

ISSN : 0406-3597

E-ISSN : 1308-8122

# PLANT PROTECTION BULLETIN

Bitki Koruma Bülteni



**Volume 60 | Number 2**  
April - June, 2020

**Owner**

Sait ERTÜRK

**Editor in Chief**

Ayşe ÖZDEM

**Section Editors**

AKSU, Pelin - Turkey

ALKAN, Mustafa - Turkey

ASAV, Ünal - Turkey

ATHANASSIOU, Christos - Greece

ATLIHAN, Remzi - Turkey

AYDAR, Arzu - Turkey

BARIŞ, Aydemir - Turkey

BAŞTAŞ, Kubilay - Turkey

BATUMAN, Özgür - USA

BOZKURT, Vildan - Turkey

CANPOLAT, Sirel - Turkey

CORONA, OCHOA - Francisco - USA

COŞKAN, Sevgi - Turkey

ÇAKIR, Emel - Turkey

DUMAN, Kamil - Turkey

DURMUŞOĞLU, Enver - Turkey

EVLİCE, Emre - Turkey

FARSHBAF, Reza - Iran

FURSOV, Victor - Ukraine

GÜLER, Yasemin - Turkey

GÜNAÇTI, Hale - Turkey

HASSAN, Errol - Australia

IŞIK, Doğan - Turkey

İMREN, Mustafa - Turkey

KARAHAN, Aynur - Turkey

KAYDAN, Mehmet Bora - Turkey

KODAN, Münevver - Turkey

KOVANCI, Orkun Barış - Turkey

SERİM, Ahmet Tansel - Turkey

SÖKMEN, Miray - Turkey

TOPRAK, Umut - Turkey

TÖR, Mahmut - UK

ULUBAŞ SERÇE, Çiğdem - Turkey

ÜSTÜN, Nursen - Turkey

Plant Protection Bulletin has been published by Plant Protection Central Research Institute since 1952. The journal is published four times a year with original research articles in English or Turkish languages on plant protection and health. It includes research on biological, ecological, physiological, epidemiological, taxonomic studies and methods of protection in the field of disease, pest and weed and natural enemies that cause damage in plant and plant products. In addition, studies on residue, toxicology and formulations of plant protection products and plant protection machinery are also included. Article evaluation process is based on double blind referee system and published as open access. Annual biological studies, short communication, first report and compilations do not publish in the journal.

Abstracted/indexed by EBSCOhost, CAB Abstracts, Clarivate Analytics-Zoological Record, TR-Dizin.

Plant Protection Bulletin is quarterly publication of the Directorate of Plant Protection Central Research Institute on behalf of General Directorate of Agricultural Research and Policies.

**Correspondence Address :** Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

📍 Gayret Mahallesi Fatih Sultan Mehmet Bulvarı No.66 PK 49 06172 Yenimahalle, Ankara / TÜRKİYE

☎ +90 (312) 344 59 93 (4 lines)

📠 +90 (312) 315 15 31

@ bitkikorumbulteni@zmmae.gov.tr

🌐 <http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

## Contents / İçindekiler

<b>Fumigant toxicity at low temperature of four different essential oils against different stages of Mediterranean flour moth <i>Ephestia kuehniella</i> Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) .....</b>	<b>3</b>
Dört farklı uçucu yağın düşük sıcaklıkta Değirmen güvesi <i>Ephestia kuehniella</i> Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)'nın farklı dönemlerine karşı fümigant toksisitesi	
Yasin Nazım ALPKENT, Özdemir ALAOĞLU, Hüseyin ÇETİN	
<b>Determination of pests and natural enemies on leafy vegetables in Eastern Anatolia Region.....</b>	<b>15</b>
Doğu Anadolu Bölgesi'nde yaprağı yenen sebzelerde görülen zararlı ve faydalı böcek türlerinin belirlenmesi	
İsmail ALASERHAT, Adnan CANBAY, Harun ALICI	
<b>Adult population fluctuations and damage ratio of <i>Pandemis cerasana</i> (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae) in cherry orchards .....</b>	<b>23</b>
Kiraz bahçelerinde <i>Pandemis cerasana</i> (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae)'nın popülasyon dalgalanması ve zarar oranı	
Ayşe ÖZDEM, Mustafa ÖZDEMİR, Vildan BOZKURT	
<b>The effect of photoperiod on development time, sex ratio and fecundity of <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say (Coleoptera: Bruchidae).....</b>	<b>29</b>
Fotoperiyodun <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say (Coleoptera: Bruchidae)'un gelişim süresi, eşey oranı ve verimine etkisi	
Yeşim KOÇ, Evrim SÖNMEZ	
<b>Determination of bacterial leaf spot of lettuce caused by <i>Pseudomonasviridiflava</i> (Burkholder 1930) Dowson 1939 and the reactions of some lettuce cultivars .....</b>	<b>37</b>
Marul yaprak lekesi etmeni <i>Pseudomonas viridiflava</i> (Burkholder 1930) Dowson'nın tespiti ve bazı marul çeşitlerinin reaksiyonlarının belirlenmesi	
Didem CANİK OREL	
<b>Reactions of some common bean cultivars grown in Turkey against some isolates of angular leaf spot disease, caused by <i>Pseudocercospora griseola</i> (Sacc.) Crous &amp; U. Braun .....</b>	<b>45</b>
Ülkemizde yetiştirilen bazı fasulye çeşitlerinin <i>Pseudocercospora griseola</i> (Sacc.) Crous & U. Braun'dan kaynaklanan Fasulye köşeli yaprak lekesi hastalığına karşı reaksiyonları	
Sirel CANPOLAT, Salih MADEN	
<b>Assessment of different spraying programs to chemical control of powdery mildew (<i>Erysiphe necator</i> Schw.) in vineyard in Manisa province.....</b>	<b>55</b>
Manisa ilinde Bağda külleme hastalığının ( <i>Erysiphe necator</i> Schw.) kimyasal mücadelesinde farklı ilaçlama programlarının değerlendirilmesi	
Nurdan GÜNGÖR SAVAŞ, Esra ALBAZ, Serkan ÖNDER	

## Contents / İçindekiler

<b>Phylogenetic discrimination and pathogenicity of fungi causing Botryosphaeria dieback disease on grapevine in Southern Turkey</b> .....	63
Türkiye'nin güneyinde asmada Botryosphaeria geriye ölüm hastalığına neden olan fungusların filogenetik ayrımı ve patojenisiteleri	
Davut Soner AKGÜL, Mümine ÖZARSLANDAN, Ali ERKİLİÇ	
<b>Determination of population development, parasitoid, and predators of tomato fruit borer [<i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)] in Diyarbakır tomato fields</b> .....	73
Diyarbakır domates alanlarında zararlı Yeşilkurt [ <i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)]'un popülasyon gelişimi, parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi	
Özlem BEKTAŞ KARAPINAR, Erdal SERTKAYA	
<b>Experiments on Plum pox virus inactivation from micropropagated plum plants through non-thermal plasma treatment</b> .....	83
Termal olmayan plazma tedavisi ile mikro çoğaltılmış erik bitkilerinde Plum pox virus inaktivasyonu çalışmaları	
Snezhana MILUSHEVA, Lilyana NACHEVA, Evgenia BENOVA, Plamena MARINOVA, Nataliya DIMITROVA, Anka GEORGIEVA-HRISTEVA	
<b>Distribution and molecular detection of Citrus psorosis virus (CPsV) based on coat protein gene in Cukurova region</b> .....	91
Turunçgil Psorosis Virüsü (CPsV)'nin Çukurova bölgesinde dağılımı ve kılıf protein genine göre moleküler olarak tanımlanması	
Saime Büşra FİDANCI, Nüket ÖNELGE	
<b>Determination of aphid species (Hemiptera: Aphididae) on some weeds in Atatürk University Campus (Erzurum)</b> .....	99
Atatürk Üniversitesi Kampüsü (Erzurum)'nde bazı yabancı otlar üzerinde bulunan afit (Hemiptera: Aphididae) türlerinin belirlenmesi	
Gizem BAŞER, Göksel TOZLU	
<b>Essential oil composition and insecticidal activity of <i>Satureja boissieri</i> against <i>Sitophilus granarius</i> (Coleoptera:Curculionidae) and <i>Spodoptera littoralis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)</b> .....	111
<i>Satureja boissieri</i> 'nin <i>Sitophilus granarius</i> (Coleoptera:Curculionidae) ve <i>Spodoptera littoralis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)'e insektisidal aktivitesi ve uçucu yağ kompozisyonu	
Ömer Cem KARAKOÇ, Ali Rıza TÜFEKÇİ, Fatih GÜL, Serkan KOLDAŞ, Mustafa ALKAN	

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Fumigant toxicity at low temperature of four different essential oils against different stages of Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)

Dört farklı uçucu yağın düşük sıcaklıkta Değirmen güvesi *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)'nin farklı dönemlerine karşı fümigant toksisitesi

Yasin Nazım ALPKENT<sup>a\*</sup>, Özdemir ALAOĞLU<sup>b</sup>, Hüseyin ÇETİN<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Directorate of Plant Protection Central Research Institute, Gayret Mah. Fatih Sultan Mehmet Bulv. 06172 Yenimahalle, Ankara, Turkey

<sup>b</sup>Selçuk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Alaeddin Keykubat Campus, Selçuklu, Konya, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.603225](https://doi.org/10.16955/bitkorb.603225)

Received : 07.08.2019

Accepted : 18.01.2020

Keywords:

biopesticide, sage, fumigant toxicity, coriander, bioactivity, botanicals

\* Corresponding author: Yasin Nazım ALPKENT

✉ [yalpkent@ziraimucadele.gov.tr](mailto:yalpkent@ziraimucadele.gov.tr)

### ABSTRACT

Bioproducts are defined as the derivatives obtained from plant components, living organisms such as fungi, bacteria, nematodes, and used as biological substances against agricultural pests and diseases. Essential oils, which are easy to obtain and can be decomposed rapidly because of their volatile property without leaving residues in the environment, are considered as alternatives to synthetic chemicals. In this study, fumigant toxicity of essential oils of four different plants [coriander (*Coriandrum sativum* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.), and mint (*Mentha spicata* L.)] were tested against two different developmental stages of Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Sage and coriander essential oils were found as the most effective oils to the larval stage of *E. kuehniella* during 3 experimental day, respectively 96% and 98%. In egg bioassays, lavender and coriander essential oils showed 98% fumigant efficacy. In addition, even the lowest doses of those two oils were able to prevent hatching of eggs. The study results suggested that environmentally friendly essential oils were promising substances in the control of the pest as well.

### GİRİŞ

Zararlı böcek ve akarlar depolanmış ürünlerde kalite ve kantite bakımından pek çok zarar meydana getirirler (Rajendran 2002). Ürünlerde oluşturdukları ağırlık kaybı, çimlenmede düşüş, çıkardıkları dışkılar ve deri parçacıkları ile değer kaybına uğratırlar. Aynı zamanda böceklerin metabolik atıkları ile depo ve silolarda sıcaklık ve nem artışına

sebebi olarak ürünlerde fungal gelişmelere neden olurlar (Hill 1987). Metil bromidin yasaklanması üzerine depolarda fümigant olarak mitokondriyal kompleks 4 elektron taşımayı engelleyiciler (METI) grubundan, fosfor aktif bileşikler ve az sayıda ruhsatlı sentetik pestisit kalmıştır. METI yani mitokondriyal kompleks grubunda bulunan bu fümigant,

mitokondride gerçekleşen ve mitokondriyal elektron taşıma zincirine etki ederek solunuma engel olmaktadır (İnak et al. 2019).

Zararlıların depo ve ambarlarda sayıca düşürülmesi sentetik pestisitlere ve özellikle fosfine dayanmaktadır. Fosfin depo zararlılarında direnç gelişimine ve faydalıların ölümüne yol açmaktadır (Sahaf et al. 2008). Uzun süreli sentetik pestisitlerin kullanılması kalıntı birikimine neden olmakta ve bunlarda hedef dışı organizmalara, ekosisteme ve insan sağlığına karşı yan etki göstermektedir (Mossa 2016).

Dünyada kimyasallara alternatif mücadele yöntemleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Araştırmalar repellent, fümigant, beslenmeyi engelleyici ve insektisit etkili doğal kaynaklı pestisitlerin geliştirilmesinin ihtiyaç olduğunu ortaya koymuş bu konuda pek çok çalışmalar yapılmış ve yayınlanmıştır (Campolo et al. 2018, Ebadollahi 2011, Francikowski et al. 2019, Isman 2006, Mossa 2016, Rajendran and Srranjini 2008).

Doğal kaynaklı pestisitlerden, bulunması ve kullanılması kolay olanlar arasında en önemlilerinden bir tanesi de bitkisel kökenli bileşiklerdir. Biyopestisit olarak adlandırılan ve içeriklerinde farklı sayıda kimyasal bileşen barındıran bitkilerin uçucu yağlarının kullanımına ilgi gün geçtikçe artmaktadır.

Sahip oldukları kimyasal bileşenlerin memelilere ve balıklara toksik olmaması ve uçucu özelliğe sahip olan bu yağların çevrede kalıntı bırakmaması (Koul et al. 2008) onların mücadelede kullanılabilme imkânlarının araştırılmasını hızlandırmıştır. Ülkemizde ve dünyada yapılmış geçmiş çalışmalara bakıldığında, uçucu yağlar ve bileşenleri ile ilgili yapılmış pek çok çalışmanın fümigant etki gösterdiği ve sentetik fümigantlara alternatif olarak kullanılma potansiyeline sahip olabilecekleri görülmektedir.

Attia et al. (2016), şeftali afidi 3. dönem larvaları üzerinde denedikleri lavanta uçucu yağının etkilerini araştırmışlardır. Buna göre 72 saat sonunda denedikleri lavanta uçucu yağında popülasyonun %50'sini öldüren dozun 11.2 µl l<sup>-1</sup> hava dozuna tekabül ettiğini tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada, *Mentha spicata* uçucu yağının 2.5 µl / l<sup>-1</sup> dozuna, 24 saatlik maruz kalma süresinde *Ephestia kuehniella* (Zeller) erginlerinde %80'den fazla ölüm görüldüğünü, yumurta ölümlerinin ise %56-60 arasında değiştiğini bulmuşlardır (Eliopoulos et al. 2015). Yaptığımız çalışmada, Değirmen güvesi *Ephestia kuehniella*'nın farklı iki dönemine lavanta, nane, adaçayı ve kişniş bitkisel yağlarının düşük sıcaklıkta (22 ± 2 °C) farklı dozlar ve üç farklı deneme süresinde fümigant toksisitesinin tespiti amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

Çalışmamızın ana materyalini adaçayı (*Salvia officinalis* L.), lavanta (*Lavandula angustifolia* Mill.), kişniş (*Coriandrum sativum* L.), nane (*Mentha spicata* L.) bitkilerinden çıkarılan uçucu yağlar, Değirmen güvesi *E. kuehniella* Zeller, çeşitli ölçülerde mikropipet, pamuk ve kavanozlar oluşturmuştur. Zararlıların kitle üretimi ve fümigant etki testleri 1 litrelik cam kavanozlarda yapılmış, yumurtayla ilgili testlerde yumurta pleytleri kullanılmıştır.

### *E. kuehniella* Zeller üretilmesi

İklim odası içerisindeki plastik kaplarda un içinde yetiştirilen larvalar ergin hale geldikten sonra cam tüp yardımı ile 1 litrelik cam kavanozlara aktarılmıştır. Kapaklar kaçmalarını engellemek ve yumurta elde etmek için tül ile kapatılmıştır. Erginlerin bıraktığı yumurtalar, besin bulunan yatay plastik kaplar içerisine alınmıştır. Aktarılmış yumurtalardan ergin çıkışı yaklaşık 40 gün sonra başlamıştır. Üretim çalışmaları %60 ± 5 orantılı nemde 27 ± 2 °C sıcaklık ve 12 saatlik ışıklandırma koşullarına sahip iklim odasında gerçekleşmiştir.

### *Uçucu yağların çıkarılması*

Uçucu yağlar Guenther'in (1955) belirlemiş olduğu yöntemle göre yapılmıştır. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nin Tarla Bitkileri Bölümünden alınan kuru nane, adaçayı, kişniş ve lavanta bitkileri öğütülmüş, sonra sırasıyla 1'e 5 (w/v) (100 g kuru bitki üzerine 500 ml ilave su) oranında hazırlanan karışım Clevenger cihazı ile 3 saat boyunca distile edilmiştir. Elde edilen uçucu yağlar içi görünmeyen karartılmış şişeler içerisine aktarılmış ve +4 °C'de buzdolabında bekletilmiştir.

### *Uçucu yağların buhar toksisitesinin larva ve yumurta üzerinde etkisinin araştırılması*

İlk olarak doz aralıkları tespit edilmiş ve diğer dozlar bunlar arasında denenmiştir. Doz aralığı her bitki ve zararlıların biyolojik dönemine göre değişmekle beraber genel olarak en düşük 25 en yüksek 325 µl l<sup>-1</sup> hava dozları arasında değişmiştir. Uçucu yağların, Değirmen güvesinin yumurta ve larvalarına etkisinin tespitinde sırasıyla %60 ± 5, 22 ± 2 °C nem ve sıcaklığa sahip, 12 saatlik aydınlık/karanlık dolaplar kullanılmıştır. Larva ve yumurta fümigant aktivite denemelerinde etkinin saptanmasında, Erler'in (2000) kullandığı yöntem kullanılmıştır. Yumurtadan çıkmış 20 ile 25 günlük larvalar bir tekerrürde 20 birey olacak şekilde yumuşak bir pens yardımıyla alınarak ucu kesilmiş 50 ml'lik falkon plastik tüpler içine konulmuştur. Bu plastik tüplerin ağzı tülle kapatılarak larva kaçışı engellenmiştir. Daha sonra bunlar 1 litrelik cam kavanozlara 3 tekerrür olacak şekilde konmuştur. Kavanoz kapağının iç yüzeyine uçucu yağın damlatılabilmesi için belli boyutta kurutma kâğıdı

bant ile tutturulup, üzerine belirlenen dozlarda aseton ile seyreltikten sonra uçucu yağ, mikropipet yardımıyla aktarılmış ve kavanoz kapağı kapatılarak uçucu yağın fümigant etkisine maruz bırakılmıştır. Asetonun böceklerin gelişme dönemlerine karşı toksik etkisi dikkate alınarak, uygulama dozlarının seyreltilmesi ve kontrolde kullanılan asetonun uçması için kapaklar (15–20 sn) kapatılmadan beklenmiş daha sonra kapatılmıştır. Uygulama sonrası tüpler (tekerrür) içerisindeki larvalar petri kabına alınarak canlı/ölü sayıları için aynı ortamda 3 gün bekletilmiş ve daha sonrasında ölüm oranları tespit edilmiştir. Kontrolde sadece 40 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda aseton uygulanmıştır. Denemelerde üç farklı (24, 48 ve 72 saatlik) uygulama süresi kullanılmıştır.

Değirmen güvesi yumurtalarına toksisitesinin belirlenmesinde 0–24 saatlik yumurtalar kullanılmıştır. Denemede 60'lı çukurdan oluşan yumurta pleytleri (her çukur 3 mm çap ve 3 mm derinliğe sahip 5.6 x 8.2 cm boyutunda) kullanılmıştır. Her çukurcuğa fırça yardımıyla bir adet yumurta bırakılmış ve toplamda 20 adeti bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. Denemeye alınacak yumurta pleytleri 1'er litrelik cam kavanozlara yatay şekilde bırakılmıştır. Uçucu yağların fümigant etkisine maruz bırakılmıştır. Üzerine ince serigrafi tül yerleştirildikten sonra lastik bantla sabitlenmiştir. Bu şekilde yumurtaların bulunduğu çukurcuğa hava giriş-çıkışı sağlanırken diğer taraftan her hangi bir sallanmada yumurtaların pleyten dışarı çıkmasına engel olunmuştur. Belirlenen uygulama süreleri sonunda pleytler kavanozlardan çıkarılarak 5 gün deneme ortamında hiçbir etkiye maruz bırakılmadan bekletilmiştir. Daha sonra tüller açılarak ölü/canlı yumurta çıkışına göre belirlenmiştir. Binoküler altında bakılarak larva çıkışı görülmeyen yumurtalar ölü olarak kabul edilmiştir. Denemeler hem doz hem de süre için 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Fümigant toksisite testleri sonucu % ölüm değerleri, Abbott formülüne göre [ölüm yüzdesi = (Kontroldeki % canlı – Muamele dozundaki yüzde canlı) / Kontroldeki % canlı x 100] düzeltilmiştir (Abbott 1925). Probit analizi poloplus programı kullanılarak yapılmış ve LC<sub>50</sub> ve LC<sub>99</sub> değerleri hesaplanmıştır (LeOra Software 1994).

## SONUÇLAR

Denemede kullanılan bitkisel uçucu yağların larvalara toksisitesi süre ve doz artışı ile yükselmiştir. Larvalara denenen uçucu yağların kendi aralarında fümigant toksisitede farklılık oluşturduğu gözlemlenmiştir. Lavanta bitkisinde 250 µl l<sup>-1</sup> dozda 1, 2 ve 3 günlük deneme sürecinde %64, %94 ve %100 arasında değişen toksisiteye sebep olmuştur. Nane yağında yine aynı dozda, her üç uygulama süresinde sırasıyla %52, %75 ve %91 oranında ölüm gerçekleşmiştir (Çizelge 1).

Kişniş uçucu yağında, 125 µl l<sup>-1</sup> doz ve farklı üç deneme süresinde sırasıyla %62, %72 ve %98 ölüm oranı belirlenmiştir. Adaçayı ise 125 µl l<sup>-1</sup> deneme dozunda ve yine üç farklı deneme sürelerinde %69, %84 ve %96 oranında toksisite gözlemlenmiştir (Çizelge 2). LC<sub>50</sub> toksisite ortalamaları değerlendirildiğinde, fümigant toksisitenin 1 günlük deneme sürecinde kişnişin çok etkili olduğu, en az etkili olanın ise nane bitkisi olduğu, 2 günlük uygulama süresi için adaçayı > kişniş > nane > lavanta, 3 günlük deneme süresinde ise adaçayı en yüksek etki en düşük etkinin ise nane bitkisinde olduğu görülmüştür. Denemede, adaçayının en yüksek etki gösterdiği ve kişniş uçucu yağının ise ikinci en yüksek fümigant toksisiteye sahip olduğu görülmüştür.

Denemede kullanılan doz ve uygulama süresi dışında, denenen bitkiler içinde yumurtalara toksisite bakımından farklılıklar gözlemlenmiştir. Nane bitkisinde denenen 275 µl l<sup>-1</sup> doz ve 2 ve 3 günlük deneme sürelerinde %100 yumurta açılma oranını azalttığından bir alt doz 250 µl l<sup>-1</sup> deneme dozunda 1, 2 ve 3 günlük denemeleri %31, %61 ve %85 oranında yumurta açılımını azalttığı tespit edilmiştir. Lavanta bitkisinde 175 µl l<sup>-1</sup> dozunda 1, 2 ve 3 günlük deneme süresiyle %36, %98 ve %100 civarında bir yumurta toksisitesine neden olmuştur (Çizelge 3).

Adaçayı bitkisi 175 µl l<sup>-1</sup> deneme dozu ve üç farklı deneme süresi ile %100 toksisiteye neden olduğundan, 150 µl l<sup>-1</sup> doz denemesinde 1, 2 ve 3 günlük uygulama sürelerinde sırasıyla %25, %47 ve %57 oranında yumurta açılımını engellediği görülmüştür. Kişniş bitkisinin yumurta açılımı üzerine etkili olan 150 µl l<sup>-1</sup> doz uygulamasında 1, 2 ve 3 günlük deneme süresinde %24, %66 ve %100 oranında yumurta açılımını azalttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Uçucu yağların LC<sub>50</sub> değerleri dikkate alınarak fümigant etkileri farklı test süreleri için büyükten küçüğe doğru; 48 saat için lavanta > adaçayı > kişniş > nane; 72 saat için ise adaçayı > kişniş > lavanta > nane şeklinde olmuştur.

Yumurtalarda fümigant etki oranı bakımından uçucu yağlar sıralanacak olursa lavanta ve kişniş en etkilileri olarak öne çıkmaktadır. Buna göre bu bitkilerin en az dozları bile yumurta açılımını en yüksek düzeyde engellemiştir.

## TARTIŞMA VE KANI

Maedeh et al. (2011) yapmış oldukları çalışmada, *Satureja hortensis* bitkisinden elde ettikleri uçucu yağın 1–7 günlük *Tribolium castaneum* ve 12–14 günlük *E. kuehniella* ve *Plodia interpunctella* larvalarında 6, 9, 12 saatlik fümigant etkilerine bakmışlardır. Buna göre *E. kuehniella*'da uygulama yapıldıktan 12 saat sonra fümigant etkiye bakıldığında 118 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda %91 ölüm, 228.5 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda ise %100 ölüm görüldüğünü bildirmişlerdir. Bir diğer



**Çizelge 1.** Nane ve lavanta uçucu yağlarının, farklı doz ve uygulama süresinde, larvalara fümigant toksisite değerleri ile lethal konsantrasyonları

		% Ölüm (Ortalama ± SH)		
		Deneme süresi (saat)		
		24	48	72
Lavanta	Doz (µl l-1 hava)	15.25 ± 4.48	67.24 ± 4.56	96.36 ± 3.64
	175	32.20 ± 3.39	86.21 ± 1.72	100.00 ± 0.00
	200	38.98 ± 5.87	93.10 ± 4.56	100.00 ± 0.00
	225	64.40 ± 0.00	94.83 ± 2.99	100.00 ± 0.00
	250	84.74 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	275	1.66 ± 1.66	3.33 ± 1.66	8.33 ± 1.66
	Kontrol	231.99	156.98	*
	LC50 (µl l-1 hava)	213.29	134.24	*
	Güven aralığı 0.95	244.50	170.49	*
		375.49	276.28	*
	LC99 (µl l-1 hava)	339.855	251.98	*
	Güven aralığı 0.95	455.321	330.26	*
Nane	150	11.86 ± 3.39	62.07 ± 1.72	83.64 ± 5.45
	175	28.81 ± 5.87	62.07 ± 1.72	80.00 ± 1.82
	200	30.51 ± 4.48	62.07 ± 4.56	74.55 ± 1.82
	225	32.20 ± 3.39	72.41 ± 1.72	80.00 ± 3.64
	250	52.54 ± 1.69	75.86 ± 4.56	91.01 ± 1.82
	Kontrol	1.66 ± 1.66	3.33 ± 1.66	8.33 ± 1.66
	LC50 (µl l-1 hava)	265.78	*	*
	Güven aralığı 0.95	231.99	*	*
		371.811	*	*
		840.50	*	*
	LC99(µl l-1 hava)	507.425	*	*
	Güven aralığı 0.95	5237.26	*	*

\* LC<sub>50</sub> ve LC<sub>99</sub> değerleri hesaplanamamıştır



**Çizelge 2.** Adaçayı ve kişniş uçucu yağlarının farklı doz ve uygulama süresinde larvalara fümigant toksisite değerleri ile lethal konsantrasyonları

		% Ölüm (Ortalama ± SH)		
		Deneme süresi (saat)		
		24	48	72
Kişniş	Doz (µl/l-1 hava)	11.86 ± 1.69	20.69 ± 3.45	23.64±3.15
	25	32.20 ± 4.48	44.83 ± 1.72	76.36±1.82
	50	37.29 ± 3.39	60.35 ± 1.72	92.73±3.64
	75	32.20 ± 1.69	63.79 ± 8.96	92.73±1.82
	100	62.71 ± 1.69	72.41 ± 1.72	98.18±1.82
	125	1.66 ± 1.66	3.33 ± 1.66	8.33±1.66
	Kontrol	123.97	61.95	35.72
	LC50 (µl l-1 hava)	90.62	46.59	28.66
	Güven aralığı 0.95	213.38	77.81	41.95
		2491.2	841.20	142.27
	LC99 (µl l-1 hava)	784.64	426.50	113.60
	Güven aralığı 0.95	8526.2	3524.13	201.15
	Adaçayı	25	37.29 ± 3.39	63.79 ± 0.00
50		30.51 ± 3.39	67.24 ± 1.72	65.46±1.82
75		38.98 ± 2.94	86.21 ± 1.72	90.91±1.82
100		66.10 ± 1.69	86.21 ± 4.56	92.73±1.82
125		69.49 ± 0.00	84.48 ± 0.00	96.36±1.82
Kontrol		1.66 ± 1.66	3.33 ± 1.66	8.33±1.66
LC50 (µl l-1 hava)		123.97	14.87	19.36
Güven aralığı 0.95		90.62	2.28	8.05
		213.38	26.42	28.85
LC99 (µl l-1 hava)		2491.2	1185.8	340.79
Güven aralığı 0.95		784.64	385.19	190.30
		8526.2	6298.6	1349.92

**Çizelge 3.** Nane ve lavanta uçucu yağlarının farklı doz ve uygulama süresinde yumurtalara fümigant toksisite değerleri ile lethal konsantrasyonları

		% Ölüm (Ortalama ± SH)		
		Deneme süresi (saat)		
		24	48	72
Lavanta	Doz (µl/l-1 hava)	12.07 ± 5.17	28.07 ± 1.75	67.86 ± 6.19
	75	22.42 ± 7.90	47.37 ± 8.04	98.21 ± 1.79
	100	17.24 ± 7.90	68.42 ± 6.08	98.21 ± 1.79
	125	37.93 ± 5.97	92.98 ± 4.64	100.00 ± 0.00
	150	36.21 ± 4.56	98.25 ± 1.75	100.00 ± 0.00
	175	3.33 ± 1.66	5.00 ± 0.00	6.66 ± 1.66
	Kontrol	*	99.84	66.67
	LC50 (µl l-1 hava)	*	78.35	51.55
	Güven aralığı 0.95	*	112.74	74.27
		*	210.91	117.68
	LC99 (µl l-1 hava)	*	179.08	102.89
	Güven aralığı 0.95	*	304.06	167.43
Nane	150	20.69 ± 1.72	21.05 ± 0.00	25.00 ± 3.09
	175	20.69 ± 3.45	33.33 ± 1.75	33.93 ± 3.57
	200	22.42 ± 5.97	38.60 ± 4.64	50.00 ± 1.79
	225	22.42 ± 5.17	63.16 ± 3.04	60.71 ± 1.79
	250	31.04 ± 6.22	61.40 ± 1.75	85.71 ± 4.72
	Kontrol	3.33 ± 1.66	5.00 ± 0.00	6.66 ± 1.66
	LC50 (µl l-1 hava)	*	212.23	201.77
	Güven aralığı 0.95	*	191.86	169.08
		*	236.77	219.36
	LC99 (µl l-1 hava)	*	569.21	386.98
	Güven aralığı 0.95	*	414.87	324.47
		*	1260.89	630.36

\* LC<sub>50</sub> ve LC<sub>99</sub> değerleri hesaplanamamıştır

**Çizelge 4.** Adaçayı ve kişniş uçucu yağlarının farklı doz ve uygulama süresinde yumurtalara fümigant toksisite değerleri ile lethal konsantrasyonları

		% Ölüm (Ortalama ± SH)		
		Deneme süresi (saat)		
		24	48	72
Kişniş	Doz (µl/l-1 hava)	6.90 ± 2.99	15.79 ± 5.26	55.36 ± 7.14
	50	6.90 ± 5.17	24.56 ± 7.65	62.50 ± 9.28
	75	12.07 ± 7.90	29.82 ± 9.28	91.07 ± 1.79
	100	13.80 ± 1.72	24.56 ± 3.51	98.21 ± 1.79
	125	24.14 ± 1.72	66.67 ± 1.75	100.00 ± 0.00
	150	3.33 ± 1.66	5.00 ± 0.00	6.66 ± 1.66
	Kontrol	*	*	54.23
	LC50 (µl l-1 hava)	*	*	36.75
	Güven aralığı 0.95	*	*	65.95
		*	*	168.02
	LC99 (µl l-1 hava)	*	*	130.29
	Güven aralığı 0.95	*	*	296.94
Adaçayı	25	6.89 ± 0.00	8.77 ± 3.51	14.28 ± 8.18
	50	10.35 ± 6.22	8.77 ± 4.64	17.85 ± 6.44
	75	8.62 ± 1.72	10.53 ± 5.26	14.28 ± 5.36
	100	13.80 ± 3.45	35.09 ± 3.51	53.57 ± 1.79
	125	22.41 ± 0.00	33.33 ± 1.75	55.36 ± 1.79
	150	25.86 ± 3.45	47.37 ± 5.26	57.14 ± 6.19
	Kontrol	3.33 ± 1.66	5.00 ± 0.00	6.66 ± 1.66
	LC50 (µl l-1 hava)	*	158.84	131.123
	Güven aralığı 0.95	*	134.44	103.93
		*	255.45	176.50
	LC99 (µl l-1 hava)	*	624.26	547.19
	Güven aralığı 0.95	*	332.09	297.20
	*	8953.57	1197.3	

\* LC<sub>50</sub> ve LC<sub>99</sub> değerleri hesaplanamamıştır

çalışmada, Ercan et al. (2013), *Prangos ferulacea* bitkisinden elde edilen uçucu yağın *E. kuehniella* larvalarında fümigant etkisine 1 günlük uygulama süresinde bakmışlardır. Sonuçta *E. kuehniella*'nın larvalarında %99 ölüm oranını 538.75 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda ulaşımlardır. Yaptığımız denemenin, Maedeh et al. (2011) ve Ercan et al. (2013)'in yaptıkları çalışmalarda kullandıkları bitkilerin en büyük bileşenleri olan γ terpinen içeriğinin kişniş bitkisinde ana bileşenler içinde olduğundan ve diğer bileşenlerinin kişniş bitkisi ana bileşenlerine benzer olmasından dolayı kişniş bitkisi ile yaptığımız fümigant etki denemesindeki sonuçlar ile benzerlik göstermiştir. Denememizde, Maedeh et al. (2011)'in yaptığı çalışmaya göre dozlar birbirine yakın olsa da daha yüksek uygulama süresinde benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Buna göre kişniş uçucu yağı 125 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda 72 saat sonra %98.21 ölüm oranı belirlenmiştir. Ercan et al. (2013), 24 saat uygulama süresinde %99 ölüm oranını elde ettiği dozun yüksek olduğu, kendi çalışmamızda ise 24 saat uygulama süresinde en yüksek dozun 125 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda %62.71, 72 saat sonra %98.21 ölüm oranına ulaştığı tespit edilmiştir.

Erler (2005), bitkisel bileşen olan monoterpenoidlerden iki tanesini menthol ve 1.8-cineole bileşiklerinin fümigant etkisini Değirmen güvesinin yumurta ve larvalarına karşı dendiği çalışmada, doz aralığını 23.1 ile 184.8 mg l<sup>-1</sup> ve 1 ile 4 gün arası uygulama süresini test etmiştir. Denemede, 4 gün (en uzun süre) deneme sürecinde menthol ve 1.8 cineole bileşenlerinde %50'den düşük toksik etki görülmüştür. Yumurta denemesinde bitkisel bileşenlerden 1.8 cineole, 184.8 mg l<sup>-1</sup> dozda 4 günlük deneme sürecinde %90 üzeri, 2 günlük uygulama süresinde %80 civarı ve 1 günlük deneme sürecinde %60 üzeri toksik etkiye sebep olduğu görülmüştür. Menthol bileşeninde en uzun süre ve yüksek dozda %50 altında toksik etki tespit etmişlerdir. Çalışmamızda aynı bileşenleri içeren adaçayı ve nane bitkisel yağlarının sırasıyla 1 günlük deneme sürecinde larvalarda en yüksek dozda %52 ve %69 gibi fümigant toksisite gerçekleşmiştir. Denemenin 2 günlük yüksek uygulama dozunda %75 ve %84 fümigant toksisite yapmış, 3 günlük deneme sürecinde bu toksisite oranı %91 ve %96 arasında değişmiştir. Larva öncesi dönem yumurtadaki toksisiteye bakıldığında, nane ve adaçayı yağlarının sırasıyla yüksek dozdaki (sırasıyla 250 µl l<sup>-1</sup> hava, 150 µl l<sup>-1</sup> hava) deneme sürecinde; 1 günlük toksisitesi %25 - %31 civarındayken bu oran 2 günlük deneme sürecinde %47 ve %61'e çıkmış, 3 günlük deneme süresinde ise %57 ve %85 civarı toksisite gerçekleşmiştir.

Araştırmacılar üç farklı bitkiden çıkardıkları bitkisel uçucu yağların fümigant toksisitesini, depo ve ambarlarda zarar yapan Değirmen güvesinin larva öncesi dönemi yumurtada denemişlerdir. *E. kuehniella* yumurtasında

kimyon ve anason yağlarını 4 gün süreyle ve 196.9 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda denemişlerdir. Deneme sonucunda %100 toksisite bulmuşlardır. Biberiye bitkisi denemesinde ise %24 toksisite bulmuşlardır (Tunç et al. 2000). Bir diğer çalışmada Ercan et al. (2013), çadır (*Prangos ferulacea*) bitkisinden elde edilen uçucu yağı uygulamadan 24 saat sonra *Tricogramma embryophagum* parazitletiği yumurtalarında ve *E. kuehniella* yumurtalarına olan fümigant etkisine bakmışlardır. Sonuçta 486.80 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda *E. kuehniella*'nın yumurtalarında %99 ölüm oranını elde etmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan kişniş, adaçayı ve lavanta içeriklerinin çalışmalardaki çadır (*Prangos ferulacea*), anason (*Pimpinella anisum*), kimyon (*Cuminum cyminum*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bileşenlerinin aynı olması, denememiz sonucunun benzer şekilde etkilediği görülmüştür. Çadır bitkisinin en büyük bileşikler kişniş bitkisi bileşenleri ile benzer olduğundan, 24 saatlik uygulama 150 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda %24.14 toksisite, 72 saat sürecinde 125 µl l<sup>-1</sup> hava dozu uygulamasında ise %98.21 ölüm meydana getirdiğini görmüşlerdir. Kişniş ve lavantada 72 saatlik deneme sürecinde yumurtalardaki uygulamalarda ölüm oranının yüksek olduğu, 125 µl l<sup>-1</sup> hava dozu incelendiğinde ise fümigant toksisitenin %98 civarında ölüm oluşturduğu görülmektedir. Biberiye ise adaçayının bileşenlerinde olan 1.8 cineole'ün gösterdiği etkiyi aynı şekilde gösterdiği, adaçayında ölümü arttırdığı tespit edilmiştir. Denemelerdeki yağlar değişmiş olsa bile bileşenlerinin aynı içeriklere sahip olması çalışmamız deneme sonuçları ile benzer etkileri ortaya çıkarmıştır. Diğer bir araştırmacı yapmış olduğu çalışmasında, farklı bitkilerden elde ettiği uçucu yağların Kırmızı bitki yumurtasında fümigant etkisine bakmıştır. Denemesinde 3 günlük maruziyet bırakma süresi ve 100 µl l<sup>-1</sup> hava dozu uygulaması sonucu, *T. confusum* yumurtalarında nane ve kişniş toksisitesinin %54 ile %100 civarı ölüm meydana getirdiğini söylemektedir (Karcı 2006). Bizim kullandığımız bitki uçucu yağlarının Değirmen güvesinin larva öncesi yumurta döneminde değişen uygulama dozunda benzer bir etki gösterdiği görülmüştür. Buna göre 250 µl l<sup>-1</sup> ve 125 µl l<sup>-1</sup> hava dozlarında 3 günlük kişniş ve nane yağlarında sırasıyla %85 ve %90 üzeri fümigant toksisite belirlenmiştir. Bachrouch et al. (2010), *Pistacia lentiscus* bitkisinden elde etikleri uçucu yağın *E. kuehniella*'nın yumurtalarında 24 saat deneme süresinde açılma oranına bakmışlardır. Araştırmacılar yumurtaların açılma oranının yükselen konsantrasyonlara göre değiştiğini söylemektedirler. Yumurtalara 136 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda ve 24 saat fumigasyon uygulandığında %70.5 oranında yumurtalarda ölüm meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. *Pistacia lentiscus* bitkisinin uçucu yağı bileşenlerinin en büyük kısmının lavanta bitkisinde bulunan bileşenlerle yüksek oranda benzer olmasından dolayı karşılaştırma

yapmak mümkündür. Çalışmamızda Bachrouch et al. (2010)'nın kullandıkları doz ve sürenin 2 katına tekabül eden ve %100 ölüm veren deneme süresi 48 saat ve uygulama dozu da 275 µl l<sup>-1</sup> hava dozu olarak tespit edilmiştir.

