



## Bitki Fungal Hastalıklarıyla Biyolojik Savaşta *Trichoderma*'lar

Mehmet Hadi AYDIN\*

Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Siirt, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 15.06.2015

Kabul Tarihi/Accepted: 05.08.2015

\*Sorumlu Yazar/Correspondence: hadiydin@siirt.edu.tr

**Özet:** Tarımda kullanılan kimyasal pestisidlerin neden olduğu çevre kirliliği ve kalıntı sorunları gibi nedenlerden dolayı, bitki hastalıklarıyla mücadelede alternatif yöntemlerin bulunması bir zorunluluk haline gelmiştir. Biyolojik mücadele kimyasal mücadeleye alternatif olarak geliştirilmiştir. *Trichoderma*'lar biyolojik mücadelede en çok kullanılan antagonistler olarak bilinmektedir. Doğada hemen hemen tüm toprak ve doğal habitatlarda ve özellikle organik madde içeren alanlarda bulunmaktadır. Bitki patojenlerine karşı mikoparazitizm, antibiyotik üretimi, yer-besin için yarışma ve bitkide gelişimi teşvik etme şeklindeki mekanizmaları kullanmaktadır. Günümüzde üzerinde en fazla araştırma yapılan konulardan biri haline gelmiştir. Bununla birlikte çok sayıda ticari preparat geliştirilip, bitki patojenlerine karşı kullanılmaktadır. Bu makalede, *Trichoderma*'nın bitki hastalıklarıyla mücadeledeki önemi, antagonistik özellikleri, etki mekanizmaları üzerinde durulmuş ve bu konu ile ilgili Türkiye'de ve Dünya'da yapılan bazı çalışmalardan örnekler verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyolojik mücadele, bitki patojenleri, *Trichoderma* spp.

## Biological Control of Fungal Plant Diseases with *Trichoderma*

**Abstract:** Chemical pesticides used in agricultural cause both environmental pollution and pesticide residues. So there is a necessity of alternative methods in the struggle against plant diseases. Biological control has been developed as an alternative to chemical control and used increasingly in recent years. *Trichoderma* is known as the most widely used antagonists in biological control and has almost all the land and natural habitats in nature especially in areas containing organic substance. The advantages for the associated plant include the suppression of pathogens by using a variety of mechanisms (*i.e.*, antibiosis, parasitism, competition for nutrients, *etc.*), the promotion of plant growth and the improvement of host resistance to both biotic and abiotic stresses. Therefore, scientists have made most research on this topic and developed many commercial products to be applied against plant pathogens. In this article, It is highlighted the importance of *Trichoderma* against plant diseases and how to use mechanisms of action. Also some scientific article reviewed both in Turkey and in the World and given some example related to this topic.

**Keywords:** Biological control, plant pathogens, *Trichoderma* spp.

### 1. Giriş

Bitki hastalıklarıyla mücadelede en çok kullanılan yöntem, kimyasal ilaçların kullanılması şeklindedir. Bu pestisidler, çevre ve tüketiciler üzerinde bazı olumsuz etkiler meydana getirebilmektedir. Kimyasal metodlar aynı zamanda ekonomik de sayılmazlar; en nihayetinde atmosferi kirlenme, çevreye verdikleri zarar, zararlı kalıntı bırakma ve hedef organizmalara karşı

sürekli kullanılmasıyla dayanıklı ırklarının oluşmasına neden olurlar (Delen, 1991). İşte bütün bu nedenlerden dolayı tarımda sentetik pestisidlerin azaltılması veya mümkünse elemine edilmesi arzu edilen bir amaç haline gelmiştir. Bu amaca ulaşmak için en ümitvar araçlardan biri de, biyolojik kontrol ajanlarını (BKA) tek başına veya farklı araçlarla birlikte hastalıklarla mücadelede kullanılması ve çevre üzerinde kimyasalların etkisini en aza indirmektir (Bora ve Özaktan,

1998). Günümüzde birçok BKA ticari ürün olarak ruhsatlandırılmış ve tarımda kullanılmaktadır. Bu BKA içinde *Trichoderma*'larda önemli bir yer tutmaktadır.

*Trichoderma* türleri, Dünya'nın her tarafında geniş bir şekilde yayılmış olup, hemen hemen tüm toprak ve doğal habitatlarda bulunmaktadır. Bu fungus çeşitli bitkilerin kök yüzeylerinden, çürüyen kabuktan, sklerotlardan veya fungusların diğer üreme organlarının üzerinden izole edilebilmektedir (Papavizas, 1985). Günümüze kadar 90'nın üzerinde *Trichoderma* türü belirlenip teşhis edilmiştir (Druzhinina ve Kubicek, 2005; Samuels, 2006). Bu genusun tarım açısından önemi, bazı *Trichoderma* türlerinin *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Sclerotinia* türleri gibi bitki patojenlerine karşı iyi bir antagonistik yeteneğe sahip olmasından ileri gelir. Antagonistik etki *Trichoderma*'lar tarafından antifungal metabolitlerin üretimi, besin ve yer için yarışma ve mikoparazitlik gibi farklı mekanizmalar tarafından olur (Kredics ve ark., 2003).

Genelde biyolojik savaş ajanları özelde de *Trichoderma*'lar üzerine günümüzde çok sayıda çalışmalar yürütülmektedir. Yine çok sayıda ticari preparatlar geliştirilerek tarımın hizmetine sunulmaktadır. Bu derleme çalışmasının amacı, *Trichoderma*'ların bitki hastalıklarıyla mücadeledeki önemini, konu ile ilgili Türkiye'de ve Dünya'da yapılan bazı çalışmalarla ortaya koymaktır.

## 2. Antagonist Olarak *Trichoderma*'lar

### 2.1. *Trichoderma*'ların biyolojik savaşta tarihsel gelişimi

*Trichoderma*, 1794 yılında Almanya'da genus düzeyinde Persoon tarafından teşhis edilmiş ve 4 tür belirlendiğini belirtmiştir. Ancak bu dört türden sadece *Trichoderma viride* günümüzde *Trichoderma* türü olarak kabul edilmektedir. Daha sonra 1960'lı yıllarda Rifai, *Trichoderma*'lar üzerinde yoğun bir çalışma yapmıştır. *T. harzianum* dâhil toplam 9 tür belirlemiştir. 1984-92 yılları arasında Bissett, Rifai'den sonra onun çalışmalarına kaldığı yerden devam etmiş ve toplam 9 türü de kendisi belirlemiştir. Moleküler yöntemlerin fungusların teşhisinde kullanılmasıyla 1990'lı yılların başından itibaren çalışmalar hızlanmıştır. Samuels (2006), Lieckfeldt ve ark. (1998)'a atfen bildirdiğine göre çalışmada *Gliocladium virens*'in morfolojik ve filogenetik olarak *Gliocladium* türüne ait olmadığını, *Trichoderma* genusu içinde yer alması gerektiğini bildirmiş ve böylece yeni ismi *Trichoderma virens* olarak kabul edilmiştir. Böylece 1700'li yılların sonlarında başlayan süreç günümüze kadar devam

etmiş ve sonuçta 89 *Trichoderma* türü belirlenip, teşhis edilmiştir (Samuels, 2006).

Bu genustaki *Trichoderma* türlerin mikoparazitik olarak güçlü bir etki göstermesi ayrıca oluşturdukları antibiotiklerin de etkili olması araştırmacıların *Trichoderma*'lar üzerinde yoğunlaşmalarına neden olmuştur. Antifungal etkisi ilk kez Weindling (1934, 1941) tarafından ortaya konulmuş ve günümüze kadar biokontrol potansiyeli değişik yönleriyle incelenmiştir. Weindling (1932), *Rhizoctonia solani*'ye karşı *Trichoderma viride*'nin (*Trichoderma lignorum*) parazitik aktivitesini belirlemede ilk kaydı yapmıştır. Yine Weindling (1941), fungusların antagonist olarak kullanılması, *Trichoderma* ve *Gliocladium*'un *Rhizoctonia solani* arasında ilişkilerin ortaya konulduğu bir dizi çalışmalar ile devam etmiştir. O zaman ki isimlendirilmesiyle *Gliocladium virens*'in gliotoxin denen bir maddeyi üreterek *R. solani* ve *Sclerotinia americana*'yı engellediğini belirtmiştir. *Trichoderma* türleri içinde özellikle de, *T. harzianum* ve *T. viride* türleri ile 1980'li yıllara kadar laboratuvar deneyleri şeklinde çok sayıda çalışmalar yapılmıştır.

Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaşımın laboratuvarından taşınıp arazide uygulama evresine geçilmesi ve biyopreparat formülasyonlarının geliştirilmesi süreci 1980'lerin sonlarına denk gelmektedir. Bu süreçte *Trichoderma* türleri, çoğunluğu toprak patojenlerine karşı olmak üzere kullanılmaya başlanmış ve günümüzde birçok biopreparatı tarımda kullanılmaktadır.

### 2.2. *Trichoderma* fungusunun genel özellikleri

*Trichoderma*'lar Ascomycota alt bölümü, Hypocreales takımı ve Hypocreaeae familyasında yer almaktadırlar. Türler, hızlı gelişen kolonileriyle başlangıçta saydam, şeffaf, daha sonra yeşile dönmesiyle karakterize edilirler. Birçok *Trichoderma* türleri için iki isim kullanılmaktadır Anamorf *Trichoderma* ve telemorf *Hypocrea* (Örneğin; *H. lixii*, *T. harzianum*'un telemorfunu, *Trichoderma reesei*, =*Hypocrea jecorina*, *T. atroviride*, =*H. atroviridis*'i belirtmektedir). Bu durum, iki ismin bir organizmada tek yaşam çemberinde olması anlamına gelmektedir. Samuels (2006), bu isimlendirme şekline gerek olmadığını, çünkü iki döneminde aynı yaşam çemberi içinde meydana geldiğini birbirleriyle bağlantısının kurulması moleküler yöntemlerle yapılabildiğini bildirmiştir.

