



Derleme

www.ziraat.selcuk.edu.tr/ojs
Selçuk Üniversitesi
Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi
24 (4): (2010) 82-91
ISSN:1309-0550



Bitki Patojeni Funguslara Karşı Kullanılan Mikrobiyal Fungisitler

Mehmet AYDOĞDU¹, Nuh BOYRAZ^{2,3}

¹Zirai Karantina Müdürlüğü, Antalya/Türkiye

²Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Konya/Türkiye

(Geliş Tarihi: 28.09.2009, Kabul Tarihi: 14.05.2010)

Özet

Gerek çevre ve gerekse ticari açıdan her geçen gün yeni fungusitlere ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda özellikle mikrobiyal orijinli antifungal bileşikler çevre dostu olarak büyük ilgi çekmektedir. Bunun sonucunda, çeşitli mikrobiyal kaynaklardan çok sayıda antifungal bileşikler keşfedilmektedir. Bu mikrobiyal bileşikler, geleneksel fungusitlerle kıyaslandığında çeşitli bitki hastalıklarına karşı oldukça etkili olabilmektedirler. Fungal metabolizmanın spesifik hedeflerine yönelik test tekniklerindeki gelişmeler, hedef dışı organizmalara seçiciliği olan yeni antifungal ajanların keşfedilmesine olanak vermiştir. Mikrobiyal fungusitlerin spesifikliğı, özellikle fungusit dayanıklılığının meydana geldiğı çevrelerde oldukça fazla tercih edilen bir özellik olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Bitki patojeni funguslar, mikrobiyal fungusit

Microbial Fungicides Against Plant Pathogenic Fungi

Abstract

New fungicides are needed in terms of both environmental and commercial day by day. In particular, antifungal compounds of microbial origin have drawn attention considerably over the past years. As a result of this, a number of antifungal compounds have been discovered from various microbial sources. When comparing these microbial compounds with traditional fungicides, these compounds could be highly effective against various plant diseases. With the development of test technic focusing on specific target of fungal metabolism made it possible exploring of new antifungal agents selective to non-target organisms. Specificity of microbial fungicides has been a highly preferred feature particularly environment where fungicide resistance occurs.

Key Words: Microbial fungicide, plant pathogenic fungi

Giriş

Son yıllarda bitki hastalıklarıyla mücadelede eğilim, günümüzde kullanılan fungusitlerden farklı olarak çevre dostu ve düşük toksisiteli yeni antifungal bileşiklerin kullanılmasına yöneliktir (Kim ve Hwang, 2003). Fungal bitki patojenleri mevcut sistemik fungusitlere karşı kolaylıkla dayanıklılık geliştirebilmekte bunun sonucunda önemli bitki hastalıklarıyla mücadelede büyük zorluklar ortaya çıkmaktadır (Kim ve Hwang, 2007). Vasküler solgunluk, antraknoz, buğdayda karabacak ve diğer kök patojenleri gibi önemli bitki hastalıklarının mücadelesi, günümüzde kullanılan kimyasal fungusitlerle zor olmaktadır (Knight ve ark., 1997). Bunun sonucunda, çevre dostu ve daha güvenli fungusitlere ilgi artmaktadır. Fakat yeni bileşikler keşfetmek ve uygulanabilirliğini belirlemek oldukça zordur. Örneğin; bileşiğin doğal şartlarda çözünürlüğü ve seçiciliği gibi özellikleri taşıması çok önemlidir. İdeal bir fungusit hem fungal bitki patojenlerini engellemeli hem de fungal olmayan organizmalara, mikoriza ve saprofitik toprak fungusları gibi faydalı türlere karşı da toksik etki gös-

termemelidir. Mikrobiyal metabolitler fungusit olarak çok sayıda biyolojik ve kimyasal avantajlara sahiptirler. Mikrobiyal metabolitlerin önemli bir diğer özellikleri de doğada çözünürlüğüdür. Metabolitler uygulandıklarında genellikle kısa bir süre içinde çözünmekte ve sonuçta çevreye daha az zarar vermektedirler (Tanaka ve Omura, 1993).

Mikrobiyal metabolitlerin sahip oldukları bu avantajlara rağmen sadece birkaç tanesi ticari fungusit olarak geliştirilebilmiştir. Fungisit etkisi bir mikrobiyal metaboliti ticari bir fungusit olarak başarılı bir şekilde kullanılabileceğini belirleyen tek faktör değildir. Bununla birlikte, konukçu bitki yüzeyinde buharlaşmanın geç olması ve böylece uygulama sayısının azalması bir mikrobiyal fungusitin tarımda kullanılmasına olanak sağlayan önemli bir diğer özelliktir. Ancak yeni keşfedilen mikrobiyal bir metabolitin arzu edilen tüm özelliklere sahip olması beklenemez (Kim ve Hwang, 2007). Mevcut derlemede, tarımda ticari olarak kullanılan ve kullanıma potansiyeli bulunan mikrobiyal fungusitler hakkında bilgi verilmeye çalışılmıştır.

³Sorumlu Yazar: nboyraz@selcuk.edu.tr

Bitki Korumada Fungisit Olarak Kullanılan Mikrobiyal Metabolitler

Blasticidin S, kasugamycin, validamycin ve polyoxin gibi önemli antifungal metabolit bileşikleri tarımda ticari olarak kullanılmaktadırlar. Bu bileşiklerin etkinlikleri tarla şartlarında test edilerek kanıtlanmış ve uzun yıllar çeltik, sebze ve meyvelerde fungal patojenlere karşı uygulanmıştır. Mikrobiyal metabolitlerin hem fungusit etkileri hem de yeni fungusitlerin geliştirilmesinde önemli potansiyele sahip olmaları nedeniyle bu konu ile ilgili araştırmalar devam etmektedir (Godfrey, 1994; Knight ve ark., 1997).

Streptomyces griseochromogenes'in metabolitlerinden keşfedilen blasticidin S, bitki hastalıklarıyla mücadelede kullanılan ilk mikrobiyal fungusit olup, çeltik yanıklık hastalığına (*Magnaporthe grisea* (Herb) Barr.) karşı başarılı olmuştur (Takeuchi ve ark., 1957). Blasticidin S, mikrobiyal orijinli bir fungusittir ve hem prokaryot hem de ökaryotlarda bir protein sentez inhibitörüdür. Bileşik, halen çeltik yanıklık hastalığına karşı Doğu Asya'da geniş çaplı olarak kullanılmaktadır. Bileşiğin, *M. grisea*'nın konidi çimlenmesini ve miseliyal gelişimini güçlü bir şekilde engellediği ve püskürtme şeklinde uygulamanın tarla denemelerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Yamaguchi, 1996).

