitik etkiyi belirlemek amacıyla kontrol petrideki patojenin yarıçapı (R_1) ile biyoajan ve patojen ekimi yapılan petrideki patojenin yarıçapı (R_2) ölçülerek Skidmore ve Dickinson (1976)'a göre radyal gelişimin yüzde engelleme oranları hesaplanmış (Şekil 2) ve böylece, biyoajan fungusların etkililikleri tekrar doğrulanmıştır.



Şekil 2. Patojen fungus *Alternaria solani* miselinin radyal gelişiminin ölçülmesi

$$\text{Yüzde Engelleme Oranı} = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) \times 100$$

R_1 = Kontrol petrideki patojen fungus miselinin yarıçapı

R_2 = İkili kültür petrideki patojen fungus miselinin yarıçapı (ET4 veya ET14 ve patojen fungus)

YEO $\leq$ %50 : Az

%50 < YEO $\leq$ 60 : Orta

%60 < YEO $\leq$ %75 : Yüksek

YEO > %75 : Çok yüksek

***In vivo* testler**

Saksı denemeleri

Saksı denemelerinde; organik madde yönünden zengin torf ve perlit eşit hacimlerde karıştırılarak oluşturulan karışım bitki gelişme ortamı olarak kullanılmıştır. Bu karışım 1 litrelik plastik saksılara eşit ölçüler olacak şekilde doldurulmuştur. Potansiyel biyoajan funguslar PDA'da geliştirilmiş ve spor oluşturması sağlanmıştır. Daha sonra spor oluşturan fungus izolatlarının geliştiği PDA bulunan petrilere steril su dökülerek cam pipetle fungus sporları toplanmış, oluşan süspansiyon behere alınarak mikropipetle homojen olarak karıştırılmış ve hemositometre ile 1×10^6 konidi/ml spor konsantrasyonuna ayarlanmıştır.

İnokulasyon öncesi domates fidelerinin gövdesinde açılan yaralı kısma hazırlanan 1×10^6 konidi/ml fungus süspansiyonları mikropipet yardımıyla 30 µl olacak şekilde uygulanmış, PDA'da geliştirilen patojen fungusun uç kısmından alınan misel disk açılan yaraya yerleştirilmiş ve gövdenin etrafı parafilmle sarılmıştır. Fungus süspansiyonu uygulanırken süspansiyona bir damla Tween 80 ilave edilerek sporların homojen dağılması sağlanmıştır.

Çalışmada negatif kontrol olarak steril su; pozitif kontrol olarak ise sadece patojen fungus *A. solani*'nin ET 66 izolatu kullanılmıştır. 3'er saksıya sadece patojen fungus izolatu, 3'er saksıya sadece biyoajan fungus izolatu, 3'er saksıya patojen fungus ve biyoajan fungus izolatu birlikte ve 3 saksıya da steril su uygulanmıştır. Çalışma 24 °C'de 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış olan büyütme kabinlerinde yapılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi

Hastalık belirtileri oluşuncaya kadar bitkiler 1 hafta süreyle günlük olarak incelenmiştir. Hastalıklı bitkilerin değerlendirilmesi bitkinin belirti durumuna göre 0-4 skalasına göre yapılmıştır.

0-4 skalası

0: belirti yok,

1: %25 belirti,

2: %50 belirti,

3: %75 belirti,

4: %100 belirti (ölü yaprak) ile değerlendirilmiştir.

Elde edilen değerler hastalık şiddeti (DS) formülü ile yüzde hastalık şiddetine dönüştürülmüştür (Viriyasuthee et al., 2019).

$$DS (\%) = \frac{\sum(S \times L)}{M \times S_{max}} \times 100$$

S: Skala değeri

L: Skalada değerlendirilen bitki yaprak sayısı

M: Toplam bitki yaprak sayısı

Smax: En yüksek skala değerini ifade etmektedir.

Sonuçların Analiz Edilmesi

Bulunan in vitro testi sonuçları ile ilgili değerler JMP istatistik programında varyans analizine (ANOVA) göre değerlendirilmiştir.

Taşıyıcı ortamın belirlenmesi

Biyolojik mücadelede kullanılan biyoajan *T. harzianum* 'un ET 4 ve ET 14 türleri için taşıyıcı formülasyon olarak soya yağı, neem yağı, kanola yağı, parafin yağı ve gliserin kullanılmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Taşıyıcıların oluşturulması a) taşıyıcı ortamlar, b) taşıyıcı ortamların hazırlanması, c) steril edilmesi, d) konidilerin karıştırıcıda homojenize edilmesi, e) taşıyıcı ortamların +4 °C’de muhafaza edilmesi, f) taşıyıcı ortamların oda sıcaklığında muhafaza edilmesi

Her yağ için 120 tüp hazırlanmış, her bir tüpe 10 ml olacak şekilde yağlar ayrı ayrı eklenip etiketlenmiştir. Doldurulan toplam 600 tüp otoklavda steril hale getirilmiştir. Diğer taraftan, ET 4 ve ET 14 izolatlarının konidileri PDA besiyeri içeren 9 cm çapındaki petrilerde 27 °C sıcaklıkta geliştirilmiştir. 10 günden sonra konidiler bir spatula kullanılarak hasat edilmiş ve taze olarak geliştirilen ET4 ve ET 14’ten alınan konidiler daha önceden yağ konulan tüplere tek tek yerleştirilmiş ve yağın içerisinde homojen olarak dağılmalarını sağlamak için karıştırıcıda homojenize edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan tüplerden 300 tanesi (150 adet ET 4 ve 150 adet ET 14) oda sıcaklığı ve yine 150 adet ET 4 ve 150 adet ET 14 olmak üzere toplam 300 tanesi de +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Her ay 60 tüp olacak şekilde (30 tüp ET 4 ve 30

tüp de ET 14) muhafaza edilen ET 4 ve ET 14 biyoajanlarının canlılık testleri yapılmıştır. Tüplerin canlılık testlerinin takibi için PDA ile besi ortamı hazırlanarak tüplerde muhafaza edilen biyoajan izolatları besi ortamına aktarılmıştır. Steril bir ortamda altı gün boyunca bekletilen petrilerin takipleri yapılmış ve aylık gelişimleri izlenerek her bir petrinin fotoğrafı çekilmiştir.

Beş farklı yağ bazlı formülasyon, kullanılarak yapılan raf ömrü çalışmasında, formülasyonun birinci gününden başlayıp düzenli olarak 30 gün aralıklarla on ay boyunca PDA'ya aktarılaran fungus izolatlarının gelişip gelişmediği takip edilmiştir. Çalışma planı Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışma Planı

<i>Trichoderma harzianum</i> izolatları ET 4 ve ET 14'ün +4 °C'den çıkarılarak PDA içeren petrilere aktarılması	
<i>Alternaria solani</i> 'ye karşı in vitro şartlarda antifungal etkisinin belirlenmesi	
<i>Alternaria solani</i> 'ye karşı kontrollü şartlarda saksı denemeleri ile antifungal etkisinin belirlenmesi	
5 farklı yağ kullanılarak oluşturulacak olan sıvı taşıyıcılara fungus sporlarının aktarılması	
4 °C'de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 1. Ay sonunda PDA'ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 1. Ay sonunda PDA'ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
4 °C'de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 2. Ay sonunda PDA'ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 2. Ay sonunda PDA'ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
4 °C'de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 3. Ay sonunda PDA'ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 3. Ay sonunda PDA'ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
4 °C'de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 4. Ay sonunda PDA'ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 4. Ay sonunda PDA'ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi

Tablo 2. (Devamı)

4 °C’de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 5. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 5. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
4 °C’de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 6. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 6. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
4 °C’de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 7. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 7. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
4 °C’de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 8. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 8. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
4 °C’de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 9. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 9. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
4 °C’de muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 10. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi	Oda sıcaklığında muhafaza edilen sıvı taşıyıcılardaki fungus sporlarının 10. Ay sonunda PDA’ya aktarılması ve canlılıklarının kontrol edilmesi
<i>Alternaria solani</i> ’ye karşı in vitro şartlarda antifungal etkisinin tekrar belirlenmesi	
<i>Alternaria solani</i> ’ye karşı kontrollü şartlarda saksı denemeleri ile antifungal etkisinin tekrar belirlenmesi	
Sonuçların değerlendirilmesi	

ARAŞTIRMA BULGULARI

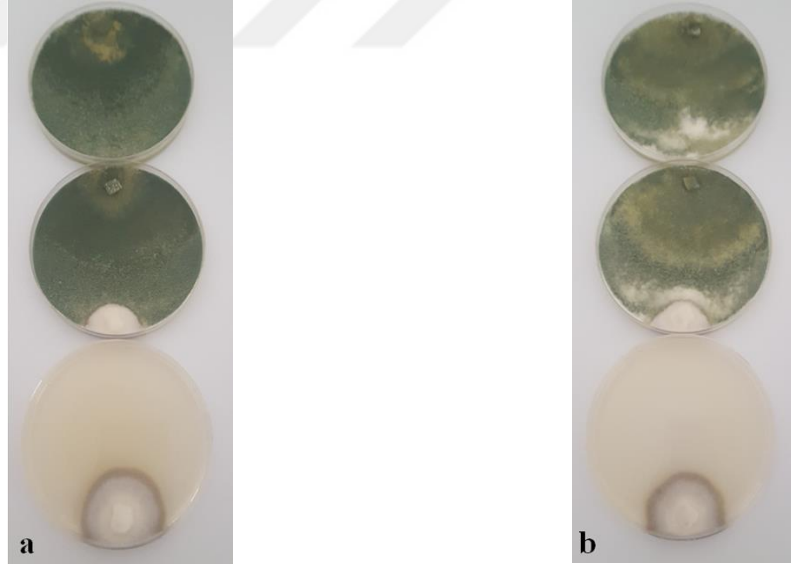
Çalışmanın başlangıcında ET 4 ve ET 14 izolatlarının orijinal stok kültürlerinin in vitro şartlarda *Alternaria solani*'nin ET 66 izolatına karşı biyoajan olarak etkinliği test edilmiş ve patojen fungusun miselinin radyal gelişimleri ölçülerek Skidmore ve Dickinson (1976)'ya göre yüzde engelleme oranları hesaplanmıştır (Tablo 3, Şekil 4).

Tablo 3. In vitro Şartlarda *Alternaria solani*'nin ET 66 İzolatına Karşı Test Edilen *Trichoderma harzianum*'un ET 4 ve ET 14 İzolatlarının Yüzde Engelleme Oranları

İzolatlar	YEO (%)
ET 4	69.30 +++
ET 14	56.57 ++

YEO: Yüzde engelleme Oranı
+: YEO ≤ % 50 : Az ++: %50 < YEO ≤ % 60: Orta +++: %60 < YEO ≤ %75: Yüksek ++++: YEO > %75: Çok yüksek

Yapılan çalışmada ET 4'ün *A. solani*'ye karşı in vitro şartlarda ikili testlerde yüksek düzeyde (%69.30) yüzde engelleme oranı gösterirken, ET 14'ün orta düzeyde (%56.57) yüzde engelleme oranı gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 3).



Şekil 4. *Trichoderma harzianum* ET 4 (a) ve ET 14 (b) izolatlarının *Alternaria solani* ET 66 izolatının gelişimi üzerine etkisi

In vitro şartlarda yüzde engelleme oranları belirlenen ET 4 ve ET 14 izolatlarının saksı denemeleri kurularak domates fideleri üzerinde de etkinliği belirlenmiş (Şekil 5) ve Viriyasuthee et al. (2019)'e göre hastalık şiddeti hesaplanmıştır (Tablo 4).



Şekil 5. Saksı denemeleri

Tablo 4. In vivo şartlarda *Alternaria solani*'nin ET 66 izolatına karşı *Trichoderma harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının etkisi

Uygulama	Hastalık Şiddeti (%)
ET 66	93.33 C
ET 14+ET 66	43.33 B
ET 4+ET 66	36.67 B
Su	0.00 A
	CV 7.30
	LSD 6.86

*Aynı sütunda benzer harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur ($P < 0.01$).

T. harzianum'un ET 4 izolatı uygulanan domates bitkilerinde %36.67, ET 14 izolatı uygulananlarda ise %43.33 oranında hastalık şiddeti görülmüş, izolatlar arasında istatistiki olarak bir fark bulunmamıştır (Tablo 4).

Oda sıcaklığı ve buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen biyoformülasyonlardan on ay boyunca aylık olarak alınan numunelerden yapılan ekimlerden biyoajan fungusun canlılık testlerine ait görseller Şekil 6-15'de ve sonuçlar Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. ET 4 ve ET 14 Biyoajan Formülasyonların Aylık Canlılık Test Sonuçları

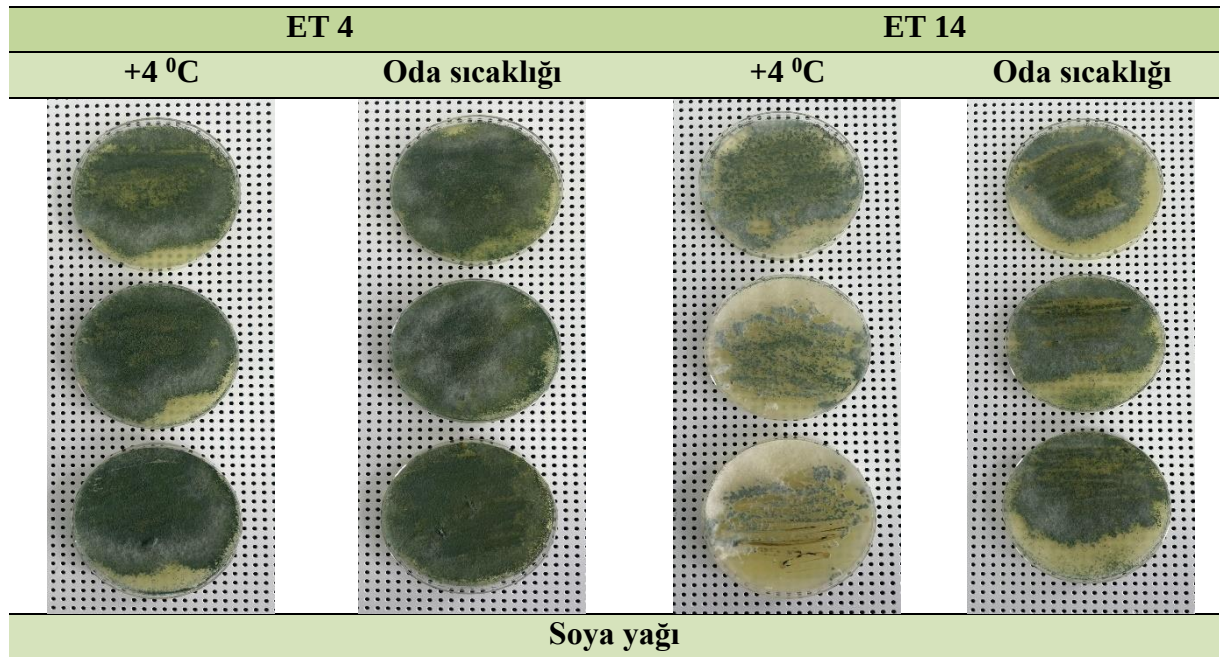
Biyoajan fungal izolatların aylık canlılık test sonuçları												
Aylar	Soya yağı											
	ET4						ET14					
	+4 °C			Oda sıcaklığı			+4 °C			Oda sıcaklığı		
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	+	+	+	+	+	+	+	Z+	Z+	+	+	+
5.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z+
9.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aylar	Parafin yağı											
	ET 4						ET 14					
	+4 °C			Oda sıcaklığı			+4 °C			Oda sıcaklığı		
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aylar	Neem yağı											
	ET 4						ET 14					
	+4 °C			Oda sıcaklığı			+4 °C			Oda sıcaklığı		
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+
4.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

