



Geliş(Received) :27/06/2018
Kabul(Accepted) :02/11/2018

Derleme Makale/Review Article
Doi:10.30708mantar.437622

Fungal Biyokontrol Ajanları ve Metabolitleri

Şenay ŞENTÜRK¹, Özlem ABACI GÜNYAR*²
*Sorumlu yazar:ozlemabaci@yahoo.com

Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji ABD, Bornova-İzmir/TÜRKİYE
¹Orcid ID: 0000-0002-4849-2900/ sntrk.89@gmail.com
²Orcid ID: 0000-0002-4033-1862/ ozlemabaci@yahoo.com

Öz: Funguslar poliketidler, ribozomal olmayan peptitler ve terpenler olarak adlandırılan düşük moleküler ağırlıklı çok fazla sayıda sekonder metabolitler üretirler. Büyüme ve enerji üretimi gibi temel metabolik süreçlere doğrudan dahil olmasalar da, sekonder metabolitler işgal edilen bir ekolojik niş içinde üretici organizmanın hayatta kalmasına katkıda bulunan bir dizi biyolojik aktivite sergilerler. Sergilenen biyoaktivite nedeniyle zararlı böceklerin, yabancı otların ve hastalıkların biyokontrolüne yönelik olarak fungusların ürettikleri sekonder metabolitlerin kullanımı ile ilgili çalışmalar son 10 yılda önemli ölçüde yoğunlaşmıştır.

Anahtar kelimeler: Fungus, Biyokontrol, Sekonder metabolit, Biyoaktivite

Fungal Biocontrol Agents and Their Secondary Metabolites

Abstract: The fungus produces a large number of secondary metabolites of low molecular weight called polyketides, non-ribosomal peptides and terpenes. Although not directly involved in basic metabolic processes such as growth and energy production, secondary metabolites exhibit a range of biological activities that contribute to the survival of the producer organism in an occupied ecological niche. Studies on the use of secondary metabolites produced by fungi for biocontrol of pests, weeds and diseases due to exhibited bioactivity have been intensively concentrated in the last 10 years.

Key words: Fungus, Biocontrol, Secondary metabolite, Bioactivity

Giriş

1-Fungal Sekonder Metabolitler

Canlıların metabolik faaliyetleri sonucu oluşan ürünlere metabolit denir. Büyüme, gelişme ve çoğalma için gerekli olan maddeler primer metabolit adını alırken, ekspanansiyel fazın sonunda üretilen, düşük moleküler ağırlıklı doğal bileşiklere ise sekonder metabolitler denilmektedir (Cantürk, 2015). Sekonder metabolitler, primer metabolizmada kullanılan metabolitlerin manipülasyonu ve dönüşümü ile oluşan kompleks ürünleri içerir (Calvo ve ark., 2002; Pelaez, 2005; Fox ve Howlett, 2008; Brakhage ve Schroeckh, 2011; Brakhage, 2013; Boruta, 2018).

Funguslar geniş bir yelpazede sekonder metabolitler üretebilen olağanüstü organizmalardır. Funguslar predatörlerine ve rakiplerine karşı kimyasal iletişim için veya patojenik funguslarda olduğu gibi hayvan ve bitki konakçılarına manipüle etmek için sekonder metabolitleri kullanırlar. Bunların birçoğu, yararlı olan antibiyotik, antiviral, antitümör, antihipersolesterolemik ve immünoşüpresan aktivitelerinin yanı sıra arzu edilmeyen fito ve mikotoksik aktiviteler sergilemektedir (Calvo ve ark., 2002; Pelaez, 2005; Fox ve Howlett, 2008; Brakhage ve Schroeckh, 2011; Brakhage, 2013; Boruta, 2018).



2-Biyokontrol ve Biyokontrolde Fungusların Önemi

Biyokontrol; canlı doğal düşmanlar, antagonistler, rekabetçiler ve diğer kendi çoğalabilen biyolojik varlıkların kullanılmasıyla yapılan zararlılarla biyolojik mücadele stratejisidir (Uygun ve ark., 2010).

Bitkinin içinde veya üzerinde kendiliğinden üreyebilirler ve bitki büyüdükçe sürekli koruma sağlayabilirler. Genellikle insanları veya diğer memelileri etkilemezler, bu da onları son derece güvenli kılar. Böcekler için parazit olan çok sayıda Hyphomycetes sınıfında yer alan fungusun sporunu üretmek nispeten daha kolaydır; bu nedenle diğer biyolojik kontrol ajanları ile karşılaştırıldığında kullanımda ön plana çıkarlar. Fungusların geniş konukçu yelpazesi, çoğu kez aynı ürünle birçok zararlının kontrolünü sağlamak anlamına gelmektedir. Bu nedenler ile funguslar biyolojik kontrol ajanlarıdır (Butt ve ark., 2001; Ghorbanpour ve ark., 2017).

Mikro funguslar, laboratuvarında kültürasyon işlemlerinin kolaylığından dolayı sekonder metabolit üretiminde önemli bir potansiyele sahiptirler. Fungusların ürettiği sekonder metabolitler hem çok çeşitlidir hem de birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Oldukça farklı koşullarda yaşayabilmek için adaptasyon mekanizmaları gelişmiş olan fungusların biyoteknolojik önemi de gün geçtikçe artmaktadır (Cantürk, 2015).

Bulgular ve Tartışma

1-Fungal Biyokontrol Ajanların Etki Mekanizmaları

Faydalı fungusların koruyucu etkileriyle bağlantılı mekanizmaları anlamak, olumlu sonuçların elde edilmesi ve yeni stratejilerin geliştirilmesi için gereklidir. Faydalı fungusların biyokontrol mekanizmaları; Alan ve besin maddeleri için patojenlerle rekabet etme, Mikoparazitizm, Antibiyosis, Mikovirüs aracılı çapraz koruma (mycovirus-mediated cross protection - MMCP) ve Uyarılan sistemik direnç (ISR) olmak üzere beş sınıfa ayrılabilir. Bu farklı biyokontrol mekanizmaları, tek başına veya kombinasyon halinde faydalı funguslar tarafından kullanılabilir (Ghorbanpour ve ark., 2017).

a-Alan ve besin maddeleri için patojenlerle rekabet

Faydalı funguslar, paylaşılan habitatı yani bitki dokularını, rizosferleri veya filozferleri kolonize ederek, yer ve besinden patojenleri yoksun bırakarak onları inhibe edebilirler. İstilacı patojenlerden kurtulmak için, faydalı

funguslar etkili bitki kolonizasyon stratejilerine sahip olmalı ve habitat içinde yüksek populasyon yoğunluğunda olmalıdırlar (Ghorbanpour ve ark., 2017).

Trichoderma türleri bitki kök sistemini yoğun bir şekilde kolonize etmek için kök kolonizasyonu sırasında adezyonda görev alan hidrofobin genlerinin (*TasHyd1* ve *tvhydii1* gibi) ekspresyonu ile, hifal filamentlerin hidrofobik kök yüzeylerine bağlanmasını kolaylaştırır (Viterbo ve Chet, 2006; Guzmán-Guzmán ve ark., 2017). Bitki hücre duvarını parçalayan enzimlerin (Endopoligalakturonaz *ThPG1* gibi) ve selülozu tanıyabilen (swollenin *TasSwo* gibi) expansin benzeri proteinlerin de bitki kök kolonizasyonuna dahil olduğu gösterilmiştir (Brotman ve ark., 2008; Morán-Diez ve ark., 2009). Ayrıca, *Trichoderma* suşları, bitkiler tarafından üretilen antimikrobiyal bileşiklere (fitoaleksine, fenolik bileşikler ve flavonoidler gibi) karşı dirençlidir ve bu da onları kolonize köklerde ve rizosferde üstün kılmaktadır (Shoresh ve ark., 2005; Viterbo ve Chet, 2006; Błaszczuk ve ark., 2014).

Bazı *Trichoderma* suşları demir şelatlayıcı bileşikler olan siderofor da üretebilir. *Trichoderma*, paylaşılan nişlerden ferrik iyonlarını yakalayarak, *Botrytis cinerea* gibi toprak kaynaklı patojenlerin büyümesini ve aktivitesini engelleyebilir (Chet ve Inbar, 1994; Harman ve ark., 2004). Bu, tek bir besinin tükenmesinin, biyokontrolün fonksiyonel bir mekanizması olabileceği bir örnektir. *T. Harzianum* ve bazı kök patojenleri (*Fusarium acuminatum*, *Alternaria alternata* ve *Alternaria infectoria* izolatları) arasındaki etkileşimler üzerine yapılan in vitro çalışmalar, açlığın test edilen patojen funguslarda en sık görülen ölüm nedenlerinden biri olduğunu göstermiştir (Mokhtar ve Aid, 2013).

