

## Fasulye Gelişiminde, *Rhizoctonia solani* B227'nin Biyotik Stresine Karşı *Trichoderma harzianum* ID11C'nin Biyokontrol Etkinliği

Arif BOZDEVECİ Şengül ALPAY KARAOĞLU\* Müberra PINARBAŞ  
Cemre TARAKÇI Gökhan VEYİSOĞLU

Recep Tayyip Erdogan University, Department of Biology, Faculty of Arts & Sciences, TURKEY.

 <https://orcid.org/0000-0002-0729-9143>

 <https://orcid.org/0000-0003-1047-8350>

 <https://orcid.org/0000-0001-6064-0673>

 <https://orcid.org/0000-0003-0171-5369>

 <https://orcid.org/0000-0003-0224-3148>

Received date: 18.04.2019

Accepted date: 01.07.2019

Atf yapmak için: Bozdeveci, A., Alpay Karaoğlu, Ş., Pınarbaş, M., Tarakçı, C. & Veyisoğlu, G. (2019). Fasulye gelişiminde, *Rhizoctonia solani* B227'nin biyotik stresine karşı *Trichoderma harzianum* ID11C'nin biyokontrol etkinliği. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 4(3), 302-311.  
How to cite: Bozdeveci, A., Alpay Karaoğlu, Ş., Pınarbaş, M., Tarakçı, C. & Veyisoğlu, G. (2019). The biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* ID11C against to the biotic stress of *Rhizoctonia solani* B227 in bean development. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(3), 302-311.

**Öz:** Çalışmada çay toprağından izole edilen *Trichoderma harzianum* ID11C suşunun bazı enzim aktivitesi, ağır metallere toleransı, tohum (domates, mısır ve fasulye) çimlenmesi üzerine etkinliği ve fasulyede *Rhizoctonia solani* B227 (AG-4)'nin biyotik stresine karşı biyokontrol aktivitesinin araştırılması amaçlandı. *T. harzianum* ID11C suşunun bazı enzim aktiviteleri kromojenik yöntemle incelendi. Sonuçlar farklı konsantrasyonlarda ağır metal (Cu, Pb, Zn ve Cd) ve tuz toleransı olduğunu gösterdi. *Trichoderma harzianum* ID11C ve *Rhizoctonia solani* B227(AG4) izolatının fasulye gelişimine karşı patojenite testi ve *T. harzianum* ID11C suşunun tohum çimlenme başarısına olan etkinliği, su agar metodu ile incelendi. *T. harzianum* ID11C ve *R. solani* B227 varlığında fasulye gelişim parametreleri saksı deneyi ile araştırıldı. Fizyolojik (ana kök ve gövde uzunluğu, saçaklanma sayısı, yaprak sayısı, yaş ve kuru ağırlıkları) parametreler ölçüldü ve istatistiksel analizleri yapıldı.

*Trichoderma harzianum* ID11C suşu, yüksek konsantrasyonlarda ağır metallere (100-400 mM) ve tuza (250 mM) karşı toleranslıdır. Bitki gelişimini teşvik eden enzim aktivitelerinin var olduğu gözlemlendi. *T. harzianum* suşunun tohumların çimlenme başarısı üzerinde kontrole kıyasla olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edildi. Saksı deneyinde, kontrol ile *R. solani* B227 grupları birbirine kıyaslandığında, gövde ve ana kök uzunluğu, saçaklanma sayısı ve kökte lezyon skala değerleri ile yapılan istatistik analizi sonucu aralarında anlamlı farkın ( $p < 0.05$ , Tukey) olduğu belirlendi. *R. solani* B227 ve *T. harzianum* ID11D'nin ayrı ayrı fasulye gelişimi üzerine olan etkileri, kontrol grubuna göre iyi olmadığı belirlendi. Ancak ID11C ve B227+ID11C grupları B227 grubu ile kıyaslandığında, patojenik etkinliği azalttığı belirlendi.

*R. solani* B227 (AG4) izolatu, fasulyede (Zulbiye) patojeniteye neden olduğu, *T. harzianum* ID11C suşunun ise istatistiksel olarak olumlu yönde anlamlı bir fark oluşturmamasına rağmen, tüm parametrelerde patojeniteyi azalttığı belirlendi. *T. harzianum* ID11C suşunun fasulye tarımında *Rhizoctonia solani*'ye karşı biyokontrol ve bitki destekleyici ajan olarak kullanılabilceği sonucuna varıldı.

**Anahtar sözcükler:** Biyokontrol, bitki patojeni, fasulye, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma harzianum*.

## The Biocontrol Activity of *Trichoderma harzianum* ID11C Against to the Biotic Stress of *Rhizoctonia solani* B227 in Bean Development

**Abstract:** The aim of the study was to determine the efficacy of *Trichoderma harzianum* ID11C strain isolated from tea soil on germination of seeds (tomato, maize, and bean) and to investigate the biocontrol efficacy against biotic stress of *Rhizoctonia solani* B227(AG4) in beans. Some enzyme activities of *T. harzianum* ID11C strain were investigated by the chromogenic method. It was determined that it had a tolerance to heavy metals (Cu, Pb, Zn, and Cd) and salt in different concentrations. The results showed different concentration of some heavy metal (Cu, Pb, Zn and Cd) resistance and salt tolerance. The pathogenicity test against the bean development of the *Rhizoctonia solani* isolate and the efficiency of the *T. harzianum* strain to seed germination success were determined by the water agar method. In the presence of *T. harzianum* and *Rhizoctonia solani*, bean development parameters were investigated by pot experiment. Physiological parameters (root and stem length, number of hair root, leaf surface area and number, wet and dry weights, etc.) were measured and then statistical analyses were performed.

*Trichoderma harzianum* ID11C strain was determined to tolerant against to high concentrations of heavy metals (100-400 mM) and salt (250 mM). It was observed that there were enzyme activities that promote plant growth. It was determined that *T. harzianum* strain had no negative effect on the germination success of the seeds compared to the control. In the pot experiment, when the control group and *R. solani*

groups were compared with each other, it was determined that there was a significant difference between the results of the statistical analysis performed with the stem and main root length, the number of lateral root and the root lesion scale (Tukey test,  $p < 0.05$ ). The effects of *R. solani* or *T. harzianum* on bean development were not as good as the control group. However, ID11C and B227+ID11C groups were found to reduce pathogenic activity when compared with group B227.

It was determined that *R. solani* caused pathogenesis in the bean (Zulbiye), whereas *T. harzianum* strain decreased pathogenicity in all parameters, although it is not statistically significant. It was concluded that *T. harzianum* ID11C strain could be used as biocontrol and plant supporting agent against *Rhizoctonia solani* in bean farming.

**Keywords:** Beans, biocontrol, plant pathogen, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma harzianum*.

## GİRİŞ

Bitkiler, büyümelerini, gelişmelerini ve ürün verimlerini önemli ölçüde etkileyen çeşitli biyotik ve abiyotik streslere maruz kalırlar. Biyotik (bakteriyel ve fungal patojenler gibi) ve abiyotik (küresel ısınma, yüksek ve düşük sıcaklık, tuzluluk, kuraklık ve bununla ilişkili potansiyel iklim anormallikleri) stresler, dünyadaki tarımsal bitkilerin çoğunda ürün veriminin ve mahsul kaybının temel sebepleri arasında yer alırlar (Pandey vd., 2017). Bitkilerin biyotik streslerinin azaltılması ya da stres faktörlerinin olumsuz etkilerinden korunabilmesi, toprak verimliliğini arttırılabilmesi ve bitki büyümesinin teşvik edilmesi amacıyla alternatif yollar aranmaktadır. Bu yolların başında da bitki gelişimini teşvik eden en önemli faktörler arasında yine yararlı bakteri veya fungusları kapsayan mikroorganizmalar gelmektedir. Bitki gelişimini teşvik eden yararlı mikroorganizmalarla bitki etkileşimleri, bitkilerin stres toleransını olumlu etkiledikleri konusunda pek çok çalışma bulunmaktadır (Güler vd., 2016; Chernin ve Chet., 2002).

