

## BAZI GÜBRELERİN *TRICHODERMA HARZIANUM*' UN MİSEL GELİŞİMİ VE SPOR ÜRETİMİNE ETKİSİ

Çiğdem KÜÇÜK<sup>1</sup> Merih KIVANÇ<sup>2</sup> Engin KINACI<sup>3</sup> Gülcan KINACI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir

<sup>2</sup> Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>3</sup> Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Eskişehir (e-mail: ekinaci@ogu.edu.tr)

<sup>4</sup> Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Eskişehir

### ÖZET

Günümüzde patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırmada pestisidler ve organik kimyasallar zor parçalandığı, bitki ve hayvanlarda depolanarak besin zinciri yolu ile canlılara toksik etki yaptığı için son yıllarda biyolojik mücadelenin önemi artmıştır. Biyolojik mücadele etmeni olarak çeşitli mikroorganizmalar kullanılmaktadır. *Trichoderma spp*'de bu amaçla kullanılan funguslardan biridir. Bu çalışmada, farklı gübrelerin *Trichoderma harzianum* izolatlarının spor üretimi ve misel gelişimine etkileri *in vitro*'da incelenmiştir. En düşük koloni çapı T7 izolatu ile üre içeren ortamda alınmıştır. T7 izolatını, T14 izolatu izlemiştir. *T. harzianum* izolatlarının kuru misel ağırlıklarında farklılıklar oluşmuş, besi ortamlarına verilen gübreler spor sayılarını arttırmıştır. En fazla spor üretimi üre (60 mg/l), amonyum sülfat ve üre + triple süper fosfatta bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Trichoderma harzianum*, gübreler, misel gelişimi, spor üretimi

### EFFECTS OF SOME FERTILIZERS ON MYCELIAL GROWTH AND SPORE PRODUCTION OF *TRICHODERMA HARZIANUM*

#### ABSTRACT

Nowadays, pesticides and organic compounds are being widely used to inhibit pathogen microorganisms. Degradation of these compounds are very difficult and accumulation and concentration of them in food chains leading to toxicity in animals at higher tropic level. As a result, biological control has become increasingly important in recent years. It is showed that *Trichoderma spp.* could be used as a biocontrol agent. In this study, spore production and mycelial growth of *Trichoderma harzianum* isolates were studied *in vitro*. The lowest colony diameter was obtained from isolate T7 in urea. It was followed by T14. Differences in dry weight of mycelial growth of *T. harzianum* were observed between the isolates and addition of fertilizers to the media increased numbers of spores. Addition of fertilizers to the media increased number of spore. There was maximum spore production in urea, ammonium sulphate and urea + triple super phosphate.

**Key Words:** *Trichoderma harzianum*, fertilizers, mycelial growth, Spore production

### GİRİŞ

Mikroorganizmaların doğal habitatlarında bulunan ve kolaylıkla kullanabilecekleri besin maddelerinin oldukça az miktarlarda olması örneğin, toprak çözeltisinde basit şekerler ve aminoasitlerin mikrogram düzeyinde bulunması nedeniyle mikroorganizmalar arasında besin rekabetinin olduğu bildirilmiştir (Blakeman, 1978; Beagle-Ristaino ve Papavizas, 1985).

Besinlerin bir kısmı, antagonistik fungusların morfolojik yapıları ve gelişmelerine doğrudan, bazıları ise dolaylı etkide bulunabilmektedir. Sıvı gelişme ortamına azot (2 g/l) eklendiğinde *Trichoderma sp.* ve *Gliocladium virens*'in miselyum ağırlığının arttığı belirlenmiştir (Watanabe ve ark. 1987). *Trichoderma* türlerinin karbon ve enerji kaynağı olarak monosakkaritler, disakkaritler, organik asitler, yağ asitleri, metanol ve metilamini; azot kaynağı olarak amonyum, aminoasit, üre, nitrat ve nitriti kullanabildikleri görülmüştür (Ghisalberti ve Sivasithamparam, 1991; Anke, 1997; Altamore ve ark. 1999; Celar, 2000).