Fungus saprofitik karakterli Dünya'nın her tarafında geniş bir şekilde yayılmış bulunmaktadır. Bu fungus çeşitli bitkilerin kök yüzeylerinde çürüyen kabukta, sklerotlardan veya fungusların diğer üreme organlarının üzerinde de

bulunabilmektedir (Papavizas, 1985). Söz konusu fungus kültürlerde hızlı gelişir ve bol miktarda spor verme yeteneğindedirler. Kolonileri, sarımsak bej rengi, sarı, kehribar, sarımsı-yeşildir. Yine birçok tür misel yoğunluğunda kalın duvarlı bol miktarda chlamyospore üretirler.

*Trichoderma* çoğunlukla toprakta serbest yaşayabilen bir fungus olarak düşünülmektedir. Fakat bazı çalışmalar *Trichoderma* türlerinin, diğer patojen funguslar gibi fırsatçı (opportunistic), avirulent bitki ile ortak yaşayabilen (symbionts) bir organizma olabileceğini desteklemektedir. Evans ve ark. (2003)'na atıfta bulunan Samuels (2006), bazı *Trichoderma* türlerinin endofitik olarak, sağlıklı kakao bitkilerinin kabuk ve dokularında yaşayabildiğini belirtmiştir. Böyle endofitik türler bitki hastalıklarına karşı biyolojik mücadelede faydalı olabilir ve oluşturdukları metabolitlerle patojene karşı bitkide dayanıklılık oluşturabilirler. Bu durum *Trichoderma*'larla yapılacak çalışmalarda yeni bir bakış açısına neden olabilir.

*Trichoderma*'nın ekolojik rollerinden biri de topraktaki bitki kalıntılarının ayrışmasına katkı sunmaktır. Bazı *Trichoderma* türleri çok iyi selüloz üretirler; böylece biyoteknoloji endüstrisi için önemli sayılırlar (Réczey ve ark., 1996). Rizosferde rekabetçi ve hidrokarbonlar, klorofenolik bileşikler, polisakaridler ve tarımda kullanılan xenobiotik bileşikleri yıkıma uğrattırıp ayrıştırabilirler (Harman ve ark., 2004). Bu genusun tarım açısından önemi ise, bazı *Trichoderma* türlerinin *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Sclerotinia* türleri gibi bitki patojenlerine karşı iyi bir antagonistik yeteneğe sahip olmasından gelir. Antagonistik etki *Trichoderma* tarafından antifungal metabolitlerin üretimi, besin ve yer için yarışma ve mikoparazitlik gibi farklı mekanizmalar tarafından olur (Kredics ve ark., 2003).

### 2.3. Başlıca *Trichoderma* türleri

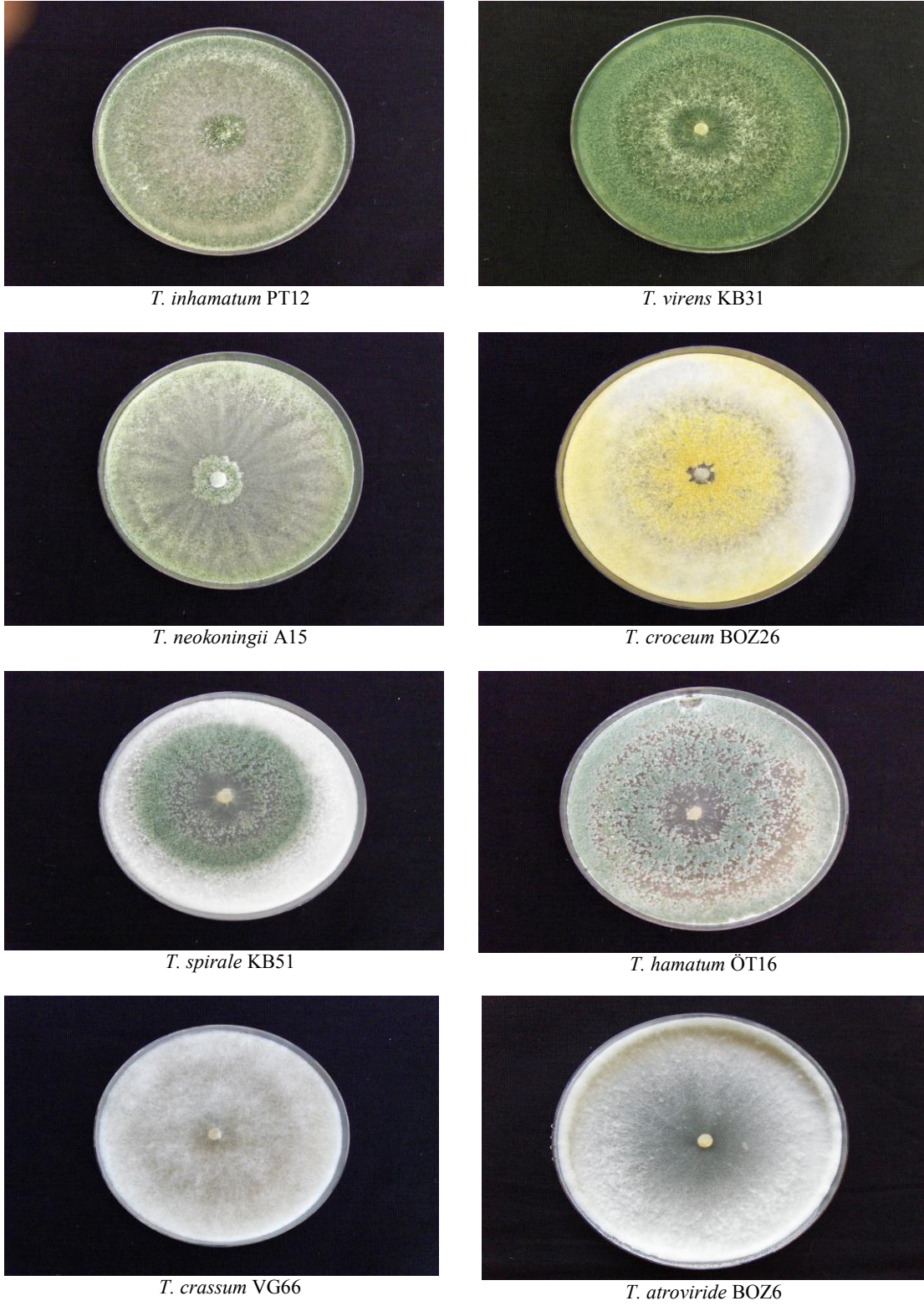
*Trichoderma harzianum* başta olmak üzere *T. strigosum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. inhamatum*, *T. virens*, *T. neokoningii*, *T. croceum*, *T. koningii*, *T. polysporum*, *T. viride*, *T. polysporum*, *T. strigosum*, *T. crassum*, *T. tomentosum*, *T. spirale*, *Trichoderma reesei* gibi 100'e yakın tür tespit edilmiştir. Genetik bilime dayalı tür teşhislerinin yaygınlaşmasıyla, yeni türler de tespit edilmektedir. Bu yeni türlerin (*T. stromaticum*, *T. amazonicum*, *T. evansii*, *T. martiale*, *T. taxi* ve *T. theobromicola*) çoğunlukla endofitik özellikle olduğu bildirilmiştir (Druzhinina ve ark., 2011). Ayrıca daha önce morfolojik özelliklere göre tespit edilen türler, yeni bilgiler ışığında yeniden tanımlanmaktadır.

Örneğin *Gliocladium virens*'in filogenetik olarak *Gliocladium* türüne ait olmadığı, *Trichoderma* generi içinde yer alması gerektiğini bildirilmiş, böylece yeni ismi *T. virens* olarak kabul edilmiştir (Samuels, 2006).