Bitki hastalıklarına karşı Arbuskular Mikorizal Funguslar önemli bir biyokontrol ajanı olarak kullanılmaktadır (Tahat ve ark., 2010). AM fungusları bitki kök sistemi, rizosfer kolonizasyonu için etkili stratejiler benimsemişlerdir ve bu da onları bitki patojenlerine karşı üstün rakipler haline getirmiştir (Vos ve ark., 2014). Arbuskular mikoriza fungusları ayrıca, konukçuda fizyolojik ve anatomik değişiklikler yaparak, köklerde hücre içi patojenlerin gelişimini kök lignifikasyonunun artırılması, konukçu hücre duvarının pektin ile kalınlaştırılması gibi mekanizmalar ile dolaylı olarak kısıtlayabilir (Malik ve ark., 2016).

b-Mikoparazitizm

Bir fungusun (konukçunun) başka bir fungus (mikoparazit) tarafından parazit olarak yaşaması "mikoparazitizm" olarak adlandırılır. Mikoparazitizm, mikoparazit bir fungusun haustorium gibi kendine özgü



organları ile konukçu hifine fiziksel olarak penetre olması ve böylece fungal yapıların bozulmasına neden olan çeşitli enzimlerin veya sekonder metabolitlerin salgılanmasının ardından konukçu fungustan besin/metabolit alımının sağlanması ile gerçekleşir (Daguerre ve ark., 2014).

Trichoderma tipik bir mikoparazitik fungustur. *T. atroviride*, *T. virens* ve *T. reesei* genomlarının karşılaştırmalı analizi, mikoparazitizmin *Trichoderma*'nın atalarından kalma yaşam tarzı olduğunu göstermiştir (Kubicek ve ark., 2011). Hücre duvarını parçalayan enzimler, *Trichoderma*'daki mikoparazitizm olayının anahtar bileşenleridir. Endokinitazlar, β -1,3-glukanazlar ve proteazlar gibi ekstraselüler enzimler, *Trichoderma* tarafından fungal hücre duvarını parçalamak için salgılanan başlıca enzimlerdir (Lopes ve ark., 2012; Geraldine ve ark., 2013; Vos ve ark., 2015).

Kitinazlar, gerçek fungusların hücre duvarlarının degradasyonunda rol oynayan *Trichoderma* tarafından salgılanan en önemli litik enzimlerdir. *Trichoderma harzianum*'daki kitinolitik etki, içerdikleri kitinaz ekspresyonundan sorumlu genler (*ech42*, *chi33*, *nag1*, *chi18-13* gibi) ile ilişkilidir (Seidl ve ark., 2005). *T. harzianum*'daki *ech42* geninin (endokitinaz) bozulması, *Botrytis cinerea* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı biyokontrol etkisini azaltırken, hücre duvarında kitin bulunmayan *Pythium ultimum*'su küfüne karşı değişmeden kalmıştır (Woo ve ark., 1999). *Trichoderma*'nın selülaz enzimleri, *Pythium*, *Phytophthora* türleri de dahil olmak üzere *Oomycetes* sınıfındaki patojenlerinin lignosellüloz biyokütlesini ve hücre duvarlarını hidrolize eder (Gajera ve ark., 2013).

c-Antibiyozis

Antibiyozis, fitopatojenlerin büyümesini ve/veya çoğalmasını baskılayan veya azaltan biyokontrol ajanları tarafından çeşitli antimikrobiyal bileşiklerin üretimi ile gerçekleşir. Bu fenomen; selülaz, ksilanaz, pektinaz, glukanaz, lipaz, amilaz, arabinaz ve proteaz gibi hücre duvarını parçalayan enzimler; 6-n-pentil-2H-piran-2-on (6-PAP) gibi uçucu metabolitler ve trikodermin, trikodermol, gliovirin, gliotoksin, viridin, herzianolit, pironlar, peptaiboller, etilen ve formik aldehit gibi antibiyotikler, antagonistik özelliklere sahip çok sayıda bileşik üretebilen *Trichoderma* da dahil olmak üzere çeşitli funguslarda gözlemlenmiştir (Jelen ve ark., 2013; Hermosa ve ark., 2014; Strakowska ve ark., 2014).

Trichoderma atroviridae miselinden elde edilen etil asetatın 0.66mg/ml'lik bir minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) ile *Fusarium solani*'nin spor

çimlenmesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bir diketopiperazin halkası ile karakterize edilen epipolitiiodioksopiperazinler (ETP'ler), *Trichoderma* tarafından üretilen yüksek derecede toksik sekonder metabolitlerden bazılarıdır (Błaszczuk ve ark., 2014). Çeşitli ETP sınıfları sadece belirli izolatlar tarafından üretilebilir. Örneğin, gliotoksin *Trichoderma virens*'in Q suşları tarafından sentezlenirken; gliovirin, güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olan P suşları tarafından üretilir (Butt ve ark., 2001; Mukherjee ve ark., 2012; Scharf ve ark., 2016).

Biyokontrol ajanı *Purpureocillium lilacinum*, fitopatojenler den *Phytophthora infestans* ve *Phytophthora capsici*'nin biyokontrolünde geniş çaplı biyolojik etki (antimalarial, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antitümör, ve fitotoksik aktivite) gösteren antibiyotik leucinostatinleri üretebilir (Wang ve ark., 2016). Ayrıca, *Purpureocillium lilacinum*'un kök-düğüm nematodu *Meloidogyne incognita*'nın yumurta kuluçkasını inhibe ettiği ve yavru (juvenile) ölümlerine neden olduğunu gösterilmiştir (Singh ve ark., 2013).

Ektomikorizal (ECM) funguslarda antibiyozis; antibiyotiklerin, uçucu ve uçucu olmayan bileşiklerin ve hücre duvarını parçalayan enzimlerin sentezini gerektirir. *Alnicola* sp., *Laccaria fraterna*, *Lycoperdon perlatum*, *Pisolithus albus*, *Russula parazurea*, *Scleroderma citrinum*, *Suillus brevipes* ve *Suillus subluteus* olmak üzere sekiz ektomikorizal fungusun antagonistik potansiyeli test edilmiş ve *Alternaria solani*, *Botrytis* sp., *Fusarium oxysporum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* ve *Subramanospora vesiculosa* da dahil olmak üzere birçok fungal patojene karşı antagonistik etki gösterdiği gösterilmiştir. *Suillus brevipes* ve *Suillus subluteus* patojenlere karşı en etkili izolatlar olarak bulunmuştur ve yine her ikisinin de yüksek miktarda kitinaz ürettiği saptanmıştır (Mohan ve ark., 2015).

d-Mikovirüs aracılı çapraz koruma (MMCP)

Bu biyokontrol mekanizması, anastomoz ile bir avirulent/hipovirulent izolattan, virulent izolata hipovirülans bir mikovirüsün (çoğunlukla dsRNA) aktarılmasıyla patojenik izolatın virülansının azaltılması ile gerçekleşir (Ghabrial ve Suzuki, 2009). Örneğin; *Cryphonectria parasitica*'nın hipovirulent suşları, Avrupa *Castanea sativa* bitkisinde kestane yanıklığına (chestnut blight) neden olan virulent suşların patojenitesini azalttığı gösterilmiştir (Ghorbanpour ve ark., 2017).



e-Uyarılan sistemik direnç (ISR)

Faydalı funguslar, patojenler tarafından enfeksiyona uğramadan önce savunma sinyal yollarını tetikleyip aktive edebilir ve esas olarak bitki hormonları tarafından düzenlenen konukçu bitkilere uyarılan sistemik direnci kazandırır (Ghorbanpour ve ark., 2017).

Çeşitli metabolit grupları, *Trichoderma*'nın bitkiler ile etkileşimlerinde direnç indükleyicileri olarak işlev görebilir. Bu metabolitler; enzimatik aktivite gösteren (Ksilanazlar, kitinazlar, fenil alanin amonyum liyaz ve glukanaaz) proteinleri, avirulent genler tarafından kodlanan proteinleri, fungal hidrolitik enzimler yoluyla fungusların veya bitkilerin hücre duvarlarından salgılanan moleküler bileşikler ve konukçu bitkilerde fitoaleksinin birikimini içerir (Błaszczuk ve ark., 2014; Tuão Gava ve Pinto, 2016). Bu çeşitli yollar aracılığıyla, *Trichoderma* konukçu bitkilerde, istilacı patojenlere karşı daha hızlı ve etkili tepki vermek için başlatılan sistemik savunmayı indükler (Hermosa ve ark., 2013; Kumar, 2013; Rubio ve ark., 2014; You ve ark., 2016). *Trichoderma* tarafından sağlanan ISR, hem *Phytophthora* (Hoitink ve ark., 2006) hem de *Botrytis cinerea* patojenleri için fonksiyonel etki şekli olarak önerilmiştir (Rubio ve ark., 2014).

