

*Orijinal araştırma (Original article)*

## **Antalya İli topraklarından *Galleria mellonella* kullanılarak izole edilen potansiyel entomopatojen fungus izolatlarının *Myzus persicae*'e etkilerinin belirlenmesi**

**Derya BAKİ<sup>1</sup>, Musa KIRIŞIK<sup>2\*</sup>, Fedai ERLER<sup>3</sup>**

### **Isolation of potentially entomopathogenic fungi from soil samples collected in Antalya Province, Turkey by using *Galleria mellonella* (L.) and determination of their pathogenicity against *Myzus persicae*, the green peach aphid**

**Abstract:** The green peach aphid, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae), is an important pest of peppers in greenhouses in Antalya Province, Turkey. The aim of this study was to determine the efficacy of entomopathogenic fungi isolated from *Galleria mellonella* baits placed in soil in Antalya Province against *M. persicae*. A total of 34 isolates of potentially entomopathogenic fungi were collected and identified, namely 11 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., 5 *Aspergillus flavus* (Linn), 6 *Fusarium* spp., 3 *Metarhizium* spp. and 9 *Penicillium* spp. In each pathogenicity test, three isolates of each fungal species were tested against *M. persicae*. *Beauveria bassiana* caused mean mortality of 83% in 4 and 5 day old adults, while *A. flavus*, *Fusarium* spp., *Metarhizium* spp. and *Penicillium* spp. caused 47%, 52%, 68% and 37% mortality, respectively. Overall, the results of this study suggest that some of these indigenous Turkish entomopathogenic fungi have the potential to be used in the control of *M. persicae*.

**Keywords:** *Aspergillus flavus*, *Beauveria bassiana*, entomopathogenic fungi, *Fusarium* spp., *Metarhizium* spp.

**Öz:** Yeşil şeftali afidi, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae), Antalya İli'nde seralarda biberlerin önemli bir zararlısıdır. Bu çalışmada, yerel (Antalya İli'ndeki) entomopatojen fungusların belirlenmesi ve *M. persicae*'ye karşı etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, Antalya İli'nde tarımsal faaliyetlerin yoğun olarak yapıldığı ilçelerden 42 toprak örneği alınmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucunda toplamda 34 adet entomopatojen fungus izolatu elde edilmiştir. Bunlar; 11 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., 5 adet *A. flavus* (Linn), 6 adet *Fusarium* spp., 3 adet *Metarhizium* spp. ve 9 adet *Penicillium* spp.'dir. Patojenite testi için her türden üçer adet izolat *M. persicae*'ye karşı test edilmiştir. *Beauveria bassiana*, *M. persicae*'nin 4-5 günlük erginlerinde ortalama %83 ölüme neden olurken, *Aspergillus flavus* %47, *Fusarium* spp. %2, *Metarhizium* spp. %68 ve *Penicillium* spp. %37 ölüme neden olmuştur. Etki oranları yüksek olan entomopatojen fungus izolatlarının tarımsal zararlılar ile mücadelede kullanılma potansiyellerinin olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** *Aspergillus flavus*, *Beauveria bassiana*, entomopatojen fungus, *Fusarium* spp., *Metarhizium* spp.

<sup>1</sup> Ministry of Agriculture and Forestry, Antalya Directorate of Agricultural Quarantine, Antalya, Turkey, [ORCID ID: 0000-0003-1285-169X](https://orcid.org/0000-0003-1285-169X)

<sup>2</sup> Ministry of Agriculture and Forestry, Bati-Akdeniz Agricultural Research Institute, Antalya, Turkey

<sup>3</sup> Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Antalya, Turkey, [ORCID ID: 0000-0002-7216-9871](https://orcid.org/0000-0002-7216-9871)

\*Sorumlu yazar (Corresponding author) [musa.kirisik@tarimorman.gov.tr](mailto:musa.kirisik@tarimorman.gov.tr), [ORCID ID: 0000-0001-6956-7337](https://orcid.org/0000-0001-6956-7337)

Alınış (Received): 13.09.2019

Kabul ediliş (Accepted): 28.11.2019

## Giriş

Afidler (yaprakbitleri) oldukça yüksek bir tür zenginliğine sahiptir. Yaprakbitlerinin dünyada 493 cinse ait yaklaşık 5000 türü olduğu bilinmektedir (Remaudiere ve Remaudiere, 1997; Blackman & Eastop, 2006). Türkiye'de ise yaklaşık 415 tane afid türü tespit edilebilmiştir (Görür, 2004). Aphididae familyasında bulunan afidlerin büyük çoğunluğu meyve ağaçlarında, sebzelerde ve süs bitkilerinde olmak üzere toplam 40 bitki familyasına ait çok sayıda konukçu bitkide zararlıdır. Ayrıca bu familyada bulunan bazı afidler birçok bitki virüsünün yayılmasında vektör olarak görev yapmaktadır (Von Dohlen & Moran, 2000). Bitkinin genelde yeşil aksamında bitki özsuyunu emerek beslenen afidler beslendikleri bitkilerin düşük protein ve yüksek karbonhidrat içeriklerinden dolayı absorbe ettikleri fazla şekeri ballı madde olarak dışarı atar, kök hariç tüm toprak üstü aksamı bu madde ile kaplanır. Salgılanan bu madde üzerinde sekonder funguslar gelişerek fumajin ya da karaballık denen durum oluşur (Von Dohlen et al, 2006).

