

Orijinal araştırma (Original article)

Entomopatojen nematodların Kavun sineği (*Myiopardalis pardalina* (Bigot, 1891) (Diptera: Tephritidae) üzerindeki etkinliği¹

Abdulfatah ALABOUID², Erol BAYHAN^{3*}, Uğur GÖZEL⁴

The efficacy of entomopathogenic nematodes against *Myiopardalis pardalina* (Bigot, 1891) (Diptera: Tephritidae) in Turkey

Öz: Bu çalışmada kavun sineğinin yerel entomopatojen nematodlara (EPN) olan duyarlılığı laboratuvar koşullarında araştırılmıştır. Çalışmada *Steinernema affine*, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae* ve *Heterorhabditis bacteriophora*'ya ait ülkesel EPN izolatları kullanılmıştır. EPN'ler Türkiye'nin farklı illerinden elde edilmiş, kavun sineği pupaları ise Şükürlü Köyü (Çınar-Diyarbakır)'nde zarar gören farklı kavun tarlalarından toplanmıştır. Etkinlik denemeleri 12 kuyucuklu plakalarda (plate), 25 °C'de bir kavun sineği pupa/50 ve 100 IJs yoğunluğunda yürütülmüştür. Kavun sineği pupalarındaki ölüm oranları nematod inokulasyonundan 7 gün sonra kayıt edilmiştir. Kavun sineği pupalarında nematod türüne bağlı olarak % 0-32.1 arasında ölüm meydana gelmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara dayanarak, *H. bacteriophora*'nın kavun sineğinin topraktaki pupalarına karşı etkinliğinin doğa çalışmaları ile belirlenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: *Myiopardalis pardalina*, entomopatojen nematodlar, etkinlik

Abstract: In this study, the efficacy of four local entomopathogenic nematodes (EPNs), *Steinernema affine*, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*, against melon fly (*Myiopardalis pardalina*), was investigated under laboratory conditions. The tested EPNs were collected from different localities in Turkey and the melon fly pupae were collected from different, infested melon fields of Şükürlü village, Diyarbakır. The efficacy experiments were conducted with 2 treatments, namely 50 and 100 IJs of each species of EPN, and one melon fly pupa in each well of a 12-well plate at 25 °C. The mortalities of melon fly pupae, which were recorded 7 days after inoculation with EPNs, ranged from 0.0% to 32.1%, depending on the nematode species. Based on the results of this study, field studies should be conducted to determine the practical effectiveness of the use of *H. bacteriophora* against the pupae of the melon fly, *M. pardalina*.

Key words: *Myiopardalis pardalina*, entomopathogenic nematodes, efficacy

¹ Bu çalışma Birinci yazarın doktora tezinin ve ZİRAAT.18.011 nolu DÜBAP projesinin bir bölümüdür.

² Bitki Koruma Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Dicle Üniversitesi, 21280, Diyarbakır, Türkiye, ORCID ID: 0000-0003-2349-3306

³ Bitki Koruma Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Dicle Üniversitesi, 21280, Diyarbakır, Türkiye, ORCID ID: 0000-0002-7579-586X

⁴ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 17100, Çanakkale, Türkiye, ORCID ID: 0000-0003-1363-1189

*Sorumlu Yazar (Corresponding author) e-mail: erolbayhan@gmail.com

Alınış (Received):22.05.2019

Kabul ediliş (Accepted): 09.08.2019.

Giriş

Kavun, Türkiye’de farklı coğrafi bölgelerde geniş alanlarda üretimi yapılan bir bitkidir. Genelde Marmara, İç Anadolu, Ege, Akdeniz, Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgelerinde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Türkiye’de 2017 yılında 774.106 da, Diyarbakır’da ise 21.280 da alanda üretim yapılmıştır (TUİK, 2017). Diyarbakır’da özellikle son yıllarda önemli ekim alanlara sahip olan kavun bir sebze bitkisi olarak dikkat çekmekte ve önemli entomolojik sorunlar görülmektedir. Bu sorunların başında ise kavun sineği gelmektedir. Meyvesi yenen bir bitki olduğu için kavun sineği mücadelesinde kimyasal mücadele dışında başka mücadele yollarının araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Entomopatojen nematod (EPN)’lar farklı habitatlarda elde edilen, çok geniş bir konukçu dizisine sahip obligat böcek parazitidirler. Böceklerin ergin veya ergin öncesi dönemde ölümleri, gelişimlerinin yavaşlaması, kısırlaşmaları veya üreme güçlerinin azalmasından sorumludur. Bununla birlikte böceklerin ömür uzunluğunu, davranışlarını ya da uçuş aktivitesini değiştirip hayati fonksiyonlarını etkileyerek, fizyolojik ve morfolojik bozukluklara sebep olarak da zararlı olmalarını engellerler. (Webster, 1972; Koppenhöfer, 2000). Entomopatojen nematod (EPN)’lar ve ilişki içerisinde oldukları simbiyotik bakteriler biyolojik mücadele etmeni olarak zararlı böceklere karşı başarılı ile uygulanabilmektedirler (Poinar, 1990; Klein, 1990; Kaya & Gaugler, 1993; Liu et al, 2000). Steinernematidler, *Xenorhabdus* spp. bakterileri ile Heterorhabditidler *Photorhabdus* spp. bakterileri mutualistik ilişki içerisinde dirler (Boemare, 2002). Mutualistik bakterilerin çoğalması, salgıladıkları toksinler, hücre dışı enzimler ile oluşan kan zehirlenmesi (septicemia)’dan ve ayrıca EPN’lerin neden olduğu toxemia’dan dolayı konukçu böceklerin ölümü gerçekleşmektedir (Kaya & Gaugler, 1993).

