

**ASPERGİLLUS FLAVUS LİNK. MANTARININ ÇÖL ÇEKİR-
GESİ (Schistocerca gregaria Forsk.)'nin MUHTELİF BİYO-
LOJİK DEVRELERİNDEKİ HASTALIK SİMPTOMU VE PATOJENİTESİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

Süleyman BALAMİR

Osman KARAHAN

Enstitümüzün çekirge lâboratuvarındaki deneme kafeslerinde yetiştiril-
mekte olan Çöl Çekirgelerinin Nymph ve Erginlerinin normal beslenme ve
yaşama şartlarında zaman zaman, devamlı bir surette öldükleri müşahade
edilmiştir.

Ölüm sebebini tetkik etmek gayesi ile, hastalanmış ve yeni ölmüş olan
çekirgeler, lâboratuvarda müşahade altına alınmışlardır. Bu çalışmalar me-
yanında, çeşitli böceklerde, ölüme sebep olan paraziter amiller hakkında
yazılmış muhtelif literatür de etüd edilmiş ve bu konu üzerinde yapılacak
çalışmalarda faydalı olacağı amacı ile, mühim görülenlerin özeti aşağıya
çıkarılmıştır.

L İ T E R A T Ü R Ö Z E T İ

Avrupa'da, iki mantar nevi *Aspergillus flavus* Link ve *Peri-
cystis Apis* Maassen, kâhil arıların ve larvalarının hastalık sebebi ola-
rak tanınan âmillerdir. *A. Flavus*, faaliyette olan kâhil arıya hücum
eder. Bu umumiyetle *P. Apis*'den daha büyük bir ekonomik önemi
olarak mütalâa edilir. *P. Apis* yalnız erkek arıya hücum eder. *A.
Flavus*'la enfekte olmuş larva hastalığı «Stein brut» olarak tanınır. *A.
Apis*'den sirayet eden hastalığa ise «Kalk brut» denir.

Bir çok yazar parazit mantarın, arılara enfekte olmasının, sporların
mideye girmesi yoluyla olduğunda hemfikirdir. Enfeksiyonu takiben, man-
tar beslenme borusunda gelişmeye başlar. Buradan vücut boşluğuna ve bü-
tün dokulara yayılır. Sonra vücut dışında (mantarın türüne göre, yeşil, sarı,
siyah ve diğer renklerde) gelişme gösterir. İlk çıkışta, küçük kümeler halin-
de beyaz başcıklar teşekkül eder. Böceğin ölümünden sonra, böcek ölüsü
ve mantarın gelişmesi eskidikçe, mantarın vücut dışında gelişmiş küf taba-
kasının rengide değişebilir. Enfekte olanlar, hareketsiz ve zayıf bir hale

düşerler. Ölüm oluncaya kadar bu zayıflama durumu artar. Enfekte olanlar, bazı hallerde uçarlar ve uçuş esnasında düşüp ölürler.

Amerika'da, *A. flavus*, larva ve kâhil arılara, diğer mantarlardan daha fazla hücum eder. *A. flavus*'un Amerika'da 5-6 nevi böceğe hücum ettiği de rapor edilmiştir.

A. flavus, geçici bir toksik madde meydana getirdiğini göstermiştir. Arılar üzerinde öldürücü, zehirleyici bir tesir yapar (1928 Taumanoff, 1930 Burnside). Taumanoff (1931) mantarın patojenik tesirlerinin toksik faaliyetlerine bağlı olduğuna inanır. (Steinhaus E.A. 4).

Aspergillus cinsi, çok fazla miktarda nevi ihtiva eder. Hemen hepsi saprofit olup, genel olarak geniş bir coğrafi yayılış gösterirler. Çok değişik bitkiler üzerinde gelişirler. Bir kaçı fakültatif parazit kabiliyetine maliktir. İnsan ve hayvanlar için patojen olanların, doku iltihaplanmaları ve trahe tıkanmalarına sebep oldukları görülmüştür. Umumiyetle kuşların nefes yollarında hastalık yapan *A. fumigatus* Fres. gibi.

Aspergilluslar spor renklerine göre, şu şekilde gruplandırılmışlardır:

- a) Sporları siyah olanlar: (Tip: *A. niger*)
- b) Sarı, toprak rengimsi sarı yahut kahve renkli olanlar: (Tip: *A. ochraceus* Wil., *A. tamarii* Kita., *A. wentii* Wehm),
- c) Sarı-yeşil olanlar: Tip: *A. flavus* Lk., *A. Oryzae* (Ahlburg) Cohn),
- d) Yeşil olanlar: (Tip: *A. glaucus* de By.).