Araştırmacılar *Origanum acutidens* L. uçucu yağının Değirmen güvesi (Lepidoptera: Pyralidae) ergin öncesi larva döneminde denendiği çalışmada gözlemlenen ölümlerin artmasının doza ve deneme süresine göre değiştiğini rapor etmişlerdir (Cağlar et al. 2007). Çalışmamızda 24 ve 48 saat deneme süreci sonunda ve doz artışlarına göre lavantanın fümigant toksisiteyi arttırdığı bulunmuştur. Younis-Al et al. (2015), iki bitkiden elde ettikleri (*Rosmarinus officinalis*, *Lavandula angustifolia*) uçucu yağların *E. kuehniella*'nın larvalarında 24 saatlik fümigant etkisini araştırmışlardır. Buna göre lavanta bitkisinden elde edilen uçucu yağın 45 ve 50 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda sırasıyla %96 ve %100 ölüme neden olduğunu söylemektedirler. Çalışmamızda kullanılan bitki aynı olsa da farklı deneme süresi ve yüksek dozlarda Younis-Al et al. (2015) yaptıkları çalışma sonuçları ile paralel gitmiştir. Buna göre denememizde 72 saat deneme süresinde %96 ve %100 ölüme neden olan dozların sırasıyla 300 ve 325 µl l<sup>-1</sup> hava dozuna tekabül ettiği görülmüştür. Mahmoudvand et al. (2012), *R. officinalis* bitkisinden elde ettikleri uçucu yağı depo zararlısı *E. kuehniella*'nın 3. dönem larvalarına 24 saat uygulama süresinde fümigant etkisini araştırmışlardır. Sonuçta 24 saat deneme süresi ve 100.5 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda %50 ölüm, 166.5 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda ise %90 ölüm görüldüğünü tespit etmişlerdir. Çalışmamızda süre ve kullandığımız bitkiler farklı olmasına rağmen, *R. officinalis* uçucu yağında önemli miktarda bulunan etken maddelerin lavanta bitkisi içeriğinde bileşenler ile çok benzerlik gösterdiğinden dolayı yaptığımız deneme ile karşılaştırma yapmak mümkündür. Denememizde 72 saatlik uygulama süresinde en düşük 225 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda larvalarda ölüm oranının %70.37 olduğu ancak 300 µl l<sup>-1</sup> hava dozunda ise %96.30 oranında ölüm meydana geldiği görülmüştür.

Zararlının gelişim dönemleri içinde larvaların hassas olduğu, düşük dozlarda bile etkili olduğu sadece lavanta bitkisinde larvaların yumurtaya göre dayanıklı olduğunu doz miktarlarından anlıyoruz. Yumurtalarda ise bu durum genel olarak fümigant toksisiteye karşı dirençli bulunmuştur.

Günümüzde birçok farklı depo zararlısında yapılan uçucu yağ fümigant denemeleri gibi yaptığımız çalışmadaki denemeler değerlendirildiğinde, Değirmen güvesinin farklı iki dönemine, uçucu yağların fümigant etkiye sahip oldukları ve ürünün fosfin gibi sentetik fümigantlara alternatif oluşturabilecekleri kanaatine varılmıştır.

Denemeler sonucunda farklı bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların, depolarda ürün kayıplarına neden olan ana

zararlı *E. kuehniella*'nın farklı dönemlerine fümigant etkileri yüksek bulunmuştur. Uçucu yağların ümitvar sonuçları araştırmaların yürütülmesinde ve alternatif fümigantlara basamak sağlayacağı düşünülmektedir. Un, hububat depoları ve unlu mamuller üretim alanlarında zararlı olan bu güveye karşı etkin fümigant geliştirme çalışmalarında bu araştırmanın önemli veriler sağlayacağı düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Antalya ilinde organize edilmiş "II Ulusal Biyosidal Kongresi"nde sunulmuş ve özeti basılmıştır. Bu makale "Bazı bitkisel uçucu yağların *Ephestia kuehniella*'ya (Lepidoptera: Pyralidae) fümigant etkileri üzerinde araştırmalar" isimli tezin bir bölümünden hazırlanmıştır. Yaşamım boyunca desteğini gördüğüm canım Babacığım Muhittin ALPKENT'in anısına ve manevi desteği ile okumama vesile sevgili anneciğim Meryem ALPKENT'e ithaf ediyorum.

## ÖZET

Biyopreparatlar, bitkisel bileşikler ve fungus, bakteri, nematod vb. canlı organizmalardan elde edilen ve biyolojik madde şekline getirilerek tarımda zararlılara ve hastalıklara karşı kullanılan preparatlardır. Elde edilmesi kolay ve çevrede kalıntı bırakmayarak buhar özelliğine sahip hızlı bir şekilde parçalanabilen uçucu yağlar, kimyasal sentetiklere alternatifler olarak görülmektedir. Bu çalışmada seçilen dört farklı bitkinin [kişniş (*Coriandrum sativum* L.), adaçayı (*Salvia officinalis* L.), lavanta (*Lavandula angustifolia* Mill.) ve nane (*Mentha spicata* L.)] uçucu yağlarının, Değirmen güvesi *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)'nın iki farklı gelişme dönemine karşı fümigant toksisitesine bakılmıştır. *E. kuehniella*'nın larva döneminde üç günlük deneme süresinde adaçayı ve kişniş uçucu yağlarının en yüksek fümigant etkiyi (sırasıyla %96 ve %98) gösterdiği belirlenmiştir. Zararlının yumurta döneminde ise lavanta ve kişniş uçucu yağlarında %98 oranında bir fümigant etki görülmüştür. Dahası bu bitkilerin en az dozlarının bile yumurta açılımını en yüksek düzeyde engellediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre çevre dostu uçucu yağların zararlının mücadelesinde umut verici olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: biyopestisit, adaçayı, fümigant toksisite, kişniş, biyoaktivite, bitkisel

## KAYNAKLAR

Abbott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18, 265-267.

- Attia S., Lognay G., Heuskin S., Hance T., 2016. Insecticidal activity of *Lavandula angustifolia* Mill. against the pea aphid *Acyrtosiphum pisum*. Journal of Entomology and Zoology Studies, 4 (1), 118-122.
- Bachrouch O., Mediouni J., Wissem W.A., Talou T., Marzouk B., Abderraba M., 2010. Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Products Research, 46 (4), 242–247.
- Campolo O., Giunti G., Russo A., Palmeri V., Zappalà L., 2018. Essential oils in stored product insect pest control. Journal of Food Quality, Article ID 6906105, 18 p.
- Caglar O., Calmasur O., Aslan I., Kaya O., 2007. Insecticidal effect of essential oil of *Origanum acutidens* against several stored product pests. Fresenius Environmental Bulletin, 16 (11), 1395-1400.
- Ebadollahi A., 2011. Antifeedant activity of essential oils from *Eucalyptus globulus* Labill and *Lavandula stoechas* L. on *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). Biharean Biologist, 5 (1), 8-10.
- Eliopoulos P.A., Hassiotis C.N., Andreadis S.S., Porichi A.E., 2015. Fumigant toxicity of essential oils from basil and spearmint against two major pyralid pests of stored products. Journal of Economic Entomology, 108 (2), 805-810.
- Ercan F.S., Baş H., Koç M., Pandır D., Öztemiz S., 2013. Insecticidal activity of essential oil of *Prangos ferulacea* (Umbelliferae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) and *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37 (6), 719–725.
- Erler F., 2000. Bitki kökenli bileşiklerin böcek ve akarlarla mücadelede kullanılma potansiyeli üzerinde araştırmalar. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 120 s, Antalya.
- Erler F., 2005. Fumigant activity of six monoterpenoids from aromatic plants in Turkey against the two stored-product pests confused flour beetle, *Tribolium confusum* and Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. Journal of Plant Diseases and Protection, 112 (6), 602-611.
- Francikowski J., Baran B., Cup M., Janiec J., Krzyżowski M., 2019. Commercially available essential oil formulas as repellents against the stored-product pest *Alphitobius diaperinus*. Insects, 10 (4), 96.
- Guenther E., 1955. The essential oils. Vol. 1. History-Origin in plants-Production-Analysis, 3rd print. Jepson Press, New York, 427 p.
- Hill D.S., 1987. Agricultural insect pests of tropics and their control. 3 rd. edition. Cambridge University Press, London, 749 p.
- Isman M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology, 51 (1), 45-66.
- İnak E., Alpkent Y.N., Çobanoğlu S., Dermauw W., Van Leeuwen T., 2019. Resistance incidence and presence of resistance mutations in populations of *Tetranychus urticae* from vegetable crops in Turkey. Experimental and Applied Acarology, 78, 343–360.
- Karcı A., 2006. Bitkisel kökenli bazı uçucu yağların Kırmacı bitisi, *Tribolium confusum* Jacquelin duVal (Coleoptera: Tenebrionidae)'un tüm gelişme dönemlerine karşı fümigant etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 45 s., Kahramanmaraş.
- Koul O., Walia S., Dhaliwal G.S., 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. Biopesticides International, 4 (1), 63-84.
- LeOra Software, 1994. Polo-PC a user's guide to probit or logit analysis, 1119 Shattuck Avenue, Berkeley, CA, 94707.
- Maedeh M., Hamzeh I., Hossein D., Majid A., Reza R.K., 2011. Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Lamiaceae) against three stored-product insect species. African Journal of Biotechnology, 10 (34), 6620–6627.
- Mahmoudvand M., Abbasipour H., Rastegar F., Hosseinpour H.M., Basij M., 2012. Efficacy of some plants as a post-harvest protectant against some major stored pests. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 45 (7), 806–811.
- Mossa A.T.H., 2016. Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. Journal of Environmental Science and Technology, 9 (5), 354-378.
- Rajendran S., 2002. Postharvest pest losses. In: Encyclopedia of pest management. Pimentel, D. (Ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, 654–656 p.
- Rajendran S., Sriranjini V., 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research, 44 (2), 126-135.
- Sahaf B.Z., Moharramipour S., Meshkatalasadat M.H., 2008. Fumigant toxicity of essential oil from *Vitex pseudo-negundo* against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus oryzae* (L.). Journal of Asia-Pacific Entomology. 11 (4), 175–179.
- Tunç I., Berger B.M., Erler F., Dağlı F., 2000. Ovicidal activity

of essential oils from five plants against two stored product insects. Journal of Stored Products Research, 36 (2), 161–168.

Younis–Al F., Naser–Al Z., Hakim–Al W., 2015. Chemical composition of *Lavandula angustifolia* Miller and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils and fumigant toxicity against larvae of *Ephestia kuehniella* Zeller. International Journal of ChemTech Research, 8 (3), 1382–1390.

Cite this article: Alpkent, Y, Alaoğlu, Ö, Çetin, H. (2020). Fumigant toxicity at low temperature of four different essential oils against different stages of Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.603225

Atf için: Alpkent, Y, Alaoğlu, Ö, Çetin, H. (2020). Dört farklı uçucu yağın düşük sıcaklıkta Değirmen güvesi *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)'nın farklı dönemlerine karşı fümigant toksisitesi. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.603225





# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Determination of pests and natural enemies on leafy vegetables in Eastern Anatolia Region

Doğu Anadolu Bölgesi'nde yaprağı yenen sebzelerde görülen zararlı ve faydalı böcek türlerinin belirlenmesi

İsmail ALASERHAT<sup>a</sup>, Adnan CANBAY<sup>b</sup>, Harun ALICI<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Directorate of Horticultural Research Institute, 24060, Erzincan, Turkey

<sup>b</sup>Directorate of Apricot Research Institute, 44090, Malatya, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.625077](https://doi.org/10.16955/bitkorb.625077)

Received : 26.09.2019

Accepted : 18.01.2020

Keywords:

pest, natural enemies, leafy vegetables, Eastern Anatolia Region

\* Corresponding author: İsmail ALASERHAT

✉ [i\\_alaserhat36@hotmail.com](mailto:i_alaserhat36@hotmail.com)

### ABSTRACT

This study was conducted to determine pests and natural enemies' species, found extensively on leafy vegetables grown in Bayburt, Erzincan, Erzurum and Gümüşhane provinces in 2015-2016. For this purpose, surveys were carried out 2-4 weekly periods according to the simple random sampling method; it covered at least 10% of the cultivation area. The collected samples were brought to the laboratory and examined under stereo microscope, recorded by counting the insects in plants and infestation rates of them were recorded. As a result of the study, it was determined that harmful species belonging to Aphididae, Chrysomelidae families and useful species belonging to Anthocoridae, Chrysopidae, Coccinellidae and Braconidae families and intensity of these species.

## GİRİŞ

Türkiye'de 2018 yılı verilerine göre açık alan ve örtü altında 8.947.266 da alanda 37.522.194 ton sebze üretilmiştir. Yine 2018 verilerine baktığımızda; açıkta ve örtü altında 364.807 da alanda 741.724 ton yaprağı yenen sebzeler olarak adlandırılan dereot, fesleğen, marul, maydanoz, nane, polorosso, roka, semizotu ve tere üretilmiştir (Anonim 2018). Yaprağı yenen bu sebzelerin çok sayıda türü Türkiye'nin farklı bölgelerinde açık alanda ve örtü altında yetiştirilebilmektedir. Kıvrıkcık, aysberg, göbekli ve lolorosso gibi farklı marul türlerinin yetiştirildiği ülkemiz yaklaşık 490.000 tonluk üretimi ile dünyada en fazla marul üreten ülkeler arasında yer almaktadır (FAO 2018).

Birçok üründe olduğu gibi yaprağı yenen sebzelerin üretiminde de ürün miktarını sınırlayan hastalık, zararlı, yabancı ot vb. birçok etmen bulunmaktadır. Yaprağı yenen sebzelerde kelebek larvaları, yaprak galeri güveleri ve toprak pirelerinin yapraklarda beslenmesi, sokucu emici ağız yapısına sahip böceklerin yaprakları delerek beslenmesi ve bazı hastalık etmenlerini bulaştırması şeklinde zarar karşımıza çıkmaktadır. *Tetranychus urticae* (Koch) (Acarina: Tetranychidae); *Aphis fabae* (Scopoli), *Aphis gossypii* (Glover), *Aulacorthum solani* (Kaltenbach), *Hyperomyzus lactucae* (L.), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *Myzus persicae* (Sulzer), *Nasonovia ribisnigri* (Mosley), *Pemphigus*

*bursarius* (L.), *Rhopalosiphum nymphaeae* (L.), *Uroleucon cichorii* (Coch.) (Hemiptera: Aphididae); *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae); *Thrips tabaci* (Lindeman), *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae); *Diabrotica balteata* LeConte, *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber, *Epitrix hirtipennis* (Melsheimer), *Longitarsus ferrugineus* (Foudras), *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae); *Clivina impressifrons* LeConte, *Stenolophus lecontei* (Chaudoir) (Coleoptera: Carabidae); *Acrolepiopsis assectella* (Zeller) (Lepidoptera: Acrolepiidae); *Agrotis ipsilon* (Hufnagel), *Feltia subterranea* (F.), *Helicoverpa zea* (Boddie), *Peridroma saucia* (Hubner), *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera exigua* (Hubner), *Trichoplusia ni* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae); *Liriomyza trifolii* (Burgess), *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach), *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard), *Phytomyzae horticola* (Goureal) (Diptera: Agromyzidae); *Delia platura* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae) ve *Diglyphus isaea* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae)'nin yaprağı yenen sebzelede zararlı türler olduğu ifade edilmektedir (Anonim 2019, Blackman and Eastop 2019, Ellialtıoğlu et al. 2007, Holman 2009, Nuessly and Webb 2019, Sangün 2010, Yaşarakıncı ve Hıncal 1997).

Son yıllarda ülkemizde yetiştiriciliği yapılan minör ürünlerde böcek ve akarlar tarafından oluşturulan zararlar oldukça yüksek seviyelerde karşımıza çıkmaktadır. Buna karşın üreticiler tarafından zararlılara karşı bilinçsizce yapılan ilaçlamalar kalıntı problemine yol açmakta bu da insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Söz konusu zararlılara karşı etkili ve sürdürülebilir mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Mücadelede ise zararlıyı tanıma mecburiyeti vardır. Bu çalışma kapsamında Doğu Anadolu Bölgesi'nin Bayburt, Erzincan, Erzurum ve Gümüşhane illerinde dereotu, fesleğen, marul, maydanoz, nane, polorosso, roka, semizotu ve tere üretimi yapılan alanlarında survey çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda söz konusu ürünlerde zarar oluşturan türler,

bunların doğal düşmanları ve yaygınlıkları ortaya konmuştur.

## MATERYAL VE METOT

Çalışmanın materyalini Bayburt, Erzincan, Erzurum ve Gümüşhane illerinde yetiştirilen dereotu (*Anethum graveolens* L.), fesleğen (*Ocimum basilicum* L.), marul [iceberg (*Lactuca sativa* L. var. *capitata*), lolorosso (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*), yedikule (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) vb.], maydanoz [*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss], nane (*Mentha* spp.), polorosso (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*), roka (*Eruca sativa* Mill.), semizotu (*Portulaca oleracea* L.) ve tere (*Lepidium sativum* L.) bitkileri, bunlar üzerinde zarar yapan böcek türleri ile faydalı böcek türleri, stereo mikroskop, atrap, böcek aspiratörü, kültür kapları oluşturmuştur.

### Survey çalışmaları

Survey çalışmaları 2015-2016 yıllarında mayıs-eylül aylarında Bayburt, Erzincan, Erzurum ve Gümüşhane illerinde dereotu, fesleğen, marul, maydanoz, nane, polorosso, roka, semizotu ve tere üretim alanlarında yürütülmüştür (Çizelge 1). Surveylerde Bora ve Karaca (1970)'ya göre basit tesadüfi örnekleme yöntemi ile ekiliş alanlarının en az %10'undaki bitkilerde sayımlar yapılmış olup, arazi çıkışları vejetasyon süresi boyunca 2-4 haftalık periyotlarla gerçekleştirilmiştir.

### Zararlı-faydalıların tespiti ve yoğunluklarının saptanması

Surveyler üretim alanını temsil edecek şekilde yapılmıştır. Büyük yapraklı bitkilerde (marul ve polorosso), 100-250 m<sup>2</sup> arasındaki üretim alanlarından 5 adet bitki, 250-1000 m<sup>2</sup> arasındaki üretim alanlarından 10 adet bitki; küçük yapraklı bitkilerde (dereotu, fesleğen, maydanoz, nane, roka, semizotu ve tere) 100-250 m<sup>2</sup> arasındaki üretim alanlarından 20 adet bitki, 250-1000 m<sup>2</sup> arasındaki üretim alanlarından 50 adet bitki kökleriyle birlikte topraktan çıkarılıp buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilerek stereo mikroskop altında incelenmiş, bitkilerde bulunan böcekler sayılarak kaydedilmiş ve yoğunlukları belirlenmiştir. Arazide görülen predatör türlerin ergin bireyleri aspiratör yardımıyla örnek

**Çizelge 1.** 2015-2016 yıllarında Bayburt, Erzincan, Erzurum ve Gümüşhane illerinde marul, maydanoz, dereotu, roka, tere, nane ve semizotu ekiliş alanları (da)

Bitkiler İller	Marul		Dereotu		Maydanoz		Nane		Roka		Semizotu		Tere		Toplam	
	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
Bayburt	64	63	-	-	11	10	-	-	-	-	-	-	-	-	75	73
Erzincan	125	130	-	-	76	96	50	45	-	-	-	-	-	-	251	271
Erzurum	228	199	3	3	102	92	12	11	1	1	23	25	17	16	386	347
Gümüşhane	63	79	-	-	6	6	-	-	-	-	-	-	-	-	69	85

kutularına alınarak laboratuvara getirilmiştir. Tanınan türler sayılıp kaydedilmiş, tanınamayan türler ise teşhise hazır hale getirilip teşhis için konu uzmanına gönderilmiştir. Arazide yumurta, larva, pupa ve ergin örneklerindeki parazitoit türleri saptamak için örnekler iklim odasında kültüre alınmıştır. Elde edilen parazitoitler, içerisinde %95 etil alkol bulunan Ephendorf tüplerine aktarılmış ve konu uzmanına gönderilerek teşhisleri yaptırılmıştır.

#### Laboratuvar çalışmaları

Arazi sürveyleri esnasında toplanan zararlı ve faydalı türlerin ergin ve ergin öncesi dönemleri laboratuvara getirilmiştir. Ergin öncesi dönemde olan zararlı ve faydalılar, iklim odasında 25±1 °C'de, %60±10 orantılı nem, 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık koşullarda kültüre alınarak ergin olmaları sağlanmıştır. Gerek araziden toplanan ve gerekse de laboratuvarında kültüre alınarak elde edilen erginler usulüne uygun olarak kodlanarak etiketlenmiş ve buzdolabında muhafaza edilmiştir. Aphididae familyasına ait örneklerin lam lamel arası preparatları yapılmış; Chrysomelidae familyasına ait örnekler içerisinde %70 etil alkol bulunan Ephendorf tüplerine aktarılmış; Anthocoridae, Chrysopidae ve Coccinellidae familyasına ait örnekler etiketlenerek iğnelenmiş; parazitoit türler ise içerisinde %95 etil alkol bulunan Ephendorf tüplerine aktararak teşhise hazır hale getirilmiştir. Parazitoitleri saptamak için, incelenen üretim alanlarında zararlılar ile bulaşık olduğu düşünülen parazitlenmiş örnekler iklim odasında kültüre alınmış, parazitoit çıkışı gözlenip çıkış olduğunda, örnekler içerisinde %95 etil alkol bulunan Ephendorf tüplerine aktarılmıştır.

#### SONUÇLAR

Çalışma sonucunda yaprağı yenen sebzeler üzerinden, zararlı türlerden *Acyrtosiphon ilka* Mordvilko, *Aphis craccivora* Koch, *A. gossypii* Glover, *Neomyzus circumflexus* (Buckton) (Hemiptera: Aphididae); *Entomoscelis adonidis* (Pallas), *Phyllotreta atra* (Fabricius), *P. nigripes* (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae); faydalı türlerden ise *Anthocoris pilosus* (Jakovlev), *Orius minutus* (Linnaeus) (Hemiptera: Anthocoridae); *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae); *Adalia bipunctata* (Linnaeus), *A. fasciatopunctata revelierei* Mulsant, *Coccinella septempunctata* (Linnaeus), *Oenopia (Synharmonia) conglabata* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) ve *Praon volucre* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) tespit edilmiştir (Çizelge 2). Zararlı türlerden olan yaprakbitleri dereotu, marul ve semizotunda, yaprak böcekleri olarak gruplandırılan Chrysomelidae'ler ise roka bitkisi üzerinde tespit edilmiştir. Faydalı olarak tespit edilen predatör ve parazitoit türler ise çalışma sonucunda tanımlanan yaprakbitleri olan *A. ilka*,

*A. craccivora*, *A. gossypii* ve *N. circumflexus* üzerinden tespit edilmiştir.

Çalışmanın yürütüldüğü sürvey alanlarında yaprağı yenen sebzelerde bulunan zararlı ve faydalı türlerin bitki başına yoğunlukları da belirlenmiştir (Çizelge 3). Çizelge 3 incelendiğinde zararlı türler içerisinde bitki başına yoğunluk en fazla yaprakbitlerinde (Aphididae) iken yaprak böcekleri (Chrysomelidae) bunları takip etmiştir. Faydalı türler içerisinde ise bitki başına yoğunluk predatör türlerden en fazla Coccinellidae familyasından *C. septempunctata*'da, en az *A. pilosus* ve *O. minutus*'da olduğu tespit edilmiştir. Yine faydalı türlerden olan *A. gossypii*'den elde edilen parazitoit tür *P. volucre*'nin de bitki başına düşük yoğunluğa sahip olduğu belirlenmiştir.

#### TARTIŞMA VE KANI

Bu çalışma sonucunda Bayburt, Erzincan ve Erzurum illerinde yetiştirilen yaprağı yenen sebze türlerinden dereotu, marul, semizotunda zararlı türlerden *A. ilka* Mordvilko, *A. craccivora* Koch, *A. gossypii* Glover, *N. circumflexus* (Buckton) (Hemiptera: Aphididae); roka bitkisinde ise *E. adonidis* (Pallas), *P. atra* (Fabricius), *P. nigripes* (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae) türleri saptanmıştır. Sürvey alanlarından Gümüşhane ilinde, herhangi bir zararlı ve faydalı tür saptanmamıştır. Gümüşhane, Merkez, Pirahmet köyünde her ne kadar maydanozda yaprak böceği (Chrysomelidae) zararına benzeyen belirtiler görülmüş ise de zararlıya rastlanılmamıştır. Ellialtıoğlu et al. (2007), Şanlıurfa'da nane alanlarında yürütmüş oldukları çalışma sonucunda, *T. urticae* (Koch) (Acarina: Tetranychidae), *P. saucia* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae)'nın nane bitkisi üzerinde zarar yaptığını saptamışlardır. Sangün (2010), Doğu Akdeniz Bölgesi marul ekim alanlarında *A. gossypii*, *A. solani* (Kaltenbach), *H. lactucae* (L.), *M. persicae* (Sulzer), *N. ribisnigri* (Mosley), *P. bursarius* (L.), *R. nymphaeae* (L.) (Hemiptera: Aphididae)'nin zararlı türler olduğunu belirtmiştir. Soylu et al. (2017), Hatay ilinin marul (*Lactuca sativa* L.) yetiştiriciliği yapılan alanlarında yürütmüş oldukları çalışma sonucunda yaprakbitleri (*A. gossypii*, *M. persicae*), trips (*T. tabaci*, *F. occidentalis*), yaprakpireleri (*Empoasca decipiens*, *Asymetresca decedens*), beyazsinek (*Bemisia tabaci*), yaprakkurdu (*Spodoptera littoralis*) ve yeşilkurdun (*Helicoverpa armigera*) marul bitkisinde zararlı türler olduğunu tespit etmişlerdir. Nuessly and Webb (2019), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *M. persicae*, *Uroleucon pseudambrosiae* (Olive) (Hemiptera: Aphididae), *Frankliniella* spp. (Thysanoptera: Thripidae), *D. balteata* LeConte, *D. undecimpunctata howardi* Barber, (Coleoptera: Chrysomelidae), *C. impressifrons* LeConte, *S. lecontei* (Chaudoir) (Coleoptera: Carabidae), *A. ipsilon*

**Çizelge 2.** 2015-2016 yıllarında Bayburt, Erzincan, Erzurum ve Gümüşhane illerinde yaprağı yenen sebzeler üzerinde bulunan zararlı, faydalı türler ve konukçuları

Takım	Familya	Türler	
		Zararlı Türler	Konukçuları
Hemiptera	Aphididae	<i>Acyrtosiphon ilka</i> Mordvilko	<i>Lactuca sativa</i> L.
		<i>Aphis craccivora</i> Koch	<i>Portulaca oleraceae</i> L.
		<i>Aphis gossypii</i> Glover	<i>Portulaca oleraceae</i> L.
		<i>Neomyzus circumflexus</i> (Buckton)	<i>Anethum graveolens</i> L.
Coleoptera	Chrysomelidae	<i>Phyllotreta atra</i> (Fabricius)	<i>Eruca sativa</i> Mill.
		<i>Phyllotreta nigripes</i> (Fabricius)	<i>Eruca sativa</i> Mill.
		<i>Entomoscelis adonidis</i> (Pallas)	<i>Eruca sativa</i> Mill.
Faydalı Türler			
Hemiptera	Anthocoridae	<i>Anthocoris pilosus</i> (Jakovlev)	<i>Acyrtosiphon ilka</i> Mordvilko
		<i>Orius minutus</i> (Linnaeus)	<i>Aphis craccivora</i> Koch, <i>Aphis gossypii</i> Glover
Neuroptera	Chrysopidae	<i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens)	<i>Acyrtosiphon ilka</i> Mordvilko, <i>Aphis craccivora</i> Koch, <i>Aphis gossypii</i> Glover
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Adalia bipunctata</i> (Linnaeus)	<i>Aphis craccivora</i> Koch, <i>Aphis gossypii</i> Glover
		<i>Adalia fasciatopunctata revelierei</i> Mulsant	<i>Aphis craccivora</i> Koch, <i>Aphis gossypii</i> Glover
		<i>Coccinella septempunctata</i> (Linnaeus)	<i>Acyrtosiphon ilka</i> Mordvilko, <i>Aphis craccivora</i> Koch, <i>Aphis gossypii</i> Glover, <i>Neomyzus circumflexus</i> (Buckton)
		<i>Oenopia (Synharmonia) conglabata</i> (Linnaeus)	<i>Aphis craccivora</i> Koch, <i>Aphis gossypii</i> Glover
Hymenoptera	Braconidae	<i>Praon volucre</i> (Haliday)	<i>Aphis gossypii</i> Glover

**Çizelge 3.** 2015-2016 yıllarında Bayburt, Erzincan, Erzurum ve Gümüşhane illerinde yapılagı yenen sebzeler üzerinde bulunan zararlı, faydalı türler ve yoğunlukları

Sebze türü	Tarih	İl	İlçe	Sürvey yapılan alan (da)	Zararlı tür	Zararlı yoğunluk (birey-adet bitki)	Faydalı tür	Faydalı yoğunluk (birey-adet bitki)
Dereotu	18.06.2015	Bayburt	Merkez	0.3	<i>Neomyzus circumflexus</i> (Buckton)	2.5		
	18.06.2015	Bayburt	Merkez	0.3	-	-	<i>Coccinella septempunctata</i> (Linnaeus)	0.63
Marul	30.06.2016	Erzurum	Merkez	1.3	<i>Acyrtosiphon ilka</i> Mordvilko	4	-	-
	30.06.2016	Erzurum	Merkez	1.3	-	-	<i>Coccinella septempunctata</i> (Linnaeus)	2
	30.06.2016	Erzurum	Merkez	1.3	-	-	<i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens)	0.5
	30.06.2016	Erzurum	Merkez	1.3	-	-	<i>Anthocoris pilosus</i> (Jakovlev)	0.2
Roka	19.06.2015	Erzurum	Merkez	2	<i>Phyllotreta atra</i> (Fabricius)	0.38	-	-
	11.09.2015	Erzurum	Merkez	2	<i>Phyllotreta nigripes</i> (Fabricius)	1	-	-
	05.10.2015	Erzurum	Merkez	2	<i>Entomoscelis adonidis</i> (Pallas)	2.2	-	-
	30.06.2016	Erzurum	Merkez	0.1	<i>Phyllotreta sp.</i>	1.5	-	-
	16.08.2016	Erzincan	Merkez	0.2	-	-	<i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens)	7
	22.09.2016	Bayburt	Merkez	0.1	<i>Phyllotreta sp.</i>	0.5	-	-
Semizotu	03.08.2016	Erzurum	Merkez	1.2	<i>Aphis craccivora</i> Koch	10	-	-
	03.08.2016	Erzurum	Merkez	1.2		30	-	-
	03.08.2016	Erzurum	Merkez	1.2	<i>Aphis gossypii</i> Glover	-	<i>Orius minutus</i> (Linnaeus)	0.2
	03.08.2016	Erzurum	Merkez	1.2	-	-	<i>Adalia bipunctata</i> (Linnaeus)	3
	03.08.2016	Erzurum	Merkez	1.2	-	-	<i>Adalia fasciatopunctata revelierei</i> Mulsant	3
	03.08.2016	Erzurum	Merkez	1.2	-	-	<i>Coccinella septempunctata</i> (Linnaeus)	8

03.08.2016	Erzurum	Merkez	1.2	-	-	Oenopia (Synharmonia) conglabata (Linnaeus)	2
Semizotu							
03.08.2016	Erzurum	Merkez	1.2	-	-	Praon volucre (Haliday)	0.5

(Hufnagel), *F. subterranea* (F.), *H. zea* (Boddie), *P. saucia* (Hubner), *S. eridania* (Cramer), *S. exigua* (Hubner), *T. ni* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), *L. trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) ve *D. platura* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae)'nın yaprağı yenen sebze türlerinde zararlı türler olduğunu ifade etmişlerdir.

Yaprakbiti türleri üzerinde beslenen veya bunları parazitleyen faydalı türler de çalışma sonucunda tespit edilmiştir. Predatör türlerden olan *A. pilosus* (Jakovlev)'un *A. ilka* üzerinde; *O. minutus* (Linnaeus)'un *A. craccivora* ve *A. gossypii* üzerinde; *C. carnea* (Stephens)'nin *A. ilka*, *A. craccivora* ve *A. gossypii* üzerinde; *A. bipunctata* (Linnaeus)'nin *A. craccivora* ve *A. gossypii* üzerinde; *A. fasciatopunctata revelierei* Mulsant'nın *A. craccivora* ve *A. gossypii* üzerinde; *C. septempunctata* (Linnaeus)'nin *A. ilka*, *A. craccivora*, *A. gossypii* ve *N. circumflexus* üzerinde; *O. (Synharmonia) conglabata* (Linnaeus)'nin ise *A. craccivora* ve *A. gossypii* üzerinde beslendiği tespit edilmiştir. Ayrıca parazitoit tür olan *P. volucre* (Haliday)'nin de *A. gossypii*'nin parazitoiti olduğu çalışma sonucunda belirlenmiştir. Ölmez Bayhan ve Ulusoy (2002), Diyarbakır ilinde Aphidoidea üst familyasına bağlı türlerin predatörlerinin belirlenmesine yönelik yapmış oldukları çalışma sonucunda 5 takıma bağlı 8 familyadan toplamda 45 predatör tür tespit etmişlerdir. Bu türlerden *C. carnea*'nın *A. craccivora* üzerinde beslendiğini; *Anthocoris minki* Dohrn'nin *A. gossypii*'nin üzerinde beslendiğini; *O. minutus*'un *Acyrtosiphon pisum* (Harris) ve *A. gossypii*'nin üzerinde beslendiğini; *Orius niger* Wolff'in *A. craccivora* ve *A. gossypii*'nin üzerinde beslendiğini; *C. septempunctata*, *Exochomus nigromaculatus* (Goeze), *Platynaspis luteorubra* (Goeze) ve *Scymnus rubromaculatus*'un *A. craccivora*'nın üzerinde beslendiğini; *Psyllobora vigintiduopunctata* (L.), *Scymnus pallipediformis* Günter ve *Scymnus subvillosus* Goeze'un *A. gossypii*'nin üzerinde beslendiğini; *Hippodamia variegata* (Goeze), *Hyperaspis quadrimaculata* Redt., *Scymnus interruptus* (Goeze) ve *Scymnus levallanti* Mulsant'nin *A. craccivora* ve *A. gossypii* üzerinde beslendiğini ifade etmişlerdir. Güleç (2011), Antalya şehri park alanlarındaki bitkilerde bulunan yaprakbitleri ve doğal düşmanlarının belirlenmesi üzerinde yürüttüğü çalışma sonucunda, *C. septempunctata* ve *O. conglabata*'nın *A. craccivora* ve *A. gossypii*'nin predatörü

olduğunu; *Aphidius colemani* Viereck, *Aphidius matricariae* Haliday, *Binodoxys acalephae* (Marshall), *Binodoxys angelicae* (Haliday), *Lysiphlebus cardui* (Marshall), *Lysiphlebus fabarum* (Marshall), *Ephedrus persicae* Froggatt (Hymenoptera: Baraconidae) ve *Aphelinus* spp. (Aphelinidae)'nin ise *A. craccivora* ve *A. gossypii*'nin parazitoiti olduklarını belirtmiştir. Alaserhat ve Canbay (2017), Erzincan ilinde biberler üzerinde yapmış oldukları çalışma sonucunda *C. septempunctata*'nın *A. craccivora*'nın predatörü olduğunu; *A. fasciatopunctata revelierei*, *C. septempunctata* ve *O. conglabata*'nın *A. gossypii*'nin predatörleri olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca parazitoit türlerden *Lipolexis gracilis* (Foerster) ve *P. volucre*'nin Pamuk yaprakbiti *A. gossypii*'nin parazitoiti olduğunu belirlemişlerdir. Alaserhat ve Kaplan (2017), Tunceli ilinde yapmış oldukları çalışma sonucunda *A. craccivora* ve *A. gossypii* türleri üzerinde predatör olarak beslenen *C. septempunctata* ve *Scymnus rubromaculatus* (Goeze) türleri ile *A. gossypii*'nin parazitoiti olarak *L. gracilis*'i tespit etmişlerdir.

