

## **Domates yaprak galeri güvesi *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)'nın biyolojik mücadelesine yönelik çalışmalar<sup>1</sup>**

**Feray KARABÜYÜK<sup>2</sup>, Sümer HORUZ<sup>3</sup>, Yeşim AYSAN<sup>3</sup>, M. Rifat ULUSOY<sup>3</sup>**

**The studies on biological control of tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick)**

**Abstract:** In this study aimed that to investigate the reason/s of unexpected dead *Tuta absoluta* larvae obtained from surveys conducted in tomato production fields in Eastern Mediterranean Region. Fungal and bacterial strains were isolated from dead larvae. In the experiment fungal and bacterial strains, KingBo (0.2% Oxymatrine, 4% Psoralen) as a commercial product, and sterilled water as a control were sprayed to second and third instar larval stages. Experiments were controlled every day and the results were evaluated 7 days later applications. The larvae were affected by three bacterial strains, three fungal strains and KingBo at the ratios of 30.55-33.33%, 61.11-63.88% and 75-100%, respectively. The bacterial strain has not been identified yet, but fungal strain was identified as *Aspergillus* sp. This is the first step of our study on biological control of tomato leaf miner by entomopathogenic bacterial and fungal strains.

**Key words:** *Tuta absoluta*, entomopathogen, biological control, *Aspergillus*, KingBo

**Özet:** Bu çalışmada, Doğu Akdeniz Bölgesi domates alanlarında yapılan sürveylerden elde edilen *Tuta absoluta* larvalarında gözlenen ani ölüm neden/nedenleri araştırılmıştır. Ölü larvalardan gerçekleştirilen izolasyonlarda bakteri ve fungus izolatları elde edilmiştir. Elde edilen izolatlar ile ticari bir preparat olan KingBo (0.2 % Oxymatrine, 4 % Psoralen) *T. absoluta*'nın 2. ve 3. dönem larvalarına püskürtme yöntemi ile uygulanmış, kontrol olarak steril su kullanılmıştır. Deneme günlük olarak takip edilmiş ve 7. günde sonlandırılmıştır. Üç bakteri izolatu, larvaların ortalama % 30.55-33.33'ünü, üç fungus izolatu ortalama % 61.11-63.88'ini ve KingBo preparatı ise % 75-100'ünü etkilemiştir. Çalışmada izole edilen bakteri henüz tanılanamamış, fungus ise *Aspergillus* cinsine bağlı bir tür olarak saptanmıştır. Bu çalışma domates yaprak galeri güvesine karşı entomopatojen bakteri veya funguslarla biyolojik mücadele çalışmalarımızın ilk adımıdır.

**Anahtar sözcükler:** *Tuta absoluta*, entomopatojen, biyolojik mücadele, *Aspergillus*, KingBo

<sup>1</sup>Bu çalışma; Ç. Ü. Bilimsel Araştırmalar Birimince desteklenen ZF2011BAP11 nolu projenin bir bölümü olup, 28-30 Haziran 2011 tarihinde Kahramanmaraş'ta düzenlenen "Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi"nde poster olarak sunulmuştur.

<sup>2</sup>Nevşehir Üniversitesi, Avanos Meslek yüksek Okulu, 50500, Avanos, Nevşehir

<sup>3</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 01410, Sarıçam, Adana

Sorumlu yazar (Corresponding author) e-posta (e-mail): feraykrbyk@gmail.com

Alınış (Recieved): 25.04.2012

Kabul edilmiş (Accepted): 23.10.2012

## Giriş

Dünyada ve Türkiye’de önemli bir üretim potansiyeline sahip olan sebzeler, insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Tüketimi çok eski zamanlara dayanmakla birlikte modern anlamda sebze yetiştiriciliği 19. yüzyılın ikinci yarısından sonra başlamıştır. Türkiye, km<sup>2</sup> ve nüfus başına sebze üretimi bakımından dünyada ilk sırada yer almakta ve pek çok sebze türünün üretiminde ise dünyada ilk beş ülke arasına bulunmaktadır (Abak et al. 2010).

