

Akarlardan İzole Edilmiş Entomopatojen Bir Fungus Türü: *Beauveria bassiana* (Balsamo)

İjlal OCAK¹, Salih DOĞAN^{2,4}, Nusret AYYILDIZ³, İsmet HASENEKOĞLU²

Özet

Entomopatojen bir fungus türü olan *Beauveria bassiana* (Balsamo) bazı parazitik akarların biyolojik kontrolünde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Eustigmaeus segnis* (Koch, 1836) ve *Galumna* sp. akarlarından *B. bassiana* izole edilmiş ve aralarındaki ilişki literatüre dayanarak tartışılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Beauveria bassiana*, entomopatojen, akar, biyolojik kontrol.

ABSTRACT

The entomopatogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) is used as biological control agent for some parasitic mites. In this study, it was isolated from the mites *Eustigmaeus segnis* (Koch, 1836) and *Galumna* sp., and on the basis of the literature, their interactions are discussed.

Key words: *Beauveria bassiana*, entomopatogen, mite, biological control.

GİRİŞ

Funguslar spor üreten, klorofil taşıyamaları nedeniyle besinleri absorbe eden, genellikle hem eşeyli hem de eşeysiz olarak çoğalan, hif olarak bilinen iplikli, dallanmış somatik yapıya sahip ve tipik olarak hücre duvarı bulunduran ökaryotik organizmalardır (Alexopoulos et al. 1996). Funguslar ile ilgili sistematik çalışmalar 250 yıl önce başlamış olmasına karşın, bunların insanların hayatında uzun yıllardan beri yer aldığı bilinmektedir. Funguslar; fermantasyon yapmaları, orman ekosistem-

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Afyon

² Atatürk Üniversitesi, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Erzurum

³ Erciyes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kayseri

⁴ e-mail sadogan@atauni.edu.tr

lerinde ayrıştırıcı olarak rol oynamaları, tıbbi önemi olan bileşiklerin ve pek çok ticari kimyasal maddenin üretilmesinde kullanılmaları nedeniyle ekolojik, ekonomik ve tıbbi bakımdan önemli organizma grubundan birini oluşturmaktadır. Ayrıca, funguslar insanlarda, hayvan ve bitkilerde önemli hastalıklara sebep olurlar (Alexopoulos et al. 1996).

Fungusların çoğu akar ve diğer eklembacaklı hayvanlarla değişik şekillerde simbiyotik ilişkiye sahiptirler. Bazı durumlarda bu ilişki oldukça belirgindir, diğer durumlarda sadece bir fungusun varlığını ortaya çıkarmak için böceklerin mikroskopik incelenmesi, dikkatli diseksiyonu ve fungus bulaşmış organizmaların hayat döngüleri boyunca yapılan gözlemler sayesinde ilişki görülebilir. Bu ilişkiler yoluyla yayılabilen funguslar nekrotrof ve biyotrof parazittir. Diğer etkileşimlerde ise böcek fungusu doğrudan besin olarak veya enzim kaynağı olarak kullanır. Bu funguslardan bazıları kendi çevrelerinde eklembacaklılar tarafından taşınır (Benjamin et al. 2004). Bazı akar salgılarının fungusların gelişmesine yardımcı olduğu bilinmektedir (Genç & Özar 1986). Bazı funguslar da akarlarda parazittir. Entomopatojen funguslar akarların önemli doğal düşmanlarıdır (Davidson et al. 2003; Benoit et al. 2005). Patojen fungusların Astigmata, Oribatida, Prostigmata, Mesostigmata ve Metastigmata türlerini öldürdüğü ifade edilmiştir (Doğan et al. 2003). Esasında fungusların misel ve sporları kolayca tanınabildiği için, akar patojenlerinin en sık rastlanan grupları arasında bulunmaktadır (Poinar & Poinar 1998).