Bitki gelişimini teşvik eden ve bitki patojenlerinin biyolojik kontrolünde kullanılan tüm mantar türlerinin üçte birini *Trichoderma* spp. oluşturmaktadır (Chernin ve Chet., 2002). *Trichoderma* spp. rizosferde bulunur, özellikle bitki köklerine çok yakındır ve bitkiyi kontrol etmek için çevre dostu bir dizi biyolojik kontrol maddeleri üretmektedirler (Harman, 2006). Cinsin çeşitli türleri, farklı bitkisel ürün patojenlerine karşı biyo-fungisitler veya biyo-gübreler olarak pazarlanmaktadır (Woo vd., 2014). Bu türler, bitkiler için çoklu mekanizmalar kullanarak çeşitli bitki patojeni mikroorganizmalara karşı koruyucu etkinlik oluştururlar. Bu çoklu mekanizmalar; mikoparazitizm, antibiyozis, uçucu metabolik bileşikler, mekan ve besinler için rekabet ve bitki sistemik direncinin uyarılması dahil, çoklu sinerjik mekanizmalarla patojenleri kontrol ettiği gösterilmiştir (Howell, 2003; Harman vd., 2004; Harman, 2006; Ningxiao vd., 2018, Shores vd., 2010; Sawant, 2014; Woo vd., 2014).

*Rhizoctonia solani*, sklerot denilen dayanıklı yapısı aracılığıyla çoğunlukla toprak ve mahsul kalıntısında kalıcı olması ve geniş konakçı çeşitliliğine sahip olması nedeniyle kontrolü zor olan bir toprak kaynaklı fungal patojendir. Nekrotrofik bir patojen olup kök ve hipokotil hastalıklarına neden olur. *Rhizoctonia* kök çürüğü fasulye bitkisinde en yıkıcı hastalıklardan biri olup dünya çapında yaygındır

(Hagedorn, 1991). Biyolojik kontrol, fitopatojenik hastalık etkenlerine karşı sentetik pestisitlere bir alternatif olarak görülmektedir. *Trichoderma* spp. türlerinin fasulye, pamuk, domates, pancar ve patates dahil olmak üzere çeşitli mahsullere uygulandığında, *R. solani*'nin neden olduğu çeşitli hastalıkları (solgunluk ve kök çürüklüğü) azalttığı ile ilişkili pek çok çalışmalar bildirilmiştir (Beagle-Ristaino ve Papavizas, 1985; Lewis ve Papavizas, 1987; Verma vd., 2007).

Bitkilerde abiyotik stres faktörleri arasında yer alan yüksek konsantrasyondaki çeşitli ağır metallerin (Zn, Pb, Cu, Ni, Cd, Fe) çevrede varlığı toksisiteye sebep olmaktadır. Bundan dolayıdır ki atık suların içeriğindeki, ağır metallerin varlığı ve oranı sadece kimyasal tehdit değil, toprak yüzeyinde atık su içeren sulu çamur görünüşleri nedeniyle aynı zamanda fiziksel kirlilik unsuru da oluşturmaktadırlar (Schmidt, 1997). Gıda zinciri sistemine taşınan bu ve benzeri ağır metaller, kontamine ortamda üretilen ürünleri etkileyebileceği gibi, çevresel orjinli mikroorganizmaları, insan ve hayvan sağlığını da tehdit etmektedir (Korentajar, 1991). Ağır metallerin toprağın normal mikrobiyal florasını hatta nitrifikasyon ve denitrifikasyon görevi gören mikroorganizmaların mekanizmalarını inhibe ettiği ve organik bileşenlerin mikrobiyal oksidasyonlarını azalttığı belirlenmiştir (Braam vd., 1981; Madoni vd., 1996). Bitki gelişmesi, azot fiksasyonu, fosforun biyolojik olarak alınabilir hale gelmesi, siderofor yardımıyla bitkilerce demirin alınması, oksin, sitokinin ve giberellin gibi bitkisel hormonların üretilmesi ve bitki etilen düzeyinin azaltılması gibi mekanizmalarla, bitki gelişimini teşvik eden mikroorganizmalar tarafından düzenlenmektedir (Glick, 1995; Lucy vd., 2004).

Literatürde yapılan çalışmalarda *T. harzianum* ID11C suşunun güçlü biyokontrol ajanı olduğu bildirildi (Bozdeveci, 2014; Karaoğlu vd., 2018). Çalışmamızda *T. harzianum* ID11C suşunun biyoremidant özelliklerinin belirlenmesi amacıyla ağır metal dirençliliği, tuzluluk toleransı ve bitki gelişimini teşvik eden özelliklerinin araştırılarak, in vitro ortamda *R. solani*'ye karşı antagonist etkinliğinin belirlenmesi ve de *R. solani* biyotik stresi varlığında fasulye (Zulbiye) bitkisinin büyümesine olan etkinliğinin saksı ortamında araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Çalışmada Kullanılan İzolatlar ve Diğer

**Materyaller:** Çalışmada kullanılan *Trichoderma* izolatu İkidere vadisi çay bahçesi topraklarından izole edilerek, geleneksel ve moleküler yöntemlerle *Trichoderma harzianum* ID11C olarak tanımlanmış, bir kısım biyoremidant özelliklerinin varlığı belirlenmiştir (Ülker ve Karaoğlu 2004; Karaoğlu vd., 2018). Fasulye bitkisinin toprak altı kısmından izole edilen *R. solani* B227(AG4) izolatu ise Karadeniz Teknik Üniversitesi'nden (Demirci, E.) temin edilmiştir. Test bitkisi olarak Zulbiye çeşidi fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) tohumu, Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir. Çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

### In vitro Koşullarda Engelleme Zonu Testi:

Antagonist *T. harzianum* ID11C, patojen *R. solani* B227(AG4) izolatu karşı antifungal özelliklerinin belirlenmesi için Patates Dekstroz besiyeri kullanıldı. İzolatlar dondurucudan çıkarılarak besi ortamına ekilerek, 28 °C'de inkübasyona bırakılarak 7 günlük taze kültürleri elde edildi. PDA besiyerlerinde, aralarında 4 cm uzaklık bulunan iki köşeye 5 mm çapında iki kuyucuk açılarak birine *T. harzianum* ID11C, diğerine ise *R. solani* B227(AG4) kültürlerinin 5 mm çaplı diskleri yerleştirildi ve 28 °C'de inkübasyona bırakıldı. Kültürler günlük takip edilerek 7. ve 15. günlerde, *T. harzianum* ID11C ve *R. solani* B227(AG4) büyüme zon çapları ölçüldükten sonra Royse ve Ries (1978) tarafından önerilen formüle göre *R. solani* gelişiminin inhibisyon yüzdesi hesaplandı.

RI; Engelleme oranı, R1; Patojenin büyüme yarıçapı, R2; Patojenin antagonist yönündeki büyüme yarıçapı.

$$\%PIRG = (RI) = \frac{(R1 - R2) \times (100)}{(R1)}$$

### In vitro Koşullarda Metal ve Tuz Toleransı

**Testleri:** Çalışmada kullanılan *T. harzianum* ID11C izolatu farklı konsantrasyonlardaki metal ve tuz toleransı araştırıldı. Seçilen Cu, Pb, Zn, Cd metaller için dört (100, 200, 400, 800 mM) ve tuz için (25, 50, 100, 200, 250 ve 300 mM) 6 farklı konsantrasyonda PDA besiyeri hazırlandı. *T. harzianum* ID11C izolatu taze kültürlerinden 5 mm'lik diskler kesilerek petrikerin merkezine yerleştirilerek üremeye bırakıldı. Petrikerler günlük takip edilerek 7. gün zon çapları ölçülerek spor üretimleri değerlendirildi (Papazivas vd., 1982).