Tarımsal üretimde ekonomik olarak, önemli kayıplara neden olan farklı takım ve familyalarda bulunan birçok zararlı türe karşı güvenle uygulanır ve zararlıının kontrolünde oldukça başarılı sonuçlar verirler (Gözel & Gözel, 2013; Yurt et al, 2015; Gözel & Kasap, 2015; Gözel et al, 2018).

Bu çalışma ülkemiz topraklarından elde edilen yerel EPN izolatlarının laboratuvar koşullarında kavun sineği pupaları üzerindeki etkinliğini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Söz konusu zararlıının ülkemizde doğal düşmanları konusunda çok az çalışma bulunmaktadır. Kavun sineği larvalarının predatörü olarak karınca türlerinin [*Cataglyphis bicolor* Fabr., *C. magalocola* Först. ve *Pheidole pallidula* Nyl. (Hymenoptera: Formicidae)] ülkemizde saptandığı (Anonim, 2019) belirtilmesine rağmen EPN’lerin etkinliği ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ileriki çalışmalara ışık tutması açısından önemlidir.

Materyal ve yöntem

Galleria mellonella (L.) larvalarının üretilmesi

Topraktan EPN izole etmek için kullanılan en yaygın ve geçerli yöntem, EPN'ye duyarlı bir etmeni toprak içerisinde bekleterek etmenin nematod tarafından infekte olmasını sağlamaktır. Büyük balmumu güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının son dönemleri topraktan EPN türlerini izole etmek için kullanılmaktadır (Bedding & Akhurst, 1975). EPN'ler ile ilgili çalışmalarda uygulama kolaylığı ve yaygınlığı açısından bu konukçu tercih edilmektedir (Mracek et al, 1999; Griffin et al, 2000; Nguyen et al, 2004, Güneş & Gözel, 2011). Bu nedenle çalışmada *G. mellonella* larvaları 45 g balmumu, 90 g granül maya, 307 g mısır unu, 225 g bal karışımından oluşan yapay besin ortamlarında 27 ± 1 °C'de cam kavanozlarda yetiştirilmiştir (Kaya & Stock, 1997). Yetiştirilen larvaların bir kısmı pupa ve ergin gelişimi için bırakılarak *G. mellonella* kültürünün devamı sağlanmıştır. Üretimi sağlanan *G. mellonella* kültürünün sürekliliği ile *M. pardalina* üzerinde EPN'lerin etkinlik denemelerinde kullanılmak üzere yeterli sayıda EPN larvalarının kitle üretimleri yapılmıştır.

Entomopatojen nematodların elde edilmesi

Çalışmada kullanılan EPN'ler ülkemiz topraklarından farklı illerden elde edilmiştir. İzolatlar *G. mellonella*'nın son dönem larvaları kullanılarak yenilenmiştir. Çalışma boyunca yaklaşık 2-3 günlük olan infektif larvalar (infektif juveniller: IJs) kullanılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. *Myiopardalis pardalina* pupalarına uygulanan entomopatojen nematod türleri
Table 1. Entomopathogenic nematode species and their isolates tested against the pupae of *Myiopardalis pardalina*

İzolat No.	Tür Adı	Şehir
39	<i>Steinernema affine</i>	İstanbul
1133	<i>Steinernema carpocapsae</i>	Sakarya
51	<i>Steinernema feltiae</i>	Rize
876	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Çanakkale