Dünya çapında yetiştiriciliği yapılan, *Solanaceae* familyasından bir tür olan domates (*Solanum lycopersicum* Mill.), tropik bölgelerde çok yıllık, diğer bölgelerde ise tek yıllık bir kültür bitkisidir. Anavatanı ekvatorun Şili’ye kadar uzanan Amerika’nın dar batı kıyılarıdır ve dünyaya Meksika’dan yayılmıştır. Domatesin ilk olarak ticari gelişimi 1800’lü yılların ortalarında Amerika’da gerçekleşmiştir (Anonymous 2009). 2009 verilerine göre, Türkiye domates üretim miktarı bakımından 10.745.600 ton üretimiyle Çin, ABD, Hindistan’dan sonra 4. sırada, Türkiye’de yetiştirilen sebzeler arasında ise birinci sırada yer almaktadır (FAO 2011). 2010 yılı verilerine göre ülkemizde domates üretimi 10.052.000 tondur (TÜİK 2011).

Domates üretimini önemli düzeyde etkileyen pek çok hastalık, zararlı ve yabancı ot bulunmakta olup, ülkemizde domates üretimini kısıtlayan zararlılar Beyazsinek (*Bemisia tabaci* Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae), Yaprak galerisineği (*Liriomyza trifolii* Burgess) (Diptera: Agromyziidae), Kırmızı örümcek (*Tetranychus cinnabarinus* (Boisd) ) (Acari: Tetranychidae) olarak bildirilmiştir (Uygun et al. 1998). 2009 yılında ülkemize giriş yapan *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)’nın domatesin yoğun olarak yetiştirildiği alanlarda önemli zararlara neden olduğu bildirilmiştir (Kılıç 2010).

*Tuta absoluta* Güney Amerika’da domatesin en önemli zararlılarından birisi olarak bildirilmiştir (Barrientos et al. 1998; Miranda et al. 1998). Avrupa da ilk kez 2006’da İspanya’nın doğusunda rapor edilmiş (Urbaneja et. al. 2007), ardından hızlıca tüm Akdeniz Ülkelerine ve Avrupa’ya yayılmıştır (Potting 2009). Bulunduğu ülkelerde domates alanlarında önemli zararlara neden olmuştur (Germain et al. 2009).

Zararlılar ile mücadele daha çok kimyasal kullanımı üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak, bu kimyasallardan sadece bir kısmı zararlıyı baskı altına alırken, aynı zamanda tozlayıcı böceklere ve yararlı mikroorganizmalara olumsuz etki etmektedir. Bu nedenle, hedef dışı organizmalar ve çevrenin kimyasallardan etkilenmesini engellemek amacıyla diğer mücadele yöntemlerinin de entegre mücadele stratejisi içerisinde değerlendirilmesi zorunlu hale gelmektedir (Weisenburger 1993; Desneux et al. 2007; Landgren et al. 2009). Ayrıca kimyasalların uzun süre kullanımından ötürü oluşabilecek dayanıklılık riski de önemli bir tehdit olarak görülmektedir (Devonshire & Field 1991). Zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasalların çevreye ve hedef dışı organizmalara (insan, böcek, kuş, yararlı organizmalar vb.) olumsuz etkileri, dayanıklılık sorunu, yeterli ve etkili mücadelenin sağlanamaması gibi özelliklerden ötürü son dönemlerde

çalışmalar biyolojik mücadele üzerine yoğunlaşmıştır. Biyolojik mücadele içerisinde özellikle zararlılarla mücadelede etkili olduğu bilinen entomopatojenler *T. absoluta* mücadelesinde kullanılmaya başlanmıştır. Biyolojik mücadelede kullanılan mikrobiyal etmenlerin birçoğu doğadaki hastalıklı böceklerden izole edilmektedir. Doğada böceklerin hastalanmalarına ve ölmelerine neden olan orjini bakteri, virüs, fungus, nematod veya protozoa gibi mikroorganizmalara entomopatojen denilmektedir (Demirbağ 2008).