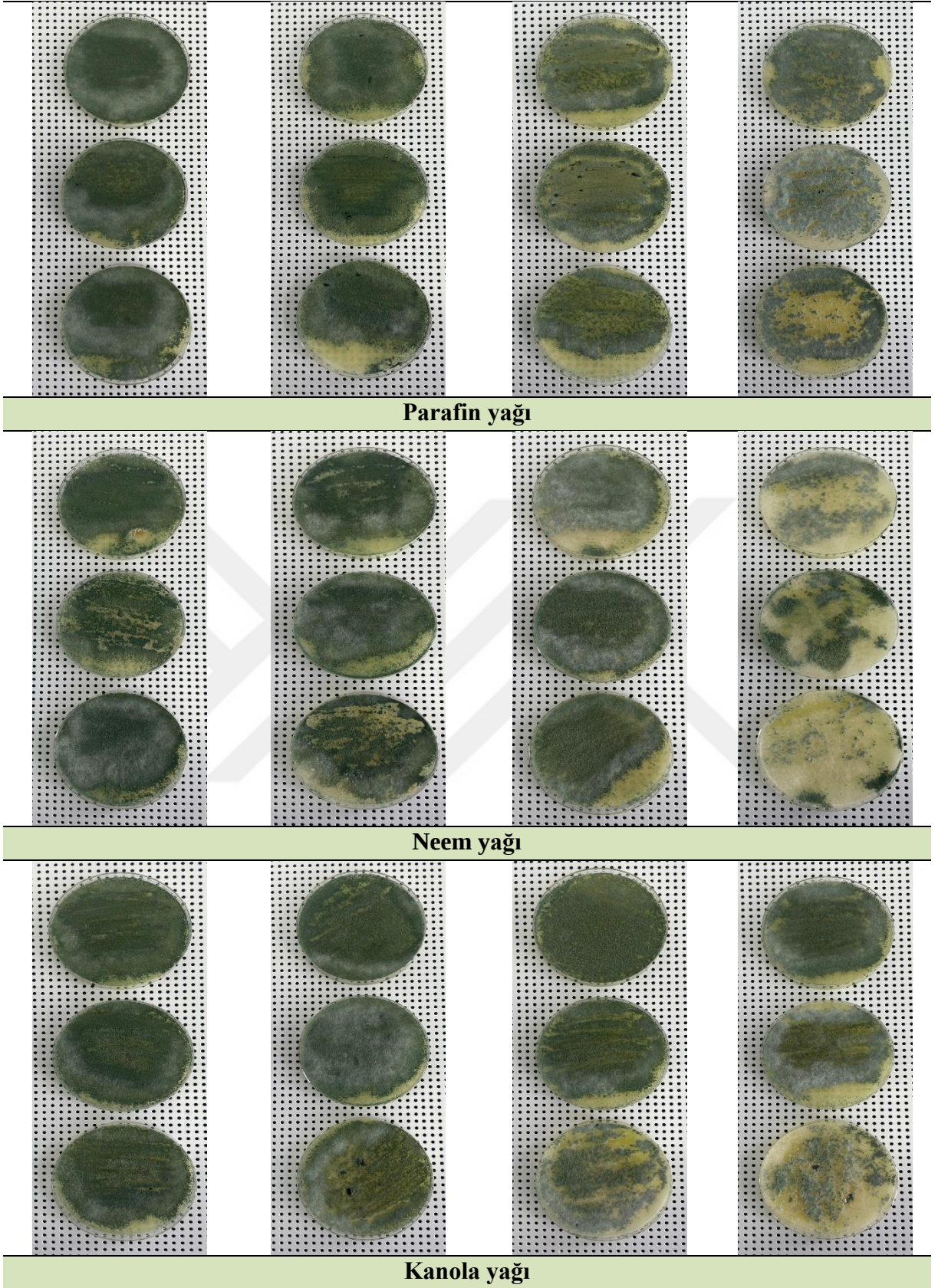
Tablo 5. (Devamı)

Aylar	Kanola yağı											
	ET 4						ET 14					
	+4 °C			Oda sıcaklığı			+4 °C			Oda sıcaklığı		
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+

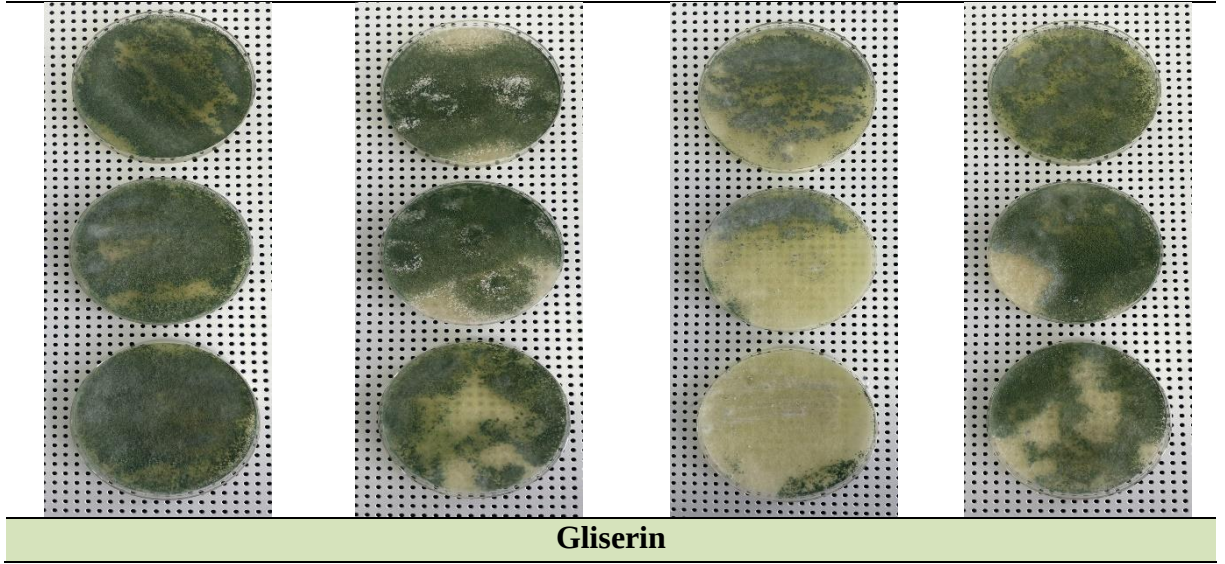
Aylar	Gliserin yağı											
	ET 4						ET 14					
	+4 °C			Oda sıcaklığı			+4 °C			Oda sıcaklığı		
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z+
4.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	+	+	Z+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z+
6.	+	+	+	+	+	Z+	+	+	Z+	+	+	Z+
7.	+	+	+	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+
8.	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+	Z+
9.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z+
10.	+	+	+	+	+	Z+	+	+	Z+	+	+	Z+

+: Gelişti; Z+: Zayıf gelişti

**Soya yağı****Şekil 6.** *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 izolatlarının 1. ay canlılık testleri

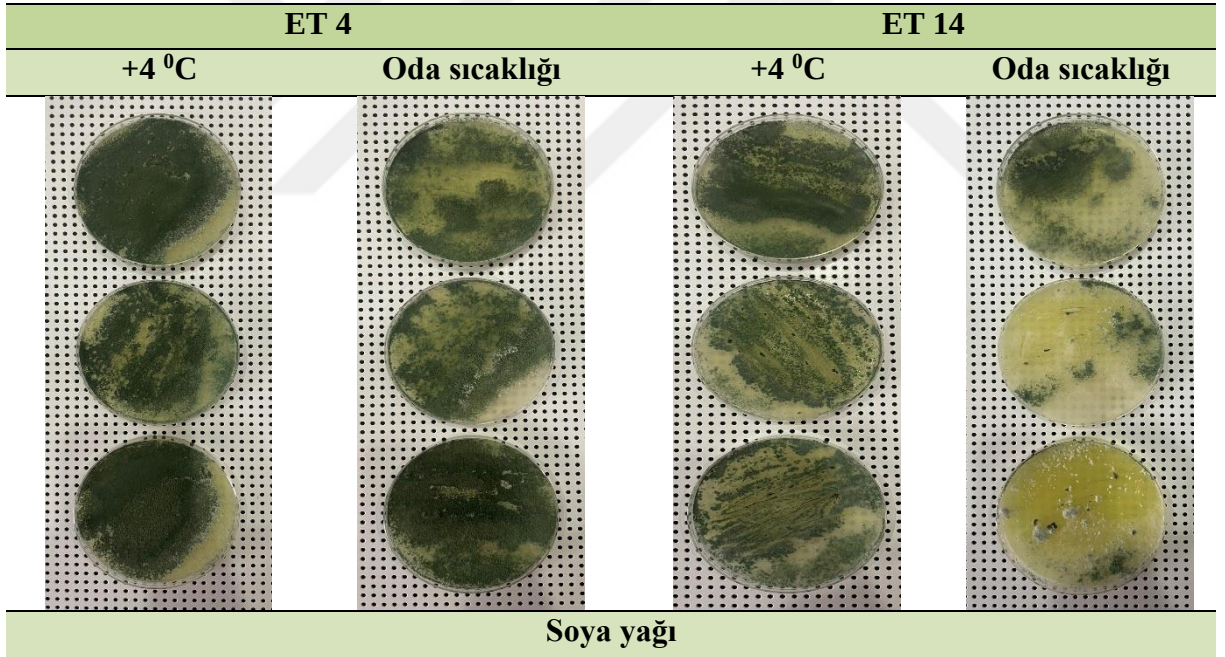


Şekil 6. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 izolatlarının 1. ay canlılık testleri (Devamı)

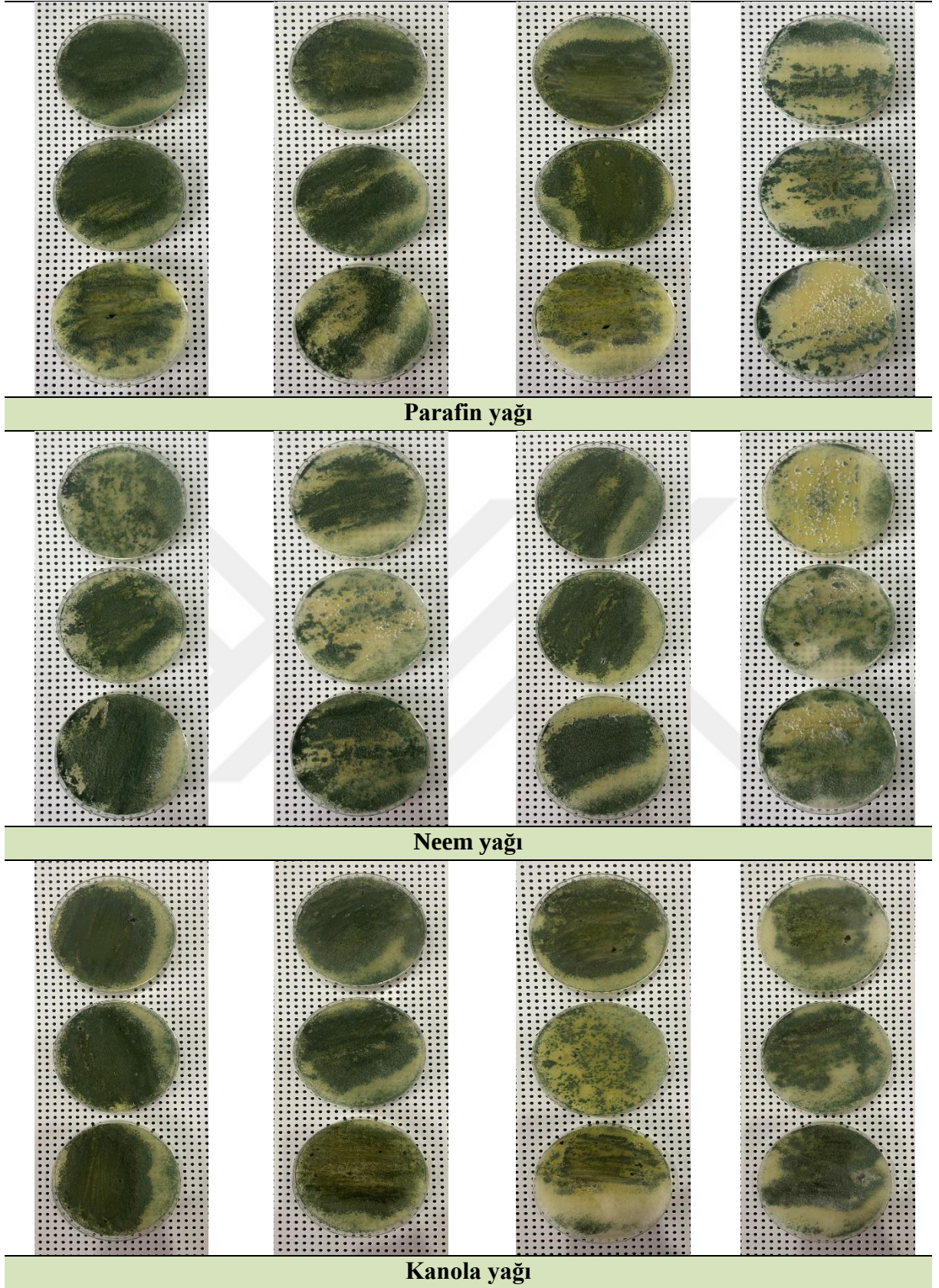


Şekil 6. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 izolatlarının 1. ay canlılık testleri (Devamı)

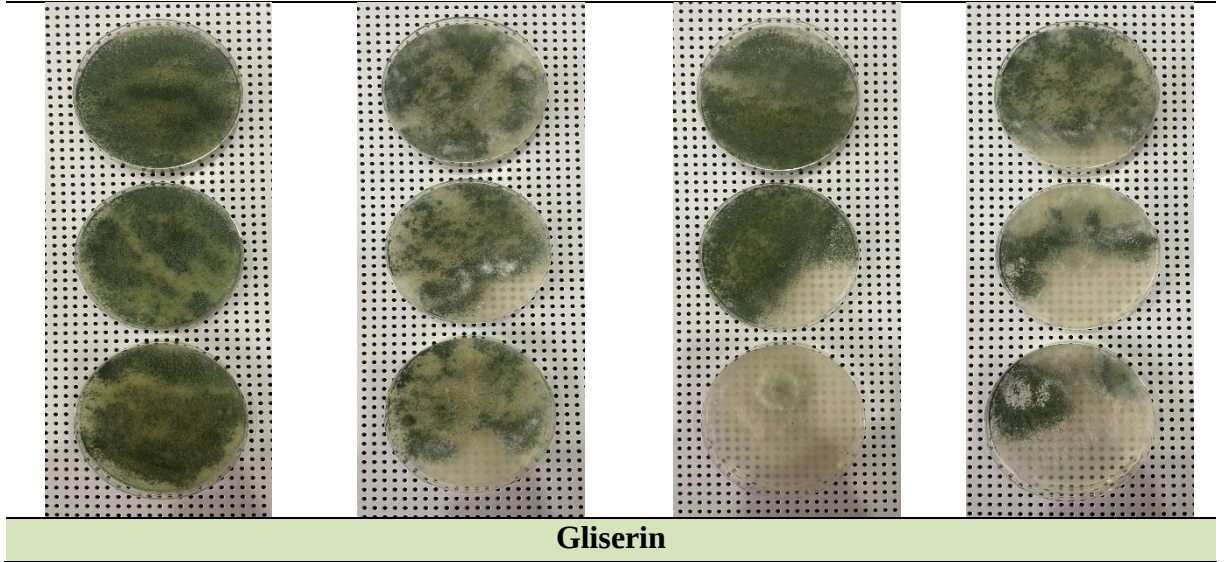
Yapılan çalışmada sıvı taşıyıcı içerisinde bulunan izolatları içeren tüplerden PDA'ya 1. ay aktarılan fungus izolatlarının gelişmeleri değerlendirildiğinde tüm ortamlarda gelişme olduğu tespit edilmiştir (Şekil 6).



