

**Orijinal araştırma (Original article)**

**Türkiye ve Kırgızistan'dan elde edilen entomopatojen nematodların fasulye tohum böceği [*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)]'ne karşı etkinliklerinin araştırılması<sup>1</sup>**

Yasemin AGIM<sup>2</sup>, İlker KEPENEKÇİ<sup>3\*</sup>

**Efficacy of entomopathogenic nematode isolates from Turkey and Kyrgyzstan against bean weevil [*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)]**

**Abstract:** In this study, the efficacies of four entomopathogenic nematode (EPN) isolates of both *Heterorhabditis bacteriophora* (11KG and TOK20) and *Steinernema feltiae* (3KG and Tokat-Emir), obtained from Turkey and Kyrgyzstan, against an important storage pest of beans, the bean weevil (*Acanthoscelides obtectus* (Say) Coleoptera: Chrysomelidae), were determined. In single dose assays, the 2 isolates of *S. feltiae* caused the highest mortality (99.59%) of *A. obtectus* adults. At 3 different doses (25, 50 and 100 IJs insect<sup>-1</sup>) and temperatures (10, 15 and 20°C), the most effective isolates were *H. bacteriophora* TOK20 (73.09%), *S. feltiae* 3KG (100%) and *S. feltiae* 3KG (100%) at 100 IJs at 10°C, 15°C and 20°C, respectively. In the dose-mortality assays, the *S. feltiae* 3KG isolate was effective at 500 IJs insect<sup>-1</sup>.

**Keywords:** Bean, entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis*, *Steinernema*, Bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*

**Öz:** Bu çalışmada Türkiye ve Kırgızistan'a ait Entomopatojen nematod (EPN) izolatlarından *Heterorhabditis bacteriophora* türüne ait iki (11KG ve TOK20) ve *Steinernema feltiae* türüne ait iki (3KG ve Tokat-Emir) izolatın, depolanmış fasulye zararlısı olan fasulye tohum böceği (*Acanthoscelides obtectus* (Say) Coleoptera: Bruchidae)'ne karşı etkinliği ortaya konmuştur. Tek doz denemeleri, en yüksek etkiyi *S. feltiae*'nin her 2 izolatı (3KG ve Tokat-Emir) göstermiştir (%99.59). 3 farklı doz (25, 50 ve 100 IJ böcek<sup>-1</sup>) ve sıcaklıkta (10, 15 ve 20°C) yürütülen deneme sonucunda en etkili izolatın 10°C'de 100 IJ dozunda *H. bacteriophora* TOK20 izolatı (%73.09), 15°C'de 100 IJ dozunda *S. feltiae* 3KG izolatı (%100) ve 20°C'de 100 IJ dozunda *S. feltiae* 3KG izolatı (%100) olduğu tespit edilmiştir. Doz-ölüm denemeleri sonucunda; *A. obtectus*'a karşı *S. feltiae* 3KG izolatının 500 IJ böcek<sup>-1</sup> konsantrasyonunda en yüksek etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Fasulye, entomopatojen nematod, *Heterorhabditis*, *Steinernema*, Fasulye tohum böceği, *Acanthoscelides obtectus*

<sup>1</sup>Bu çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı (TOKAT)'nda yüksek lisans tezi olarak yürütülmüş ve 19. 08. 2020 tarihinde kabul edilmiştir.

<sup>2</sup>Bozyazı Kaymakamlığı, İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Bozyazı, MERSİN

<sup>3</sup>Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Taşlıçiftlik, TOKAT

\* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: kepenekci@gmail.com

ORCID ID(Yazar sırasıyla): 0000-0002-0137-7489; 0000-0002-8734-3422

Alınış (Received): 03.03.2021

Kabul edilmiş (Accepted): 07.07.2021

## Giriş

Zararlı organizmalar fasulye üretim ve depolama aşamasında büyük verim kayıplarına sebep olmaktadır. Fasulye üretimini azaltan verim ve kalitesi üzerinde sınırlayıcı etkiye sahip olan biyotik faktörlerin başında Coleoptera takımı Chrysomelidae familyasına bağlı türler gelmektedir (Yücel 1986; Pehlivan 1987). Chrysomelidae familyasında yer alan tohum böceklerinden fasulye tohum böceği [*Acanthoscelides obtectus* (Say)] (Coleoptera: Chrysomelidae) çok döl vererek fasulye üzerinde önemli zarara neden olmakta; hem gelişmekte olan taze tohumlarda hem de kuru danelerde gelişebilmektedir.

Zirai mücadelede, zararlı organizmalara karşı böcek öldürücü olan insektisitlere yoğun talebin olması ile birlikte bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı halinde, canlıların doğada bir denge içinde olduğu düşünüldüğünde bu doğal dengenin bozulmasına, zararlı organizmaların duyarlılığının azalıp insektisitlerin etkisiz hale gelmesine, ürünlerde kalıntı ile ilişkili sorunların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Son zamanlarda kimyasal mücadeleye alternatif yöntemler içerisinde öne çıkan konuların başında biyolojik mücadele uygulamalarında yer alan mikrobiyal mücadele uygulamaları gelmektedir. Biyolojik mücadele içerisinde mikroorganizmaların kullanımı “*mikrobiyal mücadele*” olarak adlandırılmaktadır. Mikrobiyal mücadele, böceklerde hastalık oluşturan ve onların ölümüne sebep olan bakteri, virüs, protozoa ve nematodların kullanılması ile yürütülen savaşım şeklidir (Alcázar et al. 1992; BenSalah & Aalbu 1992; Das et al. 1992; Raman 1994; Kroschel et al. 1996; Lery et al. 1997; Roux et al. 1992; Setiawati et al. 1999). Mikrobiyal mücadele uygulamaları içerisinde son zamanlarda üzerinde en fazla durulan gruplardan biri de entomopatojen nematodlar (EPN)’dir (Kepenekçi et al. 2018). EPN’lerin biyolojik mücadelede kullanılabilmesi adına öncelikli olarak biyolojik mücadelede yer alan yeni bilgilerin kullanılması, ülkemizdeki mevcut türlerin tanılanması ve takibi ile belirlenen türlerin ülkemizde kültür bitkilerinde önemli zararlılara karşı etkinliklerinin ortaya konması önem arz etmektedir.

Kökenleri bakteri, fungus, virüs, protozoa ve nematod olan mikroorganizmalar tabiatta ki böcekler üzerinde yaşamlarını sürdürür ve böcekleri çeşitli yollarla hastalandırarak ölümlerine neden olmaktadır. Bu mikroorganizmalara entomopatojenler denilmektedir (Deacon 1983). Entomopatojenler içerisinde yer alan entomopatojen nematod (EPN)’ların önemi giderek artmaktadır. EPN’ler Heterorhabditidae ve Steinernematidae (Rhabditida) familyalarına ait obligat böcek patojenleridir (Koppenhöfer 2000).

EPN’lerin geniş konukçularının bulunması, taşıdıkları bakteriler ile konukçularını 24-48 saat içinde öldürebilmeleri, öldürdükleri konukçular içerisinde üremeleri ve dışarı çıkıp yeni konukçu aramaları, yapay ortamda *in vivo* ve *in vitro* olarak üretilebilmeleri, enfektif larva (EL) [enfektif juvenil (IJ)] denilen dayanıklı evreleri sayesinde konukçularını aktif olarak arayıp bulabilmeleri, konukçularının bulunmaması halinde uygun koşullarda uzun süre canlı olarak kalabilmeleri, çevre ve insan sağlığı açısından güvenli olmaları, kimyasal insektisitler gibi preparatlar halinde kullanılabilmesi nedeniyle; ülkemizde bu nematodların saptanması ve tespit edilen türlerin etkinliklerinin araştırılması önemlidir. Her EPN türü her konukçu böceği aynı etkinlikle enfekte edememektedir. Hazır et al. (2003), bazı

nematod türlerinin oldukça geniş bir konukçu dağılımına sahipken, bazı türlerin sadece tek bir böcek takımını enfekte edebildiğini bildirmiştir. Bu koşullar altında biyolojik mücadele çalışmalarında amaç, konukçuya karşı en etkili nematod türünü bulabilmektir.