İlaçlı mücadelenin tam bir alternatifi olmasa da, biyolojik mücadelenin ilaç tüketiminin azaltılması ve daha sağlıklı çevre oluşturulmasında önemli bir potansiyeli bulunduğu ve kimyasal mücadeleye göre ekolo-

jik dengeyi bozmayan bir mücadele yöntemi olduğu kabul edilmiştir (Boland, 1990).

Toprakta ve az sayıda bitkinin toprak üstü organları üzerinde bulunan bazı fungusların antagonistik özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. *Trichoderma*, *Penicillium* ve *Gliocladium* gibi cinsler, bitkilerde hastalık oluşturan funguslara karşı konukçu bitki üzerinde veya yakın çevresinde örneğin, tohum veya yaralı bir doku etrafında antagonistik etki göstererek patojenik fungusun gelişmesini engellemektedirler (Boland, 1990).

Günümüzün modern biyoteknolojik uygulamalarında *Trichoderma harzianum* toprak kökenli bitki patojenlerine karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılmaktadır (Inbar ve ark. 1994; Basım ve ark. 1999; Yedidia ve ark. 2000).

*Trichoderma harzianum*'un çeşitli izolatlarının *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium spp.*, *Gaeumannomyces graminis* ve *Fusarium spp.* gibi toprak kökenli bitki patojeni fungusların kontrolünde etkili olduğu belirlenmiştir (Inbar ve ark. 1994; Yedidia ve ark. 2000).

Bilinçsiz ve yoğun olarak kullanılan ticari kimyasal gübreler, çevre ve insan sağlığına yaptıkları olumsuz etkilerin yanı sıra, hastalık etmenleri ve antagonistik mikroorganizmalar üzerine de etkili olabilmektedirler. Orta Anadolu bölgesi sahip olduğu

ekolojik koşullar nedeniyle başta buğday olmak üzere tahıl üretimine diğer ürün gruplarından daha uygundur. *T. harzianum* toprak kökenli bitki patojenlerinden özellikle buğdayda ekonomik zararlar oluşturabilen *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytium* spp. vb. kontrolünde kullanılabilir (Yedidia ve ar. 2000). *T. harzianum*'un etkili olabilmesi için yeterince gelişmesi ve üremesi gerekmektedir. Orta Anadolu da tahıl üretimi yapılırken, kullanılması önerilen taban ve üst gübrelerinden, fosfor kaynağı olan triple süper fosfat ve azot kaynağı olan amonyum sülfat, amonyum nitrat ve üre'nin tek başına ve kombine halde *T. harzianum*'un gelişmesi ve üremesi üzerindeki etkilerinin bilinmesi *T. harzianum* uygulanan veya doğal olarak bulunduğu yerlere verilecek gübrelerin seçiminde yararlı olabilecektir. Bu amaçla, Eskişehir çevresi toprak örneklerinden daha önce izole edilmiş (Küçük ve Kıvanç, 2003) olan ve zararlılarla mücadeledeki rolü belirlenmeye çalışılan *Trichoderma harzianum* izolatlarının gelişimi ve spor oluşumu üzerine, tarımda sık kullanılan kimyasal gübrelerin etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

## MATERYAL VE METOD

### Mikroorganizmalar

Eskişehir topraklarından izole edilmiş, tanısı yapılmış olan *T. harzianum* T1, T3, T4, T7, T78, T9, T10, T11, T12, T14, T15, T18, T19, T20 izolatları kullanılmıştır (Küçük ve Kıvanç, 2003). İzolatlar uygulama yapılmaya kadar + 4 °C'de, mineral yağda saklanmıştır.

### Gübreler

Orta Anadolu için belirlenen gübreler esas alınarak; otoklavlanarak soğutulan Patates Dekstroz Agar (PDA, Merck) ve Patates Dekstroz Broth (PDB, Merck) besiyerlerine, ayrı ayrı, amonyum sülfat (60 mg/l), amonyum nitrat (60 mg/l), triple süper fosfat (40 mg/l), üre (60 mg/l), amonyum sülfat (60 mg/l) + triple süper fosfat (40 mg/l), amonyum nitrat (60 mg/l) + triple süper fosfat (40 mg/l), üre (60 mg/l) + triple süper fosfat (40 mg/l) olacak şekilde eklenmiştir (Kıvanç, 2000).

