



Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 33 (2018)

ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)

doi: 10.7161/omuanajas.387380

Metarhizium anisopliae ve *Beauveria bassiana* izolat ve preparatlarının
Curculio nucum'a karşı etkinlikleri

Celal Tuncer^{a*}, Rahman Kushiye^a, Jianfeng Liu^b, İzzet Akça^a

^aOndokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

^bCollege of Life Sciences, Jilin Normal University, Siping, Jilin Province 136000, China

*Sorumlu yazar/corresponding author: celalt@omu.edu.tr

Geliş/Received 31.01.2018

Kabul/Accepted 10.06.2018

ÖZET

Bu çalışmada, *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorok ve *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. izolatları ve ticari preparatlarının (Bio-Magic ve Bio-Power) laboratuvar koşullarında *Curculio nucum* L.'a karşı etkinliği değerlendirilmiştir. Bu izolatlar ve ticari preparatların 1×10⁸ spor mL⁻¹ konsantrasyonları Potter ilaçlama kulesi kullanılarak petri içerisinde bulunan *C. nucum* erginleri üzerine uygulanmıştır. Kontrol petri kaplarına ise % 0.02 Tween 20 içeren steril saf su püskürtülmüştür. Petri kapları 25±1°C ve % 70±5 nemli ortamda 10 gün boyunca inkübe edilmiştir. Ölü bireyler uygulamadan sonra 10 gün boyunca günlük olarak sayılmıştır. Her bir gözlem günü için 4 tekrür ve her petride 5 böcek olmak üzere farklı böcek grupları kullanılmış (n=20 ergin böcek/gün/izolat veya preparat) ve böylece zaman içindeki gözlemlerin ölüm üzerindeki bağımsızlığı temin edilmiştir. Entomopatogenik funguslar için LT50 ve LT90 değerleri Probit analizi ile hesaplanmıştır. Sonuç olarak, *M. anisopliae* TR-106 izolatının LT50 ve LT90 değerleri sırasıyla 5.32 ve 7.85 gün iken, bu değerler Bio-Magic preparatı için sırasıyla 5.46 ve 10.16 gün olarak belirlenmiştir. *B. bassiana* TR-217 izolatı için aynı değerler sırasıyla 4.64 ve 8.53 gün olarak bulunmuştur. Son olarak, Bio-Power preparatının LT50 ve LT90 değerleri sırasıyla 6.16 ve 9.86 gün olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, bu izolatlar ve preparatlar 10 gün sonra *C. nucum* erginlerinde % 100 ölüme neden olmuştur. Bu sonuçlar, *M. anisopliae* ve *B. bassiana*'nın fındık kurduna karşı mücadelede umut verici biyolojik mücadele etmenleri olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler:
Beauveria bassiana
Biyolojik mücadele
Curculio nucum
Metarhizium anisopliae
LT50
LT90

Efficacies of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates and products against *Curculio nucum*

ABSTRACT

In this study, the efficacies of *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorok and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. isolates and commercial products (Bio-Magic and Bio-Power) were tested against *Curculio nucum* L. under laboratory conditions. Conidial suspensions of these isolates and products at concentration of 1×10⁸ conidia mL⁻¹ were applied on the adults of *C. nucum* in petri dishes, using a Potter spray tower. Control insects were sprayed only with sterile-distilled-water containing 0.02 % Tween 20. All treated insects were incubated at 25±1°C and 70±5 % RH photoperiod in an incubator for 10 days. Dead individuals were counted daily following treatment for 10 days. Different groups of insects were used for each observation days, with 4 replications and 5 insects per petri dish (n=20 insect/day/isolate or preparation), and thus independence of observations on the mortality over time was ensured. Lethal time values (LT50 and LT90) for entomopathogenic fungi were calculated using Probit analysis. As a result, LT50 and LT90 values of *M. anisopliae* TR-106 isolate were 5.32 and 7.85 day, respectively while these values for Bio-Magic product were determined as 5.46 and 10.16 days, respectively. LT50 and LT90 for *B. bassiana* TR-217 isolate were found to be 4.64 and 8.53 day, respectively. Finally, LT50 and LT90 values of Bio-Power product were determined as 6.16 and 9.86 day, respectively. In addition, these isolates and products have caused 100 % mortality on *C. nucum* adults within 10 days. The results indicated that *M. anisopliae* and *B. bassiana* could be promising biological agents to control hazelnut weevil.

Keywords:
Beauveria bassiana
Biological control
Curculio nucum
Metarhizium anisopliae
LT50
LT90

© OMU ANAJAS 2018

1. Giriş

Türkiye, fındık üretimi ve ihracatı bakımından Dünya'nın en önde gelen ülkesi olup, Dünya fındık ihtiyacının yaklaşık % 80'ini tek başına sağlamaktadır. Ancak, fındık yetiştiriciliği yapan bir çok ülke ile kıyaslandığında Türkiye'de birim alan başına düşen verim oldukça düşüktür (Tuncer ve ark., 2017). Fındıktaki bu verim düşüklüğü üzerinde etkili olan birçok faktör bulunmakla birlikte, bitki zararlısı böcek ve akar türlerinin etkisi önemli bir yer tutmaktadır. Fındık bahçelerinde zararlı çok sayıda böcek türü tespit edilmesine rağmen, bunların yalnızca 10-15 tanesi yıllara ve bölgelere bağlı olarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Işık ve ark., 1987; Tuncer ve Ecevit, 1997). Yapılan birçok çalışma sonucunda, fındık kurdu (*Curculio nucum* L.; Curculionidae)'nın Türkiye'de fındığın en önemli zararlılarından birisi olduğu tespit edilmiştir (Tuncer ve Ecevit, 1997; Saruhan ve Tuncer, 2001; Akça ve Tuncer, 2005). Ayrıca, bu zararlının fındık yetiştiriciliği yapan birçok ülkede bulunduğu ve fındığın ana zararlısı olduğu saptanmıştır (Pucci, 1992; Ioachim ve Bobarnac, 1997; AliNiasee, 1998; Milenkovic ve Mitrovic, 2001, Cheng ve ark., 2016).