Arbuskular mikorizal funguslar bitki savunma sistemini etkileyerek bitki-patojen etkileşimlerini değiştirebilirler. AM fungus *Glomus fasciculatum* tarafından lipoksigenazlar (LOX) ve fenilalanin amonyum liyazını (PAL) kodlayan jasmonik asit (JA) yolu savunma genlerinin ekspresyonunda üç kat artış ile, fungal patojen *Alternaria alternata*'ya karşı domateste sistemik direnci indüklemiştir (Nair ve ark., 2014). Endofit fungus *Piriformospora indica*'nın hidrojen peroksit birikimi ve süperoksit dismutaz ve guaiacol peroksidaz gibi antioksidatif yolların uyarılması yoluyla pirinçte kılıf yanıklığına (sheath blight) karşı ISR'yi indüklediği gösterilmiştir (Nassimi ve Taheri, 2017).

Verticillium nigrescens (zayıf patojen) ile pamuk bitkilerinin aşılınması, agresif patojen olan *Verticillium dahliae*'nin neden olduğu pamuğun *Verticillium* solgunluğunu başarılı bir şekilde kontrol edebilmektedir (Vagelas ve Leontopulos, 2015). Buğday bitkilerinin, *Gaeumanomyces graminis* var. *graminis* ve *Phialophora* sp. ile eş zamanlı olarak inokülasyonu, saha koşulları altında *G. graminis* var. *tritici*'nin neden olduğu tüm hastalıkları önemli ölçüde azaltabilmiştir (Ghorbanpour ve ark., 2017).

2-Fungal Biokontrol Ajanlarının Önemli Sekonder Metabolitleri

a-Entomopatojen Fungusların Toksinleri

Destruksin

Destruksinlerin, hücrelerdeki kalsiyum dengesinin bozulması ve vakuoler adenozin trifosfatların (ATPaz) inhibisyonu gibi birçok biyolojik faaliyete sahip oldukları görülmektedir. Örneğin, Dtx E'nin; kromatin agregasyonu, nükleus deformasyonu, mitokondrium ve granüllü endoplazmik retikulumun degradasyonu, ribozom fonksiyonunda degradasyonlar gibi birçok etkisi vardır. In vitro ve enfekte olmuş larvalarda fagositozu inhibe ettiği saptanmıştır. Düşük dozlarda bile DNA, RNA ve proteinlerin sentezini inhibe eder. H⁺-ATPaz aktivitesini bloke eder. Yine yapılan çalışmalarda antiviral etkisi de rapor edilmiştir (Butt ve ark., 2001).

Entomopatojen fungus *Metarhizium anisopliae*'den izole edilen destruksin A, destruksin B ve destruksin E; insan hepatoma hücrelerinde hepatit B virüsünün (HBV) replikasyonu üzerinde güçlü bir baskılayıcı etki göstermiştir. *M. anisopliae* var. *dcjhyium*'den ekstrakte edilen ham destruksinlerin anti-HBV etkileri, hem in vitro hem de in vivo olarak tespit edilmiştir (Dong ve ark., 2013). Entomopatojenik *Aschersonia* sp. fungusundan A4, A1 ve A5 destruksinler ve homodestruksin B izole edilmiştir (Saxena, 2015).

Böceklerin destruksinlere duyarlılıkları değişmektedir. Bazı Lepidoptera türleri oldukça duyarlıdır. Destruksinin *Spodoptera litura* larva evrelerinde insektisidal etkinliği yaş arttıkça LD₅₀ değerlerinde artma görülmüştür (Sree ve ark., 2008). İpek böceği (*Bombyx mori*) larvalarına enjekte edilen destruksin A ve B'nin ortalama ölümcül dozu (LD₅₀), enjeksiyondan 24 saat sonra 0.015-0.030 mg g⁻¹ dir (Fan ve ark., 2013). Yusufçuk (*Anisoptera*) kurtçukları, destruksin E'ye, A veya B'den daha duyarlı olduğu saptanmıştır (Butt ve ark., 2001).

Toksinler böceklerin büyümesini de etkiler. Hardal böceği (*Phaedon cochleariae*) ve patates böceği (*Epilachna sparsa*) larvaları, destruksinlerle muamele edilen yapraklara maruz kaldıklarında, işlenmemiş yapraklarla beslenenlere kıyasla daha yavaş büyürler. Destruksin E, *Musca domestica*'ya göre *Galleria* larvaları için daha toksiktir ve bu toksin, soğan kurdu sineği olarak bilinen *Delia antiqua*'ya karşı daha hassastır (Butt ve ark., 2001).



Efrapeptinler

Efrapeptinler, hücre içi protein taşınması ve mitokondriyal ATPazların inhibitörleridir. Efrapeptinler örümcek akarları, patates böceği, tütün tomurcuk solucanı (tobacco bud-worm) ve elmas güvesi gibi eklembacaklılara karşı insektisidal etki göstermektedir. *Tolypocladium* türleri, enfeksiyon süreci boyunca böcek hemokoelinde düşük miktarda efrapeptin salgılamaktadır. Ölü, enfekte olmuş *Galleria mellonella* ve *Calliophora* sp. 'de az miktarda fungus hifinin tespit edilmesi ölümün toksikozise bağlı olduğunu düşündürmektedir (Butt ve ark., 2001).

Oosporein

Çok sayıda toprak fungusu ve *Beauveria* cinsine ait fungus tarafından üretilmektedir. Proteinler ve aminoasitlerle reaksiyona girerek enzim aktivitesini bozmaktadır. Oosporein, 200 µg ml⁻¹ konsantrasyonda eritrositlerin membran ATPaz aktivitesini %50 oranında inhibe etmektedir (Butt ve ark., 2001). Oosporein aynı zamanda herpes simpleks virüs tip1' in DNA-polimerazını inhibe eden bir antiviral bileşiktir. Oosporein, Gram pozitif bakterilere karşı etkili bir antibiyotiktir, ancak Gram negatif bakteriler üzerinde çok az etkiye sahiptir (Gilbert ve Gill, 2010). *Nerium oleander* L bitkisinin bir endofitik fungusu olan *Cochliobolus kusanoi* deki Oosporein, in vitro antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik aktivite göstermektedir (Ramesha ve ark., 2015).

Beauvericin, bassianolide ve beauveriolide

Beauverisin, entomopatojen fungus *Beauveria* spp. ve *Paecilomyces* spp'den izole edilmektedir. Beauverisin, Na⁺ ve K⁺ komplekslerini oluşturarak doğal ve yapay zarların geçirgenliğinin artmasına yol açmaktadır. Beauverisin; *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei*, *Sarcinea lutea*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus faecalis* gibi çeşitli bakterilere karşı antibiyotik aktivite göstermektedir (Butt ve ark. 2001).

Beauveria bassiana tarafından salgılanan bir başka toksin ise bassianoliddir. Bu bileşiği az miktarda içeren yapay bir diyet ile beslenen ipekböceği larvalarında atonik semptomları indükler, ancak daha yüksek dozlarda ise öldürücüdür (13 ppm) (Sree ve Varma, 2015). *Beauveria* türleri ayrıca beauverisin ve bassianolide ile yapısal olarak ilişkili peptitler olan beauveriolidler ve beauverolidler üretmektedir. Bassianin ve tenellin de *Beauveria* türlerinden izole edilmektedir. Bu sarı renkli sekonder metabolitler eritrosit membran ATPazlarını inhibe etmektedir (Butt ve ark. 2001).

Hirsutellin

Hyphomycete *Hirsutella thompsonii*, insectisidal protein olan hirsutellin A üretmektedir. Hirsutellin A üretimi, miselial gelişim ile doğrudan ilişkilidir. Narenciye pas akarı *Phyllocoptruta oleivora*' yı *Hirsutella thompsonii* ürettiği hif ağı ile enfekte etmektedir. 40 pmol konsantrasyonda saf hirsutellin A, *Galleria mellonella* larvaları için oldukça toksiktir (Maimala ve ark., 2002).

Hirsutellin A aynı zamanda yenidoğan sivrisineği (*Aedes aegypti*) larvası için toksiktir. ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'ne göre (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), *Aedes aegypti* sivrisineği dünyanın belirli kısımlarında zika virüsü, dang humması, chikungunya virüsü ve sarıhumma virüsünü bulaştırmaktan sorumludur. 0.5 ve 5.0 µM konsantrasyonlarında hirsutellin A, *Spodoptera frugiperda* (Sf-9) hücrelerinde 2-4 saat içinde saptanabilir sitopatik etkilere neden olmaktadır ve tedaviden 4 gün sonra Sf-9 hücre büyümesini tamamen inhibe etmektedir (Butt ve ark., 2001).

