



Araştırma Makalesi

www.ziraat.selcuk.edu.tr/ojs
Selçuk Üniversitesi
Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi
25 (4): (2011) 6-10
ISSN:1309-0550



Trichoderma harzianum T22 Irkının Farklı pH ve Tuz Konsantrasyonlarına Adaptasyonu ve Domateste Fusarium oxysporum f.sp. radicis- lycopersici 'in Biyolojik Kontrolünde Kullanılması

Fahri YİĞİT^{1,2}

¹Muğla Üniversitesi, Fethiye A.S.M.K. Meslek Yüksekokulu, Muğla/Türkiye

(Geliş Tarihi: 12.06.2011, Kabul Tarihi:16.09.2011)

Özet

Biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan *Trichoderma harzianum* (T22) 'un farklı tuz konsantrasyonlarına karşı reaksiyonunu belirlemek amacıyla, farklı oranlarda sodyum klorür içeren PDA (Patates dekstroz agar) ortamında T22 geliştirilmiştir. Daha sonra T22 'nin domateste kök ve kök boğazı çürüklüğüne sebep olan *Fusarium oxysporum f.sp. radicis* 'e karşı misel gelişimini engelleyici etkisi iki farklı pH (5, 8) seviyesinde ve beş farklı NaCl konsantrasyonunda (0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25 M) test edilmiştir. Çalışmalar neticesinde in vitro koşullarda yürütülen fungusun miselyal gelişimi ve sporulasyonu artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak sırasıyla %12.94-54.12 ve %85.07-95.14 arasında engellendiği tespit edilmiştir. 50 M NaCl üzerindeki konsantrasyonlarda sporulasyonun gerçekleşmediği görülmüştür. Sürekli artan tuz konsantrasyonlarında gelişmeye bırakılan fungusun NaCl'a karşı düşük de olsa bir adaptasyon sağladığı belirlenmiştir. Fungusun miselyal gelişimi %2.35-3.54 oranlarında düşük derecede engellenmiş, sporulasyonda ise $0.6-1.5 \times 10^5$ bir artış gerçekleşmiştir. Tuzlu koşullara adaptasyon sağlamış olan izolatan normal izolata göre *F. oxysporum f.sp. radicis* ile bulaşık seralarda kök ve kök boğazı çürüklüğünü %3.2 oranla daha fazla kontrol edebildiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Trichoderma harzianum*, pH, tuz, adaptasyon, *Fusarium oxysporum f.sp. radicis*

The Adaptation of Trichoderma Harzianum T22 Race to Different pH and Salt Concentrations and Its Use in Biological Control of Fusarium oxysporum f.sp. Radicis Lycopersici on Tomato

Abstract

Trichoderma harzianum (T22) used as biological control agent, was performed in culture medium (PDA) containing different NaCl ratios to assesment its reaction to salt concentration. T22 was tested in two different pH levels (5-8) and five different NaCl concentrations (0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25 M) to *Fusarium oxysporum f. sp. radicis lycopersici* (FORL) causing crown root rot disease on tomato. At the end of studies, mycelial growth and sporulation of FORL were inhibited by 12.94-54.12 and 85.07-95.14% respectively, depending on ascending NaCl concentration. Sporulation was also not observed above 50 M NaCl. T22 performed in ascending NaCl concentrations showed low adaptation to salt stress. The mycelial growth was low inhibited 2.35- 3.54% and sporulation raised up to $0.6-1.5 \times 10^5$ spor/ ml. The results indicated that T22 performed in salt condition has 3.2 % higher ability to control of FORL compared to T22 growth in optimum conditions.