Gelişmesini meyve içinde tamamlayan fındık kurdu larvaları toprak altında kışlamakta, ilkbaharda toprak içinde pupa olmakta ve iklim koşullarına bağlı olarak Nisan ayından itibaren erginler çıkmaktadır. Erginler erken ilkbaharda karanfillerde ve daha sonra gelişmekte olan meyvelerde zarara neden olmaktadır. Erginler Haziran ayından itibaren meyvelerin içine yumurta koymakta ve meyveleri kurtlandırmaktadır. Bir erkek ve bir dişiden oluşan bir çift fındık kurdu erginleri ve bunların meydana getirdiği larvaların beslenmesi nedeniyle bir mevsim boyunca ortalama 188 meyveye zarar verdiği tespit edilmiştir (Akça, 2003). Bu zararlının erginleri yaklaşık 3 ay boyunca bahçelerde görülmekte, diğer biyolojik dönemlerini meyve içinde veya toprakta geçirmesi nedeniyle, mücadelede genel olarak ergin döneme karşı kimyasal mücadele yapılması tercih edilmektedir (Ceyhan ve ark., 2002; Akça ve Tuncer, 2005, Cheng ve ark., 2016). Ancak, kimyasal ilaçların çevreye, hedef dışı organizmalara ve insan sağlığına olan etkileri çok iyi bilinen bir gerçektir. Bu nedenle, çevre dostu alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Dünya'da fındığın ana üretim merkezi olan Karadeniz Bölgesinin iklim koşullarının (yüksek nem ve nispeten düşük sıcaklık) elverişli olması nedeniyle (Erper ve ark., 2016), fındık kurduna karşı entomopatojenik funguslar kullanılarak yapılacak biyolojik mücadelenin uygun bir alternatif olma olasılığı bulunmaktadır.

Yaklaşık 700 türe sahip olan entomopatojenik funguslar birçok zararlı böceğin mücadelesinde kullanılan çok önemli biyolojik etmenlerdir (Roy ve ark., 2006). Dünya çapında *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Lecanicillium spp.*, *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok. ve *Isaria fumosorosea* Wize gibi bazı entomopatojenik fungus türlerinden üretilen pek çok

preparat bulunmakta ve bazı zararlılara karşı başarıyla kullanılmaktadır (Zimmermann, 2007a; b; 2008). Entomopatojenik funguslar konukçu böceğin kütikülasından doğrudan girebilmektedir ve bu nedenle diğer birçok böcek takımının yanı sıra viral ve bakteriyel patojeni bulunmayan Coleoptera takımına giren bazı zararlıların mücadelesinde oldukça uygun etmenlerdir (Sevim ve ark., 2015).

Belirli biyolojik dönemlerini gizli saklı yerlerde (bitki dokusu içi veya toprak gibi) geçiren pek çok zararlı türün mücadelesinde çoğunlukla ergin dönem hedef seçilmekte bazen ise dokuyu terk ettikten sonra larva dönemi hedef alınmaktadır. Farklı Curculionidae türlerinin larva (Ihara ve ark., 2003; Papparatti ve Speranza, 2005; Gindin ve ark., 2006; Cheng ve ark., 2016) ve erginlerine (Prazak, 1991; 1997; Castrillo ve ark., 2011; Ansari ve Butt, 2012; Castrillo ve ark., 2013; Hirsch ve Reineke, 2014; Carrillo ve ark., 2015; Tuncer ve ark., 2016; Kushiyeve ve ark., 2017) karşı entomopatojenik fungusların etkinliğinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Ekonomik anlamda fındık yetiştiriciliği yapılan ülkelerin sınırlı sayıda olması nedeniyle fındığa özel bir zararlı olan fındık kurdu üzerindeki çalışmalar da bu ülkeler ile sınırlı kalmaktadır. Fındık kurdunun larvalarına karşı laboratuvar koşullarında uygulanan *M. anisopliae* ve *B. bassiana*'ya ait birçok izolat yüksek oranda ölüm meydana getirmiş ve bunların içerisinde *M. anisopliae* CoM02 izolatu uygulamadan 13 gün sonra % 100 ölüme neden olmuştur (Cheng ve ark., 2016). Ancak, arazi koşullarında *B. bassiana*'dan üretilen preparatın toprak altında bulunan fındık kurdu larvalarına karşı oldukça düşük etki (% 35) gösterdiği saptanmıştır (Papparatti ve Speranza, 2005). *M. anisopliae*'nin kestane kurdu *Curculio sikkimensis* Heller üzerinde denendiği laboratuvar çalışmalarında larva dönemi üzerinde etkinlik yüksek bulunurken, tarla denemelerinde bu oran muhtemelen düşük toprak sıcaklığı nedeniyle tatmin edici bulunmamıştır (Ihara ve ark., 2003). Buna ek olarak, ürünlerdeki zarar gerçekleşikten sonra gelecek seneye kadar toprakta kışlayacak larvalara karşı mücadele yapılması ancak gelecek yıllardaki ürünün korunmasını hedef alacaktır ve bu uygulama birçok üretici için cazip olmayacaktır. Diğer taraftan erginlerin hareketli olması nedeniyle uygulanan entomopatojenik funguslar ile temas etme olasılığı fazla olmakta ve enfekte olmuş erginler fungus sporlarını diğer bireylere ve diğer biyolojik dönemlerine aktarabilmektedir. Bu nedenle, erginler entomopatojenik fungus kullanılarak yapılacak mücadelede uygun bir biyolojik dönem olarak görülmektedir. Üstelik entomopatojenik fungusların enfekte olmuş ergin bireyler tarafından sağlıklı bireylere (Kreutz ve ark., 2004; Kocacevik ve ark., 2015), çiftleşme ile karşı cinsiyete (Prazak, 1991) ve hatta böceğin sonraki biyolojik dönemlerine de taşınabildiği (Glare ve ark., 2002; Castrillo ve ark., 2013) görülmüştür. Bunun yanı sıra, entomopatojenik fungusların özellikle de *M. anisopliae*'nin birçok zararlıya karşı repellent (kaçırıcı) etkisinin olduğu tespit