*Tuta absoluta*'nın Doğu Akdeniz Bölgesi'ndeki yaygınlığı belirlemek amacıyla yapılan çalışma kapsamında, doğadan toplanan *T. absoluta* popülasyonu iklim odasında üretimi yapılarak çalışma materyali olarak yıl boyunca üretilmektedir. Aralık 2010 tarihinde üretim kafeslerimizde Şekil 1'de görüldüğü gibi *T. absoluta* larvalarında ölümler tespit edilmiştir. Binoküler altında yapılan incelemelerde larvaların önce kahverengileştiği (Şekil 1a), daha sonra üzerinin fungal hiflerle (Şekil 1b) kaplandığı sonuçta öldüğü tespit edilmiştir. Ayrıca hasta larvalar yakınında eksudat benzeri kristal yapılar (Şekil 1c) gözlenmiştir. Bu çalışmamızdaki amacımız *T. absoluta*'nın ölüm nedeni veya nedenlerini belirlemektir. Bu araştırma çerçevesinde aşağıdaki sorulara yanıt aranmış ve ölüm nedeni olarak tespit edilen mikroorganizma ile gelecekte bu zararlının biyolojik mücadelesinde kullanım olanaklarına basamak oluşturması hedeflenmiştir.

a) Kahverengileşmiş ancak henüz üzerinde fungal gelişim olmayan larvalardan bakteri izolasyonu ve sağlıklı larvalarda yapılacak patojenite çalışmalarıyla ölüm nedeninin bakteri olup olmadığının tespit edilmesi,

b) Tamamen ölmüş *T. absoluta* larvaları üzerinde gelişen fungal yapılardan fungus izolasyonu yapılarak sağlıklı larvalardaki patojenite çalışmalarıyla ölüm nedeninin fungus olup olmadığının tespit edilmesi,

c) Ölen *T. absoluta* larvaları yakınında tespit edilen eksudat benzeri kristal yapılar, mikroorganizmanın bakteri olabileceğini düşündürmüş olup, bu kristal yapılardan bakteri ve fungus izolasyonu bu yapıların hangi mikroorganizmayla ilişkili olduğunun tespit edilmesi,

d) *T. absoluta* larvalarında ölüme neden olan mikroorganizmanın obligat olup olmadığının tespit edilmesi.

## Materyal ve yöntem

### Bakteri izolasyonu

Binoküler altında inceleme yapılarak yaprak epidermisi arasına yerleşen kahverengileşmiş fakat üzerinde fungal gelişim olmayan larvalardan entomopatojen bakteri izolasyonu laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiştir. Seçilen larvaların yüzey dezenfeksiyonu işlemi % 1'lik sodyum hipoklorite (NaOCl) 2 dakika daldırılma ve ardından steril saf suyla 2 dakika durulama şeklinde yapılmıştır. Bu larvalar içerisinde 1 ml steril fizyolojik su (% 0.85 NaCl) bulunan steril porselen havan içerisinde alınarak ezilmiştir. Havan içerisindeki süspansiyondan 1 ml alınarak 9 ml fizyolojik su bulunan tüplerde 1/10, 1/100, 1/1000 oranlarında seyreltme serileri hazırlanmıştır. Seyreltme serilerinden 100 µl

alınarak King B (20 gr proteose peptone, 1.5 gr  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ , 1.5 gr  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 10 ml gliserin, 15 gr agar) besiyerine (Lelliot & Stead 1987) üç tekrarlı olarak yayma işlemi gerçekleştirilmiştir. İzolasyon petripleri 24 °C'deki inkübatörde 4 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besi yerinde gelişen bakteri kolonileri seçilerek King B besi yerine alt kültür saflaştırması yapılmıştır. Bakteri izolatları eğik YDCA besi yerinde +4 °C'deki buzdolabında saklanmıştır. Bu kolonilerden 11 tanesi King B besiyerine saflaştırılmış (Çizelge 1) ve patojenite testlerinde kullanılmak üzere YDC besiyerinde +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

### **Fungus izolasyonu**

Binoküler altında yapılan incelemede yaprak epidermisi arasında bulunan kahverengileşmiş, tamamen ölmüş ve üzerinde fungal yapıların bulunduğu larvalardan entomopatojen fungus izolasyonu laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiştir. Fungus izolasyonunda yüzey dezenfeksiyonu yapılarak ve yapılmadan olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmıştır. (1) Larvaların yüzey dezenfeksiyonu % 1 lik NaOHCl içerisine 2 dakika daldırma, ardından steril saf suya 2 kez 2 dakika daldırma şeklinde gerçekleştirilmiş ve larvalar steril kurutma kağıtları arasında kurumaya bırakılmıştır. İyice kuruyan larvalar Potato dekstroza agar (200 gr patates, 20 gr glikoz, 15 gr agar) (PDA) (Agrios, 2005) besi yerine ekimi yapılmıştır. (2) Larvalara yüzey dezenfeksiyonu yapılmadan direk ekim yöntemi kullanılmıştır. Petripler 24 °C'de inkübatörde 5-7 gün inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası farklı fungus gelişimlerinden 8 mm çapındaki mantar deliçleriyle diskler alınarak PDA besiyerine saflaştırma yapılmış ve hifsel gelişimleri mikroskopta incelenmiştir. Fungal izolatlar eğik PDA besi yerinde 4 °C'deki buzdolabında saklanmıştır.