### T. harzianum ID11C Bazı Enzim Aktivitelerinin

**Belirlenmesi:** Bitki ve patojenik mikroorganizmaların gelişimini etkileyecek bazı enzim aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla kalitatif yöntemler kullanılarak bir dizi enzim aktiviteleri araştırıldı. İzolatın kitinaz aktivitesi Agrawal and

Kotasthane (2012), proteaz aktivitesi Carlisle ve Falkinham (1989), lipaz aktivitesi Haba vd. (2000), fosfat çözünürlüğü Aydoğan vd. (2013), ACC Deaminaz aktivitesi Dworken ve Foster (1958) ve siderofor üretimi özelliği Schwyn ve Neilands (1987) ile Pérez-Miranda (2007) tarafından önerilen yöntemler kullanılarak yapıldı.

**T. harzianum ID11C'nin Fasulye Çimlenmesi ve Büyümesi Üzerine Etkisi:** Patojenite testi için farklı araştırmacıların (Muyolo vd., 1993; Sneh ve Ichievlevich-Auster, 1998) uyguladıkları yöntem modifiye edilerek kullanıldı. Öncelikle *T. harzianum* ID11C ve *R. solani* B227(AG4) izolatları, PDA besiyerinde 7 günlük kültürleri hazırlandı. Fasulye tohumları (Zulbiye) % 50'lik NaOCl'de 3 dakika yüzeysel dezenfeksiyonu yapılarak üç kez steril distile su ile yıkandı. Daha sonra %70'lik etil alkolde 2 dakika bekletilerek steril distile su ile tekrar üç kez yıkandı ve oda sıcaklığında 30 dakika güvenlik kabininde bekletilerek kurutuldu.

*Trichoderma harzianum* ID11C, PDA besiyerinde 28°C'de 7-10 gün inkübasyon yapılarak bol sporlanması sağlandı. Sporlar steril distile su ile yıkanarak steril erlene alındı ve dilüsyon yardımıyla  $4,4 \times 10^7$  -  $4,8 \times 10^7$  cfu/mL yoğunlukta spor süspansiyonu hazırlandı. Spor sayımı için Neubauer lamı kullanıldı (Goettel ve Inglis, 1997). Sporların tohuma yapışması için spor solüsyonu ve % 2'lik CMC (Karboksi Metil Selüloz) 1:1 oranında karıştırıldı. Steril erlen içerisinde bulunan, sterilizasyonu tamamlanmış tohumlara toplam 20 ml ilave edilip yaklaşık 30 dakika yatay çalkalayıcıda sporların tohumları kaplaması için beklendi (Mihuta-Grimm ve Rowe, 1986). Kaplanmış tohumlar steril filtre kağıtlı petrinin içine 10'ar adet yerleştirildi. Üç tekrarlı olarak yapıldı ve 7-10 gün iklimlendirme dolabında inkübe edildikten sonra *T. harzianum* varlığında çimlenme başarısı belirlendi. Kontrol olarak aynı şartlarda hazırlanmış ancak *T. harzianum* ile muamele edilmemiş tohumlar kullanıldı. Fasulye tohumlarından gelişme/filizlenme parametreleri bir hafta süresince gözlemlendi. Kontrole göre elde edilen sonuçlar ANOVA (Tukey  $p \leq 0.05$ ) istatistiki analizlerle değerlendirilmiştir.

Saksı denemesi için sadece fasulye tohumu (negatif kontrol), *T. harzianum* ile muamele edilmiş kontrol, *R. solani* ile muamele edilmiş kontrol ve *T. harzianum*+*R. solani* birlikte uygulanmış grup olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Her grup için 10'ar adet saksı düzeneği hazırlandı. Önceden hazırlanan ve otoklavda steril edilen torf : toprak (1/3 oranında) karışımı kullanılarak her tohum bir saksıya ekildi. Tohumlar sağlıklı olarak çimlenip toprak üstüne çıktıktan sonra kontrol grubu hariç üç gruba da 7 günlük *T. harzianum* kültüründen 1 cm çaplı diskler kesilerek kök yakınına yerleştirildi. *R. solani* için ise tohuma sardırılmış kültür kullanıldı (Keen ve Raczkowski, 1922). *R. solani* kontrol ve *T. harzianum*+*R. solani* birlikteliği saksı gruplarına her kök için bir tohum olmak üzere, kök yakınına yerleştirildi. Negatif kontrol grubuna hiçbir mikroorganizma uygulanmadı

ancak tüm grupların üzerine toprak ilave edilerek uygulama tamamlandı. Saksıların tümü iklimlendirme dolabında (WGC-P4, DAIHAN) 35000 lüks ışık, 16 h aydınlık, 8 h karanlık, 25/20±2 °C (gündüz/gece) sıcaklık, % 50–60±5 nem içeriğinde büyütüldü. Saksılar iki gün arayla 20 ml steril musluk suyu ile sulandı.

Saksı deneyi beş hafta boyunca iklimlendirme dolabı koşullarında büyütüldü. Deney sonunda ana kök uzunluğu, saçak sayısı, gövde uzunluğu, gövde ve kök yaş ağırlığı ve ortalama yaprak yüzey alanı gibi parametreler ölçüldü ve alınan değerleri ANOVA (Duncan  $p \leq 0.05$ ) istatistiksel analizi ile değerlendirildi.

## BULGULAR

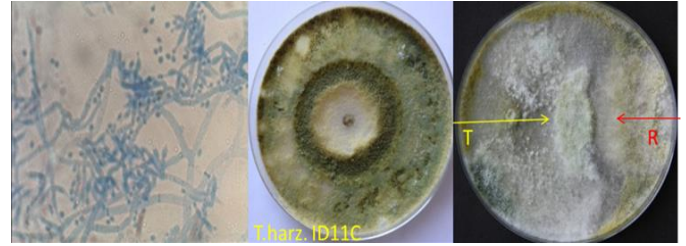
Çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. İkizdere vadisi çay bahçesi topraklarından izole edilen, geleneksel ve moleküler olarak *T. harzianum* ID11C olarak tanımlanan süşun bitki gelişimini teşvik eden bazı özellikleri belirlenerek kısmen karakterize edilmiştir (Ülker ve Karaoğlu 2004; Bozdeveci ve Karaoğlu, 2014). İzolatların gelişebilme parametreleri incelendiğinde *T. harzianum* ID11C, PDA besiyerinde geniş üreme sıcaklık aralığına sahip olduğu (15-30 °C), sporlarının sıcaklığa toleranslı olduğu (45-70 °C aralığında 10 dakika), Captan (Phthalimide grubu), Dikozin (dithiocarbamate grubu) ve Cupranex (inorganik grubu) gibi fungusitlere karşı ticari kullanım dozlarının iki katı konsantrasyonunda (10 mg/ml) üreme ve spor üretim yeteneğini kaybetmediği yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Bozdeveci ve Karaoğlu, 2014; Karaoğlu vd., 2018).

*Trichoderma harzianum* (Teleomorf; *T. lixi*) ID11C süşunun bitki patojeni fungus olan *Rhizoctonia solani* (AG4) süşuna karşı ikili kültür testinde güçlü antifungal etkinliğe (7. gün % 70 ve 15. gün % 75) sahip olduğu belirlendi (Şekil 1).

*Trichoderma harzianum* ID11C süşunun bir dizi metal tuzlarının farklı konsantrasyonlarında üreme ve spor oluşturma yeteneği araştırıldı (Tablo 1). Kurşunun varlığında test edilen 100-800 mM konsantrasyonlarında üreme yeteneğine sahip olduğu, ancak spor üretiminin engellendiği gözlemlendi. Bakırın 100 mM konsantrasyonlarından hiç etkilenmediği, 200-400 mM aralığında üreyebildiği ancak spor oluşturmadığı ve 800 mM'da ise üremediği belirlendi.