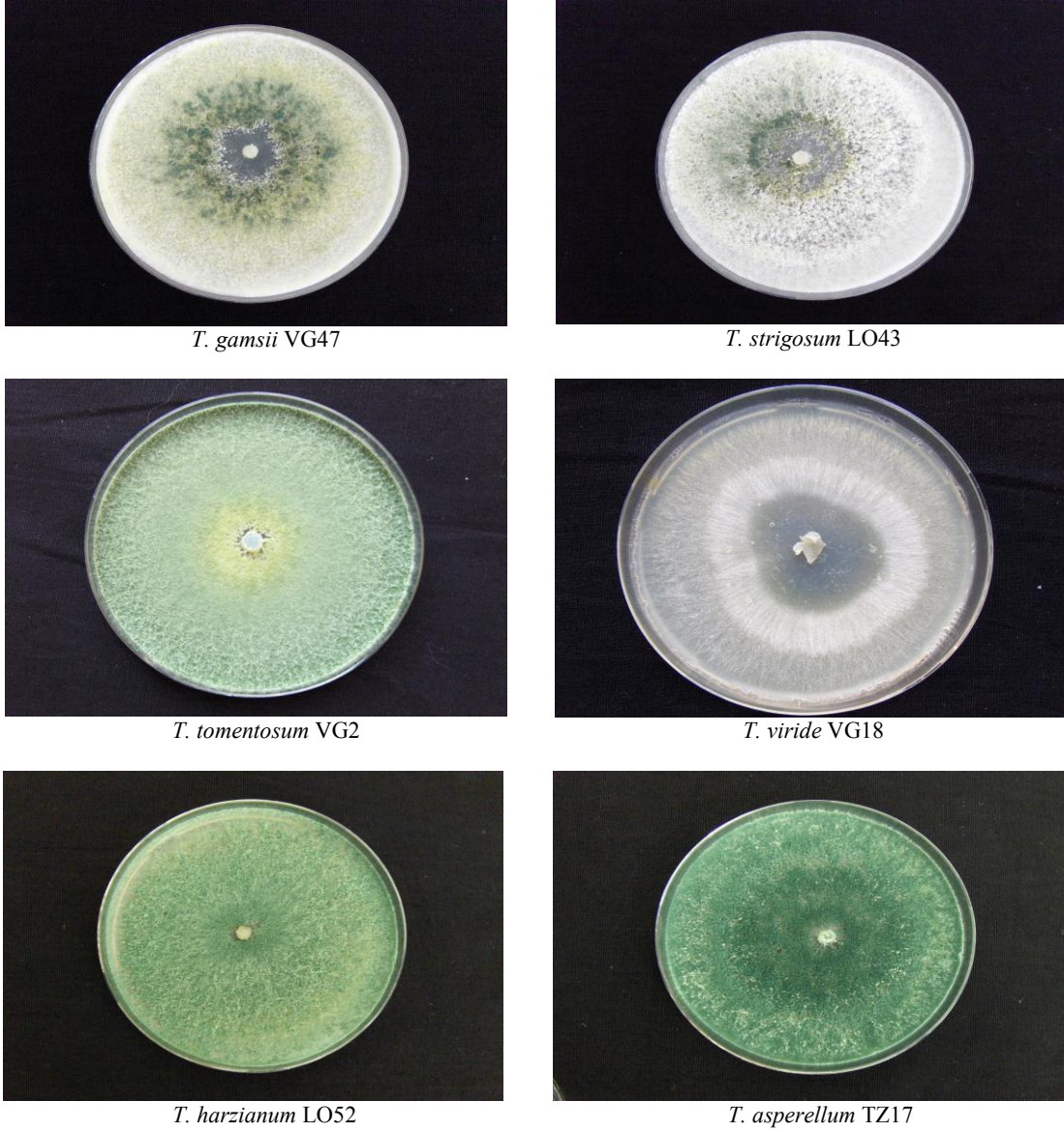
Türkiye'de geçmişte üzerinde çalışılan *Trichoderma* türleri; *T. harzianum*, *T. viride*, *T. pseudokoningii*, *T. hamatum*, *T. virens*, *T. koningii* ve *T. aureoviride* olarak belirlenmiştir (Turhan, 1973; İren ve ark., 1988; Çeliker ve Nemli, 1994; Turak, 1997). Türkiye'de son dönemde yapılan bir çalışmada, değişik coğrafik bölgelerden alınan toprak örneklerinden 14 farklı *Trichoderma* türü izole edilmiştir (Aydın ve Turhan, 2009). Bu türler, *T. asperellum* Samuels, Lieckf & Nirenberg, *T. atroviride* Bissett., *T. crassum* Bissett., *T. croceum* Bissett., *T. gamsii* Samuels & Druzhin, *T. hamatum* (Bonard.) Bainer, *T. harzianum* Rifai, *T. inhamatum* Veerkamp & W. Gams, *T. neokoningii* Samuels & Soberanis, *T. spirale* Bissett., *T. strigosum* Bissett., *T. tomentosum* Bissett., *T. virens* J.H., Mill., Giddens & A.A Foster ve *T. viride* Pers. olarak tanımlanmıştır. Bu türlerden *T. harzianum*, *T. viride*, *T. hamatum* ve *T. virens* (= *G. virens*) dışındaki 10 *Trichoderma* türünün Türkiye için ilk kayıt olduğu bildirilmiştir (Şekil 1).

### 2.4. *Trichoderma* türlerinin coğrafik dağılımı

*Trichoderma* türlerinin birçok yörede ve toprakta yaygın olarak bulunduğu belirtilmesine rağmen, tek başına türlerin coğrafik yayılmasında *T. harzianum* gibi ya geniş ve sınırsız ya da *T. viride*'de olduğu gibi sınırlıdır. Yine *T. polysporum* ve *T. minutisporum* türleri daha çok soğuk topraklarda bulunurlar. *T. aureoviride*, İngiltere ve Kuzey Avrupa'da sınırlı görülmektedir. Ticari selüloz enzim üretimi için iyi bir tür olan *T. reesei*, son dönemde sadece Pasifik bölgesinde, Solomon adalarında canvas materyalinden izole edilebilmiştir. Genus içinde yayılması en sınırlı olan türlerden *T. stromaticum*, sadece Amerika kıtasında tropikal bölgede kakao ağaçlarında tespit edildiğini, bu ağaçlarda önemli bir hastalık etmeni olan *Erinipellis perniciose*'ye karşı etkili olduğunu ve bu etmenin varlığı antagonistin burada bulunmasına neden olmuş olabileceği bildirilmiştir (Samuels, 2006). *Trichoderma* türlerinin coğrafik dağılımı ile ilgili Türkiye'de yapılan bir çalışmada, bu türlerin bazılarının sadece belli yöre topraklarından izole edildiği, Örneğin *T. strigosum* sadece Muğla'nın Günlük ormanlarının bulunduğu topraklardan, *T. gamsii*, Van Gölü çevresi topraklarından ve *T. croceum* ise Bozdağı/İzmir patates üretim alanı topraklarından elde edildiği bildirilmiştir (Aydın ve Turhan, 2009).



Şekil 1. Türkiye’de izole edilen bazı *Trichoderma* türlerinin PDA’da gelişmiş kolonileri



Şekil 1. (devamı)

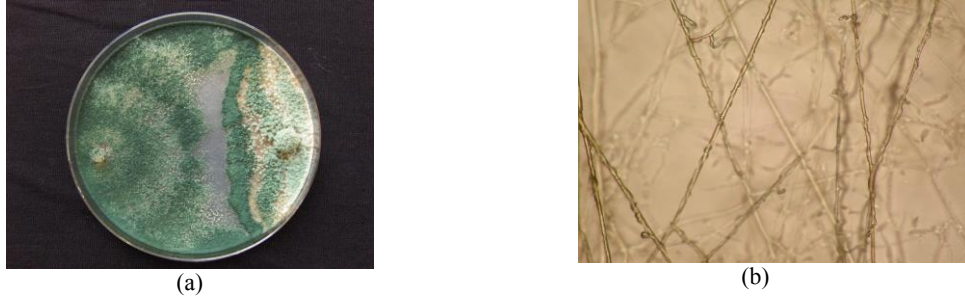
### 3. *Trichoderma*'ların Biyolojik Savaş Mekanizmaları

Günümüze kadar fungal biyolojik kontrol ajanları arasında *Trichoderma* spp. ile çok fazla çalışılmış ve biopestisid, biyogübre ve toprak katkısı olarak tarımsal pazarda kullanılmaya sunulmuştur. Kullanılan ırklara bağlı olarak tarımda *Trichoderma*'ların kullanımı birçok avantaj sağlayabilir. Bunlar kısaca; a) Biyokontrol ajanı ile bitki rhizosferinin (kök bölgesi) kolonize edilmesi (rhizosfer rekabeti), mikrobiyal denge içinde hızlı bir şekilde yayılmasını sağlar, b) Rekabetçi mikroflora ile çeşitli mekanizmaların kullanılmasıyla patojenin kontrollü, c) Bitki sağlığını ve kök gelişimini teşvik etmeleri şeklindedir (Harman ve ark., 2004). Biyolojik

kontrol konusunda bilim dünyasını ilgilendiren konuların başında hastalıkları önlemedeki mekanizmanın nasıl işlediği konusu gelmektedir. Etkili biokontrol ajanının geliştirilmesi için onun çalışma mekanizması ve onu sınırlayan koşulların bilinmesi gerekir. *Trichoderma*'lar, patojenlere karşı aşağıdaki mekanizmaları kullanmaktadırlar.

#### 3.1. Hiperparasitizm

*Trichoderma* genusuna ait birçok türünün karakteristik özelliği, diğer bir fungusu parazitleme yeteneğine sahip olmasıdır. Yani parazit bir fungusu parazitleyen başka bir fungus söz konusudur (Şekil 2). Patojen hiflerin sarılmasından başka *T. harzianum* ve *T. hamatum*



**Şekil 2.** *Trichoderma asperellum*'un *Rhizoctonia solani* kolonisi üzerinde yayılması (a) ve patojenin hiflerini sarıp penetre etmesi (b)

gibi türler, appressorium oluşturarak ve enzimatik faaliyetleri sonucunda hücre duvarlarını delerek parazitlenmeyi sağlarlar. Ancak oluşan erime bölgeleri ve delikler hyperparazitin patojenin hiflerinden ayrılmasından sonra görülebilmektedir. *Trichoderma*'lar mikoparasitizmi 4 aşamada gerçekleştirirler. Birinci aşama mikoparazitin kemotrofik gelişimi, ikinci aşama mikoparazitin konukçuyu tanıması, üçüncü aşama enzimlerin salgılanması, dördüncü aşama konukçu hiflerinin eritilmesi şeklindedir. İlk aşama, mikoparazit hifinin direkt olarak konukçusuna yönelerek gelişme göstermesidir. Burada konukçu hifindeki bazı uyarıcılar ya da salgılanan bazı kimyasallar sonucu mikoparazit konukçusuna doğru kemotrofik bir yönelme gösterir. Mikoparazit konukçuya ulaştığında hifleriyle çevresini sarmakta veya kanca tipi oluşumlarla saldırılmaktadır. *T. hamatum* kısa hiflerin uçlarında appressorium oluşturmakta ve bunu takiben mikoparazit bazen konukçunun hücre çeperini parçalayarak penetrasyon yapmaktadır (Elad ve ark., 1983).

Mikoparazitizmde, patojenin hücre duvarlarının, chitinaz, proteases ve glucanases gibi lytic enzimlerin antagonist tarafından üretilmesiyle yıkıma uğratılması önemlidir. Böylece hiflerin faydalı besin kaynaklarını kullanırlar. *T. harzianum*, patojen miselinin bazı kısımlarındaki hücre çeperini önce eritmekte, bunu hifsel penetrasyon izlemektedir. Daha sonra lipaz ve protease gibi enzimlerini kullanarak duyarlı konukçu hifini hızlı bir vakuolasyon göstererek parçalamaktadır (Elad ve ark., 1981).

