

Tarımsal Üretimde Yararlanılan *Trichoderma* Ürünleri ve Metabolitleri

Evrım ÖZKALE^{1,*}

¹Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muradiye Kampüsü, 45140, MANİSA

Geliş: 14 Kasım 2016 - Düzeltme: 03 Mart 2017 - Kabul: 21 Nisan 2017

Özet: Fitopatogenik ajanların sebep olduğu bitki hastalıklarıyla, önemli ölçüde ürün kayıpları meydana gelmektedir. Dünya üzerindeki birçok ülkede, tarımda pestisit uygulamalarını ve bağımlılığını azaltacak, tüketici ve çevre güvenliğini arttıracak yasal yaptırımlar uygulanmaya başlamıştır. Yönetmelikler ile entegre zararlı düzenlemesinin uygulamaya konulmasını teşvik edecek gerekli şartların oluşumuna ve aynı zamanda ticari ürünlerin güvenliğinin sağlanmasına da çalışılmaktadır. *Trichoderma* spp. mikrobiyal biyokontrol ajanı olarak en yaygın kullanılan ve çalışılan funguslar arasındadır. *Trichoderma* ürünleri, biyopestisit, biyofungusit, biyo-inokulant, biyo-stimulant, biyodekompoze edici, biyofertilize edici ve bitki büyüme teşvikleyicileri olarak kullanılmaktadır. Yararlı etkileri için bitkilerle muamele edilmelerinin altında yatan başlıca mekanizmalar; mikoparazitizm veya hiperparazitizm, antibiyozis, kompetisyon, hücre duvarlı litik enzim aktivitesi, bitki büyümesinin artırılması, toprakta bulunan besin elementlerinin kazanımı ve bitki savunma cevaplarının indüklenmesi olarak sayılabilir. Bu derlemede, tarımsal üretimde yararlanılan *Trichoderma* türleri ve başlıca sekonder metabolitleri ile fungal patojenler veya bitkiler ile arasındaki interaksiyonlar üzerine odaklanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Trichoderma*, biyokontrol, sekonder metabolit

Trichoderma-based Products and Metabolites Used in Agricultural Production

Received: 14 November 2016 - Revised: 03 March 2017 - Accepted: 21 April 2017

Abstract: Phytopathogenic agents cause considerable crop losses incurred by plant diseases worldwide. The most governments in World, have started to implement legislative mandates in order to reduce the pesticide applications and dependency in agriculture and increase the environmental and consumers safety. By implementing integrated pest management [IPM], it is aimed to establish the necessary conditions to employ these practices. *Trichoderma* is among the best known and widely used fungal genera as biocontrol agent. Products of *Trichoderma* and itself, are promoted as bio-pesticide, bio-fungicide, bio-inoculant, bio-stimulant, bio-decomposer, bio-fertilizer, plant growth stimulator. Main mechanisms underlying its beneficial properties are; mycoparasitism, hyperparasitism, antibiosis, competition, cell wall lytic enzymes, enhancement of plant growth, acquisition of soil nutrients, induction of plant defense responses. In this review, we focused on the *Trichoderma* and its secondary metabolites that are used in agriculture and their interactions between phytopathogens and plants.

Keywords: *Trichoderma*, biocontrol, secondary metabolite

*Corresponding Author E-mail: evrimmiko@gmail.com

1. GİRİŞ

Geleneksel olarak bitki koruma, bitki hastalıklarını ve böcekleri kontrol etmek amacıyla kimyasal pestisitlerin kullanımına dayanmaktadır. Ancak bu uygulamalar, son kullanıcı ve agro-ekosistem açısından, pollinatörlerin, yararlı predatör/parazitoidlerin ve faydalı mikrobiyal komünitelerin inhibisyonu gibi negatif etkilere sebep olabilmektedir [1]. Sentetik pestisitler hem maliyetlidir, çevreyi kirletir hem de potansiyel olarak hayvanlara ve insanlara zararlıdır. Ayrıca uzun vadede sürekli olarak kullanımları, kimyasallara dayanıklı patojenlerin gelişimini teşvik etmektedir [2]. Sadece Avrupa’da, sentetik agro-kimyasalların yıllık tüketimi 250k ton olup, bunun 180 k tonu fungusittir [1].

Türkiye’de pestisit kullanımı daha çok polikültür tarımın yapıldığı Akdeniz ve Ege bölgelerinde yoğunlaşmaktadır. Entansif tarım yapılan bu bölgelerde pestisit kullanımının ülke ortalamasının çok üzerinde olduğu ve bu bölgelerde tüketimin gelişmiş ülkeler düzeyine ulaştığı söylenebilir. Yoğun pestisit tüketilen Ege ve Akdeniz bölgeleri, beslenmede büyük yeri olan sebze ve meyvelerin entansif biçimde yetiştirildiği alanlar olmasının yanı sıra, ihracata yönelik gıda endüstrisinin hammaddeleri de büyük ölçüde bu bölgelerimizden sağlanmaktadır. Türkiye’de pestisit tüketiminde sırasıyla en fazla fungusit (%45), herbisit (%18) ve insektisit (%15) yer almaktadır [3].

Tarımda zararlıların mücadelesinde mikroorganizmaların kullanımı, biyolojik mücadelenin en etkin stratejilerinden biridir. Yararlı mikroorganizmaları kullanmanın başarısı mikrobiyal ırka bağlıdır ve ilgili bitki ile olan avantajları şunları içermektedir: (1) Rizosferde antagonistik mikrobiyal komünitenin kurulması (2) Patojenlerin baskı altına alınması, (3) Bitki sağlığının iyileştirilmesi (4) Büyümenin teşvik edilmesi, (5) Artan besin elde edilebilirliği ve alınımı, (6) Biyotik ve abiyotik streslere karşı artmış konukçu direnci [4-6].

Mikrobiyal biyolojik kontrol ajanları biyopestisit, biofertilizer, büyüme teşvik ediciler ve doğal bağışıklığı stimüle ediciler olarak pazarlanmaktadır. *Trichoderma* temelli preparasyonlar, dünya çapında çeşitli bitki patojenlerine karşı ürün korunmasında veya çeşitli ürünlerde, örneğin tarla, sera veya bahçelerde bitki büyüme veya verimliliğini artırma amaçlı kullanılmaktadır. *Trichoderma* genusu, *Ascomycota* filumundan *Hypocreales* ordosuna ait rhizo kompeten bir fungus olup, bütün Dünya’da çok çeşitli ekosistemlerde yayılış göstermektedir [7]. *Trichoderma* genusuna ait funguslar, bitki hastalıklarına karşı 1930’lardan beri biyolojik kontrol ajanları olarak bilinmekte olup, 1990’lardan itibaren ticari tarımda bu amaçla hem gelişmiş hem gelişmekte olan ülkelerde oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bununla birlikte, etki mekanizmaları ve potansiyel kullanımına dair bilgiler henüz yeterli değildir [8].

1.1. *Trichoderma*’nın fungal patojenler ve bitkilerle etkileşimleri

Trichoderma diğer mikroorganizmalarla fakat özellikle de patojenik funguslarla interaksiyon kurar. Bu interaksiyonlar hiperparazitizm, antibiyozis ve rekabeti içermektedir [9]. Hiperparazitizm, antagonistin bir patojenle direkt kontak kurması ve patojenin tanınması, saldırı, dereceli penetrasyon ve ölümle sonuçlanan safhalara sahip bir ilişkidir [6].

