Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 14(9):2538-2548, 2026
DOI: https://doi.org/10.24925/turjaf.v14i9.2538-2548.9049

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology

Available online, ISSN: 2148-127X | www.agrifoodscience.com | Turkish Science and Technology Publishing (TURSTEP)

In Vitro Efficacy of Fungicide Combinations and Trichoderma harzianum Against Sordaria macrospora (Auersw. 1866) Associated with Olive Leaf Tip Blight

Berfin Kılınç[1,a,*], Mehmet Ertuğrul Güldür[2,b], Murat Dikilitaş[2,c]

[1]*Kırıkkale Üniversitesi Delice Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Delice/Kırıkkale, 71700, Türkiye*
[2]*Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Şanlıurfa 63300, Türkiye*
[*]*Corresponding author*

ARTICLE INFO

Research Article

Received : 06.05.2026
Accepted : 06.08.2026

Keywords:
Sordaria macrospora
Olive (*Olea europaea* L.)
Trichoderma harzianum
Antifungal activity
Fungicidal activity

ABSTRACT

Sordaria macrospora (Auersw. 1866) has long been used as a model microorganism for studying sexual development mechanisms. Although research on its pathogenic role in plants is limited, its recent association with leaf tip blight and shoot dieback symptoms in olive (*Olea europaea* L.) trees suggests that this fungus should be carefully considered from a plant health perspective. In this study, the *in vitro* efficacy of various fungicide combinations with different modes of action and the biological control agent *Trichoderma harzianum* was evaluated against the *S. macrospora* K1 isolate obtained from olive trees. Experiments were conducted using dual culture assays on potato dextrose agar (PDA), and fungicides were applied at their recommended label rates. Inhibition rates were calculated based on measurements of mycelial growth. Among the tested treatments, Azoxystrobin + Cyproconazole, Prochloraz + Trifloxystrobin + Cyproconazole, and Boscalid + Pyraclostrobin achieved 100% inhibition of mycelial growth. Azoxystrobin + Difenoconazole and Pyraclostrobin + Fluxapyroxad inhibited mycelial growth by 95.88% and 54.24%, respectively. In dual culture assays, *Trichoderma harzianum* inhibited mycelial growth by 62.12%. In contrast, Phosphorous Acid + Ametoctradin and Metrafenone showed no inhibitory effect (0.00%) on the mycelial growth of *S. macrospora*. Overall, Azoxystrobin + Cyproconazole, Prochloraz + Trifloxystrobin + Cyproconazole, Boscalid + Pyraclostrobin, and Azoxystrobin + Difenoconazole provided high levels of mycelial growth inhibition, ranging from 95.88% to 100%, while *T. harzianum* demonstrated a supportive biological control potential with an inhibition rate of 62.12%. These findings may contribute to future disease management studies targeting *S. macrospora* isolates associated with olive leaf tip blight. This study contributes to the existing literature by jointly evaluating the *in vitro* antifungal efficacy of different fungicide combinations and *T. harzianum* against *S. macrospora*.

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 14(9):2538-2548, 2026

Zeytin yaprak ucu yanıklığı ile ilişkili *Sordaria macrospora* (Auersw. 1866)'ya karşı fungisit kombinasyonları ve *Trichoderma harzianum*'un *in vitro* etkinliği

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş : 06.05.2026
Kabul : 06.08.2026

Anahtar Kelimeler:
Sordaria macrospora
Zeytin (*Olea europea* L.)
Trichoderma harzianum
Antifungal etki
Fungisidal aktivite

ÖZ

Sordaria macrospora (Auersw. 1866), uzun yıllar boyunca eşeyli gelişim mekanizmalarının araştırılmasında model mikroorganizma olarak kullanılmıştır. Etmenin bitkilerdeki patojenik rolüne ilişkin çalışmalar sınırlı olmakla beraber, son dönemde zeytin (*Olea europaea* L.) ağaçlarında yaprak ucu yanıklığı ve sürgün ucu kuruması belirtileriyle ilişkilendirilmesi, bu etmenin bitki sağlığı açısından dikkatle değerlendirilmesi gereken bir fungal tür olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, zeytin ağaçlarından izole edilen *Sordaria macrospora* K1 izolatına karşı farklı etki mekanizmalarına sahip fungisit kombinasyonları ile biyolojik mücadele etmeni *Trichoderma harzianum*'un *in vitro* koşullardaki etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Denemeler, PDA ortamında yürütülen ikili kültür testleri ile gerçekleştirilmiş; fungisitler ruhsatlı tavsiye dozlarına uyarlanarak uygulanmış ve misel gelişim ölçümleri üzerinden engelleme oranları hesaplanmıştır. Test edilen uygulamalar arasında Azoxystrobin + Cyproconazole, Prochloraz + Trifloxystrobin + Cyproconazole ve Boscalid + Pyraclostrobin uygulamalarında miselyal gelişimin engellenme oranı %100 olarak belirlenmiştir. Azoxystrobin + Difenoconazole uygulaması miselyal gelişimi %95.88 oranında, Pyraclostrobin + Fluxapyroxad uygulaması ise %54.24 oranında engellemiştir. *Trichoderma harzianum* ile gerçekleştirilen ikili kültür denemelerinde ise miselyal gelişim %62.12 oranında engellenmiştir. Phosphorous Acid + Ametoctradin ve Metrafenone uygulamalarının ise *S. macrospora*'nın miselyal gelişimi üzerinde herhangi bir engelleyici etkisi (%0.00) belirlenmemiştir. Sonuç olarak, Azoxystrobin + Cyproconazole, Prochloraz + Trifloxystrobin + Cyproconazole, Boscalid + Pyraclostrobin ve Azoxystrobin + Difenoconazole uygulamalarının %95.88 ile %100 arasında değişen oranlarla patojene karşı yüksek düzeyde miselyal gelişim engellemesi sağladığı; *Trichoderma harzianum*'un ise %62.12 engelleme oranıyla destekleyici bir kontrol potansiyeline sahip olduğu ortaya konmuştur. Bu bulgular, zeytin yaprak ucu yanıklığı ile ilişkili *S. macrospora* izolatlarına yönelik gelecekte yürütülecek mücadele çalışmalarına katkı sağlayabilecek niteliktedir. Bu çalışma, *S. macrospora*'ya karşı farklı fungisit kombinasyonları ile *T. harzianum*'un *in vitro* antifungal etkinliğini birlikte değerlendirmesi bakımından literatüre katkı sağlamaktadır.

[a] *berfinkilinc@kku.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0002-7086-0255*
[b] *mguldur@harran.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0002-3374-5602*
[c] *m.dikilitas@gmail.com* *https://orcid.org/0000-0002-7399-4750*

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

Giriş

Sordaria macrospora (Auersw. 1866), eşeyli gelişim süreçlerinin genetik ve moleküler mekanizmalarının aydınlatılmasında uzun yıllardır kullanılan model bir mikroorganizma olup (Engh ve ark., 2010), askus içerisindeki düzenli askospor dizilimi sayesinde genetik rekombinasyon olaylarının incelenmesine olanak sağlamaktadır (Pöggeler ve ark., 2018).

S. macrospora geleneksel olarak saprofitik ve koprofil bir tür olarak tanımlanmış, organik maddenin ayrıştırılmasında rol oynadığı bildirilmiştir (Guarro & Von Arx, 1987). Bununla birlikte, son yıllarda bu türün yalnızca saprofitik bir yaşam biçimiyle sınırlı olmadığı; bazı bitki türlerinde endofitik olarak bulunabildiği ve ikincil metabolit üretimi gerçekleştirdiği gösterilmiştir (Li ve ark., 2016; Charria-Girón ve ark., 2022). Endofitik fungusların çevresel stresler, konukçu zayıflığı veya fizyolojik değişimler sonucunda patojenik özellik kazanabildiği bilinmektedir (Petrini, 1991; Nugent ve ark., 2005).

Sordaria türlerinin bitkilerde patojenik rol oynayabildiğine ilişkin bulgular son yıllarda artış göstermiştir. *S. macrospora*, *Pinus nigra* iğne yapraklarında nekroz ve kuruma belirtilerine neden olan yeni bir patojen olarak tanımlanmış (Ivanová ve ark., 2016); Çin'de yer fıstığında yaka çürüklüğü ve kahverengi lezyonlara yol açtığı bildirilmiştir (Song ve ark., 2024). Benzer şekilde *S. fimicola*'nın zeytin ağaçlarında dal kuruması ve kabuk çatlaması oluşturduğu ve patojenisitesinin doğrulandığı rapor edilmiştir (Petrović ve ark., 2024). Bu bulgular, *Sordaria* türlerinin özellikle Akdeniz iklimi gibi abiyotik stres faktörlerinin baskın olduğu ekosistemlerde uygun çevresel ve konukçu koşulları altında patojenik davranış gösterebileceğini düşündürmektedir (Van Dyk ve ark., 2021). Nitekim Türkiye'de Kılınç ve ark. (2025b) tarafından yürütülen bir çalışmada, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen zeytin (*Olea europaea* L.) ağaçlarında yaprak ucu yanıklığı, sürgün ucu kurumaları ve geriye doğru ilerleyen dal ölümleri gibi belirtiler ile ilişkili *S. macrospora* türü, zeytin ağaçlarında patojen olarak tanımlanmıştır. Bu tanımlama, türün sadece bir model organizma değil, aynı zamanda ekonomik öneme sahip zeytin üretimi için potansiyel bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın, *S. macrospora*'nın neden olduğu hastalıkların kontrolüne yönelik kimyasal ve biyolojik mücadele seçeneklerine ilişkin bilgiler oldukça sınırlıdır.

