

Türkiye için yeni bir entomopatojen nematod; ***Steinernema carpocapsae*** (Weiser, 1955) (Rhabditida: Steinernematidae)*

İlker KEPENEKÇİ** Güler ÖZTÜRK**

Summary

A new species of entomopathogen nematode for Turkey *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Rhabditida: Steinernematidae)

The species of *Steinernema* Travassos, 1927, *Neosteinerema* Nguyen & Smart, 1994 (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae) have more important role than the other nematod groups in biological control of the insect pests. In this study, *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Rhabditida: Steinernematidae) was detected from the soil of forest areas of Alanya (Antalya). The morphological and morphometric characteristics of *S. carpocapsae* were determined. In addition, its distribution area and hosts were given according to the literature. It is a new record for nematoda fauna of Turkey.

Key words: Entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae*, soil, Antalya

Anahtar sözcükler: Entomopatojen nematodlar, *Steinernema carpocapsae*, toprak, Antalya

Giriş

Entomopatojen nematodlar olarak bilinen *Steinernema* Travassos, 1927, *Neosteinerema* Nguyen & Smart, 1994 (Rhabditida: Steinernematidae) ve *Heterorhabditis* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae) cinslerine ait türler, böceklerin biyolojik mücadelesinde diğer nematod gruplarına göre çok

* Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Tarafından desteklenen "Entomopatojenik nematodlar (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae)'ın Tespiti ve Biyolojik Mücadelede Kullanılma Olanakları Üzerinde Araştırmalar" adlı proje çalışmaları kapsamında saptanmıştır.

** Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, 06172 Yenimahalle, Ankara

e-mail: ilker_kepenekci@ankara.tagem.gov.tr

Alınış (Received): 04.08.1999

önemli bir yere sahiptir. Dünya'da, *Steinernema* cinsine ait 22, *Neosteinerema* cinsine ait 1, *Heterorhabditis* cinsine ait 8 olmak üzere toplam 31 tür tespit edilmiştir (Hominick et al., 1997).

Türkiye'de entomopatojen nematodlarla ilgili çalışmalara son yıllarda başlanmıştır. Şimdiye kadar Özer et al. (1995) tarafından Rize'den alınan toprak örneklerinde *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) (Rhabditida: Steinernematidae) ve Kepenekci et al. (1999) tarafından Ekecik (Aksaray) kışlağında toplanan Kıml (*Aelia rostrata* Boh.) (Heteroptera: Pentatomidae) populasyonlarında *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae) saptanmıştır.

Bu çalışmada Alanya (Antalya) ilçesindeki orman alanlarından alınan bir toprak örneğinde *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Rhabditida: Steinernematidae) saptanmıştır. Söz konusu türün morfolojik ve morfometrik özellikleri belirlenmiş, literatür kayıtlarına göre yayılış alanı ve konukçuları verilmiştir. Çalışma sonucunda saptanan söz konusu tür Türkiye nematod faunası için yeni kayıt niteliğindedir.

Materyal ve Metot

Çalışmanın ana materyalini *S. carpocapsae* türüne ait populasyon ile bu nematodların izolasyonu, üretilmesi için kullanılan *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Galleriidae) kültürü oluşturmuştur.

Entomopatojen nematodların üretilmesi ve kültürün yenilenmesi için "White tuzak" metodu kullanılmıştır (White, 1927). Bu amaca yönelik olarak sürekli *G. mellonella* üretilmiştir. *G. mellonella* larvalarının yetiştirilmesinde; 890 g un, 22 g kuru ekmek mayası, 500 g gliserin, 500 g bal, 445 g buğday kepeğinden oluşan özel besin ortamı hazırlanmıştır (Haydak, 1936; Mohammed & Coppel, 1983).

