

110R Anacına Aşılı Merlot Üzüm Çeşidi Genç Omcalarına Farklı Dozlarda Uygulanan *Trichoderma harzianum* ve *Bacillus subtilis*' in I. Gelişme Dönemindeki Etkileri

İlknur KORKUTAL¹, **Elman BAHAR¹**, **Majed Noor Al-Deen MAHMOOD²**

¹ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ.

² Polen Tohumculuk Limited Şirketi, Şehzadeler, Manisa.

Öz: Bu çalışma 2014 yılında, Merlot/110R fidanları üzerine farklı dozlarda uygulanan *Bacillus subtilis* (%2, %4, %8, 0) ve *Trichoderma harzianum* (5g/L, 10g/L, 20g/L, 0)' un 2 yaşlı asma fidanlarında gelişme döneminde gösterdiği etkilerin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Araştırmada fidan tutma oranı, sürgün özellikleri ve yaprak özellikleri incelenmiştir. Tesadüf Bloklarında Bölünmüş Parseller deneme desenine göre oluşturulan denemede toplam 96 fidan kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde MSTAT-C istatistik programı, aradaki farkların belirlenmesinde ise LSD testi kullanılmıştır. *B. subtilis*; genel koltuk sürgün toplamı üzerine azaltıcı etkilerde bulunmuş, diğer kriterlerde artırıcı bir etki göstermiştir. *T. harzianum* ise koltuk sürgünü toplamı ve ana sürgünde bulunan toplam koltuk sürgünü sayısı üzerine azaltıcı; diğer kriterler üzerine ise pozitif bir etki yapmıştır. Sonuç olarak ileriki çalışmalarda *Bacillus subtilis*' in %8' lik dozunun Merlot/110R fidanlarında gelişme döneminde kullanılması önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Merlot, 110R, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, *Vitis vinifera* L.

Different Doses Effects of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* on Young Plants Merlot/110R I. Growing Period

Abstract: This study was performed in 2014, in order to identify the effects of different doses *Bacillus subtilis* (2%, 4%, 8%, 0) and *Trichoderma harzianum* (5g/L, 10g/L, 20g/L, 0) on Merlot/110R young plants. In this research, taking ratio of young plants, shoot characteristics and leaf characteristics were evaluated. This research was established by Randomized Block design in Divided Parcels and it contained totally 96 young plants were used. MSTAT-C statistical program was used for evaluation data, and LSD test was used for determine the statistically importance. *B. subtilis* decreased total number of lateral shoots; also the *T. harzianum* decreased total number of lateral shoots, lateral shoots number in main shoot. As a result, *Bacillus subtilis* dose 8% can be used in growing period for further studies.

Keywords: Merlot, 110R, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, *Vitis vinifera* L.

GİRİŞ

Son yıllarda birçok biyo-ajan; bitki hastalık ve zararlılarına karşı kullanılmaktadır (Ghabrial ve Suzuki, 2009; Moses, 2006; Szczech ve Shoda, 2004). *Trichoderma sp.* fungusunun ve *Bacillus sp.* bakterisinin kullanıldığı sera, laboratuvar ve arazi denemelerinde fungal hastalıklara karşı başarılı sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Muhammad ve Amusa, 2003; Larkin, 2004; Alhafaf, 2006).

B. subtilis biyo-ajanının kullanımı; ile azot tespiti (Çakmakçı ve ark., 2006), fosfor çözünürlüğü (Kloepper ve ark., 1980; De Freitas JR ve ark., 1997), antibiyotik sentezi (Rosado ve Seldin, 1993) ve fitohormon üretimi gibi konular öne çıkmıştır. Sabir ve ark. (2012), çalışmalarında kullandıkları biyo-ajarlardan biri olan *B. subtilis* OSU-142, uygulamaları sonucunda sürgün çapı ve kuru madde değerlerinin kontrole nazaran yükseldiğini belirlemişlerdir. Ayrıca bütün ajanlar, yaprakta bulunan makro elementleri (N, P, K, Ca ve Mg) kontrole oranla yükseltmiştir.

Mervat ve ark. (2012), kontrol ile karşılaştırıldığında *Trichoderma sp.*' nin sürgün uzunluğu ve yaprak alanını artırdığını tespit etmişlerdir. Biyo-ajan uygulamalarının vejetatif büyüme üzerinde pozitif bir etkisi olduğu da saptanmıştır. Ayrıca N, P, K ve formlarının çözünür hale gelmesine de etkisi olduğu belirlenmiştir. Biyo - ajanların asmalarda ince köklerin uzunluğu ve genişliğini en fazla artıran grupta yer aldığı görülmüştür. Kalın köklerin uzunluğu ve genişliği ise kontrolden daha fazla olmuştur.

Bu çalışmada, bir vejetasyon periyodu boyunca çevre dostu bir fidan gelişimi sağlanarak, gelişim döneminde biyo-ajanların ve dozlarının 2 yaşındaki Merlot/110R fidanlarının; fidan özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırmada bitkisel materyal olarak 110R anacı üzerine araştırılmış olan iki yaşındaki Merlot üzüm çeşidi asma fidanları kullanılmıştır. Fidanlara performans ve gelişimi artırmak için Simbiyotek Biyolojik Ürünler firması tarafından üretilen 2 ticari preparat *Trichoderma harzianum* (Sim Derma) ve *Bacillus subtilis* (Sim Bacil) biyo - ajanları uygulanmıştır.

Sim Bacil: Toplam canlı mikroorganizma miktarı *Bacillus subtilis* olarak 1×10^8 KOB/g' dir. Doğal bir izolat olan *B. subtilis* KUEN 1581 Simbiyotek A.Ş. adına KÜKENS, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Mikroorganizma Kültür Koleksiyonları Merkezi Kataloğunda kayıtlıdır. Ayrıca %10 toplam organik madde, %3 çinko, 200 U/g proteaz enzimi; aspartik asit, glutamik asit, asparagine, serin, histidin, glysin, theronin, citruline, arginin, alanin, tyrosin,

Sorumlu Yazar: ikorkutal@nku.edu.tr

Bu çalışma yüksek lisans tezi ürünüdür.

Geliş Tarihi: 8 Ocak 2018

Kabul Tarihi: 31 Mayıs 2018

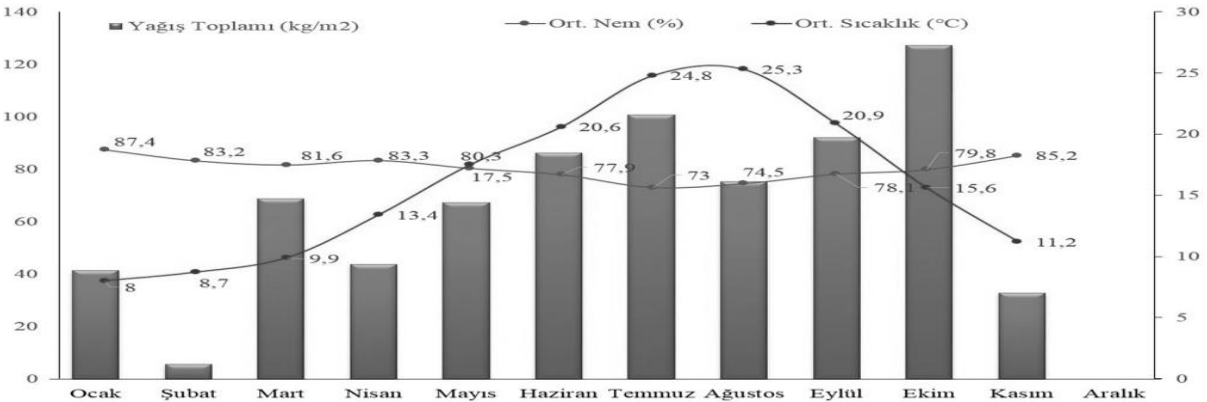
cystin, valin, methionin, tryptophan, phenylalanin, isoleucin, leucin, lysin, prolin aminoasitlerini içermektedir.

