

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Neriman GÖĞÜSGEREN

***TRICHODERMA SPP.*'E ETKİLİ ANTİBİYOTİK ÜRETEK *BACILLUS SPP.*
SUŞLARININ SAPTANMASI VE BUNLARIN *GANODERMA LUCIDUM*
MİSEL KÜLTÜRLERİNDE İN SİTU KULLANILMA OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2009

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRICHODERMA SPP.'E ETKİLİ ANTİBİYOTİK ÜRETEN BACILLUS SPP.
SUŞLARININ SAPTANMASI VE BUNLARIN GANODERMA LUCIDUM
MİSEL KÜLTÜRLERİNDE İN SİTU KULLANILMA OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI

Neriman GÖĞÜSGEREN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu tez/....../2009 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.**

İmza.....

İmza.....

İmza.....

Prof.Dr. Ömer ÇOLAK
DANIŞMAN

Prof.Dr. Sadık DİNÇER
ÜYE

Prof.Dr. Zülküf KAYA
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof.Dr. İlhami YEĞİNGİL

Enstitü Müdürü
İmza-Mühür

**Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi
Tarafından Desteklenmiştir.**

Proje No: FEF 2009 YL 6

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki Hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***TRICHODERMA* SPP.'E ETKİLİ ANTİBİYOTİK ÜRETEN *BACILLUS* SPP. SUŞLARININ SAPTANMASI VE BUNLARIN *GANODERMA LUCIDUM* MİSEL KÜLTÜRLERİNDE İN SITU KULLANILMA OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Neriman GÖĞÜSGEREN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman: Prof.Dr.Ömer ÇOLAK

Yıl: 2009 Sayfa: 84

Jüri: Prof.Dr.Ömer ÇOLAK

Prof.Dr. Sadık DİNÇER

Prof.Dr. Zülküf KAYA

Bu çalışmada *Ganoderma lucidum* gibi endüstriyel mantarların ticari üretiminde büyük bir sorun teşkil eden besin ortakçısı *Trichoderma* sp. mantarına karşı *Bacillus* sp. bakterisinin biyokontrol ajan olarak kullanılmasıyla problemin çözümü amaçlanmaktadır.

Bu amaçla; doğal ortamlardan 72 tane *Bacillus* sp. suşları izole edilmiştir ve bu suşlardan *Trichoderma* sp.'e karşı antifungal aktiviteye sahip olanlar tespit edilmiştir. Bu suşların *Trichoderma* sp. gelişimini inhibe ederken *Ganoderma lucidum* miseli üzerinde olumsuz etki göstermemesine önem verilmiştir.

Sonuç olarak, test edilen *Bacillus* sp. suşlarının arasında çeşitli düzeyde etkin olanlar tespit edilmiş ve bunlar arasında en yüksek düzeyde aktivite gösteren suşlar daha sonraki çalışmalarda *Ganoderma lucidum* miseline karşı uygunluk yönünden araştırılmıştır. Amacımıza uygun 8 tane *Bacillus* sp. izolatu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Trichoderma*, Yeşil Küf Hastalığı, *Bacillus*

ABSTRACT

MSc THESIS

**DETERMINATION STRAINS OF *BACILLUS* SPP. WHICH PRODUCES
AN EFFECTIVE ANTIBIOTIC AGAINST *TRICHODERMA* SPP. AND
INVESTIGATION OF THE OPPORTUNITY TO BE IN SITU OF THESE
STRAINS AT MICELLE CULTURE OF *GANODERMA LUCIDUM***

Neriman GÖĞÜSGEREN

**DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA**

Supervisor : Prof.Dr. Ömer ÇOLAK

Year: 2009 Pages: 84

**Jury : Prof.Dr. Ömer ÇOLAK
Prof.Dr. Sadık DİNÇER
Prof.Dr. Zülküf KAYA**

In this study, agent of biological control by bacterium of *Bacillus* sp. against for solution of the matter is sharecropper fungus of *Trichoderma* sp. that is a major problem in the commercial production of industrial fungi were intended.

For this purpose, strains of 72 *Bacillus* sp. were isolated from nature environment were isolated and these strains who have been antifungal activity against *Trichoderma* sp. were identified. While inhibits the development of *Trichoderma* sp. this strains on the micelle of *Ganoderma lucidum* does not show a negative activity were committed.

As a result, among tested strains of *Bacillus* sp. have been identified active strains at various levels and some strains have the highest level have been investigated in terms of convenience micelle of *Ganoderma lucidum* at the subsequent studies. Accordince with our aim isolates of 8 *Bacillus* sp. were found.

KeyWords: *Trichoderma*, Green Mould Disease, *Bacillus*

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında bilgi ve anlayışıyla bana yol gösteren, örnek olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ömer ÇOLAK’a sonsuz teşekkür ederim.

Hem deney hem de yazım aşamasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Biyolog H. Aysun MERCİMEK, Biyolog Emel KARADENİZ, Biyolog F. Esen SARIGÜLLÜ, Biyolog Gümüş KARATAŞ ve diğer tüm dostlarıma çok teşekkür ederim.

Bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölümü Bölüm Başkanlığı’na ve maddi desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne teşekkür ederim.

Ayrıca hayatımın her anında destek olan yardımlarını esirgemeyen annem Berrin GÖĞÜSGEREN’e, babam Fikret GÖĞÜSGEREN’e, kardeşim Enise GÖĞÜSGEREN’e, teyzem Enise SÜYÜM’e ve nişanlım Sezer ERTSAK’a teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Trichoderma</i> Cinsi İle İlgili Genel Özellikler.....	3
1.1.1. Taksonomisi.....	3
1.1.2. Misel Morfolojisi.....	3
1.1.3. Mikroskobisi.....	4
1.1.4. Üremesi.....	5
1.1.5. Habitatı.....	5
1.1.6. <i>Trichoderma</i> sp. Suşlarının Gelişim Parametreleri.....	6
1.2. <i>Trichoderma</i> Cinsinin Türleri.....	7
1.2.1. <i>Trichoderma aggressivum</i>	7
1.2.2. <i>Trichoderma arundinaceum</i>	8
1.2.3. <i>Trichoderma asperellum</i>	8
1.2.4. <i>Trichoderma atroviride</i>	9
1.2.5. <i>Trichoderma aureoviride</i>	10
1.2.6. <i>Trichoderma brevicompactum</i>	10
1.2.7. <i>Trichoderma citrinoviride</i>	11
1.2.8. <i>Trichoderma crassum</i>	11
1.2.9. <i>Trichoderma erinaceum</i>	12
1.2.10. <i>Trichoderma fasciculatum</i>	13
1.2.11. <i>Trichoderma fertile</i>	14
1.2.12. <i>Trichoderma gamsii</i>	15
1.2.13. <i>Trichoderma ghanense</i>	16

1.2.14. <i>Trichoderma hamatum</i>	16
1.2.15. <i>Trichoderma harzianum</i>	17
1.2.16. <i>Trichoderma koningii</i>	18
1.2.17. <i>Trichoderma koningiopsis</i>	18
1.2.18. <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	19
1.2.19. <i>Trichoderma minutisporum</i>	20
1.2.20. <i>Trichoderma oblongiosporum</i>	20
1.2.21. <i>Trichoderma ovalisporum</i>	21
1.2.22. <i>Trichoderma polysporum</i>	21
1.2.23. <i>Trichoderma pseudokoningii</i>	22
1.2.24. <i>Trichoderma pubescens</i>	23
1.2.25. <i>Trichoderma reesei</i>	24
1.2.26. <i>Trichoderma saturnisporum</i>	24
1.2.27. <i>Trichoderma spirale</i>	25
1.2.28. <i>Trichoderma strictipile</i>	26
1.2.29. <i>Trichoderma strigosum</i>	27
1.2.30. <i>Trichoderma stromaticum</i>	27
1.2.31. <i>Trichoderma tomentosum</i>	28
1.2.32. <i>Trichoderma virens</i>	29
1.2.33. <i>Trichoderma viride</i>	30
1.2.34. <i>Trichoderma viridescens</i>	31
1.3. <i>Trichoderma</i> Cinsinin Yeşil Küf Hastalığına (Green Mold Disease) Neden Olan Türleri.....	31
1.4. <i>Trichoderma</i> sp. Varlığının Belirtileri.....	32
1.5. <i>Trichoderma</i> Cinsi İle Enfekte Olabilen Endüstriyel Mantar Türlerinin <i>Trichoderma</i> Türleriyle Kontaminasyonunun Nedeni.....	32
1.6. <i>Trichoderma</i> Cinsinin Kültür Mantarları Üzerindeki Etki Mekanizması.....	34
1.7. Kültür Mantarı Üretiminde Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar.....	34
1.8. <i>Trichoderma</i> Cinsi Küf Mantarlarıyla Mücadele.....	35
1.8.1. Kültürel Önlemler.....	35

1.8.2. Kimyasal Mücadele.....	36
1.8.3. Diğer Koruma Yöntemleri.....	37
1.9. <i>Bacillus</i> Cinsi Bakteriler Hakkında Genel Bilgi.....	37
1.10. <i>Bacillus</i> Cinsinin Habitatı.....	40
1.11. <i>Bacillus</i> Cinsinin Önemi.....	41
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	43
3.MATERYAL VE METOD.....	54
3.1. Materyal.....	54
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri.....	54
3.1.1.1. Potato Dekstrozu Agar (PDA).....	54
3.1.1.2. Nutrient Agar (N 1).....	54
3.1.1.3. Complete Yeast Medium (CYM).....	55
3.1.1.4. Buğday Agar Besiyeri.....	55
3.2. Metod.....	56
3.2.1. <i>Trichoderma</i> Cinslerinin İzolasyonu, Üretimi ve Saklanması.....	56
3.2.2. <i>Bacillus</i> Cinsi Bakterilerin İzolasyonu Ve Stok Kültürlerinin Hazırlanması.....	57
3.2.3. <i>Ganoderma lucidum</i> Miselinin Üretimi Saklama ve Koşulları.....	58
3.2.4. <i>Trichoderma</i> sp. ve <i>Bacillus</i> sp. İzolatlarının Eş Zamanlı Ekimleri.....	59
3.2.5. Antifungal Özelliği Belirlenmiş <i>Bacillus</i> sp. Suşlarının <i>G. lucidum</i> Misel Kültürü İle Eş Zamanlı Ekimleri.....	60
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	61
4.1. <i>Trichoderma</i> sp. ve <i>Bacillus</i> sp. İzolatlarının Karşılıklı Ekimlerine Ait Bulgular.....	61
4.2. <i>Bacillus</i> sp. İzolatları İle <i>Ganoderma lucidum</i> Miselinin Petri kutusunda Karşılıklı Ekimlerine Ait Bulgular.....	65
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	70
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	84

Çizelge 3.1.	Nutrient agar besiyerinin içeriği.....	54
Çizelge 3.2.	Complete yeast medium'un içeriği.....	55
Çizelge 4.1.	<i>Trichoderma</i> sp. gelişimi üzerine yüksek ve orta düzeyde antifungal etki gösteren <i>Bacillus</i> suşları.....	65
Çizelge 4.2.	<i>Trichoderma</i> sp.'e yüksek düzeyde antifungal etki gösteren <i>Bacillus</i> sp. suşlarının <i>Ganoderma lucidum</i> miseli üzerindeki etkinliği.....	67
Çizelge 4.3.	<i>Trichoderma</i> sp.'e orta düzeyde antifungal etki gösteren <i>Bacillus</i> sp. suşlarının <i>Ganoderma lucidum</i> miseli üzerindeki etkinliği.....	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. <i>Trichoderma</i> sp.'nin petri kutusunda geliştirilmiş bir görüntüsü.....	4
Şekil 1.2. <i>Trichoderma</i> sp.'nin bitki materyali üzerindeki doğadan bir görüntüsü.....	6
Şekil 1.3. Sırasıyla <i>T. aggressivum</i> konidiası ve konidioforu.....	7
Şekil 1.4. Sırasıyla <i>T. arundinaceum</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	8
Şekil 1.5. Sırasıyla <i>T. asperellum</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	9
Şekil 1.6. Sırasıyla <i>T. atroviride</i> konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu.....	9
Şekil 1.7. Sırasıyla <i>T. aureoviride</i> konidiası ve konidioforu.....	10
Şekil 1.8. Sırasıyla <i>T. brevicompactum</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	11
Şekil 1.9. Sırasıyla <i>T. citrinoviride</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	11
Şekil 1.10. Sırasıyla <i>T. crassum</i> konidiası, konidioforu ve steril uzantısı.....	12
Şekil 1.11. Sırasıyla <i>T. erinaceum</i> konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu.....	13
Şekil 1.12. Sırasıyla <i>T. fasciatum</i> konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu.....	14
Şekil 1.13. Sırasıyla <i>T. fertile</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	14
Şekil 1.14. Sırasıyla <i>T. gamsii</i> konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu.....	15
Şekil 1.15. Sırasıyla <i>T. ghanense</i> konidiası ve konidioforu.....	16
Şekil 1.16. Sırasıyla <i>T. hamatum</i> konidiası, konidioforu, steril uzantısı, püstülü ve klamidosporu.....	17
Şekil 1.17. Sırasıyla <i>T. harzianum</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	17
Şekil 1.18. Sırasıyla <i>T. koningii</i> konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu.....	18
Şekil 1.19. Sırasıyla <i>T. koningiopsis</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	19
Şekil 1.20. Sırasıyla <i>T. longibrachiatum</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	19

Şekil 1.21. Sırasıyla <i>T. minutisporum</i> konidioforu ve püstülü.....	20
Şekil 1.22. Sırasıyla <i>T. oblongiosporum</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	21
Şekil 1.23. Sırasıyla <i>T. ovalisporum</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	21
Şekil 1.24. Sırasıyla <i>T. polysporum</i> konidiası, konidioforu, steril uzantısı ve püstülü.....	22
Şekil 1.25. Sırasıyla <i>T. pseudokoningii</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	23
Şekil 1.26. Sırasıyla <i>T. pubescens</i> konidiası, steril uzantısı, püstülü ve klamidosporu.....	23
Şekil 1.27. Sırasıyla <i>T. reesei</i> konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu.....	24
Şekil 1.28. Sırasıyla <i>T. saturnisporum</i> konidiası ve konidioforu.....	25
Şekil 1.29. Sırasıyla <i>T. spirale</i> konidiası, konidioforu, steril uzantısı, püstülü ve klamidosporu.....	26
Şekil 1.30. Sırasıyla <i>T. strictipile</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	26
Şekil 1.31. Sırasıyla <i>T. strigosum</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	27
Şekil 1.32. Sırasıyla <i>T. stromaticum</i> konidiası, konidioforu, steril uzantısı, püstülü ve klamidosporu.....	28
Şekil 1.33. Sırasıyla <i>T. tomentosum</i> konidiası, konidioforu, steril uzantısı ve püstülü.....	29
Şekil 1.34. Sırasıyla <i>T. virens</i> konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu.....	30
Şekil 1.35. Sırasıyla <i>T. viride</i> konidiası, konidioforu ve püstülü.....	30
Şekil 1.36. Sırasıyla <i>T. viridescens</i> konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu.....	31
Şekil 3.1. <i>Trichoderma sp.</i> 'nin PDA 'da 1 haftada gelişmiş görüntüsü.....	57
Şekil 3.2. <i>Ganoderma lucidum</i> miselinin CYM besisi yerinde 1 hafta süresince gelişmiş görüntüsü.....	59
Şekil 3.3. <i>Ganoderma lucidum</i> meyvesinin doğadan bir görüntüsü.....	59
Şekil 4.1. <i>Trichoderma sp.</i> , <i>Bacillus</i> NG 1,2,3,4,5,6 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	61
Şekil 4.2. <i>Trichoderma sp.</i> , <i>Bacillus</i> NG 7,8,9,10,11,12 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	61
Şekil 4.3. <i>Trichoderma sp.</i> , <i>Bacillus</i> NG 13,14,15,16,17,18 suşlarının karşılıklı	

ekimine ait bulgular.....	62
Şekil 4.4. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 19,20,21,22,23,24 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	62
Şekil 4.5. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 25,26,27,28,29,30 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	62
Şekil 4.6. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 31,32,33,34,35,36 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	62
Şekil 4.7. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 37,38,39,40 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	63
Şekil 4.8. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 41,42,43,44,45,46 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	63
Şekil 4.9. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 47,48,49,50,51,52 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	63
Şekil 4.10. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 53,54,55,56,57,58 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	63
Şekil 4.11. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 59,60,61,62,63,64 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	64
Şekil 4.12. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 65,66,67,68,69,70 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	64
Şekil 4.13. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Bacillus</i> NG 71,72 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	64
Şekil 4.14. <i>G. lucidum</i> ve <i>Bacillus</i> NG 1,2,3,4 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	66
Şekil 4.15. <i>G. lucidum</i> ve <i>Bacillus</i> NG 5,7,8,9 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	66
Şekil 4.16. <i>G. lucidum</i> ve <i>Bacillus</i> NG 10,12,15,16 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	66
Şekil 4.17. <i>G. lucidum</i> ve <i>Bacillus</i> NG 20,23,24 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

µm	:	Mikrometre
Kg	:	Kilogram
CMDA	:	Corn Meal Dekstroz Agar
SNA	:	Special Nutrient Agar
YGB	:	Yeast Extract Glucose Broth
PDA	:	Potato Dekstroz Agar
N1	:	Nutrient Agar
CYM	:	Complete Yeast Medium
ISD	:	İndüklenmiş Sistemik Dirençlilik
RFW	:	Rood Fresh Weight

1.GİRİŞ

Son yıllarda dünyada mantar yetiştiriciliğinin öneminin artmasıyla birlikte mantarların ticari üretiminde ciddi sorunlar oluşturan parazit mantarların sebep olduğu hastalıkların çözümü için, bileşiminde çok fazla sayıda etken maddenin bulunduğu pestisitlere alternatif bir yöntemin bulunması yoluna gidilmiştir. Yoğun pestisit kullanımı sonucu doğal denge tahrip olmuş, çevreyi ve insan sağlığını tehdit eder duruma gelmiştir (Bues ve ark., 2004; Chen ve ark., 2001). Pestisitlerle yapılan bilinçsiz mücadele sonrasında zararlılarda pestisitlere karşı direnç sorunu ortaya çıkmaktadır (Gerhardson, 2002). Bunun sonucunda doğal denge bozulmakta, önemsiz olan veya hiç görülmeyen yeni bir hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Vyas, 1988) . Tüm bu sorunlar karşısında çevre ile dost ve uzun süreli etkili bir mücadele yöntemi olarak biyolojik kontrol ön plana çıkmıştır. Sürdürülebilir üretim açısından biyolojik mücadele kaçınılmaz hale gelmiştir.

Burada biyolojik mücadele denilince asıl üzerinde durulmak istenen, hastalıklara neden olan mikroorganizmalara (patojenler) karşı canlı bir mikroorganizmanın kullanılmasıdır (Yiğit, 2005). Pestisitlerin yerine bir organizmanın kullanılması çevresel riskleri minimuma indirir (Hagn ve ark., 2002). Biyolojik mücadelede kullanılan bu canlılar zararlı mikroorganizmaları (patojenleri) antibiyotik salgılayarak, onlarla besin veya yer rekabeti ederek veya onlar üzerinde hiperparazit yaşayarak baskı altına alırlar (Cook and Baker, 1983).

Patojenlerin biyolojik preparatlar kullanılarak yok edilmesi ve bunun için yapılan bilimsel çalışmalar; bir ülkenin gelişmişliği ile çevreye ve insan sağlığına verdiği önemin en büyük kanıtıdır. Biyopreparatları üreten ülkelere bakıldığında bunların gelişmiş ülkeler olduğu görülmektedir (Anonymous, 2004). Bu ülkelerin başında da Almanya ve Amerika gelmektedir. Bu biyokontrol ürünlerinin kullanıldığı hedef patojenlere bakıldığında bunların çoğunlukla toprak kaynaklı patojenler olduğu görülmektedir. Bunların başında *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotinia* türleri gelir (Yiğit, 2005). Bu patojenlere karşılık geliştirilmiş biyopreparatların sayısı 40'ın üzerindedir Bunların yarısından fazlası seralarda ve fide yastıklarında uygulanmaktadır ve özellikle de

toprak kaynaklı patojenlere karşı geliştirilmiştir (Paulitz ve Belanger, 2001).

Trichoderma cinsinin bazı türleri bitkilerde ve mantarlarda parazit veya rekabet fungusu olarak yeşil küf hastalığına (Green mold disease) neden olur. Bu küf mantarı; *Ganoderma lucidum* (Reishi), *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus* başta olmak üzere endüstriyel üretimi yapılan Basidiomycetes türlerinde büyük zararlar oluşturarak ciddi ürün kayıplarına neden olurlar. Yeşil küfler özellikle misel sarma aşamasında kompostu kaplayarak mantar miselinin kolonize olmasını engelleyerek zarar yapar (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).

Sürdürülebilir üretim açısından çevreyle dost ve uzun süreli, etkili mücadele amacıyla yapılan deneylerde; I.aşamada doğal ortamlardan seçilen *Bacillus* cinsi bakterilerin *Trichoderma* sp. üzerine antifungal nitelikte olup olmadığını anlamak için izole edilmiş *Bacillus* sp. ile *Trichoderma* sp.'lerin petri kutusunda karşılıklı ekimleri yapılmıştır. II.aşamada *Trichoderma* sp. gelişimini inhibe eden *Bacillus* sp. izolatları seçilmiş ve bu inhibitör bakterilerin bir endüstriyel mantar olan *Ganoderma lucidum*'un misel kültürü üzerindeki aktivitesini görebilmek amacıyla petri kutusunda bir arada eş zamanlı ekimleri yapılmıştır ve *Ganoderma lucidum* misel kültürü üzerinde aktivite göstermeyen non-inhibitör bakteriler tespit edilmiştir.

Günümüzde bu fungusa karşı genellikle kimyasal mücadele metodları uygulanmaktadır, ancak daha öncede belirtildiği gibi kimyasal mücadelenin oldukça fazla ve düşündürücü boyutlarda yan etkileri gözlenmiştir. Burada sözü edilen şey *Trichoderma* sp. zararlısına karşı antagonistik etkili olduğunu düşündüğümüz *Bacillus* sp. suşlarının; bu patojenin yarattığı problemlerin çözümünde bir biyokontrol ajan olarak kullanılıp mücadeleyi kimyasal kaynaklı ürünlerin kullanılması sonucu gözlenen yan etkilerden kurtarıp tamamen biyolojik kontrol temeline dayandırarak kültür mantarcılığının önemli bir sorununun çözülmesidir.

Bu çalışmada birçok bitkinin ve endüstriyel mantarların üretiminde büyük bir sorun teşkil eden *Trichoderma* cinsinin antifungal *Bacillus* cinsi bakteriler tarafından biyolojik kontrolüne yönelik deneyler yapılmıştır.

1.1. *Trichoderma* Cinsi İle İlgili Genel Özellikler

Trichoderma cinsi çok hızlı üreyen filamentli bir mantardır (Samuels, 1996). Dünyada geniş bir yayılma sahiptir (Domsch ve ark., 1980; Gams ve Bissett; 1998; Klein ve Eveleigh, 1998). Toprakta sıklıkla bulunan toprak mikroflorasının baskın elemanıdır (Killhom, 1994). 1969 yılına kadar sınıflandırma bakımından çok zorluk çekilmiştir, gerçekçi bir sınıflandırma ilk kez Rifai tarafından yapılmıştır, türler bir araya getirilerek morfolojileri araştırılmıştır (Rifai, 1969). 1991 yılında Bissett tarafından *Trichoderma* cinsinin sınıflandırılması yeniden gözden geçirilmiş, morfolojik özellikleri bakımından *Trichoderma*, *Pachybasium*, *Longibrachiatum* ve *Hypocreanum* olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır (Bissett,1991a;b;c;).

1.1.1. Taksonomisi

Kingdom : Fungi
Divisio : Ascomycota
Class : Pezizomycotina
Subclass : Sordariomycetes
Family : *Hypocreaceae*
Genus : *Trichoderma*
(Persoon, 1794)

1.1.2. Misel morfolojisi

İlk kez Persoon tarafından 1794 (Rifai, 1969) yılında tanımlanmıştır. Hızlı üreyip kolonisi 4 günde olgunlaşır. Başlangıçta birkaç gün içinde tüm besiyeri yüzeyini kaplayan beyaz gevşek bir misel görülür. Bir süre sonra misel daha da sıklaşıp yünüksü bir örgü görünümü kazanır ve konidyumların (conidium) oluşması ile yüzeyde yer yer yeşil lekeler belirir, koloni tabanı renksiz, portakalımsı, ten rengi veya sarımsıdır (Rifai, 1969). Belirgin konsentrik halkalar ve hava hifleri gözlenir ve bazı türler özgül tatlı bir hindistan cevizi kokusu üretilir (Persoon, 1794).



