

**BAZI ODUN ÇÜRÜKLÜK MANTARLARININ ANTAGONİSTİK
MANTARLAR İLE BİYOLOJİK KONTROLÜ**

SELİM HİNÇAL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. MESUT YALÇIN**

DÜZCE, 2023

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BAZI ODUN ÇÜRÜKLÜK MANTARLARININ ANTAGONİSTİK
MANTARLAR İLE BİYOLOJİK KONTROLÜ

Selim HİNÇAL tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Mesut YALÇIN
Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Mesut YALÇIN
Düzce Üniversitesi

Prof. Dr. Selim ŞEN
Gümüşhane Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Beşir YÜKSEL
Düzce Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 27/07/2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

27 Temmuz 2023

Selim HINÇAL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı Doç. Dr. Mesut YALÇIN 'a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana güç veren her daim arkamda olan anneme, babama ve hayat arkadaşşıma teşekkürlerimi sunar, onlara sağlık, mutluluk ve huzur dolu uzun yıllar dilerim.

27 Temmuz 2023

Selim HINÇAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	vii
KISALTMALAR.....	viii
SİMGELER	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM	3
2.1. MATERYAL	3
2.2. YÖNTEM	3
2.2.1. Mantar Kültürlerinin Oluşturulması.....	3
2.2.2. Agar Ortamında Çift Kültür İncelenmesi	4
2.2.3. İkili Kültür Testinin Odun Blokları Üzerindeki Etkisi	6
2.2.4. Antagonistlerin Odun Örneklerine Ön Aşılması	6
2.2.5. İstatistik Analizler	7
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	8
3.1. İKİLİ KÜLTÜR DENEMELERİNDE ELDE EDİLEN BULGULAR	8
3.1.1. Agar Ortamı İkili Deneme Bulguları	8
3.1.2. Odun Blokları Üzerinde Yapılan Testler	18
3.1.3. İkili Kültür Testlerinin SEM (Taramalı Elektron Mikroskopu) İncelenmesi.....	24
4. SONUÇ	27
5. KAYNAKLAR	29
6. EKLER	33
6.1. EK 1: ÇÜRÜKLÜK VE ANTAGONİST MANTARLARININ MİSEL GELİŞİM GÖRSELLERİ	33
ÖZGEÇMİŞ	39

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Besi ortamının hazırlanması.	4
Şekil 2.2. Agar disklerinin kültürlerden alınması ve ikili kültür ortamlarının hazırlanması.	4
Şekil 2.3. Antagonistlerin patojen misel gelişimi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi.	5
Şekil 2.4. Odun bloklarında çürüklük mantarı kontrol örneği ve ikili kültür karşılaşması.	7
Şekil 3.1. Kontrol petri kutularında günlük çürüklük mantar misel büyümesi (mm).	8
Şekil 3.2. <i>T. harzianum</i> antagonistinin çürüklük mantarlarının misel gelişimleri üzerine etkisi.	9
Şekil 3.3. <i>T. viride</i> antagonistinin çürüklük mantarlarının misel gelişimleri üzerine etkisi.	11
Şekil 3.4. <i>A. niger</i> antagonistinin çürüklük mantarlarının misel gelişimleri üzerine etkisi.	12
Şekil 3.5. <i>P. brevicompactum</i> antagonistinin çürüklük mantarlarının misel gelişimleri üzerine etkisi.	13
Şekil 3.6. Kontrol petri kutularında günlük antagonist mantar misel büyümesi (mm). .	14
Şekil 3.7. Petri kaplarının altındaki ikili kültür görüntüleri.	23
Şekil 3.8. <i>P. placenta</i> çürüklük mantarı ve <i>T. viride</i> antagonistinin ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü.	25
Şekil 3.9. <i>T. hirsuta</i> çürüklük mantarı ve <i>A. niger</i> antagonistinin ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü.	25
Şekil 3.10. <i>Trichoderma</i> cinsi antagonisti ve <i>T. versicolor</i> çürüklük mantarının ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü.	26
Şekil 3.11. <i>P. brevicompactum</i> cinsi antagonisti ve <i>T. hirsuta</i> çürüklük mantarının ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü.	26
Şekil 6.1. Antagonist mantarların <i>T. versicolor</i> mantarının gelişimine etkileri.	33
Şekil 6.2. Antagonist mantarların <i>S. hirsutum</i> mantarının gelişimine etkileri.	34
Şekil 6.3. Antagonist mantarların <i>N. lepidus</i> mantarının gelişimine etkileri.	35
Şekil 6.4. Antagonist mantarların <i>T. hirsuta</i> mantarının gelişimine etkileri.	36
Şekil 6.5. Antagonist mantarların <i>C. puteana</i> mantarının gelişimine etkileri.	37
Şekil 6.6. Antagonist mantarların <i>P. placenta</i> mantarının gelişimine etkileri.	38

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. <i>T. harzianum</i> 'un çürüklük mantarları üzerindeki engelleme oranları	9
Çizelge 3.2. <i>T. viride</i> 'nin çürüklük mantarları üzerindeki engelleme oranları	10
Çizelge 3.3.A. <i>niger</i> 'in çürüklük mantarları üzerindeki engelleme oranları.	11
Çizelge 3.4. <i>P. brevicompactum</i> 'un çürüklük mantarları üzerindeki engelleme oranları.	13
Çizelge 3.5. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>T. versicolor</i> çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.	14
Çizelge 3.6. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>T. hirsuta</i> çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.	15
Çizelge 3.7. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>S. hirsutum</i> çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.	15
Çizelge 3.8. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>C. puteana</i> çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.	16
Çizelge 3.9. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>N. lepidus</i> çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.	16
Çizelge 3.10. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>P. placenta</i> çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.	17
Çizelge 3.11. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>N. lepidus</i> çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	18
Çizelge 3.12. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>P. placenta</i> çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	19
Çizelge 3.13. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>C. puteana</i> çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	19
Çizelge 3.14. <i>T. viride</i> 'nin çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	19
Çizelge 3.15. <i>T. harzianum</i> 'un çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	19
Çizelge 3.16. <i>A. niger</i> 'in çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	20
Çizelge 3.17. <i>P. brevicompactum</i> 'un çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	20
Çizelge 3.18. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>T. hirsuta</i> çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	21
Çizelge 3.19. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>S. hirsutum</i> çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	21
Çizelge 3.20. Biyolojik kontrol ajanlarının <i>T. versicolor</i> çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	21
Çizelge 3.21. <i>T. viride</i> 'nin çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	22
Çizelge 3.22. <i>T. harzianum</i> 'un çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	22
Çizelge 3.23. <i>A. niger</i> 'in çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	22
Çizelge 3.24. <i>P. brevicompactum</i> 'un çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.	22

KISALTMALAR

A	Antagonist
BKA	Biyolojik Kontrol Ajanı
HG	Homojenlik Grubu
OÇM	Odun Çürüklük Mantarları
PDA	Patates Dekstroz Agar
P	Patojen
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu



SİMGELER

r	Misel koloni yarıçapı
ml	Mililitre
°C	Santigrat
%	Yüzde
m ₀	Mantar testi öncesi tam kuru ağırlık
m ₁	Mantar testi sonrası tam kuru ağırlık



ÖZET

BAZI ODUN ÇÜRÜKLÜK MANTARLARININ ANTAGONİSTİK MANTARLAR İLE BİYOLOJİK KONTROLÜ

Selim HINÇAL

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Mesut YALÇIN

Temmuz 2023, 38 sayfa

Ahşap malzemede zarar yapan en önemli biyolojik faktörlerden birisi odun çürüten mantarlar olup bu faktörlerle mücadelede geçmişten günümüze en fazla kullanılan yöntem kimyasal korumadır. Ancak özellikle çevresel baskılardan dolayı bilim adamları alternatif koruma yöntemleri üzerinde çalışmalar yürütmektedir. Bu çalışmanın amacı, odun çürüklük mantarına karşı bazı antagonist mantarın biyolojik kontrol ajanı olarak değerlendirme potansiyelinin araştırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda, *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta*, *Stereum hirsutum*, *Coniophora puteana*, *Neolentinus lepideus* ve *Postia placenta*, çürüklük mantarlarına karşı *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* ve *Penicillium brevicompactum* mantarlarının antagonist etkileri araştırılmıştır. Çalışma ilk olarak agar ortamında ikili kültür karşılaştırması yapılarak engelleme oranları tespit edilmiş, sonrasında ise odun blokları üzerinde çürüklük testi yapılarak antagonist mantarların performansı karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, *Trichoderma* cinsine ait türlerin çürüklük mantarları üzerinde oldukça etkili bir performansa sahip olduğu, engelleme oranını %76-%99 a yükselttiği ve ağırlık kayıplarını ise %1,9-%5,8 oranına indirdikleri tespit edilmiştir. Engelleme oranları dikkate alındığında antagonistlerin en çok etki oranına *P. placenta*, en az etki oranına ise *S. hirsutum* türleri üzerinde olduğu ortaya çıkmıştır. Elde edilen sonuçlara göre laboratuvar ortamında agar ve odun blokları üzerinde bazı antagonistlerin çürüklük mantarı üzerinde oldukça etkili bir biyolojik kontrole sahip oldukları ortaya çıkmıştır. Ancak bu çalışmaları desteklenmek amacıyla dış alanda özellikle toprakla temas eden yerlerde bilimsel çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Ağırlık kaybı, Antagonist mantarlar, Biyolojik kontrol, Çürüklük mantarı, Engelleme oranı, Odun koruma

ABSTRACT

BIOLOGICAL CONTROL OF SOME WOOD DECAY FUNGI WITH ANTAGONISTIC FUNGI

Selim HINÇAL

Düzce University

Graduate School, Department of Forestry Industry Engineering

Master Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mesut YALÇIN

July 2023, 38 pages

One of the most important biological factors that damage wood materials is wood-decay fungi (WDF). Chemical preservatives have traditionally been the most effective method for controlling WDF. However, due to environmental pressures, scientists are working on alternative protection methods. The aim of this study is to investigate the potential of some antagonistic fungi against wood-decay fungi as a biological control agent (BKA). For this purpose, the antagonistic effects of *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, and *Penicillium brevicompactum* fungi were investigated against the *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta*, *Stereum hirsutum*, *Coniophora puteana*, *Neolentinus lepideus*, and *Postia placenta* species of wood-decay Basidiomycetes fungi. In the study, firstly, inhibition rates were determined by comparing dual culture tests on agar medium, and then the performance of BKAs was compared by performing decay tests on wood blocks. As a result of the study, it was determined that the species belonging to the genus *Trichoderma* showed a very effective performance on WDF, increased the inhibition rate to 76%-99%, and reduced the weight loss to 1.9%-5.8%. Considering the inhibition rates, it was determined that the most effective rate of the BKAs was on *P. placenta* and the least on *S. hirsutum* species. According to the results obtained, it has been determined that some BKAs are very effective biological control agents of rot fungi on agar and wood blocks in vitro. However, in order to more clearly determine the effectiveness of BKAs in practice, this study, which was carried out in the laboratory environment, should be supported by tests performed in contact with the external field and soil.

Keywords: Antagonistic fungi, Biological control, Inhibition rate, Weight loss, Wood-decay fungi, Wood preservation,

1. GİRİŞ

Ahşap doğal bir malzeme olup çeşitli etmenler tarafından bozundurulabilmektedir. Odun çürüten mantarlar, ağaç malzemelerin bozunmasına ve ekonomik kayıplarına neden olan en önemli faktörlerden birisidir (Rayner ve Boddy, 1988; Jung ve ark., 2018). Ahşap malzemelerin korunması için geçmişten günümüze birçok yöntem kullanılmış olmakla birlikte kimyasal koruyucular bu alanda en fazla tercih edilen yöntemlerden birisi olmuştur. Kimyasal koruyucular hızlı ve etkili bir koruma sağlamanın yanı sıra maliyet açısından uygun olması sebebiyle üretici ve kullanıcılar açısından tercih edilen bir koruma şekliydi (Chee, 2001). Ancak kimyasal yöntemler uzun vadede insan sağlığı ve çevresel sorunların yanı sıra dirençli hedef organizmaların gelişmesi gibi faktörlere sebebiyet vermektedir (Harman ve ark. 2004; Koşar, 2016; Bruce ve ark., 1991, Spadaro ve Gullino, 2005). Ahşap koruma sektöründe bakır bazlı odun koruyucuların önemi her geçen gün artmakta olup çürüklük mantarlarına karşı kullanılan en önemli biyosittir (Freeman ve McIntyre, 2008). Ancak özellikle Basidiomycetes sınıfı mantarların bakıra karşı tolerasyonu nedeniyle başarısız sonuçlar ile karşılaşabilmektedir (Civardi ve ark., 2015; Ribera ve ark., 2017). Tüm bu nedenlerden dolayı ahşap koruma sektöründe daha çevreci ve sürdürülebilir odun koruma yöntemleri ön plana çıkmış ve bilimsel araştırmalarda bu yönde gelişme kaydetmiştir.

Biyolojik kontrol, sentetik kimyasal yöntemlere umut verici alternatif veya entegre mücadele yöntemlerinden birisidir (Vinale ve ark. 2008). Bu bakımdan antagonistik mikroorganizmalar tek başına, ahşap koruyucu modifikasyon yöntemleri veya hafif toksik kimyasallar ile entegre bir şekilde ahşap koruma sektöründe değerlendirilmesi durumunda sürdürülebilir ve ileride ahşap pazarının taleplerini (yenilenebilir ve çevre dostu ürün sertifikası) karşılayabilecek ahşap malzemeler ürün elde edilebilir.

Trichoderma cinsi mantarlar bitki koruma ve odun koruma alanlarında biyolojik kontrol ajan olarak en çok çalışılmış mantarlardır. Hatta halihazırda bitki patojenlerine karşı ticari mantar olarak kullanılmaktadırlar (Verma ve ark., 2007). Bu türler patojenik mantarlara karşı mikroparazitik yeteneği olan ve patojenlerin hücre duvarlarını parçalama yeteneğine sahip olan toprak kökenli mantarlardır (Khalid, 2017). Ayrıca,

çoğu organik madde üzerinde gelişmeleri, kolayca spor üretme yetenekleri, elverişsiz koşullar altında klamidospore olarak hayatta kalır ve mantar ilaçlarına karşı dirençli bir yapıya sahip olmaları bu alanda üzerinde çalışılan önemli bir mantar cinsi olmasına vesile olmuştur (Chee, 2001). Odun koruma alanında da antagonist bir mantar olarak değerlendirilme potansiyeli bazı çalışmalarda araştırılmıştır (Highely ve Richard 1988; Bruce ve ark. ark., 1984).