Bitki hastalıklarıyla mücadelede farklı etki mekanizmalarına sahip fungisit kombinasyonlarının kullanımı hem geniş spektrumlu etki sağlamaları hem de patojenlerde direnç gelişimini yavaşlatmaları açısından önemli avantajlar sunmaktadır. Strobilurin (QoI), süksinat dehidrogenaz inhibitörleri (SDHI) ve demetilasyon inhibitörleri (DMI) gruplarını içeren fungisit kombinasyonları; mitokondriyal solunum ve ergosterol biyosentezi gibi fungal gelişim için kritik öneme sahip metabolik yolları hedef alarak etki göstermektedir (Bartlett ve ark., 2002; Avenot & Michailides, 2010; Becher & Wirsel, 2012). Bu fungisit gruplarının farklı biyokimyasal yolları hedef alan kombinasyonları, patojenin metabolik plastisitesini sınırlandırarak direnç gelişimini baskılamada stratejik bir öneme sahiptir (FRAC, 2023).

Bu nedenle, söz konusu fungisit kombinasyonlarının *S. macrospora*'ya karşı etkinliklerinin araştırılması önem taşımaktadır.

Biyolojik mücadele ajanları da entegre hastalık yönetimi kapsamında çevre dostu ve sürdürülebilir alternatifler sunmaktadır. *Trichoderma harzianum*, hücre duvarı parçalayıcı enzimler, antibiyotikler ve ikincil metabolitler üretmesi; aynı zamanda bitkilerde sistemik direnç mekanizmalarını uyarması sayesinde birçok toprak ve hava kaynaklı patojene karşı etkili bir antagonistik fungus olarak öne çıkmaktadır (Harman ve ark., 2004; Benítez ve ark., 2004). Fungusun bu özellikleri, kimyasal fungisitlerle birlikte veya alternatif olarak değerlendirilmesini mümkün kılmaktadır.

Bu çalışmada, zeytin (*Olea europaea* L.) ağaçlarından izole edilen *Sordaria macrospora* etmenine karşı farklı etki mekanizmalarına sahip fungisit kombinasyonları ile *Trichoderma harzianum*'un *in vitro* koşullarda miselyal gelişim üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ulaşılabilen literatür doğrultusunda, *S. macrospora*'ya karşı fungisit uygulamaları ile biyolojik mücadele yaklaşımlarını birlikte değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın ilgili literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca elde edilen bulguların, *S. macrospora*'nın yönetimine yönelik gelecekte yürütülecek sera ve tarla çalışmaları için temel veri oluşturması ve entegre hastalık yönetimi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlaması beklenmektedir.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Hastalıklı bitki materyali, Sordaria macrospora izolatı ve Trichoderma harzianum biyokontrol ajanı

Bu çalışmada, Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde (Şanlıurfa) yer alan zeytin (*Olea europaea* L.) bahçelerinde yaprak ucu yanıklığı ve sürgün ucu kuruması belirtileri gösteren ağaçlardan izole edilen *S. macrospora* K1 (GenBank erişim numaraları ITS bölgesi için: OR519880; LSU bölgesi için: OR964488; β-tubulin bölgesi için: OR636120 ve Tef-1α bölgesi için: OR977579) izolatı kullanılmıştır. Etmen, daha önce bildirilen morfolojik ve moleküler yöntemler esas alınarak tanımlanmış olup, saf kültürleri *in vitro* biyoetkinlik denemelerinde değerlendirilmiştir (Kılınç ve ark., 2025b; Kılınç, 2025).

Çalışmada, biyolojik mücadele ajanı olarak ticari bir formülasyon olan *Trichoderma harzianum* (T-22 Planter Box) kullanılmıştır. Söz konusu ticari üründen *T. harzianum* T-22 izolatı, tek spor izolasyonu yöntemiyle izole edilerek saf kültür haline getirilmiş ve tüm çalışmalarda bu saf izolat kullanılmıştır.

Yöntem

Fungal Etmenlerin Temini, İzolasyonu ve Saflaştırılması

Çalışmada kullanılan *S. macrospora* izolatları, daha önce Şanlıurfa ilinin Haliliye, Bozova ve Eyyübiye ilçelerindeki zeytin (*Olea europaea* L.) bahçelerinden toplanan enfekteli sürgün ve yaprak dokularından izole edilmiş; tanımlanmış ve patojenisitesi doğrulanmış saf stok

kültürlerden temin edilmiştir (Kılınç ve ark., 2025). *Trichoderma harzianum* (T-22) izolatı ise ticari bir biyolojik mücadele formülasyonu olan T22 PLANTER BOX'tan elde edilmiştir.

Ticari formülasyondan saf izolat elde etmek amacıyla seri seyreltme yöntemi uygulanmıştır. Ticari üründen 1 g alınarak 9 mL steril distile su içerisinde süspansiyon haline getirilmiş ve 10^{-1} ile 10^{-6} aralığında seri seyreltmeler yapılmıştır. Elde edilen süspansiyonlardan 0,1 mL alınarak %1,5 agar içeren Patates Dekstroz Agar (PDA) besiyerine ekim yapılmıştır.

Hem *S. macrospora* izolatlarının stok saflığını korumak hem de *T. harzianum* izolatını standardize etmek amacıyla "tek spor izolasyonu" tekniği uygulanmıştır. Bu yöntem için, sporulasyon gösteren kültürlerden elde edilen spor süspansiyonları, steril distile su içerisinde 10^{-3}–10^{-4} spor mL^{-1} yoğunluğuna seyreltilmiştir. Hazırlanan süspansiyondan 100 µL alınarak %1,5'lik su agar (Water Agar) içeren Petri kaplarına yayma ekim yapılmıştır. 24 saatlik inkübasyonun ardından, stereomikroskop altında çimlenen tek bir spor, steril iğne ucu ile işaretlenerek seçilmiş ve taze PDA ortamına aktarılmıştır. Saf kültürlerin elde edildiği, kolonilerin makroskobik ve mikroskobik özellikleri ile doğrulanmıştır (Kılınç ve ark., 2022; Kılınç, 2025). Tüm çalışmalar aseptik koşullarda yürütülmüş; izolatlar +4 °C'de saf stok kültürler olarak muhafaza edilmiştir (Kılınç ve ark., 2024; Kılınç, 2025c).

Saf kültürlerin uzun süreli muhafazasında Whatman filtre kâğıdı ve %15 gliserol yöntemleri kullanılmıştır. İzolatlar ilgili yöntemlere göre hazırlanarak −20 °C'de saklanmıştır (Güldür ve ark., 2024a; Kılınç ve ark., 2022).

Kullanılan fungisitler, biyokontrol ajanı ve uygulama dozları

Çalışmada, farklı etki mekanizmalarına sahip 7 ticari fungisit değerlendirilmiştir. Bu bağlamda değerlendirilen fungisitler; pyraclostrobin + fluxapyroxad (P*), azoxystrobin + cyproconazole (AX*), phosphorous acid (mono ve di-potasyum tuzları) + ametoctradin (Pv*), prochloraz + trifloxystrobin + cyproconazole (Bk*), azoxystrobin + difenoconazole (Aq*), metrafenone (V*) ve boscalid + pyraclostrobin (Bl*) kombinasyonlarından oluşmaktadır. Her bir fungiside ait aktif madde içeriği, formülasyon tipi, tavsiye dozu ve Petri kaplarında kullanılan uygulama dozları Çizelge 1'de verilmiştir. Metin içerisinde tanımlanması kolay olması amacıyla fungisitler için sırasıyla P*, AX*, Pv*, Bk*, Aq*, V* ve Bl* kısaltmaları kullanılmıştır. Fungisit dozları, üretici firma önerileri esas alınarak belirlenmiş ve *in vitro* koşullara uyarlanmıştır (Güldür ve ark., 2024b; Kılınç ve ark., 2024; Kılınç ve ark., 2025a).

Fungisit solüsyonlarının hazırlanması

Ticari fungisitlerin *in vitro* koşullara uyarlanmasında, üretici firma tarafından bir dekar (1000 m^2) alan için önerilen aktif madde miktarları temel alınmıştır (Sanjeev, 2016). Uygulama dozlarının belirlenmesinde, besiyerinin toplam hacminden ziyade, patojenin gelişimini doğrudan etkileyen misel diskinin hacmi esas alınmıştır. Bu amaçla, 8 mm çaplı (r=4 mm) ve besiyeri derinliği ile uyumlu yükseklikteki (h) misel diski, silindirik formda ($V_{misel} = \pi r^2 h$) modellenmiştir. Petri kabındaki 20 ml'lik toplam besiyeri hacmi (V_{toplam}) ile misel diskinin hacmi (V_{misel}) arasındaki oransal ilişki hesaplanmış; tarladaki bir dekara düşen aktif madde miktarı, laboratuvar ölçeğinde misel diski hacmine uyarlanarak her bir disk için hedeflenen spesifik dozaj miktarı belirlenmiştir. Hazırlanan bu hassas dozajdaki fungisit solüsyonları, steril parafilm yüzeyleri üzerine misel diski hacmi kadar (mikro-damlacıklar halinde) damlatılmıştır (porsiyonlanmıştır). Elde edilen misel diskleri, aktif maddenin misel dokusuna homojen ve tam penetrasyonunu sağlamak amacıyla bu solüsyon damlacıkları içerisinde 45 saniye boyunca daldırılmış ve ardından besiyeri yüzeylerine transfer edilmiştir. Bu protokol ile fungisitlerin doğrudan misel gelişimi üzerindeki inhibitör etkisi, hacimsel oranlama ile standardize edilerek uygulama varyasyonları minimize edilmiştir (Kılınç ve ark., 2024). Doz hesaplamasına ilişkin hesaplama yöntemi, üretici firma tarafından 100 L (1 da) su için 100 mL preparat uygulanması tavsiye edilen 200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole (Aq*) fungisiti esas alınarak açıklanmıştır. Öncelikle, 8 mm çapındaki (r = 4 mm) misel diskinin hacmi silindir hacmi formülü ($V = \pi r^2 h$) kullanılarak hesaplanmıştır. Besiyeri yüksekliği 2.5 mm ve π = 3.14 kabul edildiğinde misel diskinin hacmi 125.6 mm^3 (≈125 µL) olarak bulunmuştur.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan fungisitlerin aktif madde içerikleri, formülasyon tipleri ve uygulama dozları
Table 1. Active ingredients, formulation types, and application rates of the fungicides used in the study