Bazı ekstrem şartlarda, *Aspergilluslar* böcek parazitidirler. Yetiştirme yapılan çekirgelerde, sık sık rastlanmıştır. (*A. flavus* Lk.) Lepesme'e göre % 55 rutubet ve 18°C. aşağı ısılarda mantarın sporları çimlenir. *A. parasiticus* = sinonim *A. flavus*, *Pseudococcus* üzerinde müşahade edilmiştir. (Roger L. 2)

Aspergillus nevelerinin sınıflandırılması çok güçtür. 1926 da Thom ve Church aşağıdaki gruplandırmayı yapmışlardır:

- a) *A. fumigatus*, b) *A. glaucus*, c) *A. Nidulans*,
- d) *A. Niger*, e) *A. flavus - Oryzae*, f) *A. clavatus*, g) *A. ochraceus*, h) *A. wentii*, i) *A. flavipes*, j) *versicolor*.

A. glaucus, *A. flavus*, *A. Oryzae* ve *A. wentii* müşterek olarak Pekan cevizlerinde, Brezilya kestanesinde zarar yaparlar.

A. fumigatus, *A. flavus*, *A. niger* ve *A. nidulans* insanda kulak mycose'ü hastalığına sebep olurlar.

Waksman ve Bugie (1943) *A. flavus*'dan öldürücü hassaya malik iki substrat elde etmişlerdir. (1) *Aspergilliacide*'in gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı aktif (öldürücü) tesiri vardır. (2) Flavicin gram negatif bakterilere karşı aktiftir.

Yuill (1928) *A. flavus*, alkol içinde alkolik fermentasyonu yapmaya muktedir olduğuna işaret etmiştir. (Wolf F. 5).

Aspergillus flavus Link, (= Sny. *A. humus* Abbott).

Czapek's vasatında, koloniler başlangıçta bir kaç havai liflerin gelişmesiyle top top yumuşak tüylü bir şekilde gelişme göstermekte ve vasat eski-

dikçe geniş bir şekilde bütün satha yayılmaktadır. Konidial sahaların rengi deniz taşı sarısından, açık sarı yeşil ile limoni yeşil ve muhabbet çiçeği yeşili arasında renkleşme göstermektedir. Bunun aksine agar renksiz veya güderi sarısı yahut deve tüyü sarısı bir renk alır. Konidi taşıyıcıları 400-700 veya 1000 mikron uzunlukta 5-15 çapta olup, yukarıya doğru genişliyerek yükselmektedir. Konidiler hemen hemen kürevi bir şekilde olup, renksiz halden, sarı yeşil arasında bir renkte görülürler. Hemen pürüzsüz olup, ekseriya 2x3, 3x4, 4x5 mikron veya 5x6 mikron arasındadırlar. Sclerotia önce beyaz, sonra kahve rengi sert hücreli nesîç halinde olur. Cleistothecia bulunamamıştır.

Kanada, Çin, Mısır, İngiltere, Hindistan, Birleşik Amerika'da, Kaliforniya, Kolorado, Havai, Ohia, Luizyana, New-Jersey, Portoriko, Teksas, Utah topraklarında vardır. (Gilman J.C. I).

A. flavus - *Oryzae* grubu: İki türü, ekseriya literatürde *A. flavus* Lk. ve *A. Oryzae* (Ahlburg) Cohn. olarak geçmekte olup, birincisinin rengi sarı yeşilden koyu yeşile, ikincisinininki ise sarı renkte ilken zamanla sarı kahve rengine döner. Muhtelif türleri arasında yapılan tetkiklerde, aralarında birbirinden tefrik edecek kesin belirtiler bulmaya imkân vermemiş, bütün bu gruptakiler *A. flavus Oryzae* adı altında toplanmıştır. Mantar sür'atle büyür, bazan mutlak surette top top yumuşak tüy gibi kabarık bir durum arzederler. Bazende birbirine irtibatı olan bir yatak şekli teşkil edip, buradan konidi taşıyıcılarını çıkarırlar. Sapları uzundur, ekseriya 8-15 mikron çaptadırlar. Konidi taşıyıcı başları hacmen çok büyük olup, bir veya iki takım *A. tamarii* de olduğu gibi Sterigmat taşırlar. Sporları küre şeklinde, daha ziyade 3,5x5 mikron çapında, bazan bunlardan daha büyük te olabilirler ve çok serttirler. Bazı nevilerinde kahve renginde Sclerotileri belirlemektedirler.