Antibiyozis *Trichoderma* spp. tarafından yaygın olarak bitki fungal patojenlerine karşı kullanılan, halen tam olarak anlaşılammış mekanizmaya sahip bir stratejidir [10]. Evrim sürecinde, *Trichoderma* türleri diğer fungal türler ile rekabet edebilecek özel mekanizmalar geliştirmiştir [11]. Bu tip rekabet aktiviteleri için genomik bilginin daha fazla depolanmasına gerek duyulmaktadır. Bu durum oldukça parazitik türler olan *T. virens* ve *T. atroviride*’nin genomlarının daha geniş olduğunu ve daha ılımlı türlere göre neden 3000’den fazla geni içerdiğini açıklamaktadır [12]. Rekabet ve mikoparazitizmde, çevresel anlamda miselyal gelişim için uygun olmayan durumlarda bile *Trichoderma*’nın ekstraselüler enzim sistemleri aktif kalabilmekte ve bu durum da daha iyi stres toleransı için strainlerin geliştirilebileceği

imkanını düşündürmektedir [13]. Biyokontrol ajanlarının farklı tarım topraklarında ve iklimik koşullarda verimli bir şekilde kullanımlarının olması için toprak sıcaklığı, radyal gelişimi ve rekabetçi kolonizasyonu etkileyen önemli bir parametredir. Doğal olarak var olan askomisetlerin maksimum büyüme sıcaklığı 30-35 °C aralığında iken, termotolerant *Trichoderma* strainlerinin en yüksek büyüme oranı 37 °C'dir [14]. *Trichoderma* spp. ve fitopatogenler arasında enfeksiyon bölgeleri ve besinler için, nişden uzaklaştırma olarak bilinen bir yarış vardır. *Trichoderma*'da kök yüzeyine adherens ve kolonizasyonun başlaması, hidrofobinlerle yürütülmektedir. Bunlar, fungal hücre yüzeyini çevreleyen, en dıştaki hücre duvarı tabakasının küçük hidrofobik proteinleri ve hücre duvarı gelişimi ile ilgili expansin-benzeri proteinlerdir. *Trichoderma*'ya karşı konukçu bitki cevabı potansiyel fungal penetrasyon bölgesinin ilerisinde gözlenmiştir. Bitki hücre duvarı güçlendirmesini indüklemeyen *Piriiformosa indica* kolonizasyonundan farklı olarak, kalloz-zengin duvar appozisyonları epidermisin ve korteksin interselüler alanlara fungal büyümenin sınırlandırılmasında ve vasküler içine doğru girişinin engellenmesinde oldukça etkin olduğu gözlenmiştir. Bitkiler aynı zamanda fungal invazyona, antimikrobiyal bileşikler sentezleyerek ve akümüle ederek karşılık verir. Her strainin bitki köklerini kolonize edebilme yeteneği bu bileşikler tolerans edebilme kapasitesi ile bağlantılıdır. *Trichoderma*'da bu rezistan, ABC taşıyıcı sistemlerinin varlığı ile ilişkilidir. Bu sistem potansiyel olarak toksik veya antagonistik bir ortamda *Trichoderma* biyo kontrol strainleri tarafından diğer mikroorganizmalar ile kurulan çoklu interaksiyonlarda anahtar faktördür. Bitkilerden salınan fenolik bileşiklerin hızlı degrade edilmesinde, fitoaleksinlerin üretiminin supresyonu da rol oynamaktadır [15]. Son zamanlarda yapılan proteomik bir çalışmada, farklı *Trichoderma* spp. lerde çeşitli bitki ve fungal patojenlerle interaksyonda, birçok sayıca ABC taşıyıcı genlerin upregüle edildikleri ve bunun da hem antagonistik aktiviteyi hem de kök kolonizasyonunu destekledikleri belirlenmiştir [16]. Ruocco et al (2009) tarafından, *Trichoderma* genusundan ilk kez ABC taşıyıcı geni tam olarak dizilenmiş ve karakterize edilmiş ve *Taabc2* olarak isimlendirilmiştir. *H. atroviridis*'in ABC taşıyıcı kodlayan genlerinin birinde gerçekleştirilen knock-out denemesinde, kontrol denemesine göre *R. solani*'nin biyokontrolünde düşüş olduğu, bu sonucun da mikoparazitizmde detoksifikasyon proseslerinde rolünü desteklediği de gösterilmiştir [17]. *Trichoderma* spp.'nin ekolojik başarısının altında yatan anahtar faktörlerden biri, ekzojen ve endojen toksik bileşiklere dayanıklılığıdır [18]. Bu funguslar, metil bromid ile sterilizasyon sonrası dahi, toprağı rekolonize edebilen ilk mikroorganizmalardır. Bu anlamda Entegre Zararlı Düzenlemesi Uygulamaları kapsamında fungal bitki hastalıklarının kontrolünde, biyolojik ve kimyasal metodların birleştirilmesinde önerilmektedir. Ayrıca, birçok ticari olarak uygulanan *Trichoderma* strainlerinin çeşitli fungusitler ile örneğin; Captan, Chlorothalonil, Iprodione, Thiophanate methyl, Mtalaxyl, Chloropyrifos, Vinclozolin gibi, uyumlu oldukları bildirilmiştir [17].

Trichoderma genusunun bazı izolatları iyi bilinen biyokontrol ajanları olarak birçok fungal patojene karşı örneğin; *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium* spp., *Pythium ultimum*, *Phytophthora* spp., *Armillaria* spp., *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* spp. ve *Gauemannomyces graminis* gibi, antagonistik kapasiteye sahiptir. Biyokontrolde en çok kullanılan türler, *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. polysporum*, *T. viride*'dir. Biyolojik ürünlerin büyük çoğunluğu *T. harzianum* (%83) ile kombine *T. viride* (%55) ve *T. koningii* (%28)'den oluşmaktadır [1].

Trichoderma strainleri birçok kök ekosisteminde gelişir. Kökten salgılanan müsijel tabakanın oldukça hidrate polisakaritleri ve bitki köklerinde rizosfere salgılanan mono ve disakaritler, fungusun büyümesini teşvikler. Bitkiden kaynaklanan sükroz, *Trichoderma* hücrelerine kök kolonizasyonunu kolaylaştırmada, savunma mekanizmalarının koordinasyonunda ve yaprak fotosentezinin artmasında önemli bir kaynak oluşturur. Kök

eksüdalarının kazanılmasında iş gören solut taşıyıcılar örneğin; di/tripeptid taşıyıcı ve bir permeaz/intraselüler invertaz sistemi *Trichoderma*'da tanımlanmıştır [15].

Trichoderma uygulamalarının, kök büyümesinin teşvik etmesi, aynı zamanda toprak üstü vejetatif büyümenin örneğin gövde uzunluğu ve kalınlığı, yaprak yüzeyi, klorofil içeriği ve verimi anlamında da dikkat çekici etkisi olduğu görülmüştür. Bu gözlemleri açıklayabilmek için birçok hipotez önerilmektedir. Örneğin; kimyasalların çözünürlüğü, metal bağlayabilme/elde edilebilirliği [siderofor üretimi], bitki tarafından besin alınımını arttırması, aynı zamanda fito hormonların da birlikte etkisi öneriler arasındadır. Fungus aynı zamanda çevreyi asitleştirerek de konukçu bitkiye yardımcı olur. *Trichoderma* zararsız bir şekilde köklerin dış yüzeyini kolonize ettiğinden, bitkinin sinyal yollarını aktive eden savunma mekanizmalarının dikkatini çeker. *Trichoderma* tarafından sağlanan bu dayanıklılık, patojene karşı daha hızlı ve güçlü yanıt verebilen savunma mekanizmalarının akışını tetikler [4].