Yaprak biti türlerinden biri Yeşil şeftali afidi, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae)'dir. Kültür bitkilerindeki önemli zararlılarından biri olan bu türün konukçu listesi oldukça zengindir (Cottier, 1953). Zararlıının konukçu aralığının geniş olması ve bitkide meydana getirdiği zararın büyüklüğü bu zararlı ile mücadelenin önemini artırmaktadır. Bu nedenle *M. persicae* ile mücadelede farklı mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. *Myzus persicae* mücadelede kimyasal ilaçların kullanılması eskiden beri süre gelen bir mücadele şeklidir. Fakat kimyasal ilaçların çevre ve insan ve sağlığına verdiği olumsuz etkilerinin ortaya çıkması ve kullanılan pestisitlere karşı direnç gelişmesi sebebiyle biyolojik mücadele yöntemlerinin araştırılması gerekmektedir.

Biyolojik mücadele de böceklerde hastalık yapan mikrobiyal ajanların kullanımı (fungus, bakteri, virüs, nematod ve protozoa) son yıllarda avantajlarından dolayı büyük önem kazanmıştır (Oğurlu, 2000). Bu mikrobiyal ajanlar içerisinde entomopatojen funguslar kolay tespit edilmeleri, kutikula yolu ile böcekleri kolay enfekte edebilmeleri, tür çeşitliliğinin fazla olması, etkinliklerinin çabuk fark edilebilmeleri nedeniyle daha avantajlıdır. En çok bilinen entomopatojen fungus türleri; *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Spicaria*, *Entomophthora*, *Aspergillus* ve *Fusarium* cinslerine giren bazı türlerdir (Müller-Kögler, 1965). Entomopatojen funguslar diğer mikrobiyal ajanlardan daha fazla böcek türlerini enfekte etme özelliğine sahiptir. Özellikle Dünya'da *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff), *Beauveria bassiana* (Balsamo), ve *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) türleri en yaygın entomopatojen fungus türleri arasındadır (Demirbağ et al, 2008; Sevim et al, 2010; İzgi & Güven, 2014). Özellikle *B. bassiana* yaklaşık 70 kadar farklı bitki zararlısını karşı kullanılan ve doğada yaygın olarak karşılaşılan önemli bir entomopatojen fungus türüdür (Sáenz-de-Cabezón et al, 2003, İzgi & Güven, 2014). Entomopatojen funguslar ülkemizde Karadeniz bölgesinde bitki zararlılarından Turunçgil beyazsineği (*Dialeurodes citri* (Ashmed))'ne karşı *Aschersonia aleyrodis* (Webber) entomopatojen fungusu etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Öncüer, 1997). Ülkemizde araştırmacılar tarafından yapılan

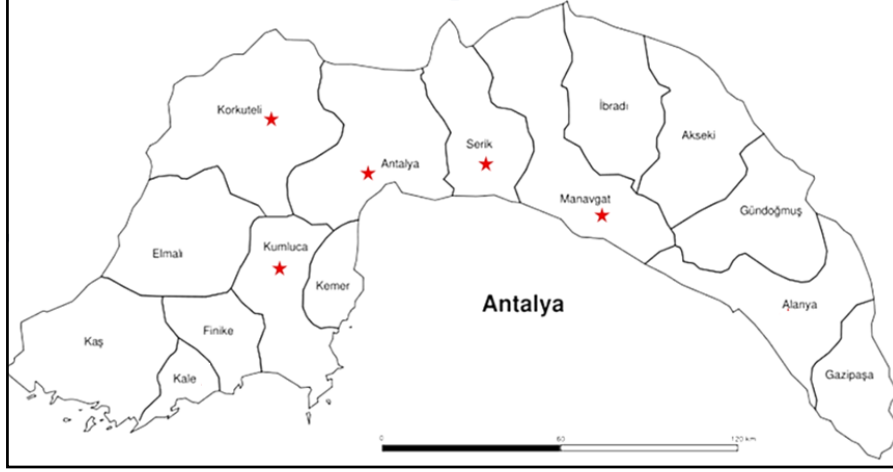
Türk. Biyo. Mücadele Derg. Baki et al, 2020, 11 (1): 43-54  
sörveylerde farklı bölge topraklarından alınan örneklerde *L. lecanii*, *B. bassiana*, ve *M. anisopliae*, entomopatojen fungus türlerine rastlanmıştır (Sevim et al, 2010; İzgi & Güven, 2014; Koz & Güven, 2014; Güven et al, 2014; Güven & Çaltılı, 2016; Baydar et al, 2016). Yapılan araştırmalar ve gözlemlerde farklı bölgelerden izole edilen izolatların değişik zararlılarda patojenliklerinin farklı olabileceğini göstermiştir (Beron & Diaz, 2005). Aynı zamanda entomopatojenler ile ilgili çalışmanın ilk şartı o bölgenin doğal koşullarına uyum sağlamış tür ve izolatların bulunmasıdır. Çünkü yöreye özgü entomopatojen tür ve izolatların o yöredeki zararlılar üzerindeki etkinliğinin, dünyanın başka coğrafi bölgelerinden elde edilmiş entomopatojen türlere göre daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Çam et al, 2002; Beron & Diaz, 2005; Fancelli et al. 2013; Topuz et al, 2016).