Şekil 7. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 2. ay canlılık testleri

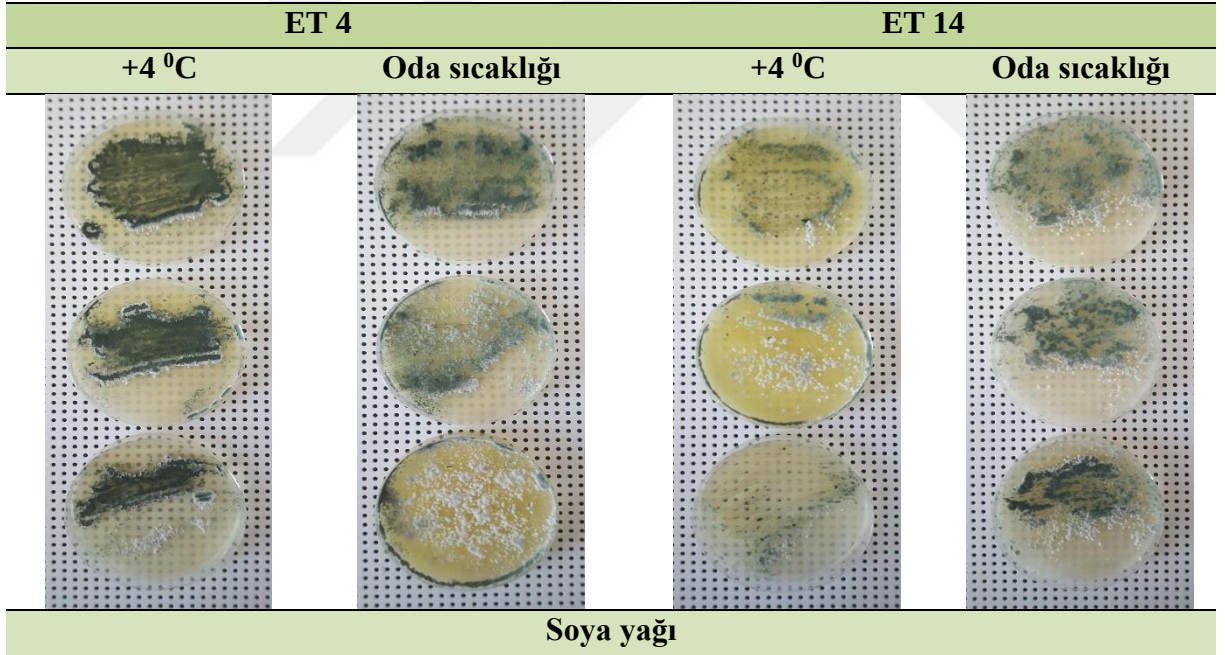


Şekil 7. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 2. ay canlılık testleri (Devamı)

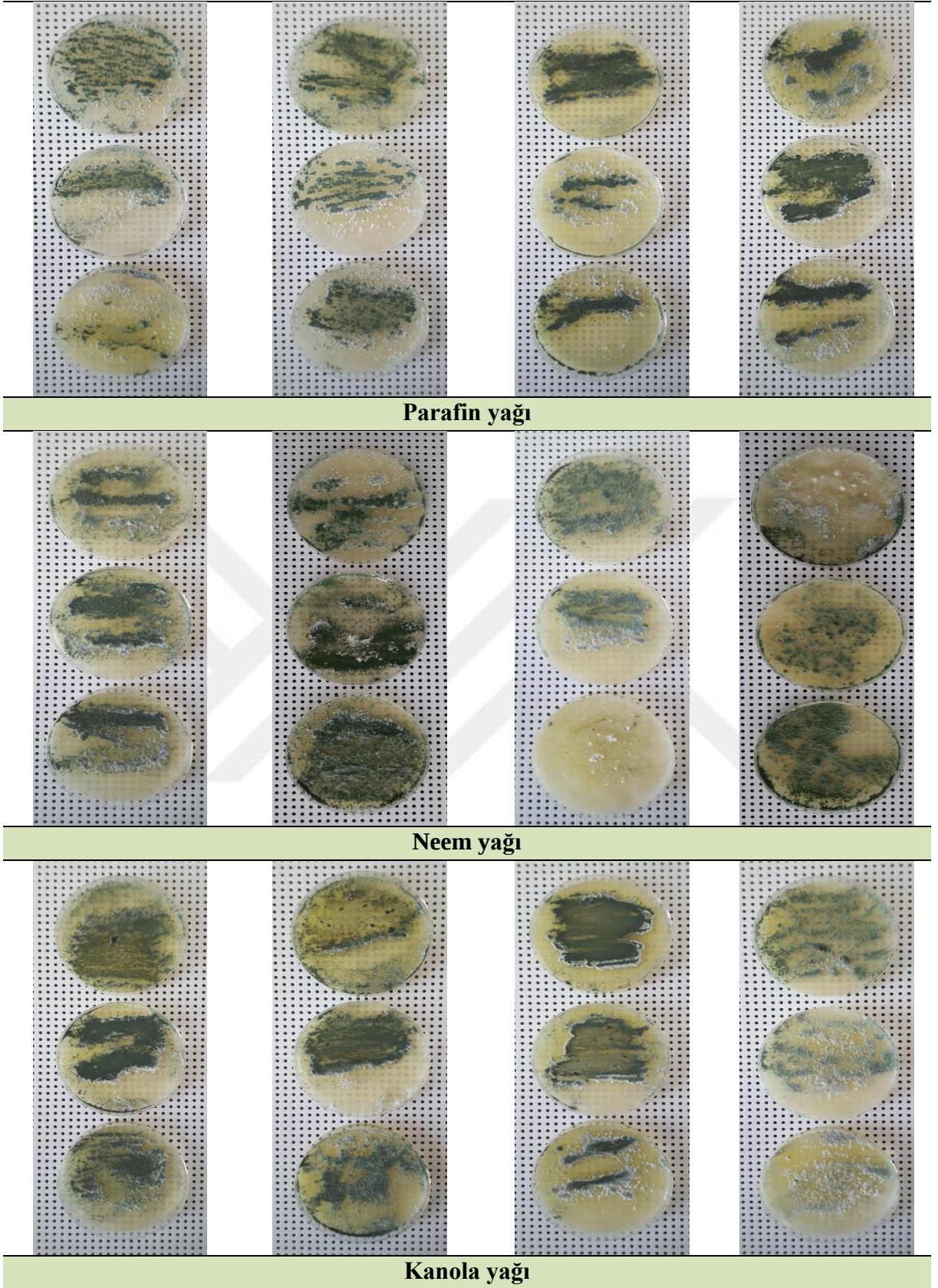


Şekil 7. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 2. ay canlılık testleri (Devamı)

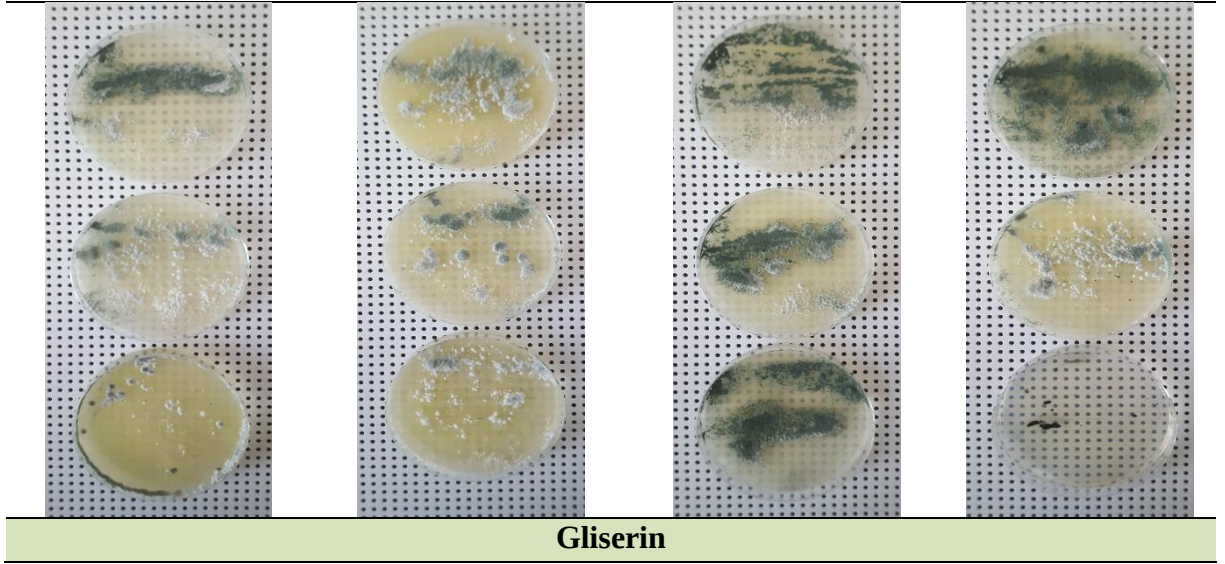
2. ay aktarılan fungus izolatlarının gelişmeleri değerlendirildiğinde ise tüm ortamlarda gelişme olduğu ancak soya yağı ve gliserinde fungusların daha yavaş geliştiği tespit edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 8. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 3. ay canlılık testleri

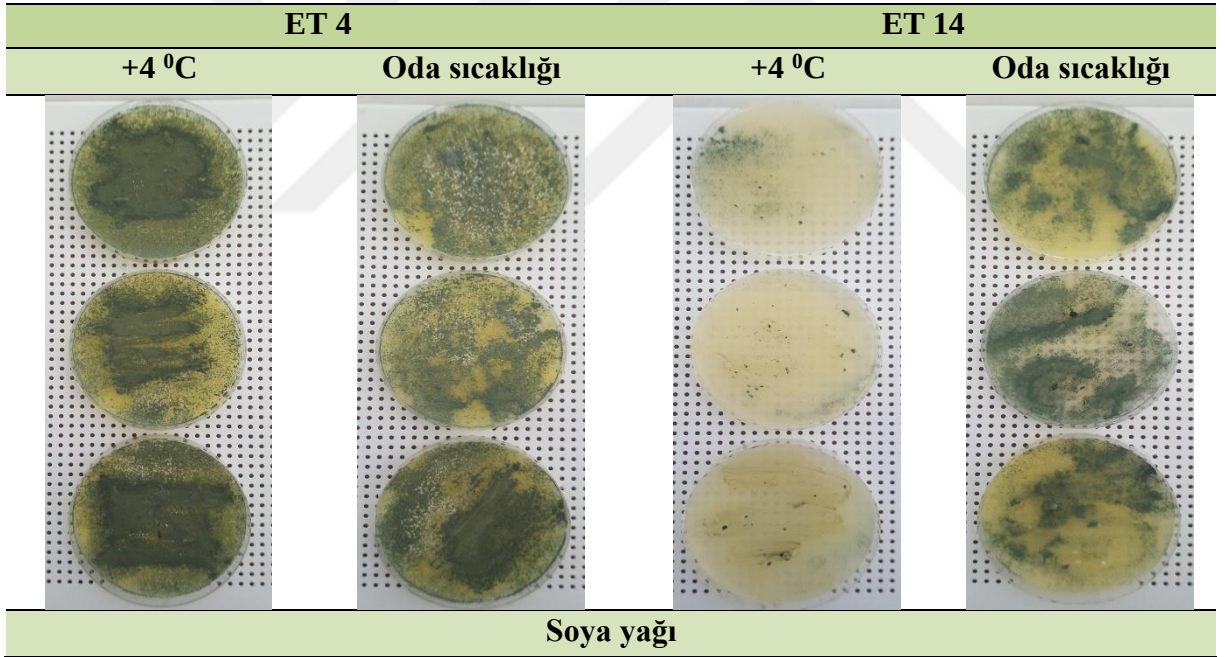


Şekil 8. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 3. ay canlılık testleri (Devamı)

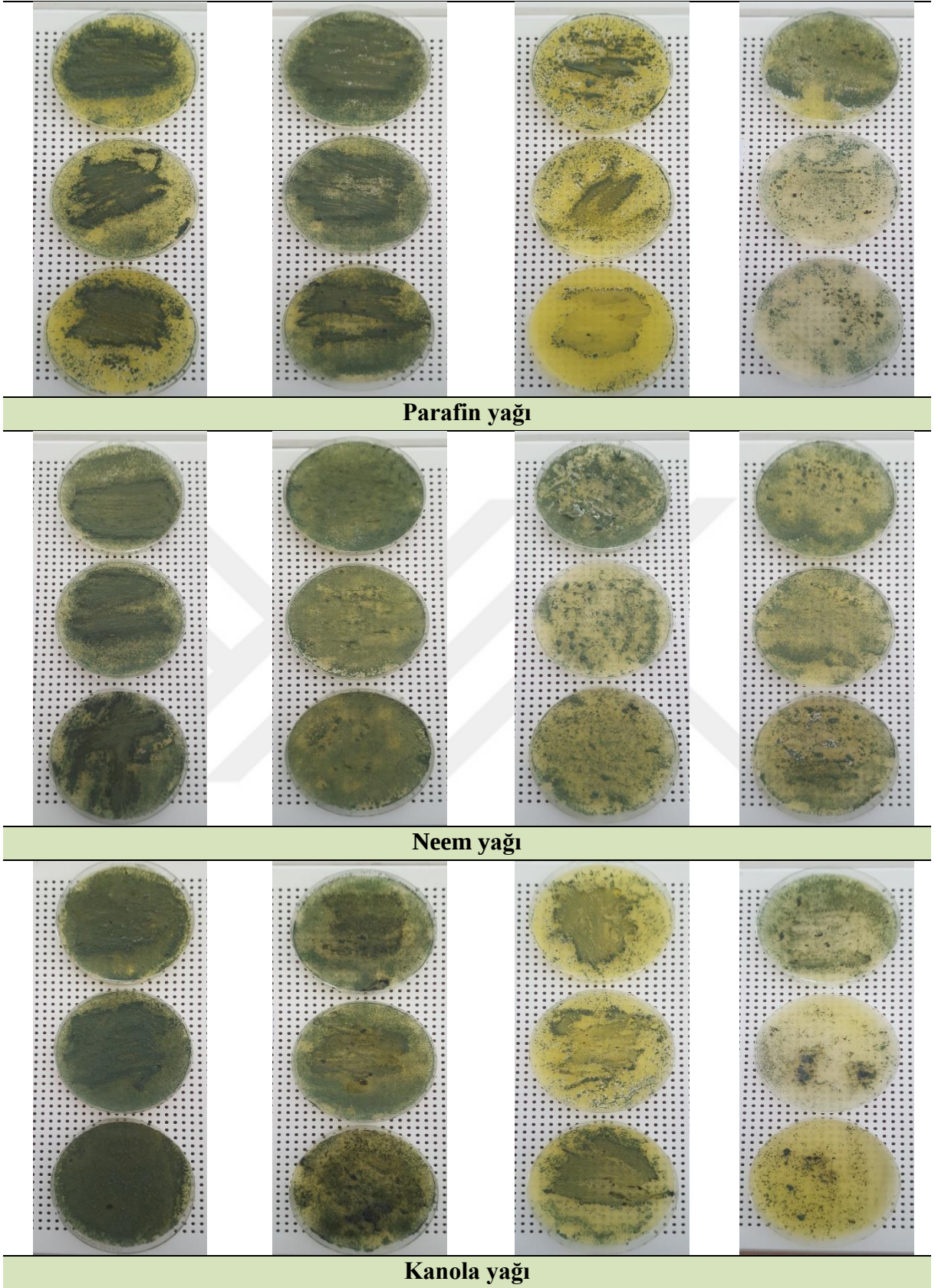


Şekil 8. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 3. ay canlılık testleri (Devamı)

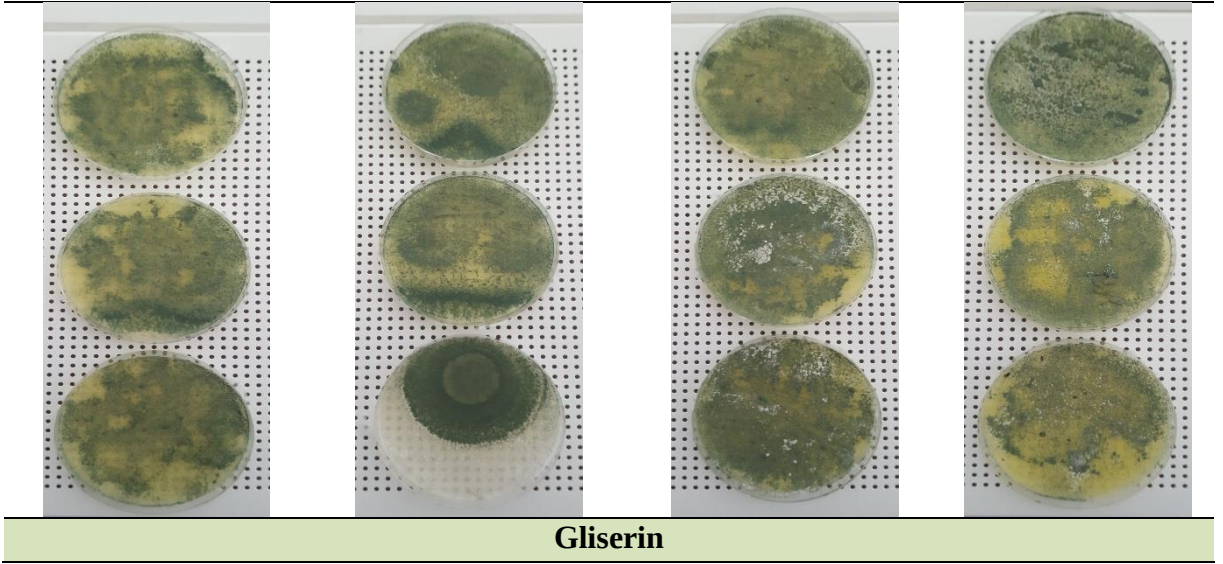
3. ay aktarılan fungus izolatlarının canlılık testleri değerlendirildiğinde parafin yağı, neem yağı ve kanola yağında daha iyi gelişme olduğu tespit edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 9. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 4. ay canlılık testleri