Nematodların preparasyonu ve teşhisi için her bir döneme (enfektif larva, dişi ve erkek) ait ortalama 100 nematod, Ringer solüsyonunda (9 g NaCl, 0.4 g KCl, 0.4 g CaCl₂, 0.2 g NaH₂CO₃, 1 litre destile su) (Woodring & Kaya, 1988) toplanmış ve 80°C'taki TAF (% 40'lık Formalinden 7 ml, Triethanolamine 2 ml, destile su 91 ml) içinde fikse edilmiştir (Seinhorst, 1959). Bu fiksatif içindeki nematodlar, birkaç damla laktofenol (1 kısım phenol kristali + 1 kısım lakit asit + 1 kısım destile su) içinde toplanıp çukur lam üzerinde 50-55°C'ta ısıtılıp preparata hazır hale getirilmiştir. Preparat aşamasında *Steinernema* türlerinin teşhislerinde önemli olan 1. dölün erginleri ve 3. dönem enfektif larvalar, gliserin içinde daimi preparatları yapılarak muhafaza edilmiştir. Ayrıca teşhislerin kontrolü amacıyla bu nematodlar %2'lik formalin içerisinde Florida Üniversitesi Entomoloji ve Nematoloji Bölümüne (A.B.D.) gönderilmiştir.

Daimi preparatların yapımında kullanılacak lamlar, balmumu yüzük (Wax-ring) yöntemi uygulanarak hazırlanmıştır (Hooper, 1986).

Çalışmada saptanan entomopatojen nematod türünün teşhisi Nguyen & Smart (1996), Kaya & Stock (1997) ve Hominick et al. (1997)'in hazırlamış oldukları

teşhis anahtarlarından yararlanılarak yapılmıştır. Ölçümler 3. dönem efektif larva ve 1. dölün erkek ve dişilerinden 20' şer adet birey üzerinden yapılmıştır. Ölçüm ve çizim çalışmalarında Zeiss marka çizim tüplü mikroskop kullanılmıştır.

Entomopatojen nematodların ölçümlerinde genel olarak kullanılan kısaltmalar ve standart formüller (Nguyen and Smart, 1996'dan)

L=Vücut uzunluğu; W=Vücut genişliği; EP=Anteriör uçtan boşaltım deliğine kadar olan uzaklık; NR=Anteriör uçtan sinir halkasına kadar olan uzaklık; ES=Oesophagus uzunluğu; T=Kuyruk uzunluğu; $a=L/W$; $b=L/ES$; $c=L/T$; $D=EP/ES$; $E=EP/T$; Spic.=Spicül uzunluğu; Gub.=Gubernaculum uzunluğu; GS=Gub./Spic.; SW=Spic./AW.

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Çalışma sonucunda Alanya (Antalya) ilçesindeki orman alanlarından alınan 52 adet toprak örneğinden *G. mellonella* kullanılarak entomopatojen nematodlar izole edilmeye çalışılmış ve örneklerden birinden *S. carpocapsae* izole edilmiştir. Saptanan entomopatojen nematod türünün morfolojik ve morfometrik özellikleri belirlenmiş, literatür kayıtlarına göre Dünya'da tespit edildiği yerler ve konukçuları verilmiştir. Çalışmada saptanan tür Türkiye nematod faunası için yeni kayıt niteliğindedir.

Sistematikteki yeri (Hominick et al., 1997)

Rhabditida: Rhabditina: Rhabditoidea: Heterorhabditidae: ***Steinernema***
Steinernema carpocapsae (Weiser, 1955) (Şekil 1, 2 ve Cetvel 1, 2)

Sinonimleri:

Neoaplectana carpocapsae Weiser, 1955

Neoaplectana feltiae sensu Stanuszek, 1974, nec Filipjev, 1934

Neoaplectana feltiae pieridarum Stanuszek, 1974

Neoaplectana carpocapsae pieridarum Stanuszek, 1974

Neoaplectana dutkyi Turco, Thames & Hopkins, 1971

Steinernema dutkyi (Turco, Thames & Hopkins, 1971)

Morfometrik ölçümler (n=20)

Dişi (1. döl): L=5133±298 (4460-5985) µm; W=198±9.41 (188.0-235.6) µm; NR=143.8±1.40 (138.2-145.2) µm; ES=228.94±1.90 (223.7-233.2) µm; EP=69.02±3.29 (57.1-73.8) µm; T=37.62±1.40 (33.3-40.5) µm; $a=26.25±2.20$ (19.17-31.43); $b=22.44±1.41$ (19.37-26.75); $c=136.8±7.98$ (111.53-153.33); $D=0.296±0.0136$ (0.2500-0.3200); $E=1.838±0.111$ (1.590-2.210).