Organik Asitler

Organik asitler arasında oksalik, kojik, cyclopiazonic, fusarik ve 4'-hidroksimetilazoksibenzen-4-karboksilik asitler, omurgasızlara karşı patojenik funguslardan izole edilmişlerdir. Lepidopteranlara veya dipteranlara toksiktirler. Zigomycetes üyesi *Entomophthora virulenta*; azoksibenzen-4,4'-dikarboksilik asit ve 4'-hidroksimetil-zoksibenzen-4-karboksilik asit üretmektedir. Hidroksiasit, *Calliphora erythrocephala* için enjeksiyonla uygulandığında toksiktir ve kültür filtratlarındaki insektisidal aktiviteden sorumludur (Butt ve ark., 2001).

b-Mikoparazit Fungusların Toksinleri

Peptaibol

Peptaiboller genellikle antimikrobiyal aktivite gösterirler. Bugüne kadar bilinen peptaibollerin ana kaynakları *Trichoderma* ve *Emericellopsis* funguslarıdır (Szekeres ve ark., 2005).

Trichoderma harzianum tarafından trikorzianinler, trikokindinler, trikorzinler ve harzianinler salgılanmaktadır. *Trichoderma viride*; alametisinleri ve trikotoksini üretmektedir. Başlangıçta *Trichoderma reesei* nin bir metaboliti olarak tanımlanan paracelsin, aslında birçok *Trichoderma* türü tarafından üretilmektedir. Paracelsin *Artemia salina* larvası için oldukça toksiktir (hesaplanan LD₅₀ = 2.2 µM) (Gupta ve ark., 2015).



Gliotoxin

Gliotoksin, 1934 yılında bir antifungal madde olarak keşfedilmiştir. Daha sonra çeşitli biyolojik aktivitelerde antimikrobiyal, antiviral ve bağışıklık düzenleyici etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, trombosit agregasyonunu indükleyen platelet aktive edici faktörün (PAF) bir inhibitörü olduğu bilinmektedir. Gliotoksinin antifungal özellikleri, *Trichoderma harzianum* ve *Gliocladium virens*' in hücre duvarını parçalayan enzimleriyle sinerjik olarak artırılmıştır. Gliotoksin oksidasyona duyarlıdır ve hızlı bozulma nedeniyle herhangi bir sağlık riski taşımamaktadır. Bu veri sıçanlar üzerinde yapılan oral ve pulmoner çalışmaların gösterdiği toksisite eksikliği ile desteklenmektedir (Butt ve ark., 2001).

Trichoderma ve *Gliocladium* mikoparazit fungus türlerinin diğer önemli metabolitleri

Trichoderma ve *Gliocladium*; poliketidler, terpenoidler, polipeptidler ve α -amino asitlerden türetilmiş metabolitler de dahil olmak üzere antibiyotik özelliklerine sahip çeşitli sekonder metabolitleri salgılamaktadır. Harzianik asit, terpenoid siklonerodiol, oktaketide keto-diol, 6-pentil- α -piron antibiyotikleri ve yeni bir seskiterpen antibiyotik olan heptelidik asit *Trichoderma harzianum* ve *Gliocladium virens* tarafından üretilmektedir. Heptelidik asit, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı antibiyotik etkiye sahiptir ve bazı anaerobik bakterilerin büyümesini engellemektedir. Antifungal aktivite gösteren bir trikotesen olan harzianum A *Trichoderma harzianum* tarafından salgılanmaktadır. Ayrıca, *Trichoderma viride*' den trikolin antifungal proteini tanımlanmıştır. Bu ribozomu inaktive eden protein *Rhizoctonia solani*' ye karşı aktiftir. Siklonerodiol ve koningininler *Trichoderma koningii*' den karakterize edilmiştir. Bu bileşiklerin bazıları, buğday köklerinden izole edilen bir *Trichoderma harzianum* suşunun kültür filtratlarından saflaştırılmıştır ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*' ye karşı aktiftirler. *Gliocladium* spp., fungistatik bileşik viridin ve gliovirin gibi antibiyotikleri üretmektedir. Yine *Gliocladium* kültür filtratında verticillin, glisoprenin ve poliketid antibiyotikleri gibi çeşitli başka metabolitler de keşfedilmiştir. Glisopreninler fitopatojenik fungus *Magnaporthe grisea*' nın appressorium oluşumunu inhibe etmektedir (Butt ve ark., 2001).

c-Mikoherbisit Fungusların Toksinleri

Bazı mikroorganizmalar (fitopatojenik ve fitopatojenik olmayan bakteri ve funguslar) ve sekonder mikrobiyal ürünler (fitotoksinler) biyolojik yabancı ot

kontrol maddeleri olarak potansiyel göstermektedir. Bu organizmalara ve doğal ürünlere biyoherbisit; potansiyel biyoherbisit aktiviteye sahip funguslara da mikoherbisit denmektedir (Butt ve ark., 2001).

İnsanların yetişmesini istemediği, yarardan çok zararları olan bitkiler olarak tanımlanan yabancı otlar, kültür bitkilerinde doğrudan veya dolaylı yoldan zarara neden olan bitki koruma problemlerinin başında yer almaktadır. Tarım alanlarında yabancı otlar kültür bitkileri ile besin maddeleri, su ve ışık gibi nedenlerle rekabete girmektedir. Ayrıca kültür bitkilerinde zarara yol açan pek çok hastalık etmeni ve zararlıları barındırmaktadır. Bu nedenlerle yabancı otların kontrolüne önem verilmektedir (Özaslan, 2017). Bazı önemli mikoherbisit fungal türler ve fitotoksinleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Ülkemizde istilacı yabancı otların mikrobiyal etmenlerle biyolojik mücadelesi ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Diğer taraftan genel olarak yabancı otların biyolojik kontrolüne ilişkin araştırmalar (daha ziyade fungal etmenlerle biyolojik mücadele) ise sadece tespit niteliğindeki çalışmalardır (Atay ve Onen, 2015).

Yabancı otlar üzerinde saptanan bu fungal patojenlerin etkinlik çalışmaları dahi son derece sınırlı kalmıştır. Bu sebeple ülkemizde her geçen gün artan oranda sorun oluşturan istilacı bitkiler başta olmak üzere yabancı otların mikrobiyal etmenlerle biyolojik kontrolüne ilişkin detaylı çalışmalara ağırlık verilmelidir (Atay ve Onen, 2015).

3-Biyolojik Mücadelenin Avantajları

Biyolojik mücadele diğer mücadele yöntemleri ile karşılaştırıldığında; doğal dengenin korunması, sadece hedef alınan zararlı ile mücadele edilmesi, hedef alınan zararlılarda dayanıklılık sorunu oluşturmaması ve en önemlisi insan ve çevre üzerinde olumsuz etkilerinin görülmemesi gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca sürdürülebilir tarımsal üretimi, kaliteli ve ilaç kalıntısı olmayan ürün elde edilmesini, biyolojik çeşitliliğin korunmasını da sağlamaktadır (Akbaş ve ark., 2015).

Biyolojik Mücadele Ürünleri ile Kimyasal Mücadele Ürünü üretmenin maliyetler ve getirdiği fayda arasında önemli farklar vardır. Uluslararası Bitki Kontrol Ürün üreticisi firmaların bu konuya ilgi duyması Biyolojik Mücadele çalışmaları için önemli avantajlardan biridir (Birişik ve ark., 2012).



Tablo1. Önemli Bazı Mikoherbisit Türlerin Fitotoksinleri

Fitotoksin	Mikoherbisit Fungus	Hedef Yabancı Ot	Referans
AAL-Toksin	<i>Alternaria alternata</i> <i>Alternaria eichorniae</i>	Su sümbülü ve diğer bazı sucul yabancı otları	Salar ve ark., 2013.
Destruksin B, homodestruksin B ve desmetil destruksin B	<i>Alternaria brassicae</i> , <i>Trichothecium roseum</i> ve <i>Ophiosphaerella herpotricha</i>	<i>Brassica</i> türleri	Hoagland ve ark., 2008.
Anhidromonalonolaton, tirosol, (R)-(-)-moronolakton ve sikloglisilprolin	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Varejão ve ark., 2013.
Maculosin	<i>Alternaria alternata</i>	Knapweed (mor top çiçekli bitki)	Bobylev ve ark., 1996.
Colletotrichin	<i>Colletotrichum</i> sp. <i>Colletotrichum coccoides</i> (VELGO)	<i>Abutilon theophrasti</i>	Jayawardena ve ark., 2016.
Trikotesen	<i>Myrothecium verrucaria</i>	<i>Amaranthus palmeri</i>	Anderson ve Hallett, 2003.
Enniatin	<i>Fusarium</i> sp.	Witchweed (<i>Striga hermonthica</i> – Canavar Otugiller)	Boari ve ark., 2003.
Fumonisin B ₁	<i>Fusarium moniliforme</i> suşuMRC 826	Jimsonweed (<i>Datura stramonium</i> – Boru Çiçeği)	Abbas ve ark., 1999.
Fusarik asit	<i>Fusarium</i> sp.	Jimsonweed (<i>Datura stramonium</i> – Boru Çiçeği) ve duckweed (<i>Lemna minor</i> – Su Mercimeği)	An, 2004.
Moniliformin	<i>Fusarium</i> sp.	Duckweed (<i>Lemna minor</i> – Su Mercimeği)	An, 2004.
Vulculic asit	<i>Nimbya alternantherae</i>	<i>Alternanthera philoxeroides</i>	Xiang ve ark., 2013.