Bu *Aspergillus* grubunun alâka verici bir hususiyeti «Kojik acide» ismi ile bilinen bir maddeyi istihsal etmekte ki aktiviteleridir. Bu madde ilk defa 1903 de Saito tarafından *A. Oryzae*'nin toz haline getirilmiş misel-yumundan elde edildi. 1924 de Yabuta tarafından keşfedildi. Yabuta, bunun nebati karbonu ihtiva eden yegâne madde glikozla sentetik bir vasatta geliştirerek elde edilebileceğini gösterdi. Takriben formülünün 5-hydroxy-2-hydroxymethyl-y-pyron olduğunu isbat etti. Raistrick ve birlikte çalıştığı kim-seler 1923 de Kojik acide'ini, önceki bildirilenlerden ayrı olarak, bunların çalışmalarının bir takım *Aspergilli* nevilerinin, Czapek's mahlülünde geliştirildiği zaman Kojik acide'i istihsal edildiğini ve bütün kültürlerin *A. flavus*, *A. Oryzae* ve *A. tamarii* (Birkinshaw et al 1931) tarafından temsil edilen seriye dahil olanlarını göstermek bakımından büyük öneme haiz olduklarını da keşfettiler. Kojik acide suda erir, Demir Chloride'le çok koyu ve karakteristik kan renginde bir renk verir ve bu reaksiyon bu grubun türlerinin tanınmasında faal bir teşhis vazifesini görür. Bu tecrübeyi yapmanın en basit yolu; nebati sıvı bir vasatta 2 ile 4 hafta bekletildikten sonra, mahlül süzülür ve içine bir kaç damla % 10'luk Demir Chloride damlatılır. (Smith G. ve H. Raistrick).

MATERİYAL VE METOD

Deneme kafeslerinde, parazit mantarla enfekte olmuş ve hareket edemeyecek halde hastalığı ilerlemiş ve yeni ölmüş olan çekirgeler, lâboratuvarda her biri ayrı ayrı petri kutularına alındılar. Kapaklarının içerisine kurutma kâğıdı konduktan sonra, ağızları kapatıldı ve üzerleri kâğıtla sarıldıktan sonra müşahadeye bırakıldılar. Bunların her gün kontrolleri yapılarak, hastalık âmili mantarın çekirge vücudunun dışına ilk yerleri ve gelişme safhalarındaki morfolojik görünüşleri ile küf tabakasının rengi not edildi. Aynı zamanda genç ve yaşlı küflerden müteaddit preparatlar hazırlanarak, mikroskopta tetkik edildi, gerek mantarın çekirge vücudunun dışındaki gelişme durumu ve gerekse mikroskopta tipik görülen durumları fotoğrafla tesbit edilmiştir.

Hazırlanan preparatlardan, mantarın konidi taşıyıcı, baş ve konidi çapları da ölçüldü.

Taksonomik çalışmalar :

Aspergillus türlerinin teşhisinde, muhtelif türler için tipik koloni rengi teşekkül eden Czapek's vasatı kullanıldı. Parazit tarafından öldürülmüş çekirge vücudunun dışında yeni gelişmekte olan mantar iğne ucu ile alınıp, petri kutularında Czapek's vasatına verildi. Burada çok çabuk ve kuvvetli bir gelişme gösteren mantarın her gün kontrolleri yapılarak, vasatta muhtelif gelişme safhalarındaki koloni rengi not edildi.

Czapek's vasatında, parazit mantarın gelişme safhalarında gösterdiği koloni renkleri *Aspergillus flavus* Link. türü için tipik olarak tezahür etmiştir.

Şeftali usaresi, tülbentten süzüldü ve erlen mayer kaplarında sterilize edildikten sonra, buna parazit mantar aşılandı. Bu vasatta mantar çok seri ve kuvvetli bir gelişme gösterdi ve iki gün içerisinde gıda vasatının yüzeyini tamamen kapladı. Ayrıca gıda vasatı içerisinde ise, sünger şeklinde renksiz miselyum demetleri şeklinde gelişme gösterdi. Başlangıçta koyu sarı renkte olan şeftali usaresi, zamanla, açık, şeffaf bir renk aldı.

Mantarın aşılmasından, 19 gün sonra, bu usareden bir miktarı tülbentten süzülme suretiyle beherglas kabına alındı ve buna, % 10 nisbetinde suda eritilmiş Demir klorid'den pipetle damlatılmak suretiyle yapılan kontrolde, *Aspergillus flavus* Link. türünün teşhisi için karakteristik olan koyu kan rengi teşekkül etmek suretiyle müsbet reaksiyon verdi.