Sim Derma: *Trichoderma harzianum* sporları içeren mikrobiyal bir gübredir. Suş, Simbiyotek adına KUEN 1585 numarası ile tescil edilmiştir.

Kullanılan toprağın özellikleri organik madde Walkey-Black; pH, tuz ve işba saturasyon; kireç kalsimetrik; Azot Kjeldahl; Fosfor spektrofotometre; Potasyum ve Magnezyum A. Asetat-ICP; Demir, Bakır, Çinko ve Mangan DTPA-ICP yöntemleri kullanarak analiz edilmiştir. Yapılan toprak analiz sonuçlarına göre; organik maddece yeterli, pH: 7.38 (nötr), Tuz: %0.03 - tuzluluk tehlikesi yoktur. Kireç %4.07 az kireçli, işba 55 killi tınlı, toplam Azot %0.15: az, Fosfor 41.83 ppm: fazla, Potasyum 1120 ppm: fazla, Magnezyum 537 ppm: fazla, Demir 6.74 ppm: yeterli, Bakır 0.91 ppm: yeterli, Çinko 1.00 ppm: az, Mangan 8.34 ppm: yeterlidir.

Dikim öncesi *Bacillus subtilis* ile hazırlanan 4 farklı doza asma fidanları 5 dk süreyle daldırılmıştır. Doz 1: %2, Doz

2: %4, Doz 3: %8, Doz 4: Kontrol' dür. Aynı şekilde *Trichoderma harzianum* için 4 doz; Doz 1: 5 g/L, Doz 2: 10 g/L, Doz 3: 20 g/L, Doz 4: Kontrol uygulanmıştır. Ardından 2 yaşındaki fidanlar standart olarak iki göz ve kökleri 1-2 cm kalacak şekilde budanmıştır. Yukarıda içeriği verilen toprak ile doldurulmuş olan, siyah renkli, 15 litrelik saksılara dikilmiş ve can suyu verilmiştir (22.04.2014). Dikim yapılan saksılar Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü araştırma ve deneme arazisine taşınmıştır. Bu dozların aynısı, 20 gün sonra tüm fidanların kök bölgesine saksı başına 180 ml olacak şekilde sulama suyuna eklenmiştir. Fidanların saksılardan sökülümü tüm yapraklar döküldükten sonra 24 Aralık tarihinde gerçekleştirilmiştir. Deneme alanına ait iklim özellikleri Şekil 1' de sunulmuştur. Vejetasyon periyodu boyunca saksılardan ot alma, gün aşırı veya sıcak günlerde ihtiyaç duyulduca sulama yapılmıştır. 16.07.2014 tarihinde direkler çakılarak teller gerilip asmalar tele sardırılmıştır.



Şekil 1. Tekirdağ ili 2014 yılı bazı iklim özellikleri (Tekirdağ Meteoroloji Müdürlüğü 2015)

Denemede, Tesadüf Bloklarında Bölünmüş Parseller deneme desenine göre 2 Biyo-ajan, 4 doz, 3 blok ve her blokta 4 asma fidanı olmak üzere toplam 96 adet 2 yaşındaki Merlot/I 10R asma fidanı kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde MSTAT-C istatistik programı, aradaki farkların belirlenmesinde ise LSD testi kullanılmıştır.

Denemede fidan tutma oranı (%), sürgün özellikleri [ana ve ortalama genel sürgün çap değişimi (mm), ana ve ortalama genel sürgün çap artışı (mm), ana ve ortalama genel sürgün uzunluğu değişimi (cm), ortalama genel ve ana sürgün uzama hızı (cm hafta⁻¹), ana sürgün sayısı (adet), genel ve ana sürgünde bulunan toplam koltuk sürgünü sayısı (adet)] ve yaprak özellikleri [bitki başına ve sürgün başına toplam yaprak sayısı (adet), ana sürgünde yaprak sayısı (adet), spesifik ve bir bitkiye düşen toplam yaprak alanı (cm²) ile ana sürgün yaprak alanı (cm²), bir bitkide toplam yaprak yaş ve kuru ağırlığı (g) ve ana

sürgün yaprak yaş ve kuru ağırlığı (g), yaprak analizi] incelenmiştir. Yaprak alanları scanner ile her uygulamadan alınan 10 yaprak taranarak elde edilmiştir. Daha sonra taranan yaprakların alanları Flaeche programı kullanılarak hesaplanmıştır. Yaprakların makro ve mikro besin elementleri içerikleri Tekirdağ Ticaret Borsası Tarımsal Amaçlı Analiz Laboratuvarı (TAAL)' nda belirlenmiştir. N Kjeldahl; P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn ise Yaş Yakma yöntemi ile hazırlanmış ve değerleri ICP ile okunmuştur.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Fidan tutma oranı (%)

Biyo-ajan Ana Etkisi (BAAE), Doz Ana Etkisi (DAE) ve interaksiyonlarının fidan tutma oranını istatistiki olarak etkilemediği belirlenmiştir. Her iki biyo-ajan da rakamsal olarak en yüksek %70.83 değerini almış ve her iki biyo-ajan için en yüksek fidan tutma oranı değerini Doz 3 vermiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Biyo - ajan ve doz uygulamalarının gelişme döneminde bazı özellikler üzerine etkileri

İncelenen kriter	Biyo-ajanlar	Dozlar				BAAE
		1	2	3	4	
Fidan tutma oranı	<i>B. subtilis</i>	75.00	66.67	75.00	66.67	70.83
	<i>T. harzianum</i>	75.00	66.67	91.66	50.00	70.83
	DAE	75.00	66.67	83.33	58.33	-
Ö.D.						
Ana sürgün sayısı	<i>B. subtilis</i>	3.25	3.61	2.92	2.89	3.17
	<i>T. harzianum</i>	3.75	3.22	3.50	3.25	3.43
	DAE	3.50	3.42	3.21	3.07	-
Ö.D.						
Genel koltuk sürgünü toplamı	<i>B. subtilis</i>	3.094	2.656	3.197	3.392	3.085
	<i>T. harzianum</i>	3.258	3.483	3.139	3.350	3.308
	DAE	3.176	3.070	3.168	3.370	-
Ö.D.						
Topl. koltuk sürgünü sayısı	<i>B. subtilis</i>	4.433	3.300	5.267	4.800	4.450
	<i>T. harzianum</i>	4.167	4.633	5.900	3.233	6.200
	DAE	4.300	3.967	5.584	4.017	-
Ö.D.						
Bitki başına toplam yaprak sayısı	<i>B. subtilis</i>	153.58	160.78	207.81	149.06	167.81
	<i>T. harzianum</i>	175.33	152.67	197.56	143.42	167.24
	DAE	164.46 b	156.72 b	202.68 a	146.24 b	-
(P<0.05) DAE = 32.39833						
Bir bitkiye düşen toplam yaprak alanı	<i>B. subtilis</i>	3628.69	4433.88	6021.33	4125.98	4552.47
	<i>T. harzianum</i>	5064.92	4672.96	5457.10	3883.75	4769.68
	DAE	4346.80 c	4553.42 b	5739.21 a	4004.87 d	-
(P<0.05) DAE = 40.84033						
Ana sürgün yaprak alanı	<i>B. subtilis</i>	1737.96	1830.88	3169.70	2167.24	2226.45
	<i>T. harzianum</i>	1975.80	2284.15	2705.87	2203.92	2292.44
	DAE	1856.88 b	2057.52 b	2937.78 a	2185.58 b	-
(P<0.05) DAE = 704.19						
Bir bitkide topl. yaprak yaş ağırlığı	<i>B. subtilis</i>	64.98	79.71	109.07	75.32	82.27
	<i>T. harzianum</i>	94.90	92.88	100.55	73.00	90.33
	DAE	79.94 a	86.29 ab	104.81 a	74.16 b	-
(P<0.05) DAE = 20.8243						
Ana sürgün yaprak yaş ağırlığı	<i>B. subtilis</i>	31.12	33.10	57.38	39.37	40.24
	<i>T. harzianum</i>	36.80	45.38	49.90	41.48	43.39
	DAE	33.96 b	39.24 b	53.64 a	40.43 b	-
(P<0.05) DAE = 13.01						

