

RHIZOCTONIA SOLANI'NİN FUNGAL ANTAGONİSTLERİNİN BELİRLENMESİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Mehmet Hadi AYDIN

Gülay TURHAN

**Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü
35040 Bornova-İzmir/TURKEY**

**Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Bölümü
35100 Bornova-İzmir/TURKEY**

ÖZ: Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de mikroorganizma varlığı yönünden farklı olabileceği düşünülen dokuz farklı bölgeden alınan toprak örneklerinden, farklı yöntemler kullanılarak *R. solani* Kühn'nun fungal antagonistlerinin izole edilmesi ve etkilerinin *in-vitro* testlerle kanıtlanmasıdır. İzolatların antagonistik özelliklerinin belirlenmesi için, ikili kültür yöntemi kullanılmış; patojen kolonisinin üzerinde gelişme gösteren veya onun gelişimini engelleyen izolatlar antagonist olarak seçilmiştir. Seçilmiş izolatlar, besleyici değeri 10 kez zayıflatılmış PDA ortamında yine patojenle karşılıklı olarak geliştirilmiş; mikroskopik incelemede patojen hücrelerini saran ve penetre edenler mikoparazitik etkili antagonistler olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada *R. solani*'ye karşı antagonistik etkili olduğu saptanan 320 izolatın 257 tanesinin 14 farklı *Trichoderma* türüne ait olduğu belirlenmiş ve bunlar *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg, *T. atroviride* Bissett., *T. crassum* Bissett., *T. croceum* Bissett., *T. gamsii* Samuels & Druzhin, *T. hamatum* (Bonard.) Bainer, *T. harzianum* Rifai, *T. inhamatum* Veerkamp & W. Gams, *T. neokoningii* Samuels & Soberanis, *T. spirale* Bissett., *T. strigosum* Bissett., *T. tomentosum* Bissett., *T. virens* J.H., Mill., Giddens & A.A Foster ve *T. viride* Pers. olarak tanımlanmıştır. Bu türlerden *T. harzianum*, *T. viride*, *T. hamatum* ve *T. virens* (= *G. virens*) dışındaki 10 *Trichoderma* türü Türkiye için ilk kayıttır. *T. crassum*, *T. croceum*, *T. gamsii*, *T. inhamatum*, *T. neokoningii*, *T. strigosum* ve *T. tomentosum*'un *Rhizoctonia*'nin antagonisti olduğu da ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Anahtar Sözcükler: Patates, *Rhizoctonia solani*, antagonist izolasyonu, fungal antagonistler.

STUDIES ON DETERMINATION OF FUNGAL ANTAGONISTS OF RHIZOCTONIA SOLANI

ABSTRACT: The objectives of this study were to isolate the fungal antagonists of *R. solani* Kühn by using several techniques to determine their antagonistic efficacy towards this pathogen *in vitro*. All of the antagonistic isolates used in this study were obtained from soil samples collected from nine different localities in Turkey. Interferences between *R. solani* and potential antagonists were studied in dual cultures. The two colonies were grown in juxtaposition to each other. Hyperparasitic isolates growing through *R. solani* colonies and covering it completely, or exhibiting high antibiotic activity against the pathogen were taken up for further investigations. Selected isolates and *R. solani* were grown on ten fold diluted PDA in juxtaposition to each other. After the colonies made contact, the mode of parasitism was investigated by using light microscopy. The 85 % of the total antagonistic isolates (320) obtained in this study were determined to be belonging to 14 *Trichoderma* spp. Among them *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. crassum*, *T. croceum*, *T. gamsii*, *T. inhamatum*, *T. neokoningii*, *T. spirale*, *T. strigosum*

and *T. tomentosum* were isolated for the first time in Turkey. Furthermore, there seems to be no information so far, about the antagonistic activity of *T. crassum*, *T. croceum*, *T. gamsii*, *T. inhamatum*, *T. neokoningii*, *T. strigosum* and *T. tomentosum* against *Rhizoctonia* at all. Using light microscopy, tight coiling by the mycoparasite around the *R. solani* hyphae could be observed. Tips of the hyphal branches often invaded the host by direct penetration.

Keywords: Potato, *Rhizoctonia solani*, isolation of antagonist, fungal antagonists.

GİRİŞ

Rhizoctonia solani Kühn. birçok kültür bitkisinde özellikle toprak altı kısımlarında çeşitli hastalıklara neden olan ve her yerde bulunabilen bir patojendir. Genel olarak çökerten, kök ve kökboğazı çürüklüğü, yaprak ve gövde yanıklığına neden olmaktadır (Carling ve ark., 1994). Başlıca konukçuları patates, karanfil, karnabahar, arpa, buğday, patates, biber, domates, nohut, yeşil fasulye, soya, tütün, şeker pancarı, yonca, havuç, karanfil, vb. gibi kültür bitkileridir. Yıllarca organik materyalde miselyum olarak, toprakta ise sklerot olarak canlı kalabilmesi nedeniyle mücadelesinde zorluklar yaşanmaktadır (Boosalis ve Scharen 1959). Yine besinlerin üzerinde hızlı gelişmesi, köklerin yüzeyinde gelişerek kolonize olması ve enfeksiyon bölgesinde epidermal hücreleri hızlı bir şekilde istila edebilmesi ile güçlü bir patojen özelliği göstermektedir. Bu fungusun çoğunluğu patatesle ilgili olarak 13 anastomosis grubu (AGs) tanımlanmıştır (Carling ve ark., 2002). Bu grupların hastalık oluşturma yeteneği aynı bitkide ya da bitkiden bitkiye değişiklik gösterebilmektedir. Bunlardan AG-3 patatesin gövdesi üzerinde ve stolonlarda nekrozlara, yine yumru üzerinde sklerot oluşumuna; AG-4 ise patateste çökerten ve gövde nekrozlarına neden olmaktadır (Sneh, 1996).

R. solani gibi mücadelesi zor olan toprak kökenli etmenlere karşı antagonistlerin belirlenmesi ve biyolojik çalışmalarda kullanılması konusu uzun yıllardan beri araştırılmaktadır. Weindling (1932), *R. solani*'ye karşı *Trichoderma viride*'nin (= *T. lignorum*) parazitik aktivitesini belirlemede ilk kaydı yapmıştır. Karbondioksit ile fumige edilmiş toprakta *T. viride*'nin *Armillaria mellea*'dan daha hızlı kolonize olduğunu ve limon bitkisinin köklerinde patojeni kontrol ettiğini bildirmiştir. Dünya'da 1980'li yıllardan beri biyolojik biyopreparatlar geliştirilmektedir. *Rhizoctonia solani*'ye karşı çoğunlukla *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., binükleit *Rhizoctonia*, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. vb. antagonistlerle daha çok çalışılmaktadır (Trillas ve ark., 2006).

Biyolojik savaş kısaca, bir patojenin hastalık oluşturmeyen başka bir canlı mikroorganizma ile baskı altına alınmasıdır. Fitopatojen mikroorganizmalara karşı diğer mikroorganizmalar kullanılarak, bitki hastalıklarının biyolojik kontrolü konusunda bugüne değin pek çok araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalar incelendiğinde,

toprak mikroflorası içinde özellikle bitki köklerinde patojen funguslara karşı biyolojik kontrol ajanı olarak ümit veren fungusların başında *Trichoderma* türlerinin geldiği görülür (Boosalis,1964; Wilhelm,1973; Baker ve Cook, 1974; Lockwood,1977; Cook ve Baker, 1983). *Trichoderma* spp.'nin biyolojik savaşındaki rolü antibiosis, hiperparazitizm ve yarışma gibi biyolojik savaş mekanizmalarının birlikte etkileşimi olarak açıklanabilir. *Trichoderma* türlerinin *R. solani* gibi önemli toprak kökenli fitopatogen fungusları kontrol edebilecek düzeyde oldukları, geçmişten günümüze kadar yapılan bazı çalışmalarda açıklanmıştır (Dennis ve Webster, 1971; Chet ve Baker, 1980; Elad ve ark., 1980; Chet ve Baker, 1981; Bell ve ark., 1982).

Uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalarda araştırmacılar *R. solani*'nin bir çok antagonistini belirlemişlerdir. Roy (1989), yayınladığı bir derlemede, o tarihe kadar yapılan çalışmaları değerlendirmiş ve patojenin bazı antagonistlerini bu yayınında belirtmiştir. Bu fungal antagonistler *Aspergillus clavatus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium solani*, *Gliocladium roseum*, *Laetisaria arvalis*, *Myrothecium sp.*, *Penicillium cyclopium*, *P. ehrlichii*, *P. funiculosum*, *P. vermiculatum*, *Penicillium sp.*, *Pseudocercospora herpotrichoides*, *Pseudoeurotium multisporum*, *Pythium oligandrum*, *Trichoderma aureoviride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum*, *T. polysporum*, *T. pseudokoningii*, *T. viride*, *Trichoderma spp.*, *Verticillium biguttatum*, *V. lammellicola*, *V. lecanii*, *V. nigrescens*, *V. psalliotae*, *V. sphaerospermum* ve *V. tenerum* 'dur. Türkiye' de yapılan bazı araştırmalarda dünyada *R. solani*'nin bilinen antagonistlerine yenileri eklenmiştir: *Streptomyces ochraceiscleroticus*, *S. nobilis* (Turhan, 1981; Turhan ve Turhan, 1989), *Neocosmospora vasinfecta* var. *africana* (Turhan and Grossmann, 1988), *Acrophialophora levis* (Turhan ve Grossmann, 1989), *Botryotrichum piluliferum*, *Coniothyrium sporulosum*, *Dicyma olivacea*, *Gliocladium catenulatum*, *Stachybotrys chartarum*, *S. elegans*, *Stachylidium bicolor*, *Verticillium chlamydosporum* (Turhan, 1990, 1992; Turhan ve Turhan, 1993) ve *Cylindrocarpon olidum* (Turhan, 1994). Keza, Turhan ve Grossmann (1994), 5 *Myrothecium* türünün (*M. carmichaelii*, *M. cinctum*, *M. roridum*, *M. tongaense* ve *M. verrucaria*) *R. solani* üzerinde antibiyotik ve mikoparazitik etkiye sahip olduğunu saptamıştır.

Biyolojik mücadelede kullanılan antagonistler, bitkilerin farklı organları, kök, meyve, yaprak vs. kısımlarından izole edilebildiği gibi değişik coğrafyalardaki fiziksel ve kimyasal özellikleri farklı topraklardan değişik metotlar kullanılarak izole edilebilmektedir. Samuels (2006), tarafından yapılan ve birçok araştırma sonuçlarının değerlendirildiği bir derlemede, *Trichoderma* türlerinin bir çok yörede ve toprakta yaygın olarak bulunduğu belirtilmekte; türlerin coğrafik yayılımının *T. harzianum* ve *T. asperellum* gibi ya geniş ve sınırsız ya da *T. viride*'de olduğu gibi sınırlı olduğu; yine *T. polysporum* ve *T. minutisporum* türlerinin daha çok soğuk topraklarda bulunduğu; *T. aureoviride*'nin İngiltere ve Kuzey Avrupa'da sınırlı görüldüğü; ticari

selülaz enzimi üretimi için iyi bir tür olan *T. reesei*'nin son dönemde sadece Pasifik bölgesinde, Solomon adalarında canvas materyalinden izole edilebildiği; genus içinde yayılması en sınırlı olan türlerden *T. stromaticum*'un sadece Amerika kıtasında tropikal bölgede kakao ağaçlarında tespit edildiği ve bu ağaçlarda önemli bir hastalık etmeni olan *Crinipellis pernicioso*'ya karşı etkili olduğunu, ayrıca onun varlığının, antagonistin orda bulunmasının nedeni olabileceği bildirilmiştir.

Bu çalışmada Türkiye'nin, mikroorganizma varlığı yönünden farklı olabileceği varsayılan değişik yer ve plantasyonlarından toprak örneği alınmış ve farklı yöntemler kullanılarak *R. solani*'nin antagonistleri izole edilmiştir. Bu antagonistlerin *in-vitro*'da patojene karşı etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

MATERYAL

Çalışmanın materyalini Çizelge 1'de özellikleri belirtilen yerlerden alınan toprak örnekleri; hastalıklı patates bitkisi ve yumruları, orijinal *R. solani* izolatları ve bu patojenin orijinal, antagonistik fungal izolatları ile bazı besin ortamları oluşturmuştur.

Çalışmada Kullanılan Toprak Örnekleri

Türkiye'nin, mikroorganizma varlığı yönünden farklı özellikte olduğu varsayılan 9 yöresinden toprak örnekleri alınmıştır. Bu örneklerin alındığı yöreler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Antagonist izolasyonu için seçilen toprak örnekleri.

Table 1. Soil samples selected for antagonist isolation.

Örnek no Sample number	Alındığı yer Orijin	*Toprağın en belirleyici özelliği Most typical feature of soil	Simge Symbol
1	Van	Gölün suyundan etkilenmiş topraklar	VG
2	Pamukkale/ Denizli	Travertenlere bitişik konumlu, yoğun kalkerli topraklar	PT
3	Konya	Tuz Gölü sularından etkilenmiş topraklar	TZ
4	Fethiye/Muğla	Günlük ormanlarında organik maddece zengin orman altı toprakları	LO
5	Keban /Elazığ	Keban Barajı çevresi toprakları	KEB
6	Karacadağ /Diyarbakır	Vulkanik dağ bölgesi toprakları	KB
7	Altınova/ Balıkesir	Patates tarımına uygun, kumlu topraklar	A
8	Ödemiş/İzmir	<i>R. solani</i> 'nin sorun olmadığı patates tarlası toprakları	ÖT
9	Bozdağ/Manisa	<i>R. solani</i> 'nin sorun olmadığı patates tarlası toprakları	BOZ

*Toprak örneklerinin analiz sonuçları Ek Çizelge 1'de verilmiştir.

Çalışmada Kullanılan Besin Ortamları

PDA Ortamı

Ayıklanmış 200 g patates küçük parçalar halinde doğranarak 1,0 l destile suda haşlanmış ve birkaç kat tülbenten süzülerek suyu alınmıştır. Sonra 20 g sakkaroz ve 15 g agar patates suyuna eklenmiş ve otoklavda 121 °C'de, 15 dk tutularak sterilize edilmiştir.

Zayıf Ortam

Bu ortam 20 g patatesin haşlanıp süzülmesi ve süzüntüye 2 g sakkaroz, 15 g agar ilavesiyle hazırlanmış, yani on kez zayıflatılmış bir PDA ortamıdır.

Geliştirilmiş PDA Ortamı

PDA besin ortamına 32 mg/l Rose-Bengal eklenerek iyice karıştırılmış ve otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilize ortamın sıcaklığı 45 °C 'ye düşükten sonra, birkaç ml steril destile suda eritilmiş 200 mg Streptomycin sulphate ilave edilmiştir.

Tolclofos Methyl Katkılı Geliştirilmiş PDA Ortamı

Bu ortamın geliştirilmiş PDA ortamından farkı 6 mg/l Rizolex de içermesidir. Bunun için, 60 mg Rizolex (% 50 tolclofos methyl) 60 ml % 95,5 lik etil alkol içinde iyice eritildikten sonra pipetle 10 ml çekilerek, sıcaklığı 45 °C'ye düşmüş steril, Rose-Bengal'li ve antibiyotikli PDA ortamına eklenmiştir.

METOT

Denemelerde Kullanılan *R. solani* İzolatının Seçimi

R. solani izolatları, İzmir ili patates ekim alanlarında hastalıklı patates bitkilerinin kök ve kök boğazlarından elde edilmiş ve denemelerde kullanılan izolatın anastomosis grubu, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ tarafından AG-4 olarak belirlenmiştir.

Antagonist İzolasyonu İçin Toprak Örneklerinin Alınması

Toprak örnekleri, Türkiye'nin, mikroorganizma varlığı yönünden farklı özellikte olduğu varsayılan 9 yöresinde, hem patates tarımının yapıldığı hem de patatesle ilgisi olmayan alanlardan alınmıştır (Çizelge 1). Patates üretiminin

yapılmadığı yörelerde örnekleme alanını temsil edecek şekilde 10 farklı bölgeden ve her bölgenin de en az 25 farklı noktasından toprak örnekleri alınmıştır. Patates tarımının yapıldığı İzmir ili Ödemiş ve Bozdağ'da ise, hasat dönemindeki gözlemlerde üzerinde *R. solani* sklerotlarının bulunmadığı veya az görüldüğü en az 10 tarlardan örnekler alınmıştır.

Bütün bölgelerde toprak örnekleri, toprağın üst tabakası sıyrıldıktan sonraki 5-10 cm'lik kısmından alınmış, karıştırılarak paçal haline getirilmiş ve üçer adet 10 kg'lık toprak bez torbalara konulup etiketlenerek laboratuara getirilmiştir. Yine bu toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümünde analiz yapılarak belirlenmiştir (Ek Çizelge 1).

Toprak Örneklerinden Antagonist İzolasyonu

Farklı yörelerden alınan topraklardan *R. solani*'ye antagonistik etkili fungusların izolasyonu için aşağıdaki yöntemler kullanılmıştır:

Toprağı Sulandırma Yöntemi (Dhingra and Sinclair, 1986)

Laboratuvara getirilen toprak örneklerinden 10 g tartılarak, 100 ml'lik erlenmeyer içindeki % 01,5 oranında agar içeren 90 ml steril destile suya aktarılmış ve çalkalayıcıda 80 devir/dk hızla 30 dk süreyle çalkalanmıştır. El ile çalkalamaya devam edilirken, bu suspensiyondan, steril pipetle 10 ml çekilmiş ve 90 ml'lik ikinci agarlı steril suya aktarılmıştır. Bu işleme, seyreltme oranı 1/500.000 - 1/1.000.000 oluncaya kadar devam edilmiştir. Bu sırada 250 ml'lik erlenlerde steril halde ve 45 °C de bekletilen geliştirilmiş PDA ortamına, son çözüldüden 1 ml eklenerek petri kaplarına paylaştırılmıştır.

