

Kahramanmaraş merkez köylerindeki buğday tarlalarından izole edilen Entomopatojen funguslar¹

Cihat KOZ², Özlem GÜVEN³

Entomopathogenic fungi isolated from wheat fields in villages of Kahramanmaraş city center

Abstract: Isolation and identification of entomopathogenic fungi from wheat fields in villages located near Kahramanmaraş city center were performed in this study. Insect associated fungi in soil were isolated by baiting soil samples with larvae of *Galleria mellonella*. 62 isolates were identified as *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., 84 isolates as *Aspergillus flavus* (Linn), 75 isolates as *Fusarium* spp. and 10 isolates as *Penicillium* sp. in 2010 and 2011. Six fungal isolates belonging to the genus *Beauveria* (Kapiçam 2010.C, Kapiçam 2010.E, Kürtül 2010.C, Kürtül 2010.E, Önsen 2010.A, Önsen 2010.B) and three fungal isolates belonging to the genus *Aspergillus* (Aksu 2010.C, Kılavuzlu 2010.C, Kürtül 2010.B) were tested against 4th and 5th instars of *G. mellonella* at a concentration of 1000 conidia/mm². The experiment was replicated three times at 25± 2°C and 60±5% relative humidity. Kapiçam 2010.C, Kapiçam 2010.E, Kürtül 2010.C, Kürtül 2010.E, Önsen 2010.A and Önsen 2010.B isolates caused 100% infections. Aksu 2010.C, Kılavuzlu 2010.C and Kürtül 2010.B isolates caused infection and sporulation in at 60%, 45% and 41% of the larvae, respectively. The results indicated that the isolates belonging to the genus *Beauveria* are highly pathogenic to *G. mellonella* larvae.

Key words: *Beauveria bassiana*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium*, *Penicillium*, Entomopathogenic fungi.

Öz: Bu çalışmada Kahramanmaraş merkez köylerindeki buğday tarlalarında bulunan entomopatojen fungusların izolasyonları ve teşhisi yapılmıştır. Toprakta *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) tuzak böcek yöntemi kullanarak yapılan izolasyonlar sonucunda 62 adet *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill., 84 adet *Aspergillus flavus* (Linn), 75 adet *Fusarium* spp. ve 10 adet *Penicillium* sp. entomopatojen fungus türleri teşhis edilmiştir. Patojenite testi için *Beauveria* cinsine ait altı (Kapiçam 2010.C, Kapiçam 2010.E, Kürtül 2010.C, Kürtül 2010.E, Önsen 2010.A, Önsen 2010.B) *Aspergillus* cinsine ait üç (Aksu 2010.C, Kılavuzlu 2010.C, Kürtül 2010.B) fungus izolatu 1000 konidi/mm² konsantrasyonunda 4. ve 5. evredeki *G. mellonella* larvaları üzerine 25± 2 °C sıcaklık ve % 60±5 nispi nemde uygulanmıştır. Kapiçam 2010.C, Kapiçam 2010.E, Kürtül 2010.C, Kürtül 2010.E, Önsen 2010.A, Önsen 2010.B izolatlarında % 100 fungus enfeksiyon gözlenmiştir. Aksu 2010.C, Kılavuzlu 2010.C ve Kürtül 2010.B izolatları sırası ile % 60, % 45, % 41

¹Bu çalışma KSÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2010/5-26YLS

²Kahramanmaraş Türkoğlu Lisesi, 46800, Kahramanmaraş

³Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyoloji Bölümü – 46100 Kahramanmaraş

Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: ozlemk@ksu.edu.tr

Alınış (Received): 27.05.2013

Kabul ediliş (Accepted): 21.05.2014

oranında enfeksiyona sebep olmuşlardır. Elde ettiğimiz bulgular *Beauveria* cinsine ait izolatların *G. mellonella* larvaları üzerine etkili patojeniteye sahip olduklarını göstermiştir.

Anahtar sözcükler: *Beauveria bassiana*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium*, *Penicillium*, Entomopatojen fungus.

Giriş

Buğday, *Triticum aestivum* L. maliyeti, yetiştirilmesi, depolanması ve işlenmesindeki kolaylıklardan dolayı ekimi ve üretimi en fazla olan kültür bitkilerinden biridir. Ülkemizde üretilen buğdayların kalitesinin düşük, üretim maliyetinin fazla olmasından dolayı buğday ihracatı yapılamamaktadır. Üretim maliyetinin düşürülüp, verim ve kalitenin artırılması milli ekonomiye katkı sağlayacaktır (Anonymous 2010). Buğday hastalık ve zararlıları buğdayın kalitesinde ve veriminde önemli kayıplara neden olmaktadır. Pas, sürme, rastık gibi hastalıklar ile süne (*Eurygaster integriceps* Put), kıvılcık (*Aelia rostrata* Boh.), ekin bambul böceği (*Anisopliae* spp.), ekin kambur böceği (*Zabrus* spp.), ekin güvesi (*Syringopais temperatella* Led.), Ekin sap arısı (*Cephus pygmaeus*), buğday karasineği (*Phorbia securis* Tiensuu) gibi böcek türleri verim ve kalite düşüklüğünün asıl nedenlerini oluşturmaktadırlar (Anonymous 2007).

Tarımsal zararlılara karşı yapılan kimyasal mücadelenin doğal yaşama olumsuz etkileri bilimsel çalışmalarla da net olarak tespit edilmiştir. Çevre ile uyumlu, insana, doğaya, zararı olmayan sağlıklı ürün elde edilmeye yönelik tarımsal üretime uygun biyolojik mücadele önemli hale gelmiştir. Gelişmiş ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de çevreye ve diğer organizmalara zarar vermeyen bu biyolojik mücadele etmenlerinin biyoçeşitliliğini araştırmamız ve uygun olan tür ve izolatları doğru ve iyi bir şekilde formüle ederek kullanıma geçmemiz gerekmektedir.