Myiopardalis pardalina pupalarının elde edilmesi

Kavun sineği Şükürlü Köyü (Çınar-Diyarbakır)'nde zarar gören farklı kavun tarlalarından aktif oldukları dönemde kavun meyvesi içerisindeki pupa olmak üzere olan larvalar 30.07.2019 tarihinde laboratuvara getirilmiş ve alt kısmına elenmiş toprak-kum karışımı yerleştirilmiş olan küvetlerin üst kısmına bırakılmıştır. Pupa üstleri yaklaşık 5 cm olacak şekilde tekrar toprak-kum karışımı serpilerek örtülmüştür. Daha sonra çalışmada kullanılmak üzere Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Nematoloji Laboratuvarı'na

getirilmiştir. Laboratuvarında aynı yaşta sağlıklı pupalar EPN'lerin etkinlik denemelerinde kullanılmak üzere belirlenmiştir.

***Myiopardalis pardalina* Pupalari Üzerinde Entomopatojen Nematodların (EPN) Etkinliklerinin Belirlenmesi**

Etkinlik denemeleri çapı 2 cm olan 12 kuyucuklu plakalarda (plate) 2 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Bu amaçla platerdeki her bir yuva (2x2 cm) 4 cm³ %10 nemli steril edilmiş kum ile doldurulmuştur. Her bir kuyucuğa bir adet *M. pardalina* pupası konulmuştur. Daha sonra her bir kuyucuktaki zararlı pupaları üzerine *G. mellonella* larvalarından elde edilmiş en fazla 2-3 günlük EPN infektif larvaları 50 ve 100 IJs/pupa olacak şekilde 100 µl saf su ile uygulanmıştır. İçerisinde *M. pardalina* pupaları olan kontrol kuyucuklarına ise sadece 100 µl saf su uygulaması yapılmış, EPN uygulanmamıştır. EPN uygulaması yapıldıktan sonra kuyucuklu plakaların kapakları nemin muhafaza edilmesi için kapatılmış, 25±1°C'de iklim dolaplarında karanlık ortamda hareketsiz ve yatay konumda bekletilmiştir. EPN uygulamaları sonrası platerdeki *M. pardalina* pupaları binoküler mikroskop (Leica DM 1000) altında 7. gün sonunda teker teker kontrol edilmiştir.

Yapılan kontroller sonucunda *M. pardalina* pupalarından EPN çıkışı gözlemlenenler kayıt altına alınmıştır. White traplarda EPN gelişmesi ve çıkışı gözlenen *M. pardalina* pupaları ölü olarak değerlendirilmiştir. White traplarda EPN gelişmesi veya EPN çıkışı gözlemlenmeyen *M. pardalina* pupaları ölü olarak değerlendirmeye alınmamıştır. Pupalardan elde edilen nematodların doğrulanması için bu bireyler tekrar *G. mellonella* larvalarına verilerek EPN olup olmadıkları doğrulanmıştır.

İstatistiksel analiz

Deneme sonucunda elde edilen tüm değerlerin varyans analizleri (ANOVA) için SPSS (Version 12.00; SPSS, Chicago, IL, USA) istatistik yazılım programı kullanılarak, ortalamaların karşılaştırması Duncan testine göre P≤0.05 düzeyinde yapılmıştır.

Bulgular ve tartışma

Laboratuvarında kontrollü koşullarda gerçekleştirilen çalışmada, *S. affine*, *S. carpocapsae*, *S. feltiae* ve *H. bacteriophora*'ya ait ülkesel EPN izolatlarının iki farklı (50 ve 100 IJs/pupa) yoğunluğunun *M. pardalina* pupalarında meydana getirdiği ölüm oranları belirlenmiştir (Çizelge 2).

Entomopatojen nematodların Kavun sineği üzerindeki etkinliği

Çizelge 2. Entomopatojen nematodların *Myiopardalis pardalina* pupalarında meydana getirdiği ölüm oranları

Table 2. Mortality of the pupae of *Myiopardalis pardalina* caused by entomopathogenic nematodes

Entomopatojen nematod türü	Entomopatojen nematod yoğunluğu IJs/Pupa			
	50		100	
<i>Steinernema affine</i>	0±0	a*	0±0	a
<i>Steinernema feltiae</i>	0±0	a	0±0	a
<i>Steinernema carpocapsae</i>	4.56 ±0.94	b	7.21±1.13	b
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	26.70±2.43	c	38.10±3.65	c

*Aynı sütundaki farklı harfler Duncan (0.05)'e göre önemlidir.

