

***Nosema chaetocnema* Yaman & Radek, 2003  
(Microspora)'ın iki farklı izolatının morfolojik ve enfeksiyon  
özellikleri açısından karşılaştırılması**

**Mustafa YAMAN<sup>1</sup> Beyza Gonca GÜNER<sup>1</sup>**

**ABSTRACT**

**Comparison of two isolates of *Nosema chaetocnema* Yaman and Radek,  
2003 in the terms of morphological features and infectivity**

In the present study, two different isolates of *Nosema chaetocnema* Yaman and Radek, 2003 (Protista: Microspora) in *Chaetocnema tibialis* populations in Trabzon and Samsun provinces were compared in the infectivity and morphological characteristics and discussed taxonomically. Totally 237 *C. tibialis* adults from Samsun and 438 from Trabzon were collected and examined for microsporidian infection. Spores of the two isolates were measured and photographed using an Olympus BX51 microscope with a DP-25 digital camera and a DP2-BSW Soft Imaging System. The microsporidian pathogen was observed in two investigated localities. While an average infection rate was found as 23.7% in Trabzon, it was found as 44.3% in Samsun. The lowest rates were found as 15.8 and 35% and the highest rate 25 and 55% in Trabzon and Samsun, respectively. Significant differences were detected between spore morphology of the two microsporidian isolates. Presence of *Nosema chaetocnema* in Trabzon and Samsun provinces has been studied extensively.

**Keywords:** *Chaetocnema tibialis*, *Nosema chaetocnema*, morphology, infectivity, Samsun, Trabzon

**ÖZ**

Bu çalışmada, *Nosema chaetocnema* Yaman & Radek, 2003 (Protista: Microspora)'ın Samsun ve Trabzon lokalitelerine ait iki izolatın morfolojik ve enfeksiyon özellikleri karşılaştırılarak, bu iki lokalitedeki bireylerin taksonomik açıdan değerlendirilmesi yapılmıştır. Trabzon'dan 438 ve Samsun'dan 237 ergin *Chaetocnema tibialis* örneği toplandı ve mikrosporidyum varlığı için incelendi. Spor yapıları DP-25 dijital kameralı

<sup>1</sup> Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080-Trabzon  
Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: yaman@ktu.edu.tr  
Alınış (Received): 08.12.2014, Kabul ediliş (Accepted): 01.06.2015

Olympus BX51 mikroskobu ve DP2-BSW Soft Imaging görüntüleme sistemi kullanılarak fotoğraflanıp ölçümleri gerçekleştirildi. Örnekleme yapılan 2 lokalitede de mikrosporidyum tespit edildi. Trabzon'daki enfeksiyon oranı % 23,7 iken Samsun'daki enfeksiyonun % 44,3 oranında olduğu tespit edildi. Trabzon'daki en yüksek enfeksiyon % 25 ve en düşük enfeksiyon % 15,8 iken Samsun'daki en yüksek enfeksiyon % 55 ve en düşük enfeksiyon % 35 olarak belirlendi. İncelenen lokalitelerdeki mikrosporların morfolojileri arasında belirgin farklar olduğu belirlendi. Bu çalışmada, *C. tibialis* 'te hastalık oluşturan *N. chaetocnema* 'nın Samsun ve Trabzon populasyonları taksonomik açıdan değerlendirilmiş ve iki populasyonun ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** *Chaetocnema tibialis*, *Nosema chaetocnema*, morfoloji, enfeksiyon kabiliyeti, Samsun, Trabzon

## GİRİŞ

Biyotik faktörlerden biri olan zararlı böcekler içinde Chrysomelidae (Coleoptera) familyası hem orman hem de tarım arazilerinde önemli zararlı türleri içermektedir. Chrysomelidae familyasından *Chaetocnema tibialis* geniş bir dağılıma sahip olup, özellikle şeker pancarı bitkisinde yaptığı zararlar ile üretimde verim düşüklüğüne neden olmaktadır (Yaman ve Radek 2003; Rashidov ve Khasanov 2003; Yaman ve ark. 2008). Ülkemizde bu zararlı ile mücadele tamamen kimyasal ilaçlar kullanılarak yapılmaktadır. Kullanılan kimyasal ilaçlar, böceklerin bu ilaçlara karşı mukavemet kazanmalarına, çevredeki faydalı böceklerin, bal arılarının, kuşların ve balıkların ölmelerine neden olmaktadır (Peter 1984; Ecevit 1988). Özellikle şeker pancarı yapraklarının ve yumrusunun dış kabuğunun hayvan yemi olarak kullanılmasından dolayı, uygulanan kimyasallar et ve süt ürünleri aracılığıyla besin zinciri yoluyla insanlara ulaşarak birçok kalıcı ya da öldürücü hastalıklara neden olabilmektedir.

