

Entomopatojen *Fusarium subglutinans* 'ın bakla yaprakbiti, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) üzerine etkisi

**Şerife Evrim ARICI¹, İbrahim GÜLMEZ¹, Hasan DEMİREKİN¹,
Hatice ZAHMEKİRAN¹, İsmail KARACA¹**

Efficiency of entomopathogenic fungus *Fusarium subglutinans* against *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae)

Abstract: In this study, biological efficiency of entomopathogenic fungus *Fusarium subglutinans* isolated from cotton aphid was evaluated against *Aphis fabae* Scop. (Hemiptera: Aphididae) on bean in climate chamber. Three concentrations of each isolates (1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 conidiospore/ml) were applied to aphids. Live and dead aphids were recorded from leaf samples in 7th, 10th, 12th, 14th days. Application of three different concentrations of two isolates of *F. subglutinans* resulted in significant differences in aphid mortality at 25 °C. The highest mortality rate was calculated for 1×10^6 spore/ml. There were no differences in mortality rate between 1×10^7 and 1×10^8 spore/ml concentration. In climate chamber experiment with these two isolates, aphid population was controlled 2 weeks later after application.

Keywords: *Aphis fabae*, *Fusarium subglutinans*, entomopathogenic fungus, biological control

Özet: Bu çalışmada pamuk yaprakbitinden izole edilen entomopatojen fungus *Fusarium subglutinans*'ın iklim odası koşullarında yetiştirilen bakla bitkisi üzerindeki *Aphis fabae* Scop. (Hemiptera: Aphididae)'ye karşı biyolojik etkinliği belirlenmiştir. İzolatlara ait 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 konidiospor/ml konsantrasyonları hazırlanmış ve yaprak bitlerine uygulanmıştır. Bitkilerden yaprak örnekleri alınarak 7., 10., 12., 14. günlerde sayımlar yapılmış, canlı ve ölü yaprak bitleri kaydedilmiştir. *F. subglutinans*'a ait iki izolata üç farklı konsantrasyonuyla 25 °C'de yapılan biyolojik etkinlik denemesinde yaprak biti oranı açısından önemli farklılıklar saptanmıştır. En yüksek yaprak biti ölüm oranı 1×10^6 konidiospor/ml konsantrasyonunda elde edilmiştir. 1×10^7 ve 1×10^8 konidiospor/ml konsantrasyonları ile yapılan uygulamalarda yaprak biti ölümlerinde fark bulunmamıştır. Bu iki izolat ile yapılan iklim odası koşullarındaki denemede yapılan sayımlarda, uygulamadan 2 hafta sonra yaprak biti popülasyonunun baskı altına alındığı belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: *Aphis fabae*, *Fusarium subglutinans*, entomopatojen fungus, biyolojik mücadele

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta
Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: evrimarici@sdu.edu.tr
Alınış (Received): 28.12.2011 Kabul ediliş (Accepted): 09.05.2012

Giriş

Tarımda ürün kaybına neden olan etmenlerin başında; hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlar gelmektedir. Günümüzde ürünü hastalık ve zararlılara karşı korumak için kimyasal mücadele en çok kullanılan yöntemdir. Kimyasal mücadelenin birçok zararlı yan etkisi olduğu için alternatif mücadele yöntemlerinin uygulanmasına gereksinim duyulmaktadır. Biyolojik mücadele, kimyasal mücadeleye en iyi alternatif mücadele yöntemidir (Bora & Özaktan 1998; Lacey et al. 2001; Khan et al. 2008).

