

Nohut (*Cicer arietinum* L.)'ta Solgunluğa Neden Olan *Fusarium oxysporum*'un Biyolojik Mücadelesi


Mehmet Hadi AYDIN*

Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Siirt, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 29.10.2018

Kabul Tarihi/Accepted: 23.01.2019

ORCID ID

 orcid.org/0000-0003-3135-4621

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: hadiaydin@hotmail.com

Öz: Bu çalışma, nohut solgunluk hastalığına neden olan *Fusarium oxysporum*'a karşı bazı *Trichoderma* türlerinin etkinliğini belirlemek amacıyla 2017-2018 yılları arasında in vivo ve in vitro koşullarında yürütülmüştür. *F. oxysporum*'un N5 ve N7 izolatına karşı, PDA besiyerinde, ikili kültür yöntemine göre, 22 ± 24 °C'de yürütülen denemede, etkili izolatlar sırasıyla *T. hamatum* ÖT 16, *T. asperellum* ÖT1, *T. strigosum* LO43, *T. gamsii* VG47 ve *T. gamsii* VG48 olarak belirlenmiştir. İn vivo koşullarında ise, bulaşık saksı toprağında, nohut tohumlarına antagonist uygulayarak yürütülmüştür. *Trichoderma*'ların nohut solgunluk patojenlerini farklı oranlarda etkilediği, etkili izolatların ise sırasıyla *T. hamatum* ÖT16, *T. viride* VG18, *T. gamsii* VG47 olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, nohut solgunluk hastalığına karşı biyolojik mücadelede, *Trichoderma*'ların etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Nohut, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp., biyolojik mücadele

The Biological Control of *Fusarium oxysporum* Causing Wilting in Chickpea (*Cicer arietinum* L.)

Abstract: This research was conducted to determine the effectiveness of some *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* causing Chickpea wilt disease under in vitro and in vivo conditions between 2017 and 2018. On the experiment conducted in PDA medium by using dual culture technique with an incubation at 22 ± 24 °C against two isolates of *F. oxysporum* (N5 and N7), the most effective isolates were *T. hamatum* ÖT 16, *T. asperellum* ÖT1, *T. strigosum* LO43, *T. gamsii* VG47, and *T. gamsii* VG48, respectively. In vivo experiment was carried out by applying an antagonist to chickpea seeds at artificially contaminated soil. *Trichoderma* affected pathogen in different rates. The most effective isolates were *T. hamatum* ÖT16, *T. viride* VG18, and *T. gamsii* VG47, respectively. In the study, it was concluded that *Trichoderma* is effective in biological control against chickpea wilt disease.

Keywords: Chickpea, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp., biological control

1. Giriş

Nohut, yemeklik tane baklagiller içerisinde kültüre alınan ilk bitkilerdendir. Gen merkezi olarak, Türkiye'nin de içinde bulunduğu Doğu Akdeniz Bölgesi gösterilmektedir (Akçin, 1988). Nohut, 2015 yılı itibarıyla dünyada 13.200.540 hektar ekim alanı ve 12.200.000 ton üretim miktarına sahiptir.

Türkiye, aynı yıl verilerine göre 395.309 hektar ekim alanı ve 455.000 ton üretim miktarı ile Hindistan, Avustralya ve Pakistan'dan sonra dördüncü sırada yer almaktadır. Türkiye'de nohut ekiliş alanlarının yaklaşık % 14'ü Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yer almakta olup; Diyarbakır, Siirt ve Mardin illeri başta olmak üzere yörede

72.800 ton civarında nohut üretilmektedir (Anonim, 2018).

Nohut üretimini sınırlandıran en önemli faktörlerden biri de fungal hastalıklardır. Dünyanın farklı bölgelerinden 50'den fazla patojen, nohut bitkisinde rapor edilmiştir. Bunların bir kısmının nohut üretim bölgelerinde önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (Nene ve Reddy, 1987). Bu hastalıkların önemlileri sırasıyla; Nohut antraknozu (*Ascochyta rabiei*), *Fusarium* solgunluğu (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*), siyah kök çürüklüğü (*F. solani*), renkli çürüklük (*Sclerotium rolfsii*), ıslak kök çürüklüğü (*Rhizoctonia solani*), phytophthora kök çürüklüğü (*Phytophthora megasperma*), pythium kök çürüklüğü (*Pythium ultimum*), ayak çürüklüğü (*Operculella padwickii*) ve gövde çürüklüğü (*Sclerotinia sclerotiorum*)'dür. *Ascochyta rabiei* hariç diğer patojenlerin çoğunluğu, nohutta solgunluk ve kök-kökboğazı çürüklüğüne neden olurlar. Solgunluk ve kök-kökboğazı çürüklüğü patojenleri içinde *Fusarium oxysporum* Schlechtend: Fr. f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo & K. Sato'nun nohut üretim alanlarında en yaygın görülen ve % 10 ile % 40 oranda ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmektedir (Nene ve ark., 1984; Kaiser ve ark., 1994, Abou-Zeid ve Hallila, 2003). Patojen konukçu bitkinin yokluğuna rağmen toprakta yıllarca yaşayabilmektedir. Bu yüzden mücadelesi oldukça zordur (Haware ve ark., 1996). Nohut solgunluk ve kök çürüklüğü patojenlerinin de bir çok ülkede önemli verim kayıplarına neden olduğu rapor edilmektedir (Trapero-Casas ve Jimenez-Diaz, 1985; Pandey ve Singh, 1990; Demirci ve ark., 1999; Abou-Zeid ve Hallila, 2003). *F. oxysporum*'un neden olduğu solgunluk hastalığının, nohutta en yaygın görülen ve zarar oluşturan hastalık kompleksi olduğunu, bunu kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan ve bitkide solgunluğa da neden olan *F. solani* (Mart.) Appl. & Wr veya *F. eumartii* Carpenter'nin takip ettiği bildirilmiştir (Jimenez-Diaz ve Trapero-Casas, 1990). Türkiye'nin 15 farklı ilinde, 2001-2002 yıllarında yapılan survey çalışmasında, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. acuminatum*, *Macrophomina phaseolina* ve *Rhizoctonia solani*'nin nohutlarda solgunluk ve kök çürüklüğüne neden olan hastalık etmenleri olduğu saptanmıştır. En yaygın olarak izole edilen patojenin *F. oxysporum* olduğu ve bunu *F. solani* ve *M. phaseolina*'nin takip ettiği rapor edilmiştir (Bayraktar ve Dolar, 2009).