Mantarın patojenitesini tetkik etmek amacı ile, sıhhatli çekirgeler üzerinde reizolasyon denemesi yapılmıştır. Bu maksatla, 10 adet sıhhatli çekirge, daha önce ölmüş ve üzerinde parazit mantar gelişmiş olan bir adet çekirge ile birlikte tel kafese konduktan sonra ayrı bir yerde müşahadeye alındı. Deneme süresince, bakım ve yemleme işi muntazam olarak yapıldı.

Hastalığın Simptomu :

Çekirge yetiştirme kafeslerinde, parazit mantarla (*Aspergillus flavus* Link.) enfekte olmuş ve hareket edemeyecek durumda hastalığı ilerlemiş olan çekirgelerle yeni ölmüş olanları, lâboratuvarda ayrı ayrı petri kutularına konduktan sonra, kapakları kapatılmış kâğıtlara sarılarak mü-

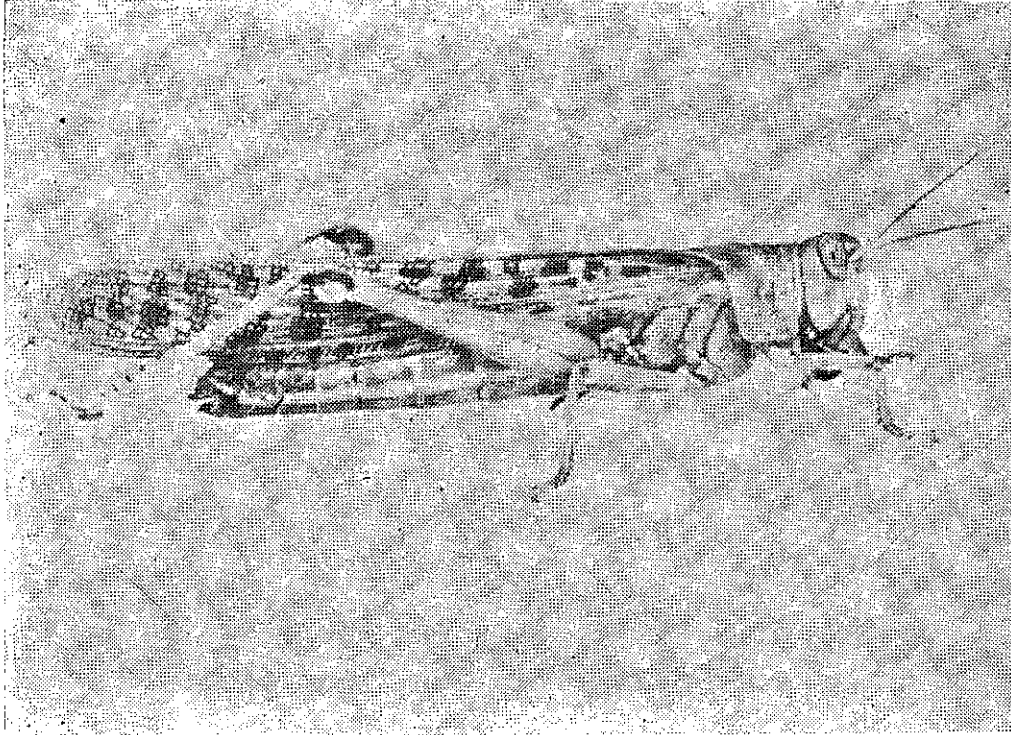
şahadeye alındılar. 24-72 saat içerisinde bu çekirgelerin vücut aksamı dışın-
da mantarın geliştiği görüldü.

Enfekte olmuş çekirgelerin, hareketlerinde ağırlaşma ve zayıflama hali
günden güne artmaktadır. Zamanla tamamen hareketsiz hale gelmekte ve
bunu ölüm takip etmektedir. Enfekte olmuş çekirgelerin 3 ile 6 gün sonra
öldükleri tesbit edildi.

