

Bazı Entomopatojen Fungusların Baklazını, *Epicometis hirta* (Poda) (Coleoptera: Scarabaeidae) Erginlerine Karşı Virülensliği*

Sevim ATMACA¹, Gamze PEKBEY¹, Ramazan CANHİLAL²

ÖZET: Baklazını, *Epicometis hirta* (Poda) (Coleoptera: Scarabaeidae), elma üretimini sınırlandıran önemli bir zararlıdır. Bu çalışma, Adana ve civarından alınan topraklardan izole edilen iki entomopatojen fungusun (*Beauveria bassiana* ve *Fusarium* sp.) etkinliğini incelemek amacıyla yapılmıştır. Yozgat ili Sorgun ilçesi Gedikhasanlı köyünden *E. hirta* erginleri toplanmış ve püskürtme yöntemi ile 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 konidi ml^{-1} dozlarında entomopatojen funguslar zararlıya inoküle edilmiştir. Dört tekerrürlü kurulan denemede konsantrasyon başına (her tekerrürde) 10 ergin ve toplamda 40 ergin kullanılmıştır. İnokülasyondan sonra 7. ve 14. günde ölüm oranları ve mikozis değerleri hesaplanmıştır. Yedinci günde mortalite oranları sırasıyla; *B. bassiana* için %60, %85, %80 ve *Fusarium* sp. izolatları için %40, %35, %40 olarak hesaplanmıştır. On dördüncü günde mortalite oranları sırasıyla; *B. bassiana* için %70, %90, %90 ve *Fusarium* sp. izolatları için %50, %70, %75 olarak hesaplanmıştır. LC_{50} değerleri *Fusarium* sp. (213) ve *B. bassiana* (310) izolatları sırasıyla 251.83×10^5 ve 101.94×10^5 konidi ergin⁻¹ olarak bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda *B. bassiana* izolatının (1×10^7 ve 1×10^8 konidi ml^{-1} dozları) zararlıyı yönetmeye yönelik biyolojik mücadele programlarında potansiyel biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilir olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Beauveria bassiana*, entomopatojen fungus, *Epicometis hirta*, *Fusarium* sp.

Virulence of Some Entomopathogenic Fungi Against Adult of Blossom Beetle, *Epicometis hirta* (Poda) (Coleoptera: Scarabaeidae)

ABSTRACT: The Blossom Beetle *Epicometis hirta* (Poda) (Coleoptera: Scarabaeidae) is one of the important pest that limits apple production.. This study was aimed to examine the role of two entomopathogenic fungi (*Beauveria bassiana* and *Fusarium* sp.) were isolated from field soil from Adana province. *E. hirta* collected from Yozgat, Sorgun, Gedikhasanlı province and the districts and the entomopathogenic fungi inoculated on *E. hirta* adults by spraying method. In the experiment, 1×10^6 , 1×10^7 and 1×10^8 conidia ml^{-1} concentrations were used. 40 adults per concentration and 10 adults per recurrence were used within four recurrences. After the inoculation, mortality rates mycosis rate and were calculated for day 7 and 14 days. At 7th day, the mortality rates of *B. bassiana* were calculated as, 60%, 85%, 80% and for *Fusarium* sp. isolates were calculated as; 40%, 35%, 40% respectively. At 14th day, the mortality rates of *B. bassiana* were calculated as 70%, 90%, 90% and for *Fusarium* sp. isolates; 50%, 70%, 75% respectively. LC_{50} values were determined using *Fusarium* sp. (213) and *B. bassiana* (310) isolates were 251.83×10^5 and 101.94×10^5 conidia mature⁻¹, respectively. The results of the study *B. bassiana* isolates (1×10^7 and 1×10^8 conidia ml^{-1} doses) could be used as potential biological control agents in classical biological control programs aimed at managing the pest.

Keywords: *Beauveria bassiana*, entomopathogenic fungi, *Epicometis hirta*, *Fusarium* sp.