Nohutta solgunluk ve kök çürüklüğü hastalıklarına karşı, tarlada arta kalan bitki artıklarının yok edilmesi, münavebe, hastalıktan ari

tohumlukların kullanılması, tolerant çeşitlerin geliştirilmesi ve tohum uygulamaları şeklinde mücadele programı uygulanmaktadır (Jimenez-Diaz ve Trapero-Casas, 1985). Ancak patojenin saprofitik yaşama özelliği ve dayanıklı çeşitlerin sınırlı sayıda geliştirilmesi nedeniyle bu önlemler yetersiz kalmaktadır (Landa ve ark., 2004; Jimenez-Diaz ve ark., 2015).

Biyolojik mücadelede bu hastalıkla mücadele ileri bir adım olarak düşünülebilir. *Trichoderma* 'lar biyolojik mücadelede en çok kullanılan antagonistler olarak bilinmektedir. Doğada hemen hemen tüm toprak ve doğal habitatlarda ve özellikle organik madde içeren alanlarda bulunmaktadır (Papavizas, 1985). Bitki patojenlerine karşı mikoparazitizm, antibiyotik üretimi, yer-besin için yarışma ve bitkide gelişimi teşvik etme şeklindeki mekanizmaları kullanmaktadır (Yedidia ve ark.1999; Kredics ve ark., 2003). *Trichoderma* 'lar günümüzde üzerinde en fazla araştırma yapılan konulardan biri haline gelmiş ve çok sayıda ticari preparat geliştirilip, bitki patojenlerine karşı kullanılmaktadır (Aydın, 2015). *Trichoderma* türlerinin tarla ve sera koşullarında uygulandığında, nohut ve diğer bazı bitkilerde kök çürüklüğü ve solgunluk patojenlerine karşı etki gösterdikleri bazı çalışmalarda ortaya konulmuştur (Datnoff ve ark.,1995; Dubey, 1998, 2000, 2002, 2003; Kumar ve Dubey, 2001; Fravel ve ark.,2003; Djonovic ve ark.2007; Aydın ve Turhan, 2009, 2011, 2013). Sera koşullarında *T. viride* ve *T. harzianum* izolatlarının *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in misel gelişimini yüksek oranda engellediğini, bitki gelişimini uyardığını, kök ve gövde kısımlarının gelişimini arttırdığı ve solgunluk oranını da azalttığı bildirilmiştir (Harman, 2000; Harman ve ark., 2004; Bae ve ark., 2009). Yine Poddar ve ark. (2004)'nın yaptıkları bir çalışmada, *T. harzianum*'un nohut bitkisine uygulanmasıyla, *F. oxysporum*'un neden olduğu solgunluk oranının azaldığı bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise *Trichoderma* türlerinin, Carboxin etkili maddeli fungusit ile kombine edilmesi sonucunda, nohutta solgunluk oranının, % 42.6 ile % 72.9 arasında azaldığı bildirmiştir (Dubey, 2007).

Bu çalışmada, *Fusarium oxysporum* N5 ve N7 izolatlarına karşı bazı *Trichoderma* türlerinin in vitro ve in vivo koşullarında etkinliği araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışma; 2017-2018 yıllarında Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde laboratuvar ve oda koşullarında yürütülmüştür. Çalışmalarda hassas nohut çeşidi, ILC-482 kullanılmıştır.

2.1. *Fusarium oxysporum* izolatları ve *Trichoderma* türlerinin elde edilmesi

Çalışmada kullanılan *F. oxysporum*'un N5 ve N7 izolatları, Siirt ili Kezer bölgesinde ve Mardin ili Kızıltepe ilçesinden solgunluk belirtisi gösteren nohut bitkilerden izole edilmiştir. Bu iki izolatın mikroskopik ve moleküler teşhisi ile virulenslikleri daha önce yapılan bir çalışmada belirlenmiştir (Aydın ve İnal, 2018). *Trichoderma*'lar ise; Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü laboratuvarında, kültür koleksiyonundan alınmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan *Trichoderma* türleri