### **Eksudat benzeri kristal yapılardan izolasyon**

Ölen *Tuta absoluta* larvaları yakınında tespit edilen eksudat benzeri kristal yapılardan yüzey dezenfeksiyonu yapılmaksızın yukarıda açıklanan yöntemlere göre bakteri izolasyonu King B besiyerine ve fungus izolasyonu PDA besiyerine yapılmıştır. Saflaştırılan izolatlar + 4 °C'deki buzdolabında muhafaza edilmiştir.

### **Patojenite testleri**

Doğadan toplanan *T. absoluta* larvaları  $25 \pm 1$  °C'de %  $60 \pm 10$  oransal nem koşullarına sahip uzun gün aydınlatmalı (16:8 saat) böcek üretim odalarında üretilmiştir. Ergin olan larvalardan elde edilen yumurtalar geliştirilmiş ve denemede kullanılmak üzere larvalar günlük takip edilerek ikinci ve üçüncü dönem larva seçilerek patojenite çalışmalarında kullanılmıştır.

Patojenite testlerinde,  $25 \pm 1$  °C sıcaklıkta ve %  $65 \pm 5$ 'lik orantılı neme ayarlı uzun gün aydınlatmalı (16:8 saat) bitki üretim odalarında yetiştirilen domates yaprakları kullanılmıştır. Yapraklar, 6 cm çapındaki üst kapağı tül ile kaplı petripler içerisine en alt kısma pamuk, ortaya kurutma kâğıdı ve en üst kısma yaprak gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Her bir yaprağa 6 adet sağlıklı larva konulmuş ve altı tekrarlı olarak deneme kurulmuştur. Her bir izolat için toplam 36 sağlıklı *T. absoluta* larvaları kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak larvalara steril su

uygulanmıştır. Petriler 25 °C’de % 60 nem koşullarındaki inkübatörde muhafaza edilmiş ve deneme günlük olarak takip edilerek 7. günün sonunda sağlıklı ve hasta larva şeklinde değerlendirme yapılmıştır.



**Şekil 1.** Kahverengileşmiş ölü larva (a), üzerinde fungal misel yapılarının bulunduğu ölü larva (b), etrafında kristal yapıların görüldüğü ölü larva (c).

**Figure 1.** Brown colored dead larvae (a), Dead larvae covered by fungal mycelia (b), Dead larvae surrounded with ooze (c).

#### **Bakteri izolatlarının *Tuta absoluta*'ya etkisi**

Ön çalışma amacıyla sadece SF-2 kodlu izolat ilk denemede kullanılmış ve izole edilen bakteri izolatının tümünün aynı koloni morfolojisine sahip olmasından dolayı patojenite testlerinde SF-1, SF-2 ve SF-3 kodlu izolatlar ikinci denemeye alınmıştır. Her bir bakteri izolatı 48 saat besi yerinde geliştirildikten sonra hazırlanan süspansiyon spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.2 ölçüm değerine ayarlanmıştır. Bu süspansiyon petrilerde bulunan ikinci ve üçüncü dönem *T. absoluta* larvalarına püskürtme yöntemiyle uygulanarak bakteri izolatlarının patojeniteleri testlenmiştir.

#### **Fungus izolatlarının *Tuta absoluta*'ya etkisi**

Ön çalışma amacıyla sadece SF-13 kodlu izolat ilk denemede kullanılmıştır. Çalışmada iki farklı koloni morfolojisine sahip fungal izolat elde edildiğinden SF-12, SF-13, SF-14 ve SF-15 kodlu dört fungal izolat patojenite testlerinde kullanılmıştır. Her bir fungus izolatının  $10^6$  spor/ml yoğunluğunda hazırlanan spor süspansiyonu ikinci ve üçüncü dönem *T. absoluta* larvalarına püskürtme yöntemiyle uygulanarak fungal izolatların patojeniteleri testlenmiştir.