Gelişmiş ülkelerde kimyasal ilaçların kullanımı konusunda daha büyük kısıtlamalar ve dünya çapında yasaklar getirilmiştir. Hem ABD hem de İngiltere’de, her formdaki kimyasal maddelerin kullanımını ciddi şekilde kısıtlayan organik tarım sertifikasyon standartları bulunmaktadır (Butt ve ark., 2001).

4-Sorunlar ve Dezavantajlar

Biyolojik Mücadele’nin çok sayıda faydası ve avantajı sıralanabileceği gibi olası bazı sorunlar ve dezavantajlardan da bahsetmek gereklidir.

Biyolojik Mücadele konusundaki bazı sorunlar ve riskler şöyle sıralanabilir;

Biyolojik Mücadele Ürünleri canlı materyallerdir ve muhafazası, nakli ve uygulaması zordur. Biyolojik Mücadele Ürünlerinde FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) tarafından yayınlanmış olan ISPM 3 (Guidelines for the export, shipment, import and release of biological control agents and other beneficial organisms) ve EPPO tarafından yayınlanan PM 6 (Safe use of biological control) uluslararası standartlarına uyulması son derece önemlidir. Faydalı Organizmaların hedef dışı canlılara (bitki ve diğer canlılar) zarar vermesi önemli bir risktir (Birişik ve ark., 2012).

Fungal BCA’ların ticarileştirilmesindeki büyük ekonomik engelden biri de risk değerlendirmesidir. Risk değerlendirmesi çalışmaları, kayıt amaçları için şarttır. Fungal BCA’ların hem insanlara hem de hedef olmayan diğer organizmalara karşı güvenli olduğu gösterilmelidir. Bütün bunlar çok zaman alır ve pahalıdır. Bu ürünün pazara alınmasındaki gecikme çoğu zaman tahmin edilenden daha fazladır. Bazı şirketler satışların başlamasını bekleyerek iflas etmiş durumdadır (Butt ve ark., 2001).

İthal edilecek doğal düşmanlarda olması gereken özellikler ve yapılması gereken ön çalışmalar şu şekilde sıralanabilir:

-Konukçu spektrumu dar olmalıdır. Bu nedenle konukçusuna özelleşmiş parazitoitler polifag predatörlere tercih edilmelidir.

-Yerli doğal düşmanlardan daha başarılı olmalıdır. Girdikleri bölgeye uyum sağlamalıdır. Girdikleri bölgenin ekolojik koşullarında yeteri kadar çoğalamıyorlarsa etkili olmaları mümkün değildir.

-İthal edilecek doğal düşman kolay üretilebilmelidir. Çünkü ithal edilen doğaldüşmanların girdiği bölgeye yerleştirme şansını arttırmak için birkaç yıl belli sürelerle milyonlarcasının üretilip salınması gerekebilir.

-İthal edilecek doğal düşman, girdiği bölgede belli bir süre sonra zararlı durumuna geçmemelidir. Bunun için ithal edilmeden önce, yerleştirileceği bölgede oluşturabileceği olumsuzlukları yaşamamak için her türlü risk faktörleri araştırılmalıdır (Uygun ve ark., 2010).

5-Fungal Biyokontrol Ajanlarının Etkinliğinde Çevresel Faktörlerin Etkisi

Biyokontrol ajanlarının etkinliği, çeşitli çevresel faktörlerden etkilenerek, antagonistik etkilerinin azaltılmasına veya geliştirilmesine yol açabilir. Sıcaklık, su varlığı, pH, pestisitlerin/fungisitlerin varlığı, metal/ağır metal iyonları ve antagonistik mikroorganizmalar; biyokontrol ajanlarının yaşamını ve işlevselliğini etkileyen temel faktörler arasındadır (Kredics ve ark., 2003; Compant ve ark., 2010).

a-Sıcaklık

Çoğunlukla mezofilik olan *Trichoderma* izolatları için önemli bir faktör gibi görünmektedir ve bunların biyokontrol etkinliği düşük sıcaklıkta azalmaktadır (Kredics ve ark., 2003). Bir *Trichoderma harzianum* izolatı ile *Sclerotinia sclerotiorum* un 25°C’deki mikoparazitizmi, 15°C’ ye göre daha yüksektir. *Trichoderma virens*, 25-30°C’ ye kıyasla 15°C’de daha düşük miktarlarda antibiyotik etki gösteren gliotoksin üretmiştir (Ghorbanpour ve ark., 2017). *Trichoderma asperellum* izolatlarının 12 ile 37°C arasında değişen sıcaklıklarda büyüyebildiğini ve maksimum büyümenin 27°C’de gözlemlendiğini göstermiştir. İzole edilen IBLF 914 suşu, 22-32°C’ lik sıcaklık aralığında, marul fidelerinde *Sclerotinia minor* ve *Sclerotinia sclerotiorum* un neden olduğu hastalığın şiddetini azaltmıştır (Domingues ve ark., 2016). Bununla birlikte, bazı *Trichoderma* türleri daha düşük sıcaklıklarda daha iyi çalışabilir. Örneğin, *Trichoderma viride* tarafından beyaz çürükçül patojen *Sclerotium cepivorum*’un mikoparazitliği, 10°C’de en yüksektir ve sıcaklık yükseldikçe azalan bir eğilim göstermektedir (Clarkson ve ark., 2004).

b-pH

Trichoderma hücre dışı enzimlerinin in vitro aktiviteleri çeşitli pH seviyelerine farklı tepki vermektedir. Cripps-Guazzone ve ark. (2016) β-glukozidaz, sellobiohidrolaz ve NAGaz için 5.0, β-ksilosidaz için 3.0, tripsin benzeri proteaz için 6.0 ve kimotripsin benzeri proteaz için 6.0-7.0 optimal pH değerini rapor etmiştir (Cripps-Guazzone ve ark., 2016).



c-Su varlığı

β -glukosidaz, β -ksilozidaz ve kimotripsin benzeri proteazın en yüksek aktiviteleri, düşük su potansiyeli değerlerinde, miselyumun optimal büyümesi için gerekli olandan daha fazladır. Ayrıca, çoğu enzim için miselial büyümenin durduğu çok düşük bir su potansiyelinde (14.8MPa) önemli in vitro aktiviteler tespit edilmiştir. Bu nedenle, daha düşük su potansiyeline sahip olan topraklarda kserotolerant mutantların kullanılması önerilmiştir. Düşük su varlığı genellikle Arbuskular Mikoriza kolonizasyonunu azaltır, ancak bazı AM suşları kuraklık stresinde arbuskül oluşumuna ve hif gelişimine sahip bir *Glomus* sp. suşunda gözlemlendiği gibi kuraklık koşullarına iyi adapte olabilirler (Ghorbanpour ve ark., 2017).

d-Metaller ve ağır metaller

Toprakta yüksek konsantrasyonlarda fungusun büyümesini ve işlevini olumsuz yönde etkileyebilir. Farklı *Trichoderma* türlerinde on metalin (alüminyum, bakır, nikel, kobalt, kadmiyum, çinko, manganez, kurşun, cıva ve demir dahil) misel gelişimi üzerindeki etkilerini ve tripsin benzeri proteaz, kimotriptik proteaz, NAGaz, β -1,3-glukanaz, β -glukosidaz, selobiohidrolaz, β -ksilozidaz ve endoksilanaz gibi çeşitli enzimlerin in vitro aktivitelerini araştırmışlar. Miselial büyüme, metallere maruz kalmaktan önemli derecede etkilenmiştir. En düşük inhibitör konsantrasyon (IC50) değerleri bakır için gözlemlenirken, en yüksek değer alüminyuma aittir. Metal-dirençli *Trichoderma* suşları (UV mutagenesi ile üretilen mutantlar), fungal patojen *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Pythium debaryanum* ve *Rhizoctonia solani* suşlarının etkili antagonistleri olduğu gösterilmiştir. Metal-dirençli *Trichoderma* mutantları, aynı anda patojenlere karşı kesin etki gösterebilen ve direnç gelişimini azaltan metal içeren fungusitler ile kombine edilebilir (Ghorbanpour ve ark., 2017).