Şekil 1.1. *Trichoderma sp.*'nin petri kutusunda geliştirilmiş bir görüntüsü (http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/nov2004.html)

1.1.3. Mikroskobisi

Mikroskopta kısa, septalı çok dallanmış hifler ve şişe biçiminde konidioforlar (conidiophore) görülür. Her konidioforun ucunda yuvarlak, tek hücreli, küçük konidyum kümeleri bulunur (Rifai, 1969). Konidium kümeleri kolayca dağıldığından preparasyon yaparken sert devinimlerden kaçınılmalıdır (Tümbay, 1983). Konidioforların ana dalları yan dalları oluşturur. Bütün dallanmalar ana eksene göre 90 derecelik açıyla yön alır. Tipik sık dallanmış *Trichoderma sp.* konidioforları; çift dalların birleşmesiyle piramit görünümünü alır. Birçok türünün konidiası elipsoidal olup, boyutları 3-5 x 2-4µm'dir (Persoon, 1794).

Hiflerin uç veya orta kısımlarındaki hücrelerin çeperleri kalınlaşıp, yuvarlaklaşarak hifden ayrılmasıyla oluşan klamidosporlar (chlamidospor) birçok *Trichoderma* türleri tarafından üretilir. Bunlar genellikle fungusların olumsuz koşulları geçirmek için oluşturdukları sporlardır. Kısa hif sonunda bulunan klamidosporlar genellikle uniselüler yapıda olmakla birlikte bazı türleri multiselülerlidir (Örneğin: *Trichoderma stromaticum*) (Persoon, 1794).

1.1.4. Üremesi

Küf mantarları; mitoz bölünmeyle oluşan aseksüel sporların çimlenmesiyle oluşan funguslardır. *Trichoderma* türleri; eşeysiz üreme ile klamidiosporlar ve konidiasporlar oluşturarak çoğalırlar (Gams ve Bissett, 1998). Eşeysiz veya aseksüel üreme, somatik yapının belirli bir dönemde kendi benzerlerini oluşturmaya denir. Eşeysiz üreme değişik fungus gruplarında farklı şekillerde olabilmekte ve bunun sonucunda değişik tipte sporlar oluşmaktadır. *Trichoderma* türlerinin; eşeysiz üreme tiplerinden biri olan "fragmentasyon"da, hiflerin uç veya orta kısımlarındaki hücreler hifden kopup ayrılmakta ve yeni bireyleri oluşturmaktadır. Hiflerin uç veya orta kısımlarındaki hücrelerin çeperleri kalınlaşıp, yuvarlaklaşarak hif den ayrılmasıyla oluşan sporlara "klamidospor" (chlamidospor) denir. Bu spor tipi hif hücrelerinden yani thallustan oluştuğu için thallospor adını da alır (Gams ve Bissett, 1998). *Trichoderma*'nın aseksüel üremesiyle oluşturulan, ikinci tip sporlar ise "konidi"lerdir (conidium, çoğulu: conidia). Bunlar "konidiofor" (conidiophore) adı verilen farklılaşmış hiflerin ucunda oluşurlar, tek veya çok hücrelidirler (Samuels, 2006).

1.1.5. Habitatı

Trichoderma sp. türleri sıklıkla ormanlardan ve tarımsal topraklardan izole edilirler (Domsch ve ark., 1980). *Hypocreaceae* türlerinin çoğunluğu ormanlarda ağaç kabukları veya kabuksuz tahtalar üzerinde, bazı türleri ise ağaç mantarları üzerinde yetişir (Persoon, 1794). Ayrıca çoğu küf mantarı gibi çürümekte olan organik materyal üzerinde yaşayan bitki patojenleri içerisinde de birinci sırada yer alır (Volk, 2004). Saprophyt bir mantar olan *Trichoderma*, misel gelişimi için çok uygun bir ortam olan nemli yaprak yığınlarının bulunduğu toprak katmanının üst tabakasında sıklıkla bulunur (Danielson ve Davey, 1973). Şekil 1.2.'de *Trichoderma* sp.'nin bitki materyali üzerindeki doğadan bir görüntüsü gösterilmektedir.



Şekil 1.2. *Trichoderma* sp.'nin bitki materyali üzerindeki doğadan bir görüntüsü

1.1.6. *Trichoderma* sp. Suşlarının Gelişim Parametreleri

Toprakta yaşayan mikroorganizma komünitelerinin biyolojik aktiviteleri, biyokütleleri ve kompozisyonları toprağın kimyasal ve fiziksel faktörlerine bağlıdır. (Garbave ve ark., 2004, Killham, 1994, Lavelle ve Spain, 2001). Sıcaklık, nem ve pH bütün mantar türlerinde olduğu gibi *Trichoderma* sp. suşlarının kolonizasyonu açısından da önemli bir yere sahiptir (Carreiro ve Koske, 1992; Eastburn ve Butler 1991; Widden ve Abitbol, 1980) .

Trichoderma sp. türleri sıcak tropikal topraklardan izole edilebildiği gibi soğuk topraklarda da yetişebilirler (Klein ve Eveleigh, 1998), 0 °C 'den 40 °C'e kadar geniş bir sıcaklık aralığında varlıklarını sürdürebilirler fakat gelişimleri için gereken optimum sıcaklık 22-26 °C arasında değişmektedir (Domsch ve ark., 1980).

Toprak nemi, toprak içerisinde yetişen diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi *Trichoderma* sp. popülasyonlarının yayılımında da çok önemli bir faktördür (Lavelle ve Spain, 2001). Çok yüksek toprak nemi bu fungusun hif gelişimi, spor üretimi ve germinasyonunu negatif düzeyde etkilerken (Clarkson ve ark., 2004), orta düzeydeki

toprak nemi optimal gelişimleri ve popülasyonun yayılması açısından sıcaklıktan daha önemlidir (Danielson ve Davey, 1973).

Yapılan araştırmalar pH açısından *Trichoderma* cinsi mantarlarının gelişimi ve spor germinasyonlarının (Danielson ve Davey, 1973), asidik substratlı ortamlardan pozitif yönde etkilendiğini ve optimal pH aralığının 3.5-5.6 göstermiştir (Domsch ve ark., 1980).

1.2. *Trichoderma* Cinsinin Türleri

1.2.1. *Trichoderma aggressivum*

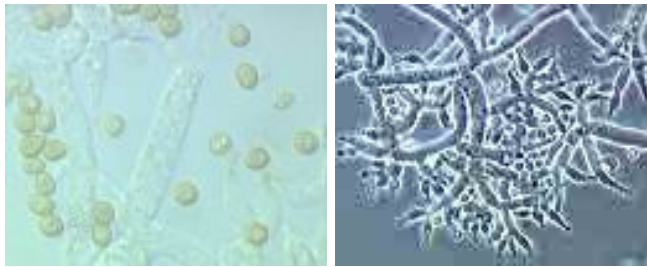
Konidia: Küre şeklinde, yeşil renkte ve nemlidir.

Konidiofor: Tek bir ana eksen üzerinde dallanmış kollar şeklindedir, yan kollar ana ekseniden yaklaşık 90 ° 'lik bir açıyla ve ya daha dar bir açıyla açılırlar.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Bulunmaz.

Klamidospor: Çok nadir bulunur, CMDA (Cornmeal Dextroz Agar) üzerinde gözlenmemiştir (Samuel ve ark., 2002).



Şekil 1.3. Sırasıyla *T. aggressivum* konidiası ve konidioforu (Samuel ve ark., 2002)

1.2.2. *Trichoderma arundinaceum*

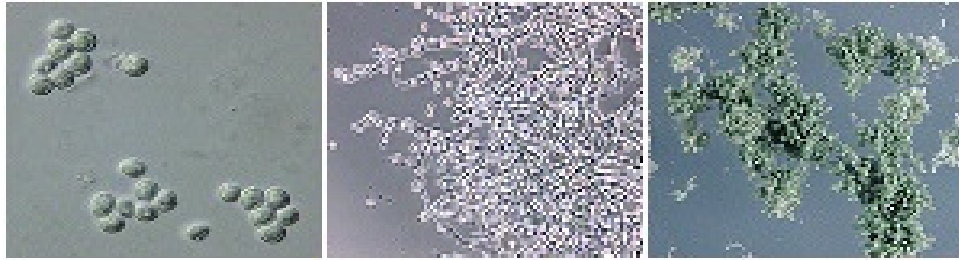
Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, küre şeklinde ve nemlidir.

Konidiofor: Ana eksen etrafında kısa ve uzun yan dallar bulunur, uzun yan dallardan oluşturulan fiyalidler dalların etrafında kümelenmiştir.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Bulunur, yeşilimsidir.

Klamidospor: Bulunmaz (Samuels, 2006).



Şekil 1.4. Sırasıyla *T. arundinaceum* konidiası, konidioforu ve püstülü (Samuels, 2006)

1.2.3. *Trichoderma asperellum*

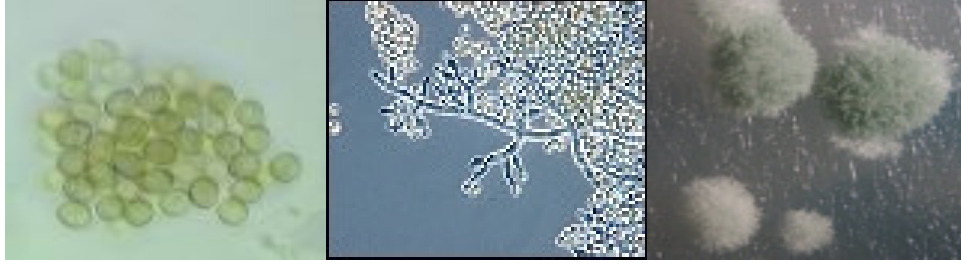
Konidia: Küre, oval ve sonu iğne şekillidir (ışık mikroskobunda çok zor da olsa fark edilebilir), koyu yeşil renktedir.

Konidiofor: Konidiaforlardan CMDA üzerinde püstül oluşturulur, sıklıkla hava hifi şeklindedir, tabanda bulunan fiyalidlerden daha geniş değildir.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Başlangıçta sarı olan püstül sonradan yeşile döner.

Klamidospor: CMDA üzerinde 20 ° C 'de, karanlık bir ortamda bir hafta içerisinde oluşurlar, dalların tepe noktasında veya aralarda bulunurlar, subgloboz ve ovoidal şekilli ve açık yeşildir (Samuel ve ark. 1999).



Şekil 1.5. Sırasıyla *T. asperellum* konidiası, konidioforu ve püstülü
(Samuel ve ark. 1999)

1.2.4. *Trichoderma atroviride*

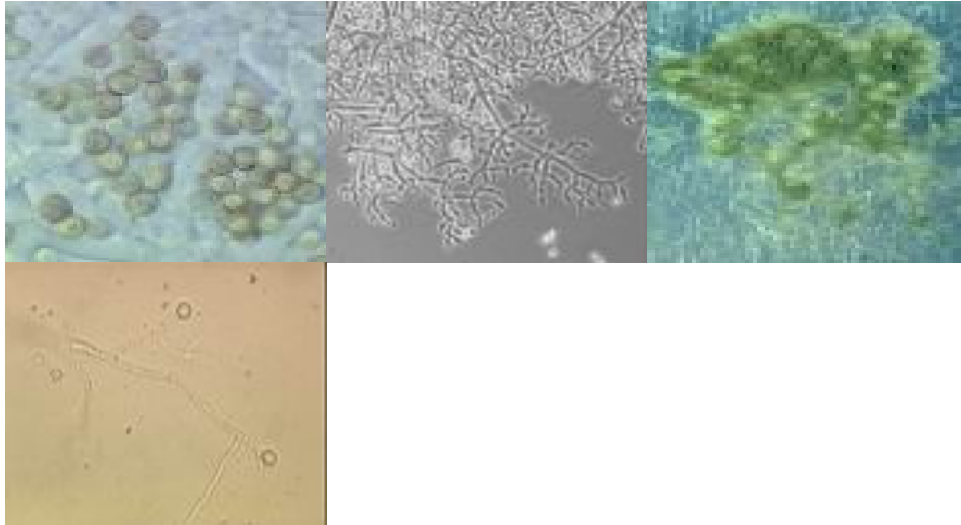
Konidia: Küreden, ovala doğru değişen şekil ve yeşil renktedir, nemlidir.

Konidiofor: Tek bir ana eksen üzerinde dallanmış kollar şeklindedir, yan kollar ana eksenenden yaklaşık 90 ° 'lik bir açıyla ve ya daha dar bir açıyla açılırlar.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Bulunmaz veya çok seyrek rastlanır.

Klamidospor: Bir haftada oluşurlar, dalların ucunda veya aralarda bulunurlar
(Samuel ve ark., 2002).



Şekil 1.6. Sırasıyla *T. atroviride* konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu
(Samuel ve ark., 2002)

1.2.5. *Trichoderma aureoviride*

Konidia: Eliptik veya küresel yapıda, mat yeşil, nemli ve akışkandır.

Konidiofor: Hava hifi şeklindedirler.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Bulunmaz.

Klamidospor: Bulunmaz (Lieckfeldt ve ark., 2001).



Şekil 1.7. *T. aureoviride* konidiası, konidioforu
(Lieckfeldt ve ark., 2001)

1.2.6. *Trichoderma brevicompactum*

Konidia: CMDA üzerinde conidialar yeşil renkte, oval veya küresel şekilli, nemlidir.

Konidiofor: Ana eksenden çok sayıda dallanmış haldedir, dalların ucunda birkaç fiyalid bulunabilir.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Koyu yeşil, sarımsı yeşil veya grimsi yeşil renktedir.

Klamidospor: Bulunmaz (Chaverri, 2004).



Şekil 1.8. Sırasıyla *T. brevicompactum* konidiası, konidioforu ve püstülü (Chaverri, 2004)

1.2.7. *Trichoderma citrinoviride*

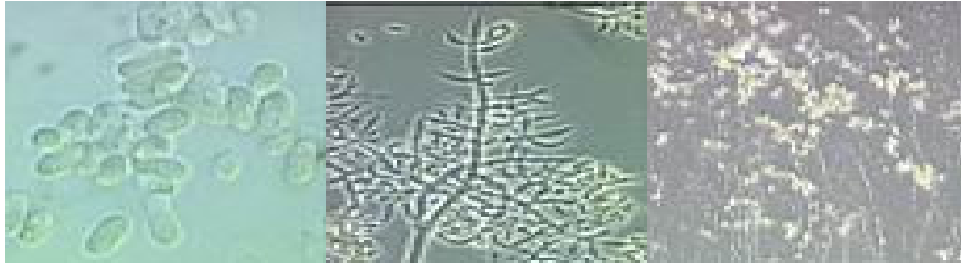
Konidia: Kenarları düz uç kısımları elipsoidal yapıda, yeşil ve nemlidir.

Konidiofor: Ana eksenden dallanmışlardır, ve hava hifi oluştururlar, yan dalların ucunda genelde fiyalidler bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Bulunmaz.

Klamidospor : Çok nadir gözlenmiştir, bulunanlar globoz veya subgloboz yapıdadırlar (Kuhls ve ark., 1999).



Şekil 1.9. Sırasıyla *T. citrinoviride* konidiası, konidioforu ve püstülü (Kuhls ve ark., 1999)

1.2.8. *Trichoderma crassum*

Konidia: Obovoid yapıda, yeşil renkte ve nemlidir.

Konidiofor: Düzensiz bir dallanma yapısı gözlenir, etrafında ampul şekilli fiyalidler kümesi bulunur.

Steril uzantı: Çok nadir bulunur.

Püstül: Bulunmaz.

Klamidospor: Bazı izolatlarda, terminalde ve aralarda bulunur, subgloboz veya elipsoidal yapıdadır (Lu ve ark., 2004).



Şekil 1.10. Sırasıyla *T. crassum* konidiası, konidiaforu ve steril uzantısı
(Lu ve ark., 2004)

1.2.9. *Trichoderma erinaceum*

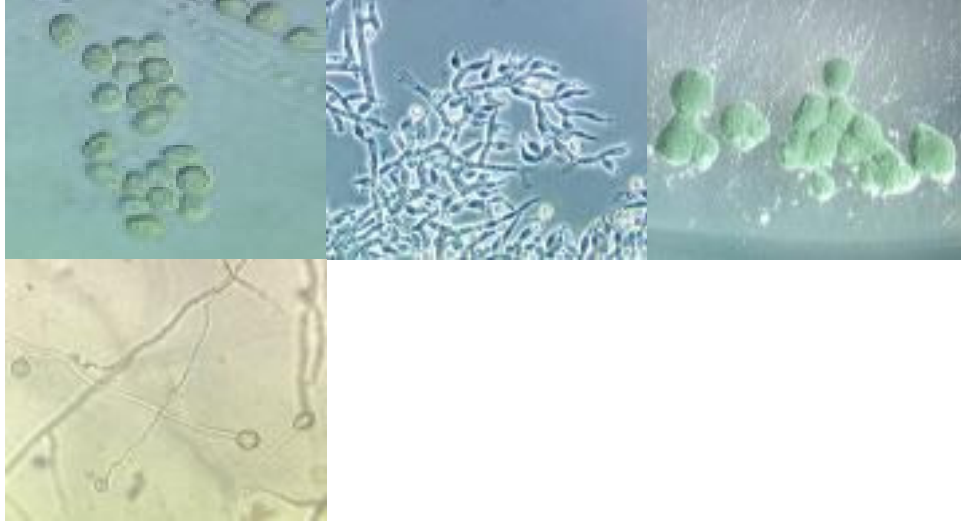
Konidia: CMDA üzerinde yeşil, bazen püstülleri sarı renkte, geniş elipsoidal yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Konidiafor dalları ana eksenden 90 ° 'lık bir açıyla gelişirler, kısa yan dallardan fiyalidler oluşturulur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: 2-3 gün içerisinde oluşur, yeşil, sarı renktedir ve besiyeri üzerinde konsentrik halkalar oluştururlar.

Klamidospor: Terminalde ve aralarda bulunur, globoz veya subgloboz yapıdadırlar (Chaverri, 2004).



Şekil 1.11. Sırasıyla *T. erinaceum* konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu (Chaverri, 2004)

1.2.10. *Trichoderma fasciculatum*

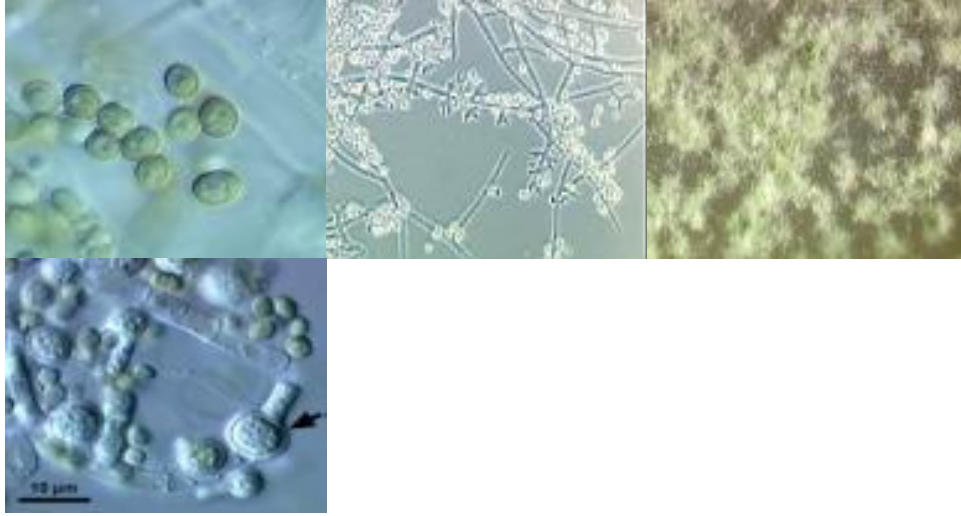
Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, geniş elipsoidal veya obovoid yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Bol hava hifi meydana getirirler.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Açık sarı renktedir.

Klamidospor: Terminalde veya interkalarda bulunabilir, elipsoidal ve subgloboza değişen yapıdadır (Chaverri ve ark., 2003).



Şekil 1.12. Sırasıyla *T. fasciculatum* konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu (Chaverri ve ark., 2003)

1.2.11. *Trichoderma fertile*

Konidia: Yeşil renkte, nemli ve elipsoidal yapıdadır.

Konidiofor: Ana ekseniden dallanmış tipik bir konidiafor yapısı gözlenir. Her terminalinde birkaç tane fiyalid bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Çok zayıf düzeyde saptanmıştır, sarı renktedir.

Klamidospor: Bulunmaz (Chaverri, 2004).



Şekil 1.13. *T. fertile* konidiası, konidiaforu ve püstülü (Chaverri, 2004)

1.2.12. *Trichoderma gamsii*

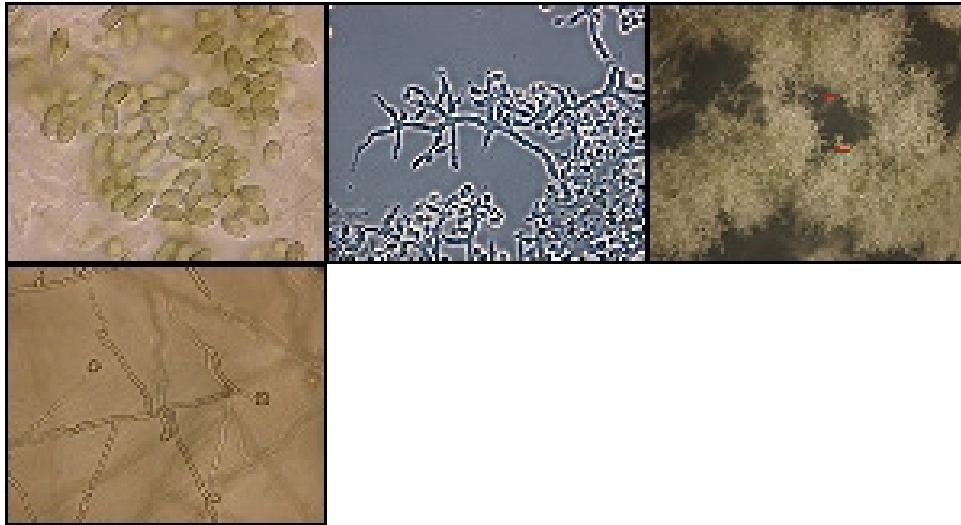
Konidia: CMDA üzerinde ilkönce yeşil renkte iken sarıya döner; dikdörtgen, elipsoidal veya dar ovoidal yapıdadır, nemli veya kuru olabilir.

Konidiofor: Besiyerine bağlı olarak 2 tipi mevcuttur. SNA (Special Nutrient Agar) besiyerinde kısa ve daha net görünürken, CMDA besiyerinde karmaşık bir görünüm mevcuttur, her ikisinde de fiyalidler bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: CMDA üzerinde 10 günde, 25 ° C'de ışıklı ortamda gelişirler, konidiaforların hava hiflerinden oluşturulan bu yapılar pamuksu, sarı, yeşil renktedirler, ortama yoğun bir hindistan cevizi kokusu yayarlar. SNA üzerinde, 25°C'de ışıklı ortamda 1 hafta içerisinde konsentrik halkalar oluşturarak gelişirler, başlangıçta sarı renkte iken sonradan yeşile dönerler.

Klamidospor: Terminaldeki hiflerde bulunur, subgloboz yapıdadır (Samuels, 2006).



Şekil 1.14. Sırasıyla *T. gamsii* konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu (Samuels, 2006)

1.2.13. *Trichoderma ghanense*

Konidia: Dar elipsoidal yapıda veya yumru şeklinde, nemli, yeşil renktedir.

Konidiofor: Tipik bir konidiafor yapısı gözlenir, kısa yan dalların ucunda fiyalidler bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Bulunmaz.

Klamidospor: Pek gözlenmemiştir, subglobozdan globoza değişir, terminalde veya aralarda bulunabilir (Samuels, 2006).



Şekil 1.15. Sırasıyla *T. ghanense* konidiası ve konidioforu (Samuels, 2006)

1.2.14. *Trichoderma hamatum*

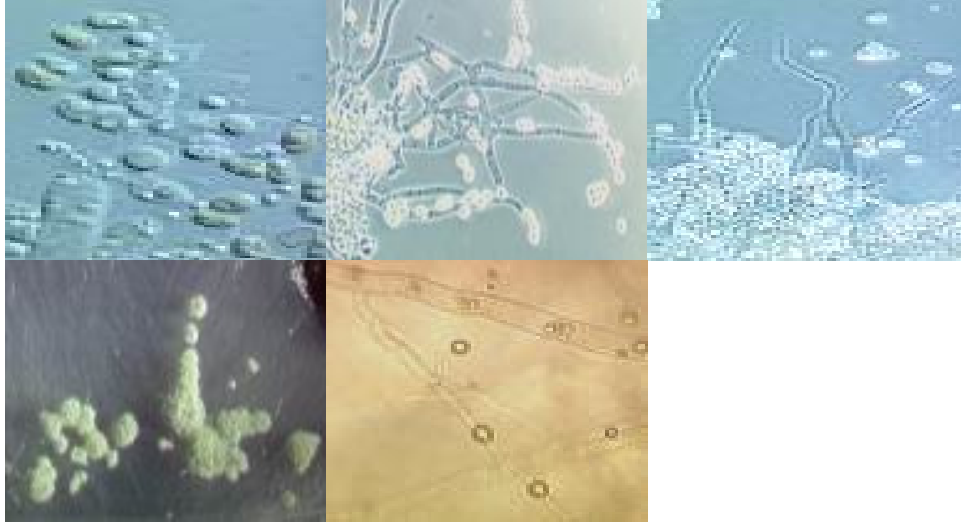
Konidia: Kenarları düz elipsoidal yapıda, yeşil renkte ve nemlidir.