Biyokontrol ajanlarının etkinliğini test etmek amacıyla yapılan çalışmalar genellikle laboratuvar ortamında agar (besi ortamı) veya odun blokları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Odun koruma alanındaki biyokontrol çalışmalarında en yaygın olarak kullanılan yöntem agar ortamında ikili kültür test yöntemidir (Bruce ve Highley 1991; Croan ve Highley 1990). Bu yöntemlerden elde edilen sonuçlara göre odun blokları üzerinde ağırlık kaybı esas alınarak yine ikili karşılaşma testleri gerçekleştirilmektedir (Freitag ve Morrell, 1989). Agar ortamında yapılan çalışmalarda, aynı ortamda iki mantarın (çürüklük ve antagonist) misel etkileşimleri sonucu; misel gelişiminin durdurulması, pigmentasyon, temas noktalarında baraj oluşumu, çeşitli enzim salgılamaları gibi fizyolojik tepkiler oluşur ve takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Boddy, 2000; Ujor ve diğ., 2012). Bu tür fizyolojik tepkimelerin ortaya çıkmasının nedeni rakip mantarların bulundukları bölgedeki besinlere birbirinin erişimine engel olmak içindir (Boddy, 2000). Araştırmacıların bazı çalışmalarında ise kontrolsüz bir ortam olan alan denemeleri yapılarak mantarların etkileşimleri test edilmiştir (Schuber ve ark., 2008).

Belirtilen üç farklı biyolojik mücadele test yönteminde elde dılecek sonuçlar aynı olmayabilir. Yani biyokontrol ajanlarının agar ortamında gösterdiği başarıyı odun bloklarında veya dış alanda göstermeyebilir. Alan testlerinde biyolojik kontrol ajanlarının düşük başarı oranı göstermesinin birkaç nedeni olabilir. Bunların en önemli nedenleri arasında BKA ların çürüme mantarları ile aynı ekolojik ortamı kullanamama durumudur (Shukla ve Rana 1995; Cook ve Baker, 1983). Özellikle çürüklük mantarının gelişmekte olduğu oramın besin, sıcaklık, rutubet, Ph v.b gibi ekolojik verileri potansiyel BKA ların istekleri ile uyum göstermesi halinde başarılı bir rekabet ortaya çıkabilecektir.

2. MATERİYAL VE YÖNTEM

2.1. MATERİYAL

Çalışma kapsamında yedi farklı odun çürüten mantar türüne karşı antagonist etkiye sahip dört farklı mantar türünün etkinliği in vitro koşullar altındaki test edilmiştir. Odun çürüten mantarlardan *Trametes versicolor* (L: Fr.) Pilat. (*Mad-697*)), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (*73-65/1*) *Coniophora puteana* (Schum.: Fr.) P. Karst (*Mad-515*)), *Postia placenta* (Fr.) M.J. Larsen & Lombard (HHB5104-Sp) türleri Forest Products Laboratory (Madison, Wisconsin, USA) temin edilmiştir. *Neolentinus lepideus* (Fr.) Redhead & Ginns., *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd. sporoforları doğadan temin edilip doku kültürü metoduna göre izole edildikten sonra tür teşhisleri yapıp kültüre alınmıştır (Yalçın et al., 2019). Antagonist mantarlardan *Trichoderma harzianum* Rifai (FS-19), *Aspergillus niger* Tiegh. (JAG-04- 1003) ve *Penicillium brevicompactum* Dierckx (FS-31) Forest Products Laboratory (Madison, Wisconsin, USA)'den temin edilmiştir. *Trichoderma viride* ise Düzce Üniversitesi, Konuralp Kampüsünden temin edildikten sonra izole edilmiştir. Mantarlar, ışık mikroskobu altında incelenip teşhisler yapılmıştır (Yalçın ve ark. 2019).

Odun blokları üzerinde yapılan testlerde, 50 (r) x 25 (t) x 5 (e) boyutlarında sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) ve kayın (*Fagus orientalis* L.) diri odunları kullanılmıştır.

2.2. YÖNTEM

2.2.1. Mantar Kültürlerinin Oluşturulması

Temin edilen ve izole edilen çürüklük ve antagonist mantarlar plastik petri kaplarında (90mm) Patates Dekstrozu Agar (PDA, 39 g/l) (MECRK) ortamına aşıl原因arak (mantar diski petri kabının merkezine aşıl原因mıştır) 25°C'de ve %80 bağıl nemde inkübe edildi. Her mantar türü için farklı olmakla birlikte yaklaşık 10-14 gün sonunda tüm mantarlar inkübasyonu tamamlanmıştır. Slant kültürler kullanılıncaya kadar buzdolabında 4 °C'de saklandı.

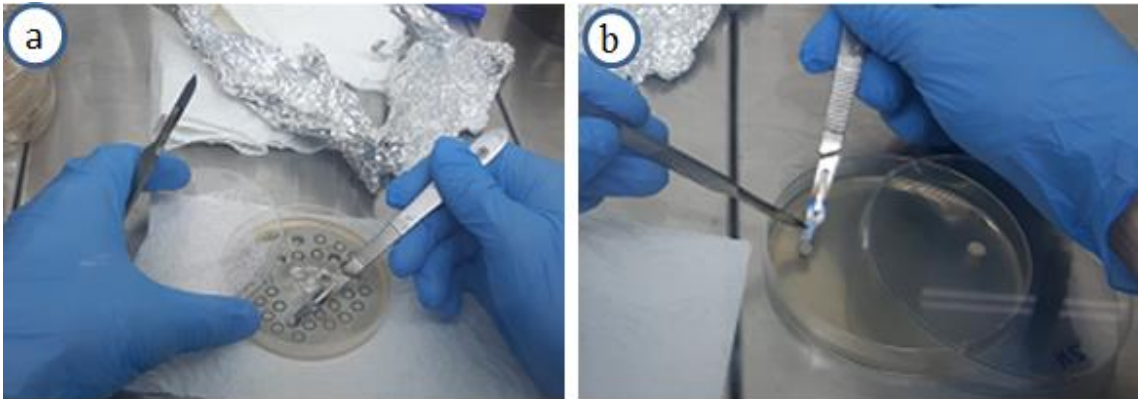
Antagonist mantarların çürüklük mantarları üzerindeki büyümeyi engelleyici etkilerini belirlemek amacıyla iki farklı test yöntemi kullanılmıştır. Birinci yöntemde agar plakları üzerinde antagonist mantar ile çürüklük mantarının etkileşiminin incelendi. İkinci yöntemde ise, odun bloklarında iki mantarın etkileşiminin incelenmesidir.



Şekil 2.1. Besi ortamının hazırlanması.

2.2.2. Agar Ortamında Çift Kültür İncelenmesi

Odun çürüklük mantarlarına (OÇM) karşı in vitro antagonist aktivite, modifiye edilmiş ikili kültür tekniği kullanılarak belirlendi (Royse ve Ries, 1978, Schmoll ve Schuster, 2010; Awad ve ark., 2018). Deneyler, her biri 14 ml Patates Dekstroz Agar (PDA) içeren 90mm'lik petri kapları gerçekleştirilmiştir. Daha önceden (10 günlük eski kültürler) kültürü hazırlanan çürüklük mantarı ve antagonist mantarların 5mm lik Agar diskleri petri kaplarının kenarına gelecek şekilde dikkatlice yerleştirilmiştir (Şekil 2.2a). Agar diskleri petri kaplarının kenarından 1 cm uzaklığa gelecek şekilde karşılıklı ve aralarında 60 mm mesafe olacak şekilde ikili kültürü (paired culture method) oluşturulmuştur (Şekil 2.2b).

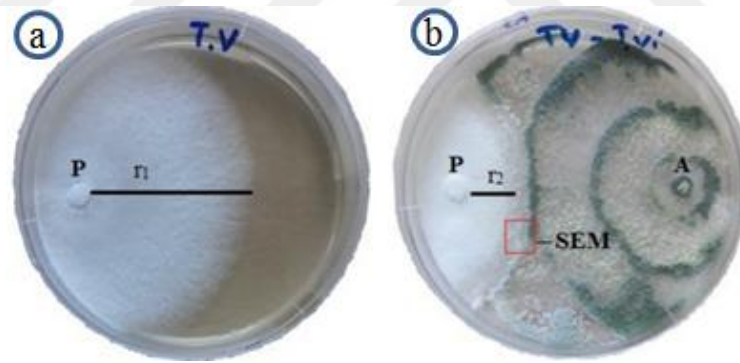


Şekil 2.2. Agar disklerinin kültürlerden alınması ve ikili kültür ortamlarının hazırlanması.

Antagonist mantar olmayan petri kapları kontrol örneği olarak değerlendirildi. Hazırlanan petri kapları parafilm ile kaplandıktan sonra 25°C'de ve %80 bağıl nemde inkübe edilmiştir. Her bir kombinasyon için 4 tekrar yapılmıştır. Petri kapları her 24 saatte bir inkübasyon dolabından çıkarılarak fotoğrafları çekilmiş ve iki dik eksen boyunca gerçekleştirilen koloni yarıçapı ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Mantarların büyüme hızları farklı olduğundan bazı mantarlarda (*T. versicolor*, *S. hirsutum* ve *N. leptideus*) 10. gün sonunda bazı mantarlarda ise (*T. hirsuta*, *C. puteana* ve *P. placenta*) 14. gün sonunda ölçümler ve izlenimler tamamlanmıştır. Bu süreler çürüklük mantarları kontrol örneklerine ait misel kolonilerinin petri kabının karşı tarafına ulaşmaya kadar geçen süre esas alınarak belirlenmiştir. Çürüklük mantarı miseli büyümesinin baskılanma oranını (mycelial inhibition rate) aşağıdaki belirtilen formüle göre hesaplanmıştır (Sreedevi ve ark., 2011; Jung ve ark., 2018).

$$\text{Engelleme (\%)} = \frac{r_1 - r_2}{r_1} \times 100$$

Bu eşitlikte; r_1 çürüklük mantarı kontrol örneği koloni yarıçapı, r_2 antagonist ile birlikte ikili etkileşimdeki çürüklük mantarı koloni yarıçapıdır (Şekil 2.3a,b).



Şekil 2.3. Antagonistlerin patojen misel gelişimi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi.

(a) Kontrol örneği petrikabı, b) Antagonist aşılantmış petrikabı)

Özellikle mantar misel kolonilerinin temasları ile birlikte (inhibisyon bölgesi) meydana gelen renk değişimleri ve misellerin birbiri ile ilgili olan etkileşimleri de incelenmiştir. Agar ortamının renk değişimi petri kapları ters çevrilerek oluşan renk değişimleri not edilmiş ve fotoğrafları alınmıştır. Misel karşılaşmaları sonrası oluşan etkileşim ise temas noktalarından alınan numuneler bir taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntülemesi ile incelenmiştir.

2.2.3. İkili Kültür Testinin Odun Blokları Üzerindeki Etkisi

Odun çürüklük mantarlarına (OÇM) karşı in vivo antagonist aktivite, modifiye edilmiş ikili kültür tekniği kullanılarak belirlendi (Etheridge ve Craig, 1973; Schoeman, 1994; Chee, 2001). Antagonist mantar ve çürüklük mantarının odun bloklarındaki etkileşimlerinin etkisini tespit etmek amacıyla (50mm x 25mm x 5mm (r x t x e)) boyutlarında sarıçam ve kayın odun örnekleri kullanılmıştır. Öncelikle tüm odun örnekleri 121 °C’de 24 saat boyunca tam kuru hale getirilerek inkübasyon öncesi fırın kurusu ağırlıkları tartılmıştır (m_0). Mantarların çürüklük tipleri göz önüne alınarak; sarıçam odun örnekleri *C. puteana*, *N. lepideus*, ve *P. placenta*, kayın odun örnekleri ise *T. versicolor*, *T. hirsuta*, ve *S. hirsutum* çürüklük mantarlarına altlık olarak değerlendirilmiştir.

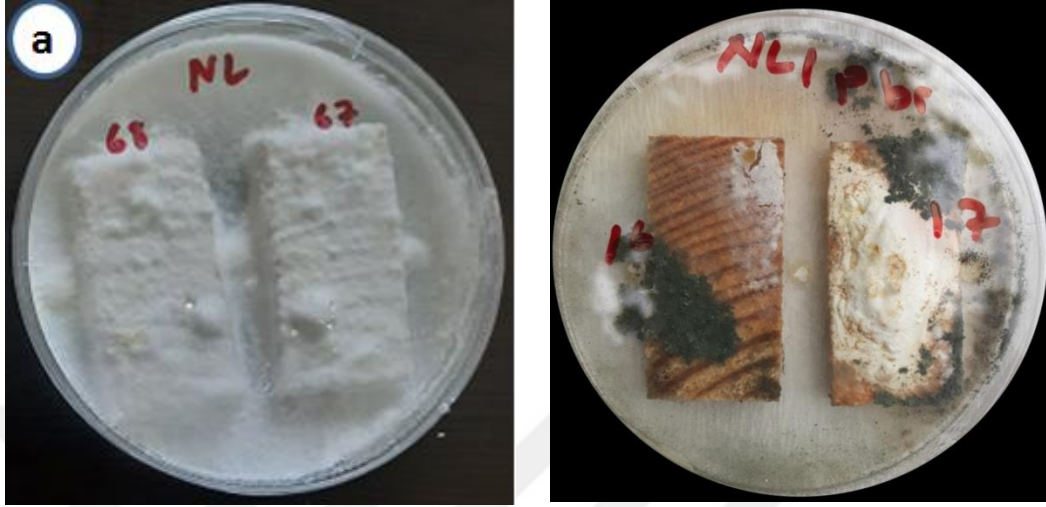
2.2.4. Antagonistlerin Odun Örneklerine Ön Aşılması

Odun blokları petrilere koyulmadan önce hem altlık olarak hem de mantar misellerinin daha iyi gelişimleri için yaklaşık 2 mm kalınlıkta 12-13 ml lik PDA besi ortamı petrilere hazırlanmıştır. Bundan sonraki işlemler 3 aşamada gerçekleşmiştir. Birinci aşamada besi ortamına antagonistik mantar aşılması yapılarak 7 gün boyunca 25°C %80-85 bağıl nemde antagonist mantarının gelişimi sağlandı. İkinci aşamada sterilizasyon işlemi yapılan odun örnekleri, gelişimini tamamlayan antagonist mantarının bulunduğu petrikaplara koyuldu ve 21 gün boyunca antagonistlerin odun bloklarına nüfuz etmesi sağlandı. Üçüncü aşamada ise PDA besi ortamına çürüklük mantarları aşılması yapılarak 7 gün boyunca 25°C %80-85 bağıl nemde çürüklük mantarının gelişimi sağlandı. Çürüklük mantarlarının gelişimi tamamlandıktan sonra, önceden antagonistlere maruz bırakılan odun örnekleri çıkarılarak sarıçam (*Pinus sylvertris* L.) odunu blokları (*C. puteana*, *N. lepideus*, ve *P. placenta*) çürüklük mantarlarının bulunduğu petrilere kayın (*Fagus orientalis* L.) odun blokları ise (*T. versicolor*, *T. hirsuta*, ve *S. hirsutum*) çürüklük mantarlarının bulunduğu petrilere taşınmıştır (Şekil 2.4b). Kontrol örneği olarak ise bazı odun bloklarına sadece çürüklük mantarı (Şekil 2.4a) bazı bloklara ise sadece antagonist mantarı aşılması yapılmıştır. Odun bloklarına çürüklük mantarı işlemi de uygulandıktan sonra 3 ay boyunca gelişimi gözlenmiştir. 3 aylık sürenin sonunda odun blokları çıkarılıp temizlendikten sonra kurutma işlemi gerçekleştirilerek ağırlıkları ölçülmüştür. Yüzde ağırlık kaybı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{Ağırlık kaybı (\%)} = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100$$

m_0 = Mantar testi öncesi tam kuru ağırlık

m_1 = Mantar testi sonrası tam kuru ağırlık



Şekil 2.4. Odun bloklarında çürüklük mantarı kontrol örneği ve ikili kültür karşılaştıması.