Depo zararlıları ile ilgili yürütülen ve çok sayıda depo zararlısının yer aldığı bir çalışmada; Ramos-Rodríguez et al. (2006) tarafından *Plodia interpunctella*, *Ephestia kuehniella*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Tenebrio molitor*, *Tribolium castaneum* ve *Trogoderma variabile*'nin larva, pupa ve erginleri ile *Sitophilus oryzae* ve *Rhyzopertha dominica*'nın erginlerine karşı EPN'lerden *Steinernema* cinsine ait türlerin kullanıldığı çalışmada *Steinernema riobrave*, *S. carpocapsae* ve *S. feltiae*'ye kıyasla daha etkili (patojenik) olduğu belirlenmiştir. 10 IJs dozunda *S. riobrave*'nin *P. interpunctella*, *E. kuehniella*, *T. castaneum* ve *O. surinamensis*'in larvaları, *T. castaneum* ve *T. molitor*'un pupaları ve *T. molitor* ve iki güve türünün erginlerine karşı ölüm oranlarının %80 veya daha yüksek olduğu bildirilmektedir. *T. variabile*'nin tüm dönemlerinde %70 veya daha yüksek ölüm oranı görüldüğü belirtilmiştir. *S. oryzae* ve *R. dominica* erginleri sırasıyla %15 ve %35 ölüm oranları ile düşük etki göstermiştir.

Bu çalışmada laboratuvar stoklarımız [Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi (TOGÜ), Ziraat Fakültesi Bitki koruma bölümü, Tokat]'da mevcut olan Türkiye ve Kırgızistan'a ait EPN izolatlarından *Heterorhabditis bacteriophora* türüne ait iki izolat (11KG ve TOK20) ile *Steinernema feltiae* türüne ait iki izolat (3KG ve Tokat-Emir)'in fasulye tohum böceği (*A. obtectus*) erginine karşı etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## **Materyal ve yöntem**

### **Laboratuvar kitle üretim çalışmaları**

#### ***Galleria mellonella* larvalarının yetiştirilmesi**

EPN'lerin canlılıklarını sürdürebilmesi için kültürlerin yenilenmesine yönelik olarak çalışmalar süresince *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Galleriidae) larvaları üretimi yapılmıştır. Bu amaçla 890 g un, 222 g kuru ekmek mayası, 500 g gliserin, 500 g bal, 445 g süt tozu ve 445 g buğday kepeği kullanılarak özel besin ortamı kullanılmıştır (Haydak 1936; Mohammed & Coppel 1983). İlk olarak un ve buğday kepeği sterilize edilmiş sonra un, kepek, süt tozu ve maya karıştırılıp son olarak bal ile gliserin karışımı üzerine dökülmüştür. Alüminyum tel ile kapatılmış 300 ml'lik cam kavanozların içerisine özel besin ortamı konulduktan sonra kavanozlarda 1 cm yüksekliğe *G. mellonella* yumurta kümesi hazırlanmış ve 23-24 °C'de 16/8 saat (aydınlık/karanlık) aydınlatmalı böcek yetiştirme dolabında yer alan bu yumurtalardan larvaların çıkışı ve gelişmesi takip edilmiştir.

### **Entomopatojen nematod (EPN)'ların üretimi**

#### **EPN'lerin sürekli üretilmesi ve bakımı**

Çalışmanın ana materyalini TOGÜ Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Nematoloji ve Taksonomi Laboratuvarları stoklarında mevcut olan Türkiye ve Kırgızistan'a ait EPN izolatlarından daha önceki çalışmalarda yüksek etki gösteren

(patojenisitesi yüksek) *Heterorhabditis bacteriophora* türüne ait iki izolat (11KG ve TOK20) ve *Steinernema feltiae* türüne ait iki izolat (3KG ve Tokat-Emir) oluşturmuştur.

EPN'lerin üretilmesi amacıyla son dönem *G. mellonella* larvaları kullanılmıştır. Larvaların kokon örmelerini engellemek amacıyla 55°C'deki suda 15-20 sn. bekletilip 30 sn. çeşme suyu altında yıkanıp hareketsiz duruma getirilmiştir (Woodring ve Kaya, 1988). Otoklavda sterilize edilmiş 12 cm çapındaki petrielerin içerisine 6 cm çapındaki küçük petrieler kapaksız olarak ters çevrilip yerleştirilerek üzerine steril kurutma kağıdı konulup musluk suyu ile ıslatılmış ve kurutma kağıtları üzerine *G. mellonella* larvalarından 10 tanesi sıralanmış üzerine her bir nematod kültürüne ait içinde 2. ve 3. dönem enfektif nematod larvaları [enfektif larva (EL), infektif juvenil (IJs)]'nın konsantrasyonlarından damlalıklarla alınıp verilmiştir. 10 gün boyunca inkübatörde kontrolleri takip edilmiştir. EPN'ler tarafından enfekte olan *G. mellonella* larvalarından "White tuzak" metodu kullanılarak enfektif EPN larvaları elde edilmiştir (White 1927). Nematodların aktivitelerini yitirmemeleri amacıyla 1-2 ayda bir yeni *G. mellonella* larvalarına verilerek aynı işlem tekrarlanarak kültürler yenilenmiştir.

### EPN'lerin kitle üretimi

*Heterorhabditis bacteriophora* türüne ait iki izolat (11KG ve TOK20) ile *S. feltiae* türüne ait iki izolat (3KG ve Tokat-Emir) uygulamalar için gerekli materyali sağlamak amacıyla laboratuvarında kitle üretimi yapılmıştır. İzolatlara ait IJ'lerden faydalanılarak nematod üretimi yapılmıştır. EPN'lere ait enfektif larva (IJs)'ların *G. mellonella*'nın son dönem larvalarını enfekte etmesi sağlanmıştır. White tuzak metodunda büyük boy petrielerin her birinin üzerine 30 adet EPN'ler tarafından enfekte edilmiş *G. mellonella* larvaları konmuştur. Laboratuvar sıcaklığında (23-25°C) bekletilen düzeneklerden dışarı çıkacak olan yeni nesil EPN'ler toplanmıştır.

### *Acanthoscelides obtectus* popülasyonlarının elde edilmesi

Çalışmanın diğer materyalini oluşturan *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye tohum böceği); Ankara Ziraat Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü (ZMMAE) (Ankara)'ndan alınan kültürden faydalanılarak TOGÜ Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Entomoloji laboratuvarında üretimi yapılmıştır.

Fasulye tohum böceği, *A. obtectus* laboratuvar koşullarında yetiştirilebilmektedir. Bu çalışmada, fasulye taneleri daha önceden steril olan cam kavanozlara konulmuştur. Tanelerden çıkan böceklerin oksijen ihtiyacını sağlamak ve kaçışını engellemek amacıyla kavanozların ağızları birer ince tülle kapatılmıştır. Kavanozlar laboratuvar koşullarında bekletilmiş ve çalışmalarda kullanılan fasulye tohum böceği popülasyonları elde edilmiştir.

### Laboratuvar etkinlik çalışmaları

#### Tek doz denemeleri

Tek doz çalışmasında *H. bacteriophora* (11KG ve TOK20) ve *S. feltiae* (3KG ve Tokat-Emir) izolatları *A. obtectus* erginlerine karşı 50 IJs böcek<sup>-1</sup> dozunda laboratuvar koşulları (*in vitro*)'nda denenmiştir. Çalışmada orta boy petrieler (12

cm) kullanılmıştır. Petrilerin tabanına filtre kâğıdı (Whatman No. 1) yerleştirilmiştir ve sonra üzerine 10 adet fasulye tohum böceğinin ergini ile birlikte 5 adet fasulye tohumu konulmuştur. Kapakları kapatılan petriyer 25±1°C'deki inkübatöre konulmuştur. Kontrollerde petriyerin tabanındaki filtre kâğıtlarına yalnızca su ilave edilmiştir.