Konidiofor: Ana ve yan dalları geniştir, kısa yan dallar üzüm salkımını andıran ovoidal fiyalidlerle çevrelenmiştir.

Steril uzantı: Düz ince yapılı ve kısa yan dallardan çıkarlar.

Püstül: CMDA üzerinde bol miktarda ve dağınıktır.

Klamidospor: Subglobozdan globoza değişir, terminalde veya aralarda bulunabilir (Lu ve ark., 2004).



Şekil 1.16. Sırasıyla *T. hamatum* konidiası, konidioforu, steril uzantısı, püstülü ve klamidosporu (Lu ve ark., 2004)

1.2.15. *Trichoderma harzianum*

Konidia: Küresel, ovoidal yapıda, yeşil ve nemlidir.

Konidiofor: Ana eksenden geniş yan dallar uzamıştır, hücreler fiyalidlerle desteklenmiştir.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Pamuksu ve yeşil görünümde olup genelde yaşlanmış kültürlerinde yoğun gözlenir.

Klamidospor: Birçok kültüründe gözlenmemekle birlikte, hiflerin terminal veya interkalarında bulunur, subglobozdan globoza değişir (Samuel ve ark., 2002).



Şekil 1.17. Sırasıyla *T. harzianum* konidiası, konidioforu ve püstülü (Samuel ve ark., 2002)

1.2.16. *Trichoderma koningii*

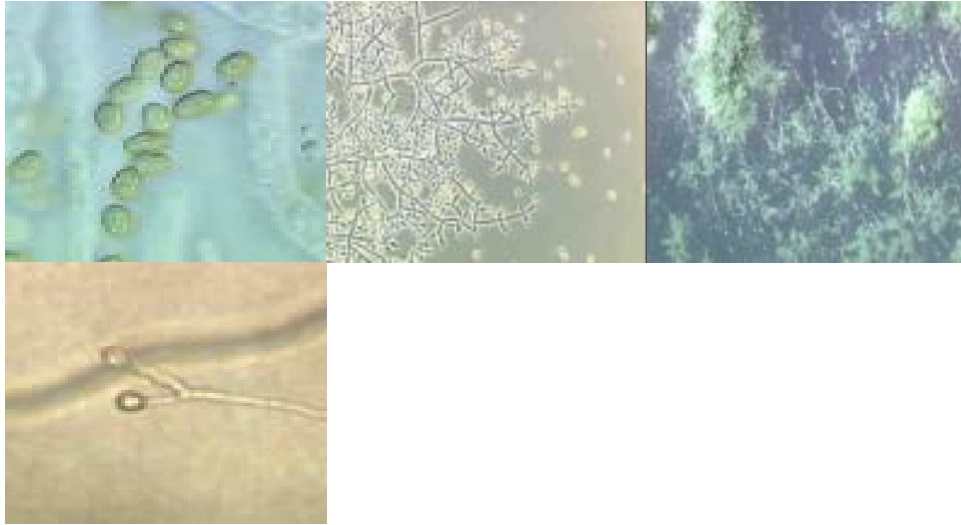
Konidia: Kenarları düz uç kısmı elipsoidal yapıda, CMDA üzerinde yeşil renkte ve nemlidir.

Konidiofor: Bütün konidiaforları hava hifi meydana getirir, ana eksen boyunca ince fiyalidler bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Pamuksu görünümündedir.

Klamidospor: Bütün suşlarında bulunmamakla birlikte; bulunan suşların terminalinde globozdan subgloboza değişen yapıdadır (Lieckfeldt ve ark., 1999).



Şekil 1.18. Sırasıyla *T. koningii* konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu (Lieckfeldt ve ark., 1999)

1.2.17. *Trichoderma koningiopsis*

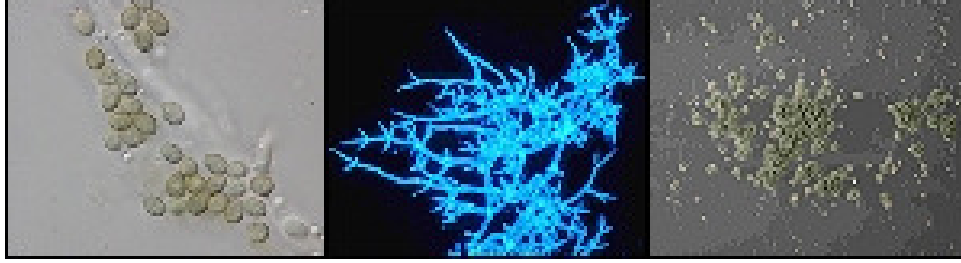
Konidia: Koyu yeşil, bazen sarı renkte, elipsoidal yapıda, kuru veya nemlidir.

Konidiofor: Terminalinde dallanmalar çok azdır, dallar arasında uzun ve geniş internodlar bulunur, dallar ana ekseninde 90 °'den daha dar bir açıyla çıkarlar, geniş dallar tabana yakındır, bütün fertil dallarında fiyalidler bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Pamuksu görünümündedir.

Klamidospor: Besiyeri üzerinde 1 hafta da oluşurlar, terminalde veya interkalarda bulunur, globozdan subgloboza değişen yapıdadır (Samuels, 2006).



Şekil 1.19. Sırasıyla *T. koningiopsis* konidiası, konidioforu ve püstülü (Samuels, 2006)

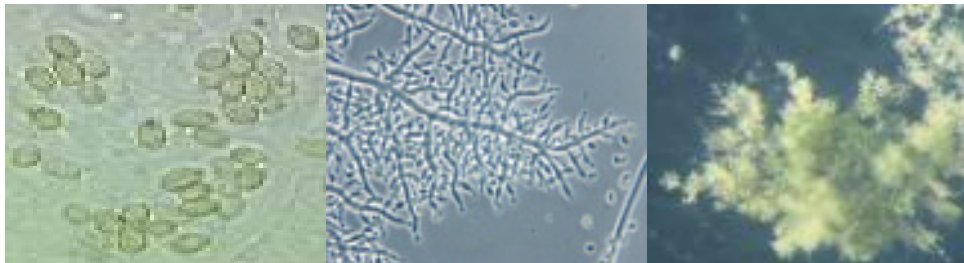
1.2.18. *Trichoderma longibrachiatum*

Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, kenarları düz dar elipsoidal yapıda, nemlidir. Konidiofor: Ana eksenden çok yoğun ve güçlü bir şekilde çıkarlar, fiyalidler sekonder dalların etrafında bulunurlar.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: CMDA üzerinde görülmemekle birlikte; konidia etrafında çok küçük yapılar gözlenmiştir.

Klamidospor: Terminalde bulunur, globozdan subgloboza değişen yapıdadır (Kuhls ve ark., 1999).



Şekil 1.20. Sırasıyla *T. longibrachiatum* konidiası, konidiforu ve püstülü (Kuhls ve ark., 1999)

1.2.19. *Trichoderma minutisporum*

Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, elipsoidal yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Yan dallarının terminalinde veya arasında üzüm salkımını andıran kümelenmiş fiyalidler bulunur, dallar arasındaki internodlar genelde kısa olmakla birlikte fiyalidleri oluşturanlar uzun olabilir.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Konidiaforların kısa kollarından oluşturulurlar, yaşlı kültürlerde zaman geçtikçe püstül oluşturma yeteneği azalmaktadır.

Klamidospor: Bütün suşlarında gözlenmemekle birlikte; gözlenen suşların terminalinde veya interkalarında, globozdan subgloboza değişen yapıdadır (Lu ve ark., 2004).



Şekil 1.21. Sırasıyla *T. minutisporum* konidioforu ve püstülü
(Lu ve ark., 2004)

1.2.20. *Trichoderma oblongiosporum*

Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, kenarları düz elipsoidal yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Geniş yan dallarının etrafında kümelenmiş fiyalidler bulunur.

Steril uzantı: Düz ve sık dallanmıştır.

Püstül: Besiyeri üzerinde çok yoğun bulunmakla birlikte; sarı-yeşil renk arasında geçiş gösterir.

Klamidospor: Bulunmaz (Samuels, 2006).



Şekil 1.22. Sırasıyla *T. oblongiosporum* konidiası, konidioforu ve püstülü (Samuels, 2006)

1.2.21. *Trichoderma ovalisporum*

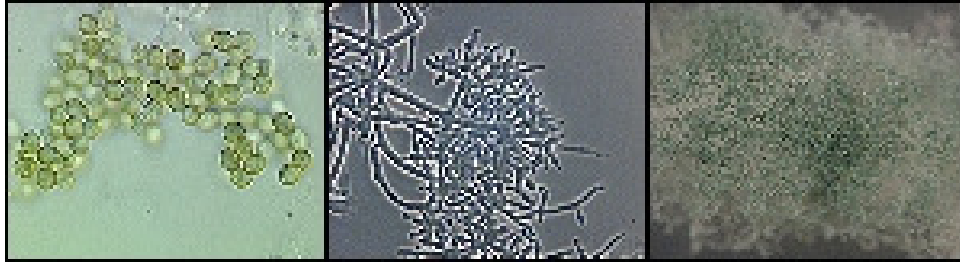
Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte; ovoidal, dar elipsoidal veya küresel yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Ana eksenden uzakta yan dallardan oluşur, fiyalidler primer dallardan sekonder dallara göre daha çok üretilir.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Pamuksu, gri-yeşil renktedir.

Klamidospor: Subgloboz yapıda klamidosporlar saçar (Samuels, 2006).



Şekil 1.23. Sırasıyla *T. ovalisporum* konidiası, konidioforu ve püstülü (Samuels, 2006)

1.2.22. *Trichoderma polysporum*

Konidia: CMDA üzerinde beyaz veya yeşil renkte, elipsoidal yapıda ve nemlidir.

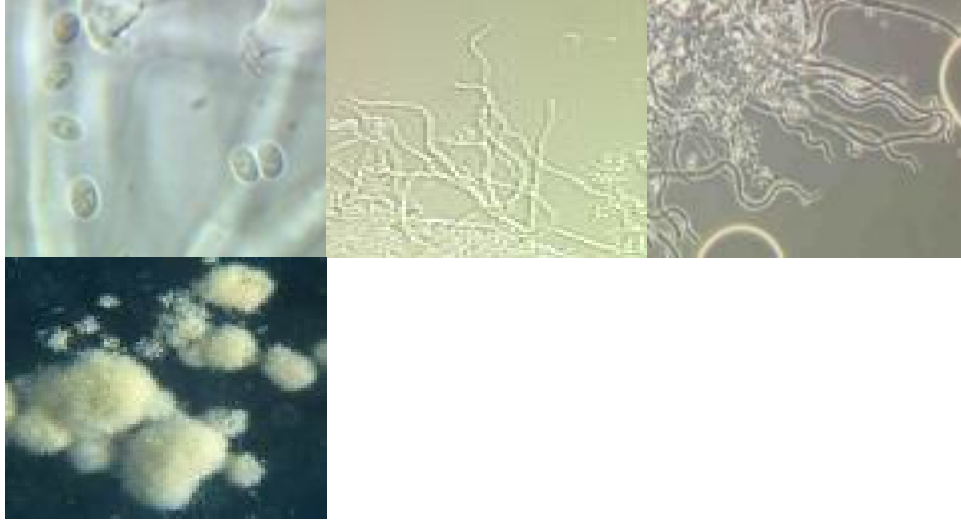
Konidiofor: Uç kısımları spiral şeklindedir, fertil dalları steril dallara göre daha

uzundur, fiyalidler kısa dalların tabanında toplanmıştır.

Steril uzantı: Uzun spiral şekilli ve bölmelidir.

Püstül: Besiyerinde beyazdan sarı renge dönüşür.

Klamidospor: Bulunmaz (Lu ve ark., 2004).



Şekil 1.24. Sırasıyla *T. polysporum* konidiası, konidioforu, steril uzantısı ve püstülü (Lu ve ark., 2004)

1.2.23. *Trichoderma pseudokoningii*

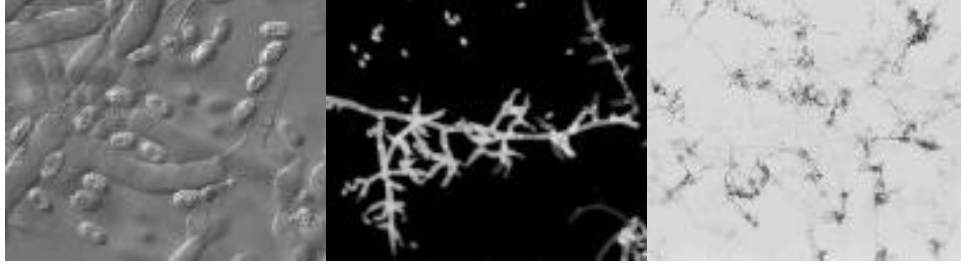
Konidia: CMDA üzerinde yeşil, dikdörtgenimsi ve nemlidir.

Konidiofor: Bir ana eksen etrafındaki kısa yan dallardan oluşurlar, zayıf yapıdadır, fertil dallarından çok sayıda hava hifi ve fiyalidler oluştururlar, sekonder dallarda tek bir tane veya 2-3 tane fiyalid oluşur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Pamuksu çok küçük yapılar gözlenmiştir.

Klamidospor: Tüm soylarında gözlenmemekle birlikte, gözlenenlerde globozdan subgloboza değişen yapıda terminalde veya interkalarda bulunur (Samuels, 2006).



Şekil 1.25. Sırasıyla *T. pseudokoningii* konidiası, konidioforu ve püstülü (Samuels, 2006)

1.2.24. *Trichoderma pubescens*

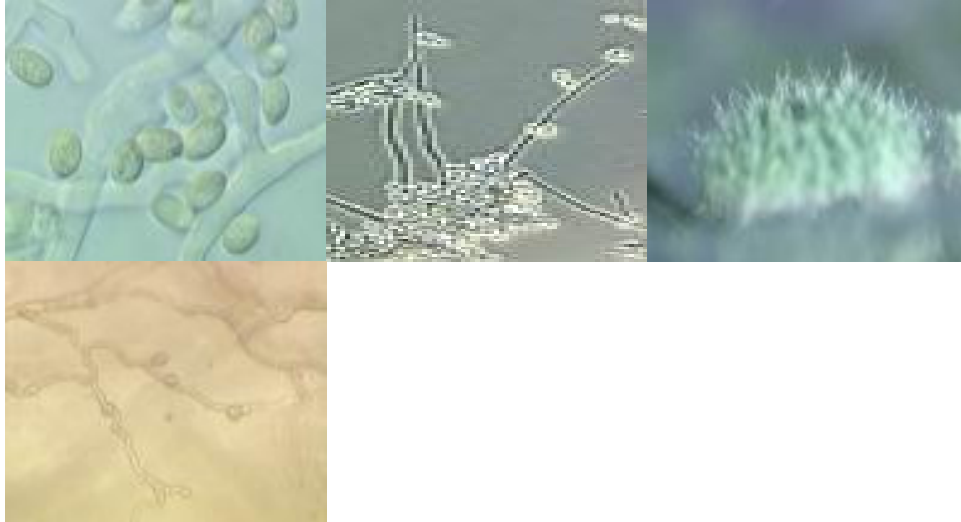
Konidia: Elipsoidal yapıda, yeşil renkte ve nemlidir.

Konidiofor: Fiyalidlerin kümelenmiş olduğu taban kısmından steril dallar uzanır.

Steril uzantı: Püstülün ilerisinde bulunur, dallanmamış, ince ve uzundur.

Püstül: Yeşil renklidir, püstül kolayca besiyerinden uzaklaşır.

Klamidospor: Besiyerinde 1 hafta içerisinde oluşur, hiflerin interkalarında yer alır, subgloboz yapıdadır (Samuels, 2006).



Şekil 1.26. Sırasıyla *T. pubescens* konidiası, steril uzantısı, püstülü ve klamidosporu (Samuels, 2006)

1.2.25. *Trichoderma reesei*

Konidia: Kenarları düz elipsoidal yapıda, yeşil renkte ve nemlidir.

Konidiofor: Uzun hava hifleri oluştururlar, uzun ana eksen dallarının uç noktalarının yakınlarında ve aralarda fiyalidler bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Birçok suşunda gözlenmemiştir, gözlenenlerde çok zayıftır.

Klamidospor: Hiflerin terminalinde subglobozdan globoza değişen yapıdadır. (Lieckfeldt ve ark., 2000).



Şekil 1.27. Sırasıyla *T. reesei* konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu (Lieckfeldt ve ark., 2000)

1.2.26. *Trichoderma saturnisporum*

Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, elipsoidal, tüberküler yapıda olup geniş tüberküler şeklinden dolayı sanki kanat gibi görülür.

Konidiofor: Hava hifi oluştururlar, zayıf bir püstül yapısı gözlenir, asimetric dallara sahiptir, dallardan fiyalidler oluşturulur.

Steril uzantı: Çok nadir görülür.

Püstül: Zayıf pamuksu bir görünümdedir.

Klamidospor: Sık bulunmaz, terminal ve interkalarda bulunur, terminalde olduğu zaman globozdan subgloboza değişen yapıda olup, interkalarda olduğu zaman elipsoidal yapıdadır (Samuels, 2006).



Şekil 1.28. Sırasıyla *T. saturnisporum* konidiası ve konidioforu (Samuels, 2006)

1.2.27. *Trichoderma spirale*

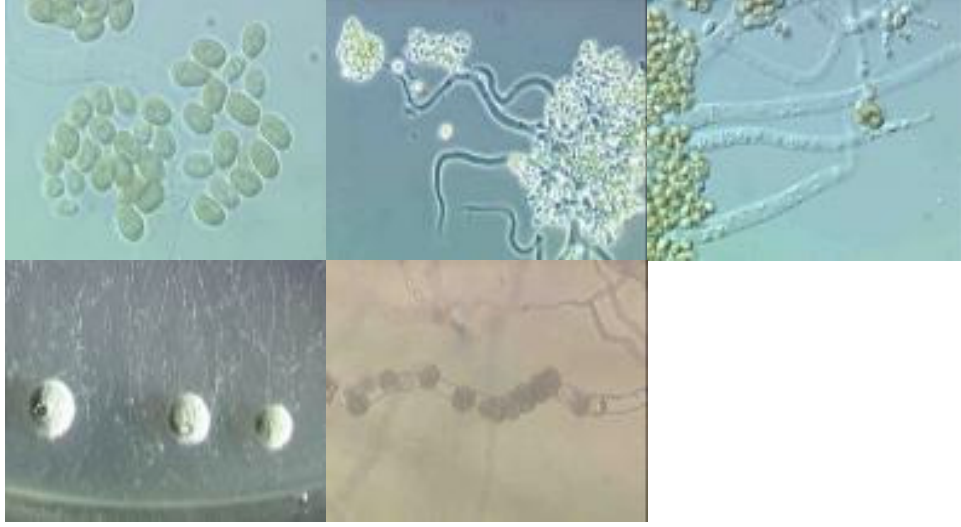
Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, dikdörtgenimsi dar elipsoidal yapıda olup nemlidir.

Konidiofor: Geniş fertil dallara sahiptir, üzüm salkımını andıran çok sayıda fiyalidler bulunur.

Steril uzantı: Spiral şeklinde, ince, çok nadir dallanmış şekildedir.

Püstül: Subgloboz yapıda, gri-yeşil renkli, kültürden çok kolay yapıda ayrılabilir.

Klamidospor: İnterkalarda subglobozdan globoza değişen yapıdadır (Samuels, 2006).



Şekil 1.29. Sırasıyla *T. spirale* konidiası, konidioforu, steril uzantısı, püstülü ve klamidosporu (Samuels, 2006)

1.2.28. *Trichoderma strictipile*

Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, elipsoid yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Uç kısmından uzayan uzun steril veya fertil dallar dallanmış veya dallanmamış yapıda olup, fertil dallarının terminalinde 1-2 fiyalid bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Pamuksu görünümde, yeşil renktedir.

Klamidospor: Bulunmaz (Samuels, 2006).



Şekil 1.30. Sırasıyla *T. strictipile* konidiası, konidioforu ve püstülü (Samuels, 2006)

1.2.29. *Trichoderma strigosum*

Konidia: CMDA üzerinde griden yeşile dönen renkte; dikdörtgenimsi yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Ana dallardan 90° lik açıyla çıkan fertil dallardan veya sekonder dallardan fiyalidler oluşturulur.

Steril uzantı: Çok nadir bulunur.

Püstül: Sarı-yeşil renktedir.

Klamidospor: Bulunmaz (Samuels, 2006).



Şekil 1.31. Sırasıyla *T. strigosum* konidiası, konidioforu ve püstülü (Samuels, 2006)

1.2.30. *Trichoderma stromaticum*

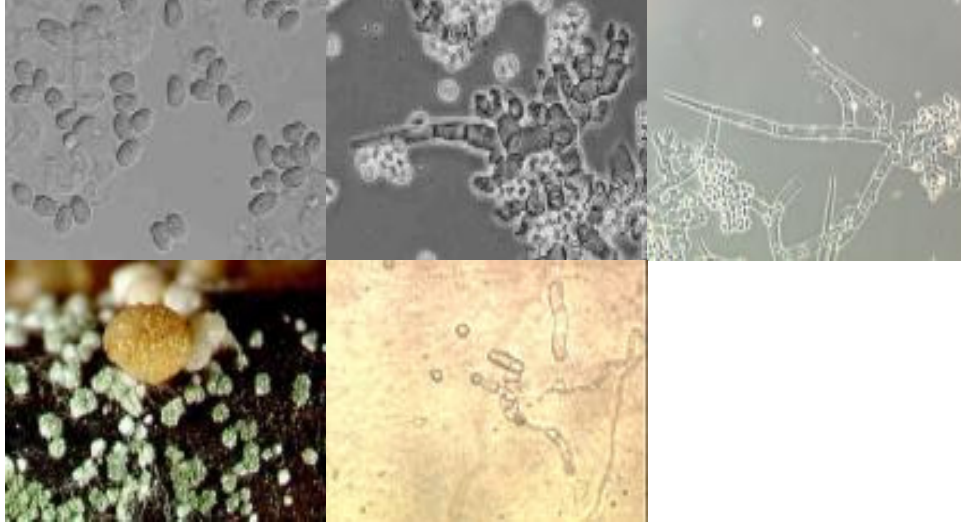
Konidia: CMDA üzerinde beyaz renkten yavaş yavaş sarı ve yeşile doğru geçiş yapar, elipsoidal ve nemlidir.

Konidiofor: Septalı, düz, çoğunlukla dallanmamış yapıdadır, steril veya fertil uzantıları mevcuttur, yan dallardan fiyalidler üretilir.

Steril uzantı: Kısa uzantılara sahiptir.

Püstül: Yavaş yavaş beyazdan sarı renge, sarıdan gri-yeşil renge döner.

Klamidospor: Terminalde veya interkalarda bulunabilir, subgloboz yapıdadır (De Souza ve ark., 2003).



Şekil 1.32. Sırasıyla *T. stromaticum* konidiası, konidioforu, steril uzantısı, püstülü ve klamidosporu (De Souza ve ark., 2003)

1.2.31. *Trichoderma tomentosum*

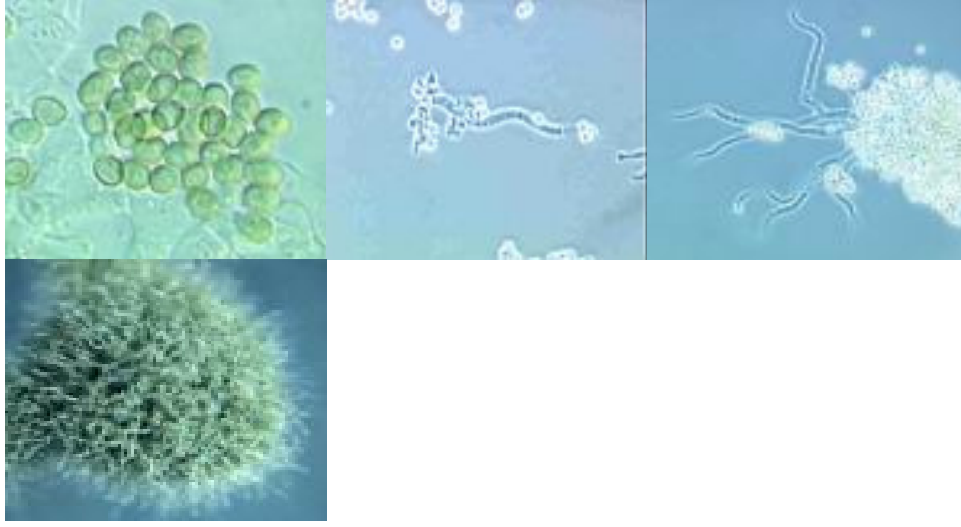
Konidia: Yeşil-gri renkte, geniş elipsoidal yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Çok fazla düzeyde dallanma görülmez, sade bir görüntüsü vardır, yan dalları geniştir, birincil ve ikincil dalların etrafında fiyalidler toplanmıştır.