Aktif Madde / Mikroorganizma	Formülasyon	Tavsiye Dozu	Uygulama Dozu
150 g L^{-1} Pyraclostrobin+ 75 g L^{-1} Fluxapyroxad	EC	75 mL/da	0,1 µL
200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole	SC	100 mL/da	0,13 µL
300 g L^{-1} Phosphorous Acid (mono ve di-potasyum tuzları) + 75 g L^{-1} Ametoctradin	SC	400 mL/da	0,5 µL
250 g L^{-1} Prochloraz+75 g L^{-1} Trifloxystrobin+50 g/l Cyproconazole	SE	100 mL/da	0,13 µL
200 g L^{-1}Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole	SC	100 mL/da	0,13 µL
500 g L^{-1} Metrafenone	SC	20 mL/da	0,03 µL
%25,2 Boscalid + %12,8 Pyraclostrobin	WG	50 mg/da	0,06 µg
Trichoderma harzianum	Misel+spor	-	Bir adet fungal disk (8 mm)
S, macrospora	Misel+spor		Bir adet fungal disk (8 mm)

Daha sonra önerilen tarla dozu laboratuvar ölçeğine hacimsel oranlama yöntemiyle uyarlanmıştır. Üretici önerisine göre 100 mL preparat, 100 L (100 000 mL) su içerisinde kullanılmaktadır. Buna göre preparatın son konsantrasyonu 0.001 mL preparat/mL su (1 µL/mL) olarak hesaplanmıştır. Laboratuvar ölçeğinde hacmi yaklaşık 125 µL olarak hesaplanan bir misel diski esas alındığında uygulanacak preparat miktarı Formül 1'de gösterildiği şekilde hesaplanmıştır.

$$100000\frac{mL}{100}mL = 125\frac{\mu L}{\times}$$

$$\times = \frac{100\times125}{100000} = 0.125\mu L \approx 0.13\mu L \qquad (1)$$

×: Hedef uygulama dozu

Diğer fungisitlere ait uygulama dozları da aynı hacimsel oranlama yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

In vitro fungisit ve biyokontrol denemeler

Çalışmada kullanılan *S. macrospora* izolatından, PDA ortamında gelişen kolonilerin kenar bölgelerinden 8 mm çapında bir cork-borer yardımıyla taze misel diskleri alınmıştır. Alınan diskler, ilgili fungisit solüsyonlarına 45 saniye süreyle daldırıldıktan sonra steril PDA içeren yeni Petri kaplarının merkezine yerleştirilmiştir. Kontrol grubu diskleri ise aynı prosedürle steril distile suya daldırılarak PDA ortamına aktarılmıştır. Daldırma süresi, önceki çalışmalarda kullanılan standart protokol esas alınarak uygulanmıştır (Kılınç ve ark., 2024).

Biyolojik mücadele uygulamalarında kullanılan *T. harzianum* ve *S. macrospora*'ya ait taze misel diskleri, PDA ortamında 25 ± 1 °C'de 5 gün süreyle geliştirilen saf kültürlerden elde edilmiştir. Misel disklerinin kesimi, steril bir cork-borer yardımıyla, aktif gelişme gösteren kolonilerin kenar bölgelerinden 8 mm çapında parçalar alınarak standardize edilmiştir.

İkili kültür denemelerinde, *S. macrospora* ve *T. harzianum* misel diskleri aynı Petri kabı içerisinde, Petri kenarı ile inokulumlar arasında yaklaşık 1 cm mesafe kalacak şekilde karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Denemeler, tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 tekerrürlü olarak düzenlenmiştir. Tüm Petri kapları 25 ± 1 °C'de karanlık koşullarda inkübasyona bırakılmış; kontrol grubundaki koloniler Petri kaplarını tamamen kaplayıncaya kadar gözlemler sürdürülmüştür. Misel gelişimi, milimetrik cetvel kullanılarak günlük olarak yatay ve dikey eksenlerde ölçülmüş; her iki yöndeki ölçümlerin ortalaması alınarak koloni çapları mm cinsinden belirlenmiştir (Kılınç ve ark., 2022; Güldür ve ark., 2024)

Engelleme (etki) oranlarının belirlenmesi

Deneme sonunda fungisit ve biyolojik mücadele uygulamalarının *S. macrospora* üzerindeki inhibisyon düzeyi, miselyal gelişim verileri esas alınarak değerlendirilmiştir (Formül 2). Uygulamaların yüzde inhibisyon değerleri, Abbott (1925) tarafından tanımlanan aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Abbott, 1925; Kılınç ve ark., 2022; Güldür ve ark., 2024b).

Elde edilen inhibisyon oranları, uygulamaların *S. macrospora*'nın miselyal gelişimi üzerindeki *in vitro* etkinliklerinin değerlendirilmesinde esas alınmıştır.

$$Yüzde\ Etki = \frac{A-B}{A\times100} \qquad (2)$$

A: Kontrolde miselyal gelişim çapı

B: Uygulamada miselyal gelişim çapı

İstatistiksel analizler

Toplanan veriler, her uygulama için bağımsız tekerrürler esas alınarak analiz edilmiştir. Uygulamaların *S. macrospora*'nın misel gelişimi ve misel engelleme oranı üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla Tek Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) kullanılmıştır (Steel ve ark., 1997). Varyans analizi öncesinde verilerin normalliği Shapiro–Wilk testi (Shapiro & Wilk, 1965), varyans homojenliği ise Levene testi ile değerlendirilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterdiği ve varyansların homojen olduğu belirlenmiştir (p>0.05). ANOVA sonucunda anlamlı farklılık belirlenen durumlarda ortalamalar %95 güven düzeyinde Tukey HSD testi ile karşılaştırılmıştır. Koloni gelişimi aynı Petri kaplarında günlük olarak izlenmiştir. Çalışmanın amacı koloni gelişiminin zamansal değişimini modellemekten ziyade, her gözlem gününde fungisit uygulamalarının patojen gelişimi üzerindeki etkisini karşılaştırmak olduğundan, her gözlem günü ayrı bir değerlendirme zamanı olarak ele alınmış ve ilgili güne ait veriler için Tek Yönlü Varyans Analizi uygulanmıştır.

Bulgular

Şanlıurfa'daki zeytin bahçelerinden izole edilen *S. macrospora* K1 izolatı ile yürütülen *in vitro* biyoetkinlik denemelerinde, yedi farklı fungisit ile biyolojik kontrol ajanı *T. harzianum*'un inhibisyon etkileri değerlendirilmiştir. Denemeler, fungisitlerin arazi dozlarına uyarlanması esas alınarak kurulmuş; misel gelişimi Petri kaplarında ölçülen koloni çapları doğrultusunda izlenmiş ve elde edilen veriler Abbott (1925) formülüne göre hesaplanmıştır (Güldür ve ark., 2024; Kılınç ve ark., 2025a).

Kontrol grubunda *S. macrospora* izolatının Petri kaplarını tamamen kaplaması nedeniyle deneme 3. gün sonunda tamamlanabilir duruma gelmiş olmasına rağmen, fungisit ve biyokontrol uygulamalarında Petri kaplarını henüz kaplamayan grupların gelişimlerinin izlenebilmesi amacıyla deneme sonlandırılmamış; 5. ve 7. gün ölçümleri de varyans analizine dâhil edilmiştir (Çizelge 2).

Yapılan analizlere göre misel gelişme oranı (%) ve engelleme oranı (%) bakımından uygulamalar arasında 3., 5. ve 7. günlerde yüksek düzeyde anlamlı farklılıklar saptanmıştır (p < 0.0001). Özellikle 3. günde elde edilen yüksek F değerleri, fungisit ve biyokontrol uygulamalarının patojen gelişimi üzerindeki etkilerinin bu dönemde en belirgin düzeye ulaştığını göstermektedir.

Misel gelişimi

Miselyal çap gelişimi esas alınarak yürütülen denemede, denemenin başlatıldığı gün 0. gün olarak kabul edilmiş ve *S. macrospora*'nın 7 günlük misel gelişim süreci izlenmiştir. Uygulama gruplarının farklı günlerdeki misel gelişim seyri Şekil 1'de sunulmuştur.

Şekil 1 incelendiğinde, kontrol grubu (*S. macrospora*) ile *T. harzianum* grubunun misel gelişimini kısa sürede tamamladığı ve Petri kaplarını tamamen kapladığı (8.5 cm) görülmektedir. Benzer şekilde, V* (500 g L^{-1} Metrafenone) ve Pv* (300 g L^{-1} Phosphorous Acid + 75 g L^{-1} Ametoctradin) fungisit uygulamalarında da misel gelişimi kontrol grubuna paralel bir seyir izlemiş ve bu uygulamalarda belirgin bir baskılama etkisi gözlenmemiştir.