Son yıllarda yaprağı yenen sebzelerde hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadele sorunları artış göstermekte ve buna bağlı olarak kontrolsüz ve sadece hedef organizmaya etkili olan seçici ilaç kullanımları yerine gelişigüzel ilaçlamalar sonucunda kalıntı problemleri ile karşılaşmaktadır (Tuncer et al. 2018). Bunun sonucu olarak insan ve çevre sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu problemleri yenebilmek için ise hedef alanda bulunan zararlıların, doğal düşmanlarının ve bunların yaygınlık ve yoğunluklarının tespitinin yapılması ve buna göre mücadele programlarının yürütülmesi kaçınılmazdır. Bu çalışma sonucunda Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan Bayburt, Erzincan, Erzurum ve Gümüşhane illerinde yetiştirilen yaprağı yenen sebze türlerinde zararlı ve faydalı türler ile bunların yaygınlık ve bitki başına yoğunlukları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar yaprağı yenen sebzelerde bulunan zararlılarla ilgili ilerde yapılabilecek biyolojik mücadele çalışmalarına altyapı oluşturacaktır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM-BS-15/09-10/02-08 (7) nolu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı



Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğüne ve Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsüne teşekkür ederiz. Ayrıca çalışma sonucunda elde edilen Coccinellidae familyasına ait türlerin teşhisini yapan Sayın Prof. Dr. Nedim UYGUN'a (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, emekli öğretim üyesi), Chrysomelidae familyasına ait türlerin teşhisini yapan Sayın Prof. Dr. Ebru Gül ASLAN'a (Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü), Chrysopidae familyasına ait türün teşhisini yapan Sayın Prof. Dr. Ali SATAR'a (Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü), Braconidae familyasına ait türün teşhisini yapan Sayın Prof. Dr. Željko Tomanović'e (Belgrade University, Faculty of Biology, Institute of Zoology), Anthocoridae familyasına ait türlerin teşhisini yapan Sayın Dr. Gülten YAZICI'ya (Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü) teşekkür ederiz.

## ÖZET

Bu çalışma, 2015-2016 yıllarında Doğu Anadolu Bölgesi'nde Bayburt, Erzincan, Erzurum ve Gümüşhane illerinde yapıldığı yenen sebzelerin yetiştirildiği alanlarda zararlı ve faydalı böcek türlerini belirlemek amacı ile yapılmıştır. Bu amaçla sürveyler basit tesadüfi örnekleme yöntemine göre, ekiliş alanlarının en az %10'unu kapsayacak şekilde 2-4 haftalık periyotlarla gerçekleştirilmiştir. Sürveylerde toplanan örnekler laboratuvara getirilip stereo mikroskop altında incelenmiş, bitkilerde bulunan böcekler sayılarak kaydedilmiş ve yoğunlukları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda Aphididae, Chrysomelidae familyalarına ait zararlı türler ile Anthocoridae, Chrysopidae, Coccinellidae ve Braconidae familyalarına ait faydalı türler ve bu türlerin bitki başına yoğunlukları belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: zararlı, doğal düşman, yapıldığı yenen sebze, Doğu Anadolu Bölgesi

## KAYNAKLAR

Alaserhat İ., Canbay A., 2017. Aphididae species, their parasitoids, predators, and parasitism rates on pepper (*Capsicum annuum* L.). Entomological News, 127 (1), 36-50.

Alaserhat İ., Kaplan M., 2017. Ovacık (Tunceli) ilçesindeki akasyalarda (*Robinia* spp.) bulunan zararlı ve faydalı böcek türleri. Türkiye Entomoloji Bülteni, 7 (2), 89-104.

Anonim, 2018. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim tarihi: 23.09.2019).

Anonim, 2019. Yaprağı yenen sebzelerde hastalık ve zararlılarla mücadele. Online bilgi klavuzu. <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Bitki%20>

[Sa% C4% 9F1% C4% B1% C4% 9F% C4% B1% 20 Hizmetleri/ hastalik\\_zararlılari\\_ile\\_m% C3% BCcadede\\_dokumanlari/ yapragi\\_yenen\\_sebzeler.pdf](https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Bitki%20) (Erişim tarihi: 15.09.2019).

Blackman R.L., Eastop V.F., 2019. Aphids of the world's plants. An online identification and information guide. <http://www.aphidsonworldsplants.info/Introduction.htm> (Accessed date: 15.09.2019).

Bora T., Karaca İ., 1970. Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı. No: 167, 3-43.

Ellialtıoğlu Ş., Sevengör Ş., Sezik E., 2007. Şanlıurfa'da nane tarımının geliştirilmesi üzerinde çalışmalar. Şanlıurfa GAP GİDEM Bilgilendirme Toplantısı, 30 Mart 2007, Seminer Notları (Yayımlanmamış) (<http://iller.gidem.org/Sanliurfa/TibbiAromatikBitkiler.aspx>) (Erişim tarihi: 23.12.2018).

FAO, 2018. Food and Agriculture Organization. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim tarihi: 13.09.2019).

Güleç G., 2011. Antalya şehri park alanlarında Aphidoidea (Hemiptera) türlerinin saptanması ve doğal düşmanlarının belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Basılmamış Doktora Tezi, 348 s., Ankara.

Holman J., 2009. Host plant catalog of aphids palearctic region. Academy of Sciences of the Czech Republic Press, Branišovská, 1215 pp.

Nuessly G.S., Webb S.E., 2019. Insect management for leafy vegetables. An online identification and information guide. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IG/IG16100.pdf> (Accessed date: 15.09.2019).

Ölmez Bayhan S., Ulusoy M.R., 2002. Diyarbakır ilinde Aphidoidea üst familyasına bağlı türlerin predatörlerinin belirlenmesi. 463 s. Türkiye V. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri (4-7 Eylül 2002, Erzurum), 237-246 s.

Sangün O., 2010. Doğu Akdeniz Bölgesi marul ekim alanlarında zararlı olan Aphididae (Hemiptera) türleri ve bunların mücadelesine yönelik araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Basılmamış Yüksek Lisans Tezi, 60 s., Adana.

Soylu S., Sertkaya E., Üremiş İ., Bozkurt İ.A., Kurt Ş., 2017. Hatay ili marul (*Lactuca sativa* L.) ekim alanlarında görülen önemli hastalık etmenleri, zararlı ve yabancı ot türleri ve yaygınlık durumları. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22 (1), 23-33.

Tuncer S., Karabıçak Y., Alaserhat İ., Alıcı H., Kaya Y., Başaran B., Canbay A., Akbaş H.R., 2018. Doğu Anadolu Bölgesinde yapıldığı yenen sebzelerde görülen hastalık, zararlı ve yabancı otların belirlenmesi ve mücadelesi

üzerinde araştırmalar. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Proje Sonuç Raporu, 55 s., Ankara.

Yaşarakıncı N., Hıncal P., 1997. İzmir'de örtü altında yetiştirilen domates, hıyar, biber ve marulda bulunan zararlı ve yararlı türler ile bunların popülasyon yoğunlukları üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 37 (1-2), 79-89.

Cite this article: Alaserhat, İ., Canbay, A., Alıcı, H. (2020). Determination of pests and natural enemies on leafy vegetables in Eastern Anatolia Region. Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.625077

Atıf için: Alaserhat, İ., Canbay, A., Alıcı, H. (2020). Doğu Anadolu Bölgesi'nde yaprağı yenen sebzelerde görülen zararlı ve faydalı böcek türlerinin belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.625077

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Adult population fluctuations and damage ratio of *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae) in cherry orchards

Kiraz bahçelerinde *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae)'nın popülasyon dalgalanması ve zarar oranı

Ayşe ÖZDEM<sup>a</sup>, Mustafa ÖZDEMİR<sup>a</sup>, Vildan BOZKURT<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Directorate of Plant Protection Central Research Institute 06172, Ankara, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.680633](https://doi.org/10.16955/bitkorb.680633)

Received : 27.01.2020

Accepted : 20.03.2020

Keywords:

*Pandemis cerasana*, cherry, population fluctuation, damage rate

\* Corresponding author: Vildan BOZKURT

✉ [vildan.bozkurt@tarimorman.gov.tr](mailto:vildan.bozkurt@tarimorman.gov.tr)

### ABSTRACT

This study was carried out in the cherry orchards of Afyonkarahisar province in order to determine the population fluctuation of *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae) and the damage rate in bouquets and fruits. The larvae of *P. cerasana* damage the buds, flowers, leaves and fruits of the cherry tree. In this study, adult population fluctuation of *P. cerasana* and the damage rate were determined in five different cherry orchards in Afyonkarahisar province. The first adult emergence in cherry orchards took place in the third week of May in 2007 and 2008 and the adult population peaked twice. The end of the adult flights differed according to years and cherry orchards and took place between August - October. Similarly, the damage rate of *P. cerasana* in bouquets and fruits changed according to years and cherry orchards. The damage rate in the bouquet varied between 15.40 % to 56.30% and the damage rate in the fruit varied between 2.80% to 9.80% in 2007 and the damage rate in the bouquet varied between 13.70 - 54.00% and the damage rate in the fruit ranged between 2.00% and 8.10% in 2008. According to the statistical evaluation, the difference between years was not found significant with regard to the damage rate. However, the difference between the orchards in terms of the damage rate was found significant.

### INTRODUCTION

Cherry (*Prunus avium* L.) (Rosales: Rosaceae) is known as the native fruit between South Caucasus, Caspian Sea and Northeast Anatolia (Özbek 1978). Turkey is one of the origin centers of cherries and cherry cultivation is done in almost every region. Cherry is one of the fruit produced economically for domestic consumption and export. According to 2018 data, cherry production was 639.564 tons (Anonymous

2018) and 161.674 tons of total cherry production of Turkey was exported (ÜİB 2019).

There are harmful organisms that cause economic damage in cherry orchards. Apple leafroller *Archips rosanus* L. (Lepidoptera: Tortricidae) is generally present in cherry orchards and causes significant damage when no control

measures are taken (Anonymous 2017). In apple orchards in Erzincan province *A. rosana* was found as an intensive and determined as an important species (Canbay and Tozlu 2013). *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lep: Tortricidae) was rarely present in cherry orchards in our country. *P. cerasana* larvae give damage by feeding on buds, flowers, leaves and fruits of the cherry tree. Larvae damage the ripened cherry fruits by gnawing and by wrapping the leaf bouquet with silky yarns secreted by the larvae inside the leaves during the harvesting period of cherry fruit. It is found in orchards, other woodland areas and many kinds of deciduous trees, especially fruit-trees (Anonymous 2019). *Betula*, *Corylus avellana*, *Fagus*, *Quercus*, *Acer*, *Ulmus*, *Salix*, *Larix*, *Pinus*, *Abies*, *Tilia*, *Rosa*, *Rhamnus*, *Sorbus*, *Prunus*, *Pyrus* and fruit trees are hosts of *P. cerasana* (Balachowsky 1966, Özdemir et al. 2005, Razowski 2001).

Its biology is very similar to the other leafroller species but it has more economic importance than the other species. Especially damage is seen during harvesting and farmers feel weak in control of *P. cerasana*. Its damage is seen on leaves and bouquets as well as the fruits and cause directly loss of yield and leads to economic losses.

In this study, population changes of *P. cerasana* adults was observed and damage rate in cherry orchards was evaluated in five cherry orchards in two different districts in Afyonkarahisar province of Central Anatolia Region where cherry is produced especially for export. In this study, it was aimed to give information about damage status of *P. cerasana* in important cherry production areas and obtained some data for timing the control of this insect.

## MATERIALS AND METHODS

The main material of the research was *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) and the other materials were *P. cerasana* infested cherry orchards, *P. cerasana* Pherocon IC pheromone traps and various laboratory materials. Dr. Mustafa Özdemir as an expert identified *P. cerasana* adults.

This study was conducted in five cherry orchards in Sultandağı and Çay districts of Afyonkarahisar in 2007-2008. The cherry orchards were established with 0 900 Ziraat varieties and the number of trees in the orchards varied between 125-210. In the study, the adult population fluctuation of *P. cerasana* was observed by using pheromone traps and the damage rate was determined in bouquet and fruit. Pheromone traps were hung to a height of 1.5-2 m from the ground and to the prevailing wind direction. The traps were checked twice a week until

the first adult was caught, they were checked every week after the first adult was captured and the number of adults trapped was recorded. The traps were monitored for another three weeks after the last adult was caught. Pheromone capsules were changed every 4-6 weeks; the sticky plates were replaced with new ones when they became dirty.

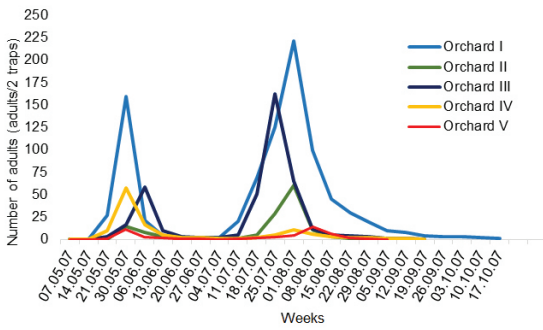
In order to determine the damage rate of *P. cerasana* in the bouquet, 100 bouquets were checked every week on the sample trees starting from April. The number of damaged bouquets recorded and the damage ratio was determined. Even if there was only one leaf infested by the larva in a bouquet, that bouquet was considered damaged. In addition, 1000 cherry fruit samples were taken randomly from different directions and heights of sample trees during the harvesting period to determine the fruit damage of *P. cerasana* and the number of damaged fruit was recorded. Percentage of damage rate was calculated on the bouquets and fruits. The counts in the bouquets and fruits were made separately in each trial orchard and the damage ratio of the cherry bouquet and fruit was calculated. The variance analysis was performed with the obtained data and was analyzed by using Tukey multiple comparison test. Statistical analyzes were performed with the help of MINITAB Release 18 (McKenzie & Goldman 2005).

## RESULTS AND DISCUSSION

In 2007, pheromone traps were hung on May 1 in five different cherry orchards in Sultandağı and Çay districts of Afyonkarahisar province. Except for the second cherry orchard in Sultandağı, the first adults were caught on May 21 in both districts. Twice adult population peaks occurred in each of five orchards (Figure 1). The peak date of the *P. cerasana* population varied according to the orchards. The adult population reached its peak in the orchard I, II and IV on May 30 and August 1; in the orchard III on June 6 and July 25 in Sultandağı district; and in the orchard V on May 30 and August 8 in Çay district.

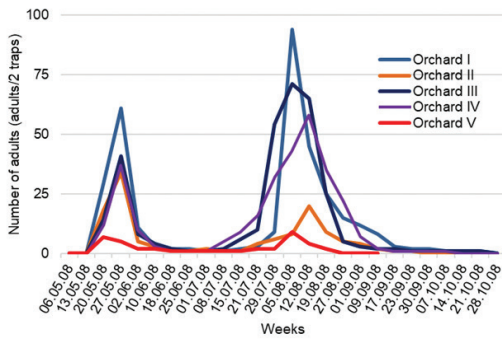
Dates of the adult flights varied according to the orchards. The adult flight ended on October 17 in the orchard I, on August 22 in the orchard II; on September 12 in the orchard III and IV and on August 29 in the orchard V. According to the results, the adult flight duration period in the first, second, third, fourth and fifth orchards in 2007 were 149, 93, 114, 114 and 100 days, respectively.

*P. cerasana* pheromone traps were hung in cherry orchards in Sultandağı and Çay districts of Afyonkarahisar province on May 6, 2008. In both districts, the first *P. cerasana* adults



**Figure 1.** Adult population fluctuations of *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae) in different cherry orchards in Sultandağı and Çay districts of Afyonkarahisar in 2007

were caught on 20 May (Figure 2). The peak of the adult population of *P. cerasana* varied according to the orchards. According to the obtained data, adult population reached its peak in the first orchard in Sultandağı and in the orchard III on May 27 and August 5, in the orchard II on May 27 and August 12. In other orchards such as orchard IV on May 20 and August 12 and in the orchard V on May 30 and August 5, the adult population reached its peak.



**Figure 2.** Adult population fluctuations of *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae) in different cherry orchards in Sultandağı and Çay districts of Afyonkarahisar in 2008

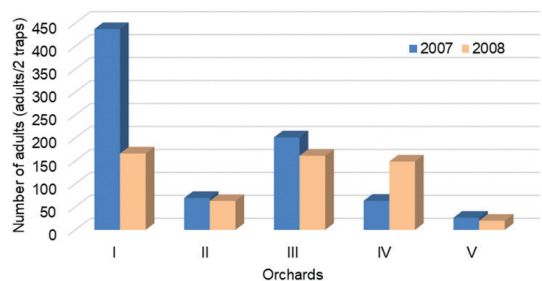
The dates of the end of adult flights differed according to the orchards. In Sultandağı I and III orchards adult flight ended on October 21, in the orchard II on September 23, in the orchard IV on October 7 and in the orchard V on August 19. In 2008 adult flight duration in the Sultandağı I and III orchard was 154 days while it was 126, 140 and 91 days in the orchard II, IV and V respectively. The average adult flight duration of both two years was determined as  $151.5 \pm 2.5$  (149-154) in the first orchard;  $137.5 \pm 11.5$  (126-149) days in the orchard II;  $151.5 \pm 2.5$  (149-154) days in the orchard III;

$127 \pm 12.9$  (114-140) days in the orchard IV and  $95.5 \pm 4.5$  (91-100) days in the orchard V.

According to a study conducted in 2010 in Üzümlü and Central districts of Erzincan province, *Archips rosana* has an adult flight period of 43 days and *A. podana*'s adult flight period is 118 days. This study mentions that *A. rosana*'s adult flight period is 35 days in Central district. *A. podana*'s adult flight period has been determined as 102 days. Parallel to our study, the duration of the adult flight period of leafroller species in the same group changed according to districts.

In 2007, the number of adults caught by pheromone traps varied according to the orchards (Figure 2). It can be seen from Figure 2 that the pest density in the II, IV and V orchards was lower than the other two orchards. Average number of adults caught by pheromone traps was  $438 \pm 13.03$  (1-221);  $62.5 \pm 4.41$  (1-60);  $201.5 \pm 10.05$  (1-162); (1-162),  $60 \pm 3.26$  (1-57) and  $21 \pm 0.79$  (0-11) in the orchards I, II, III, IV and V respectively. According to these results, it is seen that the pest population was the highest in the orchard I. Orchard III, II, IV, and V, followed orchard I (Figure 2). It can be seen from the results that the density of *P. cerasana* in cherry orchards in Sultandağı district was found higher than the density in Çay district.

In 2008, the number of adults caught by pheromone traps varied according to the orchards (Figure 3). It can be seen from Figure 3, the second orchard in Sultandağı district and the third orchard had higher pest density than the other three orchards. The number of adults caught by traps in Sultandağı district was determined as  $166.5 \pm 5.00$  (1-94);  $63 \pm 1.97$  (1-34);  $160.5 \pm 4.55$  (1-71) in the orchard I, II and III respectively while the district of Çay orchards IV, and V, were  $149 \pm 3.70$  (1-58) and  $20 \pm 0.67$  (1-9), respectively (Figure 3). According to Figure 3 the most intense population was seen



**Figure 3.** Adult numbers of *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) caught in pheromone traps in 2007-2008 cherry orchards in Sultandağı and Çay districts of Afyonkarahisar province



in the first orchard, followed by orchards III., IV., II. and V. In general, *P. cerasana* density in cherry orchards in Sultandağı district was higher than the pest density in cherry orchards in Çay district.

#### Damage ratio of *P. cerasana*

*P. cerasana* population that overwintered in 2007 started to feed under the actively opened buds starting from the second week of April. The larvae emerged and fed beneath the opened buds in early April. As the larva develops, it fed with the epidermis of the leaf by gluing the leaves together, and it fed with leaves, flowers and buds by tying the bouquets together with the secreted threads. It consumes a large portion of the fruits in the bouquet in the early period and feeds with fruit flesh superficially or head towards the core of the ripe or about to ripe fruits and pollutes it with secretion and excreta. *P. cerasana* damaged to leaves and fruits known as in a group of leafroller (Zangheri et al. 1992). In addition, secreted silky yarns and faeces were reported to spoil the fruit quality (LaGasa 1996). Evans (1970) stated that the pest fed with various broad-leaved trees and shrubs, but do damage to Garry oak trees (*Quercus garryana*) and cause leaf fall in North America. Doganlar (2007) stated that the young larvae of *Archips rosanus* move to opening buds and feed on both sides of new leaves. Percentage of damaged bouquets determined in the cherry orchards with the counts of the bouquet in 2007 and 2008 years. The loss percentage rate of *P. cerasana* in bouquets during the season is given in Table 1.

When Table 1 is analyzed, the damage rate in the bouquet in the first orchard was 56.30% in 2007 and 54.00% in 2008 and the difference was not statistically significant ( $F = 0.17$ ;  $p > 0.05$ ). In 2007 the damage rate in the orchard II was

28.00, while it was 26.20 in 2008 and the difference was not statistically significant ( $F = 0.17$ ;  $p > 0.05$ ).

In 2007, the damage rate in the orchard III was 48.80, while it was 44.90 in 2008 and the difference was not statistically significant ( $F = 0.45$ ;  $p > 0.05$ ). In 2007, the damage rate in the orchard IV was 39.20 while it was 40.20 in 2008 and the difference was not statistically significant ( $F = 0.03$ ;  $p > 0.05$ ). While the damage rate in the bouquet in the orchard V in 2007 was  $15.40 \pm 6.06$ , it was 13.70 in 2008 and the difference was not statistically significant ( $F = 0.03$ ;  $p > 0.05$ ). As a result, the difference between the years in terms of the damage rate of the bouquet in the orchards was not found statistically significant between 2007-2008 years. When Table 1 is examined the rate of the damaged bouquet in 2007 was the highest (56.30%) in the orchard I. It was 48.80% in orchard III. Damage rates were 39.20% in orchard IV, 28.00% in orchard II and 15.40% in orchard V. The difference between the orchards was found to be statistically significant ( $F = 22.21$ ;  $p < 0.05$ ).

The rate of bouquet that was damaged in 2008 was again the highest in the first orchard (54.00%). Damage rate of orchard III was 44.90% while it was 40.20% in the orchard IV and 28.00% in the orchard II and 15.40% in the orchard V. The difference between orchards was statistically significant ( $F = 21.70$ ;  $p < 0.05$ ) (Table 1). According to the counts during harvesting, the damage rate of *P. cerasana* in the fruit varied according to the orchards. In 2007, the number of damaged fruit was 9.8% in the first orchard and followed by orchard III (6.2%). Fruit damage was 5.1% in orchard IV while it was 4.3% in orchard II and 2.8% in orchard V (Figure 4). When the Figure 4 is examined, the number of damaged fruits in 2008 was parallel to 2007. According to this, the ratio of

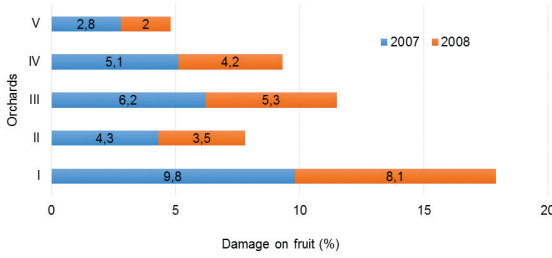
**Table 1.** Damage ratio of *Pandemis cerasana* (Hübner 1786) in different cherry orchards in Sultandağı and Çay districts of Afyonkarahisar province in 2007- 2008

Years	% Damage± SD (%95 CI)				
	Orchard I	Orchard II	Orchard III	Orchard IV	Orchard V
2007	56.30±12.49 a*A** (47.90-64.70)	28.00±9.19 aCD (21.57-34.43)	48.80±11.47 aAB (40.12-57.48)	39.20±13.76 aBC (31.21- 47.19)	15.40±6.06 aD (12.27-18.53)
2008	54.00±12.80 aA (45.60-62.40)	26.20±10.13 aC (19.77-32.63)	44.90±14.49 aAB (36.22-53.58)	40.20±10.00 aB (32.21-48.19)	13.70±2.75 aC (10.57-16.82)

\* Different letters in the same column indicate statistically different from each other (Anova  $P < 0.05$ . Tukey test).

\*\* Different letters in the same line indicate statistically different from each other (Anova  $P < 0.05$ . Tukey test).

damaged fruit was highest in the first orchard with 8.1%. It was followed by orchard III (5.3%), orchard IV (4.2%), orchard II (3.5%) and orchard V (2.8%). The damage rate in the bouquet and the damage rate in the fruit were parallel in the orchards. Only in 2008, orchard II and orchard V did not differ as to the damage rate in the bouquet and belonged to the same group statistically.



**Figure 4.** Fruit damage percentage rates of *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) in different cherry orchards in Sultandağı and Çay districts of Afyonkarahisar province in 2007-2008

Ulu and Önuçar (1999) stated that the damage rate of *Archips rosana* larvae in cherry fruits changed between 2% and 9%. Fruit damage caused by other leafroller species that is found out by various researchers was similar to our findings. In addition, Ercan and Özpınar (2014) stated that in their study in the province of Çanakkale *A. rosana* and *P. cerasana* did not do damage to cherry and apple orchards, but they found that they do damage both leaves and fruits in peach orchards. The adult flight duration and the rate of damaged bouquet and fruit in the orchards III and I were higher than the other orchards in both years. Vicinity of the both orchards was cherry orchards infected with this pest and they were the source of infection. In the orchard V, where the least damage was seen, the adult flight duration was realized in a short period in both years and damage rates were lower in this orchard. It is thought that being located in an isolated area, the population level and damage rate of this pest was low in orchard V.

*P. cerasana* caused significant damage in cherry bouquets and fruits due to population density in cherry orchards, which are important source of income in our country. Uncontrolled spraying against *P. cerasana* can result in residual risk on the fruit. Adult population density can be decreased by using alternative control methods such as cultural and biotechnical methods in this pest control and thus the loss of yield rate can be reduced. According to the data obtained from this study, it is thought that it is important to take necessary measures

in these areas by monitoring the orchards, which prevent the increase of the pest population by taking precautions in time. In cherry orchards destruction of infected fruits at harvest as a cultural control method is important in terms of decreasing pest population.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to express our sincere thanks to General Directorate of Agricultural Research and Policies for providing financial support for this research. We would also like to thank Dr. Mustafa ALKAN (PPCRI) for doing statistical analysis and our valuable producers who provide us the opportunity to work in their cherry orchards.

## ÖZET

Bu çalışma Afyonkarahisar ili kiraz bahçelerinde *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae)'nın popülasyon dalgalanması ile buket ve meyvelerindeki zarar oranını belirlemek amacıyla yapılmıştır. *P. cerasana*'nın larvaları kiraz ağacının tomurcuk, çiçek, yaprak ve meyvelerinde zarar yapmaktadır. Bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinde beş farklı kiraz bahçesinde *P. cerasana*'nın ergin popülasyon dalgalanması izlenmiş ve zarar oranı belirlenmiştir. Kiraz bahçelerinde ilk erginler her iki yılda da Mayıs ayının üçüncü haftasında gerçekleşmiş ve ergin popülasyonu iki kez zirveye ulaşmıştır. Ergin uçuşlarının sona ermesi yıllara ve kiraz bahçelerine göre değişmiş olup, ergin uçuşları ağustos - ekim ayları arasında gerçekleşmiştir. *P. cerasana*'nın buketlerde ve meyvelerdeki zarar oranı yıllara ve kiraz bahçelerine göre değişmiştir. 2007 yılında buketteki zarar oranı %15.40 ile %56.30 arasında değişirken meyvedeki zarar oranı %2.80-%9.8 arasında değişmiştir. 2008 yılında buketteki zarar oranının %13.70 -%54.00 arasında değişirken meyvede zarar oranı %2.00-%8.10 arasında değişmiştir. Yapılan istatistikî değerlendirme sonucunda zarar oranı bakımından yıllar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Bununla birlikte, meyve bahçeleri arasındaki zarar oranı arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Pandemis cerasana*, kiraz, popülasyon dalgalanması, zarar oranı

## REFERENCES

Anonymous, 2017. Technical instruction of cherry and sour cherry, IPM. Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Agricultural Research and Policies, Ankara. <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/>



- Entegre/kiraz%20ve%20vi%C5%9Fne.pdf (Accessed date: 25.11.2019)
- Anonymous, 2018. Crop production statistics. Turkish Statistical Institute. [http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1001](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001) (Accessed date: 13.11. 2019).
- Anonymous, 2019. Barred fruit-tree Tortrix *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) <https://ukmoths.org.uk/species/pandemis-cerasana> (Accessed date: 25.11.2019).
- Balachowsky A.S., 1966. Entomologie appliquee a l'agriculture, Tome II Lepidopteres, 1057 pp.
- Canbay A., Tozlu G., 2013. Determination and population fluctuations of harmful *Archips* (Lepidoptera: Tortricidae) species on apple trees and the biology of important species *Archips rosana* (L., 1758) in Erzincan province. Turkish Journal of Entomology, 37 (3), 305-318.
- Doganlar O., 2007. Distribution of European leafroller, *Archips rosanus* (L.) (Lep.: Tortricidae) Egg masses on different apple cultivars. Asian Journal of Plant Sciences 6 (6), 982-987.
- Ercan S., Özpınar A., 2014. Distribution of *Archips rosana* (Linnaeus, 1758) and *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae) in fruit areas and population development in peach orchards in Çanakkale province. Plant Protection Bulletin, 54 (3), 267-281.
- Evans D., 1970. Life history and immature stages of *Pandemis cerasana* (Lepidoptera: Tortricidae). Canadian Entomologist, 102, 1597-1603.
- Lagasa E., 1996. Exotic fruit tree pests in Whatcom County, Washington. Proceedings of the 70 th. Annual Western Orchard Pest&Disease Management Conference WOPDMC 70, 55-57.
- Mckenzie J.D., Goldman R., 2005. The student guide to MINITAB Release 14 Manual. Pearson Education, Boston, MA.
- UİB, 2019. Cherry report. General Secreteriat of Uludağ Exporters Association, R&D Department, 11 pp.
- Ulu O., Önuçar A., 1999. Investigations on the economic threshold of Rose leafroller, *Archips rosanus* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). Plant Protection Bulletin, 39 (3-4), 103-114.
- Özbek S., 1978. Special fruit-winter leaving fruit species. Publishing of Çukurova University Faculty of Agriculture, Publish No: 128, Adana.
- Özdemir M., Özdemir Y., Seven S., Bozkurt V., 2005. Investigations on pest Tortricidae fauna (Lepidoptera) on cultural plants in Central Anatolia Region. Plant Protection Bulletin, 45 (1-4), 17-44.
- Razowski J., 2001. Die tortriciden mitteleuropas. F. Slamka, Bratislava, 319 pp.
- Zangheri P., Briolini P., Gravedi P., Duscu C., Molinar F., Pasqualini E., 1992. I Lepidotteri dei fruttiferi e della vite. Ed. Bayer, L'Inf.Agrario, Verona, pp.191.
- Cite this article: Özdem, A, Özdemir, M, Bozkurt, V. (2020). Adult population fluctuations and damage ratio of *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae) in cherry orchards. Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.680633
- Atif için: Özdem, A, Özdemir, M, Bozkurt, V. (2020). Kiraz bahçelerinde *Pandemis cerasana* (Hübner, 1786) (Lepidoptera: Tortricidae)'nın popülasyon dalgalanması ve zarar oranı. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.680633

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## The effect of photoperiod on development time, sex ratio and fecundity of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae)

Fotoperiyodun *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae)'un gelişim süresi, eşey oranı ve verimine etkisi

Yeşim KOÇ<sup>a</sup>, Evrim SÖNMEZ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Sinop University, Faculty of Education, Department of Science Teaching, 57000, Sinop, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.632043](https://doi.org/10.16955/bitkorb.632043)

Received : 11.10.2019

Accepted : 27.01.2020

Keywords:

insect, daylight, life stages, reproduction

\* Corresponding author: Evrim SÖNMEZ

✉ [esonmez@sinop.edu.tr](mailto:esonmez@sinop.edu.tr)

### ABSTRACT

In the trials, the influence of photoperiod on the development time, sex ratio, and fecundity of *Acanthoscelides obtectus* were examined. The trials were carried out in five different photoperiod regimes including 0L:24D [continuous darkness (CD)], 6L:18D (6 hours of light, 18 hours of dark), 12L:12D (12 hours of light, 12 hours of dark), 18L:6D (18 hours of light, 6 hours of dark), 24L:0D [continuous light (CL)] with a temperature of 25±2 °C and 60±5% relative humidity. The shortest pre-adult development time was determined under CD conditions. While the development period lasted 26.33±0.88 days under CD conditions, it lasted for 35.33±0.66 days under CL conditions. Although the sex ratio did not differ much, CL conditions were in favor of males. The lowest female fecundity was determined under CL and 18L:6D conditions. Fecundity did not differ significantly under CD and 6L:18D, while it decreased significantly under 12L:12D, 18L:6D, and CL conditions. Especially, when CL and CD were compared with each other, statistically significant difference was observed.

### INTRODUCTION

Photoperiod influences many physiological and biochemical activities in insects such as development and reproduction, longevity, activity type and activity timing (Kikukawa et al. 2016, Saunders 2012, 2013, Qin et al. 2016, Zerbino et al. 2014), entering diapause and termination of diapause (Hossain et al. 2016, Kikukawa et al. 2008, Nelson et al. 2009), low temperature tolerance (Findsen et al. 2013, MacMillan and Sinclair 2011), and sexual behavior (Costanzo et al. 2015, Pazyuk and Reznik 2016). Together with temperature,

photoperiod and light intensity are important factors in the life cycle of warehouse pests. Insect development and behavior are influenced by factors such as light, heat, humidity and food. Among these, photoperiod is the most important factor directly influencing circadian rhythm.

Bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* Say is a pest which causes great losses of product both qualitatively and quantitatively in the field and during the storage of dry bean

seeds. *A. obtectus* reproduces more than once a year and female adults leave about 200 eggs on bean seeds one by one or as in clusters of 4-20. Larvae which come out of the egg not only form holes on legume seeds during their diet, but also decrease the nutritional value of the seeds and contaminate them with feces and larval bodily residues (Ahmed et al. 2019).

Using chemicals predominantly in pest control has caused the off-target emergence of many problems in time on the contrary to what was expected before because of their harms to both humans and other living beings directly or through food chain.

Recently, as a result of the increase in ecological awareness, biological control methods have begun to be used which can be an alternative to chemical control (Oliveira et al. 2018). Success in biological control depends on the determination of control strategies and timing. This occurs through knowledge of both the pest and the biological characteristics of the biological control agent to be used for this pest. In the fight against *A. obtectus*, which is a seed pest, the biology of the pest and the environmental factors influencing its biological features should be known.

## MATERIALS AND METHODS

In this study, the influence of photoperiod on development time (total development time), sex ratio and fecundity of *A. obtectus* were examined. The trials were conducted in five different photoperiod regimes 0L:24D [continuous darkness (CD)], 6L:18D (6 hours of light, 18 hours of dark), 12L:12D (12 hours of light, 12 hours of dark), 18L:6D (18 hours of light, 6 hours of dark), 24L:0D [continuous light (CL)] with a temperature of  $25\pm 2$  °C and  $60\pm 5\%$  relative humidity. The trial which was dark all the time was conducted in incubator, while the others were conducted in rooms the light of which were adjusted with photoperiod light.

The method was followed by Sönmez and Gülel (2008) in the establishment of stock cultures. Stock cultures were checked every day and new insects were taken to a different container. Four females and four males obtained from stock cultures were put together in a jar of 250 ml and this jar was closed with a cloth. Container prepared for trial was kept in one of the different five photoperiod conditions under the specified laboratory conditions. They were allowed to mate and lay eggs for 5 days. Females and males were removed from jars after 5 days. The day insects were observed to come out was calculated as development time. 40 individuals were used to

calculate development time in each trial. When the adults began to form in trial containers, adults which came out every day were grouped according to their sexes and their numbers were specified. The number of adults per female in each trial of a specific photoperiod regime (female fecundity) and the number of adults from each trial were found by dividing into four since four females were used initially.

Sexual distinction of the adults which came out of the seeds was calculated by looking at the difference in the ventral appearance of the abdomen, by using Atak (1975). The sexes of the adults which came out of the seeds were grouped and female-male ratio was found and female sex ratio was given in tables. Trials for sex ratio, fecundity and development period were repeated three times and the averages were taken. SPSS 21.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program was used in the statistical assessment of the data. One way variance analysis (ANOVA) was used in the statistical assessment of five different photoperiods on the development time, sex ratio and fecundity of *A. obtectus*. The significance levels of the results obtained from this test were assessed by using 'Tukey' test. 0.05 reliability was used in the assessments.

## RESULTS

Table 1, Figures 1, 2 and 3 show development time, sex ratio and fecundity of *A. obtectus* in different photoperiods. Development time includes the period from the day of laying of the eggs to the adult emergence. While the development period lasted  $26.33\pm 0.88$  days under CD conditions, it lasted for  $35.33\pm 0.66$  days under CL conditions ( $p= 0.000$ ) (Table 1 and Figure 1). While the development time was very close under CD and 6L:18D conditions, another close result was found under 12L:12D and 18L:6D conditions. Development time was  $26.33\pm 0.88$  under CD conditions, while it was  $28.33\pm 0.66$  under 6L:18D conditions. There is no statistical difference between two values. Under 12L:12D conditions, development time was  $32.66\pm 0.33$ , while it was  $31.33\pm 0.33$  under 18L:6D conditions. There is no statistical difference between two groups. The differences between the other groups are significant. While average development time was  $26.33\pm 0.88$  at CD, this period increased to  $35.33\pm 0.66$  at CL and the difference between them was statistically significant. As can be seen from Table 1 and Figure 1, the quickest development occurred under CD conditions, this was followed by 6L:18D.

While female sex ratio was  $45.33\pm 0.88\%$  under CL conditions, it was  $51.00\pm 0.57\%$  under 6L:18D and 12L:12D conditions

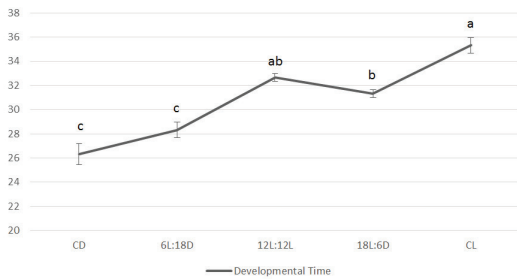
**Table 1.** Effects of different photoperiods on development time, sex ratio and fecundity of *Acanthoscelides obtectus*

Photoperiod	Development Time (Day)	Sex Ratio (females) (%)*	Fecundity (%)
<sup>1</sup> Mean±S.D.			
CD	26.33±0.88c	49.66±0.88a+	75.00±1.15a
18D:6L	28.33±0.66c	51.00±0.57a	75.00±0.57a
12D:12L	32.66±0.33ab	51.00±0.57a	66.00±1.52b
6D:18L	31.33±0.33b	49.33±0.66a	54.66±1.85c
CL	35.33±0.66a	45.33±0.88b	39.00±1.52d
F	89.371	3528.214	21618.670

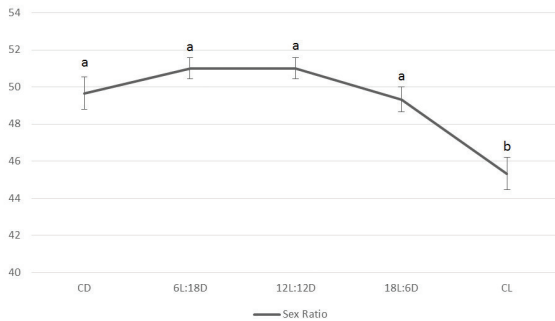
+With in the same column followed by same lower capital letters are not statistically different  $p>0.05$  (Tukey test).