Key Words: *Trichoderma harzianum*, pH, salt, adaptation, *Fusarium oxysporum f.sp. radicis*

Giriş

Tarımsal üretimi etkileyen en önemli faktörlerden biri toprak pH ve tuzluluğudur. Bu faktörler bitki beslenmesinde önemli olduğu kadar toprakta mikrobiyal aktivite için önemlidir. Bu nedenle hem toprak kaynaklı hastalıkların çıkışında hem de biyolojik mücadelede kullanılan etmenlerin aktivitesinde pH ve tuzluluk önemli bir sınırlayıcı faktördür. Özellikle deniz kıyısına yakın sera alanlarında en önemli sorunlardan biri toprak tuzluluğudur. Buna bağlı olarak belirli toprak kaynaklı patojenlerin populasyonları artabilmektedir. Bunlardan biri de *Fusarium* türleridir. Özellikle *Fusarium oxysporum* grubuna dahil farklı

Fusarium türlerinin tuz stresi altında sporulasyon ve miselyal gelişimi motive edilmektedir (El-Abyed et al.,1988; Ragazzi et al.,1994). Özellikle sera üretim alanlarında en önemli toprak kaynaklı hastalıklardan biri de *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü (*Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*)'dür.

Toprak fümigantları dışında kimyasal mücadeledeki başarı oranının düşük olması ve yeterince dayanıklı domates çeşitlerinin bulunmaması biyolojik mücadelenin alternatif bir yöntem olarak ön plana çıkmasına neden olmuştur. Toprak kaynaklı hastalıkların biyolojik mücadelesinde kullanılan en yaygın funguslardan biri *Trichoderma* türleridir (Agrios, 2001). T.

²Sorumlu Yazar: fyigit@mu.edu.tr

harzianum T22 izolatu ise ticari olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır. Fungusun en önemli biyokontrol mekanizmaları ise bitki dayanıklılığını uyarma, rekabet, antibiyosis ve mikoparazitizm'dir (Howell, 2003; Benitez et al., 2004).

Biyolojik etmenlerin izole edildikleri doğal yaşam alanları dışındaki aktiviteleri pH, sıcaklık, nem gibi bir çok sınırlayıcı faktör nedeniyle sınırlandırılmaktadır. Etmenin üreme ve çoğalması yanında, biyokontrol mekanizmaları da etkilenmektedir (Howell, 2003). Tuz stresinin *T. harzianum*'un gelişme, sporulasyon ve *F. oxysporum*'a karşı antagonistik aktivitesi üzerine olumsuz etki yaptığı tespit edilmiştir (Kredics et al. 2000, 2004). Dolayısıyla söz konusu bu cansız stres koşulları biyolojik etmenin başarı oranını etkileyebilmektedir. Özellikle uzun yıllar aynı alanda monokültür tarımın yapılması sonucu toprakta oluşan tuzluluk ve pH'daki artış, nem düzeyi, toprak içerisinde bulunan mikrobiyal populasyonun nicelik ve niteliğinde bir değişime neden olması ile birlikte biyolojik etmenlerin de aktivitelerini ve başarı oranlarını etkileme ihtimali söz konusudur (Easburn and Butler, 1991; Begoude et al., 2007).

Toprak koşullarında abiyotik stres faktörlerinden biri de tuzluluktur. Ülkemizin bazı bölgelerinde olduğu gibi, özellikle araştırmanın yapıldığı Fethiye deniz kıyısına yakın bölgelerde tuzluluk önemli sorun teşkil etmektedir. Son yıllarda sera üretim alanlarında domatesten *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici-radicis* önemli sorun oluşturmaktadır ve söz konusu patojene karşı *T. harzianum*'un hazır ticari preparatları yaygın olmasa da kullanılmaya başlamıştır. Ancak üreticilerin yapılan uygulamadan istenilen sonucu alamadıkları şeklindeki kanaatleri sonucu *T. harzianum* T22 izolatının özellikle tuz ile olan interaksyonu belirleme düşüncesi ön plana çıkmıştır. Bu düşünce ile bu çalışmanın amacı, son yıllarda toprak kaynaklı patojenlere karşı kullanılan *T. harzianum* T12 izolatının farklı tuz konsantrasyonlarına karşı reaksiyonlarını belirleyerek, NaCl'a karşı adaptasyonu artırılmış izolatın, *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*'ye karşı biyolojik mücadele potansiyelini belirlemektir.