Erkek (1. döl): L=1345.3±22.9 (1277.0-1429.5) µm; W=116.88±5.71 (101.4-141.4) µm; NR=93.63±1.77 (86.50-98.60) µm; ES=145.55±3.71 (133.9-158.1) µm; EP=63.73±2.10 (55.88-69.80) µm; T=28.37±1.22 (26.00-32.60) µm; $a=11.64±0.58$ (9.03-13.34); $b=9.27±0.31$ (8.54-10.67); $c=52.94±6.13$ (40.41-81.11); $D=0.433±$

0.010 (0.400-0.470); E=2.26±0.134 (1.76-2.68); SW=2.081(0.0517 (1.87-2.22); GS=0.651±0.023 (0.580-0.730); Spic.=70.70±0.89 (67.90-74.40) µm; Gub.=46.37±1.94 (41.9-52.10) µm.

Enfektif larva (3. dönem): L=542.96±7.46 (518.80-566.40) µm; W=23.28±0.35 (21.4-24.2) µm; NR=73.7±1.59 (66.0-80.7) µm; ES=99.64±1.46 (93.0-104.2) µm; EP=32.82±0.34 (31.6-33.5) µm; T=50.9±0.94 (48.4-54.9) µm; a=23.32±0.26 (22.67-24.30); b=5.44±0.05 (5.25-5.68); c=10.67±0.12 (10.14-11.01); D=0.325±0.007 (0.300-0.360); E=0.642±0.0123 (0.600-0.690).