Önemli bir tarımsal zararlı olan *C. tibialis* (Coleoptera; Chrysomelidae)'in biyolojik mücadelesi açısından tespit edilen ilk entomopatojen, Yaman and Radek (2003) tarafından dünya literatürü için yeni tür olarak ışık ve elektron mikroskobu ile tanımlanan *Nosema chaetocnema* (Protista; Microspora)'dır. Daha sonra Yaman (2008) bu entomopatojeni, *C. tibialis*'in Samsun ve Trabzon illerindeki populasyonlarında varlığını belirlemiştir. Bu iki lokalitedeki entomopatojenin farklı türler ya da aynı türün farklı coğrafik izolatları olma ihtimali oldukça yüksektir. Bu nedenle, ülkemizden biyolojik mücadelede kullanılmak üzere tespit edilen ilk entomopatojenik protist olan *N. chaetocnema*'nın bu iki lokalitedeki bireylerinin sistematikteki yeri net değildir.

Bu çalışmada, *N. chaetocnema* Yaman and Radek, 2003 (Protista: Microspora)'ın kaydı yapılan Samsun ve Trabzon lokalitelerindeki bireylerinin morfolojik ve enfeksiyon yeteneği açısından karşılaştırılmaları yapılarak iki farklı lokalitedeki populasyonların birbiriyle ilişkisi irdelenmiştir.

## MATERYAL VE METOT

### Arazi çalışmaları

Mevcut çalışmanın konusunu oluşturan *C. tibialis*'in erginleri, çalışma boyunca Trabzon ve Samsun illerinde belirlenen lokalitelerden 2013 ve 2014 yılları olmak üzere iki yıl süreyle yapılan arazi çalışmaları ile elde edilmiştir. Her iki lokalite için iki farklı yıl içinde üçer kez arazi çalışması yapılmıştır. Samsun ilindeki popülasyondan 237, Trabzon ilindeki popülasyondan ise 438 birey toplanarak incelenmiştir (Çizelge 1 ve 2).

### Teşhis çalışmaları

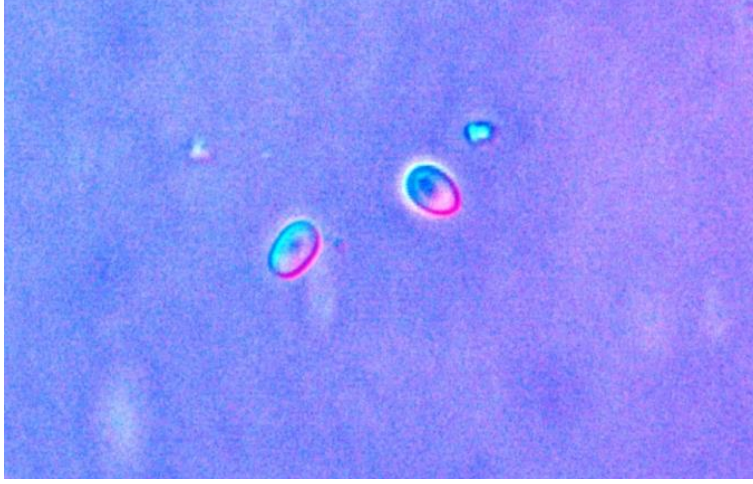
*C. tibialis*'in erginlerinde enfeksiyon tespit edilen mikrosporidyumun morfolojik özelliklerini açığa kavuşturmak ve tür tespitini yapmak için bir seri ışık mikroskobu çalışması ve boyama yöntemleri kullanılmıştır (Yaman and Radek 2003).