Biyolojik mücadele zararlı, hastalık ve yabancı otların canlı etmenler yardımıyla ekonomik zarar seviyesinin altında tutulmasıdır. Son yıllarda biyolojik mücadelenin modern tarımda uygulanması hızla artmıştır. Bu durum; özellikle teknolojisi gelişmiş ülkelerde çevre bilincinin yerleşmesine bağlı olarak ilaç kullanımına tepkilerin artması ile daha çok önem kazanmıştır. Biyolojik mücadelede predatörler, parazitoidler ve entomopatojenler önemli bir yere sahiptir. Entomopatojenler; nematodlar, protozoa, riketziya, funguslar, bakteriler ve virüslerden oluşmakta olup bunlar arasında funguslar biyolojik mücadelede önemli bir yer tutmaktadırlar. Funguslar diğer entomopatojen mikroorganizmalardan daha geniş konukçu dizisine sahip olup Lepidoptera, Homoptera, Hymenoptera, Coleoptera ve Diptera takımlarından bir çok böceği enfekte etmektedirler. *Lecanicillium lecanii* R.Zare & W.Gams, *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) gibi funguslar bu böcek takımlarının bir çoğunu içine alan konukçu dizisine sahiptirler (Hall & Papierok 1982; Starnes et al. 1993; Bellows & Fisher 1999; Fatıha et al. 2008; Meissle et al. 2009; Xu et al. 2011). Yaprakbitlerin mücadelesinde de bazı entomopatojen funguslar etkili olmuştur (Vu et al. 2007). Yaprak bitlerinde etkili olan entomopatojen funguslardan biri de *F. subglutinans* (Wollenw & Reinking)'dir (Erkılıç et al. 1999; Satar 2004)

Entomopatojen fungusların en önemli özelliklerinden biri de olumsuz çevre şartlarında dayanıklı formlar oluşturmaları, fakültatif ya da saprofitik özelliğe sahip olmalarıdır. Bu nedenle bunlar topraktan ve organik artıklardan izole edilebilmekte ve biyolojik mücadelede kullanılma olanakları artmaktadır (Bellows & Fisher 1999; Lacey et al. 2001).

Yaprakbitleri kültür bitkileri üzerinde beslenmeleri nedeniyle doğrudan bitki virüs hastalılarının vektörü olarak da dolaylı zararlara neden olur. Yaprak bitleri sık sık entomopatojen fungusların saldırılarına maruz kalmaktadır. Yaprakbitlerini hastalandıran funguslardan bazılarının biyolojik mücadelede kullanım açısından büyük bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir (Satar 2004). Bu çalışmada pamuk yaprakbitinden izole edilen entomopatojen fungus *Fusarium subglutinans*'ın iklim odası koşullarında yetiştirilen bakla bitkisi üzerindeki *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae)'ye karşı biyolojik etkinliği araştırılmıştır.

Materyal ve yöntem

Konukçu bitki üretimi

Konukçu bitki olarak kullanılan bakla (*Vicia fabae* L.) bitkileri üretim kabinlerinde 26 ± 1 °C ve % 65 ± 5 orantılı nem ve uzun gün aydınlatmalı (16A:8K) koşullarda yetiştirilmiştir. Bakla tohumları 15 cm çap ve 13 cm derinliğe sahip plastik saksılar içerisinde 3-4 cm derinliğe ekilmiştir. Bitkilerin boyları 10 cm'ye ulaştığında yaprakbiti üretiminde kullanılmak için yaprakbiti üretim kabinine aktarılmıştır.

Yaprakbiti üretimi

Bitki Koruma Bölümü bünyesinde bulunan iklim odalarında çoğaltılan *A. fabae*, yetiştirilen bakla bitkileri üzerine salınarak bulaştırma yapılmıştır. Yaprakbiti üretimi 26 ± 1 °C ve % 65 ± 5 orantılı nem ve uzun gün aydınlatmalı (16A:8K) koşullara sahip iklim odalarında gerçekleştirilmiştir.