Steril uzantı: Spiral şeklinde, çok nadir düzeyde dallanmış, ince ve septalıdır

Püstül: Yeşil renktedir, besiyerinden kolayca ayrılır.

Klamidospor: Terminalde veya interkalarda bulunabilir, subglobozdan globoza değişen yapıdadır (Samuels, 2006).



Şekil 1.33. Sırasıyla *T. tomentosum* konidiası, konidioforu, steril uzantısı ve püstülü (Samuels, 2006)

1.2.32. *Trichoderma virens*

Konidia: CMDA üzerinde yeşil renkte, geniş elipsoidal veya obovoid yapıda ve nemlidir.

Konidiofor: Bol hava hifi meydana getirirler.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Açık sarı renktedir.

Klamidospor: Terminalde veya interkalarda bulunabilir, elipsoidal dan subgloboza değişen yapıdadır (Chaverri ve ark., 2001).



Şekil 1.34. Sırasıyla *T. virens* konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu (Chaverri ve ark., 2001)

1.2.33. *Trichoderma viride*

Konidia: CMDA üzerinde koyu yeşil; subglobose veya dikkat çekici bir şekilde tüberküler yapıdadır.

Konidiofor: Uzun ve esnek bir merkezi eksene sahiptir, terminalinde birkaç fiyalid bulunur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Koyu yeşil renktedir, besiyerinden kolayca ayrılmaz.

Klamidospor: Globozdan subgloboza değişen yapıdadır (Jaklitsch ve ark., 2006).



Şekil 1.35. Sırasıyla *T. viride* konidiası, konidioforu ve püstülü (Jaklitsch ve ark., 2006)

1.2.34. *Trichoderma viridescens*

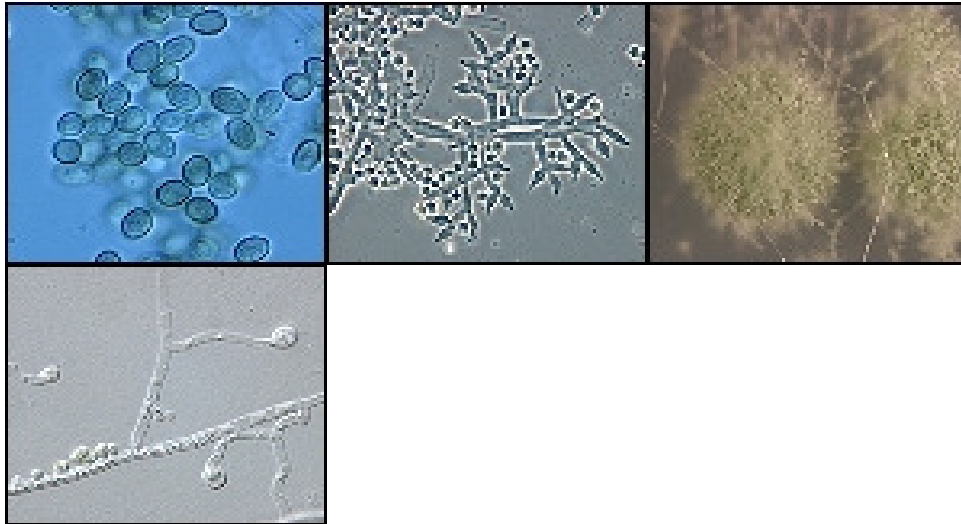
Konidia: Kümeler halinde yeşil renkte; subglobose, ovoidal şekilli ve kurudur.

Konidiofor: Besiyerine bağlı olarak 2 tipi görülür. SNA besiyerinde tipik *Trichoderma* yapısı görülür. CMDA 'da kolay fark edilir bir görüntü oluşmaz, ana hife göre yan dallar dar bir açıyla oluşur.

Steril uzantı: Bulunmaz.

Püstül: Genellikle sarı renktedir bazen sarıdan yeşile dönebilir.

Klamidospor: Daha çok terminalde nadiren interkalarda bulunur, subgloboz yapıdadır (Samuels, 2006).



Şekil 1.36. Sırasıyla *T. viridescens* konidiası, konidioforu, püstülü ve klamidosporu (Samuels, 2006)

1.3. *Trichoderma* Cinsinin Yeşil Küf Hastalığına (Green Mold Disease) Neden Olan Türleri

Yeşil küf hastalığına neden olan etmenlerin bazıları parazit bazıları da rekabet fungusu olarak zarar yapmaktadırlar. Yeşil küf etmeni olarak bilinen türler arasında *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma koningii* Oudem, *Trichoderma viride* Pers.ex.Gray, *Trichoderma pseudokoningii*, *Trichoderma aureoviride* yer almaktadır.

Yeşil küfe neden olan etmenlerin hepsi toprak kökenli funguslardır. Tek hücreli ve çok sayıda oluşan eşeysiz sporları rüzgar, hava akımı, böcek ve diğer yollarla kolayca yayılabilmektedir (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).

1.4. *Trichoderma* sp. Varlığının Belirtileri

Küf mantarında yeşil küf hastalığının belirtisi etmene göre değişmekle beraber genellikle örtü toprağı üzerinde yeşil veya beyaz renkli, iç içe ya da dağınık fungus kolonileri şeklinde ortaya çıkar. Bazı durumlarda özellikle mantar dokusu yaralanmış ise mantar şapkaları üzerinde açık kahverengi lekeler görülebilir. Yeşil küfe neden olan etmenlerden *Trichoderma viride*; kültür mantarı ile besin ve yer yönünden rekabet eder ve kompost, örtü toprağı, torba ya da mantar dokusu üzerinde yeşil renkli miselyum oluşturur. *Trichoderma koningii* ise; büyüyen mantar dokuları üzerinde pamuksu beyaz bir miselyum tabakası halinde gelişir ve ıslak, çürüklük benzeri bir belirti oluşturur (OEPP/EPPO.,1994). *Trichoderma harzianum* ise; kompostta mantar miselini parazitleyerek ciddi verim kayıplarına neden olabilir. Ayrıca kırmızı biber akarı olarak bilinen ve *Trichoderma* spp. ile beslenen hem de taşıyan *Pygmephorus sellnicki*'nin kompostta yada örtü toprağında bulunması *Trichoderma harzianum* başta olmak üzere *Trichoderma* spp.'nin ortamda varlığının bir işaretidir (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).

1.5. *Trichoderma* Cinsi İle Enfekte Olabilen Endüstriyel Mantar Türlerinin *Trichoderma* Türleriyle Kontaminasyonunun Nedeni

Yenilebilir mantar kültürleri üzerinde kontaminant mantarların negatif bir etki yaptığı çok öncelerden beri bilinir ve bunlarla ilgili yıllar süren çalışmalar yapılmıştır (Andrade ve Graciolli,2005; Beyer ve Kremser, 2004;Chen; Jandaik ve ark., 2004; Kalberer, 2001; Nascimento ve Eira, 2003).

Trichoderma, mantar kültürleri endüstrisinde ciddi bir problemdir ve mantarlarda yeşil küf hastalığı olarak bilinir. Kültür mantarlarına bu parazit geldiği zaman mantar yüzeyinde genellikle yeşil renkli küfler gelişir ve gözle görülür bir

düzeyde deformasyona uğratarak çirkin bir görüntü oluşturur (Volk, 2004)

Yeşil küf etmeni *Trichoderma* türleri; özellikle kompost hazırlık süresi kısa tutulmuş ve kompost içerisinde basit şekerler parçalanmamışsa, pastörizasyon yetersiz ve kompost nemli ise kolayca ve hızlı bir şekilde gelişip yayılabilirler (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).

Trichoderma spp.'ler ile enfekte olabilen en önemli endüstriyel mantar türleri *Ganoderma lucidum*, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Agaricus blazei* gibi ticari açıdan çok büyük öneme sahip kültür mantarlarıdır. Yapılan araştırmalar *Trichoderma spp.* kontaminasyonunun parazit biyolojik aktivitesinin yanı sıra kültür mantarların kültüre alınma aşamalarında uygulanan bazı eksik ve yanlış uygulamalar sonucunda gerçekleştiğini açıklamaktadır (Volk, 2004). Kontaminasyonun belli başlı en önemli nedenleri; kompost formülasyonunun yetersizliği, kirli kompost, içerikteki yüksek nitrojen ve hem havadaki hem de komposttaki nem seviyesinin fazlalığından ileri gelmektedir. Ayrıca yetersiz hava girişi ve sirkülasyon ortamdaki kontaminant ajan varlığını daha da tetiklemektedir. Bütün bu prosedür hataları kompost içeriğinde amonyak bileşenlerinin yükselmesine neden olur (Andrade ve ark., 2007). Sterilizasyon aşamasından sonra kompost içindeki serbest amonyanın salınımı (Bels Koning; Davis, 1938), kültür mantarının miseli için toksik olmakla birlikte parazit mantarların gelişimini destekler (Sinden, 1971) ve kültür mantarlarında yeşilimsi görünümde parazitlerin üremesine neden olur (Griesven, 1988; Minhoni ve ark., 2005; Vedder, 1996) ve sonuçta parazit mantarlar için uygun bir ortamı hazırlarken kültür mantarlarının kolonizasyon ve meyve verme aşamalarında verimliliği azaltır (Andrade ve ark., 2007).

1.6. *Trichoderma* Cinsinin Kültür Mantarları Üzerindeki Etki Mekanizması

Kültür mantarlarında kullanılan besiyeri yani kompost; kontaminant mantarlarının aktivasyonun yüksek düzeyde olmasını sağlayan bir içeriktir. Kontaminant mantarların bu içeriği kullanması sonucu ortama saldığı kimyasal maddelerle ürünler enfekte edilir. Ortama salınan kimyasal maddelerle birlikte besin ve yer açısından rekabet sonucu kültür mantarlarının verimliliği % 90 oranında azalmaktadır (Andrade ve ark., 2007).

Trichoderma gibi saprofitik mantarların karbon kaynaklarını metabolize etme yetenekleri yüksektir (Danielson ve Davey, 1973). Doğada kompleks halde bulunan organik materyalleri karbon kaynağı olarak kullanır. Özel glukanolitik enzimleri sayesinde selüloz, kitin, ksilan, pektin gibi polisakkarit molekülleri kolayca parçalayabilirler (Dix ve Webster., 1995; Klein ve Eveleigh., 1998). Bu misel paraziti, kültüre alınmış mantarların ortamında çok iyi gelişirler, çünkü *Trichoderma* türleri sıkı çalışan ekzoenzimlerinden faydalanarak substratı (Kültür mantarlarının yüzeyi) parçalar. *Trichoderma* salgıladığı selülaz (selüloz parçalayıcı ekzoenzim) ve kitinaz (kitin parçalayıcı ekzoenzim) enzimlerinden dolayı diğer mantarların ve bitkilerin paraziti olabilir. *Trichoderma* ürettiği selülazdan dolayı bir glikoz polimeri olan selülozla örtülü odunlar üzerinde doğrudan gelişerek; kitinazdan dolayı doğada sıklıkla mantarların misel ve meyvaların hücre duvarını saran n-acetyl-glucosamin polimeri olan kitini parçalayarak parazitik etkisini gösterir (Volk, 2004). *Trichoderma* hidrolitik enzimleri sayesinde konağın hücre duvarını parçalar, hücre duvarı sentezini engeller (Lorito ve ark., 1996), hücrenin gelişimini, primer moleküllerin üretimini ve besin alımını sınırlandırır (Howell, 1998; Wilcox ve ark., 1992).

1.7. Kültür Mantarı Üretiminde Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

Mantar üretim metodları iyi düzeyde tanımlanmış olmakla birlikte istikrarlı bir şekilde daha yüksek ürün eldesi için oldukça çaba gösterilmektedir.

Ekonomik önemi olan kültür mantarlarını geliştirme isteği fungal fizyoloji ve parazitlerden korunmayla yakından ilgili olarak en iyi teknikleri kullanılmasıyla gerçekleşir (Townesley, 1974).

Mantar kültürlerinin devamlılığı yetiştirildiği ortamın geçerliliğine (örneğin; biyolojik veya kimyasal gübrelerin, bitki materyalleri gibi kullanılan substratların çeşidine ve miktarına) ortamdaki parazit mantarlarla birlikte besin ve yer açısından rekabet eden diğer organizmalar (Brown, 1937) gibi ürün kaybına neden olan etmenlere dayanıklılığına bağlıdır (Lambert ve Ayers, 1953; Tautorius ve Townesley, 1983).

Genel olarak kültür mantarı üretiminde ürün kaybının sebepleri; fungal, bakteriyal, viral hastalıklar, mikrobik olmayan bozukluklar ve diğer zararlılardır (sinekler, nematodlar, akarlar). Kültür mantarı üretiminde özellikle hastalıkların ortaya çıkışından sonra yapılacak mücadele oldukça güçtür, aynı ifadeyi kısmen zararlılar için de kullanabiliriz. Bu sebeple en uygun tavır gerekli önlemleri önceden alıp bu kayıpları yaşamamaktır.

1.8. *Trichoderma* Cinsi Küf Mantarlarıyla Mücadele

1.8.1 Kültürel Önlemler

Hastalığın kontrolünde hijyenik tedbirlerin alınması mutlaka gereklidir. Hijyenik tedbirlerin esasını, örtü toprağının usulüne göre pastörize edilerek (58-60°C'de 6-8, 65-70°C'de 3 saat) mikroorganizmalardan arındırılmış örtü toprağının kullanılması ve üretim dönemi boyunca dışarıdan gelebilecek her türlü bulaşmanın engellenmesi teşkil eder (OEPP/EPPO., 1994).

Buna göre mantar işletmelerinde alınması gereken başlıca kültürel önlemler aşağıda sıralanmıştır.

- Tohumluk olarak kullanılacak misel mutlaka temiz olmalıdır (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).
- Misel kompostu yeterince sarmamışsa örtü toprağına soya unu v.b. ek besin maddeleri karıştırılmamalı (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).

- Üretim yerlerine giren ve çıkan hava uygun spor filtreleri ile filtre edilmeli (OEPP/EPPO., 1994).
- Kapı girişlerine %1'lik formaldehit solüsyonu ile ıslatılmış sentetik köpük hasır, sünger veya çuvallar konulmalı (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).
- Çalışma koridorları ve odalar her gün temizlenmeli %1'lik formaldehit ile düzenli olarak dezenfekte edilmeli (OEPP/EPPO., 1994).
- Üretim alanları fare, sinek ve kırmızı örümcek gibi zararlılara karşı korunmalı (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).
- Misel ekimi ve toplamada kullanılan makine ve diğer aletler bir odadan diğerine geçişte %1'lik formaldehit ile dezenfekte edilmeli (OEPP/EPPO., 1994).
- Üretim alanlarındaki bakım ve hasat işlerinde çalışanların elleri ve giysilerinin temiz olmasına özen gösterilmeli (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).
- Üretim devreleri arasında yataklar temizlenmeli(OEPP/EPPO., 1994).
- Her sulamadan sonra mantar yüzeylerinin ıslak kalmaması için düzenli havalandırma yapılmalı (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).
- Oda sıcaklığı üretim döneminde 18 °C'nin üzerine çıkmamalı (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).
- Üretim dönemi boyunca ve sonunda kompost, toprak, artık mantar parçaları gibi kalıntılar torbalara konularak işletmeden uzaklaştırılmalı (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).
- Yetiştirme dönemi sonlarında üretim odaları içindekilerle birlikte 12 saat 70°C de tutulmalıdır(OEPP/EPPO., 1994).
- Her flaş alımından sonra üretime 7 gün ara verilmeli, CO2 konsantrasyonu 5000-7000 ppm arasında olmalı (OEPP/EPPO., 1994).

1.8.2. Kimyasal Mücadele

Gerekli hijyenik tedbirlerin ve diğer kültürel önlemlerin alınması hastalık çıkışını büyük ölçüde engellemekte ise de çeşitli nedenlerle hastalığın görüldüğü veya önceki üretim dönemlerinde hastalığın zarar oluşturduğu durumlarda kimyasal mücadeleye başvurulabilir (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).

Ancak kimyasal maddelerin, pestisitlerin kullanımı diğer tüm yöntemlerin kullanımından sonra son çare olarak seçilmelidir. Bu maddelerin insanlar üzerindeki toksik etkileri göz önünde tutularak ilaçlama sırasında mutlaka maske, eldiven gibi araçlar kullanılarak özellikle kontak etkili ilaçlar ile temastan kaçınılmalıdır. Mantar hastalık zararlıları ile mücadelede kullanılan kimyasal maddeler diğer tarımsal faaliyetlerdeki gibi insektisit, fungusit, bakterisit, nematosit akarisitler olarak sınıflandırılabilir.

Yeşil küf hastalığına karşı kimyasal mücadele; kompostun veya örtü toprağının ilaçlanması şeklinde yapılmalıdır. Bakanlıkça bu konuda ruhsatlı olan Bitki Koruma Ürünleri kitabında tavsiye edilen ilaçlar ve dozları kullanılır. İlaçlamada ilaçlanacak alan dikkate alınarak motorlu pülverizatör kullanılmalıdır. Örtü toprağı ilaçlamasında; ilaçlar 15 l/ton su ile yığına püskürtülür. İlaçlama esnasında yığın en az 3 defa aktarılmalı ve homojen karışım sağlanmalıdır (Zirai mücadele teknik talimatı, 2007).

1.8.3. Diğer Koruma Yöntemleri

Mantar üretim işletmelerinde sinek mücadelesinde yapışkan şeritler ve özel lambalar kullanılmaktadır. Yapışkan şeritlerin hazırlanmasında sinekler için zehirli olan kimyasallarla gene sineklerin ilgisini çeken besin çözeltileri karıştırılarak kullanılır.

1.9. *Bacillus* Cinsi Bakteriler Hakkında Genel Bilgi

Bacillaceae familyası içerisinde iki önemli bakteri grubu yer alır; *Bacillus* ve *Clostridium* türleri. *Bacillus* grubu 50 tür ile en büyük grubu oluşturmaktadır. Burada en iyi bilinen türler; *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis*'dir. Bunların rRNA dizilerine bakılarak üç tür grupları belirlenmiştir; “ *Bacillus subtilis* grup “ , “ *Bacillus cereus* grup “ ve “ *Bacillus circulans* grup “ (Logan ve Turnbull, 1999).

Bacillus cinsi bakteriler çubuk şeklinde düz ya da düze yakın hücrelerdir. Çoğu kötü şartlara dirençlidir, peritrik flagellalı ve flagellaları hareketlidir. Aerobik veya fakültatif anaeroburlar (Buchanan ve Gibbons, 1974). Beklemiş kültürlerde bakterinin gram ile boyanma özelliği değişken olabilir ve gram negatif olabilirler.

Bacillus' ların, rutin besi yerlerindeki koloni morfolojisi bakteri türüne göre farklılık gösterir. *Bacillus cereus* grubunda yer alan bakterilerin, koloni özellikleri oldukça değişken olmasına rağmen yine de tanınabilir. Genellikle büyük koloniler (2-7 mm çapında) oluştururlar, koloni sirküler veya düzensiz olabilir, bazen de saç şeklinde "meduza basini" andıran bir görünümde olabilir. Koloniler mat veya granüler yapıdadır. *Bacillus*' ların alt tür düzeyinde identifikasyonları, bakteri morfolojisi, biyokimyasal ve fizyolojik testlerle mümkün olmaktadır (Doganay).

Endospor oluştururlar, vegetatif hücreler 0.5x1.2 µm ile 2.5x10 µm çapındadır. Bazı türlerinde sarı, pembe, portakal rengi ve siyah renklerde pigmentli kolonilere de rastlanır. Geneli beyaz veya krem renkli kolonilere sahiptir (Buchanan ve Gibbons, 1974).

Son yıllarda, API ve Vitek otomatize sistemlerde *Bacillus*' ların alt tür düzeyinde identifikasyonlarını yapan ticari kitler geliştirilmiştir (Logan ve Turnbull, 1999; Quinn ve Turnbull, 1998).

Bacillus türleri doğada geniş bir şekilde yayılmaktadır, çünkü bu mikropların sporları zıt şartlarda hep hayatta kalırlar, laboratuvar kültürlerinde yaygın kontaminantlardandır (Kayın, 2001). Oluşturduğu endospor ise; silindirik, oval, yuvarlak ve böbrek şeklinde olabilir. Buna ilaveten sporlar hücre içerisinde sentral ya da subterminal olarak yerleşebilir. *Bacillus*' ların hücre duvarını, hücre yüzeyini tamamıyla örten yüzey katmanı parakristalin oluşturur. *Bacillus* 'lar genellikle karbonhidrat kapsülü bulundurlar. Tipik habitatları toprak olmasına rağmen doğada geniş olarak süt ve süt ürünlerinden, hava, su ve yiyecek gibi birçok ortamdan elde edilirler (Taubman, 1992). Katalaz ve asit üretirler ama gaz oluşturmazlar. *Bacillus*' ların bazı türleri yiyecekler için önemli olabilirler. Bazı *Bacillus*' ların proteolitik enzimleri peynir yapımında kullanılabilir, bazı türleri de böcek patojenidir (Bonwart, 1989). *Bacillus*' ların birkaç türü polipeptit sınıfından antibiyotik üretir. Antibiyotik veya antimikrobiyal madde üreten *Bacillus* türleri arasında *Bacillus subtilis*,

Bacillus polymyxa, *Bacillus brevis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans* gibi türler yer almaktadır. Antibiyotiklerin kültürlerde sporulasyon aşamasında oluştuğu bildirilmiştir (Buchanan ve Gibbons, 1974). Turnbell ve Kramer (1991) 'in yaptıkları bir araştırmaya göre *Bacillus* türlerinin teşhisi ve türler arasındaki farklılıkların tespiti için spor ve sporangiyum morfolojileri temel alınarak 3 grupta toplanmıştır (Turnbell ve Kramer, 1991; <http://www.sgmbiotech.com>)

Bacillus'ların termofilik, mezofilik ve psikrofilik türleri bulunur. Çok yüksek sıcaklık derecelerinde bile canlı kalırlar. Genellikle 35-37 °C 'de ve pH:7 civarında ürerler.Bütün türleri Nutrient Agar, Trypticase Soy Agar, Brain Heart Infusion ve Kanlı Agar gibi besiyerlerinde oldukça iyi ürerler. Karbon kaynağı olarak organik asit, şeker ve alkol içeren, nitrojen kaynağı olarak da amonyum bulunduran sentetik ortamlarda çok iyi gelişirler (Taubman, 1992).

Bu cins içindeki bakterilerin çoğu patojen değildir. İki adeti insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan basillerdir. Bunlarda *Bacillus anthracis* ve *Bacillus cereus* 'tur, *Bacillus anthracis* en önemli patojenidir. *Bacillus anthracis* kolonileri ile *Bacillus cereus* kolonileri birbirine benzer. *Bacillus cereus* kanli besi yerinde, krem veya beyaz renkte etrafında hemoliz yapan koloniler oluşturur. *Bacillus anthracis* kolonileri hemoliz oluşturmaz. *Bacillus cereus* gıdalarda gelişir ve *E. coli* enterotoksine yakın bir mekanizma ile hastalığa neden olan bir enterotoksin üretir. Bu organizmalar insanda nadiren fırsatçı patojen olarak hastalığa neden olabilirler(Örneğin menengitis, endokartitis, endofitalmitis, konjuktivitis veya akut gastroenteritis) (Ediz ve Beyatlı, 2005).

Bacillaceae familyası spor yapan bakterileri içinde toplayan tek familyadır. Bakteri hücrelerinin devamı olarak spor denilen form ortaya çıkmaktadır (Ediz ve Beyatlı, 2005).

Bu bakterilerin yağları ve proteinleri parçalama yetenekleri çok yüksektir. Bu nedenle de Basiller, sürekli çürüme ve bozulma ortamında bulunurlar (Ediz ve Beyatlı, 2005).

1.10. *Bacillus* Cinsinin Habitatı

Bacillus türleri doğada çürüyen organik materyalde, toz, toprak, yeşil sebze, su ve bazı türlerde de normal vücut florasında bulunur.

Bacillus türlerinin çoğu tabiatta saprofit olarak bulunmaktadır. Bazı türler; insanlarda, hayvanlarda, diğer memelilerde ve böceklerde zorunlu patojen veya fırsatçı enfeksiyon etkenidirler (Logan ve Turnbull, 1999; Berkeley ve Logan, 1997).