\*Only shows females sex ratio.

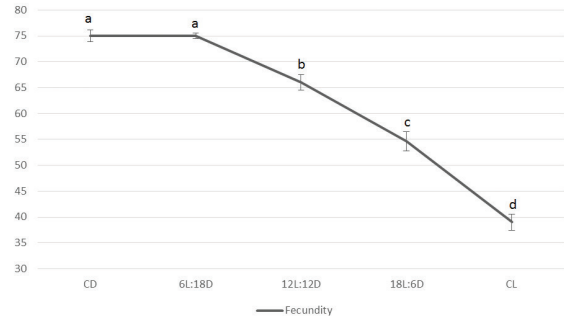
<sup>1</sup>Means of three replicates, each with 40 individuals. S.D.: Standart Deviation.



**Figure 1.** Effects of different photoperiods on *Acanthoscelides obtectus* development time (day). The differences between the values shown with the same lower-case letter are not statistically different ( $p>0.05$ , Tukey test)



**Figure 2.** Effects of different photoperiods on *Acanthoscelides obtectus* sex ratio (%). The differences between the values shown with the same lower-case letter are not statistically different ( $p>0.05$ , Tukey test)



**Figure 3.** Effects of different photoperiods on *Acanthoscelides obtectus* fecundity (%). The differences between the values shown with the same lower-case letter are not statistically different ( $p>0.05$ , Tukey test)

( $p= 0.000$ ) (Table 1 and Figure 2). As can be seen from Table 1, female sex ratio was found to be  $45.33\pm0.88\%$  under CL conditions and this is statistically different from the other groups. Female sex ratio was found to be  $51.00\pm0.57\%$  under 6L:18D and 12L:12D conditions.

While fecundity was  $75.00\pm1.15\%$  under CD conditions, it was found to be  $39.00\pm1.52\%$  under CL conditions (Table 1 and Figure 3). While fecundity was not very different under CD, 6L:18D conditions, it was found to decrease significantly under 12L:12D, 18L:6D and CL conditions. As can be seen from Table 1, while fecundity was  $75.00\pm1.15\%$  under CD and 6L:18D conditions, it was found to be  $66.00\pm1.52\%$  under 12L:12D,  $54.66\pm1.85\%$  under 18L:6D and  $39.00\pm1.52\%$  under CL conditions.

## DISCUSSION

Photoperiodism is the ability of organisms to evaluate and use day length as a signal realized beforehand in the organization of seasonal activities during their life time. Photoperiod activates the changes in fur and feather color, the phenomenon of migration, the start of wintering, mating behaviors and even the development of sexual organs with the changes in temperature. A great number of animals, especially those living in higher latitudes, use day length as preliminary information to organize season dependent suitable behavioral and developmental strategies. The most common of these is the start of wintering diapause in insects and seasonal reproduction strategies in many animal groups. Day length and consequently seasonal information during the year is vital for many animals. Specific biological and behavioral changes depend on this information (Saulich and Musolin 2012, Saunders 2012, 2013).

In a study by Hossain et al. (2016), which was conducted with *Dermestes maculatus* using 3 different photoperiods (24D, 24L, 12L:12D), it was found that development period shortened based on darkness. Fecundity was least observed under continuous light conditions. Eclosion rate and survival were observed under lowest light conditions. Chocorosqui and Panizzi (2003) found that in *Dichelops melacanthus* under 12L:12D conditions, nymphal development lasted longer than the state photoperiod was taken to 14L:10D conditions. In a study conducted on *Macrolophus pygmaeus* in two different laboratories but under same conditions (10D, 16D and 20 °C Russia, Soçi and Italy, Rome), Pazyuk and Reznik (2016) found that the development periods of nymphs exposed to short day length increased and of the sexes kept under both conditions, males were found to develop faster. Animals' rates of being influenced by photoperiod vary according to their environment and lifestyle. In a study they conducted with *Spodoptera litura* (12L:12D, 0L:24D, and 24L:0D), Subala and Shivekumar (2017) found that butterflies, lived longer and consumed food the most under dark conditions. In their study they conducted with 3 different species of blowfly (*Phormia regina meigen*, *Cochliomyia macellaria* and *Calliphora vicina*), Fisher et al. (2015) bred insects at 20 °C and 26 °C and used 4 different photoperiod regimes (0L, 12L, 16L and 24L). When the development rates were compared, it was found that the insects which developed the fastest development were under dark conditions in all three species.

As can be seen in Table 1 and Figure 1, development time was shorter in insects which were kept in the dark all the time. During development, there were similarities especially between groups which included close lightening periods.

Insects have special structures that are sensitive to light. Not only the adult insect, but also the eggs, larvae and pupae are affected by photoperiod through light-sensitive structures. While short day length can pause larval and pupal development, long day length can faster in some insects. In this study, development time was accelerated in short photoperiod conditions, it lasted shorter. Our study has similar results with the study of Chocorosqui and Panizzi (2003), Fisher et al. (2015), Pazyuk and Reznik (2016).

Although pre-adult development occurs in the seed, holes and cavities left in the seed during oviposition and feeding allow the detection of the photoperiod in the pre-adult period. There are many studies on the effect of photoperiod on larval development time and pupal emergence time in many insects (Hossain et al. 2016, Johri et al. 2009). Although the sex ratio did not differ too much, it was in favor of males especially under continuous light conditions. Sex ratios were given as female sex ratio percentage. Although sex ratio did not differ too much, it developed in favor of males especially under continuous light conditions. The highest male sex ratio was found under CL conditions.

Fecundity is number of adults per female (female fecundity). The number of adults obtained from each trial (at the beginning, since 4 females were used) was divided into 4, the percentage value was found. While fecundity was not found to differ too much with CD, 6L:18D, it was found to decrease significantly under 12L:12D, 18L:6D and CL conditions. When especially CL and CD were compared with each other, the difference between was found to be statistically significant ( $p= 0.000$ ). Especially when CL and CD are compared with each other, the decrease in-between is statistically significant. The lowest female fecundity was found under CL and 18L:6D conditions, respectively. CD conditions in which the quickest development takes place are also the photoperiod with highest female fecundity. In a study conducted by Niva and Takeda (2003) with *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae) which was on the effect of photoperiod on female fecundity, it was found that when compared with short day conditions 11:13 (L:D), in long day photoperiod conditions, fecundity was higher, the percentage of reaching reproductive maturity was higher, and although pre-adult nymph development was a bit slower, adults showed faster development and reproductive maturity. Of the studies which researched the association between fecundity and photoperiod, in their study conducted with *Alphitobius diaperinus*, Razzak et al. (2012) found that the highest fecundity was obtained at 12L:12D and female fecundity was found to be very low under continuous light conditions. These studies show similar results to our study. In addition to playing a key role

in shaping evolutionary activities of animals, photoperiod also plays a role in adapting an animal's life according to its environment. Thus, the adaptation of the animal to physical inorganic environment is completed and the animal is made to continue its existence (Rivas et al. 2014). In a study conducted on *Amphinemura* sp. by Yoshimura (2014) insects were raised under 24D, 16D:8L, 12D:12L, 8D:16L at 20 °C and it was found that the highest hatching rate occurred at 16D:8L.

In insects, sex ratio is an important factor in finding out population density. Although this rate is different in different species, the age of the female, the number of eggs left after fecundation, amount and type of food, temperature and photoperiod play a significant role (Wang et al. 2013). Sexual reproduction and asexual reproduction which occur based on photoperiod on aphids are typical examples which show the influence of photoperiod on sex ratio (Beck 1963).

A study conducted on *Callosobruchus maculatus*, which is a Coleopter like *A. obtectus*, results similar to our results were found. Rezaei et al. (2013) bred insects at 20 °C under CL and at 30 °C under CD conditions and found that the group (females) bred under CD conditions at 30 °C had a life cycle of 40 days and their pre-adult period was completed in 22 days. These female values are 78.09 days and 22 days raised at 20 °C under CL conditions, respectively. In our study, pre-adult development period is shorter when compared with others raised under CD conditions. In another study conducted with *Callosobruchus chinensis*, which is a similar species, the highest rate of eggs left, the highest adult eclosion, average longevity and highest sex ratio were found under CD and 12D:12L (Johri et al. 2009).

While there were no studies about the influence of photoperiod on *A. obtectus* development time, the only study found was conducted with *A. obtectus* in 1989 by using 5 different photoperiods (CL, CD, 4D:20L, 16D:8L and 20D:4L) and found that continuous light increased sex ratio in favor of males, and fecundity and adult rate increased as the darkness increased and larval death was found to decrease (Stamopoulos 1989). In our study, development periods in 5 different photoperiods (CL, CD, 12L:12D, 18L:6D, 6L:18D) were examined and it was found that the fastest development took place in CD, that is becoming an adult took shorter, and results closer to continuous darkness at 6L:18D were found since the dark period was longer and there was a faster development. As the light period increased, development period also got longer. The period up to the adulthood of insects took place under dark conditions the longest. In female fecundity, it was found to be close especially under

6L:18D and CD and fecundity was found to decrease with the increases in light stage. Although sex ratio in *A. obtectus* was found to be similar in some photoperiods, the ratio of males was found to be higher. This result shows that in this insect, photoperiod influences sex ratio.

In this study, some differences were found in different photoperiods, which were significant in some groups. This shows that the changes in photoperiod can be effected in insect metabolism. The control center in the brain is influenced by photoperiod. Influence of photoperiod on brain causes changes in the activities of various regulatory chemicals, for example, activities. Changes occur in the endocrine status of the insect. In this study, conditions in which darkness was longer caused increase in reproduction activity and egg fecundity. Very close results observed in some groups which conclude close daily lightening period can be explained with the similar effects of photoperiod on reproduction, aging and metabolism.

Changes in insect metabolism in different photoperiods were found in this study. In case of too much darkness in terms of fecundity and development these are in favor of this insect. In order to be able to breed too many insects in a short period of time, it will be more suitable to conduct studies under continuous darkness conditions.

## ÖZET

Denemelerde fotoperiyodun *Acanthoscelides obtectus*'ün ergin öncesi gelişim zamanı, eşey oranı ve verimine etkisi incelendi. Denemeler [0A:24K, Devamlı Karanlık (DK)], 6A:18K (6 saat aydınlık, 18 saat karanlık), 12A:12K (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık), 18A:6K (18 saat aydınlık, 6 saat karanlık), 24A:0K [Devamlı Aydınlık (DA)] şartları olmak üzere beş farklı fotoperiyotta, 25±2 °C ve %60±5 nispi nemde gerçekleştirilmiştir. Ergin öncesi gelişim zamanı en kısa DK koşullarında tespit edilmiştir. DK şartlarında gelişim zamanı 26.33±0.88 iken, DA şartlarında 35.33±0.66 gün olmuştur. Eşey oranı çok fazla değişiklik göstermemesine rağmen, DA şartları erkeklerin lehine olmuştur. En düşük dişi fekunditesi ise DA ve 18A:6K koşullarında tespit edilmiştir. Fekundite DK ve 6A:18K şartlarında çok fazla farklılık göstermezken, 12A:12K, 18A:6K ve DA şartlarında önemli bir şekilde azalmıştır. Özellikle DA ve DK birbiriyle karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı farklar bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: böcek, gün ışığı, yaşam evreleri, üreme



## REFERENCES

- Ahmed S.S., Naroz M.H., Abdel-Aziz S.Y., Awad M.A., Abdel-Shafy S., 2019. Morphological, molecular and biological studies on common bean weevil *Acanthoscelides obtectus* (Say) in Egypt. *Journal of Entomology*, 16 (1), 30-38.
- Atak E.D., 1975. Fasulye tohum böceği (*Acanthoscelides obtectus* Say)'nin biyoeolojisi ve mücadelesi üzerine araştırmalar. T.C. Tarım Bakanlığı, Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Araştırma Eserleri Serisi, Teknik Bülten 7, İstanbul, 64 s.
- Beck S.D., 1963. Animal photoperiodism: relationship of daylength to animal growth, development and behaviour. *Molt Library of Science Series-b*, New York, 114 pp.
- Chocorosqui V.R., Panizzi A.R., 2003. Photoperiod influence on the biology and phenological characteristics of *Dichelops melacanthus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Journal of Biology*, 6 (4), 655-664.
- Costanzo K., Schelble Jerz S., Keenan M., 2015. The effect of photoperiod on life history and blood-feeding activity in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*, 40, 164-171.
- Fisher M.L., Higley L.G., Foster J.E., 2015. The influence of photoperiod on development rates of three species of orensically important blow flies. *Journal of Insect Science*, 15 (1), 153-163.
- Findsen A., Andersen J.L., Calderon S., Overgaard J., 2013. Rapid cold hardening improves recovery of ion homeostasis and chill coma recovery time in the migratory locust, *Locusta migratoria*. *Journal of Experimental Zoology*, 216, 1630-1637.
- Johri P.K., Sarika G., Johri R., 2009. Effect of photoperiod on progeny production of *Callosobruchus chinensis* Linn. on most preferred food lentil (*Lens culinaris* Medic.) *Journal of Experimental Zoology*, 12 (2), 369-371.
- Hossain T., Yasmin M., Islam M.H.A.T., Islam M.F., Saifullah S.M., 2016. Effects of photoperiod on the development of hide beetle, *Dermestes maculatus* DeGeer (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4 (5), 672-676.
- Kikukawa S., Minamizuka T., Matoba W., 2008. Responses to stepwise photoperiodic changes for the larval diapause of the Indian meal moth *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology*, 33 (4), 360-364.
- Kikukawa S., Kakihara Y., Nakamura H., Okano Y., Saitoh A., Shindou R., Sugino N., Terayama K., Tsunekawa J., Yasui A., Yoneda K., 2016. Adult eclosion rhythm of *Plodia interpunctella* under non-24 h photoperiods. *International Journal of Animal Biology*, 2 (1), 11-18.
- MacMillan H.A., Sinclair B.J., 2011. The role of the gut in insect chilling injury: cold-induced disruption of osmoregulation in the fall field cricket, *Gryllus pennsylvanicus*. *Journal of Experimental Zoology*, 214, 726-734.
- Nelson R.J., Denlinger D.L., Somers D.E., 2009. Photoperiodism: insect calendar. Published to Oxford Scholarship Online. doi: 10.1093/aob/mcr215 (Accessed date: 31.08.2019)
- Niva C.C., Takeda M., 2003. Effects of photoperiod, temperature and melatonin on nymphal development, polyphagism and reproduction in *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae). *Zoological Science*, 20 (8), 963-970.
- Oliveira M.R., Bonome L.T.S., Bittencourt H.H., Zarowni E., Silva L.L., 2018. Alternative treatments in bean seeds for repelling *Acanthoscelides obtectus* (SAY). *Journal of Seed Science*, 40 (4), 362-369.
- Pazyuk I.M., Reznik S.Y., 2016. Influence of photoperiod on development and maturation of *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae). *Entomological Review*, 96, 274-279.
- Qin Q., Liu S., Li S., Zhang W., He Y., 2016. Role of photoperiod in the development and reproduction of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Biocontrol Science and Technology*, 26 (1), 116-124.
- Razzak M.A., Islam A.T.M.F., Islam M.H., Saifullah A.S.M., 2012. Evaluation of the effects of photoperiod on some aspects of biology of lesser meal worm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Jahangirnagar University Journal of Biological Sciences*, 1 (2), 1-7.
- Rezaei H., Goldasteh S.H., Sanatgar E., Beigy S., 2013. Effects of different regimes of photoperiod and temperature on biology of *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae). *Journal of Entomological Research*, 5 (1)(17), 35- 41.
- Rivas G.B.S., Souza N.A., Peixoto A.A., Bruno R.V., 2014.



Effects of temperature and photoperiod on daily activity rhythms of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Parasites & Vectors, 7, 278-287.

Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.632043

Saulich A., Musolin D.L., 2012. Diapause in the seasonal cycle of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) from the temperate zone. Entomological Review, 92, 1-26.

Saunders D.S., 2012. Insect photoperiodism: seeing the light. Physiological Entomology, 37, 207-218.

Saunders D.S., 2013. Insect photoperiodism: measuring the night. Journal of Insect Physiology, 59, 1-10.

Stamopoulos D.C., 1989. Effects of photoperiod on the biology of *Acanthoscelides obtectus* Say. Journal of Applied Entomology, 107, 150-154.

Sönmez E., Gülel A., 2008. Effects of different temperatures on the total carbohydrate, lipid and protein amounts of the bean beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). Pakistan Journal of Biological Science, 11 (14), 1803-1808.

Subala S.P., Shivakumar M.S., 2017. Circadian variation affects the biology and digestive profiles of a nocturnal insect *Spodoptera litura* (Insecta: Lepidoptera). Biological Rhythm Research. 48 (2), 207-226.

Wang S., Tan X.L., Guo X.J., Zhang F., 2013. Effect of temperature and photoperiod on the development, reproduction, and predation of the predatory ladybird *Cheilomenes sexmaculata* (Coleoptera: Coccinellidae). Journal Economical Entomology, 106 (6), 2621-9.

Yoshimura M., 2014. The relation between egg hatching and photoperiod in *Amphinemura* sp. (Plecoptera). Biological Rhythm Research, 45 (5), 739-746.

Zerbino M.S., Altier N.A., Panizzi A.R., 2014: Phenological and physiological changes in adult *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) due to variation in photoperiod and temperature. Florida Entomologist, 97, 734-743.

Cite this article: Koç, Y, Sönmez, E. (2020). The effect of photoperiod on development time, sex ratio and fecundity of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.632043

Atıf için: Koç, Y, Sönmez, E. (2020). Fotoperiyodun *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae)'un gelişim süresi, eşey oranı ve verimine etkisi. Bitki Koruma



# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Determination of bacterial leaf spot of lettuce caused by *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939 and the reactions of some lettuce cultivars

Marul yaprak lekesi etmeni *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson'nın tespiti ve bazı marul çeşitlerinin reaksiyonlarının belirlenmesi

Didem CANİK OREL<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection 06135, Ankara, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.639801](https://doi.org/10.16955/bitkorb.639801)

Received : 30.10.2019

Accepted : 09.01.2020

Keywords:

lettuce, leaf spot, *Pseudomonas viridiflava*, cultivar reaction

\* Corresponding author: Didem CANİK OREL

✉ [dcanik@agri.ankara.edu.tr](mailto:dcanik@agri.ankara.edu.tr)

### ABSTRACT

*Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939 is a multihost plant pathogenic bacterium all over the world and also in Turkey. The aim of this study was to identify the pathogenic bacteria causing the symptoms of water-soaked necrotic leaf spots, dark brown spots on leaves, tip burn of leaf in curly type lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispy*) grown in the field conditions in Beypazarı region and to reveal the reactions of some lettuce cultivars against the bacteria. For this purpose, twelve isolates were obtained from 4 different locations. Pathogenicity tests were conducted on curly type lettuce and all isolates were found pathogenic on the host. Isolated bacteria were evaluated for Gram reaction, LOPAT tests, colony morphology on King's Medium B and carbon sources utilization by VITEK-2 system and identified as *Pseudomonas viridiflava*. The 16S rDNA region of a selected isolate representing the similar isolates in all tests was sequenced for genetic confirmation and the obtained sequence was submitted to the GeneBank under the accession number MN\_539659. The result of the obtained sequence was 99.75% similar to the respective reference sequence after BLAST analysis. Reaction of the three different widely produced lettuce types, iceberg, curly and romaine types, with ten varieties against the causative bacterial agent was evaluated and the difference between the varieties found significant statistically. In this study, *P. viridiflava* was detected in lettuce in Central Anatolia for the first time.

### INTRODUCTION

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is a consumable leaf vegetable the member of the Asteraceae family. Lettuce has a great

market value for widespread usage of daily nutrition. There are different types of lettuce are consumed as a leaf

vegetable. Iceberg, curly and romaine types are the most common lettuce varieties on the Turkish market. According to the data of 2018, in our country, a total of 490.423 tons of lettuce, including curly, romaine and iceberg, are grown in approximately 220.500 da areas. Ankara has 50% of the production area and 52% of this production alone in Beypazarı region where has a significant role in lettuce cultivation (TUIK, 2018). A number of bacterial diseases affect lettuce production. Up to date, *Pseudomonas* spp. and *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* (*Xcv*) have been reported as the bacterial pathogens of lettuce in the different regions of Turkey (Aysan et al. 2003, Mirik et al. 2004a, Mirik et al. 2011, Sahin 2000). *Xcv* was first reported in Oltu province of Erzurum (Sahin 2000). Mirik et al. (2004b) was reported *Xcv* on Arapsaci and Yedikule varieties in eastern Mediterranean region with 100% disease incidence. Mirik et al. (2011) reported *Pseudomonas cichorii* as the causal pathogen of lettuce leaf spot and bacterial rot of lettuce in the eastern Mediterranean region. In Hatay, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Enterobacter cloacae* as the root rot pathogens, *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* as the leaf spot pathogen of lettuce were reported according to MALDI-TOF MS analysis results (Soylu et al. 2017).

*Pseudomonas viridiflava* (Burkholder) Dowson 1939 (*P. viridiflava*) is a multi-host plant pathogenic bacterium (Sarris et al. 2012) which is considered to be a member of *Pseudomonas syringae* (*P. syringae*) complex (Bartoli et al. 2014). Tomato (Aysan et al. 2005, Goumans and Chatzaki 1998, Ustun and Saygili 2001), eggplant (Goumans and Chatzaki 1998, Ustun 2012), melon (Aysan et al. 2003, Mirik et al. 2004a), chrysanthemum (Goumans and Chatzaki 1998), globe artichoke (Sanver et al. 2019) are some of economically important hosts of the bacterium. Necrotic areas on the leaf, stem necrosis and stem and root rot are common symptoms on different host plants (Bartoli et al. 2014). In Turkey, *P. viridiflava* was first detected on iceberg lettuce on the Black Sea region (Aksoy et al. 2018).

During the field surveys in summer 2018 and 2019 water-soaked, dark brown spots on lettuce leaves and tip burn of leaf were observed on lettuce fields of Beypazarı-Ankara. Infected lettuce was grown from plantlets and shortly after the head development, the symptoms occur. The aim of this study is to identify the causal pathogen in the symptomatic lettuce plants and the reaction of some common growth lettuce varieties to the isolated bacteria.

## MATERIALS AND METHODS

Extensive surveys were carried out to the lettuce fields of Beypazarı region between June and September 2018 and 2019. Plants were sampled according to visible symptoms as water-soaked, dark brown spots on leaves, tip burn of leaf were collected from infected fields (Figure 1). The symptoms were observed on curly type lettuce. Four different fields were surveyed sized around between 15-120 da and three infected samples were collected from each. Each symptomatic plant was carried in a polyethylene bag and carried to the cold room at 4 °C in a cold carrier. Leaf samples were taken from each symptomatic plants and surface disinfected with 70% EtOH for 2 min and then rinsed 3 times with sterile dH<sub>2</sub>O. To isolate the causal bacteria, approximately 5 mm pieces of the margin of the symptoms were cut with a sterile scalpel from each symptomatic plant and put into a sterile Eppendorf tube consists sterile 1 ml 0.9% NaCl and were macerated in a horizontal shaker at 2500 rpm for 30 minutes. The bacterial suspension was diluted 10<sup>4</sup> and 50 µl of the suspension was streaked onto King's medium B (Proteose peptone #3: 20 g/l, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1.5 g/l, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O: 1.5 g/l, glycerol: 15 ml/l) (King et al. 1954) by a sterile loop. The Petri dishes were incubated at 28 °C in an incubator and after 48 hours colonies were observed under a binocular (Leica, L2). Characteristic single colonies were selected and re-streaked onto King's medium B for bacterial purification. Selected colonies were taken to the NBY (Nutrient broth yeast) medium in cryotubes and sterile glycerol was added to each about 30% (v/v) and the cryotubes were stored in -86 °C for long term storage.



**Figure 1.** Water-soaked leaf spot symptom of isolated *Pseudomonas viridiflava* on the crispy lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispy*)

### Pathogenicity tests

Pathogenicity tests were conducted on curly type lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispy*). Five replicates were used for each isolate. Healthy lettuce plantlets were potted in 0 no pots consist of sterile turf. Bacterial inoculum was growth from pure cultures on King's B medium at 28 °C for 24 hours.

Bacteria were diluted in dH<sub>2</sub>O and the bacterial concentration was adjusted on 10<sup>8</sup> cfu/ml with a spectrophotometer at OD:600. Bacterial suspension was pulverized on the lettuce plantlets by a hand spray. After the inoculation, inoculated plantlets were covered with a thin, transparent polyethylene cover to keep moisture in for 24 h and then the cover was removed. Plantlets were maintained in a controlled climate room (Digitech) at 24 °C, 75% humidity and 16 h light/8 h dark conditions. After 10 days the plantlets were evaluated for symptom incidence. Sterile dH<sub>2</sub>O was used as a control. Isolation from inoculated plantlets was done to fulfill the Koch's postulates.

#### Characterization of the isolates

Obtained isolates were characterized by the following biochemical tests, Gram reaction (Schaad et al. 2002), LOPAT tests (Lelliot et al. 1966) (Levan production, oxidase test, pectolytic activity on potato slices, arginine hydrolysis and hypersensitive response on tobacco-HR), gelatin liquefaction, glucose fermentation, and carbon source usage and colony morphology on King's B medium. Carbon source utilization of the isolates was determined by VITEK-2 (Biomereux, France). 24 h culture of the isolates was suspended in sterile saline and the bacterial concentration was adjusted to 0.63 on the McFarland tool of the VITEK-2 system. GN cards were used for the analysis. *P. viridiflava* strain YA-649 was kindly provided from the bacterial culture collection of Çukurova University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection to use as the reference for the biochemical tests.

#### The reaction of some cultivars

Cultivar reaction of some commonly growth lettuce varieties was handled on *Lactuca sativa* iceberg varieties Sumarnas, Ice Castle, Diskoa, Cartagenas; curly varieties Sementel, Mc Montana and Davidole; romaine varieties Cuore and Calorina and the red variety Bachus (Table 1). Four weeks old plantlets were inoculated with a selected virulent isolate P 5.1 of *P. viridiflava*. The bacterial inoculum was grown from pure cultures on King's B medium at 28 °C for 24 h. Bacteria were diluted in dH<sub>2</sub>O and the bacterial concentration was adjusted on 10<sup>6</sup> cfu/ml with a spectrophotometer at OD:600. Bacterial suspension was sprayed on the lettuce plantlets by a hand spray. After the inoculation, inoculated plantlets were covered with a thin, transparent polyethylene cover to keep moisture in for 24 h and then the cover was removed. Plantlets were maintained in a controlled climate room (Digitech) at 24 °C, 75% humidity and 16 h light/8 h dark conditions. After 2 weeks the plantlets were evaluated for symptom incidence. After 2 weeks the plantlets were evaluated for

symptom incidence. Disease score was assessed according to a qualitative rating scale as described by Thirthamallappa and Lohithaswa (2000) with some modifications on a 0-to-4 scale, in which 0: symptomless, 1: <10% of the leaf area, 2: 10-25% of the leaf area, 3: 26-49% of the leaf area, 4: 50-100% of the leaf area. The disease incidence (DI) was calculated as follows (Viriyasuthee et al. 2019):

$$DI (\%) = (\text{number of infected plant} / \text{total number of plants}) \times 100$$

Disease severity (DS) was calculated as follows:

$$DS (\%) = \Sigma [(\text{rating score} \times \text{number of plants in rating}) / (\text{total number of sampled plants} \times \text{highest rating})] \times 100$$

Obtained data was analyzed statistically by one-way ANOVA and Tukey's test at P≤0.05 using the Minitab Statistic Software Version 16.0 (Minitab Inc. 2017).

**Table 1.** Lettuce types and cultivars used for cultivar reaction to *Pseudomonas viridiflava* P5.1 strain in this study

Type of the lettuce	Iceberg	Curly	Romaine	Red
Cultivar	Sumarnas Ice Castle Diskoa Cartagenas	Sementel Mc Montana Davidole	Cuore Calorina	Bachus

#### Genotypic identification of the pathogen

Showing the same phenotypic features, an isolate was selected for 16S rRNA gene confirmation. Genomic DNA of the selected strain was isolated by ThermoFisher Scientific DNA extraction kit according to the instructions of the manufacturer. The concentration of the extracted DNA was measured with a nanodrop (Nano2000, Thermo Fisher) and 50 ng of genomic DNA was used as target for PCR. Universal 16S rRNA primer pair 63f/1387r (Marchesi et al. 1998) was used on PCR. PCR was performed with 12 µl GoTaq flexi master mix (Promega), 10 pmol from each primer, 8 µl dH<sub>2</sub>O with a 25 µl final volume. The PCR reaction was conducted with the following steps, 35 cycles of 95 °C 3 min pre-denaturation, 95 °C 45 s for denaturation, 55 °C 30 s for annealing, 72 °C 45 s for elongation and 72 °C 10 min for final extension. Aliquot of 5 ml was analysed by electrophoresis on 1% agarose gel and visualized by staining with ethidium bromide and visualized under UV. The selected isolate was sequenced with 63f/1387r primer pair from both directions.

The obtained DNA sequence was aligned and a consensus sequence was obtained. The obtained sequence was blasted and submitted to the GeneBank.

## RESULTS

### Plant material and bacterial isolates

Surveys were conducted on different lettuce growing locations of Beypazarı region and 12 isolates were obtained from four different fields with the size between 15 da and 120 da. Dark brown water-soaked spots on the leaf and tip burn of the leaf were identified as the symptoms of *Pseudomonas viridiflava*.

### Pathogenicity tests

Pathogenicity tests were conducted on curly lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispy*) plantlets. After 10 days of inoculation, water-soaked symptoms were observed and re-isolated from the leaves. Isolation from inoculated plantlets was done to fulfill Koch's postulates. All of the obtained isolates were found as pathogens on lettuce plantlets.

### Characterization of the isolated strains

The isolated bacterium was Gram negative, negative for levan, oxidase and arginine dihydrolase, pectolytic on potato slices, induce HR on tobacco leaves. Isolates have blue fluorescence

pigmentation on King's B medium. Glucose fermentation of the isolates was negative. VITEK-2 results showed that isolates can utilize citrate, malonate, D-glucose, coumarate and were able to alkalization of succinate and L-lactate but not able to use mannitol, arabitol, cellobiose and sucrose as carbon source (Table 2). All isolates were showed the same biochemical characteristics with the reference strain.

### The reaction of some cultivars

Cultivar reaction of some common growth lettuce varieties was handled on *Lactuca sativa* iceberg varieties Sumarnas, Ice Castle, Diskoa, Cartagenas; curly varieties Sementel, Mc Montana and Davidole; romaine varieties Cuore and Calorina and the red variety Bachus. 5 replicates were used for each variety for cultivar reaction. Four weeks old plantlets were inoculated with a selected virulent strain P5.1 of *P. viridiflava*. All of the experimented varieties have disease symptoms on all replicates. Disease incidence was found 100% for *P. viridiflava* infection. When the iceberg varieties are evaluated, leaf spots were observed on all of the selected varieties. Sumarnas was found as the most sensitive to the *P. viridiflava* infection (Figure 2a). The leaf spots were dense and the infected plants were weak for 10 days post-inoculation. On Ice castle and Cartagenas leaf spots were observed in all of the five replicates. On Discoa variety, 3 of the inoculated plants had intense leaf spots, but the other two were weaker. For iceberg varieties it can be said that Sumarnas is the most sensitive, Discoa is a relatively tolerant variety among

**Table 2.** Carbon sources usage, LOPAT (\* L: Levan, O: Oxidase, P: Pectolytic activity on potato, A: Arginine hydrolysis, T: Hypersensitive response on tobacco) test results and florescence pigmentation characteristics of the *Pseudomonas viridiflava* isolates

Isolate no	Carbon source utilization											LOPAT*	Florescence Pi gmentation
	Arabitol	Cellobiose	Citrate (Sodium)	Coumarate	D-Glucose	H2S production	L-Lactate	Malonate	Mannitol	Succinate Alcalisation	Sucrose		
P5.1	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.2	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.3	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.4	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.6	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.7	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.8	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.9	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.10	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.11	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
P5.12	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue
YA-679	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	- - + +	Blue

(-) negative reaction; (+) positive reaction





**Figure 2.** Water-soaked leaf spot symptom of isolated *Pseudomonas viridiflava* on the crispy type lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispy*)

the infected iceberg varieties against *P. viridiflava* infection. When curly varieties evaluated, the leaves of the Davidole variety had dense leaf spot symptoms and the leaves were almost dry because of the infection. Semental had dense leaf spots on all replicates (Figure 2b). The leaf spots were less on Mc Montana variety than the other two varieties and it was found the most tolerant among the curly varieties. Both of the romaine type varieties, Calorina and Cuore, all five replicates had leaf symptoms of *P. viridiflava* and sensitive to the infection (Figure 2c). The red variety Bachus had dense leaf symptoms in all of the replicates (Figure 2d). The disease incidence was found 100%. None of the plants were symptomless. When the disease severity was evaluated, all the varieties had dense leaf symptoms and rated as 4 (50% of the leaf area except Discoa and McMontana). The disease severity was found 4 for three of the replicates and 2 for two of the replicates of Discoa. On McMontana the disease severity was evaluated as 3 for all of the replicates. The disease severity was calculated as 95.5%. When the statistical analysis evaluated, Discoa and McMontana varieties were grouped together and differentiated statistically significant ( $p < 0.05$ ) from other varieties used in this study which had same score values. Moreover, the difference was not statistically significant ( $p > 0.05$ ) between Discoa and Mc Montana varieties (Table 3).

#### Genotypic identification of the pathogen

Universal 16S rRNA primer pair 63f/1387r was used on PCR and approximately 1300 bp product was obtained from the

sequence analysis. The DNA sequence was aligned and a consensus sequence was obtained. The obtained sequence was blasted and the causal bacteria was found as *P. viridiflava* with a 99.75% similarity to the respective reference strain *P. viridiflava* ATCC 13223 and was submitted to GeneBank under the accession number MN\_539659.

## DISCUSSION

Lettuce is an important leaf vegetable and has a wide production area in Bepazarı-Ankara. Like all other vegetables, lettuce has been infected by important plant pathogenic bacteria. Since the leaves are the consumable parts of the lettuce, any kind of spot causes a decrease in the market value. Previously, the causal bacterium was detected on curly type lettuce in greenhouse grown lettuce in Samsun (Aksoy et al. 2018). In this work, the bacterium was detected in field-grown lettuce. As a multi-host pathogenic bacterium, *P. viridiflava* may cause a threat in multi production agriculture systems in a vegetation time such as Bepazarı region. In the field production, the spread of the plant pathogenic bacteria is a threat not only for other healthy plants but also for the inoculation of the soil by infected plant debris. Plant debris of the inoculated lettuce is a potential source for many host and non-host plants. Epiphytic survival of the bacterium has an important role in the life cycle. It can colonize not only on the host plants but also on non-host plants such as weeds without showing symptoms (Aysan and Uygur 2005, Yildiz et al. 2004). There is no effective management of bacterial diseases after the infection. Copper treatment may protect at some point but after infection, application of the copper-based compounds is not functional. Therefore, it is important to determine the inoculation source of the pathogen and the reaction of the cultivars to prevent it. Same as Aksoy et al. (2018)'s report, the bacterium was detected on the curly type lettuce in the field conditions in this study. The cultivar reaction results showed the disease severity was less on Discoa (iceberg) and McMontana (curly) varieties than other varieties. The disease incidence was found 95.5% and it showed that all lettuce cultivars from three different lettuce varieties tested in this work were susceptible to *P. viridiflava* infection in different degrees. Seeing infection only on curly type may cause the seeds to be infected before the plantlet stage. There is not any remarkable work on the reaction of the lettuce cultivars against the pathogenic *P. viridiflava*. This work exposes the cultivar reaction of different lettuce types and cultivars against the causal agent of bacterial leaf spot caused by *P. viridiflava*.

The LOPAT tests are known as the determinative physiological



**Table 3.** Comparison of experimental means and different significance groups of lettuce varieties based on analysis of variance (ANOVA) Tukey test ( $P \leq 0.05$ )

Lettuce varieties	Mean	St deviation	Grouping
Sumarnas	4.000	0.0000	a
Ice castle	4.000	0.0000	a
Diskoa	3.200	1.0954	b
Cartagenas	4.000	0.0000	a
Sementel	4.000	0.0000	a
McMontana	3.000	0.0000	b
Davidole	4.000	0.0000	a
Cuore	4.000	0.0000	a
Calorina	4.000	0.0000	a
Bachus	4.000	0.0000	a

test for the Genus *Pseudomonas*. In some case, *P. viridiflava* isolates may show different LOPAT characteristics. Because of the high variability between the genus, it is difficult to discriminate the species of the *Pseudomonas* by using only biochemical tests. 16S rRNA sequence is much more reliable for the identification of the species within the genus. Gonzales et al. (2013) reported *P. viridiflava* strains may show different LOPAT profiles such as yellowish mucoid colony structure on hyper-sucrose medium or variable pectinolytic activity on potato slices. Using the physiological test results and phenotypic features can be deceptive between closely related species within the same genus. In this work, the same phenotypic characteristics on King's medium B was observed and the physiological test results were the same for all isolates. Therefore, one representative isolate was selected as the reference for molecular characterization. *P. viridiflava* was detected on the lettuce and in central Anatolia for the first time with this work.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Author thanks to Prof. Dr. Yeşim AYSAN for providing the reference *P. viridiflava* strain.

