

Çilek Üretim Alanlarından İzole Edilen *Trichoderma* İzolatlarının Çilekte (cv. Rubygem) *Macrophomina phaseolina* 'ya Karşı Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Yunus KORKOM^{*1}, **Ayhan YILDIZ¹**

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Güney Kampüsü Aydın

Öz: Bu çalışma, Aydın ili çilek üretim alanlarından toprağın 5-20 cm derinliğinden alınan toprak örneklerinden izole edilen 10 adet *Trichoderma* izolatın çilekte sorun olan *Macrophomina phaseolina*'ya karşı etkililiğinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. *Trichoderma* spp. ile yürütülen ikili kültür çalışmalarında %25.9-59.1 oranında *M. phaseolina*'nın miselyal gelişimi sınırladığı belirlenmiştir. Tüm izolatlarda hiperparazitizm görülmüştür. Ayrıca ilk kez bu çalışmada *Trichoderma* izolatlarının oluşturduğu uçucu bileşiklerin patojenin oluşturduğu mikrosklerot miktarını önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir. Saksı çalışmaları ise *Trichoderma* spp.'nin *M. phaseolina*'ya etkisini ortaya koymak amacıyla antagonist ve patojenin aynı anda (Tr+Mp), antagonist inokulasyonundan 15 gün sonra patojenin uygulanması [Tr+Mp(15)] şeklinde yapılmıştır. Mikrosklerot inokulasyonu 50 ml 1.6x10³ sklerot/g, *Trichoderma* izolatları fide yetiştirme ortamının %2'si (14g) olacak şekilde uygulanmıştır. Her fidenin dikim öncesi ve dikimden 10 hafta sonra deneme sonlandığında fide ağırlıkları ayrı ayrı kaydedilmiştir. Yaş ağırlık artışı (%) ve çöken fide oranı (%) değerlendirilmiştir. Tr+Mp uygulamasında, Tr28 (%36.47) izolatında en fazla ağırlık artışı belirlenmiştir. Aynı zamanda Tr izolatları arasında Tr28 izolatında fide ölümü görülmemiştir. Tr+Mp(15) uygulamasında ise Tr25 (%47.37) izolatında fidelerde en fazla yaş ağırlık artışı saptanmıştır ve Tr26, Tr24, Tr21, Tr28 inokule edilen saksılarda fide ölümü görülmemiştir.

Anahtar Kelimeler: hiperparazitizm, biyolojik mücadele, ikili kültür, uçucu bileşik, mikrosklerot

Isolated of *Trichoderma* Isolates in Strawberry Production Area on Determination of the Effectiveness Against *Macrophomina phaseolina* in Strawberry (cv. Rubygem)

Abstract: This study was carried out in order to determine the effectiveness of 10 *Trichoderma* isolates strawberry growing areas of Aydın province against *Macrophomina phaseolina*, which is a problem in Strawberry. Soil samples taken from 5-20 cm depth of soil were used for *Trichoderma* spp isolation. Mycelial growth of *M. phaseolina* was inhibited by *Trichoderma* spp. at the rate of 25.9-59.1% in dual culture. Hyperparasitism was observed in all isolates. Furthermore, for the first time in this study, it was determined that the volatile compounds of *Trichoderma* isolates significantly reduced microsclerotia formation of the pathogen. Pot trials were performed to determine the effect of *Trichoderma* spp. on *M. phaseolina* by applying antagonist and pathogen at the same time (Tr+Mp) and pathogen 15 days after antagonist inoculation [Tr+Mp(15)]. Microsclerotia concentration was applied with 50 ml water ensuring 1.6x10³ in 1 gr of soil and the inoculum of *Trichoderma* isolates were homogenously added into soil of pot at the rate of 2% (14 g). Each seedling weights before planting and at the end of after 10 weeks planting were recorded separately. Fresh weight increase (%) was calculated and seedling death increase (%) the results were evaluated. In Tr+Mp application, maximum weight increase was determined in Tr28 (36.47%) isolates. At the same time, seedling death was not observed among Tr28 isolates. In Tr+Mp (15) application, highest increase seedling fresh weight was observed at Tr25 (47.37%). In Tr26, Tr24, Tr21, Tr28 no plant death was observed in inoculated pots.

Keywords: hyperparasitism, biological control, dual culture, volatile compounds, microsclerotia

GİRİŞ

Türkiye, 2017 yılı dünyadaki çilek (*Fragaria x ananassa* Dunch.) üretiminde 400.167 ton ile 5. sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2019). Ülkemizde çilek üretiminin %21'ni oluşturan Ege Bölgesinin %69 ile en büyük üretim payına sahip Aydın ili 63.843 ton ile ilk sırada yer almaktadır (Anonim, 2018).

Çilek, taç adı verilen kısa gövde ve saçak köklerden oluşmaktadır. Bu kısa gövde üzerinde yaprakları, stolonları, çiçek ve meyveleri taşır. Çilek kök sistemi çok yıllık kökler ve ona bağlı besleyici kılcal kökçüklerden meydana gelir (Maas, 1998). Dünyada çilek üreticilerinin fitopatoloji sorunlarının başında toprak kaynaklı patojenler ve yabancı otlar gelmektedir. Ticari olarak çilek üretiminde fungal hastalıklar ve nematodlar %20-30 oranında verim kaybına neden olmaktadır (Conti ve ark., 2014).

Ülkemizde Aydın ili çilek üretiminin yapıldığı alanlarda yürütülen çalışmalarda toprak kaynaklı fungal patojenlerden *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cactorum*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium* spp. (Benlioğlu ve ark., 2004; 2005) ve özellikle son yıllarda *Macrophomina phaseolina*'nın önemli kayıplara neden olduğu saptanmıştır (Yıldız ve ark., 2010; Benlioğlu ve ark., 2014). *M. phaseolina*

Sorumlu Yazar: yunus.korkom@adu.edu.tr. Bu çalışma yüksek lisans tez ürünüdür ve 5-8 Eylül 2016 tarihlerinde düzenlenen Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresinde sunulmuş ve özeti bildiri kitapçığında basılmıştır.