Arazi çalışmaları sonucunda elde edilen erginler hazırlanan Ringer solüsyonu içerisinde disekte edilmiştir. 8,0 g Sodyum klorür (NaCl), 0,25 g Kalsiyum klorür (CaCl<sub>2</sub>), 0,25 g Potasyum klorür (KCl) ve 0,25 g Sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>)'in 1000 ml saf su içerisinde çözülmesiyle elde edilen Ringer solüsyonu böcek dokuları için en ideal izotonik ortamı oluşturması açısından diseksiyon işlemlerinde kullanılmıştır (Undeen and Vavra 1997; Yaman 2012). Diseksiyon; ergin böcekte abdomenin böceğin vücudundan ayrılması ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan taze preparatlar ışık mikroskobu (Olympus CX41) altında 40x'ten 1000x'e kadar olan büyütmelemlerle incelenmiştir. Enfeksiyon görülen preparatlar DP-25 dijital kamera ve DP2-BSW görüntüleme sistemine sahip Olympus BX51 ışık mikroskobu kullanılarak morfolojik olarak incelenmiştir. Patojenin ve enfekte ettiği dokuların fotoğrafları çekilmiş ve karakterizasyonu için gerekli ölçümler yapılmıştır.

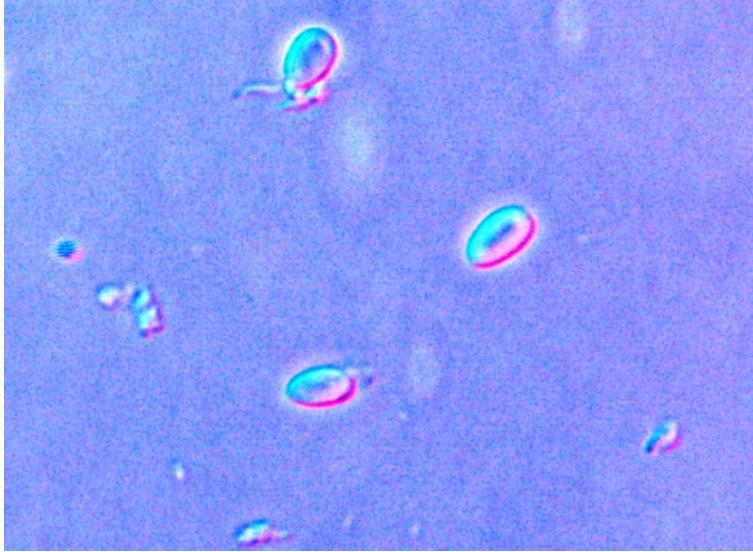
Mikrospor enfeksiyonlarının, hazırlanan preparatlarda görülmesi muhtemel besin artıkları ve böcek dokularında enfeksiyona neden olabilen diğer patojenlerden ayırt edilebilmeleri için Giemsa boyama tekniği uygulanmıştır. Bunun için hastalık etmenlerini içeren preparatlar önce oda sıcaklığında açık havada kurutulmuş, metil alkolde 3 dakika fikse edildikten sonra tekrar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Önceden tampon solüsyonu ile hazırlanan %5'lik Giemsa boyasında ortalama 10 saat boyandıktan sonra mikroskopta 400x ve 1000x büyütmelemlerde incelenmiş ve her bölge için sporların boy ve enleri ölçülmüştür (Toguebaye et al. 1998; Yaman and Radek 2003; Yaman 2008).

## SONUÇLAR

Çalışma süresince yapılan arazi çalışmaları sonucunda Samsun ve Trabzon lokalitelerinden farklı zamanlarda örnekler alınarak disekte edildi. Her iki lokalitede enfeksiyonlar taze preperatlarda ve giemsa boyalı preperatlarda teyit edildi ve patojenlere ait spor yapıları fotoğraflandı (Şekil 1 ve 2).



Şekil 1. *Chaetocnema tibialis*'in Samsun populasyonlarında elde edilen mikrosporidyum sporları (1000X).



Şekil 2. *Chaetocnema tibialis*'in Trabzon populasyonlarında elde edilen mikrosporidyum sporları (1000X).