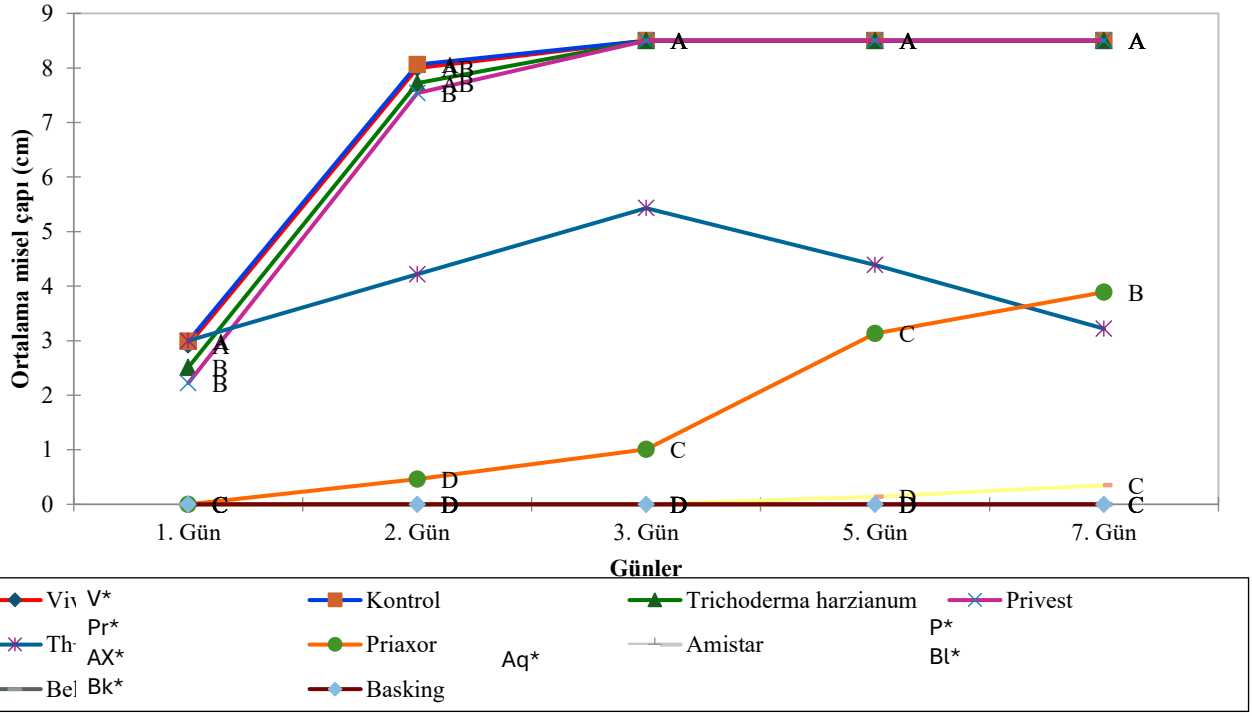
Buna karşılık, AX* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole), Bk* (250 g L^{-1} Prochloraz+75 g L^{-1} Trifloxystrobin+50 g L^{-1} Cyproconazole) ve Bl* (%25.2 Boscalid + %12.8 Pyraclostrobin) fungisit uygulamalarında misel gelişimi tüm gözlem günlerinde tamamen baskılanmış ve misel gelişimi görülmemiştir. Aq* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole) uygulamasında ise erken dönemlerde misel gelişimi gözlenmemiş, ancak denemenin sonlandırıldığı 7. günde çok sınırlı düzeyde (0.35 cm) bir misel gelişimi tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Fungisit ve biyolojik kontrol uygulamalarının farklı günlerdeki misel gelişimine ait varyans analizi (ANOVA) sonuçları

Table 2. Analysis of variance (ANOVA) results for mycelial growth on different days under fungicide and biological control treatments

Gün	Serbestlik Derecesi (DF)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri	p Değeri
misel gelişme çapı (cm)					
1. gün	9	95,45	10,61	299,80	< 0,0001
2. gün	9	669,17	74,35	1414,88	< 0,0001
3. gün	9	779,83	86,65	582,02	< 0,0001
5. gün	9	722,67	80,30	234,32	< 0,0001
7. gün	9	713,65	79,29	227,45	< 0,0001
% gelişme oranı					
3. gün	9	107934,70	11992,74	582,02	< 0,0001
5. gün	9	100022,87	11113,65	234,32	< 0,0001
7. gün	9	98774,98	10975,00	227,45	< 0,0001
% engelleme oranı					
3. gün	9	107934,70	11992,74	582,02	< 0,0001
5. gün	9	100022,87	11113,65	234,32	< 0,0001
7. gün	9	98774,98	10975,00	227,45	< 0,0001

Not: P değeri sütunundaki kalın yazılar ilgili uygulamaların istatistiksel olarak önemli olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 1. Uygulama gruplarının farklı günlerde (1-7) misel gelişme çaplarına etkileri

HSD testine göre %95 güven düzeyinde ortalamalar harflerle gruplandırılmıştır. (Not: Aynı gün içinde aynı harfi taşıyan uygulamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Figure 1. Effects of treatment groups on mycelial growth diameters across different days (1–7)

Means followed by the same letter within the same day are not statistically different according to the HSD test at a 95% confidence level ($p > 0.05$).

P* (150 g L^{-1} Pyraclostrobin+ 75 g L^{-1} Fluxapyroxad) fungisit uygulamasında misel gelişiminin erken dönemlerde belirgin şekilde baskılandığı, ilerleyen günlerde ise kademeli bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, deneme süresi sonunda misel gelişiminin kontrol grubuna kıyasla daha düşük düzeyde kaldığı ve Petri kabının tamamen kolonize edilmediği gözlenmiştir (3.89 cm).

T. harzianum + *S. macrospora* (Tr + Sm) ikili kültür uygulamasında, *T. harzianum*'un *S. macrospora* misel gelişimini zamanla baskıladığı belirlenmiştir. Aynı Petri kabında birlikte inokule edilen her iki fungusun başlangıçta eş zamanlı gelişim gösterdiği, ancak kolonilerin karşılaşmasının ardından *T. harzianum*'un karşı koloni üzerine ilerleyerek yayılımını sürdürdüğü gözlenmiştir. Bu etkileşim sonucunda *S. macrospora*'nın kapladığı alanın giderek daraldığı ve misel çapının 3., 5. ve 7. günlerde sırasıyla 5.43, 4.39 ve 3.22 cm'ye gerilediği tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgular, *T. harzianum*'un karşı koloni üzerine yönelimli büyümesi ile *S. macrospora* üzerinde belirgin bir baskılama oluşturduğunu ve güçlü antagonistik etki sergilediğini ortaya koymaktadır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, AX* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole), Bk* (250 g L^{-1} Prochloraz+75 g L^{-1} Trifloxystrobin+50 g L^{-1} Cyproconazole), Bl* (%25.2 Boscalid + %12.8 Pyraclostrobin) ve kısmen Aq* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole) uygulamalarının *S. macrospora*'nın misel gelişimini güçlü şekilde baskıladığı; P* (150 g L^{-1} Pyraclostrobin+ 75 g L^{-1} Fluxapyroxad) uygulamasının orta düzeyde bir baskılama sağladığı; V* (500 g L^{-1} Metrafenone), Pv* (300 g L^{-1} Phosphorous Acid + 75 g L^{-1} Ametoctradin) ve *T. harzianum* uygulamalarının misel gelişiminde ise kontrol grubuna benzer bir profil sergilendiği belirlenmiştir.

Misel engelleme oranı

Deneme süresinin yedinci gününde fungisit ve biyokontrol uygulamalarının *S. macrospora*'nın misel gelişimi üzerindeki etkileri Çizelge 3'te sunulmuştur. Uygulamalar arasında miselyal gelişim çapı ve buna bağlı engelleme oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (Tukey HSD, $p < 0.05$).

Kontrol, Pv* (300 g L^{-1} Phosphorous Acid + 75 g L^{-1} Ametoctradin), V* (500 g L^{-1} Metrafenone) ve *T. harzianum* (Th) uygulamalarında miselyal gelişim çapı 8.5 cm olarak ölçülmüş ve bu gruplarda herhangi bir engelleme etkisi gözlenmemiştir. Söz konusu uygulamalar %0 engelleme oranı ile aynı istatistiksel grupta ('c') yer almıştır.

P* (150 g L^{-1} Pyraclostrobin+ 75 g L^{-1} Fluxapyroxad) uygulamasında misel gelişim çapı 3.89 cm olarak belirlenmiş ve bu uygulama %54.24 oranında engelleme sağlamıştır. Th + Sm kombinasyonunda ise misel gelişimi 4.22 cm olarak ölçülmüş ve %62.12 engelleme oranı ile P* (150 g L^{-1} Pyraclostrobin+ 75 g L^{-1} Fluxapyroxad) uygulamasıyla aynı istatistiksel grupta ('b') yer almıştır. Bu sonuçlar, söz konusu uygulamaların *S. macrospora* gelişimini kısmen baskıladığını göstermektedir.