#### ÖZET

*Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939 tüm dünyada ve Türkiye'de çok konukçulu bitki patojeni bir bakteridir. Beypazarı ilçesinde tarla koşullarında yetiştirilen kıvrıkcık tip marullarda sulumsuz nekrotik lekeler, yapraklarda koyu kahverengi lekeler ve yaprak uçlarında yanıklık belirtileri bakterinin saptanması için incelenmiştir. Dört farklı tarladan 12 izolat elde edilmiştir. Patojenite testleri kıvrıkcık tip marul üzerinde yapılmış ve ele alınan tüm izolatlar konukçusu üzerinde patojen bulunmuştur. İzole edilen bakteriler Gram reaksiyonu, LOPAT testleri, King B besi yerinde oluşturduğu koloni morfolojisi ve VITEK-2 sistemi ile karbon kaynakları kullanımı yönüyle değerlendirilmiş ve *P. viridiflava* olarak tespit edilmişlerdir. Tüm testlerde benzerlik gösteren izolatları temsilen seçilen bir izolatın 16S rDNA bölgesi genetik doğrulama için sekanslanmış ve elde edilen dizi GenBank'a MN\_539659 kodu ile kaydedilmiştir. Elde edilen sekans dizisinin sonucu BLAST analizi sonrası referans dizi ile %99.75 benzerlik oranı göstermiştir. Yaygın olarak üretimi yapılan iceberg, kıvrıkcık ve yedikule tipi üç farklı marul tipinden toplam on çeşit ile etmene karşı çeşitlerin reaksiyonu değerlendirilmiş olup çeşitler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu çalışma ile İç

Anadolu Bölgesi'nde *Pseudomonas viridiflava* marullarda ilk kez tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: marul, yaprak lekesi, *Pseudomonas viridiflava*, çeşit reaksiyonu

## REFERENCES

- Aksoy H.M., Ozturk M., Kilic N., 2018. First report on *Pseudomonas viridiflava* causing bacterial leaf spot of curly lettuce in Turkey. *Journal Plant Pathology*, 100 (1), 121.
- Aysan Y., Mirik M., Ala A., Sahin F., Cinar O., 2003 First report of *Pseudomonas viridiflava* on melon in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 52 (6), 800.
- Aysan Y., Şahin S., Ülke G., Sahin F., 2003. Bacterial rot of lettuce caused by *Pseudomonas cichorii* in Turkey, *Plant Pathology*, 52 (6), 782.
- Aysan Y., Uygur S., 2005. Ephytic survival of *Pseudomonas viridiflava*, causal agent of pith necrosis of tomato on weeds in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 87 (2), 135-139.
- Bartoli C., Berge O., Monteil C.L., Guilbaud C., Balestra G.M., et al. 2014. The *Pseudomonas viridiflava* phylogroups in the *P. syringae* species complex are characterized by genetic variability and phenotypic plasticity of pathogenicity-related traits. *Environmental Microbiology*, 16 (7), 2301-2315.
- Burkholder W.H., 1930. The bacterial diseases of the bean. *Memoirs. Cornell University Agricultural Experiment Station*, 127, 1-88 p.
- Gonzalez A.J., Rodicio M.R., Mendoza M.C., 2013. Identification of an emergent and atypical *Pseudomonas viridiflava* lineage causing bacteriosis in plants of agronomic importance in a Spanish region. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (5), 2936-2941.
- Goumans D.E., Chatzaki A.K., 1998. Characterization and host range evaluation of *Pseudomonas viridiflava* from melon, blite, tomato, chrysanthemum and eggplant. *European Journal of Plant Pathology*, 104, 181-188.
- King E.O., Ward M.K., Raney D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanine and fluorescin. *Journal of Laboratory of Clinical Medicine*, 44 (2), 301-307.
- Lelliott R.A., Billing E., Hayward A.C., 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic *Pseudomonas*. *Journal of Applied Microbiology*, 29 (3), 470-489.
- Sahin F., 2000. First report of bacterial spot of lettuce caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* in Turkey. *Plant Disease*, 84 (4), 490.
- Marchesi J.S, Sato T., J. Weightman A.J., Martin T.A., Fry J.C., Hiom S.J., Wade W.G., 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S-rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (2), 795-799.
- Minitab Inc., 2017. Minitab Statistic Software Version 16.0. Philadelphia, USA.
- Mirik M., Aysan Y., Cetinkaya Yildiz R., Sahin F., Saygili H., 2004a. Watermelon is a new host of *Pseudomonas viridiflava* causal agent of leaf and stem necrosis, discovered in Turkey. *Plant Disease*, 88 (8), 907.
- Mirik M., Aysan Y., Yıldız R.Ç., Sahin F., Kotan R., 2004b. An outbreak of bacterial leaf spot disease, caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vitians*, on lettuce in the Mediterranean region of Turkey. 3 rd Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes, 6-10 September, 2004, Bursa, Turkey. *Acta Horticulturae* 729, 445-447.
- Mirik M., Aysan Y., Sahin F., 2011. Characterization of *Pseudomonas cichorii* isolated from different hosts in Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13 (2), 203-209.
- Sanver U., Pazarlar S., Cetinkaya N., Ozaktan H., 2019. First report of *Pseudomonas viridiflava* causing bacterial blight on globe artichoke in Turkey. *Plant Disease*, 103 (8), 2123.
- Schaad N.W., 2001. Initial identification of common genera. Schaad N., Jones J.B. and Chun W., (Eds.). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, Third Edition, APS Press. ST. Paul, Minnesota, 7-9 p.
- Sahin F., 2000. First report of bacterial spot of lettuce caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* in Turkey. *Plant Disease*, 84 (4), 490.
- Sarris P.F., Trantas E.A., Mpalantinaki E., Ververidis F., Goumans D.E., 2012. *Pseudomonas viridiflava*, a multi host plant pathogen with significant genetic variation at the molecular level. *PLoS ONE* 7(4): e36090.
- Soylu S., Sertkaya E., Üremiş İ. , Bozkurt İ., Kurt Ş., 2017.

Hatay ili marul (*Lactuca sativa* L.) ekim alanlarında görülen önemli hastalık etmenleri, zararlı ve yabancı ot türleri ve yaygınlık durumları. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22 (1), 23-33.

TUIK, 2018. Bitkisel üretim istatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Accessed date: 25.09.2019)

Thirthamallappa and Lohithaswa H.C., 2000. Genetics of resistance to early blight (*Alternaria solani* Sorauer) in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Euphytica, 113, 187–193.

Ustun N., 2012. Bacterial blight and pith necrosis of eggplant in Turkey. Journal of Plant Pathology, 94 (2), 437-441.

Ustun N., Saygili H., 2001. Pith necrosis on greenhouse tomatoes in Aegean region of Turkey. 11th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, Evora, Portugal. 70–73 p.

Viriyasuthee W., Saepaisan S., Saksirirat W., Gleason M.L., Chen R.S., Jogloy S., 2019. Effective plant ages for screening for field resistance to *Alternaria* leaf spot (caused by *Alternaria* spp.) under natural infection in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). Agronomy, 9 (11), 754 p.

Yildiz H.N., Aysan Y., Sahin F., Cinar O., 2004. Potential inoculum sources of tomato stem and pith necrosis caused by *Pseudomonas viridiflava* in the eastern Mediterranean region of Turkey. Journal of Plant Diseases and Protection, 111 (4), 380-387.

Cite this article: Canik Orel, D. (2020). Determination of bacterial leaf spot of lettuce caused by *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939 and the reactions of some lettuce cultivars. Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.639801

Atf için: Canik Orel, D. (2020). Marul yaprak lekesi etmeni *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson'nın tespiti ve bazı marul çeşitlerinin reaksiyonlarının belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.639801

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Reactions of some common bean cultivars grown in Turkey against some isolates of angular leaf spot disease, caused by *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun

Ülkemizde yetiştirilen bazı fasulye çeşitlerinin *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun'dan kaynaklanan Fasulye köşeli yaprak lekesi hastalığına karşı reaksiyonları

Sirel CANPOLAT<sup>a\*</sup>, Salih MADEN<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Directorate of Plant Protection Central Research Institute, Gayret Mah. Fatih Sultan Mehmet Bulv. 06172 Yenimahalle, Ankara, Turkey

<sup>b</sup>Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 06110 Altındağ, Ankara, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.630968](https://doi.org/10.16955/bitkorb.630968)

Received : 08.10.2019

Accepted : 18.01.2020

Keywords:

angular leaf spot, common bean, reaction

\* Corresponding author: Sirel CANPOLAT

✉ [sirelozan\\_18@hotmail.com](mailto:sirelozan_18@hotmail.com)

### ABSTRACT

Vegetable bean production as mid-season crops in greenhouses has increased in two provinces, Bartın and Zonguldak, in the Western Black Sea region. Green bean is sown in about half of the total area of 510.000 da in this region. Angular leaf spot disease caused by *Pseudocercospora griseola* has been a serious disease for the last five years and it is so widespread in the region, showing almost 100% incidence. Since the beans are used for fresh consumption and are harvested continuously, fungicide use is restricted due to unwanted residues. Because of the farmers in the region widely use two local cultivars susceptible to the disease, providing resistant cultivars for farmers was the aim of this study. Although the causal agent has great pathogenic variation, determination of pathotypes of the *P. griseola* was not succeed since the three of the differential cultivars did not produced seed in two tested regions of Turkey. For this reason seventeen common bean cultivars in Turkey were selected and their reactions against ten randomly selected the most aggressive isolates of *P. griseola* were used for screening resistance. Two bush type bean cultivars, Bourgondia and Yalova 17, out of nine showed resistant reaction against all of ten isolates while three climbing types, Fabio, Burayşe and Selvi, out of eight were found resistant against all of the isolates of *P. griseola*. All of these resistant cultivars have good culinary characteristics.

### INTRODUCTION

Common bean cultivation in greenhouses has been developed rapidly over the past 25 years, and it is now grown

on 109.000 ha and produced approximately 632.301 tons in Turkey (TÜİK 2014).

Angular leaf spot (ALS) of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), caused by the fungus *Pseudocercospora griseola* Sacc. Crous & U. Braun is a serious disease on greenhouse grown beans in Western Black Sea region, Turkey which is the largest producer and consumer of common bean. Also because of our dinner's national beans, bean is a special plant for our country. ALS causes severe yield losses depending on the susceptibility of the cultivars and environmental conditions. The disease affects pods and foliage, and is particularly destructive in warm, humid areas (Saettler 1991). The name of the disease comes from the small greyish brown lesions which are angular in shape. The lesions coalesce, turn brown, and cause the yellowing of leaves which fall off prematurely. Lesions may also appear on pods and stems. The fungus usually sporulates on the lower surface of the leaf by producing dark grey to black synnemata. The disease also affects the quality and marketability of pods and seeds across bean-production areas of the world (Pastor-Corrales et al. 1998). If infected seeds are sown, disease symptoms may appear on the primary leaves. In developing and adult plants, usually the older leaves of the plant canopy show more severe symptoms, spreading to other parts, including pods and seeds (Mora et al. 1985).

Mora (1985) and Santos-Filho et al. (1978) observed that inoculations made between 30 and 45 days after sowing caused maximum yield losses in Brazil. The latter authors also noted that inoculations made 60 day after planting reduced seed weight, while inoculations made 75 days after had no effect on seed yield and weight. Although ALS may cause severe leaf defoliation Cole (1966) and Dhingra and Kushalappa (1980) found no correlation between disease severity on pods and percentage of seeds infected with the pathogen. The fungus always grows at the hilum. Thus, a seed became infected with *Pseudocercospora griseola* (Pg) only when it was attached to the pod suture directly beneath a lesion (Pastor-Corrales et al. 1998). Losses can be as high as 80% under favourable environmental condition (Schwartz et al. 1981).

Pathogenic variation of the fungus has been reported in several countries (Buruchara 1983, Correa-Victoria 1987, Monda 2001) and its control, especially by growing resistant cultivars is complicated by this variation of the fungus.

Based on morphological and molecular markers, two gene pools of origin for common bean have been defined namely; the Andean and Middle American. The Andean isolates are

pathogenic to large seeded beans while the Middle Americans are pathogenic to both small and large seeded ones (Pastor-Corrales et al. 1998). Nonetheless, Pg pathotype structure might also be associated with the compatibility of cultivated bean genotypes. Whereas most large seeded commercial varieties in Uganda are susceptible to ALS (Namayanja et al. 2006), cultivars such as AND 277, G5686 and Mexico 54 have been identified as valuable sources of resistance (Aggarwal et al. 2004, Nietzsche et al. 2000, Pastor-Corrales et al. 1998). A number of studies have demonstrated that the level of variability among and within Pg populations is considerably high, even though the sexual form of the fungus has not been found (Liebenberg and Pretorius 1997). Studies demonstrated variation in pathogenicity of fungal isolates as 53, 13 and 50 different pathotypes described among 54, 30 and 112 isolates that were obtained from Africa, Brazil and Central America, respectively (Busogoro et al. 1999, Mahuku et al. 2004, Nietzsche et al. 2000). Though ALS has been determined to occur in Turkey (Ozan 2009, Vural and Soyulu 2012), the genetic structure, pathogenicity, disease incidence and severity, and molecular characterisation of the fungus remains unknown and probably as a consequence of this there is hardly any bred commercial cultivar, either tolerant or resistant.

In recent years, this disease has been one of the most important bean production constraints in greenhouses in Western Black Sea region, Turkey. In 2005-2015, severe outbreaks of ALS of common beans caused by Pg was observed in greenhouses in Bartın, Zonguldak and Karabük, Turkey (Ozan 2009, Ozan and Maden 2010). The purpose of this study was to screen the resistance of common bean cultivars grown extensively in Turkey against ten isolates of the fungus obtained from various places.

## MATERIALS AND METHODS

### *Sampling and isolations*

Totally 118 common bean leaf samples having typical ALS symptoms; being 85, 32 and 1 from Bartın, Zonguldak and Karabük provinces of Turkey. The samples were collected from 100, 82 and 41 da greenhouse cultivation areas of the three provinces which have 326, 185 and 59 da greenhouse cultivation area, respectively.

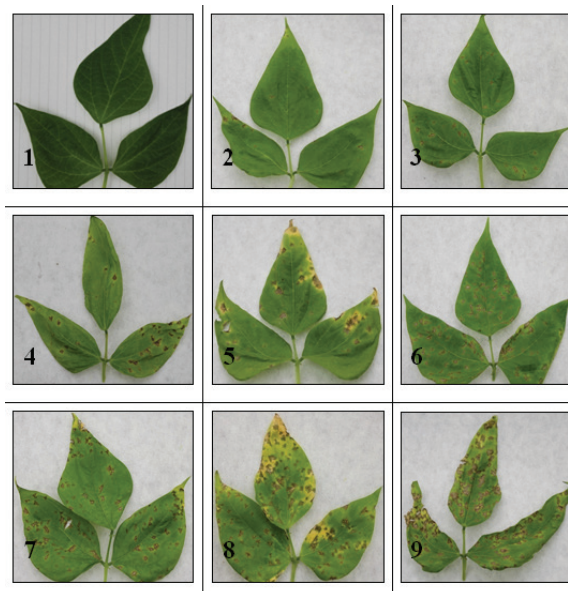
The information about the growth size and pattern, the seed size and colour of the bean cultivars and the location where they were collected was recorded. For induction of fungal sporulation, tissues from infected bean leaves were placed

on petri dishes, lined with moistened filter paper, and were incubated at room temperature for 3 to 4 days. Conidia from sporulated ALS lesions were picked up with a tiny piece of agar placed on the tip of a sterilized dissecting needle, streaked onto V-8 juice agar, and then incubated for 24 h at 24 °C. Individual germinated conidia were then transferred to V-8 juice agar to obtain monosporic cultures for each Pg isolate. Each monosporic isolate obtained from a different common bean genotype, was cultured on V-8 juice agar at 24 °C and kept on V-8 juice agar at 4 °C for long-term preservation.

*Determination of the reactions of some bean cultivars*

*Inoculum preparation*

Ten single spores Pg isolates obtained from bean growing districts of Bartın, Zonguldak and Karabük provinces were used for the experiments. Inoculum for greenhouse screenings was obtained from a 2 week-old culture of each monosporic Pg isolate grown on petri dishes containing V8- juice agar. Spores for inoculation were prepared from these plates by adding sterile distilled water and scraping the surface of the plate with a spatula to dislodge the conidia. Spore concentration in the inoculums was calculated using a haemocytometer and adjusted to a final concentration of  $2 \times 10^4$  conidia/ml using sterile distilled water (Pastor-Corrales et al. 1998).



**Figure 1.** The CIAT 1-9 scale used for the evaluation of the reactions of bean cultivars against Pg

*Inoculation and determination of reactions*

Seventeen bean cultivars, nine bush type and 8 climbing type, were used for resistance screening (Table 1). Reactions of all the seventeen cultivars were tested against ten monospore isolates of Pg. Bean seeds were sown in pots with 1.5 kg of soil, manure and sand in a ratio of 2:1:1 and five seeds/pot. Ten days after sowing, plants were thinned to three/pot. The

**Table 1.** Common bean cultivars used for disease screening, their growth habits, seed shape and seed colour

Bush types		Pole or climbing types	
Name of the cultivar	Seed shape and colour	Name of the cultivar	Seed shape and colour
1. Karaayşe	Kidney shape, black	1. Perla	Spherical, white
2. Yalova 17	Kidney shape, white	2. Sofya	Elliptical, white
3. Bourgondia	Kidney shape, white	3. Özeyşe	Spherical, white
4. Nadide	Ovoid, white	4. Fabio	Kidney shape, white
5. Java	Oblong, white	5. Helda	Kidney shape, white
6. Strike	Kidney shape, white	6. BT Burayşe	Kidney shape, white
7. Volare	Ovoid, brown	7. Selvi	Kidney shape, white
8. Gina	Ovoid, white	8. Sarıkız	Spherical, white
9. Magnum	Kidney shape, brown		



**Table 2.** The CIAT 1-9 scale used for the evaluation of the reactions of bean cultivars against Pg

Scale value	Infection description	Reaction type
1	Plants with no visible disease symptoms	R
3	Plants with 1-15% of the leaf area with lesions	R
5	Plants with 16-40% of the leaf area with lesions	MR
7	Plants with 41-70% of the leaf area with lesions	MS
9	Plants with 71-100% of the leaf area with lesions, frequently associated with early loss of the leaves and plant death	S

experiment was laid out randomised complete block design with three replications. Inoculation was done when plants were in the V3 stage (Schoonhoven and Pastor-Corrales 1987). The conidial suspension was sprayed both onto the upper and lower surfaces of leaves of the selected cultivars until wash off. After inoculation, plants were placed into the growth chamber set to 20-22 °C, and 95-100% relative humidity. After 4 days, the inoculated plants were transferred into the greenhouse having 24-28 °C with a 12-h-photoperiod. Disease evaluations on individual plants were made using a CIAT 1-9 scale (Schoonhoven and Pastor-Corrales 1987) for 18 days, at an interval of three days, described as Figure 1 and Table 2.

## RESULTS

### *Characteristics of the cultivars grown in the region and analysed for resistance*

In the research, two local cultivars, Şeker Ayşe and Barbunya were grown in greenhouses while the cultivar Gina which was also tested for resistance was found grown in the field at one location. No disease was observed on this variety in the field. The cultivars which were screened for resistance (Table 1) were selected among the bean cultivars mostly grown in Turkey.

### *Disease incidence and severity in the study area*

Angular leaf spot disease was observed almost in all the greenhouses. The disease affected mainly the leaves and caused angular leaf spots at the beginning of disease onset, then the spots coalesced and formed leaf blight, and eventually leaf shed. It also affected pods where the spots are rounded and watery at first then dry and dark in colour (Figure 2). The severity of ALS varied in spring and autumn growing seasons, being in the ratios of 74.50-80.35% and 88.60-



**Figure 2.** Symptoms of angular leaf spot disease, a) on the leaves, b) on the pods

92.88% in Bartın and Zonguldak provinces respectively.

### *Reactions of bush type bean cultivars*

Reactions and disease severity (%) rate of 10 bush type bean cultivars against 10 isolates of Pg are summarized in Table 3 and 4. Half of the bush type bean cultivars; Java, Strike, Volare, Gina and Magnum, all foreign originated cultivars, showed susceptible reactions against all of the Pg isolates. The cultivars Karaayşe and Nadide were also susceptible against most of the isolates, the former being susceptible against 8, the latter against 6 isolates. Reactions of the bush type bean cultivars did not differ so much among the isolates, in other words all the 10 isolates produced almost similar reactions on the cultivars.

### *Reactions of climbing type bean cultivars*

Three climbing type bean cultivars; Sarıkız, Sofya and Helda, all were susceptible, while three cultivars; Fabia, Burayşe and Selvi were resistant against all of the ten isolates of *P.g. f. griseola*. The cultivars; Perla and Özeyşe gave intermediate reaction (Table 5 and Table 6).



Reactions of the climbing type bean cultivars also did not differ so much among the isolates. In general, climbing type

bean cultivars seemed more resistant to ALS. The reactions of the climbing type bean cultivars were not different among the

**Table 3.** Reactions of 9 bush type bean cultivars against *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* isolates

Bean Cultivars (Bush type)	<i>Pseudocercospora griseola</i> f. <i>griseola</i> isolates* / Reaction type									
	51	27 A	11 A	62A	112	49	85	79	82	100
Java	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Strike	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Volare	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Gina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Magnum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Karaayşe	S	S	S	S	S	S	MS	S	MS	S
Nadide	S	MS	MS	MS	MS	S	S	S	S	S
Bourgondia	MR	MS	MS	MR	MR	MR	R	R	R	R
Yalova 17	MR	MR	MR	R	R	R	R	R	R	R

\*The origin of the *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* isolates were as; 51 Gökçeşey-Bakacakkadı, 27A Devrek-Alduvaklar, 11A Devrek-Çaydeğirmeni, 62A Gökçeşey-Kadoğlu, 112 Çaycuma-Dereköşeler, 49 Gökçeşey-Bakacakkadı, 85 Bartın-Hacıhatipoğlu, 79 Bartın-Dolaşıklar, 82 Bartın-Eysanlar, 100 Karabük-Merkez.

**Table 4.** Disease severity rate (%) of 9 bush type bean cultivars against *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* isolates

Bean Cultivars (Bush type)	<i>Pseudocercospora griseola</i> f. <i>griseola</i> isolates* / Disease severity (%)									
	51	27 A	11 A	62A	112	49	85	79	82	100
Java	89.50	97.00	97.75	88.00	88.50	91.00	94.75	93.00	96.00	84.75
Strike	89.00	96.75	96.75	88.25	91.25	76.75	95.50	83.50	78.50	85.75
Volare	95.25	98.00	96.20	97.00	80.75	94.00	95.00	95.00	84.75	88.25
Gina	96.00	96.00	100	90.25	94.00	79.25	96.00	96.00	100	100
Magnum	95.50	97.00	100	92.50	97.75	96.00	97.75	99.00	100	98.00
Karaayşe	91.00	76.50	76.25	80.50	79.25	82.25	63.75	73.75	56.75	95.00
Nadide	84.50	63.00	64.50	70.25	59.75	73.75	73.50	83.75	76.25	75.25
Bourgondia	30.25	51.25	52.50	28.75	37.25	25.25	14.00	11.00	11.00	11.00
Yalova 17	21.00	20.00	20.50	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00

\*The origin of the *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* isolates were as; 51 Gökçeşey-Bakacakkadı, 27A Devrek-Alduvaklar, 11A Devrek-Çaydeğirmeni, 62A Gökçeşey-Kadoğlu, 112 Çaycuma-Dereköşeler, 49 Gökçeşey-Bakacakkadı, 85 Bartın-Hacıhatipoğlu, 79 Bartın-Dolaşıklar, 82 Bartın-Eysanlar, 100 Karabük-Merkez.

**Table 5.** Reactions of 8 climbing type bean cultivars against *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* isolates

Bean cultivars (Climbing types)	<i>Pseudocercospora griseola</i> f. <i>griseola</i> isolates* / Reaction type									
	51	27 A	11 A	62A	112	49	85	79	82	100
Sarıköz	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sofya	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Helda	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Özayşe	MS	MS	MS	MS	S	MS	MS	MS	MS	S
Perla	MS	MS	MS	MS	MR	MR	MS	MS	MR	MR
Fabio	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Burayşe	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Selvi	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

\*The origin of the *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* isolates were as from; 51 Gökçebeş-Bakacakkadı, 27A Devrek-Alduvaklar, 11A Devrek-Çaydeğirmeni, 62A Gökçebeş-Kadoğlu, 112 Çaycuma-Dereköseler, 49 Gökçebeş-Bakacakkadı, 85 Bartın-Hacıhatipoğlu, 79 Bartın-Dolaşıklar, 82 Bartın-Eysanlar, 100 Karabük-Merkez.

**Table 6.** Disease severity rate (%) of 8 climbing type bean cultivars against *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* isolates

Bean cultivars (Climbing types)	<i>Pseudocercospora griseola</i> f. <i>griseola</i> isolates* / Disease severity (%)									
	51	27 A	11 A	62A	112	49	85	79	82	100
Sarıköz	74.00	75.00	71.25	73.75	84.50	87.00	86.75	89.00	96.25	85.00
Sofya	96.75	100	97.75	96.00	100	99.00	100	100	100	100
Helda	95.75	96.00	93.50	88.75	73.00	83.75	97.50	81.50	97.50	80.50
Özayşe	63.75	62.00	70.25	61.50	78.00	64.20	65.50	61.75	45.00	73.75
Perla	59.75	67.25	58.00	53.75	33.75	24.50	44.75	46.50	33.25	20.00
Fabio	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00
Burayşe	11.00	11.00	16.50	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00
Selvi	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00

\*The origin of the *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* isolates were as from; 51 Gökçebeş-Bakacakkadı, 27A Devrek-Alduvaklar, 11A Devrek-Çaydeğirmeni, 62A Gökçebeş-Kadoğlu, 112 Çaycuma-Dereköseler, 49 Gökçebeş-Bakacakkadı, 85 Bartın-Hacıhatipoğlu, 79 Bartın-Dolaşıklar, 82 Bartın-Eysanlar, 100 Karabük-Merkez.

isolates, in other words all the 10 isolates produced almost similar reactions on the cultivars.

## DISCUSSION

Common bean cultivation in greenhouses, especially for

green consumption, in Zonguldak, Bartın and Karabük provinces of Turkey has been practised twice a year, in the spring and autumn at about 1.040 da. The profitability of this crop has been impaired by ALS caused by the fungus *Pg* especially for autumn growing period. The pathogen is genetically differentiated into two forms; *P. g. f. griseola* and

*P. g. f. mesoamericana* (Crous et al. 2006) and molecular analysis of ITS gene sequences of 118 isolates showed that all of isolates were belong to the *P. g. f. griseola*.

The most feasible method to control ALS, especially on snap beans is to grow resistant varieties. To achieve this; pathogenic variation, which Pg has many pathotypes, has to be known. Although we tried to determine the pathotypes of Pg, it was not succeed to grow and obtain seeds of three differential cultivars in Turkish climatic conditions. For this reason, ten randomly selected isolates of the pathogen were used to test the reactions of some cultivars, foreign and native origin. Seventeen bean cultivars, 9 being bush type and 8 being climber type, were selected for the tests. Bean cultivars are generally divided into groups based on the growth habits (bush or climber) and seed size and the characteristics of beans are related with these aspects.

Although the reactions of bean cultivars against ten isolates of *P. g. f. griseola* showed variation, there were not any differences among the isolates. This shows that the randomly selected isolates of Pg do not have pathogenic variation. To put it clearly, pathotypes of the many isolates of Pg should be determined by using differential genotypes.

Several previous studies have indicated the use of different resistant sources against ALS. For instance, studies on screening common bean genotypes for resistance to ALS have been conducted and some sources of resistance identified. Some of these sources include MAR-1, MAR-2, MAR-3, Mexico 54 and BAT 332 (Buruchara and Bua 1999, Caixeta et al. 2003, Mahuku et al. 2003, Mahuku et al. 2004, Mahuku et al. 2009, Namayanja et al. 2006, Pastor-Corrales et al. 1998). Some of the studies also revealed that Mexico 54 was resistant to most African isolates that have so far been characterized (Namayanja et al. 2006). Out of 163 African isolates, Mexico 54 was resistant to 158 and hence considered as one of the excellent source of resistance to ALS in Africa (Namayanja et al. 2006). However, the resistance in Mexico 54 varies in the number of genes that condition resistance in it (Ddamulira 2016).

Three bean cultivars having Turkish names Burayşe, Selvi, Yalova 17, and two foreign origin varieties, Bourgondia and Fabio, showed resistance to all of the isolates used during the screening test. Therefore, these cultivars may be proposed to the farmers in the region as their horticultural aspects are satisfactory. On the other hand, another approach to reduce disease incidence by sowing even mixtures of resistant and susceptible bean varieties was proposed by Olango et al. (2017) since they found low disease incidence sown by the

bulk mixtures. For maintaining the resistance of a variety for a long time and preventing formation of new resistant pathotypes sowing bulk mixtures could be useful.

The difficulty of breeding resistance arises when the disease is inherited by many genes. Although it is not easy to obtain complete resistance to all of the races of ALS disease, breeding programs for resistance eventually help to reduce disease severity in the field. De Faria et al. (2013) evaluated the performance of 40 bean cultivars recommended by various Brazilian research institutions between 1970 and 2013 and found 6.74% grain yield increase during this period. A recent study on QTL markers showed promise for resistance breeding of beans against ALS disease. Oblessuc et al. (2012) found an environmentally stable marker (GATS11b) as a potential tool for marker assisted selection for ALS resistance. Though the pathotypes of *Pseudocercospora griseola* is determined by the reactions formed on the leaves, this might not be suitable when deciding on the resistance of the varieties. Since Borel et al. (2011) found the heritability of pod symptoms was higher than the leaf symptoms which were influenced by environmental factors greatly.

Pathogenic variability of *P. griseola* is very high in some places. For instance, Silva et al. (2008) determined ten pathotypes in Minas Gerais State of Brazil, four of them being first records. Pathogenic variability was also reported in Argentina (Stenglein et al. 2006). The same situation might occur in Turkey.

This is the first study to determine screening of the reactions of the most commonly grown bean cultivars against ALS disease agent of beans although it was reported previously in Turkey (Anonymous 1991, Ozan 2009, Vural et al. 2007, Vural and Soylu 2012). Studies done in other countries showed that bean cultivars are mostly susceptible to ALS disease especially the big seeded varieties (David et al. 2000, Ddamulira 2016, Leitich 2016, Sartorato 2004, Wagara et al. 2004). It is interesting that most of the selected cultivars grown in Turkey are white seeded and the resistant cultivars belonged to white types, being two kidney shape.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study is the PhD thesis of Ankara University Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Plant Protection named "Determination of the Groups of *Pseudocercospora griseola* Causing Angular Leaf Spot in Protected Beans in West Black Sea Region, Investigations on Prevalence, Searches of Inoculum and Reactions of Some

Bean Cultivation Against This Agent” and this project was supported by Turkish Ministry of Agriculture and Forestry with Project number TAGEM-BS-/10/10-01/02-05 under National Integrated Greenhouse Disease Management Program.

## ÖZET

Batı Karadeniz Bölgesi'nde Bartın ve Zonguldak illerinde seralarda ara sezon ürünü olarak fasulye üretimi büyük artış göstermiştir. Taze fasulye, bu bölgedeki toplam 510.000 da alanın yaklaşık yarısında ekilmektedir. *Pseudocercospora griseola*'nın neden olduğu köşeli yaprak lekeli hastalığı son beş yıldır fasulye üretiminde ciddi zararlara neden olmakta ve bölgede neredeyse %100 hastalık çıkısına sebep olmaktadır. Fasulyenin taze olarak tüketilmesi ve sık hasat edilmesi nedeniyle fungusit kullanımı istenmeyen kalıntılar sebebiyle kısıtlanmıştır. Bölgedeki çiftçilerin yaygın olarak hastalığa duyarlı iki yerel çeşidi kullanmaları nedeniyle bu çalışmada çiftçilere dayanıklı çeşitler sağlamak amaçlanmıştır. Hastalık etmeninin patotiplerinin belirlenmesinde kullanılan ırk ayırıcı set içinde yer alan üç fasulye çeşidi Türkiye'nin iki farklı bölgesinde yetiştirilmiş ancak tohum elde edilemediğinden hastalığa neden olan etmenin büyük patojenik varyasyonu olmasına rağmen, *P. griseola*'nın patotipleri belirlenememiştir. Bu nedenle Türkiye'de en çok yetiştirilen on yedi fasulye çeşidi seçilmiş ve tesadüfi olarak seçilen *P. griseola*'nın en agresif 10 izolatu ile dayanıklılık taraması yapılmıştır. Dokuz otuz tip fasulye çeşidinden ikisi Bourgondia ve Yalova 17, sekiz sırk fasulye çeşidinden ise üçü Fabio, Burayşe ve Selvi tüm *P. griseola* izolatlarına karşı dayanıklı reaksiyon göstermiştir. Bu dayanıklı çeşitlerin hepsi sofralık olarak da iyi özelliklere sahiptir.

Anahtar kelimeler: Köşeli yaprak lekeli, fasulye, çeşit reaksiyonu

## REFERENCES

Aggarwal V.D., Pastor-Corrales M.A., Chirwa R.M., Buruchara R.A., 2004. Andean beans (*Phaseolus vulgaris*) with resistance to the angular leaf spot pathogen (*Phaeoisariopsis griseola*) in Southern and Eastern Africa. *Euphytica*, 136, 201-210.

Anonymous 1991. Quarantine procedure/Method de quarantaine, *Phaeoisariopsis griseola*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 21, 263-264.

Borel J.C., Ramalho M.A.P., Abreu A.F.B., Maia L.G.S., 2011. Genetic control of angular leaf spot reaction in common

bean leaves and pods. *Scientia Agricola*, 68 (6), 661-664.

Buruchara R.A., 1983. Determination of pathogenic variation in *Isariopsis griseola* Sacc. and *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burk., 1926) Young, Dye & Wilkie 1978. Ph.D. thesis. University of Nairobi, 188 p.

Buruchara R., Bua B., 1999. Identification of sources of resistance to angular leaf spot. In: Annual report 1999 IP-2: meeting demands for beans in Sub Saharan Africa in sustainable ways. CIAT, Cali, Colombia, 28 p.

Busogoro J.P., Jijakli M.H., Lepoivre P., 1999. Identification of a novel source of resistance to angular leaf spot disease of common bean within the secondary gene pool. *Plant Breeding*, 118 (5), 417-423.

Caixeta E.T., Borém A., Fagundes S.D.A., Niestche S., Barros E.G., Moreira M.A., 2003. Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean line BAT 332 and identification of RAPD markers linked to the resistance gene. *Euphytica*, 134 (3), 297-303.

Cole Jr. H., 1966. Angular leaf spot associated with severe defoliation of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in Pennsylvania. *Plant Disease Reports*, 50 (7), 494.

Correa F.J., Saettler A.W., 1987. Angular leaf spot of red kidney beans in Michigan. *Plant Disease*, 71 (10), 915-918.

Crous P.W., Lienbenberg M.M., Braun U., Groenewald J.Z., 2006. Re-evaluating the taxonomic status of *Phaeoisariopsis griseola*, the causal agent of angular leaf spot of bean. *Studies in Mycology*, 55 (1), 163-173.

David S., Kirkby R., Kasozi S., 2000. Assessing the impact of bush bean varieties on poverty reduction in Sub-Saharan Africa: Evidence from Uganda. Network on bean research in Africa, occasional publication series, No. 31, Centro Internacional de Agricultura Tropical, Kampala, Uganda, 27 P.

De Faria L.C., Melo P.G.S., Pereira H.S., Del Peloso M.J., Bras A.J.B.P., Moreirad J.A.A., De Carvalho H.W.L., Melo L.C., 2013. Genetic progress during 22 years of improvement of carioca-type common bean in Brazil. *Field Crops Research*, 142, 68-74.

Ddamulira G., Mukankusi C.M., Ochwo-Ssemakula M., Edema R., Sseruwagi P., Gepts P.L., 2014. Distribution and variability of *Pseudocercospora griseola* in Uganda. *Journal of*

Agricultural Science, 6 (6), 16-29.

Ddamulira G., 2016. Characterization of *Pseudocercospora griseola*, identification of local sources of resistance and effectiveness of gene pyramiding in controlling angular leaf spot in common bean. PhD thesis, Department of Agricultural Production, Makerere University, Kampala, Uganda, 112 p.

Dhingra O.D., Kushalappa A.C., 1980. No correlation between angular leaf spot intensity and seed infection in bean by *Isariopsis griseola*. Fitopatologia Brasileira, 5 (2), 149-152.

Leitch R.K., Omayio D., Mukoye O.B., Mangeni B.C., Wosula D.W., Arinaitwe W., Otsyula R.M., Were H.K., Abang M.M., 2016. Pathogenic variability of angular leaf spot disease of common bean in Western Kenya. International Journal of Applied Agricultural Sciences, 2 (6), 92-98.

Liebenberg M.M.S., Pretorius Z.A., 1997. A review of angular leaf spot of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). African Plant Protection, 3(2), 81-106.

Mahuku G.S., Jara C., C'esar Cajiao., Beebe S., 2003. Sources of resistance to angular leaf spot (*Phaeoisariopsis griseola*) in common bean core collection, wild *Phaseolus vulgaris* and secondary gene pool. Euphytica, 130 (3), 303-313.

Mahuku S.G., Montoya C., Henriquez M.A., Jara C., Teran H., Beebe S., 2004. Inheritance and characterization of angular leaf spot resistance gene present in common bean accession G 10474 and identification of an AFLP marker linked to the resistance gene. Crop Science, 44 (5), 1817-1824.

Mahuku G.S., Iglesias A.M., Jara C., 2009. Genetics of angular leaf spot resistance in the Andean common bean accession G5686 and identification of markers linked to the resistance genes. Euphytica, 167 (3), 381-396.

Monda E.O., Sanders F.E., Hick A., 2001. Infection and colonization of bean leaf by *Phaeoisariopsis griseola*. Plant Pathology, 50, 103-110.

Mora B., Pastor-Corrales M., Zambolin L., Viera C., Chaves G., 1985. Determining yield losses in French bean from angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). Phytopathology, 75 (10), 1178.

Namayanja A., Buruchara R., Mahuku G., Rubaihayo P., Kimani P., Mayanja S., Eyedu H., 2006. Inheritance of resistance to angular leaf spot in common bean and validation

of the utility of resistance linked markers for marker assisted selection outside the mapping population. Euphytica, 151 (3), 361-369.

Nietsche S., Borém A., Carvalho G.A., Rocha R.C., Paula T.J., Barros E.G., Moreira M.A., 2000. RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. Journal of Phytopathology, 148 (2), 117-121.

Oblessuc P.R., Baroni R.M., Garcia A.A.F., Chioratto A.F., Carbonell S.A.M., Camargo L.E.A., Benchimol L.L., 2012. Mapping of angular spot resistance QTL in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different environments. BMC Genetics, 13, 50. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-50> .

Olango N., Tusiime G., Mulumba J.W., Nankya R., Fadda C., Jarvis D.I., Paparu P., 2017. Response of Ugandan common bean varieties to *Pseudocercospora griseola* and angular leaf spot disease development in varietal mixtures. International Journal of Pest Management, 63 (2), 119-127.

Ozan S., 2009. Batı Karadeniz Bölgesinde örtü altında fasülyelerde köşeli yaprak lekesine neden olan *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris (= *Isariopsis griseola* Sacc.)'nın tespiti. Türkiye 3. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 15-18 Temmuz 2009, 227 s., Van.

Ozan S., Maden S. 2010. Batı Karadeniz Bölgesinde örtü altında yetiştirilen fasülyelerde köşeli yaprak lekesi etmeni *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Ferraris (= *Isariopsis griseola* Sacc.)'nın izolasyonu. Bitki Koruma Bülteni, Cilt 50, No:2, 65-72.

Pastor-Corrales M.A., Jara C., Singh P.S., 1998. Pathogenic variation in, sources of, and breeding for resistance to *Phaeoisariopsis griseola* causing angular leaf spot in common bean. Euphytica, 103 (2), 161-171.

Saettler A.W., 1991. Angular leaf spot. In: Hall, R., (Ed.). Compendium of Bean Diseases. St. Paul, MN, USA, APS Press, 15-6.