İzolat no	Antagonistler
ÖT 1	<i>T. asperellum</i> Samuels, Lieckf. & Nirenberg
VG 185	<i>T. viride</i> Pers.
LO8	<i>T. strigosum</i> Bissett
VG 47	<i>T. gamsii</i> Samuels & Druzhin.
KB 31	<i>T. virens</i> (J.H.Mill., Giddens&A.A.Foster) Arx
LO 52	<i>T. harzianum</i> Rifai
TZ 16	<i>T. harzianum</i> Rifai
A 15	<i>T. neokoningii</i> Samuels & Soberanis
KEB 12	<i>T. inhamatum</i> Veerkamp & W. Gams
VG 3	<i>T. atroviride</i> Bissett
VG 2	<i>T. tomentosum</i> Bissett.
ÖT 16	<i>T. hamatum</i> (Bonord.) Bainier
VG 19	<i>T. viride</i> Pers.
LO 43	<i>T. strigosum</i> Bissett
VG 48	<i>T. gamsii</i> Samuels & Druzhin

2.2. *Trichoderma* türlerinin *F. oxysporum*'un N5 ve N7 izolatlarına karşı etkinliğinin in vitroda araştırılması

Çalışmada kullanılmak üzere seçilen *F. oxysporum*'un N5 ve N7 izolatlarına karşı Tablo

1'de verilen *Trichoderma* türlerinin etkinliği, ikili kültür yöntemine göre araştırılmıştır. Bunun için *F. oxysporum* izolatları ile *Trichoderma* antagonistleri PDA (Potato Dextrose Agar, Merck) üzerinde karşılıklı olarak nokta şeklinde, eşit mesafede, aynı gün içinde ekilmiştir. Daha sonra 22±24 °C'ye ayarlanmış inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Çalışma, her petri kutusu bir tekerrür olarak kabul edilerek, 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Değerlendirme, patojen kolonisinin ilk antagonist tarafından tamamıyla kaplandığı dönemde, kaplama hızı ve yoğunluğu dikkate alınarak, Turhan (1990) tarafından önerilen Tablo 2'de verilen skalaya göre yapılmıştır. Antagonist ve patojen arasında parazitik özellik olup olmadığını belirlemek için, karşılıklı etkileşimin olduğu kısımdan alınan kültürler mikroskop altında incelenmiştir.

2.3. *Trichoderma* türlerinin *F. oxysporum*'un N5 ve N7 izolatlarına karşı etkinliğinin in vivo da araştırılması

İnvitro çalışması sonucu seçilen 6 *Trichoderma* türü (*T. hamatum* ÖT16, *T. virens* KB31, *T. harzianum* LO52, *T. viride* VG18, *T. asperellum* ÖT1, *T. gamsii* VG47) ve *F. oxysporum*'un iki izolatı (N5 ve N7) ile oda koşullarında sakı çalışması yürütülmüştür. Çalışmanın aşamaları aşağıda sıralanmıştır.

2.3.1. Tohum ve inokulum hazırlama

Nohut tohumları % 1'lik NaOHCI ile 5 dakika boyunca dezenfekte edilmiş, daha sonra kurutulmaya bırakılmıştır. İnokulum hazırlamada, Nene ve Haware (1980) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. İnokulum için, nohut unu ve

Tablo 2. İn vitroda bazı antagonistlerin *F. oxysporum* N5 izolatına karşı etkinliği

Antagonist	Skala değeri (Turhan, 1990)			
	1. Tekerrür	2. Tekerrür	3. Tekerrür	4. Tekerrür
<i>T. hamatum</i> ÖT16	KH+KA	H	KH+A	KH+KA
<i>T. virens</i> KB31	H+KA	H+KA	H	H+KA
<i>T. viride</i> VG19	ZH	ZH	ZH	ZH
<i>T. harzianum</i> LO52	H	H	H	H
<i>T. harzianum</i> TUZ16	H+A	H+A***	H+A	H+A
<i>T. viride</i> VG18	ÇKH*	ÇKH	KH	ÇKH
<i>T. strigosum</i> LO8	ZH+A	ZH	ZH+ZA****	ZH
<i>T. inhamatum</i> KEB12	H	H	H	H
<i>T. asperellum</i> ÖT1	KH+KA**	KH+KA	H+A	KH+KA
<i>T. gamsii</i> VG47	KH+KA	KH+KA	KH+A	KH
<i>T. tomentosum</i> VG2	ZH+A	ZH	ZH+A	ZH
<i>T. neokoningii</i> A15	ZH	ZH	ZH	ZH
<i>T. atroviride</i> VG3	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
<i>T. strigosum</i> LO43	KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
<i>T. gamsii</i> VG48	KH+KA	KH+KA	KH+KA	KH+KA

*: Çok güçlü antibiosis ya da mikoparazitizm: Engelleme zonu 10 mm den geniş, ya da antagonist patojen kolonisini bütünüyle örtmüştür; **: Güçlü antibiosis ya da mikoparazitizm: Engelleme zonu 7-10 mm, ya da antagonist patojen kolonisi üzerinde güçlü bir gelişme gösteriyor; ***: Orta derecede antibiosis veya orta derecede mikoparazitizm: Engelleme zonu 3-6 mm, ya da antagonistin patojen kolonisi üzerindeki gelişimi kolayca fark ediliyor; ****: Zayıf antibiosis yada zayıf mikoparazitizm: Engelleme zonu 3 mm'den dar, antagonistin patojen kolonisi üzerinde oldukça zayıf geliştiği fark ediliyor.

ince kum karışımı (45 g kum ve 5 g nohut unu) karıştırılarak 250 ml'lik cam şişelere koyulmuştur. Patates Dextrose Agar (PDA) üzerinde 22±24 °C'de geliştirilen 7-10 günlük *F. oxysporum* N5 ve N7 kültürlerinden alınan diskler bu şişelere aktarılmış ve bu şişeler iki hafta inkübe edildikten sonra, 25 cm'lik saksılarda, otoklavda steril edilmiş 2 kg'lık torf, kum ve toprak karışımına, 60-70 g inokulum olacak şekilde karıştırılmıştır.