Çinko toleransının yüksek olduğu, konsantrasyona bağlı olarak üremenin kısmen etkilendiği, 800 mM'da spor üretiminin engellendiği ancak daha yüksek konsantrasyonlara dirençli olduğu gözlemlendi. Kadmiyumun  $\geq 400$  mM gibi yüksek konsantrasyonlarında üreme ve spor üretiminin etkilendiği, ancak konsantrasyon arttıkça besiyerinde berrak bir zon oluşumu ve artışı gözlemlendi.

Yüksek tuz konsantrasyonu varlığında *T. harzianum* ID11C'nin büyüme ve spor oluşturma özelliği araştırıldığında, 25, 50, 100, 200 mM tuzlulukta radyal hifa büyümesinin ve spor oluşturmalarının etkilenmediği, 300 mM da spor üretim potansiyelinin kısmen azaldığı ancak radyal büyümenin etkilenmediği belirlendi (Şekil 2).



Şekil 1. *T. harzianum* ID11C (Teleomorf; *T. lixi*) ID11C mikroskobik, makroskobik morfolojisi ve *R. solani* (AG4) süşu ile ikili kültür görünümü.

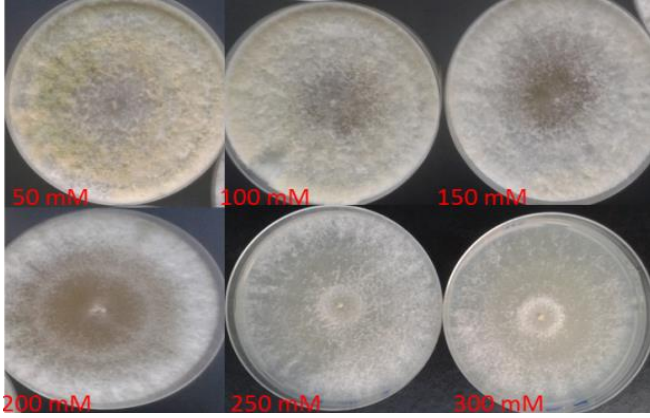
*Trichoderma harzianum* ID11C süşunun bitki gelişimini teşvik ettiği, patojen mikroorganizmaların üremesini ise inhibe ederek, bir kısım enzim aktivitelerinin varlığı kalitatif yöntemlerle belirlendi (Tablo 1). Kültür süresine bakılarak (5. ve 10. günler) yapılan gözlemlerde, ID11C'nin kitinaz, lipaz, proteaz ve ACC Deaminaz aktivitesine sahip olduğu (Tablo 1), fosfat çözünürlüğü ve/veya güçlü siderofor üretim yeteneğinin varlığı belirlendi.

**Biyotik Strese Maruz Kalmış Fasulyenin Gelişimine *T. harzianum* ID11C'nin Etkisi:** Çalışmada fasulye bitkisinin *T. harzianum* ID11C varlığında ve yokluğunda (kontrol) tohum çimlenme başarısı araştırıldı. Hem petri kabında hem de topraklı saksıda 30'ar adet birbirinin benzeri morfolojideki tohumda yapılan çalışma sonucu grupların tümünde çimlenmenin 4. ve 7. günlerdeki çimlenme başarısı % 80 olarak belirlendi (Şekil 3).

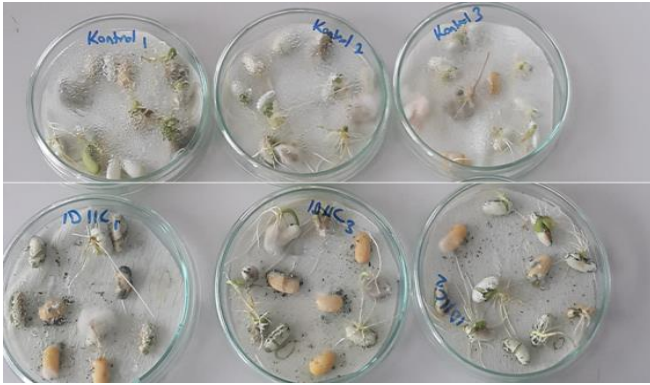
Tablo 1. *Trichoderma harzianum* ID11C Süşunun Bazı Ağır Metaller ve Tuza Karşı Toleransı.

Metal Toleransı Radyal (mm)					Tuz Toleransı(mm)			Bazı Enzim Aktiviteleri (mm)		
mM	Cu	Pb	Zn	Cd	mM	Radyal	Spor Üretimi	Enzimler	5.gün	10.gün
100	85*	85	85*	85*	25	85±2	+++	Kitinaz	82	85
200	85	85	75*	70/2**	50	85±2	+++	Lipaz	15	24
400	40	85	35*	30/2	100	85±2	+++	Proteaz	8	22
800	-	85	50	15/8	200	85±2	++	ACC Deaminaz	45	80
					250	85±2	++	Siderofor	36/-	57/13***
					300	85±2	+	Fosfat Çözünürlüğü	75	≥85

\*: Spor Üretimi varlığı, \*\*: Açık zon oluşumu, \*\*\*: Kültürün üremesi/enzim aktivitesi zonu.

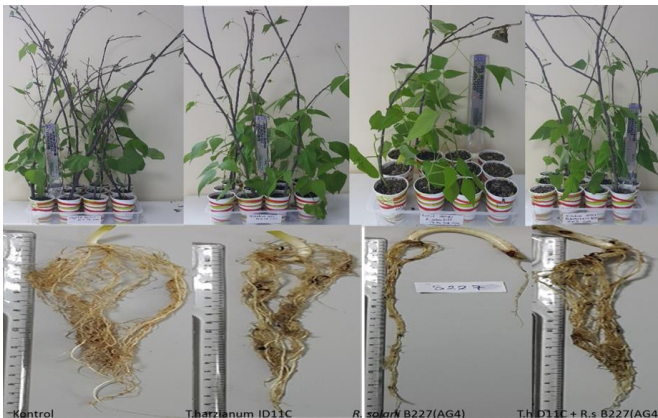


Şekil 2. *Trichoderma harzianum* ID11C Suşunun Tuz Tolerans Konsantrasyonu (50-300 mM).



Şekil 3. *T. harzianum* ID11C uygulanmış ve uygulanmamış fasulye tohumlarının çimlenme başarıları.

*T. harzianum* ID11C'nin fasulyede solgunluk ve/veya kök çürüklüğü etkeni olan *R. solani* B227(AG4) patojeninin varlığında ve yokluğunda gelişimine olan etkinliği laboratuvar ortamında saksı içinde araştırıldı (Şekil 4). Bu amaçla dört grup (kontrol, ID11C, B227 ve ID11C+B227 grupları) oluşturuldu. Çimlenmenin 4. gününde sağlıklı şekilde çimlenmiş tohumlar seçildi ve her grup için hazırlanmış olan saksılara birer adet olacak şekilde toplam 12 adet tohumdan oluşan birer saksı topluluğu oluşturuldu.



Şekil 4. Fasulye bitkisinin gövde ve kök gelişimi görünümleri (45. Gün).

Kontrol ve *T. harzianum* ID11C gruplarında ekilen tohumların tümünün geliştiği, aralarında önemli bir görsel farklılığın oluşmadığı ancak, ID11C gruplarının fizyolojik olarak daha yeşil ve canlı olduğu gözlemlendi. *R. solani* B227 uygulanan grupta üç tohumun gelişmediği, fizyolojik olarak yaprak renklerinin daha açık olduğu, *T. harzianum* ID11C+*R. solani* B227 birlikteliğinde ise bir tohumun gelişmediği ve de yaprak renklerinin *R. solani* B227 grubuna göre daha koyu olduğu belirlendi. Deney sonucunda her grup ve tohum ayrı ayrı alınarak gövde boyu, yaprak sayısı, kök uzunluğu, saçaklanma sayısı, lezyon skalası, yaş/kuru ağırlıkları vb. bir dizi parametreler fiziksel olarak ölçüldü ve istatistiksel açıdan değerlendirildi. İstatistiksel analizde (ANOVA) ana kök uzunluğu ve gövde uzunluklarında kontrol grubu ile *R. solani* B227 grubu arasında  $P < 0.05$  önem düzeyinde anlamlı fark olduğu belirlendi.