Morfolojik özellikler

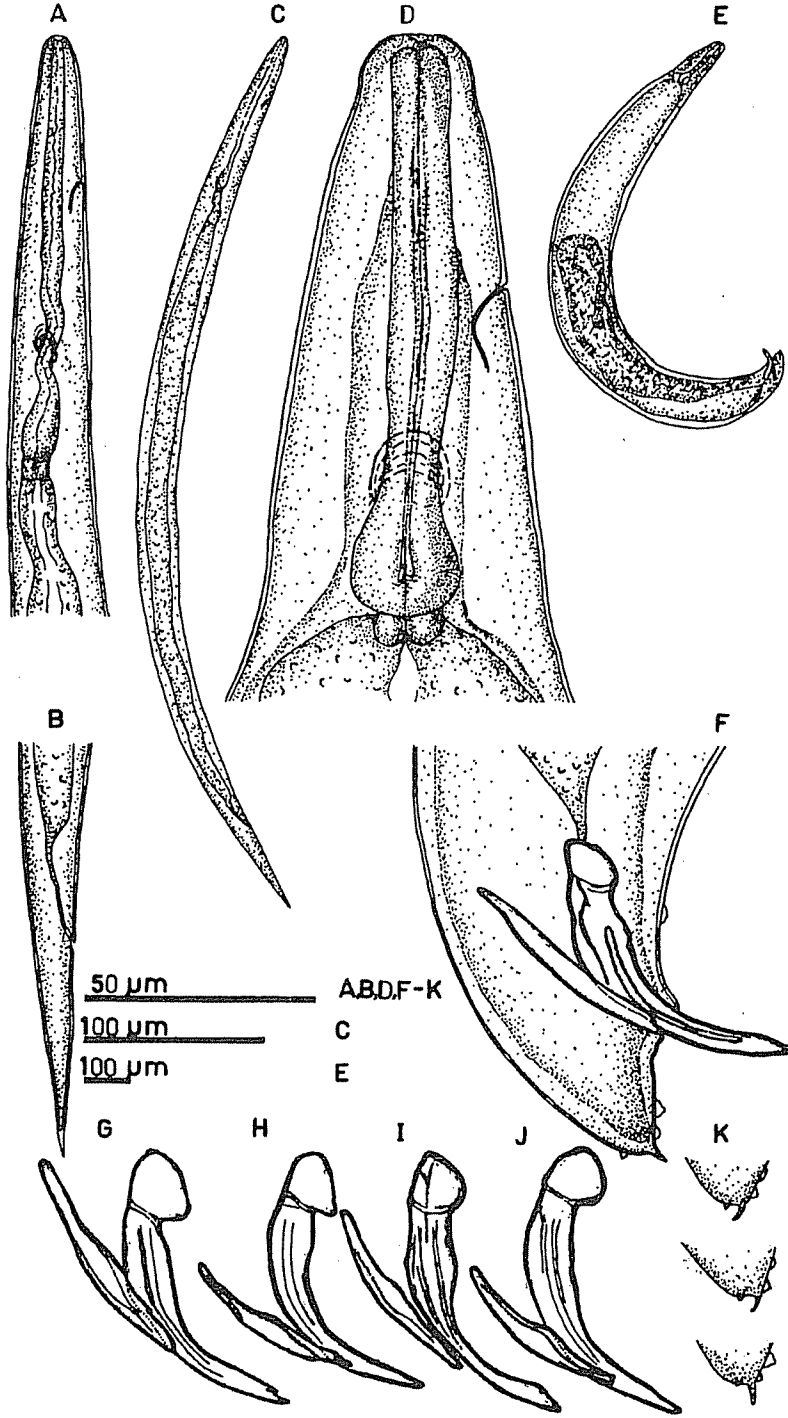
Dişi (1. döl) (Şekil 2 A-J): Kütikula düz veya ince annüllüdür. Lateral alan yoktur. Baş yuvarlak veya hafif düz olup vücutla boğum oluşturmamaktadır. Baş bölgesinde 6 dudak mevcuttur. Stoma içe doğru çöktür. Oesophagus rhabditoid tip olup basal bulb hafifçe şişkin, isthmus corpus bölümünün devamı görünümünde hafif dar ve sinir halkası tarafından sarılmıştır. Boşaltım deliği belirgin, sinir halkasının anterior'ünde yer almış ve anterior uca 69.02±3.29 (57.1-73.8) µm mesafededir. Cardialar basal bulb'in tabanında ve belirgindir. Üreme sistemi didelphic, amphidelphic'tir. Vulva vücudun ortasındadır, vulval dudaklarda varyasyon görülür (Şekil 2 C-F). Kuyruk 37.62±1.4 (33.3-40.5) µm uzunluğunda ve anal vücut genişliğinden kısa olup ucunda mukro mevcuttur (Şekil 2 H-J).