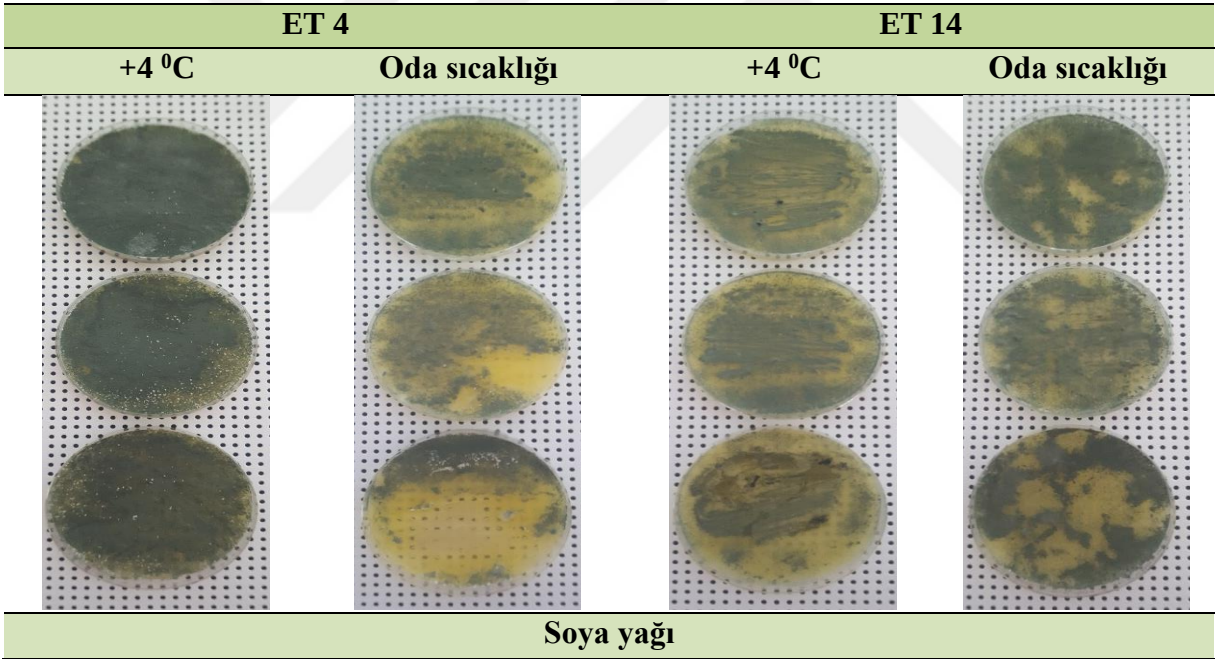


Şekil 9. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 4. ay canlılık testleri (Devamı)

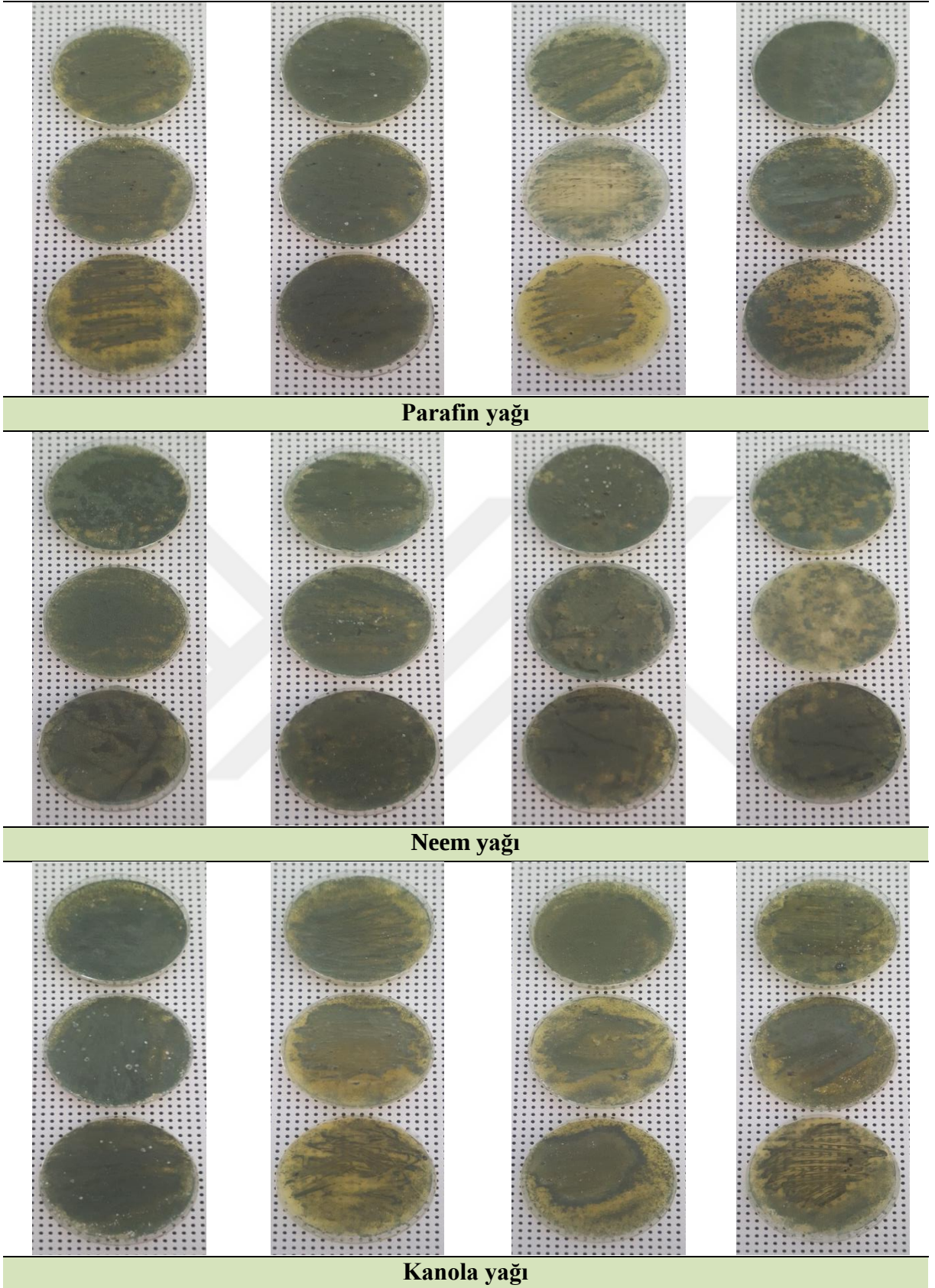


Şekil 9. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 4. ay canlılık testleri (Devamı)

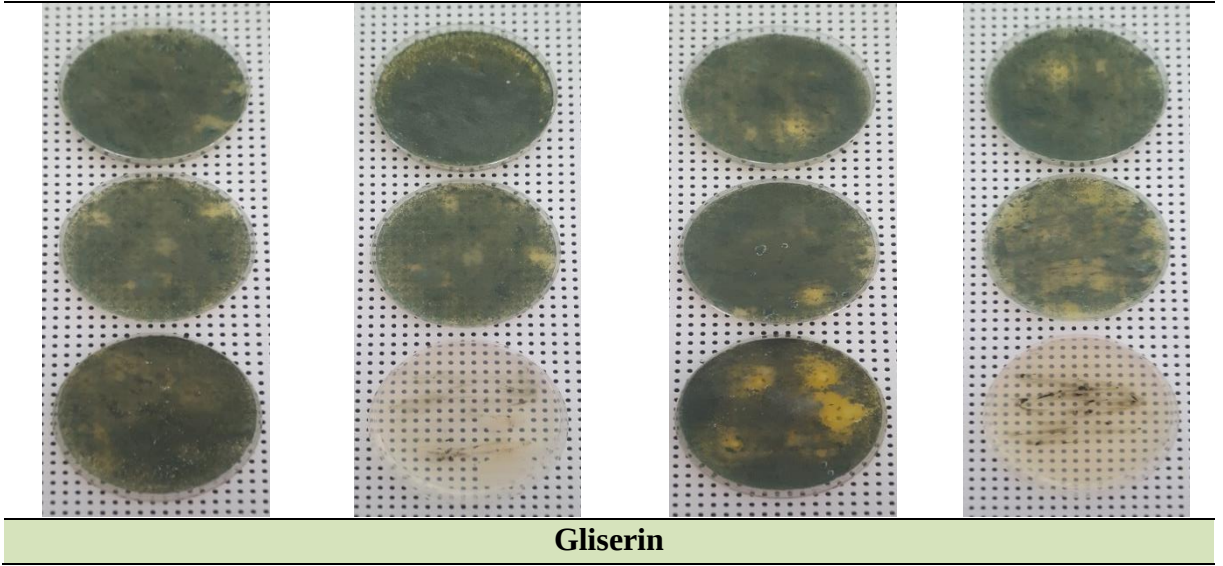
4. ay aktarılan fungus izolatlarının gelişmeleri değerlendirildiğinde tüm ortamlarda gelişme olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 9).



Şekil 10. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 5. ay canlılık testleri

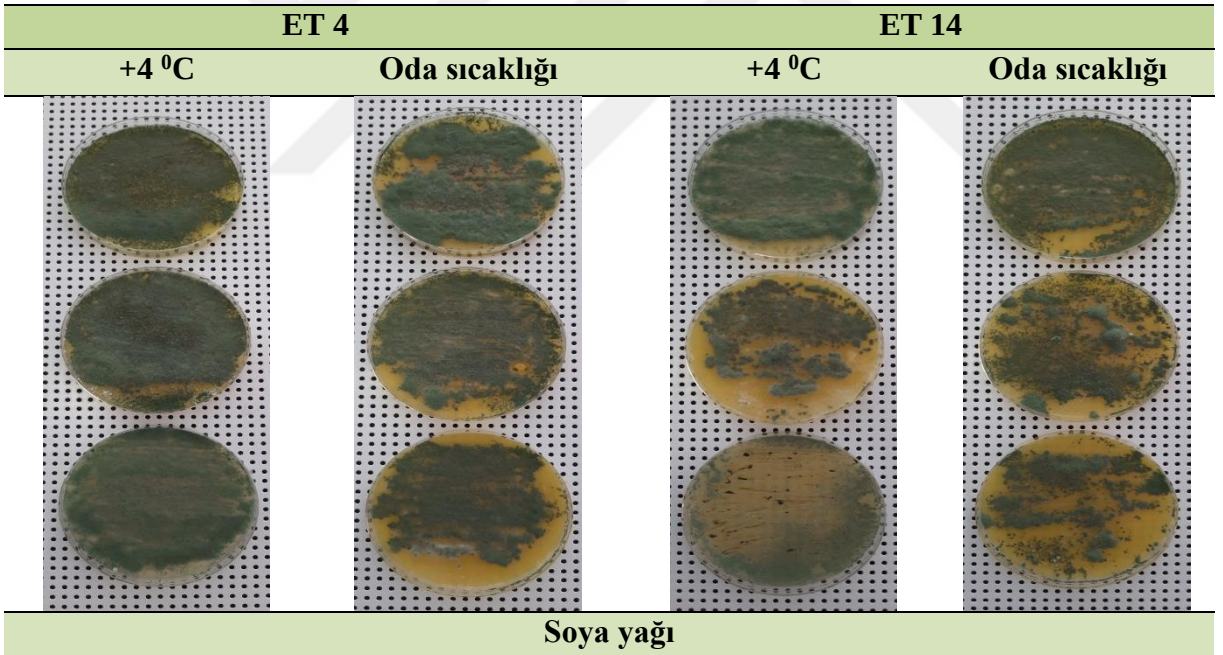


Şekil 10. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 5. ay canlılık testleri (Devamı)

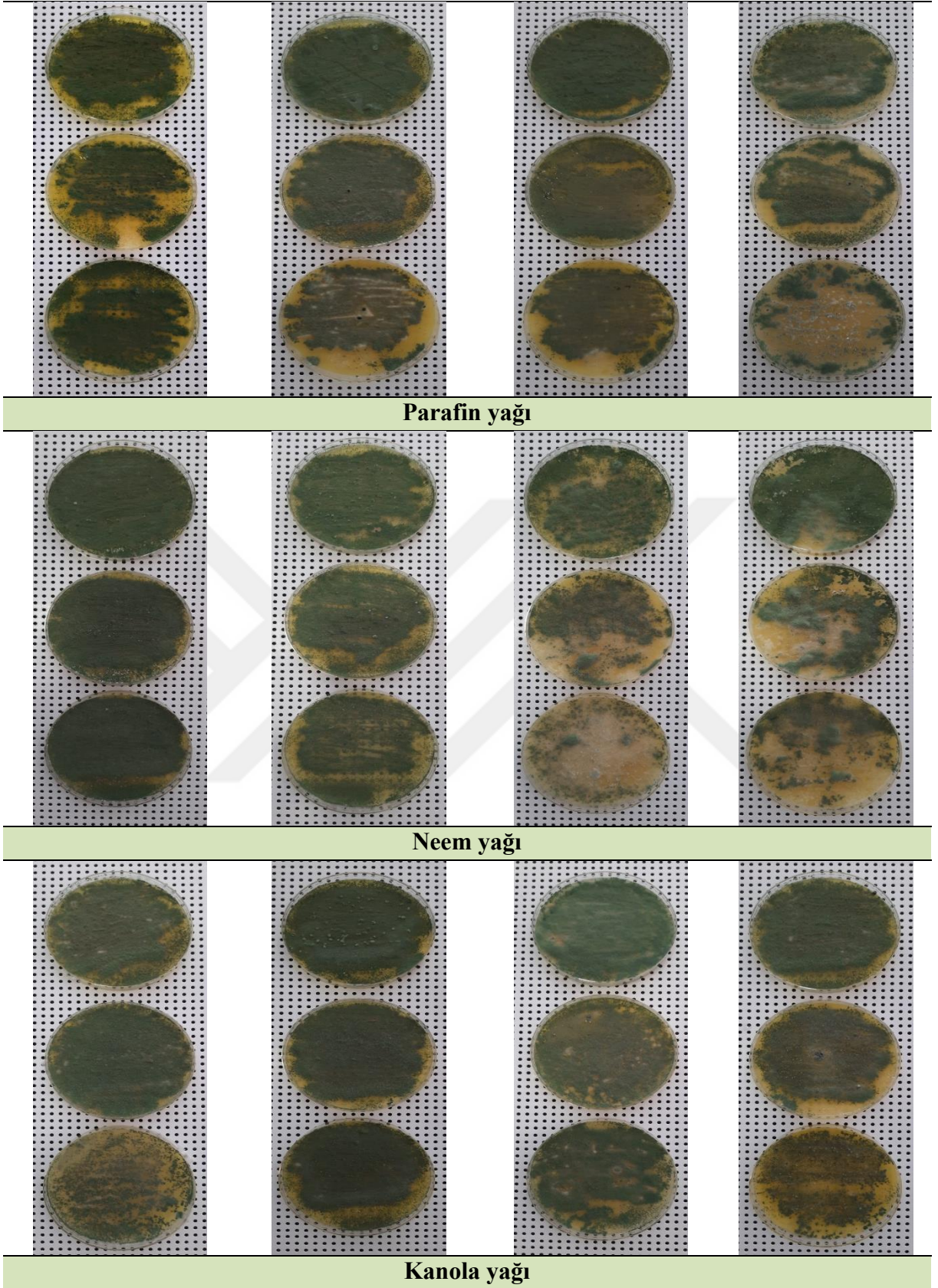


Şekil 10. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 5. ay canlılık testleri (Devamı)

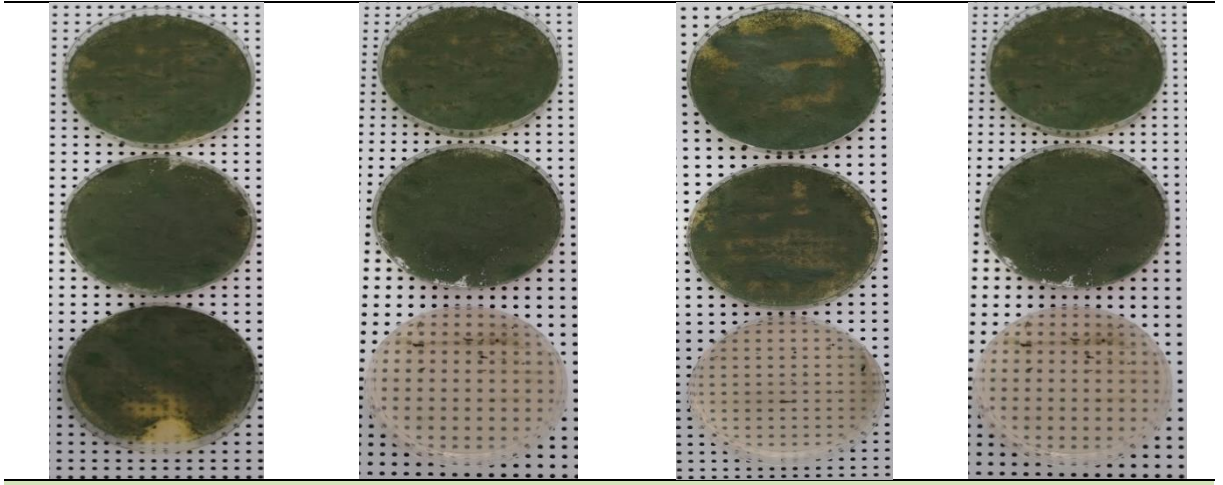
5. ay aktarılan fungus izolatlarının gelişmeleri değerlendirildiğinde diğer ortamlara göre gliserin ve soya ortamında fungus gelişiminin daha az olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 10).