edilmiştir (Villani ve ark., 1994; Milner ve Staples, 1996; Scholte ve ark., 2005; Castrillo ve ark., 2013). Entomopatojenik fungusların öldürücü etkilerine ilave bu özellikleri onları tarımsal zararlıların mücadelesinde iyi bir alternatif konumuna getirmektedir. Bu durum, özellikle fındık kurdu gibi hayatının büyük kısmını gizli saklı yerlerde geçiren zararlı türlerin kontrolünde avantaj sağlayabilecek bir husustur (Gindin ve ark., 2006).

Bu nedenle, entomopatojenik funguslar yumurta koymadan önce yaklaşık 3 ay kadar fındık bahçelerinde ergin dönemde faaliyette bulunan fındık kurduna karşı mücadelede kullanılabilirler oldukça uygun etmenler olarak görülmekte, ancak farklı tür ve izolatların etkinliklerinin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, fındığın ana zararlısı olan fındık kurdunun ergin bireylerine karşı yerli izolatlar (*M. anisopliae* TR-106 ve *B. bassiana* TR-217) ile ticari preparatların (Bio-Magic ve Bio-Power) laboratuvar koşullarındaki etkinliği değerlendirilmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Fındık kurdu erginlerinin toplanması

Denemede kullanılan fındık kurdu erginleri, 2016 yılının Mayıs ayında Samsun'un Kayagüney köyünde bulunan farklı fındık bahçelerinden toplanmıştır. Fındık kurdu erginlerinin daha hareketsiz olduğu sabahın erken saatlerinde fındık ocaklarının altına 3×4 m ölçülerinde beyaz örtü serilmiş ve fındık ocakları silkelenerek düşen erginler toplanmıştır. Toplanan fındık kurdu erginleri deneme kuruluncaya kadar tül kafesler içinde fındık meyvesi ve yaprağı bulunan dallara asılarak bekletilmiştir. Denemeye başlamadan diğer bireylerden daha küçük veya hareketlerinde pasiflik gözlemlenen bireyler ayrılmış ve denemelerde sağlıklı ve normal büyüklükteki bireyler kullanılmıştır.

2.2. Entomopatojenik fungusların hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan *M. anisopliae* TR-106 ve *B. bassiana* TR-217 izolatları fındık bahçelerinden toplanan *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)'un ergin bireylerinden izole edilmiştir (Kushiyeve, 2015). Bu izolatlar patates dekstroz agar (PDA; Merck Ltd., Darmstadt, Almanya) besi yerine ekilerek 25±1°C sıcaklık ve karanlık ortamda 15 gün boyunca gelişmeye bırakılmıştır. Gelişme periyodunun sonunda, her bir petri üzerine % 0.02 Tween 20 içeren 10 mL steril saf su eklenmiş ve cam baget yardımıyla kazanarak sporların su içerisine geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra spor süspansiyonları iki katlı tülbent ile süzülerek misel yapıları uzaklaştırılmış ve 3 dk. vorteksenerek homojen hale getirilmiştir. Elde edilen spor süspansiyonları Neubauer hemositometresi kullanılarak 1×10⁸ spor mL⁻¹ konsantrasyona ayarlanmıştır (Saruhan ve ark., 2015; Erper ve ark., 2016). Aynı şekilde, *M. anisopliae*'dan

üretilen Bio-Magic ve *B. bassiana*'dan üretilen Bio-Power preparatları da (T. Stanes & Company Ltd., India) su ile seyreltilerek (2.5 mL L⁻¹) 1×10⁸ spor mL⁻¹ konsantrasyonda kullanılmıştır. Bu entomopatojenik fungus izolat ve ticari preparatların canlılığını test etmek amacıyla 1×10⁴ spor mL⁻¹ konsantrasyonundan alınan 0.1 mL süspansiyon içerisinde PDA besi yeri bulunan 6 cm'lik perilere yayılmış ve 25±1 °C ortamlarda inkübe edilmiştir. Inkübasyondan 24 saat sonra her petriden 200 spor incelenerek canlılık oranı belirlenmiştir (Erper ve ark., 2016). Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan entomopatojenik fungusların yaklaşık % 95'in üzerinde çimlendiği tespit edilmiştir.