### **KingBo'nun *Tuta absoluta*'ya etkisi**

Karşılaştırma preparatı olarak Biotech Co. Ltd. firması tarafından üretilen ve Makro tarım tarafından ihracatı yapılan KingBo (% 0.2 Oxymatrine, % 4 Psoralen) ticari preparatı kullanılmıştır. Firmanın tavsiye ettiği 150 ml/l uygulama dozunda hazırlanan preparat, petrielerde bulunan ikinci ve üçüncü dönem *T. absoluta* larvalarına püskürtme yöntemiyle uygulanarak etkisi testlenmiştir.

Değerlendirmede entomopatojen izolatlarının *T. absoluta* larvalarının ölümüne etkisi yüzde olarak hesaplanmıştır. İzolatlar arasındaki istatistiki farklar ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ( $p \leq 0.05$  önem düzeyinde) ile karşılaştırılmıştır.

### **Bulgular ve tartışma**

#### **Bakteri izolasyonu**

Kahverengileşmiş ancak üzerinde fungal gelişim olmayan yüzey dezenfeksiyonu yapılmış larvalardan King B besiyerine yapılan izolasyonlarda, hepsi krem renkte ve mukoid özellikte tek tip bakteri koloni gelişimi tespit edilmiştir (Şekil 2a).

#### **Fungus izolasyonu**

Kahverengileşmiş, tamamen ölmüş ve üzerinde fungal yapıların bulunduğu larvalardan PDA besiyerine yapılan izolasyonlarda petrielerde iki farklı fungal gelişim tespit edilmiştir. Fungal gelişimlerden biri hardal sarısı renkte ve havai (Şekil 2b) görünümde iken diğeri yeşil renkte ve tozlu görünümde. Bu fungal izolatların yüzey dezenfeksiyonu yapılmış ölü larvalardan izole edildiği belirlenmiştir. Gelişen iki fungus izolatından hardal sarısı renkte olandan bir ve yeşil renkte olandan bir izolat saflaştırılmıştır. İzole edilen bu fungal izolatların özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Fungal izolatlardan hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendiğinde, hardal sarısı renkte gelişen fungal izolatların konidioforların ucundaki konidium yapılarından dolayı *Aspergillus* cinsine bağlı bir tür olduğu Prof. Dr. Mehmet Biçici tarafından belirlenmiştir (Şekil 2c).

#### **Eksudat benzeri kristal yapılardan izolasyon**

Kahverengileşmiş fakat üzerinde fungal gelişim olmayan larvaların etrafında oluşan eksudat benzeri kristal yapılardan yapılan bakteri izolasyonunda herhangi bir bakteri izolatu elde edilememiştir. PDA besi yerine yapılan izolasyonda hardal sarısı renkte fungal gelişim görülmüş ve beş fungal izolat (SF-14, SF-15, SF-16, SF-17 ve SF-18 kodlu izolatlar) alt kültüre alınarak saflaştırılmıştır (Çizelge 1).

Fungal izolatlardan hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendiğinde, ölü larvadan izole edilen SF-13 kodlu izolat ile eksudatlardan izole edilen hardal sarısı renkte beş fungal izolatın *Aspergillus* cinsine bağlı aynı tür oldukları belirlenmiştir (Şekil 2c).

#### **Patojenite testleri**

Ön denemede kullanılan SF-2 kodlu bakteri izolatu 36 larvanın 14'ünü, SF-13 kodlu fungal izolat 36 larvanın 18'ini ve KingBo preparatı 36 larvanın 27'sini öldürmüştür. Oransal olarak değerlendirildiğinde, SF-2, SF-13 ve KingBo preparatı