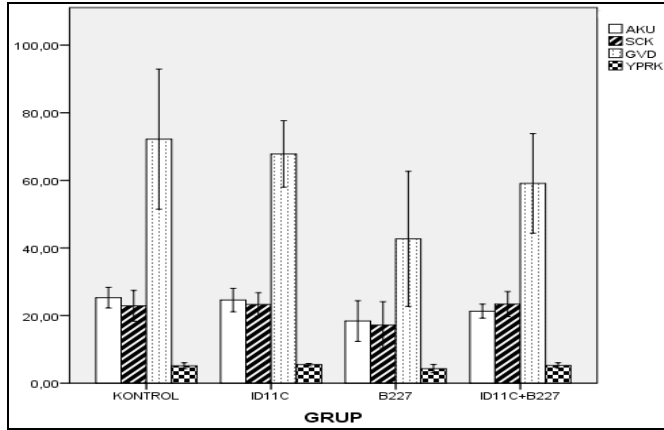
Ana kök uzunluğu (cm) bakımından kontrol ile B227 arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ , Tukey). Gelişim parametreleri açısından en iyiden kötüye göre sıralandığında kontrol (25.3) > ID11C (24.6) > ID11C+B227 (21.3) > B227 (18.4) şeklinde sıralandığı belirlendi. Gövde uzunluğu (cm) kontrol ile B227 arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ , Tukey). Sırasıyla; kontrol (72.2) > ID11C (67.8) > ID11C+B227 (59.1) > B227 (42.7) şeklinde bir sıralama gözlemlendi (Şekil 4 ve 5).

Saçaklanma sayısında (n) kontrol ve B227 arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ , Tukey) ve saçaklanma sayısının sırasıyla ID11C+B227 (23.4) > ID11C (23.3) > kontrol (22.9) > B227 (17.2) şeklinde olduğu belirlendi. İstatistiksel açıdan B227 farklı grupta yer alırken, diğerleri bir grupta toplanmıştır, yani istatistiksel açıdan kontrol, ID11C ve B227 birlikteliğinde anlamlı bir farklılığın olmadığı ancak, ID11C'nin *R. solani* B227 patojenik etkisini azalttığını göstermiştir.

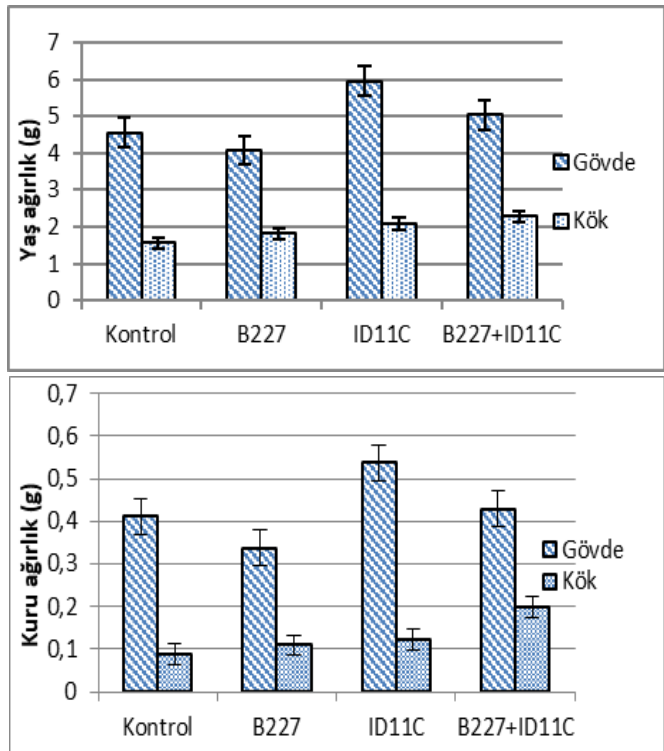
Fasulye bitkisinin büyüme parametrelerinden olan yaprak sayısı (n) incelendiğinde sırasıyla ID11C (5.5) > ID11C+B227 (5.25) > kontrol (5.15) > B227 (4.3) ve yaprak ortalama yüzey alanı ( $\text{cm}^2$ ) incelendiğinde sırasıyla ID11C+B227 (25.86) > ID11C (25.6) > kontrol (24.87) > B227 (16.54) şeklinde bir sıralama gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar istatistiksel olarak güçlü anlamlı fark oluşturmasa da *T. harzianum* ID11C'nin yaprak sayısı ve yüzey alanına etkisinin var olduğu ve de kontrol ile *R. solani* B227 patojen gruplarına göre daha iyi oldukları gözlemlendi.

Fasulyelerin gövde/kök yaş ve kuru ağırlığı (g) parametreleri incelendiğinde istatistiksel açıdan önemli farklılığın olmamasına rağmen *T. harzianum* ID11C varlığında her iki parametrede de kontrol ve patojene kıyasla daha yüksek değerlerin var olduğu gözlemlendi. Gövde yaş ağırlık sıralaması; ID11C (5.95) > ID11C+B227 (5.03) > kontrol (4.55) > B227 (4.08) ve gövde kuru ağırlık (g) sıralaması ID11C (0.53) > ID11C+B227 (0.43) > kontrol (0.41) > B227 (0.34) şeklinde belirlendi. Kök yaş ağırlığı;

ID11C+B227 (2.28) > ID11C (2.09) > B227 (1.82) > kontrol (1.57) ve kök kuru ağırlığı; ID11C+B227 (0.2) > ID11C (0.12) > B227 (0.11) > kontrol (0.09) olarak ölçüldü (Şekil 6).



Şekil 5. Biyotik stres varlığında gelişen fasulye bitkisinin ana kök (AKU) ve gövde (GVD) uzunlukları (cm), saçaklanma (SCK) ve yaprak (YPRK) sayıları (n).



Şekil 6. *T. harzianum* ID11C ve *R. solani* B227 birlikteliğinde büyütülen fasulye bitkisinin gövde ve kök yaş/kuru ağırlığı.

Fasulyenin Kökte Lezyon Skalası (n) incelendiğinde *R. solani* B227 ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlemlendi ( $p < 0.05$ , Tukey). Lezyonların en fazla *R. solani* B227 varlığında olduğu, ID11C'nin güçlü bir şekilde engelleyici özelliğinin var olduğu belirlendi. Sıralamaya bakıldığında B227 (3.8) > ID11C+B227 (0.9) > kontrol (0) = ID11C (0) şeklinde olduğu tespit edildi.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

*Trichoderma* cinsi fungusların, *R. solani* gibi bitki patojeni funguslara karşı güçlü biyolojik kontrol potansiyellerinin olduğu bilinmektedir. Ancak her bölgenin kendi bitki patojeni fungusların yine kendi florasına ait seçilen biyokontrol ajanla yapılmasının ekosistemin bütünlüğünün korunması açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız, yerel kaynaklardan elde edilen *T. harzianum* ID11C suşunun fasulye bitkisinin kök çürüklüğü etkeni varlığında biyokontrol etkinliğinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

*Trichoderma* izolatları, *R. Solani*'nin hifa, sklerot ve diğer yapılarını parazitleyebilir, metabolitleri patojene karşı rekabet edebilirliği indükler ve konakçı bitkiye direnç kazandırabilir. Fonksiyonel antagonistik aktivite, *Trichoderma* izolatları arasındaki yaygın ve spesifik olmayan çeşitliliği ortaya koymaktadır. *Trichoderma*, hem in vivo hem de in vitro olarak patojenlerin hedef bitki yüzeyine kolonizasyonunu ve de gelişmelerini azalttığı, bulunduğu ortamda daha fazla suda çözünür metabolitler üreterek *R. solani*'nin çoğalmasını ve büyümesini inhibe ettiği bildirilmektedir (Anees vd., 2011). *T. harzianum* ID11C suşunun *R. solani*'ye karşı ikili dual teste güçlü antifungal aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 1). Mayo vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada 23 *Trichoderma* izolatının *R. solani*'nin in vitroda % 86-58 aralığında büyüme inhibisyonu oluşturduğu bildirilmiş olup sonuçlarımız ile (Şekil 1 ve 3) uyumlu olduğu belirlenmiştir.