Ekili alanlardaki hububat zararlılarına karşı kullanılan birçok parazitoit ve predatör tarım yetiştiricileri tarafından bilinmesine karşın, entomopatojenlerin tarımsal ekosistemlerde kullanılma olanakları ülkemizde yeterince tanınmamaktadır. Ekili arazilerdeki hububat zararlılarına karşı kullanılacak entomopatojenlerin içinde funguslar, virüsler, nematodlar, bakteriler ve protozoolar bulunmaktadır (Burnell & Stock 2000; Liu et al. 2000). Entomopatojen fungusların konukçuda kolayca görülebilmeleri, geniş alanlarda dağılım göstermeleri, bu alanlarda zararlı böcek popülasyonlarını azaltmaları, diğer canlı organizmalara herhangi bir etkilerinin olmaması ve entomopatojen fungusların (*Beuveria* spp., *Metarhizium* spp. ve *Lecanicillium* spp. vb.) topraktan kolayca izole edilebilmeleri bu patojenler ile çalışılmasını kolaylaştırmıştır.

Her ülkenin doğal koşullarına uyum sağlamış türlerin bulunması ve kullanılması biyolojik mücadelede kontrol yüzdesini arttırmaktadır. Yapılan araştırmalarda, biyolojik mücadele yapılacak bölgeye uygulanacak entomopatojen fungusların o ülkenin veya bölgenin doğal koşullarına uyum sağlamış türleri farklı bir ülke veya bölgeden izole edilmiş entomopatojen fungus türlerine göre daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Beron & Diaz 2005). Bu çalışmada, Kahramanmaraş merkez

köylerinde (Aksu, Kapiçam, Önsen, Kılılı, Kılavuzlu, Kültür) buğday tarlalarında en fazla ekonomik kayba neden olan zararlılara karşı mücadele için tarımsal faaliyetlerin fazla olduğu topraklardan entomopatojen fungusların izolasyonu gerçekleştirilerek bu fungusların biyolojik çeşitliliği araştırılmıştır.

Materyal ve yöntem

Toprak örneklerinin alınması

Toprak örnekleri Kahramanmaraş Kürtül, Kılavuzlu, Aksu, Önsen, Kılılı, Kapiçam bölgelerindeki buğday hasadı yapılmış tarlalardan 2010 ve 2011 yılının Ekim ve Aralık aylarında alınmıştır. Her tarlanın farklı üç bölgesinden 0 ile 30 cm derinlikleri arasından yaklaşık bir kilogram gelecek şekilde alınan toprak örnekleri eleme işleminin ardından toprak nemi ile laboratuvar neminin dengelenmesi için düz bir zeminde 4 gün bekletilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Entomopatojen fungusların toprak örneklerinden izolasyonu

Topraktan entomopatojen fungus izole etmek için son yıllarda en çok kullanılan “*Galleria* Tuzak Metodu” (Zimmermann 1986; Griffin et al. 2000) uygulanmıştır. Entomopatojen fungusların izolasyonu için 4. ve 5. dönem *Galleria mellonella* (L.) larvaları kullanılmıştır. Larvalar toprak örneklerine bırakılmadan önce toprakta ipek ağı örmemeleri için 50 ± 3 °C suda 5 sn bekletildikten sonra 3 saniye kadar soğuk su banyosunda bekletilmiştir (Woodring & Kaya 1988). 500 ml’lik plastik kaplara 300 gr toprak örnekleri konduktan sonra steril su ile nemlendirilip, büyüklükleri aynı olan 10 adet larva bırakılıp karanlık ortamda 22-25 °C’de muhafaza edilmiştir. Her bölgedeki toprak örnekleri için bu uygulama 2010 yılı için 3 tekerrürlü ve 2011 yılı için 4 tekerrürlü olarak yapılmıştır. 10-15 gün muhafaza edilen denemeler günlük yapılan kontroller sırasında plastik kaplar alt üst edilerek larvaların toprak ile teması arttırılmaya çalışılmıştır. Gözlenen ölü larvalar toplanarak yüzey sterilizasyonu için 3 dk % 3 sodyum hipokloritte bekletildikten sonra steril suda iki defa yıkanıp kurutularak içinde nemli filtre kâğıtlarının bulunduğu petri kaplarında oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ölü larvalar mikroskop altında incelenmiş ve kontaminasyona uğrayanlar ile pupaya dönüşenler elimine edilmiştir.

Entomopatojen fungusların tür teşhisleri

Entomopatojen fungus ile enfekte olmuş larvalardan alınan sporlar patates dekstroza agar (PDA) besiyeri bulunan petri kaplarına ekilmiş ve 25 ± 2 °C’de inkübe edilmiştir. Petri kaplarında gelişen tek kolonilerden saf kültürleri oluşturulmuştur (Oudor et al. 2000; Padmaja et al. 2001).

Fungus ile enfekte olmuş böceklerin dış görünüşleri, koloni morfolojisi, konidyafor ve konidi hücrelerin şekil ve büyüklükleri gibi önemli yapılar tür teşhisinde kullanılmıştır. Mikroskop preparatların hazırlanmasında Goettel & Inglis (1997)’nin tanımladığı “preparat kültür” yöntemi kullanılmış ve funguslar mikroskopta incelenerek çeşitli kaynaklar kullanılarak tanımlanmıştır (Samson 1974; Samson et al. 1988; Humber 1997; Humber 1998).