1.2. *Trichoderma* metabolitleri, bitki yapısı ve metabolizmasına etkileri

Fungal metabolitler, bitkilerle interaksiyonlarda önemli rol oynar. Bitki patojenlerinin bir bölümü virülensliklerini [kısmen veya tamamen] konukçu-spesifik toksinlere borçludur. Analitik sonuçlara göre, *Trichoderma* spp., rapor edilen 100'den fazla bileşiğin profilik olarak üreticisidir. Bunlar içerisinde, düşük moleküler ağırlıklı non-polar bileşikler örneğin, pironlar, terpenoidler, steroidler ve poliketidler yer almaktadır. Diğer Askomisetler ile benzer olarak, non-ribozomal peptidleri örneğin; epipolythiodiozopiperazinleri [ETP' ler] ve sideroforları üretmektedir. Bu genusun bilinen üyeleri Peptaiboller olarak bilinen peptaibiyotiklerin bir alt grubunu da üretmektedir [19].

1.2.1. *Virulans faktörleri*

Bitkiler patojen-türevli molekülleri [elisitör veya virulans faktörleri de denilen] tanıdıkları zaman savunma cevapları tetiklenir. Patojenler bu savunma cevapları ile bitki tarafında tanınmadan veya konukçu savunmasını nötralize eden cevaplarla başarılı olur. Tanınmadan kaçış mekanizmasına en iyi örnek domates ve patojenik fungus *Cladosporium fulvum* arasında gösterilmiştir. Domates Cf dayanıklılık gen ürünleri, fungal virulans geni [Avr] ürünlerinin tanınması işini, 'gen-gen için' anlamında yönetir [20]. *Trichoderma* spp.'de ve aynı zamanda diğer mikoparazitik türlerde sekrete edilen birçok 'saldırgan' bileşik birçok sayıda farklı enzimleri [özellikle kitinazlar, glukanaazlar, proteazlar ve selülazlar], 200' den fazla antibiyotik ve mikotoksinleri içermektedir [21-24].

Proteom analizlerinde, 'Küçük sekrete sistein zengin proteinler' [SSCP], daha önce *Cladosporium fulvum*'dan tanımlanan virulans protein olan Avr4'ün homoloğu olarak, *T. harzianum* ve *T. atroviride*'den tanımlanmıştır [5]. *C. fulvum*'dan Avr4 virulans genini taşıyan *Trichoderma* transformantları, Cf4 rezistan genine sahip domates bitkilerinde, konstitütif ve indüklenbilir promotörlerin kontrolünde test edilmiştir. *Cladosporium*-domates interaksiyonunda beliren semptomlara benzer nekroz ve suberifikasyon zonları gözlenmiştir. Bu durum, *Trichoderma* strainlerinin metabolizmayı, hastalık dayanıklılığını belirgin şekilde etkileyen bitki moleküllerini transfer edebildiğini göstermiştir. Bu nedenle, bu yararlı funguslar kullanışlı bileşiklere sahip ürün çeşitlerinin elde edilmesinde biyoteknolojik araçlar olarak değerlendirilebilir. Ayrıca, *in vitro* kompetisyon testlerinde, transformantlar, yabani tipe göre *A. alternata* antagonistleri olarak çok efektif bulunmuşlardır [17].

Avr4'ün fungusları bitkisel kitinazların parçalayıcı etkisinde koruyabildikleri, bitki kitinazları ve β -1,3 glukanaazlarına karşı duyarlı *T. viride* ve *F. solani* f.sp. *phaseoli* strainleri ile gösterilmiştir. 0.3 μ M ChiI varlığında hemen tüm *T. viride* sporları 24 saat içerisinde parçalanırken, kitinaz ilavesinden önce Avr4 ilave edilmiş *T. viride* sporlarının büyümesi

Chi1'ye karşı korunmuştur. Avr4'ün kitine bağlanmasının, *Trichoderma*'yı bitkisel kitinazlara karşı koruyabileceği belirtilmiştir [20].

Önceden oluşturulmuş fiziksel ve kimyasal bariyerlere ilaveten, bitkiler mikroorganizmalardaki korunmuş yapısal özellikler ve domainleri tanıyabilecek bir immün sisteme sahiptir. Bunlara 'patojen veya mikroorganizma ilişkili moleküler patternler' adı verilmektedir (PAMP veya MAMP'ler). MAMP tetiklemiş bitki cevapları hızlı ve geçici olarak yönetilir. Erken MAMP cevapları plazma membranı boyunca iyon akışlarını içermektedir. Bugüne kadar birçok bitki-faydalı funguslarca üretilen MAMP üreticisi *Trichoderma* strainleri bulunmuştur [25]. İlk tanınan *Trichoderma* MAMP'ı, ET- indükleyen ksilanaz (Xyn2/Eix) olup, *Trichoderma* tarafından spesifik domates ve tütün kültürlerinde bitki savunma cevaplarının potansiyel elisitörü olarak üretilmektedir. Bitkilerce tanınan Eix epitopu, enzim aktivitesinde iş görmeyen 5 adet yüzeye maruz aminoasitten oluşmaktadır. *Trichoderma* aktifleştirilmiş veya ısı ile denatüre edilmiş selülozlar SA ve ET sinyal yozizlerinin aktivasyonu ile kavunda savunmayı kolaylaştırmaktadır. Kök kolonizasyonunda iş gören *Trichoderma* proteinleri aynı zamanda MAMP olarak da iş görmektedir. Swollenin TasSwo salatalık kökleri ve yapraklarında savunma cevaplarını teşvik eder ve fungus ve bakterilere karşı lokal korumayı sağlar. SSCP cerato-platanin aliesinin ortologları – *T. virens*' ten Sm1 ve *T. atroviride*' den Epl1- kolonizasyon sırasında hifte akümüle olur ve mısır ve pamukta MAMP olarak iş görür [15].

Kitin polisakaritleri de bitkilerde savunma cevaplarının elisitörleri olarak iş görür. Böyle oligomerlerin süpürülmesi fungal patojenler için konukçularını kolonizasyonunu takiben hayatidir [26]. Kitinin algılanması için bir mekanizma olarak bitkiler, istilacı fungusların hücre duvarlarından aktif polimerlerin açığa çıkmasını sağlayacak kitinazları geliştirmişlerdir. Bu şekilde savunma cevaplarını tetikleyebilmektedirler. Böylece, *Trichoderma* kitinazlarının mikotrofik aktivitesi kitooligosakaritlerin salınmasına ve indirekt olarak savunma mekanizmalarının indüksiyonuna katkı sağlayabilmektedir [15].

T. atroviride'nin endo (*ech42*) ve exo- (*nag70*) kitinazlarının elmada ko-ekspresyonu, *Venturia inaequalis*'te artmış rezistan ile korele edilmiştir. Benzer şekilde, iki kitinaz (*ech 42* ve *nag 70*) ve bir B-1,3- glukanaaz (*gluc78*) kodlayan pirinç transgenlerinin çoklu ekspresyonu, pirinçte *Rhizoctonia solani* ve *Magnaporthe grisea*'ya karşı artmış rezistan ile sonuçlanmıştır [27].