[*Bacillus subtilis*: Doz 1 (%2) Doz 2 (%4) Doz 3 (%8) Doz 4 (Kontrol); *Trichoderma harzianum*: Doz 1 (5g/L) Doz 2 (10g/L) Doz 3 (20g/L) Doz 4 (Kontrol); BAAE= Biyo-ajan Ana Etkisi, DAE= Doz Ana Etkisi, Ö.D.=Önemli değil]

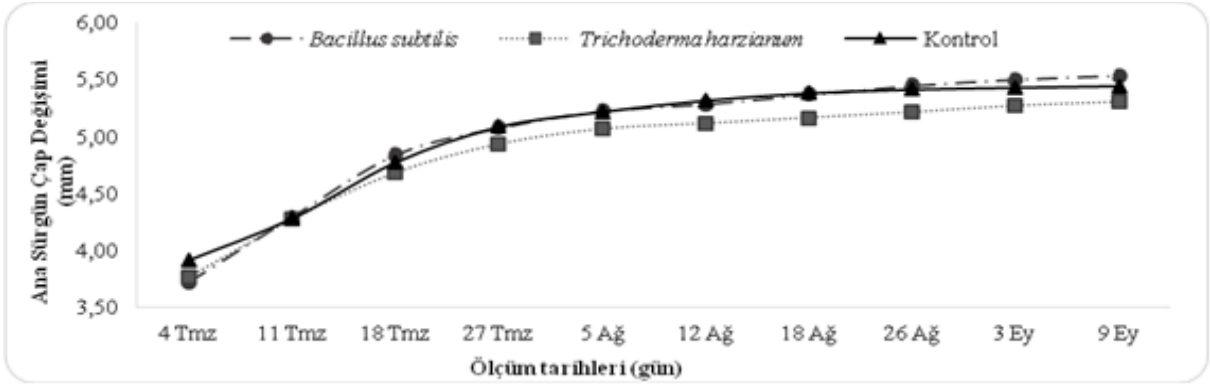
Ana sürgün çap değişimi (mm)

Ana sürgün çap değişimi 4 Temmuz' dan - 9 Eylül tarihine kadar kaydedilmiştir. Her iki biyo - ajan uygulamasında da en etkin çap pozitif değişimini Doz 3 sağlamıştır. *B. subtilis*' in Doz 3 uygulaması (5.69 mm) en yüksek çap artış değerini vermiştir. *T. harzianum*' un Doz 1 (4.49 mm) uygulaması ise kontrol (5.02 mm)'den daha düşük değer almıştır. Diğerleri bu iki değer arasında yer almıştır (Şekil 2).

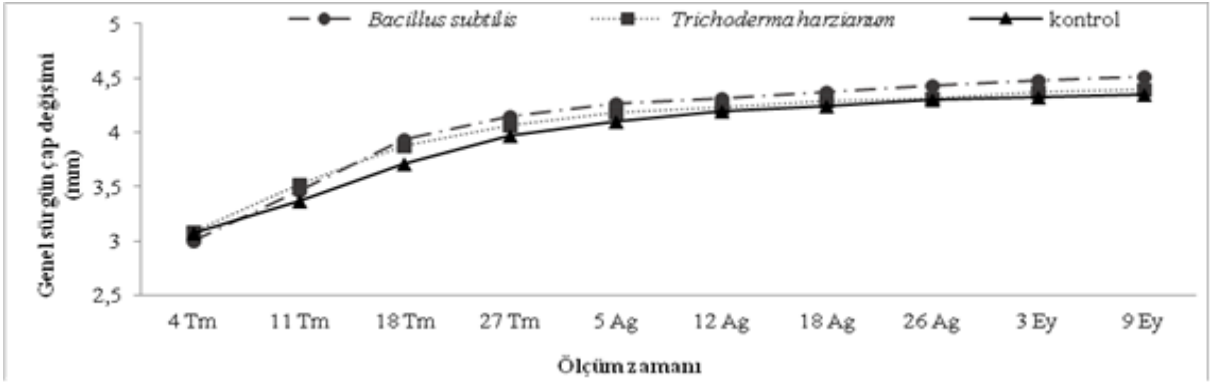
Ortalama genel sürgün çap değişimi (mm)

Doz 3 uygulamasının genel sürgün çap değişimi üzerine pozitif etki yaptığı belirlenmiştir. Ölçümlere başlanan 4 Temmuz tarihinde ortalama genel sürgün çap değişiminin

2.60-3.56 mm değerleri arasında olduğu belirlenmiştir. Son ölçüm günü olan 9 Eylül tarihinde ortalama genel sürgün çap değişiminin 4.22-5.06 mm arasında olduğu saptanmıştır (Şekil 3). Ortalama genel sürgün çap değişimi üzerine *B. subtilis*' in *T. harzianum*' a oranla pozitif etkide bulunduğu görülmektedir. Aslantaş ve ark. (2007), yapmış oldukları araştırmalarında *B. subtilis* uygulaması ile genç elma fidanlarının sürgün kalınlığının kontrole nazaran artış gösterdiğini ifade etmişlerdir. Araştırmamız sonucunda uygulanan *B. subtilis* ve *T. harzianum*' un sürgün kalınlığını kontrole nazaran artırdığı ve araştırmacıların bulgularıyla paralellik gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 2. Biyo-ajanların zamana bağlı olarak ana sürgün çap değişimi üzerine etkileri



Şekil 3. Biyo - ajanların ortalama genel sürgün çap değişimi üzerine etkileri

Ana sürgün çap artışı (mm)

En yüksek ana sürgünde çap artışı ortalamasını 0.20 mm ile *T. harzianum*' un Doz 1 uygulaması vermiştir. En düşük ana sürgünde çap artışı ortalamasını veren uygulama 0.14 mm ile *B. subtilis*' in Doz 3 uygulaması olmuştur. Şekil 4' te görüldüğü gibi biyo - ajan uygulamaları 4-11 Temmuz arasında ana sürgün çap artışında bir düşüğe neden olmuş; kontrol ise artış göstermiştir.