Bu amaçla bu çalışma ile farklı ürünlerin üretiminde önemli yer tutan Akdeniz bölgesinde Antalya’da yerli entomopatojenik fungusların saptanması ve Yeşil şeftali afidene’ne karşı etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Aynı zamanda elde edilecek entomopatojen funguslar ile yapılacak biyolojik (mikrobiyal) mücadele çalışmalarında faydalanılacak bilgi alt yapısı ve geniş bir entomopatojen fungus kültür koleksiyonunun oluşturulması hedeflenmiştir.

## **Materyal ve Yöntem**

### **Örnekleme Zamanı ve Yerleri**

Bu çalışmada, toprak örneklerinden entomopatojen fungusların izolasyonu için Antalya İli’nde tarımsal faaliyetlerin yoğun olarak yapıldığı Merkez (Çakırlar, Doyran, Hacısekililer ve Altınova), Kumluca, Aksu, Serik, Manavgat, ve Korkuteli ilçelerinden toplamda 42 örnek meteorolojik koşullara bağlı olarak belirli periyotlar halinde alınmıştır (Şekil 1). Örnekleme sırasında bahçe/sera/tarlaların seçiminde, doğal alanlara yakın olmaları, fazla güneş ışığı almayan ve rutubetin yoğun olduğu kuzey yönde olmaları gibi durumlar dikkate alınmıştır. Ayrıca, mümkün olduğunca pestisit uygulamalarının yapılmadığı ve her bir lokaliteyi en iyi biçimde temsil edecek bahçe/sera/tarlaların olmasına da dikkat edilmiştir (Klingen et al, 2002).



**Şekil 1.** Antalya İli'nde entomopatojen fungusların izolasyonları için toprak örneklerinin alındığı bölgeler

**Figure 1.** Various districts of Antalya Province where surveys for fungi associated with soil samples

### **Toprak örneklerinin alınması**

Her ilçeden en az 3 farklı bahçeden olacak şekilde toplamda 42 örnek alınmıştır. Her lokalitedeki her bir bahçenin 0.5 m<sup>2</sup>'lik 5 farklı yerinden 20-40 cm derinlikten alınan toprak örnekleri toplamda 2 kg olacak şekilde karıştırılarak kilitli plastik torbalarda etiketlenerek laboratuvara getirilmiş, izolasyonlar yapılmaya kadar +4°C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir (Sánchez-Peña et al, 2011).

### ***Galleria mellonella* (L.) larvalarının üretilmesi**

Toprak örneklerinden entomopatojen fungus izolasyonunda yaygın olarak kullanılan metotlardan biri "*Galleria* tuzak metodu" dur (Bedding & Akhurst, 1975). Bu metotla topraktan entomopatojen fungus izolasyonunda büyük mum güvesi, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları toprak örneklerinin içerisine yerleştirilerek enfekte olması beklenir (Zimmermann, 1986). Bu yöntem uygulama açısından kolay ve tercih edilen bir yöntem olması sebebiyle bu çalışmada da kullanılmıştır (Mracek et al, 1999; Nguyen et al, 2004; Bing & Xing, 2008; Güneş & Gözel, 2011). *Galleria mellonella* kültürü, 26±2°C sıcaklık ve %60±5 nispi nemde, 100 ml saf su, 200 ml süzme bal, 200 ml petek mumu, 250 ml gliserin ve 2 lt buğday kepeği içeren besi ortamlarında 1 lt hacimli cam kavanozlarda oluşturulmuştur (Kaya & Stock, 1997). Çalışmada 4. dönem *G. mellonella* larvaları topraktan entomopatojen fungus izole etmek amacıyla kullanılmıştır.

### **Bitki Materyali**

*Myzus persicae* kültürü oluşturmada ve laboratuvarında etkinlik çalışmalarında kullanılmak amacı ile çalışmalar süresince biber (*Capsicum annuum* L.) üretimi yapılmıştır. Konukçu bitki üretimi, içinde orman toprağı bulunan 15 cm boyunda ve 15 cm çapındaki saksılarda  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $60\pm 10$  orantılı nem ve 16 saat aydınlatmalı iklim odası koşullarında gerçekleştirilmiştir.

### **Böcek Materyali**

Yeşil şeftali afidi *M. persicae* erginleri Antalya'da zarar gören farklı biber seralarından yeterli sayıda toplanmış ve çalışmada kullanılmak üzere Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Entomoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Laboratuvara getirilen farklı biyolojik dönemdeki bireyler kontrollü iklim odası koşullarında ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $60\pm 10$  orantılı nem ve 16 saat aydınlatma) 5-6 yaprağı ulaşmış biber fideleri üzerinde kültüre alınmıştır. Kültüre alınan bireylerden 4-5 günlük dişi kanatsız sağlıklı afidler entomopatojen fungusların etkinlik denemelerinde kullanılmak üzere belirlenmiştir.