Trichoderma tarafında üretilen bazı sekonder metabolitler yüksek dozlarda antimikrobiyal etki gösterir fakat düşük konsantrasyonlarda MAMP' ler ve auxin benzeri bileşikler olarak iş görür. 1 ppm de 6- pentil piron, harzianolid ve harzianopiridon bitki savunma mekanizmalarını aktive eder ve bezelye, domates ve kanolada bitki büyümesini düzenler [6].

Primer metabolik prosesler açısından esansiyel olmamakla birlikte, mikroorganizmalar özellikle de funguslar, endüstriyel ve ekonomik öneme sahip çeşitli sekonder metabolitleri (SM) üretirler. SM' ler kimyasal olarak düşük moleküler ağırlığa sahip (< 3kDa), genellikle mikroorganizmalar ve bitkilerce üretilen, tipik olarak üretici genus, tür veya ırklar ile ilgili, değişik doğal bileşiklerdir. SM' ler özelleşmiş yol izlerinde örneğin Asetil CoA'dan türetilen mevalonat yozizleri veya aminoasitler gibi primer metabolitlerden üretilir ve bazı genler ile birlikte küme halindedir. Bu genlerin ekspresyonu bir veya birkaç global regülatör tarafından indüklenmektedir. SM' ler muhtemelen organizmanın yaşamsal fonksiyonları ile ilişkili çeşitli biyolojik aktiviteler gösterir örneğin; diğer mikro ve makroorganizmalara karşı yarışma, simbiyozis, metal transportu sayılabilir. Fungal SM' ler insan tedavisinde de, önemli ilaçlar olarak örneğin; antibiyotikler, immunosupresan (siklosporin), antihiperkolesterolemik ajanlar (lovastatin ve kompaktin) şeklinde kullanılmaktadır. Peptaibollerin mitokondriyal ATPaz inhibisyonunu, oksidatif fosforilasyonun ayrılmasını teşvik ettikleri, immunosupresyon,

platelet agregasyonunun inhibisyonu ve fungal morfojenезisi indükledikleri rapor edilmiştir [27, 28].

Funguslarda SM'lerin üretimi morfolojik farklılaşmanın spesifik safhalarına ve aktif büyümenin fazlarına korelasyon göstermektedir. Dağılım aralığı belirli sayıda türden tek bir straine göre değişiklik göstermektedir. Bu durum evrensel bir fonksiyonu olmadığını göstermektedir. Çeşitli biyolojik fonksiyonlar gösterirler ve organizmalar arasında etkileşimleri düzenlemede önemli rol oynarlar. Bazı örnekleri; fitotoksinler (bitkilere saldıran fungal patojenlerce üretilen SMLer), mikotoksinler (ürünleri kolonize eden funguslarca üretilen insan ve diğer hayvanlarda hastalık ve ölüme sebep olabilen SMLer), pigmentler (aynı zamanda antioksidan aktiviteye sahip renkli bileşikler) ve antibiyotikler (mikrobiyal kompetitörleri öldürme veya inhibe etme yeteneğine sahip doğal ürünler) dir. Bununla birlikte biyolojik aktiviteler spesifik bir grup veya tek metabolitler ile sınırlandırılmaz. SM'lerin bolluğu ve çeşitliliği, genomda bulunan biosentetik genlerin varlığına ve onların ekspresyonunu indükleyen koşullara bağlıdır. SM biosentezi, intrinsik veya eksternal koşullara cevaben açılıp kapanabilmektedir. Daha ilginç olarak, fungal SMLer, bitkilerin büyüme ve metabolizmasını modifiye edebilmektedir [29].

Çeşitli biyolojik aktivitelerde rol alan mikrobiyal metabolitler tahıl üretiminde önemli sonuçlara sahiptir. *F. graminearum* tarafından oluşturulan Buğday Kök Boğazı Çürüklüğü'ne karşı biyolojik ajanlar olarak *T. harzianum* ve *T. virens* strainleri ile yapılan çalışmada, *F. graminearum* B-63 strainin miselyal büyümesinin, *T. harzianum* ve *T. viride* strainleri tarafından üretilen volatil metabolitlerce sırasıyla %23,12 ve %43,22 oranlarında düşürüldüğü bildirilmiştir [30]. *T. harzianum*'dan elde edilen volatil ve non volatil bileşiklerin de biberlerde *Colletotrichum capsici* miselyal büyümesini kontrol grubuna göre %30-67 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir [31].

2.2.2. Peptaiboller

Peptaiboller, proteinojenik olmayan aminoasitlerce (ör; α - aminoisobütirik asit ve isovalin) zengin, lineer, N-terminal grup asetillenmiş, C ucunda aminoalkol bulunan (ör; fenilalaninol, valinol, lösinol, isolösinol veya triptofanol içeren), hücre degrade edici enzimlerle özellikle de kitinaz, glukanaz ve peptidazlar ile sinerjistik etki gösteren, özellikle toprak kökenli ve bitki patojenik türlerce mikroheterojen bir doğada yoğun olarak sentezlenen, membran modifiye edici veya por oluşturucu peptidlerdir [23,32]. 1966'da izolasyonlarından beri, hücre membranlarını parçalama yoluyla patojenlerle mücadelede anahtar molekül olarak tanımlanmışlardır. Antimikrobiyal ve anti-kanser özellikleri ile aynı zamanda mikrobiyal saldırıya karşı sistemik rezistansı indükleyebilme yeteneklerinden dolayı ticari ve ekolojik anlamda önemlidir. Lorito et al. konukçu fungusta β - glukan sentaz aktivitesini inhibe ettiklerini, *T. harzianum* β - glukanazları ile sinerjistik olarak etki ettiklerini göstermiştir. Glukan sentazın inhibisyonu, patojen hücre duvarlarının yeniden oluşturulmasını önlemiştir böylece β -glukanazın bozucu etkisini kolaylaştırmıştır. Peptaibiyotik ailesinin ilk üyeleri, Suzukacillin ve Alamethicin, 1960'ların sonlarında *Trichoderma* strainlerinden izole edilmiştir. En geniş çapta bilinen peptaibol *T. viride* Alamethicin'idir. Alamethicin, *T. viride* tarafından üretilen, her biri 20 aminoasit rezidüsü içeren 12 bileşikten oluşan bir karışımdır. Bu peptaibolün, lima fasulyesinde, homoterpenlerin ve metilsalisilatın üretimini kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Eksprese edilen bütün peptaibollerin spektrometrik yöntemlerle örneğin; LC/ESI-MS veya bütün hücre MALDI-TOF yöntemiyle analizi gerçekleştirilmektedir. Peptaiboller genellikle üretici strain ile isimlendirilir örnek olarak; atroviridin, harzianin, longibrachin, koningin verilebilir [33].