e-Antagonistik mikroorganizmalar

Fungal ajanların yayılımını ve biyokontrol aktivitesini olumsuz yönde etkileyebilir. Toprak bakterilerinin, topraktaki fungal patojen *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*' ye karşı *Trichoderma koningii*' nin antagonistik aktivitelerini baskıladığı gösterilmiştir. Buna göre, antibakteriyel aktiviteye sahip olan biocontrol ajanı fungusların kullanımı topraklarda örneğin *Trichoderma* suşları için yararlı bir özellik olabilir. 18 *Trichoderma* suşunu bakteriyel hücreleri degrades etme yetenekleri açısından incelemişler ve bakteriyel hücrelerin degradasyonu ile

ilişkili anahtar enzimler olan en az 3 tripsin benzeri proteaz, 6 kimotripsin benzeri proteaz ve 4 NAGaz salgılayarak *Bacillus subtilis* hücrelerini parçalayabilen bir izolat (*T. harzianum* T19) bulmuşlardır (Ghorbanpour ve ark., 2017).

f-Yüksek UV radyasyon ve CO₂ seviyeleri

Yüksek UV radyasyon ve CO₂ seviyeleri gibi iklim değişikliğine bağlı faktörler de fungal biyokontrol ajanlarının etkinliğini etkileyebilir. UV-B radyasyonunun, biyokontrol ajanları *Trichoderma* spp. ve *Clonostachys rosea*'nın konidia üzerinde inhibe edici etkileri olduğu gösterilmiştir. Yüksek CO₂ seviyeleri, topraktan izole edilen *Trichoderma* sp. aktivitesini arttırmıştır. Araştırmalar, *Trichoderma* türlerinin, pH'ı 4.4 olan bir hava atmosferine kıyasla, % 2 CO₂ atmosferinde daha iyi bir aktivitesi olduğunu ve fungal büyümenin % 10 CO₂'de durdurulduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, alkali pH'da (7.7), tüm *Trichoderma* türlerinin % 10 CO₂'de büyüme oranları % 2 CO₂'den daha yüksektir (Ghorbanpour ve ark., 2017).

6-Biyokontrol Ajan Olan Fungusların Kullanımında Yeni Yaklaşımlar

Doğal olarak oluşan biyokontrol olayları, biyokontrol kapasitesine sahip olan bitkileri üretmek için taklit edilebilir. En umut verici biyokontrol ajanlarından biri olan *Trichoderma*'nın içerdiği farklı genler, patojenlere karşı daha yüksek direnç gösteren transgenik bitkiler üretmek için kullanılabilir. *Rhizoctonia solani*'nin neden olduğu kılıf yanıklığına (Sheath blight) karşı direnç *Trichoderma atroviride*'den hücre duvarı parçalayıcı enzimleri kodlayan genlerin aktarılması ile oluşturulan pirinç transgeniklerinde başarılmıştır (Ghorbanpour ve ark., 2017; Liu ve ark., 2004). *Agrobacterium* delivery system kullanarak patates mikrotuberlerini, kitinaz (*chit42*, from *T. atroviride*) ve β -1,3-glukanaz (*bgn13.1*, from *T. virens*) genleri içeren pBIKE3 plasmidi ile transforme edilmiştir. Transformantlar, *Rhizoctonia solani*'ye (AG-3) karşı belirgin bir antifungal aktivite göstermiştir (Ghorbanpour ve ark., 2017; Efsani ve ark., 2010). Kanola bitkilerinin kotiledonlu petiolleri, bir endokitinaz geni (*chit33*, *Trichoderma atroviride*'den) kullanılarak transforme edilmiştir (Ghorbanpour ve ark., 2017; Solgi ve ark., 2015). Transgenik bitkiler kök çürüklüğü patojeni *Sclerotinia sclerotiorum*'a maruz bırakılmış ve lezyon boyutlarının, transgenik olmayan kontrol bitkilerine kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğu görülmüştür (Ghorbanpour ve ark., 2017).



Benzer şekilde, fungal biyokontrol ajanlarının etkinliği; genomik, metabolomik, proteomik, metagenomik ve transkriptomikler gibi biyoteknolojik araçlar ve "omik" yöntemler kullanılarak geliştirilebilir (Mukherjee ve ark., 2013; Massart ve ark., 2015). Örneğin, *Serratia marcescens* bakterisinden *Trichoderma harzianum*' a güçlü bir kitinaz geninin aktarılması, patojenik fungus *Sclerotium rolfsii*' ye karşı daha etkili litik aktivite ile sonuçlanmıştır. Yine, kitinaz genlerini aşırı ekspres eden *Trichoderma harzianum* transformantları, toprak kaynaklı patojenler *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotinia sclerotiorum*' un büyüme inhibisyonunda daha etkili olmuştur (Ghorbanpour ve ark., 2017).

Mikovirüs aracılı çapraz korumada, bitki hastalıklarının kontrolü için yapılan bir çalışmada, bir DNA mikovirüsünün (*Sclerotinia sclerotiorum* hipovirulans DNA virüsü 1), ekstraselüler olarak uygulandığında *Sclerotinia sclerotiorum* hücrelerini başarılı bir şekilde enfekte edebildiğini göstermiştir. Bu yeni bulgu, bazı fungal patojenler için mikovirüs partiküllerinin doğal fungusitler olarak kullanılabilmesini düşündürmektedir. Avrupa *Castanea sativa* bitkilerinde kestane yanıklığını kontrol etmek için MMCP yaklaşımı uygulanmıştır (Yu ve ark., 2013).

Biyolojik kontrol ajanlarının birlikte uygulanması, mümkün olduğunca geniş spektrumlu bir antagonistik etkinin kullanımı, daha çeşitli patojen gruplarını hedefleme ve bitki savunma enzimlerinin ve sekonder metabolizmanın daha yüksek oranda indüklenmesini sağlama avantajına sahip olmasından dolayı uygulanmalıdır. AMF ve *Trichoderma harzianum* tarafından yapılan domates ve patlıcanların çift aşılmasının, bu tedavilerin tek uygulamalarına kıyasla, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*' in neden olduğu solgunluk hastalığının daha iyi bir şekilde inhibe edilmesi ile sonuçlandığını belirtmiştir (Sghir ve ark., 2016).

Fungisitlerle kombinasyon halinde biyokontrol ajanının kullanılması için, daha düşük dozlarda kimyasal fungusitlerin kullanılmasıyla çevresel yüklerin azaltılmasının yanı sıra daha iyi sonuçların elde edilmesi için fungusite dirençli biyo-kontrol funguslarının üretimi gerçekleştirilmiştir. Fungisite dirençli faydalı funguslar ve kimyasal fungusitlerin çift uygulaması, özellikle, ciddi bitki hastalığı salgınlarını önlemek veya durdurmak ve patojenlerde direnç gelişimini azaltmak için kesin önlemler gerektiğinde yararlı olabilir (Ghorbanpour ve ark., 2017).

Kaynaklar

- Abbas, H.K., Smeda, R.J., Gerwick, B.C. ve Shier W.T. (1999). Fumonisin B1 from the fungus *Fusarium moniliforme* causes contact toxicity in plants: evidence from studies with biosynthetically labeled toxin. *J Nat Toxins*, 8(3) 405-20.
- Akbaş, B., Yaşarer, A.H. ve Şimşek M. (2015). Biyolojik Mücadele Araştırmaları Ve Uygulamaya Yansımaları. *Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, TÜRKTOB*, <http://www.turktob.org.tr/dergi/makaleler/dergi18/47-51.pdf>.
- An, Z. (2004). *Handbook of Industrial Mycology, Mycology*, Marcel Dekker, New York.
- Anderson, K.I. ve Hallett S.G. (2003). Herbicidal spectrum and activity of *Myrothecium verrucaria*. *Weed Science*, 52(4) 623-627.
- Atay, T., Asav, Ü., Önen, H. ve Kara, K. (2015). İstilacı Yabancı Otlarla Biyolojik Mücadele (Biological Control of Invasive alien plants), *Türkiye İstilacı Bitkiler Kataloğu*. T.C. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara.
- Birişik, N., Kütük, H., Karacaoğlu, M., Yarpuzlu, F., İslamoğlu, M. ve Öztemiz S. (2012). Teoriden Pratiğe Biyolojik Mücadele. *T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı*, Ankara.
- Błaszczak, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J. ve Jędrzycka, M. (2014). *Trichoderma* spp, application and prospects for use in organic farming and industry. *J. Plant Protec. Res.*, 54 (4) 309–317,
- Boari, A., Evidente, A., Idris, A.E. ve Abouzeid M.A. (2003). Identification of phytotoxic metabolites of a new *Fusarium* sp. inhibiting germination of *Striga hermonthica* seeds. *Phytopathologia Mediterranea*, 42 (1): 65-70.
- Bobylev, M.M., Bobyleva, L.I. ve Strobel, G.A. (1996). Synthesis and Bioactivity of Analogs of Maculosin, a Host-Specific Phytotoxin Produced by *Alternaria alternata* on Spotted Knapweed (*Centaurea maculosa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (12).