Geliş Tarihi: 12 Eylül 2019

Kabul Tarihi: 25 Nisan 2020

(Tassi) Goid. 500'den fazla kültür bitkisi ve yabancı ot türlerinde fide yıkımına ya da siyah kök çürüklüğüne buna bağlı olarak önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Mihail, 1992). Etmen kurak, subtropikal ve tropikal bölgelerde özellikle yüksek sıcaklık ve düşük yağış miktarı görülen alanlarda yaygın olarak bulunur ve etmen mikrosklerot olarak toprakta 15 yıl kadar canlı kalabilmektedir (Manici ve ark., 1995). Hastalık etmeninin Türkiye'de ilk defa 1942 yılında İzmir ve Ankara'da pamuk, anason, susam, tütün, patates, biber ve patlıcanda saptandığı bildirilmiştir. Etmenin çilek bitkisindeki belirtileri ise kök ve taçta çürüme şeklindedir ilerleyen dönemde bitkinin ölmesine neden olmaktadır (Aviles ve ark., 2008; Koike, 2008; Mertely ve ark., 2005; Yıldız ve ark., 2010). Toprak kaynaklı hastalıklarla mücadelede en önemli yöntem toprak dezenfeksiyonudur. Çilek yetiştiriciliğinde toprak dezenfeksiyonu içerisinde fumigantlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Fumigantların kullanımına ilişkin sınırlamalar, çilek yetiştiriciliğinde yeni, etkili çözümler belirlemeye yönelik araştırmaların artmasına neden olmuştur (Domínguez ve ark., 2014). Toprak dezenfeksiyonu uygulamaları dışında *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. gibi bazı biyolojik mücadele ajanlarının solarizasyon ile kombine edilerek uygulanması alternatif mücadele yöntemlerinden biridir (Elmore ve ark., 1997; Subbarao ve ark., 1999). *Trichoderma* türleri, birçok bitki patojeni funguslara (*Botrytis*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Verticillium* türleri) karşı etkili ve geniş bir kullanıma sahip bir biyolojik mücadele ajanıdır (Mishra ve ark., 2011). *Trichoderma* türlerinin kolay izole edilebilmesi ve kültürünün yapılabilmesi, birçok ortamda gelişebilmesi, farklı etki mekanizmalarına (antibiyosis, kolonizasyon ve besin çekişmesi, enzim üretmesi ve hiperparazitizm) sahip olmasından dolayı biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı dünyada en çok ticari biyopreperat haline getirilen biyolojik mücadele ajanıdır (Kredics ve ark., 2003, Contreras-Cornejo ve ark., 2016). *Trichoderma* türlerine ait ticari preparatların etkililiği konusunda yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde olumlu ve olumsuz sonuçların olduğu görülmektedir. Benlioğlu ve ark. (2018) tarafından çilek fideleriyle yürütülen saksı çalışmasında; ticari biopreperat olan *Trichoderma harzianum* Rifai KRL-AG2 İrki uygulamasının *M. phaseolina* ile mücadelede etkisiz olduğu belirlenmiştir. Olumsuz sonuçların ortaya çıkmasının nedeni ise farklı tarımsal alanlardaki doğal *Trichoderma* türlerinin bulunduğu ortam koşullarına uyum sağlamasına bağlı olarak farklı biyokontrol etki göstermeleridir (Jiang ve ark., 2016; Joshi ve Misra, 2013).

Bu çalışma Aydın ili çilek üretim alanlarından alınan toprak örneklerinden *Trichoderma* izolatlarının elde edilmesi, aynı zamanda elde edilen *Trichoderma* izolatlarının laboratuvar ve saksı koşullarında *M. phaseolina*'ya karşı antagonistik etkisinin belirlenmesi amacıyla ele alınmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmanın bitkisel materyalini Yaltır A.Ş.'den (Adana) temin edilen 1. boy Rubygem çeşidi çilek fidesi oluşturmaktadır. Laboratuvar ve saksı çalışmalarında; Aydın ili Sultanhisar, Köşk ilçelerinden ve Atça beldesindeki çilek üretim alanlarından alınan toprak örneklerinden izole edilen 10 adet *Trichoderma* izolatu, ayrıca Sultanhisar çilek üretim alanında çökme gözlenen fidelerden izole edilen ve virülensliği yüksek olan *Macrophomina phaseolina* (Ky20) izolatu materyali oluşturmaktadır.

Yöntem

Patojenisite testi: Aydın İli Sultanhisar ilçesinde çilek üretimi yapılan alanlarda kuruyan bitki örneklerinden izole edilen 10 adet *M. phaseolina* izolatının virülensliğini belirlemek amacıyla patojenisite çalışması yapılmıştır. Festival çeşidi çilek üretimi yapılan alanlardan sağlıklı stolonlar toplanarak laboratuvara getirilmiş ve stolonlar musluk suyu altında yıkandıktan sonra saf sudan geçirilmiştir. Stolonlar 7-8 cm boyutunda kesilmiş ve plastik çubuklara parafilm ile sabitlenmiştir. Stolonlar yüzey dezenfeksiyonu için; %70' lik etil alkolde 10 dk. ve steril saf su içerisinde de 10 dk. bekletilmiştir. Daha sonra 90 mm'lik steril petri kaplarına 2 adet steril kurutma kağıdı yerleştirilmiş ve 4 ml steril saf su ile nem sağlanmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu uygulanan stolonlar hazırlanan petri kaplarına yerleştirilmiştir. Tüm *M. phaseolina* izolatu için; stolonların orta noktasına öze yardımıyla yara açılarak, 25°C'de Potato Dekstorz Agar (PDA)'da geliştirilen 5 günlük *M. phaseolina* kolonisinden 4 mm çapında alınan disk stolonun orta noktasına ters çevrilerek inokulasyon gerçekleştirilmiştir. Kontrol için 4 mm çapındaki PDA diski kullanılmıştır. İnokulasyon sonrası petri 25±2°C'deki inkubatörde gelişmeye bırakılmıştır. İnokulasyondan 5 gün sonra lezyon uzunlukları dijital kumpas yardımıyla ölçülmüş ve kaydedilmiştir (Yıldız ve Benlioğlu, 2014). Patojenisite çalışması her bir izolat için 3 tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür.