*Trichoderma virens*'in mikoparasitizmi ile ilgili yapılan bir çalışmada, *T. virens*'e sırasıyla  $\beta$ -1,3- ve  $\beta$ -1,6 glucanases genleri aktarılmış tip ile aynı genetik yapıdaki doğal tipin biokontrol etkinliğini araştırmışlardır. Gen transferi yapılmış tip, doğal tipe göre gelişimi ve sporulasyonu daha yavaş olduğunu, ancak gelişimdeki azalma, mikoparasitizm ve biyolojik etkinlikte görülmediğini, gen aktarılmış tipin  $\beta$ -1,3- ve  $\beta$ -

1,6 glucanases etkinliğinin toplam düzeyi doğal tipe göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. In vitroda yapılan gözlemlerde gen aktarılmış tipin bu yüksek enzimatik etkinliğinin, *Rhizoctonia solani* ve *Pythium ultimum* misellerini engelemede pozitif etki gösterdiğini, yine *P. ultimum*, *R. solani* ve *Rhizopus oryzae*'ye karşı pamuk fidelerinde biokontrollü artırdığını bildirmişlerdir. Böylece bu sonuçların da gösterdiği gibi, patojenlere karşı *T. virens*'in mikoparasitizmde, lytic enzim genlerinin kodlanması ile arttığı ve böyle ırkların biyolojik mücadelede kullanılmasının etkiyi daha da artıracağını belirtmişlerdir (Djonovic ve ark., 2007).

In vitro da *R. solani* ve *Verticillium dahliae*'ye karşı *T. harzianum*'un seçilmiş ırklarının yüksek antagonistik potansiyele sahip olduğu, patojen fungusları kontrolde farklı antagonistik mekanizmalar kullanıldığı, yer ve besin için rekabet dâhil direkt etkileşim ve mikoparasitizm meydana geldiği bildirilmiştir (Santamarina ve Roselló, 2006). In vitroda yapılan başka bir çalışmada, *R. solani*'ye karşı antagonistik etkisi olduğu saptanan 320 izolattan 257 tanesinin *Trichoderma* türlerine ait olduğu belirlenmiş ve bu izolatların Potato Dekstroz Agar (PDA) besi ortamında patojenle karşılıklı olarak geliştirildikten sonra, mikroskopik incelemede patojen fungus hiflerini saran ve penetre edenler mikoparazitik etkili antagonistler olduklarını belirtmişlerdir (Şekil 2) (Aydın ve Turhan, 2009).

### 3.2. Antibiosis

Antibiosis, bir organizmanın başka bir organizmayı metabolitleriyle engellenmesi ya da yıkıma uğratılmasıdır. Bu metabolitlere antibiotik denir. Genellikle düşük molekül ağırlıklı, uçucu olan ya da olmayan ve ortamda yayılabilen toksik maddelerdir. Farklı *Trichoderma* türleri tarafından üretilen antibiyotik maddeler patojenlerin patojenitesini olumsuz etkileyebilir. *Trichoderma* türleri antibiyotik üretiminde oldukça önemli bir gruptur. Öneğin *T. viride* fungusu, gliotoxin, viridin, trichodermin, trichodermycin,

trichodermol gibi birkaç antibiyotiği üretebilmektedir. Biokontrolde antibiyotiklerin önemi ve etkinliği birçok çalışmada belirtilmiştir. Howell ve Stipanovic (1983), *G. virens*'ten gliovirin isimli bir antibiyotik belirlemiştir. Bu antibiyotiğin *Phytium ultimum* ve *Phytophora* türlerine karşı güçlü bir şekilde etki gösterdiğini; fakat *R. solani* ve *V. dahliae* türlerine karşı etkisiz olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum antagonistlerin bazı patojenlere karşı etkili olmasına rağmen diğer bazılarının neden etkisiz olabileceğini ortaya koymaktadır. Yine başka bir çalışmada, bezelye bitkisinde *Phytium* türlerinin kontrollünde *T. harzianum* (T-22) ve *T. koningii* (T-28)'nin etkisinin mikoparasitizm rekabet özelliğinden ileri gelmediğini, toksik madde üretiminin katkı sunduğunu belirtmişlerdir (Lifshitz ve ark., 1986). Bu çalışmalar da gösteriyor ki mikoparasitizm'in yanında *Trichoderma*'ların hastalıkları önlemede antibiyotik üretiminde son derece önemli olduğu kanıtlanmıştır. Vinale ve ark. (2006), geniş alanlarda sera ve tarla bitkilerinde ticari olarak uygulanan T 22 ve T 39 *Trichoderma harzianum* ırklarının, patojen *R. solani* ile antagonistik etkileşimi sırasında kültür filtrelerinden elde edilmiş temel ikincil metabolitlerinin karakterizasyonu ve izolasyonu ile ilgili yapıları çalışmada, T 22 tarafından üretilen üç önemli bileşiklerden birinin yeni azaphilone olduğu ve in vitroda *R. solani*, *Phytium ultimum* ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*'yi engellediğini; T 39 ırkından ise daha önce *T. harzianum* ırklarından izole edilmiş iki bileşik ve yeni bir butenolide olduğunu belirtmişlerdir. Yine bu çalışmayla, ırkların ikincil metabolitleriyle ilgili bilginin ilk kez ortaya konulduğunu belirtilmiştir.

Trichopolyns A ve B peptidleri *T. polysporum* tarafından üretilmektedir. *Candida albicans*, *C. neoformans*, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* için 0.78-6.25 µg ml<sup>-1</sup>'lik dozlarda etkili olduğu bildirilmiştir. *Phytium ultimum*'un fidelerde neden olduğu çökertenin *T. virens* tarafından önlenmesi antagonistin ürettiği gliotoxinin etkisiyle olduğu belirlenmiştir (Ghisalberti ve Sivasithamparam, 1991). *T. hamatum*'un trikoveridin, isosanit, isonitril gibi antifungal bileşikler ürettiği saptanmıştır. İsonitril'in *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. polysporum* ve *T. viride* türleri tarafından da üretildiği saptanmıştır. İsonitrin A'nın Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler, mayalar ve filamentli funguslara karşı oldukça etkili olduğu belirlenmiştir (Dickinson ve ark., 1989).

### 3.3. Rekabet

*Trichoderma* spp.'nin biyolojik savaşındaki rolü yalnızca hiperparasitizm ve antibiotik üretimiyle de açıklanamaz. Bunun yanında

bulduğu ortamda patojenle rekabete girmesi de önemlidir. İki veya daha fazla mikroorganizma aynı maddeye gereksinim duyduğunda bunu yalnızca birinin kullanarak diğerlerinin yararlanması engellendiği durumlarda ortaya çıkar. Yarışma, besinler, oksijen ve yer için olabilir. Rhizosferde rekabet etme yeteneği, *Trichoderma*'lar açısından biyolojik mücadelede önemlidir. Çünkü bir biokontrol ajanının rhizosferde yaşayabilmesi için yer ve besin açısından başka mikroorganizmalarla rekabet etme gücünün olması gerekir. *Trichoderma* türleri toprağa ya da tohuma uygulandığı zaman hızlı bir şekilde bitkinin kök sistemi boyunca gelişir (Harman, 2000). Ancak genel bir kavram olarak bitki dokularının içinde gelişen patojenlerin yerine geçerek etkili olması *Trichoderma*'lar açısından zordur (Howell, 2003).

### 3.4. Enzimler

Son yıllarda yapılan birçok araştırmalarla, *Trichoderma*'ların biyolojik kontrolde etkinliğinde farklı alternatif bilgiler de edinilmiştir. Yapılan çalışmalarda chitinases ve glucanases gibi biokontrol ajanları tarafından üretilen enzimlerin, bitki patojenlerinin baskı altına alınmasından sorumlu olduğu belirtilmiştir. Bu enzimlerin işlevi, polysakarid, kitin, ve β- glucan gibi fungal hücre duvarlarının diriliğinden, sertliğinden sorumlu olan fungal hücre duvarlarını parçalayarak yıkıma uğratmak şeklindedir (Howell, 2003). Fungal hücre duvarları üzerine hydrolytic etkiyi arttırmak için chitinases ve glucanases genlerini *T. harzianum*'a kodlandığını, gen kodlaması yapılan ırkın, orijinal ırkla karşılaştırıldığında in vitroda *R. solani*'ye karşı antifungal etkisinin arttığı gözlemlenmiştir (Benítez ve ark., 2000). Bir diğer araştırmada, *T. harzianum*'dan kodlanmış endochitinase genini, tütün ve patates bitkisine transfer edip, bu bitkilerin birçok patojene karşı yüksek düzeyde ve geniş spektrumlu dayanıklılık gösterdiğini belirtmişlerdir (Lorita ve ark., 1998). Fasülye yapraklarında *B. cinera* tarafından üretilen hydrolytic enzimlerin *T. harzianum* (T-39) tarafından üretilen proteases enzimi tarafından inaktif hale getirildiği ve patojenin bitki hücrelerini yıkıma uğratmasının engellendiği belirtilmiştir. Bunun için patojen ile enfekteli fasülye yaprağına protease solüsyonu uygulanmış ve hastalık şiddetinin kontrole göre % 56-100 arasında azaldığı belirtilmiştir (Elad ve Kapat, 1999).