Şekil 11. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 6. ay canlılık testleri



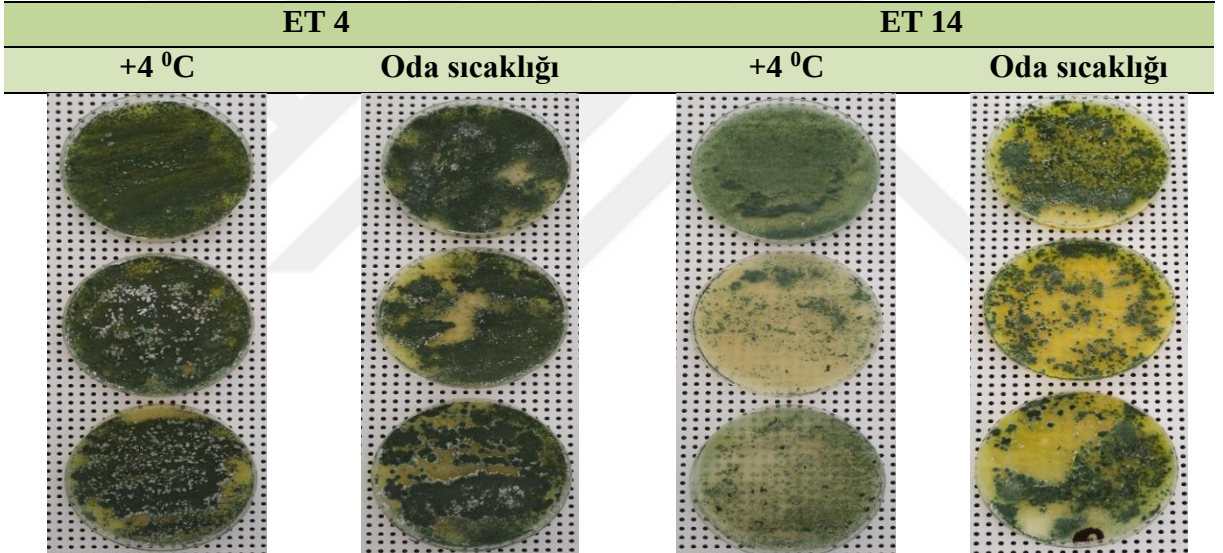
Şekil 11. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 6. ay canlılık testleri (Devamı)



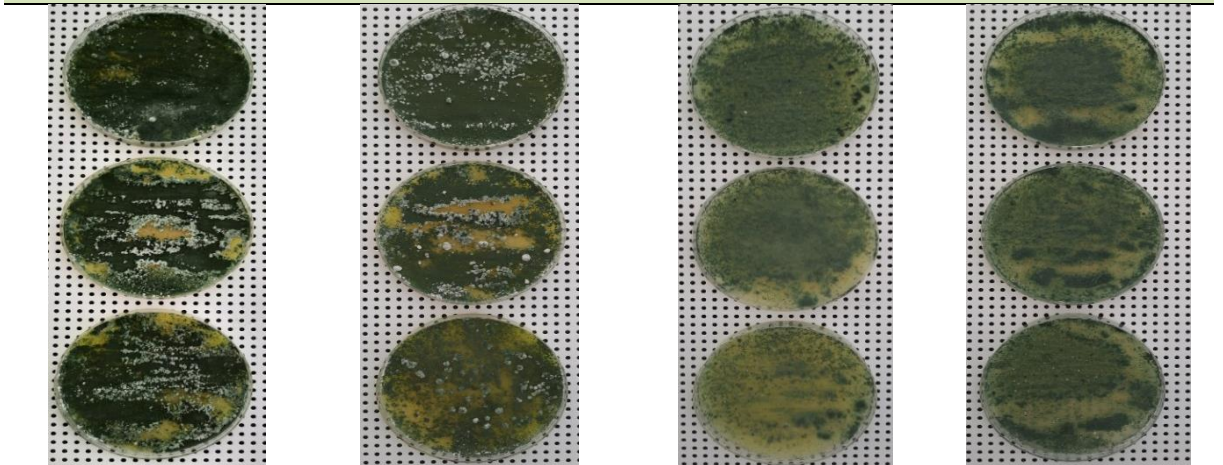
Gliserin

Şekil 11. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 6. ay canlılık testleri (Devamı)

6. ay aktarılan fungus izolatlarının gelişmeleri incelendiğinde diğer ortamlara kıyasla gliserin ortamında fungus gelişiminin daha az olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 11).

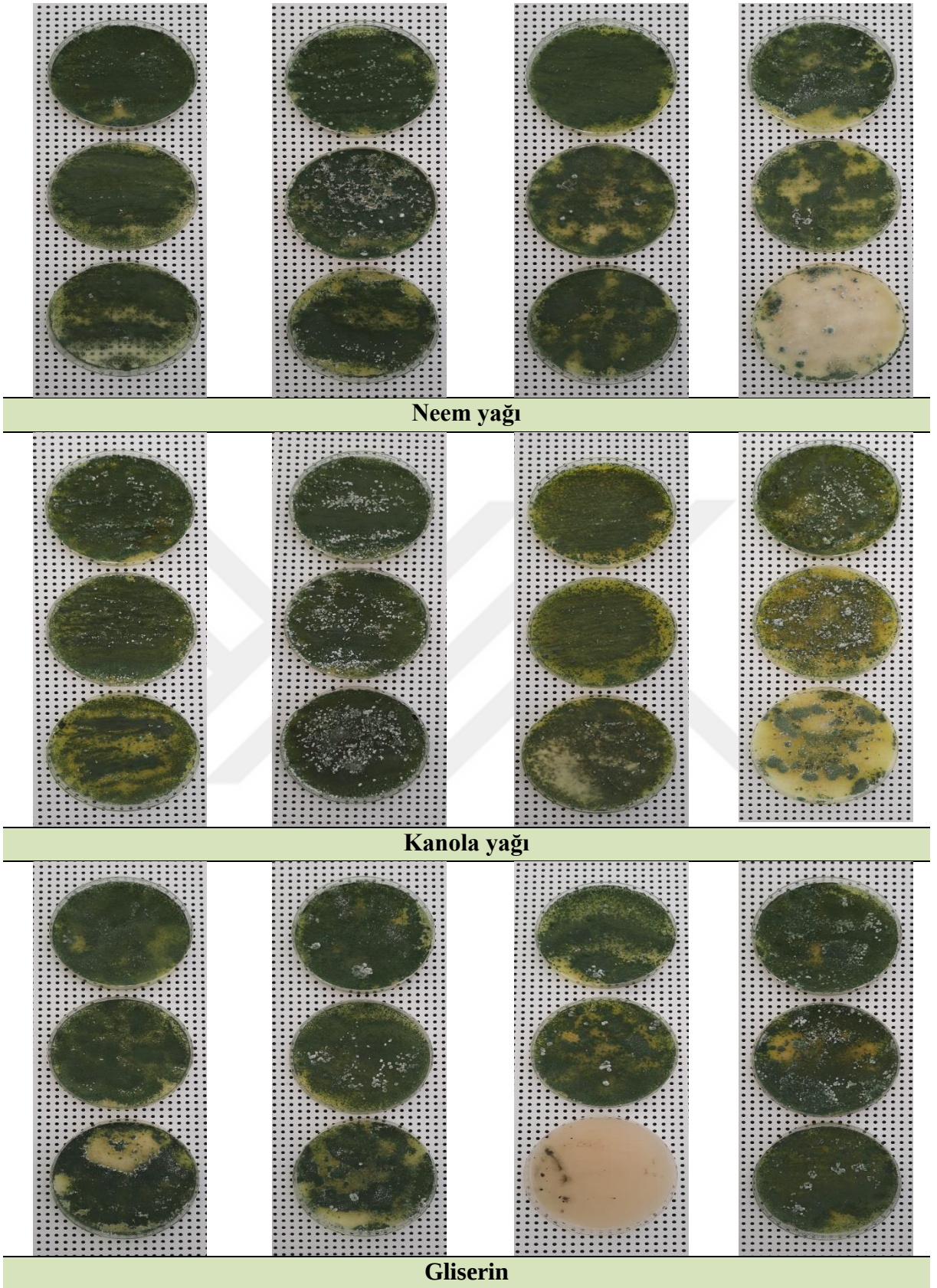


Soya yağı



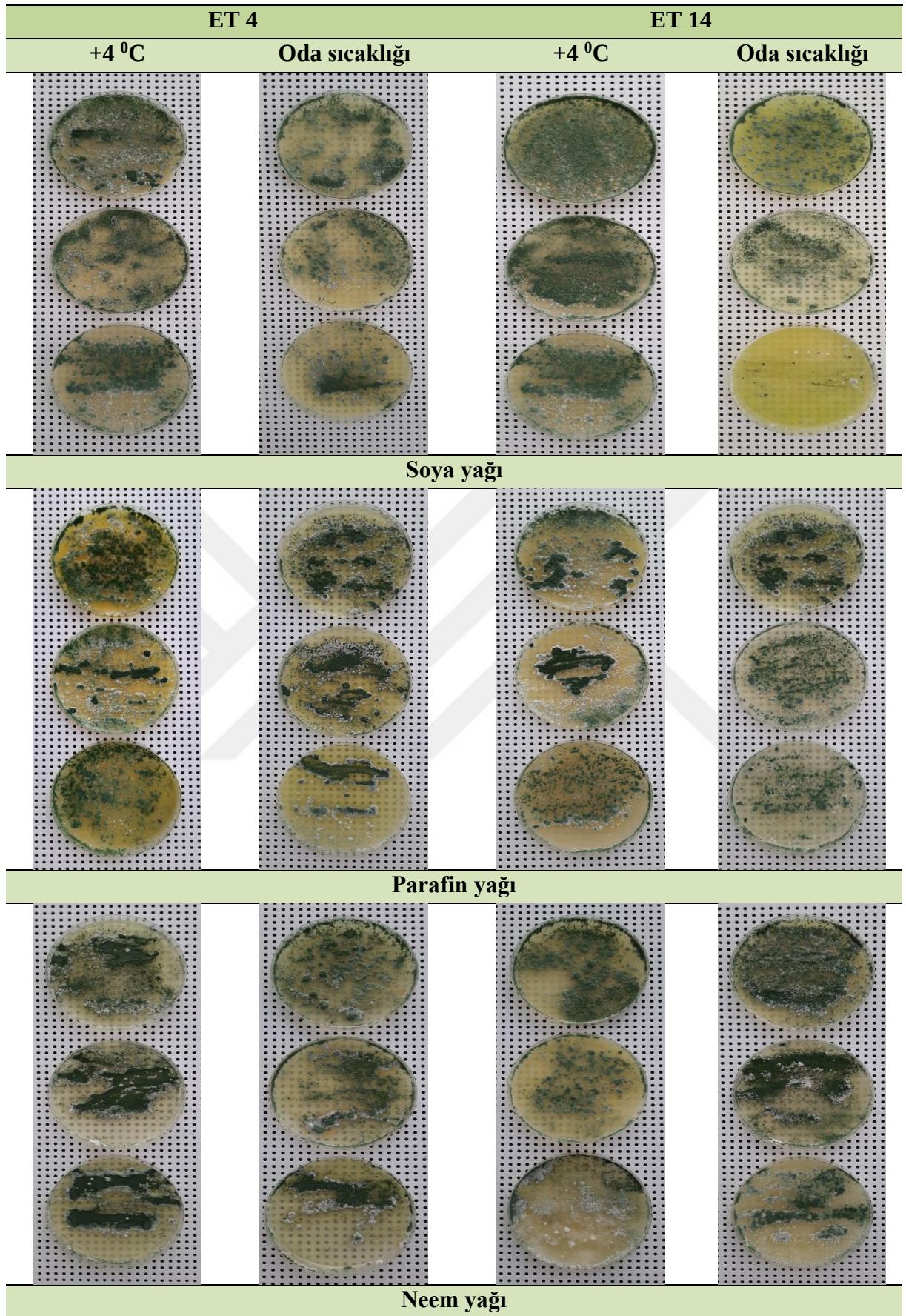
Parafin yağı

Şekil 12. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 7. ay canlılık testleri

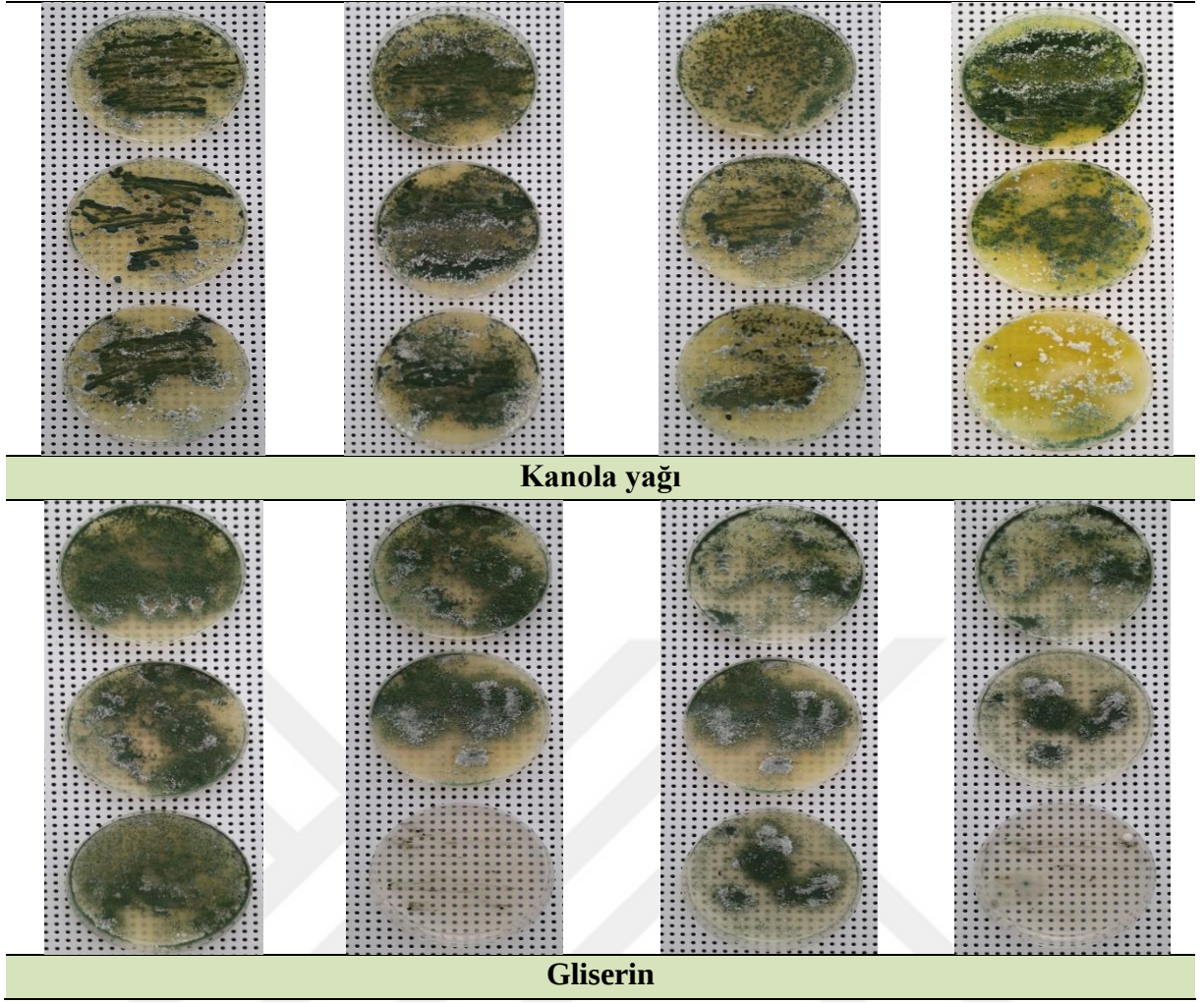


Şekil 12. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 7. ay canlılık testleri (Devamı)

7. ay aktarılan fungus izolatlarının gelişmeleri değerlendirildiğinde tüm ortamlarda fungus olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 12).