2.2.5. İstatistik Analizler

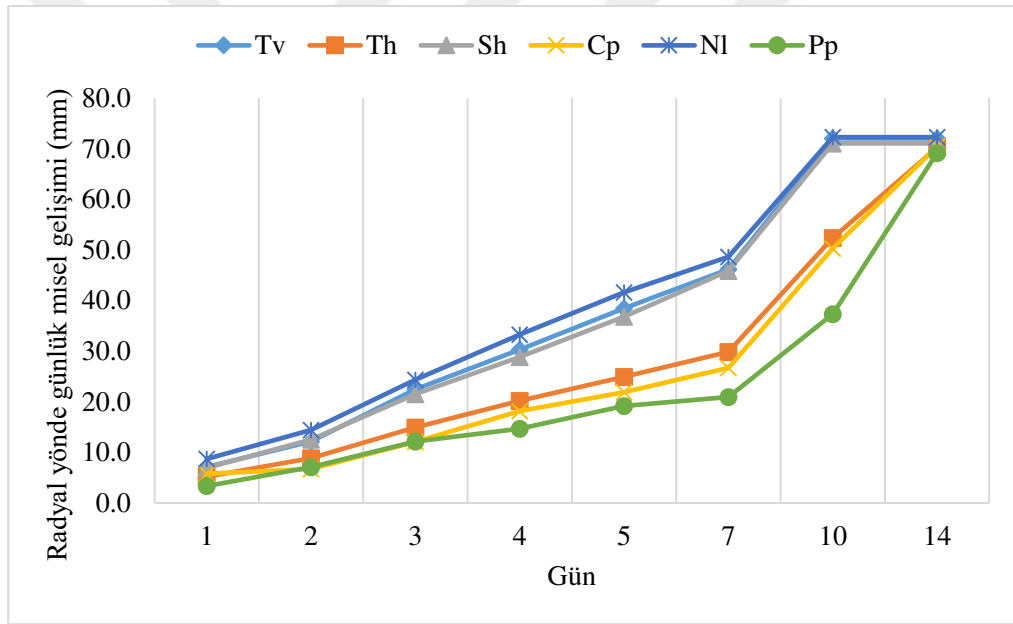
PDA ortamında ve odun blokları üzerinde yapılan testlere ait bulgular SPSS 22 programı kullanılarak varyans analizine tabii tutulmuş, ortalamalar arasındaki farklılıkların önemliliği Duncan karşılaştırma testi ($p < 0,05$) ile belirlenmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. İKİLİ KÜLTÜR DENEMELERİNDE ELDE EDİLEN BULGULAR

3.1.1. Agar Ortamı İkili Deneme Bulguları

Çürüklük ve antagonist mantarların kontrol petri kapları makroskobik olarak incelenmiş ve radyal büyüme hızları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, radyal misel büyüme hızı en yüksek olan çürüklük mantarları, *T. versicolor*, *S. hirsutum* ve *N. lepideus* türleri olduğu ve 10. gün sonunda petri kabını tamamen kapladığı tespit edilmiştir (Şekil 3.1).



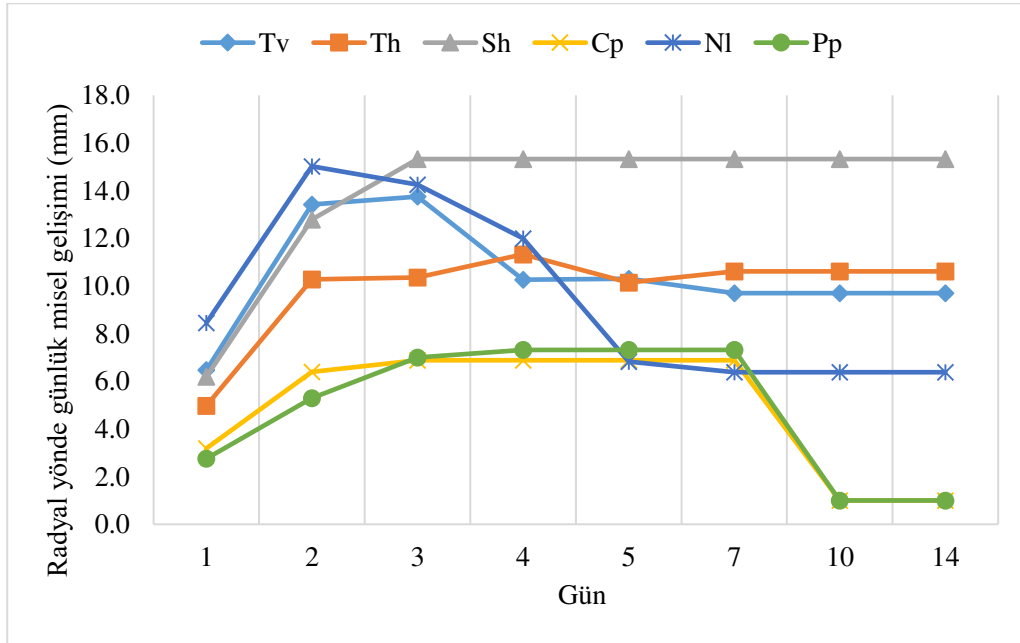
Şekil 3.1. Kontrol petri kutularında günlük çürüklük mantar misel büyümesi (mm).

Makroskobik incelemeler ve ölçümler sonucu oluşturulan tabloda çürüklük mantarlarına karşı en yüksek antagonistik etkiyi gösteren mantar *T. harzianum* olarak saptanmıştır. *T. harzianum* çürüklüklerin tamamına karşı %78-99 oranında yüksek engelleyicilik ortaya çıkarmıştır. *T. harzianum* antagonisti en yüksek engellemeyi (%98-99) *C. puteana*, *P.placenta* çürüklüklerine karşı göstermiştir. En düşük engellemeyi ise (%78-79) *S. hirsutum* çürüklük mantarına karşı göstermiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. *T. harzianum*'un çürüklük mantarları üzerindeki engelleme oranları

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. versicolor</i>	86,6	<i>b^a</i>	(1,2)
<i>T. hirsuta</i>	84,9	<i>b</i>	(0,3)
<i>S. hirsutum</i>	78,4	<i>a</i>	(1,9)
<i>C. puteana</i>	98,6	<i>d</i>	(0,1)
<i>N. lepidus</i>	91,2	<i>c</i>	(0,9)
<i>P. placenta</i>	98,6	<i>d</i>	(0,1)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

Şekil 3.2'de çürüklük mantarlarının gelişimi üzerine *T. harzianum* antagonistinin etkileri görülmektedir. Genel olarak çürüklük mantarları ikinci ve üçüncü günün sonuna kadar hızlı bir gelişim gösterirken, *T. harzenium* ile karşılaşma sonrası gelişimlerinin durduğu hatta *N. Lepideus* ve *P. placenta* çürüklük mantarlarının radyal büyümesinde geriye doğru azalma olduğu tespit edilmiştir.



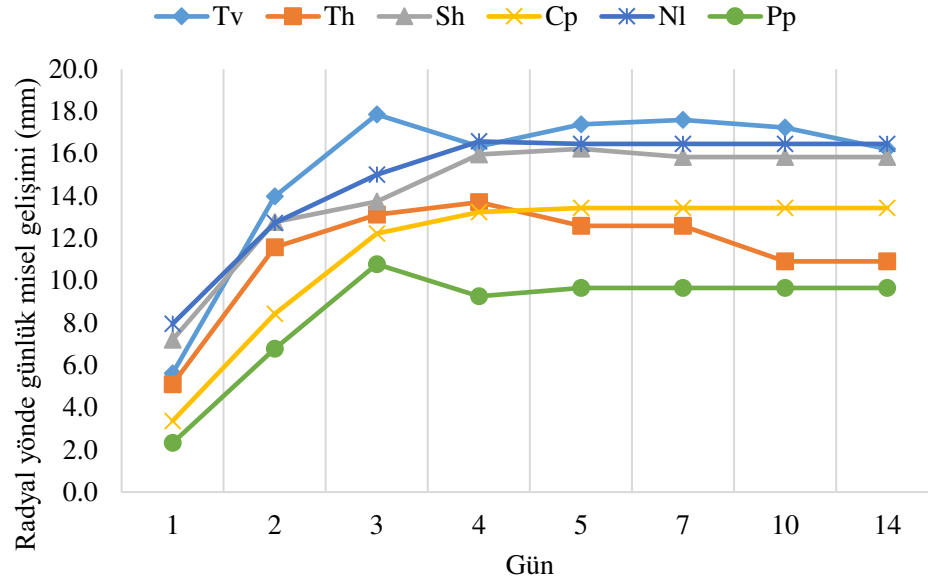
Şekil 3.2. *T. harzianum* antagonistinin çürüklük mantarlarının misel gelişimleri üzerine etkisi.

T. viride antagonisti *T.harzianum* kadar engelleme gösteremese de, %76-86 oranında yüksek bir engelleme göstermiştir. *T. viride*’nin en yüksek engellediği çürüklük %86 oranında *P. placenta* çürüklüğüdür. En düşük engellemeyi ise %76 oranında *T. versicolor* çürüklüğü olduğu gözlemlenmiştir. *T. viride* antagonisti *T. hirsuta*, *S. hirsutum* çürüklükleri üzerinde *T. harzianum* antagonistiyle yaklaşık aynı oranda engelleme göstermiştir.(Çizelge 3.2)

Çizelge 3.2. *T. viride*’nin çürüklük mantarları üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. versicolor</i>	76	<i>a</i>	(0,1)
<i>T. hirsuta</i>	84,4	<i>bc</i>	(3,2)
<i>S. hirsutum</i>	77,7	<i>ab</i>	(0,8)
<i>C. puteana</i>	80,9	<i>abc</i>	(1,7)
<i>N. lepidus</i>	77,2	<i>a</i>	(8,4)
<i>P. placenta</i>	86	<i>c</i>	(0,7)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

Şekil 3.3’de çürüklük mantarlarının gelişimi üzerine *T. viride* antagonistinin etkileri görülmektedir. Genel olarak çürüklük mantarları ikinci ve üçüncü günün sonuna kadar hızlı bir gelişim gösterirken, *T. viride* ile karşılaşma sonrası gelişimlerinin durduğu özellikle *T. hirsutum* ve *T. versicolor* ve *P. placenta* çürüklük mantarlarında azda olsa radyal yönde gelişimlerinin geriye doğru bir miktar azalıp sabit kaldığı görülmektedir.



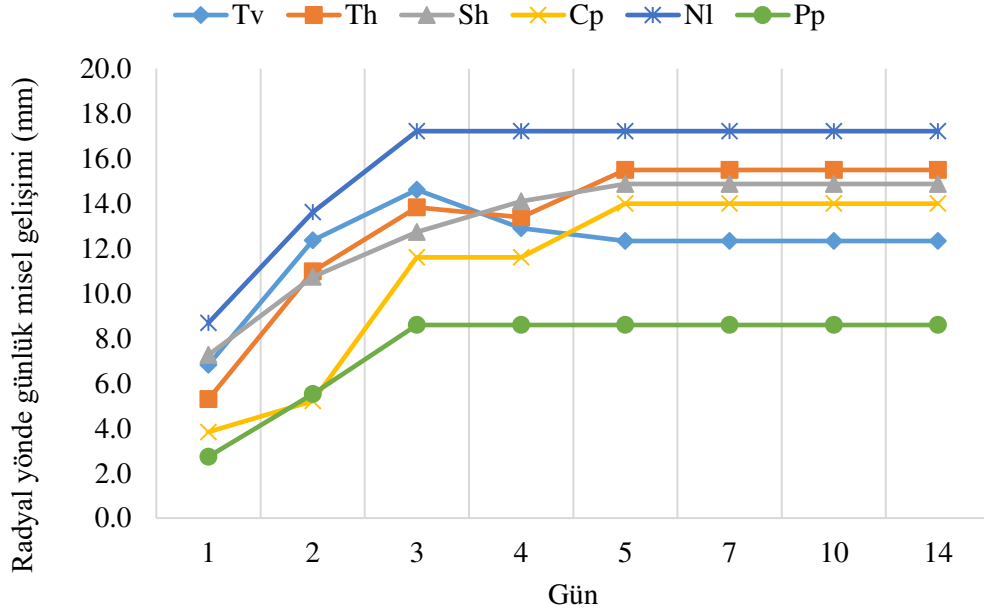
Şekil 3.3. *T. viride* antagonisinin çürüklük mantarlarının misel gelişimleri üzerine etkisi.

A. niger engelleme oranları bakımından *Trichoderma* cinsleri ile benzerlik tespit edilmiştir. *A. Niger* antagonisti en yüksek engellemeyi %87 oranında *P. placenta* çürüklüğünde, en düşük engellemeyi ise %71-72 oranında *C. puteana* çürüklüğünde göstermiştir.(Çizelge 3.3). Daha önce yapılan çalışmalarda da *A. niger* ve *T. viride*'nin çürüklük mantarlarının büyümesinde büyük bir engelleme gösterdiği test edilmiştir.(Tiwari., diğ, 2011).