Spor süspansiyonun hazırlanması ve agar yüzeyi bioassay yöntemi

Patojenite testi için Aksu 2010.C (*A. flavus*), Kapıçam 2010.C (*B. bassiana*), Kapıçam 2010.E (*B. bassiana*), Kılavuzlu 2010.C (*A. flavus*), Kürtül 2010.B (*A. flavus*), Kürtül 2010.C (*B. bassiana*), Kürtül 2010.E (*B. bassiana*), Önsen 2010.A (*B. bassiana*) ve Önsen 2010.B (*B. bassiana*) izolatları seçilmiş ve spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Entomopatojen fungus seçimlerinde her bölgeden izolat olmasına ve fungusların besiyeri ortamında gelişimleri ve spor yoğunlukları göz önünde bulundurulmuştur.

Agar yüzeyi biyolojik test yöntemi Kalkar et al. (2006) tarafından açıklandığı gibi yapılmıştır. PDA besi ortamında yetiştirilen fungus sporları % 0.5 Tween 80 içeren 10 ml steril saf suda vorteks ile karıştırılmıştır. Neubauer Lamı ile sayılarak son spor konsantrasyonu 4×10^7 konidi/ml olacak biçimde seyreltmeler yapılmıştır. Yapılan bu seyreltmelerden 200 µl alınarak 1000 konidi/mm² de olacak şekilde 10 ml % 2 Agar konulmuş petri kaplarının yüzeyine eşit oranda dağıtılarak steril kabin içinde 1 saat kurumaya bırakılmış ve içine 10 adet *G. mellonella* larvaları konulmuştur. Larvalar 25 ± 2 °C sıcaklık ve % 60 ± 5 nispi nemde 24 saat inkübe edildikten sonra hazır besinlerinin bulunduğu petri kaplarına konulmuş ve her gün fungus ile ölmüş larvalar incelenmiştir. Bu deney fungus tür ve izolatları için 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Aynı yöntem kontrol grubu için % 0.5 Tween 80 ile hazırlanmış steril distile su kullanılmıştır. Bu denemeler ortalama 10 gün sürmüştür.

Verilerin analizi ve değerlendirilmesi

Ölüm sonuçlarını düzeltmek için Abbott formülü kullanılmış ve ölüm oranının yüzdesi hesaplanmıştır $\{P = [(C-T)/C] \times 100$ (P: Entomopatojen fungus tarafından öldürülen tahmini % böcek oranı, C: uygulama sonrası kontrol grubu yaşayan % böcek oranı, T: fungus uygulama sonrası yaşayan % böcek oranı) (Abbott, 1925). Elde edilen veriler ANOVA analizine tabi tutulmuş ve sonrasında ortalamalar arasındaki farklılıklar TUKEY çoklu karşılaştırma testine göre $P < 0,05$ önem seviyesinde karşılaştırılmıştır. Veri analizleri MİNİTAB istatistik yazılımı kullanılarak yapılmıştır (Minitab, 1993).

Bulgular ve tartışma

Toprakten izole edilen entomopatojen funguslar

Kahramanmaraş Ovasında 2010 ve 2011 yıllarının sonbahar aylarında Önsen, Aksu, Kılılı, Kapıçam, Kılavuzlu, Kürtül bölgelerindeki buğday ekili arazilerden toplam 162 toprak örneği alınmış ve 390 adet *G. mellonella* larvası kullanılmıştır. Toplam olarak elde edilen 281 entomopatojen fungus ile enfekte olmuş larvalardan 62'si *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., 84'ü *Aspergillus flavus* (Linn), 75'i *Fusarium* spp., ve 10'i *Penicillium* sp. türleri olarak teşhis edilmiştir. 49 adet *G. mellonella* larvasında fungus enfeksiyonu gözlenmiş fakat spor gelişimi olmadığından teşhisi yapılamamıştır.

2010 yılında Kahramanmaraş ovasındaki buğday ekili arazilerden 90 toprak örneğine bırakılan 150 *G. mellonella* larvasının % 62'sinin fungus ile enfeksiyona uğradığı gözlenmiştir. Larvalardan % 7'si pupaya dönüşmüştür (Çizelge 1).

Çizelge 1. 2010 yılında Kahramanmaraş ovasındaki buğday ekili arazilerden alınan toprak örneklerinden “Galleria Tuzak Metodu” ile izole edilen entomopatojen fungus enfeksiyon yüzdeleri

Table 1. Percentage infection of entomopathogenic fungi isolated from Kahramanmaraş wheat fields by “Galleria bait method” in 2010

Bölge	Larva Sayısı	Entomopatojen Fungus Enfeksiyonu (%)	Pupa (%)	Ölü Larva ^a (%)
Kılavuzlu	30	43	10	47
Kürtül	30	95	0	5
Önsen	30	85	0	15
Aksu	30	47	0	53
Kılılı	30	57	23	20
Kapıçam	30	65	0	35
Genel Toplam	150	62	7	31

^a Ölüm sebebi belirlenemeyen *G. mellonella* larvaları.

