

Bazı Entomopatojen Nematodların *Blattella germanica* L. (Dictyoptera: Blattellidae) Üzerindeki Etkileri

I. Alper SUSURLUK¹M. Emel ÖKTEN¹

Geliş Tarihi: 07.09.2000

Özet: Entomopatojen nematodlar (EPN) olan *Heterorhabditis* spp. ve *Steinemema* spp. son yıllarda kullanımları artan biyolojik mücadele etmenlerinin en önemlilerindedir. Bu çalışmada, EPN' in iç mekanda kullanım olanaklarına ışık tutması amacıyla *Heterorhabditis marelata* Liu and Berry, 1996, *H. bacteriophora* Poinar, 1976 ve *Steinemema feltiae* (Filipjev, 1934) Woust, Mracek, Gerdin and Bedding 1982; 50, 75, 100 ve 125 adet infektif juvenil/2 ml Ringer solüsyonu dozunda *Blattella germanica* L. üzerine uygulanmış ve öldürücü etkileri saat olarak tespit edilmiştir. Bu işlem, populasyonun yarısını ve tamamını öldüren süre olarak iki kısımda ele alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; *B. germanica* populasyonunun yarısını ölümü için geçen süre; *S. feltiae* ve *H. marelata* için aynı, *H. bacteriophora*' da daha uzun olarak bulunurken; populasyonun tamamının ölümü için geçen süre ele alındığında ise, etkinlik sırasıyla; *S. feltiae*, *H. marelata* ve *H. bacteriophora* olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Entomopatojen nematodlar, *Heterorhabditis* spp., *Steinemema* spp., *Blattella germanica*, süre, doz

Lethal Effects of Some Entomopathogenic Nematodes on *Blattella germanica* L. (Dictyoptera: Blattellidae)

Abstract: Entomopathogenic nematodes (EPNs) are among the most important biocontrol agents, and their usage are increasing day by day. In this study, *Heterorhabditis marelata* Liu and Berry, 1996, *H. bacteriophora* Poinar, 1976 and *Steinemema feltiae* (Filipjev, 1934) Woust, Mracek, Gerdin and Bedding 1982 were tested at the dosages of 50, 75, 100, 125 number of infective juvenile/2 ml Ringer solution against *Blattella germanica* L. and lethal times in terms of both the time for killing half of the population and for killing the entire population were recorded. According to the results, the killing effect of the half of the population of *S. feltiae* and *H. marelata* were the similar, while *H. bacteriophora* was less effective than tested EPNs. The effectiveness of *S. feltiae* in terms of killing time for entire population was the highest. The objective of this study was to test applicability of EPNs against cockroach on the household pest.

Key Words: Entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp., *Steinemema* spp., *Blattella germanica*, time, dose

Giriş

Günümüzde kullanılan kimyasal insektisitlerin hedef alınan zararlıyı veya zararlı grubunu baskı altına almasının yanında, hedef alınmayan organizmalara da olumsuz etkileri bulunmaktadır. Bu kimyasalların zararlı üzerinde direnç oluşturması, ikincil zararlıların ana zararlı konumunu alması ve en son halka olan insan üzerindeki kronik veya akut etkilerinin olması araştırmacıları alternatif mücadele yöntemleri üzerinde araştırmaya yöneltmiştir.

Biyolojik mücadele, bu alternatif mücadele yöntemlerinden en çok tercih edilenidir. Biyolojik mücadelede kullanılan etmenler arasında entomopatojen nematodlar (EPN)' in kullanımlarının son yıllarda arttığı dikkat çekmektedir (Kaya and Gaugler 1993). Biyolojik mücadelede kullanılan ilk EPN, *Steinemema glaseri* (Travassos 1931) olup, bu nematod *Popillia japonica* L. ya karşı 1935 yılında kullanılmıştır (Glaser and Farrell 1935).Günümüzde kullanılan EPN türleri Rhabditida takımına bağlı *Heterorhabditis* spp. ve *Steinemema* spp.'

dir. Özellikle ABD, Almanya, Kanada ve Japonya' da yoğun olarak kullanılmaktadır. EPN' in bu kadar yüksek oranda tercih edilmelerinin başlıca nedenleri; kitle üretimlerinin diğer biyolojik mücadele etmenlerine göre daha kolay olması, konukçusunu bir gün gibi kısa bir sürede öldürmesi ve çevreye toksik etki göstermemesidir (Ehlers 1996).