2.3. Entomopatojen fungusların fındık kurdu erginlerine uygulanması

Denemede kullanılan 9 cm'lik plastik petri kaplarının (Isolab, Almanya) içerisine iki kat steril kurutma kâğıtları yerleştirilmiş ve 1 mL steril saf su ile nemlendirilmiştir. İzolatlar ve preparatlardan hazırlanmış 1×10⁸ spor mL⁻¹ konsantrasyondan 2 mL alınarak petri kaplarının içerisinde bulunan 5'er adet fındık kurdu ergini üzerine Potter ilaçlama kulesi (Burkard, Rickmansworth, Hertz UK) yardımıyla püskürtülmüştür. Kontrol grubu petrilere ise, aynı yöntem ile 2 mL % 0.02 Tween 20 içeren steril saf su uygulanmıştır. Her uygulamadan sonra ilaçlama kulesi % 70'lik etil alkol ve steril saf su ile dezenfekte edilmiştir. Tüm petri kaplarına fındık kurdu erginlerinin beslenebilmesi için 5'er adet fındık karanfili bırakılmış ve etrafı parafilm ile kapatılarak 25±1°C sıcaklık, % 70 nem ve 16: 8 saat aydınlık: karanlık ortamda 10 gün inkübe edilmiştir. Ölüm oranları birbirini takip eden 10 gün süreyle tespit edilmiş, her güne ait gözlemlerin birbirinden bağımsızlığını sağlamak için (Robertson ve ark., 2007) deneme her gün için aynı sayıda ve farklı bireyler kullanılarak (n=20 böcek/gün/izolat veya preparat) tekrar edilmiş, her sayım gününde ilgili güne ait böcekler üzerinden ölüm oranları belirlendikten sonra o güne ait böcekler denemeden uzaklaştırılmıştır. Aynı işlem her gün için kontrol grupları için de tekrar edilmiştir. Ölü olarak belirlenen fındık kurdu erginleri % 1'lik sodyum hipoklorit ve % 70'lik etil alkolden geçirilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Daha sonra steril saf sudan geçirilmiş ve nemli kurutma kâğıdı bulunan petrilere alınarak 25±1°C sıcaklık ve % 70 nemli ortamda 1-2 hafta süreyle bekletilmiştir. Bu şekilde, fındık kurdunun ölü erginleri mikroskop altında incelenmiş ve ölüm nedeninin fungus olup olmadığı tespit edilmiştir.

2.4. İstatistik analiz

Dozlardaki her güne ait ölüm oranları kontroldeki ölüm oranı % 10'u geçtiğinde Abbott formülüne göre düzeltilmiştir (Abbott, 1925). LT50 ve LT90 değerleri Probit analizi ile Log-probit metodu kullanılarak belirlenmiştir (POLO-PLUS ver.2.0). Regrasyon

hatlarının eğimleri birbirleri ile standart hataları kullanılarak, izolat ve preparatlara ait LT50 ve LT90 değerleri ise güven aralıkları (% 95) kullanılarak karşılaştırılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

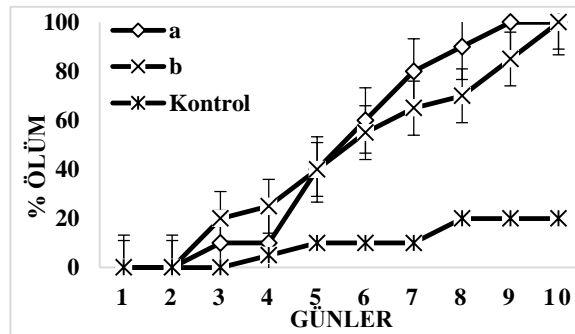
Bu çalışmada, entomopatojenik fungus izolatları (*M. anisopliae* TR-106 ve *B. bassiana* TR-217) ve ticari preparatların (Bio-Magic ve Bio-Power) fındık kurdu erginlerine karşı etkinliği denenmiş ve bu fungus türlerinin zararlıya karşı etkili olduğunu gösteren sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 1). *M. anisopliae* TR-106 izolatının LT50 değeri 5.32 gün ve LT90 değeri ise 7.85 gün olarak tespit edilmiştir. *B. bassiana* TR-217 izolatının LT50 ve LT90 değerleri ise sırasıyla 4.64 ve 8.53 gün olarak bulunmuştur. Diğer taraftan, entomopatojenik fungus *M. anisopliae*'dan üretilen Bio-Magic preparatının LT50 değeri 5.46 gün ve LT90 değeri 10.16 gün iken, *B. bassiana*'dan üretilen Bio-Power preparatı için aynı değerler sırasıyla 6.16 ve 9.86 gün olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre; LT50 değeri esas alındığında *M. anisopliae*'nın izolat ve preparatı arasında bir farklılık gözlenmez iken, *B. bassiana*'nın

izolatı preparatına göre daha kısa süre içinde etki göstermiştir. Yine *M. anisopliae* ve *B. bassiana* izolatları arasındaki fark da önemsiz bulunmuştur. LT90 değeri esas alındığında ise bütün izolat ve preparatlar birbirinden farksız bulunmuştur (Çizelge 1). Entomopatojenik fungus uygulamalarının fındık kurduna karşı etkisinin günlük dağılımına bakıldığında tüm uygulamalarda 3. günden başlayarak artan bir ölüm meydana geldiği görülmektedir (Şekil 1 ve 2). *M. anisopliae* TR-106 ve *B. bassiana* TR-217 izolatlarının uygulanması sonucu fındık kurdu erginlerinde 6. gün sonunda % 60 ve 9. gün sonunda ise % 100 ölüm belirlenmiştir. Bio-Magic ve Bio-Power preparatları 6. gün sonunda sırasıyla % 55±12 ve % 45±5 ve 10. gün sonunda ise % 100 ölüme neden olmuştur. Ayrıca, *M. anisopliae* uygulaması sonucunda ölen fındık kurdu erginleri üzerinde önceleri beyaz ve sonradan mavimsiye dönüşen fungus yapıları görülürken, *B. bassiana* uygulaması nedeniyle ölen bireylerde ise beyaz fungus yapıları meydana gelmiştir (Şekil 3). Kontrol grubunda ise 7. gün sonunda % 10 ve 10. gün sonunda ise % 20 ölüm meydana gelmiş olup, üzerlerinde fungustan dolayı ölmüş olduklarına dair herhangi bir belirti tespit edilmemiştir.