Materyal ve Yöntem

Denemede kullanılan *T. harzianum* T22 izolatu ticari olarak kullanılan T-22™ Planter Box isimli ticari biyopreparattan izole edilmiştir. Patojen *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* denemenin yürütüldüğü bölgeden doğal olarak enfekteli domates köklerinden izole edilmiş ve tek bir spordan saflaştırılmıştır. Saflaştırılan her iki fungus eğik agarda +4 °C'de saklanmıştır. Sera denemesinde ise ılıgın isimli F1 çeşidi kullanılmıştır. Denemenin yürütüldüğü toprağın tekstür yapısı ise kumlu-tınlı olup, pH:7.9 ve EC:4.2 olarak belirlenmiştir.

Trichoderma harzianum T22 İzolatının Farklı pH ve Tuz (NaCl) Konsantrasyonlarına Adaptasyonlarının Sağlanması

Öncelikle *T. harzianum*'un farklı pH (5,8) ve NaCl konsantrasyonlarına (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25 M) reaksiyonunu belirlemek ve adaptasyon denemelerinde, ne derece adapte olduğunu karşılaştırma amacıyla fungus farklı pH (5, 8) ve NaCl içeren PDA (Patates Dekstroz Agar) ortamı üzerine disk yöntemiyle inokule edilerek 25 °C'de 4 gün inkube edildikten sonra koloni çapları ölçülerek NaCl ve pH'ın fungusun miselyal gelişimi üzerine etkisi tespit edilmiştir. Bu etki Abbot formülü ile % engelleme olarak ifade edilmiştir.

Denemenin her bir aşamasında sporulasyon oranını tespit etmek amacıyla her bir petri kutusunun yarıçapının ortasına gelecek şekilde 0.6 mm çapında birer disk çıkarılarak içerisinde 10 ml sterilize edilmiş saf su bulunan deney tüplerine konarak parçalanmış ve karıştırılmıştır. Buradan Thoma lamı ile mikroskop altında spor sayımı yapılmıştır. Burada farklı oranlarda NaCl içeren bir petriden dört farklı disk alınmış ve her birinin sporları sayılarak, dört tekerrürün ortalaması alınmıştır.

Biyokontrol ajanı *T. harzianum*'un farklı tuz ve pH konsantrasyonlarına adaptasyonunu sağlamak amacıyla pH 8'e ayarlanmış 1.25 M sodyum klor içeren PDA ortamında bir haftalık gelişmesini tamamlamış genç miselyumdan bir disk alınarak tekrar 0.25 M sodyum klor içeren ortama aktarılarak yine fungus 25 °C'de bir hafta gelişmeye bırakılmıştır. Bu işlem 0.75 mM NaCl konsantrasyonuna kadar devam edilmiştir. En son 0.75 M NaCl içeren ortamdan bir disk alınarak 15 mM NaCl içeren PDA ortamında sera denemesinde kullanılmak üzere saklanmıştır. Ayrıca her bir tuz konsantrasyonunda gelişmeye bırakılmış fungus 2. günde bir saat 366 nm dalga boyunda ultraviyole ışığı altında tutulmuştur. Dört günlük inkubasyondan sonra koloni çapları ölçülerek, kontrole göre miselyal gelişmedeki % engellenme tespit edilmiştir. Yine yukarıda belirtilen yöntemle spor sayımı yapılmıştır. Fungusun belirli süre ile ultraviyole ışığı altında artan tuz konsantrasyonlarına maruz kalması sonucu ne derecede adaptasyonun sağlandığı konusunda bir sonuca varabilmek için denemenin başında pH'ı 8'e ayarlanmış farklı sodyum klor içeren (0.25, 0.50, 0.75 M) PDA ortamında gelişen fungusun % engelleme verileri esas alınmıştır. Tüm muameleler dört tekerrürlü olarak değerlendirilerek DUNCAN testi ile muameleler arasında farkın olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Sera Denemesi

T. harzianum'un pH:8 ve tuzlu ortama adaptasyonu sağlanmış izolatu ile hiçbir muamele yapılmamış ticari preparattan izole edilmiş izolatın, biyokontrol yeteneklerini belirlemek amacıyla bir yıl önce yaklaşık %40 *F. oxysporum* f.sp. *radicis* ile doğal olarak enfekteli sera toprağı (pH:7.9, EC:4.2) seçilmiştir.