B. bassiana doğada geniş yayılım gösterir ve yaklaşık 70 kadar zararlı böceğe karşı kontrol potansiyeline sahiptir. Bu fungus böceklerle karşı konidial spreyler olarak uygulanmaktadır. *B. bassiana* beyazsinek, ekinbiti ve yaprakbiti gibi çok sayıda zararlı böceklerle karşı arazide ve laboratuarda kontrol ajanı olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında *B. bassiana* hedef olmayan çok sayıda organizmalara da zarar vermemektedir (Sáenz-de-Cabezón Irigaray et al. 2003).

Akarlar, belirli fungus türlerinin önemli vektörü olmaları nedeniyle fungus komuniteleri üzerinde etkilidir (Franzolin et al. 1999). Funguslar ile beslenmelerinden dolayı vücut, fungus sporlarıyla kaplanır. Bu şekildeki taşınım seçicidir ve akar türüne bağlıdır (Hubert et al. 2003). Patojen fungusların da taşınması hem akar hem de fungus popülasyonlarında değişikliklere sebep olabilir.

Bu çalışmada entomopatojen bir fungus türü olan *Beauveria bassiana* (Balsamo) *Eustigmaeus segnis* (Koch) ve *Galumna* sp. akarlarından izole edilmiş ve *B. bassiana* ile bu akarların arasındaki ilişki literatüre dayanarak tartışılmıştır. Böylece, *B. bassiana*'nın entomopatojen özelliği yanında diğer özelliklerinin de ortaya konularak yapılacak diğer çalışmalara yardımcı olmak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Akarların toplanması:

2003 yılının Haziran ayı boyunca Erzurum ili Kiremitlik Tabya Atatürk Ormanı ve Atatürk Üniversitesi yerleşkesinden toplam 13 örnekleme yapılmıştır. Alınan toprak, yosun, çimen, döküntü ve ağaç kabuğu örnekleri naylon torbalar içinde laboratuara getirilerek birleştirilmiş Berlese hunilerinden oluşan düzeneğe yerleştirilmiştir. Berlese hunilerinin alt tarafına yerleştirilen toplama şişelerinde biriken canlı akarlar petri kaplarına boşaltıldıktan sonra stereo mikroskop altında seçilmiştir. Örneklerin alındığı yerlerin listesi aşağıdadır:

1. Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji bölümünün güneyindeki koruluk, çam (*Pinus sylvestris*) altından döküntü ve toprak, Erzurum, 02. 06. 2003.
2. Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji bölümünün güneyindeki koruluk, geven (*Astragalus*) altından döküntü ve toprak, Erzurum, 02. 06. 2003.
3. Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, dekanlık binasının bahçesi, huş (*Betula* sp.) altından çimenli toprak, Erzurum, 02. 06. 2003.
4. Atatürk Üniversitesi, Sosyal tesislerin bahçesi, leylak (*Syringa vulgaris*) altından döküntü ve toprak, Erzurum, 08. 06. 2003.
5. Atatürk Üniversitesi, Rektörlük binasının bahçesi, akasya (*Acacia* sp.) kovuğundan toprak, Erzurum, 08. 06. 2003.
6. Atatürk Üniversitesi, Rektörlük binasının bahçesi, salkım söğüdün (*Salix* sp.) altından ve kovuğundan toprak, Erzurum, 08. 06. 2003.
7. Kiremitlik Tabya Atatürk Ormanı, toprak üzeri yosun, Erzurum, 13. 06. 2003.
8. Kiremitlik Tabya Atatürk Ormanı, taş üzeri yosun, Erzurum, 13. 06. 2003.
9. Kiremitlik Tabya Atatürk Ormanı, çam altından döküntü, Erzurum, 13. 06. 2003.
10. Kiremitlik Tabya Atatürk Ormanı, geven altından döküntü, Erzurum, 13. 06. 2003.
11. Kiremitlik Tabya Atatürk Ormanı, gübre, Erzurum, 23. 06. 2003.
12. Kiremitlik Tabya Atatürk Ormanı, çam ağacının kabuğu (çürümemiş), Erzurum, 23. 06. 2003.
13. Kiremitlik Tabya Atatürk Ormanı, yabani hayvan barınağından toprak, Erzurum, 23. 06. 2003.

