

IN VITRO COMPATIBILITY OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI BEAVERIA BASSIANA (BALS.) VUILL. AND METARHIZIUM BRUNEUMU WITH DIFFERENT FUNGICIDES

Prof. Dr. Yusuf YANAR

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü

yusuf.yanar@gop.edu.tr

ORCID NO: 0000-0002-5795-6340

Arş.Gör. Mevlüde Beyza BAYHAN

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü

mevludebeyza.bayhan@gop.edu.tr

ORCID NO: 0009-0005-9267-6298

ABSTRACT

Chemical pesticides are widely used in agriculture to control disease and pest populations. However, these chemicals cause significant problems such as environmental pollution, damage to non-target organisms and the development of insect resistance. Therefore, biological control methods are gaining more and more importance. Entomopathogenic fungi, especially *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*, stand out as effective agents in biological control of insect pests. These fungi infect host insects, causing their death and controlling their populations naturally. Entomopathogenic fungi also exert antagonistic effects against pathogenic fungi in the phyllosphere and rhizosphere or in plant tissues as endophytes through parasitism, competition and antibiosis. However, some fungicides used in agriculture may adversely affect the growth of entomopathogenic fungi. Determination of the interactions of fungicides with biological control agents is of great importance for sustainable agricultural practices. The main objective of this study was to evaluate the compatibility of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* isolates with different fungicides *in vitro*. Within the scope of the study, it was aimed to determine the effects of the fungicides on the mycelial growth of the entomopathogenic fungi. Thus, it is aimed to contribute to environmental sustainability in agricultural production by reducing the fungicide use.

ENTOMOPATOJENİK FUNGUS *BEAVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL.'İ VE *METARHİZİUM BRUNEUMU*'UN FARKLI FUNGİSİTLERLE *İN VİTRO* UYUMLULUĞU

ÖZET

Tarımda hastalık ve zararlı böcek popülasyonlarını kontrol altına almak amacıyla yaygın olarak kimyasal pestisitler kullanılmaktadır. Ancak, bu kimyasallar çevresel kirlilik, hedef dışı organizmaların zarar görmesi ve böceklerin direnç geliştirmesi gibi önemli sorunlara yol açmaktadır. Bu nedenle, biyolojik mücadele yöntemleri giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Entomopatojen funguslar, özellikle *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium brunneum*, zararlı böceklerle biyolojik mücadelede etkili ajanlar olarak öne çıkmaktadır. Bu funguslar, konukçu böcekleri enfekte ederek onların ölümüne neden olmakta ve popülasyonlarını doğal yollarla kontrol altına almaktadır. Entomopatojen funguslar, filozfer ve rizosferde ya da endofit olarak bitki dokuları içinde patojenlere karşı parazitizm, rekabet ve antibiyosis yoluyla antagonistik etki göstermektedirler. Bununla birlikte, tarımsal üretimde kullanılan bazı fungusitler, entomopatojenik fungusların gelişimini olumsuz etkileyebilir. Fungusitlerin biyolojik mücadele ajanlarıyla olan etkileşimlerinin belirlenmesi, sürdürülebilir tarım uygulamaları açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmanın temel amacı, entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium brunneum* izolatlarının farklı fungusitlerle *in vitro* ortamda uyumluluğunu değerlendirmektir. Çalışma kapsamında, kullanılan fungusitlerin fungusların misel gelişimi üzerindeki etkilerini belirlemek amaçlanmıştır. Böylece, fungusit kullanımını azaltarak tarımsal üretimde çevresel sürdürülebilirliğe katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

1.GİRİŞ

Tarımda kimyasal yöntemlerle mücadele, zararlı organizmaların kontrol altına alınması amacıyla insektisit, fungusit, herbisit gibi pestisitlerin kullanılmasıdır. Bu yaklaşım, kısa sürede yüksek ürün elde etmeyi sağladığı için özellikle modern tarımda sıkça tercih edilmektedir. Ancak pestisitlerin bilinçsiz ve yoğun kullanımı; çevre kirliliğine, yararlı ve hedef dışı canlıların zarar görmesine, ürünlerde kalıntı oluşumuna ve zararlı organizmaların bu kimyasallara karşı direnç kazanmasına yol açmaktadır. Bu sorunlar, bütünleşik zararlı yönetimi ve biyolojik mücadele gibi çevre dostu ve sürdürülebilir yöntemlerin gerekliliğini daha da ön plana çıkarmıştır (Aktar, Sengupta, & Chowdhury, 2009; Pimentel, 2005).