Samsun ilinden iki yıl boyunca incelenen toplam 237 *C. tibialis*'e ait ergin bireyin 105 tanesinin patojen tarafından enfekte edildiği tespit edildi. Bu süreçte ortalama enfeksiyon oranı %44,3 olarak belirlendi. En yüksek enfeksiyon %55 en düşük enfeksiyon ise %35 olarak belirlendi (Çizelge 1).

Çizelge 1. *Chaetocnema tibialis*'in Samsun populasyonunda tespit edilen mikrosporidyum patojeninin varlığı

Lokalite	Tarih	Disekte Edilen Böcek Sayısı	Enfekte Böcek Sayısı	Microsporidium Enfeksiyonu (%)
Samsun	21.06.2013	85	47	55
	23.08.2013	32	16	50
	18.05.2014	120	42	35
	<b>Toplam</b>	237	105	44.3

Trabzon ilinden iki yıl boyunca incelenen toplam 438 *C. tibialis*'e ait ergin bireyin 104 tanesinde enfeksiyon tespit edildi. Bu süreçte ortalama enfeksiyon oranı %23,7 olarak belirlendi. En yüksek enfeksiyon %25 en düşük enfeksiyon ise %15,8 olarak belirlendi (Çizelge 2).

Çizelge 2. *Chaetocnema tibialis*'in Trabzon populasyonunda tespit edilen mikrosporidyum patojeninin varlığı

Lokalite	Tarih	Disekte Edilen Böcek Sayısı	Enfekte Böcek Sayısı	Microsporidium Enfeksiyonu (%)
Trabzon	26.08.2013	193	49	25
	23.05.2014	182	45	24.7
	26.06.2014	63	10	15.87
	<b>Toplam</b>	438	104	23.7

Samsun ve Trabzon populasyonlarında tespit edilen mikrosporidyum patojenlerinin morfolojik ölçümleri yapılarak ortalama boy ve en ölçümleri standart sapmalar ile belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. *Chaetocnema tibialis*'in Samsun ve Trabzon populasyonunda tespit edilen mikrosporidyum patojenlerinin boy ve en ölçümleri ( $\mu\text{m}$ )

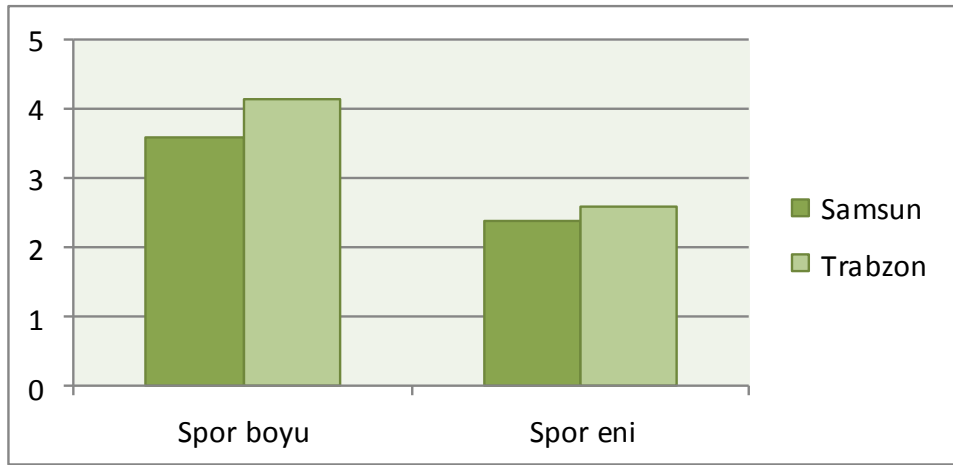
Lokalite	En	Boy
Samsun	2.39 $\pm$ 0.18 (2.06-2.80)	3.60 $\pm$ 0.26 (3.07-4.07)
Trabzon	2.60 $\pm$ 0.18 (2.06-2.80)	4.15 $\pm$ 0.34 (3.40-4.90)

Buna göre Samsun'dan toplanan *C. tibialis*'i enfekte eden patojenlerin boyutları; 3.60  $\pm$  0.26 (3.07-4.07)  $\mu\text{m}$  boy ve en 2,39  $\pm$  0,18 (2.06-2.80)  $\mu\text{m}$  olarak ölçüldü. Trabzon'dan toplanan *C. tibialis*'i enfekte eden patojenlerin boyutları; 4.15  $\pm$  0.34 (3.40-4.90)  $\mu\text{m}$  boy ve 2.60  $\pm$  0,18 (2.06-2.80)  $\mu\text{m}$  en olarak ölçüldü.

