

***Trichoderma harzianum* İzolatlarının Şeker Pancarında Kullanılan Bazı Fungisitlere Duyarlılıklarının *in vitro*'da Araştırılması**

Çiğdem Küçük¹, Merih Kıvanç², Engin Kınacı³, Gülcan Kınacı³

Özet

Şekerpancarını tohum ve toprak kökenli patojenlerden korumak için fungusitlerin kullanımı yaygındır, ancak bu fungusitler biyolojik mücadele etmenlerini olumsuz etkilemektedir. *Trichoderma* türleri, biyolojik mücadele etmen olarak kullanılan funguslardan biridir. Bu çalışmada, şekerpancarı tarımında yaygın olarak kullanılan fungusitlerden; Fungisit A, Fungisit B, Fungisit C ve Fungisit D'nin *Trichoderma harzianum* izolatlarının misel gelişimlerine etkileri *in vitro* koşullarda incelenmiştir. İzolatlardan T15 ve T23, diğer izolatlara göre daha yüksek direnç göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Fungisit, *Trichoderma harzianum*, İzolat, Duyarlılık

Giriş

Tarımsal üretimde bitki hastalıkları nedeni kayıplar içinde fungusların payı oldukça fazladır. Bunun azaltılması ya da mümkünse tümüyle engellenebilmesi için çeşitli önlemler alınmaktadır. Bu uygulamalar içinde, dayanıklı çeşitlerin üretilmesi, kültürel uygulamalar (ekim nöbeti, polikültür tarım yapılması, gübreleme ve sulama oranlarının ayarlanması vb.) ve pestisitlerin kullanımı en önde gelenleridir [1]. Bitkilerin fungal hastalıklara karşı korunmasında fungusitler oldukça fazla kullanılmaktadır [2].

Günümüzde çevreye verilen öneme paralel olarak, çevre dostu önlemler almaya olanak verecek çalışmalara gittikçe daha fazla önem verilmeye başlanmıştır [3,4, 5, 6]. Toprakta ve bitkilerin toprak üstü organlarında bulunabilen bazı fungusların antagonistik özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. *Trichoderma*, *Penicillium* ve *Cladosporium* gibi cinsler, bitkilerde hastalık oluşturan funguslara karşı konukçu bitki üzerinde veya yakın çevresinde örneğin, tohumda veya bir doku etrafında antagonistik etki göstererek patojenik fungusun gelişimini engellemektedir [7]. Ancak bu mikroorganizmalar, iklim ve kültürel uygulamalardan etkilenebilmekte ve bu uygulamaların etki şekillerine göre popülasyon büyüklükleri olumlu veya olumsuz yönde değişebilmektedir [8].

¹ Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa, Yazışmalardan sorumlu yazarın E-posta adresi: cdmkucuk@yahoo.com

² Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

³ Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Eskişehir

Bu canlıları olumsuz etkileyen faktörlerin başında pestisit uygulamaları gelmektedir [9]. Bilinçsiz ve yoğun fungusit kullanımı çevreyi ve insan sağlığını olumsuz etkilemesinin yanısıra, hastalık etmenlerini kontrol altına almaya yardımcı olan yararlı toprak mikroorganizmaların doğal dengesini de bozabilmektedir [10].

Şekerpancarında görülen hastalıklara karşı kullanılan fungusitler, uygulama kolaylığı ve bitkinin tüm organlarına ulaşabilmeleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır [11]. Bu çalışmada, şekerpancarı tarımında yaygın olarak kullanılan fungusitlerin, Türkiye şeker pancarı üretiminde önemli bir yeri olan Eskişehir ve çevresinden alınan toprak örneklerinden daha önce izole edilmiş [1] olan ve çeşitli hastalıklarla mücadeledeki etkileri üzerinde çalışılan *Trichoderma harzianum* izolatlarıyla birlikte kullanılması sonucu izolatların misel gelişimleri üzerine olan etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, *Trichoderma harzianum*'un Eskişehir topraklarından izole edilmiş ve tanısı yapılmış T15, T8, T22, T12, T3, T11, T23, T9 ve T7 nolu izolatları ile Fungisit A, Fungisit B, Fungisit C (%80 Thiram), Fungisit D (%50 iprodione) fungusitleri kullanılmıştır.

Deneylerde fungusitler 1 dekara uygulanan miktarlarına göre (Fungisit A 100 ml/da, Fungisit B 75 ml/da, Fungisit C 200 g/da, Fungisit D 75 g/da) bir Petri için gerekli miktar hesaplanarak uygulanmıştır.

Fungisitlerin etkisinin belirlenmesi

T. harzianum izolatları PDA (MERCK) içeren petri kutularında 20 °C'de 7 gün boyunca geliştirilmiştir. Geliştirilen izolatların her birinden ayrı ayrı 7 mm'lik diskler alınarak, her bir uygulamanın bulunduğu PDA'lı petrilere inokule edilmiştir. 30 °'lik etüvde altı günlük inkübasyon sonrası miselyum çapları ölçülmüştür [8].