Ortalama genel sürgün çap artışı (mm)

Şekil 5 incelendiğinde ortalama genel sürgün çap artışının 4-11 Temmuz tarihleri arasında kontrol uygulamasında 0.30 mm, *T. harzianum* uygulamasında 0.44 mm ve *B. subtilis* uygulamasında ise 0.47 mm olduğu kaydedilmiştir.

Ana sürgün uzunluk değişimi (cm)

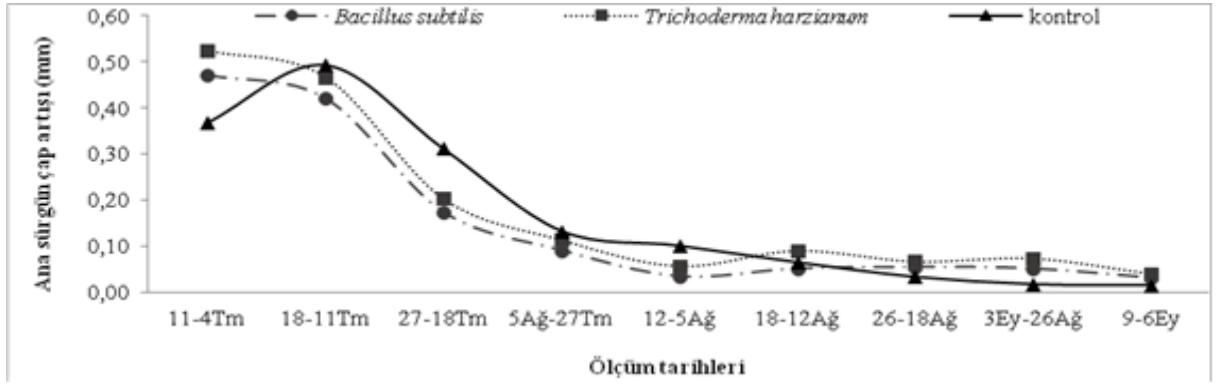
Her iki biyo - ajanın birinci dozlarının kontrolden daha kısa ana sürgün uzunluğu verdiği belirlenmiştir. Ayrıca *B. subtilis*' in Doz 2 uygulaması Doz 1' den de küçük bir değer almıştır. *T. harzianum*' un Doz 2 ve Doz 3 uygulamalarının aynı seviyede etki yaptığı da görülmüştür. Genel olarak bakıldığında *T. harzianum* ile *B. subtilis* uygulamalarının kontrole oranla ana sürgün uzunluğunu

(4 Temmuz - 5 Eylül arasında) daha fazla artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 2).

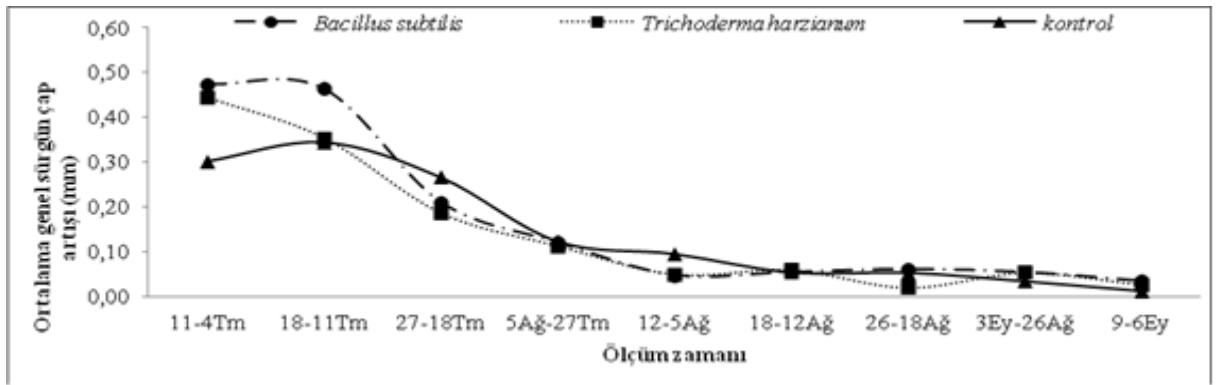
Ortalama genel sürgün uzunluk değişimi (cm)

B. subtilis biyo - ajanının Doz 3' ü 40.25 cm değeriyle en fazla ortalama genel sürgün uzunluk değişimi veren doz olmuştur. En düşük ortalama genel sürgün uzunluğu değeri veren doz ise yine *B. subtilis* Doz 2 (29.49 cm) olmuştur (Şekil 6).

T. harzianum' un Doz 1 uygulamasından 30.94 cm değeri ile en düşük ortalama genel sürgün uzunluk değişimi alınırken, en yüksek değer ise Doz 3 uygulamasından 36.63 cm değeri ile alınmıştır. *T. harzianum* dozları kontrol ile karşılaştırıldığında bütün dozların ortalama genel sürgün uzunluk değişimini pozitif etkilediği belirlenmiştir. Aslantaş ve ark. (2007), genç elma fidanlarına uyguladıkları *B. subtilis*' in ortalama sürgün uzunluğunu kontrol ile karşılaştırıldığında %59.2 oranında artırdığını belirlemişlerdir. Araştırmamız sonucunda *B. subtilis* uygulamalarından Doz 3' ün kontrolden yüksek bir değer aldığı belirlenmiştir. Bulgularımız araştırmacıların bulgularıyla aynı yöndedir.



Şekil 4. Biyo - ajanların zamana bağlı olarak ana sürgün çap artışı üzerine etkileri

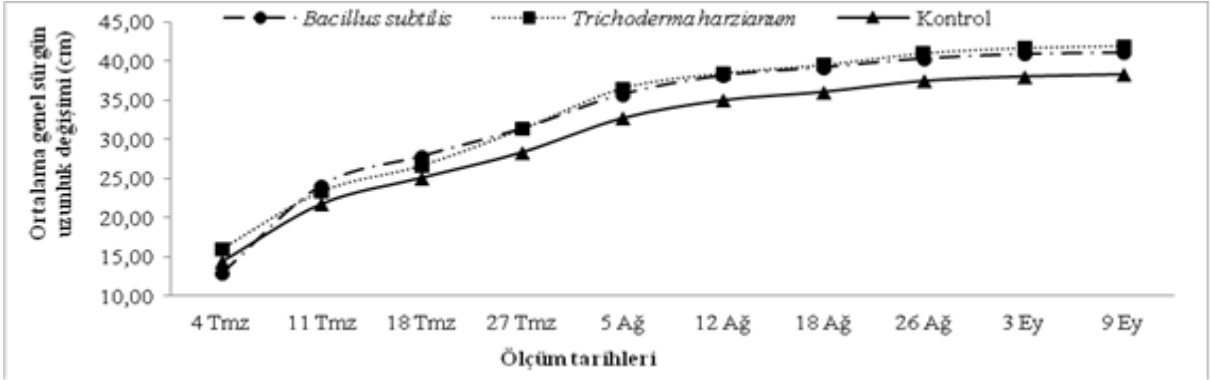


Şekil 5. Biyo - ajanların zamana bağlı olarak ortalama genel sürgün çap artışı üzerine etkileri