AX* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole), Bk* (250 g L^{-1} Prochloraz+75 g L^{-1} Trifloxystrobin+50 g L^{-1} Cyproconazole) ve Bl* (%25.2 Boscalid + %12.8 Pyraclostrobin) uygulamalarında misel gelişimi tamamen engellenmiş olup, yedinci günde gelişim çapı 0.00 cm olarak kaydedilmiş ve bu uygulamalar %100 engelleme oranı ile en etkili grup içerisinde ('a') yer almıştır. Aq* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole) uygulamasında ise miselyal gelişim çapı 0.35 cm olarak ölçülmüş ve %95.88 engelleme oranı ile AX* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole), Bk* (250 g L^{-1} Prochloraz+75 g L^{-1} Trifloxystrobin+50 g L^{-1} Cyproconazole) ve Bl* (%25.2 Boscalid + %12.8 Pyraclostrobin) uygulamalarıyla aynı istatistiksel grupta yer almıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, AX* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole), Bk* (250 g L^{-1} Prochloraz+75 g L^{-1} Trifloxystrobin+50 g L^{-1} Cyproconazole), Bl* (%25.2 Boscalid + %12.8 Pyraclostrobin) ve Aq* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole) uygulamalarının *S. macrospora*'nın miselyal gelişimini yedinci gün itibarıyla büyük ölçüde veya tamamen engellediği, P* (150 g L^{-1} Pyraclostrobin+ 75 g L^{-1} Fluxapyroxad) ve Th + Sm uygulamalarının ise orta düzeyde baskılayıcı etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Yedinci gün fungisit ve biyokontrol uygulamalarının *S. macrospora* misel gelişim çapına ve engelleme oranına etkileri (ortalama ± standart hata, n = 5).

Table 3. Effects of fungicide and biological control treatments on the mycelial growth diameter and inhibition rate of S. macrospora on the seventh day (mean ± standard error, n = 5)

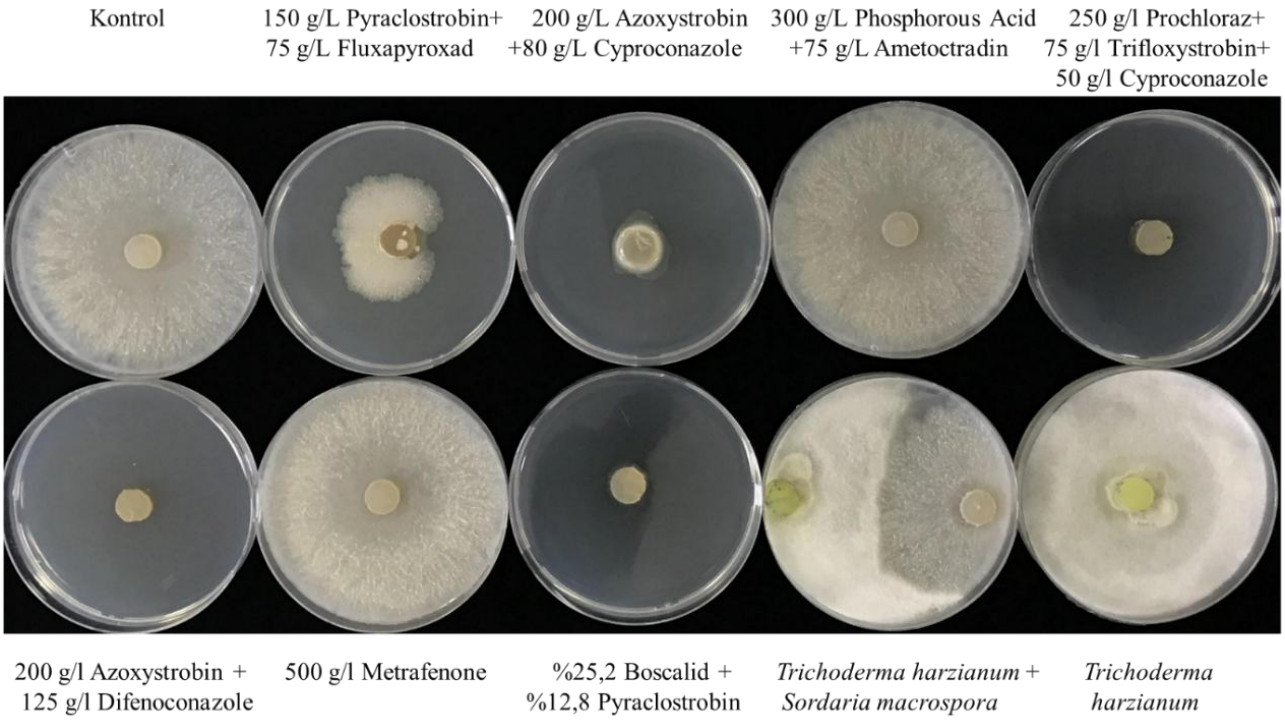
Uygulamalar	Miselyal gelişme çapı (cm) ± SE	Engelleme oranı (%) ± SE
Kontrol (Sm)	8,50 ± 0,00^{a}	0,00 ± 0,00^{c}
P* (150 g L^{-1} Pyraclostrobin+ 75 g L^{-1} Fluxapyroxad)	3,89 ± 0,77^{b}	54,24 ± 9,05^{b}
AX* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole)	0,00 ± 0,00^{c}	100,00 ± 0,00^{a}
Pv* (300 g L^{-1} Phosphorous Acid + 75 g L^{-1} Ametoctradin)	8,50 ± 0,00^{a}	0,00 ± 0,00^{c}
Bk* (250 g L^{-1} Prochloraz+75 g L^{-1} Trifloxystrobin+50 g L^{-1} Cyproconazole)	0,00 ± 0,00^{c}	100,00 ± 0,00^{a}
Aq* (200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole)	0,35 ± 0,17^{c}	95,88 ± 1,99^{a}
V* (500 g L^{-1} Metrafenone)	8,50 ± 0,00^{a}	0,00 ± 0,00^{c}
Bl* (%25,2 Boscalid + %12,8 Pyraclostrobin)	0,00 ± 0,00^{c}	100,00 ± 0,00^{a}
Trichoderma harzianum (Th)	8,50 ± 0,00^{a}	0,00 ± 0,00^{c}
Th + Sm	4,22 ± 0,06^{c}	62,12 ± 3,26^{b}

Fungisit uygulamalarının inhibisyon etkilerinin değerlendirilmesi

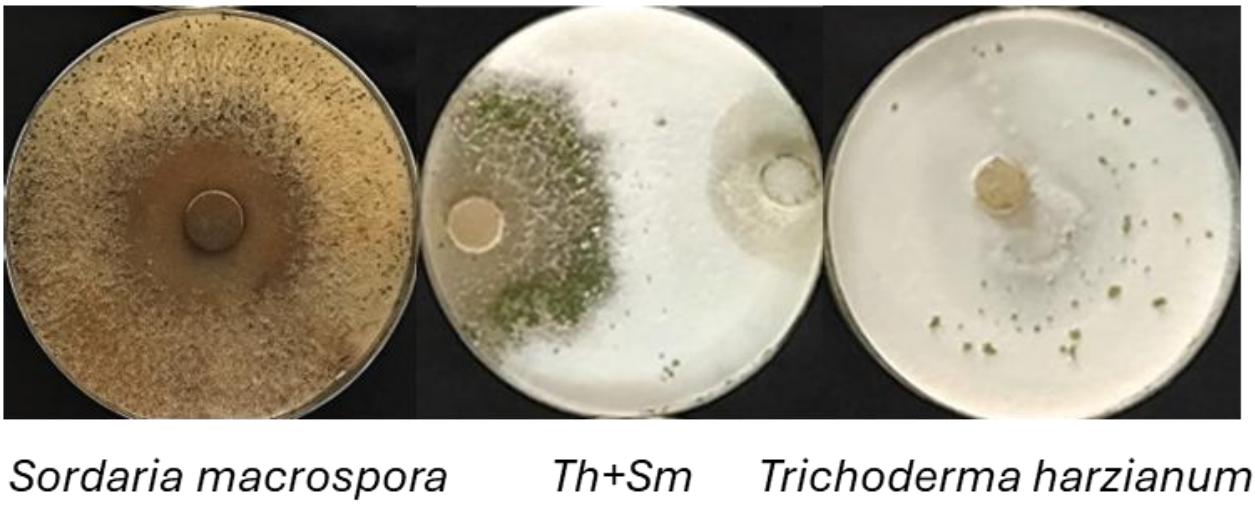
Petri kaplarındaki miselyal gelişim esas alınarak fungisit uygulamalarının *S. macrospora* üzerindeki baskılayıcı etkileri değerlendirilmiştir. Prochloraz + Trifloxystrobin + Cyproconazole (Bk*), Azoxystrobin + Cyproconazole (AX*) ve Boscalid + Pyraclostrobin (Bl*) uygulamalarında inokulum çevresinde deneme süresince herhangi bir miselyal gelişim gözlenmemiştir. Bu uygulamalar %100 engelleme oranı ile en yüksek inhibisyon düzeyini sağlamıştır.

Pyraclostrobin + Fluxapyroxad (P*) uygulamasında miselyal gelişimin erken dönemlerde belirgin şekilde baskılandığı, ancak ilerleyen günlerde sınırlı düzeyde koloni gelişiminin devam ettiği belirlenmiştir. Benzer şekilde Azoxystrobin + Difenoconazole (Aq*) uygulamasında ilk günlerde miselyal gelişim gözlenmemiş, ancak denemenin ilerleyen dönemlerinde sınırlı düzeyde miselyal gelişim meydana gelmiştir.

Phosphorous Acid + Ametoctradin (Pv) ve Metrafenone (V*)* uygulamalarında ise miselyal gelişim kontrol grubuna benzer şekilde devam etmiş ve bu uygulamalarda belirgin bir inhibisyon etkisi gözlenmemiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *S. macrospora* etmenine karşı uygulama gruplarının 5. gün sonunda Petri kaplarındaki misel gelişimine etkileri.
Figure 2. Effects of treatment groups on the mycelial growth of S. macrospora in Petri dishes after 5 days of incubation.



Şekil 3. *Trichoderma harzianum*'un *S. macrospora* etmenine karşı 7 günlük ikili kültür denemesinde Petri kaplarındaki gelişim durumu
Figure 3. Mycelial development of *Trichoderma harzianum* against *S. macrospora* in a 7-day dual culture assay in Petri dishes.