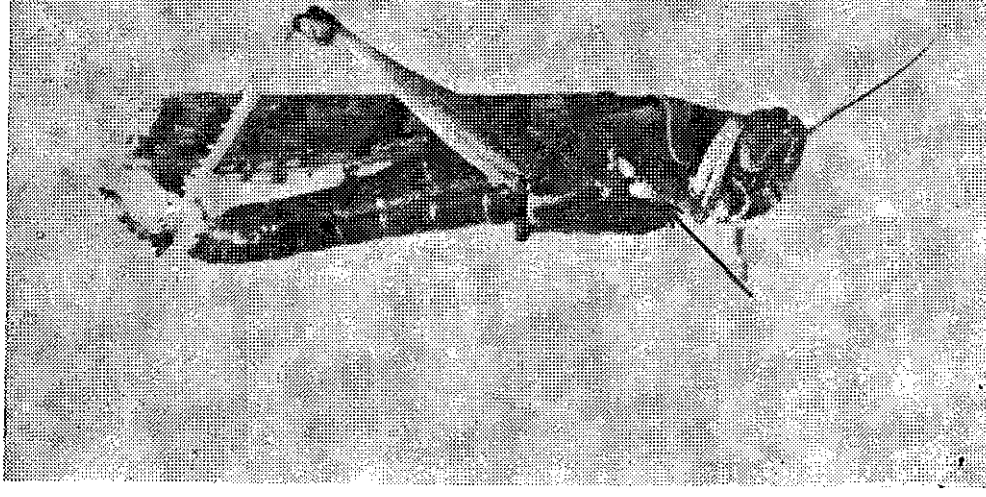
Enfekte olmuş çekirgelerin, baş, göğüs ve karın kısımlarında, önce
hafif pembemsi bir renk meydana gelmekte, hastalığın son safhasına doğru
ise, vücudun bu kısımları siyahımsı - mor bir renk almaktadır.

Ölmüş çekirgelerde, mantarın ilk olarak vücut dışındaki gelişmesi;
torax'da ayakların çıkış yerlerinde, kanatların torax'a bağlandığı yerlerde,
başın arka kısmı ile pronotum arasında olmaktadır.

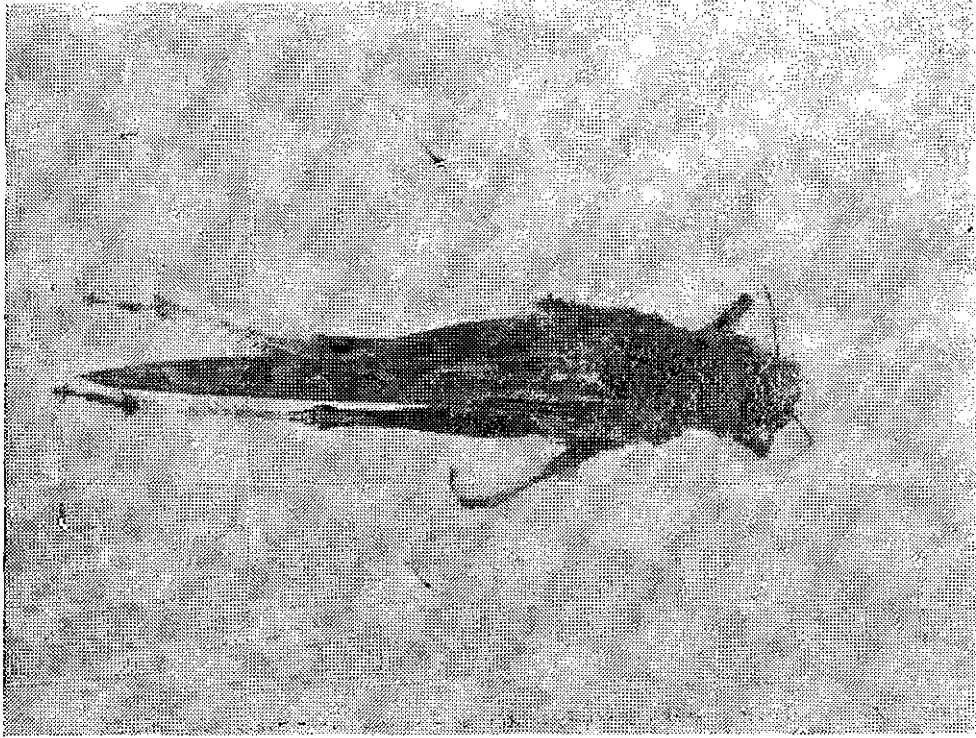
Mantarın, çekirgenin vücudunun dışında ilk gelişmesi, çok küçük küme-
ler halinde, soluk beyaz bir durumda görülmektedir. Bu zamanda dikkatle
tetkik edilirse konidi taşıyıcılarının teşekkülü münferit halde gözle dahi
görülmemektedir. Kısa zamanda seri ve kuvvetli bir şekilde gelişen küf'ün
rengi önce beyaz, sonra açık sarıdan kükürt sarısı rengine dönmekte ve
nihayet tipik kına yeşili veya Ökse otu yeşili rengini almaktadır. Bu zaman-
da mantar çekirge vücudunun her tarafını sarmaktadır (Şekil: 1,2,5).