Çizelge 2. Biyo - ajanlar ve doz uygulamalarının ana sürgün uzunluk değişimi üzerine etkileri

Biyojanlar	Dozlar	Ölçüm tarihleri										Ort.
		4 Tem	11 Tem	18 Tem	25 Tem	1 Ağ	8 Ağ	12 Ağ	15 Ağ	29 Ağ	5 Eyl	
T. harzianum	Doz 1	24.94	30.33	40.51	47.56	53.69	62.33	76.08	81.64	83.06	83.56	58.37
	Doz 2	20.20	26.97	36.13	44.87	51.57	56.67	70.93	73.50	74.58	74.83	53.03
	Doz 3	30.95	41.31	55.89	62.44	67.31	70.89	84.80	88.43	89.81	90.15	68.20
B. subtilis	Doz 1	12.39	19.85	28.22	39.83	50.07	61.22	70.14	77.22	78.67	79.03	51.66
	Doz 2	7.17	13.08	21.37	31.96	45.81	57.03	64.43	71.50	73.63	74.92	46.09
	Doz 3	10.00	15.58	23.84	34.51	48.70	62.85	71.72	80.19	83.45	84.73	51.56
Kontrol (Doz 4)		6.80	12.67	20.23	26.78	34.95	43.32	53.87	58.65	59.54	59.82	37.66

[*Bacillus subtilis*: Doz 1 (%2) Doz 2 (%4) Doz 3 (%8) Doz 4 (Kontrol); *Trichoderma harzianum*: Doz 1 (5g/L) Doz 2 (10g/L) Doz 3 (20g/L) Doz 4 (Kontrol)]

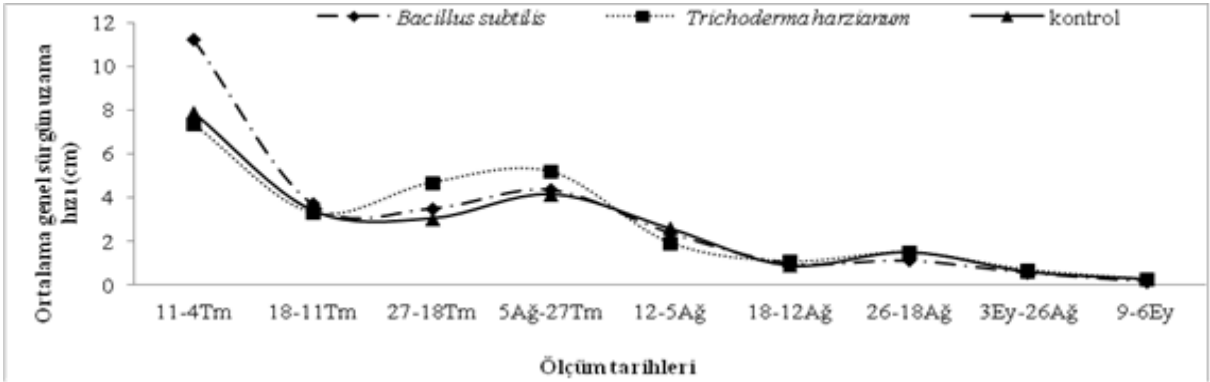


Şekil 6. Biyo - ajanların zamana bağlı olarak ortalama genel sürgün uzunluk değişimi üzerine etkileri

Ortalama genel sürgün uzama hızı (cm hafta⁻¹)

Dozlar göz ardı edildiğinde Biyo - ajan uygulamalarının etkileri Şekil 7' de açık olarak görülmektedir. Ortalama genel sürgün uzama hızı bakımından *T. harzianum*' un temmuz ayı boyunca daha etkin olduğu görülmüştür. *B.*

subtilis ve kontrol uygulamaları daha düşük bir artış seyrini izlemiştir. Ortalama genel sürgün uzama hızı bakımından çok büyük farklılıklar olmadığı ancak *B. subtilis*' in nispeten diğerlerinden daha fazla uzama hızını artırıcı etki yaptığı tespit edilmiştir.

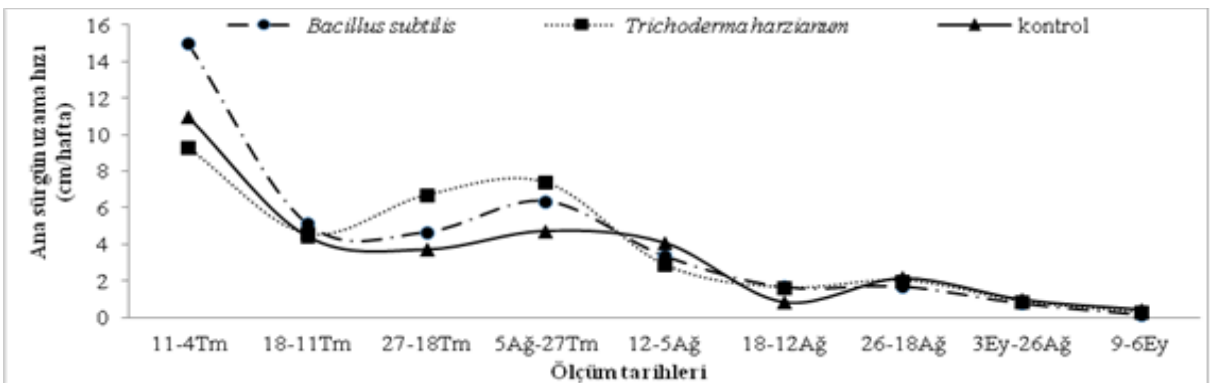


Şekil 7. Biyo - ajanlarının zamana bağlı olarak ortalama genel sürgün uzama hızı üzerine etkileri

Ana sürgün uzama hızı (cm hafta⁻¹)

Ana sürgün uzama hızını *B. subtilis*' in Doz 3 uygulaması 4.82 cm hafta⁻¹ 'lık değerle ve *T. harzianum*' un Doz 2 uygulaması 4.33 cm hafta⁻¹ 'lık değerle en çok artıran dozlar olmuştur. Ana sürgün uzama hızı da aynı genel

sürgün uzama hızında olduğu gibi 11-4 temmuz tarihi arasında düşüş göstermiştir. Sonrasında belirgin bir haftalık artış vardır. Bu artış ağustos başında duraklama göstermiştir. İlerleyen zamanla birlikte yaklaşık 2 cm hafta⁻¹ şeklinde devam etmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Biyo - ajanların zamana bağlı olarak ana sürgün uzama hızı üzerine etkileri

Ana sürgün sayısı (adet)

Ana sürgün sayısının 2.89-3.75 adet arasında değiştiği görülmüştür (Çizelge 1). Ayrıca ana sürgün sayısı üzerine BAAE (Biyo - ajan Ana Etkisi), DAE (Doz Ana Etkisi) ve bunların interaksiyonlarının istatistiki yönden önemli bir etkisi bulunmamıştır. Ancak rakamsal olarak *B. subtilis* uygulamaları 3,43 adet ile en yüksek sürgün sayısı vermiş, *T. harzianum* uygulamaları ise 3.17 adet ile en düşük sürgün sayısı değerini almıştır. Benzer şekilde Aslantaş ve ark. (2007), *B. subtilis* uygulamasının bir çeşitte sürgün sayısını azalttığı diğer bir çeşitte ise artırdığını belirlemişlerdir. Araştırmamız bulgularında her iki biyo - ajanın da ana sürgün sayısını artırma yönünde bir etki yaptığı belirlenmiştir. Aslantaş ve ark. (2007), belirttiği çeşide göre değişen azaltıcı ve artırıcı etki araştırmada tek çeşit kullanıldığı için ortaya konamamıştır.