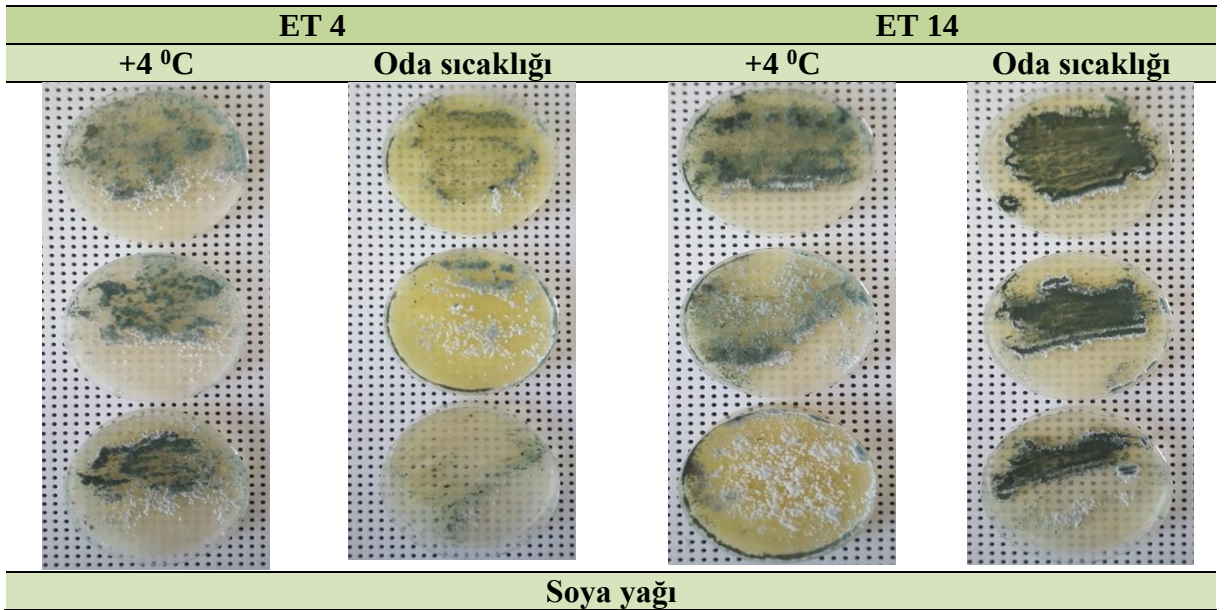


Şekil 13. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 8. ay canlılık testleri

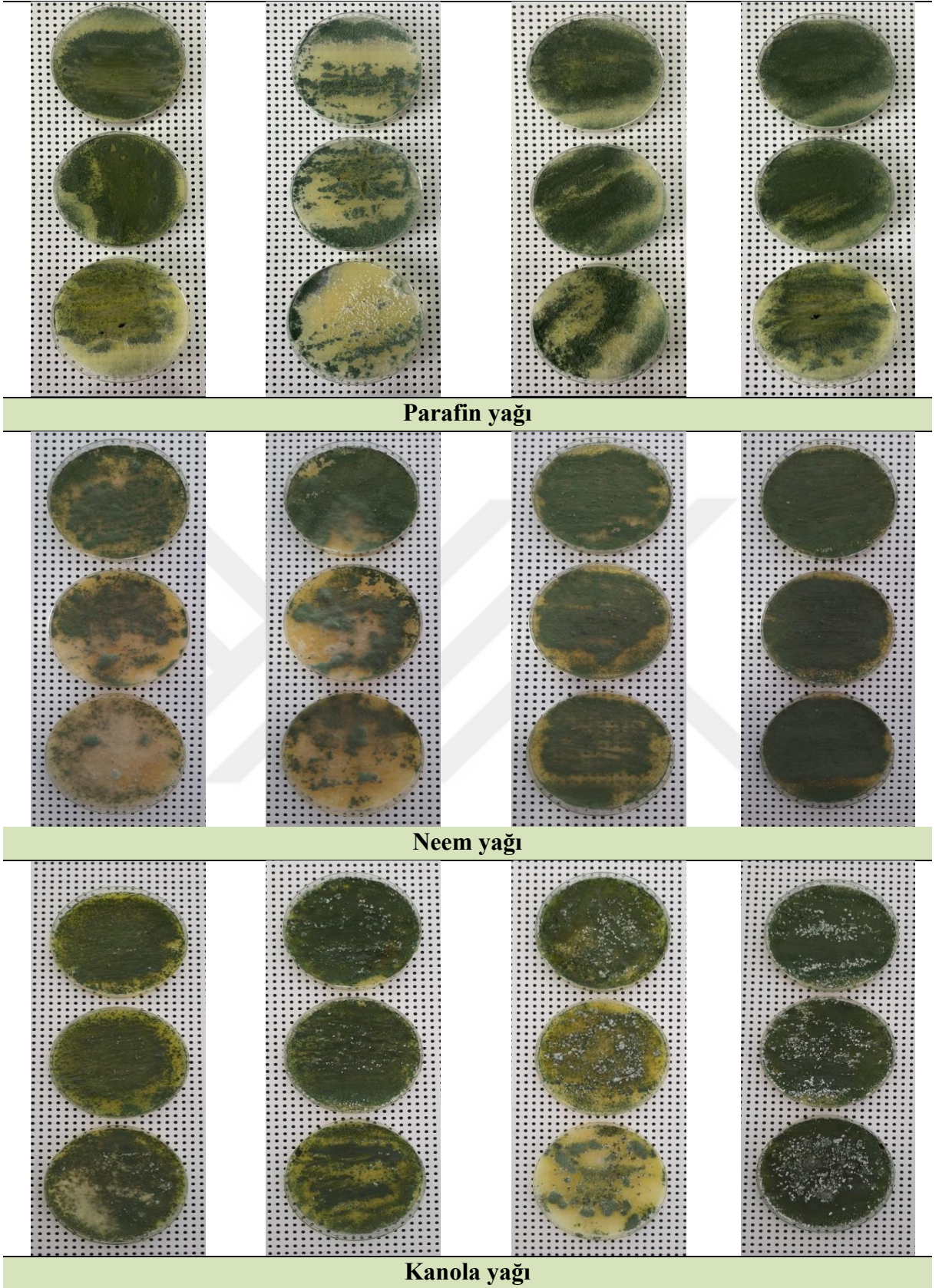


Şekil 13. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 8. ay canlılık testleri (Devamı)

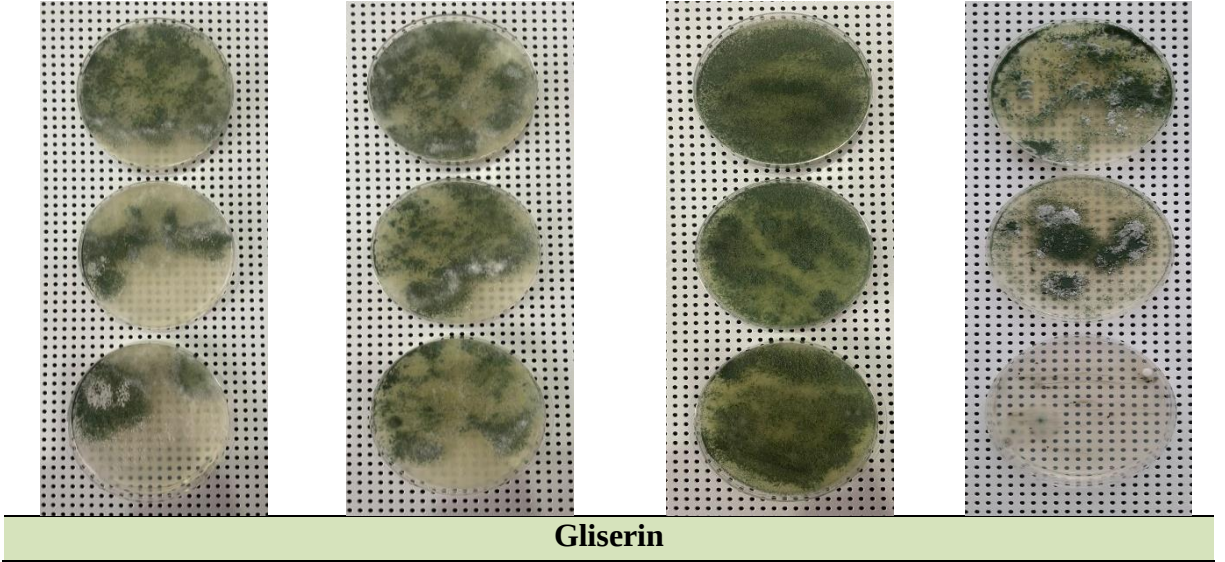
8. ay aktarılan fungus izolatlarının gelişmeleri değerlendirildiğinde soya ve gliserin ortamlarındaki fungus gelişimlerinin azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 13).



Şekil 14. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 9. ay canlılık testleri

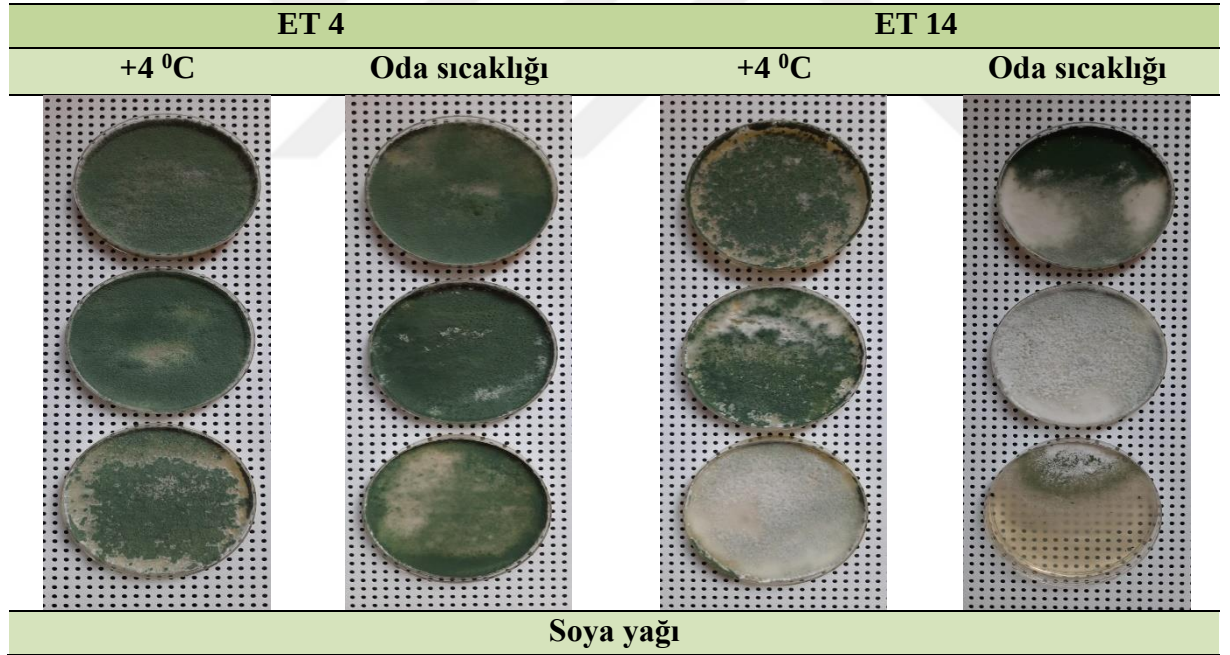


Şekil 14. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 9. ay canlılık testleri (Devamı)

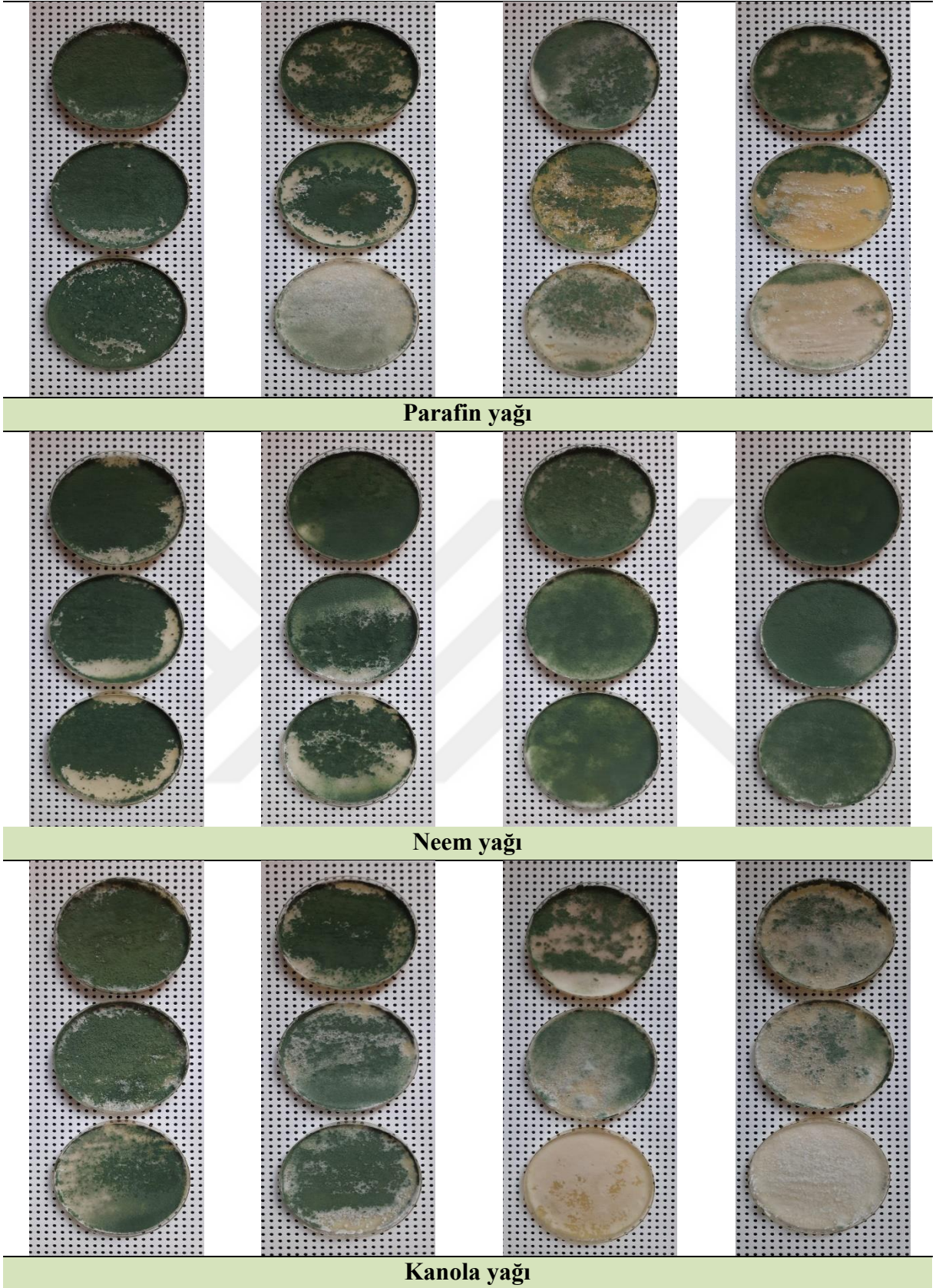


Şekil 14. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 9. ay canlılık testleri (Devamı)

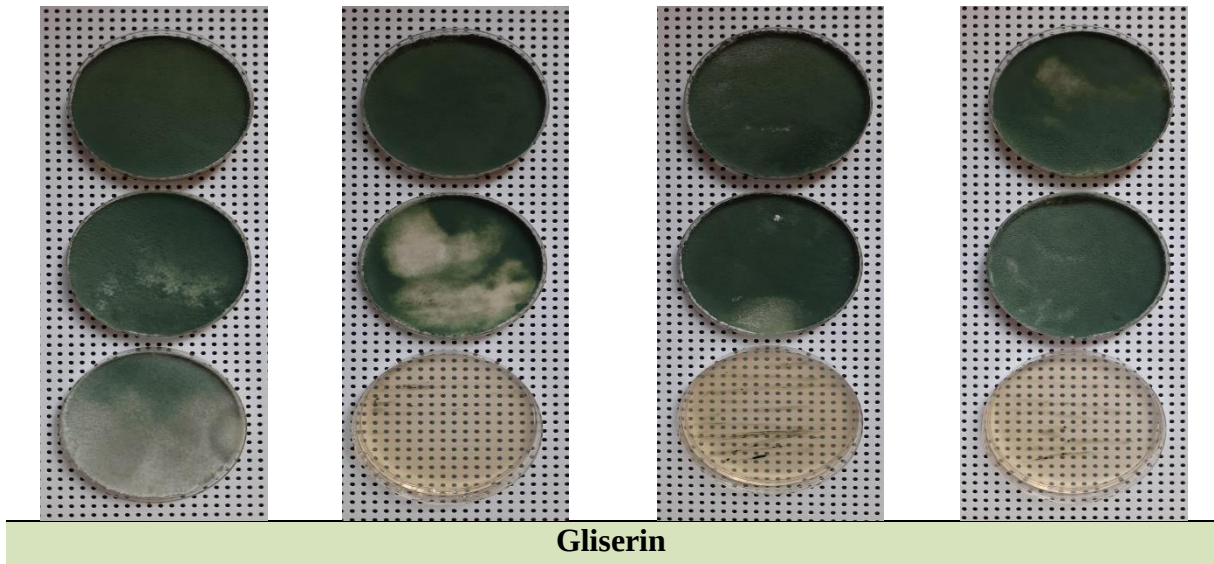
9. ay aktarılan fungus izolatlarının canlılık testleri değerlendirildiğinde parafin yağı, neem yağı ve kanola yağında gliserin ve soya ortamına göre daha iyi gelişme olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 14).