***Rhizoctonia* Sklerotlarının Çalkalama Suyundan Antagonist İzolasyonu**

Hasat döneminde İzmir bölgesinde hastalıklı tarlalardan, etmenin sklerotlarıyla yoğun olarak bulaşık ve skala değeri 3 olan (Anonim, 1996) yumrular alınıp laboratuvara getirilmiş ve toprak örneklerinin bulunduğu saksılara 10'ar adet olacak şekilde gömülerek 20 ± 2 °C'de en az 3 hafta bekletilmiştir. Daha sonra yumrular çıkartılarak üstüne yapışmış toprak parçaları fırça ile uzaklaştırılmış ve bistüri ile kazınarak elde edilen 1-2 g arasında sklerot 250 ml'lik erlen içindeki 100 ml steril suda 80 devir/dk hızda 30 dk süreyle çalkalanmıştır. Bu süre sonunda, çalkalama suyundan steril pipetle alınan birer ml örnek, erlenlerde steril ve 45 °C sıcaklıkta bekletilen geliştirilmiş PDA ortamına (100 ml) eklenerek petri kaplarına taksim edilmiştir. İnkübatörde 25 ± 1 °C'de gelişmeye bırakılan petri kapları

potansiyel hiperparazit kolonilerinin varlığı açısından izlenmiş ve gelişen kolonilerden tüplere izolasyon yapılmıştır.

Patojen Kültürünün Tuzak Olarak Kullanılmasıyla Antagonist İzolasyonu

R. solani, PDA ortamında inkübatörde 4-7 gün geliştirilmiştir. Gelişen kültürlerin üzeri ince bir tabaka halinde toprakla kaplanmış ve inkübatörde 22-25 °C'de 10-15 gün bekletilmiştir. Daha sonra, kültürlerin üzerindeki toprak silkelenmiş; alttaki *Rhizoctonia* kültürü steril su ile yıkanmış ve sonra kork-borer ile kesilen 5 mm'lik diskler Rizolex ilaç katkılı Rose Bengal'lı PDA ortamına aktarılarak inkübatörde 3-5 gün gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen muhtemel antagonist adayları daha sonra tüplerde saflaştırılmıştır.

Yumru Üzerindeki *Rhizoctonia* Sklerotlarından Antagonist İzolasyonu

Bunun için toprak örneklerinin bulunduğu saksılarda gömülü olarak en az 3 hafta 20 ± 2 °C'de bekletilmiş yumruların üzerindeki sklerotlar bistüri ile alınarak geliştirilmiş PDA ortamına çok sayıda aktarıldıktan sonra inkübatörde 3-5 gün gelişmeye bırakılmış ve gelişen muhtemel antagonist adayları tüplere aktarılmıştır.

Antagonistik Etkinin Kanıtlanması

Açıklanan yöntemler kullanılarak elde edilen fungusların *R. solani*'nin antagonisti olup olmadığını kesin olarak belirlemek için gerek PDA ortamına, gerekse 1/10 oranında seyreltilmiş zayıf PDA ortamına karşılıklı olarak ekilen bu funguslar ile patojen, ikili kültürler halinde makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir. PDA ortamında *R. solani* karşısında gelişen fungus ilerlemeye devam ederek onun üzerinde yayılma gösteriyorsa; ayrıca 1/10 oranında seyreltilmiş PDA ortamında karşılıklı gelişen ikili arasındaki etkileşiminin mikroskopta incelenmesi sonucunda fungus, *R. solani* hiflerini sarmalayıp penetre edebilme yeteneğinde ise **hiperparazit** olarak kabul edilmiştir. Hiperparazitik özelliğe sahip bu funguslar etkilerinin daha ayrıntılı incelenmesine yönelik *in vitro* çalışmalarda kullanılmak üzere PDA'lı tüplere aktarılmıştır.

Antagonistik İzolatların Tanınması

Çalışmada izole edilen antagonist funguslar, teşhis için gruplandırılmıştır. Bunu için PDA ortamında gelişen antagonist fungusların renk, koloni görüntüsü, gelişme hızı vb. gibi makroskobik özellikleri dikkate alınmıştır. Yine antagonist fungusların tanıma esas, ayrıntılı özellikleri mikroskopta incelenerek genus düzeyinde

tanımları yapılmıştır. Tür düzeyinde tanım için, gruplandırılmış izolatlardan 120 adet seçilmiştir. Tanımlar Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden Prof. Dr. Gülay TURHAN, CBS Fungal Biodiversity Center (Hollanda)' dan Prof. Dr. Walter GAMS ve United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Systematic Botany and Mycology Laboratory, Beltsville (Amerika Birleşik Devletleri)' den Prof. Dr. Gary SAMUELS tarafından yapılmıştır.

Antagonistik Aktivitenin Belirlenmesine Yönelik *In-Vitro* Çalışmalar

Toprak örneklerinden izole edilen antagonistlerin, in-vitro da *R. solani*'ye karşı etkinliklerini belirleme çalışmaları iki aşamalı olarak yürütülmüştür.

Birinci aşamada, eldeki materyalin fazlalığı nedeniyle antagonist izolat sayılarını azaltmaya yönelik elemeler yapılmış; her bölgenin topraklarından elde edilen antagonistler önce kendi aralarında değerlendirilmiştir. İkinci aşamada ise, birinci aşamada her toprak örneğinden *R. solani*'ye en etkili görülüp seçilen antagonistik izolatlar aynı zaman diliminde birlikte denenmiştir. Bunun için *R. solani* ile antagonistler PDA üzerinde karşılıklı geliştirilmiş; antibiosis için antagonist aday izolat çizgi şeklinde, test patojeni nokta halinde; hiperparazitizm için ise hem test patojeni hem de antagonist adayı nokta şeklinde ekilmiştir. Ayrıca antibiosis denemelerinde, antagonist adayları ekildikten iki gün sonra test patojenin ekimi yapıldığı halde, mikoparazitizm gözlemlerinde iklimin ekimi aynı gün yapılmıştır. Bütün denemelerde inkübatör sıcaklığı 22-24 °C de tutulmuştur.

Çalışma, 4 tekerrürlü olarak yürütülmüş; ikili kültürlerin geliştiği her petri kabı bir tekerrür kabul edilmiştir.

Değerlendirme zamanı olarak, antibiosis için, *R. solani* kolonisinin bir antagonist tarafından tamamen engellendiği ilk gün; mikoparazitlik için ise koloninin bir antagonist tarafından ilk kez tamamen kaplandığı gün esas alınmıştır. Antibiyotik aktivite engelleme zonu genişliğine, mikoparazitik aktivite ise *R. solani* kolonisinin antagonist tarafından kaplanma hızı ve yoğunluğu dikkate alınarak Turhan (1990)'ın önerdiği aşağıdaki skalaya göre yapılmıştır:

Antagonistik Aktivitenin Değerlendirilmesinde Kullanılan Skala (Turhan, 1990).

ÇKA, ÇKH : Çok güçlü antibiosis ya da mikoparazitizm: Engelleme zonu 10 mm'den geniş, ya da antagonist patojen kolonisini bütünüyle örtmüştür.

KA, KH: Güçlü antibiosis ya da mikoparazitizm: Engelleme zonu 7-10 mm ya da antagonist patojen kolonisi üzerinde güçlü bir gelişme gösteriyor.

A, H: Orta derecede antibiosis veya orta derecede mikoparazitizm: Engelleme zonu 3-6 mm ya da antagonistin patojen kolonisi üzerindeki gelişimi kolayca farkediliyor.

ZA, ZH: Zayıf antibiosis ya da zayıf mikoparazitizm: Engelleme zonu 3 mm'den dar, antagonistin patojen kolonisi üzerinde oldukça zayıf geliştiği farkediliyor.

L: Eritici (lytic) etki

O: Görülebilir hiç bir etki yok.

BULGULAR

İzole Edilen *R. solani* Antagonistleri

Çalışmada, Çizelge 1'de özellikleri belirtilen topraklardan çok sayıda ve değişik fungal izolat elde edilmiştir. Bu funguslar PDA besi yerinde patojen ile birlikte ikili kültürler halinde karşılıklı olarak ekilmiş; patojenin üzerinde gelişme gösteren veya gelişimini engelleyen funguslar antagonist adayı olarak ayrılmıştır. Bu antagonist adayları 1/10 oranında seyreltilmiş PDA ortamında yine patojenle karşılıklı olarak ekilmiş; mikroskopik incelemede patojen hiflerini saran ve penetre edenler mikoparazitik etkili olarak değerlendirilmiş ve *R. solani*'nin antagonisti olarak, çalışmalarda kullanılmak üzere ayrılmıştır. Bu özellikte olmayan funguslar ise elemine edilmiştir. Böylece çalışılan topraklardan antagonistik özellik gösteren toplam 320 izolat elde edilmiştir. Her bölge toprağından elde edilen antagonistler kendi içinde makroskopik ve mikroskopik olarak incelenip gruplandırılmış; daha sonra genus düzeyinde tanımları yapılmıştır. Çizelge 2'de toprak örneklerinden izole edilen *R. solani* antagonistleri ve bunların sayısal değerleri verilmiştir.