Mikroskopta hazırlanan süspansiyon içindeki nematodlar mikropipet aracılığıyla 50 IJs 0.2 ml<sup>-1</sup> su olarak her bir petrinin dibinde bulunan filtre kağıdına emdirilerek verilmiştir. Her bir uygulamada pipet ucundaki tüm nematodların petri içerisine tam geçişini sağlamak için aynı pipet ucuyla tekrar 0.2 ml'lik su alınarak aynı petriye verilmiştir. Kontrollerde petriyerin tabanındaki filtre kâğıtlarına yalnızca su ilave edilmiştir. Denemeler 5 tekerrürlü ve aynı şartlarda farklı bir zamanda bir defada tekrarlanarak 2 tekrarlı olarak kurulmuştur. Uygulamadan sonraki 10 gün boyunca böcek ölümleri günlük kontrol edilerek veriler, kayıt altına alınmış ve sonuçlar istatistiksel analize tabii tutulmuştur.

### **Farklı sıcaklıklarda ve dozlarda laboratuvar etki çalışmaları**

Bu çalışmalar, tek doz denemelerinde olduğu gibi yapılmış fakat 3 farklı doz (25, 50 ve 100 IJs böcek<sup>-1</sup>) denenmiştir. Denemeler 10, 15 ve 20°C olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta (Kepenekci et al. 2014; Kepenekci & Atay 2014; Kepenekci et al. 2015; Tülek et al. 2015; Kepenekci et al. 2016; Kepenekci 2016; Atay & Kepenekci 2016; Gözel et al. 2020) 5 tekerrürlü ve 2 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Denemeler söz konusu olan sıcaklıklardaki inkübatörlerde yürütülmüştür. Kontrollerde petriyerin tabanındaki filtre kâğıtlarına yalnızca su ilave edilmiştir. Uygulamadan sonraki 10 gün boyunca böcek ölümleri günlük kontrol edilerek veriler, kayıt altına alınmış ve sonuçlar istatistiksel analize tabii tutulmuştur.

### **Doz-ölüm denemeleri**

Tek doz denemeleri ile farklı sıcaklıklarda ve dozlarda yürütülen etki denemeleri sonucu en etkili olan iki izolat doz-ölüm denemeleri kapsamına alınmıştır. Bu çalışmada, EPN izolatlarının 7 farklı dozu (5, 10, 50, 100, 250, 500 ve 1000 IJs böcek<sup>-1</sup>) fasulye tohum böceğinin erginlerine karşı uygulanmıştır. Her bir nematod izolatında her bir doz için denemeler 5 tekerrürlü ve 2 tekrarlı olarak kurulmuştur. Denemelerin kurulduğu petriyer 25±1°C'deki inkübatöre konulmuştur. Kontrollerde petriyerin tabanındaki filtre kâğıtlarına yalnızca su ilave edilmiştir. Uygulamadan sonraki 10 gün boyunca böcek ölümleri günlük kontrol edilerek veriler, kayıt altına alınmış ve sonuçlar istatistiksel analize tabii tutulmuştur.

### **Uygulamaların Değerlendirilmesi**

Çalışmalarda elde edilen “%” ölüm değerleri Abbott formülüne göre hesaplanmıştır (Abbott 1925). Böcek “%” ölüm oranlarına ait verilere açılı transformasyonu yapıldıktan sonra tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar Tukey testi ile belirlenmiştir. Analizden önce %5 böcek ölüm oranlarına Arcsine transformasyon uygulanmıştır.

## Bulgular

### Tek doz denemeleri

*Heterorhabditis bacteriophora* 11KG, *S. feltiae* 3KG, *H. bacteriophora* TOK20 ve *S. feltiae* Tokat-Emir izolatlarının tek doz denemelerinde 50 IJs böcek<sup>1</sup> dozunda, *A. obtectus* erginlerine karşı 10 gün boyunca 5 tekerrürlü olarak 2 tekrarlı çalışmalar yürütülmüş olup denemeler arasında farklılık olmamasından dolayı veriler birleştirilerek analiz edilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. *Acanthoscelides obtectus*'a karşı *Steinernema feltiae* ve *Heterorhabditis bacteriophora*'nın tek doz uygulaması (50 IJs böcek<sup>1</sup>) sonucu ergin böcek ölüm oranları (%)

Table 1. Mortality (%) of *Acanthoscelides obtectus* adults in single dose assay (50 IJs insect<sup>1</sup>) applications of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*

EPN	Ölüm Oranı (%) <sup>1</sup>					
	<i>Steinernema feltiae</i>		<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>		Kontrol <sup>2</sup>	
İzolot	3KG	Tokat-Emir	11KG	TOK20	-	
Gün	1	0.10±0.36a	1.22±1.16a	0.10±0.36a	0.41±0.65a	0.00±0.00a
	2	10.49±2.19a	6.55±2.03a	1.22±1.16a	0.62±1.00a	1.27±1.68a
	3	36.71±0.44a	12.13±2.40b	9.64±2.11b	3.18±2.19b	2.32±1.77b
	4	55.16±0.51a	25.76±2.13b	22.52±2.39bc	13.58±2.81bc	3.68±1.73c
	5	77.58±0.39a	50.72±1.67b	37.18±1.28b	29.04±2.25b	7.30±1.27c
	6	87.22±1.55a	62.21±1.36ab	36.92±3.07b	40.15±2.63b	8.25±1.43c
	7	93.89±1.71a	74.94±0.77b	55.42±1.93b	58.25±0.75b	10.59±0.95c
	8	96.97±1.25a	86.78±0.88ab	70.75±4.32b	72.47±1.37b	15.68±0.35c
	9	97.97±1.25a	95.77±1.18ab	77.26±3.61b	85.24±2.33ab	18.10±0.42c
	10	99.59±0.65a	99.59±0.65a	83.79±2.91b	91.74±2.81ab	19.48±0.34c

<sup>1</sup>Veriler tekerrürlerin ortalaması±standart hata olarak verilmiştir. Tukey testine göre aynı satırdaki farklı küçük harflere ait veriler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05)

<sup>2</sup>Kontrol grubuna nematod izolatu yerine aynı miktarda su verilmiştir

Denemelerde kontrol grubuna, nematod izolatu yerine aynı miktarda su verilmiş olup sadece *S. feltiae* 3KG izolatında 4. gün böcek ölüm oranları %50'yi geçerken ( $F=9.22$ ;  $df=4.47$ ;  $P<0.05$ ), 5. günün sonunda ise *S. feltiae* Tokat-Emir izolatında %50'nin üzerinde böcek ölümü kaydedilmiştir. Söz konusu olan iki izolatın 5. günde böcek ölüm oranları arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmiştir ( $F=19.92$ ;  $df=4.47$ ;  $P<0.05$ ) (Çizelge 1). Denemenin 7. gününde denemeye alınan diğer iki izolatın (*H. bacteriophora* 11KG ve TOK20)'da, *S. feltiae* Tokat-Emir izolatu ile istatistiksel olarak aynı düzeyde ve %50'nin üstünde böcek ölümüne neden olduğu görülürken uygulamaya alınan izolatlar içerisinde en yüksek böcek ölüm oranı %93.89 ile *S. feltiae* 3KG izolatında belirlenmiştir ( $F=32.65$ ;  $df=4.47$ ;  $P<0.05$ ) (Çizelge 1). Denemenin sonunda (10. gün), *S. feltiae* 3KG ve Tokat-Emir izolatlarında ölüm oranı %99.59, *H. bacteriophora* 11KG izolatında %83.79 ve *H. bacteriophora* TOK20 izolatında ise %91.74 olarak kaydedilmiştir ( $F=36.14$ ;  $df=4.47$ ;  $P<0.05$ ) (Çizelge 1).

### Farklı sıcaklıklarda ve dozlarda etki çalışmaları

Çalışmalar 10, 15 ve 20°C olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta ve 25, 50 ve 100 IJs böcek<sup>1</sup> olmak üzere 3 farklı dozda 5 tekerrürlü ve farklı zamanlarda olmak üzere 2 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Denemeler arasında farklılık olmamasından dolayı veriler birleştirilerek analiz edilip 10 gün boyunca böcek ölüm oranları kaydedilmiştir.