Erkek (1. döl) (Şekil 1 D-K): Dişilerden daha küçüktür. Oesophagus dişiye benzer. Testis tek olup kıvrılma gösterir. Spicule çift, ventrale doğru kıvrık olup 70.7±0.89 (67.9-74.4) µm uzunluğundadır. Gubernaculum 46.37±1.94 (41.9-52.10) µm uzunluğunda ve spicule uzunluğunun yarısından biraz uzundur. (Şekil 1 F-J). Bursa mevcut değildir. Kuyruk uca doğru incelen bir yapıda olup ucunda mukro mevcuttur (Şekil 1 K).

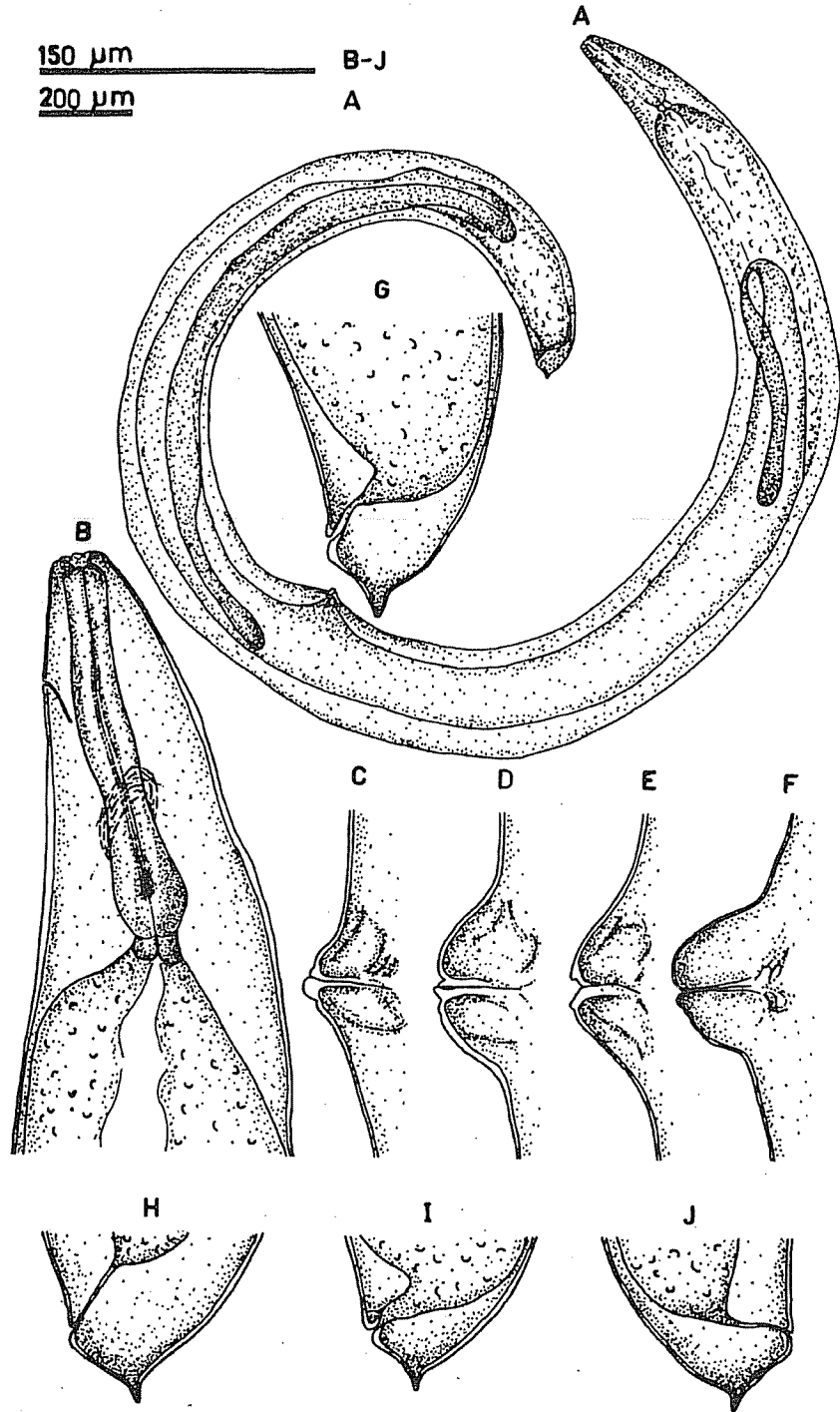
Enfektif larva (3. dönem) (Şekil 1 A-C): Stoma içeri doğru çökmüştür. Vücut ince uzun olup bazen 2. dönem larvaların kütikulası tarafından sarılmış bir durumdadır (çift kütikülalıdır). Oesophagus ve bağırsak küçülmüştür. Boşaltım deliği belirgin, sinir halkasının anterior'ünde yer almış ve anterior uca 32.8±0.34 (31.6-33.5) µm mesafededir. Kuyruk 50.9±0.94 (48.4-54.9) µm uzunluğunda ve sivri uçludur.

Çalışmada bulunan *S. carpocapsae* türüne ait 1. döl erkek bireyler Nguyen & Smart (1996)'ın, 3. dönem enfektif larvalar ise genel olarak Poinar (1986)'ın vermiş olduğu morfometrik ölçümlere uymakla birlikte "b"değeri (4.4 (4.0-4.8) karşın 5.44±0.05 (5.25-5.68)) ve "D"değeri (0.26 (0.23-0.28) karşın 0.325±0.007 (0.300-0.360)) daha büyük; "ES"değeri (120 (103-190) karşın 99.64±1.46 (93.0-104.2)) daha küçük bulunmuştur (Cetvel 1, 2).

Alanya (Antalya) ilçesindeki orman alanlarından alınan toprak örneğinde saptanan *S. carpocapsae*'nin Türkiye'de daha önce bulunduğu dair bir kayda rastlanmamış olup yeni kayıt niteliğindedir.



Şekil 1. A-K. *Steinerema carpocapsae*, A-C. Enfektif larva, D-K. Erkek, A, D. Baş ve Oesophagus bölgesi, F. Kuyruk bölgesi, C, E. Genel görünüş, G-J. Spicule ve Gubernaculum, K. Kuyruk sonu (mukro).