Şekil 15. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 10. ay canlılık testleri



Şekil 15. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 10. ay canlılık testleri (Devamı)



Şekil 15. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 fungus izolatlarının 10. ay canlılık testleri (Devamı)

10. ay aktarılan fungus izolatlarının canlılık testleri incelendiğinde fungusun en iyi neem yağı ortamında geliştiği görülmüştür. Diğer ortamlardaki gelişiminin daha önceki aylara kıyasla azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 15). 10 ay süresince muhafaza edilen *T. harzianum* fungus izolatlarının *A. solani* (ET 66)'ye karşı ikili testleri yapılmış, in vitro koşullarda patojen üzerinde etkililik sonuçları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 6. Uzun Süreli Taşıyıcı Ortamda Muhafaza Edilen *Trichoderma harzianum*'un ET 4 ve ET 14 İzolatlarının in Vitro Şartlarda *Alternaria solani*'nin ET 66 İzolatına Karşı Yüzde Engelleme Oranları

İzolatlar	YEO (%)	
ET 4		
Soya yağı	47.26	+
Parafin yağı	49.19	+
Neem yağı	52.33	++
Kanola yağı	48.01	+
Gliserin	37.85	+
ET 14		
Soya yağı	44.92	+
Parafin yağı	45.30	+
Neem yağı	49.60	+
Kanola yağı	51.56	++
Gliserin	46.48	+

YEO: Yüzde Engelleme Oranı

+: YEO ≤ % 50 : Az

++: %50 < YEO ≤ % 60: Orta

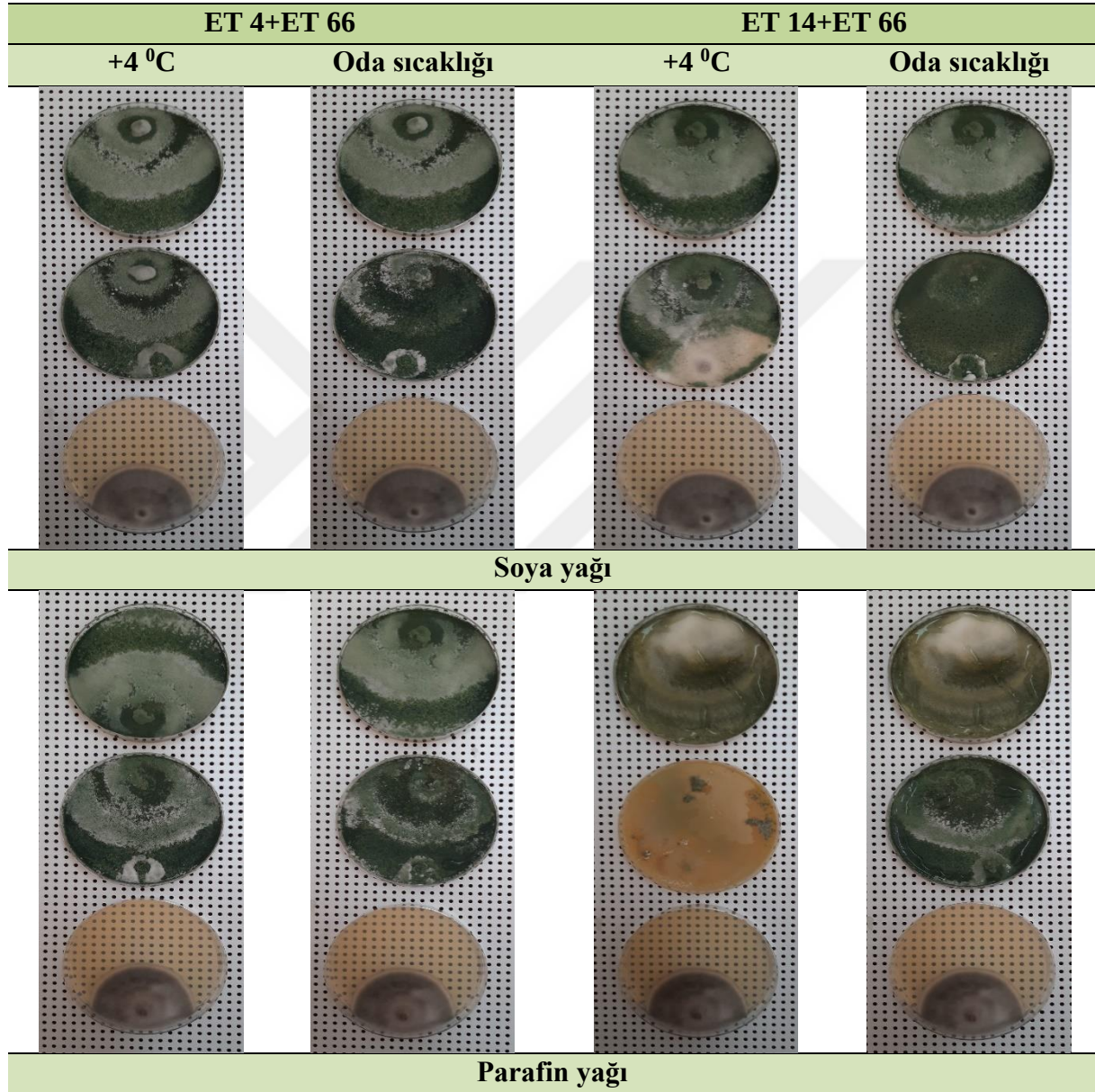
+++: %60 < YEO ≤ %75: Yüksek

++++: YEO > %75: Çok yüksek

Yapılan çalışmada farklı sıvı taşıyıcılarda muhafaza edilen *T. harzianum* ET 4 izolatının 10. ay sonunda yüzde engelleme oranı %37.85 ile %52.33 arasında değişmiş, en yüksek yüzde engelleme oranı neem yağından elde edilmiş (%52.33), bunu sırasıyla parafin yağı (%49.19), kanola yağı (%48.01), soya yağı (%47.26) ve gliserin (%37.85) takip etmiştir (Tablo 5). *T. harzianum* ET 14 izolatının 10. ay sonundaki yüzde engelleme oranı ise %44.92 ile %51.56

arasında değişmiş, en yüksek yüzde engelleme oranı kanola yağından elde edilmiş (%51.56), bunu sırasıyla neem yağı (%49.60), gliserin (%46.48), parafin yağı (%45.30), soya yağı (%44.92) takip etmiştir (Tablo 5). ET 4 ve ET 14 izolatlarının yüzde engelleme oranlarının birbirleri ile benzer sonuçlar verdiği görülmüştür (Tablo 5).

Farklı taşıyıcı ortamlarda uzun süre muhafaza edilen *T. harzianum* fungus izolatlarının patojen fungus *A. solani*'nin gelişimi üzerine etkisi Şekil 16'da verilmiştir.



Şekil 16. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 izolatlarının in vitro şartlarda *Alternaria solani* (ET66) gelişimi üzerine etkisi



Şekil 16. *Trichoderma harzianum* ET 4 ve ET 14 izolatlarının in vitro şartlarda *Alternaria solani* (ET66) gelişimi üzerine etkisi (Devamı)

Taşıyıcı ortamlarda uzun süreli muhafaza edilen ve daha sonra in vitro şartlarda etkililiğinin devam edip etmediği tespit edilen ET 4 ve ET 14 izolatlarının saksı denemeleri

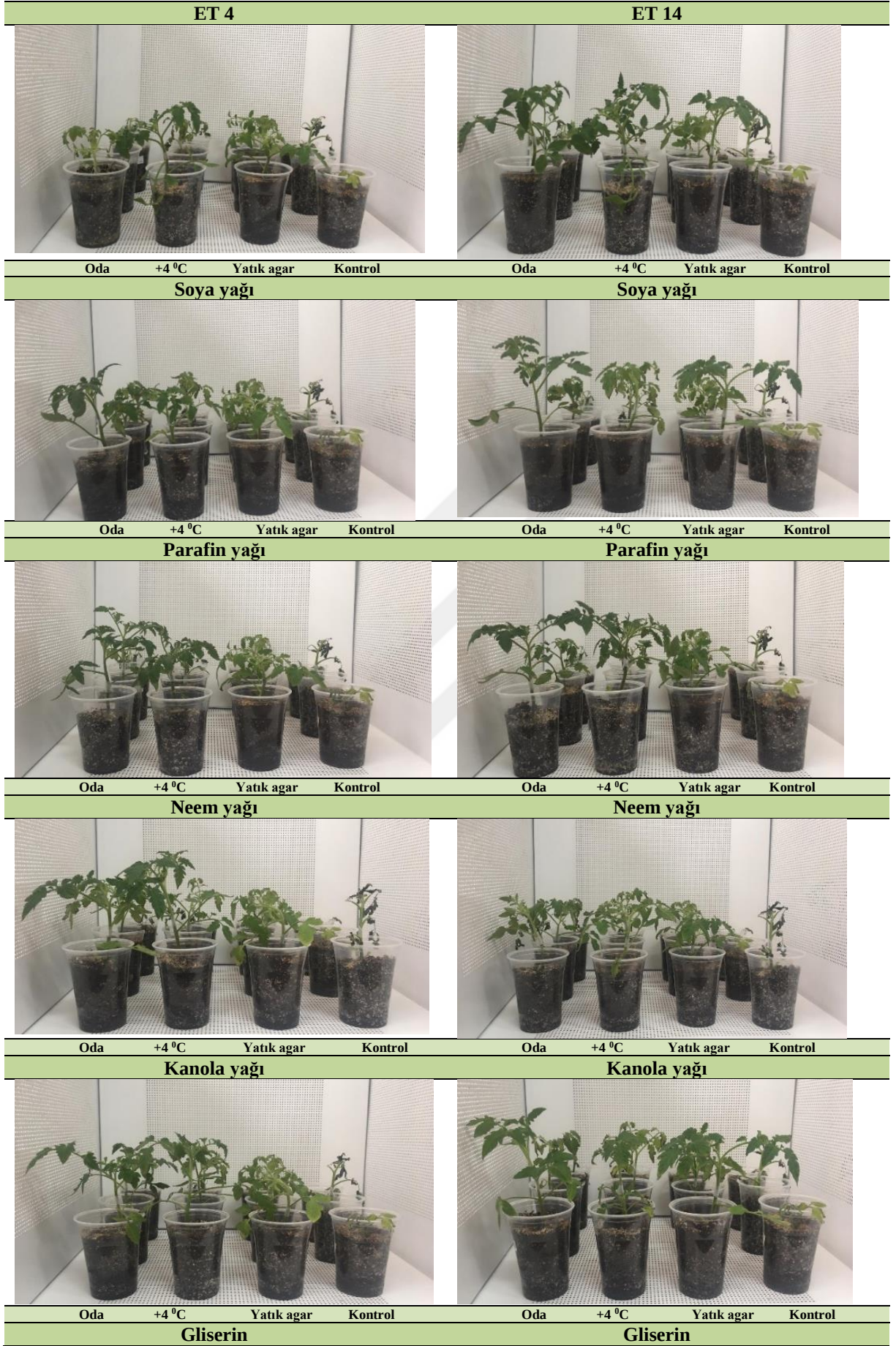
kurularak domates fideleri üzerinde de etkinliği belirlenmiş ve Viriyasuthee et al. (2019)'e göre hastalık şiddeti hesaplanmıştır (Tablo 6, Şekil 17).

Tablo 7. In vivo Şartlarda *Alternaria solani*'nin ET 66 İzolatına Karşı *Trichoderma harzianum*'un ET 4 ve ET 14 İzolatlarının Etkisi

ET 4				ET 14			
Uygulama		Hastalık Şiddeti (%)		Uygulama		Hastalık Şiddeti (%)	
Gliserin	+4 °C	3.34	A	Neem	Oda sıcaklığı	3.46	A
Neem	+4 °C	4.20	AB	Neem	+4 °C	3.95	A
Parafin	+4 °C	4.35	ABC	Gliserin	Oda sıcaklığı	3.96	A
Soya	Oda sıcaklığı	4.52	ABC	Kanola	Oda sıcaklığı	5.28	AB
Soya	+4 °C	5.36	ABC	Soya	Oda sıcaklığı	5.48	AB
Parafin	Oda sıcaklığı	5.51	ABCD	Soya	+4 °C	5.58	AB
Kanola	Oda sıcaklığı	6.45	BCD	Kanola	+4 °C	6.87	BC
Gliserin	Oda sıcaklığı	7.23	CDE	Parafin	+4 °C	7.05	BC
Neem	Oda sıcaklığı	8.37	DE	Parafin	Oda sıcaklığı	8.29	CD
Kanola	+4 °C	10.02	E	ET 14	+4 °C	8.35	CD
ET 4	+4 °C	13.91	F	ET 14	Oda sıcaklığı	8.36	CD
ET 4	Oda sıcaklığı	14.26	F	Gliserin	+4 °C	10.76	D
ET 66	+4 °C	61.36	G	ET 66	+4 °C	61.36	E
ET 66	Oda sıcaklığı	61.54	G	ET 66	Oda sıcaklığı	61.54	E
CV		11.67		CV		10.99	
LSD		2.94		LSD		2.64	

*Aynı sütunda benzer harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur (P<0.01).

Yapılan çalışmada domates bitkisinde *T. harziaum* ET 4 ve ET 14 izolatlarının az veya çok oranda *A. solani*'nin ET 66 izolatının hastalık şiddetinde farklılık meydana getirdiği tespit edilmiştir (Tablo 6). Ayrıca, sıvı taşıyıcıda uzun süre muhafaza edilen izolatların yatık agarda muhafaza edilen izolatlara göre hastalık şiddetini azalttığı kaydedilmiştir. En iyi sonuçlar +4 °C'de gliserinde muhafaza edilen ET 4'ten ve oda sıcaklığında neem yağında muhafaza edilen ET 14 izolatından elde edilmiştir (Tablo 6). ET 4 izolatı için, gliserini sırasıyla neem yağı, parafin yağı ve soya yağı, ET 14 izolatı için ise gliserin ve kanola yağı takip etmiştir (Tablo 6).



Şekil 17. In vivo şartlarda *Alternaria solani*'nin ET 66 izolatına karşı *Trichoderma harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının etkisi

TARTIŞMA ve SONUÇ

Trichoderma türleri başta toprak kaynaklı patojenler olmak üzere çok sayıda fungal bitki patojenine karşı umut verici biyolojik mücadele etmenleri arasında yer almaktadır (Elad and Kapat 1999; Harman 2006). Kolonilerinin hızlı gelişmesi ve başlangıçta saydam, sonrasında da renginin yeşile dönmesiyle karakterize edilen türlerdir. Bitki kök yüzeylerine kolonize olarak bitki metabolizmasında da değişikliklere neden oldukları yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Howel 2003; Kleifeld and Chet 1992). Bu türler içerisinde *Trichoderma harzianum* Rifai ise β -1-3 glükanazlar, kitinaz ve β -1-4 glükanazların üretimi, rekabet, antibiyotikler, inorganik bitki besinlerinin çözünürlüğü, patojen enzimlerinin inaktif hale getirilmesi ve dayanıklılığın teşvik edilmesi (Elad and Kapat 1999; Harman 2006) ve buna ilaveten toprak kaynaklı fungal patojenleri baskılayan uçucu metabolitlerin ve uçucu olmayan antibiyotiklerin üretimi, yer ve besin bakımından rekabet gibi etkileri ile antogonizm mekanizmaları da dahil olmak üzere birden fazla etki mekanizmasına sahiptir (Altomare *et al.* 1999; Harman *et al.* 2004; Akrami 2015). Bitki patojenlerinin gelişimlerini engelleyerek hastalığı azaltması, hormon benzeri metabolitler üretmesi, toprak veya organik maddeden besinleri çözebilmesiyle bitki gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar (Kleifeld and Chet 1992; Vinale *et al.* 2006). Özellikle de mikoparazitik olarak güçlü bir etki göstermesi ayrıca oluşturdukları antibiyotiklerin de etkili olması, araştırmacıların *Trichoderma*'lar üzerinde yoğunlaşmalarına neden olmuştur.

Daha önceki çalışmalardan hareketle *Trichoderma* türlerinin katı bazlı formülasyonunun, daha kısa raf ömrü ile ticari üretim için kullanışlı olmadığı, sıvı *Trichoderma* formülasyonunun ise daha iyi raf ömrüne sahip olduğu ve alt kültürleme nedeniyle özelliklerini kaybetmediği, yüksek sıcaklıktan etkilenmediği, alt kültürlemede özelliğinin kaybolmadığı ve tohum ile toprakta daha iyi hayatta kalabildiği bildirilmektedir (Hiralkar, 2012).

Katı ortamlarda depolama süresinin uzatılmasında olumlu etkiler gözlemlenen çalışmalar da mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, sıvı formülasyonun katı formülasyona kıyasla kuruma eğiliminden dolayı *T. harzianum*'un kurutulmuş konidial peletlerinin, *Rhizoctonia solani*'nin sklerotiyal çimlenmesini önlemede sıvı formülasyondan daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Cumagun and Ilag, 1998). Özellikle toz formülasyonların raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir. Tebeşir tozu, talk tozu, kömür tozu, tebeşir tableti gibi yedi farklı taşıyıcı baz formülasyonu kullanılarak yapılan bir çalışmada, en iyi sonuç (80×10^7 cfu/g) %15 kömür tozunda kaydedilmiş, ardından kapsüllerin (78.67×10^7 cfu/g), 260 güne kadar depolamada etkili olduğu saptanmıştır (Baghel *et al.*, 2014).