Büyük multifonksiyonel peptid sentetazlar olarak bilinen enzimler peptaibollerini biraraya getirir. *Trichoderma* genomlarında 18 ve 14 modülleri olmak üzere 2 peptaibol sentetaz

bulunmaktadır. Gen bozundurma kullanılarak, 18-modül peptaibol sentetaz *Tex1* in trichovirinII-tip-18 rezidü peptaibol üretiminden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Öte yandan, 14 modül enzimi *T. virens*'te 14-birim ve 11- birim rezidülü peptaibollerini birleştirir. Özellikle ilgi çekici olan tek bir sentetazın çok sayıda peptaibol üretebilmesidir. Örneğin, *T. virens*'in 14-modül NRPS'si, 11 ve 14 rezidülü en azından 88 non-ribozomal peptid üretmektedir [34]. Bu peptidlerin birçoğu yeni form olarak bulunmuştur. Bu durum da, zirai ve ticari uygulamalar için ticari yararlanmada çok sayıda fırsat çeşitliliğinin olduğunu göstermektedir [19].

Peptaiboller amfipatik doğadadır ve membranlarda voltaj-bağımlı iyon kanalları oluşturmak üzere kendi kendilerine biraraya gelirler. Bu yetenek, genellikle bu bileşiklerin antibiyotik özelliklerinin altında yatan temel sebeptir. Peptaibiyotikler ve onların üreticileri sadece akademik araştırmacılar anlamında değil, aynı zamanda endüstride, pazarlanan antibiyotiklere direnç ve bitki korumada sentetik pestisitlere alternatif kullanım kaynakları olarak da ilgi çekmektedir. O zamandan beri sürekli olarak artan sayıda peptaibiyotik belirlenmiş, tanımlanmış ve yakın zamanda 'Kapsamlı Peptaibiyotik Veritabanı-Comprehensive Peptaibiotics Database'de özetlenmiştir [32]. Bu ücretsiz olarak elde edilebilir veritabanı geçerli olarak 1043 peptaibiyotik bilgisi içermektedir. Peptaibiyotik bilgisi olarak peptid kategorisi, peptidin ait olduğu grup ismi, aminoasit sekansı, sekans uzunluğu, üreticisi fungus, peptid yapısal formülü, moleküler formülü ve monoizotopik kütle verilmektedir. Tahminlere göre yaklaşık olarak Dünya üzerinde 1,5 milyon fungal türün olduğu, bunun ancak 90 bininin şu ana kadar tanımlanabildiği bildirilmiştir. Özellikle Dünya üzerinde keşfedilmemiş bölgelerde ve ekolojik nişlerde yeni fungal türlerin keşfi ve karakterizasyonları ile yeni üreticiler, yeni bileşenler ve dolayısıyla yararlı biyomoleküller ortaya çıkarılabilme potansiyeli oldukça yüksektir [35].

T. virens'ten Trichovirin II peptaibolünün rolü, salatalık bitkilerinde gösterilmiştir. *Tex 1* geni bozulmuş mutantlarla büyüyen bitkiler, foliar patojenlere karşı düşük sistemik rezistan ve düşük fenolik bileşik üretimi göstermiştir. Ayrıca 2 izoformu, sistemik korumayı indükleyebilmiş ve savunma genlerinin üst regülasyonunu gerçekleştirebilmiştir. Bu bileşikler, patojen yapılarına girişi teşvik eden hidrolitik enzimlerle sinerjistik etki gösterebilir, bu durum da bitki patojenlerinin antagonizminde rolü olduğunu düşündürmektedir [21].

1.2.3. Poliketidler

Poliketidler, birçok organizma ve aynı zamanda filamentöz funguslarca üretilen SMLerden bir gruptur. Birçok poliketid klinik açıdan antimikrobiyal, anti kanser ve immunosupresif özellikleri nedeniyle önemlidir. Bunun dışında, üretici organizma açısından, substrat için rekabeti ve organizmalar arası iletişimi kolaylaştırdığından dolayı önemlidir [36]. *Trichoderma* genomları PKSler açısından zengindir. gliP ve diğer sekonder metabolizma-İlgili genler gibi, *T. virens*'te PKSler velvet protein kompleksi Vel1 ile regüle edilir PKS geninin mikoparazitizmdeki muhtemel rolü gösterilmektedir [37].

Poliketid sınıfına dahil 10 üyeli laktonlar, Malimerca, ve ark. tarafından (2015), *tri-5* geni bozulmuş *T. arundinaceum* mutantından izole edilmiştir. Mikroorganizma yabani-tip strainde saptanamayan Aspinolid B ve C ve 4 yeni aspinolid üretmiştir. Aspinolid C *B. cinerea* ve *Fusarium sporotrichoides*'e karşı antibiyotik etkiye sahiptir, Aspinolid B'nin bu iki bitki patojenine karşı bir aktivitesi gösterilememiştir Aspinolid B nin 50 µg/ml oranında domates tohumları ile muamele edilmesi yan köklerin proliferasyonunu indüklemişken, Aspinolid C'nin kontrole göre yan köklerin sayısında ve filizlerin boyunda önemli bir düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Aspinolid C'nin daha yüksek konsantrasyonları [250 µg/ml] bitkinin gelişiminde önemli bir indirgemeye neden olmuştur. Sonuç olarak Aspinolid C domateste domates savunma ile ilgili genlerin aktivasyonunda rolü olan SA- ilgili genlerin ekspresyonunu indüklemiştir [2].

6-pently-2H-pyran-2-on (6-PP) farklı *Trichoderma* türlerinin kültür filtratlarından genellikle saflaştırılmış olan bir metabolittir. Akseni olarak geliştirilmiş kolonilerde açığa çıkan Hindistan cevizi aromasından sorumlu, biyokontrol açısından en çok çalışılmış SMLerden biridir [6]. 6PP'nin hem *in vivo* hem *in vitro* antifungal aktiviteleri gösterilmiştir. Bitki büyüme teşvik edici aktiviteleri bulunmaktadır. 6-PP için biyosentetik yolu tam olarak aydınlatılamamıştır. Fakat *T. atroviride*'ye özgü lipooksijenaz geni içerilmektedir Bu bileşik *R. solani*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *B. cinerea* ve *F. moniliforme*'ye karşı geniş çapta antimikrobiyal karakteristikler göstermiştir. Cytosporon S *in vitro* olarak çeşitli bakterilere ve funguslara karşı antibiyotik aktiviteli olarak gösterilmiştir [12].

1.2.4. Peptidler

Gliotoksin ve Gliovirin ETP peptid sınıfına aittir. Gliotoksin, *Trichoderma*'dan tanımlanan ilk metabolittir. Fungistatik bir molekülür ve *Rhizoctonia* antagonizminde belirtilmiştir. Toprak kökenli fungal patojenlerin biyo kontrolünde oldukça dikkat çekmiştir. Bununla birlikte, kültürel ve çevresel koşullarda biyo kontrolde önemine dair karşıt görüşlü raporlar bulunmaktadır. Buna rağmen, oldukça güçlü bir antimikrobiyal olarak, gliotoksinin doğal koşullar altında mikrobiyal rekabetteki önemi göz ardı edilemez. Gliotoksin, *T. virens*'in 'Q' strainlerince üretilir ve *T. virens*'in 'P' strainleri ile *T. atroviride*'de bulunmaz. Gliotoksin üretemeyen *T. viride* 'P' strainleri, onun yerine Gliovirin üretmektedir. Gliovirin, antimikrobiyal etkiye sahip bir diğer ETP bileşiğidir. Fungistatik ve antikanser steroidal bileşik olan Viridin, *T. virens*'in hem 'P' hem 'Q' strainlerince üretilmektedir. Deneysel bulgular Viridinlerin, furanosteroidlerin bir grubu olduğunu, *T. virens* tarafından Viridiol'e indirgeniğini ve Viridiolün herbisidal özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir. Terpenoidlere ilaveten diğer uçucu metabolitler katı-faz mikroekstraksiyon ile *T. atroviride* kültürlerinden saptanmıştır *Trichodermin* *T. brevicompactum* tarafından üretilen oldukça fungitoksik ve fitotoksik terpenoid bir toksindir. Üretiminden sorumlu olan gen *Trichodien sentaz (tri5)* geninin aşırı ekspresyonu *T. brevicompactum*'da *Trichodermin*'in aşırı üretimi ile sonuçlanmıştır [38].