Çizelge 3.3.A. *niger* 'in çürüklük mantarları üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. versicolor</i>	82,9	<i>a</i>	(0,1)
<i>T. hirsuta</i>	77,9	<i>a</i>	(11)
<i>S. hirsutum</i>	80,1	<i>a</i>	(8,4)
<i>C. puteana</i>	71,9	<i>a</i>	(12,6)
<i>N. lepidus</i>	76,2	<i>a</i>	(10,4)
<i>P. placenta</i>	87,6	<i>a</i>	(1.4)
Önem düzeyi (Sig.)		0,386	

Şekil 3.4'te çürüklük mantarlarının gelişimi üzerine *A. niger* antagonistinin etkileri görülmektedir. Genel olarak çürüklük mantarları üçüncü günün sonuna kadar hızlı bir gelişim gösterirken, *A. niger* ile karşılaşma sonrası gelişimlerinin durduğu sabit bir şekilde devam ettiği gözlemlenmiştir.



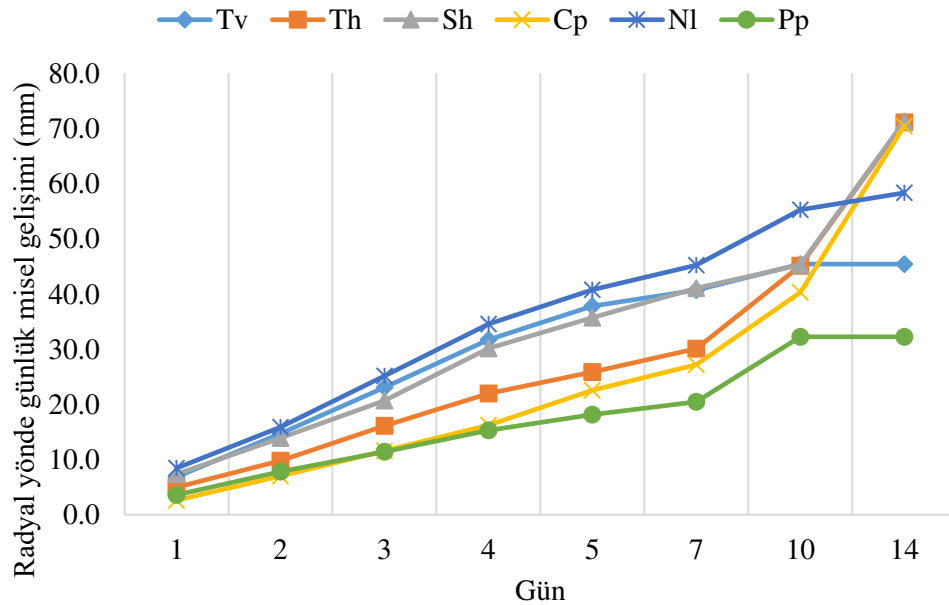
Şekil 3.4. *A. niger* antagonistinin çürüklük mantarlarının misel gelişimleri üzerine etkisi.

P. brevicompactum antagonisti tüm çürüklük mantarları üzerinde etkili bir engelleyici baskı gösterememiştir. *P. brevicompactum*'un misel gelişiminin yavaş olması ve radyal büyümenin gecikmesi petrikap içinde antagonistin ve çürüklük mantarının karşılaşma bölgesindeki gecikmesine neden olmuştur. Bu da engelleme düşük olmasının nedenlerindendir. Buna rağmen *P. placenta* çürüklüğüne karşı %53 oranında bir engelleme sergilemektedir. (Çizelge 3.4)

Çizelge 3.4. *P. brevicompactum*'un çürüklük mantarları üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. versicolor</i>	36,9	<i>c</i>	(0,2)
<i>T. hirsuta</i>	13,7	<i>a</i>	(4,3)
<i>S. hirsutum</i>	36,3	<i>c</i>	(0,1)
<i>C. puteana</i>	19,7	<i>b</i>	(2,9)
<i>N. lepideus</i>	23,5	<i>b</i>	(0,8)
<i>P. placenta</i>	53,3	<i>d</i>	(0,2)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

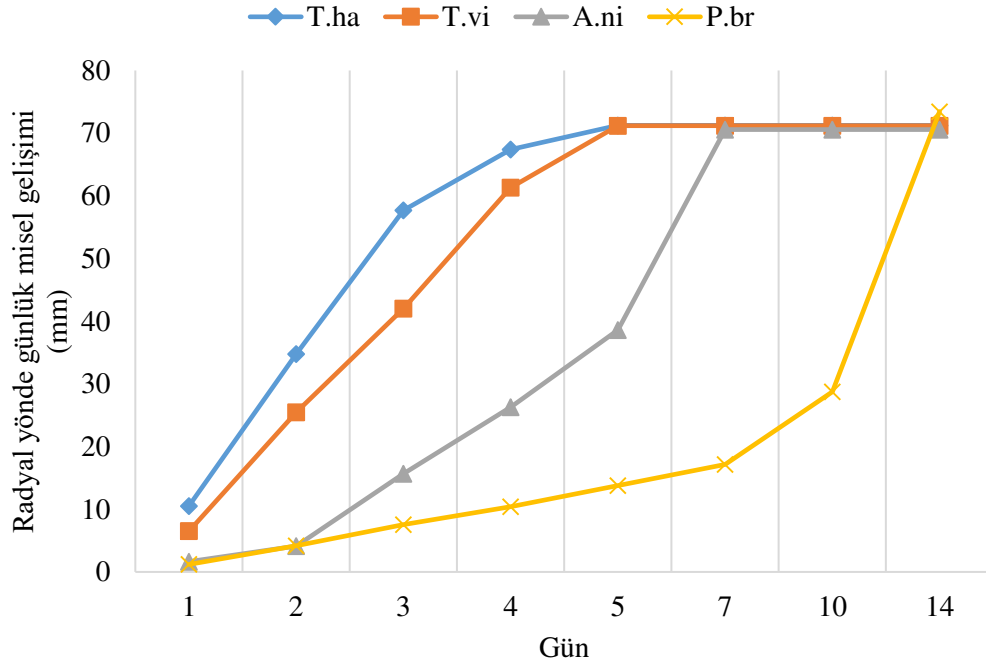
Şekil 3.5'te çürüklük mantarlarının gelişimi üzerine *P. brevicompactum* antagonisinin etkileri görülmektedir. Genel olarak çürüklük mantarları ile karşılaşma 10. gün sonunda olduğu görülmektedir. Hatta *S. hirsutum* ve *C. puteana* çürüklük mantarları 14. günde bile radyal yönde gelişmeye devam ettiği görülmektedir.



Şekil 3.5. *P. brevicompactum* antagonisinin çürüklük mantarlarının misel gelişimleri üzerine etkisi.

Deney süresi boyunca günlük olarak antagonist mantarların kontrol örneklerinin makroskobik olarak radyal büyümeleri incelendiğinde, agar ortamında en hızlı gelişen

antagonist mantarı *T. harzianum*, *T. viride* türleridir. Gelişimi en yavaş antagonist mantarı ise *P. brevicompactum* türüdür. Antagonistlerin tamamı 14. gün sonunda petri kabın tamamını kaplayarak gelişimlerini tamamlamışlardır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Kontrol petri kutularında günlük antagonist mantar misel büyümesi (mm).

Biyolojik kontrol ajanlarının *T. versicolor* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları ve istatiki analiz sonuçları Çizelge 3.5'te görülmektedir. Elde edilen bulgulara istatistiki olarak en yüksek engellene oranı *T. harzianum*, en düşük engelleme oranı ise *P. brevicompactum* antagonisti karşılaşmasında gerçekleşmiştir.

Çizelge 3.5. Biyolojik kontrol ajanlarının *T. versicolor* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. harzianum</i>	86,6	<i>d</i>	(1,2)
<i>T. viride</i>	76	<i>b</i>	(0,1)
<i>A. niger</i>	82,9	<i>c</i>	(0,1)
<i>P. brevicompactum</i>	36,9	<i>a</i>	(0,2)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

Biyolojik kontrol ajanlarının *T. hirsuta* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları ve istatiki analiz sonuçları Çizelge 3.6’da görülmektedir. Elde edilen bulgulara göre istatistiki olarak *T. harzianum*, *T. viride* ve *A. niger* benzer engelleme oranları gösterirken, *P. brevicompactum* antagonisti en düşük engelleme oranına sahip olmuştur.

Çizelge 3.6. Biyolojik kontrol ajanlarının *T. hirsuta* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. harzianum</i>	84,9	<i>b</i>	(0,3)
<i>T. viride</i>	84,4	<i>b</i>	(3,2)
<i>A. niger</i>	77,9	<i>b</i>	(11)
<i>P. brevicompactum.</i>	13,7	<i>a</i>	(4,3)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

Biyolojik kontrol ajanlarının *S. hirsutum* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları ve istatiki analiz sonuçları Çizelge 3.7’de görülmektedir. Elde edilen bulgulara göre istatistiki olarak *T. harzianum*, *T. viride* ve *A. niger* benzer engelleme oranları (%78-80) gösterirken, *P. brevicompactum* antagonisti en düşük engelleme oranına (%36) sahip olmuştur.

Çizelge 3.7. Biyolojik kontrol ajanlarının *S. hirsutum* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. harzianum</i>	78,4	<i>b</i>	(1,9)
<i>T. viride</i>	77,7	<i>b</i>	(0,8)
<i>A. niger</i>	80,01	<i>b</i>	(8,4)
<i>P. brevicompactum.</i>	36,3	<i>a</i>	(0,1)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

Biyolojik kontrol ajanlarının *C. puteana* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları ve istatiki analiz sonuçları Çizelge 3.8’de te görülmektedir. Elde edilen bulgulara istatistiki olarak en yüksek engellene oranı %99 ile *T. harzianum*, en düşük engelleme oranı ise %20 ile *P. brevicompactum* antagonisti karşılaşmasında gerçekleşmiştir.

Çizelge 3.8. Biyolojik kontrol ajanlarının *C. puteana* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. harzianum</i>	98,6	<i>c</i>	(0,1)
<i>T. viride</i>	80,9	<i>b</i>	(1,7)
<i>A. niger</i>	71,9	<i>b</i>	(12,6)
<i>P. brevicompactum.</i>	19,7	<i>a</i>	(2,9)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

Biyolojik kontrol ajanlarının *N. lepidus* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları ve istatiki analiz sonuçları Çizelge 3.9’da görülmektedir. Elde edilen bulgulara istatistiki olarak en yüksek engellene oranı ile *T. harzianum* (%91), en düşük engelleme oranı ise *P. brevicompactum* (%24) antagonisti karşılaşmasında gerçekleşmiştir.

Çizelge 3.9. Biyolojik kontrol ajanlarının *N. lepidus* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. harzianum</i>	91,2	<i>c</i>	(0,9)
<i>T. viride</i>	77,2	<i>b</i>	(8,4)
<i>A. niger</i>	76,2	<i>b</i>	(10,4)
<i>P. brevicompactum.</i>	23,5	<i>a</i>	(0,8)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

Biyolojik kontrol ajanlarının *C. puteana* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları ve istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3.10’da görülmektedir. Elde edilen bulgulara

istatistiki olarak en yüksek engellene oranı %99 ile *T. harzianum*, en düşük engelleme oranı ise %54 ile *P. brevicompactum* antagonisti karşılaşmasında gerçekleşmiştir.

Çizelge 3.10. Biyolojik kontrol ajanlarının *P. placenta* çürüklük mantarı üzerindeki engelleme oranları.

Çürüklük mantarları	Ortalama engelleme oranı(%)	Homojenlik grubu	Standart sapma
<i>T. harzianum</i>	98,6	<i>d</i>	(0,1)
<i>T. viride</i>	86	<i>b</i>	(0,7)
<i>A. niger</i>	87,6	<i>c</i>	(1.4)
<i>P. brevicompactum.</i>	53,5	<i>a</i>	(0,2)
Önem düzeyi (Sig.)		0,000	

Elde edilen bulgulara göre *T. harzianum* diğer antagonistlere göre çürüklük mantarlarına karşı en yüksek oranda engelleyici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Özellikle *C. puteana* ve *P. placenta* çürüklük mantarlarının gelişimini tamamen (%98) baskıladığı tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). *Trichoderma* spp türlerinin farklı çürüklük veya diğer patojen mantarlara karşı etkinliğine ilişkin yapılan daha önceki çalışmalarda engelleyici etki oranlarının %39-98 arasında sonuçların elde edildiği belirtilmektedir (Perello ve diğ., 2003; Susanta ve diğ. 2005; Tiwari ve diğ., 2011; Jung ve diğ. 2018).

A. niger antagonist mantarının çürüklük mantarlarına karşı engelleyici etki oranı yaklaşık %72-89 arasında değişkenlik göstermiş olup bu değerler arasında istatistiki bir fark tespit edilmemiştir. Ayrıca engelleyici etki bakımından *Trichoderma* spp türlerine benzer değerler elde edilmiştir (Çizelge 3.3). Daha önce farklı çürüklük mantarlar üzerinde yapılan ikili kültür testlerinde *A. niger*'in çürüklük mantarı türlerine göre farklılık göstermekle birlikte bazı çalışmalarda %100'e (Bruce ve Highley, 1991), bazı çalışmalarda ise %66'ya varan engelleme oranları elde edilmiştir (Tiwari ve ark., 2011).

P. brevicompactum antagonist mantarı tüm çürüklük mantarları üzerinde etkili bir inhibisyon etkisi göstermemiştir (Çizelge 3.4). Bunun en önemli nedenlerinden birisi ise *P. brevicompactum*' un misel gelişim hızının yavaş olmasından dolayı çürüklük mantarı ile karşılaşma bölgesi ikili inhibisyon zonunun çok geç oluşmasıdır.

3.1.2. Odun Blokları Üzerinde Yapılan Testler

Sarıçam odun örnekleri üzerinde yapılan testlerde dört biyokontrol mantarın üç farklı esmer çürüklük mantarı üzerindeki çürümeyi engelleyici etkisi araştırılmıştır (Çizelge 3.11 - Çizelge 3.17). Antagonist mantarların sarıçam odun blokları üzerinde çok düşük bir ağırlık kaybına sebep olduğu (% 0,72-1,9) görülmektedir (Çizelge 3.11 – Çizelge 3.13). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda da benzer şekilde biyokontrol mantarlarının odun örneklerindeki ağırlık kayıpları belirgin şekilde farklı ve çok düşük olduğu tespit edilmiştir (Highley ve Ricard, 1988; Ejechi, 1997).

İkili karşılaştırmanın yapılmadığı çürüklük mantarlarında ise sırasıyla; *N. lepideus* %20,8, *P. placenta* %16,8 ve *C. puteana* %19,2 ağırlık kaybı meydana gelmiştir (Çizelge 3.14 – Çizelge 3.17). İkili karşılaştırmalarda ise *T. viride* ve *T. harzianum* antagonistik mantarları üç çürüklük mantarının da gelişimini baskılayarak ağırlık kayıplarını %2 ve %3 oranlarına kadar indirerek engellediği tespit edilmiştir. *A. niger* ve *P. brevicompactum* antagonistik mantarlarında ise *P. placenta* ve *C. puteana* çürüklük mantarları üzerinde etkili bir baskılama gerçekleştirip ağırlık kayıplarını yaklaşık %3-7 lere indirmiştir. Ancak her iki antagonist mantarı *N. lepideus* çürüklük mantarını engelleyemediği ve ağırlık kayıplarının hemen hemen kontrol örneklerine yakın bir oranında (%17) gerçekleştiği görülmektedir.