Bacillus' lar, sporları nedeniyle biyosferde birçok farklı çevreden izole edilebilirler (Zinn, 2001; Rosovitz ve ark., 1998). Cinsin asıl habitatı, çok çeşitli topraklardır (Young ve ark., 1995; Nicholson ve Law, 1999). Toprak mikroflorasında yer alan *Bacillus*' lar besin maddesi açısından zengin topraklarda bulunabildikleri gibi besince fakir topraklardan da izole edilebilirler. Örneğin; *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* ve *Bacillus cereus* kompleks besin maddelerine ihtiyaç duymazken, *Bacillus polymyxa* ve *Bacillus azotofixans* gibi gelişirmek için bitki rhizosferine ihtiyaç duyan türlerde bulunur (Rosovitz ve ark., 1998; Massle ve ark., 1985 ;Sneath, 1986).

Endospor yapan *Bacillus* türleri toprak, bitki rhizosperi, gıda ve bazı canlıların bağırsak sistemlerinden izole edilebilirler. Bunun yanı sıra bazıları böcek patojenidir. Mosquito, Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera böceklerinin larvalarından da izole edilmiştir (Rosovitz ve ark., 1998; Young ve ark., 1995; Burke ve ark., 1983; Chilcott ve Wigley 1993).

Birçok mikroorganizma çeşidi gibi *Bacillus*'lar içinde önemli bir habitat olan topraktaki farklı ortam şartları, mikroorganizma çeşidinin de artmasına yol açar.

Genel olarak iyi havalanmış, nemli ve yüksek organik materyal içeren toprakları seçen mikroorganizmalar, toprağın ilk 10cm 'lik üst kısmında yüksek sayıda bulunurlar. Topraktaki popülasyon yoğunluğunun büyük bir kısmını bakteriler (10^6 - 10^9 bakteri\1 gr toprak) oluşturur. Mantarların, biyokütle oluşumunda önemlidir (Yılmaz, 2003).

Bacillus türleri toprakta geniş bir yayılıma sahip oldukları gibi deniz ve tatlı sularda, buraların sedimentlerinde de bulunabilirler.

Bazı *Bacillus*'lar ise ekstrem şartlarda büyüebilme kapasitesindedirler ve üre içeren, uç pH değeri olan , asitli veya yüksek ısıli ortamlardan izole edilebilirler (Rosovitz ve ark., 1998).

Bacillus türlerinin çeşitli besinlerde buldukları ve besin maddelerinin dönüşümü ve bozulmalarında rol oynadıkları bilinmektedir.

1.11. *Bacillus* Cinsinin Önemi

Bacillus cinsi bakteriler; antibiyotik, enzim ve toksin üretimi gibi metabolik özellikleri ile endüstriyel öneme sahip olmaları ve kolay üretilibilmeleri sebebiyle, bakteriler arasında dikkat çeken mikroorganizmalardır (Rosovitz ve ark., 1998; Wipat ve Harwood, 1999). *Bacillus*' lar çok çeşitli metabolik özelliklerinin yanı sıra geniş fizyolojik yetenekleri ile de psikrofilikten termofiliğe; asidofilikten alkalifiliğe; halotoleranttan halofiliğe geniş bir yelpazeye sahiptir ve bu nedenle endüstriyel uygulamalarda kullanılma potansiyelleri yüksektir (Rosovitz ve ark., 1998; Sneath, 1986). Ayrıca sporlanma kabiliyetleri ve metabolizmal faaliyetlerinin çeşitliliğinin geniş bir çevreye yayılmalarında önemli avantajlar sağladığı da belirtilmektedir (Rosovitz ve ark., 1998).

Birçok biyoteknolojik çalışmada kullanılan *Bacillus*' lar, ürettikleri proteinler nedeniyle ticari öneme sahiptirler. *Bacillus*' ların ürettiği endüstriyel enzimlerden olan subtilisin, selulaz ve amilazlar deterjan endüstrisinde; nötral proteazlar süt endüstrisinde; farklı amilaz ve pullulanazlar besin ve meyve suyu endüstrisinde kullanılmaktadır.

Bazı *Bacillus* türleri ise proteolitik, sakkarolitik ve lipolitik enzimleri nedeniyle besin endüstrisinde önem taşımaktadır (Rosovitz ve ark., 1998).

Birçok *Bacillus* türünün sahip olduğu biyokontrol aktivitesi de ilaç endüstrisi için önem taşımaktadır. Bazı *Bacillus* türleri bacitrasin (*Bacillus licheniformis*), polymyxin (*Bacillus polymyxa*), gramicidin (*Bacillus brevis*), tyrocidine (*Bacillus brevis*) , subtilin (*Bacillus subtilis*) ve bacilycin (*Bacillus subtilis*) gibi peptid antibiyotikler üretmektedirler.

Bunların yanı sıra siklik lipoproteinlerden olan iturin (*Bacillus subtilis*) birçok mantar ve mayanın neden olduğu hastalıklarla mücadelede kullanılmaktadır. *Bacillus cereus* tarafından üretilen Zwittermicin ve antibiotik antibiyotiklerin mantarların neden olduğu bazı bitki hastalıklarında etkili olduğu bilinmektedir (Rosovitz ve ark., 1998). *Bacillus*'ların bir diğer özelliği de çeşitli böceklere karşı etkin bakteriyel kontrol ajanı olmalarıdır. *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus larvae* ve *Bacillus popilliae* Lepidoptera larvalarına patojenik etki gösterirler (Rosovitz ve ark., 1998).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tautorius ve Townsley (1983) tarafından yürütülen bir çalışmada; Kanada'da ekonomik açıdan önem büyük olan sebze üretimi içerisinde 3. sırada yer alan *Agaricus bisporus* (Anonymous. 1981) kültür mantarının paraziti, *Chaetomium olivaceum* (Olive green mold; zeytin yeşili küfü) küfüne karşı *Bacillus spp.* biyolojik kontrol mikroorganizması olarak kullanılmıştır. Genellikle yetersiz pastörizasyon sonrasında kompostta meydana gelen zeytin yeşili küfü besin rekabeti nedeniyle; kültür mantarının miselinin gelişimini ciddi düzeyde engeller, spawn gelişimini yavaşlatır veya tamamen durdurur (Beach, 1937; Eddy ve Jacobs 1976). Üretim yataklarında üreyerek kültür mantarının gelişimini engeller, verimin azalmasına, bazen de tamamen mahsulün tükenmesine sebep olur (Lambert ve Ayers, 1953; Nair, 1980), sporları doğada geniş bir şekilde yayılmıştır ve çok yüksek ısılarla da dayanabilir (Beach, 1937; Chang ve Hayes, 1978; Eastwood 1952; Kneebone ve Merek, 1958). Mantar kompostundan izole edilmiş olan termofilik *Bacillus spp.*'nin *Chaetomium olivaceum* a karşı olan aktivitesi, typticase soy agarlı ve % 0.4 'lük yeast agarlı petriler üzerinde şaşırtıcı bir şekilde kendini göstermiştir. İzole edilmiş *Bacillus spp.*'nin mantar yataklarına aşılınması sonucunda *Chaetomium olivaceum* zararlı küfünün mantar yataklarındaki zararları başarılı yöntemlerle kontrol altına alınmıştır ve *Agaricus bisporus*'un verimliliğinde artış gözlenmiştir.

Tautorius ve Townsley (1984), tarafından yürütülen diğer bir çalışmada ticari kültürü dünyanın her yanında uygulanan ve en çok talep edilen ürünler arasında olan; beyaz mantar *Agaricus bisporus* Lange (*Agaricus brunnescens*) 'in (Hayes ve Wright 1979; Smith 1969) , zeytin yeşili küf hastalığının (Olive green mold) etkeni ; *Chaetomium olivaceum* 'un olumsuz etkilerinin kontrol altına alınması amacıyla bir termofilik *Bacillus spp.*'den *C. olivaceum*'a karşı etkili bir antibiyotik olan chaetomacin izole edilmiştir. Analitik silika jel plakları üzerinde ince – tabaka kromatografisi sayesinde başarıyla ayrıştırılmış olan chaetomacin ; kutuplu çözeltilerde çok iyi çözünürken , kutupsuz çözeltilerde çözünmez. Bu bileşimin pH: 2-10 , sıcaklık – 15-150 ° C arasında etkin olabildiği ve son derece güçlü , kararlı bir antibiyotik olduğu gösterilmiştir.

Sadece mezofilik sıcaklıklarda üretilirken bazı *Bacillus* spp.lere ve çeşitli eukaryotlara karşı da aktivite gösterirken gram-negatif çubuk ve gram-pozitif koklara karşı aktivite göstermediği kanıtlanmıştır.

Rytter ve ark. (1989), sardunya bitkisi yaprağında pas rengi görünümüne neden olan *Puccinia pelargonii-zonalis* patojen fungusun *Bacillus subtilis* tarafından biyolojik kontrolüyle ilgili çalışmalar yapmışlardır. Sardunya bitki kültürlerinin yapraklarından 12 tane *Bacillus* spp. izole edildi ve *Puccinia pelargonii-zonalis*'in spor germinasyonunun üzerine etkisi test edildi. Sera şartlarında sardunya yapraklarına aşıl原因 *Bacillus* spp. soylarından *Bacillus subtilis* olduğu saptanan 3 bakteri soyunun sardunya yaprağını enfekte eden *Puccinia pelargonii-zonalis* 'in spor germinasyonunu inhibe ettiği, püstüllerin etki alanında düşüşe neden olduğu gözlemlendi ve bu 3 inhibitör ajanın kültür filtratları elde edildi. Daha sonra tekrar kültür filtratlarının hastalıklı yaprak bölgeleriyle muamele edilmesi sonucunda da püstüllerin hemen hepsinde belirgin azalma gözlemlendi. Ayrıca çeşitli besi ortamlarında yapılan karşılaştırmalarda patojen/antagonist etkileşimleri incelendi. Hücre filtratlarının ve yaprakların nutrient broth besiyerindeki uygulamalarında hastalık gelişiminde sadece hücre filtrat besiyeri uygulamasına göre daha etkili bir azalma gözlemlendi. Eugon broth besiyerinde üretilen antagonistin aktivitesi, nutrient broth besiyerinde üretilmiş kültürlerle göre kıyaslandığında artmıştır. Bakteriler 4 gün süresince inoküle edildikten sonra ortama patojen sporlarının eklenmesi sonucunda antagonistin etki alanının daha geniş olduğu gözlemlenmiştir.

Phae ve ark. (1992); domates bitkilerinde rastlanan bakteriyal çürüklüklerin ve kök çürüğü hastalığına karşı *Bacillus subtilis* NB22 ile biyolojik kontrolünün sağlanmasına yönelik araştırmalar yapmışlardır. Komposttan izole edilen *Bacillus subtilis* NB22 'nin bitki patojeni mantarlara ve bakterilere karşı olan antagonistik aktiviteleri in-vitro testlerle araştırılmıştır. Biyolojik kontrol uygulamaları; domates bitkisinde kök çürüğüne neden olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (FoR) ve bakteriyal çürüğe neden olan *Pseudomonas solanacearum* (Ps) patojenlerine karşı yapılmıştır. NB22' nin kültür süspansiyonları pirinç kamışlarına aşılandıktan sonra FoR ile istila edilmiş toprağın içerisine iyice karıştırılmış, yapılan işlemler sonrasında domates bitkisinde görülen kök çürüğü hastalığında etkin bir

azalma gözlenmiştir. Benzer şekilde NB22'nin kültür süspansiyonları *Pseudomonas solanacearum* ile enfekte toprak içerisine karıştırıldığında domateslerdeki bakteriyal çürüklük göze çarpıcı şekilde baskılanmış ve bitki ölümünde azalma meydana gelmiştir. Yapılan deneylerde NB22; 19 bitki patojeni mantarın gelişimini baskılamakla kalmayıp 8 bitki patojeni bakteri üzerinde de güçlü sınırlayıcı etkisi gözlenmiştir. Sonuçlar şunu gösteriyor ki; *Bacillus subtilis* NB22'nin geniş bir spektruma sahip antifungal ve antibakteriyal aktivitesi bulunmaktadır ve domates bitkisinin toprak kökenli hastalıklarının kontrolünde çok etkili bir biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilir.

Leifert ve ark. (1995); *Bacillus subtilis* CL27 ve *Bacillus pumilus* CL45 soylarının biyokontrol aktiviteleri ve antibiyotik üretimleriyle ilgili bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalar ilk önce petri kutusunda yürütülmüştür daha sonra da fideler üzerinde benzer çalışmalar yapılmıştır. Petri üzerinde yapılan deneylerde; bitkilerin çok önemli bir paraziti olan *Botrytis cinerea* (kurşuni küf etkeni) küf mantarına karşı *Bacillus subtilis* CL27 ve *Bacillus pumilus* CL45 'in benzer aktivite göstererek *Botrytis cinerea* gelişimini engellediği gözlenmiştir. Ancak fide denemelerinde; fidelerde çürümeye neden olan *Botrytis cinerea* ' a karşı *Bacillus subtilis* CL27 'nin daha dikkat çekici bir düzeyde ticari üretimi yapılan fungusidlere benzer etki gösterdiği, *Bacillus pumilus* CL45 'in yetersiz kaldığı saptanmıştır. *Bacillus subtilis* CL27 ve *Bacillus pumilus* CL45 'ten üretilen antifungal antibiyotikler ince tabaka kromatografisi yardımıyla (thin layer chromatography; TLC) farklı ortamlardan izole edilmişlerdir. CL27 'den üç antibiyotik (Birincisi *Alternaria brassicicola* 'a karşı, ikincisi *Botrytis cinerea* ' a karşı, üçüncüsü hem *Alternaria brassicicola* 'a hem de *Botrytis cinerea* ' a karşı etki göstermiştir.), CL45 'ten bir tane antibiyotik izole edilmiştir ve bu antibiyotiklerin bitki hastalıklarının tedavisinde kullanılan pestisidlere benzer aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Asaka ve Shoda (1996) çalışmalarında; domates bitkisinde kök çökerten *Rhizoctonia solani* 'nin biyolojik kontrolünde *Bacillus subtilis* RB14 'ü kullanmışlardır. Araştırmalarında *Bacillus subtilis* RB14 tarafından üretilen iturin A ve surfaktin antibiyotiklerinin bazı fitopatojenlere karşı önemli düzeyde aktivite gösterdikleri kanıtlanmıştır. Saksılarda yapılan testlerde, *Rhizoctonia solani* 'nin

etkeni olduğu domates bitkisinde kök çökerten hastalığına karşı bu antibiyotiklerin hastalığı baskılama yeteneği araştırılmıştır. Deneyde, topraktan izole edilmiş *Bacillus subtilis* 'in kendiliğinden streptomycin dirençliliğine sahip RB14 soyu kullanılmıştır. RB14-C broth kültür, hücre süspansiyonu ve serbest hücre broth kültürlerinin toprak içerisine inoküle edilmesiyle kök çökerten hastalığı baskılandı. RB14-C 'nin inoküle edilmiş hücre süspansiyonlarının toprağa eklenmesinden sonra iturin A ve surfaktin 'in topraktan yeniden izole edilmesiyle birlikte RB14-C 'nin bu antibiyotikleri toprak içerisinde de ürettiği doğrulanmış oldu. Deneyin ilerleyen aşamalarında RB14'den klonlanan lpa-14 geninin her iki antibiyotiğin üretimi için gerekli olduğu kanıtlandı, RB14-C'de değiştirildi ve mutant RΔ1 inşa edildi. RΔ1'in hastalığı baskılayabilme düzeyi düştü, transformant RΔ1 'e lpa-14 geninin plasmid pC115 aracılığıyla taşınmasıyla yeniden düzenlendi ve hastalığı baskılama yeteneği arttırıldı. Araştırma sonuçları şunu gösteriyor ki RB14 'den üretilen iturin A ve surfaktin antibiyotiklerinin *Rhizoctonia solani*'nin neden olduğu kök çökerten hastalığının baskılanmasında rolü büyüktür ve deneysel açıdan bu etkinin arttırılabilmesi de mümkündür.

Berger ve ark. (1996), yüksek nemli sera koşullarında, bitki türlerinde görülen *Phytophthora* ve *Pythium* patojen fungusların *Bacillus subtilis* Cot 1 bakterisi tarafından biyolojik kontrolü, biyolojik kontrol üzerine antagonist yoğunluğunun ve patojen inokulumunun etkisini ölçmeye dayalı deneyler yapmışlardır. Sera ortamında yüksek nem altında yapılan deneylerde *Bacillus subtilis* Cot 1 *Astilbe*, *Photonia*, *Hemerocallis* ve *Brassica* fidelerinde kök çürüğüne sebebiyet veren *Phytophthora* ve *Pythium* patojenlerinin gelişimini engellemiştir. *Photonia* köklerine $\geq 3 \times 10^5$ CFU / g taze kök ağırlığı [rood fresh weight (RFW)] konsantrasyonunda antagonist eklendiğinde suni bir fungusid olan metalaxyl 'e eşdeğerde bir biyokontrol aktivitesi gözlemlendi. *Bacillus subtilis* Cot 1; *Photonia* ve *Brassica* fidelerinin kök sistemlerinde hızlıca üreyerek kolonize oldu ve bitkilerde gözlenen kök çürüğü hastalığında belirgin düzeyde bir indirgenme sağlandı.

Nilson ve Sorensen (1996) deneylerinde, arpa rizosperindeki *Bacillus polymyxa* ve *Bacillus pumilus*'un hidrolitik enzimlerinin patojen mantarlar üzerine etkisini incelemişlerdir. Arpa rizosperi toprağından β -glukosidaz aktivitesi için

glukanolitik bakteriler izole edildi. İzolatların büyük bir çoğunluğunu hızlı üreyen gram-pozitif çubuk bakteriler oluşturmaktaydı. İn vitro testlerde elde edilen 116 izolattan sadece 16 bakteri bitki patojeni mikro mantarlara karşı geniş antagonistik etki göstermiştir, 16 izolatin tamamında hücre duvarını parçalayan enzimler, glucanolytic enzimler (selülaz, mannaz ve ksilanaz) ve proteolitik enzimler tespit edilmiştir. Bu enzim profili non-antagonistik izolatların hiçbirinde gözlenmedi. Antagonistik izolatlardan *Bacillus polymyxa* 'dan 2 soy, *Bacillus pumilus*'tan 13 soy ve *Bacillus spp.*'den 1 soy tanımlanmıştır. Bütün *Bacillus polymyxa* ve 4 *Bacillus pumilus* izolatlarının, 4 farklı besiyerinde yapılan testlerinde *Aphanomyces cochleoides* bitki patojeni mantara karşı antagonistik etki gösterdikleri tespit edildi. Bakterilerin antagonistik etkilerinin hücre duvarını parçalayan enzimlerin üretimiyle yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Besiyerlerindeki enzim üretimiyle ilgili farklı görüşlere rağmen *Bacillus polymyxa* ve *Bacillus pumilus* soylarının çok yönlü ve farklı ortamlarda fungal antagonizm etkisi görülmekte ve biyokontrol uygulamaları için çok uygun olduğu ortak görüştür.

Kim ve ark. (1997); çalışmalarında buğday köklerine yerleşerek buğday verimini düşüren üç kök hastalığına karşı *Bacillus*'un L324-92 soyunu kullanmışlardır. *Bacillus*'un L324-92 soyu kök çürüğüne neden olan *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia solani* AG8 ve *Pythium irregulare* 'e karşı biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmıştır. 4 °C 'den 40 °C' ye kadar geniş bir sıcaklık aralığında gelişim gösterebilen bu bakterinin üç kök hastalığına karşı çok yüksek düzeyde baskılayıcı etkisi gözlenmiştir. Bu üç kök hastalığı U.S.'nin iç kesimlerindeki tarlalarında, özellikle kontamine olduğu fark edilemeyen tohumlarla ekim yapılan tarlalarda ciddi boyutlarda ürün kaybına neden olmuştur. L324-92 soyu Washinton 'un doğusundaki tarlalardan yaklaşık 2000'in üzerindeki bitki köklerinden toplanmış *Bacillus* türlerinden izole edilmiştir. Bu kökler laboratuvar şartlarında yıkanmış, 80 °C 'de 30 dakika ısıya maruz bırakılmış, sulandırılmış ve tryptic soy agar besiyerine ekilmiş ve seçilmişlerdir. Petri kutusunda 15 ° C 'de yapılan bütün çalışmalarda, L324-92 soyu; *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia solani* AG8 ve *Pythium irregulare* türlerinin bütün izolatlarının gelişimini önemli derecede inhibe etmiştir.

Ayrıca *Bacillus* L324-92'nin 4° C 'ye kadar etkinlik gösterebilme yeteneği, Washington 'un iç kesimlerinin iklim şartlarına uygun olarak özellikle kış ve ilkbahar mevsimlerindeki biyolojik kontrol aktivitesine katkıda bulunduğu saptanmıştır. Sonuçta bu çalışmada; *Bacillus* türlerinin, buğday bitkisinde görülen kök çürüğü hastalığının biyolojik kontrolünde kullanılabilecek önemli bir ajan olduğu gösterilmiştir.

Sadfi ve ark. (2001) Turusian 'ın tuz oranı yüksek topraklarından izole ettikleri bakterilerin değerlendirilmesi ve patates gövdelerinde çürüğe neden olan *Fusarium* patojeninin *Bacillus thuringiensis*'le biyokontrolüne yönelik çalışmalar yapmışlardır. 83 sporlu bakteriden biri olan *Bacillus* cinsinin izolatlarından *Bacillus thrungiensis* soyu seçildi. *Bacillus thrungiensis*'in öncelikle böceklerle ve patates gövdelerinde çürüğe neden olan *Fusarium roseum* var. *sambucinum*'a karşı olan etkinlikleri in vitro ve in vivo çalışmalarla test edildi. İn vitro çalışmalar sonucunda tuzlu topraklardan izole edilen *Bacillus* spp. izolatlarından %50 'den fazlasının patojen gelişimini inhibe ettiği açığa çıkmıştır. Buna karşılık 5 *Bacillus thrungiensis* soyu patojen gelişiminin inhibisyonunda etkisiz kalmıştır. Yaralanmış patates gövdelerinin bulunduğu topraklarda % 66 -89 gibi çok etkin bir oranda kök çürüğünde azalmaya neden olan X7, X9, X16, I32 ve G7 soyları izole edildi. Aktivitesi yüksek bu *Bacillus* izolatlarından X9, X16, G7 'nin *Bacillus cereus*, X7'nin *Bacillus lentinomorbus* ve I32'nin *Bacillus licheniformis* üyelerine ait olduğu tanımlandı. *Bacillus thrungiensis* 'in kök çürüğü etkeninin gelişimi üzerine yapılan in vivo uygulamalarında % 41-52 oranında kök çürüğünü indirgemıştır, özellikle *Bacillus thrungiensis* 'in genç kültürlerinin (24 saatlik) yaşlı kültürlerinden *Fusarium* gelişimini daha hızlı ve etkin inhibe ettiği gözlenmiştir. Deneylerinde *Bacillus cereus* X16 ve *Bacillus thrungiensis* 55T'nin kromogenik sito-oligosakkaritlerle birlikte N-asetil-β-D-glukozaminidaz ve kitobizidaz ve endokitinaz üretimini teşvik ettiği gözlemlendi ve *Bacillus cereus*'un X16 izolatının kitinaz aktivitesinin *Bacillus thrungiensis* 55T soyundan 2-3 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Kitin agar üzerindeki açık zonların formasyonunun kromogenik sito-oligosakkarit analoglarının hidrolizi ve kitinden şekerin indirgenmesiyle bağlantılı olduğu tespit edildi.

Moyne ve ark. (2001) deneylerinde, *Aspergillus flavus* 'a karşı antifungal aktivite gösteren bir bacillomycin D türevi olan iturin 'in *Aspergillus flavus* üzerine etkinliğini araştırmışlardır. *Aspergillus flavus*'tan üretilen aflatoksinler insanlar ve hayvanlarda kansere neden olabilen son derece toksik kimyasallara sahiptir. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* uygun sıcaklık ve neme sahip ortamlarda özellikle fındık, mısır, pamuk tohumlarında ve yerfıstığında üreyerek aflatoksin üretimi meydana gelir ve immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olur. Deneylelerinin amacı; *Aspergillus flavus* 'a karşı yüksek derecede aktivite gösteren bir antifungal peptid yardımı ile bütün bu olumsuz etkileri yok etmektir. Bu amaçla toplanan bakteri izolatlarından *Bacillus subtilis* AU195 soyunun *Aspergillus flavus*'a gösterdiği antagonistik aktivitesi araştırıldı. *Aspergillus flavus*'a karşı antifungal aktivitesi saptanan bakterilerin antifungal peptidlerini tanımlayabilmek için protein saflaştırma yöntemleri kullanıldı. Anyon değişiklikleri ve jel filtrasyon kromatografisi yardımıyla 2 lipopeptid saflaştırıldı, spektrometrede yoğunlukları 1045-1059 m/z olarak saptandı ve peptid parçalarının bacillomycin D analogu olduğu belirlendi. Her bacillomycin D analogu benzer konsantrasyonlarda *Aspergillus flavus*'a karşı denendi ve sonuçta PDA besiyerinde yapılan petri kutusu testlerinde *Aspergillus flavus*'un gelişiminin sınırlandığı gözlemlendi.