Şekil : 1
Sıhhatli bir Çöl Çekirgesi dışisinin (*Schistocerca gregaria* Forsk)
yandan görünüşü.



Şekil : 2
Ölmüş bir Çöl Çekirgesinde, parazit mantarın (A . f l a v u s) vücut dışındaki ilk gelişme durumu. (Ok ile gösterilmiştir).

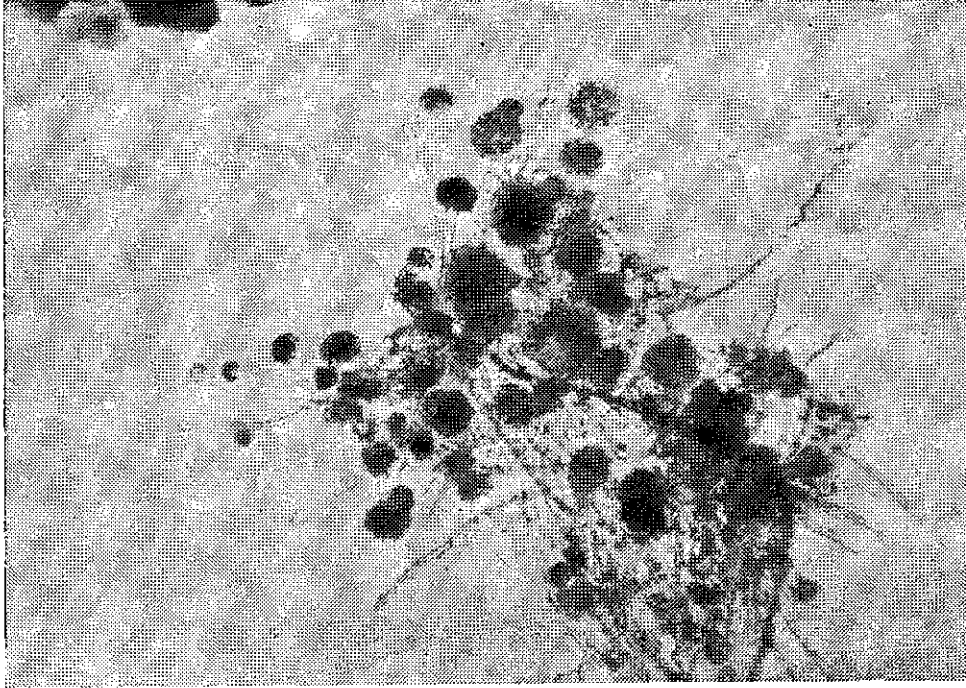


Şekil : 3
Vücutu, A . f l a v u s mantarı ile tamamen sarılmış bulunan bir Çöl Çekirgesinin üstten görünüşü.

Gerek ölmüş çekirgelerden ve gerekse Czapek's vasatında üretilen parazit mantarın muhtelif gelişme devrelerinde preparatlar alınıp mikroskopta tetkike tabi tutulmuştur. Bu tetkiklerde, mantarın misel ve misel yatakları, yeni teşekkül etmekte olan ve tam teşekkül etmiş konidi taşıyıcıların, konidilerin, baş ve bunlardaki sterigmatların tipik hususiyetleri bariz olarak müşahade edilmiştir. Konidi taşıyıcıları bölmesiz olup, başla birleşme noktalarına kadar tedrici olarak kalınlaşmaktadır. Yine konidi taşıyıcı cidarı oldukça kalındır. Çok açık pembe ile açık yeşilimsi bir renkte, nebatiden ziyade hayvani bir doku görünüşü hissini vermektedir. Konidi teşekkül eden başlardaki sterigmatlar muntazam olarak sıralanmış olup, tam teşekkül durumunda olan baş kesit olarak bir daire şeklinde, hacim olarak ta hemen hemen kürevi bir şekildedir.

Konidi taşıyıcıların çapı vasati 15,3x17,0 mikron olarak bulunmuştur. (Ölçüler, taşıyıcı sapın başla birleştiği yerden yapılmıştır.) Baş çapları : asgari 52,7x51,0, azami 212,5x187,0, vasati 120,7x140,4 mikron olarak bulundu. Konidi çapları: vasati 3,6x4,2 mikron olarak bulundu.