Çizelge 3.11. Biyolojik kontrol ajanlarının *N. lepideus* çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

BKA	Control	STD	HG	<i>N. lepideus</i>	STD	HG
				20,77	(0,9)	<i>c</i>
<i>T. viride</i>	1,32	(1,1)	<i>a</i>	3,52	(0,2)	<i>a</i>
<i>T. harzianum</i>	1,76	(0,7)	<i>a</i>	3,38	(0,4)	<i>a</i>
<i>A. niger</i>	0,72	(0,4)	<i>a</i>	17,62	(1,6)	<i>b</i>
<i>P. brevicompactum.</i>	1,9	(0,9)	<i>a</i>	17,43	(2,5)	<i>b</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.147			0,000	

Çizelge 3.12. Biyolojik kontrol ajanlarının *P. placenta* çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

BKA	Control	STD	HG	<i>P. placenta</i>	STD	HG
				16,76	(4,3)	<i>b</i>
<i>T. viride</i>	1,32	(1,1)	<i>a</i>	2,33	(0,2)	<i>a</i>
<i>T. harzianum</i>	1,76	(0,7)	<i>a</i>	3,28	(1,4)	<i>a</i>
<i>A. niger</i>	0,72	(0,4)	<i>a</i>	3,98	(1,4)	<i>a</i>
<i>P. brevicompactum.</i>	1,9	(0,9)	<i>a</i>	4,01	(1,1)	<i>a</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.147			0,000	

Çizelge 3.13. Biyolojik kontrol ajanlarının *C. puteana* çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

BKA	Control	STD	HG	<i>C. puteana</i>	STD	HG
				19,21	(0,2)	<i>d</i>
<i>T. viride</i>	1,32	(1,1)	<i>a</i>	2,48	(0,2)	<i>a</i>
<i>T. harzianum</i>	1,76	(0,7)	<i>a</i>	2,81	(1,3)	<i>a</i>
<i>A. niger</i>	0,72	(0,4)	<i>a</i>	5,5	(1,3)	<i>b</i>
<i>P. brevicompactum.</i>	1,9	(0,9)	<i>a</i>	7,41	(0,3)	<i>c</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.147			0,000	

Çizelge 3.14. *T. viride*'nin çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

Çürüklük	Control	STD	HG	<i>T. viride</i>	STD	HG
				1,32	(1,1)	<i>a</i>
<i>N. lepidus</i>	20,77	(0,9)	<i>a</i>	3,52	(0,2)	<i>c</i>
<i>P. placenta</i>	16,76	(4,3)	<i>a</i>	2,33	(0,2)	<i>b</i>
<i>C. puteana</i>	19,21	(0,2)	<i>a</i>	2,48	(0,2)	<i>b</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.138			0,000	

Çizelge 3.15. *T. harzianum*'un çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

Çürüklük	Control	STD	HG	<i>T. harzianum</i>	STD	HG
				1,76	(0,7)	<i>a</i>
<i>N. lepidus</i>	20,77	(0,9)	<i>a</i>	3,38	(0,4)	<i>b</i>
<i>P. placenta</i>	16,76	(4,3)	<i>a</i>	3,28	(1,4)	<i>b</i>
<i>C. puteana</i>	19,21	(0,2)	<i>a</i>	2,81	(1,3)	<i>ab</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.138			0,108	

Çizelge 3.16. *A. niger*'in çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

Çürüklük	Control	STD	HG	<i>A. niger</i>	STD	HG
				0,72	(0,4)	<i>a</i>
<i>N. lepideus</i>	20,77	(0,9)	<i>a</i>	17,62	(1,6)	<i>c</i>
<i>P. placenta</i>	16,76	(4,3)	<i>a</i>	3,98	(1,4)	<i>b</i>
<i>C. puteana</i>	19,21	(0,2)	<i>a</i>	5,5	(1,3)	<i>b</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.138			0,000	

Çizelge 3.17. *P. brevicompactum*'un çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

Çürüklük	Control	STD	HG	<i>P. brevicompactum.</i>	STD	HG
				1,9	(0,9)	<i>a</i>
<i>N. lepideus</i>	20,77	(0,9)	<i>a</i>	17,43	(2,5)	<i>d</i>
<i>P. placenta</i>	16,76	(4,3)	<i>a</i>	4,01	(1,1)	<i>b</i>
<i>C. puteana</i>	19,21	(0,2)	<i>a</i>	7,41	(0,3)	<i>c</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.138			0,000	

Kayın odun örnekleri üzerinde yapılan testlerde dört antagonistik mantarın üç farklı beyaz çürüklük mantarı üzerindeki çürümeyi engelleyici etkileri araştırılmıştır (Çizelge 3.18 – Çizelge 3.24). Antagonist mantarların kayın odun blokları üzerinde çok düşük bir ağırlık kaybına sebep olduğu (% 0,19-1,1) görülmektedir (Çizelge 3.18 – Çizelge 3.20). İkili karşılaştırmanın yapılmadığı çürüklük mantarlarında ise sırasıyla; *T. hirsuta* %36,7, *S. hirsutum* %17,9 ve *T. versicolor* %35,5 ağırlık kaybı meydana gelmiştir (Çizelge 3.19 -Çizelge 3.24). İkili karşılaştırmalarda ise *T. viride* ve *T. harzianum* antagonistik mantarları üç beyaz çürüklük mantarında gelişimini baskılayarak ağırlık kayıplarını %1 ve 5 oranlarına kadar indirerek engellediği tespit edilmiştir (Çizelge 3.21, Çizelge 3.22). *A. Niger* antagonistik mantarları *T. hirsuta* ve *S. hirsutum* çürüklük mantarının yaptığı ağırlık kayıplarını ciddi bir şekilde düşürürken *T. versicolor* mantarını baskılayamadığı ve ağırlık kayıplarının %29 oranında gerçekleştiği belirlenmiştir (Çizelge 3.23) . *P. brevicompactum* antagonistik mantarlarında ise yalnızca *S. hirsutum* üzerinde etkili bir engelleme yaparken *T. hirsuta* ve *T. versicolor* çürüklük mantarında ağırlık kayıpları üzerinde etkili bir engelleyici etki göstermediği tespit edilmiştir (Çizelge 3.24).

Odun bloklarında yapılan testlerde *P. brevicompactum* antagonistinin *C. puteana*, *P. placenta* ve *S. hirsutum* çürüklük mantarları üzerinde etkili bir koruma sağladığı tespit edilmiştir (Çizelge 3.24). Oysaki PDA ortamındaki ikili kültür testlerinde belirtilen mantarlardan *P. placenta* hariç (%53) diğer mantarlara karşı etkili bir engelleyici oran tespit edilmemiştir (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.18. Biyolojik kontrol ajanlarının *T. hirsuta* çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

BKA	Control	STD	HG	<i>T. hirsuta</i> 36,71	STD (3,3)	HG <i>c</i>
<i>T. viride</i>	1,12	(1,4)	<i>a</i>	2,65	(0,1)	<i>a</i>
<i>T. harzianum</i>	0,3	(0,3)	<i>a</i>	1,88	(0,9)	<i>a</i>
<i>A. niger</i>	0,19	(0,2)	<i>a</i>	4,07	(2,4)	<i>a</i>
<i>P. brevicompactum</i>	0,63	(1,1)	<i>a</i>	26,53	(1,7)	<i>b</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0,608			0,000	

Çizelge 3.19. Biyolojik kontrol ajanlarının *S. hirsutum* çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

BKA	Control	STD	HG	<i>S. hirsutum</i> 17,94	STD (0,6)	HG <i>c</i>
<i>T. viride</i>	1,12	(1,4)	<i>a</i>	4,6	(0,4)	<i>ab</i>
<i>T. harzianum</i>	0,3	(0,3)	<i>a</i>	5,84	(0,7)	<i>b</i>
<i>A. niger</i>	0,19	(0,2)	<i>a</i>	5,61	(1,9)	<i>b</i>
<i>P. brevicompactum</i>	0,63	(1,1)	<i>a</i>	2,98	(2,4)	<i>a</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0,608			0,000	

Çizelge 3.20. Biyolojik kontrol ajanlarının *T. versicolor* çürüklük mantarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

BKA	Control	STD	HG	<i>T. versicolor</i> 35,54	STD (1,7)	HG <i>c</i>
<i>T. viride</i>	1,12	(1,4)	<i>a</i>	2,81	(0,1)	<i>a</i>
<i>T. harzianum</i>	0,3	(0,3)	<i>a</i>	2,83	(2,7)	<i>a</i>
<i>A. niger</i>	0,19	(0,2)	<i>a</i>	29,19	(4,7)	<i>b</i>
<i>P. brevicompactum</i>	0,63	(1,1)	<i>a</i>	35,17	(4,3)	<i>c</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0,608			0,000	

Çizelge 3.21. *T. viride*’nin çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

Çürüklük	Control	STD	HG	<i>T. viride</i>	STD	HG
				1,12	(1,4)	<i>a</i>
<i>T. hirsuta</i>	36,71	(3,3)	<i>b</i>	2,65	(0,1)	<i>b</i>
<i>S. hirsutum</i>	17,94	(0,6)	<i>a</i>	4,6	(0,4)	<i>c</i>
<i>T. versicolor</i>	35,54	(1,7)	<i>b</i>	2,81	(0,1)	<i>d</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.000			0,003	

Çizelge 3.22. *T. harzianum*’un çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

Çürüklük	Control	STD	HG	<i>T. harzianum</i>	STD	HG
				0,3	(0,3)	<i>a</i>
<i>T. hirsuta</i>	36,71	(3,3)	<i>b</i>	1,88	(0,9)	<i>a</i>
<i>S. hirsutum</i>	17,94	(0,6)	<i>a</i>	5,84	(0,7)	<i>b</i>
<i>T. versicolor</i>	35,54	(1,7)	<i>b</i>	2,83	(2,7)	<i>a</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.000			0,009	

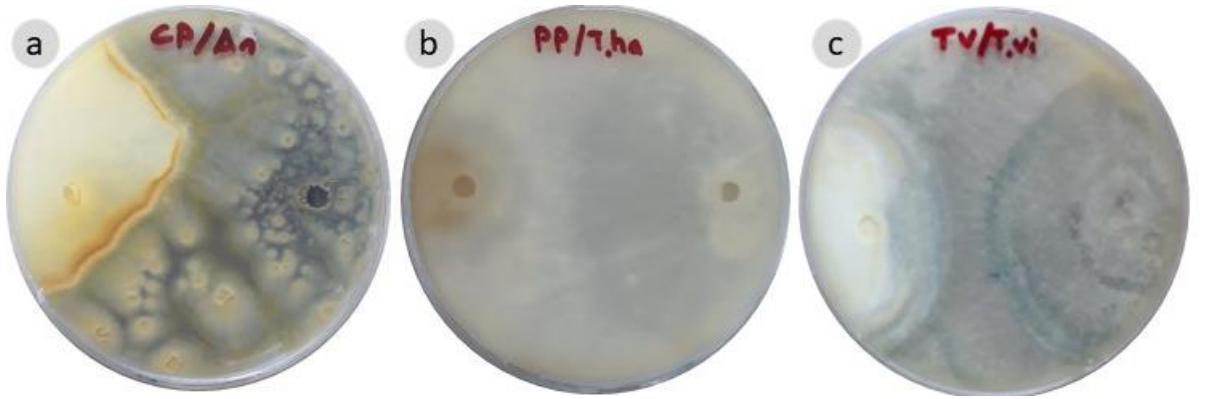
Çizelge 3.23. *A. niger*’in çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

Çürüklük	Control	STD	HG	<i>A. niger</i>	STD	HG
				0,19	(0,2)	<i>a</i>
<i>T. hirsuta</i>	36,71	(3,3)	<i>b</i>	4,07	(2,4)	<i>a</i>
<i>S. hirsutum</i>	17,94	(0,6)	<i>a</i>	5,61	(1,9)	<i>a</i>
<i>T. versicolor</i>	35,54	(1,7)	<i>b</i>	29,19	(4,7)	<i>b</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.000			0,000	

Çizelge 3.24. *P. brevicompactum*’un çürüklük mantarlarının sebep olduğu ağırlık kaybı oranına etkisi.

Çürüklük	Control	STD	HG	<i>P. brevicompactum.</i>	STD	HG
				0,63	(1,1)	<i>a</i>
<i>T. hirsuta</i>	36,71	(3,3)	<i>b</i>	26,53	(1,7)	<i>b</i>
<i>S. hirsutum</i>	17,94	(0,6)	<i>a</i>	2,98	(2,4)	<i>a</i>
<i>T. versicolor</i>	35,54	(1,7)	<i>b</i>	35,17	(4,3)	<i>c</i>
Önem düzeyi (Sig.)		0.000			0,000	

Morfolojik olarak yapılan incelemelerde, *P. brevicompactum* antagonisti hariç diğer tüm antagonist ve çürüklük mantar misel karşılaşmaları 2. gün sonunda gerçekleştiği görülmüştür. *A. niger* başta olmak üzere, bu karşılaşmaların bazılarında bir baraj oluşumu net bir şekilde gözlenirken (Şekil 2a), bazı karşılaşmalarda (*P. placenta* çürüklük mantarı ile *T. harzaniumun* ve *T. viride*) karşılaşma bölgesinde belirgin bir sınır oluşmadığı tespit edilmiştir (Şekil 2b). Bazı karşılaşmalarda karşılaşma sonrası antagonist miselinin çürüklük mantarı miselini baskılayarak petri kabını tamamen işgal ettiği gözlemlenmiştir (Şekil 2c). Özellikle *T. harzaniumun* ve *T. viride* antagonistleri *T. versicolor* ve *N. lepideus* çürüklük mantarları hariç diğer tüm çürüklük mantarlarında 12. gün sonunda hemen hemen tüm petri kabını işgal ettiği tespit edilmiştir. Bu karşılaşma sonucunda, petri kaplarının altında yapılan gözlemlerde ikili karşılaşma sonrası bir temas zonunun olduğu ve bu kısımda besi yerinde bir takım renk değişiklikleri tespit edilmiştir. Bu renk değişimleri karşılaşan antagonist ve çürüklük mantarı türüne göre farklılık gösterdiği görülmüştür. Örneğin CP çürüklük mantarı antagonistleri ile temas ettiği zonlarda 5. gün başlayan renk değişimi, 12. gün sonunda oldukça belirgin turuncu renkli pigment oluşmuştur (Şekil 2a). Bazı ikili karşılaşmalarda ise misel temas hattında herhangi bir belirgin renk değişimi tespit edilmemiştir (Şekil 2b).