¹ Sevim ATMACA (0000-0001-8568-3469), Gamze PEKBEY (0000-0002-0314-0071), Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Yozgat, Türkiye

² Ramazan CANHİLAL (0000-0002-5374-5458), Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kayseri, Türkiye
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Sevim ATMACA, sevim.dogan@bozok.edu.tr

* Bu çalışma 14-16 Eylül 2017 tarihinde Tokat-Türkiye’de düzenlenen 6th Entomopathogens and Microbial Control Congress’inde sunulmuş ve kongre özet kitabında yayınlanmıştır.

GİRİŞ

Epicometis hirta (Poda) (Coleoptera: Scarabaeidae) erginleri meyve ağaçları ve diğer bitkilerin çiçek açma zamanında, çiçek organlarının polen tozlarını, genç yaprakları, tomurcuk ve meyveleri yiyerek zararlı olurlar (Anonim, 2008). Bunun sonucu olarak zarar görmüş çiçekler meyve bağlayamaz ve verimde azalma, ürün kalitesinde farklılık gözlemlenir (Özbek, 2008). Konukçuları arasında başta elma olmak üzere, armut, kiraz, kayısı gibi meyve ağaçları, buğdaygiller, süs bitkileri ve bazı yabancı otlar bulunmaktadır.

Zararlı ile mekanik, biyoteknik, kültürel ve kimyasal mücadele yapılmaktadır. Ülkemizde *E. hirta*'ya karşı ruhsatlı ilaç bulunmaması bu zararlı ile mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Uygulanan biyoteknik ve kültürel mücadele yöntemleri doğru uygulanmadığı takdirde mücadeleyi başarısız kılmaktadır. Kimyasal mücadele bal arılarının ölümüne ve ağaçlarda çiçek, tomurcuk dökümüne sebep olmasından ötürü tavsiye edilmemektedir.

Yapılan çalışmalarda önemli yer tutan yöntemlerden biri, biyolojik mücadele yöntemidir. Entomopatojen funguslar da biyolojik mücadelede kullanılan önemli etmenlerin başında gelmektedir. Entomopatojen funguslar, böceklerin vücutlarında hastalık oluşturmak suretiyle ölümlerine sebep olmaktadır. Yapılan literatür

taramalarında ülkemizde daha önce *E. hirta*'ya karşı, entomopatojen fungusların mücadele ajanı olarak kullanılmadığı görülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, zararlının dahil olduğu taksonomik gruba (Coleoptera: Scarabaeidae) karşı entomopatojen fungusların etkileri araştırılmıştır (Ansari et al., 2006; Nong et al., 2011; Erler and Ates, 2015; Khanal, 2016; Kheswa et al., 2016).

Bu çalışma ile yerel entomopatojen fungus izolatlarının yöremizde ekonomik zararlı olan baklazının erginlerine karşı laboratuvar ortamında virülensliği test edilmiştir.

MATERYALVE YÖNTEM

Epicometis hirta'nın Erginlerinin Elde Edilmesi

Yozgat İli Sorgun İlçesi Gedikhasanlı Köyü'ünde bulunan Ziraat Fakültesi araştırma arazisine gidilerek, elma, armut, kiraz ağaçlarının çiçeklenme döneminde, 27 Nisan 2017 tarihinde sürvey yapılmıştır (Şekil 1). Çalışma için yeterli miktarda *E. hirta* erginleri bitkilerden elle toplanarak, numune kaplarına konulmuştur. Beslenmeleri için kapların içine elma çiçekleri konularak kapların üzeri havayı geçiren tül ile kapatılmıştır. Laboratuvara getirilen erginler, deneme desenine göre petrilere aktarılmıştır. (Şekil 2).



Şekil 1. Araştırma alanı genel görünüm



a)

b)

Şekil 2. a) Araziden toplanan ergin böcekler, b) Erginlerin petrilere aktarılması

Entomopatojen Fungusların Elde Edilmesi

Entomopatojen fungus (EPF)'lar Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölüm Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Daha önce yürütülen bir proje kapsamında Adana ve civarındaki araziler Eylül-Ekim-Kasım ve Mart-Nisan-Mayıs aylarında gezilerek topraktan izolasyon yapılmıştır (Atmaca, 2016). Kültüre alınan entomopatojen funguslara kodlar verilmiştir (*B. bassiana* (310), *Fusarium* sp. (213)).