Genel koltuk sürgünü toplamı (adet)

Merlot üzüm çeşidine uygulanan biyo - ajanların etkileri Çizelge 1' de verilmiştir. Biyo-ajan Ana Etkisi bakımından tüm uygulamalar arasında istatistiki açıdan farklılık bulunmasına karşın, en yüksek genel koltuk sürgünü toplamı *T. harzianum* (3.308 adet) uygulamasından elde edilmiştir. *B. subtilis* ise 3.085 adet genel koltuk sürgünü toplamı vermiştir.

Ana sürgünde bulunan toplam koltuk sürgünü sayısı (adet)

Ana sürgünde bulunan toplam koltuk sürgünü sayısı üzerine BAAE, DAE ve BAAE x Doz interaksiyonlarının

etkileri istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. *B. subtilis* uygulamaları sonucunda 4.450 adet koltuk sürgünü sayısının olduğu görülmüştür. *T. harzianum* ise 6.200 adet koltuk sürgünü sayısı değeri ile en yüksek rakama sahip olmuştur (Çizelge 1).

Bitki başına toplam yaprak sayısı (adet)

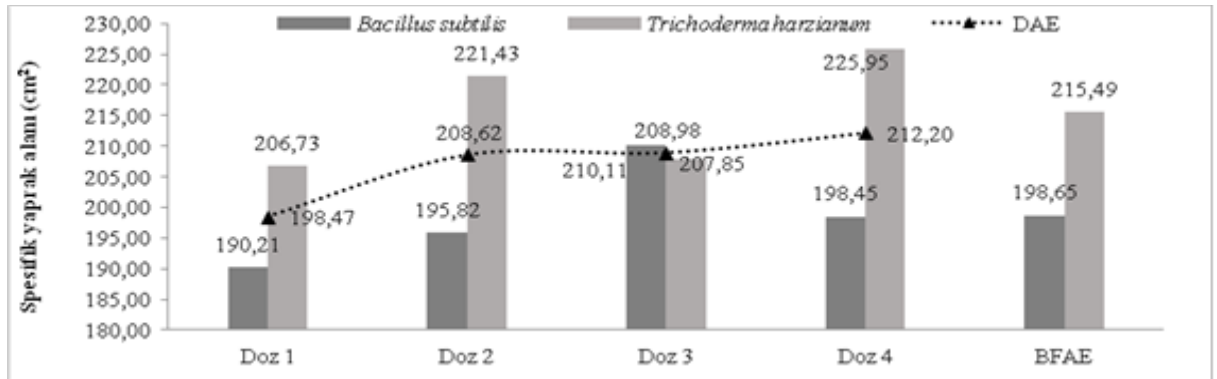
Farklı biyo-ajan dozları uygulamalarının toplam yaprak sayısını (143,42-207,81 adet) arasında değiştirdiği belirlenmiştir (Çizelge 1). Doz Ana Etkisi sürgün başına ortalama yaprak sayısı üzerinde istatistiki olarak önemli bir etki sağlamıştır. Doz 3 uygulamasıyla en yüksek ortalama yaprak sayısı değeri (202.72 adet) alınmıştır. Doz 4' ün ise (142.24 adet) değeriyle en düşük ortalama yaprak sayısını verdiği kaydedilmiştir.

Ana sürgünde toplam yaprak sayısı (adet)

Ana sürgünde yaprak sayılarının 71.91-108.58 adet arasında değiştiği ve istatistiki olarak yapılan uygulamaların ve dozlarının önemli bir etki yaratmadığı belirlenmiştir (Çizelge verilmemiştir).

Spesifik yaprak alanı (cm²)

Farklı biyo - ajan ve doz uygulamalarının Merlot üzüm çeşidine ait 2 yaşındaki asma fidanlarında spesifik yaprak alanlarını 1198.40-2300.44 cm² arasında değiştirdiği belirlenmiştir. Yapılan istatistiki analiz sonucunda DAE, BAAE ve interaksiyonlarının etkisi önemli bulunmamıştır. Kontrol uygulaması 212.20 cm² değeri en yüksek yaprak alanı veren uygulama olmuştur (Şekil 9).



Şekil 9. Biyo - ajanlar ve doz uygulamalarının spesifik yaprak alanı üzerine etkileri

T. harzianum rakamsal olarak (215.49 cm²) değeri ile en yüksek spesifik yaprak alanı değerini vermiştir. En düşük değer ise *B. subtilis* uygulamasından (198.65 cm²) yaprak alanı ile elde edilmiştir. Mervat ve ark. (2012) çalışmalarında *T. harzianum*' un yaprak alanı üzerine etkilerini kontrol ile karşılaştırdıklarında yaprak alanını artırdığını tespit etmişlerdir. Araştırmamızda da *T. harzianum* yaprak alanını kontrole nazaran rakamsal olarak artırmıştır. Bu nedenle araştırmacıların bulgularıyla paralellik belirlenmiştir. Öte yandan Arıkan ve ark (2013) tarafından yapılan araştırmada, farklı *Bacillus* sp. uygulamalarının 2010-2011 yıllarında yaprak alanına

istatistiki olarak önemli bir etkisinin olmadığını ifade ettikleri bulgusuyla, araştırmamız bulguları aynı doğrultudadır.

Bir bitkiye düşen toplam yaprak alanı (cm²)

Bir bitkiye düşen yaprak alanının 3628.69-6021.33cm² arasında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Bir bitkiye düşen toplam yaprak alanı üzerine Doz Ana Etkisi LSD %5 seviyesinde önemli bulunmuştur. Doz 3 uygulaması 5739.21 cm² değeri bir bitkiye düşen toplam yaprak alanı veren uygulama olmuştur. Sırasıyla Doz 2 (4553.42 cm²), Doz (4346.8 cm²) ve Doz 4 (Kontrol) ise (4004.87 cm²) değerleriyle farklı önem gruplarında yer almışlardır.

BAAE değerleri incelendiğinde en yüksek bir bitkiye düşen toplam yaprak alanı değeri veren biyo - ajan *T. harzianum* (4769.68 cm²) olduğu belirlenmiştir. *B. subtilis* uygulaması ile ise (4552.47 cm²) en düşük bir bitkiye düşen toplam yaprak alanı değerini veren biyo - ajan olduğu belirlenmiştir. Araştırmacıların genç elma fidanlarına yaptıkları uygulamaların yaprak alanı üzerine etkileri istatistik olarak önemli bulunmuş ve *B. subtilis* OSU 142, yaprak alanını artıran uygulamalar arasında yer almıştır (Karakurt ve Aslantas, 2010). Ancak araştırmamızda incelenen her iki biyo - ajan da yaprak alanını kontrole nazaran rakamsal olarak artırdığından araştırmacıların bulgularıyla paralellik belirlenmemiştir. Bunun kullanılan bitki türünden kaynaklandığı düşünülebilir.