Şekil 2. A-J. *Steinernema carpocapsae*, A-J. Dişi, B. Baş ve Oesophagus bölgesi, C-F. Vulva bölgesi, G-J. Kuyruk bölgesi, A. Genel görünüş.

Cetvel 1. *Steinernema carpocapsae*'nin 1. döl erkeklerinin teşhiste önemli ölçümlerinin karşılaştırılması

	Bu çalışmaya göre (n=20)	Nguyen & Smart (1996)'a göre (n=60) *
W (µm)	116.88±5.71 (101.4-141.4)	101 (77-130)
%D	43.3±1.0 (40-47)	41 (27-55)
SW	2.08±0.05 (1.87-2.22)	1.72 (1.04-2.00)
GS	0.651±0.023 (0.580-0.730)	0.71 (0.59-0.88)
Spic (µm)	70.7±0.89 (67.9-74.4)	66 (58-77)
Gub (µm)	46.37±1.94 (41.9-52.10)	47 (39-55)

Cetvel 2. *Steinernema carpocapsae*'nin 3. dönem enfektif larvalarının teşhiste önemli ölçümlerinin karşılaştırılması

	Bu çalışmaya göre (n=20)	Poinar (1986)'a göre (n=25)
L (µm)	542.96±7.46 (518.8-566.4)	558 (438-650)
W (µm)	23.28±0.35 (21.4-24.2)	25 (20-30)
NR (µm)	73.7±1.59 (66.0-80.7)	85 (76-90)
ES (µm)	99.64±1.46 (93.0-104.2)	120 (103-190)
EP (µm)	32.82±0.34 (31.6-33.5)	38 (30-56)
T (µm)	50.9±0.94 (48.4-54.9)	53 (46-61)
a	23.32±0.26 (22.67-24.30)	21 (19-24)
b	5.44±0.05 (5.25-5.68)	4.4 (4.0-4.8)
c	10.67±0.12 (10.14-11.01)	10.0 (9.1-11.2)
D	0.325±0.007 (0.300-0.360)	0.26 (0.23-0.28)
E	0.642±0.0123 (0.600-0.690)	0.60 (0.54-0.66)

Çalışmada saptanan *S. carpocapsae*, *S. rarum* (Doucet, 1986)'a yakın bir tür olmakla beraber spiculun morfolojik yapısından ayrılmaktadır. *S. rarum* diğer *Steinernema* türlerinden enfektif larvalarının vücutlarının kısa, erkeklerinin ise kısa spicule ve gubernaculum'a sahip olmasıyla ayrılmaktadır (Doucet, 1986).

Konukçuları ve yayılışı

S. carpocapsae Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Avustralya ve Yeni Zellanda da geniş bir yayılış alanına sahip olup bilinen 24 ırkı mevcuttur (Cetvel 3).

* Herbir ırktan 10 erkek birey olmak üzere 6 ırka (Agriotos, All, Breton, DD-136, Italian ve Mexican) ait morfometrik ölçümler.

Cetvel 3. *Steinernema carpocapsae* türüne ait ırkların Dünya'daki yayılışı, konukçuları veya ortamları (Poinar, 1990)

İrklar	Saptandığı konukçu veya ortam	Ülke veya coğrafi bölge
Czechoslovakian	<i>Cydia pomonella</i>	Çekoslovakya
DD-136	<i>C. pomonella</i>	Virginia (A.B.D.)
Mexican	<i>C. pomonella</i>	Allende, Chihuahua (Meksika)
Sierra	<i>C. pomonella</i>	California (A.B.D.)
Agriotos (Leningrad)	<i>Agriotes lineatus</i>	S. Petersburg (Rusya Federasyonu)
All	<i>Vitacea polistiformis</i>	Georgia (A.B.D.)
XI	<i>C. pomonella</i>	Polonya
X-III	<i>Agrotis segetum</i>	Polonya
X-IV (Pieridarum)	<i>Pieris brassicae</i>	Polonya
Breton	<i>Otiorynchus sulcatus</i>	Fransa
Umea	Toprak	İsviçre
42	Breton ve DD-135 arasında	
Italian	Toprak	İsviçre
Hopland	Toprak	California
Quebec	<i>Listronotus oregonensis</i>	Quebec (Kanada)
N.C.	Toprak	North Carolina (A.B.D.)
Nelson	<i>Vespula</i> sp.	Tasmania (Avustralya)
Powranna	Toprak	Tasmania (Avustralya)
Murrumbateman	Toprak	New South Wales (Avustralya)
P7	Toprak	Tasmania (Avustralya)
N55	Toprak	Tasmania (Avustralya)
Argentinian	<i>Graphognathus leucoloma</i>	Arjantin
Rhagolites	<i>Rhagoletis pomonella</i>	Massachusetts, (A.B.D.)
Stanuszek	<i>Agrotine</i> tırtılları	Polonya