*Trichoderma* ve *R. solani* arasındaki etkileşim söz konusu olduğunda, mikoparazitizm ve antifungal bileşikler üreterek büyümesini baskılamaktadır. Antifungal bileşikler arasında antibiyotikler, mikotoksinler ve düşük ağırlıklı ikincil bileşikler yer alır (Schuster ve Schmolli, 2010). Ayrıca siderofor üretimi ve fosfat çözünürlüğünü artırarak bitki büyümesini, köklerin çoğalmasını vb. etkinlikleri sağlayarak bitkinin gelişimini artırırlar (De Franca vd., 2015). Ekosistemde önemli ayrıştırıcı olan bakteriler çeşitli enzimler salgılayarak organik ve bazı inorganik maddelerin parçalanmasına böylece biyo-döngüye katılmasına aracılık eder. *Trichoderma* türleri farklı hidrolitik enzimleri; endo- $\beta$ -glukonaz,  $\beta$ -1-3 glukonaz,  $\alpha$  ve  $\beta$ -galaktozidaz, ksilinaz, alkalın fosfataz, mannaz, lipaz ve proteaz üretimi (Aziz vd., 1993), bu enzimlerinde *Trichoderma*'nın fungal patojenleri liziz etmesinde yani mikoparazitizmde anahtar rol oynadığı bilinmektedir (Worasatit, 1994; Steyaert vd., 2003). Bitki gelişimini teşvik eden ve patojenleri inhibe etmede önemli rol oynayan bir dizi enzimi üretebilme kapasitesinin yüksek olması iyi bir biyoremidant ve mikopatojen suşu olma özelliğini göstermektedir.

*T. harzianum* ID11C suşunun ağır metal olan Cu, Pb, Zn ve Cd'un yüksek konsantrasyonlarında rahatlıkla üreyebildiği, spor üretimi açısından bakıldığında kurşun hariç diğerlerinin yüksek konsantrasyonlarında etkili olduğu ve de

Cd'ü varlığında açık zon oluşumu ile muhtemelen biyoremidasyon etkinliğinin varlığı tespit edilmiştir (Tablo 1). Tansengco vd. (2018) yaptıkları çalışmada maden alanından alınan örneklerden izole ettikleri *Trichoderma* (*T. gamsi*, *T. harzianum*, *T. virens* ve *T. saturnisporum*) türlerinde metal toleransı (Cr, Cu, Pb, Ni, Zn) test edilmiştir. İnkübasyonun 7. gününde Cu toleransı 200 ppm'de radyal büyüme tüm izolatlarda 45 mm, konsantrasyon (400, 600, 800 ve 1000 ppm) artışıyla birlikte radyal büyüme de azalma (25-5 mm aralığında) olduğu bildirilmiştir. Kurşun konsantrasyonunun artmasıyla birlikte radyal büyümede herhangi bir değişme olmadığı, 1000 ppm'e kadar toleranslı olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar ile *T. harzianum* ID11C'nin sonuçları arasında (100-800 mM aralığında 85 mm) benzerlik olduğu görülmektedir.

Tansengco vd. (2018) Zn toleransı (200-1000 ppm) çalışmasında radyal büyümede azalma meydana gelmesine rağmen kısmen toleranslı olduğu, *T. saturnisporum*'ün ise 200 ppm Zn konsantrasyonunda radyal büyümesinin engellendiği bildirilmiştir. Çalışmamızda Zn konsantrasyonunun artması (100-800 mM) ile birlikte radyal büyümede kontrole kıyasla azalmanın olduğu görülmüştür.

Nongmaithem vd. (2016) yaptıkları çalışmada 14 *Trichoderma* izolatu iki ağır metale (nikel ve kadmiyum) toleransları açısından incelenmiş, dört izolatu Ni ve Cd karşı toleransı diğer izolatlara göre daha iyi olduğu bildirilmiştir. İzolatların 72 saatlik inkübasyon sonunda Cd konsantrasyonu artkça radyal büyümenin orantısal olarak azaldığı, 200 ppm'deki en yüksek zon çapı MT-4 ve UBT-18 izolatlarda sırasıyla 44.7 ve 40.6 mm olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda ise 100 - 200 mM Cd konsantrasyonunda *T. harzianum* ID11C'nin etkilenmediği (85 -75 mm) ancak daha yüksek (800 mM) konsantrasyonda ise büyümenin (15 mm) kısıtlandığı tespit edilmiştir. Kadmiyumun 100-200 mM konsantrasyonlarında besiyerinde renk değişiminin olduğu ve bunun muhtemelen biyoremidasyon ile ilişkili olduğu ancak bu konuda daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Toprakta tuzluluk oranının fazla olması biyokontrol izolatlarının potansiyelini etkileyen önemli abiyotik stres faktörüdür. Çalışmadaki sonuçlarımıza göre *T. harzianum* ID11C'nin test edilen tüm tuz konsantrasyonunda koloni gelişimi hızlı ve spor üretiminin iyi olduğu, ancak 300 mM NaCl içeren besiyeri ortamında, sporulasyonun biraz engellendiği görülmüştür (Tablo 1, Şekil 2). Bu sonuç biyokontrol ajanı olarak kullanılan diğer *Trichoderma* çalışmaları sonuçlarıyla uyumlu olduğu gözlenmiştir (Mohamed ve Haggag, 2006; Yiğit, 2011). *Trichoderma* spp. hemen hemen tüm topraklarda ve diğer çeşitli habitatlarda bulunabilmektedir. ID11C'nin tuz toleransının yüksek olması, iklim koşulları ve doğal olmayan (barajlar, aşırı sulama vb.) nedenlerle oluşabilen halofil topraklarda rahatlıkla uygulanabileceği düşünülmektedir.

*Trichoderma harzianum* ID11C'nin fasulye bitkisinin üretimi ve *R. solani* hastalıklarına karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesi için öncelikle tohum çimlenmesi üzerine etkinliği araştırıldı (Şekil 3). Çimlenmesine karşı olumsuz etkinliği olmadığı, kontrol ile benzer (%80) çimlenme oranına sahip olduğu belirlendi. Çimlenme başarısına olumsuz etkisinin olmadığı belirlendikten sonra fasulye gelişim parametreleri ve kök çürüklüğü hastalığının önlenmesindeki etkinliği araştırıldı (Şekil 3 ve 4).

*T. harzianum* ID11C'nin fasulye de solgunluk ve/veya kök çürüklüğü etkeni olan *R. solani* B227(AG4) patojeninin varlığında ve yokluğunda gelişimine olan etkinliği laboratuvar ortamında belirlendi. Test edilen gruplarda (kontrol, ID11C, B227 ve ID11C+B227) ölçülen gövde boyu, yaprak sayısı, kök uzunluğu, saçaklanma sayısı, lezyon skalası, yaş/kuru ağırlıkları parametreleri arasında farklılıkların olduğu belirlendi (Şekil 4 ve 5). Ana kök ve gövde uzunlukları bakımından değerlendirildiğinde B227 ile kontrol arasında anlamlı fark olduğu ( $p < 0.05$ , Tukey), kontrol grubundan sonra en iyi grubun ID11C grubu olduğu, *R. solani* grubunun, bu parametreleri ciddi ölçüde olumsuz ve *Trichoderma* varlığında ise gelişmeyi olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir (Şekil 4 ve 5). Saçaklanma sayısında kontrol ve B227 arasında anlamlı fark olduğu gözlendi ( $p < 0.05$ , Tukey), en fazla saçaklanmanın ID11C+B227 (23.4) en az saçaklanma B227 (17.2) gruplarında olduğu belirlenmiştir. Yaprak sayısı ve yüzey alanı açılarından bakıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılığın olmamasına rağmen, en fazla yaprak sayısının ve yüzey alanı değerlerinin sırasıyla ID11C ve ID11C+B227 birlikteliğinde, en düşük değerlerin ise B227 grubunda olduğu gözlendi. Fasulyelerin gövde/kök yaş ve kuru ağırlığı (Şekil 6) parametrelerinde de benzer durum söz konusu olduğu gözlenmiş olup tüm bu sonuçlar, *T. harzianum* ID11C'nin güçlü bitki gelişimini teşvik eden ajan olduğunu ortaya koymaktadır. *R. solani* B227'nin fasulye köklerinde lezyon oluşturduğu, diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark ( $p < 0.05$ , Tukey) gözlendiği ve ID11C'nin güçlü bir şekilde lezyon oluşumunu engellediği dolayısıyla fasulye bitkisinin kök çürüklüğü etkenine karşı önemli bir biyokontrol ajanı olduğu tespit edilmiştir.