*Acanthoscelides obtectus*'a karşı 10. günde 10°C'de ölüm oranı 100 IJs dozunda, *H. bacteriophora* 11KG izolatında %16.04 ( $F=4.35$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ), *S. feltiae* 3KG izolatında %32.44 ( $F=11.10$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ), *S. feltiae* Tokat-Emir izolatında %42.78 ( $F=11.87$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ) ve *H. bacteriophora* TOK20 izolatında %73.09 ( $F=30.63$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). 15°C'de 100 IJs böcek<sup>1</sup> dozunda ölüm oranı *H. bacteriophora* 11KG izolatında %81.15 ( $F=13$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ), *H. bacteriophora* TOK20 izolatında %87.03 ( $F=16.86$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ), *S. feltiae* 3KG ve Tokat-Emir izolatlarında ise böcek ölüm oranı %100 (sırasıyla  $F=147$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$  ve  $F=143.27$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ) olmuştur (Çizelge 3). 20°C'de 100 IJ dozunda böcek ölüm oranı *H. bacteriophora* 11 KG izolatında %88.48 ( $F=18.66$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ) ve *H. bacteriophora* TOK20 izolatında %97.63 ( $F=33.73$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ) olurken *S. feltiae* 3KG ile Tokat-Emir izolatlarında %100 (sırasıyla  $F=147$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$  ve  $F=89.1$ ;  $df=3.35$ ;  $P<0.05$ ) olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 2. *Acanthoscelides obtectus* erginlerine karşı entomopatojen nematodlar (*Steinernema feltiae* ve *Heterorhabditis bacteriophora*)'ın 10°C'de ve 3 farklı doz (25, 50 ve 100 IJs böcek<sup>-1</sup>)'da laboratuvar etki denemelerinde böcek ölüm oranları (%)

Table 2. Mortality (%) of *Acanthoscelides obtectus* adults exposed to three different doses (25, 50 and 100 IJs) of the entomopathogenic nematodes (*Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*) in laboratory bioassays at 10°C

EPN izolat		Ölüm Oranı (%) <sup>1</sup>							
Doz		<i>Steinernema feltiae</i> 3KG				<i>S. feltiae</i> Tokat-Emir			
		25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>	25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>
Gün	1	0.00±0.00a	0.93±0.85a	0.00±0.00a	0.29±0.61a	0.41±0.65a	1.22±1.16a	3.54±1.48a	0.00±0.00a
	2	7.00±1.33a	1.65±0.97ab	0.41±0.65b	1.15±0.97ab	2.45±1.51ab	2.03±1.25ab	7.00±1.33a	0.00±0.00b
	3	10.09±1.40a	3.03±1.25a	4.98±0.85a	1.15±0.97a	6.68±1.95ab	4.23±1.18ab	9.40±1.21a	0.00±0.00b
	4	11.69±1.62a	10.40±1.19a	8.73±1.02a	2.57±1.09a	10.02±1.84a	4.83±1.37ab	14.57±1.32a	0.00±0.00b
	5	16.23±1.90a	12.02±1.41a	12.28±0.85a	10.01±0.00a	10.02±1.84a	5.81±1.95ab	17.22±1.58a	0.00±0.00b
	6	19.59±1.30a	12.02±1.41a	16.63±1.29a	10.01±0.00a	10.72±2.01ab	9.80±2.01ab	24.20±1.74a	0.29±0.61b
	7	19.59±1.30a	15.02±1.01a	19.09±0.61a	10.00±0.00a	16.04±0.99a	14.94±1.09a	29.23±0.71a	0.29±0.61b
	8	19.59±1.30ab	15.02±1.01ab	25.52±1.03a	10.00±0.00b	16.04±0.99b	20.22±0.53ab	34.48±0.73a	0.60±1.25c
	9	19.59±1.30ab	17.38±0.38ab	30.43±0.48a	10.00±0.00b	19.59±0.26b	20.22±0.53b	36.60±0.62a	5.09±2.38c
	10	25.52±1.03ab	20.52±0.31b	32.44±0.53a	10.00±0.00c	21.37±0.44bc	23.21±0.58b	42.78±0.44a	7.70±1.97c
EPN izolat		<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> 11KG				<i>H. bacteriophora</i> TOK20			
Doz		25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>	25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>
Gün	1	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.29±0.61a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.41±0.65a	0.00±0.00a
	2	0.00±0.00a	0.10±0.36a	0.10±0.36a	0.29±0.61a	0.00±0.00a	0.41±0.65a	2.82±1.83a	0.00±0.00a
	3	0.00±0.00b	0.10±0.36ab	2.57±1.01a	0.29±0.61ab	0.00±0.00c	5.33±1.63ab	8.03±1.92a	0.00±0.00bc
	4	0.00±0.00b	0.93±0.85ab	2.57±1.01a	0.29±0.61ab	0.00±0.00b	5.33±1.63a	12.55±1.36a	0.00±0.00b
	5	0.00±0.00b	0.93±0.85ab	6.30±1.18a	1.15±0.97ab	0.00±0.00c	7.47±1.64b	21.56±1.16a	0.00±0.00c
	6	0.00±0.00b	1.65±0.97ab	7.00±1.33a	1.15±0.97ab	0.00±0.00c	12.10±0.96b	27.90±0.97a	0.00±0.00c
	7	0.00±0.00c	4.99±0.85ab	11.52±0.69a	1.15±0.97bc	0.93±0.85c	19.30±0.48b	40.26±1.15a	0.00±0.00c
	8	0.00±0.00c	4.99±0.85ab	12.44±0.74a	1.15±0.97bc	4.82±1.37c	24.29±0.51b	50.04±1.37a	0.00±0.00c
	9	0.21±0.75c	8.15±0.36ab	14.20±0.89a	1.15±0.97bc	9.55±1.12c	32.89±1.06b	56.42±1.05a	0.29±0.61d
	10	9.55±1.12ab	11.36±0.80a	16.04±0.99a	1.15±0.97b	13.22±0.88c	35.80±1.31b	73.09±2.38a	1.15±0.97c

<sup>1</sup> Veriler tekrerrlerin ortalaması±standart hata olarak verilmiştir. Tukey testine göre aynı satırdaki farklı küçük harflere ait veriler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05)

<sup>2</sup> Kontrol grubuna nematod izolatu yerine aynı miktarda su verilmiştir



Bazı entomopatojen nematodların fasulye tohum böceğine etkinlikleri

Çizelge 3. *Acanthoscelides obtectus* erginlerine karşı entomopatojen nematodlar (*Steinernema feltiae* ve *Heterorhabditis bacteriophora*)'ın 15°C'de ve 3 farklı doz (25, 50 ve 100 IJs böcek<sup>-1</sup>)'da laboratuvar etki denemelerinde böcek ölüm oranları (%)

Table 3. Mortality (%) of *Acanthoscelides obtectus* adults exposed to three different doses (25, 50 and 100 IJs) of the entomopathogenic nematodes (*Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*) in laboratory bioassays at 15°C