Teşekkür

Bu araştırmada elde edilen entomopatojen nematod türü Dr. İlker Kepenekci tarafından teşhis edilmiş olup, Dr. Khuong B. Nguyen* tarafından da doğrulanmıştır. Dr. Khuong B. Nguyen'e yoğun çalışma temposuna rağmen teşhise zaman ayırdığı için teşekkür ederiz.

Özet

Entomopatojen nematodlar olarak *Steinernema* Travassos, 1927, *Neosteinerema* Nguyen & Smart, 1994 (Rhabditida: Steinernematidae) ve *Heterorhabditis* cinslerine ait türler, böceklerle biyolojik mücadelede, diğer nematod gruplarına göre çok önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada Alanya (Antalya) ilçesindeki orman alanlarından bu nematodların tespit edilmesi amacıyla alınan toprak örneklerinden birinde *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Rhabditida: Steinernematidae) saptanmıştır. Söz konusu türün morfolojik ve morfo-metrik özellikleri belirlenmiş, literatür kayıtlarına göre yayılış alanı ve konukçuları verilmiştir. Çalışmada saptanan bu tür Türkiye nematod faunası için yeni kayıt niteliğindedir.

* Entomology and Nematology Department, Building 970, Surge Area Dr. University of Florida Gainesville, FL 32611-0620, U.S.A.

Literatür

- Doucet, M.M.A., 1986. A new species of *Neoplectana* Steiner, 1929 (Nematoda: Steinernematidae) from Cordoba, Argentina. **Revue de Nematologie**, **9**: 317-323.
- Haydak, M.H., 1936. A food for rearing laboratory insect, **J. Econ. Ent.**, **29** (5): 10-26.
- Hominick, W.M., B.R. Briscoe, F.G. del Pino, J. Heng, D.J. Hunt, E. Kozodoy, Z. Mracek, K.B. Nguyen, A.P. Reid, S. Spiridonov, P. Stock, D. Sturhan, C. Waturu & M. Yoshida, 1997. Biosystematics of entomopathogenic nematodes: current status, protocols and definitions. **J. of Helminthology**, **71**: 271-298.
- Hooper, D.J., 1986. Handling Fixing, Staining and Mounting Nematodes. In: J.F. Southey (eds.). Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. Her Majesty's Stationery office, London: 59-80.
- Kaya, H.K. & S.P. Stock, 1997. Techniques in Insect Nematology. Manual of Techniques in Insect Pathology, Dep. Of Nem. Uni. Of California, Chapter VI. 281-324.
- Kepenekci, I., N. Babaroğlu, G. Öztürk & S. Halıcı, 1999. Türkiye için yeni bir Entomopatogen nematod *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). 4. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, Adana: 587-596.
- Mohamed, M.A. & H.C. Coppel, 1983. Mass rearing of the greater wax moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) for small-scale laboratory studies. **Great Lakes Entomol.**, **16** (4): 139-141.
- Nguyen, K.B. & G.C. Smart, Jr., 1996. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nemata: Rhabditida), **J. of Nematol**, **28**: 286-300.
- Özer, N., N. Keskin, & Z. Kırbaş, 1995. Occurrence of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae: Heterorhabditidae) in Turkey. **Nematologica**, **41**: 639-640.
- Poinar, G.O., Jr., 1986. Recognition of *Neoplectana* species (Steinernematidae: Rhabditida), **Proceeding of the Helminthological Society of Washington**, **53**: 121-129.
- Poinar, G.O., Jr., 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: R. Gaugler & H.K. Kaya (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boca Raton, FL: CRC Press, 365 pp.
- Seinhorst, J.W., 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. **Nematologica**, **4**: 117-128.
- 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 331. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, A.K. 30 pp.