Farklı toprak örneklerinden toplam 320 izolat elde edilmiştir. Bunların 72 adedi Van Gölü çevresi topraklarından, 52 adedi Diyarbakır-Şanlıurfa illeri arasında bulunan volkanik Karacadağ bölgesi topraklarından ve 51 adedi Fethiye-Marmaris arasında yer alan günlük ormanlarının topraklarından izole edilmiştir. Van Gölü çevresinden alınan örneklerden, başta *Trichoderma*'lar olmak üzere, tanımlanamayanlar hariç 6 değişik genustan antagonistler elde edilmiştir. Tuz Gölü çevresi topraklarından elde edilen toplam 26 antagonistik izolat 6 farklı genusa aittir. İncelemeye alınan 9 farklı bölgenin toprak örneklerinden izole edilen antagonistlerin -tanımlanamayanlar hariç- 12 farklı genustan oldukları belirlenmiş; bu izolatlardan % 82.5'inin *Trichoderma*, % 5.0'inin *Gliocladium*, % 4.6'sının *Penicillium*, % 2.8'inin *Fusarium* ve % 5.0'nin de diğer genoslara ait oldukları anlaşılmıştır (Çizelge 2, Şekil 1).

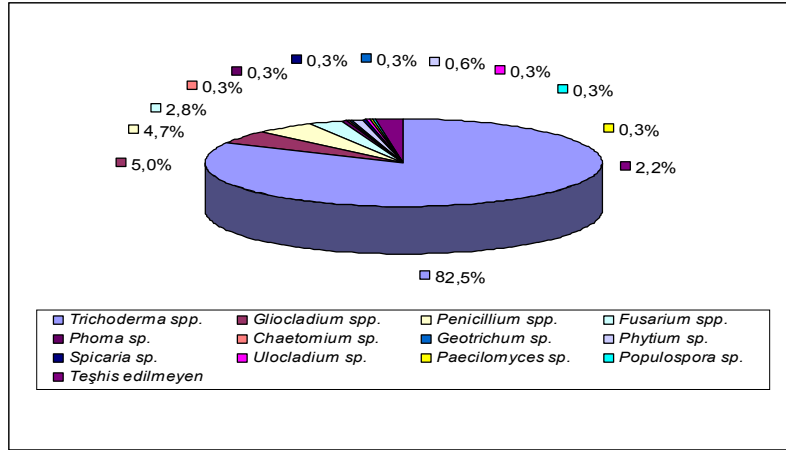
Çizelge 2. Toprak örneklerinden izole edilen antagonistler ve bunların sayısal değerlendirmesi.

Table 2. Antagonists isolated from soil samples and their quantitative evaluation.

Antagonistik izolatlar Antagonistic isolates	Antagonist izolasyonunda kullanılan toprak örnekleri Soil samples used for isolation of antagonists									Toplam Total
	*VG	PT	TZ	LO	KEB	KB	A	ÖT	BOZ	
<i>Trichoderma</i> spp.	59	14	15	38	18	48	18	21	33	264
<i>Gliocladium</i> spp.	2		5	5		2			2	16
<i>Penicillium</i> spp.	3		1	6	2		3			15
<i>Fusarium</i> spp.			2	2	3	2				9
<i>Phoma</i> sp.	1									1
<i>Chaetomium</i> sp.	1									1
<i>Geotrichum</i> sp.	1									1
<i>Phytium</i> sp.			2							2
<i>Spicaria</i> sp.			1							1
<i>Ulocladium</i> sp.		1								1
<i>Paecilomyces</i> sp.					1					1
<i>Populaspora</i> sp.								1		1
Teşhis edilmeyen	5				2					7
Toplam	72	15	26	51	26	52	21	22	35	320

*Simgelerin anlamı Çizelge 1'de açıklanmıştır.

* Meaning of symbols are described in Table 1.



Şekil 1. Antagonistik izolatlar içinde genusların oranı.

Figure 1. Rate of genera among antagonistic isolates.

Tür düzeyindeki tanımlarda *Gliocladium* türünün *G. roseum* Bainier; *Fusarium* türlerinin *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. ve *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc.; *Phytium* türünün ise *Phytium oligandrum* Drechsler olduğu saptanmış; en fazla izolatu elde edilen antagonist genus olan *Trichoderma*'nın 14 farklı türü tanımlanmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 3. İzole edilen *Trichoderma* türleri.

Table 3. *Trichoderma* species isolated.

Sıra no Number	<i>Trichoderma</i> türleri <i>Trichoderma</i> species
1	<i>T. asperellum</i> Samuels, Lieckf. & Nirenberg.
2	<i>T. atroviride</i> Bissett.
3	<i>T. crassum</i> Bissett.
4	<i>T. croceum</i> Bissett.
5	<i>T. gamsii</i> Samuels & Druzhin.
6	<i>T. hamatum</i> (Bonard.) Bainer.
7	<i>T. harzianum</i> Rifai.
8	<i>T. inhamatum</i> Veerkamp & W. Gams.
9	<i>T. neokoningii</i> Samuels & Soberanis.
10	<i>T. spirale</i> Bissett.
11	<i>T. strigosum</i> Bissett.
12	<i>T. tomentosum</i> Bissett.
13	<i>T. virens</i> (<i>G. virens</i>) J.H., Mill., Giddens & A.A Foster.
14	<i>T. viride</i> Pers.

Antagonistik Aktivitenin Belirlenmesine Yönelik *In-Vitro* Çalışmalar

Antagonistlerin *in-vitro*'da *R. solani*'ye karşı etkilerini belirleme çalışmalarına, farklı örnekleme yerlerinden alınmış topraklardan elde edilen antagonistlerin kendi içinde makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirilmesiyle başlanmıştır. Daha sonra etkisi güçlü olan, aynı zamanda da farklı türlerden olduğu belirlenen 120 izolat (Çizelge 4) denemeye alınmıştır. İzolatların seçiminde, farklı toprak örneklerini temsil etmelerine, farklı türleri kapsamalarına ve ön çalışmalarda belli oranda etkili olmalarına özen gösterilmiştir.

Antibiyotik üreterek patojeni engelleme özelliğine sahip *Penicillium* spp. izolatları PDA'ya çizgi halinde, hem hiperparazitik hem de antibiyotik etkili olan diğer antagonistler ise nokta halinde, *R. solani* ile karşılıklı olarak ekilmiştir. Değerlendirme, hiperparazitin *R. solani* kolonisini kaplama süreci ya da patojenin koloni gelişiminin engellenme derecesine göre yapılmıştır.

Çizelge 4. Antagonistlerin *in-vitro*'da *R. solani*'ye karşı etkileri.Table 4. Efficiency of antagonists against *R. solani in vitro*.

Sıra no Number	Antagonist	Skala değeri (Turhan, 1990) Scale value			
		1. tek. 1. rep.	2. tek. 2. rep.	3. tek. 3. rep.	4. tek. 4. rep.
1	<i>T. harzianum</i> * LO4	**KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
2	<i>T. strigosum</i> LO8	H+A	H+A	H+A	H+A
3	<i>T. neokoningii</i> LO10	KH	KH	KH	KH
4	<i>T. strigosum</i> LO12	KH+A	H+A	KH+A	H+A
5	<i>T. neokoningii</i> LO15	KH	KH	KH	KH
6	<i>T. neokoningii</i> LO17	ÇKH	KH	KH	KH
7	<i>T. inhamatum</i> LO24	KH	KH	KH	KH
8	<i>T. neokoningii</i> LO25	H+A	H+A	H+A	H+A
9	<i>Penicillium</i> sp. LO34	ÇKA	KA	ÇKA	ÇKA
10	<i>Penicillium</i> sp. LO38	KA	KA	KA	KA
11	<i>G. roseum</i> LO41	ZH	ZH	ZH	ZH
12	<i>T. strigosum</i> LO43	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
13	<i>Fusarium solani</i> LO47	ZH	ZH	ZH	ZH
14	<i>T. harzianum</i> LO49	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
15	<i>T. harzianum</i> LO50	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
16	<i>T. harzianum</i> LO51	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
17	<i>T. harzianum</i> LO52	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
18	(Teşhis edilemedi) A.9	H	H	H	H
19	<i>T. harzianum</i> A11	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
20	<i>T. harzianum</i> A12	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
21	<i>T. neokoningii</i> A15	KH	KH	KH	KH
22	(Teşhis edilemedi) VG1	ZH	ZH	ZH	ZH
23	<i>T. tomentosum</i> VG2	H	H	KH	H
24	<i>T. atroviride</i> VG3	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
25	<i>T. gamsii</i> VG7	H	H	KH	H
26	(Teşhis edilemedi)VG9	KH	KH	KH	KH
27	<i>T. viride</i> VG18	ÇKH	KH	KH	KH
28	<i>T. gamsii</i> VG19	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
29	<i>T. inhamatum</i> VG23	H+A	H+A	H+A	H+A
30	<i>T. inhamatum</i> VG30	H+A	H+A	H+A	H+A
31	<i>T. virens</i> VG41	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
32	<i>T. inhamatum</i> VG43	H+A	H+A	H+A	H+A
33	<i>T. inhamatum</i> VG45	H+A	H+A	H+A	H+A
34	<i>T. gamsii</i> VG47	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
35	<i>T. asperellum</i> VG48	KH	KH	KH	KH
36	<i>Penicillium</i> sp. VG53	ÇKA	ÇKA	ÇKA	ÇKA
37	<i>T. harzianum</i> VG57	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
38	<i>T. harzianum</i> VG58	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
39	<i>T. virens</i> VG62	KH	KH	KH	KH
40	<i>Geotrichum</i> sp. VG64	H	H	H	H
41	<i>T. crassum</i> VG66	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
42	<i>Phoma</i> sp. VG68	ZH	ZH	ZH	ZH