- Boruta, T. (2018). Uncovering the repertoire of fungal secondary metabolites: From Fleming's laboratory to the International Space Station. *Bioengineered*, 9 (1) 12–16.
- Brakhage, A.A. (2013). Regulation of fungal secondary metabolism. *Nature Reviews Microbiology*, 11(1) 21-32.
- Brakhage, A.A., Schroeckh V. (2011). *Fungal secondary metabolites - Strategies to activate silent gene clusters*, Fungal Genetics and Biology, 48, 15–22.
- Brotman, Y., Briff, E., Viterbo, A. Ve Chet, I. (2008). Role of swollenin, an expansin-like protein from *Trichoderma*, in plant root colonization. *Plant Physiol.*, 147 779–789.
- Butt, T.M., Jackson, C. ve Magan, N. (2001). Fungi as Biocontrol Agents, Progress, Problems and Potential, *CABI Publishing*, CAB International.
- Calvo, A.M., Wilson, R.A., Bok, J.W. ve Keller N.P. (2002). Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66 (3) 447-59.
- Cantürk, Z. (2015). *Aspergillus ve Penicillium* cinslerine ait sekonder metabolitler ve sınıflandırılması. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 13 (2), 1-8.
- Chet, I. ve Inbar, J. (1994). *Biological control of fungal pathogens*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 48 37–43.
- Clarkson, J.P., Mead, A., Payne, T. ve Whipps, J.M. (2004). Effect of environmental factors and *Sclerotium cepivorum* isolate on sclerotial degradation and biological control of white rot by *Trichoderma* spp. *Plant Pathol.*, 53 353–362.
- Compant, S., van der Heijden, M.G.A. ve Sessitsch A. (2010). Climate change effects in beneficial plant-microorganism interactions. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 73 197–214.
- Cripps-Guazzone, N., Jones, E.E., Condrón, L.M., McLean, K.L., Stewart, A. ve Ridgway, H.J. (2016). Rhizosphere and endophytic colonisation of ryegrass and sweet corn roots by the isolate *Trichoderma atroviride* LU132 at different soil pHs. *New Zealand Plant Protec.*, 69, 78–85.
- Daguerre, Y., Siegel, K., Edel-Hermann, V. ve Steinberg C. (2014). Fungal proteins and genes associated with biocontrol mechanisms of soil-borne pathogens. *Fungal Biol. Rev.*, 28 97–125.
- Domingues, M.V.P.F., de Moura, K.E., Salamao, D., Elias, L.M. ve Patricio F.R.A. (2016). Effect of temperature on mycelial growth of *Trichoderma*, *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum*, as well as on mycoparasitism. *Summa Phytopathol., Botucatu*, 42 (3) 222-227.
- Dong, C., Yu J., Zhu, Y. ve Dong C. (2013). Inhibition of hepatitis B virus gene expression & replication by crude destruxins from *Metarhizium anisopliae* var. *Dcjhium*. *Indian J Med Res.*, 138(6) 969-76.
- Esfahani, K., Motallebi, M., Zamani, M.R., Sohi, H.H. ve Jourabchi, E. (2010). Transformation of potato (*Solanum tuberosum* cv. Savalan) by chitinase and β 1,3 glucanase genes of mycoparasitic fungi towards improving resistance to *Rhizoctonia solani* AG-3. *Iranian Journal of Biotechnology*, 8 (2) 73–81.
- Fan, J.Q., Chen, X.R. ve Hu, Q.B. (2013). Effects of Destruxin A on Hemocytes Morphology of *Bombyx mori*. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(6) 1042-1048.
- Fox, E.M. ve Howlett B.J. (2008). Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. *Current Opinion in Microbiology*, 11 481–487.
- Gajera, H., Domadiya, R., Patel, S., Kapopara, M. Ve Golakiya, B. (2013). Molecular mechanism of *Trichoderma* as bio-control agents against phytopathogen system. *Curr. Res. Microbiol. Biotechnol.*, 1, 133–142.
- Geraldine, A.M., Cardoso, Lopes, F.A., Costa Carvalho, D.D., Barbosa, E.T., Rodrigues, A.R., Brandão, R.S., Ulhoa, C.J. ve Junior, M.L. (2013). Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors onfield biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. *Biol. Control*, 67 308–316.
- Ghabrial, S.A. ve Suzuki, N. (2009). *Viruses of plant pathogenic fungi*, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 47, 353–384.
- Ghorbanpour, M., Omidvari, M., Abbaszadeh-Dahaji, P., Omidvar, R. ve Kariman, K. (2017). Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biological Control*, 117 147-157.



- Gilbert, L.I. ve Gill, S.S. (2010). *Insect Control Biological And Synthetic Agents*. Chapter 11, *Academic Press*, Elsevier 2010,
- Gupta, V.K., Mach, R.L. ve Sreenivasaprasad, S. (2015). *Fungal Biomolecules: Sources, Applications and Recent Developments*, Wiley-Blackwell.
- Guzmán-Guzmán, P., Alemán-Duarte, M.I., Delaye, L., Herrera-Estrella, A. ve Olmedo Monfi, V. (2017). Identification of effector-like proteins in *Trichoderma* spp. and role of a hydrophobin in the plant-fungus interaction and mycoparasitism. *BMC, Genetics*, 18 16.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. ve Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2 43–56.
- Hermosa, R., Cardoza, M.B., Rubio, M.E., Gutiérrez, S. ve Monte, E. (2014). *Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of Trichoderma*, In: Gupta, V.K., Schmoll, M., Herrera-Estrella, A., Upadhyay, R.S., Druzhinina, i., Tuohy, M. (Eds.), *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, Elsevier, The Netherlands.
- Hermosa, R., Rubio, M.E., Cardoza, M.B., Nicolás, E., Monte, E. ve Gutiérrez, S. (2013). The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *Int. Microbiol.*, 16 69–80.
- Hoagland, R.E., Boyette, C.D., Weaver, M.A. ve Abbas, H.K. (2008). Bioherbicides: Research And Risks, *Toxin Reviews*, 26 (4) 313-342.
- Hoitink, H.A.J., Maden, L.V. ve Dorrance, A.E. (2006). Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp. interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. *Phytopathology*, 96 (2) 186–189.
- Jayawardena, R.S., Li, X.H., Liu, M., Zhang, W. ve Yan, J.Y. (2016). Mycosphere Essay 16: *Colletotrichum*: Biological control, biocatalyst, secondary metabolites and toxins. *Mycosphere*, 7(8) 1164-1176.
- Jelen, H., Blaszczyk, L., Chelkowski, J., Rogowicz, K. ve Strakowska, J. (2013). Formation of 6-n-pentyl-2H-pyran-2-one (6-PAP) and other volatiles by different *Trichoderma* species. *Mycol. Progress*, 13 (3) 589–600.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F. ve Nagy, E. (2003). Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technol., Biotechnol.*, 41 37–42.
- Kubicek, C.P., Herrera-Estrella, A., Seidl-Seiboth, V., Martinez, D.A., Druzhinina, I.S. ve Thon, M. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biol.*, 12 (R40) 1-15.
- Kumar, S. (2013). *Trichoderma*; a biological weapon for managing plant diseases and promoting sustainability. *Int. J. Agric. Sci. Vet. Med.*, 1 (3) 1–16.
- Liu, M., Sun, Z.X., Zhu, J., Xu, T., Harman, G.E. ve Lorito, M. (2004). Enhancing rice resistance to fungal pathogens by transformation with cell wall degrading enzyme genes from *Trichoderma atroviride*. *J. Zhejiang Univ. Sci.*, 5 133–136.
- Lopes, F.A., Steindorff, A.S., Geraldine, A.M., Brandao, R.S., Monteiro, V.N., Lobo, Jr. M., Coelho, A.S., Ulhoa, C.J. ve Silva, R.N. (2012). Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* isolates isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Fung. Biol.*, 116 815–824.
- Maimala, S., Tartar, A., Boucias, D. ve Chandrapatya, A. (2002). Detection of the toxin Hirsutellin A from *Hirsutella thompsonii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 80 (2) 112-26.
- Malik, R.J., Dixon, M.H. ve Bever, J.D. (2016). Mycorrhizal composition can predict foliar pathogen colonization in soybean. *Biol. Control*, 103 46–53.
- Massart, S., Perazzolli, M., Hofte, M., Pertot, I. ve Jijakli M.H. (2015). Impact of the omic technologies for understanding the modes of action of biological control agents against plant pathogens. *Biocontrol*, 60 725.
- Mohan, V., Nivea, R. ve Menon, S. (2015). *Evaluation of ectomycorrhizal fungi as potential bio-control agents against selected plant pathogenic fungi*, *JAIR*, 3, 408–412.