Kontrol amaçlı izolat normal PDA , diğer izolat ise pH 8' ayarlanmış ve 0.25 M sodyum klor içeren PDA ortamında geliştirilmiştir. Domates fideleri sera toprağına şaşırtılması aşamasında her iki izolat PDA üzerinden kazınıp, farklı kaplardaki su içine parçalanarak süspansiyon oluşturulmuş (10^8 cfu/ml) ve üzerinde fide bulunan viyoller ayrı ayrı içerisinde *Trichoderma* bulunan süspansiyona içine iyice daldırılarak sera toprağına şaşırtılmıştır. Kontrol fideler ise sadece suya daldırılmıştır. Her bir kontrol ve muamele için 220'şer adet domates fidesi seçilmiş ve 5 dikim sırası şeklinde dikilmiştir. Her bir sıra ise bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. Serada bulunan diğer bitkilere yapılan tüm işlemler aynen denemede kullanılan bitkiler içinde yapılmıştır. Dikimden itibaren 3. ayın son haftasında ve ilk hasattan sonra kontrol ve muameleli bitkilerdeki hastalık belirtisi gösteren bitkiler sayılarak, sağlıklı bitkiler üzerinde % hastalık oranları belirlenmiştir.

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

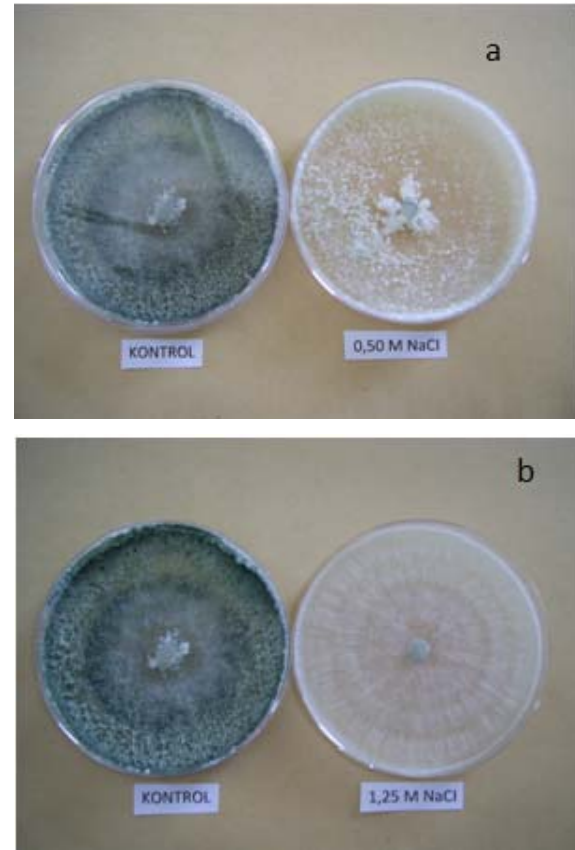
T. harzianum T22 izolatının farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarına karşı reaksiyonunu belirlemek amacıyla inkubasyonun dördüncü günü yapılan ölçünler sonucu NaCl'un fungusun miselyal gelişimi ve sporulasyon üzerine etkisi Tabo 1'de görülmektedir. Tablo 1'de görüldüğü gibi tuz konsantrasyonunun artışı ile miselyal gelişimin engellenmesi arasında doğru bir ilişki bulunmaktadır. Bu sonuçlara göre fungus 1.25 M sodyum klorür içeren bir ortamda gelişebilme yeteneğindedir. Bu ölçümler belirli bir sürede ve kontrol petri kutusundaki gelişmeye göre değerlendirilmiştir. Burada 0.25-1.25 M NaCl miselyal gelişmeyi %12.94-54.12 arasında engellemiştir. Dördüncü günden sonra yapılan gözlemlerde farklı tuz konsantrasyonu içeren petri kutularındaki funguslar da petri kutusunu doldurabilmiştir. Bu durum bize çalışmada denenen söz konusu tuz konsantrasyonlarının fungusun miselyal gelişimini engellemekten ziyade miselyal gelişim hızını yavaşlattığı düşünülmektedir.