Biyolojik Etkinliklerinin Belirlenmesi

Denemelerde, *B. bassiana* ve *Fusarium* sp. entomopatojen fungusları kullanılmıştır. Mevcut kültürler, içerisinde Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck) ortamı bulunan 90 mm çaplı steril petri kaplarına ekilmiş ve $25\pm 1^\circ\text{C}$ ' de 14 gün boyunca geliştirilmiştir. Spor sayısı, mikroskopta Thoma lamında

sayılıp, 1ml %0.01 Tween-20 solüsyonunda 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 konidi olacak şekilde ayarlanmıştır. Kontrolde ise %0.01 Tween-20 solüsyonu kullanılmıştır. Belirlenen dozlar, içinde kurutma kağıdı bulunan 9 cm'lik cam petri kaplarında bulunan *E. hirta* erginlerine 1 ml dozunda spreyle inokule yöntemiyle uygulanmıştır (Atmaca, 2016). Denemeler 4 tekrerrürlü ve her tekrerrürde 10 ergin birey olacak şekilde gerçekleştirilmiş olup, petrilere $27\pm 2^\circ\text{C}$ 'deki inkübatöre konulmuştur.

İnkübasyon süresince *E. hirta*'nın erginlerinin beslenmesi için her petri kabına, araziden toplanan elma ağacı yaprak ve çiçekleri konulmuştur (Şekil 3). Yürütülen denemede sayımlar 7 ve 14. günde yapılarak kayıt altına alınmıştır. Ölü erginler %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisiyle yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra steril nemli filtre kağıdı içeren petrilere konulmuştur, mikozis gözlenen bireyler kaydedilmiştir (Şekil 4).



Şekil 3. Sprey inokule yöntemi ve içlerinde besin bulunan petri kapları



Şekil 4. Mikozis gelişimi gösteren ölü bireyler

Veri Analizleri

EPF'ların yüzde ölüm oranları Abbott'un (1925) formülü ile kontrole göre düzenlenmiştir. Fungusların *E. hirta* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları arasındaki farkların karşılaştırılmasında, SPSS 20.0 istatistik programı kullanılarak ANOVA uygulanmış ve Duncan testi kullanılmıştır. Letal konsantrasyon (LC_{50}) değerleri probit analizi ile hesaplanmıştır (SPSS, 2003).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Ölen ve mikozis oluşan *E. hirta* erginlerinin oluşturduğu ortalama % ölüm oranları ve Letal konsantrasyon (LC_{50}) değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 1, Çizelge 2 ve Çizelge 3).

Çizelge 1. *Beauveria bassiana* ve *Fusarium sp.*'nin *Epicometis hirta* üzerine 7. günde farklı dozlarda oluşturduğu ortalama % ölüm oranları

Entomopatojen Fungus	İzolat No	Ortalama % ölüm oranları		
		1x10 ⁶	1x10 ⁷	1x10 ⁸
<i>Beauveria bassiana</i>	310	60.000 ab*	85.000 a	80.000 ab
<i>Fusarium sp.</i>	213	40.000 abc	35.000 bc	40.000 abc
Kontrol	-	10.000 c	10.000 c	10.000 c

* Aynı harfi içeren ortalamalar arasında istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05)

Yedinci günde 1x10⁶ konidi ml⁻¹ dozunda, *B. bassiana* ve *Fusarium sp.* izolatlarının ölüm oranları sırasıyla, %60, %40 olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta yer almıştır. 1x10⁷ konidi ml⁻¹ dozunda elde edilen değerler incelendiğinde, *B. bassiana* ve

Fusarium sp. izolatlarının ölüm oranları sırasıyla; %85 ve %35 olarak bulunmuştur. 1x10⁸ konidi ml⁻¹ dozunda, *B. bassiana* izolatının oluşturduğu ölüm oranı (%80) ve *Fusarium sp.* izolatının oluşturduğu ölüm oranı (%40) istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır.