Santos-Filho H.P., Ferraz S., Sediyaama C.S., 1978. Influência de época de inoculação de *Isariopsis griseola* Sacc., sobre tres cultivares de feijoeiro. Fitopatologia Brasileira, 3, 175-180.

Sartorato A., 2004. Pathogenic variability and genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* isolates from two counties in the State of Goiás, Brazil. Journal of Phytopathology, 152, 385-390.

Schoonhoven A. Van., Pastor-Corrales M.A., (comps.). 1987. Standart system for the evaluation of bean germplasm. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, 56 p.

Schwartz H.F., Correa V.F., Pineda D.D.A., Otoy M.M., Katherman M.J., 1981. Dry bean yield losses caused by *Ascochyta*, angular, and white leaf spots in Colombia. Plant Disease, 65 (6), 494-496 p. doi:10.1094/PD-65-494.

Silva K.J.D.E., De Souza E.A., Sartorato A., De Souza Freire C.N., 2008. Pathogenic variability of isolates of *Pseudocercospora griseola*, the cause of common bean angular leaf spot, and its implications for resistance breeding. Journal of Phytopathology, 156 (10), 602-606. doi:10.1111/j.1439-0434.2008.01413.x.

Stenglein S.A., Balatti P.A., 2006. First report of angular leaf spot caused by *Phaeoisariopsis griseola* on *Phaseolus coccineus* in Argentina. Plant Disease, 90 (2), 248.

TÜİK 2014. www.tuik.gov.tr (Accessed date: 04.02.2019)

Vural Ç., Soylu S., Dönmez M.F., Şahin F., 2007. Hatay ilinin önemli fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ekim alanlarında görülen fungal ve bakteriyel hastalık etmenleri ve yaygınlık durumları. Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 27-29 Ağustos 2007, 272 s., Isparta.

Vural Ç., Soylu S., 2012. Prevalence and incidence of fungal disease agents affecting bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. Research on Crops, 13 (2), 634-640.

Wagara I.N., Mwang'ombe A.W., Kimenju J.W., Buruchara R.A., Jamnadass R., Majiwa P.A.O., 2004. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in Kenya as revealed by AFLP and group-specific primers. Journal of Phytopathology, 152 (4), 235-242.

Cite this article: Canpolat, S, Maden, S. (2020). Ülkemizde yetiştirilen bazı fasulye çeşitlerinin *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun'dan kaynaklanan Fasulye köşeli yaprak lekesi hastalığına karşı reaksiyonları. Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.630968

Atıf için: Canpolat, S, Maden, S. (2020). Ülkemizde yetiştirilen bazı fasulye çeşitlerinin *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun'dan kaynaklanan Fasulye köşeli yaprak lekesi hastalığına karşı reaksiyonları. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.630968



# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Assessment of different spraying programs to chemical control of powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) in vineyard in Manisa province

Manisa ilinde Bağda külleme hastalığının (*Erysiphe necator* Schw.) kimyasal mücadelesinde farklı ilaçlama programlarının değerlendirilmesi

Nurdan GÜNGÖR SAVAŞ<sup>a\*</sup>, Esra ALBAZ<sup>b</sup>, Serkan ÖNDER<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Manisa Viticulture Research Institute, 45125, Yunusemre, Manisa, Turkey

<sup>b</sup>Adıyaman Nuts Research Institute, Merkez, Adıyaman, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.641439](https://doi.org/10.16955/bitkorb.641439)

Received : 01.11.2019

Accepted : 22.12.2019

Keywords:

Manisa, grapevine, *Vitis vinifera*, powdery mildew, *Erysiphe necator*, chemical control

\* Corresponding author: Nurdan GÜNGÖR SAVAŞ

✉ [nurdangrsvs10@hotmail.com](mailto:nurdangrsvs10@hotmail.com)

### ABSTRACT

This study aimed to determine a spraying program that will be more effective and appropriate in time for the control of powdery mildew disease. The trial was carried out in 2015 at the vineyard of Manisa Viticulture Research Institute in Sultani seedless grape variety known to be naturally infected with the disease. Three programs, including Program A (Plant Protection Technical Instructions chemical control), Program B (addition of an additional pesticide application between the first and second applications in the (Plant Protection Technical Instructions) and Program C (early chemical control when shoots are 10 cm long), were tested with different time of pesticide application. By evaluating the times of spraying on the control against diseases, the most effective spraying program was determined. Fungicide, 30 ml<sup>-1</sup> 100 l, containing 100 g l<sup>-1</sup> kresoxim-methyl + 200 g l<sup>-1</sup> boscalid (Collis SC, BASF) active substance was used in the dose of water in all the applications performed according to all of the programs. As a result, Program A was 53.88%, Program B was 69.17%, Program C was 73.79% effective in the control against powdery mildew disease on leaves; Program A was 65.22%, Program B was 87.50% and Program C was 92.61% effective in the control against powdery mildew disease on grape bunches.

### GİRİŞ

Ülkemiz, 461.958 ha bağ alanı ile bağcılık yapan ülkeler arasında İspanya, Çin, Fransa, İtalya'dan sonra 5. sırada, üretimde ise 4.200.000 ton yaş üzüm üretimi ile 4. sırada yer almıştır (TÜİK 2018). Toplam üzüm üretimimizin %30'unu (1.240 bin ton) çekirdeksiz kurutmalık üzüm

oluşturmaktadır (kuru üzüm karşılığı 310 bin ton). Ülkemizde çekirdeksiz kurutmalık üzüm üretimi, Ege Bölgesi'nde özellikle Manisa (%87), İzmir (%6) ve Denizli (%6) illerinde yoğunlaşmıştır. Ege Bölgesi mevcut bağ alanlarımızın %34'ünü oluşturmaktadır ve 139.802 ha'da

bağcılık yapılmaktadır. Manisa ili 78.430 ha bağ alanı ile Ege Bölgesi'nde yoğun bağcılık yapan tek ildir. Özellikle Sultani Çekirdeksiz kuru üzüm ile özdeşleşmiş olan Manisa, Türkiye kuru üzüm üretiminin %94'ünü karşılamaktadır. Manisa, sadece ülkemizde değil, dünyada da önemli üzüm üretim bölgesi olarak bilinmektedir (Anonim 2018).

Ülkemizin gerek dünya üzerindeki coğrafi konumu, gerekse ekolojik faktörlerin değişimi ve elverişliliği nedeniyle bağcılık farklı bölgelerde geniş alanlara yayılmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, verimi olumsuz yönde etkileyen önemli bağ hastalıkları da gelişme göstermektedir. Tüm dünyada ve ülkemizde de önemli kayıplara yol açan bağ hastalıklarından birisi de Bağ küllemesi (*Erysiphe necator* Schw.)'dir.

Bağ küllemesi, ülkemizin hemen her bölgesindeki bağ alanlarında görülen ve zarar yapan obligat parazit olan önemli fungal bir hastalıktır. Hastalık, sıcak ve kuru hava koşullarında salkım kalitesi ile bağın gelişimini ve verimini olumsuz yönde etkilemektedir (Pearson 1988). Hastalık, asmanın yaprak, sap, sürgün ve salkımında zarar oluşturmakta, asmada gelişme geriliğine, ürünün kalite ve miktarında önemli ölçüde azalmaya hatta mücadelesi yapılmadığında %90'lara varan zararlara yol açabilmektedir. Zirai Mücadele Teknik Talimatına göre hastalığın mücadelesi gerçekleştirilmektedir. Hastalıkla mücadelede ilk ilaçlama, sürgünler 25-30 cm uzunluğa ulaştığı dönemde; ikinci ilaçlama, çiçek taç yapraklarının döküldüğü ve korukların saçma tanesi iriliğinde olduğu dönemde; üçüncü ve diğer ilaçlamalar, ikinci ilaçlamadan sonra kullanılacak ilacın etki süresine göre tanelere ben düşme dönemine kadar yapılmaktadır (Anonim 2015a).

Üreticilerden bakanlığımızın ilgili birimlerine mücadelede yetersiz kalındığına dair her yıl çok sayıda şikâyet gelmektedir. Zirai Mücadele Teknik Talimatında önerilen ilk ilaçlama ile ikinci ilaçlama arasında bölgelere ve iklim koşullarına göre yaklaşık 30-40 günlük bir süre geçmekte olup gelen şikâyetlerde de bu sürenin etkisinin olduğu anlaşılmıştır. Bu süre dikkate alındığında kullanılan fungusitlerin etki sürelerinin yetersiz kaldığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda Zirai Mücadele Teknik Talimatında önerilen 1. ve 2. ilaçlama zamanları arasındaki sürenin, hastalıkla mücadelede kullanılan kimyasalların etki sürelerinden daha uzun olduğu ve bu dönemde asmaların hastalığa karşı korunamadığı da bildirilmiştir (Albayrak et al. 2011).

Araştırmacılar ve uygulayıcılardan gelen, Bağ küllemesi hastalığına karşı mevcut mücadele programının hastalığın mücadelesinde yetersiz kaldığı görüşü üzerine, mevcut talimat ve metotlarda ortaya çıkan sorunları en aza indirmek ve

mücadele zamanlarında düzenleme yapılması için Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'nün 25.04.2014 tarih ve 21278028-930/3678 sayılı yazısı ile Bağ küllemesi hastalığının Zirai Mücadele Teknik Talimatında ve Standart İlaç Deneme Metodunda yer alan mücadele zamanlarında revizeye gidilmesi, ülkemizin 7 farklı coğrafi bölgesinde bir yıllık çalışmanın yapılması bildirilmiştir. Bu doğrultuda, Ege Bölgesi Manisa ilinde bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

## MATERYAL VE METOT

Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Horozköy'de yer alan araştırma parselinde, 3x2 m aralıklarla dikilmiş 1103 Paulsen anacı üzerine aşılı Sultani Çekirdeksiz (*Vitis vinifera* L.) asmaları ile bitki koruma ürünü, sırt pülverizatörü ile laboratuvar malzemeleri materyalimizi oluşturmuştur. Denemede kullanılan bitki koruma ürününün etki süresi 11-12 gün olarak kabul edilmiştir. Çalışmada hastalığa karşı ruhsatlı 100 g l<sup>-1</sup> kresoxim-methyl + 200 g l<sup>-1</sup> boscalid etkili madde içeren fungusit (Collis SC, BASF) etiketinde yer alan tavsiye dozunda kullanılmıştır.

Çalışma 2015 yılında yürütülmüş ve deneme alanında fenolojik takipler ve kültürel bakım işlemleri yapılmış, gerekli kayıtlar tutulmuştur. Çalışma, tesadüf blokları deneme deseninde, 5 tekerrürlü ve 4 karakterli (Program A, Program B, Program C ve Kontrol) olarak kurulmuştur. İlaçlamalarda parseller arasında ilaçlama perdesi kullanılmış ve 6 omca bir parsel olarak alınmıştır. Çalışmada hastalığın mücadelesine yönelik olarak aşağıda açıklanan şekilde 3 farklı programa göre uygulamalar yapılmıştır. Kontrolde herhangi bir uygulama gerçekleştirilmemiştir.

*Program A:* Zirai Mücadele Teknik Talimatına göre:

1. İlaçlama: Çiçekten önce sürgünler 25-30 cm olduğu,
2. İlaçlama: Çiçek taç yapraklarının döküldüğü ve korukların saçma tanesi iriliğinde olduğu,
3. ve diğer ilaçlamalar: İkinci ilaçlamadan sonra kullanılan ilacın etki süresine göre tanelere tatlı su yürüdüğü dönemde (ben düşme) kadar devam edilmiştir.

*Program B:* Zirai Mücadele Teknik Talimatına göre yapılan ilk iki ilaçlama arasına bir uygulama daha eklenmiştir:

1. İlaçlama: Çiçekten önce sürgünler 25-30 cm'ye ulaştığı dönemde,
2. İlaçlama: Çiçeklenme öncesi, çiçek tomurcukları ayrıldığı

dönemde,

3. İlaçlama: Çiçek taç yapraklarının döküldüğü dönemde,

4. ve diğer ilaçlamalar: Üçüncü ilaçlamadan sonra kullanılan ilacın etki süresine göre tanelere tatlı su yürüdüğü zamana (ben düşme) kadar sürdürülmüştür.

*Program C: Erken dönemde ilaçlama,*

1. İlaçlama: Çiçekten önce sürgünler ortalama 10 cm'ye ulaştığı dönemde, 2. İlaçlama: ve diğer ilaçlamalar: Kullanılan ilacın etki süresine göre ben düşme dönemine kadar sürdürülmüştür.

*Yaprak ile salkımda sayım ve değerlendirme*

Aynı parsel üzerinde yer alan 6 omcadan ortadaki 2x2=4 omca üzerinde yürütülmüştür. Bağ küllemesinin değerlendirilmesi yaprak ve salkım üzerinde yapılmıştır (Anonim 2015b). Sayım yapılacak her bir omcanın çevresindeki sürgünlerden, dipten üçüncü yaprakтан sonraki yapraklardan, tesadüfen alınan 25 yaprakta, dört omcadan alınacak toplam 100 yaprakta sayım ve değerlendirmeler yapılmıştır. Bağ küllemesi hastalığında yaprak için değerlendirme skalası Çizelge 1'de verilmiştir (Anonim 2015b).

**Çizelge 1.** Bağ küllemesi hastalığının yaprakta hastalık değerlendirmede kullanılan 0-4 skalası

Skala Değeri	Hastalık Tanımı
0	Yaprakta hiç leke yok
1	Yaprakta 1-2 leke mevcut
2	Yaprakta 3-10 leke mevcut
3	Yaprakta 10 adetten fazla leke mevcut

Yaprak sayımları sonucunda elde edilen skala değerlerinden Townsend-Heuberger formülüne göre yüzde hastalık şiddeti bulunmuş, bu değerlerden Abbott formülü ile de ilaçlamaların yüzde etkisi hesaplanmıştır (Anonim 2015b).

*Salkımda sayım ve değerlendirme*

Her parselde sayıma tabi, omcaların her birinden 5'er salkımda olmak üzere, 4 omcadan alınan toplam 20 salkımda hasta ve sağlam taneler sayılarak, parseldeki hasta ve sağlam tane âdeti belirlenmiştir. Yaprakta ve salkımda sayımlar son ilaçlamadan sonra, ilacın etki süresi ve etmenin inkübasyon süresi (5-6 gün) toplamı dikkate alınarak yapılmıştır (Anonim 2015b).

Sayım sonucunda hastalıklı tane yüzdesi bulunmuş, bu değerlerden Abbott formülü ile de ilaçlamaların yüzde etkisi hesaplanmıştır (Anonim 2015b). Yaprakta ve salkımda yapılan sayımlar sonucunda elde edilen değerlere varyans analizi yapılmıştır. Sonuçlara Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılarak uygulamalar gruplandırılmıştır. Değerlendirmelerde SPSS 17.0 (Ver.17.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) istatistik programı kullanılmıştır.

## SONUÇLAR

### *Fenolojik takip*

Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Horozköy yerleşkesinde, Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidine ait bağda 15.03.2015 tarihinde parselasyon yapılarak deneme kurulmuştur. Çalışmada, fenolojik takipler yapılmış ve tutulan fenolojik kayıtlar Çizelge 2'de verilmiştir. Kontrolde hastalık şiddeti %20'nin üzerinde bulunmuştur. Deneme bağında hastalık belirtisi 01.06.2015 tarihinde yaprakta tespit edilmiştir. Kontrol parsellerinde yaz boyunca yapılan gözlemlerle; fungusun, asmanın tüm yeşil aksamında zarara neden olduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 2.** Çalışmanın yapıldığı yılda deneme bağında tutulan fenolojik kayıtlar

Fenolojik Dönemler	Tarih
Tomurcuk patlaması dönemi başlangıcı	18.03.2015
Hastalığın ilk tespiti	01.06.2015
Ben düşme dönemi başlangıcı	22.07.2015
Projenin değerlendirilmeye başlandığı	31.07.2015
Hasat dönemi	21.08.2015

Gözlerin uyanmasından itibaren, projenin yürütüldüğü bağ alanında fenolojik ve iklimsel değerler kaydedilmeye ve takip edilmeye başlanmıştır.

### *Uygulamalar*

*Program A:* Program A'nın ilk ilaçlaması sürgünler ortalama 20-30 cm'ye ulaştığı dönemde (30.04.2015 tarihinde) gerçekleştirilmiştir. Program A'da, ben düşme dönemine kadar 6 ilaçlama gerçekleştirilmiştir.

*Program B:* Hastalıkla mücadelede ilk ilaçlama sürgünler yaklaşık 20-30 cm'ye ulaştığında (30.04.2015 tarihinde) başlanmıştır. Bu programa göre 7 ilaçlama yapılmıştır.

*Program C:* Bu programa göre ilk ilaçlama sürgünler ortalama 10 cm'ye ulaştığı dönemde (16.04.2015 tarihinde) başlamış ve ben düşme dönemine kadar 9 ilaçlama gerçekleştirilmiştir.

Denemede yer alan Program A, B ve C'ye ait ilaçlamaların sayısı, tarihi ve uygulandığı fenolojik dönem Çizelge 3'de verilmiştir.

#### Sayım ve değerlendirmeler

Sayım ve değerlendirmeler 31.07.2015 tarihinde deneme bağından alınan yaprak ve salkımda yapılmıştır.

Hastalık belirtisi deneme yılında salkımdan önce yaprakta gözlemlenmiştir. Yapılan sayımlar sonucunda uygulamaların kontrole göre yüzde etkileri: Program C %73.79, Program B %69.17 ve Program A %53.88 olarak bulunmuştur. Yaprak sayımları sonucu (Şekil 1) elde edilen hastalık oranının yüzde değerleri ve uygulamaların kontrollere göre yüzde etkileri Çizelge 4'de açıklanmıştır.

**Çizelge 3.** Program A, B ve C'ye ait ilaçlamaların sayısı, tarihi ve uygulandığı fenolojik dönem

İlaçlama Sayısı	Program Adı	İlaçlama Tarihi	Fenolojik Dönemler	Program Adı	İlaçlama Tarihi	Fenolojik Dönemler	Program Adı	İlaçlama Tarihi	Fenolojik Dönem
1		30.04.2015	Sürgünler 25-30 cm uzunlukta		30.04.2015	Sürgünler 25-30 cm uzunlukta		16.04.2015	Sürgünler 10 cm uzunlukta
2		03.06.2015	Koruklar saçma tanesi iriliğinde		14.05.2015	Çiçeklenme öncesi		27.04.2015	Sürgünler 20-30 cm uzunlukta
3		15.06.2015	İnce Koruk		03.06.2015	Koruklar saçma tanesi iriliğinde		08.05.2015	Çiçek tomurçklarının ayrılması
4		26.06.2015	Kapalı Salkım		15.06.2015	İnce Koruk		20.05.2015	Çiçeklenme
5	Program A	08.07.2015	Kapalı Salkım Olgunluk Başlangıcı	Program B	26.06.2015	Kapalı Salkım	Program C	01.06.2015	Koruklar saçma tanesi iriliğinde
6		20.07.2015	Olgunluk Başlangıcı		08.07.2015	Kapalı Salkım Olgunluk başlangıcı		12.06.2015	İnce Koruk
7		-	-		20.07.2015	Olgunluk Başlangıcı		23.06.2015	Kapalı Salkım
8		-	-		-	-		04.07.2015	Kapalı Salkım Olgunluk Başlangıcı
9		-	-		-	-		15.07.2015	Olgunluk Başlangıcı
Toplam İlaçlama Sayısı		6 İlaçlama			7 İlaçlama			9 İlaçlama	

Deneme bağında ben düşme döneminin başlangıcı ile birlikte ilaçlamalara son verilmiştir ve son uygulamadan 11-15 gün sonra sayım ve değerlendirme (Şekil 2) gerçekleştirilmiştir. Yapılan sayımlar sonucunda hastalıklı tanelerin yüzdesi: kontrolde %70.76, Program A'da %30.58, Program B'de %11.14, Program C'de ise %6.5 olarak tespit edilmiştir. Salkım sayımlarından elde edilen hastalıklı tane yüzdeleri, uygulamaların kontrole göre yüzde etkileri ve istatistiksel

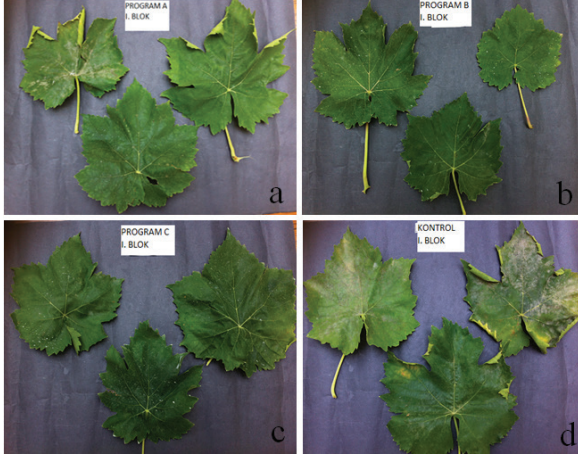
gruplamalar Çizelge 4'de verilmiştir.

Bu çalışma ile Bağ Küllemesi (*Erysiphe necator*) hastalığına karşı uygulanacak kimyasal mücadelede ilk ilaçlama zamanını ve diğer ilaçlama aralıkları belirlenerek hastalıkla mücadelede etkinlik sağlayacak bir ilaçlama programı oluşturulmuştur. Çalışmada hastalığın mücadelesine yönelik farklı ilaçlama zamanı ve aralıkları olan Program A, Program

**Çizelge 4.** Farklı ilaçlama uygulamalarının yaprakta ve salkımda külleme hastalığı üzerine etkisi

Uygulamalar	Yaprakta Hastalık Şiddeti (%)	Yaprakta Uygulamaların Etkisi (%)	Hastalıklı Tane Oranı (%)	Salkımda Uygulamaların Etkisi (%)
Program A	36.07 b	53.88	30.58 b	65.22
Program B	24.18 c	69.17	11.14 c	87.50
Program C	20.62 c	73.79	6.55 c	92.61
Kontrol	78.28 a*	-	70.76 a*	-

\*Yaprakta ve salkımda Duncan çoklu karşılaştırma testine göre  $P \leq 0.05$ 'e göre önemlidir. Aynı harfi almış ortalamalar aynı istatistiksel grupta yer almıştır.



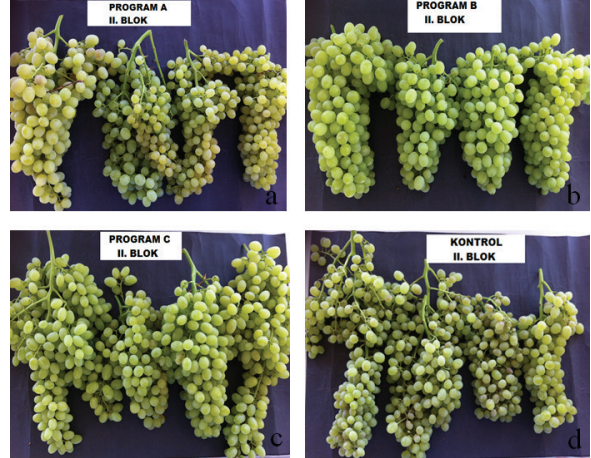
**Şekil 1.** Program uygulamaları sonrası tesadüf blokları deneme desenine göre I. Bloktaki a) A programı b) B programı c) C programı ve d) kontroldeki yapraklara ait sayım ve değerlendirmelerden genel görüntüler

B, Program C'ye göre uygulamalar yapılmıştır.

Program A'nın 2016 yılına kadar bağ küllemesi ile kimyasal mücadelede tavsiye edilen programına göre 6 kez ilaçlama yapılmış ve yaprakta %53.88, salkımda %65.22 oranında etkinlik belirlenmiştir. Program A'da ilk iki ilaçlama arasında 34 günlük ilaçsız süre geçmiş ve korukların saçma tanesi olduğu dönemde ilaçlama (03.06.2015) gerçekleştirilmiş ve ilk enfeksiyon bu dönemde (01.06.2015 tarihinde) görülmüştür. Enfeksiyon sonrası gerçekleştirilen ilaçlama ve ilacın etki süresine göre 11-12 gün aralıklarla yapılan diğer ilaçlamalar hastalığı kontrol altına almıştır.

## TARTIŞMA VE KANI

Bağ küllemesi hastalığının kimyasal mücadelesi ile ilgili üreticilerden, bitki koruma ürünü firmalarından gelen şikâyetler doğrultusunda planlanan çalışma ile Zirai Mücadele Teknik Talimatında ve Standart İlaç Deneme Metodunda yer alan mücadele zamanlarında uygun ilaçlama



**Şekil 2.** Program uygulamaları sonrası tesadüf parselleri deneme desenine göre II. Bloktaki a) A programı b) B programı c) C programı ve d) kontroldeki salkımlara ait sayım ve değerlendirmelerden genel görüntüler

dönemlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Zirai Mücadele Teknik Talimatına göre uygulamaların yapıldığı Program A'da 6 ilaçlama gerçekleştirilmiştir. İlk ilaçlama zamanı ile ikinci ilaçlama zamanı arasında 34 günlük sürenin geçtiği ve ilacın etkinlik süresi olan ortalama 10-14 günlük süre 34 günlük süreden çıkarıldığında en 20 günlük sürenin ilaçsız geçtiği tespit edilmiştir. Turan and Tokgönül (1994), Bağ küllemesine karşı uygun mücadele metodunun tespiti üzerine yürüttükleri çalışmada, Zirai Mücadele Teknik Talimatına göre yapılan uygulamadaki ilk iki ilaçlama zamanı (20-30 cm'lik sürgün dönemi ile korukların saçma tanesi iriliği dönemi) arasında geçen süreyi, Arpaçsakarlar'da 38, Akdam ve Sarıçukur'da 30 ve Fındıklı'da 34 gün bulmuştur.

Bağ küllemesi hastalığı için uygulanan kontrol programlarındaki fungusitler koruyucu olarak uygulandıkları zaman daha etkili olmaktadır (Gubler et al. 1999). Bağ küllemesi hastalığına karşı kullanılan fungusitlerin etki süreleri dikkate alındığında, Program A'daki 1. ile 2. ilaçlama



zamanları arasında bölgemizde geçen ve hastalıklara hassasiyet açısından en kritik evre olan çiçeklenme dönemini de içeren 34 günlük sürede, asmalar hastalığa karşı korunaksız kalmıştır. İlaçsız geçen bu süre, bağın külleme hastalığına karşı en hassas olduğu çiçeklenme öncesi ve çiçeklenme sonrası dönemi kapsamaktadır (Gadoury et al. 2006). Batı Washington'da Bağ külleme hastalığı ile mücadelede, ilaçlama aralığının, etmenin enfeksiyon gelişimi için uygun olduğu hava koşullarında, ilaçların etki süresine göre kısaltılması gerektiği bildirilmektedir (Moyer and Grove 2012). Külleme hastalığının kontrolündeki en kritik dönemlerin, çiçeklenme öncesi ve meyve tutumu sonrasındaki üç hafta olduğu ve bu dönemde etkili fungusitlerin tercih edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Program A'daki 1. ilaçlama zamanının ilk enfeksiyonları önlemede geç kalmış olması ve 1. ile 2. ilaçlama zamanları arasında geçen sürenin, hastalığa karşı kullanılan fungusitlerin etki sürelerinden uzun oluşu, mevsim şartlarının hastalığın gelişimine uygun gittiği yıllarda hastalığın vejetasyon dönemi içerisindeki seyrinde ve oluşturduğu ürün kayıplarının miktarında etkili olmaktadır.

Zirai Mücadele Teknik Talimatına göre yapılan ilk iki ilaçlama arasına bir uygulama daha eklenmesi ile oluşturulan Program B'ye göre hastalıkla kimyasal mücadelede 7 ilaçlama yapılmıştır. Kontrole göre B programının yüzde etkinliği yaprakta %69.17, salkımda %87.50 olarak belirlenmiştir. Sürgünler 25-30 cm uzunluğunda iken Program B'de ilaçlamalara başlanmıştır, külleme hastalığının primer enfeksiyonlarına karşı ilk ilaçlama zamanın koruyucu olmadığını göstermiştir. Hastalığın bir önceki yıl görüldüğü alanlarda ertesi yıl mutlaka erken dönemde koruyucu ilaçlama yapmanın önemi belirtilmiştir (Albayrak et al. 2011). Hartman and Beale (2008), külleme ile mücadelede uygulamaların çiçeklenmeden hemen önce başlaması gerektiğini ve özellikle enfeksiyona hassas çeşitlerde primer enfeksiyonların erken kontrolünün bu hastalığın tedavisinde önemli olduğunu bildirmiştir. Tüm askosporlar salınana kadar primer enfeksiyonlar kontrol altına alınabilirse, sekonder enfeksiyonların neden olduğu mevcut inokulum miktarının da büyük ölçüde azaldığı ifade edilmiştir (Ellis et al. 2009). Külleme hastalığının erken dönemde yeterince kontrol edilememesi durumunda, Botrytis çürüklüğü gibi diğer salkım çürüklüklerinin daha da arttığı açıklanmıştır (Ellis et al. 2009).

Erken dönemde ilaçlamaya başlamanın amaçlandığı Program C'ye göre hastalıkla kimyasal mücadelede 9 ilaçlama yapılmıştır. Hastalıkla mücadelede kontrole göre en yüksek etkinlik hem (%73.79 oranında) yaprakta hem de (%92.62 oranında) salkımda bu programa göre yapılan ilaçlamalarda gerçekleşmiştir. İlk ilaçlama zamanının diğer programlara

göre çok erken olması ve ilaçlama zamanlarının, kullanılan ilacın etki süresine göre ayarlanmış olması nedeniyle başarılı etki göstermiştir. Program C'de ilk ilaçlama zamanının (16.04.2015 tarihinde) sürgünler 10 cm uzunluğunda iken yapılması ile hastalığa karşı daha erken dönemde koruyucu etki sağlanmış ve asmalar ilk enfeksiyonlardan korunmuştur. Programda ilaçlama aralıklarının kullanılan ilacın 11-12 günlük etki süresine göre düzenlenmesiyle, bağ sezonu süresince hastalıkla mücadelede diğer uygulanan programlara göre daha koruyucu etki elde edilmiştir. Üzüm tanelerinin çiçeklenme öncesi ve sonrasındaki 4-5 hafta yani tane tutumu döneminde külleme karşı hassas olduğu ve hastalık bu dönemde kontrol edilmezse ciddi ürün kayıplarının meydana geldiği bir çok çalışmada bildirilmiştir (Gadoury et al. 2000, Gubler et al. 1999, Reuveni 2010). Program C ile hem ilaçlamalar erken başlatılmış hemde çiçeklenme öncesi ve sonrası hassas dönem, ilacın etki süresi takip edilerek, sürekli kontrol altında tutulmuştur.

Moyer (2012), Bağ külleme ile kimyasal mücadeleye sürgünler 10 cm öncesinde iken başlamanın yaprakları enfeksiyonlardan koruduğu, çiçeklenme sonrası dönem ile tanelerin irileşmeye başladığı dönemler arasındaki uygulamaların ise salkımdaki hastalık yönetimi için en hasas zaman olduğunu belirtmiştir. Söz konusu çalışmada hava koşulları fungal gelişim için uygun olduğunda, en etkili ve sık aralıklarla fungusit uygulamalarının yapılmasını önermiştir.

Program C'nin ilaçlama sayısının çokluğu, hastalıkla mücadelede gösterdiği yüksek etkinliğin nedenini de açıklamaktadır. Bitki korumada en çok tercih edilen kimyasal mücadele uygulamaları sırasında sık aralıklarla fungusitlerin kullanımı, canlılar arasındaki doğal dengenin bozulması, kalıntı, zararlı organizmaların direnç kazanması, çevre kirliliği, maliyetlerin artması gibi sorunları da beraberinde getirmektedir. Bitki korumanın amacı, tüm ekosistemi de dikkate alarak hastalık ve zararlıyı engellemek ile birlikte yukarıda bahsedilen sakıncaları olabildiğince azaltmaktır.

Asmalar dormant dönemde iken başlayan ilaçlamalar ilaçların etki süresi ve hastalığın biyolojisine göre hasattan 15 gün öncesine kadar devam etmekte, bazen tek etkili madde bazen birden fazla etkili madde içeren ilaçlama programı uygulanmaktadır. Ancak, pestisitlerin kullanımı insan sağlığı ve çevreye olumsuz etkileri gibi birçok sorunu da beraberinde getirmektedir. Yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kullanılmaları sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir (Delen et al. 2015). Bu nedenle külleme hastalığıyla kimyasal mücadelede doğru ilaçlama zamanı ve aralıklarının belirlenmesi gerekmektedir. Proje sonucunda yapılan değerlendirmelerde aynı istatistiki



grupta yer alan Program B ve Program C hastalıkla mücadelede en etkili programlar olmuştur. Erken dönemde ilaçlamaya başlanılan ve 9 adet ilaçlama sayısına sahip Program C'nin kalıntı sorununa neden olacağı öngörüldüğü ve bu durumun önüne geçilebilmesi için Program B hastalıkla mücadele yöntemi olarak tavsiye edilmiştir.

Sonuçta, Bağ küllemesi hastalığı ile mücadelede en etkili olan ilaçlama programı belirlenmiştir. Çalışma, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü desteği ile yürütülen ülkesel projenin bir bölümünü oluşturmaktadır. 2016 yılında TAGEM tarafından gerçekleştirilen Zirai Mücadele Teknik Talimatı ve Standart İlaç Deneme Metodu toplantısında Bağ küllemesi hastalığının ilaçlama zamanları aşağıda verildiği şekilde proje sonuçlarına göre değiştirilmiştir.

Bağ küllemesi hastalığı ile mücadelede:

1. İlaçlama: Sürgünlerin 25-30 cm uzunluğunda olduğu dönemde,
2. İlaçlama: Çiçeklenme öncesi, çiçek tomurcuklarının ayrıldığı dönemde,
3. İlaçlama: Çiçek taç yapraklarının tamamen döküldüğü ve korukların küçük saçma tanesi iriliğinde olduğu dönemde,
4. ve diğer ilaçlamalar: Üçüncü ilaçlamadan sonra kullanılacak ilaçların etki süreleri ve bölgelerin meteorolojik özellikleri dikkate alınarak ben düşme dönemine kadar yapılmalıdır.

Bağ küllemesi hastalığının kimyasal mücadelesinin revize edilmiş son halinin, bitki koruma ürünü satan ve üreten firmalar, kooperatifler, üreticiler ve sektör kullanıcıları ile paylaşılması ve yaygınlaştırılması amacıyla bu yayın hazırlanmıştır. Ayrıca, Bağ küllemesi hastalığına karşı yeni ruhsat alacak bitki koruma ürünlerinin ruhsatlandırılma aşamalarında revize edilen halinin dikkate alınması tavsiye edilmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından [TAGEM-BS-15/08-04/02-01(1) nolu proje] desteklenmiş, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün imkânlarıyla yürütülmüştür. Desteklerinden dolayı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne ve Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz. Bu araştırmanın bir kısmı,

Uluslararası Katılımlı 6. Bitki Koruma Kongresi'nde (5-8 Eylül 2016, Konya, Türkiye) poster olarak sunulmuştur.

## ÖZET

Çalışmada, Bağ küllemesi hastalığı ile kimyasal mücadelede uygun zamanın ve daha etkili olacak bir ilaçlama programının tespiti amaçlanmıştır. Deneme Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nün deneme bağında, Bağ küllemesi hastalığıyla bulaşık olduğu bilinen Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinde 2015 yılında yürütülmüştür. Program A (Zirai Mücadele Teknik Talimatı kimyasal mücadelesi), (Zirai Mücadele Teknik Talimatında birinci ve ikinci ilaçlamalar arasında bir ilaçlamanın daha eklendiği) Program B ile Program C (sürgünler 10 cm iken başlayan erken dönemdeki kimyasal mücadele) olmak üzere farklı ilaçlama zamanlarını içeren üç program denenmiştir. İlaçlama zamanlarının hastalıkla mücadeledeki etkileri değerlendirilerek en etkili olan ilaçlama programı belirlenmiştir. Bütün programlara göre yapılan ilaçlamalarda 100 g l-1 kresoxim-methyl + 200 g l-1 boscalid etkili madde içeren (Collis SC, BASF) fungisit, 30 ml-1 100 l su dozunda kullanılmıştır. Sonuçta, ilaçlamaların yaprakta Program A %53.88, Program B %69.17, Program C %73.79; salkımda Program A %65.22, Program B %87.50 ve Program C %92.61 Bağ küllemesi hastalığının mücadelesinde etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Manisa, asma, *Vitis vinifera*, bağ küllemesi, *Erysiphe necator*, kimyasal mücadele

## KAYNAKLAR

Albayrak S., Tuncer S., Karadoğan B., Bozbek Ö., Kalkan N.N., 2011. Erzinan ili bağlarında bağ küllemesi [*Erysiphe necator* Schw. (*Uncinula necator* Schw.) Burr.] hastalığının mücadelesinde tahmin-uyarı modellerinden yararlanma olanakları üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 51 (2), 101-117.

Anonim, 2015a. Zirai Mücadele Teknik Talimatları. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, No: 4, 261-274 s., Ankara, Türkiye.

Anonim, 2015b. Bitki Hastalıkları Standart İlaç Deneme Metotları (Meyve-Bağ Hastalıkları). <http://www.tarim.gov.tr> (Erişim tarihi: 19.11.2015).

Anonim, 2018. Tarım ürünleri piyasaları, üzüm. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü. <https://arastirma>.

tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler (Erişim tarihi: 06.11.2018).

Delen N., Tiryaki O., Türkseven S., Temur C., 2015. Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve dayanıklılık sorunları, çözüm önerileri. TMMOB-Ziraat Mühendisleri Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi, Bildiriler Kitabı 2, 12-16 Ocak 2015, Ankara, 758-778 s.

Ellis M.A., Funt R.C., Celeste W., Doohan D., Bordelon B., Williams R.N., Brown M., 2009. Midwest small fruit pest management handbook. Bulletin 861, Chapter 5. Ohio State University. 234 p.

Gadoury D.M., Ficke A., Seem R.C., Wilcox W.F., Dry I.B., 2000. Ontogenic resistance to powdery mildew (*Uncinula necator*) in grape berries. Proceedings of the 5th International Symposium for Cool Climate Viticulture and Oenology, 05-08 June 2000, Melbourne, Australia, 10-15 p.

Gadoury D.M., Seem R.C., Wilcox W.F., 2006. Modeling and mapping the relationship between climate and ontogenic resistance to the major fungal diseases of grapevine. In: Proceedings of the 5th International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew. Pertot I., Gessler C., Gadoury D.M., Gubler D., Kassemeyer H.H., Magarey P. (Eds.). 18-23 June 2006, San Michele all’Adige, Italy, 157-159 p.