Bitki hastalıklarına karşı biyolojik mücadele yöntemleri, 1920'li yıllarda dikkat çekmeye başlamıştır. Bu alandaki ilk önemli gelişmelerden biri, yeşil gübre uygulamalarıyla patates uyuzu hastalığı etmeni olan *Streptomyces scabies* (Thaxter) Lambert and Loria'nın kontrol altına alınması olmuştur (Özaktan, 2010).

Biyolojik mücadele genel bir ifade ile bitkilere zarar veren mikroorganizmaların faydalı olarak adlandırılan mikroorganizmalar tarafından doğrudan engellenmesi veya zarar seviyelerinin minimuma indirilmesi olarak ifade edilmekte olup, son yıllarda üzerinde yoğun biçimde çalışılan çevre dostu bir mücadele yaklaşımıdır (Sülü ve ark., 2016).

Biyolojik mücadelede etkili olan doğal düşmanlar predatörler, parazitoidler ve patojenler olarak üç ana grupta toplanmıştır. Predatörler, zararlılar üzerinde doğrudan beslenerek etkili olan faydalı böceklerdir. Parazitoidler, yumurtalarını diğer bir böceğin ergin ya da ergin öncesi dönemleri dediğimiz yumurta, larva ve pupa gibi gelişme dönemleri içerisine bırakarak etkili olan genellikle arı grubundan faydalılardır. Patojenler ise diğer canlılarda olduğu gibi zararlılarda da hastalık yapan etmenlerdir. Hastalık yapan patojenler funguslar, bakteriler ve virüsler gibi etmenlerdir (Weeden et al., 2007). Bu kapsamda mikrobiyal mücadele etmenleri içerisinde yer alan entomopatojen funguslar (EPF) pek çok zararlının doğal yollarla baskı altına alınmasında etkili olan mikroorganizmalardır (Kılıçarslan, 2024). Bu organizmalar, doğrudan böceklerin dış kütikulasına tutunarak enfeksiyon başlatır ve konağın iç dokularında çoğalarak ölümüne neden olurlar. Bu özellikleri sayesinde, özellikle bitki özsuyla beslenen zararlılarla mücadelede etkili olmaktadır (Sevim ve ark., 2014).

Bakteri ve virüslerden farklı olarak, entomopatojen funguslar konaklarını yalnızca bağırsaktan değil, aynı zamanda solunum deliklerinden ve integumentin yüzeyinden de enfekte edebilmektedir. Bu özellik sayesinde konağı tarafından yenilmesine gerek yoktur ve konak aralığı çiğneme yapan böcekler ile sınırlı kalmamaktadır (Yıldız, 2015).

EPF'ler, sadece zararlı böceklerle mücadelede değil, aynı zamanda bitki gelişimini destekleme ve bitki hastalıklarına karşı direnç kazandırma gibi faydalı etkilere de sahiptir. Örneğin, *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium robertsii* gibi türler, bitkilerle endofitik ilişkiler kurarak bitki büyümesini teşvik eder ve patojenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive edebilirler (Mertoğlu, 2022).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 MATERYAL

Çalışmanın ana materyalini Tokat ilinde farklı tarımsal alanlardan izole edilmiş olan Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarında bulunan Entomopatojen Fungus stok kültüründen steril ortamda çoğaltılmış olan funguslar (Çizelge 2.1) ve %50 Captan Islanabilir Toz (WP), %80 Thiram Suda Islanabilir Toz (WP) oluşturmuştur.

Çizelge 2.1 Çalışmada kullanılan Entomopatojen Funguslar

İZOLAT NUMARASI	BİLİMSEL ADI	KAYNAKLAR	ACCESSION NUMARASI
SİVAS-10	<i>Beauveria bassiana</i>	Şeker pancarı	MW07711
BEE2	<i>Beauveria bassiana</i>	Biber	MW07712
ORP-13	<i>Metarhizium brunneum</i>	Toprak	MW410195
ORP-18	<i>Metarhizium brunneum</i>	Toprak	MW410200