### **Toprak Örneklerinden Entomopatojen Fungus İzolasyonu**

Her bir bahçeden alınan 2 kg kadar toprak örneğı homojen olarak karıştırıldıktan sonra 200 ml'lik üç adet kültür kaplarına konulmuş ve steril saf su ile nemlendirildikten sonra kültür kaplarına 5 adet *G. mellonella* larvası yerleştirilmiş ve  $26\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta karanlık oda koşullarında 10 gün süre ile gözlem altına alınmıştır. Gözlemler sırasında yapılan incelemede, üzerinde fungal gelişme gözlenen larvalar, toplanarak yüzey sterilizasyonu için 5 sn %5'lik sodyum hipoklorit'te bekletildikten sonra distile sudan geçirilmiş daha sonra %70'lik etil alkolde 5 sn bekletilmiştir. Sonra 3 defa steril saf sudan geçirilip kurutma kâğıdı üzerine alınarak fazla suyu emdirilmiştir. Larvalar, nemli filtre kâğıtlarının bulunduğu petri kaplarında oda sıcaklığına ( $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) ayarlı inkübatörde 7-10 günlük inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon neticesinde eksternal fungal büyüme gösteren örneklerden saf kültür izolasyonu yapılmıştır (Oudor et al. 2000; Padmaja et al. 2001). İzolasyon Patates Dekstroz Agar (PDA; Becton, Dickinson and Company, MD, USA) ve Sabouraud Dekstroz Agar + %1 yeast ekstrakt (SDYEA; Becton, Dickinson and Company, MD, USA) besi ortamları kullanılarak yapılmıştır (Meyling, 2007). Bakteri kontaminasyonunu engellemek için besiyerine 50 µg/ml ampisilin, 20 µg/ml oranında chloramphenicol ve 200 µg/ml oranında streptomycine ilavesi yapılmıştır (Eken, 2011).

### **Entomopatojen Fungus İzolatlarının Morfolojik Tanısı**

Entomopatojen fungusların morfolojik tanısı, görüntülü ışık mikroskobu ve diseksiyon mikroskobu kullanılarak yapılmıştır. Fungus ile enfekte olmuş larvaların dış görünüşleri, koloni morfolojisi, konidiyagenez ve konidiaların şekil ve büyüklükleri gibi önemli yapıları teşhiste kullanılmıştır. Mikroskobik incelemeler ve

*Galleria mellonella* 'dan izole edilen izolatların *Myzus persicae*' e etkilerinin belirlenmesi teşhis için fungal kolonilerin hazırlanmasında hızlı ve etkin bir teknik olan "Slide culture; Lam kültürü" tekniği kullanılmıştır (de Hoog, 1972; Lacey, 1997). Hazırlanan preparattaki fungus izolatlarının, görüntülü ışık mikroskopunda hif ve konidiofor yapıları, spor ölçümleri ve spor şekli belirlenerek ve koloni morfolojilerine (pigmentasyon, gelişme hızı, vb.) göre ilgili literatür kullanılarak teşhisleri yapılmıştır (Samson, 1974, Samson et al, 1988; Humber, 1997; Humber, 1998; Eken, 2011). Tanısı yapılan kültürler -80°C de gliserol içeren sıvı besi ortamında saklanmıştır.

### **Etkinlik Denemeleri**

*Galleria mellonella* larvalarından izole edilip saflaştırılıp morfolojik tanısı yapılan entomopatojen fungusların *M. persicae* üzerindeki etkinliklerini belirlemek amacıyla, çalışmalar 25±2°C sıcaklık, %60±10 orantılı neme sahip iklim odasında koşullarında yürütülmüştür. Etkinlik testlerinde nemli pamuk bulunan Petri kaplarına (9 cm çapında) biber yaprağı alt yüzü yukarı gelecek şekilde yerleştirilmiş ve üzerlerine *M. persicae*'nin 4-5 günlük kanatsız ergin dişi bireyleri her petriye 10 birey olacak şekilde ince uçlu fırça yardımıyla konulmuştur.

Patates Dekstroz Agar (PDA) üzerinde 26±2°C sıcaklıkta karanlıkta kültüre alınan entomopatojen funguslar ekimden 10-14 gün sonra sporları 10 ml % 0.1 Tween 20 içeren steril saf su içerisine alınmış ve spor yoğunluğu Thoma lamı kullanılarak sayılarak 1x10<sup>7</sup> konidi/ml<sup>-1</sup> olacak şekilde hazırlanmıştır (Çam et al. 2002; Fancelli et al. 2013). Püskürtme yöntemi ile 1x10<sup>7</sup> konidi/ml<sup>-1</sup> içeren spor solüsyonları el püskürtme aleti ile 15-20 cm uzaklıktan üç defa olacak biçimde yapraklar üzerine uygulanmıştır. Laboratuvardaki patojenisite testlerinde muamele etkinlikleri, püskürtmeden 7 gün sonra canlı-ölü birey sayıları ve fungus gelişimi binoküler stereo mikroskop altında incelenerek kaydedilmiştir.

Ölümlerin uygulanan entomopatojen fungustan meydana geldiğini doğrulamak için ölü bireylerden teyit amacıyla reizolasyon yapılmış ve Koch postulatları doğrulanmıştır. Kontrol olarak ise afid verilmiş yaprakların üzerine %0.03 tween 80 içeren su püskürtülmüştür. Her bir fungus tür ve izolatları için deneme 3 tekrardan oluşmuş ve tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur.

### **İstatistik Analizler**

Laboratuvar denemelerinden elde edilen % ölümler kare-kök transformasyonu (arcsine square-root transformation) ile normalize edilmiş ve tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Eğer Muameleler arasındaki önemli farklılıklar önemli çıkmış ise bu farklılıkların birbirinden nasıl ayrıldığını belirlemek için ise Duncan çoklu karşılaştırma testi (Duncan's Multiple Range Test; DMRT;  $P \leq 0.05$ ) kullanılmıştır (SPSS® 17,0).