Ana sürgün yaprak alanı (cm²)

Farklı dozlarda uygulanan biyo - ajanlar ve dozlarının Merlot üzüm çeşidi fidanlarında, ana sürgün yaprak alanı üzerine Doz Ana Etkisi istatistik açıdan önemli bulunmuştur. Doz 3 (2937.78 cm²) değeriyle birinci önem grubunda yer almıştır. Doz 4 (Kontrol) (2185.58 cm²), Doz 2 (2057.52 cm²) ve Doz 1 (1856.88 cm²) uygulamaları ise ikinci önem grubunda yer almıştır (Çizelge 1).

Bir bitkide toplam yaprak yaş ağırlığı (g)

Bir bitkide toplam yaprak yaş ağırlığı değerlerinin 64.98-109.07 g arasında değiştiği belirlenmiştir. DAE istatistik açıdan P<0.05 seviyesinde önemli bulunmuştur. Yaprak yaş ağırlığı bakımından Doz 3 (104.81 g) birinci önem

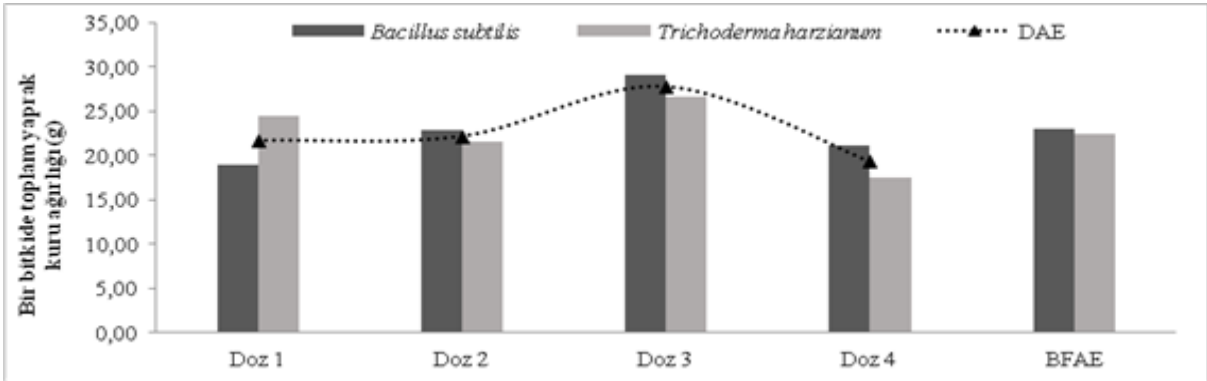
grubunda yer almıştır. Bunu Doz 2 (86.29 g) ikinci önem grubunda yer alarak izlemiştir. Doz 1 (79.94 g) ve Doz 4 (Kontrol) (74.16 g) üçüncü önem grubunda yer almışlardır (Çizelge 1).

Ana sürgün yaprak yaş ağırlığı (g)

Ana sürgün yaprak yaş ağırlığı üzerine BAAE ve BAAE x Doz interaksiyonlarının etkileri istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Ancak ana sürgün yaprak yaş ağırlığı üzerine DAE istatistik olarak P<0.05 seviyesinde önemli bulunmuştur. Doz 3; 53.64 g değeri ile diğer dozlardan daha ağır yaprak değeri vermiştir ve birinci önem grubunda yer almıştır. Bunu ikinci önem grubunda yer alan Doz 4 (Kontrol) (40.43 g), Doz 2 (39.24 g) ve Doz 1 (33.96 g) izlemiştir (Çizelge 1). Ana sürgünde yaprak yaş ağırlığı en yüksek doz Doz 3 (53.64 g), ana sürgün yaprak alanı da en yüksek olan doz Doz 3 (2937.78 cm²) olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi ana sürgün yaprak alanı fazla olan Doz 3' te yaprak yaş ağırlığı da fazladır.

Bir bitkide toplam yaprak kuru ağırlığı (g)

Toplam yaprak kuru ağırlığı bakımından Biyo - ajan Ana Etkisi (BAAE), Doz Ana Etkisi (DAE) ve BAAE x Doz interaksiyonları incelenmiş ve ortalamalar arasında istatistik olarak farklılık bulunmamıştır. *B. subtilis*' in (23.02 g) toplam yaprak kuru ağırlığı üzerine etkisi *T. harzianum*' dan (22.48 g) rakamsal olarak daha yüksek olmuştur. DAE istatistik olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 10).



Şekil 10. Biyo-ajanlar ve doz uygulamalarının bir bitkide toplam yaprak kuru ağırlığı üzerine etkileri

Ana sürgün yaprak kuru ağırlığı (g)

Ana sürgün yaprak kuru ağırlığı üzerine Biyo - ajan Ana Etkisi, Doz Ana Etkisi ve Biyo - ajan x Doz interaksiyonlarının etkileri arasındaki fark önemli bulunmamıştır (Çizelge verilmemiştir). En yüksek ana sürgün yaprak kuru ağırlığı *B. subtilis* (11.14 g) uygulamasından elde edilmiştir. *T. harzianum* ise 10.80 g ana sürgün yaprak kuru ağırlığı vermiştir.

Yaprak analizi (N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn)

Yapılan analizlerin sonucuna göre *B. subtilis* için en yüksek N oranına sahip uygulamanın Doz 1 (%2.36), en düşüğünün ise Doz 4 (%2.20) uygulaması olduğu görülmüştür. *T. harzianum* için en yüksek N oranı Doz 3 (%2.41), en düşük N oranı ise Doz 2 (%2.24)' den alınmıştır. P açısından *B. subtilis* (%0.61) ile *T. harzianum*' un (%0.60) biyo-ajan uygulamaları bakımından rakamsal farklılık oluşturmadığı saptanmıştır. K açısından *T. harzianum* (%2.18) uygulamalarının *Bacillus subtilis* (%2.14)

uygulamalarından daha yüksek bir değer aldığı, ancak çok büyük bir farklılık da oluşturmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3). Mervat ve ark. (2012) tarafından *T. harzianum*' un

asmalarda N, P, K ve formlarının çözünür hale gelmesinde de etkili olduğu belirlenmiştir. Bulgularımız benzerdir.

Çizelge 3. Biyo-ajanlar ve doz uygulamalarının yaprak analizi üzerine etkileri

Biyo-ajanlar	Dozlar	Elementler								
		N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
<i>B. subtilis</i>	Doz 1	2.36	0.54	1.96	1.00	0.22	148.00	94.50	18.75	38.50
	Doz 2	2.23	0.61	2.20	1.04	0.22	110.50	111.00	18.25	32.80
	Doz 3	2.23	0.61	2.18	1.08	0.23	166.00	125.50	18.15	38.75
	Ortalama	2.27	0.59	2.11	1.04	0.22	141.50	110.33	18.38	36.68
<i>T. harzianum</i>	Doz 1	2.30	0.61	2.22	1.15	0.26	217.50	100.00	21.75	46.50
	Doz 2	2.24	0.64	2.17	1.12	0.23	169.50	131.00	20.20	39.00
	Doz 3	2.41	0.59	2.33	1.07	0.25	159.50	83.00	22.50	41.50
	Ortalama	2.32	0.61	2.24	1.11	0.25	182.17	104.67	21.48	42.33
	Doz 4 (Kontrol)	2.29	0.61	2.16	1.10	0.24	163.51	107.19	19.63	41.26