EPN izolat		Ölüm Oranı (%) <sup>1</sup>							
Doz		<i>Steinernema feltiae</i> 3KG				<i>S. feltiae</i> Tokat-Emir			
		25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>	25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>
Gün	1	0.10±0.36a	2.57±1.01a	0.41±0.65a	0.00±0.00a	1.65±0.97a	3.54±1.48a	3.03±1.25a	5.57±1.29a
	2	10.63±0.64a	14.20±0.89a	17.87±0.82a	0.29±0.61b	3.68±0.97b	17.70±1.25a	12.54±1.74ab	9.62±1.01ab
	3	17.18±0.50b	32.57±0.47ab	48.10±3.65a	0.29±0.61c	7.61±1.55b	29.22±0.71a	27.86±1.13a	11.07±1.13ab
	4	22.11±0.61b	58.61±1.03a	78.66±2.87a	1.15±0.97c	17.38±0.38b	41.89±0.56a	42.52±1.66a	11.06±1.13b
	5	34.34±0.79c	76.57±0.45b	97.55±1.51a	4.53±0.97d	22.03±0.70b	53.10±0.49a	60.21±3.35a	11.07±1.13b
	6	45.78±0.86b	96.97±2.38a	99.90±0.36a	5.57±1.29c	31.45±0.62b	70.43±0.46a	76.07±3.33a	12.31±1.41b
	7	57.31±0.60b	99.90±0.36a	100.00±0.00a	5.57±1.29c	38.70±0.55c	81.82±0.54b	96.69±2.06a	17.00±1.62c
	8	59.44±0.74b	100±0.00a	100.00±0.00a	5.57±1.29c	49.93±0.41b	97.63±1.58a	99.66±1.17a	17.00±1.62c
	9	68.78±0.77b	100±0.00a	100±0.00a	5.57±1.29c	58.26±0.83b	99.90±0.36a	100.00±0.00a	17.00±1.62c
	10	74.71±1.77b	100±0.00a	100±0.00a	8.27±0.83c	61.45±1.06b	100.00±0.00a	100.00±0.00a	18.48±1.76c
EPN izolat		<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> 11KG				<i>H. bacteriophora</i> TOK20			
Doz		25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>	25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>
Gün	1	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.29±0.61a	0.00±0.00a	0.10±0.36a	0.41±0.65a	0.00±0.00a
	2	0.10±0.36a	0.10±0.36a	0.10±0.36a	0.29±0.61a	1.22±1.16a	0.93±0.85a	4.82±1.37a	0.00±0.00a
	3	0.41±0.65a	0.62±1.00a	6.17±1.27a	0.29±0.61a	1.55±1.46ab	5.63±1.02ab	9.64±2.11a	0.00±0.00b
	4	2.03±1.25ab	3.98±1.77ab	11.62±1.70a	0.29±0.61b	2.90±1.76bc	12.04±1.03ab	25.62±1.24a	0.00±0.00c
	5	7.27±2.17ab	9.26±2.75ab	24.07±0.76a	1.15±0.97b	4.55±1.97c	18.76±0.89b	38.36±1.08a	0.00±0.00c
	6	9.03±1.86b	17.42±3.68ab	33.24±1.00a	1.15±0.97b	11.72±2.68bc	24.71±1.15ab	48.46±3.53a	0.29±0.61c
	7	13.33±1.87bc	30.35±2.38ab	59.01±3.60a	1.15±0.97c	18.76±2.03b	35.28±1.53ab	60.36±3.15a	1.15±0.97c
	8	20.65±0.93bc	41.18±4.53ab	72.12±6.29a	2.57±1.09c	23.62±2.37b	42.73±2.09ab	66.44±2.86a	1.15±0.97c
	9	25.62±1.16bc	45.59±4.38ab	80.23±5.75a	3.36±1.52c	32.85±1.65b	53.26±3.67ab	75.90±2.95a	2.57±1.09c
	10	29.97±1.16bc	54.48±3.57ab	81.15±5.69a	3.36±1.52c	39.54±1.82b	62.21±3.33ab	87.03±2.20a	9.62±1.01c

<sup>1</sup> Veriler tekrerrlerin ortalaması±standart hata olarak verilmiştir. Tukey testine göre aynı satırdaki farklı küçük harflere ait veriler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05)

<sup>2</sup> Kontrol grubuna nematod izolatu yerine aynı miktarda su verilmiştir

Çizelge 4. *Acanthoscelides obtectus* erginlerine karşı entomopatojen nematodlar (*Steinernema feltiae* ve *Heterorhabditis bacteriophora*)'ın 20°C'de ve 3 farklı doz (25, 50 ve 100 IJs böcek<sup>-1</sup>)'da laboratuvar etki denemelerinde böcek ölüm oranları (%)

Table 4. Mortality (%) of *Acanthoscelides obtectus* adults exposed to three different doses (25, 50 and 100 IJs) of the entomopathogenic nematodes (*Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*) in laboratory bioassays at 20°C

EPN izolat		Ölüm Oranı (%) <sup>1</sup>							
Doz		<i>Steinernema feltiae</i> 3KG				<i>S. feltiae</i> Tokat-Emir			
Gün		25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>	25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>
Gün	1	0.00±0.00b	2.57±1.01a	0.10±0.36b	0.00±0.00b	0.93±0.85a	4.23±1.18a	2.03±1.25a	1.70±1.50a
	2	5.45±1.55b	17.58±0.25a	14.75±1.20ab	0.00±0.00c	13.66±0.19a	12.27±0.85a	10.24±1.30ab	1.70±1.50b
	3	25.06±1.91a	31.50±0.54a	31.77±1.37a	0.00±0.00b	17.38±0.38a	23.21±0.58a	24.29±0.62a	3.37±1.52b
	4	32.93±0.98b	49.51±1.28ab	60.87±2.59a	0.29±0.61c	27.70±0.27b	33.67±0.38ab	44.84±0.84a	3.37±1.52c
	5	52.27±1.43b	73.75±0.63ab	91.63±3.88a	2.57±1.09c	37.86±0.23b	43.69±0.70b	67.11±1.14a	4.27±1.90c
	6	65.13±1.56b	96.00±2.83a	100.00±0.00a	5.09±2.38c	51.05±0.61b	59.29±0.88b	84.23±1.19a	4.27±1.90c
	7	84.15±4.44b	98.25±1.93ab	100.00±0.00a	5.09±2.38c	62.64±0.69b	74.06±1.00b	96.46±1.48a	4.27±1.90c
	8	91.83±3.20b	99.90±0.36a	100.00±0.00a	5.09±2.38c	75.71±0.62c	92.70±3.21b	100.00±0.00a	6.70±1.57d
	9	96.60±1.99a	99.90±0.36a	100.00±0.00a	7.70±1.97b	93.32±1.95b	98.45±1.46ab	100.00±0.00a	6.70±1.57c
	10	98.78±1.16a	99.90±0.36a	100.00±0.00a	16.04±0.41b	95.45±1.97b	99.79±0.75ab	100.00±0.00a	9.62±1.01c
EPN izolat		<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> 11KG				<i>H. bacteriophora</i> TOK20			
Doz		25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>	25IJs	50IJs	100IJs	Kontrol <sup>2</sup>
Gün	1	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.29±0.61a	0.00±0.00a	0.10±0.36a	0.10±0.36a	0.00±0.00a
	2	0.00±0.00a	0.10±0.36a	0.10±0.36a	0.29±0.61a	0.10±0.36b	0.93±0.85ab	4.82±1.37a	0.00±0.00b
	3	0.10±0.36b	1.65±0.97ab	7.20±0.79a	0.29±0.61b	0.93±0.85b	7.95±0.91a	13.76±1.20a	0.00±0.00b
	4	2.03±1.25b	5.62±1.02ab	13.05±0.99a	0.29±0.61b	5.45±1.55bc	13.76±1.20ab	25.62±1.24a	0.00±0.00c
	5	9.55±1.12ab	18.19±0.54a	22.20±0.64a	1.15±0.97b	8.88±1.95b	22.87±0.89ab	36.40±0.96a	0.00±0.00c
	6	17.70±1.25a	22.24±0.56a	32.44±0.72a	1.15±0.97b	17.22±1.58b	32.08±1.21ab	43.73±1.11a	0.00±0.00c
	7	25.01±0.78b	27.27±0.61b	53.78±2.52a	1.15±0.97c	24.71±1.07b	40.31±1.71ab	58.96±1.64a	0.00±0.00c
	8	33.24±0.80b	36.59±0.54b	69.29±5.25a	5.57±1.29c	31.17±0.93b	52.58±1.92ab	72.56±2.59a	1.15±0.97c
	9	39.13±1.29b	44.74±0.62b	80.23±1.29a	5.57±1.29c	37.53±1.09b	64.38±3.08ab	86.57±2.85a	2.57±1.09c
	10	47.78±1.41b	51.05±1.08b	88.48±4.36a	6.70±1.57c	44.83±0.95c	77.57±3.82b	97.63±1.58a	5.57±1.29d

<sup>1</sup> Veriler tekrerrlerin ortalaması±standart hata olarak verilmiştir. Tukey testine göre aynı satırdaki farklı küçük harflere ait veriler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05)

<sup>2</sup> Kontrol grubuna nematod izolatu yerine aynı miktarda su verilmiştir.

## Doz-ölüm denemeleri

Tek doz ile farklı sıcaklıklarda ve dozlarda laboratuvar etki denemeleri sonucu en yüksek etkiyi gösteren *S. feltiae* 3KG ve Tokat-Emir izolatları ile doz ölüm denemeleri yürütülmüştür.