2.3.2. *Trichoderma* süspansiyonların hazırlanması

Antagonistik *Trichoderma*'lar PDA ortamında bir hafta geliştirildikten sonra üzerine su eklenip, spatula ile kazınarak çift katlı tülbenkten geçirilmiş ve böylece sporların besiyerden ayrılması sağlanmıştır. Steril su eklenerek spor süspansiyonu hazırlanmış ve mikroskopta haematocytometre (kan sayma lamı) yardımıyla sayım yapılarak spor yoğunluğu 1×10^7 spor ml'e ayarlanmıştır. Spor süspansiyonlarına, yapışma özelliğini güçlendirmek için % 0.05 oranında carboxy methyl cellulose ilave edilmiştir. Yine sporların süspansiyonda eşit dağılımını sağlamak için litreye üç damla Tween 20 eklenmiştir. Son olarak süspansiyonlar çalkalayıcıda 15 dakika tutularak homojen olmaları sağlanmıştır.

2.3.4. İn vivo denemesinin kurulması

İnokulum saksı toprağına bulaştırıldıktan sonra, patojenin kolonize olması için, toprak nemlendirilerek 2 gün bekletilmiştir. Hazırlanan *Trichoderma* süspansiyonları, yüzey sterilizasyonu yapılmış nohut tohumlarına her tarafı ıslanacak şekilde el pompasıyla püskürtülmüştür. Denemede kullanılan Tolclofos methyl+Thiram etkili maddeli fungusit, 300 g/100 kg dozunda, ticari etiketlerinde belirtilen kullanım şekliyle tohumlara bulaştırılmıştır. Uygulama gören bütün tohumlar, kurutma kâğıdı üzerinde 1 saat kurutmaya bırakıldıktan sonra saksılara ekilmiştir. Deneme, her *F. oxysporum* izolatu için, pozitif kontrol (Bulaşık toprak + muamele görmemiş temiz tohum), negatif kontrol (Temiz toprak+Temiz tohum), 6 antagonist (*T. viride* VG18, *T. virens* KB31, *T. asperellum* ÖT1, *T. gamsii* VG47, *T. harzianum* LO52, *T. hamatum* ÖT16) ile 1 ilaç (Tolclofos methyl+Thiram, % 20+30 WP) olmak üzere 9 karakterli ve 3'er tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre, 17.02.2018 tarihinde kurulmuştur. Denemelerde sulama ve bakım işlemleri periyodik olarak yapılmıştır.

2.3.5. İn vivo denemesinin değerlendirilmesi

Deneme süresince bitkiler kontrol edilmiş ve hastalanıp kuruyan bitkiler kayıt edilmiştir.

Yaklaşık olarak 6 hafta sonra saksılardaki bütün bitkiler sökülerek, bitkideki sararma ve kök lezyonlarının durumu dikkate alınarak 0-4 skalasına göre (0= % 0; 1= % 1-33; 2= % 34-66; 3= % 67-100; 4= Ölü bitki) değerlendirilmiştir (Trapero-Casas ve Jimenez-Diaz, 1985). Değerlendirme sonucunda pozitif kontrolün değerleri ile uygulamalar kıyaslanarak, uygulamaların etkisi (%) Eşitlik 1 kullanılarak bulunmuştur.

$$Etki (\%) = \frac{X - Y}{X} \times 100 \quad (1)$$

Eşitlikte; X, pozitif kontrol saksılarındaki ortalama hastalık şiddetini (%); Y, uygulama görmüş saksılardaki ortalama hastalık şiddetini (%) ifade etmektedir.

İstatistiki değerlendirme, varyans analiz ve Duncan çoklu karşılaştırma testine göre (% 1) yapılmıştır. Uygulamalar arasında ortaya çıkan farklılıkların gruplandırılması ise LSD testi ile belirlenmiştir.

3. Bulgular

3.1. İn vitroda *Trichoderma* türlerinin *Fusarium oxysporum*'un N5 ve N7 izolatlarına karşı etkinliğinin belirlenmesi

Trichoderma izolatları, *F. oxysporum*'un N5 ve N7 izolatlarına karşı etkinliği ikili kültür tekniği ile araştırılmıştır. Çalışmanın sonucu Tablo 2 ve Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 2 ve 3 incelendiğinde; denemeye alınan *Trichoderma* türlerinin hiperparazitik ve antibiyotik üretimi sonucu etkili oldukları, bazı antagonist izolatının aynı zaman diliminde patojeni tamamiyle kapladığı ve çok güçlü hiperparazitik (ÇKH) özellik gösterdiği anlaşılmıştır. Ancak hiperparazitik etki yanında bazı *Trichoderma* izolatlarının patojen kolonisi üzerini kaplayarak gelişirken, aynı zamanda antibiyotik etki nedeniyle koloni gelişimini engellediği gözlemlenmiştir. Bu *Trichoderma*'ların *T. hamatum* ÖT16, *T. asperellum* ÖT1, *T. strigosum* LO43, *T. gamsii* VG47 *T. gamsii* VG48 olduğu belirlenmiştir. Bazı *Trichoderma* izolatları çok kuvvetli hiperparazit (ÇKH) veya güçlü hiperparazit (KH) özelliği gösterirken, bazı izolatlar da sadece orta derecede hiperparazitik (H) özellik göstererek daha az etkili olmuşlardır (*T. viride* VG19, *T. harzianum* LO52, *T. virens* KB31, *T. harzianum* TUZ16, *T. inhamatum* KEB12). İn vitro sonuçları dikkate alınarak 6 *Trichoderma* türü invivo çalışması için seçilmiştir.