Bazı araştırmacılar, *Trichoderma*'lar tarafından üretilen enzimler ve antibiyotiklerin patojen üzerinde sinerjik etkiyi görmek açısından uygulamayı birlikte yapmışlar ve etkinin arttığı belirlenmiştir. *Botrytis cinera*'nın spor çimlenmesi üzerine endochitinase enzimi ve gliotoxin

antibiyotiği birlikte uygulanmış ve patojenin spor çimlenmesi üzerine etkinin tek tek uygulamaya göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Di Petro ve ark., 1993). *Trichoderma reesei*, üzerinde en fazla çalışılmış önemli bir *Trichoderma* türüdür. En karakteristik özelliği multiple cellulolytic ve hemicellulolytic enzimler üretmesidir. Bu tür *Trichoderma*'lar, faydalı ürünleriyle selülozik artıkların geri kazandırılması için de kullanılabilir. Endüstriyel ölçekte xylanases enzimi çoğunlukla *Aspergillus* ve *Trichoderma* spp.'den üretilir. Xylanases'in uygulaması gıda, hamur ve kağıt endüstrisinde olabilmektedir (Kubicek ve ark., 1993).

### 3.5. Bitkilerde savunma reaksiyonunu güçlendirmesi

Bazı *Trichoderma* türlerinin uygulaması sonucu bitkide patojenlere karşı savunma reaksiyonun güçlendiği şeklinde çalışmalar da mevcuttur. Yedidia ve ark. (1999), hıyar fidelerine *T. harzianum* (T-203) süspansiyonun uygulanmasıyla köklerde ve yapraklarda savunma reaksiyonunun güçlendiğini bildirmişlerdir. Bitkide peroxidase aktivitesinin arttığı ve bunun fungal toksik bileşik üretimi ile ilgili olduğu, yine bitkinin kök ve yapraklarında enzim aktivitesinin özellikle de ktnaz'ın arttığı gözlemlenmiştir.

### 3.6. Ek mekanizmalar

Yukarıda açıklanan mekanizmaların yanında *Trichoderma* türlerinin konukçu bitki ile etkileşimlerinde kök ve sürgün gelişimine, biyotik ve abiyotik streslere dayanıklılık oluşturma ve bitkide besin durumunda değişime neden olma gibi etkileri olduğu da belirtilmektedir. Son dönem çalışmalarında bazı *Trichoderma* türlerinin çıkış öncesi çökertene neden olan fungal hastalıklara karşı bitkinin patojeni teşvik eden bazı salgılarını etkileyerek bitki çıkışını pozitif yönde etkilediği bildirilmiştir (Howell, 2003). Araştırmacılar azot yönünden zayıf olan toprakta mısır tohumlarına *T. harzianum* (T-22) uygulanmasıyla, gelişim sezonunun erken döneminde bitkilerin daha yeşil ve daha boylu oldukları, hasat döneminde dane ve silaj veriminin kontrole göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Azot oranının yeterli olduğu topraklarda ise böyle bir fark gözlemlenmemiştir. Bu durumun T-22 ile azot fikse eden bakteri arasındaki güçlü etkileşimden kaynaklandığı bildirilmiştir (Harman, 2000). *T. harzianum* (T-203) ile toprakta hıyar bitkilerine uygulanmasında, bitkinin kök alanının, kuru ağırlığının ve yaprak alanının önemli oranda arttığı belirlenmiştir (Yedidia ve ark., 2001). Grosch ve ark. (2007), Brezilya'da antagonist fungusları yabancı bitkilerin toprak altı kısmından izole

etmişler ve *Rhizoctonia*'ya karşı antagonistik etkilerini belirlemek için çalışmalar yapmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmalarında; *Rhizoctonia*'nın fungal hücre duvarlarında melanin'in engellenmesi, antibiyosis ve mikoparasitizm gibi geniş spektrumlu antagonistik etkileşimi gözlemlenmişlerdir. Seçilen bazı izolatların, patates üzerindeki sklerotların çimlenmesi üzerine etkileri, fungal hücre duvarlarını yıkıma uğratan enzimlerin üretimi, bitki gelişimini teşvik etmesi ve marul bitkisinde patojeni baskı altına alması şeklindeki nitelikleri araştırılarak, 3 ümitvar *Trichoderma viride* izolatu belirlenmiştir. Windham ve ark. (1986), *Trichoderma* türlerinden *T. harzianum* ve *Trichoderma koningii*'nin bazı ırklarının mısır, domates, tütün ve havuç bitkilerinde çimlenme oranını, çıkış ve kuru ağırlığı artırdığını belirtmişlerdir. Yine Mastouri ve ark. (2010)'nın yaptıkları çalışmada, *T. harzianum*'un domates tohumlarına uygulanmasıyla çimlenme gücünün arttığı ve fidelerin su noksanlığına karşı daha dirençli hale geldiğini belirtmişlerdir.

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda *Trichoderma*'ların bitkilerin sadece kök yüzeylerinde bulunmadığı, aynı zamanda endofitik olarak çeşitli kısımlarında buldukları belirlenmiştir (Druzhinina ve ark., 2011). Bu endofitik türlerin bitki gelişimini teşvik ettiği, biyotik ve abiyotik faktörlerden koruduğu bildirilmiştir (Bae ve ark., 2009).

## 4. *Trichoderma*'ların Ekolojik İstekleri

Antagonist *Trichoderma* türlerini biyolojik kontrol amacıyla uygularken topraktaki biyolojik kontrol ajanını etkileyen çevresel koşulları da dikkate almak önemlidir. Biyotik ve abiyotik çevresel koşullar *Trichoderma*'nın biyokontrol etkinliği üzerine etki etmektedir. Topraktaki bazı önemli parametreler; sıcaklığın etkisi, nem ve yağış miktarı, pH değeri, pestisidlerin varlığı, metal demir bileşikleri ve antagonist bakterilerdir (Kredics ve ark., 2003).

### 4.1. *Trichoderma* ırkları üzerine sıcaklığın etkisi

*Trichoderma* türlerinin gelişimi için optimum sıcaklıklar türler için farklı olabilir. Birçok *Trichoderma* türü orta sıcaklıkta (20-25 °C) daha iyi geliştiğinden dolayı (Mezophilic), soğuk sonbahar ve ilkbahar koşullarında, soğuğa dayanıklı bitki patojeni ırklarına karşı çimlenmiş bitki tohumlarını toprak kökenli hastalıklara karşı koruyamayabilirler (Kredics ve ark., 2003).

Genel kural olarak 20 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar *Trichoderma* türlerinin kolonizasyonu için uygundur. 360 *Trichoderma* izolatıyla soğuğa tolerans konusunda laboratuvarında yapılan bir



çalışmada; 5 °C'de 14 izolatın iyi geliştiği ve bunların *T. aureoviride*, *T. harzianum* ve *T. viride* olduğu; *T. viride*'nin en yüksek oranda, *T. harzianum* ise en düşük oranda bulunduğu belirlenmiştir. Bu izolatların ikili kültür testlerinde 10 °C'de, bitki patojenleri *R. solani* ve *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*'ye karşı appressoria ürettiği ve antagonist etki gösterdiği belirtilmiştir (Antal ve ark., 2000).

Boosalis ve Scharen (1959), *T. viride*'nin 28 °C'de *R. solani*'yi etkili bir şekilde parazitlediği, 18 °C'de ise daha az etkilediğini bildirmişlerdir. Santamarina ve Roselló (2006), *R. solani* ve *Verticillium dahliae*'nin antagonisti *Trichoderma harzianum*'un gelişimi üzerine nem ve sıcaklığın etkinliği araştırmışlar; testlenmiş bütün fungusların gelişme oranları ortamdaki nem varlığı artıkça etkileri de artmış ve en hızlı gelişme, en yüksek nem düzeyinde meydana gelmiştir. Yine sıcaklık 25 °C'den 15 °C'ye düşürülünce gelişmede de farklılıklar oluşmuştur. *T. harzianum* patojen funguslarla aynı ortamda yüksek nem seviyelerinde, 15 °C ve 25 °C'lerde *R. solani* ve *V. dahliae*'den daha hızlı gelişerek her iki patojenin gelişimini de engellemiştir.

#### 4.2. *Trichoderma* ırkları üzerine nemin etkisi

Topraktaki nem koşulları fungal aktiviteyi etkileyerek sınırlandırabilir. Nem koşulları özellikle spor çimlenmesi ve misel gelişimi üzerine etkilidir. Bu durumda antagonistin saprofitik yeteneği, diğer funguslarla etkileşimi ve enzim üretimi üzerine kritik etkiler meydana getirir. Farklı nem koşullarında, koloni gelişimi ve enzim salgılamalarının farklı olduğu bildirilmiştir (Kredics ve ark., 2003). *T. hamatum* ve *T. pseudokoningii*'nin bazı ırklarının aşırı toprak nemine adapte olduğu; uzun süren kurak koşullar, *Trichoderma* türlerinin grup halinde azalmalarına yol açtığı saptanmıştır (Danielson ve Davey, 1973). Papavizas (1985), toprakta uzun süre devam eden kurak koşulların *Trichoderma* popülasyonunu azalttığını, *T. hamatum* ve *T. pseudokoningii*'nin bazı ırklarının aşırı nem koşullarına adapte olabildiğini ve *T. viride* ile *T. polysporum*'un düşük sıcaklıkların hüküm sürdüğü alanlarda sınırlı bulunabileceğini bildirmiştir.

*T. harzianum*'un ılıman iklim bölgelerinde yaygın olarak bulunurken, *T. hamatum* ve *T. koningii* farklı iklim koşullarındaki bölgelerde yayılmıştır. Sıcaklık misel gelişimini ve spor çimlenmesini etkilediği halde, nem fungal sporun çimlenmesi veya hızlı çimlenmesini sağlamaktadır (Santamarina ve Roselló, 2006).

#### 4.3. *Trichoderma* ırkları üzerine pH'nın etkisi

Özellikle *Trichoderma* türlerinin misel gelişimini ve salgılanan ekstrasellüler enzim üretimi üzerine pH'nın etkisi vardır. *Trichoderma* türlerinin ekstrasellüler enzimlerinin farklı pH düzeylerinde (pH= 3-7) meydana geldiği, miselin ise pH= 2-6 arasında geliştiği, optimum gelişmenin pH= 4.0'da olduğu bildirilmektedir (Kredics ve ark., 2003). Üç *Trichoderma* izolatının optimum biomass üretiminin pH= 4.6-6.8 arasında meydana geldiği bildirilmiştir (Jackson ve ark., 1991). *Trichoderma* türleri içinde asitli topraklarda *T. viride*'nin daha baskın görüldüğü, alkali topraklarda ise *T. hamatum*'un baskın olduğu vurgulanmıştır (Gibbs, 1967).