EPN sindirim sistemlerinde bulunan simbiyont bir bakteri ile yaşarlar ve konukçusu olan böceğin içine giren EPN bu bakteriyi böceğin içine salarak o böceğin ölümüne neden olurlar. Bu bakteriler, *Xenorhabdus* spp. ve *Photorhabdus* spp.' dir. Böceğe giriş yapan ve ölümüne neden olan EPN, infektif juvenil olarak adlandırılan biyolojik dönemindedir. Bu dönem böcek vücuduna girer burada ergin olup iki döl verir. İkinci dölün sonunda oluşan infektif juveniller yeni konukçular aramak için ölen böceği (kadavra) terk ederler. EPN türleri çok geniş bir konukçu dizisine sahiptir. Örneğin; DD - 136 olarak da bilinen *S.*

¹ Ankara Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü-Ankara

carpocapsae 11 takımın 75 familyasına ait 250 böcek türüne etkilidir (Poinar 1979) (Peters 1996). EPN daha çok toprak kökenli veya en az bir biyolojik dönemini toprakta geçiren zararlı böcek türlerine karşı çok daha etkili olarak kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda özel formülasyonlar geliştirilerek bitkilerin toprak üstü aksamında da uygulanabilmektedir (Glazer 1995).

Bu çalışmada, daha önce Türkiye'de tespit edilen *S. feltiae* (Filipjev 1934) Woust, Mracek, Gerdin and Bedding 1982, *H. marelata* Liu and Berry, 1996 ve *H. bacteriophora* Poinar 1976 türlerinin *B. germanica* üzerinde etkinlikleri, dozları ve bunlara bağlı olarak böceklerin ölüm zamanları arasındaki ilişki açısından araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan EPN türleri: *S. feltiae*, *Heterorhabditis marelata* ve *H. bacteriophora* ve konukçu olarak seçilen *B. germanica*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde bulunan stok kültürden alınmıştır. Çalışmalar 9 cm çapında cam petripler, Whatmann kağıdı, Ringer solüsyonu (7.5 g NaCl, 0.35 g KCl, 0.21 g CaCl₂·H₂O, 1 l saf su) yumuşak pens, etüv ve buzdolabı kullanılmıştır (Kaya and Stock 1997).

Her bir EPN türü için 50, 75, 100 ve 125 adet infektif juvenil (i.j.)/2 ml Ringer solüsyonu (R.s.) olarak 4 farklı doz kullanılmıştır. Deneme, her bir EPN türüne ait dozlar için 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Cam petriplerin içine Whatmann kağıdı konulmuş ve üzerine EPN 2 ml R.s. içinde belirtilen dozlarda damlatılmıştır. Her doz için bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. EPN' in Whatmann kağıdına damlatılması sırasında kağıdın tamamının ıslatılması sağlanmıştır. Daha sonra her petriye 10' ar adet aynı yaşta *B. germanica* ergini bırakılmıştır. Ayrıca, kontrol olarak 4 petriye sadece R.s. damlatılmış ve içine tekrar 10' ar adet *B. germanica* konulmuştur. Petriplerin ağzı kapatılmış ve üzerlerine böceklerin kaçmaması için ağırlık konulmuştur. Bu şekildeki petripler 25-26 °C ve % 75-80 nemdeki etüve alınmıştır. Petrideki böceklerin EPN enfeksiyonu sonucu ölüm zamanlarını belirlemek için her saat EPN ile bulaşık petripler ve kontroller gözlenmiştir. Ancak gün içindeki sayımlar en son saat 18:00' a kadar yapılmış ve bu saatten sonra tüm petripler +4 °C' deki buzdolabına alınmış, ertesi sabah saat 8:30' da tekrar etüve konulmuştur. Bu işlemin amacı, belirtilen saatler sonra sayım yapılamayacağından dolayı EPN' in enfeksiyon kabiliyetlerini ve gelişmelerini geçici olarak durdurmaktır. Bu derecelerde EPN enfeksiyon kabiliyetlerini ve gelişmelerini 2 ay süreyle koruyabilmektedirler (Koppenhöfer and Kaya 1999), (Ishibashi and Kondo 1990).