Tablo 3. İn vitroda bazı antagonistlerin *F. oxysporum* N7 izolatına karşı etkinliği

Antagonist	Skala değeri (Turhan, 1990)			
	1. Tekerrür	2. Tekerrür	3. Tekerrür	4. Tekerrür
<i>T. hamatum</i> ÖT16	KH+KA	KH+KA	KH+KA	KH+KA
<i>T. virens</i> KB31	ZH+A	ZH+A	H+A***	ZH+ZA****
<i>T. viride</i> VG19	H	H	H	H
<i>T. harzianum</i> LO52	H	H	H	H
<i>T. harzianum</i> TUZ16	H+A	H	H+A	H
<i>T. viride</i> VG18	KH	ÇKH	KH	KH
<i>T. strigosum</i> LO8	ZH+A	ZH	ZH+A	ZH
<i>T. inhamatum</i> KEB12	H	H	H	H
<i>T. asperellum</i> ÖT1	ÇKH+KA	KH+KA	ÇKH+KA	ÇKH+KA
<i>T. gamsii</i> VG47	KH+KA**	KH+KA	KH+A	KH+A
<i>T. tomentosum</i> VG2	H+KA	H+KA	H+KA	H+KA
<i>T. neokoningii</i> A15	H+A	H+A	H+A	H+A
<i>T. atroviride</i> VG3	ÇKH*	KH	ÇKH	KH
<i>T. strigosum</i> LO43	KH+A	KH+A	H+A	KH+A
<i>T. gamsii</i> VG48	ÇKH+KA	ÇKH+KA	KH+A	ÇKH+A

*: Çok güçlü antibiosis ya da mikoparazitizm: Engelleme zonu 10 mm den geniş, ya da antagonist patojen kolonisini bütünüyle örtmüştü; **: Güçlü antibiosis ya da mikoparazitizm: Engelleme zonu 7-10 mm, ya da antagonist patojen kolonisi üzerinde güçlü bir gelişme gösteriyor; ***: Orta derecede antibiosis veya orta derecede mikoparazitizm: Engelleme zonu 3-6 mm, ya da antagonistin patojen kolonisi üzerindeki gelişimi kolayca fark ediliyor; ****: Zayıf antibiosis yada zayıf mikoparazitizm: Engelleme zonu 3 mm'den dar, antagonistin patojen kolonisi üzerinde oldukça zayıf geliştiği fark ediliyor.

3.2. İn vivoda *Trichoderma* türlerinin *Fusarium oxysporum*'un N5 ve N7 izolatlarına karşı etkinliğinin belirlenmesi

F. oxysporum N5 izolatına karşı uygulamaların ortalama hastalık şiddeti ve etki oranları Tablo 4'te verilmiştir.

İstatistiki analiz sonuçlarına göre; *F. oxysporum* N5 izolatına karşı, *Trichoderma* uygulamaları arasındaki fark çok önemli ($p<0.01$) bulunmuştur. Hastalık şiddetinin 0.70 ile 2.83 arasında değiştiği görülmektedir. Hastalık şiddeti en düşük *T. viride* VG18 uygulamasında, pozitif kontrol hariç en yüksek ise 2.13 ile *T. virens* KB31 uygulamasında görülmüştür. Uygulamaların *F. oxysporum* N5'i engellemedeki etki oranları ise, % 24.73 ile % 75.26 arasında değişiklik göstermiştir. En etkili izolatlar sırasıyla, *T. viride* VG18, *T. gamsii* VG47, *T. hamatum* ÖT16 olarak belirlenmiştir. *T. virens* KB31 ise en az etkili uygulama olmuştur (Tablo 4).

F. oxysporum N7 izolatına karşı uygulamaların ortalama hastalık şiddeti ve etki oranları Tablo 5'te verilmiştir. İstatistiki analiz sonuçlarına göre, *F. oxysporum* N7 patojenine karşı, *Trichoderma* uygulamaları arasında fark çok önemli ($p<0.01$) bulunmuştur. *F. oxysporum* N7 izolatının bulaştırıldığı saksılarda, hastalık şiddeti, diğer denemede olduğu gibi *T. viride* VG18 uygulamasında en düşük, pozitif kontrol hariç en yüksek ise 2,06 ile *T. asperellum* ÖT1 uygulamasında tespit edilmiştir. Uygulamaların *F. oxysporum* N7'yi engellemedeki etki oranları ise, % 34.18 ile % 76.67 arasındaki değişiklik göstermiştir. En etkili izolatlar sırasıyla *T. hamatum* ÖT16, *T. viride* VG18, *T. gamsii* VG47 olarak belirlenmiştir. En az etkili izolat ise *T. asperellum* ÖT1 olmuştur (Tablo 5).