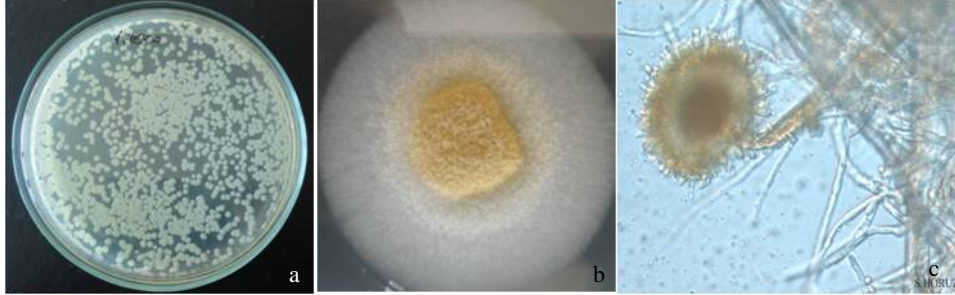
sırasıyla *T. absoluta* larvalarının % 39, % 50 ve % 75'ini öldürmüştür. İstatistiki değerlendirmelere göre tüm uygulamalar birbirinden farklı bulunmuştur. En etkili uygulamanın KingBo olduğu bunu fungal izolat olan SF-13 ve ardından SF-2 kodlu bakteri izolatatının takip ettiği belirlenmiştir.

**Çizelge 1.** Ölü *Tuta absoluta* larvalarından izole edilen fungal ve bakteriyel izolatlar

**Table 1.** Fungal and bacterial strains isolated from dead larvae of *Tuta absoluta*

İzolat Kodu	Mikroorganizma	İzolasyon yeri	Yüzey dezenfeksiyonu	Özelliği
SF-1	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-2	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-3	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-4	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-5	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-6	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-7	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-8	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-9	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-10	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-11	Bakteri	Kahverengi larva	var	Krem, mukoid
SF-12	Fungus	Kahverengi larva	var	Yeşil renkte
SF-13	Fungus	Kahverengi larva	var	Hardal sarısı
SF-14	Fungus	Eksudat	yok	Hardal sarısı
SF-15	Fungus	Eksudat	yok	Hardal sarısı
SF-16	Fungus	Eksudat	yok	Hardal sarısı
SF-17	Fungus	Eksudat	yok	Hardal sarısı
SF-18	Fungus	Eksudat	yok	Hardal sarısı

Çizelge 2'de görüleceği gibi, yedi izolat ile yapılan diğer denemede aynı morfolojik görünümüne sahip SF-1, SF-2 ve SF-3 kodlu bakteri izolatlarıyla yapılan patojenite testlerinde, SF-1 kodlu izolat 36 larvanın 11'ini, SF-2 kodlu izolat 36 larvanın 12'sini, SF-3 kodlu izolat 36 larvanın 11'inin ölümüne neden olduğu tespit edilmiştir. Bakteri izolatları sırasıyla *T. absoluta* larvalarının % 31, % 33 ve % 31'inin gelişimini engellemiştir. Her ne kadar bu izolatların tür düzeyinde tanısı yapılmassa da, üç bakteri izolatıyla yapılan patojenite çalışmalarında *T. absoluta* larvaları üzerine etkinliklerinin benzer olması ve benzer koloni morfolojisine sahip olmaları bu izolatların aynı tür oldukları fikrini uyandırmaktadır. Sonuç olarak üç bakteri izolatu ortalama olarak *T. absoluta* larvalarının % 32'sinin gelişimini engellediği saptanmıştır.



**Şekil 2.** Krem renginde, mukoid tipte bakteri gelişimi (a), *Aspergillus* sp.'nin PDA besi yerinde hardal sarısı renginde gelişimi (b), *Aspergillus* sp.'nin sporangiumunun mikroskopik görünümü (c).

**Figure 2.** Creamy and mucoid bacterial growth (a), growth of yellow colored fungal strain, *Aspergillus* sp. on PDA (b) and microscobic examination of sporangium of *Aspergillus* sp. (c).