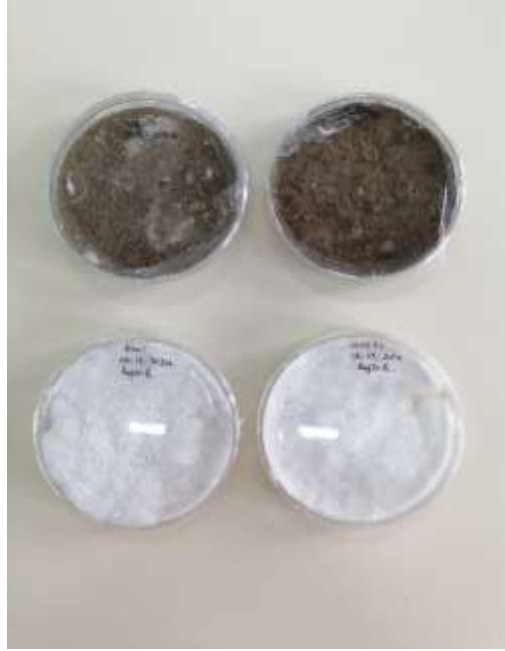
2.2 YÖNTEM

2.2.1 ENTOMOPATOJEN FUNGUS ÜRETİMİ

Steril ortamda hazırlanan Potato Dekstroz Agar (PDA) steril kabin içerisinde 90 mm petrilere dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir (Şekil 3.1). Besi yeri EPF aktarımına hazır hale geldiğinde fungus diskleri besiy ortamı içeren petri kaplarına aktararak 25±2 °C de inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 2.1 Steril kabinde PDA hazırlanması



Şekil 2.2 Entomopatojen Fungus

2.2.2 ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN FUNGUSİTLERE REAKSİYON TESTLERİ

Öncelikle çalışmada kullanılan Thiram ve Captan etkili maddeli fungusitlerin önerilen dozunun 1/8, 1/16 ve 1/32'si otoklovda steril edilen PDA besi ortamları 45-50 °C'ye eklenerek manyetik karıştırıcıda homojen bir dağılım sağlanana kadar karıştırılmıştır. Daha sonra 60 mm'lik petri kaplarına 10 ml/petri olacak şekilde aktarılmıştır. Geliştirilen taze EPF izolatlarına ait kültürlerin aktif olarak gelişen (ORP13, ORP18, Sivas10 ve BBE2) uç kısımlarından alınan 5 mm'lik misel diskleri ilaçlı PDA ortamlarına aktarılmıştır. Deneme 4 tekerrürlü olacak şekilde kurulmuştur. Fungusit içermeyen PDA ortamları negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Parafilm ile kapatılan petriyerler, 25±1 °C'de karanlıkta 14 gün boyunca (kontrolde fungus ortamı tamamen kaplayana kadar) inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda radial miselyum büyüme hızları hesaplanmıştır.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

On dört günlük inkübasyon süresi sonunda, kontrol grubundaki misel gelişimi ortalama 15.55 mm olarak ölçülmüştür. Çalışmada kullanılan 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarındaki Thiram uygulamaları sonucunda elde edilen misel gelişimleri sırasıyla 15.03 mm, 15.18 mm ve 15.20 mm olarak belirlenmiş olup, bu değerler kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Benzer şekilde, 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarındaki Kaptan

uygulamaları sonucunda misel gelişimleri sırasıyla 12.77 mm, 12.20 mm ve 12.45 mm olarak kaydedilmiş; ancak bu gruplar ile kontrol grubu arasında da anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Çizelge 3.1 Thiram ve kaptanın farklı dozlarının *Beauveria bassiana* BBE2 izolatının miselyum gelişimi üzerine etkisi.

Uygulamalar	Misel Uzunluğu (mm)
BBE2 Kontrol	15.55bc
%6.25 Kaptan+BBE2 Kombinasyon	12.20a
%3.125 Kaptan+BBE2 Kombinasyon	12.45a
%12.5 Kaptan+BBE2 Kombinasyon	12.77ab
%12.5 Thiram+BBE2 Kombinasyon	15.03c
%6.25 Thiram+BBE2 Kombinasyon	15.18c
%3.125 Thiram+BBE2 Kombinasyon	15.20c



Şekil 3.1 BBE2 Misel Gelişimi

Çalışmada kullanılan bir diğer entomopatojen fungus olan Sivas 10 izolatında, kontrol grubunda misel gelişimi ortalama 14.96 mm olarak belirlenmiştir. Thiramın 1/8, 1/16 ve 1/32 dozlarında ise sırasıyla 14.80 mm, 14.39 mm ve 14.34 mm misel gelişimi ölçülmüştür. Diğer taraftan Kaptanın 1/8, 1/16 ve 1/32 dozlarında misel uzunluğu sırasıyla 14.04 mm, 14.27 mm ve 13.34 mm olmuştur. Bu sonuçlar, hem Thiram hem de Kaptan uygulamalarının, Sivas 10 izolatının misel gelişimi üzerinde önemli bir engelleyici etki göstermediğini ortaya koymuştur.

Çizelge 3.2 Thiram ve kaptanın farklı dozlarının *Beauveria bassiana* Sivas10 izolatının miselyum gelişimi üzerine etkisi.