Toprak örneklerinin alınması ve *Trichoderma* spp. izolasyonu: Ekim-Kasım/2014 ve Haziran-Temmuz/2015 dönemlerinde Aydın ili Sultanhisar, Köşk ilçelerinden ve Atça beldesindeki çilek alanlarında bitki gelişimi iyi olan masuraların sağlıklı bitkilere yakın kısımlardan ve toprağın 5-20 cm derinliğinden araziye temsil edecek şekilde 5 farklı noktadan toprak örneği alınarak paçal haline getirilmiştir. Çalışmada toplam 40 adet toprak örneği alınmış,

laboratuvara getirilerek izolasyon çalışması yapılınca kadar +4°C'deki buzdolabında saklanmıştır. Her bir toprak örneğinden 10 gr tartılarak 50 ml steril saf su içerisinde 200 rpm'de 30 dk. süspansiyon edilmiştir. *Trichoderma* spp. izolasyonu için seyreltme serisi hazırlanmıştır (Askew ve Laing, 1993). Seyreltme serilerinden (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) 1 ml alınarak *Trichoderma* Seçici Besi ortamı (TSM) ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, K_2HPO_4 0.9 g, KCl 0.15 g, NH_4NO_3 3.0 g, glucose 3.0 g, agar 15 g, rosebengal-0.15 g, chloramphenicol-0.25 g, saf su 1000 ml, pH-6.5) (Elad ve ark., 1981) ve PDA besiyerlerine steril cam baget yardımıyla homojen olacak şekilde ekimi yapılmıştır. Petriler $25 \pm 2^\circ C$ 'de inkubasyona bırakılmış ve koloni gelişimleri takip edilmiştir. Çalışma her bir toprak örneği ve seyreltme serisi için 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Elde edilen *Trichoderma* kolonileri belirlenerek (Rifai, 1969), tek spor izolatları elde edilmiştir (Hansen, 1926). Tüm çalışmalarda tek spor izolatları kullanılmıştır.

Antagonistik etkinin belirlenmesi: *Trichoderma* izolatlarının (Tr) laboratuvar koşullarında antagonistik etkinin belirlenmesinde; hiperparazitizm, ikili kültür testi ve uçucu bileşiklerin *M. phaseolina*'ya (Mp) etkisi çalışmaları yürütülmüştür.

Hiperparazitizm: Tr ve Mp'ye ait kültürlerden 4 mm çapındaki diskler Su Agarı (SA) besiyerine karşılıklı yerleştirilmiş ve $25 \pm 2^\circ C$ 'de inkubatörde günlük olarak hif gelişimi takip edilmiştir. Hifler mikroskop altında incelenerek inokulasyondan 3 gün sonra hiperparazitik ilişki değerlendirilmiştir (Chet ve Baker, 1981). Deneme her bir Tr izolatu için 3 tekerrürlü kurulmuştur.

İkili kültür testi: Tr izolatları ve Mp izolatu PDA'da $25 \pm 2^\circ C$ 'de inkubatörde 3 gün geliştirilmiştir. Kültürlerden alınan 4 mm çapındaki diskler, içerisinde PDA bulunan 90 mm çapındaki petrinin kenar noktasına karşılıklı olacak şekilde ters çevrilerek yerleştirilmiştir. Kontrol için antagonist diski yerine 4 mm'lik agar diski kullanılmıştır (Dennis ve Webster, 1971a). Petriler $25 \pm 2^\circ C$ 'de inkubatöre yerleştirilmiştir ve koloni gelişimleri 24 saat aralıklarla dijital kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Mp koloni gelişimini engelleme oranı Sreedevi ve ark. (2011) tarafından belirtilen formüle göre hesaplanmıştır. Engelleme oranı (%) = $(A1 - A2) / A1 \times 100$

Burada A1: kontroldeki Mp koloni gelişimi (mm), A2: ikili kültürdeki Mp koloni gelişimini (mm) ifade etmektedir. Deneme 3 tekerrürlü kurulmuştur.

***Trichoderma* spp.'nin oluşturduğu uçucu bileşiklerin *M. phaseolina*'nın miselyal gelişimine etkisi:** Tr ve Mp izolatları PDA'da $25 \pm 2^\circ C$ 'de inkubatörde 3 gün geliştirilmiştir. Mp izolatından alınan 4 mm çapındaki 3 adet disk, içerisinde PDA bulunan 90 mm çapındaki petride üçgen oluşturacak şekilde eşit aralıklarla yerleştirilmiştir. Aynı işlem ayrı

petride Tr izolatları için de uygulanmıştır. Petrinin kapağı çıkartılarak Mp izolatına ait petri tablası üstte, Tr'ye ait petri tablası altta olacak şekilde ağız kısımları karşılıklı yerleştirilmiş ve streç film yardımıyla iki petri tablası birleştirilmiştir. Petriler $25 \pm 2^\circ C$ 'de inkubasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 72 saat sonra patojene ait koloni gelişimi dijital kumpas yardımıyla ölçülmüştür (Dennis ve Webster, 1971b). Deneme her bir Tr izolatu için 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Çalışmada Tr izolatlarının Mp'nin miselyal gelişimine etkisi ikili kültür testinin değerlendirilmesinde olduğu gibi engelleme oranı (%) (Sreedevi ve ark., 2011) olarak ortaya konmuştur.