Çizelge 4. devamı.
Table 4. continued.

Sıra no Number	Antagonist	Skala değeri (Turhan, 1990) Scale value			
		1. tek. 1. rep.	2. tek. 2. rep.	3. tek. 3. rep.	4. tek. 4. rep.
43	<i>Chaetomium</i> sp.VG72	ZH	ZH	ZH	ZH
44	<i>T. inhamatum</i> KB1	KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
45	<i>T. virens</i> KB3	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
46	<i>T. virens</i> KB8	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
47	<i>F. culmorum</i> KB9	ZH	ZH	ZH	ZH
48	<i>T. spirale</i> KB13	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
49	<i>T. virens</i> KB16	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
50	<i>T. virens</i> KB17	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
51	<i>T. virens</i> KB18	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
52	<i>T. inhamatum</i> KB22	H+A	H+A	H+A	H+A
53	<i>T. virens</i> KB23	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
54	<i>T. virens</i> KB26	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
55	<i>T. virens</i> KB31	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
56	<i>T. virens</i> KB34	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
57	<i>T. inhamatum</i> KB39	KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
58	<i>T. inhamatum</i> KB40	KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
59	<i>T. spirale</i> KB51	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
60	<i>Pythium oligandrium</i> TZ2	H	H	H	H
61	<i>T. harzianum</i> TZ10	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
62	<i>T. harzianum</i> TZ11	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
63	<i>T. harzianum</i> TZ12	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
64	<i>T. harzianum</i> TZ13	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
65	<i>T. harzianum</i> TZ14	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
66	<i>T. harzianum</i> TZ15	KH	KH	KH	KH
67	<i>T. harzianum</i> TZ16	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
68	<i>T. asperellum</i> TZ17	ÇKH+A	ÇKH+A	ÇKH+A	ÇKH+A
69	<i>T. harzianum</i> TZ18	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
70	<i>T. asperellum</i> TZ20	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
71	<i>T. crassum</i> TZ21	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
72	<i>Spicaria</i> sp. TZ23	ZH	ZH	ZH	ZH
73	<i>Penicillium</i> sp.TZ24	KA	KA	KA	KA
74	<i>Gliocladium roseum</i> TZ25	ZH	ZH	ZH	ZH
75	(Teshis edilemedi) KEB5	KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
76	<i>T. harzianum</i> KEB6	ÇKH+A	KH+A	KH+A	KH+A
77	<i>T. harzianum</i> KEB10	KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
78	<i>T. inhamatum</i> KEB 11	ÇKH+A	KH+A	ÇKH+A	KH+A
79	<i>T. inhamatum</i> KEB12	ÇKH+A	ÇKH+A	ÇKH+A	ÇKH+A
80	<i>T. virens</i> KEB.13	KH	H	KH	H
81	<i>T. harzianum</i> KEB14	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
82	<i>T. virens</i> KEB16	KH	KH	KH	KH
83	<i>T. atroviride</i> KEB17	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
84	<i>Penicillium</i> sp. KEB24	KA	KA	KA	KA
85	<i>Penicillium</i> sp. KEB25	KA	KA	KA	KA

Çizelge 4. devamı.
Table 4. continued.

Sıra no Number	Antagonist	Skala değeri (Turhan, 1990) Scale value			
		1. tek. 1. rep.	2. tek. 2. rep.	3. tek. 3. rep.	4. tek. 4. rep.
86	<i>Paecilomyces</i> sp. KEB26	ZH	ZH	ZH	ZH
87	<i>T. spirale</i> BOZ2	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
88	<i>T. spirale</i> BOZ4	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
89	<i>T. atroviride</i> BOZ6	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
90	<i>T. virens</i> BOZ10	ÇKH	KH	ÇKH	KH
91	<i>T. virens</i> BOZ11	KH	KH	KH	KH
92	<i>T. harzianum</i> BOZ15	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
93	<i>T. spirale</i> BOZ16	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
94	<i>T. spirale</i> BOZ19	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
95	<i>T. harzianum</i> BOZ20	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
96	<i>T. harzianum</i> BOZ22	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
97	<i>T. croceum</i> BOZ25	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
98	<i>T. croceum</i> BOZ26	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
99	<i>T. harzianum</i> BOZ27	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
100	(Teşhis edilemedi) BOZ28	H	H	H	H
101	<i>T. spirale</i> BOZ29	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
102	<i>T. spirale</i> BOZ30	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
103	<i>T. harzianum</i> BOZ33	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
104	<i>T. harzianum</i> BOZ35	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
105	<i>T. inhamatum</i> PT2	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
106	<i>T. neokoningii</i> PT6	KH	KH	KH	KH
107	<i>T. inhamatum</i> PT8	KH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
108	<i>T. inhamatum</i> PT10	KH	KH	KH	KH
109	<i>Ulocladium</i> sp. PT11	ZH	ZH	ZH	ZH
110	<i>T. inhamatum</i> PT12	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
111	<i>T. asperellum</i> ÖT1	KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
112	<i>T. asperellum</i> ÖT2	KH+A	KH+A	KH+A	KH+A
113	<i>T. asperellum</i> ÖT9	ÇKH+A	ÇKH+A	ÇKH+A	ÇKH+A
114	<i>T. asperellum</i> ÖT10	ÇKH+A	KH+A	ÇKH+A	KH+A
115	(Teşhis edilemedi) ÖT12	KH	KH	KH	KH
116	<i>T. hamatum</i> ÖT16	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
117	<i>T. virens</i> ÖT17	KH	KH	KH	KH
118	<i>T. harzianum</i> ÖT18	ÇKH	ÇKH	ÇKH	ÇKH
119	<i>T. virens</i> ÖT19	KH	H	KH	H
120	<i>Populospora</i> sp.ÖT21	H	H	H	H

*Simgelerin anlamı Çizelge 1’de açıklanmıştır.

*Meaning of symbols are described in Table 1.

** Simgelerin anlamı metot bölümünde açıklanmıştır.

** Meaning of symbols are described in methods.

Çizelge 4’i incelediğimizde, denemeye alınan antagonistlerden *Penicillium* türlerinin antibiyotik üretimi sonucu engelleme zonu oluşturduğu ve genellikle

kuvvetli ve çok kuvvetli antagonist (KA ve ÇKA) özelliği göstererek patojenin gelişimini engellediği belirlenmiştir.