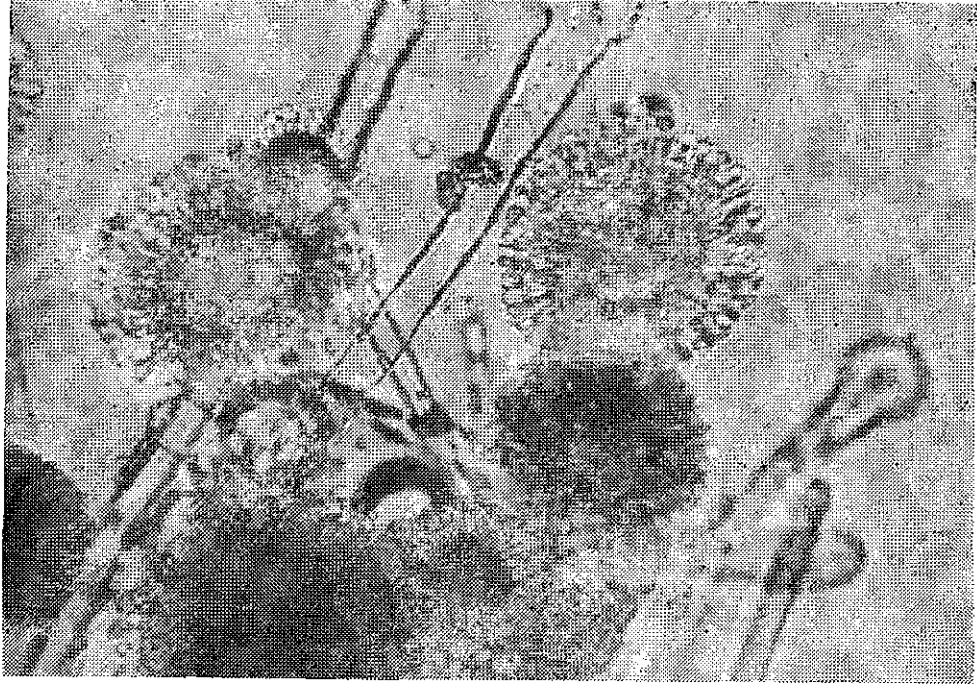
Konidiler, parlak yeşilimsi sarı renkte ve kürevi şekildedirler. Bunların mikrofoto ile tesbit edilmiş durumları Şekil: 4 ve 5 de gösterilmiştir.



Şekil : 4

Aspergillus flavus'un Czapek's vasatında geliştirilmiş tipik konidi taşıyıcıları 1963 Ankara (orig.).

Ölmüş çekirgeden izole edilen parazit mantar, ayrıca 4 petri kutusunda hazırlanmış bulunan Czapek's vasatına aşılandı. Bu vasatta, önce çok küçük



Şekil : 5

Aspergillus flavus'un yeni teşekkül halinde olan ve tam teşekkül etmiş konidi taşıyıcıları 1963 Ankara (orig.).

kümler halinde, şeffaf beyazımsı zayıf bir gelişme başladı. Aşılardan 24 saat sonra vasatın yüzeyinde, tipik kükürt sarısı renginde kuvvetli bir küf gelişmesi görüldü. 3 gün sonra ise, kına yeşili veya ökse otu yeşili rengindeki küf tabakası, petri kutularındaki gıda vasatı yüzeyini tamamen kapladı. Czapek's vasatında *Aspergillus flavus* Lk. için verilen tipik renk tezahür etmiştir. Czapek's vasatında üretilmiş *Aspergillus flavus* Şekil: 6'da gösterilmiştir.

Reizolasyon Denemesi :

10 adet sıhhatli çekirge alındı, bunlar daha önce ölmüş ve parazit mantar (*Aspergillus flavus* Lk.) gelişmiş olan 1 adet çekirge ile birlikte yetiştirme kafesine konduktan sonra ayrı bir yerde müşahadeye alındılar. Deneme müddeti içerisinde, bakım ve beslenme işine hususiyle itina edilmiştir.

Deneme başlangıcından itibaren, 6 gün sonra 1 çekirgenin öldüğü ve 5 çekirgenin de enfekte olduğu müşahade edildi. 9 gün sonra, 6 çekirgenin öldüğü ve 4 çekirgenin de enfekte olduğu tesbit edildi. 16 gün sonra ise, denemeye alınan 10 adet çekirgenin hepsinin öldükleri ve ayrı ayrı petri kutularında müşahadeye alınan bu çekirgeler üzerinde de aynı parazit mantarın geliştiği tesbit edildi.