***Trichoderma* izolatlarının *M. phaseolina*'nın mikrosklerot sayısına etkisi:** ikili kültür testinde ve Tr izolatlarının oluşturduğu uçucu bileşiklerin Mp'nin miselyal gelişimine olan etkisi belirlemek amacıyla değerlendirme yapılan petrilere, patojene ait disklere eşit mesafeden 4 mm çapında 4 adet disk alınmış ve bu işlem tüm Tr izolatları aynı zamanda 3 tekerrür için de aynı şekilde uygulanmıştır. Alınan diskler mikrosklerot (ms) sayımı için öze yardımıyla lamin üzerine yerleştirilmiştir ve disk bistiği yardımıyla 4 eşit parçaya ayrılmıştır. Mikroskopta 10X büyütmede sayım yapılmıştır (Korkom, 2016).

Saksı koşullarında *Trichoderma* izolatlarının kömür çürüklüğüne etkisi: Saksı çalışması 16 saat aydınlık/8 saat karanlıkta $25 \pm 2^\circ C$ 'de koşullarında iklim odasında yürütülmüştür. Onset Hobo yardımıyla saksı toprağının 5 cm derinliğindeki toprak sıcaklığı ve hava sıcaklığı deneme süresince 1 saat aralıklarla kaydedilmiştir. Fide yetiştirme ortamı olarak steril toprak+kum (1:1) karışımı 700 gr/saksı olacak şekilde hazırlanmıştır. Rubygem çeşidi çilek fideleri dikim öncesi önce musluk suyuyla yıkanmış ve kökler tıraşlanmıştır. Her bir Tr izolatu için tekerrürdeki fidelerin ağırlıkları dikim öncesi ayrı ayrı tartılarak kaydedilmiştir. Saksı çalışması; 1; Mp süspansiyonu ile Tr inokulumu aynı anda, 2; Mp süspansiyonu Tr inokulumu uygulandıktan 15 gün sonra toprağa içirme şeklinde, 3; pozitif kontrol (dikimle beraber Mp süspansiyonu), 4; negatif kontrol (inokulasyon yapılmayan) şeklinde 4 karakterli, 5 tekerrürlü kurulmuştur. Dikimden 10 hafta sonra pozitif kontrol uygulamasındaki fidelerin tamamı öldüğünde deneme sonlandırılmıştır. Bütün bitkiler sökülerek kökleri temizlenmiş, her bitkinin ağırlıkları ayrı ayrı tartılmıştır.

***Trichoderma* inokulumunun uygulanması:** Her bir Tr izolatu için 2 adet 250 ml cam şişe içerisinde steril buğday kepeği kültürü hazırlanmıştır. Kültürlere $25 \pm 2^\circ C$ 'de PDA'da geliştirilen Tr izolatından 4 mm çapında 4 adet disk eklenerek $25 \pm 2^\circ C$ 'de 16 saat aydınlık/8 saat karanlıkta 10 gün gelişmeye bırakılmıştır. Tr inokulumu çilek fidesi dikiminden önce steril saksı harcına %2'si oranında (14g) homojen olacak şekilde karıştırılmıştır (Howell, 2007).

M. phaseolina mikrosklerot süspansiyonunun uygulanması: Mp izolatı, PDA'da 90 mm çaplı petrielerde 25±2°C'de 7 gün geliştirilmiştir. Daha sonra kültürler parçalayıcıda 250 ml saf su içinde parçalandıktan sonra 210 µm ve 45 µm eleklerden geçirilerek ms süspansiyonu elde edilmiştir. Ms yoğunluğu Thoma lam yardımıyla belirlenmiştir. Her bir saksiya 1.6x10³ ms/g olacak şekilde 50 ml su ile uygulanmış ve homojen bir şekilde karışması sağlanmıştır (Aviles ve ark., 2009).

Saksı çalışmasının değerlendirilmesi: karakterlerdeki fidelerin yaş ağırlık artışı (%) ve çökme oranı (%) aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirilmiştir.

Yaş ağırlık artışı = [(10 hafta sonraki fide ağırlığı-dikim ağırlığı) / dikim ağırlığı] x 100

Çöken fide oranı = (ölen bitki sayısı / karakterdeki toplam dikilen fide sayısı) x 100

İstatistik Analizi

Saksı çalışmasında elde edilen yaş ağırlık artışı (%) verilerine ArcSin transformasyonu uygulanmıştır. Veriler JMP 12.0 istatistik programı (SAS enstitüsü, Cary, NC) tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile ortalamalar LSD testi (P=0.05) ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Patojenisite testi: Patojenisite testi çalışması sonucunda stolonda ölçülen lezyon uzuluklarına göre en virülensten en düşüğe sırasıyla; Ky20 (32.6 mm), 1FMp (27.6 mm), ReMp (25.9 mm), Omp1 (24.0 mm), İAMp (22.4 mm), SK4 (19.4 mm), AMp9 (16.6 mm), AMp2 (13.2 mm), SÇ3 (12.8 mm), İŞ324 (10.7 mm) olarak belirlenmiştir. Çalışmanın diğer tüm aşamaları en virülens olan Ky20 patojen izolatıyla yürütülmüştür.