Spor süspansiyonu hazırlanması ve *Aphis fabae*'ye uygulanması

Pamuk tarlalarından *Aphis gossypii* Glover 'den elde edilen ve entomopatojen olan *Fusarium subglutinans* 'ın iki izolatu bu çalışmada kullanılmış ve baklada zarara neden olan *A. fabae*'ye uygulanmıştır. Böceklerle uygulamak için yeterli miktarda spor süspansiyonu elde etmek amacı ile *F. subglutinans*'ın iki izolatu PDA (patates dekstroz agar) ortamında kültüre alınmıştır. *F. subglutinans* izolatları PDA ortamında 7-10 gün süre ile geliştirilmiştir. PDA ortamı üzerinde gelişen fungusların miselleri bir spatul yardımı ile alınarak saf su içerisine alınmış ve spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan spor süspansiyonunda spor yoğunluğunun hesaplanabilmesi için her bir süspansiyondaki spor sayısı Thoma lamı ve ışık mikroskopu kullanılarak belirlenmiştir. Süspansiyonlardan seyreltme yapılarak her bir izolat için 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 konidiospor/ml yoğunlukta spor süspansiyonları hazırlanmış ve içerisine % 0.1 Tween 20 ilave edilmiştir.

İklim odasında yetiştirilen bakla bitkisi üzerindeki *A. fabae*'ye hazırlanan süspansiyon püskürtme şeklinde uygulanmıştır. Kontrol olarak, içinde spor bulunmayan steril su böceklerin üzerine püskürtülmüştür. Spor süspansiyonu ile muamele edilen böceklerin ve kontrol denemesindeki böceklerin bulunduğu bitkilerin üzeri nemli naylon poşetle kapatılarak 25 ± 2 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Her bir uygulama için denemede 3 bitki kullanılmıştır. Spor süspansiyonu uygulamasından 48 saat sonra nemli poşet bitkilerin üzerinden uzaklaştırılmış ve tekrar 25 ± 2 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Takip eden günlerde yapılan kontrollerde her bir tekrardan 4 yaprak alınarak 7. günden itibaren sayımlar yapılmış ve üzerinde fungal gelişim olan böcekler olarak kaydedilmiştir. Kontroller sonucunda ölen böcekler nem çemberlerine alınarak 25 ± 2 °C'de tekrar inkübasyona bırakılmış ve fungus gelişimi teşvik edilmiştir.

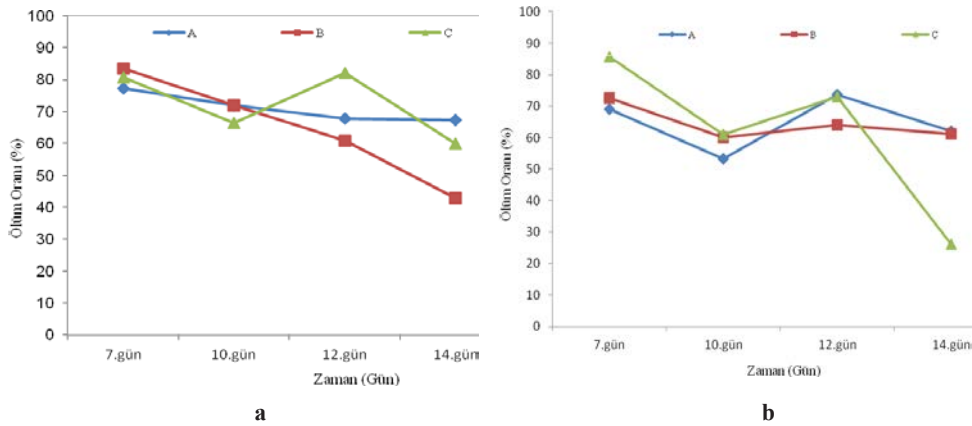
Çalışmada, ölüm oranları Handerson Tilton Methodu ile hesaplanmıştır. İstatistiksel analizlerde elde edilen verilere açı transformasyonu uygulanarak varyans analizi yapılmıştır. Ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak 0.05

önem seviyesinde karşılaştırılmış ve gruplandırılmıştır. İstatistik analizlerin tümünde SPSS 16.0 (SPSS Inc. Illionis USA) paket programı kullanılmıştır.