Trichoderma harzianum'un antagonistik etkisi

Trichoderma harzianum (Th) ve *S. macrospora* (Sm) kontrol gruplarında misel gelişiminin Petri yüzeyini tamamen kapladığı belirlenmiştir. Th + Sm ikili kültür uygulamasında ise koloni temasını takiben *T. harzianum*'un baskın gelişim gösterdiği ve 7. gün sonunda *S. macrospora* gelişimini büyük ölçüde sınırlandırdığı gözlenmiştir. Bu bulgu, *T. harzianum*'un patojen üzerinde antagonistik bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 3).

Tartışma

Bu çalışmada, zeytinlerde yaprak ucu yanıklığı ve sürgün ucu kuruması belirtileri ile ilişkili *S. macrospora*'ya karşı farklı kimyasal fungisitlerin ve biyolojik mücadele etmeni *T. harzianum*'un *in vitro* etkinlikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, test edilen uygulamalar arasında patojenin misel gelişimini baskılama düzeyi bakımından belirgin farklılıklar bulunduğunu ve bazı aktif maddelerin *S. macrospora* üzerinde güçlü baskılama etkisi gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu farklılıklar, test edilen aktif maddelerin etki mekanizmaları ve patojen–fungisit etkileşimlerinin zamansal dinamikleri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada özellikle 200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole, 250 g L^{-1} Prochloraz + 75 g L^{-1} Trifloxystrobin + 50 g L^{-1} Cyproconazole, 200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole ve %25.2 Boscalid + %12.8 Pyraclostrobin içeren formülasyonlar, *S. macrospora*'nın miselyal gelişimini yüksek oranda baskılamıştır.

Özellikle Azoxystrobin + Cyproconazole, Prochloraz + Trifloxystrobin + Cyproconazole ve Boscalid + Pyraclostrobin uygulamalarında deneme süresince görünür miselyal gelişim gözlenmemesi, bu fungisit kombinasyonlarının misel gelişimini güçlü biçimde baskıladığını göstermektedir. Bununla birlikte, çalışmada misel canlılığı veya yeniden gelişim testi yapılmadığından, bu etkinin fungisidal veya fungistatik niteliği hakkında kesin bir değerlendirme yapılması olası değildir.

Elde edilen bulgular, azoxystrobin ve cyproconazole'un antifungal etkinliğine ilişkin daha önce bildirilen çalışmalarla uyumludur. Camiletti ve ark. (2020), azoxystrobin ve cyproconazole aktif maddelerinin *Sclerotinia minor* ve *Sclerotium rolfsii* gibi toprak kökenli patojenlere karşı yüksek antifungal aktivite gösterdiğini ve nanokristal formülasyonlarla bu etkinliğin daha da arttığını bildirmiştir. Benzer şekilde Antypenko ve ark. (2023), cyproconazole'un antifungal etkisinin farklı bileşiklerle kombinasyon halinde sinerjik biçimde artabildiğini ortaya koymuştur.

Bu çalışmada azoxystrobin uygulamalarında deneme süresince misel gelişiminin gözlenmemesi, bu fungisitin mitokondride elektron taşınım zincirinin sitokrom bc_1 kompleksinin Qo bölgesini inhibe ederek ATP sentezini durdurmasıyla ilişkili olabilir. Enerji metabolizmasının baskılanması, özellikle aktif büyüme gösteren hiflerde misel gelişiminin hızla durmasına neden olmaktadır.

Öte yandan, QoI grubu fungisitlere karşı farklı fungal türlerde sitokrom *b* (*cytb*) geninde meydana gelen mutasyonlar nedeniyle duyarlılık düzeylerinin değişebildiği bildirilmektedir. Bu nedenle çalışmada kullanılan *S. macrospora* izolatının yüksek duyarlılığı, ilgili direnç mekanizmalarını taşımamasıyla ilişkili olabilir. Ancak bu olasılığın doğrulanabilmesi için moleküler direnç analizlerine ihtiyaç bulunmaktadır (Bartlett ve ark., 2002; Fisher & Meunier, 2008).

Cyproconazole'un yüksek inhibisyon göstermesi, ergosterol biyosentezinde görev alan CYP51 enzimini inhibe ederek hücre zarı oluşumunu bozmasıyla açıklanabilir. Ergosterol sentezinin engellenmesi, fungal hücre zarının bütünlüğünü olumsuz etkileyerek misel gelişimini sınırlandırmaktadır. Bununla birlikte, DMI grubu fungisitlere karşı duyarlılığın CYP51 genindeki mutasyonlar, gen ekspresyonundaki değişiklikler ve taşıyıcı protein aktivitesi gibi mekanizmalardan etkilenebildiği bilinmektedir. Bu nedenle farklı *S. macrospora* izolatlarının aynı fungisite farklı düzeylerde yanıt verebilmesi beklenebilir (Cools & Fraaije, 2013; FRAC, 2024).

Zeytin patosistemlerinde yürütülen çalışmalar da benzer sonuçlar bildirmiştir. Trouillas ve ark. (2023), difenoconazole içeren sistemik fungisitlerin farklı zeytin patojenlerine karşı yüksek düzeyde kontrol sağladığını rapor etmiştir. Mevcut çalışmada ise 200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole uygulamasında başlangıçta misel gelişimi tamamen baskılanmış, ancak inkübasyon süresinin ilerlemesiyle sınırlı düzeyde hif gelişimi gözlenmiştir. Bu durum, aktif maddelerin besiyerindeki kalıcılığının azalması veya fungisit etkinliğinin inkübasyon süresince kademeli olarak zayıflaması ile ilişkili olabilir.

Buna karşılık, 150 g L^{-1} Pyraclostrobin + 75 g L^{-1} Fluxapyroxad içeren formülasyonun başlangıçta miselyal gelişimi baskılamasına rağmen ilerleyen günlerde sınırlı koloni gelişiminin gözlenmesi, inhibitör etkinin zamanla azalmış olabileceğini düşündürmektedir. Benzer sonuçlar Varveri & Tsitsigiannis (2025) tarafından *Colletotrichum acutatum* üzerinde yürütülen çalışmalarda da bildirilmiş ve bazı strobilurin ve triazol grubu fungisitlerin konidiyum üretimini baskılamakla birlikte uzun vadede tam fungisidal etki göstermediği vurgulanmıştır.

Biyolojik kontrol ajanı olarak değerlendirilen *T. harzianum*, *S. macrospora* patojeni ile birlikte uygulandığı Th+Sm grubunda 3. günden itibaren belirgin bir antagonistik etki göstermiş ve 7. gün sonunda misel gelişimini anlamlı düzeyde baskılamıştır. Bu çalışmada gözlenen yüksek düzeyde misel gelişimi inhibisyonu, *Trichoderma* türlerinde bildirilen besin ve yaşam alanı rekabeti, hidrolitik enzim üretimi, antifungal metabolit sentezi ve mikoparazitizm gibi mekanizmalarla ilişkili olabilir. Bununla birlikte, mevcut çalışmada bu mekanizmalar doğrudan araştırılmadığından hangi mekanizmanın baskın olduğu belirlenememektedir (Harman ve ark., 2004).

Bu sonuçlar, *T. harzianum*'un zeytin patojenlerine karşı biyolojik mücadelede etkili olabileceğini bildiren önceki çalışmalarla uyumludur. Amira ve ark. (2017), *Fusarium solani* kaynaklı kök çürüklüğünde *T. harzianum*'un patojen gelişimini baskıladığını bildirirken, Marra ve ark. (2020) *Trichoderma* uygulamalarının bitki gelişimini desteklediğini ve savunma mekanizmalarını aktive ettiğini göstermiştir. Benzer şekilde Poveda ve Baptista (2021), endofitik ve mikorizal fungusların zeytinde farklı

patojenlere karşı sürdürülebilir biyolojik mücadelede önemli bir potansiyele sahip olduğunu vurgulamıştır.

Bu çalışmada yüksek etkinlik gösteren aktif maddelerin, farklı bitki patojenlerine karşı da yüksek antifungal aktivite gösterdiği önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Romero ve ark., 2020; Bennett ve ark., 2021; Achilonu ve ark., 2023; Elshahawy ve ark., 2023; Yue ve ark., 2024). Benzer şekilde Azoxystrobin + Difenoconazole ve Boscalid + Pyraclostrobin kombinasyonlarının *Venturia oleaginea* ve *Neoscytalidium novaehollandiae* gibi zeytin patojenlerine karşı da yüksek düzeyde inhibisyon sağladığı bildirilmiştir (Almadi ve ark., 2024; Kılınç ve ark., 2024; Kılınç ve ark., 2025a).

Literatürde *S. macrospora* çoğunlukla genetik, hücresel farklılaşma ve eşeyli gelişim çalışmalarında model organizma olarak kullanılmış olup, bitki patojeni olarak fungisit duyarlılığını değerlendiren herhangi bir *in vitro* çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle mevcut çalışmanın, bildiğimiz kadarıyla *S. macrospora*'ya karşı kimyasal fungisitler ve *T. harzianum*'un *in vitro* etkinliklerini birlikte değerlendiren ilk çalışmalardan biri olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada bazı kimyasal fungisitlerin *S. macrospora* misel gelişimini yüksek düzeyde baskıladığı, *T. harzianum*'un ise zamanla artan antagonistik etkisiyle biyolojik mücadelede önemli bir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada fungisitlerin misel gelişimi üzerindeki inhibitör etkileri değerlendirilmiştir.