Diğer antagonistlerin ise *Trichoderma* lar başta olmak üzere hiperparazitik özellik gösterdiği ve patojen kolonisi üzerinde gelişerek onu engellediği belirlenmiş; bir çok antagonist izolatının aynı zaman diliminde patojeni tamamıyla kapladığı ve çok güçlü hiperparazitik (ÇKH) özellik gösterdiği anlaşılmıştır. Ancak hiperparazitik etki yanında bazı *Trichoderma* izolatlarının patojen kolonisi üzerini kaplayarak gelişirken, aynı zamanda antibiyotik etki nedeniyle koloni gelişimini engellediği gözlemlenmiştir. Bu *Trichoderma* ların *T. inhamatum* başta olmak üzere *T. harzianum*, *T. strigosum*, *T. neokoningii*, ve *T. asperellum*'un bazı izolatları olduğu belirlenmiştir. Bazı *Trichoderma* izolatları çok kuvvetli hiperparazit (ÇKH) veya güçlü hiperparazit (KH) özelliği gösterirken, bazı izolatlar da sadece orta derecede hiperparazitik (H) özellik göstererek daha az etkili olmuşlardır. Farklı bölge topraklarından izole edilmiş 26 adet *T. harzianum* izolatının 22 adeti ÇKH özellik göstermiştir. Yine 18 adet *T. virens* (= *Gliocladium virens*) izolatı içinde 11 adedi de çok güçlü hiperparazitik etki göstermiştir. Bu *T. virens* izolatlarının çoğunluğu Karacadağ bölgesi topraklarından elde edilmiştir. *T. neokoningii* izolatları güçlü hiperparazit (KH), *T. inhamatum* izolatları ise zayıf hiperparazit (ZH) dışında hemen bütün skala değerlerinde etkili olmuştur. *T. inhamatum* ve *T. asperellum* izolatları, aynı zamanda diğer türlere ait izolatlara göre en fazla antibiyotik üreten izolatlar olarak dikkati çekmiştir. *T. atroviride*'nin 3 izolatı ÇKH değerini; *T. tomentosum*'un tek izolatı H değerini; *T. gamsii*'nin 3 izolatının ikisi ÇKH ve biri H değerini; *T. asperellum*'un 8 izolatının 4'ünün ÇKH değerini; *T. crassum*'un 2 izolatı da ÇKH değerini; *T. spirale*'nin 8 izolatının çok güçlü antagonist (ÇKH) değerini; *T. croceum*'un Bozdağ bölgesi topraklarından izole edilen 2 izolatının ÇKH değerini ve çalışmada yer alan *T. viride*'nin tek izolatı VG.18'in KH değerini aldığı belirlenmiştir.

Gliocladium roseum izolatları ve diğer bazı izolatlar (*Fusarium solani*, *F. culmorum*, *Geotrichum* sp., *Phoma* sp., *Chaetomium* sp., *Pythium oligandrum*, *Spicaria* sp., *Paecilomyces* sp., *Ulocladium* sp., *Papulaspora* sp.) ise patojen üzerinde H ve ZH değerinde parazitizm göstermişlerdir. *G. roseum* izolatlarının patojen kolonisi üzerindeki gelişim hızı oldukça az ve zayıf görünümlü olmasına karşın, mikroskopik incelemelerde patojen hiflerini sarmalamada ve penetrasyonda çok güçlü ve agresif olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Antagonist İzolasyonu ve *R. solani* Antagonistlerine Ait Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmada, metot kısmında Toprak Örneklerinden Antagonist İzolasyonu başlığı altındaki “Toprağı Sulandırma Yöntemi”, “*Rhizoctonia* Sklerotlarının Çalkalama Suyundan Antagonist İzolasyonu”, “Patojen Kültürünün Tuzak Olarak Kullanılmasıyla Antagonist İzolasyonu” ve “Yumru Üzerindeki *Rhizoctonia* Sklerotlarından Antagonist İzolasyonu” yöntemleri kullanılarak antagonistler izole edilmiştir. Bunlar içinde özellikle, “**patojen kültürünün tuzak olarak kullanılmasıyla antagonist izolasyonu yöntemi**”, hem çalışılması basit hem de bol miktarda antagonist izole edilebilmesiyle dikkat çekmiştir. Bazı araştırmacılar bu yönteme bir bakıma benzerlik gösteren başka yöntemler kullanmıştır. Örneğin Biçici (1983), çalışmasında *R. solani*’yi petri kabında geliştirdikten sonra koloninin üstüne normal sera toprağı ya da daha önce *R. solani* ile zenginleştirilmiş toprak yayarak inkube etmiş ve toprağın üzerinde gelişen kolonileri alıp, saflaştırmıştır. Söz konusu çalışmada *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. viride*, *Gliocladium roseum* ve bir *Penicillium* sp. izole edilmiştir. Bu çalışmamızda ise, petri kutusundaki PDA ortamında geliştirilmiş *R. solani* kolonilerin üzerine toprak örneği yayılmış ve iki hafta inkube edilmiştir. Bu süre sonunda kültürler üzerindeki toprak silkelenecek uzaklaştırılmış ve alttaki patojen kolonisi steril su ile iyice yıkanmıştır. Sonra koloniden kesilen diskler Rizolex katkılı Rose Bengal’li PDA ortamına aktararak inkubatore konmuş ve 3-5 gün gibi kısa bir sürede özellikle hiperparazit karakterli antagonist adaylarının geliştiği gözlenmiştir. Bu çalışmada ilk kez kullanılan bu yöntem özellikle hiperparazit *Trichoderma* türlerinin topraktan izolasyonu için uygun gibi görünmektedir. Çalışmada uygulanan diğer yöntemlerle izole edilen fungusların büyük çoğunluğunun *Penicillium* ve *Aspergillus* gibi bol spor veren yaygın saprofitlerden olduğu, çoğunun antagonistik özellik taşımadığı anlaşılmıştır.

Antagonist izolasyonu için dokuz farklı bölgeden toprak örneği alınmış ve 320 antagonistik izolat elde edilmiştir. Tanımı yapılamayanlar hariç bu izolatların 12 genusa ait oldukları belirlenmiştir. Antagonistler bütün bölge topraklarından izole edilmiştir. Bu yönden en zengin toprağın Van Gölü çevresi ve volkanik bir bölge olan Karacadağ bölgesine ait olduğu anlaşılmıştır. En az sayıda izolat ise Ödemiş ve Altınova ilçeleri patates üretim bölgelerinden elde edilmiştir. Bütün bölgelerden izole edilen antagonistlerin % 82.5’u *Trichoderma* türlerine aittir. Bilindiği gibi *Trichoderma*, dünyanın her tarafına geniş bir şekilde yayılmış, hemen hemen tüm toprak ve doğal habitatlarda ve özellikle organik madde içeren alanlarda bulunan saprofitik karakterli bir genustur (Papavizas, 1985). Çalışmada bazı *Trichoderma* türlerine yüksek oranda, bazılarında daha az rastlanmıştır. En fazla izole edilen türler

sırasıyla *T. harzianum*, *T. virens*, *T. inhamatum*, *T. spirale* ve *T. asperellum*'dur. En az rastlananlar ise birer izolat ile *T. viride*, *T. hamatum* ve *T. tomentosum*, ikişer izolat ile *T. crassum*, *T. croceum* ve üçer izolat ile *T. gamsii*, *T. atroviride*, *T. strigosum* türleri olmuştur. *T. harzianum* gibi bazı türler bütün bölge topraklarından izole edilirken diğerleri sadece bazı bölgelerden izole edilmiştir. Örneğin *T. strigosum* sadece günlük ormanlarının bulunduğu topraklardan; *T. gamsii*, Van Gölü çevresi toprağından ve *T. croceum* Bozdağ patates üretim bölgeleri toprağından izole edilmiştir. Bu durum, bazı türlerin farklı ekolojilere, farklı toprak özelliklerine ve değişik bitki örtüsünün bulunduğu alanlara daha iyi adapte olmalarından ileri gelebilir. Samuels (2006) tarafından yayınlanan bir derlemede, *Trichoderma* türlerinin bir çok yörede ve toprakta yaygın olarak bulunduğu belirtilmekte, fakat türler ayrı ayrı ele alındığında, coğrafik yayılmanın *T. harzianum* ve *T. asperellum* gibi ya geniş ve sınırsız, ya da *T. viride*'de olduğu gibi sınırlı olduğu, bazı bölgelerde ve bazı bitkilerin bulunduğu alanlarda bazı türlerin nadir ya da yaygın bulunabileceği kaydedilmektedir. Böylece bu çalışmamızda, bazı türlerin yaygın olarak bulunması, ya da nadir olarak sadece bazı bölgelerin topraklarından izole edilmiş olması, Samuels (2006)'in açıklamalarıyla uyum göstermektedir. Ek çizelge 1 incelendiğinde anlaşılacağı gibi antagonistlerin izole edildiği toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin birbirinden farklı olduğu görülecektir. *T. strigosum*'un sadece, organik madde oranı yüksek olan, günlük ormanları toprağından, *T. croceum*'un pH'ı düşük Bozdağ bölgesi toprağından ve *T. virens*'in yaygın olarak volkanik Karacadağ bölgesi toprağından izole edilmiş olması, *Trichoderma* türlerinin yaşam alanı ile ilgili bazı fiziksel ve kimyasal kriterlerin de belirleyici olabileceği kanısını yaratmıştır. Nitekim Papavizas (1985), toprakta uzun süre devam eden kurak koşulların *Trichoderma* popülasyonunu azalttığını, *T. hamatum* ve *T. pseudokoningii*'nin bazı ırklarının aşırı nem koşullarına adapte olabildiğini ve *T. viride* ile *T. polysporum*'un düşük sıcaklıkların hüküm sürdüğü alanlarda sınırlı bulunabileceğini bildirmiştir. Ayrıca, *T. harzianum*'un ılıman iklim bölgelerinde yaygın olmasına karşın, *T. hamatum* ve *T. koningii*'nin farklı iklim koşullarındaki bölgelerde yayıldığını belirtmiş böylece *Trichoderma* türlerinin iklim ve toprak isteklerinde farklılıklar da olabileceğini vurgulamıştır.