Test edilen entomopatojenlerin % etkinlikleri aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Henderson & Tilton 1955).

$$\text{Etkinlik (\%)} = [1 - (A1 \times B1 / A2 \times B2) \times 100]$$

Burada;

A1 = Uygulamadan sonra muameleli bitki aksamındaki yaşayan birey sayısı,

A2 = Uygulamadan önce muameleli bitki aksamındaki yaşayan birey sayısı,

B1 = Uygulamadan sonra kontroldeki bitki aksamındaki yaşayan birey sayısı,

B2 = Uygulamadan önce kontroldeki bitki aksamındaki yaşayan birey sayısı.

## Bulgular ve Tartışma

Biyolojik mücadele araştırmaları topraktan izole edilen yerel entomopatojen fungus izolatlarının önemini artırmaktadır. Bu amaçla çalışmada Antalya İli'nde tarımsal faaliyetlerin yoğun olarak yapıldığı ilçelerden 42 toprak örneği alınmıştır. Çalışma sırasında *G. mellonella* larvalarından izole edilip saflaştırılan toplam 34 adet entomopatojen fungus izolatu elde edilmiş ve morfolojik tanıları yapılmıştır (Çizelge 1). Bunlar; 11 adet *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., 5 adet *A. flavus* (Linn), 6 adet *Fusarium* spp., 3 adet *Metarhizium* spp. ve 9 adet *Penicillium* spp.'dir. Çalışmalar sonucunda en çok izole edilen entomopatojen funguslar 11 adet ile *B. bassiana* olmuştur. Çalışmada, elde edilen her entomopatojen fungus türü tekrar *G. mellonella* larvalarına karşı denenmiş ve patojenisite testinde en etkili olan her türden üçer adet izolat,  $1 \times 10^7$  konidi/ml konsantrasyonunda,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de ve  $\% 60 \pm 5$  bağıl nemde *M. persicae*'ye test edilmiştir. Çalışma sonucunda *B. bassiana*, *M. persicae*'nin 4-5 günlük erginlerinde ortalama  $\%83$  ölüme neden olurken, *Aspergillus flavus*  $\%47$ , *Fusarium* spp.  $\%2$ , *Metarhizium* spp.  $\%68$  ve *Penicillium* spp.  $\%37$  ölüme neden olmuştur (Çizelge 2).

Biyolojik mücadelede *Beauveria* ve *Metarhizium* türleri böceklerde yaygın olarak kullanılan mikrobiyal kontrol ajanı entomopatojen fungus türleri arasında olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada da etki oranları yüksek olan yerli *B. bassiana* ve *Metarhizium* spp. entomopatojen fungus izolatlarının *M. persicae*'nin kontrolünde ve diğer tarımsal zararlılar ile mücadele de kullanılma potansiyellerinin olduğu düşünülmektedir. Fakat izole edilen *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri böceklerde fırsatçı fungus olarak bilinmektedir ve böceklerde direk patojenik etkisi yoktur. Ne zaman ki bir böcekte ortam farklılığı hastalık ve yaralanma durumunda böceklerde ölüme neden olabileceği ama bu patojenik etki olarak gösterilemeyeceğini araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Ali-Shtayeh et al, 2002; Yu et al, 2005; İzgi & Güven, 2014). Bu nedenle çalışmada izole edilen entomopatojen fungus türlerinden sadece *Beauveria* ve *Metarhizium* türlerinin *M. persicae*'nin kontrolünde kullanılabileceği düşünülmektedir.

**Çizelge 1.** Toprak örneklerinden *Galleria mellonella* larvaları kullanılarak izole edilen entomopatojen fungus izolatları

**Table1.** Entomopathogenic fungi isolated from soil samples with using *Galleria mellonella* larvae

*Galleria mellonella* 'dan izole edilen izolatların *Myzus persicae*' e etkilerinin belirlenmesi