Yeşil renkte fungal gelişim gösteren SF-12 izolatının *T. absoluta* larvalarının yaşamına herhangi bir etkisi bulunmamıştır. Bu etkisiz izolatın saprofit olduğu düşüncesine varılabilir. PDA besi yerinde hardal sarısı renkte fungal gelişim gösteren SF-13, SF-14 ve SF-15 kodlu izolatlar çalışmamızda en başarılı görülen izolatlardır. Patojenite testlerinde, SF-13 ve SF-14 kodlu izolatlar 36 larvanın 23'ünü, SF-15 kodlu izolat 36 larvanın 22'sinin gelişimini engellemiştir. Entomopatojen özellikteki SF-13, SF-14 ve SF-15 kodlu izolatlar ortalama olarak *T. absoluta* larvalarının % 64, % 64 ve % 61'inin ölümüne neden olmuşlardır. Mikroskopik incelemelere göre SF-13, SF-14 ve SF-15 kodlu izolatların *Aspergillus* cinsine bağlı aynı tür oldukları bilinmesine rağmen patojenite çalışmalarında üçü de kullanılmış ve ortalama olarak % 63 oranında *T. absoluta* larvalarının ölümüne neden olmuşlardır. Çalışmada karşılaştırma preparatı olarak kullanılan ticari bir ticari preparat olan KingBo uygulanmış larvalarda 2. günün sonunda tümünün öldüğü belirlenmiştir. Etkililik oranı % 100 olan KingBo çalışmamızdaki en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. Bu preparat larvalar pupa dönemine geçmeden 2. günün sonunda larvaların ölümüne neden olmuştur. Negatif kontrol olarak kullanılan steril su uygulanmış larvalarda herhangi bir ölüme rastlanmamıştır.

Sonuç olarak; ikinci denemede en etkili uygulamanın KingBo preparatında olduğu saptanmış ve bu uygulama istatistiki olarak diğerlerinden farklı bulunmuştur. Ardından fungal izolatlardan SF-13, SF-14 ve SF-15'in istatistiki olarak aynı grupta yer alan diğer başarılı izolatlar olduğu belirlenmiştir. Bakteriyel izolatlar olan SF-1, SF-2 ve SF-3 de istatistiki olarak aynı grupta yer alan diğer başarılı uygulamalardır. SF-12 kodlu fungal izolat negatif kontrolle aynı istatistiki grupta yer alarak etkisiz olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmayla kahverengileşmiş ve ölmüş *T. absoluta* larvalarının ölüm nedeninin bakteriyel ve fungal etmenlerden kaynaklandığı ortaya konmuştur. Ölen *T. absoluta* larvaları



yakınında tespit edilen eksudat benzeri kristal yapıların entomopatojen fungusla ilişkili olduğu ve hardal sarısı renkte gelişim gösteren fungus tarafından üretildiği belirlenmiştir. Entomopatojen bakteri veya fungusların obligat olmadığı ve kültüre alınabildiği belirlenmiştir. Ölümlere neden olan entomopatojen mikroorganizmalar izole edilmiş ve sağlıklı *T. absoluta* larvaları üzerindeki etkileri ortaya konmuştur.

**Çizelge 2.** Bakteriyel ve fungal izolatların *Tuta absoluta* larvalarına etkisi

**Table 2.** Effects of bacterial and fungal strains against *Tuta absoluta* larvae

İzolatlar	Tekerrür sayısı (n)	Ölüm oranı (%)
KingBo	6	100.00a
SF-1	6	30.55c
SF-2	6	33.33c
SF-3	6	30.55c
SF-12	6	0.00d
SF-13	6	63.88b
SF-14	6	63.88b
SF-15	6	61.11b
Steril Su	6	0.00d

\*Sütunlar yukardan aşağıya incelendiğinde aynı harfi içeren değerler Duncan (P=0.05) testine göre istatistik olarak farklı değildir F (8, 45)= 222.59, p ≤ 0.05

Batalla-Carrera et al. (2010), entomopatojenik üç farklı nematod türünün *T. absoluta*'ya olan etkisini saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada, laboratuvar denemelerinde % 78.6-100 oranında larva ölümleri, % 10'dan az pupa ölümleri olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da % 31-100 arasında larva ölümleri saptanmıştır. González-Cabrera et al. (2011), çalışmalarında *Bacillus thuringiensis*'in *T. absoluta*'ya etkisini araştırmış, 1. dönem larvaların 2. ve 3. dönem larvalara göre daha hassas olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca sadece *Bacillus thuringiensis* formülasyonu içeren preparatların etmene püskürtülmesiyle etmenin yüksek oranda baskı altına alınabileceğini ve kimyasal mücadeleye alternatif olabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda 1. dönem larvalar hassas olduğu için 2. ve 3. dönem *T. absoluta* larvaları kullanılmıştır.