Denemelerde *A. obtectus*'a karşı *S. feltiae* 3KG izolatının 7 farklı dozunun etkileri karşılaştırıldığında; denemenin 3. gününde sadece 500 ve 1000 IJs dozlarında ölüm oranının %50'yi geçtiği ( $F=32.81$ ;  $df=7.79$ ;  $P<0.05$ ) tespit edilirken denemenin 7. gününde ise tüm dozlarda böcek ölüm oranının %50'yi geçmiştir ( $F=43.63$ ;  $df=7.79$ ;  $P<0.05$ ).

Denemelerin sonunda (10. gün) *S. feltiae* 3KG izolatında böcek ölüm oranı 5 IJs dozunda %77.41, 10 IJs dozunda %90.20, 50 IJs dozunda %91.19, 100 IJs dozunda %92.79, 250 IJs dozunda %98.99, 500 IJs dozunda %100 ve 1000 IJs dozunda %99.90 olarak tespit edilmiştir ( $F=40.93$ ;  $df=7.79$ ;  $P<0.05$ ) (Çizelge 5). *S. feltiae* Tokat-Emir izolatında denemenin 6. gününde sadece 5 ve 100 IJs dozunda böcek ölüm oranının %50'nin üzerinde olduğu görülmektedir ( $F=11.35$ ;  $df=7.79$ ;  $P<0.05$ ). Denemenin 8. gününde ise tüm dozlarda böcek ölüm oranının %50'nin üzerinde olduğu belirlenmiştir ( $F=21.90$ ;  $df=7.79$ ;  $P<0.05$ ). Denemenin sonunda *S. feltiae* Tokat-Emir izolatı için ölüm oranı 5 IJs dozunda %89.98, 10 IJs dozunda %68.78, 50 IJs dozunda %89.04, 100 IJs dozunda %97.10, 250 IJs dozunda %71.76, 500 IJs dozunda %71.15 ve 1000 IJs dozunda %93.24 olarak tespit edilmiştir ( $F=24.28$ ;  $df=7.79$ ;  $P<0.05$ ) (Çizelge 5). Doz-ölüm denemelerinin sonucunda *S. feltiae* Tokat-Emir izolatı 100 IJs dozunda %97.10 ve 1000 IJs dozunda %93.27 ( $F=24.28$ ;  $df=7.79$ ;  $P<0.05$ ) etki göstermiştir. *S. feltiae* 3KG izolatı ise 500 IJs dozunda %100 etki gösterirken 1000 IJs dozunda %99.90 ( $F=40.93$ ;  $df=7.79$ ;  $P<0.05$ ) etkiyle en etkili izolat olmuştur.

Kırgızistan ve Türkiye'den elde edilen entomopatojen nematod kültürlerinin [*H. bacteriophora* (izolat 11KG ve izolat TOK20) ile *S. feltiae* (izolat 3KG ve izolat Tokat-Emir)] *A. obtectus*'a karşı etkinliklerinin laboratuvar koşullarında ortaya konulduğu bu çalışma sonucunda, en yüksek etkiye sahip izolatın 500 IJ dozunda *S. feltiae* 3KG izolatı (%100) olduğu söylenebilir.

## Tartışma ve sonuç

Türkiye ve Kırgızistan'dan izole edilen ve daha önceki çalışmalarda yüksek etki gösteren (patojenisitesi yüksek) *Heterorhabditis bacteriophora* türüne ait iki izolat (izolat 11KG ve izolat TOK20) ve *Steinernema feltiae* türüne ait iki izolat (izolat 3KG ve izolat Tokat-Emir)'in *A. obtectus*'a karşı mücadelede kullanılabilme başarısını değerlendirmek için etkinlikleri araştırılmıştır.

EPN'lerin konukçuya girerek enfekte etmesi ve akabinde konukçuyu öldürmesindeki başarısında en önemli faktörlerden birinin sıcaklık olduğu bilinmektedir (Grewal et al. 1994b; Gouge et al. 1999; Kaya 1990). Grewal et al. (1994a), yüksek sıcaklıkların nematodun hayatta kalma süresini azaltırken, düşük sıcaklıkların ise nematodun aktivitesini ve enfektif özelliğini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Molyneux (1986)'nın, *Heterorhabditis* ve *Steinernema* cinslerine ait birçok farklı izolat ile sürdürdüğü çalışmalarında, Steinernematid'lerin düşük sıcaklıklarda konukçularını enfekte etmede *Heterorhabditid*'lere göre daha aktif olduklarını tespit etmiştir.

Çizelge 5. *Acanthoscelides obtectus* erginlerine karşı entomopatojen nematod (*Steinernema feltiae*)'un 7 farklı dozda doz-ölüm denemelerinde böcek ölüm oranları (%)

Table 5. Mortality (%) of *Acanthoscelides obtectus* adults exposed to seven different doses of the entomopathogenic nematodes (*Steinernema feltiae*) in dose-mortality bioassays

		Ölüm Oranı (%) <sup>1</sup>							
		<i>Steinernema feltiae</i> Tokat-Emir							
Doz (IJs)		5 IJs	10 IJs	50 IJs	100 IJs	250 IJs	500 IJs	1000 IJs	Kontrol <sup>2</sup>
Gün	1	0.10±0.36a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	1.22±1.16a	0.93±0.85a	0.00±0.00a	1.55±1.46a	0.93±0.85a
	2	0.21±0.75a	0.41±0.65a	0.41±0.65a	5.62±1.02a	0.93±0.85a	0.41±0.65a	2.82±1.83a	1.65±0.97a
	3	7.75±1.45ab	3.54±1.48b	4.98±0.85ab	19.38±0.39b	2.57±1.01b	1.55±1.46b	5.87±1.88ab	1.65±0.97b
	4	16.16±1.98ab	6.29±1.18abc	11.93±2.63abc	24.83±0.91a	8.94±0.47abc	5.98±1.80bc	16.32±0.41ab	1.65±0.97c
	5	31.59±0.44ab	10.89±1.54bc	28.47±2.14ab	49.74±2.11a	24.20±0.60ab	12.13±2.40bc	22.42±0.39bc	4.98±0.85c
	6	58.66±0.94a	24.97±2.07a	45.83±1.50ab	58.03±2.20a	33.28±1.05ab	30.88±1.02b	34.63±0.47ab	5.63±1.02c
	7	74.58±1.60ab	39.91±0.97c	63.23±1.38abc	76.19±1.06a	52.25±0.75bc	47.75±0.75c	59.70±0.99abc	5.62±1.02d
	8	82.30±1.25a	55.75±2.71b	74.80±1.74ab	84.42±1.31a	56.30±0.70b	55.23±0.54b	76.57±1.48ab	7.20±0.79c
	9	84.69±1.88ab	64.92±2.21b	82.99±2.07ab	92.39±1.55a	64.80±0.97b	65.73±0.73b	77.54±1.46ab	7.94±0.91c
	10	89.98±1.47abc	68.78±1.99c	89.04±1.46abc	97.10±1.76a	71.76±1.95bc	71.15±1.03bc	93.24±2.93ab	9.78±0.56d
		<i>S. feltiae</i> 3KG							
Doz (IJs)		5 IJs	10 IJs	50 IJs	100 IJs	250 IJs	500 IJs	1000 IJs	Kontrol <sup>2</sup>
Gün	1	2.57±1.01ab	0.62±1.00ab	0.00±0.00b	0.21±0.75b	0.93±0.85ab	0.93±0.85ab	7.00±1.33a	0.00±0.00b
	2	4.23±1.18ab	4.94±3.84ab	0.41±0.65ab	5.63±1.02ab	3.98±1.77ab	4.23±1.18ab	10.24±1.29a	0.00±0.00b
	3	7.75±1.45b	10.79±3.12b	3.03±1.25bc	13.48±0.30b	9.86±1.94b	54.11±0.42a	67.31±0.37a	0.00±0.00c
	4	12.62±1.66bc	22.52±2.63b	17.14±1.66b	17.58±0.25b	27.25±3.21b	75.74±2.67a	84.15±1.11a	0.41±0.65c
	5	18.87±1.12b	38.70±0.80b	26.77±2.23b	34.23±0.89b	34.15±3.66b	87.18±2.61a	86.96±0.99a	1.65±0.97c
	6	27.38±0.51c	58.34±1.07b	53.02±1.54bc	45.83±0.78bc	46.34±3.13bc	90.12±2.99a	92.06±0.91a	1.65±0.97d
	7	52.01±0.95b	72.99±0.83b	72.03±1.99b	61.81±1.33b	68.97±1.18b	98.51±1.52a	96.97±1.25a	2.57±1.01c
	8	55.23±0.79c	79.66±1.52bc	75.93±1.53bc	66.90±1.38bc	82.62±2.73b	98.51±1.52a	99.07±0.85a	6.48±0.65d
	9	62.74±1.12c	85.24±1.20bc	84.42±2.44c	84.34±2.79c	98.41±2.47ab	100±0.00a	99.90±0.36a	6.48±0.65d
	10	77.41±2.17d	90.20±2.01cd	91.19±2.02bcd	92.79±2.23abcd	98.99±1.82abc	100.00±0.00a	99.90±0.36ab	7.94±0.91e