Şekil 3.7. Petri kaplarının altındaki ikili kültür görüntüleri.

Şekil 3.7a ile gösterilen *C. puteana* ve *A. niger* miselleri ile etkileşim; misel barajının oluşumu ve PDA'ya pigment salınımı, Şekil 3.7'de *P. placenta* ve *T. harzaniumun* miselleri ile etkileşim; miselyal baraj oluşumu ve pigment salınımı belirgin olmadığı, Şekil 3.7c'de *T. versicolor* ve *T. viride* miselleri ile etkileşim; antagonist tarafından aşırı büyüme görülmektedir.

3.1.3. İkili Kültür Testlerinin SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) İncelenmesi

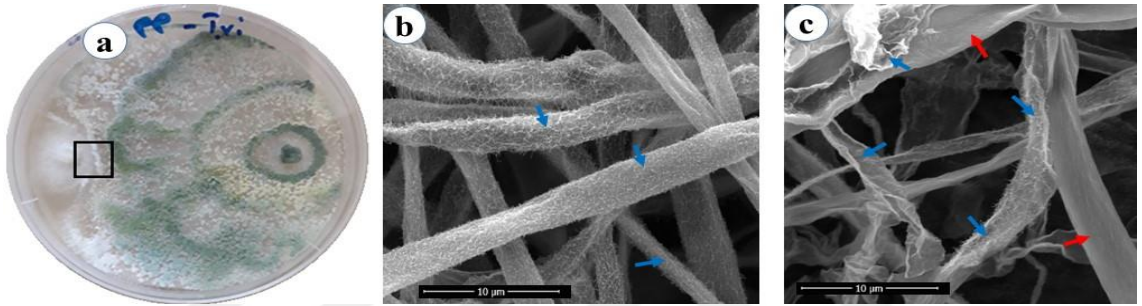
Çalışma kapsamında yapılan agar ortamındaki ikili karşılaşma testlerinde ve odun blokları üzerinde yapılan testlerde *Trichoderma* cinsi antagonistlerin oldukça başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. *T. viride* ve *T. harzianum* antagonistlerinin rakip mantarların engellemesinde üstün olmaları sahip olduğu bazı mekanizmalardan kaynaklandığı belirtilmektedir. Bu durumun en önemli nedenleri; hızlı kolonileşme ve bulunduğu ortamı istila etme yeteneği (Hulme, ve Shields, 1970), fungistatik ve fungisidal uçucu ve uçucu olmayan metabolizeler (Dennis, ve Webster, 1971; Taylor, 1986), kitinaz ve B(1-3) glukanaz (Chet ve Baker, 1980; Sivan ve Chet, 1986) dahil olmak üzere bir dizi litik enzimin üretimi, sideroforların (demir şelatlayıcı bileşikler) üretimi (Anke ve ark., 1991; Dutta ve ark., 2006) ve mikroparazitik yeteneği (Khalid, 2017) olduğu belirtilmektedir.

Biyolojik kontrol ajanlarının çürüklük mantarlarını engelleme durumları agar ortamında, odun bloklarında ve toprak testlerinde farklılık gösterebilmektedir. Bu çalışmada agar ortamındaki ve odun bloklarındaki sonuçlar karşılaştırıldığında; her iki test ortamında da biyolojik kontrol ajanlarının çürüklük mantarları üzerinde belli oranlarda engelleyici etki gösterse de agar ortamında daha etkili sonuçların elde edildiği söylenebilir. Daha önce yapılan çalışmalarda ise agar ortamında etkili bir engelleme etkisine sahip olan biyolojik kontrol ajanları, toprak testlerinde bu etki sınırlı kaldığı belirtilmiştir (Brown ve ark., 1999; Morrell ve Sexton, 1990; Highley ve Ricard, 1988). Bu durumun en önemli nedenleri arasında BKA ların çürüme mantarları ile aynı ekolojik ortamı kullanamama durumundan kaynaklandığı belirtilmektedir (Shukla ve Rana 1995; Cook ve Baker, 1983).

Agar ortamında yapılan ikili kültür testlerinde 12.günde hem kontrol petrilerinden alınan saf örnekler hem de antagonistin ve çürüklük mantarının temas ettiği noktalardan alınan örnekler, SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) de incelenerek bazı gözlemler yapılmıştır. Bu gözlemlerde kontrol petrilerinden alınan örneklerde miseller düzgün ve birleşik ve pürüzsüz yapıdadır. Antagonistle çürüklük mantarının karşılaştığı noktadan alınan örneklerde ise fiziksel olarak kopmalar, delinmeler, pürüzlenmeler ve büzülmeler tespit edilmiştir (Şekil 3.8 c, Şekil 3.9 c). Buna karşın çürüklük mantarı saf kültürlerindeki miseller şişkin, düz ve pürüzsüz (Şekil 3.8 b, Şekil 3.9 b).olduğu görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda da benzer misel davranışları tespit edilmiştir (Wang ve diğ., 2016). *T. viride* ve *T. harzianum* antagonistlerin bazı ikili

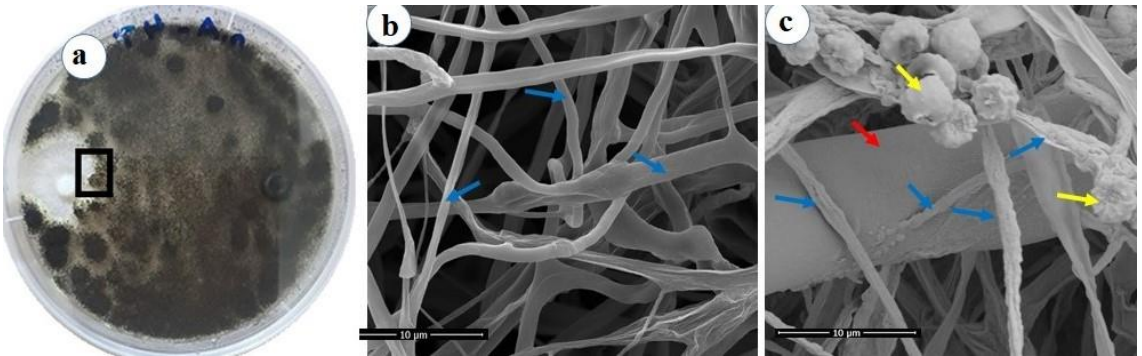
etkileşimlerinde (örneğin; *T. hirsuta* ve *T. versicolor*) tek başına yeknesak olan hiflere sahip olan patojen hiflerinde (Şekil 3.10 a). delik açtıkları tespit edilmiştir (Şekil 3.10 b,c). Bazı ikili karşılaşmaların (*Trichoderma* spp. ve *A. niger*) 48 ve 72 saat sonrasında yoğun sporlanma olduğu ve bu sporların patojen mantar hiflerine tutunduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.9 c, Şekil 3.10 b).

P. placenta çürüklük mantarı ve *T. viride* antagonistinin ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü Şekil3.8’de görülmektedir. Şekilde mavi ok çürüklük mantarları, kırmızı ok antagonistik mantarları göstermektedir..Şekil 3.8a’da, *P. placenta* ve *T. viride* arasında ikili kültür testi. Şekil 3.8b’de *P. placenta* doğal hifi (10000x), Şekil 3.8c *T. viride* aktivitesinden kaynaklı *P. placenta* hifinin deformasyonu (10000x).



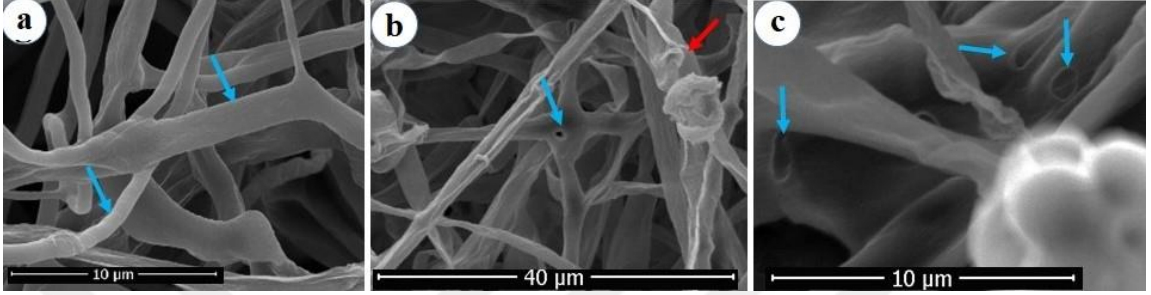
Şekil 3.8. *P. placenta* çürüklük mantarı ve *T. viride* antagonistinin ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü.

T. hirsuta çürüklük mantarı ve *A. niger* antagonistinin ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü Şekil3.9’da görülmektedir. Şekilde mavi ok çürüklük mantarları, kırmızı ok antagonistik mantarları, sarı ok sporları göstermektedir. Şekil 3.9a’de *T. hirsuta* ve *A. niger* ikili kültür testi Şekil 3.9b’de *T. hirsuta* hifleri (10000x) Şekil 3.9c’de *A. niger* aktivitesinden kaynaklanan *T. hirsuta* hiflerinin deformasyonu (10000x) görülmektedir.



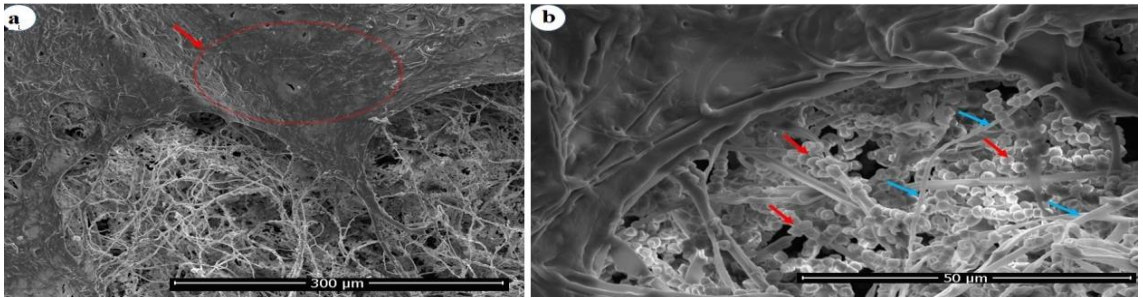
Şekil 3.9. *T. hirsuta* çürüklük mantarı ve *A. niger* antagonistinin ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü.

Trichoderma cinsi antagonisti ve *T. versicolor* çürüklük mantarının ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü Şekil 3.10'da görülmektedir. Şekilde mavi ok çürüklük mantarları, kırmızı ok antagonistik mantarları göstermektedir. Şekil 3.10a'da *T. versicolor* hifleri (10000x), Şekil 3.10b'de *T. harzianum* aktivitesinden kaynaklı *T. versicolor* hiflerinin deformasyonu (10000x), Şekil 3.10c'de *T. viride* aktivitesinden kaynaklı *T. versicolor* hiflerinin deformasyonu (10000x) görülmektedir.



Şekil 3.10. *Trichoderma* cinsi antagonisti ve *T. versicolor* çürüklük mantarının ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü.

P. brevicompactum cinsi antagonisti ve *T. hirsuta* çürüklük mantarının ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü Şekil 3.11'de görülmektedir. Şekilde mavi ok çürüklük mantarları, kırmızı ok antagonistik mantarları göstermektedir. Şekil 3.11a ve b'de biyolojik kontrol ajanı tarafından kaplanan odun çürüklük mantarı miselleri görülmektedir (*T. hirsuta* x *P. brevicompactum*; 1500x, 3000x).



Şekil 3.11. *P. brevicompactum* cinsi antagonisti ve *T. hirsuta* çürüklük mantarının ikili karşılaşmasına ait SEM görüntüsü.

Yapılan çalışmalar antagonistlerin patojen üzerindeki etkileri yalnızca temas yoluyla değil aynı zamanda ürettikleri uçucu bileşiklerin de potansiyel rolünün olduğunu belirtmektedirler. Uçucu bileşiklerin mantar inhibisyonu üzerine etkinliği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Angappan 1992; do Nascimento Silva ve diğ. 2009).

4. SONUÇ

Bu çalışmadaki amaç odunda kimyasal korunma yöntemlerinin insan ve çevre sağlığına vermiş olduğu zararlar nedeniyle kimyasal korunmaya alternatif bir yöntem olan biyolojik korunma yöntemlerinin araştırılmasıdır. Bu yöntemle odunda çürüklük yapan Basidiomycetes sınıfı mantarlara karşı bazı engelleyici etkiye sahip olabilecek antagonistik mantarları test edilmiştir. Araştırma, petrikaplarda agar ortamından ikili karşılaştırma tekniğinin yanı sıra sarıçam ve kayın odun blokları üzerinde ağırlık kaybı ölçümleri şeklinde iki yöntemle yapılmıştır.

İkili kültür tekniğiyle yapılan testlerde hem kontrol örnekleri hem de ikili karşılaştırmaların misel gelişimlerinin günlük olarak ölçümleri yapılmış ve fotoğrafları çekilerek sonuçlar belirlenmiştir. Petrikaplarında agar ortamında ikili kültür denemesiyle yapılan testlerde antagonist mantarlarının çürüklük mantarları üzerinde belirli bir engelleyici etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir. Agar ortamında ikili deneylerde antagonistlerle mantarlar ilk teması ikinci gün yaptıklarından ölçümler ikinci günde başlamış, misel gelişimine göre bazı karşılaşmalar 10. Gün bazıları ise 14. günde tamamlanmıştır.

İkili kültür karşılaşmalarında *T. harzianum*' un *C. puteana* ve *P. placenta* çürüklük mantarlarının gelişimini tamamen (%99) engellediği, *P. brevicompactum* antagonistinin ise çürüklük mantarları üzerinde engelleyici etkilerinin diğer antagonistlere göre oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun *P. brevicompactum* un misel gelişiminin oldukça yavaş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İkili kültür denemelerinde, *T. viride* ve *A. niger* antagonistleri çürüklük mantarlarının tamamını %80 ve üzerinde baskılayarak büyümelerini engellemiştir.

Odun blokları üzerinde yapılan testlerde ise, kontrol amaçlı antagonist aşılması yapılan odun bloklarında ağırlık kaybı %0.72-3 arasında oldukça düşük gerçekleşirken, çürüklük mantarı aşılması yapılan kontrol bloklarında ağırlık kaybı ise %16-36 arasında tespit edilmiştir.