## TARTIŞMA VE KANI

Bu çalışmada, *C. tibialis*'te hastalık oluşturan *N. chaetocnema*'nın Samsun ve Trabzon populasyonları morfolojik ve enfeksiyon kabiliyeti açıdan taksonomik olarak değerlendirilmiş ve iki populasyonun ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır. Ülkemizde bir mikrosporidyum türüne ait iki farklı popülasyondaki bireylerin gerek morfolojik gerekse enfeksiyon kabiliyetinin karşılaştırılması açısından bu çalışma ilk ve tek çalışma olmuştur.

Çalışmanın tamamlanan morfometrik ve morfolojik verileri ile patojenin enfeksiyon oranları, *N. chaetocnema*'nın Samsun ve Trabzon populasyonlarındaki bireyler arasında taksonomik açıdan belirgin farklılıkların olduğunu teyit etmektedir. Patojenin iki farklı popülasyondaki bireyleri arasındaki morfolojik farklılıklar da bu çalışmada belirgin olarak ortaya çıkmıştır (Şekil 3).

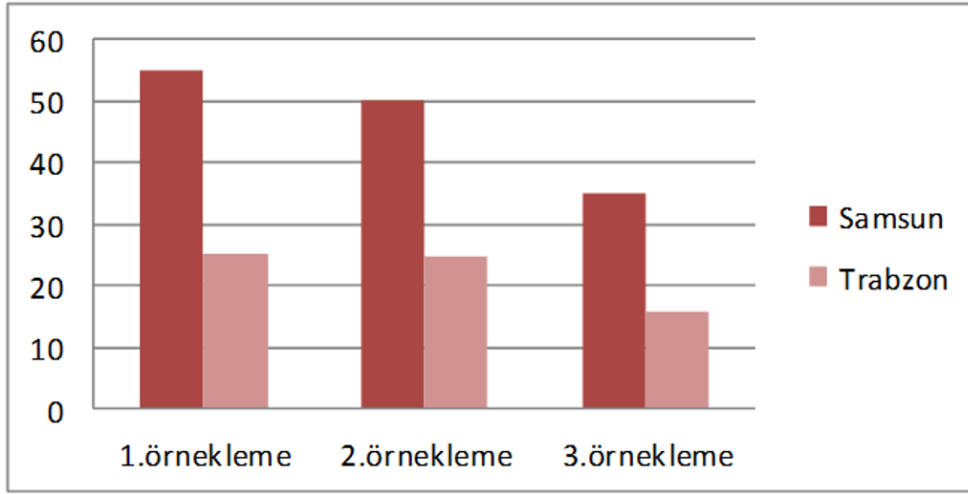


Şekil 3. Mikrosporidyum patojeninin Samsun ve Trabzon'daki bireyelerine ait spor ebatları.

Samsun'dan toplanan *C. tibialis*'i enfekte eden patojenlerin boyutları  $3.60 \times 2.30 \mu\text{m}$  iken Trabzon'dan toplanan *C. tibialis*'i enfekte eden patojenlerin boyutları  $4.15 \times 2.60 \mu\text{m}$  olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Samsun populasyonlarında tespit edilen mikrosporidyum patojenin boyutları ( $3.60 \times 2.30 \mu\text{m}$ ), Yaman ve Radek (2003) tarafından tanımlanan *Nosema chaetocnema*'nin orijinal boyutları ( $3.52 \times 2.09 \mu\text{m}$ ) ile benzerlik göstermektedir. Spor ebatları Microsporidia grubu için taksonomik açıdan en değerli karakterlerden biridir (Sprague ve ark., 1992; Toguebaye ve ark., 1998; Yaman ve Radek, 2003; Yaman ve ark., 2008). Şekil 3'te görüldüğü gibi *C. tibialis*'in Trabzon popülasyonunu enfekte eden mikrosporidyum, Samsun popülasyonunu enfekte eden mikrosporidyumdan boy uzunluğu açısından çok belirgin bir farklılık göstermektedir. Trabzon'da tespit edilen patojen kayda değer oranda daha uzun spor yapılarına sahiptir. *N.*

*chaetocnema*'nın iki farklı popülasyonundaki bireylerin morfolojik açıdan bu derecede farklı olması bu farklı bireylerin sistematik açıdan farklı olduğunu desteklemektedir.