Bulgular ve tartışma

Kontrollü koşullarda yapılan bu çalışmada bakla bitkisinde *F. subglutinans*'ın 2 izolatının 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 konidiospor/ml konsantrasyonlarda bakla bitkisi üzerindeki *A. fabae*'ye uygulanması sonucunda elde edilen ölüm oranları verilmiştir (Şekil 1a, b). Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre biyolojik etmen olarak kullanılan *F. subglutinans*'ın her iki izolatının da *A. fabae*'yi infekte ettiği gözlenmiştir.

Şekil 1a'da görüldüğü gibi 1×10^6 konidiospor/ml ve 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonlarında yapılan uygulamada 7. günde ölüm oranı yüksek çıkarken daha sonra yaprak bitlerinde ölüm oranı düşüşe geçmiştir. 1×10^8 konidiospor/ml konsantrasyonunda yapılan uygulamada ise 7. ve 12.günde ölüm oranı yüksekken diğer günlerde ölüm oranında düşüş gözlenmiştir.



Şekil 1. *Fusarium subglutinans* 1 (a) ve 2 (b) izolatlarının farklı konidiospor konsantrasyonlarının (A: 1×10^6 , B: 1×10^7 , C: 1×10^8 konidiospor/ml) *Aphis fabae*'ye uygulanması sonucu gözlenen zamana bağlı ölüm oranı (%) ($p < 0.05$).

Figure 1. Time dependent mortality of *Aphis fabae* (%), after application of different conidiospore concentrations of *Fusarium subglutinans* isolates 1 (a) and 2 (b) ($p < 0.05$).

Uygulamada kullanılan ikinci izolatın 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyon uygulamasında 12. günden sonra ölüm oranında düşüş tespit edilmiştir. İstatistik olarak 10^6 ve 10^7 aynı grupta yer alıp, 1×10^6 konidiospor/ml konsantrasyon uygulamasında 7. ve 12. günde ölüm oranları yüksek tespit edilmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 1b). Yaprakbitleri kısa sürede yavrulayan ve hatta döl veren zararlılardır (Dixon & Hopkins 2010). Yaprak biti popülasyonunda canlı kalan bireyler çoğalmaya devam etmektedir. Ölüm oranlarında görülen bu düşüşlerin nedeninin

canlı kalan yaprakbiti bireylerinin çoğalma hızının, fungusun yeni yaprak biti bireylerini infekte etme hızından daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer sonuçlar Satar (2004) tarafından da bildirilmiştir.

F.subglutinans'a ait iki izolatin 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 konidiospor/ml konsantrasyonları ile bakla bitkisi üzerinde bulunan *A. fabae*'ye yapılan bu uygulama sonucunda 12. ve 14. gündeki izolat ile uygulama interaksyonu istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (Çizelge 1). Uygulama sonucunda yaprak bitlerinde en fazla ölüm 12. gün sonunda gözlenmiş, izolatlara göre değişim göstermesine rağmen uygun dozun 1×10^6 konidiospor/ml olabileceği belirlenmiştir.

Çizelge 1. Farklı konsantrasyonlarda uygulana *Fusarium subglutinans* spor süspansiyonunun *Aphis fabae*'ye etkisi

Table 1. Effect of the applying different concentration *Fusarium subglutinans* spore suspension to *Aphis fabae*

Uygulamalar	İzolatlar (% Ölüm oranı)			
	Uygulamadan 12 gün sonra		Uygulamadan 14 gün sonra	
Konidiospor/ml	<i>F.subglutinans 1</i>	<i>F.subglutinans 2</i>	<i>F.subglutinans 1</i>	<i>F.subglutinans 2</i>
1×10^6	59,3±2,8aA	54,5±10,10aA	45,3±7,3aA	49,8±10,6aA
1×10^7	52,8±6,1aA	51,7±5,9aA	52,3±5,6aA	43,8±7,7aA
1×10^8	46,8±11,91bB	63,5±5,3aA	30,9±12,3bA	48,4±10,3aA

*Aynı harfler istatistiksel olarak farklı değildir ($p < 0.05$) (Sütunlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde küçük harfler uygulama, büyük harfler *F.subglutinans* izolatu ifade etmektedir.