pH'in da tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak fungusun miselyal gelişimi üzerine etkisi olduğu tespit edilmiştir. Besi ortamının pH'sı beşten sekize çıkarılınca fungusun miselyal gelişiminde ortalama %2.35-3.54 bir azalma tespit edilmiştir. Sporulasyonda ise dikkate değer bir oranda azalma görülmemiştir. Bu araştırma sonuçlarından en dikkate değer sonuç fungusun 0.50 M NaCl ve üzerinde sporulasyonun durmasıdır (Şekil . Bu sonuca göre 0.50 M üzerinde NaCl içeren bir toprakta sporulasyona geçemeyen bir fungusun yaşama şansı da azalmaktadır. Tablo 1'de görüleceği üzere tuz konsantrasyonunun artışı ile sporulasyon arasında negatif bir ilişki bulunmaktadır.

T. harzianum'un tuza karşı adaptasyonunu arttırmak amacıyla birinci denemede (Tablo 1'de) 1.25 M NaCl içeren ortamda gelişen fungusun miselyumdan bir disk alınarak tekrar 0.25 M NaCl içeren ortama inokule edilerek gelişmeye bırakılmış, buradan aynı şekilde sırasıyla 0.50 ve 0.75 M NaCl içeren ortamlara akta-

rılması sonucu Tablo 2'de görüleceği üzere fungusun miselyal gelişimi kontrole göre sırasıyla %10.59, %23.53 ve %36.92 oranında engellenmiştir. Ortam pH'sı 8 olan Tablo 1'deki verilerle karşılaştırıldığında, adaptasyon çalışmasında fungusun miselyal gelişimi %2.35-3.54 daha az engellenmiştir. Bu sonuç fungusun artan tuz konsantrasyonuna karşı az da olsa bir adaptasyon sağladığını göstermektedir. Sporulasyonda da $0.6-1.5 \times 10^5$ spor/0.28 cm² arasında bir artış görülmüştür.

Sera denemesinde ise sadece ticari preparattan izole edilerek çoğaltılan ve kontrol olarak uygulanan bitkilerde ortalama hastalık yüzdesi 20.2 şeklinde tespit edilirken, ortam pH'sı 8 olan farklı tuz konsantrasyonlarına düşük de olsa adaptasyon sağlayan izolatın uygulandığı bitkilerde ortalama hastalık yüzdesi 23.4 bulunmuştur. Bu sonuca göre abiyotik stres faktörleri olarak kabul edilen belirli pH ve tuzlu ortamlara düşük de olsa adaptasyon sağlamış olan *T. harzianum* T22 izolatı kontrole göre %3.2 oranında daha başarılı olmuştur.



Figür 1: *Trichoderma harzianum* T22'nin sporulasyonu üzerine 0.50 M (a) ve 1.25 M (b) Sodyum klorür'ün etkisi

Trichoderma genusuna ait funguslar 1920'lerden itibaren bitki patojenlerine karşı biyokontrol ajanı

olarak bilinen funguslardır (Harman, 2006). Toprak kaynaklı mikroorganizmalara karşı faaliyet gösteren önemli biyokontrol ajanlarıdır (Agrios, 2001). *Trichoderma* besin ve yer rekabeti, antibiyosis, mikoparazitizm ve bitkinin savunma mekanizmalarını uyarmak suretiyle bitki hastalıklarıyla biyolojik mücadelede başarı sağlamaktadır (Naseby et al., 2000; Howell, 2003; Benitez et al., 2004; Harman 2006). Fungusun özellikle patojen hiflerini doğrudan parazitlenmesinde salgılamış oldukları kitinas, β -1,3 glukonaz ve diğer antifungal enzimler büyük öneme sahiptir. Bu etki mekanizmaları ile ilgili önemli bir

husus da; yukarıda ifade edildiği gibi birden fazla ve kompleks oluşlarıdır. Bunların kullanımı toprak tipi ve PH'sına, sıcaklığa, bitki ve toprak nemine ve toprakta bulunan diğer mikrofloraya bağlıdır (Howell, 2003). Bu nedenle biyolojik etmeni olarak izole edilen antagonistin izole edildiği koşulları belirlemede yarar bulunmaktadır. Fungusun uygulandığı toprak şartlarının uygun olması söz konusu bir veya birden fazla biyokontrol mekanizmaların daha aktif çalışmasına neden olacak ve bunun sonucu olarak fungusun biyokontrol potansiyeli ve başarısı artacaktır.