Streptomyces kasugaensis ve *Streptomyces kasugaspinus*'un metabolitlerinden keşfedilen kasugamycin, bir amino-şeker bileşiğidir (Umezawa ve ark., 1965). Kasugamycin *in vitro*'da maya ve *M. grisea*'de dahil olmak üzere bazı bitki patojeni funguslara karşı antimikrobiyal etkiye sahiptir. *In vivo* şartlarda yapılan testlerde, bileşiğin 20 µg/ml'nin altındaki konsantrasyonlarda uygulanmasıyla, *M. grisea*'nın miseliyal gelişmesini baskı altına aldığı gözlenmiştir (Ishiyama ve ark., 1965; Tomlin, 1994). Bunun yanı sıra, Ishiyama ve ark.(1965) çeltik tohumlarının kasugamycin'in % 2'lik ıslanabilir toz formu ile muamele edilmesiyle, tarla şartlarında çeltik bitkilerinin yanıklık hastalığından en azından 1 ay süreyle korunduğunu bildirilmiştir. Kasugamycin, ayrıca elma ve armut kara leke hastalıklarında olduğu gibi şeker pancarı ve kereviz de yaprak leke hastalıklarıyla mücadelede koruyucu ve tedavi edici olarak kullanılmıştır (Hamada ve ark., 1965). Kasugamycin, fitotoksosite göstermemesi, memeli ve balıklar üzerinde düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle çevre dostu olarak kabul edilmektedir (Umezawa ve ark., 1965). Kasugamycin'e dayanıklılık, ilk uygulandığı 1965 yılından sonraki 3 yıl içinde rapor edilmiş ve 1972'ye kadar bu durum Japonya'da çeltik tarlalarında ciddi bir problem teşkil etmiştir (Copping ve Menn, 2000). Buna karşılık, potansiyel dayanıklılık problemlerini ortadan kaldırmak için günümüzde farklı sentetik fungusitlerle kasugamycin karışımlarının kullanılması farklı etki mekanizmaları oluşturmaktadır (Kim ve Hwang, 2007).

Polyoxinler, *Streptomyces cacaoi* var. *asoensis*'in kültürlerinden izole edilen antibiyotiklerdir (Suzuki ve

ark., 1965). Bileşikler, *in vitro* ve *in vivo* şartlardaki antifungal etkileri nedeniyle, başta gri küf (*Botrytis cinerea*) ve Japon armutlarında görülen kara benek hastalığı (*Alternaria kikuchiana*) olmak üzere sebze ve meyve ağaçlarında fungal hastalıklarla mücadelede ticari olarak kullanılmıştır (Isono ve ark., 1965). Polyoxinler funguslarda hücre duvarında kitin sentezini selektif olarak engelleyerek etki gösterirler. Bununla birlikte hücre duvarında kitin bulunmayan diğer organizmalara olumsuz etkileri bulunmamaktadır. (Endo ve Misato, 1969). Polyoxinlerden polyoxin B ve L, 50-100 µg/ml konsantrasyonda uygulandıklarında elma ve armutta *Alternaria* spp.'ye karşı selektif etkili oldukları saptanmıştır. Polyoxin D ise çeltikte *Rhizoctonia solani*'ye karşı kullanılmaktadır (Eguchi ve ark., 1968; Tomlin, 1994).

Iwasa ve ark. (1970), *Streptomyces hygroscopicus* var. *limoneus* tarafından üretilen validamycin A'nın çeltikte *R. solani*'ye karşı etkili olduğunu saptamışlardır. Validamycin A'nın etki mekanizması biyolojik seçicilik bakımından arzu edilmektedir. Çünkü bileşik, *R. solani* haricinde pek çok fungus ve bakteriye karşı antimikrobiyal etkiye sahip değildir (Wakae ve Matsuura, 1975). Bununla birlikte, validamycin A, mikrobiyal faaliyetlerden etkilenmektedir. Bileşiğin toprağa uygulanması, bileşiğin toprak mikroorganizmaları içinde biyolojik aktivitesini hızla kaybetmesiyle sonuçlanmıştır. *Pseudomonas denitrificans*'in validamycin A'yı ayrıştırması sonucunda bileşik, D-glikoz ve validoxyamine A'ya dönüşmektedir (Kameda ve ark., 1975). Böylece validamycin A, çevre güvenliği açısından ideal bir mikrobiyal metabolit olarak değerlendirilmektedir (Kim ve Hwang, 2007).

Arima ve ark. (1964) *Pseudomonas* sp. 'den elde edilen pyrrolnitrin 'nin antifungal etkisini ilk kez 1964 yılında tespit etmişlerdir. Bu antifungal ajan *in vitro* ve sera şartlarında *B. cinerea* ve *M. grisea*'ya karşı oldukça etkili bulunurken, tarla şartlarında yapılan testlerde bileşiğin güneş ışığının varlığında hızlı bir şekilde parçalanması nedeniyle başarılı bulunmamıştır (Nyfeler ve Ackermann, 1992). Daha sonra yapılan çalışmalar sonucu tarımda kullanımı uygun, ışık duyarlılığı daha düşük analogları sentezlenmiştir. Bu analoglardan 3-cyanopyrrole'ler, 3-chloro analoglarına oranla, güneş ışığına 50-100 kat daha dayanıklıdır (Ackermann ve ark., 2007).

Bugün için Phenylpyrole'ler olarak bilinen bu grupta Fenpiclonil ve Fludioxonil isimli iki fungusit bitki korumada değişik hastalıkların mücadelesinde kullanılmak amacıyla ruhsatlandırılmıştır (Delen, 2008). Bu grup üyeleri, oldukça geniş bir etki spektrumuna sahiptirler (Köller, 1999). Tahıllarda, patatest, meyvelerde, mısır ve çeltikte patojen olan pek çok Ascomycotina, Basidiomycotina ve Deuteromycotina üyelerine etkilidirler. Buna karşın Oomycotina üyelerine etkisizdirler (Ackerman ve ark., 2007; Koch ve Leadbeaten, 1992). Fenpiclonil ve fludioxonil

hidrolyotik parçalanmaya olduğu kadar, topraktaki parçalanmaya da stabildir. Bu stabiliteleri, tohum kaynaklı hastalıkları önleme amacıyla kullanımlarına yol açmıştır (Delen,2008). Fenpiclonil sistemik ve kontakt bir fungisitir. Fludioxonil ise, sistemik özelliğe sahip değildir (Roberts ve Hutson,1999). Sistemik olmamasına rağmen, bitki dokularına iyi penetre edebilme özelliğindedir. Bu nedenle uzun kalıntı etkisine sahiptir (Thomson,1997).

Strobilurin'ler, methoxyacrylate'lar(MOAs) olarak da adlandırılan olukça yeni bir gruptur.Bazı yazarlara göre ise, bu grup üyeleri,famoxadone,fenamidone ile birlikte quinone dış engelleyicileri (quinone outside inhibitors=QoI) olarak da bilinmektedirler (Fishel, 2006; Pasche ve ark., 2005). Strobilurin'lerin geliştirilmesi, doğal antifungal engelleyicilerinden strobilurin A'ya, oudemansin A'ya ve myxothiazol A'ya dayanmaktadır. Bu antifungal bileşiklerin her üçü de, Basidiomycotina üyesi şapkaklı funguslar tarafından salgılanmaktadır (Mizutani ve ark., 1995). Strobilurin A, bir şapkaklı fungus olan ve ormanlarda görülen *Strobilurus tanacellus*'un sekonder antifungal metabolitidir (Anke ve ark., 1977). Strobilurin'ler, sitokrom b üzerinde belirli bir yere bağlanarak mitokondrial solunum üzerine olan etki mekanizmaları ile diğer bilinen fungusit sınıflarından ayrılırlar. Strobilurin A, *in vitro* 'da bir çok fungusu karşı oldukça güçlü bir etkiye sahip olmasına rağmen, sera şartlarında etkili olmamıştır (Sauter ve ark., 1995). Buna karşılık, Azoxystrobin, kresoxim-methyl, metominostrobin, trifloxystrobin, picoxystrobin ve pyraclostrobin gibi 6 adet strobilurin ticari fungusit olarak başarılı bir şekilde geliştirilmiştir (Clough ve ark., 1995). Tüm ticari strobilurinler, bitki fungal patojenlerinin yer aldığı büyük gruplara (Oomycetes, Deuteromycetes, Ascomycetes ve Basidiomycetes) karşı geniş spektrumlu antifungal etkiye sahiptirler. Bununla birlikte, daha sonra sentezlenen strobilurinler, farklı bitki hastalıklarına karşı farklı seviyelerde etki göstermişlerdir (Heaney ve Knight, 1994). Nitekim, Brunelli ve ark. (1996), Kresoxim-methyl'in elmada kara leke ve külemeye karşı oldukça etkili olduğunu, ayrıca bileşiğin bağ mildiyösü ve bir çok Oomycetes üyesi funguslara karşı da orta derecede etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Azoxystrobin, fungal çimlenmeyi engellemek suretiyle güçlü bir engelleyici etkiye sahiptir ve bir çok bitki patojeni fungusu karşı geniş spektrumlu antifungal bir bileşik olarak dünyada en çok satan fungusitlerden biridir. Ayrıca pyraclostrobin, başta tahıllar olmak üzere bir çok üründe kullanılan geniş spektrumlu bir fungisitir (Bartlett ve ark., 2002). Strobilurin fungusitleri, mikrobiyal fungusitlerin en önemli sınıfı olarak değerlendirilmektedir (Kim ve Hwang, 2007).