Esas yaşam alanı toprak olan, hedef olmayan organizmalar için herhangi bir tehdit oluşturmayan, konukçusunu arayıp bulma yeteneği oldukça yüksek olan, bulduktan sonra da 24-48 saat gibi kısa bir sürede infekte eden EPN'ler hem üretim hem de uygulama kolaylığı ile son yılların önemli biyolojik mücadele ajanı haline gelmişlerdir. Özellikle kimyasal uygulamanın zor ve masraflı olduğu tarımsal zararlılarda önemli ve başarılı bir alternatif olan EPN'lerin diğer biyolojik pestisitler, gübreler, yayıcı yapıştırıcılar ve antidesikantlar gibi maddeler ile birlikte kullanılabilir olması da diğer önemli avantajlarıdır. Bu özelliklerinden dolayı EPN'ler ile yürütülen çalışmaların sayısı ülkemizde ve dünyada her geçen gün hızla artmakta, birçok tarımsal zararıya karşı kullanım olanakları üzerinde yoğunlaşmaktadır.

EPN'lerin zararlı meyve sinekleri üzerindeki başarısı ile ilgili farklı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar meyve sinekleri larvalarının EPN'lere oldukça duyarlı olduğunu, ancak pupalarının EPN'lere daha az duyarlı olduğunu göstermiştir (Gazit et al, 2000). Fetoh & El-Gendi (2006) ve Soliman (2007), EPN'lerin yeni oluşan pupalarda olgun pupalardan daha etkili olduğunu bildirmiş, *Bactrocera zonata* (Saunders) ve *Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera: Tephritidae)'yi kontrol etmek için EPN'leri denemişlerdir. Wallace (1958) ve Soliman (2007) karbondioksit gazının konukçunun EPN'yi çekmesinde rol oynadığını vurgulamışlardır. Olgun larvalar bitkilerden çıkıp pupaya girmek için uygun bir alan aradıklarında yüksek aktivite göstermiştir. Larvaların bu süreçte karbondioksit gazı üretmesinden dolayı EPN'ler tarafından yüksek enfeksiyon meydana gelmiştir. Pupalar nematod enfeksiyonuna olgun larvalardan daha az duyarlı olsalar da, *H. bacteriophora* erken pupa döneminde *S. carpocapsae*'den daha çok pupa ölümlerine sebep olmuştur. Bu durum konukçunun vücudunu kütikula yolu ile penetre etmesini sağlayan, *Heterorhabditis*'in ayırt edici bir özelliği olan terminal dişlerinin varlığından olabilir.

Benzer bir çalışmada, *H. bacteriophora* HP88'in *C. capitata* ve *B. zonata*'nın olgun larva ve pupa üzerindeki etkinliğinin, *S. carpocapsae* uygulamasından daha yüksek etkinliğe neden olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, zararlılarda meydana gelen ölüm oranları her iki izolat için de 25 °C'de, 20 °C'ye oranla daha yüksek olmuştur. En yüksek ölüm oranları pupaya kıyasla olgun larvada tespit edilmiştir (Nouh & Hussein, 2014).

Kavun sineği pupaları üzerinde EPN'lerin meydana getirdikleri ölüm oranlarının belirlendiği bu çalışmada EPN türüne bağlı olarak farklı ölüm oranları belirlenmiştir. *Steinermma affine* ve *S. feltiae*'de zararlı pupalarına EPN girişi gözlemlenmemiş dolayısıyla *M. pardalina* pupalarında ölüm meydana gelmemiştir. Her ne kadar zararlı böcek üzerinde ölümü meydana getiren esas etmen EPN'lerin mutualistik ilişki içerisinde olduğu ve doğal olarak bünyesinde taşıdığı simbiyotik bakteriler olsa da *M. pardalina* pupalarının morfolojik olarak sert yapısının da EPN'lerin uygulama sonrası pupaya girişte doğal bariyer olması etkinliği düşürücü en önemli etkenlerdendir.

Ülkemiz topraklarından elde edilmiş olan ve çalışmada kullanılan EPN türlerinden özellikle *H. bacteriophora*'nın Tephritidae familyasına bağlı türler üzerinde etkili olduğu belirlenmiş EPN türlerinin doğa çalışmaları ile kavun sineği üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi zararlıının biyolojik mücadelesi açısından önemlidir.