Bu çalışmada elde edilen *Trichoderma*'lardan 14 tür tanımlanmıştır. Bunlar; *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. crassum*, *T. croceum*, *T. gamsii*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. inhamatum*, *T. neokoningii*, *T. spirale*, *T. strigosum*, *T. tomentosum*, *T. virens*, *T. viride* olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Bu türlerden *T. harzianum*, *T. viride*, *T. hamatum* ve *T. virens* (= *G. virens*) hariç diğer 10 *Trichoderma* türü Türkiye için ilk kayıttır. Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarda *T. harzianum*, *T. viride*, *T. pseudokoningii* Rifai., *T. hamatum*, *T. koningii* Oudem., *T. aureoviride* Rifai., *T. virens* (= *G. virens*) türleri izole edilip, genellikle biyolojik savaş amaçlı çalışmalarda kullanılmıştır (İren ve ark., 1988; Turak, 1997; Çeliker ve Nemli, 1994; Turhan, 1973; Turhan ve Turhan, 1989).

Yine bu çalışmada Van Gölü çevresi topraklardan elde edilen *T. gamsii*'nin VG 7, VG 19 ve VG 47 nolu izolatları bu çalışma kapsamında 2006 yılında izole edilip *R. solani*'nin hiperparaziti olduğu belirlendikten sonra 2007 yılı içinde tür tanımı yapılmıştır. Bu türün dünya literatürü için ilk kaydının 2006 yılında yapılmış olması (Jaklitsch ve ark., 2006) bir yenilik olarak düşünülebilir. Ayrıca literatür taramasında *T. gamsii*, *T. crassum*, *T. croceum*, *T. inhamatum*, *T. neokoningii*, *T. strigosum* ve *T. tomentosum* türlerinin *R. solani*'nin hiperparaziti olduğu konusunda kayıt bulunamaması, bu çalışmanın dünya için bir yeniliğidir. Van Gölü çevresi topraklarından izole edilen *T. viride* VG18 izolatında, çalışmalar süresince, konidi oluşumunun göstergesi olan alışılmış yeşilimsi renklenme meydana gelmemiş; koloniler beyaz-grimsi olarak kalmıştır. Diğer türlere ait izolatlar ise kendine özgü renk oluşumlarını göstermişlerdir.

Antagonistik Aktivitenin Belirlenmesine Yönelik In-Vitro Çalışmaların Değerlendirilmesi

İzolasyonlarından sonra, ön çalışmalarda *R. solani*'nin antagonisti olarak belirlenen izolatlar arasından önce güçlü etkili görünenler seçilmiş, sonra da bunlar arasından ayrıca farklı türlerden olduğu düşünülen 120 izolat (Çizelge 4) denemeye alınmıştır. İzolatların seçiminde, farklı toprak örneklerini temsil etmelerine, farklı türleri kapsamalarına ve ön çalışmalarda belli oranda etkili olmalarına özen gösterilmiştir. Çalışılan antagonistlerin büyük çoğunluğu *Penicillium*'lar hariç test patojenine karşı hiperparazitik ya da daha az oranda hiperparazitik + antibiyotik etki göstermiştir. *Penicillium*'ların antibiyotik etkisi ise eskiden beri bilinmektedir (Cook and Baker, 1983). Hiperparazitik etkisi çok güçlü olan (ÇKH) antagonistlerin bir haftalık bir süre içinde patojen kolonisinin üzerini tamamen kapladığı ve *T. harzianum* başta olmak üzere bir çok *Trichoderma* türünün bu özelliği gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum patojenin antagonistlerini belirleme ön çalışmalarında genellikle etkili olanların seçilmiş olmasına bağlıdır. Yine denemeye alınan *Trichoderma* izolatları içinde hiperparasitizmin yanında antibiyotik etki özelliğini en fazla gösterenlerin *T. inhamatum* ve *T. asperellum* türlerine ait olduğu anlaşılmıştır. Bu bulgular, adı geçen 2 türün mekanizmasında antibiyotik üretiminin önemli bir yere sahip olduğunu düşündürmüştür. *T. harzianum* başta olmak üzere, diğer *Trichoderma* türlerinde antagonistik mekanizmanın ağırlıklı olarak hiperparasitizm ve belli oranda antibiyosis olduğu gözlemlenmiştir; besin ortamında patojen ile antagonist kolonileri arasında engelleme zonu oluşumu antibiyotik etkinin de varlığını kanıtlamıştır. *Trichoderma* türlerinin esas karakterinin, onlardaki “güçlü mikoparazitik etki” olduğu bilinmektedir (Elad ve ark., 1983; Kredics ve ark., 2003; Santamarina ve Roselló, 2006). Dolayısıyla oluşan engelleme zonu çok kısa bir sürede hiperparazit *Trichoderma* kolonisi tarafından aşılarak kaybolmaktadır. Böyle izolatların

antibiyotik etkilerinin ayrıntılı değerlendirilmesi, uygun yöntemler kullanılarak, başka bir araştırma ile yapılabilir.

Çalışmada denenen *Trichoderma* türlerinin tamamında, *R. solani*'ye karşı antagonistik etki saptanmıştır. Bu türlerden *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. hamatum*, *T. asperellum*, *T. atroviride* ve *T. spirale*'nin antagonistik etkisi farklı çalışmalarla daha önce ortaya konulmuştur (Weindling, 1932; Beagle- Ristaino ve Papavizas, 1985; Roy, 1989; Lewis ve Larkin, 1997; Lewis ve ark., 1998; Gloria ve ark., 2003; Trillas ve ark., 2006; Grosch ve ark., 2007; Bailey ve ark., 2008). Ancak, *T. crassum*, *T. croceum*, *T. gamsii*, *T. inhamatum*, *T. neokoningii*, *T. strigosum* ve *T. tomentosum*'un *R. solani*'ye karşı antagonistik etkisi ile ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, *Trichoderma* izolatları dışında, *G. roseum* izolatları ve diğer bazı funguslara (*Fusarium solani*, *F. culmorum*, *Geotrichum* sp., *Phoma* sp., *Chaetomium* sp., *Pythium oligandrum*, *Spicaria* sp., *Paecilomyces* sp., *Ulocladium* sp., *Papulaspora* sp.) ait izolatlar da patojene karşı antagonistik aktivite göstermişlerdir. Bu funguslardan bazılarının *R. solani*'nin antagonisti olduğu daha önceki çalışmalarla ortaya konmuştur (Roy, 1989). Ayrıca bu çalışmada da *G. roseum*, *P. oligandrum*, *Geotrichum* sp. ve *Paecilomyces* sp.'nin mikoparazitik etkili olduğu mikroskop altında açıkça görülebilmektedir. Diğer türlerin ise patojen ile yer rekabetinde zayıf bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. *G. roseum* izolatlarının patojen kolonisi üzerindeki gelişim hızı oldukça az ve zayıf olmakla beraber, mikroskopik incelemelerde patojen hiflerini sarmalamada ve penetrasyonda çok güçlü ve agresif olduğu belirlenmiştir.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Anonim. 1996. Patateste gövde kanseri ve siyah siğil (*Rhizoctonia solani* Kühn.) hastalığına karşı standart ilaç deneme metodu, Ziraî Mücadele Standart İlaç Deneme Metodları. Cilt 2. Ankara.
- Bailey, B. A., H. Bae, M. D. Strem, J. Crozier, S. E. Thomas, G. J. Samuels, B. T. Vinyard, and K. A. Holmes. 2008. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*, Biological Control (Online Early).
- Baker, K. F. and R. J. Cook. 1974. Biological control of plant pathogens, W.H. Freeman and Company, San Francisco, 433 p.

- Beagle-Ristaino, J. E. and G. C. Papavizas. 1985. Biological control of *Rhizoctonia* stem canker and black scurf of potato, *Phytopathology* 75: 560-564.
- Bell, D. K., H. D. Weels, and C. R. Markham. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens, *Phytopathology*, 72: 379-382.
- Biçici, M. 1983. *Rhizoctonia solani* Kühn'ye karşı antagonist *Trichoderma* türlerinin izolasyonu ve bazı fungusitlerin etkinlikleri, *Doğa Bilim Dergisi, Tarım ve Ormancılık*, 7: 95-106.
- Boosalis, M. G. and A. L. Scharen. 1959. Methods for microscopic detection of *Aphaanomyces euteiches* and *Rhizoctonia solani* and for isolation of *Rhizoctonia solani* associated with plant debris, *Phytopathology*, 49: 192-198.
- Boosalis, M. G. 1964. Hyperparasitism, *Annual Review of Phytopathology*, 2, 363-376.
- Carling, D. E., C. S. Rothrock, G. C. Macnish, M. W. Brainard, and S. W. Winters. 1994. Characterization of anastomosis group 11 (AG-11) of *Rhizoctonia solani*, *Phytopathology*, 84, 1387-1393.
- Carling, D. E., S. Kuninaga, and K. A. Brainard. 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA internal transcribed spacer sequences and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 2 (AG2) and AG-BI. *Phytopathology*, 92: 43-50.
- Chet, I. and R. Baker. 1980. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil, *Phytopathology*, 70: 994-998.
- Chet, I. and R. Baker. 1981. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*, *Phytopathology*, 71: 286-290.
- Cook, R. J. and K. F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens, APS, SZ Paul, Minnesota, 639 p.
- Çeliker, N. M. ve T. Nemli. 1994. Investigation on biocontrol of white root rot (*Rosellinia necatrix*) Hartig) Berlese, Türkiye III. Biyolojik Mücadele Kongresi 25-28 Ocak.