Topraktan Tr izolasyonu: TSM ve PDA ortamlarındaki 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ seyreltme serilerinden Tr izolatı elde edilememiştir. Bu durum uzun yıllardır çilek tarımının yapıldığı alanlarda yoğun kimyasal kullanılması gibi nedenlerle topraklarımızın Tr açısından zayıf olduğunu düşündürmektedir. Nitekim Özyılmaz ve ark. (2016) Aydın ili 2011 ve 2012 çilek üretim sezonunda, toprağa farklı uygulamaların topraktaki bakteri ve fungus populasyonlarındaki değişimi Real-Time PCR metoduyla incelemişler ve solarizasyon uygulamasının *Trichoderma* populasyonunun her iki yılda da farklı miktarlarda azalttığını belirlemiştir. Çalışmadaki diğer seyreltme serilerinden 40 adet toprak örneğinden 63 adet Tr izolatı elde edilmiştir ancak bu çalışmada 10 adet Tr izolatı değerlendirilmiştir.

Antagonistik etkinin belirlenmesi: *Trichoderma* türlerinin en önemli biyolojik mücadele mekanizmalarından biri hiperparazitizmdir. Bu nedenle çalışmada Tr izolatlarının tamamının Ky20'ye hiperparazit olduğu belirlenmiştir.

İkili kültür testi: ikili kültür çalışması sonucunda Tr izolatları Ky20 izolatının miselyal gelişimini %25.9-59.1 oranında azaltmıştır ve çalışmada en yüksek rekabet yeteneğini Tr8 (%59.1) izolatı göstermiştir (Çizelge 1). Benzer çalışmalarda da elde edilen bulgularla yakın sonuçlar bulunmuştur. Doley ve Jite (2012) PDA'da ikili kültür tekniği ile yürüttükleri çalışmada *T. viride*'nin *M. phaseolina*'nın gelişimini %71.42 oranında, Ramanathan ve ark. (2013) *T. viride*'nin *M. phaseolina*'nın miselyal gelişimini %53.3, *T. harzianum*'un %50 oranında engellediğini belirlemiştir.

Trichoderma spp.'nin oluşturduğu uçucu bileşiklerin M. phaseolina'nın miselyal gelişimine etkisi: Tr izolatlarının oluşturduğu uçucu bileşikler Ky20 izolatının miselyal gelişimini %13.33-30.00 oranında engellediği belirlenmiştir (Çizelge 1). Rahman ve ark. (2011) uçucu bileşik oluşturan *T. viride*'nin %26.6, *T. harzianum* %54.3 oranlarında, bir diğer çalışmada ise yedi *Trichoderma* türü tarafından oluşturulan uçucu bileşiklerin %45.4-57.8 arasında (Reddy ve ark., 2014) *M. phaseolina*'nın koloni gelişimini sınırlandırdığı sonucunu elde etmişlerdir. Konuyla ilgili yapılan çalışmalarla bulgularımız karşılaştırıldığında; %30 gibi bir oranın miselyal gelişimi sınırlandırmada düşük olarak görünse de ms ilişkin veriler değerlendirildiğinde önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Trichoderma izolatlarının M.phaseolina'nın mikrosklerot sayısına etkisi: ikili kültür testindeki bir diğer değerlendirmemiz de ms sayısına olan etkinin belirlenmesiydi, burada Tr izolatları %11.7-63.1 arasında değişen oranlarda ms oluşumunu azaltmıştır. Tr izolatları içinden Tr21 izolatı %63.1 oranında ms oluşumunu (69 ms) kontrole göre (187 ms) en fazla azaltan izolat olmuştur. Ayrıca yapılan bu çalışmada asıl dikkat çekici sonuçlarından biri de uçucu bileşiklerin ms oluşumunda %9.7-77.3 arasında değişen oranlarda azaltma etkisidir. Ms oluşumunda kontrole göre (229.67 ms) %77.3 gibi önemli oranda azalma gösteren Tr izolatı Tr12 (52 ms) olmuştur (Çizelge 1). *Trichoderma* türlerinin uçucu ve uçucu olmayan sekonder metabolitlerin hem antagonistik hem de bitki gelişimine olan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda çalışmalarda ve Tr izolatları arasında miselyal gelişimi sınırlandırmada olsun ms oluşumunu azaltmada/arttırmada; Tr izolatlarının ırka, çevre koşullarına, metabolit belirleme yöntemin duyarlılığına bağlı olarak 1000'den fazla sekonder metabolit üretebilmesinden kaynaklanmaktadır (Vinale ve ark., 2009).

Chamorro ve ark. (2015) 3 üretim sezonunda çilekte yapmış olduğu arazi denemesinde; 10 ms/gr bulaşıklığın %10'dan fazla bitki ölümüne neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, özellikle *M. phaseolina*'nın sklerotları 15 yıl kadar toprakta

Çizelge 1. *Trichoderma* izolatlarının laboratuvar koşullarında *M.phaseolina*'ya antagonistik etkisinin değerlendirilmesi

İkili kültür Testi			Uçucu Bileşiklerin Etkisi		
İzolat	Engelleme (%) ¹	Mikrosklerot sayısı (adet)	Engelleme (%) ¹	Mikrosklerot sayısı (adet)	
Tr8	59.10 A	345	13.33 C	207.33	
Tr26	49.10 B	136	13.33 C	99.33	
Tr7	47.00 B	145	13.33 C	149.67	
Tr16	41.80 C	322	16.67 BC	73.60	
Tr12	33.50 D	304	16.67 BC	52.00	
Tr28	28.40 E	146	16.67 BC	60.00	
Tr25	28.00 E	114	20.00 B	119.00	
Tr21	27.50 E	69	20.00 B	135.00	
Tr24	26.30 E	165	26.67 A	384.00	
Tr19	25.90 E	73	30.00 A	56.00	
Kontrol	0 F	187	0 D	229.67	

¹Değerler 3 tekrüre ait ortalamalardır, aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur (LSD, P<0.05)

ve bitki artıklarında canlı kalabilen (Manici ve ark., 1995) bir toprak kaynaklı fungal patojenin mücadelesi açısından önemli bir yer tutmaktadır.