Ancak inhibisyonun geri dönüşümlü olup olmadığı araştırılmamıştır. Bu nedenle elde edilen bulgular yalnızca misel gelişiminin baskılanmasını göstermekte olup, recovery (yeniden gelişim) testi ve canlılık analizleri yapılmadığından fungisitlerin fungisidal veya fungistatik etkileri hakkında kesin bir değerlendirme yapılamamaktadır.

Gelecek çalışmalarda misel yeniden gelişim (recovery) testleri ve canlılık analizleri ile gözlenen misel gelişimi inhibisyonunun doğrulanması önerilmektedir. Elde edilen bulgular, zeytinlerde yeni ortaya çıkan fungal patojenlere yönelik araştırmalar için önemli bir başlangıç verisi sunmaktadır. Bununla birlikte, laboratuvar koşullarında tek bir izolat ile elde edilen bu sonuçların farklı izolatlar ile sera ve saha koşullarında doğrulanması gerekmektedir. Bu doğrulamalar sonrasında değerlendirilen fungisitler ve *T. harzianum*, entegre hastalık yönetimi programlarında potansiyel mücadele seçenekleri olarak değerlendirilebilir.

Sonuç

Bu çalışmada, *Sordaria macrospora* patojenine karşı farklı kimyasal fungisitler ile biyolojik kontrol ajanı *Trichoderma harzianum*'un *in vitro* koşullardaki antifungal etkileri değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda patojenin Petri kaplarını tamamen kapladığı koşullarda, 200 g L^{-1} Azoxystrobin + 80 g L^{-1} Cyproconazole, 250 g L^{-1} Prochloraz + 75 g L^{-1} Trifloxystrobin + 50 g L^{-1} Cyproconazole, 200 g L^{-1} Azoxystrobin + 125 g L^{-1} Difenoconazole ve %25.2 Boscalid + %12.8 Pyraclostrobin içeren uygulamalarda deney süresi boyunca misel gelişimi gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, söz konusu fungisitlerin *S. macrospora* misel gelişimini yüksek düzeyde baskıladığını göstermektedir.

150 g L^{-1} Pyraclostrobin + 75 g L^{-1} Fluxapyroxad uygulamasında ise misel gelişimi tamamen engellenmemiş, inkübasyon süresinin ilerleyen dönemlerinde sınırlı düzeyde hif gelişimi gözlenmiştir. *T. harzianum* uygulamasında patojen gelişiminin zamanla baskılandığı ve yedinci gün sonunda istatistiksel olarak anlamlı antagonistik etki oluştuğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Buna karşılık, 300 g L^{-1} Phosphorous Acid + 75 g L^{-1} Ametoctradin ile 500 g L^{-1} Metrafenone uygulamalarında, denenen koşullar altında misel gelişiminin anlamlı düzeyde baskılanmadığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada fungisitlerin yalnızca misel gelişimi üzerindeki etkileri değerlendirilmiş olup, inhibisyonun geri dönüşümlü olup olmadığı araştırılmamıştır. Bu nedenle elde edilen bulgular, fungisitlerin fungisidal veya fungistatik etkilerinin kesin olarak ayırt edilmesine olanak vermemektedir. Bu ayrımın yapılabilmesi için misel yeniden gelişim (recovery) testleri ile canlılık analizlerinin gelecekteki çalışmalarda değerlendirilmesi gerekmektedir.

Ulaşılabilen literatür doğrultusunda, *S. macrospora*'nın bitki patojeni olarak fungisit duyarlılığını inceleyen herhangi bir *in vitro* çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, mevcut çalışmanın *S. macrospora*'ya karşı kimyasal fungisitler ve *Trichoderma harzianum*'un antifungal etkinliğini birlikte değerlendiren ilk çalışmalardan biri olduğu düşünülmektedir. Çalışma, zeytinlerde yeni ortaya çıkan fungal patojenlerin yönetimine yönelik gelecekte yapılacak araştırmalar için temel veri sağlamaktadır. Bununla birlikte, laboratuvar koşullarında elde edilen sonuçların uygulamaya aktarılabilmesi için sera ve tarla koşullarında doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca, çalışmanın tek bir *S. macrospora* izolatı ile yürütülmüş olması nedeniyle, elde edilen bulguların farklı izolatlar üzerinde doğrulanması önem taşımaktadır.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, fungisitlerin askospor çimlenmesi, inokulum oluşumu ve hastalık gelişiminin farklı evreleri üzerindeki etkilerinin araştırılması; biyolojik kontrol ajanlarının ise kimyasal mücadele programlarıyla birlikte kullanım potansiyelinin değerlendirilmesi, sürdürülebilir hastalık yönetimi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Bunun yanında, fungisit direnci gelişimini sınırlandırmak amacıyla farklı etki mekanizmalarına sahip aktif maddelerin FRAC önerileri doğrultusunda rotasyonlu kullanımı da dikkate alınmalıdır.

Beyanlar

Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için etik kurul izni gerekmemektedir.

Yazar Katkı Beyan

Berfin Kılınç: Çalışmayı yürütmüş, verileri toplamış analiz etmiş ve makaleyi yazmıştır.

Mehmet Ertuğrul Güldür: Çalışmayı BK ile birlikte tasarlamış, uygulama sürecine katkı sağlamış ve makaleyi gözden geçirmiştir.

Murat Dikilitaş: Makaleyi incelemiş, gerekli düzeltmeleri yapmış ve çalışma bütünlüğünü sağlamıştır.

Fon Beyanı

Bu çalışma herhangi bir kurum, kuruluş veya fon sağlayıcı tarafından desteklenmemiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışmasının bulunmadığını beyan eder.

Teşekkür

Bu çalışma, Harran Üniversitesi'nde *Berfin Kılınç* tarafından yürütülen doktora tezinin bir bölümünden üretilmiştir.

Kaynaklar

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Entomol*, *18*(2), 265-267.

Achilonu, C. C., Gryzenhout, M., Ghosh, S., & Marais, G. J. (2023). *In vitro* evaluation of azoxystrobin, boscalid, fentin-hydroxide, propiconazole, pyraclostrobin fungicides against *Alternaria alternata* pathogen isolated from Carya illinoinensis in South Africa. Microorganisms, *11*(7), 1691. https://doi.org/10.3390/microorganisms11071691

Almadi, L., Jarrar, S., Sbaihat, L., Issa, T., Tucci, M., Moretti, C., … Famiani, F. (2024). No- or low-content copper compounds for controlling *Venturia oleaginea*, the causal agent of olive leaf spot disease. Plants, *13*(5), 600. https://doi.org/10.3390/plants13050600

Amira, M., Lopez, D., Mohamed, A., Khouaja, A., Chaar, H., Fumanal, B., Gousset-Dupont, A., Bonhomme, L., Label, P., Goupil, P., Ribeiro, S., Pujade-Renaud, V., Julien, J., Auguin, D., & Venisse, J. (2017). Beneficial effect of *Trichoderma harzianum* strain Ths97 in biocontrolling *Fusarium solani* causal agent of root rot disease in olive trees. Biological Control, *110*, 70–78. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.008

Antypenko, L., Meyer, F., Sadyk, Z., Shabelnyk, K., Kovalenko, S., Steffens, K. G., & Garbe, L.-A. (2023). Combined application of tacrolimus with cyproconazole, hymexazol and novel {2-(3-R-1H-1,2,4-triazol-5-yl)phenyl}amines as antifungals: *In vitro* growth inhibition and in silico molecular docking analysis to fungal chitin deacetylase. Journal of Fungi, *9*(1), 79. https://doi.org/10.3390/jof9010079

Avenot, H. F., & Michailides, T. J. (2007). Resistance to boscalid fungicide in *Alternaria alternata* isolates from pistachio in California. Plant Disease, *91*(10), 1345–1350. https://doi.org/10.1094/PDIS-91-10-1345

Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., & Parr-Dobrzanski, B. (2002). The strobilurin fungicides. Pest Management Science, *58*(7), 649–662. https://doi.org/10.1002/ps.520

Bennett, S. J., Lamichhane, A. R., Thomson, L. L., Lui, K. Y., & Michael, P. J. 178 (2021). Impact of fungicide application and host genotype on susceptibility of *Brassica napus* to *Sclerotinia* stem rot across the south-western Australian grain belt: A genotype environment management study. Agronomy, 11(6), 1170.

Becher, R., & Wirsel, S. G. R. (2012). Fungal cytochrome P450 sterol 14α-demethylase (CYP51) and azole resistance in plant and human pathogens. Applied Microbiology and Biotechnology, *95*(4), 825–840. https://doi.org/10.1007/s00253-012-4195-9

Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology, *7*(4), 249–260.

Brent, K J & Hollomon, D.W (2007) Fungicide resistance: The assessment of risk FRAC Monograph No 2, second revised edition, FRAC, 52pp.

Camiletti, B. X., Camacho, N., Paredes, A. J., Allemandi, D., Palma, S., & Grosso, N. (2020). Self-dispersible nanocrystals of azoxystrobin and cyproconazole with increased efficacy against soilborne fungal pathogens isolated from peanut crops. Powder Technology, *372*, 455–465. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.06.025

Charria-Girón, E., Surup, F., & Marin-Felix, Y. (2022). Diversity of biologically active secondary metabolites in the ascomycete order Sordariales. Mycological Progress, *21*(4), 43. https://doi.org/10.1007/s11557-022-01775-3

Cools, H. J., & Fraaije, B. A. (2013). *Update on mechanisms of azole resistance in Mycosphaerella graminicola and implications for future control*. Pest Management Science, 69, 150–155.