### Gübrelerin Etkisi

*T. harzianum* izolatları PDA içeren petri kutularında 20 °C'de 7 gün boyunca geliştirilmiştir. Geliştirilen izolatların her birinin ayrı ayrı 7 mm'lik misel diskleri alınarak, her bir uygulamanın bulunduğu PDA'lı petrilere ekim yapılmıştır. 28 ± 2 °C'lik etüvde altı günlük inkübasyon sonrası miselyum çapları ölçülmüştür.

PDB besiyerine ise, thoma lamı ile belirlenen izolatların her birinin ayrı ayrı spor süspansiyonlarından (10<sup>3</sup> spor/ml) 1 ml inokule edilerek, 100 rpm ve 28 ± 2 °C'lik etüvde 6 gün süreyle gelişmeye bırakılmıştır. Besiyerindeki spor sayıları thoma lamı kullanılarak belirlenmiştir. Her bir uygulama 3 tekerrürlü

olarak yapılmıştır. Kontrol olarak gübresiz besiyerleri kullanılmıştır. İstatistiki değerlendirme Yurtsever (1984)'e göre yapılmıştır.

## ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Funguslar, basit şekerler ve aminoasitler gibi besin maddeleri için rekabet etmektedirler (Blakeman, 1978). Fungusların farklı besinleri hızlı ve etkili bir şekilde kullanabilmeleri, canlılıkları ve topraktaki yayılımları ile ilişkilidir. Bitki patojeni funguslarla biyolojik mücadele yapmak için kullanılan *Trichoderma* sp.'nin misel gelişimi ve spor çimlenmesine, başta besinler olmak üzere sıcaklık, pH, ışık gibi çevresel faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir (Beagle-Ristaino ve Papavizas, 1985; Anke, 1997; Küçük ve Kıvanç, 2003).

*Trichoderma* türleri bitki gelişimini hızlandırdığı, bitki savunma mekanizmalarını stimüle ederek, bitkileri toprak kaynaklı patojenlere karşı dirençli hale getirdiği ve çeşitli antibiyotik bileşikler ürettiği için biyokontrolde tercih edilmektedir (Schirimböck ve ark, 1994). Fasulye, biber, domates, patlıcan turp, salatalık gibi bir çok sebze de görülen toprak kaynaklı hastalıkları kontrol etmede kullanılan *Trichoderma* izolatları günümüzde de, kimyasal fungusitlere alternatif olarak kullanılmaktadır (Basım ve ark, 1999; Whipps ve Davies, 2000).

Bu çalışmada, katı ortamda farklı gübrelerin, Eskişehir ve çevresinden alınan toprak örneklerinden izole edilmiş olan *Trichoderma harzianum*'un 14 izolatına olan etkisi belirlenmiş ve uygulama sonucu Tablo 1'de verilmiştir. Üre (60 mg/l) uygulaması T7 izolatının koloni gelişimini inhibe ederken, amonyum sülfat + TSP ve üre + TSP uygulamalarında koloni gelişimi diğer uygulamalara göre daha fazla olmuştur (Tablo 1). Amonyum sülfatta en fazla T8, T15, T4; ürede T8, T11, T15; amonyum nitratla T11, T15 ve T20; amonyum sülfat + TSP' ta T8, T15, T19 ve T20; üre + TSP' ta T8, T11, T15, T19 ve T20; amonyum nitrat + TSP' ta T8, T11 ve T15 diğer izolatlara göre daha hızlı gelişme göstermişlerdir. Uygulamalar arasında en düşük koloni çapı üre içeren ortamda T7 izolatında alınmıştır.