- Mokhtar, H. ve Aid, D. (2013). Contribution in isolation and identification of some pathogenic fungi from wheat seeds, and evaluation of antagonistic capability of *Trichoderma harzianum* against those isolated Fungi in vitro. *Agric. Biol. J. N. Am*, 4(2) 145–154.
- Morán-Diez, E., Hermosa, R., Ambrosino, P., Cardoza, R.E., Gutiérrez, S., Lorito, M. ve Monte, E., (2009). The ThPG1 endopolygalacturonase is required for the *Trichoderma harzianum*–plant beneficial interaction. *Mol. Plant Microbe Interact*, 22 1021–1031.
- Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A. ve Kenerley, C.M. (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma* - genomic perspective. *Microbiology*, 158 (Pt 1): 35-45.
- Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A., Singh, U.S., Mukherjee, M. ve Schmoll, M. (2013). *Trichoderma* in Agriculture, Industry and Medicine: An Overview, *Trichoderma: Biology and Applications*, CABI, Oxford.
- Nair, A., Kolet, S.P., Thulasiram, H.V. ve Bhargava, S. (2014). Systemic jasmonic acid modulation in mycorrhizal tomato plants and its role in induced resistance against *Alternaria alternata*. *Plant Biol.*, 17 (3) 625–663.
- Nassimi, Z. ve Taheri, P. (2017). Endophytic fungus *Piriformospora indica* induced systemic resistance against rice sheath blight via affecting hydrogen peroxide and antioxidants. *Biocontrol Sci. Technol.*, 27 1–16.
- Özaslan, Ö. ve Mennan, H. (2017). Diyarbakır ili buğday tarlalarında bulunan yabancı otların belirlenmesi, *Bitki Koruma Bülteni*, 57(4) : 447– 461.
- Pelaez, F. (2005). Biological activities of fungal metabolites. *Handbook of Industrial Mycology*, (ed. An, Z.), 49–92, (Marcel Dekker, New York.
- Ramesha, A., Venkataramana, M., Nirmaladevi, D., Gupta, V.K., Chandranayaka, S. ve Srinivas, C. (2015). Cytotoxic effects of oosporein isolated from endophytic fungus *Cochliobolus kusanoi*. *Frontiers in Microbiology*, 1 1-12.
- Rubio, M.E, Quijada, N.M, Pérez, E., Dominguez, S., Monte, E. ve Hermosa, R. (2014). Identifying beneficial qualities of *Trichoderma parareesei* for plants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 80 1864–1873.
- Salar, R.K., Gahlawat, S.K., Siwach, P. ve Duhan, J.S. (2013). *Biotechnology: Prospects and Applications*, Springer.
- Saxena, S. (2015). Microbes in Production of Fine Chemicals (Antibiotics, Drugs, Vitamins, and Amino Acids). 83-120. *Applied Microbiology*, Springer India.
- Scharf, D.H., Brakhage, A.A. ve Mukherjee, P.K. (2016). Gliotoxin, bane or boon?, *Environ. Microbiol.*, 18(4) 1096–1109.
- Seidl, V., Huemer, B., Seiboth, B. ve Kubicek, C.P. (2005). A complete survey of *Trichoderma* chitinases reveals three distinct subgroups of family 18 chitinases. *FEBS J.*, 272 5923–5939.
- Sghir, F., Touati, J., Mouria, B., Selmoui, K., Touhami, A.O., Filali-Maltouf, A., Modafar, C.E., Moukhli, A., Benkirane, R. ve Douira, A. (2016). Effect of *Trichoderma harzianum* and endomycorrhizae on growth and *Fusarium* wilt of tomato and eggplant. *WJPLS*, 2 (3) 69–93.
- Shoresh, M., Yedidia, I. ve Chet, I., (2005). Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. *Phytopathology*, 95 76–84.
- Singh, S., Pandey, R.K. ve Goswami, B.K. (2013). Biocontrol activity of *Purpureocillium lilacinum* strains in managing root-knot disease of tomato caused by *Meloidogyne incognita*. *Biocontrol Sci. Technol.*, 23 (12) 1469–1489.
- Solgi, T., Moradyar, M., Zamani, M.R. ve Motallebi, M. (2015). Transformation of Canola by chit33 gene towards improving resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Protec. Sci.*, 51 (1) 1–5.
- Sree, K.S., Padmaja, V. ve Murthy, Y.L.N. (2008). Insecticidal activity of the mycotoxin, destruxin from *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales) strains against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larval stages. *Pest Manage. Sci.*, 64 119-125.



- Sree, K.S. ve Varma, A. (2015). Biocontrol of Lepidopteran Pests: Use of Soil Microbes and their Metabolites. *Soil Biology*, Springer International.
- Strakowska, J., Błaszczuk, L. ve Chełkowski, J. (2014). The significance of cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma* in opportunistic lifestyle of this fungus. *J. Basic Microb.*, 54 1–12.
- Szekeres, A., Leitgeb, B., Kredics, L. ve Vágvölgyi, C. (2005). Peptaibols and Related Peptaibiotics of *Trichoderma*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 52(2) 137-68.
- Tahat, M., Kamaruzaman, S. ve Othman, R. (2010). Mycorrhizal fungi as a biocontrol agent. *Plant Pathol. J.*, 9 198–207.
- Tuão Gava, C.A. ve Pinto, J.M. (2016). Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *melonis* using seed treatment with *Trichoderma* spp. and liquid compost. *Biol. Control*, 97 13–20.
- Uygun, N., Ulusoy, M.R. ve Satar, S. (2015). Biyolojik Mücadele, *Türk. biyo. мүc. derg.*, 1(1) 1-14.
- Vagelas, I. ve Leontopoulos, S. (2015). Cross-protection of cotton against *Verticillium* wilt by *Verticillium nigrescens*. *Emir. J. Food Agric.*, 27 (9) 687–691.
- Varejão, E.V.V., Demuner, A.J., Barbosa, L.C.A. ve Barreto, R.W. (2013). Phytotoxic effects of metabolites from *Alternaria euphorbiicola* against its host plant *Euphorbia heterophylla*. *Quim. Nova*, 36 (7) 1004-1007.
- Viterbo, A. ve Chet, I. (2006). TasHyd1, a new hydrophobin gene from the biocontrol agent *Trichoderma asperellum*, is involved in plant root colonization. *Mol. Plant Pathol.*, 7 249–258.
- Vos, C.M., De Cremer, K., Cammue, B.P.A. ve De Coninck, B. (2015). The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. *Mol. Plant Pathol.*, 16 400–412.
- Vos, C.M., Yang, Y., De Coninck, B. ve Cammue, B.P.A. (2014). Fungal (-like) biocontrol organisms in tomato disease control. *Biol. Control*, 74 65–81.
- Wang, G., Liu, Z., Lin, R., Li, E., Mao, Z., Ling, J., Yang, Y., Yin, W. ve Xie, B. (2016). Biosynthesis of antibiotic leucinostatins in bio-control fungus *Purpureocillium lilacinum* and their inhibition on phytophthora revealed by genome mining,. *PLoS Pathog.*, 12 (7).
- Woo, S.L., Donzelli, B., Scala, F., Mach, R.L., Harman, G.E., Kubicek, C.P., Del Sorbo, G. ve Lorito, M. (1999). Disruption of the ech42 (endochitinase-encoding) gene affects biocontrol activity in *Trichoderma harzianum* P1. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 12 419–429.
- Xiang, M., Chen, S., Wang, L., Dong, Z., Huang, J., Zhang, Y. ve Strasser, R.J. (2013). Effect of vulculic acid produced by *Nimbya alternantherae* on the photosynthetic apparatus of *Alternanthera philoxeroides*. *Plant Physiol Biochem*, 65 81-8.
- You, J., Zhang, J., Wu, M., Yang, L., Chen, W. ve Li, G. (2016). Multiple criteria-based screening of *Trichoderma* isolates for biological control of *Botrytis cinerea* on tomato. *Biol. Control*, 101, 31–38.
- Yu, X., Li, B., Fu, Y., Xie, J., Cheng, J., Ghabrial, S.A., Li, G., Yi, X. ve Jiang, D. (2013). Extracellular transmission of a DNA mycovirus and its use as a natural fungicide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 110 1452–1457.