Bu görüşü destekleyen bir diğer sonuç ise enfeksiyon oranları arasındaki belirgin farklılıktır. *C. tibialis*'in Samsun popülasyonundaki mikrosporidyum patojeni ortalama %44.3 oranında enfeksiyon yaparken, Trabzon popülasyonunda %23.7 oranında enfeksiyon yapmıştır. Enfeksiyon oranlarındaki bu belirgin fark, yapılan 3 örneklemede de net bir şekilde görülmektedir (Tablo 1, 2, Şekil 4). Bu sonuçlar Samsun ilindeki mikrosporidyum izolatının *C. tibialis* ile biyolojik mücadelede daha yüksek enfeksiyon oranları sağlayabileceğini ve Trabzon ilindeki izolata kıyasla daha etkili olabileceğini göstermektedir.



Şekil 4. Mikrosporidyum patojeninin *Chaetocnema tibialis*'in Samsun ve Trabzon popülasyonlarındaki enfeksiyon oranları.

Şekil 4'de belirgin bir şekilde görüldüğü gibi, yapılan her üç örneklemede de Trabzon popülasyonundaki enfeksiyon oranları Samsun popülasyonundaki enfeksiyon oranlarının yarısı seviyesinde gerçekleşmiştir. Her iki popülasyondaki mikrosporidyum patojeninin *N. chaetocnema* türü olduğu kayıt edilmiştir (Yaman 2008). Aynı patojenin aynı konak türün farklı popülasyonlarındaki bu fark taksonomik açıdan kayda değer bir farktır. Microsporidia grubu için konak seçiciliği ve enfeksiyon kapasitesi, önemli bir taksonomik karakter kabul edilmektedir (Sprague ve ark. 1992). Aynı konak üzerindeki bu derece farklı enfeksiyonun gerçekleşmesi, *C. tibialis*'in Samsun ve Trabzon popülasyonlarında enfeksiyonlara neden olan mikrosporidyum patojeninin farklı türler olduğu görüşünü desteklemektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ileride yapılacak

moleküler yöntemler ile desteklenmelidir. Bu açıdan elde edilen veriler bu tür çalışma yapacak bilim adamları için temel bir bilgi olacaktır.

### KAYNAKLAR

- Ecevit O. 1988. Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, Samsun.
- Peter G. 1984. Plant Pests and Their Control, Fenemore, London.
- Rashidov M. and I., Khasanov A. 2003. Pests of sugarbeet in Uzbekistan. Zashchita i Karantin Rastenii, 3: 29.
- Sprague V., Becnel J. J. and Hazard E. I. 1992. Taxonomy of phylum microspora. Crit. Rev. Microbiol., 18: 285–395.
- Undeen A. and Vavra J. 1997. Research Methods for Entomopathogenic Protozoa. Manual of Techniques in Insect Pathology, Academic Press, San Diego, 117-151.
- Toguebaye B. S., Marchand B. and Bouix G. 1988. Microsporidia of Chrysomelidae. In: Biology of Chrysomelidae, (Eds. E. Petitpi-erre, T. H. Hsiao, P. H. Jolivet). Kluwer Academic Publishers, Boston, 399–416.
- Yaman M. and Radek R. 2003. *Nosema chaetocnema* sp. n. (Microspora: Nosematidae), a microsporidian parasite of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera: Chrysomelidae), Acta Protozoologica, 42: 231 – 237.
- Yaman M. 2008. First results on the distribution of *Nosema chaetocnema* (Microspora) in the populations of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera, Chrysomelidae) in Turkey. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 32: 94-98.
- Yaman M., Radek R. and Toguebaye B. 2008. A new microsporidian of the genus *Nosema*, parasite of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Turkey. Acta Protozoologica, 47: 279-285.
- Yaman M. 2012. Böcek Patolojisi Atlası, SAGE, Trabzon.