Saksı koşullarında *Trichoderma* izolatlarının kömür çürüklüğüne etkisi: çalışma Tr+Mp ve Tr+Mp(15) olarak iki farklı uygulama olarak değerlendirilmiştir. Tr+Mp uygulamasındaki fidelerin dikim ile 10 hafta sonraki yaş ağırlıkları karşılaştırıldığında Tr izolatları kontrole göre %6.77-36.47 aralığındaki değerlerde fidelerde ağırlık artışı sağlamıştır. İzolatlar arasında en fazla ağırlık artışı Tr28 uygulamasında (%36.47) olurken bunu Tr19 ve Tr24 (sırasıyla %31.20 ve %30.32) izlemiştir. Ayrıca Tr28 izolatının uygulandığı fidelerde ölüm meydana gelmemiştir (Çizelge 2).

Tr+Mp(15) uygulamasında ise %9.32-47.37 oranında fidelerde ağırlık artışları belirlenmiştir. Uygulamada kontrole göre fidelerde en fazla ağırlık artışı gösteren Tr25 (%47.37) ve Tr26 (%37.51) izolatları olmuştur. Ayrıca Tr+Mp(15) denemesinde Tr26, Tr28, Tr21, Tr24 izolatlarının

uyulandığı fidelerde ölüm meydana gelmemiştir (Çizelge 3). Her iki denemede de Tr28 izolatının uygulandığı fidelerde çökme gözlenmemiştir.

Çilekte toprak kaynaklı hastalıklar ile mücadele konusunda yapılan bazı çalışmalar değerlendirildiğinde *Trichoderma* uygulamalarının hastalığın şiddetini azaltmada ve bitki gelişimine olumlu etkisinin olduğu ortaya konulmuştur. Porras ve ark. (2007) *T. harzianum* ve *T. viride*'nin tek başına ve solarizasyon ile kombine edilerek uygulamaların hastalığın kontrolüne, verim artışı ve bitki gelişimine katkı sağlamıştır. İspanya'da çilekte tarla koşullarında yürütülen çalışmada *M.phaseolina*'nın kontrolünde Thiophanate-methyl+Carbendazim (%87) en etkili uygulama olurken, *T. asperellum* hastalık şiddetini %65 azalttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada uygulamaların verime olan etkisi değerlendirildiğinde; kontrole göre (31.2±0.9 g/bitki) en fazla verim artışı sağlayan *T. asperellum* (58.6±31.4 g/bitki) olmuştur (Pastrana ve ark., 2016).

Çizelge 2. Tr ve Mp'nin aynı anda uygulamasının kömür çürüklüğü hastalığına olan etkisinin değerlendirilmesi

İzolat	Dikim öncesi fide ağırlığı (g)	10 hafta sonra fide ağırlığı (g)	Ağırlık artışı (%) ^{1,2}	Çökme (%)	İzolat	Dikim öncesi fide ağırlığı (g)	10 hafta sonra fide ağırlığı (g)	Ağırlık artışı (%) ^{1,2}	Çökme (%)
Tr28	5.11	6.97	36.47A	0	Tr8	4.94	5.67	14.80CDE	40
Tr19	10.96	14.38	31.20AB	20	Tr7	5.36	6.14	14.52CDE	40
Tr24	5.56	7.25	30.32ABC	40	Tr25	4.76	5.36	12.68CDE	40
Tr26	4.70	5.88	25.20ABCD	60	K (-)	6.36	7.02	10.40 DE	0
Tr21	7.63	9.19	20.40ABCDE	40	Tr12	8.01	8.55	6.77D	80
Tr16	7.09	8.26	16.57BCDE	40	K (+)	8.57	8.73	1.92E	100

¹Değerler 3 tekrüre ait ortalamalardır, aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur (LSD, P<0.05) ² İstatistiki analizler ArcSin değerleri ile yapılmıştır.

Çizelge 3. Tr uygulandıktan 15 gün sonra Mp uygulamasının kömür çürüklüğü hastalığına olan etkisinin değerlendirilmesi

İzolot	Dikim öncesi fide ağırlığı (g)	10 hafta sonra fide ağırlığı (g)	Ağırlık artışı (%) ^{1,2}	Çökme (%)	İzolot	Dikim öncesi fide ağırlığı (g)	10 hafta sonra fide ağırlığı (g)	Ağırlık artışı (%) ^{1,2}	Çökme (%)
Tr25	4.57	6.73	47.37 A	20	Tr16	8.20	9.20	12.16CDEF	60
Tr26	5.91	8.13	37.51 AB	0	Tr7	6.08	6.78	11.57DEF	40
Tr28	6.25	8.54	36.68 ABC	0	Tr19	7.48	8.30	10.92 EF	40
Tr21	6.92	8.57	23.87ABCD	0	K (-)	6.36	7.02	10.40 F	0
Tr8	9.30	11.33	21.81ABCDE	60	Tr12	8.47	9.26	9.32 E	80
Tr24	4.35	5.06	16.26 BCDEF	0	K (+)	5.76	6.25	8.53 E	100

¹Değerler 3 tekrüre ait ortalamalardır, aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur (LSD, P<0.05) ² İstatistiki analizler ArcSin değerleri ile yapılmıştır.