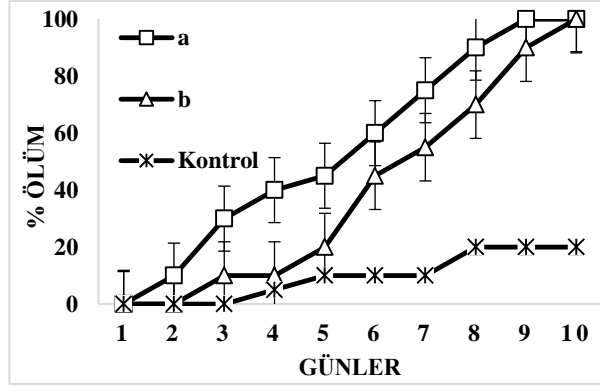
Çizelge 1. *Curculio nucum*'un erginlerine karşı uygulanan entomopatojenik fungus izolatlar ve preparatların LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri.

	<i>Metarhizium anisopliae</i>		<i>Beauveria bassiana</i>	
	TR-106 izolatı	Bio-Magic preparatı	TR-217 izolatı	Bio-Power preparatı
LT ₅₀ (% 95 güven aralığı)	5.32(4.88-5.75)ab*	5.46(4.88-6.01)ab	4.64(3.96-5.30)b	6.16(5.64-6.72)a
LT ₉₀ (% 95 güven aralığı)	7.85(7.13-9.02)a	10.16(8.73-12.90)a	8.53(7.21-11.25)a	9.86(8.74-11.90)a
Eğim±S.h	7.57±0.963a	4.75±0.65b	4.85±0.61ab	6.28±0.84a
χ ²	16.5	33.55	56.8	23.1
Sd	38	38	38	38
Heterojenite	0.44	0.88	1.49	0.6

*Aynı satır içindeki aynı küçük harfler fungus izolatlar



Şekil 1. Entomopatojenik fungus *Metarhizium anisopliae* TR-106 izolatı (a) ve Bio-Magic preparatı (b) uygulanan *Curculio nucum* erginlerinin zamana bağlı ölüm oranları.



Şekil 2. Entomopatojenik fungus *Beauveria bassiana* TR-217 izolatı (a) ve Bio-Power preparatı (b) uygulanan *Curculio nucum* erginlerinin zamana bağlı ölüm oranları



Şekil 3. *Metarhizium anisopliae* TR-106 izolatı (a) ve *Beauveria bassiana* TR-217 izolatı (b)'nin enfeksiyonundan ölen *Curculio nucum* erginlerinde oluşan sporulasyon.

Entomopatojenik funguslar *M. anisopliae* ve *B. bassiana*'nın diğer pek çok coleopter türünün farklı biyolojik dönemleri üzerinde olduğu gibi, Curculionidae familyasına bağlı birçok tarımsal zararlının ergin bireylerine karşı da etkili olduğu saptanmıştır (Prazak, 1991; 1997; Gindin ve ark., 2006; Castrillo ve ark., 2011; Ansari ve Butt, 2012; Hirsch ve Reineke, 2014; Carrillo ve ark., 2015; Tuncer ve ark., 2016; Kushiyeve ve ark., 2017; Liu ve ark., 2017). Laboratuvar koşullarında *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier'ün ergin bireylerine karşı 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonda uygulanan *M. anisopliae* Ru izolatı 2 hafta içerisinde % 85 ölüme neden olmuştur (Gindin ve ark. 2006). Başka bir çalışmada, ormanların önemli zararlılarından biri olan *Hylobius abietis* L.'nin ergin bireylerine karşı uygulanan *M. anisopliae* ve *B. bassiana* izolatlarının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonda oldukça etkili olduğu ve özellikle de *M. anisopliae* ARSEF4556 izolatının 12. günde % 100 ölüm meydana getirdiği tespit edilmiştir (Ansari ve Butt, 2012). Diğer taraftan, *M. anisopliae* ve *B. bassiana*'dan üretilen bazı preparatlar *Otiorhynchus* türlerinin erginlerine karşı denendiğinde farklı türlerin bu funguslara karşı

duyarlılığının oldukça değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. (Hirsch ve Reineke, 2014). Ekonomik anlamda fındık yetiştiriciliği sınırlı sayıda ülkede yapılmaktadır. Bu nedenle, sadece fındığa özel olan fındık kurduna karşı yapılan çalışmalar da bu ülkelerle sınırlı kalmaktadır. Özellikle de, entomopatojenik fungusların fındık kurdunun larva ve erginlerine karşı etkinliği üzerinde oldukça az sayıda çalışma bulunmaktadır (Paparatti ve Speranza, 2005; Cheng ve ark., 2016; Liu ve ark., 2017). Çin'de yapılan bir çalışmada fındık kurdu erginlerine uygulanan *B. bassiana* (subsp. *palomenae*) 12108 izolatının LT_{50} ve LT_{90} değerleri 2.56 ve 4.42 gün olurken, bu değerler *M. anisopliae* 3.4607 izolatında 8.80 ve 12.80 gün, diğer bir *M. anisopliae* (var. *acridium*) izolatında ise 11.40 ve 17.70 gün olarak bulunmuştur (Liu ve ark., 2017). Bu son çalışmada, bizim çalışmamız ile kıyaslandığında, *B. bassiana*'nın LT_{50} değeri oldukça düşük olarak bulunurken, aynı değer *M. anisopliae*'da tam aksine beklenenden daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlara (Liu ve ark., 2017) göre *B. bassiana* izolatı fındık kurdu erginleri üzerinde çok kısa sayılabilecek bir zaman aralığında oldukça yüksek etki göstermiş, bunun aksine