Antagonist fungusların antibiotik üretimi de pH derecesinden etkilenmektedir. Yapılan bir çalışmada (Weindling, 1941); *Gliocladium fimbriatum* ve *Trichoderma* spp.'nin birkaç ırktan gliotoxin üretiminin pH 2'den pH 6'ya kadar elde edildiği, fakat pH derecesinin 7 ve üzerinde olması durumunda ise gliotoxin üretiminin azaldığı bildirilmiştir.

#### 4.4. *Trichoderma*'ların bulunduğu toprakların bazı özellikleri

Bazı *Trichoderma* türleri bazı alanlarda daha fazla bulunabilmektedir. *T. viride* erken ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde ladin ağacı ve alaçam ağaçlarının bulunduğu orman topraklarında bol miktarda bulunabilir (Widden ve Abitbol, 1980). Yine topraktaki demir (Fe) içeriği *Trichoderma*'nın mikrosit tercihinde önemli bir faktördür. Yapılan bir çalışmada; topraktaki ve rizosferdeki *T. hamatum*'un topraktaki yerleşimi ve teklifi, Fe açlığı yaratan *Pseudomonas*'ların varlığı nedeniyle sınırlandırılmaktadır (Hubbard ve ark., 1983). Aydın ve Turhan (2009), Türkiye'nin değişik bölgelerinden alınan farklı fiziksel ve kimyasal özellikteki topraklardan 264 *Trichoderma* türü izole etmişlerdir. Araştırmacılar, en fazla *Trichoderma* türünün Van Gölü çevresi ve volkanik bir dağalanı olan Karacadağ yöresinden izole edildiğini bildirmişlerdir. *T. harzianum*, *T. virens*, *T. inhamatum*, *T. spirale* ve *T. asperellum* türleri birçok bölge toprağını kapsayacak şekilde yaygın olarak izole edilmiştir. En az ise birer tür ile *T. viride*, *T. hamatum* ve *T. tomentosum*, ikişer tür ile *T. crassum*, *T. croceum* ve üçer tür ile *T. gamsii*, *T. atroviride*, *T. strigosum* türleri izole edilmiştir. *T. harzianum* gibi bazı türler bütün bölge topraklarından izole edilirken, bazı türler ise sadece bazı bölgelerden izole edilmiştir. Örneğin, *T. strigosum*, sadece Muğla'nın Günlük ormanlarının bulunduğu topraklardan; *T. gamsii*, Van Gölü çevresi topraklarından ve *T. croceum* ise Bozdağı/İzmir patates üretim alanı topraklarından

izole edilmiştir. Bu durum, bazı türlerin farklı ekolojilerde, farklı toprak özelliklerinde ve değişik bitki örtüsünün bulunduğu alanlarda daha iyi adapte olmalarından kaynaklandığı saptanmıştır.

Samuels (2006), tarafından yapılan bir çalışmada da; *Trichoderma* türlerinin birçok yörede ve toprakta yaygın olarak bulunduğu belirtilmesine rağmen; tek başına türlerin coğrafik yayılmasında *T. harzianum* ve *T. asperellum* gibi ya geniş ve sınırsız, ya da *T. viride*'de olduğu gibi sınırlı olduğu, bazı bölgelerde ve bazı bitkilerin bulunduğu alanlarda bazı türlerin nadir ya da yaygın bulunabileceği belirtilmektedir.

## 5. *Trichoderma* Irkları Üzerine Pestisidlerin Etkisi

Biyolojik mücadele uygulamalarında pestisidlerin etkisi iki farklı şekilde değerlendirilebilir. Bazı hastalıklara karşı kullanılan pestisidlere dayanıklı *Trichoderma* ırklarının bulunması veya mutasyonla geliştirilmesinin özellikle toprak patojenlerine karşı kombinasyon şeklinde kullanılarak hastalığın baskı altına alması şeklinde düşünülebilir (Kredics ve ark., 2003). *Sclerotinia minor*'un neden olduğu hastalığa karşı *Trichoderma* ırkının antagonist etkisi üzerine mancozeb, benomyl ve vinclozolinin etkisi araştırılmış ve vinclozolinin ile mancozeb'in *Sclerotinia*'ya karşı *Trichoderma* ile kombine edilmesinde önerilebileceği belirtilmiştir (Naár ve Keskés., 1998).

*Sclerotium cepivorum*'un neden olduğu soğan beyaz çürüklüğü üzerine fungal antagonistler (*Chaetomium globosum* ve *Trichoderma* spp.) ve bazı etkili maddeler (captan, mancozeb, thiram, benomyl ve iki dicarboximides) birlikte kullanılmıştır. Çalışmada Dicarboximide dayanıklı bazı antagonist biyotiplerin olduğunu, Bu durumun bazı pestisidlerin *Trichoderma* ırkları üzerine olumlu etkisi olarak düşünülmesi gerektiğini belirtilmişlerdir (Kay ve Stewart, 1994).

Diğer taraftan bazı *Trichoderma* türlerinin hassasiyeti üzerine benomyl ve carbendazim gibi benzimidazolere uygulama kombinasyonlarında problemler ortaya çıkabileceği ve uygulanacak bir *Trichoderma*'lı biyolojik preparatın bu fungusitlerden etkilenmesinin sözkonusu olacağı bildirilmektedir. Bunu önlemek için; fungusit ile dayanıklı mutantları birlikte uygulamak gerektiği, ultraviyole (UV) mutasyonlarının *Trichoderma* ırklarının izolasyonunda faydalı metot olarak kullanılabileceği belirtilmiş ve benomyl'e dayanıklı *Trichoderma* ırklarının bazıları, *T. harzianum* T 95 (ATCC 60850)'te olduğu gibi

araştırma konusu olmuşlardır (Ahmad ve Baker, 1987).

Bazı *Trichoderma* izolatlarının, Tolclofos methyl, Tolclofos methyl+Thiram ve Fludioxonil'e karşı duyarlılıkları in vitro koşullarda çalışılmıştır. Rizolex'in 10, 30, 100 ppm'lik dozlarında, *T. atroviride*BOZ6, *T. croceum*BOZ26, *T. crassum*VG66, *T. spirale*KB51 antagonistleri en az, *T. gamsii*VG47, *T. inhamatum*PT12, *T. asperellum*TZ17 ise en fazla etkilenenler olarak belirlenmiştir. Rizolex-T'nin 10, 30, 100 ppm'lik dozlarında *T. spirale*KB51, *T. croceum*BOZ26, *T. crassum*VG66 antagonistleri en az, *T. gamsii*VG47, *T. neokoningii*A15, *T. asperellum*TZ17, *T. strigosum*LO43 ise en fazla etkilenenler olarak belirlenmiştir. Celest-max denemesinde ilacın farklı dozlarında *T. spirale*KB51, *T. virens*KB31, *T. croceum*BOZ26, *T. crassum*VG66 en az, *T. strigosum*LO43, *T. asperellum*TZ17, *T. atroviride*BOZ6 ise en fazla etkilenenler olarak belirlenmiştir (Aydın ve Turhan, 2013).

Sonuç olarak bazı *Trichoderma* türleri ve kimyasal ilaçların düşük dozları, birlikte kullanılarak bazı hastalıklar baskı altına alınabilir.

## 6. *Trichoderma*'ların Bazı Dezavantajları

*Trichoderma* türlerinin tarımda ve teknolojide kullanılmasında yukarıda bahsedilen birçok avantajının yanında bazı önemli dezavantajları da belirlenmiştir. Samuels (2006)'in bildirdiğine göre, son dönemlerde yapılan bazı çalışmalarda bazı *Trichoderma* türlerinin, havadaki toz zerreciklerinde tespit edildiği ve hastanelerde bulunduğu belirtilmektedir. Karşıt bir düşünce olarak (Tang ve ark., 2003) insan sağlığını etkileyebileceği bildirilmektedir. *Trichoderma* türlerinin birkaç olayda insanda salgın enfeksiyon ve alerjik reaksiyonlara neden olabileceği belirtilmektedir (Jaakkola ve ark., 2002). Bu türlere örnek olarak *T. longibrachiatum* ve *T. citrinoviride* verilmektedir. Moleküler teşhis çalışmalarda bu türlerin birbirleriyle yakın genetik özelliklere sahip oldukları tespit edilmiştir (Samuels, 2006). *T. longibrachiatum* türü en iyi gelişme ve sporulasyonu 40 °C'de göstermektedir (Samuels ve ark., 1998). Burada önemli bir düşünce, *T. longibrachiatum*'un biyolojik kontrolde kullanılmasının güvenli olup olmadığıdır. Çünkü yukarıda da açıklandığı gibi bu türler insan vücudu sıcaklığında gelişebilir ve spor oluşturabilirler. Böylece bu türlerle yapılacak bir uygulama risk oluşturabilir.

## 7. Bitki Hastalık Patojenlerine Karşı Kullanılan *Trichoderma*'lı Biokontrol Ürünleri ve Özellikleri

*Trichoderma*'ların bio-formülasyonlarında katı ve sıvı formülasyonlar kullanılmaktadır. Bu formülasyonlarda fungusun hifleri, klamidiosporları veya çoğunlukla konidileri bulunmaktadır (Howell, 2003). Bir preparatın ekonomik, üretim maliyetinin uygun olması, tercihen sıvı fermante olabilmesi, kuru toz formunda mikrobiyal bulaşıklığa karşı korunaklı, düşük su oranında kullanılabilirliği ve raf ömrünün uzun olması arzu edilir. Sıvı formülasyon için, derin tank fermantasyon sistemi tercih edilmektedir. Melas ve bira mayası gibi pahalı olmayan gelişme ortamları kullanılmaktadır. Bu formülasyon şeklinin avantajı, hazırlanan biyomassın kalite ve optimizasyonun (besin içeriği, pH, sıcaklık ve diğer çevresel faktörler) daha iyi yapılabilmesidir. Böylece bulaşma ihtimali azalmaktadır.