Dikilitaş, M., Katırcıoğlu, Z., & Altınok, H. (2014). Fungus ve fungal materyallerin uzun dönem saklanması, korunması ve geri kazanımı üzerine varılan son gelişme ve yöntemler. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, *15*(1), 55-69. https://izlik.org/JA99ZZ34XJ

Elshahawy, I. E., & Darwesh, O. M. (2023). Preventive and curative effect of difenoconazole + azoxystrobin and thiophanate-methyl against lucky bamboo anthracnose disease caused by *Colletotrichum dracaenophilum.* Heliyon, *9*(3), e14444. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14444

Engh, I., Nowrousian, M., & Kück, U. (2010). *Sordaria macrospora*, a model organism to study fungal cellular development. European Journal of Cell Biology, 89(12), 864–872. https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2010.07.002Fisher, N., & Meunier, B. (2008). *Molecular basis of resistance to cytochrome bc1 inhibitors*. FEMS Yeast Research, 8, 183–192.

FRAC. (2023). FRAC mode of action classification 2023. Fungicide Resistance Action Committee. https://www.frac.info

FRAC. (2024). *FRAC Code List 2024: Fungicides sorted by mode of action.*

Gisi, U., & Sierotzki, H. (2008). Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. European Journal of Plant Pathology, *122*, 157–167. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8973-2_12

Guarro, J., & von Arx, J. A. (1987). The ascomycete genus *Sordaria*. Persoonia, *13*(3), 301–313.

Güldür, M. E., Dikilitaş, M., & Kılınç, B. (2024a). Şanlıurfa peyzaj alanlarında çam ağaçlarında sürgün kurumalarına ve geriye doğru ölümlere neden olan *Alternaria alternata* etmeninin Türkiye'deki ilk kaydı. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, *29*(1), 212–223. https://doi.org/10.37908/mkutbd.1390538

Güldür, M. E., Dikilitaş, M., & Kılınç, B. (2024b). Bitkilerde kalite ve miktar kaybına neden olan *Alternaria alternata*'ya karşı bazı fungisitlerin *in vitro* etkinlikleri. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, *28*(1), 60–69. https://doi.org/10.29050/harranziraat.1325585

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. https://doi.org/10.1038/nrmicro797

Ivanova, H., Pristaš, P., & Ondrušková, E. (2016). Comparison of two Coniochaeta species (*C. ligniaria* and *C. malacotricha)* with a new pathogen of black pine needles – *Sordaria macrospora*. Plant Protection Science, *52*(1), 18–25. https://doi.org/10.17221/45/2014-PPS

Kılınç, B., Güldür, M.E. & Dikilitaş, M. (2022). Şanlıurfa ilinde Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) ağaçlarında *Neoscytalidium novaehollandiae*'nın bulaşıklık oranının belirlenmesi, morfolojik ve genetik karakterizasyonu. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, *26*(1):25 39. DOI:10.29050/harranziraat.1028027

Kılınç, B., Güldür, M. E. & Dikilitaş, M. (2023). Farklı Sıcaklık Koşullarında *Neoscytalidium novaehollandiae* Etmeninin Misel ve Konidi Gelişimi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, *27*(4): 589-594 DOI: 10.29050/harranziraat.1326265

Kılınç, B., Dikilitaş, M., & Güldür, M. E. (2024). Fungisidal etkinlik çalışmalarında besi ortamlarına antibiyotik eklenmesinin misel gelişimi üzerine etkinliğinin belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, *29*(1), 234–241.

Kılınç, B., Güldür, M. E., & Dikilitaş, M. (2025a). Bitkilerde ekonomik kayıplara neden olan *Neoscytalidium novaehollandiae* türüne karşı bazı fungisitlerin etkinliğinin belirlenmesi. ISPEC Journal of Agricultural Sciences, *9*(1), 22–35. https://doi.org/10.5281/zenodo.14160758

Kılınç, B., Güldür, M. E., Türkölmez, Ş., Alhewairini, S. S., Barasarathi, J., Dikilitaş, M., & Sayyed, R. (2025b). *Sordaria macrospora*: A new fungal pathogen causing leaf tip and shoot blight on olive (*Olea europaea* L.). Journal of Phytopathology, *173*(3), e70076. https://doi.org/10.1111/jph.70076

Kılınç, B., Dikilitaş, M., & Güldür, M. E. (2025c). Neoscytalidium dimidiatum [(Penz.) Crous & Slippers] ile İnokule Edilen Domates (*Solanum lycopersici* Mill) Bitkilerinde Meydana Gelen Patolojik Değişiklikler Üzerine İnokulasyon Metodlarının Etkisi. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, *9*(1), 48-64. https://doi.org/10.5281/zenodo.14160891

Kılınç, B. (2025). Zeytin (*Olea europaea* L.) ağaçlarında yaprak ucu yanıklığına sebep olan *Sordaria macrospora*'nın karakterizasyonu, mücadele olanaklarının araştırılması ve bitki savunma tepkilerinin belirlenmesi (Doktora tezi). Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Klich, M. A. (2002). Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures.

Li, T., Wang, X., Luo, J., Yang, M., & Kong, L. (2016). Antioxidant sordariol dimers from *Sordaria macrospora* and the absolute configuration determinations of their two simultaneous linear 1,2-diols. Tetrahedron Letters, *57*(25), 2754–2757. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.05.014

Marra, R., Coppola, M., Pironti, A., Grasso, F., Lombardi, N., d'Errico, G., Sicari, A., Bolletti Censi, S., Woo, S. L., Rao, R., & Vinale, F. (2020). The application of *Trichoderma* strains or metabolites alters the olive leaf metabolome and the expression of defense-related genes. Journal of Fungi, *6*(4), 369. https://doi.org/10.3390/jof6040369

Nugent, L. K., Sihanonth, P., Thienhirun, S., & Whalley, A. J. S. (2005). Biscogniauxia: A genus of latent invaders. Mycologist, *19*, 40–43. https://doi.org/10.1017/S0269915X05001060

Petrini, O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. In J. H. Andrews & S. S. Hirano (Eds.), Microbial ecology of leaves (pp. 179–197). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3168-4_9

Petrovic, E., Godena, S., Cosic, J., & Vrandecic, K. (2024b). Identification and pathogenicity of Biscogniauxia and *Sordaria* species isolated from olive trees. Horticulturae, *10*(3), 243. https://doi.org/10.3390/horticulturae10030243

Poveda, J., & Baptista, P. (2021). Filamentous fungi as biocontrol agents in olive 195 (*Olea europaea* L.) diseases: Mycorrhizal and endophytic fungi. Crop Protection, 146, 105672.

Pöggeler, S., Risch, S., Kück, U., & Osiewacz, H. D. (1997). Mating-type genes from the homothallic fungus *Sordaria macrospora* are functionally expressed in a heterothallic ascomycete. Genetics, *147*(2), 567–580. https://doi.org/10.1093/genetics/147.2.567

Pöggeler, S., Nowrousian, M., Teichert, I., Beier, A., & Kück, U. (2018). Fruiting-Body Development in Ascomycetes. In: Anke, T., Schüffler, A. (eds) Physiology and Genetics. The Mycota, vol 15. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71740-1_1

Romero, J., Ávila, A., Agustí-Brisach, C., Roca, L., & Trapero, A. (2020). Evaluation of fungicides and management strategies against Cercospora leaf spot of olive caused by *Pseudocercospora cladosporioides*. Agronomy, *10*(2), 271. https://doi.org/10.3390/agronomy10020271

Sanjeev Kumar, S. K. (2016). Plant pathogens and principles of plant pathology. New India Publishing Agency.

Shapiro, S. S., Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika, 52*(3/4), 591–611. https://doi.org/10.1093/biomet/52.3-4.591

Steel, R. G. D., Torrie, J. H., & Dicky, D. A. (1997). Principles and procedures of statistics, a biometrical approach (3rd ed.). New York: McGraw Hill Book Co.

Song, X., He, K., Li, Y., Yu, J., Xu, M., Guo, Z., & Chi, Y. (2024). First report of *Sordaria macrospora* causing collar rot of peanut in Shandong Province, China. Journal of Plant Pathology, 1–2. https://doi.org/10.1007/s42161-024-01631-

Teichert, I., Pöggeler, S., & Nowrousian, M. (2020). *Sordaria macrospora*: 25 years as a model organism for studying the molecular mechanisms of fruiting body development. Applied Microbiology and Biotechnology, *104*, 3691–3704. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10504-3

Townsend, G. R. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. Plant Disease Reporter, *27*, 340–343.

Trouillas, F. P., Travadon, R., Nouri, M. T., & Lawrence, D. P. (2023). Field evaluation of fungicides for the management of *Neofabraea* leaf lesion of olive in California. Plant Disease, *107*(10), 3079–3084. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-22-2896-RE

van Dyk, M., Spies, C. F. J., Mostert, L., van der Rijst, M., du Plessis, I. L., Moyo, P., van Jaarsveld, W. J., & Halleen, F. (2021). Pathogenicity testing of fungal isolates associated with olive trunk diseases in South Africa. Plant Disease, *105*, 4060–4073. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1837-RE

Varveri, M., & Tsitsigiannis, D. I. (2025). Chemical control of olive anthracnose and fungicide resistance profiles in *Colletotrichum acutatum* sensu stricto isolates from Greek olive groves. Journal of Plant Pathology, *107*(1), 649–659. https://doi.org/10.1007/s42161-024-01814-w

Yue, M. Y., Wang, R., Liu, Y. M., Chen, B. W., Ding, W. L., & Li, Y. (2024). Resistance of the ginseng gray mold pathogen, *Botrytis cinerea*, to boscalid and pyraclostrobin fungicides in China. Plant Disease, *108*(4), 979–986. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-23-0321-RE