Her bir uygulama iki tekerrürlü olarak yapılmış ve kontrol olarak fungusit içermeyen PDA besiyeri kullanılmıştır. İstatistikî değerlendirme Yurtsever'e [12] göre yapılmıştır.

Sonuçlar ve Tartışma

Tarımsal savaşım, bitkiye ve ürünlere zarar veren hastalık, yabancı ot ve zararlıların ekonomik biçimde önlenmesi olarak tanımlanmakta [3] ve kimyasal önlemlerin yanısıra, kültürel ve fiziksel önlemler, karantina önlemleri, biyolojik mücadele ve dayanıklı çeşitlerin üretimi gibi değişik yolları içermektedir. Kimyasal ilaçların miktarlarını azaltarak, bu ilaçlarla biyolojik mücadele etmenlerinin birlikte kullanılmasının hastalıkların azaltılmasında daha etkili olduğu çeşitli çalışmalarda saptanmıştır [3-6]. *Trichoderma* türleri bitki gelişimini hızlandırdığı, bitki savunma mekanizmalarını teşvik ederek bitkileri toprak kaynaklı patojenlere karşı dirençli hale getirdiği ve çeşitli antibiyotik bileşikler ürettiği için biyolojik mücadelede tercih edilmektedir [3, 6].

Bu çalışmada kullanılan *T. harzianum* izolatları, test edilen fungusitlerden değişik oranlarda etkilenmişlerdir (Tablo 1). *T. harzianum*'un tüm izolatları, Fungisit A uygulamasında birbirine benzer gelişme göstermişlerdir. Fungisit B uygulamasında sırasıyla T23 ve T15 nolu izolatlardan en yüksek misel gelişimi elde edilmiştir.

Tablo 1. Farklı fungusit içeren ortamda *T. harzianum* izolatlarının misel gelişimi (cm) ve yüzde miselyum azalışları

Fungisitler	<i>T. harzianum</i> izolatları									
	Kontrol	T15	T8	T22	T12	T3	T11	T23	T9	T7
Fungisit A	9	1,9	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,85
% azalış		79	92	92	92	92	92	92	92	91
Fungisit B	9	8,25	0,95	0,7	1,3	1	0,7	9	0,7	1
% azalış		8,3	89,4	92,2	85,6	88,8	92,2	0	92,2	88,8
Fungisit C	9	6	4	2,75	2,55	1,4	2,15	4,4	1,6	2,5
% azalış		33,3	55,5	69,4	71,4	84,4	76,1	51,1	82,2	72,2
Fungisit D	9	3,5	1,9	1,75	0,8	1	1,4	2,6	0,9	1,15
% azalış		61,1	78,8	80,6	91,1	88,8	84,4	71,1	90	87,2

Fungisit C ve Fungisit D uygulamasında sırası ile en yüksek misel gelişimi T15 ve T23 nolu izolatlarda belirlenmiştir (Tablo 1). Yapılan varyans analizi sonucunda da izolatlar ve fungusitler arasında %1 seviyesinde önemli farklılıklar belirlenmiştir (Tablo 2). İzolatların farklı fungusitlerdeki misel gelişimleri genelde farklılık göstermiş ve bu nedenle 'fungisit x izolat' interaksiyonu önemli olarak saptanmıştır.

Tablo 2. Uygulamalara ait varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F
Blok	1	0.22	0.22	1.57
İzolat	8	108.13	13.52	96.6**
Hata 1	8	1.15	0.14	
Fungisit	4	748.72	187.18	1701.6**
Kontrol ve diğerleri	1	696.67	696.67	6333.4**
Diğerleri	3	52.06	59.39	539.9**
Fungisit X İzolat	32	129.10	4.03	36.6
Hata 2	36	4.22	0.11	

*, **: %5 ve %1'e göre önemli (sırasıyla)

Regresyon analizi sonuçlarına göre bütün ilaçlar tüm izolatların misel gelişimlerini azaltmışlardır. Uygulanan her birim ilacın, her bir izolatın gelişimini azaltmada etkisi farklı olmuştur (Tablo 3).

Şekerpancarında özellikle kök çürüklüğü hastalıklarına karşı kullanılan kimyasal fungusitlerden bu çalışmada ele alınanlar, *Trichoderma harzianum* izolatlarını önemli ölçüde olumsuz olarak etkilemişlerdir (Tablo 2). *Penicillium* ve *Trichoderma* türlerinin Benomil'e karşı duyarlılığının test edildiği bir çalışmada, Benomil'in 100-500 µg/ml'lik düzeylerine *Trichoderma harzianum*'un mutant WT-6 izolatının dirençlilik gösterdiği belirlenmiştir [8]. Bu izolat Captan, Captophol, Vinclozoline, Iprodine gibi fungusitlere ise dirençlik gösterememiştir [8].