Daha önce konu ile ilgili yürütülen çalışmalarda farklı araştırmacılar tarafından *Trichoderma* türlerinin farklı ortamlarda uzun süre muhafaza edildikleri dikkati çekmektedir. Ayrıca, *Trichoderma* türlerinin bazı çalışmalarda katı ortamda, bazı çalışmalarda ise sıvı ortamda daha uzun süre muhafaza edilmiş olması da diğer önemli bir husustur.

Trichoderma 'ların katı ve sıvı hal fermentasyonlarından elde edilen konidi ile stabil emülsiyon formülasyonunda bitkisel mineral yağların bir kombinasyonu ile karıştırılarak hazırlandığı bir çalışmada ise, mikrobiyal ajanlar, petrol fraksiyonu (dizel, mineral yağlar) ve bitkisel yağlar (yer fıstığı vb.) gibi suyla karışmayan çözücüler içinde süspanse edilmiştir. Bu emülsiyon konsantrelerin, suda seyreltildiğinde anında homojen bir emülsiyon oluşumu sağlamak için yüksek konsantrasyonda yağda çözünür bir emülsiyonlaştırıcı madde ile muamele edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Kumar et al., 2014). *Trichoderma* 'nın bu tür formülasyonları çalışmada yaprak spreyleri olarak kullanılmış, yağ bazlı formülasyonların kuru havada yaprak spreyleri için uygun ve uzun raf ömrüne sahip oldukları belirlenmiş, sporların kurumaya karşı yağla kaplandığında kuru havalarda bile bitki yüzeyinde daha uzun süre hayatta kalabildikleri kaydedilmiştir. Aynı çalışmada *Botrytis cinerea* 'nın neden olduğu elma hasat sonrası çürümesinin kontrolü için *T. harzianum* 'un bir emülsiyon formülasyonu geliştirilmiştir (Kumar et al., 2014). Söz konusu çalışmada yağ bazlı formülasyonların raf ömrü açısından önemli bir yere sahip olduğu görülmektedir.

Daha önceki çalışmalar incelendiğinde *T. harzianum* 'un katı ortamdan ziyade sıvı ve yarı katı ortamda uzun süre boyunca canlılığının devam ettiği anlaşılmaktadır. Bunlara ilaveten *T. harzianum* 'un 199 kodlu izolatının katı, yarı katı ve sıvı formülasyonları *Tilletia laevi* 'in kontrolünde test edilmiş, katı formülasyonun enfeksiyonu (%39.07) azalttığı, verim ve verim bileşenlerinde yarı katı formülasyona göre daha iyi etki gösterdiği, ancak, sıvı formülasyonun kümelenme oranını (%25.31) arttırdığı, verim ve verim bileşenleri açısından da katı formülasyon ile hemen hemen aynı ve yarı katı formülasyondan ise daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (Booshehri, 2014).

Bu çalışmalardan *T. harzianum* 'un hem katı hem sıvı hem de yarı sıvı ortamlarda taşıyıcı ortama ilave maddeler eklendiğinde raf ömrünün uzadığı, canlılıklarının devam ettiği anlaşılmaktadır. Gliserol eklenmeden elde edilen formülasyonların 4-5 aylık raf ömürlerine kıyasla gliserol eklenen formülasyonlarda raf ömrünün 7-12 aya kadar uzadığı tespit edilen bir çalışmada biyo-etkinlik testlerinde, 12 ay süreyle depolamadan sonra bile gliserol ilave edilen formülasyonların domates bitkilerinde sorun olan *Fusarium* solgunluğundan %44-%50 oranında koruyabildiği tespit edilmiştir. Çalışmada, sıvı fermentasyonda üretilen fungal

formülasyonların raf ömrünü artırmak için üretim ortamına ozmotikantların eklenmesi önerilmiştir (Sriram et al., 2011).

Batta (2005) tarafından yürütülen bir çalışmada çeşitli yağlar (soya, hindistan cevizi, mısır) ile gliserin, distile steril su ve/veya suda çözünen mum kullanılarak %50-%50 su ve yağ fazları olarak ayrı ayrı hazırlanıp daha sonra su fazının yağ fazı üzerine eklenmesiyle elde edilen dokuz farklı formülasyonun elmada *B. cinera*'ya karşı etkinliği araştırılmış olup, suda çözünen mumun kullanıldığı formülasyonun 36 aya kadar raf ömrünün olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı formülasyonun yer fıstığında toprak kaynaklı hastalıklara karşı da etkili olduğu bildirilmiştir (Kumar et al. 2014).

Kanola yağı, parafin yağı, soya fasulyesi yağı, neem yağı ve gliserol gibi yağlar ve bunların farklı kombinasyonlarının kullanıldığı bir çalışmada ise, $+3.00 \times 10^4$ Cfu / ml ve 2.00×10^4 Cfu / ml canlı konidi içeren gliserol bazlı formülasyon ile parafin yağı bazlı formülasyonun on iki aylık saklama süresinde en iyi raf ömrü sonuçlarını verdikleri tespit edilmiştir (Ahamedemujtaba and Kulkarni, 2017).

Mevcut çalışmada biyolojik mücadele açısından önemli olan *T. harzianum*'un etkisini kaybetmeden uzun süre muhafaza edilebileceği sıvı ortamlar tespit edilmeye çalışılmıştır. İlk aşamada daha önce farklı patojenler üzerinde etkili olduğu tespit edilmiş olan ET 4 ve ET 14 izolatlarının *Alternaria solani* üzerinde in vitro ve in vivo şartlarda etkisi tekrar test edilmiş, daha sonra da beş farklı sıvı ortama alınarak uzun süre muhafaza edilen izolatların in vitro koşullarda PDA'ya aktararak gelişmeleri kontrol edilmiştir. On ay boyunca yapılan in vitro testlerin sonunda ise *A. solani* üzerinde in vitro ve in vivo şartlarda etkililik testleri yapılmış ve etkililiğinin devam edip etmediği tespit edilmiştir.

Farklı sıvı taşıyıcılarda muhafaza edilen *T. harzianum* ET 4 izolatının 10. ay sonunda yüzde engelleme oranı %37.85 ile %52.33 arasında değişmiş, en yüksek yüzde engelleme oranı neem yağından elde edilmiş (%52.33), bunu sırasıyla parafin yağı (%49.19), kanola yağı (%48.01), soya yağı (%47.26) ve gliserin (%37.85) takip etmiştir (Tablo 5). *T. harzianum* ET 14 izolatının 10. ay sonundaki yüzde engelleme oranı ise %44.92 ile %51.56 arasında değişmiş, en yüksek yüzde engelleme oranı kanola yağından elde edilmiş (%51.56), bunu sırasıyla neem yağı (%49.60), gliserin (%46.48), parafin yağı (%45.30), soya yağı (% 44.92) takip etmiştir (Tablo 5). ET 4 ve ET 14 izolatlarının yüzde engelleme oranlarının birbirleri ile benzer sonuçlar verdiği görülmüştür (Tablo 5).

Saksı denemelerinde ise en iyi sonuçlar $+4^{\circ}\text{C}$ 'de gliserinde muhafaza edilen ET 4'ten ve oda sıcaklığında neem yağında muhafaza edilen ET 14 izolatından elde edilmiştir (Tablo 6).

ET 4 izolatu için, gliserini sırasıyla neem yağı, parafin yağı ve soya yağı, ET 14 izolatu için ise gliserin ve kanola yağı takip etmiştir (Tablo 6).

Çalışma sonuçları, Batta (2005), Sriram et al. (2011) ve Ahamedemujtaba and Kulkarni (2017) tarafından yürütölen çalışmalarla paralellik göstermekte olup, *T. harzianum* 'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının neem yağı, gliserin ve parafin yağı gibi sıvı taşıyıcılarda 10 ay süreyle başarılı bir şekilde saklanabileceğı tespit edilmiştir. İlgili yönetmeliğe uygun olarak ilave edilecek diğör bileşenler ile biyoajanın raf ömrünün artırılmasına yönelik ilave çalışmalar yapılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Ahamedemujtaba V. and Kulkarni S., 2017. Shelf Life of *Trichoderma harzianum* an Antagonist in Different Oil Based Formulations. IRA-International Journal of Applied Sciences (ISSN 2455-4499), 6(2): 34-40. doi:http://dx.doi.org/10.21013 /jas. v6.n2.p2
- Akrami, M., & Yousefi, Z. (2015, January). Biological control of *Fusarium* wilt of tomato (*Solanum lycopersicum*) by *Trichoderma* spp. as antagonist fungi. In *Biological Forum* (Vol. 7, No. 1, p. 887). Research Trend.
- Altomare, C., Norvell, W. A., Björkman, T. H. O. M. A. S., & Harman, G. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied and Environmental Microbiology, 65(7), 2926-2933.
- Anonim, (2023). Bitki Koruma Ürünleri, Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Bitki Koruma Ürünleri Daire Başkanlığı. <https://bku.tarimorman.gov.tr/>
- Avan, M., Kotan, R. (2021). Fungusların mikrobiyal gübre veya biyopestisit olarak tarımda kullanılması. Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi, 3(1): 167-191.
- Aydın M.H., (2015). Bitki fungal hastalıklarıyla biyolojik savaşta *Trichoderma*'lar. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 2(2): 135-148.
- Baghel S., Dewangan P., Koma B and Verma K., 2014. Studies on *Trichoderma viride* formulations for enhancing its storability The Bioscan 9(3): 1313-1316.
- Batta Y. A. (2005). Postharvest biological control of apple gray mold by *Trichoderma harzianum* formulated in an invert emulsion. Crop Protection., 23(1): 19-26.
- Booshehri S.M.S., 2014. Effects of physical state of formulations on the potential of *Trichoderma harzianum* 199 against wheat common bunt. J. Crop Prot. 3: 615-624.
- Eken C., Demirci, E. 1997. Fungusların biyolojik mücadelede kullanımı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(1): 138-152.
- Carson R., 1962. Silent Spring. Houghton Mifflin Company, Boston, MA.
- Celaya A.L.M., Garciaa M.O., Carter E.J.V., Rinconb J.J., Galindoa E. and Carreona L.S., 2012. Spray-drying microencapsulation of *Trichoderma harzianum* conidia in carbohydrate polymers matrices. Carbohydrate Polymers, 88: 1141-1148.
- Cumagun, C.J.R., Ilag, L.L., 1998. Parasitism of sclerotial bodies of *Rhizoctonia solani* Kuehn by *Trichoderma harzianum* Rifai and *Penicillium oxalicum* Currie and Thom. Philipp. Phytopathol., 33: 17-26.
- Çamlıca E., Tozlu E., 2019. Biological control of *Alternaria solani* in tomato. Fresenius Environmental Bulletin, 7092: 7092-7100.
- Elad, Y., Kapat, A., 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. European Journal Plant Pathology, 105: 177-189.
- Erzincanlı, H. O. (2021). Organik Ötesi Tarım (Vol. 66). Yeni İnsan Yayınevi.
- 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(2), 190-194.

- Hiralkar P.M., 2012. Studies on production technology of liquid formulation of *Trichoderma*. Master Thesis, Department of Plant Pathology and Agricultural Microbiology, Post Graduate Institute, Rahuri-Maharashtra State, India, 59 p.
- Howell, C.R., 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87(1): 4-10.
- Jayaraj J., Radhakrishnan N.V., Velazhahanet R. 2006. Development of formulations of *Trichoderma harzianum* strain M1 for control of damping-off of tomato caused by *Pythium aphanidermatum*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 39(1): 1-8, doi:10.1080/03235400500094720
- Jean S.V., Herbert S., Hong, Y.G., 2006. Design of formulations for improved biological control agent viability and sequestration during storage. *Industrial Biotechnol.*, 3: 213-219.
- Jin X., Custis D., 2011. Microencapsulating aerial conidia of *Trichoderma harzianum* through spray drying at elevated temperatures. *Biological Control*, 56: 202-208.
- Khan S., Bagwan N.B., Iqbal M.A., Tamboli, R.R., 2011. Mass multiplication and shelf life of liquid fermented final product of trichoderma viride in different formulations. *Advances in Bioresearch*, 2(1): 178- 82.
- Kleifeld, O., & Chet, I. (1992). *Trichoderma harzianum* interaction with plants and effect on growth response. *Plant and soil*, 144, 267-272.
- Kobori N.N., Mascarín G.M., Jackson M.A., Schisler D.A., 2015. Liquid culture production of microsclerotia and submerged conidia by *Trichoderma harzianum* active against damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biology*, 119: 179-190.
- Kotan, R. and Tozlu, E., 2021. Bazı pestisitlerin faydalı bakteriler ve patojen bakteriler üzerine bakterisidal etkilerinin belirlenmesi. *JOTAF/ Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 18 (2), 197-212.
- Kotan, R., 2020. Tarımda Biyolojik Çözümler. Harman Yayıncılık, İstanbul, ISBN: 978-605-68060-4-9. Haziran 2020. s.158.
- Kumar S., Thakur M., Rani A., 2014. *Trichoderma*: Mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. *African Journal of Agricultural Research*, 9(53): 3838-3852.
- Lampkin, N. H. (1994). Organic farming: sustainable agriculture in practice. The economics of organic farming An international perspective, CAB International, Oxon (UK).
- Mbarga J.B., Begoude B.A.D., Ambang Z., Meboma M., Kuate J., Schiffers B., Ewbank W., Dedieu L., ten Hoopen G.M., 2014. A new oil-based formulation of *Trichoderma asperellum* for the biological control of cacao black pod disease caused by *Phytophthora megakarya*. *Biological Control*, 77:15-22.
- Navaneetha T., Prasad R.D., Venkateswar R.L., 2015. Liquid formulation of *Trichoderma* species for management of gray mold in castor (*Ricinus communis* L.) and alternariaster leaf blight in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Biofertilizers and Biopesticides*, 6:1, doi: 10.4172/2155-6202.1000149.
- Papavizas G.C., 1985. *Trichoderma* and *Glocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review Phytopathology*, 23: 23-54.
- Poppy G.M., 1997. Tritrophic interactions: improving ecological understanding and biological control. *Endeavour*, 21: 61-65.

- Prasad R.D., Rangeswaran R., Anuroop C.P., Phanikumar P.R., 2002. Bioefficacy and shelf life of conidial and chlamydospore formulations of *Trichoderma harzianum* Rifai. J. BioI. Control, 16(2): 145-148.
- Sandoval M.T.F., García M.O., Galindo E., Carreón L.S., 2012. Cellular damage during drying and storage of *Trichoderma harzianum* spores. Process Biochemistry, 47(2): 186-194.
- Skidmore A.M., Dickinson, C.M., 1976. Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and *Phylloplane* fungi. Transactions of the British Mycological Society. 66: 57-64.
- Sriram S., Roopa K.P., Savitha M.J., 2011. Extended shelf-life of liquid fermentation derived talc formulations of *Trichoderma harzianum* with the addition of glycerol in the production medium. Crop Protection, 30: 1334-1339.
- Tekiner N., Kotan R., Tozlu E., Dadaşoğlu F., 2019. Determination of some biological control agents against *Alternaria* fruit rot in quince. Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi, 34(1): 25-31.
- Tekiner N., Kotan R., Tozlu E., Dadaşoğlu F., 2020. Biological control of *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* with bioagent bacteria and fungi under in vitro conditions. Fresenius Environmental Bulletin, 29(1): 640-649.
- Tozlu E., Tekiner N., Kotan R., 2017. Screening of *Trichoderma harzianum* Rifai (1969) isolates of domestic plant origin against different fungal plant pathogens for use as biopesticide. International Conference on Advances in Natural and Applied Science (ICANAS), 18-21 April, Antalya, Turkey, 187.
- Tozlu E., Tekiner N., Kotan R., 2018a. Screening of *Trichoderma harzianum* Rifai (1969) isolates of domestic plant origin against different fungal plant pathogens for use as biopesticide. Fresenius Environmental Bulletin, 27(6): 4232-4238.
- Tozlu E., Tekiner N., Kotan R., Örtücü, S., 2018b. Investigation on the biological control of *Alternaria alternata*. Indian Journal of Agricultural Sciences, 88(8): 1241-1247.
- Uygun N., Ulusoy M.R., Satar S., 2010. Biyolojik mücadele. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1(1): 1-14.
- Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E.L., Lorita, M., Sivasithamparam, K., 2006. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. Letters in Applied Microbiology, 43: 143-148.
- Viriyasuthee V., Saepaisan S., Saksirirat W., Gleason M.L., Chen R.S., Jogloy S., 2019. Effective plant ages for screening for field resistance to *Alternaria* leaf spot (caused by *Alternaria* spp.) under natural infection in jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). Agronomy, 9:754. doi:10.3390/agronomy9110754.
- Yıldırım, E. (2012). Tarımsal Zararlılarla Mücadele Yöntemleri ve İlaçlar. 3. Baskı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No, 219. 29 s
- Weindling R., 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology, 22: 837- 845.
- Weindling R., 1934. Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology, 24: 1153-1179.
- Weindling R., 1941. Experimental consideration of the mold toxin of *Gliocladium* and *Trichoderma*. Phytopathology, 31: 991-1003.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Yasemin Esra KARA
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	-
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Fitopatoloji Bölümü
Yüksek lisans:	