Katı formülasyon, inokulum üretimi için alternatif bir yöntemdir. Buğday ve çeltik sap/samanı, şeker kamışı küspesi, mısır koçanı, talaş, pirinç kepeği gibi tarımsal artıklar kullanılmaktadır. Bu formülasyon metodu düşük maliyetli, küçük ölçekli üretimler için geçerlidir. Ancak üretim sürecinde inokulasyon ve depolama için geniş alanlara ihtiyaç vardır (Papavizas ve ark., 1984). Sıvı ve katı formülasyonlarda da kullanım açısından bazı dezavantajlar tespit edilmiştir. Örneğin, depolama sırasında biokontrol ajanın canlılığının uzun süre korunamaması veya uygulamanın hassasiyeti nedeniyle, uygulama sürecinde yapılacak hatalar, istenilen sonucu olumsuz etkileyebilir. Bu olumsuzlukları gidermek için "mikroenkapsülasyon" yöntemi geliştirilmiştir. Ürün, küçük partikül ve damla şeklinde, etrafı kaplanmış kapsül halindedir. Böylece içindeki canlı organizma dış çevreye karşı korunmuş olmaktadır. Fungusun konidilerinin sakaraz, melas pekmezi veya gliserol gibi şekerlerle mikroenkapsül formunda canlılığı artmakta ve güvenli şekilde depolama ve pazarlama olanakları sağlanabilmektedir (Jin ve Custis, 2011).

Biopreparatlar çoğunlukla sera ve fide yastıklarında *R. solani*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp. ve *Sclerotinia* gibi toprak kökenli patojenlere karşı geliştirilmiştir. Bu ticari preparatların kullanılma şekli, çoğunlukla toprağa doğrudan karıştırma, püskürtme veya enjeksiyon şeklinde, yaralara sürme, tohumun veya yumrunun süspansiyonla kaplanması, damla sulama ile toprağa verilmesi, kök ve gövdenin süspansiyona daldırılması ve sonrasında dikilmesi şeklindedir.

*Trichoderma*'lı bazı ticari preparatlar ve özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

## 8. Sonuçlar

Bitki hastalıklarına karşı mücadelede, *Trichoderma*'ların kullanılmasının önemi ve bu konuda yapılan çalışmalar artarak devam etmektedir. Dünya'da çok sayıda ticari bio-formülasyonlar üretilmekte ve tarımın hizmetine sunulmaktadır. Türkiye'de de *Trichoderma*'ların izole edilmesi, laboratuvar ve sera koşullarında etkinliklerinin araştırılması çalışmaları yoğun şekilde yapılmaktadır. Ancak ticari preparatların üreticilerin hizmetine sunulma sürecinde sorunlar yaşanmaktadır. Bu durumun çok çeşitli nedenleri vardır. Bunların başında ticari preparatların ruhsatlandırılmasında, yasal mevzuatın günün koşullarına göre yetersiz ve uygun olmaması, bu konuda özelleşmiş ve araştırma sürecini sonuna kadar götürecek kurum ve kuruluşların yetersizliği, Türkiye'deki ilaç endüstrisinin, endüstriyel düzeyde üretimin sağlanması için isteksiz olması veya yeterince teşvik edilmemesi gelmektedir. Bununla birlikte elde edilen *Trichoderma* türlerinin bitki hastalıklarına karşı etki mekanizmalarının öğrenilmesi için hızlı ve etkili metodlarının uygulanması gerekir. Çalışılan tür sayısının artması ve farklı coğrafik bölgelerde yeni türlerin araştırılması ve bulunması, morfolojik karakterlere göre tanımlamayı zorlaştırmakta bunun için DNA temelli moleküller tekniklerin de ülkemizde araştırmacılar arasında yaygın kullanılması teşvik edilmelidir.

Mikoparasitizm, antibiyotik ve enzim üretimi sonucu fungusun güçlü bir şekilde etkilenmesi laboratuvar koşullarında başarılı görülebilir. Fakat doğa koşullarında bu etki oluşmayabilir. Tersine durumda ortaya çıkabilir. Yani laboratuvar koşullarında yeterince başarılı olmayan bir *Trichoderma* izolatı, doğa koşullarında etki gösterebilir. Sıcaklığın *Trichoderma* türlerinin biokontrollü ile ilgili antibiyotik ve enzim aktivitesinde ve üretimi üzerinde çok büyük etkisi vardır. Toprak florasında diğer mikroorganizmaların varlığı yine biokontrol ajanının gelişimini, etkinliğini engelleyebilir, veya antibiyotik ve enzimlerini metabolize edebilir. Bu durum *Trichoderma* türlerinin biokontrol aktivitesini tamamen olumsuz etkileyebilir; ancak zaman genişliği süresince etkinliğini düşürebilir. Bununla birlikte bir *Trichoderma* türünün etkinliğinin sürmesi için, izole edildiği koşullara yakın sıcaklık, nem ve besin değerine sahip başka ortamlarda uygulanması en idealidir.

**Tablo 1.** *Trichoderma*'lı ticari preparatlarının ismi, etkili maddesi ve kullanıldıkları patojen-hastalıklar

Ticari ismi	Etkili maddesi	Hedef patojen ve hastalıklar
Trichodex	<i>T. harzianum</i> T39	Bağda ve çilekte kurşuni küf ( <i>Botrytis cinerea</i> ), seralarda domates, hıyar <i>B. cinerea</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ve <i>Cladosporium fulvum</i> , hasat sonrası elma çürüklüğünde
Binab-T	<i>T. harzianum</i> (ATTC 20476) + <i>T. polysporum</i> (ATTC 20475)	Süs bitkisi ve orman ağaçlarında odun ve yara çürütmesinde
Rootshield Granules	<i>T. harzianum</i> (KRL AG2)	Sera ve fideliklerde toprak kökenli bitki patojenler <i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> sp. vd.
Gliogard	<i>T. virens</i> (GL 21)	Fideliklerde çökerten hastalığı etmenleri <i>Pythium</i> sp. <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Fusarium</i> spp ve <i>Rhizoctonia solani</i>
ATCC®-20476	<i>T. atroviride</i>	Orman ağaçlarında odun çürüklüğü
T-22 Planter Box	<i>T. harzianum</i> (KRL-AG2)	Fideliklerde çökerten hastalığı etmenleri, <i>Pythium</i> sp. <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Thielaviopsis</i> sp., <i>cylindrocladium</i> sp.
Rootshield WP	<i>T. harzianum</i> -22	Toprak kökenli patojenler <i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> sp., <i>Thielaviopsis</i> sp.
Trichodermin-3	<i>T. lignorum</i>	Sebzelerde toprak patojenler <i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp.
ATTCC-20475	<i>T. polysporum</i>	Orman bitkilerinde odun çürüklüklerinde
F.Stop	<i>Trichoderma</i> sp	Bitkilerde çökerten etmenlerine <i>Pythium</i> sp., <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Fusarium</i> spp ve <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Thielaviopsis</i> sp.
Bio-Fungus	<i>Trichoderma</i> sp	Sebze bitkilerinde <i>R. solani</i> , <i>Sclerotinia</i> sp., <i>Phytophthora</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. <i>verticillium dahliae</i> etmenleri
Soilguard	<i>Gliocladium virens</i>	Sera ve süs bitkilerinde <i>R. solani</i> , <i>Pythium</i> sp. etmenleri
Trichopel	<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i>	Değişik bitkilerde <i>R. solani</i> , <i>Phytophthora</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Armillaria</i> sp., <i>Botryosphaeria</i> sp., <i>Chondrosternum</i> sp., <i>Nectria</i> sp., patojenleri
Niprot	<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i>	Bitkilerde kök çürüklüğü ve solgunluk etmenleri <i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp.
Tricho-X	<i>T. viride</i>	Bitkilerde kök çürüklüğü ve solgunluk etmenleri <i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp.
Tricho-shield	<i>T. harzianum</i> , <i>T. lignorum</i> , <i>T. koningii</i>	Bitkilerde toprak patojenleri <i>R. solani</i> , <i>Sclerotinia</i> sp., <i>Phytophthora</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>verticillium dahliae</i> ve mildiyö hastalıkları
Promot	<i>T. harzianum</i> + <i>T. koningii</i>	Meyve ve sebzelerde farklı funguslara karşı
T-35	<i>T. harzianum</i>	Domates ve hıyarda <i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp.
Spiceguard	<i>T. viride</i>	Bitkilerde kök çürüklüğü ve solgunluk etmenleri <i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp.
TY	<i>Trichoderma</i> spp.	Tarla ve sebze bitkilerinde <i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> sp., <i>S. rolfsii</i> patojenlerine karşı
Root Pro	<i>T. harzianum</i>	Bitkilerde çökerten etmenleri <i>Pythium</i> sp., <i>Fusarium</i> spp ve <i>Rhizoctonia solani</i>
Tricho-flow	<i>T. harzianum</i>	Bağda kurşuni küf ( <i>Botrytis cinerea</i> ) ve domateste kök çürüklüğü etmenleri <i>Pythium</i> sp., <i>Fusarium</i> spp ve <i>Rhizoctonia solani</i>

## Kaynaklar

- Ahmad, J.S., Baker, R., 1987. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 77: 182-189.
- Antal, Z., Manczinger, G., Szakács, R., Tengerdy, P., Ferenczy, L., 2000. Colony growth, in vitro

antagonism and secretion of extracellular enzymes in cold-tolerant strains of *Trichoderma* species. *Mycology Research*, 104: 545-549.