Yapraklardaki Ca (%) oranının *B. subtilis* uygulamasıyla %1.05 seviyesinde, *T. harzianum* için ise %1.15 seviyesinde olduğu kaydedilmiştir. Mg (%) bakımından da *B. subtilis* uygulamasının %0.22 değerini, *T. harzianum* ise bir miktar yükselme ile %0.25 değerini aldığı belirlenmiştir. Fe (ppm) bakımından *T. harzianum*' un (174.38 ppm), *B. subtilis* (152.63 ppm) daha olumlu bir yükselme yarattığı görülmüştür. Cu (ppm) incelendiğinde *B. subtilis* (112.88 ppm) değerini alırken, *T. harzianum*' un (101.5 ppm) değerini aldığı belirlenmiştir. Zn ve Mn bakımından ise *T. harzianum* (20.73 ppm Zn ve 44.25 ppm) un *B. subtilis*' ten (18.52 ppm Zn ve 38.26 ppm Mn) daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür. Biyo-gübre olarak kullanılan *Bacillus* türleri bitki büyüme hormonlarının sentezi yoluyla (Amer ve Utkheda, 2000), azot fiksasyonunu artırarak (Eşitken ve ark., 2003) bitki büyümesi üzerinde doğrudan etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bulgularımız araştırmacıların bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Trichoderma sp. 'nin bilinen bir özelliği de toprakta fosfor, mangan, bakır, demir gibi maddeleri çözünür bir forma dönüştürmesidir. Öte yandan azotlu kimyasal gübrelerin kullanımını da %4 oranında azalttığı bilindiğinden (Yonsel ve Demir, 2006), bulgularımız ile aynı yönde olduğu belirlenmiştir. Sabir ve ark. (2012), çalışmalarında kullandıkları biyo - ajanların yaprakta bulunan makro elementleri (N, P, K, Ca ve Mg) kontrole oranla yükselttiğini belirtmişlerdir. Bulgularımız araştırmacıların bulgularıyla benzerdir. Öte yandan *T. harzianum* N, P, K, Ca, Mn, Mg ve Zn oranları artırmış, *B. subtilis* ise Ca, Mg, Zn ve Mn oranları azaltmıştır. Her iki biyo - ajan uygulamasının da fidanlarda kontrolden daha yüksek makro ve mikro element varlığına neden olduğu belirlenmiştir.

SONUÇ

B. subtilis biyo - ajanı genel koltuk sürgünü toplamı üzerine azaltıcı etkilerde bulunmuştur. *T. harzianum* ise genel koltuk sürgünü toplamı, ana sürgün çapı üzerine azaltıcı etkiler yapmıştır. Kontrol uygulaması ise genel koltuk sürgünü toplamı artırmıştır.

Bacillus subtilis ve *Trichoderma harzianum* uygulamalarının asma fidan gelişimi üzerine etkileri kontrolden daha olumlu bulunmuştur. Tüm biyo - ajanlar ve dozları incelendiğinde sonuç olarak; 110R anacı üzerine aşılmiş Merlot üzüm çeşidine ait 2 yaşındaki asma fidanlarında yüksek fidan özellikleri elde edilmesi için *Bacillus subtilis*' in %8'lik dozunun kullanımı önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Alhafaf Alaa Abd Ali (2006) Moqaoamat Mareth Muut Badirat Alhiyar Almutasebib Aan Alfutur Pythium Aphanidermatum Bi Al mudideyin Alhayawiyeen Floramil We Albaslin We Albaslin We Al mudibid Alkimyawi Bltanul We Doraha Fi Tahsiin Sifat Alnemo We Alintaj. İtrohat Doktora. Kisim İlum Al-Hayat. Kulliyet Terbiyet Albenat. Jamit Alkufa.
- Amer GA, Utkheda RS (2000) Development of Formulation of Biological Agents for Management of Root Rot of Lettuce and Cucumber. Canadian Journal of Microbiology. 46: 809-816.
- Arikan Ş, İpek M, Pırlak L (2013) Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Yield and Fruit Quality of Quince. 2013 International Conference on Agriculture and Biotechnology IPCBEE 60. IACSIT Press, Singapore.
- Aslantaş R, Çakmakci R, Şahin F (2007) Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Young Apples Trees Growth and Fruit Yield Under Orchard Conditions. Scientia Horticulture. 4: 371-377.

- Çakmakçı R, Donmez F, Aydın A, Sahin F (2006) Growth Promotion of Plants by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Under Greenhouse and Two Different Field Soil Conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. 38(6): 1482-1487.
- De Freitas JR, Banerjee MR, Germida JJ (1997) Phosphate Solubilizing Rhizobacteria Enhance the Growth and Yield but not Phosphorus Uptake of Canola (*Brassica napus* L.). *Biology and Fertility of Soils*. 24: 358-364.
- Eşitken A, H Karlıdağ, S Ercisli, M Turan, F Sahin (2003) The Effect of Spraying a Growth Promoting Bacterium on the Yield, Growth and Nutrient Element Composition of Leaves of Apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. Hacıhaliloglu). *Australian Journal of Agricultural Research*. 54: 377-380.
- Ghabrial SA, Suzuki N (2009) Viruses of plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*. 47(1): 353-384.
- Karakurt H, Aslantas R (2010) Effects of Some Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Strains on Plant Growth and Leaf Nutrient Content of Apple. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 18(1): 101-110.
- Kloepper JW, Leong J, Teintze M, Schroth MN (1980) Enhanced Plant Growth by Siderophore Produced by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Nature*. 286: 885-886.
- Larkin RP (2004). Development of Integrated Biological and Cultural Approaches for Control of Powdery Scab and Other Soil Borne Disease. USDA, ARS, New England Plant, Soil, and Water Lab Univ. of Maine, Orono. ME O 44469.
- Moses RT (2006) Biological and Chemical Control of Fungi Seedling Diseases of Cowpea. M.Sc. Thesis. Department of Microbiology and Plant Pathology. Fac. of Natural and Agricultural Sciences. University of Pretoria. 67pp.
- Muhammad S, Amusa A (2003) In-vitro Inhibition of Growth of Some Seedling Blight Inducing Pathogens by Compost-Inhabiting African Journal of Biotechnology 2(6): 161-164.
- Mervat AA, Shawky SM, Shaker GS (2012) Comparative Efficacy of Some Bioagents, Plant Oil and Plant Aqueous Extracts in Controlling *Meloidogyne incognita* on Growth and Yield of Grapevines. *Annals of Agricultural Science*. 57 (1) 7-18.
- Rosado AS, Seldin L (1993) Production of a Potentially Novel Antimicrobial Substance by *Bacillus polymyxa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 9(5): 521-528.
- Sabir A, Yazici MA, Kara Z, Sahin F (2012) Growth and Mineral Acquisition Response of Grapevine Rootstocks (*Vitis* spp.) to Inoculation with Different Strains of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(10): 2148-2153.
- Szczzech M, Shoda M (2004) Bio-control of *Rhizoctonia Damping - off* of Tomato by *Bacillus subtilis* Combined with *Burkholderia Cepacia*. *Phytopathology*. 152: 549-556.
- Tekirdağ Meteoroloji Müdürlüğü (2015) Tekirdağ 2014 yılı bazı iklim verileri. Tekirdağ.
- Yonsel Ş, Demir M (2006) Kiraz ve Elma Fidanları ve Domates Fidelerinde *Trichoderma harzianum* KUEN 1585 Uygulamaları. Çanakkale Tarım Sempozyumu. Dünü - Bugünü - Geleceği. 10234-11 Ocak 2006 Bildiriler 297-301.