***Beauveria bassiana*'nın izolasyonu:**

B. bassiana, besi yerine canlı akarların konulması suretiyle izole edilmiştir. İzolasyonda içinde kloramfenikol bulunan patates dekstroz agar (PDA) kullanılmıştır. Kültürler spor oluşumu ve büyüme için 1–2 hafta 25 °C' de karanlık yetiştirme odasında inkube edilmiştir. Kültürde sporlanmış olanlar tüplere aktarılmış ve yeni izolatlar hazırlamak için 5 °C' de depolanmıştır.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada toplanan *Eustigmaeus segnis* ve *Galumna* sp. akarlarından *Beauveria bassiana* izole edilmiştir.

***Beauveria bassiana* (Balsamo):** PDA'da koloniler 8 günde 8–23 µm olmakta, kadifemsi tozlu, sinnema yapmakta, koloni önce beyaz sonra sarımsı, koloni altı renksiz, eksudat ve koku yok, batık hifler şeffaf, düz çeperli, 1,5–3 µm eninde, havai hifler düz çeperli 1–2 µm eninde, sürünücü ve tırmanıcı, üzerlerinde şişmiş yanal hücre grupları taşımakta, 3–6 x 3–5 µm ölçülerindedir. Bu hücreler daha sonra dallanarak daha küçük ve şişmiş hücreler oluşturmakta, konidiyojen hücreler elips şeklinde veya yarı silindirik, yanal hücreler üzerinde küçük gruplar halinde veya tek olarak gelişmekte veya doğrudan hifler üzerinden gelişmekte, 1,5–6 µm ölçülerinde, konidiyojen hücrelerin küresel veya bazen şişe şeklinde uzamış taban kısımları ise 3–6 x 2,5–3,5 µm ölçülerinde, terminal hücreler salkım şeklinde 1 µm eninde, 20 mm'ye kadar uzunlukta, genikulat, dentiküller salkım kadar geniş 1 µm kadar uzunlukta, konidiler şeffaf, düz çeperli, küresel, bazen apikulat tabanları var, 2–3 x 2–2,5 µm ölçülerindedir.

***Eustigmaeus segnis* (Koch):** *Eustigmaeus*, dünyada 85'ten fazla türle temsil edilen stigmatidlerin en büyük cinslerinden birisidir. *Eustigmaeus* cinsine ait olan akarlar genellikle yosun, liken, çimen ve çeşitli döküntülerde yaşarlar. Bazıları ise dipterlerde parazittir (Chaudhri 1965, Gerson 1972, Flechtmann 1985, Zhang & Gerson 1995). Bu cinsin en yaygın türlerinden birisi olan *E. segnis* toprak, çimen, döküntü, yosun, liken ve ağaç kabuğu ve kovuğu gibi yaşam ortamlarında serbest olarak yaşamaktadır (Doğan 2005).

***Galumna* sp.:** Bir oribatid akardır. Oribatidler, esas olarak orman topraklarında organik tabakaları tercih etmekle birlikte, hemen her çeşit toprakta yaşayan kozmopolit bir gruptur (Wallwork 1983). Bu hayvanlar, toprakta organik maddenin ayrışmasına katkıda bulunur; bundan dolayı çoğunlukla toprağın en üst tabakalarında yaşar. Ayrıca, bazı türlerinin çevresel değişikliklere tepki göstermesinden dolayı biyoindikatör olarak kullanılabilmesi de bildirilmiştir (Subias et al. 1986).