Kullanım Potansiyeli Olan Diğer Antifungal Metabolitler

Chaetoviridin A ve B günümüzde *Chaetomium globosum* kültüründen saflaştırılmıştır (Takahashi ve

ark., 1990). Park ve ark. (2005), Chaetoviridin A,'nın *M. grisea* 'ya karşı *in vitro* ve *in vivo* 'da chaetoviridin B'den daha yüksek bir antifungal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra, Kim ve Hwang (2007) Chaetoviridin A'nın 62.5 µg/ml konsantrasyonda uygulanmasıyla bileşiğin çeltik yanıklık etmeninin (*M. grisea*) gelişmesini % 80 'in üzerinde baskıladığını, 125 µg/ml konsantrasyonda ise domateste mildiyö hastalığını (*Phytophthora infestans*) orta derecede kontrol ettiğini rapor etmişlerdir.

Fusarium semitectum 'dan izole edilen fusapyrone ve deoxyfusapyrone, 0.78-6.25 µg/ml konsantrasyonda uygulandıklarında *B. cinerea*, *Aspergillus parasiticus* Speare ve *Penicillium brevis-compactum* Dierckx ' a karşı geniş spektrumlu antifungal etki göstermişlerdir (Altomare ve ark., 2004). Ayrıca, Tanaka ve ark. (1997) malolactomycinler, Breinhold ve ark. (1997) ise oxysporidinone gibi diğer mikrobiyal ürünlerin *B. cinerea* üzerinde potansiyel olarak engelleyici etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, bu bileşiklerin tarla şartlarında gri küfe karşı etkinliklerinin yanı sıra konukçu bitki ve memelilere karşı toksisitelerinin araştırılması, bileşiklerin tam olarak değerlendirilmesi açısından gereklidir (Kim ve Hwang, 2007).

Geleneksel fungusitlerle *Fusarium* vasküler solgunlukları ve lahanagillerde kök-ur hastalığı (*Plasmodiophora brassicae*) gibi toprak kaynaklı hastalıkların mücadelesi zordur (Singh ve ark., 2002). Kim ve Hwang (2007), bazı mikrobiyal metabolitlerin, alternatif olarak bu hastalıklarla mücadelede etkili olduklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca, Bordoloi ve ark. (2002) *Streptomyces* sp. 'den elde edilen yeni bir antifungal bileşiğin (2-methylheptyl isonicotinate), *Fusarium oxysporum* Schltdl., *F. moniliforme* J. Sheld., *F. semitectum* Berk. & Ravenel, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *R. solani* ve toprak kaynaklı yaygın bazı bitki patojenlerine karşı önemli derecede engelleyici etkiye sahip olduğunu saptamışlardır. Bileşiğin fitotoksitesisi üzerine yapılan çalışmalarda, test edilen bitki türlerinin kök ve sap gelişmelerindeki gözlemlerde bileşiğin, tohum çimlenmesi veya fide gelişmesini olumsuz etkilemediği görülmüş ve Turp (*Raphanus sativus* L.), hardal (*Brassica campestris* L) ve karnabahar (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) gibi bitkilerin fideleriyle yürütülen saksı denemelerinde ise, ekim öncesinde bitkilerin tohumları 50 µg/ml dozda muamele edildiğinde antibiyotik bileşiğin % 92'lere varan oranlarda koruyucu bir etki gösterdiği tespit edilmiştir (Kim ve Hwang, 2007). Bunların yanı sıra, Arie ve ark. (1998) *Phoma glomerata* 'nın bir kültürünün, toprak kaynaklı kök-uru hastalığına (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) karşı etkili olduğunu rapor etmişler ve araştırmacılar bu etkinin nedeni olarak mikroorganizma tarafından üretilen epoxydon'u göstermişlerdir. Epoxydon 250 µg/ml konsantrasyonda uygulandığında turpgil bitkilerini

kök-uru hastalığından korumuştur (Kim ve Hwang, 2007).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda *Streptomyces flaveus* kültüründen *Phytophthora* sp. 'ye karşı etkili bir manumycin-tipi antibiyotik izole edilmiştir (Hwang ve ark., 1996). Bileşik, 10 µg/ml konsantrasyonda, *P. capsici* 'nin hifsel gelişimini % 50 'den fazla oranda, 50 µg/ml dozda ise *P. capsici* 'nin hifsel gelişmesi % 90'a kadar varan oranlarda engellenmiştir. Bileşiğin kimyasal yapısının basitliği ve geniş spektrumlu antifungal etkisi, yeni fungusitlerin geliştirilmesinde rehber bileşik olarak değerlendirilmesini sağlamıştır (Kim ve Hwang, 2007). Ayrıca, Kim ve ark. (1999), *Micromonospora coerulea* 'dan izole edilen streptimidone'nın *P. capsici* 'ye karşı güçlü antifungal etki gösterdiğini bildirmişler, Kim ve Hwang (2007) 'da bileşiğin, 500 mg/l konsantrasyonda uygulanmasıyla biber bitkilerinde *P. capsici* 'nin gelişmesini tamamıyla baskıladığını rapor etmişlerdir.

Fenil asetik asit ve 4-fenil-3-butenoik asit *Streptomyces* spp. 'nin bazı izolatlarından elde edilen diğer metabolitlerdir (Hwang ve ark., 2001; Lee ve ark., 2005; Kim ve ark., 2006). Bu bileşiklerin 500 µg/ml konsantrasyonda uygulanmasıyla, biber bitkilerinde *Phytophthora* yanıklığına karşı etkili oldukları saptanmıştır (Kim ve Hwang, 2007). Ayrıca, Lee ve ark. (2004) *Lechevalieria aerocolonigenes* 'in kültüründen izole edilen yeni bir bileşiğin (butanoic acid thiobutacin), *B. cinerea* ve *P. capsici* 'ye karşı antifungal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Aerugine, *Pseudomonas fluorescens* 'den izole edilen yeni bir thiazoline türevi olup, 10 µg/ml konsantrasyonda uygulandığında *P. capsici* ve *Pythium ultimum* 'un *in vitro* şartlarda miseliyal gelişmelerini engellemiş (Lee ve ark., 2003) ve sera denemelerinde ise biber bitkilerinde *Phytophthora* hastalığına (*P. capsici*) karşı koruyucu etkiye sahip bir bileşik olduğu ortaya çıkmıştır (Kim ve Hwang, 2007).