Son yıllarda biyolojik etmenlerle yapılan çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından entomopatojenlerin zararlı böceklerle karşı etkin oldukları bildirilmiştir (Yücel et al.1995; Lacey et al. 2001). Entomopatojen funguslar çoğunlukla vücut duvarını delerek giriş yaparlar bu işlem kısmen fiziksel kısmen de enzimatik olarak gerçekleşir. Yani böcek tarafından ağız yoluyla alınmaya ve daha sonra infeksiyon yapmaya gerek duymazlar (Hall & Papierok 1982; Bellow & Fisher 1999). Yaprak bitleri sık sık entomopatojen fungusların saldırılarına maruz kalmaktadır. Yaprakbitlerini hastalandıran funguslardan bazılarının biyolojik mücadelede kullanım açısından büyük bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir (Feng et al. 1991; Erkılıç et al. 1999).

Yapılan bir araştırmaya göre, ülkemizde, Doğu Akdeniz Bölgesi'nde (Adana, Mersin ve Hatay) yaprak bitlerinde hastalık oluşturan toplam 20 fungal izolat elde edilmiş ve bu izolatlar, pamukta *A. gossypii* ve *Myzus persicae* (SULZ.)'den, turunçgillerde *A. gossypii* 'den, marulda ise *Nasanovia ribis nigri* (Mosley)'den elde edilmiştir. Elde edilen fungusların ürettiği toksinlerin böcek ölümlerine neden olması bu izolatların olumlu sonuçlar verdiğini göstermiştir. İzole edilen

funguslardan *F. subglutinans* % 74.83 ile en yüksek etkiyi gösterirken, *Aspergillus niger* Van Tieghem ve *Aspergillus sulfhureus* (Fresenius) Wehmer sırası ile % 35.20, % 31.70 etkili olup, *Cladosporium* sp. cinsine ait izolatlardan bazıları da yaklaşık % 10 civarında etki göstermiştir (Erkılıç et al. 1999). Satar (2004), tarafından yapılan çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Pamuk yaprakbiti *A. gossypii* üzerinde yaygın olarak görülen entomopatojen fungus *F. subglutinans*'ın iklim odası ve sera koşullarında biber ve pamuk bitkisi üzerindeki *A. gossypii*'ye karşı biyolojik etkinliği belirlenmiştir. *F. subglutinans* ait izolatların % 70±5 orantılı nem ve 25 °C'de yapılan biyolojik etkinlik denemesinde uygulamadan iki hafta sonra yaprakbiti popülasyonu baskı altına alınmıştır. Adana pamuk tarlalarında yapılan bir araştırmada Pamuk yaprakbiti, *A. gossypii* üzerinde yaygın olarak *F. subglutinans* belirlenmiştir (Anonim 2000). Satar et al. (2000) tarafından yapılan çalışmada entomopatojen fungus *F. subglutinans* pamuk ve patlıcan bitkileri üzerinde geliştirilen *M. persicae* ve *A. gossypii*'yi farklı oranlarda etkilemiş ve yaprak bitlerinde ölümler gözlenmiştir. Diğer entomopatojen funguslar ile yaprak bitlerine karşı biyolojik mücadele yöntemleri araştırılmaktadır (Vua et al. 2007; Mikuthan & Manjunantha 2008).