Okigbo (2002), çalışmasında *Dioscorea rotundata* (beyaz tatlı patates) gövdesinin yüzeyindeki patojen organizmaları *Bacillus subtilis* yardımıyla kontrol altına almıştır. *Dioscorea rotundata* özellikle Batı Afrika 'da çok önemli bir besin maddesi olmakla birlikte Doğu Afrika, Karayipler, Güney Amerika, Hindistan ve Güney Doğu Asya ülkelerinde de çok üretilen bir üründür (Coursey 1967) ve dünyada her yıl 20 milyon ton civarında üretimi yapılır. Bu araştırmada *Dioscorea rotundata* 'nın dış yüzeyini saran mantar florasına antagonistik özellikte *Bacillus subtilis* kullanılmıştır, enfekte *Dioscorea rotundata* gövdesi üzerine pülverizatör yardımıyla *Bacillus subtilis* 'in potato dekstroz broth içerisinde sulandırılmış spor süspansiyonu püskürtüldü. Bu uygulama sonrasında kontrol grubuna göre enfekte örneklerin dış yüzeyini saran mantar florasında, diğer patojenlerin dağılımında ve sayısında etkin azalma gözlemlendi. 5 ay süresince

ambarda depolanan enfekte *Dioscorea rotundata* türlerine her uygulamada süspansiyon içerisindeki *Bacillus subtilis* miktarı artırıldı. Sonuçta; patates gövdelerini ele geçiren *Botryodiplodia theobromae* Pat., *Fusarium moniliforme* Wollen ve Reink., *Penicillium sclerotigenum* Yamamoto , *Rhizoctonia* sp. patojenleri tamamen uzaklaştırdı, *Bacillus subtilis* antagonizmi ile *Dioscorea rotundata* yüzeyindeki mantar florasında ciddi bir düşüş görüldü.

Sid Ahmed ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada; *Capsicum annuum* ‘da kök çürüğü hastalığına neden *Phytophthora capsici* ve *Rhizoctonia solani*’ye karşı *Bacillus* spp. ve *Trichoderma harzianum*’la birlikte biyolojik kontrolünde chitin aktivitesinin etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada biber bitkilerinin köklerinin defalarca yıkanması sonucu izole edilen antagonistik mikroorganizmalar olan *Bacillus subtilis* HS93, *Bacillus licheniformis* LS674’ün ve *Trichoderma harzianum* ‘un *P. capsici* ve *R. solani*’ ye karşı üretilmiş yüksek düzeylerdeki chitinaz etkisinin sonuçları ile ilgili deneyler yapılmıştır. Önemli antagonistik mikroorganizmaların biyolojik kontrol aktivitesi chitinaz üretimiyle yakından ilgilidir. İn-vitro deneylerde % 0,5 chitin eklenmiş *Bacillus subtilis* HS93 ‘ün bakteriyal süspansiyonlarıyla tohumun ve kökün muamele edilmesiyle *Phytophthora capsici* ve *Rhizoctonia solani* ile olan kök çürüğü hastalığına karşı ortama chitin eklenmemiş durumuna göre daha etkili sonuç alınmıştır. *Bacillus licheniformis* LS674 ve *Trichoderma harzianum* tek başlarına *Rhizoctonia solani* kök çürüğünü azaltır fakat *Phytophthora capsici* kök çürüğü üzerine etki etmemektedir. *Bacillus licheniformis* LS674 ve *Trichoderma harzianum* ‘un etkisi bunların süspansiyonlarına % 0,5 ‘lik chitin eklenmesi ve tohum ile kök muamelesi sonucunda *R. solani*’ ye karşı etkinlikleri önemli derecede artarken *P. capsici* üzerinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Sera deneylerinin her ikisinde de yalnızca chitin % 0,5 ‘lik süspansiyonunun kök ve tohumla muamelesi sonucunda *Rhizoctonia solani* kök çürüğünü azaltmıştır ve kök çürüğü hastalığının indirgenmesiyle birlikte ürün artışı meydana gelmiştir. Sonuçlar şunu gösteriyor ki; *Bacillus subtilis* HS93, *Bacillus licheniformis* LS674 ve *Trichoderma harzianum* ‘un antagonistik aktivitelerinin chitin ile birlikte patojenlere karşı etkilerinin önemli derecede artırılmasını teşvik ettiği gözlenmiştir.

Feio ve ark. (2004); *Bacillus subtilis* 355 soyunu, ağaç gövdeleri yüzeyinde bulunan fitopatojenik kontaminant mantarlara karşı gösterdiği antifungal aktivitesi açısından araştırmışlardır. *Bacillus subtilis* 355; 5 ayrı kültür ortamında, farklı inkübasyon sürelerinde, hücre gelişimi, sporülasyon ve antifungal aktivite metabolitlerinin üretimi için geliştirildi. Anti-küf aktivitesi için bakteri yeast extract glucose broth (YGB) besiyerinde üretildi. YGB besiyerinde üretilen bakteri diğer besiyerlerinde üretilen bakterilere göre mantarların gelişimini önemli derecede engelledi. Bakteri sporlarının üretimi arasındaki benzerlik ve antifungal aktiviteleri ile ilgili metabolitlerin formasyonu açığa çıkartıldı, YGB besiyeri polaritesi arttırılmış çözücülerle uzaklaştırıldı ve kuru kalıntılar silikajel plakaları üzerine sürüldü, uygun çözeltilerle ayrıştırıldı ve farklı solüsyonlarla püskürtüldü. Biyootografik methodla *Cladosporium cucumerinum* mantarına karşı 2 aktif bileşen açığa çıkarıldı. Bunun dışında *Bacillus subtilis* 355 *Aspergillus* sp., *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma virgatum*, *Fusarium oxysporum* türlerine karşı yapılan aktivite testlerinde gelişimleri inhibe edilmiştir.

Touré ve ark. (2004) tarafından *Bacillus subtilis* GA1 soyunun elma meyvelerinin gri küf etkeni olan patojen mantar *Botrytis cinerea* 'nın kontrolü ile ilgili deneyler yapılmıştır. İlk aşamada GA1'in yetenekleri test edilmiştir. Özellikle yaralanmış meyvelerde etkin olan *Botrytis cinerea*'nın etkinliği GA1 soyunun endospor süspansiyonlarının uygulanmasıyla azaltılmıştır. Patojen inokülasyonunu izleyen ilk 5 gün süresince GA1 soyu çok etkili bir şekilde hastalığın etki alanını minimuma indirmiş ve sonraki 10 gün boyunca da etkisini sürdürerek % 80 düzeyinde koruma sağlamıştır. GA1 kültür süpernatant ekstraktının elma meyveleriyle muamelesi sonucunda gri küf gelişiminde güçlü düzeyde engelleyici etkisi olduğu anlaşılmıştır. Bununla birlikte yapılan analizler sonucunda GA1 soyunun üretmiş olduğu antifungal lipopeptid izomerleri olan iturin, sürfaktin, fengisin bileşenleri ortaya çıkarıldı ve bu bileşenlerin hastalığın azalmasında çok etkin olduğu, bu bakterilerle kolonize olmuş meyve bölgelerinin *Botrytis cinerea*'dan korunduğu kanıtlanmıştır. Sonuçta *Bacillus* endosporlarıyla aşılansın elma meyvelerinde endosporların etkili bir şekilde çimlenmesi ve lipopeptidlerin sentezlenmesiyle gri küf inhibe edilmiştir.

Kloepper ve ark. (2004) bitkilerde, *Bacillus* türleri tarafından indüklenmiş sistemik dirençlilik (ISD) ve bu niteliklerin artırılmasına yönelik çalışmalar yapmışlardır. Deneylerinde *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pateurii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus sphaericus* gibi türlerin spesifik soylarının bitkilerde çeşitli hastalıklara neden olan ziyaretçileri ve etki alanlarını ciddi bir düzeyde azalttığını gözlemlemişlerdir. Sera koşullarında yapılan deneylerde bu soyların bitkilerde indüklenmiş sistemik dirençliliği sağladığını ve özellikle domates, kavun, karpuz, şekerpancarı, tütün, üzüm, arnavut biberi gibi ürünlerin üzerinde yaşayan tarım zararlılarının yok edilmesine yönelik olumlu etkileri ortaya çıkarıldı. Araştırma sonuçları *Bacillus* spp. tarafından bitkilerde oluşturulan ISD sayesinde yapraklarda kahverengi görünüme neden olan fungal ve bakteriyel patojenlere, sistemik virüslere, çürümeye neden olan fungal patojenlere, kök nodlarındaki nematodlara ve gövde de hastalığa neden olan fungal patojenlere, kök çürüğüne, mavi küf etkenlerine karşı etkin koruma sağladığını göstermiştir. Bunların dışında salatalık bitkisinde hastalık taşıyıcı salatalık böceklerinde ve gümüş yaprak görünümüne neden olan tomato mottle virus taşıyıcısı olan beyaz sinek populasyonlarında da azalma gözlemlendi. Çalışmalarda *Bacillus* spp.'nin ISD özelliği bitkilere patojen istilasını gerçekleştirdiği andan itibaren bitkideki sitokimyasal ve ultrastrüktürel değişikliklerinin sonuçlarının birleştirilmesiyle gösterilmiştir. Sonuçlar; bitkilere *Bacillus* spp. süspansiyon uygulanmasının bitki gelişimini desteklediğini ve patojenlere karşı direnç gelişimine katkıda bulunduğunu göstermiştir.

Huang ve ark. (2004), *Bacillus cereus* 28-9 biyokontrol ajanından antifungal chitinase identifikasyonu ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Deneylerinde kullandıkları chitinolytic bir bakteri olan *Bacillus cereus* 28-9 Taiwan'da ki zambak bitkilerinden izole edilmişlerdir. *Bacillus cereus* 28-9'un, zambak yaprağında hastalığa neden olan *Botrytis* patojeninin biyokontrolünde kullanılabileceği yapılan kültürel ve yaprak deneylerinde ortaya çıkarılmıştır. *Bacillus cereus*'tan 2 chitinase (ChiCW ve ChiCH) ekstre edildi. ChiCW geni klonlandı ve *Escherichia coli* DH5 α 'a aktarıldı, ChiCW geni aktarılmış *Escherichia coli* hücrelerinin periplasmic fraksiyonlarında homojen ChiCW geni gözlemlendi. İn vitro deneyler sonucunda;

zambak yaprağının en önemli fungal patojeni olan *Botrytis elliptica* conidialarının germinasyon aktivitesinin ChiCW geni ile etkisiz hale getirildiği tespit edildi.

Andrade ve ark. (2007); yine önemli bir ticari mantar olan *Agaricus blazei* 'nin üretkenliğinin ve biyolojik etkinliğinin üzerine *Trichoderma spp.* ve *Chaetomium olivacearum* parazit mantarlarının etkinliğini araştırmışlardır. *Agaricus blazei* kültürlerinde bulunan diğer önemli kontaminant mantarlar; *Dactylium dendroides* (Cobweb disease), *Papulospora sp.*, *Peziza sp.*, *Diehliomyces microsporus* (false truffle ; yalancı yer mantarı; yalancı domalan) olmakla birlikte (Kopytowski Filho,2006), bu araştırmada sadece *Trichoderma spp.* ve *Chaetomium olivacearum* kontaminantlarıyla çalışılmıştır. Deney *Agaricus blazei* ile kolonize olmuş 12 kg'lık kutulara *Trichoderma spp.*, *Chaetomium olivacearum* aşılmasından ve bir kontrol grubundan ibarettir. *Agaricus blazei* ile sarmalanmış; ezilmiş parçalanmış şeker kamışı, çimen atıkları, soya fasulyesi atıkları, alçı taşı, kalsitik kireç taşı karışımından oluşan kompostun yüzeyine her kontaminant fungustan 150 'şer gr inokulum yayılmıştır. Deney sera koşullarında, plastik raflarda, % 60-90 bağıl nem ve 20-34° C sıcaklık altında yürütülmüştür. Üretkenlik, taze kompostun ağırlığına ve taze mantarın ağırlığına göre belirlenmiştir. Biyolojik verimlilik ise, hasat aşamasının sonunda; kompostun kuru ağırlığına ve mantarın taze ağırlığının özelliklerine göre belirlenmiştir. Sonuçta; bir deney grubu ve kontrol grubuyla birlikte yürütülen bu araştırmada, kompostun *Agaricus blazei* ile kolonize olmasından sonra kompost yüzeyine ekilen kontaminant mantarların *Agaricus blazei* 'nin üretkenliğini ve biyolojik etkinliğini etkilemediği; yalnızca kontaminant mantarların olumsuz etkilerinin kompostun *Agaricus blazei* miseli ile tamamen sarılmamış durumdayken üretkenlik ve biyolojik etkinlik üzerine etki ettiği ve bu durumda parazitlerin aktivasyonunun yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların türüne ve besin ihtiyacına bağlı olarak; Potato Dekstroz Agar (PDA), Nutrient Agar (N 1), Complete Yeast Medium (CYM), Buğday Agarlı Besiyeri kullanılmıştır.

3.1.1.1. Potato Dekstroz Agar (PDA)

Saf kültür olarak seçilmiş olan *Trichoderma* sp. suşlarının üremesi ve canlılığını devam ettirebilmesi amacıyla kullanılmıştır (Merck)

3.1.1.2. Nutrient Agar (N 1)

Saf kültür olarak seçilmiş *Bacillus* sp. lerin üremesi amacıyla kullanılmıştır (Anonymous, 1978).

Çizelge 3.1. Nutrient agar besiyerinin içeriği

Besiyeri bileşenleri	(g /L)
Agar	15
Pepton	10
Et özütü	10
Maya	5
Glukoz	1

Yukarıdaki tabloda belirtilen bileşenler saf su içerisinde çözüldükten ve 121 ° C 'de 1.2 atm basınçta 15 dk steril edildikten sonra kullanılmıştır.

3.1.1.3. Complete Yeast Medium (CYM)

Ganoderma lucidum 'un misel formunun araştırma süresince üremesi ve devamlılığını sağlamak amacıyla hazırlanmıştır (Raper ve Miller, 1972).

Çizelge 3.2. Complete yeast medium'un içeriği

Besiyeri bileşenleri	(g / L)
Glukoz	20
Agar	20
Pepton	2
Maya	2
K ₂ HPO ₄	1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5
KH ₂ PO ₄	0.46

Yukarıdaki tabloda belirtilen bileşenler saf su içerisinde çözüldükten sonra pH'ı 7.4-7.5'e ayarlanarak 121 ° C 'de 1.2 atm basınçta 15 dk steril edildikten sonra kullanılmıştır.

3.1.1.4. Buğday Agar Besiyeri

Trichoderma sp.. ve *Bacillus* sp.lerin karşılıklı ekimleri için kullanılmıştır.

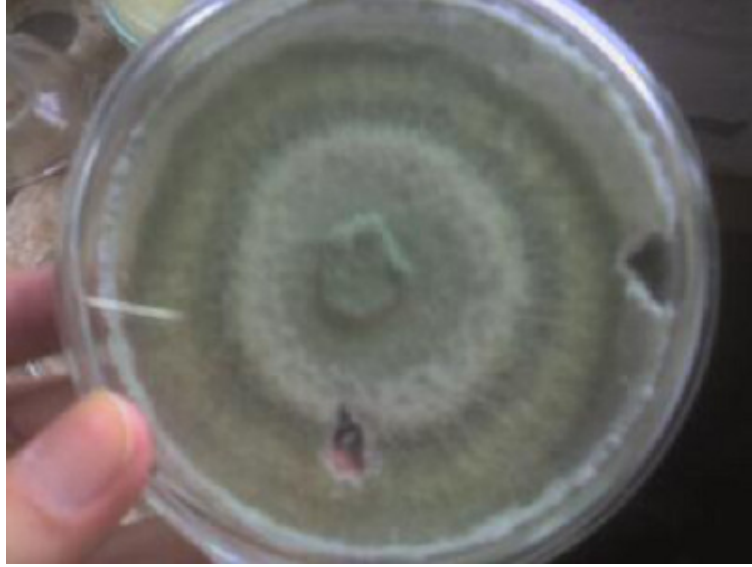
Kaynatılmış buğday tanelerinin iyice mikserden geçirilmiştir. Gazlı bez yardımıyla süzülüp elde edilen kıvamlı buğday suyuna 10 gr/L agar eklenip 121 ° C 'de 1.2 atm basınçta 15 dk steril edildikten sonra kullanılmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. *Trichoderma* Cinslerinin İzolasyonu, Üretimi ve Saklanması

Trichoderma sp. örnekleri bölümümüzde yetiştirilmekte olan *Ganoderma lucidum* miselleri üzerinde üremiş olan kontaminantlardan izole edilmişlerdir. *Trichoderma* sp. steril bir spatula vasıtasıyla *Ganoderma lucidum* kontaminantlarının yüzeyinden alınarak seri sulandırma yapılmıştır. 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 'lik sulandırma katsayısına sahip olan tüplerden 1'er ml örnek alınıp, petri kutularında içine kloromfenikal antibiyotiği eklenmiş PDA besiyerine yayma ekim yapılarak *Trichoderma* sp. sporlarının tek düşmeleri sağlanmıştır. 25-30 ° C 'lik etüvde bir gece inkübasyona bırakıldıktan sonra mikroskopta incelenerek tek düşmüş sporlara ait hiflerin yerleri işaretlenmiştir ve PDA besiyeri içeren petri kutusunun ortasına ekilerek bir hafta süren inkübasyona bırakılmıştır ve örneklerden her ay PDA besiyerine pasaj yapılmıştır ve buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmişlerdir. *Trichoderma* cinsinin petri kutusunda gelişen misel görünümü Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.

Örneklerin, *Trichoderma* cinsine ait oldukları ilgili literatürlerden elde edilen morfolojik karakterlere dayandırılarak saptanmıştır (Seung-Hun Yu ve Gun-Sik Seo, 2002).



Şekil 3.1. *Trichoderma* sp.'nin PDA 'da 1 haftada gelişmiş görüntüsü

3.2.2. *Bacillus* Cinsi Bakterilerin İzolasyonu ve Stok Kültürlerinin Hazırlanması

Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi çevresi doğal yüzey topraklarından, özellikle bol çürümüş yapraklı olan tabakalardan alınan toprak örneklerinin işlenmesiyle izole edilmiş olan gram pozitif, çomak aerob, sporlu bakterilerin *Bacillus* cinsi olduğu kabul edilerek bunların çalışmada kullanılmasına karar verilmiştir.

Sporlu bakterileri elde etmek için; bir beher içerisinde toprak ve çürümüş bitki kalıntıları su ile karıştırılıp mikserden geçirilip homojenize edilmiştir ve 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda karışım gazlı bez yardımıyla bir erlen içerisine süzülerek su banyosunda 10 dakika 85 °C 'lık ısıya maruz bırakılmıştır. Su banyosunda bekletme işlemi sırasında vegetatif bakteri hücreleri canlılığını yitirecek ve geride sadece bakteri sporları kalacaktır.

Aerob koşulları sağlamak için; süzüntüden 1'er mililitre örnek sıvı alınarak daha önceden hazırlanmış ve içinde steril sıvı N1 besiyeri bulunan şişelere aşılanarak orbital çalkalayıcıda 150 devir/ dakika da aerob koşullarda 35 °C 'de 1 gece üremeye bırakılmıştır. Bu işlemle besiyerinde yalnız aerob koşullarda üreme

yeteneğine sahip bakteriler üremiştir.

Ertesi gün sıvı N1 besiyerinde aerop bakterilerin üremiş oldukları gözlenmiştir ve buradan seri sulandırma yapılarak 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 'lik sulandırmalardan 1'er mililitre örnek alınarak petri kutusunda N1 besiyerine yayma metoduyla ekim yapılmıştır. 35°C 'de 1 gece üremeye bırakılmışlardır.

1 gecelik inkübasyon sonucunda tek düşmüş krem veya beyaz renkli mat koloniler elde edilmiştir ve bunlardan steril kürdan vasıtasıyla tek koloniler seçilerek petri kutusunda katı N1 besiyerine çizgi ekim yapılmıştır ve 35°C 'de 1 gece inkübasyona bırakılmışlardır. Daha sonra gram boyamaları yapılmıştır ve mikroskopta gram pozitif çomak şekilli bakteriler gözlenmiştir.

Sonuçta petri kutusunda krem veya beyaz renkli koloni morfolojisine sahip, gram pozitif, çomak, aerop, sporlu bakterileri niteliğine sahip olan tek bakteri grubu *Bacillus* sp.'ler olduğu için izolatların *Bacillus* sp.'e ait olduğu kabul edilmiştir. Daha sonra bu bakterilerden eğik katı besiyerine ekimler yapılarak stok kültürleri hazırlanmıştır ve bu örneklerden her ay yeni eğik katı besiyerlerine teker teker pasaj yapılmıştır. Örnekler buzdolabında $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. *Ganoderma lucidum* Miselinin Üretimi ve Saklama Koşulları

Ganoderma lucidum meyvesinden doku kültürü yapılarak *Ganoderma lucidum* miseli elde edilmiştir. *Ganoderma lucidum* miseli complete yeast medium (CYM) besiyerine ekilerek $24-28^{\circ}\text{C}$ 'de 1 hafta süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Mantar ayda bir pasajlanmıştır ve buzdolabında $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. *Ganoderma lucidum* misel formuna ait görüntüsü Şekil 3.2. 'da, meyve formuna ait görüntüsü Şekil 3.3. 'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. *Ganoderma lucidum* miselinin CYM besiyerinde 1 hafta süresince gelişmiş görüntüsü



Şekil 3.3. *Ganoderma lucidum* meyvesinin doğadan bir görüntüsü (http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/.)

3.2.4. *Trichoderma* sp. ve *Bacillus* sp. İzolatlarının Eş Zamanlı Ekimleri

Araştırmamızda; doğadan izole ettiğimiz *Bacillus* sp. suşlarının, *Trichoderma* sp. suşları üzerindeki antifungal aktivitelerini saptayabilmek için aynı petri kutusunda *Trichoderma* sp. ve *Bacillus* sp. karşılaştırması yapılmıştır.

Hem bakteri izolatlarının hem de küf mantarı izolatlarının gelişim ve üremeleri için uygun düzeyde zengin bileşenler içeren buğday agarlı besiyerinin ortasına *Trichoderma* sp.'ler ekilmiştir ve bir gece etüvde 30 ° C 'de inkübasyona bırakılmıştır ve ertesi gün bu izolatların etrafına *Bacillus* sp.'ler ekilmiştir, mikroorganizmaları içeren petriler 3-4 gün inkübe edilmiştir ve sonuçlar kaydedilmiştir.

3.2.5. Antifungal Özelliği Belirlenmiş *Bacillus* sp. Suşlarının *G. lucidum* Misel Kültürü İle Eş Zamanlı Ekimleri

Trichoderma sp. ile *Bacillus* sp.'nin eş zamanlı ekimleri sonucunda; *Trichoderma* sp. suşlarının hassas olduğu *Bacillus* sp. suşları tespit edilmiştir. Bu *Bacillus* sp. suşlarının *Ganoderma lucidum* misel kültürü üzerindeki etkinliğinin anlaşılabilmesi için *Ganoderma lucidum* ve *Trichoderma* sp. üzerinde antifungal niteliğe sahip *Bacillus* sp. lerin buğday agarlı besiyerinde karşılıklı ekimleri gerçekleştirilmiştir.

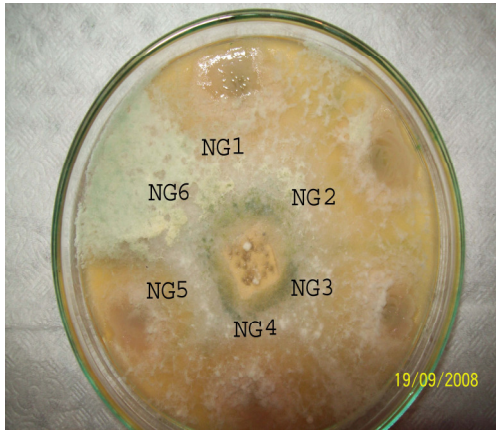
İlk aşamada; *Ganoderma lucidum* meyvesinin doku kültürün yapılması sonucunda ürettiğimiz *Ganoderma lucidum* misel kültüründen 0.5 cm genişliğinde doku kesilerek buğday agarlı besiyerinin ortasına ekilmiştir, 30 ° C 2 gün inkübasyona bırakılmıştır.

İkinci aşamada 2 gün inkübe edilmiş *Ganoderma lucidum* misel formlarının etrafına antifungal etkinliğe sahip olduğunu düşündüğümüz *Bacillus* sp. ler ekilmiştir ve 30 ° C, 5 gün süresince inkübasyona bırakılmışlardır, sonuçlar kaydedilmiştir.