SONUÇ

Çalışmadaki bulgular değerlendirildiğinde; çilek üretim alanlarından izole edilen *Trichoderma* izolatlarının ikili kültür ve uçucu bileşiklerin etkisinin *M. phaseolina*'nın koloni gelişimini azalttığı, bütün *Trichoderma* izolatlarının hiperparazit olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada esas önemli veriler mikrosklerot sayısında önemli azalma kaydeden *Trichoderma* izolatlarının belirlenmesinde elde edilmiştir. Saksı çalışmalarında; *Trichoderma* izolatlarının uygulandığı fidelerde kömür çürüklüğü hastalığı sonucu meydana gelen çökmelerin azaldığı ve bitki gelişimi açısından da olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu anlamda özellikle solarizasyon ile kombinasyonları yapılarak toprağa Tr uygulamalarının *M. phaseolina* üzerine etkisi konusunda daha ayrıntılı çalışmaların yapılması hastalığın mücadelesinde katkı sağlayacaktır.

Elde edilen veriler kömür çürüklüğü hastalığı ile mücadelede gerek bölgesel gerekse ülkesel ölçekte geleceğe yönelik yapılacak çalışmalara ışık tutacak niteliktedir. Ayrıca hem çilek hem de farklı kültür bitkilerinin yetiştirildiği alanlardan elde edilecek çok daha fazla sayıda *Trichoderma* izolatı ile farklı kültür bitkilerinde gerek bitki gelişimi gerekse farklı hastalık etmenleri ile mücadeleye yönelik daha ayrıntılı ve geniş çaplı çalışmalar yürütülmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü tarafından desteklenen 13004 nolu projenin bir kısmını oluşturmaktadır. Desteklerinden dolayı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Anonim (2018) Bitkisel Üretim İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Erişim Tarihi: 04/09/2019)

Askew DJ, Laing MD (1993) An Adapted Selective Medium for the Quantitative Isolation of *Trichoderma* Species. Plant Pathology 42(5): 686- 690.

Aviles M, Castillo S, Bascón J, Zea-Bonilla T, Sánchez PM, Perez-Jimenez RM (2008) First Report of

Macrophomina phaseolina Causing Crown and Root Rot of Strawberry in Spain. Plant Pathology 57(2): 382.

Aviles M, Castillo S, Borrero C, Castillo ML, Zea-Bonilla T, Perez-Jimenez RM (2009) Response of Strawberry Cultivars: 'Camarosa', 'Candongá', and 'Ventana' to Inoculation with Isolates of *Macrophomina phaseolina*. Acta Horticulturae 842: 291–294.

Benlioğlu S, Yıldız A, Döken T (2004) Studies to Determine the Causal Agents of Soilborne Fungal Diseases of Strawberries in Aydın and to Control them by Soil Disinfestation. Journal of Phytopathology 152(18): 509-513.

Benlioğlu S, Boz Ö, Yıldız A, Kaşkavalı G, Benlioğlu K (2005) Alternative Soil Solarization Treatments for the Control of Soil-borne Diseases and Weed of Strawberry in the Western Anatolia of Turkey. Journal of Phytopathology 153(7-8): 423-430.

Benlioğlu S, Yıldız A, Boz O, Benlioğlu K (2014) Soil Disinfestation Options in Aydın Province, Turkey, Strawberry Cultivation. Phytoparasitica 42(3): 397-403.

Benlioğlu S, Yıldız A, Özyılmaz Ü, Korkom Y, Benlioğlu K (2018) Çileklerde *Macrophomina phaseolina*'ya Karşı Bazı Fungisit ve Antagonistik Bakterilerin Etkisi. Uluslararası Katılımlı VII. Bitki Koruma Kongresi, 14-17 Kasım 2018, Muğla, 74-75.

Chamorro M, Miranda L, Domínguez P, Medina JJ, Soria C, Romero F, López-Aranda JM, De los Santos B (2015) Evaluation of Biosolarization for the Control of Charcoal Rot Disease (*Macrophomina phaseolina*) in Strawberry. Crop Protection 67: 279–286.

Chet I, Baker R (1981) Isolation and Biocontrol Potential of *Trichoderma hamatum* from Soil Naturally Suppressive to *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 71: 286-290.

Conti S, Villari G, Fagnò S, Melchionna G, Somma S, Caruso G (2014) Effects of Organic vs. Conventional Farming System on Yield and Quality of Strawberry Grown as