Fungal SM üretimi genellikle aseksüel sporulasyon ile koreledir. Işık sinyalleri, 'velvet' kompleksi ve baş regülatör *LaeA Aspergillus*'ta konidiasyon ve sekonder metabolizmayı birlikte regüle etmektedir. *T. virens*'te *vel1* geninin rolü knockout mutantlarla çalışılmıştır. *vel1*'in delesyonu katı ortamda konidyumların, zengin ortamda klamidiosporların üretimini bozmuştur. *vel1* ayrıca *gliP* geninin biyosentezinde ve diğer sekonder metabolizma genlerinin düzenlenmesinde iş görmektedir [19].

1.3. *Trichoderma*'da çevresel koşullara uyum ve dayanıklılık

Trichoderma toprak besleyicilerini taşıma ve alma kapasitesi açısından daha güçlüdür ve bu durum onu diğer toprak mikroorganizmalarından daha etkin ve yarışmacı yapmaktadır. Bu proses aynı zamanda organik asitlerin örneğin; glukonik, sitrik ve fumarik asitler gibi, üretimleri ile de ilgilidir ve toprak pH'ını düşürerek fosfatların, demir, manganez ve magnezyum gibi mineral katyonların ve mikronutrientlerin çözünürleşmesine imkan verir. Mikrobiyal aktivitelerin yoğun olduğu özellikle rizosfer çevresinde mikrobiyal rekabette demir kazanımı önemli bir bileşendir. Hücre içi siderofor Ferricrocin demirin depolanmasından sorumludur ve oksidatif streten hücrelerin korunmasında rol oynar [39]. Sideroforlar demir sınırlaması olduğunda ($<10^{-6}$ mol/L) Fe^{3+} 'ya bağlanabilen ve böylelikle diğer fungusları durdurarak etki gösteren taşıyıcı proteinlerdir [40]. Siderofor salgılayabilen mikroorganizmalar, demirce fakir doğal ortamlarda rezidüel olarak demiri kullanarak büyüme özelliğine sahiptir. Birçok fungus çeşitli sideroforlar üretir ve bu olumsuz koşullarla başa çıkabilir. Mikrobiyal sideroforların üretimi bitkiye 2 yönlü fayda sağlayabilir: (i): sideroforlar bitki için elde edilebilir olmayan demiri çözünürleştirir (ii): patojen olmayan

mikroorganizmalarca siderofor üretimi bitki patojenlerinin büyümesini, demir kaynaklarından onları mahrum bırakarak suprese edebilir [41].

İntrasellüler siderofor Ferricrocin, demirin depolanmasından ve hücrelerin oksidatif stresten korunmasında rol oynamaktadır. *Trichoderma* spp.'nin fusigen ve koprogen ailelerinin ekstrasellüler sideroforları ürettiği bilinmektedir. *Trichoderma virens* ve *T. reesei*'nin her ikisinin 2 putatif gen kümeleri içerdikleri ve ortologlarının (*sidD* ve *NPS6*) siderofor biyosentezinde rol oynadıkları bilinmektedir. Öte yandan, *T. atroviride* genomu, sadece *NPS6* ortologunu içerir. Bu ekstrasellüler sideroforların biyokontrol özelliklerindeki rolleri, mikrobiyal rekabet ve biyokontrolde siderofor-yardımlı demir kazanımının önemini aydınlatmaya yardımcı olacaktır. Demir için bu rekabetin, *T. asperellum* tarafından *Fusarium* domates solgunluğunun kontrolünde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir [42].

1.4. *Trichoderma* formülasyonları ve tarımsal üretimde kullanımları

Uluslararası pazarlarda piyasaya sunulan *Trichoderma* içeren ürünler, 250'den fazla olup son beş yılda eksponansiyel bir şekilde büyümektedir *Trichoderma* biyolojik formülasyonları dünya çapında bütün coğrafik bölgelerde büyük bir dağılım göstermektedir. Asya pazarında, *Trichoderma* biyolojik ürünlerinin %90'ını Hindistan üretmektedir. Ancak bunların sadece %1'i mikrobiyal fungusit olarak kayıtlıdır [1]. Bu ürünler hastalıkların gelişimini azaltır, bitki büyümesini stimüle eder, stres rezistansını artırır ve gübreleşmeyi hızlandırıcı etki gösterir [4]. Azaltılmış dozda fungusit ile birlikte uygulamaların bitki sağlığını koruyucu ve arttırıcı etkileri olduğu, kültivasyon maliyetlerini önemli ölçüde aşağı çektiği ve çevresel anlamda pozitif etkilerinin olduğu da vurgulanmaktadır [43, 44]. Uygulamada canlı fungal sporlar çeşitli formülasyonlarda, yüzeysel spreyleyler ile, ekim öncesi uygulamalarla, budama sonrası muamelelerle, tohumlama sırasında ilaveler ile, sulama ile veya kök drenajı gibi hem geleneksel hem yenilikçi yaklaşımlarla birleştirilerek yapılabilmektedir.

Trichoderma'nın tarımsal üretimde kullanımı ticari pazarlarda yer alan ürünlerle sınırlı değildir. Fungal sporlar katı kültür fermentasyon yöntemiyle steril pirinç, mısır ve diğer tanelerde üretilebilir ve daha sonra ürünlere veya toprağa *Trichoderma* ile kolonize olmuş substratın kullanımı ile direkt olarak uygulanabilir yada sporlar elenerek ve suda tekrar süspand edilerek uygulanabilir. Birçok *Trichoderma* formülasyonları ıslatılabilir tozlar şeklinde ticarileştirilmiştir. İkinci olarak en sık kullanılan formülasyon, granüler daha sonra ise sıvı ve *Trichoderma* sporlanıncaya kadar büyümesine destek olacak katı substratı da içeren formülasyonlar gelmektedir. Bir diğer teknik *Trichoderma*'nın sıvı kültürde üretimini içerir. Burada sporlar, miselyum, litik enzimler, metabolitler vd. gibi fungal bir karışım direkt olarak biyolojik kontrol için tarlaya uygulanır. Venezuela ve Küba gibi bazı ülkelerde *Trichoderma* temelli ürünlerin kullanımı ve geliştirilmesi hükümet destekli ve resmi olarak teşviklenen bir tarımsal uygulamadır [1].

Biyokontrol ürünlerinin sunulması, modern teknolojileri içeren araştırmalar ile örneğin; kitinaz aktivitesi ekspresyonu arttırılmış Yeşil Floresan protein (GFP) mutantlarının oluşturulması gibi, ilerletilmektedir. Günümüzde *Trichoderma* temelli biyokontrol ürünlerinin geliştirilmesi, daha geniş çapta sebzelerin örneğin soğan, havuç, yonca, kırmızı pancar, dereotu, turp gibi kapsamlı korunmasında ve daha küçük çapta da zirai ürünler korunmasında yer almaktadır [9].