Teşekkür

Çalışmanın yürütülmesinde ZİRAAT.18.011 nolu proje ile maddi destek sağlayan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Birimi (DÜBAP)'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Anonim, 2019. Kavun sineği *Myiopardalis pardalina* Bigot (= *Carpomya pardalina*) (Diptera: Tephritidae). <https://bku.tarim.gov.tr/Zararli/KaynakDetay/542>.
- Bedding R.A. & R.J. Akhurst, 1975. A simple technique for detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-110.
- Boemare N., 2002. Biology, Taxonomy and Systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: Entomopathogenic Nematology, (Gaugler, R. eds.), CABI Publishing, pp. 35-56. Wallingford, UK.
- Gazit Y.Y., Y.Y. Rossler & I. Glazer, 2000. Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Bio-Control Science & Technology*, 10: 157-164.
- Gözel U. & Ç. Gözel, 2013. Effect of entomopathogenic nematode species on the corn stalk borer (*Sesamia cretica* Led. Lepidoptera: Noctuidae) at different temperatures. *Turkish Journal of Entomology*, 37: 65-72.
- Gözel Ç. & İ. Kasap, 2015. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato field. *Turkish Journal of Entomology*, 39: 229-237.
- Gözel Ç., İ. Kasap & U. Gözel, 2018. Biological control of tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) by entomopathogenic nematodes. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 28: 159-163.
- Griffin C.T., R. Chaerani, D. Fallon, A.P. Reid & M.J. Downes, 2000. Occurrence and distribution of the entomopathogenic nematodes *Steinernema* ssp. and *Heterorhabditis indica* in Indonesia. *Journal of Helminthology*, 74: 143-150.
- Güneş Ç. & U. Gözel, 2011. Marmara Bölgesi'ndeki Entomopatojen Nematod Faunasının Belirlenmesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 2: 103-118.

- Kaya H.K. & R. Gaugler, 1993. Entomopathogenic Nematodes. *Annual Review of Entomology*, 38: 181-206.
- Kaya H.K. & S.P. Stock, 1997. Techniques in Insect Nematology. In: Lacey L.A. Ed. Manual of Techniques in Insect Pathology. Biological Techniques Series. San Diego, London: Academic Press, 281-324.
- Klein M.G., 1990. Efficacy Against Soil-Inhabiting Insect Pests In: R. Gaugler ve H.K. Kaya, Eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boca Raton, FL: CRC Press. 195-214.
- Koppenhöfer A.M., 2000. Nematodes. In: Field manual of techniques in invertebrate pathology (Eds L.A. Lacey, H.K. Kaya), Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, 283-301.
- Liu J., G.O. Poinar & R. E. Berry, 2000. Control of Insect Pests with Entomopathogenic Nematodes: The Impact of Molecular Biology and Phylogenetic Reconstruction. *Annual Review of Entomology*, 45: 287-306.
- Masaki S. & K. Umeya, 1977. Larval life, adaptation and speciation in the fall webworm, in (Ed Hidaka T.) vol. 2, Tokyo Kadansha Ltd., 23-27.
- Mráček Z., S. Bečvář & P. Kindlmann, 1999. Survey of entomopathogenic nematodes from the families Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida) in the Czech Republic. *Folia Parasitology*, 46: 145-148.
- Nguyen K.B., D.I. Shapiro-Ilan, R.J. Stuart, C.W. McCoy, R.R. James & B.J. Adams, 2004. *Heterorhabditis mexicana* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Tamaulipas, Mexico, and morphological studies of the bursa of *Heterorhabditis* spp.. *Nematology*, 6: 231-244.
- Nouh G.M. & M.A. Hussein, 2014. The role of entomopathogenic nematodes as biocontrol agents against some Tephritid flies. *Advances in Biological Research*, 8(6): 301-306.
- Poinar G.O. Jr., 1990. Taxonomy and Biology of *Steinernema* and *Heterorhabditis*. In: Gaugler R. ve Kaya H.K. Eds. Entomopathogenic Nematodes for Biological Control. CRC Press, Boca Raton, FL. 23-61.
- Soliman N.A., 2007. Efficacy of the entomopathogenic nematodes *Steinernema riobraviss* Cabanillas and *Heterorhabditis bacteriophora* (Native strain) against the peach fruit fly, *B. zonata* and the Mediterranean fruit fly, *C. capitata*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 17 (2): 77-82.
- TÜİK, 2017. Türkiye Kavun Yetiştirme Alanları. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>
- Yurt Ç., Ç. Gözel & U. Gözel, 2015. Bazı entomopatojen nematod türlerinin *Pieris brassicae* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pieridae) üzerindeki etkinlikleri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 2: 1-7.
- Wallace H.R., 1958. Movement of eelworms. *Annals of Applied Biology*, 46: 74-85.
- Webster J.M., 1972. Nematodes and biological control. In Economic Nematology (Ed: JM. Webster), Academic Press, Inc. Ltd., London, 469-496.