Dünyada ve ülkemizde *T. absoluta*'nın entomopatojenlerle biyolojik mücadelesi üzerine yapılan çalışmalarda ümitvar sonuçlar elde edilmiştir. Bizim çalışmamız Domates yaprak galeri güvesi *T. absoluta*'ya karşı entomopatojen bakteri veya funguslarla biyolojik mücadele çalışmalarımızın ilk adımı niteliğindedir. Gelecekteki çalışmalarımız bu izolatların tanılarının tür düzeyinde yapılması ve izolatların doğal şartlarda etkinliklerinin belirlenmesi olacaktır.

## Teşekkür

Çalışmada; izole edilen entomopatojen fungusun cins düzeyinde tanısını yapan Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ'ye, KingBo preparatını temin eden Prof. Dr. Fikretin ŞAHİN'e, böcek larvalarını fotoğraflayan Doç. Dr. Kamil KARUT'a ve makaleyi gözden geçiren Doç. Dr. M. Bora KAYDAN'a teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- Abak K. , F. Düzyaman, V. Şeniz, H. Gülen, A. Pekşen & H. Ç. Kaymak 2010. Sebze Üretimini Geliştirme Yöntem ve Hedefleri. VII. Ziraat Kongresi, 11-15 Ocak 2010, Ankara, 477-492 s.
- Agrios G. N. 2005. Plant pathology. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, Burlington, Madison, USA, 922 pp.
- Anonymous 2009. Domatesin Türkiye ve dünyadaki durumu, BATEM. <http://www.batem.gov.tr> (Erişim tarihi: 12.12.2011).
- Barrientos Z. R. , H. J. Apablaza, S. A. Norero & P. P. Estay 1998. Temperatura base y constante térmica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ciencia Investigación Agraria*, 25: 133–137.
- Batalla-Carrera L. , A. Morton & F. García-del-pino 2010. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. *BioControl*, 55: 523-530.
- Demirbağ Z. 2008. Entomopatojenler ve biyolojik Mücadele. Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon, 325 s.
- Desneux N. , A. Decourtye & J.M. Delpuech 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52: 81–106.
- Devonshire A.L. & L.M. Field 1991. Gene amplification and insecticide resistance. *Annual Review of Entomology*, 36: 1–23.
- FAO 2011. <http://faostat.fao.org> (Erişim Tarihi: 25.11.2011).
- Germain J.F., A.L. Lacordaire, C. Cocquempot, J.M. Ramel & E. Oudard 2009. Un nouveau ravageur de la tomate en France: *Tuta absoluta*. *PHM-Revue Horticole*, 512: 37–41.
- González-Cabrera J. , O. Mollá, H. Montón & A. Urbaneja 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* ( Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:Gelechiidae). *BioControl*, 56: 71-80.
- Kılıç T. 2010. First record of *Tuta absoluta* in Turkey. *Phytoparasitica*, 38 (3): 243-244.
- Landgren O. , R.A. Kyle, J.A. Hoppin, L.E. Beane Freeman, J.R. Cerhan, J.A. Katzmann, S.V. Rajkumar & M.C. Alavanja 2009. Pesticide exposure and risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance in the Agricultural Health Study. *Blood*, 113: 6386–6391.
- Lelliot R.A. & D.E. Stead 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases Plants. Blackwell Scientific Publications, Oxford, Uk.
- Miranda M.M.M. , M. Picanco, J.C. Zanuncio, R.N.C. Guedes 1998. Ecological Life Table of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol Science Technology*, 8: 597–606.
- Potting R. 2009. Pest risk analysis, *Tuta absoluta*, tomato leaf miner moth. Plant protection service of the Netherlands, 24 pp.
- TÜİK 2011. Türkiye istatistik kurumu. <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim tarihi: 20.11.2011).

- Urbaneja A. , R. Vercher, V. Navarro Llopis, J.L. Porcuna & F. Garcia Mari 2007. La polilla del tomate, ‘Tuta absoluta’. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, 194: 16–23.
- Uygun N. , M.R. Ulusoy & H. Başpınar 1998. Sebze Zararlıları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No:213. Ders Kitapları no: A- 68, Adana .I. Baskı, 160 s.
- Weisenburger D.D. 1993. Human health: effects of agrichemicals use. *Human Pathology*, 24: 571–576.