- Aydın, M.H., Turhan, G., 2009. *Rhizoctonia solani*'nin fungal antagonistlerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 19(2): 49-72.

- Aydın, M.H., Turhan, G., 2013. Patateste *Rhizoctonia solani*'ye karşı *Trichoderma* türlerinin etkinliği ve bazı fungusitlerle birlikte kullanılması. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 23(1): 12-30.
- Bae, H., Sicher, R.C., Kim, M.S., Kim, S.H., Strem, M.D., Melnice, R.L., Bailey, B.A., 2009. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. *Journal of Experimental Botany*, 60: 3279-3295.
- Benítez, T., Rey, M., Delgado-Jarana, J., Rincón, A.M., Limón, M.C., 2000. Improvement of *Trichoderma* strains for biocontrol. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17(1): 31-36.
- Boosalis, M.G., Scharen, A.L., 1959. Methods for microscopic detection of *Aphaanomyces euteiches* and *Rhizoctonia solani* and for isolation of *Rhizoctonia solani* associated with plant debris. *Phytopathology*, 49: 192-198.
- Bora, T., Özaktan, H., 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. Prizma Matbaası, İzmir.
- Çeliker, N.M., Nemli, T., 1994. Investigation on biocontrol of white root rot [*Rosellinia necatrix* (Hartig)] Berlese. *Türkiye III. Biyolojik Mücadele Kongresi*, 25-28 Ocak, İzmir, s. 110-115.
- Danielson, R.M., Davey, C.B., 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 5: 484-495.
- Delen, N., 1991. Patojenlerin fungusitlere dayanıklılık sorunu. TYUAP Ege-Marmara Dilimi, ABAV Toplantısı, 12-14 Mart, Menemen/İzmir.
- Di Petro, A., Lorita, M., Hayes, C.K., Broadway, R.M., Harman, G.E., 1993. Endochitinase from *Gliocladium virens*: Isolation, characterization, and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology*, 83: 308-313.
- Dickinson, J.M., Hanson, J.R., Hitchcock, P.B., Clydon, N., 1989. Structure and biosynthesis of harzianopyridone an antifungal metabolite of *T. harzianum*. *Journal of Chemical Society, Chemical Communications*, 1: 1885-1887.
- Djonovic, S., Vittone, G., Herrera, A.M., Kenerley, C.M., 2007. Enhanced biocontrol activity of *Trichoderma virens* transformants constitutively coexpressing  $\beta$ -1,3- and  $\beta$ -1,6- glucanase genes. *Molecular Plant Pathology*, 8(4): 469-480.
- Druzhinina, I., Kubicek, C.P., 2005. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: From aggregate species to species clusters. *Journal of Zhejiang University Science B*, 6(2): 100-112.
- Druzhinina, I.S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B.A., Kenerley, C.M., Monte, E., Mukherjee, P.K., Zeilinger, S., Grigoriev, I., Kubicek, C.P., 2011. *Trichoderma*-The genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 9: 749-759.
- Elad, Y., Barak, R., Chet, I., Heris, Y., 1983. Ultrastructural studies of the interaction between *Trichoderma* spp. and plant pathogenic fungi. *Phytopathology*, 107(2): 168-175.
- Elad, Y., Chet, I., Katan, J., 1981. *Trichoderma harzianum* A. biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70: 119-121.
- Elad, Y., Kapat, A., 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *European Journal Plant Pathology*, 105: 177-189.
- Evans, H.C., Holmes, K.A., Thomas, S.E., 2003. Mycobiota of an indigenous *Theobroma* species (*Sterculiaceae*) in Ecuador: Assessing its potential for biological control of cocoa diseases. *Mycological Progress*, 2: 149-160.
- Ghisalberti, E.L., Sivasithamparam, K., 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biology and Biochemistry*, 23: 1011-1020.
- Gibbs, J.N., 1967. A study of the epiphytic growth habit of *Fomes annosus*. *Annals of Botany*, 31(4): 755-774.
- Grosch, R., Lottmann, J., Rehn, V.N.C., Rehn, K.G., Mendonça-Hagler, L., Small, K., Berg, G., 2007. Analysis of antagonistic interactions between *Trichoderma* isolates from Brazilian weeds and the soil-borne pathogen *Rhizoctonia solani*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 114(4): 167-175.
- Harman, G.E., 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *T. harzianum* T-22. *Plant Diseases*, 84: 377-393.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M., 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review Microbiology*, 2: 43-56.
- Howell, C.R., 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87(1): 4-10.
- Howell, C.R., Stipanovic, R.D., 1983. Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 29(3): 321-324.
- Hubbard, J.P., Harman, G.E., Hadar, Y., 1983. Effect of soilborne *Pseudomonas* spp. on the biological control agent, *Trichoderma hamatum*, on pea seeds. *Phytopathology*, 73(5): 655-659.
- İren, S., Maden, S., Katırcıoğlu, Y.Z., Erzurum, K., 1988. *Trichoderma* species determined in Turkey. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 17(3): 107.
- Jaakkola, M.S., Latinen, S., Piipari, R., Uitti, J., Nordman, H., Haapala, A.M., Jaakkola, J.J., 2002. Immunoglobulin G antibodies against indoor dampness-related microbes and adult-onset asthma: A population-based incident case-control study. *Clinical Experimental Immunology*, 129:107-112.
- Jackson, A.M., Whipps, J.M., Lynch, J.M., 1991. *In vitro* screening for identification of potential biocontrol agents of *Allium* white rot. *Mycological Research*, 95(4): 430-434.

- Jin, X., Custis, D., 2011. Microencapsulating aerial conidia of *Trichoderma harzianum* through spray drying at elevated temperatures. *Biological Control*, 56: 202-208.
- Kay, S.J., Stewart, A., 1994. The effect of fungicides on fungal antagonisms of onion white rot and selection of dicarboximide-resistant biotypes. *Plant Pathology*, 43(5): 863-871.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., Nagy, E., 2003. *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1): 37-42.
- Kubicek, C.P., Messner, R., Gruber, F., Mach, R.L., Kubicek-Pranz, E.M., 1993. The *Trichoderma* cellulase regulatory puzzle: From the interior life of a secretory fungus. *Enzyme Microbial Technology*, 15: 90-99.
- Lieckfeldt, E., Kuhls, K., Muthumeenakshi, M., 1998. Molecular taxonomy of *Trichoderma* and *Gliocladium* and their teleomorphs. In: Kubicek CP, Harman GE (eds) *Trichoderma and Gliocladium*, Vol 1, *Basic Biology, Taxonomy and Genetics*. Taylor & Francis, London, pp. 35-74.
- Lifshitz, R., Windham, M.T., Baker, R., 1986. Mechanism of biological control of pre-emergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76: 720-725.
- Lorita, M., Woo, S.L., Fernandez, I.G., Collucci, G., Harman, G.E., Pintor-Toros, J.A., Filippone, E., Muccifora, S., Lawrence, C.B., Zoina, A., Tuzun, S., Scala, F., 1998. Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 95: 7860-7865.
- Mastouri, F., Björkman, T., Harman, G.E., 2010. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology*, 100(11): 1213-1221.
- Naár, Z., Keskés, M., 1998. Factors influencing the competitive saprophytic ability of *Trichoderma* species. *Microbiological Research*, 153(2): 119-129.
- Papavizas, G.C., 1985. *Trichoderma* and *gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review Phytopathology*, 23: 23-54.
- Papavizas, G.C., Dunn, M.T., Lewis, J.A., Beagle-Ristaino, J., 1984. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. *Phytopathology*, 74: 1171-1175.
- Réczey, K., Szengyel, R., Zacchi, G., 1996. Cellulase production by *T-reesei*. *Bioresource Technology*, 57: 25-30.
- Samuels, G.J., 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology*, 96(2): 195-206.
- Samuels, G.J., Petrino, O., Kuhls, K., Lieckfeldt, E., Kubicek, C.P., 1998. The *Hypocrea schweinitzii* complex and *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum*. *Studies in Mycology*, 41: 1-54.
- Santamarina, M.P., Roselló, J., 2006. Influence of temperature and water activity on the antagonism of *Trichoderma harzianum* to *Verticillium* and *Rhizoctonia*. *Crop Protection*, 25: 1130-1134.
- Tang, P., Mohan, S., Sigler, L., Witterick, I., Summerbell, R., Campbell, I., Mazzulli, T., 2003. Allergic fungal sinusitis associated with *Trichoderma longibrachiatum*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(11): 5333-5336.
- Turak, S., 1997. Erzincan ili fasulye ekim alanlarında kök çürüklüğü oluşturan fungal etmenlerin belirlenmesi ve bunların bazı fasulye çeşitlerinde patojeniteleri ile antagonist *Trichoderma* türleri ile etkileşimlerinin incelenmesi. [www.erzincanbk.gov.tr/sb32.htm](http://www.erzincanbk.gov.tr/sb32.htm) (Erişim tarihi: 01.05.2015).
- Turhan, G., 1973. Fungi isolated from the roots of diseased vegetable seedlings. *Journal of Turkish Phytopathology*, 2: 100-112.
- Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E.L., Lorita, M., Sivasithamparam, K., 2006. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 43: 143-148.
- Weindling, R., 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*, 22: 837-845.
- Weindling, R., 1934. Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology*, 24: 1153-1179.
- Weindling, R., 1941. Experimental consideration of the mold toxin of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology*, 31: 991-1003.
- Widden, P., Abitbol, J.J., 1980. Seasonality of *Trichoderma* species in a spruce forest soil. *Mycologia*, 72: 775-784.
- Windham, M.T., Elad, Y., Baker, R., 1986. A mechanism for increased plant-growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76(5): 518-521.
- Yedidia, I., Benhamou, N., Chet, I., 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 1061-1070.
- Yedidia, I., Srivastva, A.K., Kapulnik, Y., Chet, I., 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil*, 235: 235-242.