Entomopatojen olan *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* gibi anamorfik funguslar genellikle zararlı populasyonlara toplu halde uygulanan biyolojik kontrol ajanı olarak geliştirilmektedir. Bu fungusların uygulamalar esnasında biyotik çevre içerisinde çoğalacakları ve devamlı kalacakları beklentisi azdır. Dolayısıyla bu funguslarla ilgili yapılan çalışmalar temel ekolojilerinden ziyade biyopestisit olma yönleri ile ilgilidir. Anamorfik entomopatojen funguslar doğal olarak özellikle toprakta geniş yayılım gösterirler; ancak onların beslenme davranışları, populasyon yapıları, dağılımlarını etkileyen faktörler ve virulansı ile ilişkili karakterlerin değişimi hakkında çok az şey bilinmektedir (Chandler 2005).

Beauveria bassiana böceklerde “beyaz muskadin” olarak bilinen bir hastalığa sebep olmaktadır. Bu fungusun sporları böceklerin üst deri tabakası ile temasa geçtiği zaman çimlenirler ve doğrudan üst derisinden konakçılarının vücutlarının içine doğru büyürler. Fungus toksin üreterek ve böceğin gıdalarını kurutarak vücudunda hızla çoğalır. Bundan dolayı, böceklerin bakteriyel ve viral patojenlerinin aksine *Beauveria* ve diğer fungus patojenlerin enfeksiyonu için sadece temas yeterlidir. Konakın kendilerini yemesine gerek yoktur. Fungus; konakçısını öldürdüğü zaman, yumuşak derinin daha yumuşak kısımlarının arasından böceği beyaz bir küf tabakası ile kaplayarak dışarıya doğru büyür. Bu ince tüylü küf çevreye salınan milyonlarca yeni infektif sporlar üretir.

Patojen fungusların toprakta humus oluşumuna katkıda bulunan ikincil hayvansal ayrıştırıcıların büyük kısmını oluşturan ve funguslarla beslenen oribatid ve diğer akarların populasyonu üzerine olumsuz bir etkide bulunması olağandır. *Eustigmaeus segnis* ve *Galumna* sp. üzerinden izole edilen *B. bassiana* bazı parazit akarların biyolojik kontrolünde kullanılmaktadır (Kaaya & Hassan 2000, Shaw et al. 2002). Bu konudaki çalışmalara birkaç örnek verebiliriz: Sáenz-de-Cabezón Irigaray et al. (2003) dünya çapında ekonomik öneme sahip 150 den fazla konak üzerinde kaydedilmiş olan *Tetranychus urticae*'nin (Acari: Tetranychidae) yetişkin ve yumurtaları üzerinde *B. bassiana*'nın mikoinsektisit olarak kullanılabilirliğini tespit etmişlerdir. Shi & Feng (2004)'e göre *Tetranychus cinnabarinus* yumurtaları *B. bassiana* tarafından öldürülebilmektedir. Barreto et al. (2004) tarafından manyok üzerinde parazit olan tetranikid akarlardan *Mononychellus tanajoa* üzerinde test edilen *B. bassiana* izolatlarının etkili olduğu bulunmuştur. Lekimme et al. (2006) tarafından tavşanlarda parazit olan *Psoroptes ovis* (Acari: Psoroptidae) akarına karşı *B. bassiana*'nın laboratuvar koşullarında entomopatojenik aktivitesi araştırılmıştır. Akarlar 1 ml'de 107–109 konidiyum ihtiva eden solüsyona batırıldıktan sonra fungus akarın vücut yüzeyinde sporlanmış ve akarların tamamı miselle kaplanmıştı. Fungus enfeksiyonu nedeniyle yumurtlamada azalma olmamış, fakat hem yu-

murtaların açılma oranı ve hem de yumurtadan çıkan larvaların yaşam süresi önemli ölçüde azalmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre *B. bassiana*'nın *Psoroptes* türlerine karşı yüksek oranda patojenik aktiviteye sahip olduğu ve tavşan, koyun ve sığırlarda parazit olan *Psoroptes* türlerine karşı biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılması hususunun daha fazla önemsenmesi gerektiği vurgulanmıştır (Lekimme et al. 2006). Bal arılarının paraziti olan *Varroa destructor* akarlarından elde edilen *B. bassiana* izolatu, bu akarlarla parazitlenen bal arılarının (*Apis mellifera*) tedavisinde kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Meikle et al. 2006, 2007).