Sonuç olarak; farklı konsantrasyonlarda uygulanan *F. subglutinans*'ın bakla bitkisinde zarar yapan *A. fabae* popülasyonunu baskı altına aldığı gözlenmiştir. *F. subglutinans*'ın her iki izolatu da biyolojik etmen olarak bu zararlıya karşı öldürücü etkiye sahip olmaları nedeniyle *A. fabae* 'ye karşı biyolojik etmen olarak kullanılabilmesi için çalışmalara devam edilmelidir. Ayrıca geçmişteki başarılarına rağmen kimyasal ilaçların kullanımının azalmasıyla birlikte gelecekteki besin ihtiyacını karşılamak için yeni entomopatojen organizmaların uygulamaya konulmasına gereksinim duyulmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma, TÜBİTAK BİDEB 2209 öğrenci projesi tarafından desteklenmiştir. TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Anonim 2000. <http://www.cine-tarim.com.tr> (Erişim tarihi: 15 Mart 2012)
- Bellows T.S. & T.W. Fisher 1999. Handbook of Biological Control: principles and Applications of Biological. Academic Press, California, USA, 1047 pp.
- Bora T. & H. Özaktan 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. Prizma Matbaası, İzmir, 205 s.
- Dixon A.F.G. & G.W. Hopkins 2010. Aphid biodiversity under environmental change. Chapter: Temperature, Seasonal Development and Distribution of Insects with Particular Reference to *Aphids* pp.: 127-149.
- Erkılıç, L., H. Pala, N. Başpınar & Y. Biçer 1999. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Bazı Yaprakbiti Türlerinde Entomopatojen Fungusların Belirlenmesi. Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, 26-29 Ocak, 1999, Adana, 623-632.

- Fatiha, L., Z. Huang., S.X. Ren & S. Ali 2008. Effect of *Verticillium lecanii* on biological characteristics and life table of *Serangium japonicum* (Coleoptera: Coccinellidae), a predator of whiteflies under laboratory conditions. *Insect Science*, 15 (4): 327–333.
- Feng M.G., R.M Nowierski, A.L. Scharen & D.D. Sands 1991. Entomopathogenic fungi (Zygomycotina: Entomophthorales) infecting cereal aphids (Homoptera:Aphididae) in Montana. *Pan-Pacific Entomologist*, 67 (1): 55–64.
- Hall R.A. & B. Papierok 1982. Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. *Parasitology*, 84: 205-240.
- Khan Z.R., D.G. James, C.A.O. Midega & J.A. Pickett 2008. Chemical ecology and conservation biological control. *Biological Control*, 45 (2): 210–224.
- Lacey L.A., R. Frutos, H.K. Kaya & P. Vail 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future. *Biological Control*, 21: 230-248.
- Meissle M., C. Pilz & J. Romeis 2009. Susceptibility of *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* when feeding on *Bacillus thuringiensis* cry3bb1-expressing maize. *Applied and Environmental Microbiology*, 75: 3937–3943.
- Mikunthan G. & M. Manjunatha 2008. Impact of habitat manipulation on mycopathogen, *Fusarium semitectum* to control *Scirtothrips dorsalis* and *Polyphagotarsonemus latus* of chilli. *BioControl*, 53: 403-412.
- Satar H. 2004. Entomopatojen fungus *Fusarium subglutinans*'ın sera koşullarında *Aphis gossypii*' ye karşı biyolojik etkinliğinin denenmesi ve biyopreparat olarak kullanılma olanaklarının araştırılması. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 96 s.
- Satar S., Y. Biçer Gerin & L. Bakırcıoğlu Erkilic 2000. Entomopatojen fungus *Fusarium subglutinans*'ın laboratuvar koşullarında bazı yaprakbiti türleri üzerindeki etkileri. Türkiye 4. Entomoloji Kongresi, Adana, 317-322.
- Starnes R.L., C.L. Liu & P.G. Marrone 1993. History, use, and future of microbial insecticides. *American Entomologist*, 39: 83-91.
- Vua V.H., S. Hongb & K. Kima 2007. Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 104 (6): 498–505.
- Xu X., Y. Yu & Y. Shi 2011. Evaluation of inert and organic carriers for *Verticillium lecanii* spore production in solid-state fermentation. *Biotechnology Letters*, 33 (4): 763-768.
- Yücel S., H. Pala, A. Ulubilir & A. Yiğit 1995 Seralarda pamuk beyazsineği (*Bemisia tabaci* Genn).ye karşı entomopatojen fungus, *Verticillium lecanii*'nin etkisi üzerine çalışmaları. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana, S: 211-215.