*Trichoderma* uygulamalarının, hastalıkların baskılanmasındaki etkisi, tohumlarının çimlenme başarısı, bitki boyu ve kuru kök ağırlığı gibi bitki gelişim parametreleri üzerindeki etkileri ile iyi korele olduğunu gösterildi. Bu nedenle, farklı *Trichoderma* tedavilerinin fasulye büyümesini güvenilir bir şekilde etkilediği sonucuna varılabilir. Kök hastalıklarının baskılanmasında *Trichoderma* etkinliğinin yüksek olduğu belirlendi.

Biyolojik kontrol, *R. solani*'nin patates veya diğer konakçı mahsuller üzerinde etkili ve sürdürülebilir kontrolünü sağlayabilen alternatif bir stratejidir (Larkin ve Brewer, 2005). *Trichoderma* spp'nin artan bitki verimi ve biyokütle ile ilişkili olan bitki kök gelişimini desteklediği

gösterilmiştir (Harman vd., 2004). Bu desteğin fasulyede doğrudan etkileşimlerden, hormon regülasyonundan ya da besin alımından (Hermosa vd., 2012) veya muhtemelen bu iki etkinin bir kombinasyonundan ortaya çıkmış olabileceği bildirilmektedir. Kök sistemi yapısı, bitkiler ile birkaç biyotik ve abiyotik faktörler arasında önemli bir ara yüz görevi görür ve bitkilerin çevresel değişimleri algılayarak bunlara cevap oluşturma yoluyla aşmasını sağlar. Yanal köklerin yanı sıra özellikle primerlerin uzunluğu ve yoğunluğu kuraklık stres toleransında önemli bir rol oynar. Kuraklık stresine cevap olarak artan kök çapı ile birlikte yüksek kök uzunluğu yoğunluğunun geliştirilmesi, pirinçte kuraklığa tolerans kazandırdığı bildirilmektedir (Allah vd., 2010). Bitkilerde kök yapısının patojen enfeksiyonlarında önemli bir rol oynadığı, Higginbotham vd. (2004) yaptıkları bir çalışmada *Triticum aestivum*'daki *Pythium debaryanum* ve *Pythium ultimum* (kök çürüğünün etkeni) virülansının değerlendirilmesinde, kök uzunluğu yüksek olan bitkilerin mantar enfeksiyonu daha az olduğu bildirilmektedir. Buna karşılık, *Rhizoctonia solani*'nin (kök çürüklüğünün etkeni) *Solanum lycopersicum*'a enfeksiyonu, toplam kök uzunluğunda, kök uçlarının sayısında ve kök dallanmasının büyüklüğünde, derin toprak katmanlarından su arama işlemini ve dolayısıyla sürgün büyümesini tehlikeye düşüren azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Berta vd., 2005; Simonetta vd., 2007). Mayo vd. (2015) tarafından yapılan in vivo çalışmada, *Trichoderma harzianum* T019 ile işlenen fasulye bitkileri, kontrole göre her zaman artan bir boyuta sahip olduğu, bu izolat ve *R. solani*'nin birlikte uygulandığı bitkiler boylarında herhangi değişim olmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda *T. harzianum* ID11C ve *R. solani* AG4 birlikte uygulandığı saksılarda da kontrole göre bir değişiklik meydana gelmezken, *R. solani* AG4 tek başına uygulandığı saksılarda ise kontrole göre nekroz ve hastalık etkisi bakımından önemli bir fark meydana geldiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak ekonomik açıdan önemli birçok mahsulde ciddi ürün kayıplarına neden olan *R. solani*'nin yol açtığı kaybı, *T. harzianum* ID11C'nin bir dizi güçlü enzim aktiviteleri, yüksek metal ve tuzlu konsantrasyonuna tolerans özellikleri, alan rekabetçiliği ve mikoparazitik mekanizmaları aracılığı ile önemli ölçüde önleyebileceği sonucuna varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Biriminin FEN-BAP-2012.102.03.3 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

*Rhizoctonia solani* B227(AG4) izolatı teminde destek veren Prof. Dr. Erkol Demirci'ye (Karadeniz Teknik Üniversitesi) teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Agrawal, T. & Kotasthane, A.S. (2012).** Chitinolytic assay of indigenous *Trichoderma* isolates collected from different geographical locations of Chattisgarh in Central India. *Springer Plus*, *1*(1), 73.
- Allah, A.A., Shima, A., Zayed, B. & Gohary, A.E. (2010).** The role of root system traits in the drought tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *1*, 83-87.
- Alpay Karaoğlu, Ş. & Ülker, S. (2006).** Isolation, identification and seasonal distribution of soilborne fungi in tea growing areas of Iyidere-Ikizdere vicinity (Rize-Turkey), *Journal of Basic Microbiology*, *46*, 208-218.
- Alpay Karaoğlu, Ş., Bozdeveci A. & Pehlivan Gedik N. (2018).** Characterization of local *Trichoderma* spp. as potential biocontrol agents, screening of in-vitro antagonistic activities and fungisit tolerance, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, *46*(2), 247-261.
- Anees, M., Tronsmo A., Edel-Hermann V., Hjeljord, L. G., Héraud, C. & Steinberg, C. (2011).** Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biol*, *114*, 91-701.
- Aydoğan, M. N., Algur, Ö. M. & Özdemir, M. (2013).** Isolation and Characterisation of Some Bacteria and Microfungus Solving Tricalcium Phosphate. *ADYUTAM*, *1*, 11-20.
- Aziz, N. H., El-Fouly, M. Z., El-Essawy, A. A. & Khalaf, M. A. (1997).** Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lingorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, *38*, 33-39.
- Beagle-Ristaino, J.E. & Papavizas, G.C. (1985).** Biological-control of *Rhizoctonia* stem canker and black scurf of potato. *Phytopathology*, *75*, 560-564.
- Berta, G., Sampo, S., Gamalero, E., Massa, N. & Lemanceau, P. (2005).** Suppression of *Rhizoctonia* root-rot of tomato by *Glomus mossae* BEG12 and *Pseudomonas fluorescens* A6RI is associated with their effect on the pathogen growth and on the root morphogenesis. *European Journal of Plant Pathology*, *111*(3), 270-288.
- Braam, F. & Klapwijk, A. (1981).** Effect of copper on nitrification in activated sludge. *Water Res.*, *5*, 1093-1101.
- Bozdeveci, A. (2014).** Toprak Kökenli *Trichoderma* spp. izolatlarının moleküler karakterizasyonu ve biyolojik mücadele etkinliklerinin belirlenmesi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bil. Enst. Rize-Türkiye, 120s.