Gübrelerin katı ortamda misel gelişimine etkisi tüm izolatlarda (T15 ve T18 hariç) istatistiki anlamda önemli bulunmuştur. *T. harzianum* T4 ve T14'ün farklı gübrelerde misel gelişimi kontrole göre artmıştır ve bu artış istatistiki anlamda önemli olarak saptanmıştır.

Sıvı ortamda en yüksek misel kuru ağırlığı; Amonyum sülfat içeren ortamda 320,5 mg/l ile T15 ve 316 mg/l ile T8 izolatlarından; Amonyum nitrat içeren ortamda 370 mg/l ile T15 ve 300 mg/l ile T8 izolatlarından; TSP içeren ortamda 375 mg/l ile T15 ve 310 mg/l ile T8 izolatlarından; üre içeren ortamda 680 mg/l ile T15 ve 590 mg/l ile T19'dan elde edilirken, Amonyum nitrat + TSP içeren ortamda 650 mg/l

T15 ve 480 mg/l ile T12; Amonyum sülfat + TSP üre +TSP içeren sıvı ortamda 650 mg/l ile T15 ve 640 mg/l ile T15 ve 560 mg/l ile T18'den; mg/l ile T19'dan alınmıştır (Tablo 2).

Tablo 1. *T. harzianum* izolatlarının farklı gübre içeren PDA ortamındaki misel gelişimleri (mm) ve varyans analizi

İzolatlar	Kontrol	Gübreler						
		AS	AN	TSP	Üre	AN + TSP	AS + TSP	Üre + TSP
		60 mg/l	60 mg/l	40 mg/l	60 mg/l	60 mg/l+40 mg/l	60 mg/l+40 mg/l	60 mg/l+40 mg/l
T1	90	81.2	78.1	84.0	80.0	81.1	85.4	88.0
T3	75	82.6	72.3	76.1	72.0	77.0	75.7	78.0
T4	70	87.4	74.2	73.0	80.0	87.0	85.0	82.0
T7	90	62.4	63.1	70.0	51.0	74.0	76.0	77.0
T8	90	89	82.0	85.0	90.0	89.0	88.0	90.0
T9	90	68	68.2	68.7	75.6	78.0	71.0	79.0
T10	85	71	76	74.2	73.4	76.0	75.0	79.0
T11	90	85	86.8	85.8	88.9	88.0	87.0	90.0
T12	76	78.2	78.2	78.2	78.2	81.0	71.0	72.0
T14	56	69.4	64.2	66.6	60.0	71.0	72.0	72.0
T15	90	90	89.1	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
T18	90	85.2	80.0	81.4	69.5	74.0	76.0	80.0
T19	90	84.6	83.7	82.9	87.0	86.6	90.0	90.0
T20	88	90	86.1	89.6	87.8	86.6	89.0	90.0
Ortalama	83,6	80,3	77,2	78,9	77,4	81,4	80,7	82,6
V.K.	S.D	İzolatlar						
		T1	T3	T4	T7	T8	T9	T10
Tekerrür	1	2,25	0,95	3	6,2	2,25	0,25	1,562
Uygulama	7	36,42*	24,38**	39,25**	265,8**	14,4**	117,82**	37,4**
Kontrol ve diğerleri	1	96,5**	4,27	4,36	880,27*	9,14**	540,32**	182,58**
Diğerleri	1	158,5**	111**	111**	653,66**	61,3**	16484,5**	53,3**
Hata	7	5,25	2	3,7	2,11	0,96	0,39	0,41
V.K.	S.D	İzolatlar						
		T11	T12	T14	T15	T18	T19	T20
Tekerrür	1	0,625	0,562	0,562	1	0,562	0,625	0,25
Uygulama	7	7,21**	22,49**	71,7**	0,25	81,6	17,5**	4,96**
Kontrol ve diğerleri	1	13,64**	0,44	243,1**	0,035	255	23,28**	0,893**
Diğerleri	1	24,6**	117,9**	172,54**	1,8	211	66,5**	22,54**
Hata	7	0,125	0,56	0,70	1	993,4	0,125	0,107

\*, \*\*: %5 ve %1'e göre önemli (sırasıyla); AS: Amonyum sülfat; AN: Amonyum nitrat; TSP: Triple süper fosfat