İzolat No.	Tür	Bölge özelliği	Bölge	Yıl	<i>G. mellonella</i> sayısı
FEb1	<i>B. bassiana</i>	Turunçgil bahçesi	Kumluca	2018	30
FEb2	<i>B. bassiana</i>	Turunçgil bahçesi	Kumluca	2018	30
FEb3	<i>B. bassiana</i>	Orman arazisi	Kumluca	2019	30
FEb4	<i>B. bassiana</i>	Boş tarım arazisi	Kumluca	2019	30
FEb5	<i>B. bassiana</i>	Turunçgil bahçesi	Çakırlar	2019	30
FEb6	<i>B. bassiana</i>	Zeytin bahçesi	Manavgat	2019	30
FEb7	<i>B. bassiana</i>	Boş tarım arazisi	Doyran	2019	30
FEb8	<i>B. bassiana</i>	Boş tarım arazisi	Serik	2019	30
FEb9	<i>B. bassiana</i>	Zeytin bahçesi	Hacisekililer	2019	30
FEb10	<i>B. bassiana</i>	Zeytin bahçesi	Aksu	2019	30
FEb11	<i>B. bassiana</i>	Nar Bahçesi	Aksu	2019	30
FEAf1	<i>A. flavus</i>	Turunçgil bahçesi	Kumluca	2018	30
FEAf2	<i>A. flavus</i>	Boş tarım arazisi	Kumluca	2018	30
FEAf3	<i>A. flavus</i>	Nar bahçesi	Aksu	2018	30
FEAf4	<i>A. flavus</i>	Boş tarım arazisi	Serik	2019	30
FEAf5	<i>A. flavus</i>	Armut bahçesi	Korkuteli	2019	30
FAFsp1	<i>Fusarium</i> spp.	Buğday ekili arazi	Manavgat	2019	30
FAFsp2	<i>Fusarium</i> spp.	Zeytin bahçesi	Manavgat	2019	30
FAFsp3	<i>Fusarium</i> spp.	Nar bahçesi	Aksu	2019	30
FAFsp4	<i>Fusarium</i> spp.	Orman arazisi	Serik	2019	30
FAFsp5	<i>Fusarium</i> spp.	Boş tarım arazisi	Serik	2019	30
FAFsp6	<i>Fusarium</i> spp.	Nar bahçesi	Doyran	2019	30
FEPsp9	<i>Penicillium</i> spp.	Turunçgil bahçesi	Kumluca	2019	30
FEMsp1	<i>Metarhizum</i> spp.	Zeytin bahçesi	Kumluca	2018	30
FEMsp2	<i>Metarhizum</i> spp.	Zeytin bahçesi	Serik	2019	30
FEMsp3	<i>Metarhizum</i> spp.	Boş tarım arazisi	Hacisekililer	2019	30
FEPsp1	<i>Penicillium</i> spp.	Orman arazisi	Kumluca	2018	30
FEPsp2	<i>Penicillium</i> spp.	Orman arazisi	Kumluca	2018	30
FEPsp3	<i>Penicillium</i> spp.	Orman arazisi	Çakırlar	2018	30
FEPsp4	<i>Penicillium</i> spp.	Zeytin bahçesi	Serik	2018	30
FEPsp5	<i>Penicillium</i> spp.	Orman arazisi	Manavgat	2019	30
FEPsp6	<i>Penicillium</i> spp.	Zeytin bahçesi	Aksu	2019	30
FEPsp7	<i>Penicillium</i> spp.	Orman arazisi	Korkuteli	2019	30
FEPsp8	<i>Penicillium</i> spp.	Nar bahçesi	Doyran	2019	30
FEPsp9	<i>Penicillium</i> spp.	Turunçgil bahçesi	Kumluca	2019	30

Ülkemizde mikrobiyal ajanlardan funguslar kullanılarak yapılan çalışmalar son on beş yılda hız kazanmaya başlamış ve entomopatojen fungusların tarımsal zararlılara karşı mücadelede etkili olduğu araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Çam et al., 2002; Satar, 2004; Demirözer et al., 2010; Arıcı et al., 2012; Özçelik et al., 2013; Koz & Güven, 2014; Baydar et al., 2016). Entomopatojen fungusların afidlerin mücadelesinde kullanımıyla ilgili hem yurt içinde hem de yurt dışında birçok çalışma yapılmıştır. Afidlerle mücadelede entomopatojen fungusların etkin bir şekilde kullanılabileceği önceden yapılan çalışmalarda ve bu çalışma sonuçlarında benzerlik göstermiştir (Erkılıç et al, 1999, Perdikis et al, 2004; Perdikis & Lykouressis, 2004; Rashki et al, 2009, Satar et al, 2000; Satar, 2004; Saranya et al, 2010; Arıcı et al, 2012; Akmal et al, 2013; Jandricic et al, 2014; Güven et al, 2014; Güven & Çaltılı, 2016; Baydar et al, 2016).



Bu çalışmada izole edilip tanısı yapılan ve *M. persicae* üzerinde patojenlikleri belirlenen entomopatojen fungus tür ve izolatlarından bazıları arazideki etkinlikleri belirlendikten sonra, etkili bulunan izolatların gelecekte biyolojik mücadelede biyopestisit olarak kullanılarak ticarileştirilmesi uygun olabilir.

**Çizelge 2.** Her entomopatojen fungus türüne ait 3 izolatın uygulamadan 7 gün sonra *Myzus persicae* üzerindeki etkileri

**Table 2.** The mortality effects of three isolates of each entomopathogenic fungi species on *M. persicae* after 7 days from treatment

Isolates	Species	Mortality (Means $\pm$ S.E.)*
FEBb3	<i>B. bassiana</i>	83.04 $\pm$ 0.22a
FEBb7	<i>B. bassiana</i>	81.70 $\pm$ 0.64a
FEBb10	<i>B. bassiana</i>	84.27 $\pm$ 0.85a
FEAf1	<i>A. flavus</i>	39.04 $\pm$ 1.01cd
FEAf4	<i>A. flavus</i>	47.60 $\pm$ 0.07c
FEAf5	<i>A. flavus</i>	54.36 $\pm$ 0.84cb
FAFsp1	<i>Fusarium</i> spp.	52.73 $\pm$ 1.68cb
FAFsp2	<i>Fusarium</i> spp.	48.04 $\pm$ 2.01c
FAFsp5	<i>Fusarium</i> spp.	55.23 $\pm$ 0.52cb
FEMsp2	<i>Metarhizum</i> spp.	61.92 $\pm$ 0.84b
FEMsp3	<i>Metarhizum</i> spp.	68.07 $\pm$ 2.05b
FEMsp4	<i>Metarhizum</i> spp.	74.01 $\pm$ 1.12ab
FEPsp2	<i>Penicillium</i> spp.	34.71 $\pm$ 1.54cd
FEPsp6	<i>Penicillium</i> spp.	37.08 $\pm$ 0.48cd
FEPsp9	<i>Penicillium</i> spp.	39.21 $\pm$ 1.62cd
	Control	0.00 $\pm$ 0.00d

\*Means in a column followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ; Duncan testi).