ise *M. anisopliae*'nin 2 izolatu da beklenenden zayıf etki göstermiştir. Bizim çalışmamız ve bu son çalışmanın sonuçları arasındaki farklılıklar muhtemelen izolatların farklılığından kaynaklanabileceği gibi üzerinde çalışılmış olan *C. nucum* popülasyonunun farklılığı da bu sonuç üzerinde etkili olmuş olabilir. Aynı türden olsalar bile entomopatojenik fungusların etkinlikleri üzerinde hem kendi izolat farklılığının hem de konukçu farklılığının etkili olabileceği iyi bilen bir husustur (Goettel ve ark., 2010). Diğer yandan her iki çalışmada da iki entomopatojen fungus türünün fındık kurdunun erginlerine karşı laboratuvar koşulları altında etkili olduğu ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada kullanılan *M. anisopliae* TR-106 ve *B. bassiana* TR-217 izolatlarının 1×10^8 spor mL⁻¹ konsantrasyonda uygulanması sonucu fındık bahçelerinde zararlı olan *X. germanus*'da LT₅₀ değeri sırasıyla 4.43 ve 6.03 gün olurken, fındıkta zararlı diğer bir yazıcı böcek türü olan *Anisandrus dispar* Fabricius'da ise bu değer sırasıyla 3.67 ve 4.47 gün olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak, uygulamadan 8 gün sonra *M. anisopliae* TR-106 izolatu her iki türde % 100 ve *B. bassiana* TR-217 izolatu ise % 80-100 arasında ölüm meydana getirmiştir (Tuncer ve ark., 2016; Kushiyeve ve ark., 2017). Fındıkta zarar yapan söz konusu yazıcı böceklerin erginleri Mart ve Eylül ayları arasında çıkışı yapmaktadır. Bu sonuçlar, *M. anisopliae* TR-106 ve *B. bassiana* TR-217 izolatlarının hem fındık kurduna hem de bahçelerde fındık kurdu ile aynı dönemde bulunan önemli bir zararlı grubu olan yazıcı böceklerle oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, entomopatojen fungusların Nisan-Haziran aylarındaki uygulamaları bu zararlıların tamamı üzerinde etkili olabilecektir.

Entomopatojenik fungusların Curculionidae familyasına bağlı bazı zararlıların ergin dönemlerine uygulanması sonucu sadece ölüme neden olmadığı, aynı zamanda böceğin bıraktığı yumurta sayısını (Prazak 1991; 1997; Gindin ve ark., 2006) ve yumurtalardan çıkan larvalarını da etkileyerek popülasyonu önemli derece de düşürebildiği görülmüştür (Glare ve ark., 2002; Castrillo ve ark., 2011; 2013). Bu çalışmada sublethal dozların erginlerin yumurta sayısına etkisi ve erginler yoluyla enfeksiyonun larvalara taşınıp taşınmadığı üzerinde durulmamıştır. Ancak bu durum entomopatojen fungusların fındık kurduna karşı doğal koşullarda başarı şansını artıracak diğer olası etkilerini ortaya koyması bakımından önemlidir.

Entomopatojenik funguslar genellikle farklı çevre koşullarında hayatta kalabilmekte, ancak gelişebilmesi için yüksek nem, bol yağmur ve ortalama 25°C sıcaklığa ihtiyaç duymaktadır (Goettel ve ark., 2005). Özellikle de, yüksek nem bu fungusların çimlenme ve spor üretmesinde çok önemli rol oynamaktadır. Fındığın yoğun olarak üretildiği Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklim özellikleri entomopatojenik fungusların fındık zararlılarına karşı kullanımı açısından oldukça elverişlidir (Erper ve ark., 2016). Diğer yandan

fındık yetiştiriciliği yapılan bölgelerden alınan toprak örneklerinden *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium* sp., *B. bassiana*, *Beauveria* cf. *bassiana* türlerini de içeren birçok entomopatojenik fungus izole edilmiştir (Sevim ve ark., 2010). Bu durum, söz konusu entomopatojen fungus türlerinin fındık bahçelerinde doğal olarak da bulunduğunu göstermektedir ve mücadele açısından kullanımındaki başarı şansını artırmaktadır.

Fındık kurdu erginleri Mayıs ayından itibaren olgunlaşmamış meyveler üzerinde beslenmeye başlamakta ve Haziran ayında da devam etmektedir. Mayıs ayının sonlarında çiftleşme gerçekleşmekte ve Haziran başlarında yumurta bırakmaya başlamaktadır (Akça ve Tuncer, 2005). Bu nedenle, çiftçilerin çoğu bu zararlıya karşı Mayıs ayından başlayarak Haziran başlarına kadar en az bir kere ilaçlama yapmaktadır (Tuncer ve Ecevit, 1997). Fındık kurduna karşı ilaçlamanın yapıldığı bu dönemde Karadeniz Bölgesinin oldukça yağmurlu geçmesi nedeniyle uygulanan ilaçların yıkanarak etkinliğinin azalma ihtimali bulunmaktadır. Aynı risk entomopatojen fungus preparatları için de geçerli olmakla beraber, yağmurun entomopatojenik fungusların sporlarının etrafa yayılmasında rol oynaması önemli bir avantaj sağlayabilmektedir (Goettel ve ark., 2005). Ayrıca, Türkiye'deki fındık bahçelerinde 70'i predatör ve 56'sı parazitoit olmak üzere 129 yararlı tür tespit edilmiştir (Ecevit ve ark., 1996). Yoğun olarak kullanılan kimyasal ilaçların yararlı türler üzerindeki olumsuz etkileri kaçınılmaz bir gerçektir. Her ne kadar entomopatojenik fungusların bazı faydalı böceklerle olumsuz etkisi tespit edilmiş olsa bile (Zimmermann, 2007a; b) genel olarak birçok yararlı organizma ve çevreye karşı oldukça güvenli olduğu bilinmektedir (Goettel ve ark., 2010).