Öldüğünden emin olunan böcekler yumuşak pensle White-Trap düzeneğine konulmuştur. White-Trap, içiçe geçmiş bir büyük ve bir de küçük petriden oluşan ve 2. dölün sonunda meydana gelen infektif juvenillerin toplandığı bir düzenektir (White 1927). Daha sonra bu düzeneğin içindeki kadvralarla beraber 25-26 °C' deki etüve konulmuşlardır. Bu işlem, böcek ölümlerinin EPN'

den olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. *B. germanica* erginleri *S. feltiae* tarafından öldürülmüşlerse renklerinde herhangi bir değişim olmamakta, fakat *H. marelata* ve *H. bacteriophora* tarafından öldürülmüşlerse kadvranın rengi mor-kırmızı bir renk almaktadır. Bu renklemeler infektif juvenilin simbiyontu olan bakterinin pH' sına göre değişmektedir (Ehlers and Peters 1995).

Bu araştırmanın sonunda; EPN türlerinin ve dozlarının *B. germanica* üzerindeki öldürücü etkileri saat olarak kaydedilmiş, veriler "MINITAB" paket programı ile varyans analizi ve ortalamalar arası farkların istatistikî olarak önemli olup olmadığı "MSTAT" paket programında çoklu karşılaştırma yöntemlerinden "Duncan testi" ile belirlenmiştir. İstatistikî analizler, popülasyonun yarısının ve tamamının ölüm süreleri için ayrı ayrı yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

S. feltiae, *H. marelata* ve *H. bacteriophora* ; 50, 75, 100 ve 125 adet infektif juvenil / 2 ml Ringer solüsyonu dozlarında 3 tekerrürlü olarak, *B. germanica* üzerindeki öldürücü etkileri bakımından denenmiş ve bu etkiler saat olarak verilmiştir. Veriler, denemeye alınan EPN' in farklı dozlarının böcek popülasyonunun yarısını ve tamamını öldürdüğü zaman, saat olarak verilmiştir.

B. germanica erginleri *S. feltiae* tarafından öldürülmüşlerse renklerinde herhangi bir değişim olmamakta, fakat *H. marelata* ve *H. bacteriophora* tarafından öldürülmüşlerse kadvranın rengi mor-kırmızı olmaktadır. Kadvralardaki renk değişimi, böcekler White-Trap düzeneğine alındıktan 1 gün sonra olmuş ve infektif juvenil (i.j.) çıkışı ise 2. günde görülmüştür. Ayrıca i.j.' in kadvrayı terk ediş sürecinin 4 gün sürdüğü de gözlenmiştir. Bu şekilde böceklerin EPN tarafından öldüğü kesinlik kazanmıştır. Gözlemler sırasında böceklerin ölmeye kısa bir süre önce hareketsiz kaldıkları, ancak rahatsız edildiklerinde hareket ettikleri tespit edilmiştir. Deneme sonunda kontrol olarak kullanılan böceklerde hiçbir ölüm gözlenmemiştir.