Akar-fungus konusunda çalışmaların çoğu tetranikid ve eriyofidlerle ilgilidir (Chandler et al. 2000, Geest et al. 2000). Diğer akar grupları ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Mevcut literatürler gözden geçirildiğinde, çalışmamızda izole edilen fungusun, bahsedilen akarların önemli bir doğal düşmanı olduğu ve akarların çeşitli vücut kısımlarıyla taşınarak akar populasyonlarında değişikliklere neden olabileceği söylenebilir. Son zamanlarda biyolojik kontrolde toprakta bulunan insan ve memeli hayvanlar için zararsız olduğu bilinen mantarların entomopatojenik özellikleri keşfedilmeye başlanmıştır (Aydın 2005). Yapılan çalışmalar bu fungus türünün zararlı akarların biyolojik mücadelesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- C. Alexopoulos, C. Mims, M. Blackwell, *Introductory Mycology* (Wiley & Sons, New York: 1996)
- L. Aydın, 'Varroa destructor'un kontrolünde yeni stratejiler', *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 5 (2005), pp. 59–62
- R. S. Barreto, E. J. Marques, M. G. C. Jr. Gondim, J. Vargas de Oliveira, 'Selection of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. for the control of the mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar)', *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 61 (2004), pp. 659–664
- R. K. Benjamin, M. Blackwell, I. Chapella, R. A. Humber, K. G. Jones, K. A. Klepzig, R. W. Lichtwardt, D. Malloch, H. Noda, R. A. Roeper, J. W. Spatafora, A. Weir, *The search for diversity of insects and other arthropod associated fungi. In: Biodiversity of Fungi: Standard Methods for Inventory and Monitoring* (Academic Press, New York: Eds. Mueller, G. M., Bills, G. F. & Foster, M.) (2004), pp. 395–433
- J. B. Benoit, J. A. Yoder, J. T. Ark, E. J. Rellinger, 'Fungal fauna of *Ixodes scapularis* Say and *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodida) with special reference to species-associated internal mycoflora', *International Journal of Acarology*, 31 (2005), pp. 417–422
- D. Chandler, 'Understanding the evolution and function of entomopathogenic fungi', *Evolution of fungal virulence*, (2005), pp. 1–9
- D. Chandler, G. Davidson, J. K. Pell, B. V. Ball, K. Shaw, K. D. Sunderland, 'Fungal Biocontrol of Acari', *Biocontrol Science and Technology*, 10 (2000), pp. 357–384
- W. M. Chaudhri, 'New mites of the genus *Ledermuelleria*', *Acarologia*, 7 (1965), pp. 467–486
- G. Davidson, K. Phelps, K. D. Sunderland, J. K. Pell, B. V. Ball, K. E. Shaw, D. Chandler, 'Study of temperature–growth interactions of entomopathogenic fungi with potential for control of

- Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata) using a nonlinear model of poikilotherm development', *Journal of Applied Microbiology*, 94 (2003), pp. 816–825
- S. Doğan, 'Eustigmaeus mites from Turkey (Acari: Stigmaeidae)', *Journal of Natural History*, 39 (2005), pp. 835–861
- S. Doğan, İ. Ocak, İ. Hasenekoğlu, F. Sezek, 'First record of fungi in the families Caligonellidae, Cryptognathidae, Stigmaeidae and Tectocephidae mites (Arachnida: Acari) from Turkey', *Archives des Sciences*, 56 (2003), pp. 137–142
- C. H. W. Flechtmann, 'Eustigmaeus bryonemus sp. n. a moss-feeding mite from Brasil (Acari, Prostigmata: Stigmaeidae)' *Revista Brasileira de Zoologia*, 2 (1985), pp. 387–391
- M. R. Franzolin, W. Gambale, R. G. Cuero, B. Correa, 'Interaction between toxigenic *Aspergillus flavus* Link and mites (*Tyrophagus putrescentiae* Schrank) on maize grains: effect on fungal growth and aflatoxin production', *Journal of Stored Products Research*, 35 (1999), pp. 215–224
- L. P. S. van der Geest, S. L. Elliot, J. A. J. Breeuwer, E. A. M. Beerling, 'Diseases of mites', *Experimental and Applied Acarology*, 24 (2000), pp. 497–560
- H. Genç, A. İ. Özar 'İzmir ilinde ambarlanmış ürünlerde bulunan akarlar üzerine ön çalışmalar', *Türk. Bit. Kor. Derg.*, 3 (1986), pp. 175–183
- U. Gerson, 'Mites of the genus *Ledermuelleria* (Prostigmata, Stigmaeidae) associated with mosses in Canada', *Acarologia*, 13 (1972), pp. 319–343
- J. Hubert, V. Stejskal, A. Kubátová, Z. Munzbergová, M. V. Nová, E. _d'árková, 'Mites as selective fungal carriers in stored grain habitats', *Experimental and Applied Acarology*, 29 (2003), pp. 69–87
- G. P. Kaya, S. Hassan, 'Entomogeneous fungi as promising biopesticides for tick control', *Experimental and Applied Acarology*, 24 (2000), pp. 913–926
- M. Lekimme, B. Mignon, S. Tombeux, C. Focant, F. Maréchal, B. Losson, 'In vitro entomopathogenic activity of *Beauveria bassiana* against *Psoroptes* spp. (Acari: Psoroptidae)', *Veterinary Parasitology*, 139 (2006), pp. 196–202
- W. G. Meikle, G. Mercadier, V. Girod, F. Derouané, W. A. Jones, 'Evaluation of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycota: Hyphomycetes) strains isolated from varroa mites in southern France', *Journal of Apicultural Research*, 45 (2006), pp. 219–220
- W. G. Meikle, G. Mercadier, N. Holst, C. Nansen, V. Girod, 'Duration and spread of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Deuteromycota: Hyphomycetes), used to treat varroa mites (Acari: Varroidae) in honey bee (Hymenoptera: Apidae) hives', *Apiculture and Social Insects*, (2007), pp. 1–10
- G. Jr. Poinar, R. Poinar, 'Parasites and Pathogens of Mites', *Annu. Rev. Entomol.*, 43 (1998), pp. 449–469
- F. J. Sáenz-de-Cabezón Irigaray, V. Marco-Mancebón, I. Pérez-Moreno, 'The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and compatibility with triflumeron: effects on the twospotted spider mite *Tetranychus urticae*', *Biological Control*, 26 (2003), pp. 168–173
- K. E. Shaw, G. Davidson, S. J. Clark, B. V. Ball, J. K. Pell, D. Chandler, K. D. Sunderland, 'Laboratory bioassays to assess the pathogenicity of mitosporic fungi to *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata), an ectoparasitic mite of the honeybee, *Apis mellifera*', *Biological Control*, 24 (2002), pp. 266–276
- W. B. Shi, M. G. Feng, 'Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae)

- with a description of a mite egg bioassay system', *Biological Control*, 30 (2004), pp. 165–173
- L. S. Subias, E. Ruiz, M. E. Minguez, 'Consideraciones generales sobre la sucesión y bioindicación en los oribatidos (acari, oribatida) de un erial de cultivo mediterráneo', *Actas de las VIII Jornadas A e E.*, (1986), pp. 121–131
- J. A. Wallwork, 'Oribatids in forest ecosystems', *Annu. Rev. Entomol.*, 28 (1983), pp. 109–130
- Z.-Q. Zhang, U. Gerson, '*Eustigmaeus johnstoni*, new species (Acari: Stigmaeidae), parasitic on phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae)', *Tijdschrift voor Entomologie*, 13 (1995), pp. 297–301