Uygulamalar	Misel Gelişimi
Kontrol Sivas10	14.96a
%3.125 Kaptan	13.34a
%12.5 Kaptan	14.04a
%6.25Kaptan	14.27a
%3.125 Thiram	14.34a
%6.25 Thiram	14.39a
%12.5 Thiram	14.80a



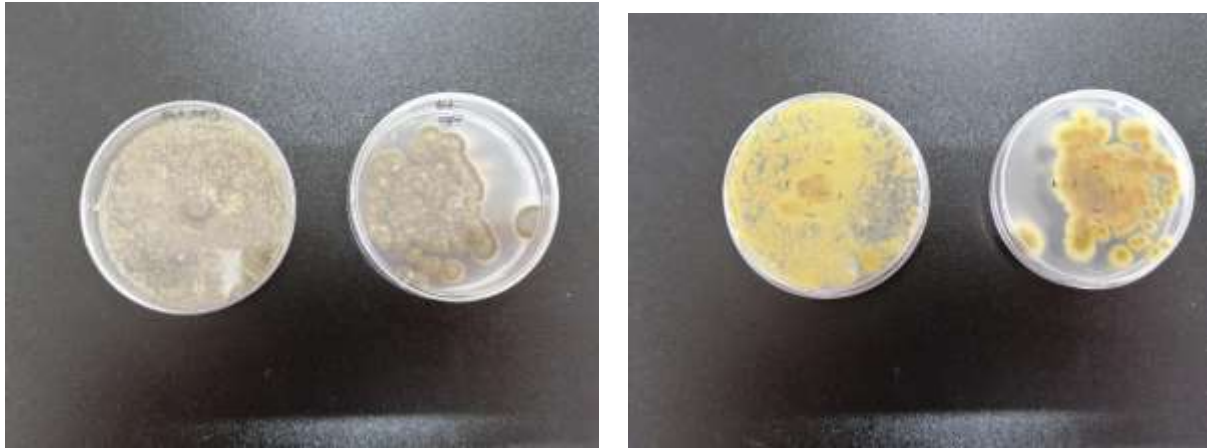
Şekil 3.2 Sivas 10 Misel Gelişimi

Mevcut çalışma bulgularına benzer şekilde Usha ve ark.,(2014) yapmış olduğu çalışmada *Beauveria bassiana*'nın B57 dışındaki izolatlarının uygulanan kükürt dozlarında (0.1X, 0.5X ve 1X) normal gelişim sergilediğini diğer taraftan bakır oksiklorür düşük dozlarında (0,1X) normal gelişirken, yüksek dozlarının (1X) toksik etki gösterdiği belirlenmiştir(1X tavsiye edilen doz, 0.5X tavsiye edilen dozun yarısı, 0,1X tavsiye edilen dozun 1/10).

Yapılan bir diğer çalışmada Fungusit olarak Mankozeb ve Entomopatojen Fungus (*Metarhizium anisopliae*, *Hirsutella sp.*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces sp.*) kullanılmıştır.Çalışmada kullanılan fungusit dozları; önerilen dozun 0.25 katı, 1 katı, 2 katı ve kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda Mankozeb fungusiti tüm Entomopatojen Fungus izolatlarının gelişimi üzerinde olumsuz bir etki gösterdiği belirtilmiştir.

Çizelge 3.3 Thiram ve kaptanın farklı dozlarının *Metarhizium brunneum* ORP13 izolatının miselyum gelişimi üzerine etkisi.

Uygulamalar	Misel Gelişimi
%6.25 Thiram	14.77a
%3.125 Thiram	14.78a
%12.5 Thiram	14.93a
%12.5 Kaptan	15.00a
Kontrol Thiram	15.16a
%6.25 Kaptan	15.22a
%3.125 Kaptan	15.72a



Şekil 3.3 ORP 13 Misel Gelişimi

Çalışmada, 14 günlük inkübasyon süresi sonunda kontrol grubunda ortalama misel gelişimi 15.16 mm olarak ölçülmüştür. Thiram uygulamasında 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarında sırasıyla 14.93 mm, 14.77 mm ve 14.78 mm misel gelişimi kaydedilmiştir.

Çizelge 3.4 Thiram ve kaptanın farklı dozlarının *Metarhizium brunneum* ORP18 izolatının miselyum gelişimi üzerine etkisi.

Uygulamalar	Misel Gelişimi
%3.125 Thiram	14.62
%6.25 Kaptan	14.63
%6.25 Thiram	14.75
Kontrol	14.91
%3.125 Kaptan	14.92
%12.5 Thiram	15.03
%12.5 Kaptan	15.33



Şekil 3.4 ORP 18 Misel Gelişimi

Diğer fungusit olan Kaptan uygulamalarında ise 1/8 oranında 15.00 mm, 1/16 oranında 15.22 mm ve 1/32 oranında 15.72 mm'lik misel gelişimleri gözlemlenmiştir.