Verlamelin, *Acremonium strictum* 'dan izole edilen bir peptid antibiyotığıdır (Kim ve ark., 2002) ve özellikle arpa küllemesine (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei* DC (Speer)) karşı güçlü bir koruyucu ve tedavi edici etki göstermiştir. Bileşik, 100 µg/ml konsantrasyonda uygulandığında, arpa küllemesi gelişmesini % 90 'ın üzerinde engellemiştir (Kim ve Hwang, 2007). Kharbanda ve ark. (2003) *Paenibacillus polymyxa* ırkının PKB1 peptid antibiyotığını ürettiğini ve bu antibiyotığın başta kolzada kara bacak hastalığı (*Leptosphaeria maculans* (Sowerby)) olmak üzere *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry, *Marasmius oreades* (Bolton) Fr., *Pythium pythioides* (Roze & Cornu), *R. solani*, *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. ve diğer ekonomik olarak önemli bitki patojeni funguslara karşı engelleyici etkiye sahip olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, Heins ve ark. (2001) diğer yeni bir peptid antibiyotığı olan agrastatin A 'yı, *Bacillus subtilis* AQ713 ırkının kültürlerinden izole etmişlerdir. Bu yeni ırk, agrastatin

A ile beraber iturin, plipastatinler ve surfaktinler gibi iturin-benzeri bileşikler de üretmiştir. Bu iturin benzeri bileşikler içeren ırkın kültürü, *in vitro* 'da fasulye ve pelargonium(sardunya) yapraklarında gri küf, domates fidelerinde *Alternaria solani* Sorauer ve bağ mildiyösüne (*Plasmopara viticola*) karşı etkili bulunmuştur (Kim ve Hwang, 2007).

Mikrobiyal Metabolitlerin Etki Mekanizmaları

Bitki Patojeni Fungusların Enfeksiyon Sürecindeki Oluşumları Üzerine Etki

Hastalık gelişmesinin başlangıç periyodunda spor çimlenmesi, hastalık çemberinde çok önemli bir süreçtir. Spor yoğunluğunun yüksek olduğu şartlarda, bir çok bitki patojeni fungusun spor çimlenmesi engellenmektedir. Bu olaya self inhibitörler olarak isimlendirilen sporların salgıladığı içsel fungal metabolitlerin neden olduğu ve bu metabolitlerin fungal gelişme için sporların uygun bir çevreye ulaşmasına kadar çimlenmeyi geciktirdiği düşünülmektedir (Allen, 1976). *Uromyces appendiculatus* (Pers.) urediosporları ve diğer bazı pas fungusları tarafından üretilen Methylcis-3,4-dimethoxycinnamate, iyi bilinen spor self-inhibitörlerinden birisidir (Macko ve ark., 1970). Bileşik, spor çimlenmesinin engellenmesinde çok etkilidir. Ayrıca, *Colletotrichum* spp., çok sayıda çimlenme inhibitörü üretmektedir. Örneğin, konidi gelişmesi esnasında sentezlendiği bilinen Mycosporin-alanine, *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G. W. Wilson 'nın konidi çimlenmesinde potansiyel bir self-inhibitördür (Kim ve Hwang, 2007). *C. gloeosporioides* 'in ürettiği Gloeosporone, diğer *Colletotrichum* spp. ve *F. oxysporum* 'un konidi çimlenmesini engelleyen diğer bir self-inhibitördür (Lax ve ark., 1985). Bu bilgiler ışığında, bitki patojeni fungusların konidi çimlenmesini engelleyebilen inhibitörlerin spesifik etkilerinin tespit edilmesi ve bunların bitki hastalıklarıyla mücadelede potansiyel birer mikrobiyal fungusit olarak geliştirilmesi düşünülebilir.

Bitki patojeni funguslar, kendilerini konukçuya tespit ederler ve hastalığa neden olurlar. Çoğu bitki patojeni fungus konukçu bitki kütikulasındaki zorlu fiziksel engelleri aşmak için özel penetrasyon yapıları kullanırlar (Mendgen ve ark., 1996; Howard, 1997). Bitki patojeni fungus sporlarının konukçu bitkiye ulaşmasından sonra olgun appressorium'un konukçunun yaprak yüzeyine sıkıca tutunmasını sağlamak için çim tüpünün konukçu yüzeyi ile teması enfeksiyon sürecinde çok önemlidir (Howard, 1997). *Magnaporthe grisea*, penetrasyona yardım için zank benzeri maddeler üretirler (Ebata ve ark., 1998). Bununla birlikte, Otake ve ark. (1999) üretilen yapıştırıcı maddelerin glikoproteinler ve lipit materyalleri içerdikleri için yapışma kuvvetinin tunicamycin gibi bir protein inhibitörü veya cerulenin gibi bir lipid biyosentez inhibitörünün varlığında azaltılabileceğini bildirmişlerdir. Tunicamycin, *Streptomyces lysosuperficus*, cerulenin ise *Cephalosporium caerulens* tarafından üretilen

mikrobiyal metabolitlerdir (Sano ve ark., 1967). Bu metabolitler fungusit olarak potansiyel uygulamalar için yeterince spesifik olmadıkları halde koruyucu fungusitlerin araştırılmasında incelemeye değer hedeflerdir (Kim ve Hwang, 2007). İlginç olarak *M. grisea*'nın appressorium tutunmasını engelleme yeteneğinde olan chlorobenthiazole ve tricyclazole gibi bazı geleneksel fungusitler tarımda ticari olarak kullanılmaktadır (Inouye ve ark., 1987; Thines ve ark., 2004).

Bitki patojeni fungusların enfeksiyon sürecinde, melaninin birikmesiyle turgor basıncı appressorium içinde artmaktadır (Thines ve ark., 2004). Basıncın artması konukçu doku içine mekaniksel penetrasyon için temel sürükleyici gücü sağlamaktadır (Howard ve Ferrari, 1989). Turgor basıncını oluşturmak için kalın bir melanin tabakası fungus hücre duvarının dışına bırakılır. *M. grisea*'da penetrasyon, turgor basıncı ile kolaylaşmaktadır (Bourett ve Howard, 1992). Melanin biyosentez inhibitörlerinin varlığında penetrasyon şiddetinin sınırlandırılması genellikle gerekli turgor basıncının sağlanamamasına mal edilmektedir (Thines ve ark., 2004). Melanin, bitki patojenlerinin enfeksiyon sürecini engelleyebilen mikrobiyal fungusitlerin geliştirilmesi için ideal bir hedeftir. Günümüzde *Streptomyces* sp. kültüründen abikoviromycin ve dihydroabikoviromycin izole edilmiştir (Maruyama ve ark., 2003). Bu bileşikler, *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ellis & Halst. 'un melanin üretimine karşı engelleyici etki göstermişlerdir. Abikoviromycin'in 6 µg/ml konsantrasyonunda melanin üretimi, normal üretimin % 60 'ı oranında azalmıştır. Bu bulgu mikrobiyal fungusitlerin geliştirilmesi açısından önemlidir (Kim ve Hwang, 2007).