2011 yılında Kahramanmaraş ovasındaki buğday ekili arazilerden 72 toprak örneğine bırakılan 240 *G. mellonella* larvalarında % 78 oranında fungus enfeksiyonu gözlenirken belirlenemeyen sebeplerden dolayı ölüm oranı % 22 olarak tespit edilmiştir. En yüksek entomopatojen fungus enfeksiyonu Kılılı bölgesinde (% 88) gözlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. 2011 yılında Kahramanmaraş ovasındaki buğday ekili arazilerden alınan toprak örneklerinden “Galleria Tuzak Metodu” ile izole edilen entomopatojen fungus enfeksiyon yüzdeleri

Table 2. Percentage infection of entomopathogenic fungi isolated from Kahramanmaraş wheat fields by “Galleria bait method” in 2011

Bölge	Larva Sayısı	Entomopatojen Fungus Enfeksiyonu (%)	Pupa (%)	Ölü Larva ^a (%)
Kılavuzlu	40	85	0	15
Kürtül	40	80	0	20
Önsen	40	68	0	33
Aksu	40	75	0	25
Kılılı	40	88	0	13
Kapıçam	40	75	0	25
Genel Toplam	240	78	0	22

^a Ölüm sebebi belirlenemeyen *G. mellonella* larvaları

Entomopatojen fungusların tür teşhisi

Entomopatojen fungusların tür teşhisi sonucunda 2010 yılında *B. bassiana* (%40), *A. flavus* (% 16), *Fusarium* spp. (% 10) ve *Penicillium* sp. (% 1) fungusları olmuştur (Çizelge 3). 2011 yılında ise *A. flavus* (% 37), *Fusarium* spp. (% 35), *B. bassiana* (% 13) ve *Penicillium* sp. (% 5) bulunmuştur (Çizelge 4). 2010 yılında en çok *B. bassiana* izole edilirken 2011 yılında *A. flavus* izole edilmiştir.

Çizelge 3. 2010 yılında Kahramanmaraş ovasındaki buğday ekili arazilerden izole edilen entomopatojen fungusların tür teşhisi ve bulunma yüzdeleri

Table 3. Identification and percentage of entomopathogenic fungi isolated from the wheat fields in Kahramanmaraş in 2010

Bölge	<i>B. bassiana</i> (%)	<i>A. flavus</i> (%)	<i>Fusarium</i> spp. (%)	<i>Penicillium</i> sp. (%)	Teşhisi yapılamayan ^a (%)
Kılavuzlu	46	15	24	0	15
Kürtül	42	16	16	0	26
Önsen	41	0	0	0	59
Aksu	43	43	0	0	14
Kılılı	12	12	18	0	59
Kapıçam	62	15	0	8	15
Genel Toplam	40	16	10	1	33

^a Fungus ile enfekte olmuş larva yada pupa fakat spor gelişimi gözlenmemiş.

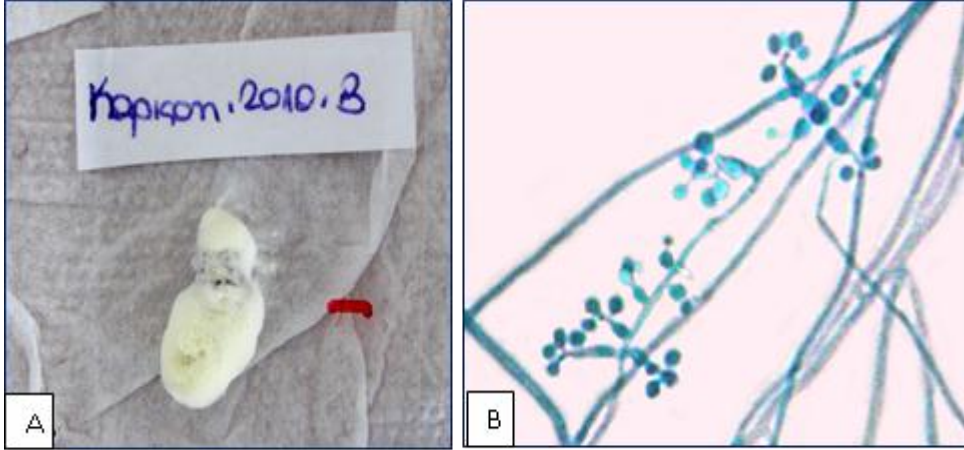
Çizelge 4. 2011 yılında Kahramanmaraş ovasındaki buğday ekili arazilerden izole edilen entomopatojen fungusların tür teşhisi ve bulunma yüzdeleri

Table 4. Identification and percentage of entomopathogenic fungi isolated from the wheat fields in Kahramanmaraş in 2011

Bölge	<i>B. bassiana</i> (%)	<i>A. flavus</i> (%)	<i>Fusarium</i> spp. (%)	<i>Penicillium</i> sp. (%)	Teşhisi yapılamayan ^a (%)
Kılavuzlu	15	21	29	20	15
Kürtül	9	47	38	6	0
Önsen	7	22	67	0	4
Aksu	17	33	37	3	10
Kılılı	6	54	14	0	26
Kapıçam	27	40	33	0	0
Genel Toplam	13	37	35	5	10

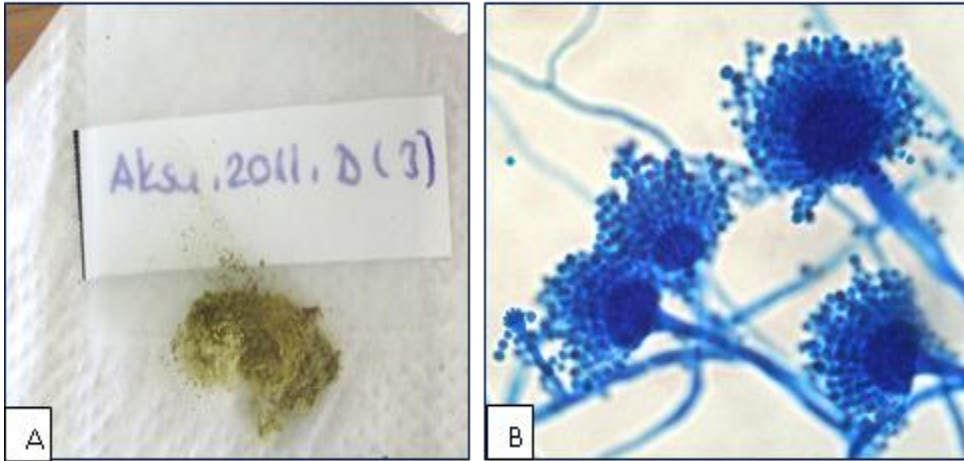
^a Fungus ile enfekte olmuş larva yada pupa fakat spor gelişimi gözlenmemiş.