Tablo 3. Fungisitler ve izolatlar arasındaki regresyon

<i>T.harzianum</i> izolatları	Fungisit					
	Fungisit A			Fungisit B		
	Y=a+bx	R	r	Y=a+bx	R	r
T15	9,2-0,08x	1	-1	9,6-0,07x	1	-1
T8	22,8-20x	1	-1	9,28-0,4x	1	-1
T22	9,6-x	1	-1	12,4-5x	1	-1
T12	22,8-20x	1	-1	10-0,9x	1	-1
T3	29,7-30x	1	-1	9,35-0,5x	1	-1
T11	23-20x	1	-1	22,8-20x	1	-1
T23	16-10x	1	-1	13,4-0,5x	1	-1
T9	15,9-10x	1	-1	15,9-10x	1	-1
T7	9,23-0,3x	1	-1	9,9-x	1	-1

<i>T.harzianum</i> izolatları	Fungisit					
	Fungisit C			Fungisit D		
	Y=a + bx	R	r	Y=a + bx	R	r
T15	9,35-0,05x	1	-1	9,4-0,1x	1	-1
T8	12,8-x	1	-1	10,8-x	1	-1
T22	9,5-0,2x	1	-1	9,3-0,2x	1	-1
T12	9,47-0,22x	1	-1	9,7-x	1	-1
T3	10,95-1,5x	1	-1	11,7-3x	1	-1
T11	10,3-0,7x	1	-1	10,3-x	1	-1
T23	11,2-0,5x	1	-1	10,3-0,5x	1	-1
T9	9,75-0,5x	1	-1	9,4-0,5x	1	-1
T7	10,2-0,5x	1	-1	10,1-x	1	-1

Bu çalışmanın sonuçlarından görüleceği gibi, bitki hastalıklarına karşı kullanılan bazı fungusitler, bir biyokontrol etmeni olan *Trichoderma harzianum* izolatlarının gelişimlerini olumsuz etkileyebilmektedir. Topraklarda bulunan biyokontrol etmenlerinin patojenik mikroorganizmalar ile rekabet halinde olmaları ve mikoparazitik durumları da göz önüne alındığında, izolatların biyoteknolojik tekniklerle fungusitlere olan dirençlerinin artırılarak kullanılması tarımsal üretime ve çevreye önemli katkılar sağlayabilecektir.

Kaynaklar

- [1] Küçük, Ç., Kıvanç, M. 2003. Isolation of *Trichoderma* spp. from Turkey soil and determination of their antifungal features. Turk J Biology. 27: 247-253.
- [2] Waard, M.A.D., Georgopoulos, S.G., Hollomon, D.W., Ishii, H., Leroux, P., Ragsdale, N.N., Schwinn, F.J. 1993. Chemical control of plant diseases: problems and prospect. Annu. Rev. Phytopathology. 31: 403-421.
- [3] Basım, H., Öztürk, Ş.B., Yeğen, O. 1999. Biyolojik bir fungusit (Planter box *Trichoderma harzianum* Rifai T22)'in pamuk fide kök çürüklüğü etmenlerine (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp.) karşı etkinliğinin araştırılması. GAP I. Tarım Kongresi, 26-28 Mayıs 1999, Şanlıurfa, Bildiri Kitabı, 137-144.
- [4] Perollo, A., Monoca, C., Simon, M.R., Sisterna, M., Dal Bello, G. 2003. Biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* isolates for tan spot of wheat in Argentina. Crop Protection. 22: 1099-1106.

- [5] Küçük, Ç., Kıvanç, M., Kınacı, E., Kınacı, G. 2004. Fungal bitki patojenlerinin biyokontrolünde *Trichoderma harzianum* ve mikoparazitizm. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi. 5(1): 17-23.
- [6] Brewer, M.T., Larkin, R.P. 2005. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. Crop Protection. 24: 939-950.
- [7] Papavizas, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. Annu. Rev. Phytopathology. 23: 23-54.
- [8] Papavizas, G.C., Lewis, J.A., Abd-El Moity, T.H. 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. Phytopathology. 72: 126-132.
- [9] Biçici, M. 1983. *Rhizoctonia solani* Kühn'ye karşı antagonistik *Trichoderma harzianum* izolasyonu ve bunlara bazı fungusitlerin etkileri. Doğa Bilim Dergisi-Tarım ve Ormanlık Seri D2. 7: 95-106.
- [10] Chen, S.K., Edwards, C.A., Subler, S. 2001. Effects of the fungicides benzomyl, captan and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. Soil Biology & Biochemistry. 33: 1971-1980.
- [11] Özgör, O. 1995. Türkiye şekerpancarı hastalıkları. Türkiye Şeker Fabrikaları. A.Ş. Genel Müdürlüğü Yayın No: 218. 111 sayfa. Ankara.
- [12] Yurtsever, N. 1984. Deneysel istatistik metodları. Tarım Orman ve Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayın No: 121, 623 sayfa, Ankara.