Odun blokları üzerinde ikili kültür tekniğiyle yapılan denemelerde *T. viride* ve *T. harzianum* antagonistleri hem beyaz çürüklük hem de esmer çürüklük mantarlarına karşı

yüksek bir engelleme yaptığı ve ağırlık kaybını %2-5'e kadar düşürdüğü tespit edilmiştir. *A. niger* ve *P. brevicompactum* antagonistleri ise bazı çürüklüklere karşı engelleyicilik gösterip ağırlık kaybını düşürürken, bazılarına karşı engelleyici gösteremeyip ağırlık kaybına engel olamamıştır.

Gerek agar ortamında ikili karşılaşmayla yapılan gerekse odun blokları üzerinde yapılan iki yöntemde de *T. viride*, *T. harzianum* ve *A. Niger* antagonistlerinin çürüklük mantarları üzerinde engelleme yaptığı görülmüştür. Bu uygulama laboratuvar ortamında başarılı olarak görünse de, çevresel etkenlerden kaynaklı dış ortamda da test edilmesi gerekmektedir. Ancak o zaman daha başarılı sonuçlar elde edilmesi mümkündür.

Bu çalışmada, ikili kültür karşılaşmalarında antagonistler ile çürüklük mantarı miselleri eş zamanlı olarak petrikapları karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Bu durumda antagonistler çok hızlı geliştiğinden hızlıca petri kabını istila etmekte ve çürüklük mantarı misellerini baskılayabilmektedir. Bu durumun ortadan kaldırılması için çürüklük mantarı miselleri misel büyüme hızına bağlı olarak daha önceden başlatılması ve takriben birkaç gün sonrasında antagonist mantarların yerleştirilmesi önerilebilir.

5. KAYNAKLAR

- Ah Chee, A. (2001). Basidiomycete wood decay fungi from *Pinus radiata*: biology and biological control (Doktora tezi, Lincoln Üniversitesi).
- Angappan, K. (1992). Biological Control of Chickpea Dry Root Rot Caused by *Macrophomina Phaseolina* (Tassi.) Gold (Doktora tezi, Tamil Nadu Agricultural Üniversitesi, Coimbatore).
- Anke H, Kinn J, Bergquist KE, Sterner O (1991) Production of siderophores by strains of the genus *Trichoderma*. Isolation and characterization of the new lipophilic coprogen derivative palmitoyl coprogen. *Biometals* 4(3),157–165
- Awad, N. E., Kassem, H. A., Hamed, M. A., El-Feky, A. M., Elnaggar, M. A., Mahmoud, K., & Ali, M. A., 2018. Isolation and characterization of the bioactive metabolites from the soil derived fungus *Trichoderma viride*. *Mycology*, 9(1), 70-80.
- Boddy L, 2000. Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. *FEMS Microbiology Ecology* 31(3), 185-194.
- Brown, H. L., Bruce, A., & Staines, H. J. (1999). Assessment of the biocontrol potential of a *Trichoderma viride* isolate: Part II: Protection against soft rot and basidiomycete decay. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 44(4), 225-231.
- Bruce A, Austin WJ and King B (1984) Control of growth of *Lentinus lepideus* by volatiles from *Trichoderma*. *Trans British Mycol Soc* 82,423–428
- Bruce A, Highley TL (1991) Control of growth of wood decay Basidiomycetes by *Trichoderma* spp. and other potentially antagonistic fungi. *For Prod J* 2,63–67
- Bruce, A., King, B., & Highley, T. L. (1991). Decay Resistance of Wood Removed from Poles Biologically Treated with *Trichoderma*. *Holzforschung*, 45(1991) 307–311.
- Chet, I., & Baker, R. (1980). Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology*, 70(10), 994-998.
- Civardi, C., Schubert, M., Fey, A., Wick, P., & Schwarze, F. W. (2015). Micronized copper wood preservatives: efficacy of ion, nano, and bulk copper against the brown rot fungus *Rhodonia placenta*. *PloS one*, 10(11), e0142578.
- Cook, R. J., & Baker, K. F. (1983). The nature and practice of biological control of plant pathogens. *American Phytopathological Society*.
- Croan, S. c., and Highley, T. L. (1990). Biological control of the blue stain fungus *Ceratocystis coerulea* with fungal antagonists. *Material und Organismen*, 25(4), 255-266.
- Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(1), 25-IN3.

- do Nascimento Silva, R., Steindorff, A. S., Ulhoa, C. J., & Félix, C. R. (2009). Involvement of G-alpha protein GNA3 in production of cell wall-degrading enzymes by *Trichoderma reesei* (*Hypocrea jecorina*) during mycoparasitism against *Pythium ultimum*. *Biotechnology letters*, 31(4), 531-536.
- Dutta S, Kundu A, Chakraborty MR, Ojha S, Chakraborty J, Chatterjee NC (2006) Production and optimization of Fe(III) specific ligand, the siderophore of soil inhabiting and wood rotting fungi as deterrent to plant pathogens. *Acta Phytopathol Entomol Hung*, 41(3-4),237-248
- Ejechi, B. O. (1997). Biological control of wood decay in an open tropical environment with *Penicillium* sp. and *Trichoderma viride*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 39(4), 295-299.
- Etheridge, D. E., and Craig, H. M. (1973). "A bilayer plate technique to detect broad-spectrum antagonism in microorganisms and its application to wood-inhabiting fungi." *Canadian Journal of Microbiology*, 19
- Freeman M, McIntyre C. A comprehensive review of copper-based wood preservatives with a focus on new micronized or dispersed copper systems. *Forest Prod J.* (2008); 58, 6-27.
- Freitag, M., and Morrell, J. J. (1989). Preliminary evaluations of a small wafer assay for screening potential biological control agents. *The International Research Group on Wood Preservation*, Document No. IRGIWP/2332, 6 pp.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1), 43-56.
- Highly TL, Richard J (1988) Antagonism of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens* against wood decay fungi. *Mater Org* 23,157-169
- Hulme, M. A., & Shields, J. K. (1970). Biological control of decay fungi in wood by competition for non-structural carbohydrates. *Nature*, 227(5255), 300-301.
- Jung, S. J., Kim, N. K., Lee, D. H., Hong, S. I., & Lee, J. K. (2018). Screening and evaluation of *Streptomyces* species as a potential biocontrol agent against a wood decay fungus, *Gloeophyllum trabeum*. *Mycobiology*, 46(2), 138-146.
- Khalid, S. A. L. (2017). *Trichoderma* as biological control weapon against soil borne plant pathogens. *African Journal of Biotechnology*, 16(50), 2299-2306.
- Koşar, N. (2016). *Trichoderma* sp.'nin bazı bitki patojenik funguslarına karşı mikoparazitizmi/Mycoparasitism of *Trichoderma* sp. against some plant pathogenic fungi (Doktora Tezi).
- Morrell JJ, Sexton CM. Evaluation of a biological agent for controlling basidiomycete attack of Douglasfir and southern pine. *Wood Fibre Sci.* (1990); 22, 10-21
- Perello A, Monaco C, Simond MR, Sisterna M, Bello GD (2003) Biocontrol efficacy of *Trichoderma* isolates for tan spot of wheat in Argentina. *Crop Protect* 22,1099-1106
- Rayner AD, Boddy L. Fungal decomposition of wood. Its biology and ecology. Wiley: John Wiley & Sons; (1988).
- Ribera, J., Schubert, M., Fink, S., Cartabia, M., & Schwarze, F. W. (2017). Premature failure of utility poles in Switzerland and Germany related to wood decay

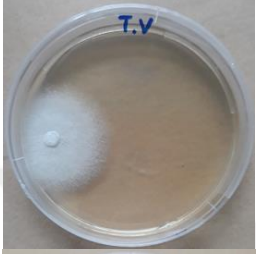
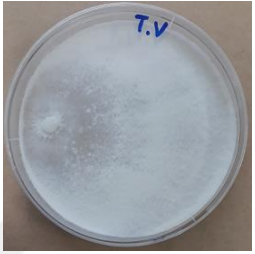
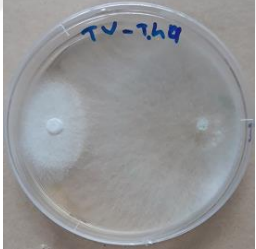
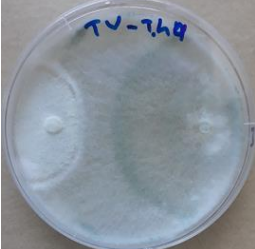
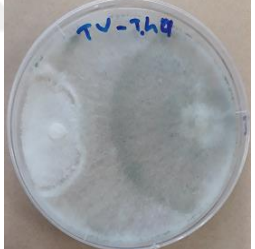
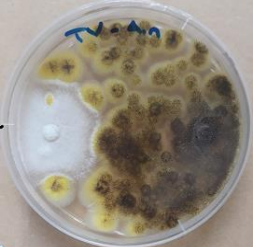
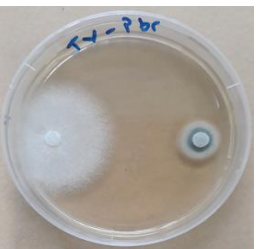
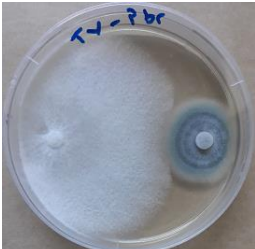
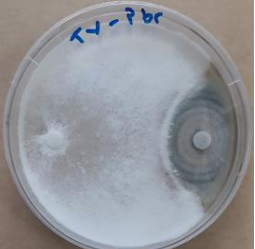
- basidiomycetes. *Holzforschung*, 71(3), 241-247.
- Royse, J. D. & Ries, M. S. (1978). The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology* 68, 603-607. doi: 10.1094/Phyto-68-603.
- Schmoll M, Schuster A. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 87, 787–799.
- Schoeman, M. W., and Dickinson, D. J. (1994). "A rapid method for screening potential biological control agents of wood decay." *European Journal of Forest Pathology*, 24(3), 154-159
- Schubert, M., Fink, S., & Schwarze, F. W. (2008). Field experiments to evaluate the application of *Trichoderma* strain (T-15603.1) for biological control of wood decay fungi in trees. *Arboricultural Journal*, 31(4), 249-268.
- Shukla, A. N., and Rana, A. (1995). Interactions between *Ganoderma lucidum* (Leyss) Karst. and some edible mushrooms. *Indian Journal of Forest*, 18(1), 43-46.
- Sivan, A., & Chet, I. (1986). Possible mechanisms for control of *Fusarium* spp. by *Trichoderma harzianum*. In *1986 British Crop Protection Conference. Pests and Diseases. Vol. 2.* (pp. 865-872). British Crop Protection Council.
- Spadaro D, Gullino ML. (2005). Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. *Crop Prot.* 24, 601–613.
- Sreedevi, B., Charitha Devi, M., & Saigopal, D., (2011). Isolation and screening of effective *Trichoderma* spp. against the root rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *J Agric Technol.*, 7(3), 623-635.
- Susanta A, Sudharto PS, Purba RY (2005) Enhancing biological control of basal stem rot disease (*Ganoderma boninense*) in oil palm plantations. *Mycopathol* 159, 153–157.
- Taylor, A. (1986). Some aspects of the chemistry and biology of the genus *Hypocrea* and its anamorphs, *Trichoderma* and *Gliocladium*.
- Tiwari, C. K., Parihar, J., & Verma, R. K. (2011). Potential of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* as biocontrol agents of wood decay fungi. *Journal of the Indian Academy of Wood Science*, 8(2), 169-172.
- Ujor, V. C., Monti, M., Peiris, D. G., Clements, M. O., & Hedger, J. N. (2012). The mycelial response of the white-rot fungus, *Schizophyllum commune* to the biocontrol agent, *Trichoderma viride*. *Fungal biology*, 116(2), 332-341.
- Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. N., & Valero, J. R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1), 1-20.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10.
- Wang, G., Cao, X., Ma, X., Guo, M., Liu, C., Yan, L., & Bian, Y. (2016). Diversity and effect of *Trichoderma* spp. associated with green mold disease on *Lentinula edodes* in China. *Microbiologyopen*, 5(4), 709-718.
- Yalçın, M., Doğan, H. H., & Akçay, Ç. (2019). Identification of wood-decay fungi and

assessment of damage in log depots of Western Black Sea Region (Türkiye). *Forest pathology*, 49(2), e12499.

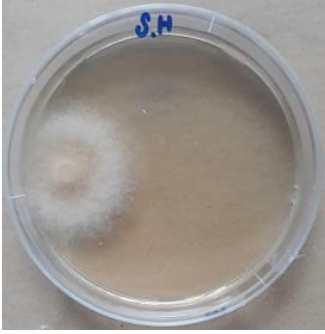
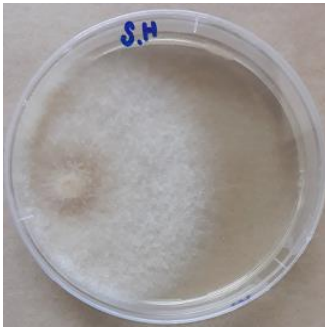
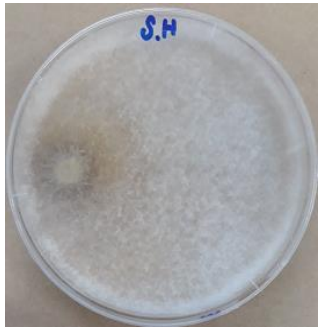
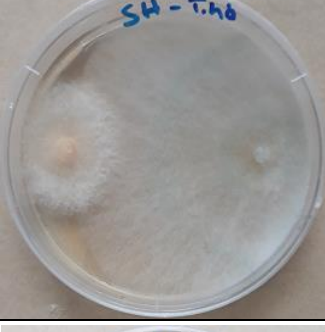
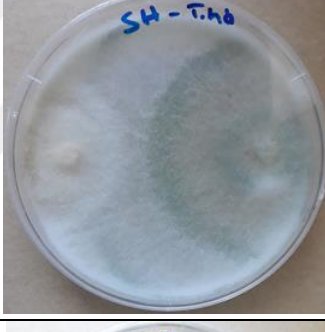
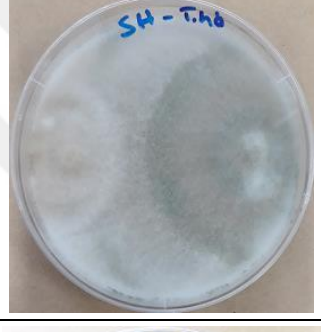
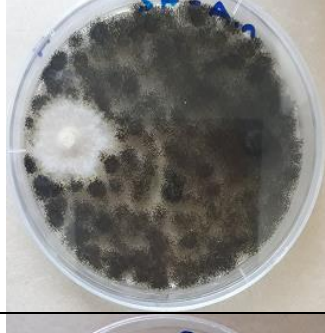
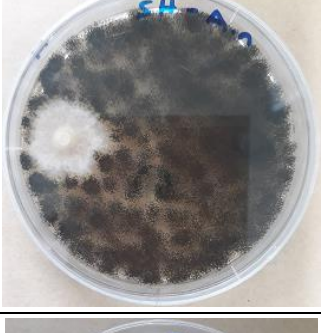