Uygulamaların *F. oxysporum*'un iki izolatına (N5 ve N7) karşı birlikte etkisi Şekil 1'de verilmiştir. Şekil 1 incelediğinde, her iki *F. oxysporum* izolatına karşı en etkili uygulamaların

Tablo 4. *F. oxysporum* N5 izolatının kullanıldığı denemede bitkilerin çıkış oranı, hastalık şiddeti ve uygulamaların etki oranı

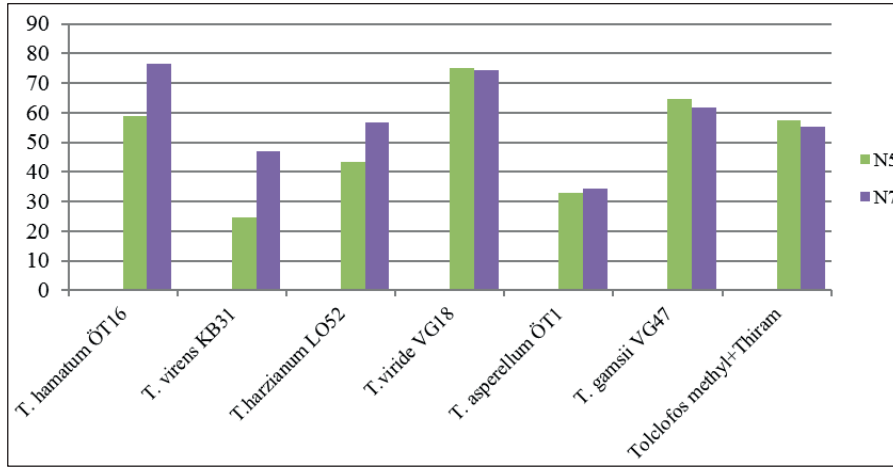
Uygulamalar	Bitki çıkış oranı (%)	Ortalama hastalık şiddeti*	Uygulamaların etki oranı (%)
<i>T. hamatum</i> ÖT16	90	1.16 de	59.01
<i>T. virens</i> KB31	80	2.13 b	24.73
<i>T. harzianum</i> LO52	90	1.60 c	43.46
<i>T. viride</i> VG18	80	0.70 f	75.26
<i>T. asperellum</i> ÖT1	90	1.90 b	32.86
<i>T. gamsii</i> VG47	80	1.00 e	64.66
Tolclofos methyl+Thiram	90	1.20 cd	57.59
Kontrol (+)	70	2.83 a	-----
Kontrol (-)	80	0.00 g	-----
Varyasyon katsayısı (%)	11.35		

*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında $p<0.01$ düzeyinde farklılık vardır.

Tablo 5. *F. oxysporum* N7 izolatının kullanıldığı denemede bitkilerin çıkış oranı, hastalık şiddeti ve uygulamaların etki oranı

Uygulamalar	Bitki çıkış oranı (%)	Ortalama hastalık şiddeti*	Uygulamaların etki oranı (%)
<i>T. hamatum</i> ÖT16	80	0.73 e	76.67
<i>T. virens</i> KB31	70	1.66 c	46.96
<i>T. harzianum</i> LO52	80	1.36 cd	56.54
<i>T. viride</i> VG18	90	0.80 e	74.44
<i>T. asperellum</i> ÖT1	100	2.06 b	34.18
<i>T. gamsii</i> VG47	90	1.20 d	61.66
Tolclofos methyl+Thiram	90	1.40 cd	55.27
Kontrol (+)	80	3.13 a	-----
Kontrol (-)	90	0.00 f	-----
Varyasyon katsayısı (%)		13.02	

*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında $p < 0.01$ düzeyinde farklılık vardır.



Şekil 1. *F. oxysporum*'un N5 ve N7 izolatlarına karşı uygulamaların etkisi (%)

T. viride VG18, *T. hamatum* ÖT16 ve *T. gamsii* VG47 olduğu görülmektedir. *T. virens* KB31 hariç, genellikle uygulamaların etkinliği iki izolata karşı birbirlerine yakın değerlerde olduğu görülmektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Nohut ekimi yapılan alanlarda son yıllarda dikkati çeken ve üzerinde çalışılmaya başlanılan *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyd.&Hans. f. sp. *ciceris* (Padwick) Snyd.&Hans. (Foc) Türkiye'de ve dünyada *Ascochyta* yanıklığı hastalığından sonra ikinci derecede yaygın bir patojendir (Haware ve ark., 1986; Dolar, 1996). Kimyasal ilaçların nohut bitkisini *F. oxysporum*'un neden olduğu solgunluk ve kök çürüklüğü hastalığından koruması belli bir oranda gerçekleşmektedir. Koruyucu veya sistemik fungusitler kullanıldığında hassas nohut çeşitlerinin çıkışı önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Jimenez-Diaz ve Trapero-Casas, 1985). Yine Singh ve ark. (1993) yaptıkları çalışmada, carbendazim ile *F. oxysporum ciceris*'in % 69.9 oranında baskı altında tutulduğunu gözlemişlerdir. Araştırmamızın bulgularında ise, karşılaştırma ilacı olarak kullanılan Tolclofos methyl+Thiram ilacının