Tablo 1. Farklı NaCl ve pH değerlerinin *Trichoderma harzianum* T22 izolatının miselyal gelişme ve sporulasyonu üzerine etkisi

NaCl (mM)	pH:5			pH:8		
	Petride radyal gelişme	% engelleme	Sporulasyon (sporx10 ⁵)/0,28 cm ²	Petride radyal gelişme	% engelleme	Sporulasyon (sporx10 ⁵)/0,28 cm ²
0	8,5 ^a	0	86,6 ^a	8,5 ^a	0	86,4 ^a
0.25	7,4 ^b	12,94 ^e	13,1 ^b	7,2 ^b	15,29 ^e	12,9 ^b
0.50	6,5 ^c	23,53 ^d	4,4 ^c	6,3 ^c	25,88 ^d	4,2 ^c
0.75	5,5 ^d	35,28 ^c	0	5,2 ^d	38,82 ^c	0
1.0	4,4 ^e	48,24 ^b	0	4,1 ^e	51,76 ^b	0
1.25	3,9 ^f	54,12 ^a	0	3,6 ^f	57,65 ^a	0

P:0.05

Tablo 2: *Trichoderma harzianum* T22 izolatının farklı tuz konsantrasyonlarına karşı adaptasyonu neticesinde ortaya çıkan miselyal gelişim ve sporulasyondaki değişim.

NaCl (mM)	Petride radyal gelişme (pH:8)	% engelleme (pH:8)	Sporulasyon (sporx10 ⁵)/0,28 cm ² (pH:8)
0.25	7,6 ^a	10,59 ^c	14,4 ^a
0.50	6,5 ^b	23,53 ^b	4,8 ^b
0.75	5,7 ^c	36,92 ^a	0

P:0.05

Toprakta tuzluluk *T. harzianum* T22 izolatının biyokontrol potansiyelini etkileyen önemli bir abiyotik stres faktörüdür. Araştırma sonucuna göre fungus 50 M NaCl ve üzerinde koloni gelişiminin düz ve beyazımsı olduğu, sporulasyonun gerçekleşmediği görülmüştür. Mohamed ve Haggag (2006) tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Tuz stresine karşı geliştirilen mutant izolatlar *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*'ye karşı maksimum antagonistik etki göstermiştir. Fungusun tuzluluğa karşı tolerant kapasitesi hücre içi iyon konsantrasyonunun değiştirme ve prolin üretme yeteneği ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Tuzluluğa karşı tolerant mutantlarda miselyumda Na ve prolin içeriğinde önemli bir artış, Ca, Mg ve K içeriğinde ise azalma tespit edilmiştir (Mohamed ve Haggag, 2006).

Trichoderma türlerinin *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin biyolojik mücadelesinde kullanılmış olan en etki mekanizmalarından biri de enzim ve antibiyotikler gibi sekonder metabolitlerdir (dal Soglia et al., 1998; Perez et al., 2002; Benitez et al., 2004). 69 mM NaCl ilave edilmiş büyüme ortamında tuza tolerat mutantlarla ilgili yapılan çalışmalarda kitinaz,

selülaz, β -galaktosidaz ve antibiyotiklerden trikodermin, gliotoksin ve gliovirin miktarlarında artışlar tespit edilmiştir (Stefanova et al., 1999; Mohamed ve Haggag, 2006). Yapılan bu çalışmada da tuzlu ortama kısmen adapte edilen *Trichoderma* izolatının kontrol izolata göre %3.2 daha başarılı bulunmuştur. Mohamed ve Haggag, (2006) tarafından tuzlu toprak koşullarında (Na 740 ppm, Ca 520 ppm ve EC 6.4 mmhos/cm) yapılan çalışmada *T. harzianum*'un mutant izolatları mutant olmayanlara göre domateste *Fusarium solgunluğuna* karşı daha iyi kontrol, bitki gelişimi ve ürün sağlamıştır.