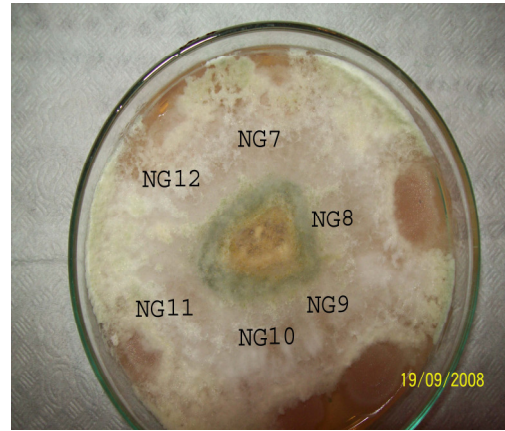
4.BULGULAR VE TARTIŞMA**4.1. *Trichoderma* sp. ve *Bacillus* sp. İzolatlarının Karşılıklı Ekimlerine Ait Bulgular**

Doğal ortamlardan izole edilen *Bacillus* cinsine ait izolatların antifungal aktivitelerini saptamak amacıyla; PDA besiyerinin ortasına *Trichoderma* sp. etrafına *Bacillus* sp.'e ait izolatlar karşılıklı ekilmiş ve 3-4 gün süresince inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda besiyeri üzerinde numaralandırılmış bazı *Bacillus* sp. izolatlarına ait bölgelerde inhibisyon zonları gözlenmiştir.

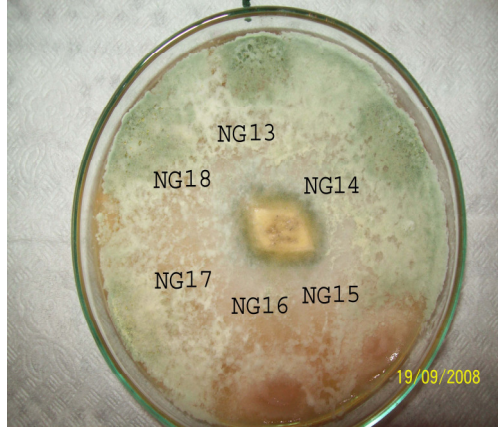
Trichoderma sp., *Bacillus* sp. izolatların karşılıklı ekimlerine ait petri kutusu görüntüleri Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13 'de gösterilmiştir.



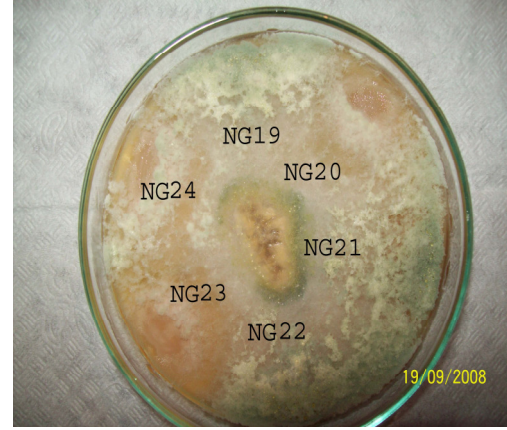
Şekil 4.1. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 1,2,3,4,5,6 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



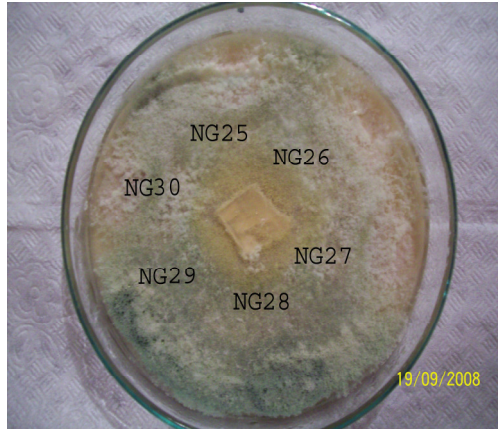
Şekil 4.2. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 7,8,9,10,11,12 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



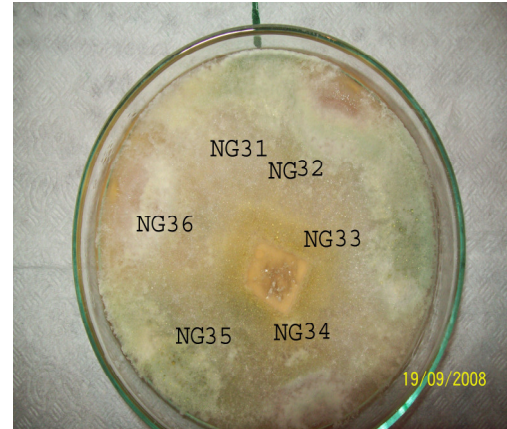
şekil 4.3. *Trichoderma* sp. , *Bacillus* NG 13,14,15,16,17,18 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



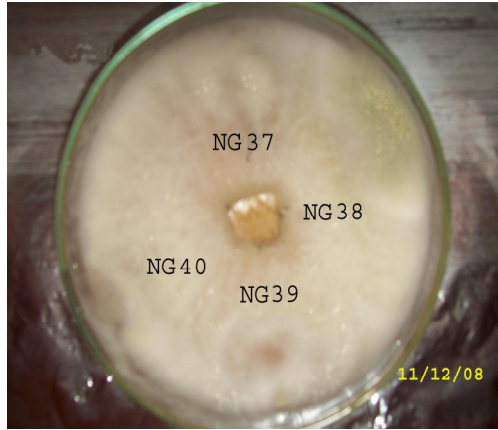
şekil 4.4. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 19,20,21,22,23,24 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



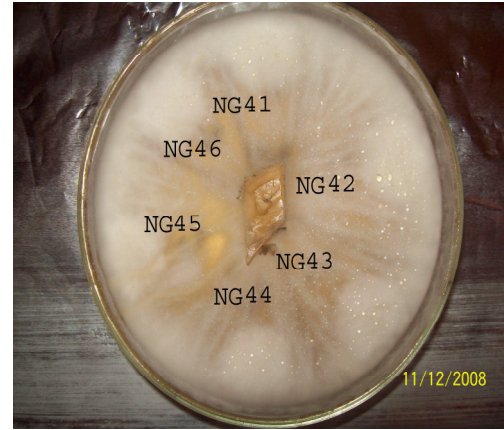
şekil 4.5. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 25,26,27,28,29,30 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



şekil 4.6. *Trichoderma* sp. ,*Bacillus* NG 31,32,33,34,35,36 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



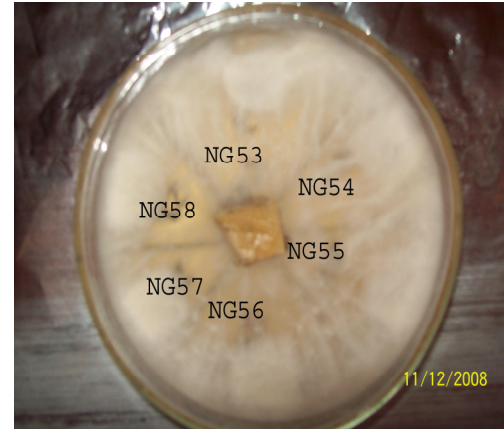
şekil 4.7. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 37,38,39,40 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



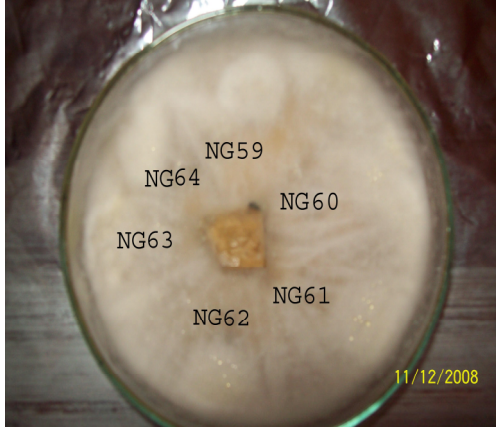
şekil 4.8. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 41,42,43,44,45,46 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



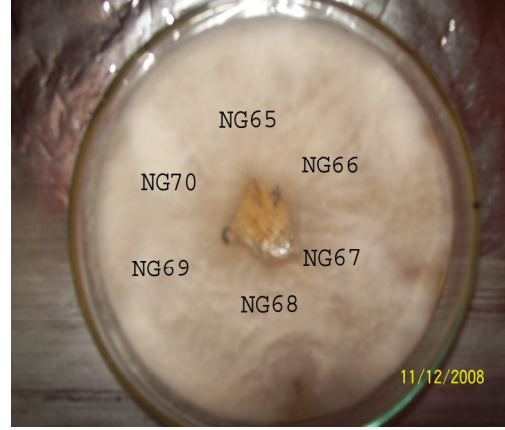
şekil 4.9. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 47,48,49,50,51,52 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



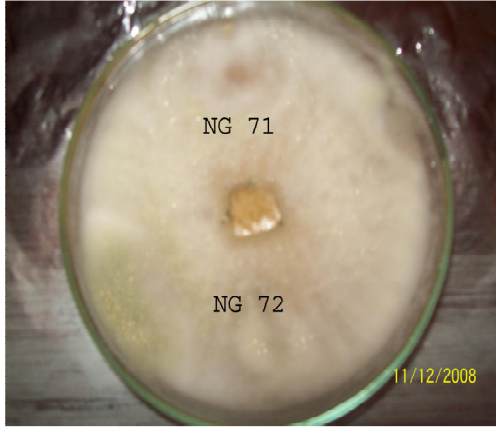
şekil 4.10. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 53,54,55,56,57,58 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



şekil 4.11. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 59,60,61,62,63,64 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



şekil 4.12. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 65,66,67,68,69,70 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



şekil 4.13. *Trichoderma* sp., *Bacillus* NG 71,72 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular

şekiller dikkatlice incelenecek olursa *Bacillus* cinslerine ait bazı izolatların etrafında belirgin inhibisyon zonları görölmektedir. Bunlar şöyle sıralanabilir; şekil 4.1'de NG 1, 2, 3, 4, 5; şekil 4.2 'de NG 8, 9, 10; şekil 4.3'te NG 15, 16; şekil 4.4'de NG 20, 23, 24 numaralı *Bacillus* sp. suşlarıdır. Araştırmanın amacına uygun nitelikte olan *Bacillus* sp. suşları *Trichoderma* sp. gelişimini yüksek veya orta düzeyde inhibe edebilen yani *Trichoderma* sp. üzerine antifungal aktivite gösterebilen izolatlardır.

Ekimler sonucunda oluşan inhibisyon zonlarının genişliğine göre *Trichoderma* sp. gelişimini yüksek ve orta düzeyde inhibe eden *Bacillus* sp. suşları çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Diğer *Bacillus* sp. suşları *Trichoderma* sp. gelişimini engelleyici düzeyde belirgin bir aktivite göstermediği için dikkate değer görülmemiştir.

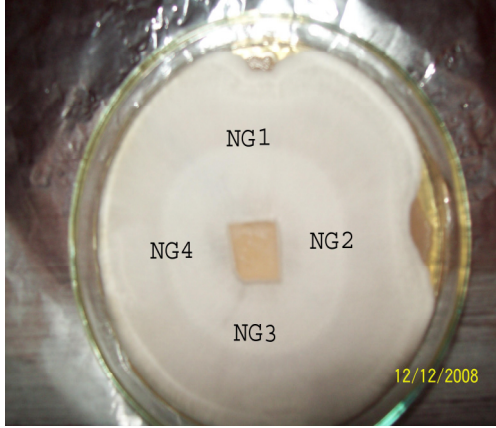
Çizelge 4.1. *Trichoderma* sp. gelişimi üzerine yüksek ve orta düzeyde antifungal etki gösteren *Bacillus* sp. suşları

<i>Trichoderma</i> sp.’e Yüksek Düzeyde Antifungal Etki Gösteren <i>Bacillus</i> sp. Suşları	<i>Trichoderma</i> sp.’e Orta Düzeyde Antifungal Etki Gösteren <i>Bacillus</i> sp. Suşları
NG 1	NG 8
NG 2	NG 9
NG 3	NG 10
NG 4	NG 15
NG 5	NG 16
—	NG 20
—	NG 23
—	NG 24

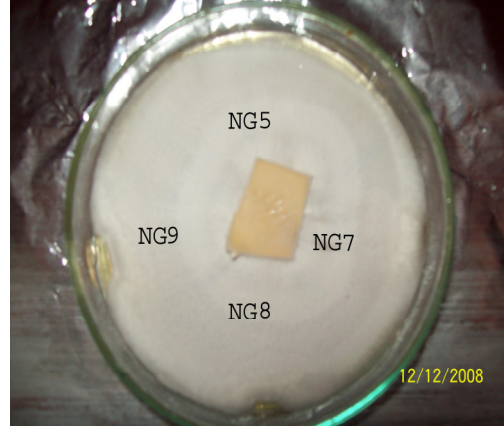
4.2. *Bacillus* sp. İzolatları İle *Ganoderma lucidum* Miselinin Petri Kutusunda Karşılıklı Ekimlerine Ait Bulgular

Trichoderma, *Bacillus* cinslerine ait izolatların besiyerlerine karşılıklı ekimleri sonucunda *Trichoderma* sp. gelişimini sınırlandıran *Bacillus* sp. suşları tanımlanmıştır. *Trichoderma* sp. üzerine antifungal aktivite gösteren Çizelge 4.1’de belirtilen *Bacillus* suşlarının *Ganoderma lucidum* miselinin çimlenmesi üzerine aktivitesini gözlemleyebilmek için petri kutusu üzerinde 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 15, 16, 20, 23, 24 numaralı bakteri suşlarıyla *Ganoderma lucidum* miselinin karşılaştırması yapılmıştır.

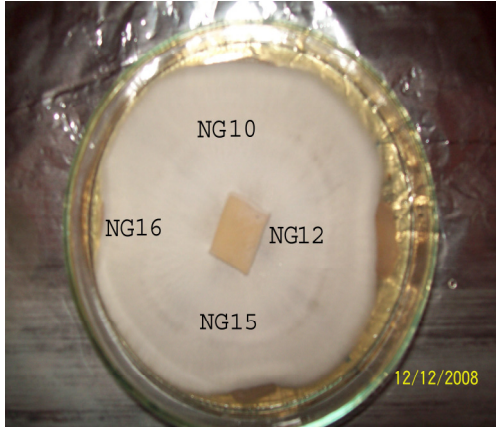
Ganoderma lucidum miseli ve *Bacillus* sp.'nin karşılıklı ekimlerine ait petri kutusu görüntüleri Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17 'de gösterilmiştir.



Şekil 4.14. *G. lucidum* ve *Bacillus* NG 1,2,3,4 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



Şekil 4.15. *G. lucidum* ve *Bacillus* NG 5,7,8,9 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



Şekil 4.16. *G. lucidum* ve *Bacillus* NG 10,12,15,16 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular



Şekil 4.17. *G. lucidum* ve *Bacillus* NG 20,23,24 suşlarının karşılıklı ekimine ait bulgular

Araştırmamızda ekimlere ait petri kutusu görüntülerinin dikkatle incelenmesi sonucunda; *Trichoderma* sp. gelişimini yüksek ve orta düzeyde inhibe eden *Bacillus* sp. izolatlarından, *G. lucidum* miselinin aktivasyonunu sınırlandırmayan veya çok az düzeyde etki gösteren bakteriler tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2.'de *Trichoderma* sp. gelişimi üzerine yüksek düzeyde antifungal aktivite gösteren *Bacillus* suşlarının *G. lucidum* miselinin üzerine etkisine ait görsel bir değerlendirme yapılmıştır.

Çizelge 4.2. *Trichoderma* sp.'e yüksek düzeyde antifungal etki gösteren *Bacillus* sp. suşlarının *Ganoderma lucidum* miseli üzerindeki etkinliği

<i>Trichoderma</i> sp.'e Yüksek Düzeyde Antifungal Etki Gösteren <i>Bacillus</i> sp. Suşları	<i>Ganoderma lucidum</i> Miselini Sınırlandırıcı Aktivitesi
NG 1	Düşük
NG 2	Düşük
NG 3	Sınırlanmadı
NG 4	Sınırlanmadı
NG 5	Sınırlanmadı

Çizelge 4.2.'e göre *Bacillus* NG 1, 2 suşları *G. lucidum* miselinin gelişimini düşük seviyede inhibe etmiştir. NG 3, 4, 5 suşları ise *G. lucidum* miselinin aktivasyonu sınırlandırmamıştır.

Çizelge 4.3.'de *Trichoderma* sp. gelişimi üzerine orta düzeyde antifungal aktivite gösteren *Bacillus* sp. suşlarının *G. lucidum* miselinin etkinliği üzerine ait görsel bir değerlendirme yapılmıştır.

Çizelge 4.3. *Trichoderma* sp.'e orta düzeyde antifungal etki gösteren *Bacillus* sp. suşlarının *Ganoderma lucidum* miseli üzerindeki etkinliği

<i>Trichoderma</i> sp.'e Orta Düzeyde Antifungal Etki Gösteren <i>Bacillus</i> sp. Suşları	<i>Ganoderma lucidum</i> Miselini Sınırlandırıcı Aktivitesi
NG 8	Düşük
NG 9	Düşük
NG 10	Orta
NG 15	Orta
NG 16	Düşük
NG 20	Yüksek
NG 23	Yüksek
NG 24	Yüksek

Çizelge 4.3.'e göre *Bacillus* NG 8, 9, 16 suşları *G. lucidum* miselinin gelişimini düşük; *Bacillus* NG 10, 15 suşları orta; *Bacillus* NG 20, 23, 24 suşları ise yüksek düzeyde sınırlandırmıştır.

Karşılıklı ekimlere ait petri kutularının dikkatle incelenmesi sonucunda araştırmanın amacına en uygun bakteri suşları NG 3, NG 4 NG 5'tir çünkü bu suşlar *Trichoderma* sp. gelişimini yüksek düzeyde inhibe ederken *G. lucidum* miselini sınırlandırmamıştır. 2. sırada kullanılabilecek uygun suşlar NG 1 ve NG 2 'dir çünkü bu suşlar *Trichoderma* sp. gelişimini yüksek düzeyde inhibe ederken *G. lucidum* miselini düşük düzeyde sınırlandırmıştır. 3. sırada önem taşıyan *Bacillus* sp. suşları ise NG 8, NG 9 ve NG 16'dır, bu *Bacillus* sp. suşları *Trichoderma* sp. gelişimini orta düzeyde sınırlandırırken *G. lucidum* miselini düşük seviyede inhibe etmiştir.

Bacillus NG 10, NG 15, NG 20, NG 23 ve NG 24 suşlarının niteliği çalışmanın amacına uygun değildir. NG 10, NG 15 suşları *Trichoderma* sp. gelişimi üzerine orta

düzeyde antifungal aktivite göstermesine rağmen *G. lucidum* gelişimini de yine aynı derecede sınırlandırmıştır. NG 20, NG 23 ve NG 24 suşları da *Trichoderma* sp.'e orta düzeyde antifungal aktivite göstermesine rağmen *G. lucidum* miselinin aktivasyonunu daha yüksek bir derecede sınırlandırmıştır.

Sonuç olarak *Trichoderma* sp. patojen fungusunun yayılımını sınırlandırırken *Ganoderma lucidum* miselinin etkinliğini azaltmayan veya çok az düzeyde sınırlandıran bakteri suşları; *Bacillus* NG 1, NG 2, NG 3, NG 4, NG 5, NG 8, NG 9, NG ve NG 16'dır. *Trichoderma* sp. patojeninden *Ganoderma lucidum* miselini koruma gücüne sahip bu inhibitör *Bacillus* sp. suşları deneyimizin amacını destekler niteliktedir. Birçok araştırma *Bacillus* sp. soylarının aktif bir biyokontrol ajan olduğu yönünde bilgi vermektedir (Crawford, 1993; Mari, 1996). Yapılan araştırmalar *Bacillus* cinslerinin antibakteriyal ve antifungal etkinliklerinin oldukça geniş ve güçlü olan bazı metabolitleri sentezleme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir ve bu yetenekleri tıpta, endüstride, biyolojik kontrol ajan olarak kullanılmasıyla hastalıkların kontrolünde katkı sağlayacaktır (Leifert ve ark., 1995). 1980 'li yıllara kadar parazit mantarlara karşı başarılı mücadele yöntemleri bilinmiyordu (Vedder, 1978). İlk kez Huhnke (1970) deneylerinde; spesifik termofilik mikroorganizmaların steril komposta aşılamaıyla substratın hastalık ve zararlılara karşı etkili koruma sağlayabileceğini göstermiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

21.yy 'da sürekli artan insan popülasyonu ile birlikte sağlıklı ürün tedarikine daha fazla duyulan gereksinim nedeniyle ürün kaybına neden olan hastalıkların kontrol altına alınması için acil çalışmalar başlamıştır (Elizabeth ve ark., 1999). Hastalıkların kontrolünde kullanılan birçok sentetik kimyasalın özellikle patojen popülasyonlarında direnç geliştirmesi ve insanlarda bazı hastalıkların oluşumuna neden olmaları (Russell., 1995) gibi endişe veren amaçsız etkilerinden dolayı pestisitlerin gerçekten güvenli ve yararlı regülatörler olup olmadığı yeniden gözden geçirilmelidir (Duke ve ark., 1993; NRC Report 1996). Bu nedenle hastalıkların çözülmesi için etkili koruma sağlarken aynı zamanda da insan ve çevre sağlığı açısından en az olumsuz etkiye neden olabilecek yöntemlere ihtiyaç vardır (NRC Report., 1996; Cook ve ark., 1996). Bitki hastalıklarının baskılanmasında kullanılan sentetik kimyasalların yerine sonsuz ve güçlü bir mikrobiyal çeşitliliğe sahip dünyamızda daha etkili bir alternatif olarak mikroorganizmalar yani biyolojik ajanlar kullanılabilir.

Araştırmamızda *Trichoderma* sp.'nin biyokontrolüne yönelik kullanılabilecek bakteriler; *Trichoderma* sp. besin ortakçısı fungusunun gelişimini inhibe ederken *Ganoderma lucidum* miselinin yayılımını sınırlandırmayan *Bacillus* sp. suşlarıdır ve bu sonuca uygun 8 tane *Bacillus* sp. izolatu tespit edilmiştir.

Biyokontrol organizmaların çoğunda sözü edilen şey hastalık kontrol mekanizması işleyişinin esası patojenlere karşı antibiyotik üretimi yapmalarıdır. Gram negatif bakterilerde proteinler iç ve dış membran arasındaki periplazmik boşluk arasında kalır, gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilerde bulunmayan bir dış membrana sahiptir. Bu yüzden gram pozitif bakterilerde enzimler direkt besiyerine salgılanır, çoğu değişken intraselüler enzimlerin aksine ekstraselüler enzimlerin stabilitesi yüksek olup çevre koşullarında aktivitelerini uzun süre koruyabilirler. Dolayısıyla gram pozitif sporlu bir bakteri olan *Bacillus* cinsi bakterilerin enzimlerinin ucuz, stabil, etkili bir şekilde formüle edilebilmeleri durumunda modern tarımda güvenle kullanılabilecektir.

Yapılan çalışmalarda hayvan besinlerinde kullanılan suni antibiyotiklerin

insanlarda antibiyotik dirençliliğine yol açtığı kanıtlanmıştır (Levy, 1978). Bu tehlikeyi aklımızda bulundurarak hastalıkların kontrolünde içerisinde sayısız kimyasal bulunduran fungusidlere kıyasla biyokontrol mikroorganizmaları tarafından üretilen antibiyotiklerin bilinçli kullanılması çok mantıklı olacaktır. Patojen fungusların üremeleri ve yayılmaları içerisinde çok fazla sayıda toksik bileşen bulunduran kimyasal ilaçların kullanımına gerek kalmadan durdurulabilecektir. Dolayısıyla insan sağlığına zararlı insan sağlığına zararlı, suni bileşenlerden uzak çevre ile dost biyolojik mücadele ön planda olacaktır.

Bacillus cinslerinin ısıya ve kuruluğa dayanıklı, hem üretimleri hem de saklanması kolay olan spor solüsyonları hazırlanarak *Ganoderma lucidum*'un besin ortamlarına aşılması sayesinde *Trichoderma* sp. enfeksiyonlarının önüne geçilebilecektir.

Moleküler ve biyoteknolojik yöntemlerin geliştirilmesi sayesinde bu bakterilerden yeni antifungal peptidlerin tanımlanması ve antibiyotik saflaştırılması sayesinde mantar enfeksiyonlarına karşı dirençlilik arttırılabilecektir ve patojen fungus kontaminasyonları kontrol altına alınabilecektir.

Trichoderma sp. üzerine antagonistik aktivite gösteren fakat *Ganoderma lucidum* gelişimini baskılamayan *Bacillus* sp. soyları; *Ganoderma lucidum* 'un ticari üretiminin yapıldığı tesislerde güvenle kullanılabilecek biyokontrol ajanları olacaklardır.