Amonyum nitrat içeren sıvı ortamda misel kuru ağırlığı kontrole göre üç izolatta (T3, T4, T7) azalmıştır (% 0,62, %9,2, %5,6). Farklı izolatlarla ürenin uygulandığı denemede diğer izolatlarda kontrole göre artış olurken, T4 izolatının misel kuru ağırlığı kontrole göre azalış (% 15,6) göstermiştir. Sıvı ortamda yapılan tüm gübre uygulamalarında misel kuru ağırlığında kontrole göre en fazla artışı veren izolat T19 olarak saptanmıştır. Sıvı ortama uygulanan gübrelerin tümünün misel kuru ağırlığı üzerine etkisi istatistiki anlamda önemli bulunmuştur. Kontrol ve diğer uygulamalar arasında farklılık saptanmıştır. Kontrole göre en fazla artışlar üre + TSP içeren ortamda; T10, T18, T19 izolatlarında, A.S. + TSP içeren ortamda ise, T10, T12, T18 ve T19 izolatlarında belirlenmiştir. Tüm izolatlar farklı gübreleri içeren sıvı ortamda iyi bir şekilde gelişmişler ve her ortamdaki gelişmelerinin birbirinden farklı olduğu saptanmıştır.

Amonyum sülfat içeren sıvı ortamda en yüksek spor sayısı T15 izolatı ile elde edilirken (Tablo 3), amonyum nitrat, TSP, AN + TSP ve AS + TSP içeren ortamlarda test edilen 14 izolattan T8 ve T15'in diğer

izolatlarına göre hızlı spor ürettiği belirlenmiştir. Sıvı ortamda kontrole göre spor üretiminde tüm gübrelerde oldukça yüksek artış sağlayan izolat T4 olmuştur. Spor üretimine ait varyans analizi sonucunda bütün izolatlarda uygulamalar, kontrol ve diğerleri, diğerleri arasındaki farklılıklar istatistiki anlamda önemli olarak saptanmıştır. Sıvı ortamda kontrole göre diğer izolatlarla kıyasla daha fazla artış T4 ve T14 izolatlarında saptanmıştır. Üre uygulamasında alınan en düşük değer bakımından T7 izolatını, T14 izolatı izlemektedir. Üre içeren ortamda T15 ve T8 izolatlarının koloni gelişimi diğer izolatlarla göre daha hızlı olmuştur. Bu farklılıklar, *T. harzianum* izolatlarının ortamlarda farklı kimyasallar üretmelerinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Ghisalberti ve Sivasithamparam (1991), *Trichoderma* izolatlarının buldukları ortamlarda farklı metabolitler ürettiklerini ve mikoparazit olarak besin ve çevre şartlarından etkilendiklerini tesbit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Ayrıca, izolatlarımızın amonyum nitrat içeren ortamda, amonyum sülfat içeren ortamlara göre daha yavaş

gelişme göstermeleri, izolatların nitratı daha yavaş kullandıklarını göstermektedir. Celar (2000), tarafından yapılan bir çalışmada, *Trichoderma longibrachiatum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. harzianum* ve *Gliocladium roseum* antagonistik funguslar, iki

farklı amonyum formunu kullanabilmeleri yönünden karşılaştırılmış, antagonistlerin amonyum nitratı, amonyum sülfata göre daha yavaş kullandıkları ve gelişmelerinin amonyum nitrat içeren besi yerinde daha yavaş olduğunu belirlenmiştir.