B. germanica popülasyonunun yarısını en kısa zamanda öldüren EPN türü *S. feltiae* ' dir. Bu tür, 125 adet i.j./2ml R.s. dozunda uygulandığında 35. saatte popülasyonun yarısını öldürmektedir. Popülasyonun yarısını en geç öldüren tür ise *H. bacteriophora* olarak belirlenmiştir. Bu tür, 50 i.j. / 2 ml R.s. dozunda verildiğinde popülasyonun yarısını 102.33 saatte öldürmüştür. Böcek popülasyonunu tamamını ise en erken yine *S. feltiae* 125 i.j. / 2 ml R.s. dozunda, 49.66 saatte öldürürken, *H. bacteriophora* 50 i.j. / 2 ml R.s. dozunda yine en geç olarak 115 saatte öldürmüştür. Bu değerler istatistikî olarak analiz edilmiş ve aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

Böcek popülasyonunun yarısının ölmesi için geçen süreler arasında yapılan istatistikî analizlerde tüm dozlar arasındaki farklılıkların her üç türde de önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$). Doz arttıkça ölüm süresinde kısalma görülmüştür. Her üç tür 50 i.j./2 ml R. s. dozunda en uzun zamanda popülasyonun yarısını öldürürken,

125.j. / 2 ml R. s. dozunda en kısa zamanda popülasyonun yarısını öldürmektedir. Türler arası öldürme sürelerindeki farka bakıldığında uygulanan tüm dozlarda *S. feltiae* ile *H. marelata* arasındaki öldürme süresi istatistiki olarak önemsiz bulunurken, *H. bacteriophora*'nın tüm dozlardaki öldürme süresi diğer iki türden önemli derecede daha uzun bulunmuştur (Çizelge 1).

Böcek popülasyonunun tümünün ölmesi için geçen süreler arasında yapılan istatistiki analizlerde tüm dozlar arasındaki farklılıkların her üç türde de önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$). Her bir doz için türlerin hepsi aynı derecede etkilenmemişler ve aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Her üç türün neden olduğu ölüm süreleri arasındaki fark tüm dozlarda önemli bulunduğundan popülasyonun tamamını en kısa sürede öldüren tür *S. feltiae* olmuştur. İkinci sırada *H. marelata*, üçüncü sırada ise *H. bacteriophora* tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Denenen üç EPN türü arasında *B. germanica* üzerinde en etkili *S. feltiae* görülmektedir (Çizelge 1 ve 2). Bu tür, *B. germanica* üzerinde yapılacak olan biyolojik mücadele amaçlı çalışmalarda diğer 2 türe göre tercih

sebebi olabilir. Benzer sonuçlar, EPN'ı ticari olarak üreten ve pazarlayan e-nema GmbH firmasının araştırma ve geliştirme laboratuvarlarında da elde edilmiştir. Firmanın halen birçok ülkeye ihraç ettiği Nemaplus® ve Nemacel® isimli preparatlarında kullanılan EPN türü, *Steinernema feltiae*'dir. Bu preparatlar özellikle seralarda ve mantar kompostlarında zararlı olan böcek larvalarına karşı kullanılmaktadır. Ayrıca aynı firma yetkilileri *Heterorhabditis* spp.'lerin uygulanan ortamda dayanıklılık sürelerinin daha fazla olduğunu ve bu yüzden *Heterorhabditis* spp.'lerin daha çok açık alanlarda kullanıldıklarını belirtmektedirler. Bu özelliklerinden dolayı aynı firmanın Nema-green® adlı preparatı *Heterorhabditis* sp. içermekte ve bu Scarabaeidae familyası larvalarına karşı, Nematop® isimli preparat ise *Otiorynchus sulcatus*'a karşı açık alanlarda başarıyla kullanılmaktadır*.

Bu çalışmanın sonunda petrielerde EPN'ların *Blattella germanica* üzerinde etkili olduğu kanıtlanmıştır, ancak geniş alanlarda pratik olarak uygulanması için EPN'ların olumsuz çevre koşullarından etkilenmelerini engellemek amacıyla çeşitli formülasyonlar geliştirilmesi gerekmektedir. Bu şekilde EPN'ların daha uzun süre uygulanan yüzeyde canlı halde kalması sağlanmış olacaktır.