Ülkemiz Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü Bitki Koruma Ürünleri Daire Başkanlığı veri tabanında belirtildiği üzere (<https://bku.tarim.gov.tr/>), *Trichoderma asperellum* ırk ICC 012 ve *T. gamsii* ırk ICC 080 aktif içeriğe sahip ithal ürünün, fungusit olarak biber, çilek, domateste ruhsatlı kullanımına izin verilmektedir. 2009 yılında, bitki koruma ürünlerinin piyasaya arzı ile ilgili 1107/2009 No'lu düzenleme ve 'Kimyasal mücadeleye alternatif teknikler ve entegre mücadele yöntemlerinin kullanımının teşviki ile

pestisitlerin sürdürülebilir kullanımını' sağlamak ile ilgili olan 2009/128/EC No'lu direktifin yayınlanması Avrupa Birliği'nde bir dönüm noktası olmuştur [3].

Bu mevzuatların yürürlüğe girmesi pestisit kullanımı ile ilgili riskleri azaltmak için alternatif yaklaşım ve teknikleri kapsayan "Entegre Mücadele Yönetiminin" benimseneceği anlamındadır. Bu yeni politikanın belirlenmesi ile birlikte Avrupa Birliği'nde "Pestisit Riskleri ve Kullanımının Azaltılmasına" yönelik çalışma ve araştırmaların ön plana geçeceği düşünülmektedir.

Ekonomik anlamda ticari pazarda rekabetçi olabilmek, kimyasal ürünlere eşdeğer veya daha üstün etkinliğe sahip olabilmek için, *Trichoderma*'nın yeni formülasyonlarının geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Endüstriyel üretim maliyetleri, gelişmiş katı ve sıvı fermantasyon prosesleri kullanılarak önemli derecede düşürülebilir. Gıda üretim ve işleme endüstrilerinden geri dönüştürülen materyallerden veya pirinç gibi düşük maliyetli taneler üzerinde fungal spor üretimi, yüksek teknolojik ekipmanlara, yüksek kalifiye işçilere ve kompleks araçlara gerek kalmadan gerçekleştirilmektedir. Bu üretimlerin, tarımsal üretimi sınırlandıran patojenlerle mücadelede ve bitki gelişimine yardımcı olmada, biyoaktif metabolitlere dayanan yeni pestisitler ve biofertilizerlerin gelişime katkı sunmasına yardımcı olacağı görülmektedir.

2. SONUÇ

Yapılan çalışmalar *Trichoderma* orjinli bileşiklerin, *Trichoderma*-patojen interaksiyonunda antifungal, aynı zamanda bitki büyüme promotorları olarak davrandıklarını göstermiştir. Bitki metabolizmasını etkileyen böyle bileşikler, yararlı mikroorganizmalar ve diğer mikroorganizmalarla rizosferde kurulan bu birliktelikler, çevresel etkileşimlerde önemli rol oynayabilmektedir. Kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı, medikal, farmasötik ve zirai amaçlarla kullanım alanlarına sahip, antibiyotiklerden uçucu ve uçucu olmayan bileşiklere kadar geniş bir aralıkta çeşitlilik gösteren SM'lerin çeşitliliği ve üretim miktarları, genomdaki biyosentetik genler ve onların ekspresyonunu indükleyecek koşullar ile bağlantılıdır.

3. KAYNAKÇA

- [1] Woo SL, Ruocco M, Vinale F, Nigro M, Marra R, Lombardi N, Pascale A, Lanzuise S, Manganiello G, Lorito M (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycol J*, 8 (Suppl.-1, M4): 71-126.
- [2] Vinale F, Strakowska J, Mazzei P, Piccolo A, Roberta M, Lombardi N, Manginello G, Pascale A, Woo SL, Lorito W (2016). Cremenolide, a new antifungal, 10 member lactone from *Trichoderma cremeum* with plant growth promotion activity. *Nat Prod Res*.
- [3] Canik F, Yürekli Yüksel N (2012). Gıda güvenliği ve pestisitler. *Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü TEPGE Bakış*, 14: 1-4.
- [4] Harman GE (2000). Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis* 84: 377-393.
- [5] Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol*, 2: 43-56.
- [6] Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Barbetti M.J, Li H, Woo SL, Lorito M (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiol Mol Plant Pathol*, 72: 80-86.

- [7] Szekeres A, Leigteb B, Kredics L, Antal Z, Hatvan L, Manczinger L, Vagvolgyi C (2005). Peptaibols and related peptaibiotics of *Trichoderma*. Review. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 52: 137-168.
- [8] Harman GE (2011). *Trichoderma*- not just for biocontrol anymore. *Phytoparasitica*, 39: 103-108.
- [9] Blaszczyk L, Siwulski M, Sobieralski K, Lisiecka J, Jedryczka M (2014). *Trichoderma* spp.- application and prospects for use in organic farming and industry. *J of Plant Prot Res*, 54: 310-317.
- [10] Shi M, Chn L, Wang XW, Zhang T, Zhao PB, Song XY, Sun CY, Chen XL, Zhou BC, Zhang YZ [2012]. Antimicrobial peptaibols from *Trichoderma pseudokoningii* induce cell death in fungal pathogens. *Microbiol*, 158: 166-175.
- [12] Kubicek CP, Herrera-estrella A, Seidl-Seiboth V, Martinez DA, Druzhinina IS, Thon M, Zeilinger S, Casas-Flores S, Horwitz BA (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biol.*, 12 [4]: R40.
- [13] Kredics L, Antal Z, Manczinger L, Szekeres A, Kevei F, Nagy E (2003). Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technol Biotech.*, 41: 37-42.
- [14] Poosapati S, Ravupalli PD, Tippirishetty N, Viswanathaswamy DK, Chunduri S (2014). Selection of high temperature and salinity tolerant *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Sclerotium rolfsii*. *SpringerPlus*, 3: 641-652.
- [15] Hermosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E (2012). Plant beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiol*, 158: 17-25.
- [16] Marra R, Ambrosino P, Carbone V, Vinale F, Woo SL, RuoccoM, Ciliento R, Lanzuise S, Ferraioli S, Soriente I, Gigante S, Turrá D, Fogliano V, Scala F, Lorito M (2006). Study of the three-way interacton between *Trichoderma atroviride*, plant fungal pathogens by using a proteomic approach. *Curr Genet* 50: 307-321.
- [17] Ruocco M, Lanzuise S, Vinale F, Marra R, Turrá D, Woo SL, Lorito M. (2009). Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*: the role of an ABC transporter membrane pump in the, Laz interaction with different plant-pathogenic fungi. *Mol Plant Microbe Interact* 22: 291-301.
- [18] Lorito M, Mach RL, Sposato P, Strauss J, Peterbauer CK, Kubicek CP (1996). Mycoparasitic interacton relieves binding of the Cre1 carbon catabolite repressor protein to promoter sequences of the *ech42* [endochitinae encoding] gene in *Trichoderma harzianum*. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 14868-14872.
- [19] Mukherjee PK, Horwitz BA, Kenerley CM (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma*- a genomic perspective. *Microbiology +* 158: 35-45.
- [20] Van den Burg HA, Harrison SJ, Joosten MHAJ, Vervoort J, de Wit PJGM (2006). *Cladosporium fulvum* Avr4 protects fungal cell wall against hydrolysis by plant chitinases accumulatin during infection. *MPMI* 19: 1420-1430.
- [21] Viterbo A, Wiest A, Brotman Y, Chet I, Kenerley C (2007). The 18 mer peptaibols from *Trichoderma virens* elicit plant defense repsonses. *Mol Plant Pathol* 8: 737-746.
- [22] Mendoza-Mendoza A, Pozo MJ, Grzegorski D, Martinez P, Garcia JM, Olmedo-Monfil V, Cotes C, Kenerley C, Herrega-Estrella A (2003). Enhanced biocontrol activity of