<sup>1</sup> Veriler tekrerrlerin ortalaması±standart hata olarak verilmiştir. Tukey testine göre aynı satırdaki farklı küçük harflere ait veriler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05)

<sup>2</sup> Kontrol grubuna nematod izolatu yerine aynı miktarda su verilmiştir

Selvan et al. (1993) ve Koppenhöfer et al. (2004)'e göre *H. bacteriophora*'nın özellikle yüksek sıcaklıklarda etkinliğinin arttığı ve zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde kullanılan çok başarılı bir etmen olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada 10°C'de ölüm oranı 100 IJs konsantrasyonunda, *H. bacteriophora* 11KG izolatında %16.04, *S. feltiae* 3KG izolatında %32.44, *S. feltiae* Tokat-Emir izolatında %42.78 ve *H. bacteriophora* TOK20 izolatında %73.09 olarak tespit edilmiştir. 15°C'de 100 IJs böcek<sup>1</sup> dozunda ölüm oranı *H. bacteriophora* 11KG izolatında %81.15, *H. bacteriophora* TOK20 izolatında %87.03, *S. feltiae* 3KG ve *S. feltiae* Tokat-Emir izolatında ise böcek ölüm oranı %100 olarak tespit edilmiştir. 20°C'de 100 IJs dozunda böcek ölüm oranı *H. bacteriophora* 11 KG izolatında %88.48, *H. bacteriophora* TOK20 izolatında %97.63, *S. feltiae* 3KG izolatı ile *S. feltiae* Tokat-Emir izolatında ise %100 olarak tespit edilmiştir. Sonuçta *A. obtectus*'a karşı en yüksek ölüm oranı 20°C sıcaklıkta 100 IJs dozunda *S. feltiae* 3KG izolatında tespit edilmiştir.

Kepenekci et al. (2013), patates bitkisinin önemli zararlılarından olan patates güvesi, *Phthorimaea operculella* (Zeller)'ya karşı 25°C ve 1000 IJs konsantrasyonunda uygulanan *S. carpocapsae* Karadeniz izolatının ölüm oranı %96 ve *H. bacteriophora* Aydın izolatının %80, *S. feltiae* Aydın izolatının ise %40 olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın, bu çalışmada denemeye alınan *S. feltiae* türüne ait her iki izolat (3KG ve Tokat-Emir)'da *A. obtectus*'a karşı %93 ve %99 olarak yüksek ölüm oranlarına neden olmuştur.

Coleoptera türü olan orman zararlısı *Dendroctonus micans* (Kugelann)'a karşı yürütülen bir çalışmada, aynı sıcaklık ve konsantrasyonda, *S. feltiae* (Aydın izolatı) için ölüm oranı %98 tespit edilirken *S. carpocapse* Karadeniz izolatı etkisiz (%40) bulunmuştur (Kepenekci & Atay 2014). Söz konusu olan çalışmasından elde edilen sonuçlar, *S. feltiae*'nin Coleoptera takımına ait türlerde daha etkili olduğunu göstermektedir. Buna karşın Tülek et al. (2015), aynı takımdaki bir depo zararlısı olan *Rhyzopertha dominica* (F.)'ya karşı *S. feltiae* (Aydın izolatı) türünün %28 ölüm oranıyla düşük etki gösterdiğini bildirmektedir. Bu çalışmada kullanılan *A. obtectus* Coleoptera takımına ait bir böcek olup *S. feltiae* türüne ait her iki izolat (3KG ve Tokat-Emir)'ın da etkili olduğu söylenebilir.

Kepenekci (2016), patates bitkisinin önemli zararlılarından olan *Leptinotarsa decemlineata* (Say)'nın son dönem larvalarına karşı gerçekleştirdikleri çalışmada, *S. feltiae* (Aydın izolatı) için %94 ve *H. bacteriophora* (Aydın izolatı) için %83 etki ortaya koymuşlardır. Bu sonuçlar yürütülen bu çalışmayı destekler nitelikte olup *S. feltiae* türüne ait izolatlar yine yüksek etki göstermiştir.

Bu çalışmada alınan sonuçlarda ise *S. feltiae* izolatlarının yüksek etkili tespit edilmesi, EPN türlerine ait izolatların farklı patojenisiteye sahip olmasıyla açıklanabilir. *A. obtectus*'a karşı *S. carpocapsae* (Karadeniz), *S. feltiae* (Aydın) ve *H. bacteriophora* (Aydın) izolatlarının üç ayrı doz (500, 1000 ve 2000 IJs) ve iki ayrı sıcaklıkta (15 ve 20 °C) farklı sıcaklıklardaki etkinlikleri araştıran Atay et al. (2015), *S. carpocapsae* Karadeniz izolatının tüm sıcaklık ve dozlarda en yüksek etkiyi (en yüksek %89.36 ve düşük %67.82) gösteren nematod olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada *S. feltiae* Aydın izolatının etkisinin %60'ı geçmediğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle, aynı EPN türüne ait izolatlar, zararlı bir böceğe karşı farklı etkiler gösterebilmektedir. Bu da söz konusu izolatların elde

edildiği bölge, iklim koşulları, elde edildiği alanlardaki bitki deseni ve bu bitkilerde zararlı böcek gruplarına göre değiştiği, dolayısıyla EPN'lerin bölgeye adaptasyon yeteneğine göre farklılık gösterebildiği söylenebilir.

Zararlılarla mücadelede başarılı ve etkili bir sonuç alınabilmesi için en önemli unsurlardan biri zararlı böcek türleri üzerinde en etkili olabilecek EPN türünün uygulanması gerekliliğidir (Gözel 2016). Çünkü bazı nematod türleri oldukça geniş bir konukçu dağılımına sahipken, bazı türler sadece tek bir böcek takımını enfekte edebilmektedir. Sonuç olarak EPN türlerinin zararlı böcekler üzerindeki etkinlikleri farklılık gösterebilmektedir (Hazır et al. 2003). Her EPN türü her konukçu böceği aynı etkinlikte enfekte edememektedir. EPN türlerinin aynı zararlı böcek üzerinde farklı etkinlik gösterebildiği gibi aynı türe ait farklı izolatların da aynı zararlı böcek üzerinde farklı etkinlik gösterebildiği kanısı (Canhilal et al. 2007; Kepenekci 2004 & 2012; Koçak et al. 2004) yapmış olduğumuz çalışma sonucunu destekler niteliktedir.