etkinliği, % 55.27-57.59 arasında belirlenmiştir. *T. viride* VG18, *T. hamatum* ÖT16 ve *T. gamsii* VG47 antagonist uygulamaların ise, kimyasal ilaca göre daha etkili olduğu görülmüştür. Toprak patojeni olmasından dolayı mücadelesi zor olan *F. oxysporum*'a karşı antagonistlerin bu etkinliği, nohutta solgunluk mücadelesi için ileri bir adım olabilir. Nitekim bu konuda yapılan başka çalışmalardan da ümitvar sonuçlar alınmıştır. Örneğin; *Trichoderma harzianum*, *T. viride* ve *Epicoecum nigrum* kullanılarak yapılan bir çalışmada, *F. oxysporum ciceris* üzerinde en etkili biyolojik ajanın *T. harzianum* olduğu tespit edilmiştir (Singh ve ark., 1997). Yine Srivastava ve ark (2015) tarafında yapılan başka bir çalışmada, *T. harzianum* ve *T. viride*'nin *F. oxysporum ciceris*'in miselyal gelişimini engellemede oldukça etkili olduklarını belirtmişlerdir. Hindistan'da *Bacillus* bakterisi ile yapılan çalışmada, nohut bitkisinin çimlenmesinde, bitki boyunda ve kök uzunluğunda artış olduğu gözlenmiştir (Kumar, 1996). Hindistan'da yapılan bir başka çalışmada ise; tarla denemelerinde biyokontrol ajanları *Bacillus subtilis*, *Gliocladium virens*, *Trichoderma harzianum*, *T. viride* ve carboxin tohum uygulaması

ile *F. oxysporum ciceris* solgunluğunu % 30-45 oranda azalttığı ve ürün miktarının % 25.4-42.6 oranında arttırdığı tespit edilmiştir (De ve ark., 1996). Sonaware ve Pawar (2001)'in yaptığı başka bir çalışmada; *Trichoderma viride*, *T. harzianum*, *T. hamatum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium*, thiram 1.5 g kg⁻¹ ve sarımsak ekstraktı nohutta *F. oxysporum ciceris*'e karşı uygulanmış, *T. harzianum* en etkili bulunmuş, bunu thiram ve sarımsak ekstraktının izlediğini belirtmiştir.

Sonuç olarak; *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo ve K. Sato'nun neden olduğu solgunluk, nohutta önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Patojen saprofitik karakterli ve toprakta uzun süre yaşayabilmektedir. Bu yüzden dayanıklı çeşit kullanmak veya kimyasal mücadele yetersiz kalmaktadır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, *Trichoderma* türlerinin bu hastalıkla mücadelede belli oranda başarılı olduğu belirlenmiştir. Laboratuvar ve oda koşullarında yapılan bu çalışmada; *T. hamatum* ÖT16, *T. viride* VG18, *T. gamsii* VG47 izolatlarının % 60'ın üzerinde etki göstererek en başarılı uygulamalar olduğu belirlenmiştir. *Trichoderma* türlerinin, *F. oxysporum*'un iki izolatına karşı etkinliğinin genellikle birbirine yakın olduğu görülmüştür.

Kaynaklar

- Abou-Zeid, N.M., Hallila, H., 2003. Current status of chickpea diseases in Egypt. In: International Chickpea Conference, *Chickpea Research for Millennium Raipur*, January 20-22, Chhattisgarh, India, pp. 156-166.
- Akçin, A., 1988. Yemeklik Dane Baklagiller. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları: 8, Konya.
- Anonim, 2018. Nohut Üretim İstatistikleri. (<http://www.tuik.gov.tr>), (Erişim tarihi: 25.10.2018).
- 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., Turhan, G., Göre, E., 2011. Patates yumrularında *Rhizoctonia solani* Kühn sklerotlarının canlılığı ve oluşumu üzerine bazı antagonistlerin etkinliğinin belirlenmesi. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 21(2): 29-38.
- Aydın, M.H., Turhan, G., 2013. Patateste *Rhizoctonia solani*'ye karşı *Trichoderma* türlerinin etkinliği ve bazı fungusitlerle birlikte kullanılması. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 23(1): 12-30.
- Aydın, M.H., 2015. Bitki fungal hastalıklarıyla biyolojik savaşta *Trichoderma*'lar. *Turkish Journal of Agricultural Research*, 2(2): 135-148.
- Aydın, M.H., İnal, B., 2018. Genetic characterization and virulence of *Fusarium* spp. isolated from chickpea. *Cellular and Molecular Biology*, 65(1): 56-60.
- Bae, H., Sicher, R.C., Kim, M.S., Kim, S.H., Strem, M.D., Melnice, R.L., Bailey, B.A., 2009. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. *Journal of Experimental Botany*, 60(11): 3279-3295.
- Bayraktar, H., Dolar, F.S., 2009. Genetic diversity of wilt and root rot pathogens of chickpea, as assessed by RAPD and ISSR. *Turkish Journal of Agriculture Forestry*, 33(1): 1-10.
- Datnoff, L.E., Nemeč, S., Pernezny, K., 1995. Biological control of *Fusarium* crown and root rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. *Biological Control*, 5(3): 427-431.
- De, R.K., Chaudhary, R.G., Naimuddin, J., 1996. Comparative efficacy of bio-control agents and fungicides for controlling chickpea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 66(6): 370-373.
- Demirci, E., Eken, C., Kantar, F., 1999. Pathogenicity of wilt and root rot pathogens of chickpea cv. Aziziye-94. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 28(1-2): 25-32.
- Djonovic, S., Vittone, G., Herrera, A.M., Kenerley, C.M., 2007. Enhanced biocontrol activity of *Trichoderma virens* transformants constitutively coexpressing β -1,3- and β -1,6- glucanase genes, *Molecular Plant Pathology*, 8(4): 469-480.
- Dolar, F.S., 1996. Survey of chickpea diseases in Ankara, Turkey. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*, 3: 33-34.
- Dubey, S.C., 1998. Evaluation of fungal antagonists of *Thanatephorus cucumeris* causing web blight of horse gram. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 28(1): 15-17.
- Dubey, S.C., 2000. Biological management of web blight of groundnut (*R. solani*). *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 30(1): 89-90.
- Dubey, S.C., 2002. Bio-agent based integrated management of collar rot of French bean. *Indian Phytopathology*, 55: 230-231.
- Dubey, S.C., 2003. Integrated management of web blight of urd/mung bean by bio-seed treatment. *Indian Phytopathology*, 56(1): 34-38.
- Dubey, S.C., Suresh, M., Singh, B., 2007. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*, 40(1): 118-127.
- Fravel, D., Olivain, C., Alabouvette, C., 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist Journal*, 157(3): 493-502.
- Harman, G.E., 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *T. harzianum* T-22. *Plant Diseases*, 84(4): 377-393.
- 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.
- Haware, M.P., Nene, Y.L., Mathur, S.B., 1986. Seed borne disease of chickpea: *Technical Bulletin* No.1