4. Sonuçlar

Fındık kurdunun biyolojisi gereği mücadelenin en pratik olduğu dönemin ergin dönemidir. Karadeniz Bölgesi'nin mücadele dönemi olan Mayıs ve erken Haziran döneminde oldukça yağışlı olması nedeniyle bu iklim koşulları altında gelişme ve yayılma potansiyeli yüksek olan entomopatojenik fungusların kullanımının uygun olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada kullanılan entomopatojenik fungus izolat ve preparatları fındık kurdu üzerinde laboratuvar koşulları altında makul sayılabilecek bir süre içinde yüksek etkili olarak bulunmuştur. Ancak entomopatojenlerle ilgili pek çok çalışmada laboratuvar ve arazi etkinlikleri arasında fark görülmektedir (Goettel ve ark., 2010). Dolayısı ile uygulama önerisinden önce etkinliğin arazi denemeleri ile desteklenmesi doğru olacaktır. Diğer yandan, bu fungusların fındık kurdunun üremesi, beslenmesi ve davranışları üzerine yapabileceği muhtemel etkilerin üzerinde de durulması, entomopatojenik fungusların fındık

kurduna karşı kullanılma potansiyelini daha iyi ortaya koyacaktır.

Teşekkür

Rahman Kushiyev'e 2215 Lisansüstü Burs programı ile burs sağladığı için Türkiye Bilim ve Teknoloji Kurumu'na (TÜBİTAK) teşekkür ederiz. Bu çalışma kısmen "Introduction of new biological control technology of *Curculio nucum* in hazelnut (State Forestry Bureau of China, International Advanced Agriculture Science and Technology Plan, Project No:948) isimli proje tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economical Entomology*, 18: 265-267.
- Akça, İ., 2003. Orta Karadeniz Bölgesinde fındık kurdu *Curculio nucum* L. (Coleoptera; Curculionidae) populasyonlarının biyolojisi ve zararı üzerine araştırmalar. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Akça, İ., Tuncer, C., 2005. Biological control and morphological studies on nut weevil (*Curculio nucum* L. Col., Curculionidae). *Acta Horticulturae*, 686: 413-420.
- AliNiaze, M.T., 1998. Ecology and management of hazelnut pests. *Annual Review of Entomology*, 43: 395-419.
- Ansari, M.A., Butt, T.M., 2012. Susceptibility of different developmental stages of large pine weevil *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae) to entomopathogenic fungi and effect of fungal infection to adult weevils by formulation and application methods. *Journal of Invertebrate Pathology*, 111 (1): 33-40.
- Carrillo, D., Dunlap, C.A., Avery, P.B., Navarrete, J., Duncan, R.E., Jackson, M.A., Behle, R.W., Cave, R.D., Crane, J., Rooney, A.P., Peña, J.E., 2015. Entomopathogenic fungi as biological control agents for the vector of the laurel wilt disease, the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control*, 81: 44-50.
- Castrillo, L.A., Griggs, M.H., Ranger, C.M., Reding, M.E., Vandenberg, J.D., 2011. Virulence of commercial strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood. *Biological Control*, 58: 121-126.
- Castrillo, L.A., Griggs, M.H., Vandenberg, J.D., 2013. Granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae), survival and brood production following exposure to entomopathogenic and mycoparasitic fungi. *Biological Control*, 67: 220-226.
- Ceyhan, V., Bozoğlu, M., Cinemre, H.A., 2002. Bafra ve Çarşamba ovalarında kimyasal girdi kullanım düzeyi ve çevreye etkileri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17 (2): 17-23.
- Cheng, Y., Liu T., Zhao, Y., Geng, W., Chen, L., Liu, J., 2016. Evaluation of pathogenicity of the fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Hazelnut weevil (*Curculio nucum* L., Coleoptera, Curculionidae) larvae. *Indian Journal of Microbiology*, 56(4): 405-410.
- Ecevit, O., Tuncer, C., Özman S., Mennan, S., Akça, İ., 1996. Karadeniz Bölgesi fındık bahçelerindeki doğal düşmanlar ve biyolojik savaşımında kullanılma olanakları. Fındık ve diğer sert kabuklu meyveler sempozyumu, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 295-296 s, Samsun.
- Erper, I., Saruhan, I., Akca, I., Aksoy, H.M., Tuncer, C., 2016. Evaluation of some entomopathogenic fungi for controlling the Green Shield Bug, *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26(3): 573-578.
- Gindin, G., Levinski, S., Glazer, I., Soroker, V., 2006. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil. *Phytoparasitica*, 34(4): 370-379.
- Glare, T.R., Placet, C., Nelson, T.L., Reay, S.D., 2002. Potential of *Beauveria* and *Metarhizium* as control agents of pinhole borers (*Platypus spp.*). *New Zealand Plant Protection*, 55: 73-79.
- Goettel, M.S., Eilenberg, J., Glare, T., 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K., Gill, S.S. (eds). *Comprehensive Molecular Insect Science*, pp. 361-405.
- Goettel, M.S., Eilenberg, J., Glare, T.R., 2010. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In: Gilbert, L.I., Gill, D.S. (Eds.). *Insect control: biological and synthetic agents*. Academic Press, San Diego, pp. 387-431.
- Hirsch, J., Reineke, A., 2014. Efficiency of commercial entomopathogenic fungal species against different members of the genus *Otiorhynchus* (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory and semi-field conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 121 (5): 211-218.
- Ihara, F., Toyama, M., Sato, T., 2003. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* to the chestnut weevil larvae under laboratory and field conditions. *Applied Entomology and Zoology*, 38 (4): 461-465.
- Ioachim, E., Bobarnac, B., 1997. Research on the hazelnut pests in Romania. *Acta Horticulturae*, 445: 527-537.
- Işık, M., Ecevit, O., Kurt, M.A., Yüce, T., 1987. Doğu Karadeniz Bölgesi fındık bahçelerinde entegre savaş olanakları üzerinde araştırmalar. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları*, No: 20,95s, Samsun.
- Kocacevik, S., Sevim, A., Eroglu, M., Demirbag, Z., Demir, I., 2015. Molecular characterization,

- virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* from *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Applied Entomology*, 139: 381-389.
- Kreutz, J., Vaupel, O., Zimmermann, G., 2004. Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* among the Spruce bark beetle, *Ips typographus* (Col., Scolytidae) in the laboratory and under field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 14: 837-848.
- Kushiyev, R., 2015. Fındıkta önemli yazıcı böcek türlerindeki fungusların belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 63 s, Samsun.
- Kushiyev, R., Tuncer, C., Erper, I., Saruhan, I., 2017. Effectiveness of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Anisandrus dispar* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). IX. International congress on Hazelnut, 152 p, 15-19 August, Atakum-Samsun/ Turkey.
- Liu, J., Zhang, Y., Liu, T., Tuncer, C., Cheng, Y., 2017. Screening of a highly pathogenic strain against Hazelnut weevil and microscopic observation on its infection process. *Journal of Beijing Forestry University*, 39(3): 32-37.
- Milenkovic, S., Mitrovic, M., 2001. Hazelnut pests in Serbia. *Acta Horticulturae*, 556: 403-409.
- Milner, R.J., Staples, J.A., 1996. Biological control of termites: results and experiences within a CSIRO project in Australia. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 3-9.
- Paparatti, B., Speranza, S., 2005. Biological control of Hazelnut weevil (*Curculio nucum* L., Coleoptera, Curculionidae) using the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Deuteromycotina, Hyphomycetes). *Acta Horticulturae*, 686: 407-412.
- Prazak, R.A., 1991. Studies on indirect infection of *Trypodendron lineatum* Oliv. with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 111: 431-441.
- Prazak, R.A., 1997. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Trypodendron lineatum* Oliv. (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 104: 459-465.
- Pucci, C., 1992. Studies on population dynamics of *Balaninus nucum* L. (Col.: Curculionidae) noxious to the hazel (*Corylus avellana* L.) in Northern Latium (Central Italy). *Journal of Applied Entomology*, 114 (1): 5-16.
- Robertson, J.L., Russell, R.M., Preisler, H.K., Savin, E., 2007. Bioassays with arthropods. Second edition. CRC Press, 199p.
- Roy, H.E., Steinkraus, D.C., Eilenberg J., Hajek A.E., Pell, J.K., 2006. Bizarre interactions and endgames: Entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annual Review of Entomology*, 51: 331-57.
- Saruhan, I., Erper, I., Tuncer, C., Akca, I., 2015. Efficiency of some entomopathogenic fungi as biocontrol agents against *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae). *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 52(2): 273-278.
- Saruhan, İ., Tuncer, C., 2001. Population densities and seasonal fluctuations of hazelnut pests in Samsun, Turkey. *Acta Horticulturae*, 556: 495-502.
- Scholte, E.J., Knols, B.J., Takken, W., 2005. A study on avoidance and repellence of the African malaria vector *Anopheles gambiae* upon exposure to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Pest Control*, 16: 131-138.
- Sevim, A., Demir, I., Höfte, M., Humber, R.A., Demirbag, Z., (2010). Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey. *Biocontrol*, 59: 279-297.
- Sevim, A., Sevim, E., Demirbağ, Z., 2015. Entomopatojenik fungusların genel biyolojileri ve türkiye’de zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılma potansiyelleri. *Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 8(1): 115-147.
- Tuncer, C., Ecevit, O., 1997. Current status of hazelnut pests in Turkey. *Acta Horticulturae*, 445: 545-550.
- Tuncer, C., Knížek, M., Hulcr, J., (2017). Scolytinae in hazelnut orchards of Turkey: clarification of species and identification key (Coleoptera, Curculionidae). *ZooKeys*, 710: 65-76.
- Tuncer, T., Kushiyev, R., Saruhan, I., Erper, I., 2016. Entomopatojenik funguslar *Metarhizium anisopliae* ve *Beauveria bassiana*’nın *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)’a karşı etkinliğinin belirlenmesi. *Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi*, 126 s, 5-8 Eylül, Konya.
- Villani, M.G., Krueger, S.R., Schroeder, P.C., Consolie, F., Consolie, N.H., Prestonwilsey, L.M., Roberts, D.W., 1994. Soil application effects of *Metarhizium anisopliae* on Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) behavior and survival in turf grass microcosms. *Environmental Entomology*, 23: 502-513.
- Zimmermann, G., 2007a. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17: 553-596.
- Zimmermann, G., 2007b. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17: 879-920.
- Zimmermann, G., 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology*, 18: 865-901.