## References

- Akmal M., S. Freed, M. N. Malik, H.T. Gul 2013. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) Against Different Aphid Species Under Laboratory Conditions. *Pakistan Journal Zoology*, 45(1): 71-78.
- Ali-Shtayeh M.S., A.B.B.M.Mara & R.M. Jamous 2002. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. *Mycopathologia*, 156: 235-244.
- Arıcı, Ş. E., İ. Gülmez, H. Demirekin, H. Zahmekıran & İ. Karaca 2012. Entomopatojen *Fusarium subglutinans*'ın bakla yaprakbiti, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) üzerine etkisi. *Türkiye biyolojik mücadele dergisi* 3(1): 89-96
- Baydar R., Ö. Güven & I. Karaca 2016. Occurrence of Entomopathogenic Fungi in Agricultural Soils from Isparta Province in Turkey and Their Pathogenicity to *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26 (2): 323-327.

- Galleria mellonella* 'dan izole edilen izolatların *Myzus persicae*' e etkilerinin belirlenmesi
- Bedding, R.A. & R. Akhurst 1975. A simple technique for detection of insect parasitic nematodes in soil. *Nematologica*, 21:109-110.
- Beron C.M. & B.M. Diaz 2005. Pathogenicity of hyphomycetous fungi against *Cyclocephala signaticollis*. *BioControl*, 50: 143-150.
- Bing, D.S. & Z.L. Xing 2008. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. *Applied Soil Ecology*, 39: 100-108.
- Cottier, W., 1953. Aphids of New Zealand. *New Zealand Department of Scientific and Industrial Research*, 106:1-382.
- Çam H., A. Gökçe, Y. Yanar & Ğ. Kadiođlu 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.
- de Hoog, G.S., 1972. The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodontium* gen. nov. *Studies in Mycology*, 1: 1-41.
- Demirbađ Z., R. Nałçacıođlu, H. Kati, İ. Demir, K. Sezen & Ö. Ertürk 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon, ISBN: 978-975-93278-2-8.
- Demirözer O., Ş.E Arıcı, M.S. Sevinç & Ğ. Karaca 2010. *Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) (Hypocreales: Nectriaceae)'in *Chilocorus nigritus* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae) üzerindeki patolojik etkisinin belirlenmesine yönelik ön çalışma. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1 (2): 151-155.
- Eken, C., 2011. Isolation, Identification and Preservation of Entomopathogenic Fungi. In: Borgio, J.F., Sahayaraj, K. and Susurluk, I.A. (Eds.), *Microbial Insecticides, Principles and Applications*. Nova Science Publishers Inc., New York, USA, pp. 1-28.
- Erkılıç, L., H. Pala, N. Başıpar, & Y. Gerin 1999. Dođu Akdeniz Bölgesi'nde Bazı Yaprakbiti Türlerinde Entomopatojen Fungusların Belirlenmesi. Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi, 26-29 Ocak 1999, Adana-Türkiye, 623-632.
- Fancelli, M., A.B. Dias, I.J. Delalibera, S. Cerqueira de Jesus, A. Souza do Nascimento & S. Oliveira e Silva 2013. *Beauveria bassiana* Strains for Biological Control of *Cosmopolites sordidus* (Germ.) (Coleoptera: Curculionidae) in Plantain. *BioMed Research International*, doi.org/10.1155/2013/184756.
- Görür, G., 2004. Aphid (Homoptera: Aphididae) species on pome fruit trees in Niđe Province of Turkey. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 28 (1): 21-26.
- Güneş, Ç. & U. Gözel 2011. Marmara Bölgesi'ndeki Entomopatojen Nematod Faunasının Belirlenmesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 2: 103-118.
- Güven, Ö., R. Baydar, C. Temel & İ. Karaca 2014. Bazı entomopatojen fungusların *Aphis fabae* (Scopoli) (Homoptera: Aphididae) üzerine etkileri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 5(2): 149-158.
- Güven Ö. & O. Çaltılı 2016. Effects of combination treatments of entomopathogenic and opportunistic soil fungi on *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26 (4): 747-751.
- Henderson, C.F. & E.W. Tilton, 1955. "Tests with acaricides against the brown wheat mite", *Journal of Economic Entomology*, 48: 157-161.
- 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.
- İzgi, Ü & Ö. Güven 2016. Kahramanmaraş Başkonuş Ormanlık Alanlarından İzole Edilen Entomopatojen Funguslar. *Bitki Koruma Bülteni*, 54 (3): 201-209.