Kitin Sentezi Üzerine Etki

Fungal hücre duvarı antifungal ajanlar için çok önemli bir hedeftir. Kitin, fungal hücre duvarında yapısal ve güçlendirici olarak önemli bir rol oynar. Kitinin bu temel rolü nedeniyle kitin sentez inhibitörleri yeni fungusitlerin geliştirilmesinde umut vericidirler (Kim ve Hwang, 2007). Nikkomycinler ve polyoxinler klasik kitin biyosentez inhibitörleridir. Bu bileşikler, ticari olarak tarımda fungusit olarak kullanılmaktadır. Nikkomycinler, kitin sentezine karşı potansiyel inhibitör etkisi göstermişlerdir (Hunter, 1995). Günümüzde phellinsin A ve arthrichitin yeni kitin sentez inhibitörleri olarak tespit edilmiştir (Vijayakumar ve ark., 1996; Hwang ve ark., 2000). Phellinsin A, *Phellinus* sp.'den izole edilen fenolik bir bileşiktir (Hwang ve ark., 2000). Bileşik, *C. lagenarium*, *M. grisea* ve *R. solani* 'ye karşı antifungal etki göstermiştir. Arthrichitin, *Arthrinium phaeospermum* 'dan izole edilmiştir (Vijayakumar ve ark., 1996). Bu bileşiğin, *B. cinerea* 'da morfolojik anormalliklere neden olmak suretiyle etmenin gelişmesine karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Sera koşullarında bileşiğin, 5 mg/ml konsantrasyonda uygulanmasıyla çeltikte *Magnaporthe grisea* enfeksiyonu % 75 ve hıyarda *B. cinerea* enfek-

siyonu ise % 85 oranında azalmıştır (Kim ve Hwang, 2007).

Acetyl-CoA Carboxylase Üzerine Etki

Fungal acetyl-CoA carboxylase (ACC), antifungal ajan testlerinde, yeni bir hedef olarak görülmüş ve soraphen A'nın keşfi antifungal metabolitlerin geliştirilmesi açısından önemli olmuştur (Gerth ve ark., 1994). ACC, yağ asidi biyosentezinde bir katalizör görevi üstlenir. Reichenbach ve Höfle (1995), Soraphen A'nın bazı bitki hastalıklarına karşı potansiyel olarak etkili olduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, Soraphen A'nın tohum muamelesi şeklinde uygulanmasıyla arpada külleme (*Blumeria graminis* (DC) Speer), çavdarda kar küfü (*G. nivalis*), elmada kara leke (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter) ve üzümde gri küf (*Botrytis cinerea*) hastalıklarını tamamiyle baskıladığını tespit etmişlerdir. Soraphen A'nın tarla şartlarında fitotoksik etkisi görülmemiştir (Vahlensieck ve ark., 1994). Fakat deney hayvanları üzerindeki yan etkilerinden dolayı soraphen A, bitki hastalıklarıyla mücadelede kullanılmamaktadır. Buna karşılık doğal mikrobiyal fungusit çeşitliliğinin artırılması için fungal ACC aktivitesini bloke eden mikrobiyal metabolitlerden yeni antifungal bileşiklerin geliştirilmesi amaçlanmaktadır (Kim ve Hwang, 2007).

Nükleik Asit Metabolizması Üzerine Etki

Nükleik asit metabolizması, antifungal hedef olarak görülen diğer hedeflerden bir tanesidir. Nükleik asitlerin sentezlenmesi için çok sayıda biyokimyasal reaksiyonlar gerekmektedir. Funguslarda nükleik asit metabolizmasını engelleyen çok sayıda bileşik bilinmekle birlikte bu bileşiklerin çok azı tarımda antifungal ajan olarak kullanılmaktadır (Kim ve Hwang, 2007). Hwang ve ark. (1994); Hwang ve Kim (1995), *Streptomyces violaceoniger* tarafından üretilen tubercidin isimli antibiyotik bitki patojeni funguslara karşı antifungal etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, Suhadolnik (1979) tubercidin'nin nükleik asit sentezini engellediğini ve bileşiğin, *P. capsici*, *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not ve *R. solani* 'ye karşı oldukça etkili olduğunu bildirmiştir. Tubercidin'in *in vivo* 'da *P. capsici* 'ye karşı potansiyel etkisi sistemik bir fungusit olan Metalaxyl 'e benzemektedir (Hwang ve Kim, 1995). *Phytophthora* zoosporlarıyla inokulasyondan 1 gün önce biber bitkilerinin 500 µg/ml konsantrasyonda tubercidin ile muamele edilmesiyle *Phytophthora* yanıklığı engellenmiştir. Biber bitkilerinde tubercidin 'in antifungal etkisi metalaxyl kadar uzun sürmemesine rağmen uygulama zamanı ve konsantrasyonuna bakılmaksızın metalaxyl kadar etkili olduğu belirlenmiştir (Kim ve Hwang, 2007).

Bitki Patojeni Funguslarda Mikrobiyal Fungisitlere Karşı Dayanıklılık

Geleneksel olarak kullanılan bazı pestisitlerin çevre açısından sahip oldukları toksikolojik özelliklerinden dolayı düşük toksisiteli selektif fungisitler kadar tek yer engelleyici fungisitler de geliştirilmiştir. Tarla şartlarında fungusit dayanıklılığının gelişmesi mümkün olduğu halde mikrobiyal fungusitlerin bitki patojeni fungusların tek bir yerini hedef alan spesifik etki mekanizmasına sahip olması, tercih edilen özelliklerinden birisidir. Çoğu mikrobiyal fungusitler spesifik yer engelleyicidirler. Mikrobiyal metabolitlerden geliştirilen strobilurinler, mikrobiyal fungusitler açısından fungusit dayanıklılığının gelişmesinin yüksek bir risk olduğunu gösteren bir örnektir (Kim ve Hwang, 2007).

Strobilurin fungusitleri, sitokrom *bc1* enzim kompleksinde sitokrom *b* 'nin Qo yerine bağlanarak mitokondriyal solunumu engelleyen QoI(Qo inhibitör)fungisitleridir (Becker ve ark., 1981). Bu bileşikler hedef yerlerine bağlandıklarında sitokrom *b* ve sitokrom *c1* arasında elektron transferini bloke etmekte ve ATP üretimini engellemektedirler. Strobilurin fungusitlerinin tek bir etki mekanizması olduğundan strobilurinler, ticari fungusitlere çapraz dayanıklı değıllerdir (Bartlett ve ark., 2002).

Günümüzde ticari olarak mikrobiyal metabolitlerden türetilen 6 sentetik fungusit mevcuttur. Yeni fungusit gruplarından birisi olan azoxystrobin ilk kez tarla şartlarında 1996 yılında kullanılmıştır. Bu fungusitlerin kullanılmasından sonra nispeten kısa bir sürede (1998-1999), *B. graminis* f. sp. *tritici* 'nin QoI 'e dayanıklı izolatları tahıllarda tespit edilmiş ve bu izolat 1999 yılında tüm Avrupa'ya yayılmıştır (Heaney ve ark., 2000). Bunun yanısıra, Ishii (2005) dünyanın bir çok yerine dağılan 20 patojen üzerinde QoI dayanıklılığının meydana geldiğini bildirmiştir. Japonya ve Güney Avrupa'da hıyar ve kavun yetiştirilen alanlarda külleme etmeninin (*Podosphaera fusca* U. Braun & Shishkoff) QoI fungusitleri ile kontrol edilememiş ve ayrıca QoI dayanıklılığı 1999 yılında İtalya ve Fransa'da bağ mildiyösünde tespit edilmiştir (Ishii, 2006). Batı Polonya, Kuzey Almanya ve Kuzey İtalya'dan toplanan elma kara leke (*V. inaequalis*) izolatlarında QoI hassasiyetinin azaldığı ortaya çıkmıştır (Heaney ve ark., 2000).