Çizelge 2. *Beauveria bassiana* ve *Fusarium sp.*'nin *Epicometis hirta* üzerine 14. günde farklı dozlarda oluşturduğu ortalama % ölüm oranları

Entomopatojen Fungus	İzolat No	Ortalama % ölüm oranları		
		1x10 ⁶	1x10 ⁷	1x10 ⁸
<i>Beauveria bassiana</i>	310	70.000 a*	90.000 a	90.000 a
<i>Fusarium sp.</i>	213	50.000 ab	70.000 a	75.000 a
Control	-	10.000 b	10.000 b	10.000 b

* Aynı harfi içeren ortalamalar arasında istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05)

İzolatların oluşturdukları ölüm oranları istatistiki açıdan birbirlerinden farklı bulunmamıştır. Sayısal değer olarak en yüksek ölüm oranı *B. bassiana* izolatının 1x10⁷ konidi ml⁻¹ ve 1x10⁸ konidi ml⁻¹ dozlarında hesaplanmıştır (Çizelge 2).

Yapılan bu çalışma önceki yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında; *Polyphylla fullo* (Linnaeus) (Coleoptera: Scarabaeidae)'ya karşı biyolojik kontrol ajanı olarak *B. bassiana*'nın 4x10⁹ konidi ml⁻¹ dozu genç ve yaşlı larvalarda sırasıyla %79.8 ve %71.6'ya kadar ölümler oluşturmuştur.

Çalışmada kullanılan doz (4x10⁹ konidi ml⁻¹) bu çalışmadaki dozlardan fazla olmasına rağmen ölüm oranları benzerlik göstermektedir (Erlar and Ates, 2015).

Kheswa et al., (2016) yaptıkları çalışmada; iki *Beauveria brongniartii* izolatını Scarabaeidae (Coleoptera) familyasındaki bazı türlere, 1x10⁹ konidi ml⁻¹'lik konsantrasyonda denemiş ve larvalar üzerindeki ölüm oranını, %80-90 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmadaki sonuçlarla (%75-90) hemen hemen benzerdir.

Çizelge 3. *Beauveria bassiana* ve *Fusarium* sp. izolatlarının LC₅₀ değerleri

Entomopatojen Fungus	İzolat No	LC ₅₀ (x10 ⁵)	X ²	P
<i>B.bassiana</i>	310	101.940	57.960	0.000 1
<i>Fusarium</i> sp.	213	251.830	63.580	0.000 1

Bu çalışmadaki, LC₅₀ değerleri, *Fusarium* sp. ve *B. bassiana* izolatları için sırasıyla, 251.83x10⁵ ve 101.94x10⁵ konidi ergin⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, ölüm oranları ile paralellik göstermektedir.

Nong et al., (2011) yaptıkları çalışmada; *B. bassiana*'nın *Holotrichia oblita* (Faldermann) ve *Anomala corpulenta* (Motschulsky)'nın (Coleoptera: Scarabaeidae) üzerinde oluşturduğu LC₅₀ değerini 4.49x10⁶ konidi ml⁻¹ olarak belirtmişlerdir. Çalışmada kullanılan izolatın LC₅₀ değeri bu değerden daha yüksek bulunmuştur.