Çizelge 1. *B. germanica*'nın EPN türleri ile enfekte edilmesi sonunda popülasyonunun yarısının ölmesi için geçen sürelerin ortalamaları ve istatistiksel değerlendirmeleri

Doz (Adet i.J./2 ml R.s.)	Entomopatojen nematod türleri		
	<i>Steinernema feltiae</i>	<i>Heterorhabditis marelata</i>	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>
	Ort. süre (saat)	Ort. süre (saat)	Ort. süre (saat)
50	75.33 A	79.66 A	102.33 B
75	67.33 C	69.66 C	80.00 D
100	46.66 E	50.00 E	70.66 F
125	35.00 G	40.33 G	50.33 H

Aynı harfler değerler arasında istatistiki olarak farkın önemli olmadığını aynı harfler ise istatistiki olarak farkın önemli olduğunu göstermektedir.

Çizelge 2. *B. germanica*'nın EPN türleri ile enfekte edilmesi sonunda popülasyonunun tamamının ölmesi için geçen sürelerin ortalamaları ve istatistiksel değerlendirmeleri

Doz (Adet i.J./2 ml R.s.)	Entomopatojen nematod türleri		
	<i>Steinernema feltiae</i>	<i>Heterorhabditis marelata</i>	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>
	Ort. süre (saat)	Ort. süre (saat)	Ort. süre (saat)
50	90,00 A	95,00 B	115,00 C
75	79,66 D	82,00 E	99,33 F
100	63,66 G	69,00 H	84,00 I
125	49,66 I	55,00 K	69,33 L

Aynı harfler değerler arasında istatistiki olarak farkın önemli olduğunu göstermektedir.

* e-nema GmbH-Kiel/Germany firmasıyla yapılan sözlü görüşmelerden alıntı yapılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışmanın sonunda elde edilen verilerin istatistikî analizlerinin yapımı ve yorumunda görüşlerini aldığımız A. Ü. Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Tahsin KESİCİ' ye ve Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Yard. Doç. Dr. Mevlüt EMEKÇİ' ye teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Ehlers, R. and A. Peters, 1995. Entomopathogenic nematodes in Biocontrol: Feasibility, perspectives and possible risks. In: H. M. T. Hokkanen & J. M. Lynch (eds.), Biological Control: Benefits and risks, University Press, Cambridge, 119-136.
- Ehlers, R. 1996. Current and Future Use of Nematodes in Biocontrol: Practice and Commercial Aspect with Regard to Regulatory Policy Issue. *Biocontrol Science and Technology* 6, 303-316.
- Glaser, R. W. and C. C. Farrell, 1935. Field experiments with the Japanese beetle and its nematode parasite. *Journal of the New York Entomological Society* 43, 345-371.
- Glaser, I. 1995. Application of Entomopathogenic Nematodes On Plant Foliage. Cost 819 Application and Persistence of Entomopathogenic Nematodes, EUR 18873, pp. 37.
- Ishibashi, N. and E. Kondo, 1990. Behavior of infective juveniles. In *Entomopathogenic Nematodes in Biocontrol* (ed. R. Gaugler and H. K. Kaya), pp. 139-150. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kaya, H. K. and R. Gaugler, 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.* 38, 181-206.
- Kaya, H. K. and S. P. Stock, 1997. Techniques in insect nematology. *Manual of Techniques in Insect Pathology* 281-324. Academic Press, San Diego.
- Koopenhöfer, A. M. and H. K. Kaya, 1999. Ecological Characterization of *Steinernema rarum*. *Journal of Invertebrate Pathology* 73, 120-128.
- Peters, A. 1996. The Natural Host Range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and Their Impact on Insect Populations. *Biocontrol Science and Technology* 6, 389-402.
- Poinar, G. O. 1979. *Nematodes for Biological Control of Insects*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- White, G. F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science* 66, 302-303.