QoI'nin moleküler etki şekli ve sitokrom *b* sistemi ile biyokimyasal etkileşimi çok iyi incelenmiş (Sierotzki ve ark., 2000a; Sierotzki ve Ulrich, 2003) ve sitokrom *b*'de dayanıklılığa neden olan en az 15 farklı mutasyon tanımlanmıştır (Brousseau ve ark., 1996). Ayrıca, buğday ve kabakgiller külleme gibi bazı patojenlerde dayanıklılığın çok hızlı bir şekilde geliştiği bildirilmiştir (Bartlett ve ark., 2002). Rapor edilen fungusit dayanıklılığına rağmen hastalıklarla mücadelede QoI bileşiklerinin kullanılması güncelliğini korumakta ve bu bileşikler hastalıklarla mücadele programlarında önemli bileşikler olarak değerlendirilmektedir. Bu

bileşiklerin etkin bir şekilde kullanılabilmesine yönelik bazı öneriler sunulmuştur. Bunlar, yetiştirme sezonunda QoI' in seleksiyon baskısını azaltmak amacıyla QoI' in çapraz dayanıklılığa neden olan fungusitlerin uygulama sayısını sınırlandırmak ve etkili fungusit karışımlarını kullanmak şeklindedir. İlave olarak, etkili hastalık mücadelesi için doğru püskürtme aralığı ve oranı gibi uygun uygulama tedbirleri yerine getirilmelidir (Kim ve Hwang, 2007).

Sonuç

Antifungal etkiye sahip olan mikrobiyal metabolitler, yeni etki mekanizmalarıyla mikrobiyal fungusitler olarak veya yeni sentetik fungusitler için rehber bileşikler olarak bitki korumada önemli bir yere sahiptirler. Blastocidin S, kasugamycin, polyoxinler ve validamycinler ekonomik olarak önemli bitki hastalıklarında mücadele ajanı olarak tarımda geniş çaplı olarak kullanılmaktadır. Soraphen A ve strobilurinler bitki fungal hastalıklarına karşı yeni etki mekanizması göstermektedirler. Özellikle fenpiclonil, fludioxonil ve strobilurinlerin sentetik türevleri, yeni fungusitlerin geliştirilmesinde rehber bileşikler olarak çok iyi mikrobiyal metabolit özelliklerine sahip olduklarını kanıtlamışlardır. Günümüzde mikrobiyal fungusitlerin geliştirilmesine yönelik ilerlemeler, zamanla yeni mikrobiyal ürünlerin keşfedilmesine imkan sağlamaktadır. Bununla birlikte, çoğu bilimsel yaklaşımlarda görüldüğü gibi, mikrobiyal fungusitlerin geliştirilmesi ve pratik kullanılmalarında sınırlamalar bulunmaktadır. Bu sınırlamalara neden olan, düşük düzeyde fungal metabolit üretimi, dayanıklı patojen ırkların gelişimi ve mevcut bileşiklerin yeniden keşfedilme ihtimali gibi etkenleri mikrobiyal fungusitlerin dezavantajları olarak nitelendirilebilir.

Buna rağmen, mikrobiyal fungusitlerin geliştirilmesindeki sınırlamalar bitki koruma alanındaki hızlı ilerlemeler ile ortadan kaldırılabilmeye mümkündür. Mikrobiyal metabolitlerin daha randımanlı bir şekilde üretimi ise modern mühendislik teknikleri ile başarılabilir. Yeni hedef yerleri için yeni metodların kullanılması, mikrobiyal metabolitlerden yeni antifungal ajanların keşfedilme olasılığını arttırmaktadır.

Kaynaklar

- Ackermann, P., G. Knauf-Beiter R. Zeun, 2007. Chemistry and biology of fludioxonil, fenpiclonil, and quinoxifen. In: Kramer, W. and Schirmer, U. eds., Modern Crop Protection Compounds, Vol., 2. pp. 468-580. Wiley-VCH Verlag, GmbH and Co.KGaA, Weinheim.
- Allen PJ. 1976. Spore germination and its regulation. In: Heitefuss R, Williams PH (eds), *Physiological Plant Pathology*, New York, NY, Springer, pp. 51-85.
- Altomare C, Pengue R, Favilla M, Evidente A, Visconti A., 2004. Structure-activity relationships of derivatives of fusapyrone, an antifungal

- metabolite of *Fusarium semitectum*. *J Agric Food Chem* 52:2997-3001.
- Anke T, Oberwinkler F, Steglich W, Schramm G., 1977. The strobilurins new antifungal antibiotics from the Basidiomycete *Strobilurus tenacellus*. *J Antibiot* 30:806-807.
- Arie T, Kobayashi Y, Okada G, Kono Y, Yamaguchi I., 1998. Control of soilborne clubroot disease of cruciferous plants by epoxydon from *Phoma glomerata*. *Plant Pathol* 47:743-748.
- Arima K, Imanaka H, Kousaka M, Fukuta A, Tamura G.,1964. Pyrrolnitrin, a new antibiotic substance produced by *Pseudomonas*. *Agr Biol Chem* 28:575-576.
- Bartlett DW, Clough JM, Godwin JR, Hall AA, Hamer M, Parr-Dobrzanski B., 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Manag Sci* 58:649-662.
- Becker WF, von Jagow G, Anke T, Steglich W.,1981. Oudemansin, strobilurin A, strobilurin B, and myxothiazol: new inhibitors of the bc1 segment of the respiratory chain with an E- β -methoxyacrylate system as common structural element. *FEBS Lett* 132:329-333.
- Bordoloi GN, Kumari B, Guha A, Thakur D, Bordoloi M, Roy MK, Bora TC.,2002. Potential of a novel antibiotic, 2-methylheptyl isonicotinate, as a biocontrol agent against fusarial wilt of crucifers. *Pest Manag Sci* 58:297-302.
- Bourett TM, Howard RJ.,1992. Actin in penetration pegs of the fungal rice blast pathogen, *Magnaporthe grisea*. *Can J Bot* 68:329-342.
- Brasseur G, Saribas AS, Daldal F.,1996. A compilation of mutations located in the cytochrome *b* subunit of the bacterial and mitochondrial *bc1* complex. *Biochim Biophys Acta* 1275:61-69.
- Breinhold J, Ludvigsen S, Rassing BR, Rosendahl CN, Nielsen SE, Olsen CE.,1997. Oxysporidinone: a novel *N*-methyl-4-hydroxy-2-pyridone from *Fusarium oxysporum*. *J Nat Prod* 60:33-35.
- Brunelli A, Minuto G, Monchiero M, Gullino ML.,1996. Efficacy of strobilurin derivatives against grape powdery mildew in Northern Italy. *Proc Brighton Crop Prot Conf Pests Dis* 1:137-142.
- Clough JM, Anthony VM, de Fraine PJ, Fraser TEM, Godfrey CRA.,1995. The synthesis of fungicidal *b*-methoxyacrylates. In: Ragsdale NN, Kearney PC, Plimmer JJ (eds), *Eighth International Congress of Pesticide Chemistry*, Washington DC, American Chemical Society, pp. 59-73.
- Copping LG, Menn JJ.,2000. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag Sci* 56:651-676.
- Delen,N.,2008.Fungisitler.Nobel Yayın Dağıtım Tic.Ltd.Şti.Nobel Yayın No:1360,İstanbul,318s.
- Ebata Y, Yamamoto H, Uchiyama T.,1998. Chemical composition of the glue from appressoria of *Magnaporthe grisea*. *Biosci Biotech Biochem* 61:1225-1129.
- Eguchi J, Sasaki S, Ohta N, Akashiba T, Tsuchiyama T, Suzuki S.,1968. Studies on polyoxins, antifungal antibiotics. Mechanism of action on the diseases caused by *Alternaria* spp. *Ann Phytopathol Soc Japan* 34:280-288.
- Endo A, Misato T.,1969. Polyoxin D, a competitive inhibitor of UDP-N-acetylglucosamine: chitin N-acetylglucosaminyltransferase in *Neurospora crassa*. *Biochem Biophys Res Commun* 37:718-722.
- Fishel,F.M.,2006.Fungicide Resistance Action Committee's(FRAC)classification scheme of fungicides according to mode of action.Pesticide Information Office,Florida Cooperative Extension Service,Institute of Food and Agricultural Sciences,University of Florida.
- Gerth K, Bedorf N, Irschik H, Höfle G, Reichenbach H.,1994. The soraphens: a family of novel antifungal compounds from *Sorangium cellulosum* (myxobacteria). I Soraphen A1 α : Fermentation, isolation, biological properties. *J Antibiot* 47:23-31.
- Godfrey CRA.,1994. Fungicides and bactericides. In: Godfrey CRA(ed), *Agrochemicals from Natural Products*, New York, NY, Marcel Dekker, pp. 311-340.
- Hamada M, Hashimoto T, Takahashi S, Yoneyama M, Miyake T, Takeuchi Y, Okami Y, Umezawa H.,1965. Antimicrobial activity of kasugamycin. *J Antibiot* 18:104.
- Heaney SP, Hall AA, Davies SA, Olaya G.,2000. Resistance to fungicides in the QoI-STAR cross-resistance group: current perspectives. *Proceedings BCPC Conference: Pests and Diseases*. Surrey, UK, BCPC, pp. 755-762.
- Heaney SP, Knight SC.,1994. ICIA5504: a novel broad spectrum systemic fungicide for use on fruit, nut and horticultural crops. *Proc Brighton Crop Prot Conf Pests Dis* 2:509-516.
- Heins SD, Manker DC, Jimenez DR, McCoy RJ, Marrone PG, Orjala JE.,2001. Strain of *Bacillus* for controlling plant diseases and corn rootworm. US Patent 6291426.
- Howard RJ.,1997. Breaching the outer barriers-cuticle and cell wall penetration. In: Carroll GC, Tudzynski P (eds), *The Mycota. Vol. 5A. Plant Relationships*, Berlin, Germany, Springer, pp. 43-60.