6. EKLER

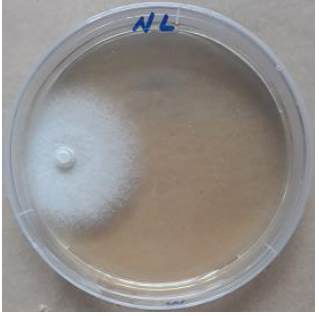
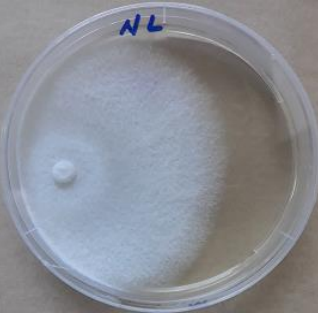
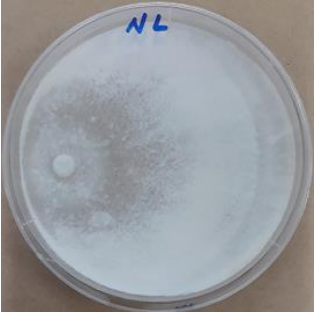
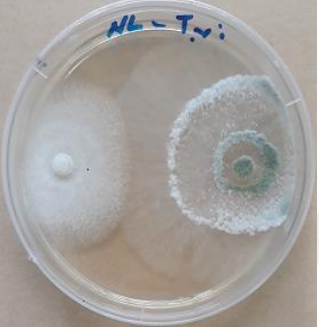
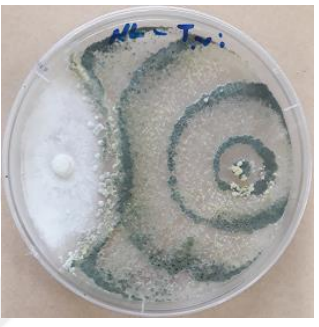
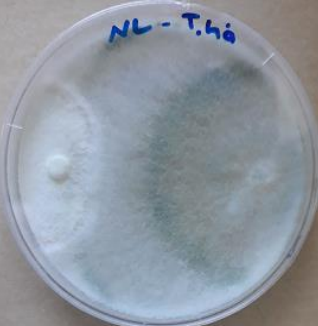
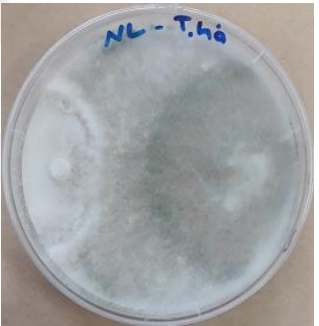
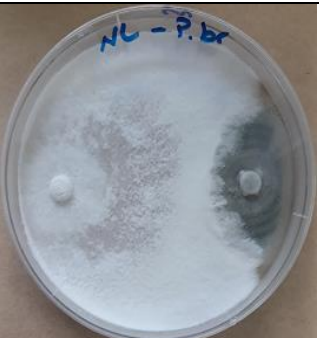
6.1.EK 1: ÇÜRÜKLÜK VE ANTAGONİST MANTARLARININ MİSEL GELİŞİM GÖRSELLERİ

Mantar X Küf	Gün		
	2.	5.	9.
<i>T. versicolor</i>			
<i>T. versicolor</i> X <i>T. viride</i>			
<i>T. versicolor</i> X <i>T. harzianum</i>			
<i>T. versicolor</i> X <i>A. niger</i>			
<i>T. versicolor</i> X <i>P. brevicompactum</i>			

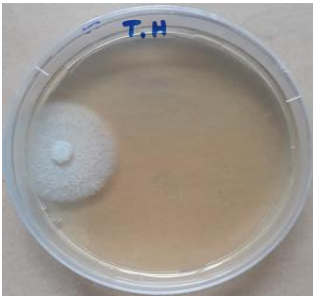
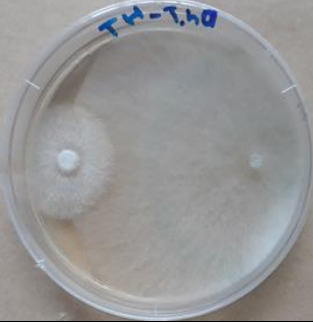
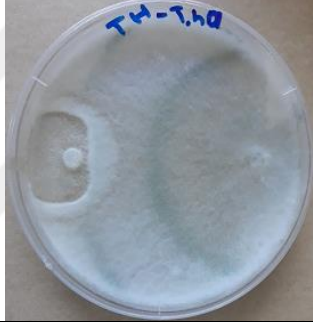
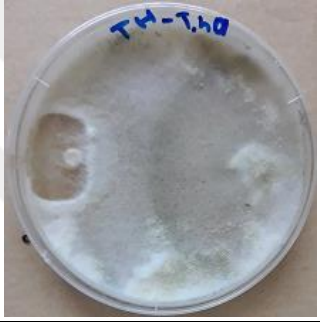
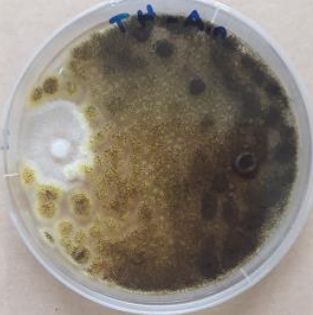
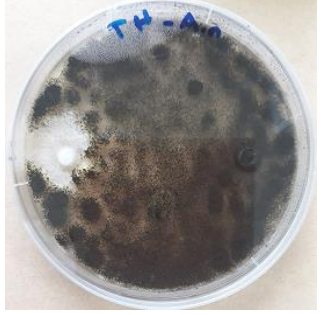
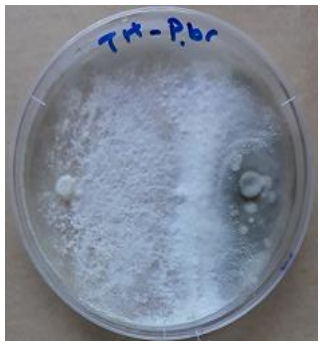
Şekil 6.1. Antagonist mantarların *T. versicolor* mantarının gelişimine etkileri.

Mantar X Küf	Gün		
	2.	5.	9.
<i>S. hirsutum</i>			
<i>S. hirsutum</i> X <i>T. viride</i>			
<i>S. hirsutum</i> X <i>T. harzianum</i>			
<i>S. hirsutum</i> X <i>A. niger</i>			
<i>S. hirsutum</i> X <i>P. brevicompactum</i>			

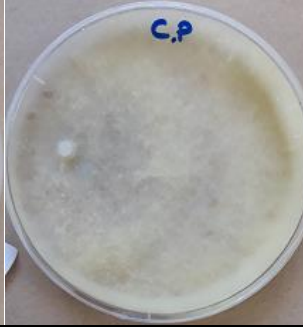
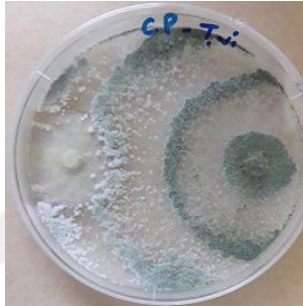
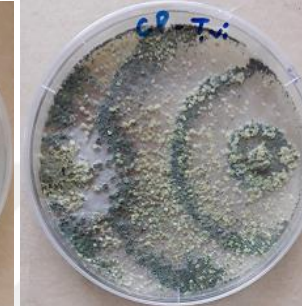
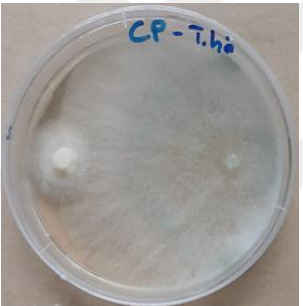
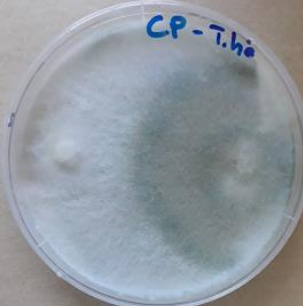
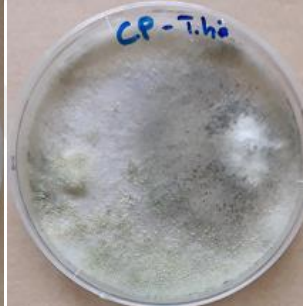
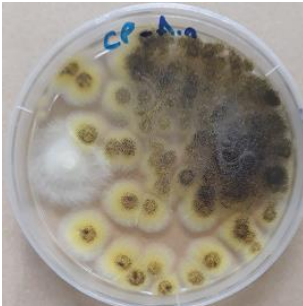
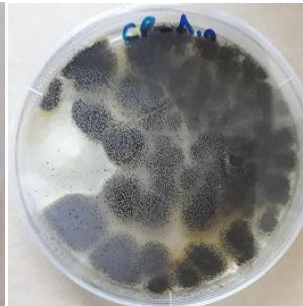
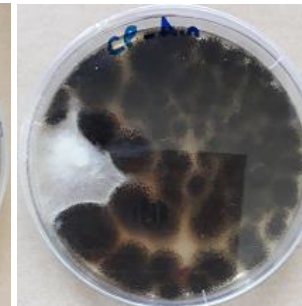
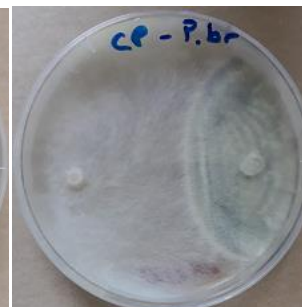
Şekil 6.2. Antagonist mantarların *S. hirsutum* mantarının gelişimine etkileri.

Mantar X Küf	Gün		
	2.	5.	9.
<i>N. lepidus</i>			
<i>N. lepidus</i> X <i>T. viride</i>			
<i>N. lepidus</i> X <i>T. harzianum</i>			
<i>N. lepidus</i> X <i>A. niger</i>			
<i>N. lepidus</i> X <i>P. brevicompactum</i>			

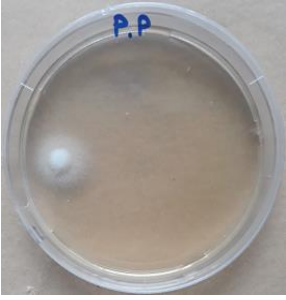
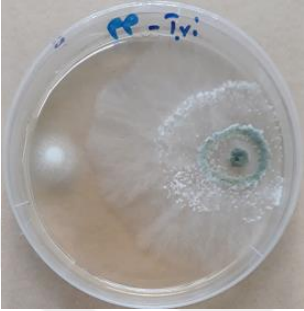
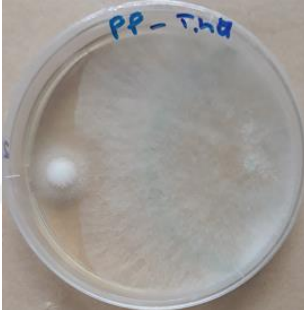
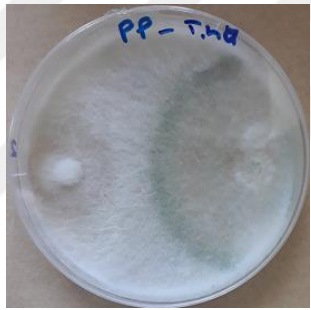
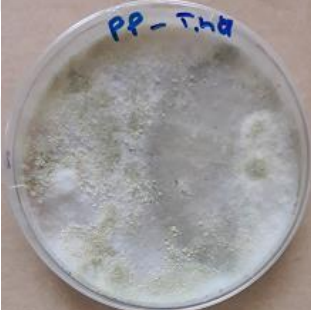
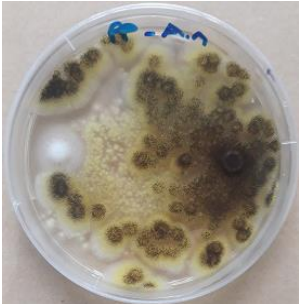
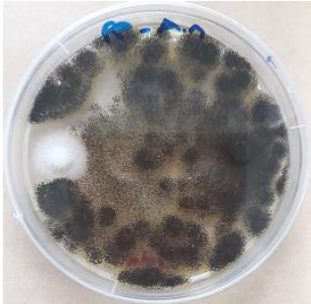
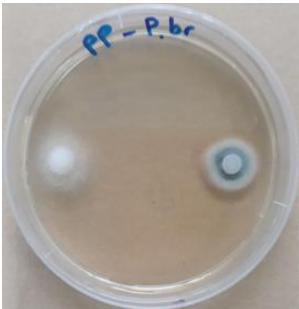
Şekil 6.3. Antagonist mantarların *N. lepidus* mantarının gelişimine etkileri.

Mantar X Küf	Gün		
	2.	5.	12.
<i>T. hirsuta</i>			
<i>T. hirsuta</i> X <i>T. viride</i>			
<i>T. hirsuta</i> X <i>T. harzianum</i>			
<i>T. hirsuta</i> X <i>A. niger</i>			
<i>T. hirsuta</i> X <i>P. brevicompactum</i>			

Şekil 6.4. Antagonist mantarların *T. hirsuta* mantarının gelişimine etkileri.

Mantar X Küf	Gün		
	2.	5.	12.
<i>C. puteana</i>			
<i>C. puteana</i> X <i>T. viride</i>			
<i>C. puteana</i> X <i>T. harzianum</i>			
<i>C. puteana</i> X <i>A. niger</i>			
<i>C. puteana</i> X <i>P. brevicompactum</i>			

Şekil 6.5. Antagonist mantarların *C. puteana* mantarının gelişimine etkileri.

Mantar X Küf	Gün		
	2.	5.	12.
<i>P. placenta</i>			
<i>P. placenta</i> X <i>T. viride</i>			
<i>P. placenta</i> X <i>T. harzianum</i>			
<i>P. placenta</i> X <i>A. niger</i>			
<i>P. placenta</i> X <i>P. brevicompactum</i>			

Şekil 6.6. Antagonist mantarların *P. placenta* mantarının gelişimine etkileri.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Selim HINÇAL

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Orman Endüstri Müh.	Düzce Üniversitesi	2023
Lisans	Orman Endüstri Müh.	Düzce Üniversitesi	2019
Lise		Gerede Anadolu Lisesi	2012

YAYINLAR

Hınçal S. ve Yalçın M. (2023). Biological control of some wood-decay fungi with antagonistic fungi.Biodegradation, <https://doi.org/10.1007/s10532-023-10045-2>.