- Copenhagen, Denmark: Danish Govt, Institute of Seed Pathology for Developing Countries, pp. 32.
- Haware, M.P., Nene, Y.L., Natarajan, M., 1996. Survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in soil absence of chickpea. *Phytopathology Mediterranea*, 35(1): 9-12.
- Jiménez-Díaz, R.M., Trapero-Casas, A., 1985. Use of fungicide treatments and host resistance to control the wilt and root rot complex of chickpeas. *Plant Disease*, 69(7): 591-595.
- Jimenez-Diaz, R.M., Trapero-Casas, A., 1990. Improvement of chickpea resistance to wilt and root rot diseases. *Options Méditerranéennes-Série Séminaires*, 9: 65-72.
- Jiménez-Díaz, R.M., Castillo, P., Del Mar Jiménez-Gasco, M., Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A., 2015. *Fusarium* wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. *Crop Protection*, 73(1): 16-27.
- Kaiser, W.J., Alcalá-Jimenez, A.R., Hervas-Vargas, A., Trapero-Casas, J.L., Jimenez-Diaz, R.M., 1994. Screening of wild Cicer species for resistance to race 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Disease*, 78(10): 962-967.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., Nagy, E., 2003. *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1): 37-42.
- Kumar, B.S.D., 1996. Crop improvement and disease suppression by a *Bacillus* sp. SR 2 from peanut rhizosphere. *Indian Journal of Experimental Biology*, 34(8): 794-798.
- Kumar, D., Dubey, S.C., 2001. Management of collar rot of pea by the integration of biological and chemical methods. *Indian Phytopathology*, 54(1): 62-66.
- Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A., Jiménez-Díaz, R.M., 2004. Integrated management of *fusarium* wilt of chickpea with sowing date, host resistance, and biological control. *Phytopathology*, 94(9): 946-960.
- Nene, Y.L., Haware, M.P., 1980. Screening chickpea for resistance to wilt. *Plant Disease*, 64(4): 379-380.
- Nene, Y.L., Sheila, V.K., Sharma, S.B., 1984. A world list of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) pathogens. Pulse Pathology Progress Report -32, pp 20. *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT)*, India.
- Nene, Y.L., Reddy, M.V., 1987. Chickpea diseases and their control . Pages 233- 270 in *The chickpea* (Saxena MC and Singh KB, eds).. Wallingford, Oxon, UK: *CAB International*.
- Pandey, G., Singh, R.B., 1990. Survey of root diseases of chickpea in Allahabad region. *Current Nematology*, 1(1) : 77-78.
- Papavizas, G.C., 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review Phytopathology*, 23: 23-54.
- Poddar, R.K., Singh, D.V., Dubey, S.C., 2004. Integrated application of *Trichoderma harzianum* mutants and carbendazim to manage chickpea wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*). *Indian Journal of Agricultural Science*, 74: 346-348.
- Singh, R.N., Upadhyay, J.P., Ojha, K.L., 1993. Management of chickpea wilt by fungicides and *Gliocladium*. *Journal of Applied Biology*, 32(2): 46-51.
- Singh, R.S., Daljeet, S., Singh, H.V., Singh, D., 1997 . Effect of fungal antagonist on the growth of chickpea plants and wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Plant Diseases Research*, 12(2): 103-107.
- Sonawane, S.S., Pawar, N.B., 2001. Studies on biological management of chickpea wilt. *Journal of Maharashtra Agricultural Universities*, 26(2): 215-216.
- Srivastava, J., Dwivedi, S.K., Prasad, C., 2015. Efficacy of some fungal antagonist against chickpea wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri*. *International Journal of Science & Technology*, 5(3): 8-19.
- Trapero-Casas, A., Jimenez-Diaz, R.M., 1985. Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in Southern Spain. *Phytopathology*, 75(10): 1146-1151.
- Turhan, G., 1990. Further hyperparasites of *Rhizoctonia solani* Kühn as promising candidates for biological control. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 97(2): 208-215.
- Yedidia, I., Benhamou, N., Chet, I., 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3): 1061-1070.