- Howard RJ, Ferrari MA.,1989. Role of melanin in appressorium formation. *Exp Mycol* 13:403-418.
- Hunter PA.,1995. New developments in non-azole antifungals for human disease. In: Hunter PA, Darby GK, Russell NJ (eds), *Fifty Years of Antimicrobials: Past Perspectives and Future Trends*, Cambridge, UK, Cambridge University Press, pp. 19-51.
- Hwang BK, Ahn SJ, Moon SS.,1994. Production, purification, and antifungal activity of the antibiotic nucleoside, tubercidin, produced by *Streptomyces violaceoniger*. *Can J Bot* 72:480-485.
- Hwang BK, Kim BS.,1995. *In vivo* efficacy and *in vitro* activity of tubercidin, an antibiotic nucleoside, for control of *P. capsici* blight in *Capsicum annuum*. *Pestic Sci* 44:255-260.
- Hwang BK, Lee JY, Moon SS.,1996. Isolation, structure elucidation, and antifungal activity of a manumycin-type antibiotic from *Streptomyces flaveus*. *J Agric Food Chem* 44:3653-3657.
- Hwang BK, Lim SW, Kim BS, Lee JY, Moon SS.,2001. Isolation and *in vivo* and *in vitro* antifungal activity of phenylacetic acid and sodium phenylacetate from *Streptomyces humidis*. *Appl Environ Microbiol* 67:3739-3745.
- Hwang EI, Yun BS, Kim YK, Kwon BM, Kim HG, Lee HB, Jeong WJ, Kim SU.,2000. Phellinsin A, a novel chitin synthesis inhibitor produced by *Phellinus* sp. *PL3*. *J Antibiot* 53:903-911.
- Inouye S, Kato T, Jordan VWL.,1987. Inhibition of appressorial adhesion of *Pyricularia oryzae* to barley leaves by fungicides. *Pestic Sci* 19:145-152.
- Ishii H.,2005. Resistance management strategies for fungicides. In: Clark JM, Ohkawa H (eds), *Environmental Fate and Safety Management of Agrochemicals*, Washington DC, American Chemical Society, pp. 280-288.
- Ishii H. ,2006. Impact of fungicide resistance in plant pathogens on crop disease control and agricultural environment. *JARQ* 40:205-211.
- Ishiyama T, Hara I, Matsuoka M., 1965. Studies on the preventive effect of kasugamycin on rice blast. *J Antibiot* 18:115-119.
- Isono K, Nagatsu J, Kobinata K, Sasaki K, Suzuki S.,1965. Studies on polyoxins, antifungal antibiotics. Part I. Isolation and characterization of polyoxins A and B. *Agricul Biol Chem* 29:848-854.
- Iwasa T, Higashide E, Yamamoto H, Shibata M.,1970. Studies on validamycins, new antibiotics. II. Production and biological properties of validamycins A and B. *J Antibiot* 23: 595-602.
- Kameda Y, Horii S, Yamoto T.,1975. Microbial transformation of validamycins. *J Antibiot* 28: 298-306.
- Kharbanda PD, Coleman RN, Beatty PH, Jensen SE, Tewari JP, Yang J.,2003. *Paenibacillus polymyxa* strain ATCC202127 for biocontrol of bacteria and fungi. US Patent 6602500.
- Kim BS, Hwang BK.,2003. Biofungicides. In: Arora DK, Bridge PD, Bhatnager D (eds), *Handbook of Fungal Biotechnology*, New York, NY, Marcel Dekker, pp. 123-133.
- Kim BS, Moon SS, Hwang BK.,1999. Isolation, antifungal activity, and structure elucidation of the glutarimide antibiotic, streptimidone, produced by *Micromonospora coerulea*. *J Agric Food Chem* 47: 3372-3380.
- Kim HJ, Hwang IS, Kim BS, Hwang BK.,2006. Isolation and *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of phenylacetic acid produced by *Micromonospora aurantiaca* strain JK-1. *Plant Pathol J* 22: 75-89.
- Kim JC, Choi GJ, Kim HJ, Kim HT, Ahn JW, Cho KY.,2002. Verlamelin, an antifungal compound produced by a mycoparasite, *Acremonium strictum*. *Plant Pathol J* 18: 102-105.
- Kim BS and Hwang BK.,2007. Microbial Fungicides in the Control of Plant Diseases. *J. Phytopathology* 155, 641-653.
- Knight SC, Anthony VM, Brady AM.,1997. Rationale and perspectives on the development of fungicides. *Annu Rev Phytopathol* 35: 349-372.
- Koch, E., Leadbeater, A.J.,1992. Phenylproles-a new class of fungicides for seed treatment. The BCPC Conference-Pests and Diseases, Vol:3, 1137-1146
- Köller, W.,1999. Chemical approaches to managing plant pathogens. In: Ruberson, J.R. ed., *Handbook of Pest Management*. pp.337-376. Marcel Dekker, New York.
- Lax AR, Templeton WL, Meyer WL.,1985. Isolation, purification, and biological activity of a self-inhibitor from conidia of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytochemistry* 75: 386-390.
- Lee JY, Moon SS, Hwang BK.,2003. Isolation and antifungal and antioomycete activities of aerugine produced by *Pseudomonas fluorescens* strain MM-B16. *Appl Environ Microbiol* 69: 2023-2031.
- Lee JY, Moon SS, Yun BS, Yoo ID, Hwang BK.,2004. Thiobutacin, a novel antifungal and antioomycete antibiotic from *Lechevalieria aerocolonigenes*. *J Nat Prod* 67: 2076-2078.
- Lee JY, Moon SS, Hwang BK.,2005. Isolation and antifungal activity of 4-phenyl-3-butenoic acid from *Streptomyces koyangensis* strain VK-A60. *J Agric Food Chem* 53: 7696-7700.