Elde edilen veriler, her iki fungusitin de uygulanan oranlarına bağlı olarak misel gelişimini belirgin şekilde etkilemediğini, özellikle düşük konsantrasyonlarda misel gelişiminin kontrol grubuna yakın seyrettiğini ortaya koymaktadır.

On dört günlük inkübasyon süresi sonunda yapılan ölçümlere göre, kontrol grubunda misel gelişimi ortalama 14.91 mm olarak kaydedilmiştir. %12.5 Thiram + ORP18 uygulamasında misel gelişimi 15.03 mm, %12.5 Captan + ORP18 uygulamasında ise 15.33 mm olarak ölçülmüştür. %3.125 Thiram, %6.25 Captan ve %6.25 Thiram uygulamalarında elde edilen misel gelişimi sırasıyla 14.62 mm, 14.63 mm ve 14.75 mm olarak belirlenmiş olup, bu uygulamaların kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlemlenmiştir.

4.SONUÇ

Bu çalışmada, Captan %50 WP ve Thiram %80 WP fungusitlerinin önerilen dozlarının 1/8, 1/16 ve 1/32'lik konsantrasyonlarının entomopatojen fungus izolatlarının (*Beauveria bassiana* ve *Metarhizium brunneum*) misel gelişimleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Yapılan in vitro analizler sonucunda, bu düşük dozların entomopatojen fungusların misel gelişimini anlamlı düzeyde baskılamadığı gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular, entomopatojenik fungusların, azaltılmış fungusit dozları ile birlikte uyumlu bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Bu durum, özellikle çevre dostu ve sürdürülebilir tarım uygulamaları kapsamında, toprak kaynaklı patojenlere karşı biyolojik mücadelede entegre yöntemlerin geliştirilmesi açısından umut vericidir. Sonuç olarak, entomopatojen funguslar, hem fungal hastalıklara karşı biyolojik kontrol ajanı olarak hem de kimyasal girdilerin azaltılmasına katkı sağlayarak toprak sağlığının korunmasında önemli bir rol üstlenebilir.

KAYNAKÇA

- Aktar, M. W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1–12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>
- Kılıçarslan, S., 2024. Bazı Entomopatojen Fungus İzolatlarının Türkistan Hamam Böceği [Blatta Lateralis (Walker, 1868) (Orthoptera: Blattidae)]'Ne Karşı Etkinlikleri Üzerine Çalışmalar. (Yükseklisans Tezi), Bitki Koruma Anabilim Dalı, Tokat.
- Mertoğlu, Ş., Karaca, G., ve Bilgünturan, M., 2022. Entomopatojen fungusların bitki gelişimi ve bitkilerde hastalık oluşumu üzerine etkileri. *Türk. Biyo. Mücadele Derg.*, 13 (1): 88-102.
- Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F., ve Kın, P., 2010. Fitopatolojide biyolojik mücadele. *Türk. biyolojik mücadele dergisi*, 1 (1): 61-78.
- Pimentel, D. (2005). Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, 7, 229–252. <https://doi.org/10.1007/s10668-005-7314-2>
- Sevim, A., Sevim, E., ve Demirbağ, Z., 2015. Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri Ve Türkiye’de Zararlı Böceklerin Mücadelesinde Kullanılma Potansiyelleri. *EÜFBED - Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, Cilt-Sayı: 8-1, 115-147.
- Sülü, S., Bozkurt, A., ve Soylu, S., 2016. Bitki Büyüme Düzenleyici ve Biyolojik Mücadele Etmeni Olarak Bakteriyel Endofitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1):103-111.
- Usha, J., Babu, N., ve Padmaja, V., 2014. Detection Of Compatıblty Of Entomopathogenic Fungus Beauveria Bassiana (Bals.) Vuill. With Pesticides, Fungicides And Botanicals. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 613-623.
- Wang H, Yan Y, Wang J, Zhang H, Qi W. 2012. Production and characterization of antifungal compounds produced by Lactobacillus plantarum IMAU10014. *PloS ONE*, 7(1): e29452.
- Weeden, C.R., Shelton, A.M., ve Hoffman, M.P., 2007. Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North America. Available from [URL:http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol](http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol).
- Yıldız, S., 2015. The Investigation Of The Entomopathogenic Fungus Beauveria Bassiana And Paecilomyces Fumosozeus Spores The Effect On Some Vector Flies.(Yükselisans Tezi), BİYOLOJİ Anabilim Dalı, Ankara.