- an Annual or Biennial Crop in Southern Italy. *Scientia Horticulture* 180: 63-71.
- Contreras-Cornejo HA, Macías-Rodríguez L, del-Val E, Larsen J (2016) Ecological Functions of *Trichoderma* spp. and their Secondary Metabolites in the Rhizosphere: Interactions with Plants. *FEMS Microbiology Ecology* 92(4): fiw036.
- Dennis C, Webster J (1971a) Antagonistic Properties of Species Groups of *Trichoderma* I. Production of Non-Volatile Antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society* 57(1): 25–39.
- Dennis C, Webster J (1971b) Antagonistic Properties of Species Groups of *Trichoderma* II. Production of Volatile Antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society* 57(1): 41–48.
- Doley K, Jite PK (2012) In-vitro Efficacy of *Trichoderma viride* Against *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*. *Notulae Scientia Biologicae* 4(4): 39-44.
- Domínguez P, Miranda L, Soria C, De los Santos B, Chamorro M, Romero F, Daugovish O, López-Aranda JM, Medina JJ (2014) Soil Biosolarization For Sustainable Strawberry Production. *Agronomy for Sustainable Development* 34(4): 821–829.
- Elad Y, Chet I, Henis Y (1981) A Selective Medium for Improving Quantitative Isolation of *Trichoderma* spp. from Soil. *Phytoparasitica* 9(1): 59-67.
- Elmore CL, Stapleton JJ, Bell CE, Devay JE (1997) Soil Solarization: A Nonpesticidal Method for Controlling Diseases, Nematodes, and Weeds. University of California Division of Agriculture and Natural Resources Publication 21377.
- FAOSTAT (2019) Statistical databases (FAOSTAT). <http://faostat.fao.org>. (Erişim Tarihi: 04/09/2019)
- Hansen HN (1926) A Simple Method of Obtaining Single Spore Cultures. *Science* 64(1659): 384-384.
- Howell CR (2007) Effect of Seed Quality and Combination Fungicide *Trichoderma* spp. Seed Treatments on Pre- and Postemergence Damping-off in Cotton. *Phytopathology* 97(1): 66-71.
- Jiang Y, Wang JL, Chen J, Mao LJ, Feng XX, Zhang, CL (2016) *Trichoderma* Biodiversity of Agricultural Fields in East China Reveals a Gradient Distribution of Species. *PLoS ONE* 11(8): e0160613.
- Joshi D, Misra SC (2013) Characterization of *Trichoderma* Isolates from Sugarcane Agro-Ecosystem and their Efficacy Against *Colletotrichum falcatum* Causing Red Rot of Sugarcane. *Sugar Tech* 15 (2): 192–196.
- Koike ST (2008) Crown Rot of Strawberry Caused by *Macrophomina phaseolina* in California. *Plant Disease* 92(8): 1253-1253.
- Korkom Y (2016) Aydın İli Çilek Üretim Alanlarında *Trichoderma* Türlerinin Belirlenmesi ve *Macrophomina phaseolina*'ya Karşı Etkinliklerinin Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
- Kredics L, Antal Z, Manczinger L, Szekeres A, Kevei F, Nagy E (2003) Influence of Environmental Parameters on *Trichoderma* Strains with Biocontrol Potential. *Food Technology and Biotechnology* 41(1): 37-42.
- Maas JL (1998) Compendium of Strawberry Diseases. St. Paul, MN: APS press 98.
- Manici LM, Caputo F, Cerato C (1995) Temperature Responses of Isolates of *Macrophomina phaseolina* from Different Climatic Regions of Sunflower Production in Italy. *Plant Disease* 79(8): 834-838.
- Mertely J, Seijo T, Peres N (2005) First Report of *Macrophomina phaseolina* Causing a Crown Rot of Strawberry in Florida. *Plant Disease* 89(4): 434–434.
- Mihail JD (1992). *Macrophomina*. In: Singleton L, Mihail J and Rush C (eds.) *Methods for Research on Soil-borne Phytopathogenic Fungi*. American Phytopathology Society 134–140.
- Mishra BK, Mishra RK, Mishra RC, Tiwari AK, Yadav RS, Dikshit A (2011) Biocontrol Efficacy of *Trichoderma viride* Isolates Against Fungal Plant Pathogens Causing Disease in *Vigna radiata* L. *Archives of Applied Science Research* 3(2): 361-369.
- Özyılmaz Ü, Benlioğlu K, Yıldız A, Benlioğlu HS (2016) Effects of Soil Amendments Combined with Solarization on The Soil Microbial Community in Strawberry Cultivation Using Quantitative Real-Time PCR. *Phytoparasitica* 44(5): 661-680.
- Pastrana AM, Basallote-Ureba MJ, Aguado A, Akdi K, Capote N (2016) Biological Control of Strawberry Soil-borne Pathogens *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*, using *Trichoderma asperellum* and *Bacillus* spp. *Phytopathologia Mediterranea* 55(1): 109-120.
- Porrás M, Barrau C, Arroyo FT, Santos B, Blanco C, Romero F (2007) Reduction of *Phytophthora cactorum* in Strawberry Fields by *Trichoderma* spp. and Soil Solarization. *Plant Disease* 91(2): 142-146.
- Rahman A, Begum M.F, Rahman M, Ilias GNM, Alam M (2011) Isolation and Identification of *Trichoderma* Species from Different Habitats and their Use for Bioconversion of Solid Waste. *Turkish Journal of Biology* 35(2): 183-194.
- Ramanathan G, Saran SM, Vinodhkumar T (2013) Evaluation of Antifungal Activity of Metabolites from *Trichoderma* Species Against Fungal Phytopathogens. *International Journal of Science Innovations and Discoveries* 3(5): 528-538.
- Reddy B, Saritha K, Hindumathi A (2014) In-vitro Screening of Antagonistic Potential of Seven Species of *Trichoderma* Against Different Plant Pathogenic Fungi. *Research Journal of Biology* 2: 29-36.
- Rifai MA (1969) A Revision of the Genus *Trichoderma*. *Mycological papers* 116: 1-56.
- Sreedevi B, Charitha DM, Saigopal D (2011) Isolation and Screening of Effective *Trichoderma* spp. Against the Root Rot Pathogen *Macrophomina phaseolina*. *Journal of Agricultural Technology* 7(3): 623-635.
- Subbarao KV, Hubbard JC, Koike ST (1999) Evaluation of Broccoli Residue Incorporation Into Field Soil for Verticillium Wilt Control in Cauliflower. *Plant Disease* 83(2): 124-129.

Vinale F, Flematti G, Sivasithamparam K, Lorito M, Marra R, Skelton BW, Ghisalberti EL (2009) Harzianic Acid, an Antifungal and Plant Growth Promoting Metabolite from *Trichoderma harzianum*. *Journal of Natural Products* 72(11): 2032-2035.

Yıldız A, Benlioğlu S, Boz Ö, Benlioğlu K (2010) Use of Different Plastics for Soil Solarization in Strawberry

Growth and Time Temperature Relationships for the Control of *Macrophomina phaseolina* and Weeds. *Phytoparasitica* 38(5): 463-473.

Yıldız A, Benlioğlu S (2014) A Laboratory Bioassay for Evaluating Pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* Isolates to Strawberry Stolons. *Phytoparasitica* 42: 367-369.