- Dennis, C. and J. Webster. 1971. Antagonistik properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile Antibiotics, Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 25-39.
- Dhingra, O. D. and J. B. Sinclair. 1986. Basic Plant Pathology Methods, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Elad, Y., I. Chet, and J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum* a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*, Phytopathology, 70, 119-121.
- Elad, Y., R. Barak, I. Chet, and Y. Heris. 1983. Ultrastructural studies of the interaction between *Trichoderma* spp. and plant pathogenic fungi, Phytopath. Z, 107 (2): 168-175.
- Gloria, I., R. Roberti, M. Montanari, and E. Zakrisson. 2003. Efficacy of microorganisms antagonistic to *Rhizoctonia cerealis* and their cell wall degrading enzymatic activities, Mycological Research, 107 (4): 421-427.
- Grosch, R., J. Lottmann, V. N. C. Rehn, K. G. Rehn, L. Mendonça-Hagler, K. Small, and G. Berg. 2007. Analysis of antagonistic interactions between *Trichoderma* isolates from Brazilian weeds and the soil-borne pathogen *Rhizoctonia solani*, Journal of Plant Diseases and Protection, 114 (4): 167-175.
- İren S., S. Maden, Z. Katırcıoğlu ve K. Erzurum. 1988. *Trichoderma* species determined in Turkey. J. Turk. Phytopathol. 17, (3), s.107.
- Jaklitsch, W. M., G. J. Samuels, S. L. Dodd, B. S. Lu, and I. S. Druzhinina. 2006. *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: A reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia, Stud Mycol. 56: 135-177.
- Kredics, L., Z. Antal, L. Manczinger, A. Szekeres, F. Kevei, and E. Nagy. 2003. *Trichoderma* strains with biocontrol potential, Food Technol. Biotechnol. 41 (1) 37-42.
- Lewis, J. A. and R. P. Larkin. 1997. Extruded granular formulation with biomass of biocontrol *Gliocladium virens* and *Trichoderma* spp. to reduce damping-off of eggplant caused by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of the pathogen in soil-less mix. Biocontrol Sci. Technol. 7, 49-60.

- Lewis, J. A., R. P. Larkin, and D. L. Rogers. 1998. A formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to reduce damping-off by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of pathogen in soilless mix, *Plant Dis*, 82, 501-506.
- Lockwood, J. L. 1977. Fungistasis in Soil, *Biol. Rev*, 52: 1-43.
- Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol, *Ann.Rev. Phytopathol.* 23: 23-54.
- Roy, A. K. 1989. Biological control of *Rhizoctonia solani*, *Perspectives in Plant Pathology*, 391-407.
- Samuels, G. J. 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology, *Phytopathology*, 96: 195-206.
- Santamarina, M. P., and J. Roselló. 2006. Influence of temperature and water activity on the antagonism of *Trichoderma harzianum* to *Verticillium* and *Rhizoctonia*, *Crop Protection*, 25: 1130-1134.
- Sneh, B. 1996. Non pathogenic Isolates of *Rhizoctonia* spp. (np-R) and their role in biological Control,. 473-483 p, in *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control, Edited by. B. Sneh., S. Jabaji-Hare., S. Neate and G. Dijst. Kluwer Academic Publishers, London.
- Trillas, M. I., C. E. Cotxarrera, O. J. Borrero, and C. Avilès. 2006. Composts from agricultural waste and the *Trichoderma asperellum* strain T-34 suppress *Rhizoctonia solani* in cucumber seedlings, *Biol. Control* 39: 32-38.
- Turak, S. 1997. Erzincan ili fasulye ekim alanlarında kök çürüklüğü oluşturan fungal etmenlerin belirlenmesi ve bunların bazı fasulye çeşitlerinde patojeniteleri ile antagonist *Trichoderma* türleri ile etkileşimlerinin incelenmesi, www.erzincanbk.gov.tr/sb32.htm.
- Turhan, G. 1973. Fungi isolated from the roots of diseased vegetable seedlings, *J. Turkish Phytopath.*2: 100-112.
- Turhan G. 1981. A new race of *Streptomyces ochraceiscleroticus* in the biological control of some soil borne plant pathoges I. Effects of the isolate C/2-9 on some of the most important Six Fungi in Vitro, *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 88: 373-381.

- Turhan, G. 1990. Further hyperparasites of *Rhizoctonia solani* Kühn as promising candidates for biological control, *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 97: 208-215.
- Turhan, G. 1992. Unterdrückung des *Rhizoctonia*-Befalls durch einen neuen Mykoparasiten, *Stachybotrys elegans*, 48. Deutsche Pflanzen schutztagung, Göttingen (FRG).
- Turhan, G. 1994. *Cylindrocarpon olidum* (Wollenw.) Wollenw var. *olidum* als starker Antagonist gegen Pilze und ein neuer Kandidat für die biologische Bekämpfung 49. Deutsche Planzenschutztagung, Heidelberg (FRG).
- Turhan, G. and F. Grossmann. 1988. Antagonistic activity of *Neocosmospora vasinfecta* var. *africana* (Von Arx) Cannon and Hawksworth against soil borne fungi, *Journal of Phytopathology* 123:199-206.
- Turhan, G. and F. Grossmann. 1989. Antifungal and antibacterial activity of *Acrophialophora levis* Samson and Tariq Mahmood, *Journal of Phytopathology* 124: 200-206.
- Turhan, G. and F. Grossmann. 1994. Antagonistic activity of five *Myrothecium* species against fungi and bacteria, *Journal of Phytopathology*, 140: 97-113.
- Turhan G. ve K. Turhan. 1989. Suppression of damping- off on pepper caused by *Pythium ultimum* Trow and *Rhizoctonia solani* Kühn by some new antagonists in comparison with *Trichoderma harzianum* Rifai. *Journal of Phytopathology* 126:175-182.
- Turhan G. ve K. Turhan. 1993. The long-term biological suppression of *Rhizoctonia* disease of bean by some new mycoparasites, 6. International Congress of Plant Pathology, Montreal.
- Weindling, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi, *Phytopathology*, 22:837-845.
- Wilhelm, M. S. 1973. Principles of biological control of soil-borne plant disease, *Soil Biol. Biochem.* 5: 729-737.

Ek Çizelge 1. Antagonist izolasyonu için seçilen toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.
Annex Table 1. The physical and chemical properties of the soil samples selected for antagonist isolation.

Toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri Physical and chemical properties of the soil samples	Antagonist izolasyonunda kullanılan toprak örneklerinin alındığı bölgeler Origin of soil samples used for antagonist isolation								
	Ödemiş	Keban	Tuz Gölü	Karacadağ	Altınova	Günlük Orman	Bozdağ	Var Gölü	Pamukkale
pH	5,80	7,53	7,33	6,06	5,79	6,77	4,22	7,22	7,47
Tuz (%)	0,090	0,060	0,097	0,075	0,032	0,078	0,121	0,030	0,030
Kireç (%)	1,28	1,44	13,16	0,84	0,88	1,44	0,92	3,48	85,12
O.madde(%)	0,36	0,47	1,82	2,29	0,57	8,01	2,60	0,73	2,29
Bünye	Tınlı	Kumlu	Tınlı	Tınlı	Kumlu	Killi-Tınlı	Tınlı	Kumlu	Tınlı
N (%)	0,084	0,017	0,095	0,140	0,039	0,23	0,162	0,017	0,106
K (ppm)	70,0	50,0	430,0	400	55,0	120,0	120,0	200,0	45,0
P (ppm)	10,03	10,14	2,34	0,04	9,07	2,07	12,76	2,11	1,04
Mg	140	548	774	292	180	1026	180	110	168
Ca	500,5	1921,8	4203,9	1341,3	560,5	1161,1	560,3	1981,9	3002,6
Na	38,6	192,8	5013,8	9,6	28,9	28,93	67,5	33,8	19,3
Fe	39,2	5,86	0,95	26,54	36,58	45,86	296,2	7,98	5,64
Zn	1,66	0,30	0,56	1,30	0,84	4,18	6,56	0,40	0,78
Mn	23,6	1,18	10,76	18,26	20,10	35,46	44,08	4,74	2,86
Cu	1,05	0,41	0,76	2,07	0,53	1,66	1,74	0,14	0,15