SONUÇ

Bu çalışma ile daha önce hiç çalışma yapılmayan *E. hirta*'nın alternatif mücadelesinde kullanılabilir entomopatojen fungus türlerinin öldürücü etkileri belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda, *Fusarium* sp. (213) ve *B. bassiana* (310) izolatları 1x10⁸ konidi ml⁻¹ dozunda istatistiki olarak birbirine yakın sonuçlar vererek, *E. hirta* için virülens izolatlar olarak tespit edilmiştir. Scarabaeidae familyasındaki bazı türlere karşı yapılan önceki çalışmalarda, *B. bassiana* izolatı en virülens bulunurken, bu çalışmada, *Fusarium* sp. izolatının da *B. bassiana* kadar virülens olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abbott WS, 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Anonim, 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları. Cilt 4, Ankara, TÜRKİYE. 129 s.
- Ansari MA, Shah FA, Tirry L, Moens M, 2006. Field trials against *Hoplia philanthus* (Coleoptera: Scarabaeidae) with a combination of an entomopathogenic nematode and the fungus *Metarhizium anisopliae* CLO 53. *Biological Control*, 39:453-459.

Bu çalışma, entomopatojen fungusların potansiyel olarak *E. hirta* erginlerine karşı kullanılması için bir ön çalışma niteliğindedir. Etkili bulunan *Fusarium* sp. (213) ve *B. bassiana* (310) izolatlarının, elma zararlıları ve diğer zararlılara karşı kullanılabilirliğinin araştırılması gereklidir. Tarla denemeleri için *B. bassiana* (310) izolatının 1x10⁷ konidi ml⁻¹ ve 1x10⁸ konidi ml⁻¹ dozlarının denebileceği kanaatine varılmıştır. Gelecekteki çalışmalarla, entomopatojen fungusların etki süresinin kısaltılması, daha spesifikleştirilmesi, raf ömrünün uzatılabilmesi gibi konularda kaydedilecek ilerlemeler ve diğer mücadele teknikleri ile sinerji oluşturulması, entomopatojen fungusların kullanılabilirliğini artıracaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmamızı 6602b-ZF/16-20 nolu proje ile destekleyen, Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler (BAP) Birimi Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

Bu çalışmanın özeti, yazarlar tarafından 14-16 Eylül 2017 tarihlerinde Tokat'ta yapılan '6th International Participated Entomopathogens and Microbial Control Symposium' da (Poster, s. 79) sunulmuştur.

- Atmaca S, 2016. Adana topraklarından entomopatojen fungusların izolasyonu, morfolojik karakterizasyonu ve *Sitophilus oryzae* erginlerine karşı laboratuvar şartlarında virülensliklerinin belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 77s.
- Erler F, Ates AO, 2015. Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Coleoptera: Scarabaeidae), as biological control agents against the June beetle. *J. Insect Sci*, 15(1): 44; DOI: 10.1093/jisesa/iev029.
- Khanal D, 2016. Activity of strains of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin against white grub (*Chiloloba acuta*,

- Scarabaeidae, Coleoptera) under laboratory condition in Nepal. The Journal of Agriculture and Environment, Vol:17.
- Kheswa N, Laing M, Conlong DE, 2016. Evaluation of two *Beauveria brongniartii* isolates for pathogenicity against different life stages of white grub species (Coleoptera: Scarabaeidae) in south african sugarcane. Proc S Afr Sug Technol Ass, (2016) 89: 98-115.
- Nong X, Liu C, Lu X, Wang Q, Wang G, Zhang Z, 2011. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi against the White grubs, *Holotrichia oblita* and *Anomala corpulenta* (Coleoptera: Scarabaeidae) from the field of peanut, *Arachis hypogaea*. Biocontrol Science and Technology, Vol. 21, No. 5, 2011, 593-603.
- Özbek H, 2008. Türkiye’de ılıman iklim meyve türlerini ziyaret eden böcek türleri. Uludağ Arıcılık Dergisi, 8 (3): 92-103.
- SPSS, 2003. A simple Guide and Reference, 11.0 Update. Pearson Education Inc., Boston.
- Yaşar B, Çeşme İ, Baydar MS, Aysal İ, Yazır AB, 2013. Farklı mavi renkli huni tuzaklarının kiraz ağaçları çiçeklerinde beslenen baklazının [*Epicometis hirta* (Poda) (Coleoptera: Scarabaeidae)]’nın yakalanması üzerine etkisi. Türk. entomol. bült., 3 (2): 99-105.