## Kaynaklar

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Alcazar, J., M., Cervantes & K.V. Raman 1992. Caracterización y patogenicidad de un virus granulosis de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella*. *Revista Peruana de Entomología*, 35: 107-111.
- Atay, T., N. Güleç, K. Kara, A. Tülek & İ. Kepenekci 2015. Efficacy of three entomopathogenic nematodes against bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say Coleoptera Bruchidae adults, 5th International Participated Entomopathogens and Microbial Control Symposium, Ankara, 108.
- Atay, T. & İ. Kepenekci, 2016. Biological control potential of Turkish entomopathogenic nematodes against *Holotrichapion pullum* (Gyllenhal) (Coleoptera, Apionidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26: 7-10.
- BenSalah, H. & R. Aalbu, 1992. Field use of granulosis virus to reduce initial storage infestation of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), in North Africa. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 38: 119-126.
- Canhilal, R., M. İmren, H. Toktay, R. Bozbuğa, R., Çetintaş, H., Kütük, Y.E. Özdemir & S. Doğan 2014. Adana ve Kahramanmaraş illerinde entomopatojen nematodların belirlenmesi, Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, Antalya, 350.
- Das, G.P., E.D. Magallona & K.V. Raman, 1992. Effects of different components of IPM in the management of the potato tuber moth, in storage. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 41: 321-325.
- Deacon, J.W. 1983. Microbial control of pests and diseases, Van Nastrand Reinhold (UK) Co. Ltd., pp. 31-41.
- Gouge, D.H., L.L. Lee & T.J. Henneberry 1999. Effect of temperature Lepidopteran host species on entomopathogenic nematode (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae) infection. *Environmental Entomology*, 28: 876-883.
- Gözel, Ç. 2016. Domates Güvesi *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)'nin Mücadelesinde Entomopatojen Nematodların Kullanım Olanakları. Doktora Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Çanakkale, 104 sayfa.
- Gözel, Ç., A. Kasap & U. Gözel, 2020. Efficacy of Native Entomopathogenic Nematodes on the Larvae of Tomato Leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Agricultural Sciences (Tarım Bilimleri Dergisi)*, 26: 220-225.

- Grewal, P.S., E.E. Lewis, R. Gaugler & J.F., Campbell 1994a. Host finding behavior as a predictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, 108: 207-215.
- Grewal, P.S., S. Selvan & R. Gaugler 1994b. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *Journal of Thermal Biology*, 19: 245-253.
- Haydak, M.H. 1936. A food for rearing laboratory insect. *Journal of Economic Entomology*, 29: 1026.
- Hazır, S., S.P. Stock & N. Keskin 2003. A new entomopathogenic species *Steinernema anatoliense* (Steinernematidae) from Turkey. *Systematic Parasitology*, 55: 211-220.
- Kaya, H.K. 1990. Soil ecology. (Editors: R. Gaugler and H.K. Kaya, Entomopathogenic Nematodes in Biological Control). CRC Press, Boca Raton Ann Arbor Boston, 93-115.
- Keasar, T., A. Kalish, O. Becher & S. Steinberg, 2005. Spatial and temporal dynamics of potato tuberworm (Lepidoptera: Gelechiidae) infestation in field-stored. *Journal of Economic Entomology*, 98: 222-228.
- Kepenekci, İ. 2004. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes to *Eurygaster maura* L. (Hemiptera: Pentatomidae). *Russian Journal of Nematology*, 12: 157-160.
- Kepenekci, İ. 2012. Nematoloji (Bitki Paraziti ve Entomopatojen Nematodlar) [Genel Nematoloji (Cilt-I), Taksonomik Nematoloji (Cilt-II)]. Eğitim, Yayın ve Yayınlar Dairesi Başkanlığı, Tarım Bilim Serisi Yayın No: 3, LIV+1155 sayfa.
- Kepenekci, İ., A. Tülek, M. Alkan & S. Hazır 2013. Biological control potential of native entomopathogenic nematodes against the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Turkey, *Pakistan Journal of Zoology*, 45: 1415-1422.
- Kepenekci, İ. & T. Atay 2014. Evaluation of aqueous suspension and entomopathogenic nematodes infected cadaver applications against the great spruce bark beetle *Dendroctonus micans* (Kugelann), (Coleoptera: Scolytidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 24: 335-339.
- Kepenekci, İ., B. İnal, T. Atay & A. Yeşilayer, 2014. Effect of entomopathogenic nematodes, on the black cherry Aphid, *Myzus cerasi* (F.) (Hemiptera: Aphididae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 24: 157-161.
- Kepenekci, İ., S. Hazır & A. Özdem, 2015. Evaluation of native entomopathogenic nematodes for the control of the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera: Tephritidae) larvae in soil. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39: 74-79.
- Kepenekci, İ. 2016. Infectivity of native entomopathogenic nematodes applied as infected host cadavers against the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26: 173-174.
- Kepenekci, İ., T. Atay & M. Alkan, 2016. Biological control potential of Turkish entomopathogenic nematodes against the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Biocontrol Science and Technology*, 26: 141-144.
- Kepenekci, İ., T. Atay, A. Yeşilayer, Y. Yıldırım & H.D. Sağlam, 2018. Investigation of the Effectiveness of Some Entomopathogenic Nematodes [*Steinernema feltiae* (Aydın isolate), *S. carpocapsae* (Blacksea isolate) and *Heterorhabditis bacteriophora* (Aydın isolate)] against Potato Moth [*Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae)] in a greenhouse-potting experiments. 6th ASM International Congress of Agriculture and Environment, 286-299.
- Koçak, E., A. Gökçe & İ. Kepenekci, 2004. Infectivity of Two Isolates of *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) in Relation *Eurygaster maura* L. (Hemiptera: Pentatomidae) Adults. Second International Conference on Sunn Pest, Aleppo, Syria, Abstract, 32.

- Koppenhöfer, A.M. 2000. Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and other Invertebrate Pests. (Editors: L.A. Lacey and H.K. Kaya, Nematodes Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology). Dordrecht, The Netherlands. Kluwer, 283-301.
- Koppenhöfer, A.M., E.M., Fuzy, R., Crocker, W. Gelernter & S. Polavarapu, 2004. Pathogenicity of *Steinernema scarabaei*, *Heterorhabditis bacteriophora* and *S. glaseri* to twelve white grub species. *Biocontrol Science and Technology*, 14: 87-92.
- Lery, X., J. Giannotti & A. Taha, 1997. Multiplication of a granulosis virus isolated from the potato tuber moth in a new established cell line of *Phthorimaea operculella*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*, 33: 640-646.
- Mohammed, M.A. & H.C. Coppel, 1983. Mass rearing of the greater wax moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) for small-scale laboratory studies. *Great Lakes Entomologist*, 16: 139-141.
- Molyneux, A.S. 1986. *Heterorhabditis* and *Steinernema* (*Neoaplectana*) spp.: temperature, and aspects of behavior and infectivity. *Experimental Parasitology*, 62: 169-180.
- Pehlivan, E. 1987, Depolanmış ürün zararlıları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Ders Teksiri No: 33-1, 35 sayfa.
- Raman, K.V. 1994. Pest management in developing countries. (Editors: G.W. Zehnder, M.L. Powelson, R.K. Jansson and K.V. Raman, Advances in Potato Pest Biology and Management), St. Paul: The American Phytopathological Society, 583-596.
- Ramos-Rodríguez, O., J.F. Campbell & S.B. Ramaswamy, 2006. Pathogenicity of three species of entomopathogenic nematodes to some major stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, 42: 241-252.
- Roux, O., R., Vonarx & J. Baumgartner, 1992. Estimating potato tuberworm (Lepidoptera: Gelechiidae) damage in stored potatoes in Tunisia. *Journal of Economic Entomology*, 85: 2246-2250.
- Selvan, S., R. Gaugler & J.F. Campbell, 1993. Efficacy of entomopathogenic nematode strains against *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 86: 353-359.
- Setiawati, W., R.E. Soeriaatmadja, T. Rubiati & E. Chujoy, 1999. Control of potato tuber moth (*Phthorimaea operculella*) using an indigenous granulosis virus in Indonesia. *Indonesian Journal of Crop Science*, 14: 10-16.
- Tülek, A., S., Ertürk, İ. Kepenekçi & T. Atay, 2015. Efficacy of native entomopathogenic nematode against the stored grain insect pest, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) adults. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 25: 251-254.
- White, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, 66: 302-303.
- Woodring, J.L. & H.K. Kaya, 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A Handbook of Techniques. Southern Cooperative Series Bulletin No: 331, Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, AR, 30 pp.
- Yücel, A. 1985. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde baklagillerde zararlı baklagil tohum böcekleri, yayılları, en önemli türün biyo-ökolojisi ve savaş yöntemleri. Doktora Tezi, Diyarbakır Bölge Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsü, Diyarbakır, 106 sayfa.