- Türk. Biyo. Mücadele Derg. Baki et al, 2020, 11 (1): 43-54
- Jandricic, S.E., M. Filotas, J.P. Sanderson & S.P. Wraight 2014. Pathogenicity of conidia-based preparations of entomopathogenic fungi against the greenhouse pest aphids *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, and *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 118:34-46.
- Kaya H.K. & S.P. Stock 1997. Techniques in Insect Nematology. In: Lacey L.A. Ed. Manual of Techniques in Insect Pathology. Biological Techniques Series. San Diego, London: Academic Press, 281-324.
- Klingen, I., J. Eilenberg & R. Meadow 2002. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 91: 191-198.
- Koz, C. & Ö. Güven 2014. Kahramanmaraş Merkez Köylerindeki Buğday Tarlalarından izole Edilen Entomopatojen Funguslar. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 5(1): 39-51.
- Lacey, L. A. 1997. Manual of techniques in insect pathology. Academic Press, San Diego.
- Meyling, N.V., 2007. Methods for isolation of entomopathogenic fungi from the soil environment. Laboratory Manual, Faculty of Life Science, University of Copenhagen, Denmark, pp. 1-18.
- Müller-Kögler E., 1965. Pilzkrankheiten bei Insekten, Paul Paray in Berlin und Hamburg, Berlin 61, Lindenstrasse, 444 Seite.
- Nguyen K.B., D.I. Shapiro-Ilan, R.J. Stuart, C.W. McCoy, R.R. James & B.J. Adams 2004. *Heterorhabditis mexicana* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Tamaulipas, Mexico, and morphological studies of the bursa of *Heterorhabditis* spp. *Nematology*, 6: 231-244.
- Oğurlu Ğ. 2000. Biyolojik mücadele, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 8, Orman Fakültesi Yayın No: 1, Isparta, ISBN: 975-7929-18-2.
- Oudor G.I., S.M. Smith, E.A. Chandi, L.W. Karanja, J.O. Agano & D. Moore 2000. Occurrence of *Beauveria bassiana* on insect pests of stored maize in Kenya. *Journal of Stored Products Research*, 36: 177-185.
- Özçelik N., G. Bal, F. Demirci & M. Muştu 2013. *Isaria farinosa* ve *Purpureocillium lilacinum*'un yeşil şeftali yaprakbiti, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) üzerine etkileri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 4(1): 23-29.
- Padmaja G.K.V. 2001. Use of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Moniliales:Deuteromycetes) for controlling termites. *Current Science*, 81(6): 647-647.
- Perdikis, D.C., D.P. Lykouressis & N.G. Garantonakis, 2004. Instar preference and parasitization of *Aphis gossypii* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) by the parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphididae). *European Journal of Entomology*, 101: 333-336.
- Perdikis, D.Ch. & D.P. Lykouressis 2004. *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) as a suitable prey for *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) population increase on pepper plant. *Environmental Entomology*, 33: 499-505.
- Rashki, M., A. Kharazi-Pakdel, H. Allahyari & J.J.M. van Alphen 2009. Interactions among the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales), the parasitoid, *Aphidius matricariae* (Hymenoptera: Braconidae), and its host, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Biological Control*, 50: 324-328.
- Remaudiere, G. & M. Remaudiere 1997. Catalogue des Aphididae du Monde (Catalogue of the World's Aphididae) Homoptera, Aphidoidea, Preface Par V.F. Eastop, INRA editions, p. 473.
- Sáenz-de-Cabezón, F.J. V. Irigaray, I. Marco-Mancebón & I. Pérez-Moreno 2003. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and compatibility with triflumeron: effects on the twospotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Biological Control*, 26: 168-173.

- Galleria mellonella* 'dan izole edilen izolatların *Myzus persicae*' e etkilerinin belirlenmesi
- Samson R. A. 1974. Paecilomyces and some allied hypomyces. *Studies in Mycology*, 6: 1-119.
- Samson R.A., H.C. Evans, & J.P. Latge 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-Verlag, New York.
- Sánchez-Peña, S.R., J.S.J. Lara & R.F. Medina 2011. Occurrence of entomopathogenic fungi from agricultural and natural ecosystems in Saltillo, México, and their virulence towards thrips and whiteflies. *Journal of Insect Science*, 11: 1.
- Saranya S., R. Ushakumari, S. Jacob & B.M. Philip 2010. Efficacy of different entomopathogenic fungi against cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Koch). *Journal of Biopesticides* 3(1): 138-142.
- Satar, H. 2004. Entomopathogen Fungus *Fusarium subglutinans*'ın Sera Koşullarında Aphis gossypii'ye Karşı Biyolojik Etkinliğinin Denenmesi ve Biyopreparat olarak Kullanım olanaklarının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi Kod No:796, Adana.
- Satar, S., B. Gerin & L. Bakırcıoğlu Erkılıç 2000. Entomopatojen fungus *Fusarium subglutinans*'ın laboratuvar koşullarında bazı yaprakbiti türleri üzerindeki etkileri. Türkiye 4. Entomoloji Kongresi, Adana, 317-322.
- Sevim A., I.Demir, M. Höfte, R.A. Humber & Z. Demirbağ 2010. Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey. *BioControl*, 55(2): 279-297.
- Topuz, E., F. Erler & E. Gümrükcü 2016. Survey of indigenous entomopathogenic fungi and evaluation of their pathogenicity against the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisd.), and the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B. *Pest Management Science*, 72(12): 2273–2279.
- von Dohlen, C.D. & N.A. Moran 2000. Molecular data support a rapid radiation of aphids in the Cretaceous and multiple origins of host alternation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 71: 689-717.
- von Dohlen, C.D., C.A. Rowe & O.E. Heie 2006. A test of morphological hypotheses for tribal and subtribal relationships of Aphidinae (Insecta: Hemiptera: Aphididae) using DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38: 316-329.
- Yu J., T.E. Cleveland, W.C. Nierman & J.W. Bennett 2005. *Aspergillus flavus* genomics: gate way 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 of Applied Entomology*, 102: 213-215.