Aşağıdaki şekillerde *B. bassiana* (Şekil 1), *A. flavus* (Şekil 2), *Fusarium* spp. (Şekil 3) ve *Penicillium* sp. (Şekil 4) entomopatojen fungusların *G. mellonella* larvalarındaki enfeksiyonu ve mikroskop preparat görüntüleri verilmiştir.



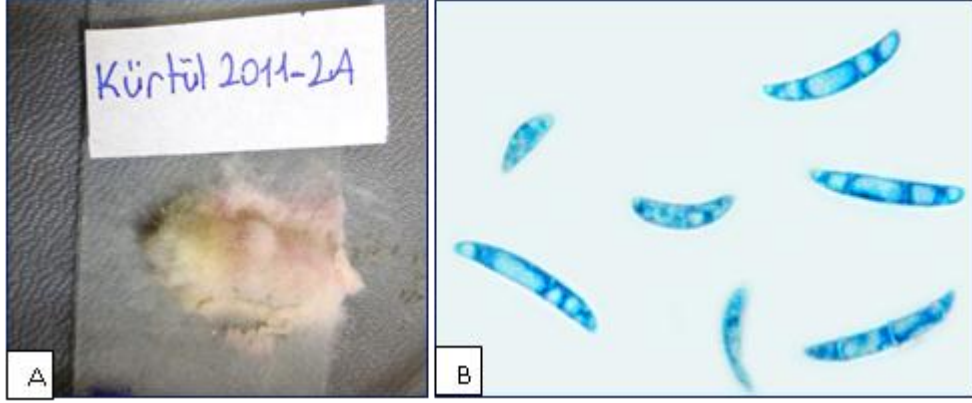
Şekil 1. *B. bassiana* ile enfekte olmuş *G. mellonella* larvası (a) ve *B. bassiana*'nın mikroskop preparat görüntüsü, konidiospor ve konidiyofor yapısı (b)

Figure 1. *B. bassiana* infected *G. mellonella* larvae (a) and microscopic images of conidia and conidiophores of *B. bassiana* (b)



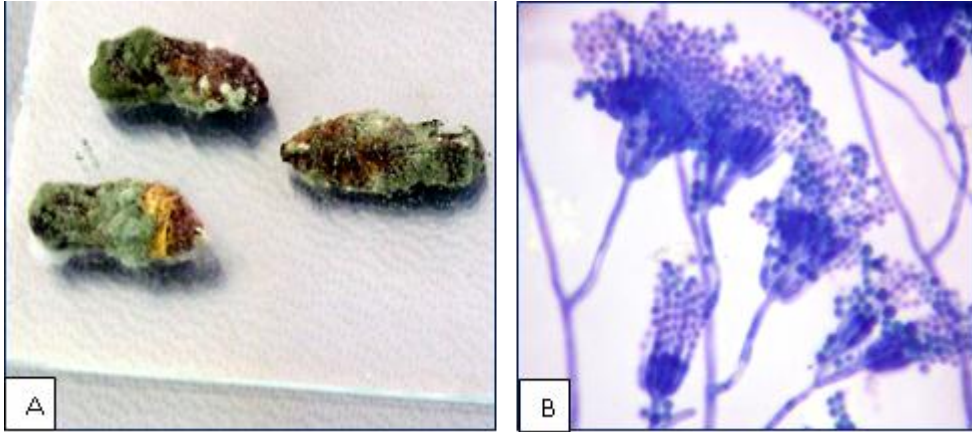
Şekil 2. *A. flavus* ile enfekte olmuş *G. mellonella* larvası (a) ve *A. flavus*'un mikroskop preparat görüntüsü, zincir şeklinde konidiosporlar (b)

Figure 2. *A. flavus* infected *G. mellonella* larvae (a) and microscopic images of chain-shaped conidia of *A. flavus* (b)



Şekil 3. *Fusarium* spp. ile enfekte olmuş *G. mellonella* larvası (a) ve *Fusarium* spp.'in mikroskop preparat görüntüsü, mikro ve makro konidiyosporlar (b)

Figure 3. *Fusarium* spp. infected *G. mellonella* larvae (a) and microscopic images of macro and micro conidia of *Fusarium* spp (b)



Şekil 4. *Penicillium* sp. ile enfekte olmuş *G. mellonella* larvası (a) ve *Penicillium* sp.'un mikroskop preparat görüntüsü, konidiyospor ve konidiyoforlar (b)

Figure 4. *Penicillium* sp. infected *G. mellonella* larvae (a) and microscopic images of conidia and conidiophores of *Penicillium* sp. (b)

Entomopatojen fungusların *G. mellonella* larvaları üzerine etkileri

Ön patojenite testi için seçilen Aksu 2010.C (*A. flavus*), Kapıçam 2010.C (*B. bassiana*), Kapıçam 2010.E (*B. bassiana*), Kılavuzlu 2010.C (*A. flavus*), Kürtül 2010.B (*A. flavus*), Kürtül 2010.C (*B. bassiana*), Kürtül 2010.E (*B. bassiana*), Önsen 2010.A (*B. bassiana*) ve Önsen 2010.B (*B. bassiana*) fungus izolatlarının uygulaması sonucunda *G. mellonella* larvalarının fungus enfeksiyon yüzdesi Çizelge 5'de verilmiştir.