Gubler W.D., Rademacher M.R., Vasquez S.J., 1999. Control of powdery mildew using the UC Davis powdery mildew risk index. The American Phytopathological Society, APSnet Features. <https://www.apsnet.org/edcenter/apsnetfeatures/Pages/UCDavisRisk.aspx>. (Erişim tarihi: 16.06.2015).

Hartman J., Beale J., 2008. Powdery mildew of grape. Plant Pathology Fact Sheet. UK Cooperative Extension Service, University of Kentucky-College of Agriculture, 219-302 p., July 2008, North Lexington, Kentucky. <http://plantpathology.ca.uky.edu/files/ppfs-fr-s-12.pdf> (Erişim tarihi: 25.08.2014).

Moyer M., 2012. Grapevine powdery mildew. Washington State University. [www.wine.wsu.edu/research-extension/](http://www.wine.wsu.edu/research-extension/) (Erişim tarihi: 25.07.2014).

Moyer M., Grover G., 2012. Powdery mildew in Western Washington commercial grape production: biology and disease management. Washington State University Extension, No: 59, Washington, 695-699 p.

Pearson R.C., 1988. Powdery mildew. In: Compendium of Grape Diseases (Ed. RC Pearson, AC Goheen) American Phytopathological Society Press, 12 St. Paul, Minnesota pp.

9-1, 121 p.

Reuveni M., 2010. Activity of trifloxystrobin against powdery and downy mildew diseases of grapevines. Canadian Journal of Plant Pathology, 23 (1), 341-346.

Turan K., Tokgönül S., 1994. Bağ küllemesine (*U. necator*) karşı uygun mücadele metodunun tespiti üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 34 (3-4), 165-170.

TÜİK 2018. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim tarihi: 06.11.2015).

Cite this article: Savas, N, Albaz, E, Önder, S. (2020). Assessment of different spraying programs to chemical control of powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) in vineyard in Manisa province. Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.641439

Atf için: Savas, N, Albaz, E, Önder, S. (2020). Manisa ilinde Bağda külleme hastalığının (*Erysiphe necator* Schw.) kimyasal mücadelesinde farklı ilaçlama programlarının değerlendirilmesi. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.641439

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Phylogenetic discrimination and pathogenicity of fungi causing Botryosphaeria dieback disease on grapevine in Southern Turkey

Türkiye'nin güneyinde asmada Botryosphaeria geriye ölüm hastalığına neden olan fungusların filogenetik ayrımı ve patojenisiteleri

Davut Soner AKGÜL<sup>a\*</sup>, Mümine ÖZARSLANDAN<sup>b</sup>, Ali ERKILIÇ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Cukurova University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 01330, Balcali, Adana, Turkey

<sup>b</sup>Biological Control Research Institute, Ministry of Agriculture and Forestry, 01321, Yuregir, Adana, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.646134](https://doi.org/10.16955/bitkorb.646134)

Received : 13.11.2019

Accepted : 18.01.2020

Keywords:

Adana, Mersin, Kahramanmaraş,  
Botryosphaeriaceae, Trunk Disease, vineyard

\* Corresponding author: Davut Soner  
AKGÜL

✉ [sakgul@cu.edu.tr](mailto:sakgul@cu.edu.tr)

### ABSTRACT

Grapevine trunk diseases associated with Botryosphaeriaceae fungi are common and important diseases for vineyards in Turkey. Up to date, 24 species of this family have been reported to cause Botryosphaeria dieback disease all over the World. This study aimed to discriminate Botryosphaeriaceae isolates (obtained from symptomatic vines in Adana, Mersin, Kahramanmaraş) phylogenetically and to determine their pathogenicity. 22 Botryosphaeriaceae cultures were isolated by standard mycological isolation procedures obtained from representative 18 vineyards. In molecular identification of the isolates, ITS (Internal Transcribed Spacer) and TEF (Translation Elongation Factor 1- $\alpha$ ) gene regions were amplified by PCR and nucleotide sequences were obtained from these regions. The gene sequences were compared with the sequences available in the NCBI GenBank database using the BLASTn program. The isolates were pre-identified according to likelihood rates. The combined phylogenetic tree was generated after ITS and TEF sequences were aligned using MEGA7 software. Following BLASTn and phylogenetic analysis, 7 different Botryosphaeriaceae fungi (*Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae*, *L. pseudoteobromae*, *Neofusicoccum parvum*, *N. vitifusiforme*, *Neoscytalidium novaehollandiae*) were identified. Pathogenicity tests were performed on one-year-old grapevine plants under greenhouse conditions (for two months). According to lesion occurrence, by measuring lesion lengths, the pathogenicity of these isolates was confirmed. Variance analysis was performed for statistical separation of the isolates' virulence. For the two-month incubation period, the most virulent species *N. parvum* produced 38.0-45.3 mm lesions, whereas *D. seriata* with the lowest virulence caused 17.6-20.0 mm lesions on vine seedlings.

## GİRİŞ

Asmalarda Botryosphaeria geriye ölüm hastalığı tüm dünya ve Türkiye'deki bağ alanlarında oldukça yaygın görülen

bir hastalıktır. Dothideales takımı Botryosphaeriaceae familyasına bağlı birçok fungus türü çok sayıda kültür bitkisi, orman ağaçları ve çalılarda lokal kuruma ve ölümlere neden olmaktadır (Phillips et al. 2013, Smith et al. 1996). Dünyada bağcılık yapılan alanlarda şimdiki kadar 24 farklı türün bu hastalığa neden olduğu bildirilmiş ve bu sınıftaki fungal patojenlerin ciddi düzeyde ekonomik kayıplara yol açtığı hesaplanmıştır. Siebert (2001)'in bildirdiğine göre, sadece Kuzey Amerikadaki bağ alanlarında Botryosphaeriaceae ve *Eutypa* türlerinin yol açtığı kayıplar yıllık yaklaşık 260 milyon dolar civarındadır. Bu familya içerisinde bulunan *Botryosphaeria*, *Diplodia*, *Dothiorella*, *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Neoscytalidium*, *Spencermartinsia* ve *Sphaeropsis* gibi önemli cinslerden bazı türlerin eşeyli-eşeysiz üreme formları keşfedilmiş olsa da, birçoğunun eşeyli üreme dönemleri henüz aydınlatılamamıştır (Urbez-Torres et al. 2015). Morfolojik tanıda koloni rengi, havai miselyumun örüntüsü, pikniospor rengi, şekli ve bölmeleri, piknidyum içerisindeki parafizlerin bölmeli ya da bölmesiz oluşu, dikkate alınan önemli kriterlerdir. Ancak bu cinsler içerisindeki birçok türün, yapay besi yeri üzerinde sporlanması veya piknidyum oluşturması oldukça zor ve zaman alıcı olup, klasik tanı çalışmalarını güçleştirmektedir. Morfolojik özelliklerin ortaya çıkması için özel koşullarda (UV ışığına yakın aydınlatma ve değişken sıcaklık uygulaması) yapılan 5-6 haftalık inkübasyon veya doğal substratlara inokulasyon gereklidir. Bunun yanında klasik yöntemlerle, morfolojik olarak birbirine benzeyen türlerin doğru bir şekilde tanısı, özellikle kriptik türlerin (ör: *Lasiodiplodia theobromae*) altında yer alan türlerin tanısı oldukça karmaşıktır (Slippers et al. 2013). Son yıllarda bu fungusların moleküler yöntemlerle tanılanmasında önemli mesafe kat edilmiştir. Bu yöntemlerle, genomik DNA üzerindeki farklı gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmakta, elde edilen nükleotid dizimleri ile filogenetik analizler yapılmakta ve karmaşık türlerin tanısı mümkün hale gelmektedir. Gramaje et al. (2019) asmadaki Botryosphaeriaceae türlerinin ayırımında ITS, TUB2 (Tubulin 2), TEF1, ACT1 (Actin 1), RPB2 (RNA Polimeraz II) ve CAL (Calmodulin) genlerinin kullanılabileceğini belirtmeler de TEF1 gen diziliminin ayrı bir önemi olduğunu vurgulamışlardır. Yine birçok çalışmada ITS, TUB2 ve TEF1 gen dizilerinin birleştirilmesiyle bir bölgedeki türlerin ayırımı rahatlıkla yapılabilmektedir (Carlucci et al. 2015, Mohammadi et al. 2013). Botryosphaeriaceae familyası üyelerinin doğru bir şekilde tanılanması, bu türlerin yol açtığı hastalıklarla mücadelede önem kazanmaktadır. Çünkü fungus türlerinin bazı fiziksel mücadele metotları (ör: sıcak su uygulamaları) veya bazı fungusitlere karşı duyarlılıkları birbirinden farklıdır. Örneğin fluazinam *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae* ve

*Neofusicoccum parvum*'a *in vitro* koşullarda oldukça etkili iken, pyrimethanil ve boscalid etkisiz bulunmuştur (Pitt et al. 2012). Yine *in vitro* koşullarda yürütülen bir çalışmada *D. seriata*'nın sıcak su uygulamalarına en duyarlı tür olduğu saptanırken, *B. dothidea* ise en dayanıklı tür olduğu belirlenmiştir. *D. seriata*'nın termal ölüm noktası 49 °C'de-30 dk olurken, *B. dothidea* ancak 54 °C-45 dk.da canlılığını yitirmiştir (Akgül et al. 2016).

Ülkemizdeki bağ alanlarında yürütülen bazı çalışmalarda farklı türlerin varlığı bildirilmiştir. Özben (2011) Ankara ili bağ alanlarında *Botryosphaeria obtusa* ve *Botryosphaeria rhodina* türlerinin varlığına işaret etmiş ancak bu türlerin varlığı moleküler ve filogenetik açıdan doğrulanmamıştır. Akgül et al. (2015) Ege Bölgesi Sultani Çekirdeksiz bağlarında *B. dothidea*, *D. seriata*, *L. theobromae* ve *N. parvum* türlerinin varlığını saptamış ve Manisa'nın bazı ilçelerinde hastalık çıkışının %15'lere ulaştığını bildirmişlerdir. Buna benzer başka bir çalışmada Manisa ve Gaziantep illerinden alınan farklı asma örneklerinde *Lasiodiplodia exigua* ve *Neoscytalidium novaehollandiae* türlerinin varlığı ilk kez rapor edilmiş ve bu patojenlerin oldukça virulent oldukları saptanmıştır. Söz konusu patojenlerin tanısı ancak filogenetik analizlerle mümkün olabilmektedir (Akgül et al. 2019). Malatya'nın Arapgir ilçesinde yapılan benzer bir çalışmada *Neoscytalidium dimidiatum* türünün varlığı ilk kez saptanmış, bu türün *N. novaehollandiae*'den ayırımı için ITS, TUB2, LSU ve EF1- $\alpha$  gen bölgelerine ait nükleotid dizilerini kullanarak filogenetik analiz yönteminden yararlanılmıştır (Oksal et al. 2019). Tarsus Bölgesi, Ege ve Güneydoğu Anadolu'dan sonra ülkemizdeki en büyük üçüncü bağ bölgesidir (Cebeci and Akın 2014). Bu bölgede bazı Botryosphaeriaceae türlerini saptamak için bazı ön çalışmalar yürütülse de detaylı bir araştırma henüz yayınlanmamış, filogenetik analizlerin bulunduğu ayrıntılı bir çalışmaya gerek duyulmuştur. Bu nedenle bu çalışmada Türkiye'nin güneyindeki bazı illerden elde edilen Botryosphaeriaceae izolatlarının moleküler ve filogenetik açıdan değerlendirilmesi ve tür çeşitliliğinin ortaya koyulması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Laboratuvar çalışmaları ve patojenlerin izolasyonu

Adana, Mersin ve Kahramanmaraş ili bağ alanlarından, 2015-2018 yılları arasında, lokal kuruma ve geriye ölüm şikayetleriyle laboratuvarımıza örnekler kabul edilmiş ve üreticiler tarafından bu belirtilere neden olan etmenlerin bulunması istenmiştir. İki yıllık dallar veya omca gövdelerinde yapılan ön incelemelerde, odun dokuda

kama benzeri ya da daha geniş alana yayılmış kahverengi nekrozlar görülmüştür. Doku örneklerinin kabulüyle birlikte yetiştirilen asmanın çeşidi ve bağın bulunduğu bölgeyle ilgili bilgiler not edilmiştir (Çizelge 1). Odunsu dokular çesme suyu ile yıkanarak kurutulmuş, üzerine %96'lık etil-alkol püskürtülmüş ve dış kısım kısa süre alevlenerek sterilize edilmiştir. Steril budama makası ile nekrotik alanlardan 4-5 mm'lik odunsu dokular kesildikten sonra bunlar antibiyotikli (streptomycin-sülfat, 150 mg.l<sup>-1</sup>) PDA besi yerine ekilmiş ve karanlıkta, 24 °C sıcaklıkta 4-5 gün inkübe edilmiştir. Dokular etrafında gelişen kolonilerin hif ucundan küçük

parçalar alınıp saflaştırılmış ve steril %30'luk gliserol içerisinde +4 °C sıcaklıkta saklanmışlardır.

#### Moleküler tanı çalışmaları ve filogenetik analizler

Saf olarak elde edilen ve koloni görüntüsü Botryosphaeriaceae türleri ile aynı izolatların miselyumlarından DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Agar yüzeyinden steril bisturi ile alınan hifler plastik ezme poşetlerine koyularak el homojenizatörü (Bioreba®) ile ezilmiş ve %2'lik CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide: Sigma) Buffer (10 ml, 1 M

**Çizelge 1.** Lokal kuruma ve geriye ölüm belirtisi gösteren asma örneklerinin bulunduğu yerler ve asma çeşitleri

Örnek No	İzolat Kodu	İl	İlçe-Köy	Asma Anaç ve Çeşidi
1	TrTSC1	Mersin	Tarsus-Taşçılı	1103P-Yalova İncisi
2	CyHMD1	Adana	Ceyhan-Hamidiye	5BB-Italia
3	CyDKT1	Adana	Ceyhan-Dokuztekn	1103P-Early Cardinal
4	Gant1	G.Antep	Gaziantep-Merkez	1613C-Horoz Karası
5	KmPZR1	K.Maraş	Pazarcık-Merkez	Kabarcık (Aşısız)
6	TrCIN1	Mersin	Tarsus-Cinköy	1103P-Victoria
7	TrCIN2	Mersin	Tarsus-Cinköy	Tarsus Beyazı (Aşısız)
8	MrYNP1	Mersin	Mersin-Yanpar	1103P-Prima
9	TrKLL1	Mersin	Tarsus-Yanpar	5BB-Early Sweet
10	TrKLL2	Mersin	Tarsus-Killik	5BB-Victoria
11	MrESN1	Mersin	Mersin-Esenli	1103P-Red Globe
12	Isl1	G.Antep	Islahiye-Merkez	5BB-Hatun Parmağı
13	Isl2	G.Antep	Islahiye-Şerikanlı	Horoz Karası (Aşısız)
14	CUZFT58	Mersin	Tarsus-Sariveli	SO4-Prima
15	TrSUC1	Mersin	Tarsus-Sucular	110R-Early Cardinal
16	TrULS1	Mersin	Tarsus-Ulaş	Tarsus Beyazı (Aşısız)
17	TrTKB1	Mersin	Tarsus-Takbaş	1103P-Black Magic
18	TrSRI1	Mersin	Tarsus-Sariibrahimli	5BB-Cardinal
19	TrSRI2	Mersin	Tarsus-Sariibrahimli	5BB-Victoria
20	TrIBR1	Mersin	Tarsus-İbrişim	1613C-Victoria
21	TrCKR1	Mersin	Tarsus-Çakırlı	1103P-Yalova İncisi
22	CUZFNovo1	G.Antep	G.Antep -Merkez	140Rug-Hatun Parmağı

**Çizelge 2.** Çoğaltılan gen bölgeleri, primer çiftleri ve PCR koşulları

Gen Bölgesi	Primer Çiftleri	PCR Koşulları
ITS (White et al. 1990)	ITS 4	İlk denatürasyon 95 °C: 3 dk., 35 döngü (95 °C: 1 dk., 52 °C: 1 dk., 72 °C: 1 dk.) ve son döngü (72 °C: 7 dk.)
	TCCTCCGCTTA	
	TTGATATGC	
	ITS 5	
rRNA 18S, 5.8S ve 28S (de Hoog and Gerrits van den Ende 1998)	GGAAGTAAAAGT	İlk denatürasyon 95 °C: 3 dk., 35 döngü (95 °C: 1 dk., 53 °C: 1 dk., 72 °C: 1 dk.) ve son döngü (72 °C: 7 dk.)
	CGTAACAAGG	
	ITS 4	
	TCCTCCGCTTA	
TEF1- $\alpha$ (Carbone and Cohn 1999)	TTGATATGC	İlk denatürasyon 95 °C: 3 dk., 35 döngü (95 °C: 1 dk., 54 °C: 1 dk., 72 °C: 1 dk.) ve son döngü (72 °C: 7 dk.)
	V9G	
	TTACGTCCCTGCC	
	CTTTGTA	
TEF1- $\alpha$ (Alves et al. 2008)	EF1-728F	İlk denatürasyon 95 °C: 3 dk., 35 döngü (95 °C: 1 dk., 58 °C: 1 dk., 72 °C: 1 dk.) ve son döngü (72 °C: 7 dk.)
	CATCGAGAAG	
	TTCGAGAAGG	
	EF1-986R	
TEF1- $\alpha$ (Alves et al. 2008)	TACTTGAAGAA	İlk denatürasyon 95 °C: 3 dk., 35 döngü (95 °C: 1 dk., 58 °C: 1 dk., 72 °C: 1 dk.) ve son döngü (72 °C: 7 dk.)
	CCCTTACC	
	EF1-688F	
	CGGTCACTTGA	
TEF1- $\alpha$ (Alves et al. 2008)	TCTACAAGTGC	İlk denatürasyon 95 °C: 3 dk., 35 döngü (95 °C: 1 dk., 58 °C: 1 dk., 72 °C: 1 dk.) ve son döngü (72 °C: 7 dk.)
	EF1-1251R	
	CCTCGAACTCAC	
	CAGTACCG	

Tris-HCl; 28 ml, 5 M NaCl; 4 ml, 0.5 M EDTA) kullanılarak Nejat et al. (2009)' ın önerdiği yönteme göre DNA elde edilmiştir. Genomik DNA üzerindeki ITS (Internal Transcribed Spacer) ve TEF1- $\alpha$  (Translation Elongation Factor 1-alpha) gen bölgeleri Çizelge 2'de gösterilen universal primer çiftleri ve PCR koşullarına göre çoğaltılmışlardır. Ancak *N. novaehollandiae*'nin genomik DNA'sı ITS4-5 ve ITS4-V9G ile *Lasiodiplodia pseudotheobromae*'nin ise ITS4-5 ve EF688F-EF1251R primer çiftleriyle çoğaltılmışlardır (Çizelge 2). PCR ürünleri %1.5'lik agaroz jelde 2.5 saat yürütülmüş (55V DC, 250 mA) ve elde edilen bant kalitesine göre nükleotid dizilemesine gönderilmiştir (MedSanTek, İstanbul). Dizileme sonucu elde edilen elektronik dosyalar Chromas Lite (Technelsiyum®) programı ile ekstrakte edilmiş ve nükleotid dizileri NCBI (National Center for Biotechnology Information) Gen Bankasındaki dizilerle, BLASTn® (Basic Local Alignment Search Tool) programı aracılığıyla karşılaştırılarak türlerin tanısı en az %99'luk benzerlik oranıyla doğrulanmıştır. Birbiri ile yakın

düzeyde benzerlik gösteren türlerin tanısında, iki farklı gen bölgesinden elde edilen nükleotid dizilimleri birleştirilerek kombine soy ağacı çizilmiştir. Bu işlemde izolatların ITS nükleotidleri bir metin dosyasında, EF1- $\alpha$  nükleotid dizileri ise ayrı bir metin dosyasında FASTA formatında art arda sıralanmıştır. BLASTn ile hangi tür olduğu tahmin edilen ve ona en yakın türün referans nükleotid dizileri, gen bankası kütüphanesinden kopyalanmış ve metin dosyasının sonuna eklemiştir. Son olarak bu familyadan filogenetik olarak uzak başka bir türün de nükleotid dizilimleri (root) karşılaştırma amacıyla alınmıştır. MEGA 7 yazılımına (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, 7.0.26 version) fungal izolatların ITS ve elongation factor nükleotid dizileri eklenerek "Muscle" aracılığıyla hizalanmıştır. Daha sonra ITS dizilerinin sonuna, elongation factor nükleotid dizileri eklenip her iki gene ait nükleotid dizileri yeniden hizalanmıştır. Bu dosya kaydedildikten sonra en iyi analiz modeli bulunmuş (find the best model sekmesi) ve ardından maksimum benzerlik analizine göre (maximum likelihood,



bootstrap 1000) filogenetik ağaç çizilmiştir (Kumar et al. 2016). Botryosphaeriaceae izolatlarının referans izolatlar ile olan pozisyonları dikkate alınarak türlerin tanısı doğrulanmıştır.

#### Patojenisite testleri

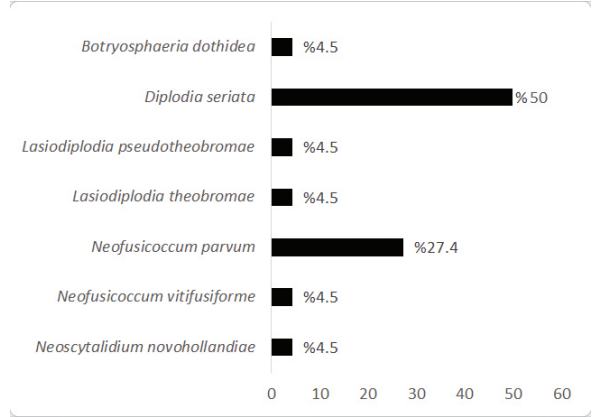
Moleküler tanısı yapılan tüm Botryosphaeriaceae izolatlarına patojenisite testi yapılmıştır. Bu testlerde Cardinal çeşidinin (*Vitis vinifera* cv. Cardinal) 1 yıllık dormant kalemleri kullanılmıştır. İzolatlar 7-10 gün süre ile 24 °C sıcaklıkta PDA besi yerinde büyütülmüştür. Üzerinde 3-4 göz bulunan asma kalemlerinin boğum aralarına, elektrikli matkap ile 2 mm çapında, 3 mm derinliğinde delikler açılmış ve buraya steril iğne ile miselyum parçacıkları yerleştirilmiştir (Baumgartner et al. 2013). Kontrol olarak bırakılan kalemlere sadece steril agar parçacıkları koyulmuştur. Deliklerin etrafı parafilm ile sarıldıktan sonra, asma kalemleri torf ve perlit içeren (1:1 oranında) poşetlere dikilmiş ve sulanmıştır. Kalemler 28 °C sıcaklık ve %90 nispi nem bulunan odalarda, 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık koşullarda köklendirilmiş ve burada 2 ay büyütülmüşlerdir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş, 1 izolat için 8 asma kalemi kullanılmıştır (4 tekrür ve her tekrürde 2 kalem). İnkübasyon sonunda bitkiler buldukları poşetlerden sökülerek kök ve sürgünleri uzaklaştırılmış, inokulasyon noktası bıçakla ortadan kesilerek odun dokudaki lezyon uzunlukları cetvelle ölçülmüştür. Bu uzunluklara varyans analizi uygulanmış, ortalamalar arasındaki farklar LSD (Least Significant Difference) testine göre %5'lik hata ile değerlendirilmiştir (Gomez and Gomez 1984). Patojenisitenin doğrulanması için inokulasyon noktalarından yeniden izolasyon yapılmış, patojenin yeniden elde edilip edilemediği incelenmiştir.

## SONUÇLAR

#### İzolasyon ve filogenetik analiz sonuçları

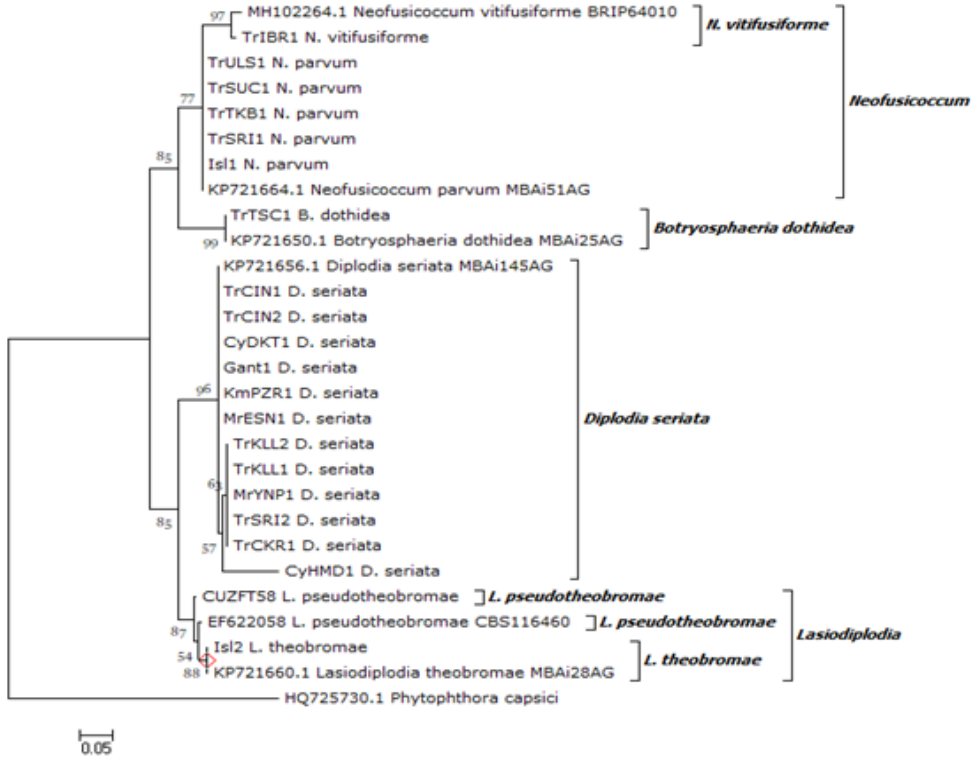
Üç farklı ildeki bağlardan alınmış örneklerden yapılan izolasyonlarda, 22 adet Botryosphaeriaceae izolatı elde edilmiştir. PCR ve DNA sekanslama ile elde edilen nükleotid dizilerinin, NCBI gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılması sonucu (BLASTn) 7 farklı tür bulunmuştur. Bunlar; *B. dothidea* (1 adet), *D. seriata* (11 adet), *L. pseudotheobromae* (1 adet), *L. theobromae* (1 adet), *N. parvum* (6 adet), *N. vitifusiforme* (1 adet) ve *N. novaehollandiae* (1 adet) türleri olup gen bankasında kayıtlı türlerle %99-100 benzerlik göstermişlerdir. İzolatların %50'sini *D. seriata*, %27.4'ünü *N. parvum* oluştururken, geriye kalan türlerin her biri %4.5'lik

orana sahip olmuşlardır (Şekil 1). Ünsel primerlerle (ITS ve TEF1- $\alpha$ ) yapılan PCR ile agaroz jelde 600-800 bp'lik bantlar elde edilmiştir. Ancak bunlar türleri birbirinden ayırıcı nitelikte olmamıştır.



Şekil 1. Farklı bağlardan izole edilen Botryosphaeriaceae izolatlarının yüzde dağılımı

Filogenetik analizde *N. novaehollandiae* türündeki elongation factor 1- $\alpha$  gen bölgesi, PCR reaksiyonlarında kullanılan üniversal primerler ile (EF1-728F/EF1-986R ve EF1-688F/EF1251R) çoğaltılamamış ve bu türün filogenetik ayrımı diğer türlerle birlikte yapılamamıştır. Çünkü kombine ağaç oluştururken tüm izolatların aynı gen bölgesi çoğaltılmış olmalı ve birlikte hizalanmalıdırlar. Geriye kalan 21 izolatın filogenetik analizinde 6 farklı grup oluşmuştur. Kökten başlayan ortak uzantı 2 büyük gruba ayrılmış olup (%85'lik bootstrap değeriyle) birinci grupta *Neofusicoccum* ve *Botryosphaeria* cinsine ait türler, ikinci grupta *Diplodia* ve *Lasiodiplodia* türleri yer almıştır. Birinci gruptaki *N. parvum* izolatları %77'lik bootstrap değeriyle *N. vitifusiforme*'den ayrılmış ve bu iki ayrı tür sırasıyla KP7216664 ve MH102264 gen bank kayıt numarasına sahip doğrulanmış (ve yayınlanmış) izolatlarla alt gruplar oluşturmuştur (Şekil 2). İkinci gruptaki *D. seriata* ve *Lasiodiplodia* türlerinin sırasıyla %96 ve %87'lik bootstrap değerleriyle farklı alt gruplara ait oldukları görülmüş ve bu izolatlar da referans izolatlarla aynı grupta yer almıştır. Ancak *L. theobromae* ile *L. pseudotheobromae* arasındaki bootstrap değeri %54 olarak bulunsa da referans izolatlar baz alınarak bunların farklı türler olduğu belirlenmiştir. *Neoscytalidium* türlerinin genetik bağları ise birbirine oldukça yakın bulunmuştur. ITS4-ITS5 primerleri ve ITS4-V9G primerlerinin çoğalttığı alanın nükleotid dizileriyle yapılan kombine soy ağacında, *N. dimidiatum* ve *N. hyalinum* türlerinin bootstrap değerleri %70'in altında kalmıştır. Ancak *N. novaehollandiae* türü %73'lük bootstrap değeriyle diğer iki türden farklı bir yerde gruplanmıştır. Özellikle CUZFnovoDSA1 izolatının, gen

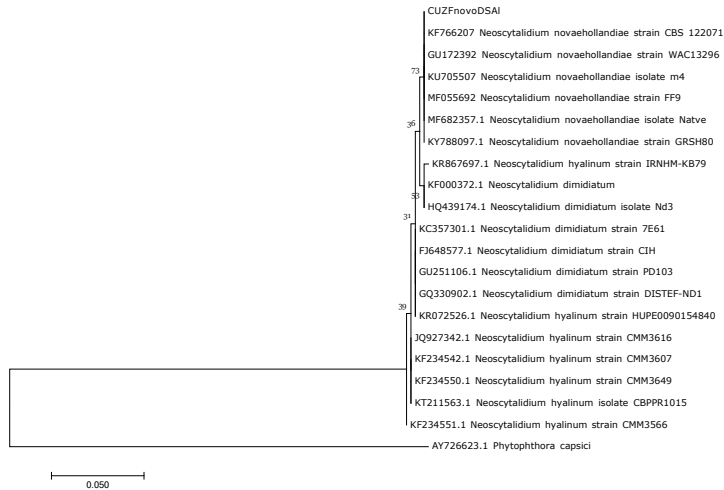


Şekil 2. ITS ve EF1- $\alpha$  gen bölgelerinin kombinasyonu ile elde edilen ve maksimum benzerlik modeline göre (Maximum Likelihood, Bootstrap tekrarı:500) bazı Botryosphaeriaceae türlerinin filogenetik ilişkileri

bankasındaki referans izolatla (KF766207 kodlu, CBS 122071 izolatı) oldukça yakın düzeyde benzerlik gösterdiği (%73) görülmüştür (Şekil 3). Bu analize göre CUZFNovoDSA1 izolatının *N. novaehollandiae* türü olduğu anlaşılmıştır.

#### Patojenisite testi sonuçları

Denemeye alınan 22 ayrı Botryosphaeriaceae izolatı asma kalemlerinin odun dokularında farklı uzunluklarda kahverengi çizgiler oluşturmuşlardır (Şekil 4). Sadece steril agar inokule edilen kontrolde, oksitlenmeyle ilişkili ortalama 4.5 mm'lik çizgiler meydana gelirken, patojenlerin inokule

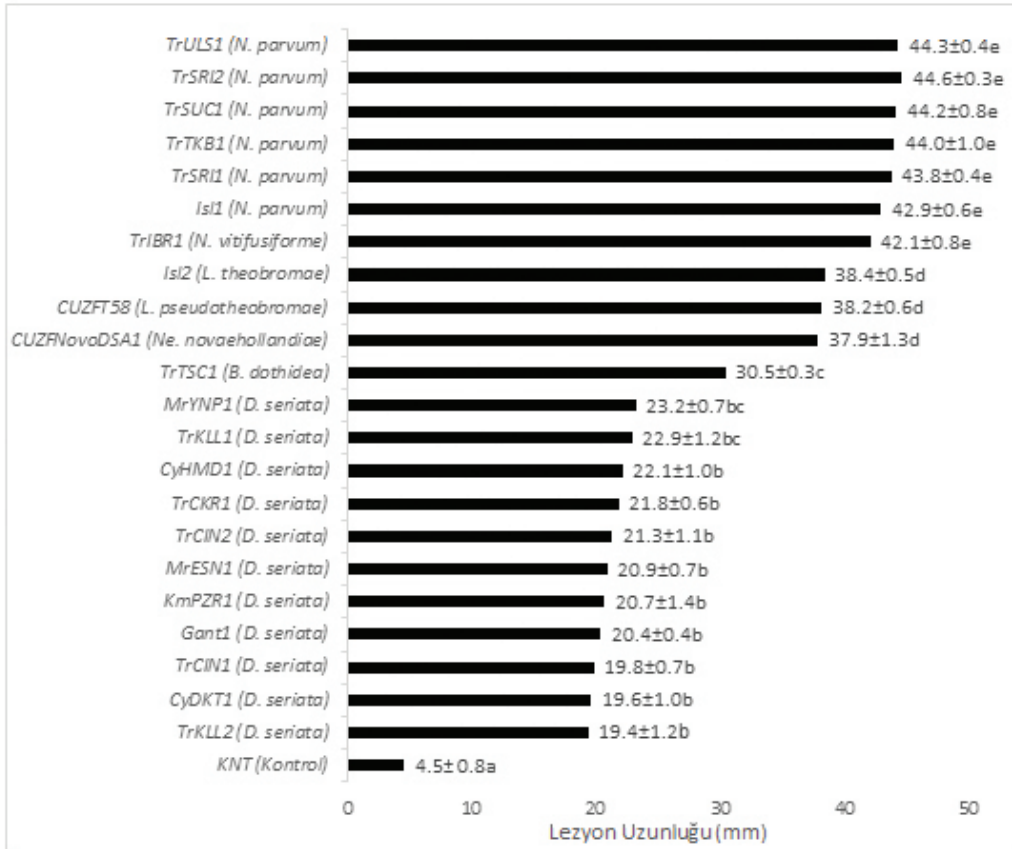


Şekil 3. ITS gen bölgelerinin kombinasyonu ile elde edilen ve maksimum benzerlik modeline göre (Maximum Likelihood, Bootstrap tekrarı:1000) bazı *Neoscytalidium* türlerinin filogenetik ilişkileri

edildiği asma bitkilerinde bu uzunluk 19.4 - 44.6 mm arasında değişim göstermiş ve bunların patojen oldukları ispatlanmıştır. Ancak türler ve bunların izolatlarının meydana getirdiği uzunluklar arasında önemli farklar görülmüştür. Sekiz haftalık inkübasyonla 42.1 - 44.6 mm arasında belirti oluşturan en virüent türlerin *Neofusicoccum* türleri (*N. parvum* ve *N. vitifusiforme*) olduğu bulunmuştur. Buna karşın *D. seriata* izolatlarının oluşturduğu kahverengi çizgilerin uzunluğu, *N. parvum* türlerinin oluşturduklarının yarısından daha kısa (19.4 - 23.2 mm) oldukları kaydedilmiştir. *D. seriata*'nın iki izolatu (MrYNP1 ve TrKLL1) diğer izolatlara göre küçük istatistiksel farkla daha virüent bulunmuştur. *L. theobromae* ve *N. novahollandiae* türlerinin lezyonları istatistiksel olarak aynı grupta yer



Şekil 4. Patojenisite testinde inokulasyon noktasındaki dokularda oluşan lezyonlar



Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F	P%5	P%1
Genel	91	6712,257				
Karakter	22	6691,209	304,1458	997,0573	1,63	1,96
Hata	69	21,048	0,305043			

SX=0.246, t(n)=1.972,  $\sqrt{2}=1.414$  ve LSD=0.688

SD: Serbestlik Derecesi, KT: Kareler Toplamı, KO: Kareler Ortalaması

Şekil 5. Botryosphaeriaceae türlerinin Cardinal çeşidi asma kalemlerinde, 2 ayda oluşturdukları lezyon uzunlukları (mm) ve varyans analiz tablosu

almış, *N. novohollandiae*'nın da en az *Lasiodiplodia* türleri kadar saldırgan olduğu görülmüştür (Şekil 5). Asmalara inokule edilen tüm izolatlarda %67.3 ile %79.5 arasında değişen oranlarda yeniden izole edilmişlerdir.

## TARTIŞMA VE KANI

Loculoascomycetes sınıfı içerisinde yer alan Botryosphaeriaceae familyası, bugünkü taksonomik bilgilere göre 17 cins ve 110 türün bulunduğu büyük bir familyadır (Phillips et al. 2013). Daha önceki çalışmalardan Denman et al. (2000)'in bildirdiğine göre, Botryosphaeriaceae türlerinin klasik taksonomisinde iki önemli ölçüt mevcut olup bunlar, şeffaf ince duvarlı veya koyu renkli kalın duvarlı pikniospor oluşturma ölçütleridir. Smith and Stanosz (2001), *Fusicoccum* anamorflarının şeffaf ve ince duvarlı, *Diplodia* ile yakın akraba türlerin ise koyu renkli-kalın duvarlı pikniospor oluşturdıklarını belirtmiştir. Çalışmadan elde ettiğimiz *Neofusicoccum* türleri ve *B. dothidea*, *Fusicoccum* anamorfları olup, *Lasiodiplodia* türleri ise *Diplodia* grubu ile ilişkili türler içerisinde bulunmaktadır. Bu olay filogenetik analizle de doğrulanmış, ilk aşamada iki farklı dala ayrılan türler halinde gruplaşmışlardır (Şekil 2). DNA dizileme teknolojisi ve filogenetik analizlerin gelişmesiyle birlikte farklı türler bulunsada da bu iki özellik mikroskopik tanıda oldukça önemlidir. Phillips et al. (2013), bu familyadaki birçok türü dahil ederek detaylı bir filogenetik analiz yapmışlar, 17 farklı cinsi gruplandırmışlardır. Bu çalışmaya göre şeffaf ve ince duvarlı pikniospor oluşturan *N. parvum*'un, koyu renkli ve kalın duvarlı spor oluşturan *Spencermartinsia* ve *Dothiorella* türlerine yakın bir daldaki gruplandığı görülmüş ve böylesine geniş bir takuma ait türlerin doğru bir şekilde tanısı için filogenetik analizlerin önemi vurgulanmıştır. Bu gibi örneklerde, sadece pikniospor morfolojisine göre kesin tanı yapılamayacağı ve bunun mutlaka filogenetik analizlerle desteklenmesi gerektiği açıktır.