Konu ile ilgili yapılan araştırma sonuçlarından görüleceği üzere *Trichoderma* gibi biyolojik kontrol etmenlerinin biyokontrol potansiyeli üzerine birçok faktör etki etmektedir. Özellikle *Trichoderma* açısından toprak nemi, sıcaklığı ve tuzluluğun antagonistin topraktaki aktivitesi açısından son derece önemlidir. Bu nedenle biyokontrol etmenlerinin uygulanmasının planlanmasında mutlaka abiyotik stres faktörleri göz önüne alınmalıdır. Mümkün olması durumunda biyolojik kontrol etmenleri uygulanacağı toprak koşullarından izole edilmeli veya mutasyon teknikleri ile

etmenin daha önceden uygulanacağı koşulların stres koşullarına göre adaptasyonu gerçekleştirilmelidir.

Kaynaklar

- Agrios, G., 2001. *Phytopathology*. 2nd Ed. Mexico; Limusa S.A., 838 p.
- Begoude B.A.D., Lahlali R., Fried D., Tondje P.R. and Jijakli M.H., 2007. Response surface methodology study on the combined effects of temperature, pH and water activity on the growth rate of *Trichoderma asperellum*. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 4: 845-854.
- Benitez T., Rincon A.M., Limon M.C. and Codon A.C., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 4: 249-260.
- Benitez T., Delgado-Jarana J., Rincon A., Rey M. and Limon C., 1998. Biofungicides: *Trichoderma* as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi. *Recent Research Development in Microbiology* 2, 129-150.
- Benitez T. Rincon, Ana M., Limon M., Carmen and Codon, Antonio C, 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 4:249-260.
- dal Soglio F.K., Bertagnolli B.L., Sinclair J.B., Yu G.Y. and Eastburn, D.M., 1998. Production of chitinolytic enzymes and endoglucanase in soybean rhizosphere in the presence of *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*. *Biological Control*, 12, 2:111-117.
- Eastburn D.M. and Butler E.E., 1991. Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. *Mycologia* 83, 257-263.
- El-Abyad M.S., Hindorf H., Rizk M.A., 1998. Impact of salinity stress on soil-borne fungi of sugar beet. II. Growth activities *in vitro*. *Plant Soil*, 110, 33-37.
- Harman G.E., 2006. Overview of mechanisms and use of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96:2,190-194.
- Howell C., 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolutions of current concepts. *Plant Disease*, 87, 1:4-10.
- Kredics L., Manczinger L., Antal Z., Penzes Z., Szekeres A., Kevel F. and Nagy E., 2004. *In vitro* water activity and pH dependence of mycelial growth and extracellular enzyme activities of *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Journal of Applied Microbiology* 96: 491-498.
- Kredics L., Antal Z. and Manczinger L., 2000. Influence of water potential on growth, enzyme secretion and *in vitro* enzyme activities of *Trichoderma harzianum* at different temperatures. *Current Microbiology* 40, 310-314.
- Mohamed H. A-L. A. and Haggag W. M., 2006. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, 2: 181-191.
- Naseby D.C., Pascual J.A. and Lynch J.M., 2000. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbiol communities and soil enzyme activities. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 1:161-169.
- Perez L.M., Besoain X., Reyes M., Pardo G. and Montealegre J., 2002. The expression of extracellular fungal cell wall hydrolytic enzymes by different *Trichoderma harzianum* isolates correlates with their ability to control *Pyrenochaeta lycopersici*. *Biological Research*, 35, 3-4: 401-410
- Ragazzi A., Vecchio V., Dellavalle I., Cucchi A., Mancini F., 1994. Variations in the pathogenicity *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* in relation to salinity of the nutrient medium. *Z.Pflanzenkr.Pflanzenschutz*, 101, 263-266.
- Stefanova M., Leiva A., Larrinago L., Coronado M.F., 1999. Metabolic activity of *Trichoderma* spp. isolates for a control of soil borne phytopathogenic fungi. *Revista de la Facultad de Agronomia Universidad del Zulia*, 16, 509-516.