- Trichoderma* through inactivation of a mitogen-activated protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:15965-15970.
- [23] Benitez T, Rincon A, Limon M, Codon AC (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int Microbiol* 7: 249-260.
- [24] Daniel JF, Filho ER (2007). Peptaibols of *Trichoderma*. *Nat Prod Rep* 24: 1128-1141.
- [25] Lorito M, Woo SL, Harman GE, Monte E (2010). Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to field. *Annu Rev Phytopathol* 48: 395-417.
- [26] De Jonge R, van Esse HP, Kombrink A, Shinya T, Desaki Y, Bours R, van der Krol S, Shibuya N, Joosten MH, Thomma BPHJ (2010). Conserved fungal LysM effector Ecp6 prevents chitin-triggered immunity in plants. *Science* 329: 953-955.
- [27] Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Woo SL, Nigor M (2014). *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *Open Mycol J* 8 (suppl-1): 127-139.
- [28] Herbert RB (1989). *The biosynthesis of secondary metabolites*. 2nd Ed. London: Chapman & Hall.
- [29] Vinale F, Ghisalberti EL, Sivasithamparam K, Marra R, Ritieni A, Ferracane R, Woo S, Lorito M (2009). Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during interaction with different plant pathogens. *Lett Appl Microbiol* 48: 705-711.
- [30] Foroutan A (2013). Evaluation of *Trichoderma* isolates for biological control of wheat *Fusarium* foot and root rot. *Rom Agr Res* 30: 35-44.
- [31] Ajith PS, Lakshmidhevi N (2010). Effect of volatile and non-volatile compounds from *Trichoderma* spp. against *Colletotrichum capsici* incitant of anthracnose on bell peppers. *Nature and Science* 8 [9]:265-269.
- [32] Stoppacher N, Neumann NK, Burgstaller L, Zeilinger S, Degenkolb T, Brückner H, Schuhmacher R [2013]. The comprehensive peptaibiotics database. *Chem Biodivers* 10: 734-743.
- [33] Kredics L, Szekeres A, Czifra D, Vagvölgyi C, Leitgeb B (2013). Recent results in Alamethicin research. *Chem & Biodiv* 10: 744-771.
- [34] Mukherjee PK, Wiest A, Ruiz N, Keightley A, Moran-Diez ME, McCluskey K, Pouchus YF, Kenerley CM (2011). Two classes of new peptaibols are synthesized by a single non-ribosomal peptide synthetase of *Trichoderma virens*. *J Biol Chem* 286: 4544-4554.
- [35] Degenkolb T, Brückner H (2008). Peptaibiotics: Towards a myriad of bioactive peptides containing C-Dialkylamino Acids. *Chemistry & Biodiversity* 5: 1817-1842.
- [36] Khosla C (2009). Structures and mechanisms of polyketide synthases. *J Org Chem* 74: 6416-642.
- [37] Mukherjee PK, Kenerley CM (2010). Regulation of morphogenesis and biocontrol properties in *Trichoderma virens* by a VELVET protein, *Vel1*. *Appl Environ Microbiol* 76: 2345-2352.
- [38] Tijerino A, Cardoza, RE, Moraga J, Malmierca MG, Vicente F, Aleu J, Collado I, Gutierrez S, Monte E, Hermosa R (2011). Overexpression of the Trichodiene Synthase gene *tri5* Increases Trichodermin Production and Antimicrobial Activity in *Trichoderma brevicompactum*. *Fungal Genet Biol* 48: 285-296.

- [39] Wallner A, Blatzer M, Schrett M, Sarg B, Linder H, Haas H (2009). Ferricrocin, a siderophore involved in intra and transcellular iron distribution in *Aspergillus fumigatus*. *Appl Environ Microbiol* 75: 4194-4196.
- [40] Schuhmacher R, Lehner S, Zeilinger S, Stoppacher N, Krska R (2010). *Determination of Extracellular Siderophores of Trichoderma atroviride by High Resolution Liquid Chromatography- Mass Spectrometry*. In: 'Trichoderma molecular mechanisms and applications of biocontrol in agriculture', Symposium; 12-15.10. Technion, Haifa, Israel.
- [41] Tjamos EC, Papavizas GC, Cook RJ (1992). Biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future. Plenum Press, New York.
- [42] Zeilinger S, Gruber S, Bansal R, Mukherjee PK (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma*- Chemistry meets genomics. *Fun Biol Rew* 30: 74-90.
- [43] Monte E (2001). Understanding *Trichoderma*, between biotechnology and microbial ecology. *Int Microbiol* 4:1-4.
- [44] Dubey SC, Suresh M, Singh B (2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biol Control* 40:118-127.

SUMMARY

Purpose

Conventional agriculture/crop production is based on the use of chemical pesticides in order to control plant diseases and pathogens. However, these applications may have adverse effects from the point of end-users, pollinators, inhibition of beneficial predator/parasitoids and helpful microbial communities.

Microbial biocontrol agents/biopesticides have emerged as an alternative to chemical pesticides to solve/prevent these problems. They are marketed as biopesticides, biofertilizers, plant growth stimulators and native immunity supplements. Among these *Trichoderma* based preparations are marketed worldwide for the crop protection against to several plant pathogens also to enhance the yield and growth of the plants.

Microorganisms particularly fungi, produce secondary metabolites which are not essential in primary metabolic processes but have industrial and economic importance. These metabolites are natural compounds which have low molecular weights [$<3\text{kDa}$], produced by microorganisms and plants and related to genus, species and race.

Results

Genus *Trichoderma*, from phylum *Ascomycota* order *Hypocreales* is a rhizo-competent fungus that has a worldwide distribution. *Trichoderma* species are well known to produce secondary metabolites including volatile and non-volatile compounds such as pyrones, terpenoids, steroids and polyketides and a group of antibiotics that are called peptaibiotics which have different antagonistic activities against to pathogens.

Since 1930's the members of this genus are known as biocontrol agents against to plant diseases and widely used in agriculture in both developed and developing countries since 1990's. The pathogens that against to are *Botrytris cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*,

Sclerotium spp., *Phythium ultimum*, *Phytophthora* spp, *Armillaria* spp., *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* spp. and *Gauemannomyces graminis*. However, their action mechanisms and potential applications are not known fairly.

Discussion

In order to the compete in commercial market and also to have equivalent to/superior features than chemical formulations, there is a demand for the development of new formulations. Industrial production costs can be fairly reduced by using developed solid and submerged fermentation systems. Using recyclable materials from food production and processing industries or on the low cost substrates such as rice grains, fungal spores can be produced without using developed equipments or qualified workers. These processes can be helpful to the development for challenging to the pathogens and also to support to development of new pesticides and biofertilizers that base on bioactive metabolites.