Patojenite testinde kullanılan *B. bassiana* izolatlarında (Karıçam 2010.C, Karıçam 2010.E, Kürtül 2010.C, Kürtül 2010.E, Önsen 2010.A, Önsen 2010.B) % 100 fungus enfeksiyonu gözlenmiştir. Kürtül 2010.E ve Önsen 2010.B izolatları 4. gün % 100 oranında enfeksiyona sebep olarak oldukça yüksek patojenite göstermişlerdir. Karıçam 2010.E 4. günde % 73 oranında, Kürtül 2010.C, Önsen 2010.A ve Karıçam 2010.C izolatları ise 7. gün sonunda tüm larvalar fungus enfeksiyonu sonucu ölmüştür.

A. flavus izolatlarından Aksu 2010.C, Kılavuzlu 2010.C ve Kürtül 2010.B sırası ile % 60, % 45, % 41 oranında enfeksiyona sebep olmuşlardır (Çizelge 5). Enfeksiyon ölümleri 7. gün sonunda meydana gelmiş ve sonraki günlerde diğer larvalar entomopatojen fungus dışı sebeplerden dolayı ölmüş yâda pupa evresine girmiştir.

Çizelge 5. Farklı entomopatojen fungus izolatları uygulanan *G. mellonella* larvalarının fungus enfeksiyonu sonucu ölüm yüzdeleri (Spor konsantrasyonu 1000 konidi/mm²)

Table 5. The mortality percentage of *G. mellonella* larvae due to infection of different isolates of entomopathogenic fungi (spore concentration 1000 conidia/mm²)

İzolat ^a	Entomopatojen fungus türü	Larva sayısı	Entomopatojen fungus enfeksiyonu (%) ^b	(%) Ölü Larva ^c
Aksu 2010.C	<i>A. flavus</i>	30	60 a	43
Karıçam 2010.C	<i>B. bassiana</i>	30	100 b	10
Karıçam 2010.E	<i>B. bassiana</i>	30	100 b	0
Kılavuzlu 2010.C	<i>A. flavus</i>	30	45 a	30
Kürtül 2010.B	<i>A. flavus</i>	30	41 a	23
Kürtül 2010.C	<i>B. bassiana</i>	30	85 b	13
Kürtül 2010.E	<i>B. bassiana</i>	30	100 b	0
Önsen 2010.A	<i>B. bassiana</i>	30	100 b	3
Önsen 2010.B	<i>B. bassiana</i>	30	100 b	0
Kontrol	<i>Su+Tween80</i>	90	0 a	9

^a Entomopatojen fungus izolatları 2010 Ekim ayında izole edilmiştir.

^b % ölüm oranı Abbott formülü ile hesaplanmıştır. $P = [(C-T)/C] * 100$ (P: Entomopatojen fungus tarafından öldürülen tahmini % böcek oranı, C: uygulama sonrası kontrol grubu yaşayan %böcek oranı, T: fungus uygulama sonrası yaşayan %böcek oranı)

^c Ölüm sebebi belirlenemeyen *G. mellonella* larvaları.

*Her sütündeki aynı harfler Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistikî olarak benzer (P>0.05), farklı harfler istatistikî olarak farklı olduklarını belirtmektedir (P<0.05).

Uygulanan ön patojenite testi verilerinin % 95 güven aralığında yapılan ANOVA analizi sonucunda fungus izolatları arasında istatistikî olarak önemli farklar bulunmuştur (F=39.26, Sd: 4.09, P=0.00). Tukey çoklu karşılaştırma testine göre izolatlar arasındaki farklılıklar Çizelge 5’de belirtilmiştir. *B. bassiana* izolatları ile *A. flavus* izolatlarının enfeksiyon ölümleri arasında istatistikî olarak önemli farklar bulunmuştur (P<0,05). Uygulanan *B. bassiana* ve *A. flavus* izolatlarının kendi aralarında enfeksiyon oranları karşılaştırıldığında istatistikî olarak önemli fark bulunmamıştır (P>0,05). Yapılan biyoassay sonucunda Kahramanmaraş ovası buğday tarlalarından izole edilen en etkili entomopatojen fungusun *B. bassiana* izolatlarının olduğu belirlenmiştir.

Tartışma

Kahramanmaraş ili merkez ovasının Akdeniz iklimi özellikleri göstermesi bu bölgenin tarımsal faaliyetlerde önemli bir yere sahip olmasını sağlamaktadır. İklim şartlarının uygun olması birçok böcek türüne ve mikroorganizmalara yaşam alanı sağlamaktadır. Entomopatojen funguslar toprakta bulunan en önemli biyolojik topluluklardan biridir. Yapılan araştırmalar sonucunda, bir bölgede zararlı böcekler ile mücadelede uygulanacak entomopatojen fungusların o ülkenin veya bölgenin doğal koşullarına uyum sağlamış türleri başka bir ülke veya bölgeden izole edilmiş entomopatojen fungus türlerine göre daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Beron & Diaz 2005). Çalışmamızda Kahramanmaraş merkez köylerindeki buğday ekili arazilerde entomopatojen fungusların çeşitliliğini ve elde edilen türlerin *G. mellonella* larvaları üzerine patojenitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Toprakta bulunan konukçu böcekler entomopatojen fungusların yanında diğer birçok patojenlerin saldırısı ile karşı karşıya kalmaktadır. Toprak bünyesinde çok sayıda fırsatçı veya saprofit olarak tanımladığımız fungus türleri de bulunmaktadır. Bunlardan, *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait türler yapılan çalışmalar sonucunda topraktan izole edilmiştir (Mietkiewski et al. 1991). *A. flavus* virülansı oldukça düşük olan geniş konukçu aralığına sahip fırsatçı bir patojendir (Yu et al. 2005). *Fusarium* spp. böcek kavrularında bulunan patojenitesi düşük olan bir fungustur (Teetor-Barch & Roberts, 1983). Fırsatçı funguslar, zayıf ya da yaralı konukçu böcekleri kolayca enfekte ederler. Bizim çalışmamızda, *A. flavus* ve *Fusarium* türleri entomopatojen etki göstermiş ve oldukça yüksek oranda izole edilmiştir.