- Carlisle, G.E. & Falkinham, J.O. (1989).** Enzyme Activities and Antibiotic Susceptibility of Colonial Variants of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 3026-3028. Doi: 0099-2240/89/113026-03.
- Chernin, L. & Chet, I. (2002).** *Microbial enzymes in the biocontrol of plant pathogens and pests*. In: Dick RP, Burns RG (eds), *Enzyme in the Environment*, New York, USA, Marcel Dekker, 171-225.
- De França, S.K.S., Cardoso, A.F., Lustosa, D.C., Ramos, E.M.L.S. & De Filippi, M.C.C. (2015).** Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. *Agron Sustain Dev.*, 35, 317-324.
- Dworken, M. & Foster, J. (1958).** Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. *Journal of Bacteriology*, 75, 592-601.
- Glick, B.R. (1995).** The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 109-117.
- Goettel, M.S. & Inglis, D.G. (1997).** *Fungi: Hyphomycetes*. In: Lacey, L.A. (ed.) *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, London, pp. 213-249.
- Güler, N.S., Pehlivan, N., Karaoglu, S.A., Guzel, S. & Bozdeveci, A. (2016).** *Trichoderma atroviride* ID20G inoculation ameliorates drought stress-induced damages by improving antioxidant defence in maize seedlings. *Acta Physiol Plant*, 38, 132.
- Haba, E., Bresko, O., Ferrer, C., Marqués, A., Busquets, M. & Manresa, A. (2000).** Isolation of Lipase-Secreting Bacteria by Deploying Selective Substrate, *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 40-44.
- Hagedorn, D.J. (1991).** *Rhizoctonia* Root Rot. In *Compendium of Bean Diseases*; Hall, R., Ed.; APS, American Phytopathological Society: Saint Paul, MN, USA, p. 13.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. & Lorito, M. (2004).** *Trichoderma* species - Opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56.
- Harman, G.E. (2006).** Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96, 190-194. doi: 10.1094/PHYTO-96-0190.
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I. & Monte, E. (2012).** Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158, 17-25.
- Higginbotham, R.W., Paulitz, T.C., Garland-Campbell, K.A. & Kidwell, K.K. (2004).** Evaluation of Adapted Wheat Cultivars for Tolerance to Pythium Root Rot. *Plant Disease*, 88(9), Doi: 10.1094/PDIS.2004.88.9.1027.
- Howell, C.R. (2003).** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.*, 87, 4-10. Doi: 10.1094/PDIS.2003.87.1.4.
- Keen, B.A. & Raczkowski, H. (1992).** Clay contents and certain physical properties of soil. *J. Agric. Sci.*, 11, 441-449.
- Korentajar, L. (1991).** A review of the agricultural use of sewage sludge. Benefits and potential hazards. *Water SA*. 17(3), 189-196.
- Larkin, R. & Brewer, M. (2005).** Effects of biological amendments on soil microbiology and soilborne potato diseases in different cropping systems. *Phytopathology*, 95(6), S56-S56.
- Lewis, J.A. & Papavizas, G.C. (1987).** Reduction of inoculum of *Rhizoctonia solani* in soil by germlings of *Trichoderma hamatum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(2), 195-201.
- Li, N., Alfiky, A., Wang, W., Islam, M., Nourollahi, K., Liu, X. & Kang, S. (2018).** Volatile Compound-Mediated Recognition and Inhibition Between *Trichoderma* Biocontrol Agents and *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2614. Doi: 10.3389/fmicb.2018.02614
- Lucy, M., Reed, E. & Glick, B.R. (2004).** Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86, 1-25.
- Madoni, P., Davoli, D., Gorbi, G. & Vescoli, L. (1996).** Toxic effects of heavy metals on the activated sludge. Protozoan community. *Water Res.*, 30, 135-141.
- Mayo, S., Gutiérrez, S., Malmierca, M.G., Lorenzana, A., Campelo, M.P., Hermosa, R. & Casquero, P.A. (2015).** Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. *Front Plant Sci.*, 6, 685. Doi: 10.3389/fpls.2015.00685.
- Mihuta-Grimm, L. & Rowe, R.C. (1986).** *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-off of radish in organic soil and comparison of four delivery systems. *Phytopathology*, 76(3), 306-311.
- Mohamed, H.A.L.A. & Haggag, W.M. (2006).** Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(2), 181-191.
- Muyolo, N.G., Lipps, P.E. & Schmitthenner, A.F. (1993).** Anastomosis grouping and variation in virulence among isolates of *Rhizoctonia solani* associated with dry bean and soybean in Ohio and Zaire. *Phytopathology*, 83, 438-444.
- Nongmaithem, N., Roy, A. & Bhattacharya, P.M. (2016).** Screening of *Trichoderma* isolates for their potential

- of biosorption of nickel and cadmium. *Brazilian Journal of Microbiology*, **47**(2), 305-313.
- Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M.V. & Senthil-Kumar, M. (2017).** Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physiomorphological traits. *Frontiers in Plant Science*, **8**, 537.
- Papavizas, G.C., Lewis, J.A. & Abdelmoity, T.H. (1982).** Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology*, **72**(1), 126-132. Doi: 10.1094/Phyto-72-126.
- Pérez-Miranda, S., Cabirol, N., George-Téllez, R., Zamudio-Rivera, L.S. & Fernández, F.J. (2007).** O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *J Microbiol Methods*. **70**(1), 127-31.
- Royse, D.J. & Ries, S.M. (1978).** The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology*, **68**, 603-607.
- Sawant, I. (2014).** *Trichoderma* foliar pathogen interactions. *Open Mycol. J.*, **8**(Suppl. 1), 58-70. Doi: 10.2174/1874437001408010058.
- Schmidt, J.P. (1997).** Understanding phytotoxicity threshold for trace elements in land applied sewage sludge. *J. Environmental Qual.*, **26**, 4-10.
- Schuster, A. & Schmoll, M. (2010).** Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl Microbiol Biotechnol*, **87**, 787-799.
- Schwyn, B. & Neilands, J.B. (1987).** Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, **160**, 47-56.
- Shoresh, M., Harman, G.E. & Mastouri, F. (2010).** Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **48**, 21-43. Doi: 10.1146/annurev-phyto-073009-114450.
- Simonetta, S., Avidano, L. & Berta, G. (2007).** Morphogenetic effects induced by pathogenic and non pathogenic *Rhizoctonia solani* Kühn strains on tomato roots. *Caryologia*, **60**(1-2), 141-145. Doi: 10.1080/00087114.2007.10589563.
- Sneh, B. & Ichievlevich-Auster, M. (1998).** Induced Resistance of Cucumber Seedlings Caused by Some Non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) Isolates. *Phytoparasitica*, **26**(1), 27-38.
- Steyaert, J.M., Ridgway, H.J., Elad, Y. & Stewart, A. (2003).** Genetic basis of mycoparasitism: a mechanism of biological control by species of *Trichoderma*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **31**(4), 281-291.
- Tansengco, M., Tejano, J., Coronado, F., Gacho, C. & Barcelo, J. (2018).** Heavy metal tolerance and removal capacity of *Trichoderma* species isolated from mine tailings in Itogon, Benguet. *Environment and Natural Resources Journal*, **16**(1), 39-57.
- Verma, M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. & Valero, J.R. (2007).** Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp. Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, **37**(1), 1-20.
- Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G. & Lorito, M. (2014).** *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycol. J.*, **8**, 71-126. Doi: 10.2174/1874437001408010071.
- Worasatit, N., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L. & Rowland, C. (1994).** Variation in Pyrone Production, Lytic Enzymes and Control of Rhizoctonia Root-Rot of Wheat among Single-Spore Isolates of *Trichoderma koningii*. *Mycological Research*, **98**, 1357-1363.
- Yiğit, F. (2011).** *Trichoderma harzianum* T22 Irkının Farklı pH ve Tuz Konsantrasyonlarına Adaptasyonu ve Domateste *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*'in Biyolojik Kontrolünde Kullanılması. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, **25**(4), 6-10. ISSN:1309-0550.

**\*Corresponding author's:**

Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU  
Recep Tayyip Erdogan University, Department of Biology,  
Faculty of Arts & Sciences, TURKEY

✉E-mail: sengulalpay@yahoo.com

ORCID : <https://orcid.org/0000-0003-1047-8350>

GSM : +90 (530) 690 94 67