Tablo 2. Farklı gübre içeren sıvı ortamdaki *T. harzianum* izolatlarının misel kuru ağırlığı (mg/50ml) ve varyans analizi

İzolatlar	Kontrol	Gübreler							
		AS	AN	TSP	Üre	AN + TSP	AS + TSP	Üre + TSP	
		60 mg/l	60 mg/l	40 mg/l	60 mg/l	60 mg/l+40 mg/l	60 mg/l+40 mg/l	60 mg/l+40 mg/l	
T1	150	182,5	165	193	250	270,5	300	320,5	
T3	161	179	160	165	251	290	310	265	
T4	179	185	162,5	260	151	290	350	270	
T7	160	162	151	169	180	210	200	190	
T8	250	316	300	310	390	400	500	380	
T9	150	152	157	152	300	250	340	340	
T10	75	80	88	84	310	300	350	328	
T11	160	175	178	175	395	350	400	412	
T12	150	160	160	162	400	480	475	525	
T14	110	147	130	115	125	170	200	150	
T15	270	320,5	370	375	680	650	680	650	
T18	180	210	200	225	420	300	560	600	
T19	50	222	220	200	590	450	480	640	
T20	240	250	240	250	500	400	410	540	
Ortalama	163,2	195,7	191,5	202,5	353	343,6	396,7	400,8	
V.K.	S.D	İzolatlar							
		T1	T3	T4	T7	T8	T9	T10	
Tekerrür	1	6,25	0,001	0,0625	1	0,10	0,36	0,190	
Uygulama	7	8503,8**	7919,3**	10301,1**	870,14**	12140,4**	15256,3**	33423,10**	
Kontrol ve diğerleri	1	5049,1**	68432**	61360**	567**	4*	14674,3**	36793,75**	
Diğerleri	1	54477,9**	51085,7**	8025,9**	5524**	81371**	1001233,5**	197168**	
Hata	7	6,39	0,57	1,2	0,42	0,42	0,42	0,018	
V.K.	S.D	İzolatlar							
		T11	T12	T14	T15	T18	T19	T20	
Tekerrür	1	0,63	0,625	36	0,062	1	0,058	0,042	
Uygulama	7	27657,1**	57950,2**	1801,5**	64983,6**	56927,6**	89727,4**	31082,1**	
Kontrol ve diğerleri	1	33258,04**	61476,5**	2603,5**	120323**	56250,8**	214725**	29575**	
Diğerleri	1	16341,7**	344175**	10007,8**	334562**	342242,9**	413366**	29575**	
Hata	7	0,625	0,625	24,5	0,07	0,43	0,066	0,047	

\*, \*\*: %5 ve %1'e göre önemli (sırasıyla); AS: Amonyum sülfat; AN: Amonyum nitrat; TSP: Triple süper fosfat

Bitkiler besin elementlerini, basit formlarda ve genellikle iyon formunda bünyelerine alabilmektedirler. Bitkiler için gerekli olan besin elementleri toprakta çoğu kez fazlasıyla bulunmasına karşın, bitkiler bunları her zaman absorbe edemezler (Anke, 1997; Sivan ve Chet, 1989). Kaya yapısındaki mineraller fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenlerle parçalanarak ayrışıp, yapılarında bulunan elementler serbest hale gelmekte ve başlangıçta çözünemez durumda olan bu elementler, toprak çözeltisinde çözünerek, iyon formuna geçmektedir (Boland, 1990). Bu besin elementlerinin bazılarının *Aspergillus* sp. ve *Penicillium* sp. gibi bazı funguslar tarafından bitkilerin kolaylıkla alabilecekleri besin maddelerine dönüştürüldükleri bildirilmiştir (Anke, 1997).

Alkali topraklarda, bazı makro ve mikro besin elementlerinin yarıyışlılığı azalmaktadır, özellikle Fe,

Mn, Zn ve Cu güç çözünür bileşiklere dönüşmektedir. Bu besin elementlerini çözerek bitkilerce alınmasını kolaylaştırmada *Trichoderma harzianum* T22 izolatının çözebilme kapasitesini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, T22, içinde Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MnO<sub>2</sub>, metalik Zn ve CuO bulunan sıvı ortamda denenmiştir. Altomare ve ark., (1999), tarafından yürütülen bu çalışmada *T. harzianum* T22'nin kültür ortamında bu besin elementlerinden Zn, MnO<sub>2</sub> ve fosforu çözebildiği saptanmıştır.