Türkiye’nin ve dünyanın diğer bölgelerinden izole edilen birçok entomopatojen funguslar bizim çalışmamızda izole edilmemiştir. Orta Anadolu bölgesinde *A. rostrata* kışlaklarında *B. bassiana*’nın % 100’lere varan enfeksiyonları gözlenmiştir (Kocatürk et al. 1994). Kahramanmaraş bölgesinde yapılan çalışmalarda *Beauveria* cinsine ait funguslar ile *Isaria* ve *Metarhizium* cinsine bağlı entomopatojenik funguslar izole edilmiştir (Er & Mart 2009). Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş illerindeki antepfıstığı bahçelerinden tuzak böcek yöntemi ile entomopatojen fungus izolasyonu yapılmış ve Adıyaman ve Kahramanmaraş da sadece *B. bassiana* izole edilirken Gaziantep’ten *M. anisopliae*

ve *B. brogniartii* fungusları da izole edilmiştir (Er 2013). Karadeniz’de fındık bahçelerinin bulunduğu topraklarda *B. bassiana*, *B. bassiana* cf. *bassiana*, *M. anisopliae* var. *anisoplia*, *Metarhizium* sp., *I. fumosorosea* ve *Evlachovaea* sp. entomopatojen funguslarının tespiti yapılmıştır (Sevim et al. 2009; Sevim 2010).

Entomopatojen fungusların toprakta izole edilme miktarı biyotik, abiyotik etmenlere ve kullanılan izolasyon şekillerine göre değişmektedir (Keller & Zimmermann 1989; Chandler et al. 1997; Chandler et al. 1998). Bazı entomopatojen fungusların toprakta bulunamaması sıcaklık, toprak nem, yağış durumu, arazide kullanılan kimyasalların etkisine bağlı olabileceği gibi laboratuvar şartlarının da bu durumu etkileyeceği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada uygulanan *Galleria* Tuzak Metodundan dolayı *G. mellonella* larvasını enfekte eden funguslar izole edildiğinden tüm entomopatojen fungus popülasyonundan bahsetmek mümkün olamaz. Yaptığımız arazi çalışmaları boyunca kayda değer bir böcek popülasyonuna rastlanmamıştır. Bu durum entomopatojen fungusların çeşitliliğini ve yayılışlarını da sınırlamış olabilir.

Toprakta elde ettiğimiz entomopatojen fungusların izolatları hazırlanarak *G. mellonella* larvaları üzerindeki patojeniteleri belirlenmiştir. *B. bassiana* izolatlarında % 100 fungus enfeksiyonu gözlenmiştir. *A. flavus* izolatlarının enfeksiyon ölümleri ile *B. bassiana* izolatlarının ölüm oranları karşılaştırıldığında önemli derecede fark olduğu belirlenmiştir. Yapılan biyoassay çalışmaları sonucunda Kahramanmaraş ovası buğday tarlalarından izole edilen en etkili entomopatojen fungusun *B. bassiana* olduğu belirlenmiştir.

Türkiye’de izole edilen entomopatojen funguslar ile yapılan patojenite çalışmalarında *I. fumosorosea*’nın çam kese böceğine karşı % 95 oranında ölümlere sebep olduğu (Er et al. 2004), fındık zararlısı olan *M. melolontha*’ya karşı *M. anisopliae* var. *anisoplia* ve *Evlachovaea* sp. funguslarının daha etkili olduğu belirlenmiştir (Sevim et al. 2009). *B. bassiana*’nın patates böceği larvalarında (Çam et al. 2002) ve küçük kavak uzun boynuzlu böceğinde yüksek oranlarda ölümlere neden olduğu (Eken et al. (2006) gözlenmiştir. Süne erginlerine karşı *B. bassiana* ve *M. anisoplia* türleri etkili olduğu test edilmiştir (Kıvanç 2007).

Bu çalışmada, Kahramanmaraş merkez köylerinde tarımsal faaliyetlerin fazla olduğu buğday tarlalarından entomopatojen fungusların izolasyonu gerçekleştirilerek bu fungusların biyolojik çeşitliliği için ön bir çalışma yapılmıştır. Buğday tarlalarında ekonomik kayba neden olan zararlılara karşı elde edilen entomopatojen fungus kullanılabilirliği hakkında direkt sonuca varılmasa da ileride yapılacak çalışmalar ile patojenitesi yüksek *B. bassiana* izolatlarının buğday zararlılarına karşı uygulanabilirliği hakkında ön bilgi verebilir.