Hastalıktan ölme müşahade edildiği zaman hâlen 100 adet civarında ergin haldeki çekirge mevcudundan 27 adedi yetiştirme kafeslerinde ve 10 adedi de deneme kafesinde olmak üzere 37 adet çekirge parazit mantar tarafından öldürülmüştür.



Sekil : 6
Czapek's vasatında üretilmiş bulunan *A. flavus*'un bir petri'de görünüşü.

Ö Z E T

Ankara, Ziraat Mücadele Enstitüsünün Çekirge Laboratuvarında, Çekirge yetiştirme kafeslerinde biyolojileri takip edilmekte olan muhtelif devredeki Çöl Çekirgelerinin (*Schistocerca gregaria* Forsk) devamlı olarak öldükleri müşahade edilmiştir. Bunun üzerine, durumdan şüphe edilerek, hareket edemeyecek derecede hastalığı ilerlemiş ve yeni ölmüş olan çekirgeler laboratuvarında müşahade altına alınmıştır. Her birisi ayrı ayrı steril petri kutularına alınan çekirgelerin, 1-2 gün içerisinde üzerlerinde mantar küfünün geliştiği görülmüş ve mikroskop ile yapılan tetkikler sonunda, bu mantarın *Aspergillus flavus* Lk. olduğu tesbit edilmiştir.

Aspergillus cinsinin tür teşhisinde, morfolojik tetkiklerde mikroskop çalışmaları yapılmıştır. Czapek's vasatında gösterdikleri karakteristik koloni renkleri üzerindeki çalışmalar neticesinde, bu vasatta *Aspergillus flavus* Lk. türünü temsil eden tipik renk tezahürü teşekkül etmiştir.

Bunlardan gayri, steril Şeftah usaresinde geliştirilen mantar bu vasatta 19 gün bekletildikten sonra, bu usareden bir miktarı, tülbenkten süzülerek beherglas'a alınmış, buna % 10 nisbetinde, suda eritilmiş Demir Klorid

damlatılmak suretiyle yapılan test'de *Aspergillus flavus* için karakteristik olan koyu kan rengi reaksiyonu teşekkül etmiştir.

Parazit mantarın, patojenitesini tekik etmek amacı ile; 10 adet sıhhatli Çöl Çekirgesi üzerinde hastalık âmilî inkişaf etmiş 1 adet çekirge ile birlikte ayrı bir kafeste denemeye alınmıştır.

Deneme başlangıcından 16 gün sonra, deneme kafesinde bulunan 10 adet çekirgenin de aynı parazit mantar (*Aspergillus flavus* Lk.) tarafından öldürüldüğü tesbit edilmiştir.

S U M M A R Y

As we were following the biology of the various stages of the Desert Locust (*Schistocerca gregaria* Forsk) in the breeding cages in the locust laboratory condition of the Plant Protection Institute of Ankara, it has been observed that locusts were continuously dying. Then we have been put some sick and newly death locust under observation. Each locust has been taken one by one in sterilized petri dishes. After 24-72 hours a kind of fungus has been appear on the body of the locust.

When we searched this fungus under microscope *Aspergillus flavus* Lk. has been established.

To do determination the species of *Aspergillus* it has been done some microscopic reaserch. According to the result of the study in the Czapek's medium which has been shown characteristic colony colour, it has been formed the typical colour which represent the species of *Aspergillus flavus* Lk.

In addition to these, above mentioned fungus has been discovered in the sterilize peach juice and guarded about 19 days, after then a little amount of peach juice strained from a gauze and taken in a glass cup, after then 10 % Iron chloride has been drop in this glass cup. According to this test it has been appeared red colour which characteristic for *Aspergillus flavus*. In order to do an investigation pathogenity of parasite fungus, 10 healty locusts and one, fungus infected locust has been put in a cage. During in the 16 days all locust were death, and according to this test it has been established that 10 locust died by the same parasite fungus (*Aspergillus flavus* Lk).

L I T E R A T Ü R

GILMAN J. C., 1957, A Manual of Soil Fungi

The Iowo State University, Press Ames, IOWA, U.S.A.

JONES P. H., 1961, Rearing and Breeding locust in the laboratory, London.

ROGER L., 1953, Phythopathologie des Pays Chauds, Tom II Paris.

SMITH G., and H. Raistrick, 1942, An Introduction to Industrial Mycology, Edward Arnold Co. LTD. London.

STEINHAUS E. A., 1949, Principles of Insect Pathology Mc. Graw - Hill Book Company, Inc. Nev York, Toronto - London.

WOLF A. F., and F. T. Wollf, 1949 The Fungi Volum 1 - 11 Chapman Hall, Limited London, New York.