Yapılan çeşitli çalışmalar, *Trichoderma* türlerinin çeşitli topraklarda bulunduğunu, mikrobiyal inhibitörlere karşı dirençli olduğunu ve ürettikleri değişik metabolitler ile besin maddelerini indirgeyebilme yeteneklerinin olduğunu göstermiştir (Schirmböck ve ark., 1994).

Bu çalışmada, *T. harzianum* izolatlarının her birinin, farklı bir gübre içeren katı ve sıvı ortamlarda gösterdikleri gelişmelerinin farklı olduğu bulunmuştur.

Farklı gübreler içeren katı ortamda, en iyi gelişen T8 ve T15 izolatları olmuştur. Sıvı ortamda tüm izolatların misel kuru ağırlıklarında birkaçı hariç artış

saptanmıştır. Sıvı ortamda misel kuru ağırlığı yönünden bütün gübrelerde en iyi sonucu T15 ve T8 izolatı verirken, kontrole göre en yüksek artış T19 izolatında belirlenmiştir. Farklı gübre uygulamalarında en yüksek spor üretimini yine T15 ve T8 izolatları yapmıştır. Tüm gübrelerde kontrole göre spor üretiminde ise en yüksek artışı veren izolat T4 olmuştur.

Tablo 3. Farklı gübre içeren sıvı besiyerinde *T. harzianum* izolatlarının spor sayıları ( $\times 10^6$  spor/ml) ve varyans analizi

İzolatlar	Kontrol	Gübreler							
		AS	AN	ÜRE	TSP	A.N. + TSP	A.N. + TSP	ÜRE + TSP	
T1	28	50	32	48	30	30	32,5	52	
T3	20	49,5	30	50	30	30	34	55	
T4	18	48	28	43	39	35,5	36	50	
T7	20	30	21,5	30	25	26	26	34	
T8	40	52	42	53	50	47	57	57	
T9	20	32,5	23	30	30	24	30	35	
T10	10	39	20	28	12	20	21	30	
T11	25	43	32	34,5	30	28	35	36	
T12	40	51	42	47	35	33	38	47	
T14	12	28,2	20	17	9	10	2,2	5,6	
T15	45	71	52	82	51	62	6	76	
T18	35	40,4	30	32	23	20	32	36	
T19	20	38	30	68	31	33	47	50	
T20	0,5	1,6	0,7	4	0,7	2,7	3,1	3,8	
Ortalama	23,8	40,9	28,8	40,4	28,3	28,7	31,2	40,5	
V.K.	S.D.	İzolatlar							
		T1	T3	T4	T7	T8	T9	T10	
Tekerrür	1	0,563	0,563*	0,062	0,062	0,025*	0,062	0,26*	
Uygulama	7	211,6*	306,8**	221,4**	43,04**	77,5**	51,1**	162,8**	
Kontrol ve diğerleri	1	225,7**	695**	841,5**	98,44**	217,2**	153,2**	357,1**	
Diğerleri	1	1255,8**	1453**	708,4**	203**	349,8**	204,8**	922,9**	
Hata	7	0,133	0,062	0,062	0,062	0,03	0,062	0,04	
V.K.	S.D.	İzolatlar							
		T11	T12	T14	T15	T18	T19	T20	
Tekerrür	1	0,062	0,025	0,062	0,025**	0,060	0,60	0,01	
Uygulama	7	61,2**	77,5**	140,92**	338,5**	88,5**	447,4**	4,1**	
Kontrol ve diğerleri	1	144**	5,9**	2**	730,3**	36,5**	880,3**	7,1**	
Diğerleri	1	284,2**	553,8	984,5**	1639,5**	583,5	2251,5**	23,06**	
Hata	7	0,07	0,03	0,062	0,02	0,061	0,058	0,01	

\*, \*\*: %5 ve %1'e göre önemli (sırasıyla); AS: Amonyum sülfat; AN: Amonyum nitrat; TSP: Triple süper fosfat