- Macko V, Staples RC, Gershon H, Renwick JA.,1970. Self-inhibitor of bean rust uredospores: methyl 3,4-dimethoxycinnamate. *Science* 170: 539-540.
- Maruyama H, Okamoto S, Kubo Y, Tsuji G, Fujii I, Ebizuka Y, Furihata K, Hayakawa Y, Nagasawa H, Sakuda S.,2003. Isolation of abikoviromycin and dihydroabikoviromycin as inhibitors of polyketide synthase involved in melanin biosynthesis by *Colletotrichum lagenarium*. *J. Antibiot* 56: 801-804.
- Mendgen K, Hahn M, Deising H.,1996. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Ann Rev Phytopathol* 34: 367-386.
- Mizutani, A., H. Yukioka, H. Tamura, N. Miki, M. Masuko, T. Takeda, 1995. Respiratory characteristic in *Pyricularia oryzae* exposed to a novel alkoxyimino-acetamide fungicide. *Phytopathology*, 85:306-311.
- Nyfelner R, Ackermann P.,1992. Phenylpyrroles, a new class of agricultural fungicides related to the natural antibiotic pyrrolnitrin. In: Baker DR, Fenyes JG, Steffens JJ (eds), *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals* III. ACS Symposium Series 504, Washington DC, American Chemical Society, pp. 395-404.
- Otake M, Yamamoto H, Uchiyama T.,1999. Influences of metabolic inhibitors and hydrolytic enzymes on the adhesion of appressoria of *Pyricularia oryzae* to wax-coated cover-glasses. *Biosci Biotech Biochem* 63: 978-982.
- Park J, Choi GJ, Jang KS, Lim HK, Kim HT, Cho KY, Kim JC.,2005. Antifungal activity against plant pathogenic fungi of chaetoviridins isolated from *Chaetomium globosum*. *FEMS Microb Lett* 252: 309-313.
- Pasche, J.S., L.M. Piche, Gudmaster, N.G., 2005. Effect of the F 129L mutation in *Alternaria solani* on fungicides effecting mitochondrial respiration. *Plant Dis.*, 89:269-278.
- Reichenbach H, Höfle G.,1995. Die Entdeckung eines neuen antifungischen Wirkprinzips: Soraphen-eine Fast-Erfolgs-Story. In: *Ergebnisbericht 1995 der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung*, Braunschweig, Germany, pp. 5-20.
- Roberts, T., Hutson, D., 1999. Metabolic Pathways of Agrochemicals. Part Two, Insecticides and Fungicides. The Royal Society of Chemistry.
- Sano Y, Nomura S, Kamio Y, Omura S, Hata T.,1967. Studies on cerulenin. III. Isolation and physicochemical properties of cerulenin. *J Antibiot* 20: 344-348.
- Sauter H, Ammermann E, Benoit R.,1995. Mitochondrial respiration as a target for antifungals: lessons from research on strobilurins. In: Dixon GK, Copping LG, Hollomon DW (eds), *Antifungal Agents: Discovery and Mode of Action*, Oxford, UK, BIOS Scientific Publishers, pp. 173-191.
- Sierotzki H, Parisi S, Steinfeld U, Tenzer I, Poirey S, Gisi U.,2000. Mode of resistance to respiration inhibitors at the cytochrome bcl complex of *Mycosphaerella fijiensis*. *Pest Manag Sci* 56: 833-841.
- Sierotzki H, Ulrich G.,2003. Molecular diagnostics for fungicide resistance in plant pathogens. In: Voss G, Ramos G (eds), *Chemistry of Crop Protection: Progress and Prospects in Science and Regulation*, Weinheim, Germany, Wiley, pp. 71-88.
- Singh R, Singh BK, Upadhyay RS, Rai B, Lee YS.,2002. Biological control of *Fusarium* wilt disease of pigeonpea. *Plant Pathol J* 18: 279-283.
- Suhadolnik RJ.,1979. *Nucleosides as Biological Probes*, New York, Wiley Interscience,
- Suzuki F, Isono K, Nagatsu J, Mizutani T, Kawashima Y, Mizuno T.,1965. A new antibiotic, polyoxin A. *J Antibiot Ser A* 18:131.
- Takahashi M, Koyama K, Natori S.,1990. Four new azaphilones from *Chaetomium globosum* var. *flavo-viridae*. *Chem Pharm Bull* 38: 625-628.
- Takeuchi S, Hirayama K, Ueda K, Sakai H, Yonehara H.,1957. Blasticidin S, a new antibiotic. *J Antibiot Ser A* 11: 1-5.
- Tanaka Y, Yoshida H, Enomoto Y, Shiomi K, Shinose M, Takahashi Y, Omura S.,1997. Malolactomycins C and D, new 40-membered macrolides active against *Botrytis*. *J Antibiot* 50: 194-200.
- Tanaka YT, Omura S.,1993. Agroactive compounds of microbial origin. *Ann Rev Microbiol* 47: 57-87.
- Thines E, Anke H, Weber WS.,2004. Fungal secondary metabolites as inhibitors of infection-related morphogenesis in phytopathogenic fungi. *Mycol Res* 108: 14-25.
- Thomson, W.T., 1997. *Agricultural Chemicals, Book IV, Fungicides*. Thomson Publications, Fresno, CA., USA
- Tomlin C.,1994. *The Pesticide Manual*, 10th edn, Hampshire, British Crop Protection Council,
- Umezawa H, Okami Y, Hashimoto T, Suhara Y, Hamada M, Takeuchi T.,1965. A new antibiotic, kasugamycin. *J Antibiot* 18: 101-103.
- Vahlensieck HF, Pridzun L, Reichenbach H, Hinnen A.,1994. Identification of the yeast ACC1 gene product (acetyl-CoA carboxylase) as the target of the polyketide fungicide soraphen A. *Curr Genet* 25:95-100.
- Vijayakumar E, Roy K, Chatterjee S, Deshmukh S, Ganguli B, Fehlhaber H-W, Kogler H., 1996. Arthricitin a new cell wall active metabolite from

- Arthrinium phaeospermum*. *J Org Chem* 61:6591-6593.
- Wakae O, Matsuura K.,1975. Characteristics of validamycin as a fungicide for *Rhizoctania* disease control. *Rev Plant Protec Res* 8 : 81-92.
- Yamaguchi I.,1996. Pesticides of microbial origin and applications of molecular biology. In: Copping LG (ed), *Crop Protection Agents from Nature: Natural Products and Analogues*, Cambridge, UK, Royal Soc Chem, p. 27.