Teşekkür

Bu çalışma KSÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2010/5-26YLS). Laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Ümit İZGİ, Fatma Gül ÖZÇELİK ve Recep BAYDAR’a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18: 265-267.
- Anonymous 2007. Süne Mücadelesi, URL (erişim tarihi: 25.10.2011), Kahramanmaraş Tarım İl Müdürlüğü (<http://www.kahramanmarastarim.gov.tr>).
- Anonymous 2010. Buğday Tarımı, URL (erişim tarihi: 26.03.2012), Adana Tarım İl Müdürlüğü (<http://www.adanatarim.gov.tr>).
- Beron C.M. & B.M. Diaz 2005. Pathogenicity of hyphomycetous fungi against *Cyclocephala signaticollis*, *BioControl*, 50: 143-150.
- Burnell A.M. & S.P. Stock 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts- lethal pathogens of insects. *Nematology*. 2; 31-42.
- Chandler D., D. Hay & A.P. Reid 1997. Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils. *Appl. Soil Ecol.*, 5: 133-141.
- Chandler D., R. Mietkiewski, G. Davidson & J.K. Pell 1998. Impact of habitat type and pesticide application on the natural occurrence of entomopathogenic fungi in UK soils. *IOBC/WPRS Bulletin*, 21 (4): 81-84.
- Çam H., A. Gökçe, Y. Yanar & İ. Kadioğlu 2002. Entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.'nın patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say., üzerindeki etkisi, Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, 4-7 Eylül, Erzurum, 359-364.
- Eken C., G. Tozlu, E. Dane, S. Çoruh & E. Demirci 2006. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) to Larvae of the Small Poplar Longhorn Beetle, *Saperda populnea* (Coleoptera: Cerambycidae), *Mycopathologia*, 162: 69-71.
- Er M.K., H. Tunaz & A. Gökçe, 2004. Bazı entomopatojen fungusların laboratuvar koşullarında çam kesetirtili *Thaumetopoea pityocampa* (Den&Schiff.) (Lepidoptera; Thaumetopoeidae) larvalarına etkileri. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi, Samsun, Türkiye, 43.
- Er M.K. & C. Mart 2009. Kahramanmaraş ilinde belirlenen bazı entomopatojen funguslar ve ilin entomopatojen fungus kullanımı bakımından değerlendirilmesi, *KSÜ Doğa Bilimler Dergisi*, 12 (2): 52.
- Er M.K. 2013. Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş Antepfıstığı bahçelerinde bulunan entomopatojen fungusların tespiti. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi* 4 (2): 155-163.
- Goettl M.S. & G.D. Inglis 1997. Fungi: Hyphomycetes. In: Lacey, L.A. (Ed.), *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, San Diego, USA, pp. 213-249.
- Griffin C.T., R. Chaerani, D. Fallon, A.P. Reid & M.J. Downes 2000. Occurrence and distribution of the entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis indica* in Indonesia. *Journal of Helminthology* 74: 143-150.
- Humber R.A. 1997. Fungi: identification. In: Lacey LA (ed) *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press, San Diego, Chapter V-3, 153-185.
- Humber R.A. 1998. Entomopathogenic fungal identification. *APS/ESA Joint Annual Meeting* 8-12 November, Las Vegas, NV.
- Kalkar Ö., G.R. Carner, D. Scharf & D.G. Boucias 2006. Characterization of an Indonesian isolate of *Isaria reniformis*. *Mycopathologia*, 161: 109-118.
- Keller S. & G. Zimmermann 1989. Mycopathogens of soil insects. In: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F. (Eds.), *Insect-Fungus Interactions*. Academic Press, London, 239-270.

- Kıvan M. 2007. Entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes)'nin *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutelleridae) üzerinde patojenitesi. *Entomologia Generalis*, 30 (1): 63-69.
- Kocatürk S., M. Barış, O. Özmen & T. Gülay 1994. Orta Anadolu Bölgesi'nde kımıl (*Aelia rostrata* Boh.)'da saptanan entomopatojen funguslar ve etkinlikleri üzerinde araştırmalar, Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi, 25-28 Ocak, İzmir, 299-308.
- Liu J., G.O. Poinar & R.E. Berry 2000. Control of insect pest with entomopathogenic nematodes: The impact of molecular biology and phylogenetic reconstruction. *Annual Review of Entomology*, 45: 287-306.
- Mietkiewski R., M. Zurek, C. Tkaczuk & S. Balazy 1991. Occurrence of entomopathogenic fungi in arable soil, forest soil and litter. *Roczniki Nauk Rolniczych Seria E*, 21: 61-68.
- Minitab 1993. Release 15., Minitab Inc. 3081 Enterprise Drive State College, PA, USA.
- Oudor G.I., S.M. Smith, E.A. Chandi, L.W. Karanja, J.O. Agano & D. Moore 2000. Occurrence of *Bauveria bassiana* on insect pests of stored maize in Kenya, *Journal of Stored Products Research*, 36; 177-185.
- Padmaja G.K.V. 2001. Use of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Moniliales:Deuteromycetes) for controlling termites, *Current Science*, 81(6): 647-647.
- Samson R. A. 1974. *Paecilomyces* and some allied hypomycetes. *Studies in Mycology*. 6: 1-119.
- Samson R.A., H.C. Evans, & J.P. Latge 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-Verlag, New York.
- Sevim A., I. Demir, M. Höfte, R.A. Humber & Z. Demirbağ 2009. Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey. *Bio Control*, 55 (2): 279-297.
- Sevim A. 2010. Doğu Karadeniz bölgesinden entomopatojenik fungusların izolasyonu, karakterizasyonu ve virülanslarının belirlenmesi, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 168 s.
- Teeter-Barch G.H. & D.W. Roberts 1983. Entomogenous *Fusarium* species. *Mycopathologia*, 84; 3-16.
- Woodring J. L. & H. K. Kaya 1988. *Steinernematid* and *Heterorhabditid* nematodes: A handbook of biology and techniques. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville.
- Yu J., T.E. Cleveland, W.C. Nierman & J. W.Bennett 2005. *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to disease. *Revista iberoamericana de micología: órgano de la Asociación Española de Especialistas en Micología*, 22: 194-202.
- Zimmermann G. 1986. The 'Galleria bait method' for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal Applied Entomology*. 102: 213-215.