Günümüzde bir ülkenin gelişmişliği o ülkenin çevre ve insan sağlığına yönelik çalışmalara verdiği önemle anlaşıldığını düşünecek olursak; patojenlerin biyolojik preparatlar kullanılarak yok edilmesi ve bununla ilgili bilimsel çalışmaların yapılması ve desteklenmesi kaçınılmazdır. Gelecekte mikroorganizmalarla ilgili bu tarz çalışmaların arttırılması ile toprak ekosistemindeki patojen organizmalara karşı bu biyokontrol ajanların üretmiş oldukları yararlı ürünlerin kullanımı ve bunlar arasındaki kompleks etkileşimler daha anlaşılır duruma getirilecektir.

KAYNAKLAR

- ANDRADE, M.C.N., GRACIOLLI, L.A., 2005. Controle de fungos contaminantes no cultivo do cogumelo comestível shiitake em toros de Acta Sci. Agron., 27(2), 293-299.
- ANDRADE, M.C.N., KOPYTOWSKI FILHO, J., MINHONI, M.T.A., 2007. Productivity, biological efficiency and number of *Agaricus blazei* mushrooms grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants 38:243-247.
- ANONYMOUS, 1978. Münchener Beiträge zur AbwasserFischerei und Flubioogie Band 29, Moderne Abwasser-reinigungs verfahren, Auflage München, Wien- Oldenboug.
- ANONYMOUS. 1981. Good growth potential seen for Canadian mushroom industry. FoodCan. 41:15.
- ANONYMOUS, 2004. Integrated plant protection center, Database of microbial biopesticides (DMB), American Phytopathological Society.
- ASAKA, O. and SHODA, M., 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Damping-Off of Tomato with *Bacillus subtilis* RB14. Applied and Environmental Microbiology, p. 4081–4085 Vol. 62, No. 11.
- BEACH, W.S., 1937. Control of mushroom diseases and weed fungi. Bull. 351. Pennsylvania Agricultural Experiment Station, State College, Penn.
- BELS-KONING, H. C., GERRITS, J. P. G., and VAANDRAGER, M. H., 1992. Some fungi appearing towards the end of composting. Mushroom Sci. 5:165-169.
- BERGER, F., Li, H., WHITE, D., FRAZER, R. and LEIFERT, C., 1996. Effect of pathogen inoculum, antagonist density and plant species on biological control of Phytophthora and Pythium damping-off by *Bacillus subtilis* Cot1 in high humidity fogging glasshouses. Phytopathology 86:428-433.
- BERKELEY RCW, LOGAN N., 1997. *Bacillus*, *Alicyclobacillus* and *Paenibacillus*. In: Emmerson A M, Hawkey PM, Gillespie SH(eds). Principles and practice of Clinical Bacteriology. Chichester: Wiley; 1997: 185.

- BEYER, D.M., KREMSER, J.J., 2004. Evaluation of fungicide tolerance and control for three fungal diseases of mushrooms. In: Romaine, C.P., Keil, C.B., Rinker, D.L., Royse, D.J. (eds). Science and cultivation of edible and medicinal fungi – Mushroom Science XVI. Penn State University, University Park, USA, p.521-529.
- BISSETT, J., 1991a. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Canadian Journal of Botany* 69, 2357-2372.
- BISSETT, J., 1991b. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Canadian Journal of Botany* 69, 2373-2417.
- BISSETT, J., 1991c. A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Canadian Journal of Botany* 69, 2418-2420.
- BONWART, G.J., 1989. “Basic Food Microbiology”, Van Nostrand Reinhold, New York, 773.
- BROWN, H.P., 1937. Mushroom bed invaders-their habits and the means of control. *Agric. Gaz. N.S.W.* 48:436-439
- BUCHANAN, R.E. and GIBBONS, N.E., 1974. “Bergeys manual of determinative bacteriology, 8th edition”, The Williams Company, Baltimore, 12146.
- BUES, R., BUSSIERES, P., DADOMO, M., DUMAS, Y., GARCIA-POMAR, M. I. and LYANNAZ, J. P., 2004. Assessing the environmental impacts of pesticides used on processing tomato crops. *Agriculture Ecosystems and Environment* 102, 155-162.
- BURKE, W.F., MCDONALD, K.O. and DAVIDSON, E.W., 1983. Effect of UV light on spore viability and Mosquito larvacidal activity of *Bacillus sphaericus* 1593. *Applied and Environmental Microbiology*, Oct: 954-956.
- CARREIRO, M.M. and KOSKE, R.E., 1992. Effect of temperature on decomposition and development of microfungal communities in leaf litter microcosms. *Canadian Journal of Botany* 70, 2177-2183.
- CHANG, S. T. and HAYES W. A., 1978. The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press, Inc., New York.

- CHAVERRI, P., CANDOUSSAU, F., and SAMUELS, G.J. 2004. *Hypocrea phyllostachydis* and its *Trichoderma* anamorph, a new bambusicolous species from France. Mycol. Progr. 3:29-36.
- CHAVERRI, P., CASTLEBURY, L.A., SAMUELS, G.J., and GEISER, D., 2003. Multilocus phylogenetic structure within the *Trichoderma harzianum*/*Hypocrea lixii* complex. Molec. Phylogen. Evol. 27:302-313.
- CHAVERRI, P., SAMUELS, G.J. and STEWART, E.L., 2001. *Hypocrea virens* sp. nov., the teleomorph of *Trichoderma virens*. Mycologia 93:1113- 1124.
- CHEN, A.W., MOY, M., Mushroom cultivation: building mold contamination. In:Romaine, C.P., Keil, C.B., Rinker, D.L., Royse, D.J. (eds). Science and cultivation of edible and medicinal fungi –Mushroom Science XVI. Penn State University, University Park, USA, p.625-632.
- CHEN, S. K., EDWARDS, C. A. and SUBLER, S., 2001. A microcosm approach for evaluating the effects of the fungicides benomyl and captan on soil ecological processes and plant growth. Applied Soil Ecology 18, 69-82.
- CHILCOTT, C.N. and WIGLEY, P.J., 1993. Isolation and toxicity of *Bacillus thuringiensis* from soil and insect habitats in New Zealand. Journal of Invertebrate Pathology, 61: 244-247.
- CLARKSON, J. P., MEAD, A., PAYNE, T. and WHIPPS, J. M., 2004. Effect of environmental factors and *Sclerotium cepivorum* isolate on sclerotial degradation and biological control of white rot by *Trichoderma*. Plant Pathology 53, 353-362.
- COURSEY, D.G. Yams. London: Longmans, 1967: 18–32.
- COOK, R. J., and BAKER, K.F., 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- COOK, R.J., BRUCKART, W.L., COULSON, J.R., GOETTEL, M.S., HUMBER, R.A., LUMSDEN, R.D., MADDOX, J.V., MCMANUS, M.L., MOORE, L., MEYER, S.F., QUIMBY, P.C. Jr., STACK, J.P. and VAUGHN, J.L., 1996. Safety of microorganisms intended for pest and plant disease control: a framework for scientific evaluation. Biol. Control 7, 333–351.

- CRAWFORD, D.L., LYNCH, J.M., WHIPPS, J.M. and OUSLEY, M.A., 1993. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Appl. Environ. Microbiol.* 59,3899-3905.
- DANIELSON, R.M. and DAVEY, C.B., 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 5,485-494.
- DAVIS, A. C., 1938. Mushroom pests and their control. Cir. 457. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C.
- DE SOUZA, J.T., BOWERS, J.H., SAMUELS, G.J., HEBBAR, P.K. , and POMELLA, A., 2003. Genetic diversity and activity of *Trichoderma stromaticum*, a myco-parasite of the cocoa witches' broom pathogen. *Phytopathology* 93:S20.
- DIX, N. J. and WEBSTER, J., 1995. *Fungal Ecology*, 1st edn. London: Chapman and Hall.
- DOGANAY, M., *Bacillus antrachis* ve diğer *Bacillus* lar.
- DOMSCH, K.H., GAMS, W. and ANDERSON, T.-H., 1980. *Compendium of soil fungi*. London; Newyork: Academic Pres.
- DUKE, S.O., MENN, J.J. and PLIMMER, J.R. 1993. Challenges of pest control with enhanced toxicological and environmental safety. In: *Pest Control with Enhanced Environmental Safety* (Duke, S.O., Menn, J.J. and Plimmer J.R., Eds.), pp. 1-13. American Chemical Society, Washington, DC.
- EASTBURN, D.M. and BUTLER, E.E., 1991. Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. *Mycologia* 83, 257-263.184.
- EASTWOOD, D.J., 1952. The fungus flora of composts. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 35:215-220.
- EDDY, B. P. and L. JACOBS., 1976. Mushroom compost as a source of food for *Agaricus bisporus*. *Mushroom J.* 38:56- 59, 67.

- EDİZ, N. ve BEYATLI, Y., 2005 Bacillus Cinsi Bakteriler Tarafından Biyoplastik Üretimi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi Yıl: 2005 Cilt: 03 Sayı: 05 Sayfa: 1-22.
- ELIZABETH, A.B., EMMERT., HANDELSMAN J., 1998. FEMS Microbiology Letters 171 (1999) 1-9.
- FEIO, S.S., BARBOSA, A., CABRITA, M., NUNES, L., ROSEIRO, A.E.J.C. and CURTO, M.J.M., 2004. Antifungal activity of Bacillus subtilis 355 against wood-surface contaminant fungi. Microbiol Biotechnology 31: 199-203.
- GAMS, W. and BISSET, J., 1998. Morphology and identification of Trichoderma. In Trichoderma and Gliocladium, pp. 3-31. Edited by C.P. Kubicek and G.E. Harman . London; Bristol, PA: Taylor and Francis.
- GARBEVA, P., VAN VEEN, J. A. and VAN ELSAS, J. D., 2004. Microbial diversity in soil: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology* 42, 243-270.185
- GERHARDSON, B., 2002. Biological substitutes for pesticides. Trends in Biotechnology 20, 338-343.
- GRIESVEN, L.J.L.D., 1988. The cultivation of mushrooms. Mushroom experimental station, Horst, Netherlands.
- HAGN, A., GEUE, H., PRITSCH, K. and SCHLOTTER, M., 2002. Assessment of fungal diversity and community structure in agricultural used soils. Kerala, India: Research Signpost.
- HAYES, W.A. and WRIGHT, S.H., 1979. Edible mushrooms, p. 141-176. In A. H. Rose (ed.), Economic microbiology. Academic Press, Inc., New York.
- HOWELL, C. R., 1998. The role of antibiosis in biocontrol. In *Trichoderma and Gliocladium*, pp. 173-184. Edited by C. P. Kubicek and G. E. Harman. London; Bristol, PA: Taylor & Francis.
- [Http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/nov2004.html](http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/nov2004.html).
- [Http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/](http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/)
- [Http://www.sgmbiotech.com](http://www.sgmbiotech.com)

- HUANG, C.-J., WANG, T.-K., CHUNG, S.-C. and CHEN, C.-Y., 2005. Identification of an Antifungal Chitinase from a Potential Biocontrol Agent, *Bacillus cereus* 28-9. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, Vol. 38, No. 1, pp. 82-88.
- HUHNKE, W., 1970. Modern mushroom farming. Sci. J.6:62-66.
- JAKLITSCH, W.M., SAMUELS, G.J., DODD, S.L., LU, B.S. and DRUZHININA, I.S., 2006. *Hypocrea rufa*/*Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. Stud. Mycol. 56:135-177.
- JANDAİK, S., GULERIA, D.S. and PARMAR, Y.S., 2004. Effect of *Cladobotryum dendroides* on the yield of *Agaricus bisporus*: Inoculum factors and timing of infection. In: Romaine, C.P., Keil, C.B., Rinker, D.L., Royse, D.J. (eds). Science and cultivation of edible and medicinal fungi Mushroom Science XVI. Penn State University, University Park, USA, p.503-505.
- KALBERER, P.P., 2001. Water relations of the mushroom culture (*Agaricus bisporus*: influence on the crop yield and on the dry matter content of the fruit bodies. In: Maher, M.J. (ed.). Science and cultivation of edible and medicinal fungi – Mushroom Science XI Balkema, Rotterdam, p.269-74.
- KAYIN, E., 2001. Bazı atasal ve muhtemel mutant bakterilerin termobiyoplastik (PHB) üretimlerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- KIM, D.-S., COOK, R.J. and WELLER, D.M., 1997. *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root diseases of wheat grown with reduced tillage. Phytopathology 87:551-558.
- KILLHAM, K., 1994. Soil Ecology, 1st edn. Cambridge; Newyork: Cambridge University Press.
- KLEIN, D. and EVELEIGH, E., 1998. Ecology of Trichoderma. In Trichoderma and Gliocladium, pp. 57-69. Edited by C.P. Kubicek and G.E. Harman. London; Bristol, PA: Taylor and Francis.

- KLOPPER, J.W., RYU, C.-M. and ZHANG, S., 2004. The Nature and Application of Biocontrol Microbes: *Bacillus* spp. Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. . *Phytopathology* 94:1259-1266.
- KNEEBONE, L. R. and MEREK, E. L., 1959. Brief outline of and control for mushroom pathogens and weed moulds, indicator moulds and competitors. *Mushroom Growers Assoc. Bull.* 113:146-152.
- KOPYTOWSKI FILHO, J., 2006. Produtividade e eficiência biológica de *Agaricus blazei* (Murrill) Heinemann, em diferentes condições de cultivo. Botucatu, Brasil. 134p. (Ph. D. Thesis. Faculdade de Ciências Agronômicas.UNESP).
- KUHLS, K., LIECKFELDT, E., BORNER, T., and GUEHO, E., 1999. Molecular reidentification of human pathogenic *Trichoderma* isolates as *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma citrinoviride*. *Med. Mycol.* 37:25-33.
- LAMBERT, E. B. and AYERS, T.T., 1953. Diseases of the common mushroom. U.S. Dep. Agric. Yearb. Agric. 1953:478-482.
- LAVELLE, P. and SPAIN, A.V., 2001. Soil Ecology. Dordrecht; Boston: Kluwer Academic Publishers.
- LEIFERT, C., CHIDBUREE, H.L.I.S., HAMPSON, S., WORKMAN, S., SIGEE, D., EPTON, H.A.S. and HARBOUR, A., 1995. Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. *Journal of Applied Bacteriology*, 70, 97-108.
- LEVY, S.B. 1978. Emergence of antibiotic-resistant bacteria in the intestinal flora of farm inhabitants. *J. Infect. Dis.* 137,688-690.
- LIECKFELDT, E., KULLNIG, C., KUBICEK, C.P., SAMUELS, G.J. and BORNER, T., 2001. *Trichoderma aureoviride*: phylogenetic position and characterization. *Mycol. Res.* 105:313-32
- LIECKFELDT, E., KULLNIG, C., SAMUELS, G.J. and KUBICEK, C.P. 2000. Sexually competent, sucrose - and nitrate - assimilating strains of *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*) from South American soils. *Mycologia* 92:374-380.

- LIECKFELDT, E., SAMUELS, G.J., NIRENBERG, H.I. and PETRINI, O., 1999. A morphological and molecular perspective on *Trichoderma viride*: is it one or two species. Appl. Environm. Microbiol. 65:2418-2428.
- LOGAN, N.A. and TURNBULL, P.C.B., 1999. Bacillus and recently derived genera. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington; 1999:357.
- LORITO, M., Farkas, V., REBUFFAT, S., BODO, B. and KUBICEK, C. P. (1996). Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum*. Journal of Bacteriology 178, 6382-6385.
- LU, B., DRUZHININA, I.S., FALLAH, P., CHAVERRI, P., GRADINGER, C., KUBICEK, C.P., SAMUELS, G.J., 2004. *Hypocrea/Trichoderma* species with pachybasium-like conidiophores: teleomorphs for *T. minutisporum* and *T. polysporum* and their newly discovered relatives. Mycologia, 96(2), 2004, pp310-342.
- MARI, M., GUIZZARDI, M. and PRATELLA, G.C. 1996. Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. Biol. Control 7, 30-37.
- MASSLE, J., ROBERTS, G. and WHITE, P.J., 1985. "Selective isolation of *Bacillus sphaericus* from soil by use of acetate as the only major source of carbon" Applied and Environmental Microbiology, June: 1478-1481.
- MINHONI, M.T.A., KOPYTOWSKI FILHO, J. and ANDRADE, M.C.N., 2005. Cultivo de *Agaricus blazei* Murrill ss. Heinemann. FEPAF, Botucatu, SP.
- MOYNE, A.-L., SHELBY, R., CLEVELAND, T.E. and TUZUN, S., 2001. Bacillomycin D: an iturin with antifungal activity against *Aspergillus flavus*. Journal of Applied Microbiology 90, 622-629.
- NAIR, N.G., 1980. Weed-molds in mushroom cultivation. Agric. Gaz. N.S.W. 91:36-69.
- NASCIMENTO, J.S. and EIRA, A.F., 2003. Occurrence of the false truffle (*Diehliomyces microsporus* Gilkey) and damage on the himematsutake medicinal mushroom (*Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al.). Int. J. Med. Mushr., 5(1), 87-94.

- NICHOLSON, W.L. and LAW, J.F., 1999. “ Method for purification of bacterial endospores from soils: UV resistance of natural Sonoran desert soil populations of *Bacillus* spp. with reference to *B.subtilis* strain 168” ,Journal of Microbiological Methods, 35: 13-21.
- NIELSEN, P. and SØRENSEN, J., 1996. Multi-target and medium-independent fungal antagonism by hydrolytic enzymes in *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus pumilus* strains from barley rhizosphere.
- NRC Report 1996. Ecologically Based Pest Management: New Solutions for a New Century, 144 pp. Natl. Acad. Sci. Press.
- OEPP/EPPO (1994) EPPO Standard PP 2/1(1) Guideline on good plant protection practice: principles of good plant protection practice. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 24, 233-240.
- OKIGBO, R.N., 2002. Mycoflora of tuber surface of white yam (*Dioscorea rotundata* poir) and postharvest control of pathogens with *Bacillus subtilis*. Mycopathologia 156: 81–85.
- PAULITZ, T.C. and BELANGER, R.R., 2001. Biological control in greenhouse systems. Annu. Rev. Phytopathol. 39:103-33.
- PHAE, C.G., SHODA, M., Kita, N., NAKANO, M. and USHIYAMA, K.,1992. Biological control of crown and root rot and bacterial wilt of tomato by *Bacillus subtilis* NB22. Ann. Phytopath. Soc. Japan 58: 329-339.
- QUINN, CP., TURNBULL, P. Anthrax. In: Collier L H, Balovas A, Sussman M (eds). Topley - Wilson's Microbiology and Microbial Infections, volume 3, Bacterial Infections, London: Edward Arnold; 1998: 799.
- RAPER, J. and MILLER, R., 1972. Genetics Analysis of The Life Cycle of *Agaricus bisporus*. Mycologia, 64: 1088-1117.
- RIFAI, M.A., 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers 116,1-56.
- ROSOVITZ, M.J., VOSKUIL, M.I. and CHAMBLISS, G.H., 1998.“*Bacillus*, Topley and Wilsons Microbiology and Microbial Infections, Systematic Bacteriology, Ninth Edition, Volume 2”, by edited L. Collier, A. Balows and M. Susman, Oxford University Pres, New York, 1152-1162.

- RUSSELL, P.E., 1995. Fungicide resistance: occurrence and management. J. Agric. Sci. 124, 317-323.
- RYTTER, J.L., LUKEZIC, F.L., CRAIG, R. and MOORMAN, G.W., 1989. Biological control of geranium rust by *Bacillus subtilis* Phytopathology 79:367-370.
- SADFI, N., CHÉRIF, M., FLISS, I., BOUDABBOUS, A. and ANTOUN, H., 2001. Evaluation of bacterial isolates from salty soils and *Bacillus thuringiensis* strains for the biocontrol of fusarium dry rot of potato tubers. Journal of Plant Pathology 83 (2), 101-118.
- SAMUELS, G.J., DODD, S.L., GAMS, W., CASTLEBURY, L.A., and PETRINI, O., 2002. *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. Mycologia 94:146-17.
- SAMUELS, G.J., LIECKFELDT, E., and NIRENBERG, H.I., 1999. *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. Sydowia 51:71-88.
- SAMUELS, G.J., 1996. *Trichoderma*: A review of biology and systematics of the genus. Mycological Research 100, 923-935.
- SAMUELS, G.J. 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. Phytopathology 96:195-206.
- Seung-Hun Yu, Gun-Sik Seo, 2002. Integrated Control of Green Mould in Oyster Mushroom.
- SID AHMED, A., EZZIYYANI, M., PÉREZ SÁNCHEZ, C. and CANDELA M.E., 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. European Journal of Plant Pathology 109: 633–637, 2003.
- SINDEN, J. W., 1971. Ecological control of pathogens and weed-molds in mushroom culture. Annu. Rev. Phytopathol. 9:411-432.
- SMITH, J., 1969. Commercial mushroom production. Process Biochem. 4:43-46, 52.

- SNEATH, P.H.A., 1986. "Endospore-forming Gram-Positive Rods and Cocci, Bergeys Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2", edited by P. H. A Sneath, N. S., Mair, M. E., Sharpe, J. G. Holt, Williams and Wilkins, Baltimore, 1104-1139, Baltimore.
- TAUBMAN, S., 1992. "Genus Bacillus", Contemporary Oral Microbiology and Immunology, 355-356.
- TAUTORUS, T.E. and TOWNSLEY, P.M., 1984. Analysis of an Effective Antibiotic (Chaetomacin) Isolated from a Thermophilic Bacillus sp. Against Olive Green Mold. 775-779.
- TAUTORUS, T.E. and TOWNSLEY P.M., 1983. Biological Control of Olive Green Mold in Agaricus bisporus Cultivation 511-515.
- Trichoderma* Persoon, Römer's Neues Mag. Bot., 1: 92. 1794: Fries, Syst. mycol. 1: xlv. 1821 and Syst. mycol. 3: 214. 1829.
- TURNBELL, P.C.B. and KRAMER, J.M., 1991. "Bacillus: Manual of Clinical Microbiology, Fifth Edition", Balows, A., Hauster, J. R., Herman, K.L., Isenberg, H. D. and Shadomy, H. J., American Society of Microbiology, Washington D.C., 296-303.
- TÜMBAY, E. Pratik Tıp Mikolojisi. İzmir: Bilgehan Basımevi, 1983.
- TOURE', Y., ONGENA, M., JACQUES, P., GUIRO, A. and THONART, P., 2004. Role of lipopeptides produced by Bacillus subtilis GA1 in the reduction of grey mould disease caused by Botrytis cinerea on apple. Journal of Applied Microbiology 96, 1151-1160.
- TOWNSLEY, P.M., 1974. Pure cultural industrial fermentation in the production of mushrooms. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 7:254-255.
- VEDDER, P.J.C., 1978. Diseases and pests, p. 317-392. Modern mushroom growing. Educabock B. V., Culemborg, The Netherlands.
- VEDDER, P.J.C., 1996. Cultivo moderno del champignon. Mundiprensa, Madrid.
- VYAS, S.C., 1988. Nontarget effects of Agricultural Fungicides. CRC Pres, Inc. Boca Raton, Florida, USA.
- VOLK, T., Fungus of the Month for November 2004.

- WIDDEN, P. and ABITBOL, J. J., 1980. Seasonality of *Trichoderma* species in spruce-forestsoil. *Mycologia* 72, 775-784.
- WILCOX, W. F., HARMAN, G. E. & DI PIETRO, A. 1992. Effect of gliotoxin on growth, sporulation, and zoospores motility of seven *Phytophthora* spp. in vitro. *Phytopathology* 82, 1121.
- WIPAT, A. and HARWOOD, C.R., 1999. The *Bacillus* genome sequence: the molecular blueprint of a soil bacterium. *FEMS Microbiology Ecology*, 28: 1-9
- YILMAZ, M., 2003. Topraktan izole edilen *Bacillus* cinsi bakterilerin bazı metabolik özelliklerinin belirlenmesi, plazmid DNA ve protein profillerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- YİĞİT F., 2005. S.Ü Ziraat fakültesi dergisi 19 (36): 70-77
- YOUNG, C.S., LETHBRIDGE, G., SHAW, L.J. and BURNS, R.G., 1995. "Survival of inoculated *Bacillus cereus* spores and vegetative cells in nonplanted and rhizosphere soil", *Soil Biol. Biochem.*, 27(8):1017-1026.
- ZINN, M., WILTHOLT, B. and EGLI, T., 2001. "Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate", *Advanced Drug Reviews*, 53: 5-21.
- ZİRAİ MÜCADELE TEKNİK TALİMATI, Nisan 2007.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Adana’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana’da tamamladım. 2001 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölüm’ünde lisans öğrenimime başladım. 2005 yılında Biyolog lisansı ile mezun oldum. 2006 yılında halen devam etmekte olduğum Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimime başladım.