Biyolojik mücadele amacıyla kullanılan *T. harzianum* izolatları en iyi olarak içinde üre bulunan ortamda gelişmiştir. Üre + TSP uygulamasında da, gelişmeleri artmıştır. Üre veya üre + TSP gübrelemesi yapılan denemelerde, özellikle T8 ve T15 izolatlarının hızlı gelişme gösterdiği ve bunun sonucunda biyolojik mücadelede etkili olabileceği kanısına varılmıştır. Ortamda amonyum nitrat bulunduğunda ise, *T. harzianum*' un daha düşük spor ürettiği, buna karşılık ortamda amonyum sülfat veya üre + TSP bulunduğunda daha yüksek sayıda spor oluştuğu belirlenmiştir. gözlenmektedir. Buna göre test edilen gübreler içerisinde en fazla üre uygulamasının *T. harzianum* izolatlarının gelişimini teşvik ettiği söylenebilir. Bu sonucun biyolojik mücadelenin daha

etkili yapılmasına katkı sağlayabileceğine inanılmaktadır.

#### Teşekkür

Bu çalışma Anadolu Üniversitesi Araştırma Fonunca (Proje No: 001042) desteklenmiştir.

#### KAYNAKLAR

Altamore, C., Norwell, W.A., Bjorkman, T., Harman, G.E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *T. harzianum* Rifai 1295-22. Applied and Environmental Microbiol. 65, 2926-2933.

- Anke, T. 1997. Fungal Biotechnology, Chapman and Hall, London, pp. 65-76.
- Basım, H., Öztürk, Ş.B., Yeğen, O. 1999. Biyolojik bir fungusid (Planter Box *T. harzianum* Rifaii T-22)'in pamuk fide kök çürüklüğü etmenlerine (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp.) karşı etkinliğinin araştırılması. GAP I. Tarım Kongresi, Şanlıurfa, s. 137-144
- Beagle-Ristaino, J.E., Papavizas, G.C. 1985. Survival and proliferation of propagules of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens* in soil and plant rhizospheres. *Phytopathology*. 75, 729-732.
- Blakeman, J. P. 1978. Microbial competition for nutrients and germination of fungal spores. *Ann. Appl. Biol.* 89, 151-155.
- Boland, G.J. 1990. Biological control of plant diseases with fungal antagonists: Challenges and opportunities. *Can J Plant Pathology* 12, 295-299.
- Celar, F. 2000. Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. *Biological Control*. 121, 350-356.
- Ghisalberti, E.L., Sivasithamparam, K. 1991. Antifungal Antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biol. Biochem.* 23(11), 1011-1020.
- Inbar, J., Abramsky, D.C., Chet, I. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedling grown under commercial conditions. *Plant Pathology*. 100, 337-346.
- Kıncı, E. 2000. Orta Anadolu'da Tahıl Tarımı, Türkiye Ziraat Odaları Birliği, 68 s. Ankara
- Küçük, Ç., Kıvanç, M. 2003. Isolation of *Trichoderma* spp. from Turkey Soil and Determination of Their Antifungal Features. *Turk J Biol.* 27, 247-253.
- Schirmböck, M., Lorito, M., Wang, Y.L., Hayes, C.K., Arslan-Atac, I., Scala, F., Harman, G.E., Kubicek, C.P. 1994. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonist action of *T. harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl Environ Microbiol* 60, 4364-4370.
- Sivan A., Chet, I. 1989. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology*. 79, 108-203.
- Wartanabe, N., Lewis, J.A., Papavizas, G.C., 1987. Influence of nitrogen fertilizers on growth, spore production and germination and biological potential of *Trichoderma* and *Gliocladium*. *J. Phytopathol.* 120, 337-346.
- Whipps, J.M., Davies, K.G. 2000. Biocontrol of plant pathogens and nematodes by microorganisms. In: Gurr G., Wratten, SD (eds). *Measures of success in biological control*. Kluwer, Dordrecht, pp 231-269.
- Yedidia, I., Benhamou, N., Kapulnik, Y., Chet, I. 2000. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T203. *Plant Physiol. Biochem.* 38, 863-873
- Yurtsever, N. 1984. Deneysel istatistik metodları. Tarım Orman Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayın No:121, 623s. Ankara.