Botryosphaeriaceae türleriyle çalışırken dikkat edilmesi gereken bir diğer husus, patojenisite testinin gerektiği şekilde uygulanmasıdır. Doğada gerçekleşen infeksiyonlarda, odun veya kabuk dokularında meydana gelen piknidyumlar ve bunlardan çevreye yayılan pikniosporların kabuk dokuyu infekte etmeleri mümkündür (Amponsah et al. 2012). Ancak bu tarzda yapılacak inokulasyonlarla patojenisitenin değerlendirilmesi uzun zaman alacaktır. Bu nedenle inokulumun iç dokulara kadar ulaştırılması, dokulardaki renk değişimleri için patojen türlerine yeterince zaman verilmesi ve belirtilerin tam olarak ortaya çıktıktan sonra patojenisite testinin sonlandırılması gerekir. Çünkü farklı türlerin (ve hatta bunlara ait izolatların) saldırganlıkları birbirinden

farklı olacaktır. Auger et al. (2004) Şili'de izole etmiş olduğu *D. seriata* izolatlarının patojenisitesini doğrulamak için yürüttüğü bir çalışmada, Red Globe çeşidi üzümüne yapılan inokulasyonu 20 hafta sonra değerlendirmişler ve doğadaki asmalar üzerinde yürütülecek çalışmalar için uzun bir bekleme süresi olduğunu ifade etmişlerdir. Buna karşın Urbez-Torres et al. (2008) ise Meksika'dan izole edilen *L. theobromae* ve *D. seriata* izolatlarının 1 yaşındaki Chardonnay ve Thompson Seedless asmalarına inokule edilmesiyle, 8 haftalık bekleme süresi sonunda (klima odası koşullarında) bitkilerin tamamen öldüğünü göstermişlerdir. Bu araştırma, çalışmamızda yürütülen patojenisite testi için beklenen sürenin yeterli olduğunu desteklemektedir. Ayrıca Urbez-Torres et al. (2008)'in bu çalışmasında, *L. theobromae*, *D. seriata*'ya göre daha virüent bulunmuş ve asma fidanlarının odun dokularında daha koyu renkte çizgilerin oluşmasına neden olmuştur. Avustralya'da yürütülen bazı araştırmalarda *Neofusicoccum australe*, *N. luteum* ve *L. theobromae*'nin, patojenisite testine alınan birçok Botryosphaeriaceae türlerinden daha virüent oldukları bildirilmiştir (Savocchia et al. 2007, Taylor et al. 2005). Türler ve hatta izolatlar arasında görülen virülenslik farklarının, üretilen toksin profiliyle ilişkili olduğunu öne sürülmektedir. Evidente et al. (2010) *N. parvum*'dan izole ettikleri çeşitli toksinleri [(3R,4R)-(-)-4-hydroxymellein, (3R,4S)-(-)-4-hydroxymellein, iso-sclerone ve tyrosol] domates bitkisi üzerinde test etmişlerdir. Bu toksinlerden özellikle (3R,4S)-(-)-4-hydroxymellein ve iso-sclerone en şiddetli solgunluk belirtisini meydana getirmiş ve bu toksinlerin asma ölümleriyle de bağlantılı oldukları bulunmuştur. Buna karşın Djoukeng et al. (2009), *D. seriata*'dan dört farklı fitotoksin (mellein, 4-hydroxymellein, 7-hydroxymellein ve 4,7-dihydroxymellein) elde etmiş ve bu toksinlerin *N. parvum*'dan elde edilen toksinlerden bir ölçüde farklı olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızda *D. seriata* ve diğer Botryosphaeriaceae izolatlarının, 1 yaşındaki asmalarda daha kısa lezyonlar meydana getirmesi bununla ilişkili olabilir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular *D. seriata* türünün Adana, Mersin ve çevresinde yaygın bir patojen olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu türün virülensliği diğerlerine göre zayıf olsa da, hastalığın ortaya çıkmasını engellemek veya geciktirmek için asmaların ideal bir biçimde beslenmesi, stresi azaltacak bakım ve kültürel işlemlerin takibi ve aşılı fidan üretiminde, aşı işleminden hemen önce yapılacak bazı uygulamalar, hastalık oluşumunu azaltacaktır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılmasına olanak sağlayan Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Başkanlığı'na teşekkür ederiz. Çalışmanın sonuçları daha

önce 1. Uluslararası Moleküler Bitki Koruma Kongresi'nde (10-13 Nisan 2019, Adana) özet olarak sunulmuştur.

## ÖZET

Türkiye'deki bağlarda Botryosphaeriaceae funguslarıyla ilişkili asma gövde hastalıkları oldukça yaygın ve önemli hastalıklardandır. Dünya genelinde şimdiye kadar bu familyadan 24 türün Botryosphaeria geriye ölüm hastalığına neden olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmanın amacı, 2015-2018 yılları arasında Adana, Mersin, Kahramanmaraş ve Gaziantep illerindeki simptomatik asmalarda Botryosphaeriaceae izolatlarını filogenetik olarak ayırt etmek ve izolatların patojenisitelerini belirlemektir. 18 bağa ait simptomatik asma örneklerinden standart mikolojik izolasyon prosedürleri ile 22 Botryosphaeriaceae kültürü izole edilmiştir. İzolatların moleküler tanısında ITS (Internal Transcribed Spacer) ve TEF (Translation Elongation Factor 1- $\alpha$ ) gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmış ve bu gen bölgelerindeki nükleotid dizileri elde edilmiştir. Gen dizileri BLASTn programı kullanılarak NCBI Gen Bankası'nda bulunan dizilerle karşılaştırılmış ve benzerlik oranlarına göre ön tanı yapılmıştır. MEGA 7 yazılımı kullanarak ITS ve TEF dizileri hizalanmış ve kombine bir filogenetik ağaç çizilmiştir. BLASTn ve filogenetik analizlerden sonra 7 farklı Botryosphaeriaceae türü (*Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Lasioidiplodia theobromae*, *L. pseudoteobromae*, *Neofusicoccum parvum*, *N. vitifusiforme*, *Neoscytalidium novaehollandiae*) tanılanmış ve bunların patojenisiteleri sera koşullarında, 2 ay süreyle, 1 yaşındaki asma fidanları (*Vitis vinifera* L. Cardinal) üzerinde yürütülmüştür. Lezyonların oluşumuna göre, lezyon uzunluklarını ölçerek, bu izolatların patojenisiteleri doğrulanmış ve virülenslik seviyelerinin istatistiksel ayrımı için varyans analizi uygulanmıştır. Asma fidanları üzerinde 2 aylık sürede, en virulent tür *N. parvum* 38.0-45.3 mm'lik lezyonlar oluştururken, virülensliği en düşük bulunan *D. seriata* ise 17.6-20.0 mm'lik lezyonlar meydana getirmiştir.

Anahtar kelimeler: Adana, Mersin, Kahramanmaraş, Botryosphaeriaceae, gövde hastalıkları, bağ

## KAYNAKLAR

Akgül D.S., Güngör-Savaş N., Teker T., Keykubat B., Mayorquin J.S., Eskalen A., 2015. Fungal trunk pathogens of sultana seedless vineyards in the Aegean Region of Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 54 (2), 380-393.

Akgül D.S., Awan Q.N., Güngör-Savaş N., 2016. Asmalarda bazı Botryosphaeriaceae funguslarının *in vitro* sıcak su

uygulamalarına duyarlılıkları. Türkiye 6. Bitki Koruma Kongresi, 5-8 Eylül 2016, Konya, 609 s. (özet).

Akgül D.S., Güngör Savaş N., Özarslandan M., 2019. First report of wood canker caused by *Lasioidiplodia exigua* and *Neoscytalidium novaehollandiae* on grapevine in Turkey. *Plant Disease*, 103, 1036.

Alves A., Crous P.W., Correia A., Phillips A.J.L., 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasioidiplodia theobromae*. *Fungal Diversity*, 28, 1-13.

Amponsah N.T., Jones E., Ridgway H.J., Jaspers M.J., 2012. Evaluation of fungicides for the management of Botryosphaeria dieback diseases of grapevines. *Pest Management Science*, 68 (5), 676-683.

Auger J., Esterio M., Ricke G., Perez I., 2004. Black dead arm and basal canker on *Vitis vinifera* cv. Red Globe caused by *Diplodia seriata* in Chile. *Plant Disease*, 88 (11), 1286.

Baumgartner K., Fujiyoshi P.T., Travadon R., Castlebury L.A., Wilcox W.F., Rolshausen P.E., 2013. Characterization of species of *Diaporthe* from wood cankers of grape in eastern North American vineyards. *Plant Disease*, 97 (7), 912-920.

Carbone I., Kohn L.M., 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 91 (3), 553-556.

Carlucci A., Cibelli F., Lops F., Raimondo M., 2015. Characterization of Botryosphaeriaceae species as causal agents of trunk disease on grapevines. *Plant Disease*, 99 (12), 1678-1688.

Cebeci E., Akın A., 2014. Mersin ili üzüm ihracatının Türkiye ekonomisi içindeki yeri ve öneminin değerlendirilmesi. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2 (2), 119-129.

de Hoog G.S., Gerrits van den Ende A.H.G., 1998. Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous Basidiomycetes. *Mycoses*, 41 (5-6), 183-189.

Denman S., Crous P.W., Taylor J.E., Kang J.Ch., Pascoe L., Wingfield M.J., 2000. An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria*, and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Studies in Mycology*, 45, 129-140.

Djoukeng J.D., Polli S., Larignon P., Abou-Mansour P., 2009. Identification of phytotoxins from *Diplodia seriata*, a pathogen of black dead arm disease of grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, 124 (2), 303-308.

Evidente A., Punzo B., Andolfi A., Cimmino A., Melch



- D., Luque J., 2010. Lipophilic phytotoxins produced by *Neofusicoccum parvum*, a grapevine canker agent. *Phytopathologia Mediterranea*, 49 (1), 74–79.
- Gomez K.A., Gomez A.A., 1984. Statistical procedures for agricultural research. An International Rice Research Institute Book, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, Canada, 680 p.
- Gramaje D., Cabral A., Mostert L., Lawrence D.P., Trouillas F.P., Urbez-Torres J.R., Alves A., 2019. The most informative loci for identifying grapevine trunk disease pathogens. 11. International workshop on grapevine trunk diseases Proceedings, 433-434 pp. 7<sup>th</sup>-12<sup>th</sup> July 2019, Pentincton, British Columbia, Canada.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K., 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33 (7), 1870-1874.
- Mohammadi H., Gramaje D., Banihashemi Z., Armengol J., 2013. Characterization of *Diplodia seriata* and *Neofusicoccum parvum* associated with grapevine decline in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15 (3), 603-616.
- Nejat N., Sijam K., Abdullah S.N.A., Vadamalai G., Dickinson M., 2009. Molecular characterization of a phytoplasma associated with coconut yellow decline (CYD) in Malaysia. *American Journal of Applied Sciences*, 6 (7), 1331-1340.
- Oksal E., Çelik Y., Özer G., 2019. *Neoscytalidium dimidiatum* causes canker and dieback on grapevine in Turkey. *Australasian Disease Notes*, 14, 33.
- Özben S., 2011. Ankara ili bağ alanlarında görülen fungal hastalıkların ve yaygınlık oranlarının belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 134 s. Ankara.
- Phillips A.J.L., Alves A., Abdollahzadeh J., Slippers B., Wingfield M.J., Groenewald J.Z., Crous P.W., 2013. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, 76 (1), 51-167.
- Pitt W.M., Sosnowski M.R., Rujan H., Steel C.C., Savocchia S., 2012. Evaluation of fungicides for the management of *Botryosphaeria* canker of grapevines. *Plant Disease*, 96 (9), 1303-1308.
- Savocchia S., Steel C.C., Stodart B.J., Somers A., 2007. Pathogenicity of *Botryosphaeria* species from declining grapevines in sub tropical regions of Eastern Australia. *Vitis*, 46 (1), 27–32.
- Siebert J.B., 2001. *Eutypa*: the economic toll on vineyards. *Wines and Vines* 4, 50–56.
- Slippers B., Boissin E., Phillips A.J.L., Groenewald J.Z., Lombard L., Wingfield M.J. Postma A., Burgess T., Crous P.W., 2013. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriales*: a systematic and evolutionary framework. *Studies in Mycology*, 76 (1), 31–49.
- Smith D.R., Stanosz G.R., 2001. Molecular and morphological differentiation of *Botryosphaeria dothidea* (anamorph *Fusicoccum aesculi*) from some other fungi with *Fusicoccum* anamorphs. *Mycologia*, 93 (3), 505–515.
- Smith H., Wingfield M.J., Crous P.W., Coutinho T.A., 1996. *Sphaeropsis sapinea* and *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Pinus* spp. and *Eucalyptus* spp. in South Africa. *South African Journal of Botany*, 62 (2), 86–88.
- Taylor A., Hardy G.E., Wood P., Burgess T., 2005. Identification and pathogenicity of *Botryosphaeria* species associated with grapevine decline in Western Australia. *Australasian Plant Pathology*, 34, 187–195.
- Urbez-Torres J.R., Leavitt G.M., Guerrero J.C., Guevara J., Gubler W.D., 2008. Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of bot canker disease of grapevines in Mexico. *Plant Disease*, 92 (4), 519–529.
- Urbez-Torres J.R., Phillips A.J.L., Gubler W.D., 2015. *Botryosphaeria* dieback. In: *Compendium of Grape Diseases*, Second Edition. Wilcox W.F., Gubler W.D., Uyemoto J.K., (Eds.). APS Press, St. Paul Minnesota, USA, 33-39 p.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Innis M.A., Gelfand D.H., Snisky J.J., White T.J., (Eds.). San Diego, USA, Academic Press, 315–322 p.

Cite this article: Akgül, D, Özarslandan, M, Erklıç, A. (2020). Phylogenetic discrimination and pathogenicity of fungi causing *Botryosphaeria* dieback disease on grapevine in Southern Turkey. *Plant Protection Bulletin*, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.646134

Atıf için: Akgül, D, Özarslandan, M, Erklıç, A. (2020). Türkiye'nin güneyinde asmada *Botryosphaeria* geriye ölüm hastalığına neden olan fungusların filogenetik ayrımı ve patojenisiteleri. *Bitki Koruma Bülteni*, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.646134



# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Determination of population development, parasitoid, and predators of tomato fruit borer [*Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)] in Diyarbakır tomato fields

Diyarbakır domates alanlarında zararlı Yeşilkurt [*Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)]'un popülasyon gelişimi, parazitoid ve predatörlerinin belirlenmesi

Özlem BEKTAŞ KARAPINAR<sup>a\*</sup>, Erdal SERTKAYA<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry, Department of Training and Publication, Bankacılar Sok. No:10 Yenimahalle, Ankara, Turkey

<sup>b</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Tayfur Sokmen Campus 31060 Antakya, Hatay, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.556940](https://doi.org/10.16955/bitkorb.556940)

Received : 22.04.2019

Accepted : 18.05.2020

Keywords:

tomato, *Helicoverpa armigera*, parasitoid, predator, Diyarbakır

\* Corresponding author: Özlem BEKTAŞ KARAPINAR

✉ [ozlem.bektas@tarimorman.gov.tr](mailto:ozlem.bektas@tarimorman.gov.tr)

### ABSTRACT

Tomato fruit borer (*Helicoverpa armigera* Hübner) is a polyphagous pest that negatively affects yield and quality in tomato cultivation, and its importance has increased between the harmful species with the increase in population density in recent years. In this study, population monitoring of tomato fruit borer was carried out in the Central, Çınar, Ergani, and Bismil districts of Diyarbakır province in 2013 and 2014. The plants were randomly selected to represent the field at each location, starting from the seedling period to harvest until the adult and immature stages of pests were followed weekly. The highest infestation rates of immature stages were determined at Central and Ergani districts in September and October as 80%, while the highest numbers of adults were caught in Bismil district in August as 237 individuals/trap. *Apanteles* sp., *Habrobracon* sp., *Campoletis* sp., and *Hyposoter* sp. were found as larvae parasitoids of *H. armigera*. The parasitization rate of larvae was determined as 2.04% in the first year, while it was found as 1.53% in the second year. Species such as *Deraeocoris pallens* (Reuter, 1904), *Macrolophus pygmaeus* (Rambur, 1839), *Geocoris pallidipennis* (A. Costa, 1843), *G. megacephalus* (Rossi, 1790), *Nabis pseudoferus* (Remane, 1949), *Orius niger* (Wolff, 1811), *O. albidipennis* (Reuter), *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836), *Adonia variegata* (Goeze, 1777), *Coccinella septempunctata* (Linnaeus, 1758) and *Scymnus levaillanti* (Mulsant, 1850) were determined as predators of the pest. According to the findings of this study, infestation and population density of *H. armigera* may be affected due to chemical applications and natural enemies as well as climatic conditions in Diyarbakır province.

### GİRİŞ

Domates açık ve örtü altı alanlarda olmak üzere yılın tamamında ekonomik olarak yetiştirilebilen, kısa vejetasyon

süresinde yüksek verimliliği ile her yıl artan üretim ve tüketim miktarıyla ticari öneme sahip bir bitkidir. Dünyada 2016 yılı

domates üretim verilerine göre; ülkemiz Çin, Hindistan ve ABD'den sonra 12 milyon 600 bin tonluk üretim miktarı ile dördüncü sırada yer almaktadır (Anonymous, 2018).

Tarımsal ürünlerin yetiştiriciliğinde, ekonomik kayıplara neden olan pek çok bitki koruma sorunu bulunmakla birlikte ülkemizde domates yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyebilecek 77 zararlı tür saptanmıştır (Uygun et al. 1998). Söz konusu zararlı türler içerisinde *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), zaman zaman popülasyon yoğunluğunda artışlar olması, polifag ve üreme gücünün yüksek oluşu nedeniyle önemli zararlı türler arasında yer almaktadır (Anonim 1980, Anonim 1993). Dünyanın pek çok yerinde zararlı olan yeşilkurt (*H. armigera*), ülkemizde ilk defa 1913 yılında Bergama'da tespit edilmiştir (Alkan 1948). Bununla birlikte zararlı Çukurova Bölgesi'nde 1954 yılında görülmüş ve zararlı popülasyonunun artış göstermesi sonucunda 1974 yılında "Pamuk Zararlıları ile Entegre Savaşım" projesi kapsamına dahil edilmiştir (Yabaş 1979).

Yeşilkurt'un larva döneminde zararlı olduğu, 1. ve 2. dönem larvalarının konukçu bitkinin yaprakları ile beslendiği, 3. dönemden itibaren ise generatif organlara geçtiği bildirilmiştir (Öngören et al. 1977, Tunç 1988). Erginler günün karanlık periyodunda faaliyet gösterirken, gündüzleri aktivite çok azdır ve kuytu yerlerde gizlenmektedir. Genel olarak günün karanlık periyodunda erginlerin uçtuğu ve yumurta bıraktığı bildirilmektedir (Yabaş 1979). Ülkemizde *H. armigera*, sebzelere domates, biber, patlıcan, bamyaya, baklagiller, süs bitkileri, pamuk, mısır ve tütün bitkilerinde vejetatif ve generatif aksamalarda beslenebilen polifag bir zararlıdır (Anonim 2008). Zararlı verildiği döl sayısı ülkemizde bölgelere göre değişebilmekle beraber, Adana'da yılda 5, Bursa'da 4, Manisa'da ise 4-5 döl verildiği bildirilmektedir (Kaya ve Kovancı 2000, Koçlu ve Karsavuran 2000, Yabaş 1979).

*H. armigera*'nın domatesteki zarar oranı ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda; Bursa'da gerekli önlemler alınmadığı takdirde %40'a varan oranda zarar verebildiği bildirilmiştir (Anonim 1980, Anonim 1993). Hatay ilinde önemli yazlık ve kışlık sebze üretim alanlarında yapılan çalışmada ise yazlık sebzelerde zararlı olan lepidopterler arasında en yaygın görülen türün %40'lık bulaşıklık oranı ile *H. armigera* olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte zararlının en fazla domates bitkisinde görüldüğü belirlenirken vuruk meyve oranının da %4.6 olduğu bildirilmiştir (Kaya 2008). Dünyada domates üretiminde ikinci sırada yer alan Hindistan'da domatesteki zararlı olan lepidopterler arasında en önemli türün *H. armigera* olduğu (Kumar and Ramkishore 2005) ve meyvede

oluşturduğu kaybın %14-50 arasında olduğu bildirilmektedir (Karabhantanal and Awaknavar 2012, Panday et al. 2006).

Yeşilkurt'un ülkemizde saptanan birçok doğal düşmanı bulunmaktadır. Ege Bölgesi'nde Yeşilkurt'un larva parazitoiti *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae), yumurta parazitoiti olarak *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tespit edilmiştir (Öngören et al. 1977). Dicle Vadisi pamuk alanlarında zararlının parazitoit, predatör ve patojeni olarak 25 tür belirlenmiştir. Zararlının predatörü olarak *Chrysoperla carnea* (Stephens), *Orius* spp., *Nabis* spp., *Deraeocoris* spp., *Geocoris* spp., *Piocoris erythrocephalus* (Le Peletier & Serville) ve *Campylomma diversicornis* (Reuter); parazitoidi olarak *Habrobracon hebetor* (Say), *Hyposoter didymator* (Thunberg), *Cotesia ruficrus* (Haliday), *Chelonus oculator* (Panzer), *Ichneumon sarcitorius* (Linnaeus) ve *Conomorium patulum* (Walker); patojeni olarak *Aspergillus parasiticus* (Speare), *A. niger* (van Tieghem), *Rhizopus* sp. ve *Bacillus thuringiensis*'in etkili olduğu bildirilmiştir (Göven ve Efil 1994). Çanak kale ilinde ise Yeşilkurt'un predatörü olarak *C. carnea*, *Nabis punctatus* (A. Costa), *Scymnus* spp., *Orius niger* ve *Coccinella septempunctata* (Linnaeus) bulunduğu bildirilmiştir (Becan et al. 2004).

Diyarbakır ilinde sulanabilir tarım alanlarının artması ile son yıllarda domates üretiminde de önemli artışlar görülmektedir. Gerek üreticilerden gelen şikayetler gerekse arazide yapılan ön çalışmalarda, domatesteki zararlı Yeşilkurt, *H. armigera* ile mücadelenin bilinçsizce yürütüldüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca Diyarbakır ilinde domates alanlarında Yeşilkurt ile ilgili şu ana kadar yapılan herhangi bir araştırma olmaması nedeniyle bu çalışma ele alınmıştır. Yürütülen bu çalışma ile Diyarbakır'da 2013 ve 2014 yıllarında, *H. armigera*'nın popülasyon gelişimi, parazitoit ve predatörleri tespit edilmiştir.

## MATERYAL VE METOT

Çalışmanın ana materyalini, Diyarbakır ilinin domates ekim alanları, domates bitkisi, Yeşilkurt larva ve erginleri ile bu zararlının predatör ve parazitoitleri olan doğal düşmanları oluşturmuştur. Çalışmada delta ve funnel tipi feromon tuzakları, eşeysel çekici feromon ve dichlorvos içeren kapsüller, atrap, emgi şişesi ve çeşitli laboratuvar malzemeleri kullanılmıştır. Yeşilkurt ergin popülasyonunu takip etmek için feromon tuzaklar 28.05.2013 tarihinde, ikinci yıl funnel tipi feromon tuzaklar 14.05.2014 tarihinde örnekleme yapılan alana asılmıştır.

Çalışma 2013 ve 2014 yıllarında Diyarbakır ilinde domates yetiştiriciliği yapılan Çınar, Bismil, Ergani ve Merkez ilçelerinde 4 farklı domates tarlasında haftalık kontrollerle takip edilmiştir. Kontroller domates fide dikiminden (nisan sonu - mayıs başı) başlayıp hasat sonuna (ekim ayı sonu) kadar devam etmiştir.

#### *Helicoverpa armigera'nın ergin ve ergin öncesi dönemlerinin popülasyon gelişiminin belirlenmesi*

Çalışmalar 2013 ve 2014 yıllarında Diyarbakır ilinin; Çınar ilçesi Yuvacık mahallesinde 3 dekar, Bismil ilçesi Köseli mahallesinde 2 dekar, Ergani ilçesi Hançerli mahallesinde 2 dekar ve Merkez ilçe Çakmak mahallesinde 3 dekar olmak üzere toplamda 10 dekarlık alanda yürütülmüştür.

Zararlının ergin öncesi dönemlerinin popülasyon gelişiminin belirlenebilmesi için 2013-2014 yıllarında gözle kontrol yöntemi uygulanmıştır. Örneklemeler domates fidelerinin tarlaya dikimleri ile başlamış ve hasada kadar devam etmiştir. Gözle kontrol yönteminde tarlayı temsil edecek şekilde en az 3 noktadan ve toplamda 10 bitkinin tüm aksamı dikkatlice incelenmiştir. Domates bitkisinin herhangi bir aksamında Yeşilkurt larvası, yeniği ya da artığının olması durumunda bitki bulaşık olarak kabul edilmiştir. Yüzde Bulaşıklık Oranı = (bulaşık bitki sayısı / 10) x 100 formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Kaya 2008). *H. armigera'nın* ergin öncesi larva döneminin popülasyon gelişimini belirlemek için örneklem alanında tesadüfen seçilen 10 domates bitkisinin çiçek, sap, yaprak, meyve ve sürgünlerindeki Yeşilkurt larvaları ve meyvedeki zararı haftalık periyotlarla sayılmış ve zarar görmüş bitkilerden toplanan larvalar laboratuvarında kültüre alınmıştır.

Zararlının ergin dönemindeki popülasyon gelişiminin belirlenebilmesi için 2013 ve 2014 yıllarında funnel tipi feromon tuzakları kullanılmıştır. Diyarbakır ilinde her tarlaya birer adet olmak üzere toplamda dört adet feromon tuzak domates fidesinin tarlaya dikilmesiyle birlikte asılmıştır. Tuzaklar 1.5-2 m yüksekliğindeki demir çubuklara bitki boyu dikkate alınarak asılmıştır. Tuzaklarda Russell IPM marka feromon ve dichlorvos emdirilmiş öldürücü kapsüller (DDVP) kullanılmıştır. Feromon kapsüller 4 haftada bir, DDVP kapsüller ise 4-6 haftada bir yenileri ile değiştirilmiştir. Tuzak sayımları haftada bir yapılmış ve tuzaklarda yakalanan *H. armigera* erginleri sayıldıktan sonra tuzaktan uzaklaştırılmıştır. Sayımlar haftada 1 kez olmak üzere hasat sonuna kadar devam etmiştir.

#### *Verilerin değerlendirilmesi*

Örneklemelerde domates tarlalarında tespit edilen Yeşilkurt

larva sayısı ile tuzaklarda yakalanan Yeşilkurt ergin sayısı SPSS 21.0 (SPSS, 2012) programına girilmiş ve değişkenler arasındaki ilişki Pearson Korelasyon Analizi ile belirlenmiştir (SPSS 2012).

#### *Helicoverpa armigera'nın parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi*

Parazitoit ve predatörleri belirlemek için yapılan çalışmalar, Yeşilkurt'un ergin öncesi dönemine ait yapılan çalışmalar ile eş zamanlı olarak, ilk yıl 28 Mayıs 2013, ikinci yıl 14 Mayıs 2014 tarihinde Çınar (Yuvacık mahallesi), Bismil (Köseli mahallesi), Merkez (Çakmak mahallesi) ve Ergani (Hançerli, Dereboyu mahalleleri) ilçelerinde başlatılmıştır.

Zararlının parazitoitlerini ve etkinliklerini belirlemek amacıyla çalışmanın yürütüldüğü her bir domates tarlasında 10 bitkinin tümü kontrol edilip parazitli olduğu düşünülen larvalar toplanarak, ayrı kültür kaplarına konulup iklim odasına (25±1 °C, %60-70 orantılı nem ve 16:8 aydınlatma) bırakılmıştır (Kaya ve Kovancı 2000). Kültüre alınan larvalardan parazitoit çıkışı günlük olarak takip edilmiştir. Parazitli Larva Oranı = (parazitli larva sayısı / toplam larva sayısı) x 100 formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca bulaşık olan bitki parçaları iklim odasındaki kafes içinde yetiştirilen domates bitkisine bulaştırılmış, kafes içinde de parazitoit çıkışı takip edilmiştir. Elde edilen parazitoitler teşhise hazır hale getirilerek konu uzmanı olan araştırmacılara gönderilmiştir. Örneklem yapılan alanlardan farklı tarihlerde 2013 yılında 147, 2014 yılında ise 65 larva kültüre alınmış ve bunlardan çıkan parazitoitler ve parazitlenme oranı (%) belirlenmiştir.

Predatörlerin belirlenmesi için her bir tarlanın en az 3 farklı yerinden standart atrap kullanılarak 25 atrap sallanmış ve toplanan türler polietilen torbalara konulmuştur. Zararlının değişik dönemlerindeki predatörlerini belirleyebilmek için türler emgi tüpü yardımıyla da toplanmıştır. Atrapla toplanan predatörler -10 °C sıcaklıkta buzdolabında 1 gün süresince ölmeleri için bekletilmiştir. Ölmeyenler ise etil asetatlı öldürme şişelerinde bekletilip, bitki kalıntıları ve diğer böceklerden ayıklanmıştır. Daha sonra binoküler altında incelemeleri yapılarak takım ve familyalarına göre düzenlemesi yapılmış ve teşhise hazır hale getirilmiştir.

## SONUÇLAR

#### *Helicoverpa armigera'nın ergin öncesi ve ergin dönemdeki 2013 yılı çalışmaları*

*H. armigera'nın* 2013 yılı sayım sonuçlarına göre bulaşık bitki

oranları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1 incelendiğinde, temmuz ayının başına kadar Yeşilkurt ile bulaşık bitki ve meyve tespit edilmemiştir. Örneklemeye yapılan alanlarda genel olarak temmuz ayının

ilk haftasından itibaren bitki bulaşıklığı başlamış, örnekleme yapılan yerlere göre değişimle birlikte yoğunluk 4 ya da 5 kez en yüksek noktaya ulaşmıştır. En az bulaşıklığın görüldüğü Çınar ilçesi, Yuvacık mahallesi incelendiğinde diğer aylara

Çizelge 1. Diyarbakır ili Çınar, Bismil, Merkez ve Ergani ilçeleri 2013 yılı Yeşilkurt (*Helicoverpa armigera*) ile bulaşık bitki oranları (%)

Tarih	Bulaşık bitki (%)			
	Çınar/Yuvacık	Bismil/Köseli	Merkez/Çakmak	Ergani/Hançerli
28.05.2013	0	0	0	0
06.06.2013	0	0	0	0
12.06.2013	0	0	0	0
21.06.2013	0	0	0	0
25.06.2013	0	0	0	0
04.07.2013	0	30	20	0
11.07.2013	50	40	20	20
18.07.2013	10	0	40	0
25.07.2013	0	20	20	0
31.07.2013	0	0	20	0
06.08.2013	0	10	30	0
15.08.2013	0	50	20	0
21.08.2013	30	0	30	10
26.08.2013	0	20	20	20
03.09.2013	0	0	20	40
10.09.2013	0	30	80	50
19.09.2013	40	50	40	30
26.09.2013	20	50	30	20
02.10.2013	0	20	60	20
09.10.2013	10	30	30	60
23.10.2013	0	10	40	80
01.11.2013	0	0	20	40

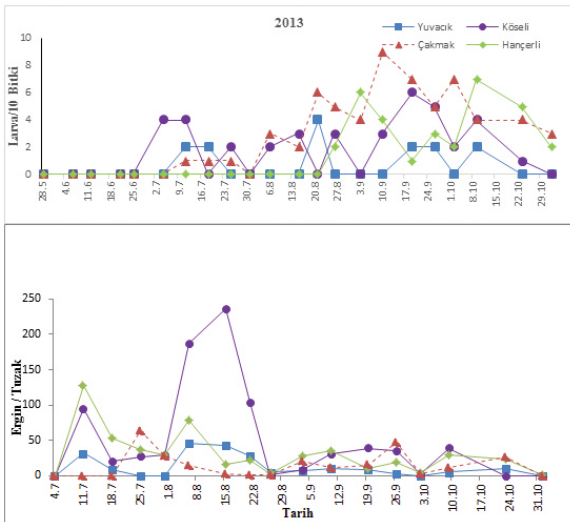
kıyasla temmuz ayında daha yoğun bir bulaşıklık olmuştur. Bismil ilçesi Köseli'de ise mayıs ve haziran hariç tüm aylarda bulaşıklık görülmüştür. Diyarbakır ili Merkez ilçesi verileri incelendiğinde 4 Temmuz'dan 1 Kasım'a kadar yoğun bir bulaşıklık olduğu görülmektedir. 10 Eylül tarihinde %80'e ulaşan bulaşıklık oranının kasım ayında %20'ye düştüğü belirlenmiştir. Ergani ilçesi Hançerli verileri incelendiğinde ağustos ayının ikinci yarısından 1 Kasım'a kadar yoğun bulaşıklık görülmekle birlikte, 23 Ekim tarihinde en yüksek değer olan %80'e ulaşmıştır. 1 Kasım 2013 tarihinden sonra ürün hasat edildiği için örnekleme son verilmiştir.

Diyarbakır'da 2013 yılında farklı domates örnekleme alanlarında 10 bitkide yapılan sayımlara göre bulunan yeşilkurt larva sayısı ve tuzaklarda yakalanan ergin sayıları Şekil 1'de verilmektedir. Tüm lokasyonlarda sıcaklığın 40 °C'nin üzerinde seyrettiği temmuz ve ağustos aylarında larva sayısının daha düşük, 40 °C'nin altında olduğu eylül ve ekim aylarında ise larva sayısının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Çalışmanın yürütüldüğü domates tarlaları incelendiğinde en yüksek larva popülasyonu Merkez ilçede, en düşük popülasyon ise Yuvacık mahallesinde çiftçinin kendi evinin bahçesindeki üretim alanının bulunduğu ve yakınlarında mısır veya pamuk ekilişinin olmadığı alanlarda

tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışma, üretici koşullarında yürütüldüğü için Köseli köyünde 2 Haziran tarihinde %5 emamectin benzoate SG (30 g/100 l su), 14 Haziran tarihinde ise 50 g/l lambda-cyhalothrin CS (50 ml/da) etkili maddeli insektisitlerin uygulandığı üreticilerce beyan edilmiştir. Bu durumda uygulanan her iki kimyasalın da etki süresi ve diğer domates tarlalarındaki sayım sonuçları dikkate alındığında, larva popülasyonunu etkilemediği gözlemlenmiştir.

*H. armigera*'nın 2013 yılı ergin popülasyon verileri incelendiğinde, ergin yoğunluğunun en fazla Köseli'de olduğu ve 15 Ağustos'taki sayımda 237 ergin/tuzak ile en yüksek noktaya ulaştığı görülmektedir (Şekil 1). Hançerli'de de 11 Temmuz'da Yeşilkurt popülasyonu 128 ergin/tuzak ile en yüksek noktaya ulaşmış ve kasım ayının başına kadar olan sayımlarda bu yoğunluk devam etmiştir. Yuvacık'ta ise 6 Ağustos tarihinde 46 ergin/tuzak ile en yüksek noktaya ulaşmış, eylül ayının sonuna doğru ve ekim ayında yoğunluk azalmıştır. Çakmak mahallesinde de 25 Temmuz'da 64 ergin/tuzak ile en yüksek noktaya ulaşmış, ağustos ayının sonunda yoğunluk azalmış, eylül ayında ise tekrar artmıştır. *H. armigera* ergin popülasyon yoğunluğu ağustos ayında fazla olduğundan, buna bağlı olarak larva yoğunluğunun da eylül ayında arttığı görülmektedir.

*Helicoverpa armigera*'nın ergin öncesi ve ergin dönemdeki 2014 yılı çalışmaları



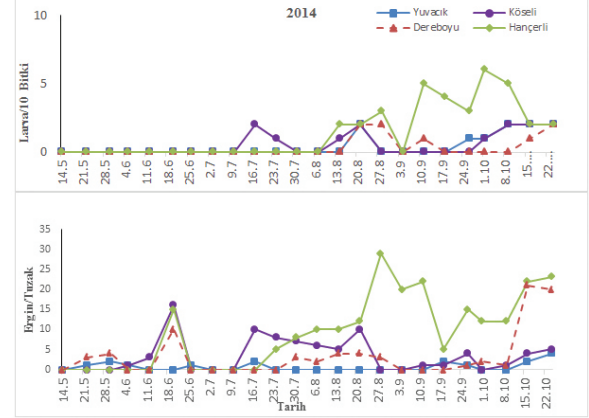
**Şekil 1.** Diyarbakır ili Merkez, Bismil, Çınar ve Ergani ilçeleri 2013 yılı Yeşilkurt (*Helicoverpa armigera*) larva ve tuzaktaki ergin sayıları

Çalışmanın 2014 yılında, Yeşilkurt'un larva ve ergin dönemlerindeki sayımlar Diyarbakır ili; Çınar ilçesi Yuvacık mahallesinde, Bismil ilçesi Köseli mahallesinde, Ergani

ilçesi Dereboyu ve Hançerli mahallelerinde yürütülmüştür. Çalışmalar 14.05.2014 tarihinde başlanmış olup, 24 Ekim 2014 tarihinde hasat nedeniyle son verilmiştir. Diyarbakır ili 2014 yılı *H. armigera* ile bitki bulaşıklık oranları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çalışmanın ilk yılında olduğu gibi 2014 yılında da, temmuz ayının ortalarına kadar bütün domates tarlalarında genel olarak bitki bulaşıklığı olmamıştır (Çizelge 2). Eylül ve ekim aylarında daha yoğun bir bulaşıklık tespit edilmiştir. Bulaşıklığın en yoğun olduğu Ergani ilçesinin Hançerli mahallesinde haziran ve temmuz ayları dışındaki aylarda bitki bulaşıklığı %20'nin üzerinde olarak belirlenmiştir. Diğer örnekleme alanlarında da genel olarak eylül ve ekim aylarında diğer aylara oranla daha yoğun bir bulaşıklık olduğu gözlemlenmiştir. Çalışma çiftçi koşullarında yapıldığından 24 Ekim tarihinden sonra domates hasadı yapılmış ve sonraki haftalar için bir değerlendirme yapılamamıştır.

Diyarbakır ilinde 2014 yılında birbirinden farklı domates örnekleme alanlarında yapılan sayımlarda elde edilen *H. armigera* larvalarının ve kulan funnel tuzaklarda



**Şekil 2.** Diyarbakır ili Çınar, Bismil ve Hançerli ilçelerinde 2014 yılı Yeşilkurt (*Helicoverpa armigera*) larva ve tuzaktaki ergin sayıları

yakalanan ergin kelebeklerin sayıları Şekil 2'de verilmiştir. Çalışmanın yürütüldüğü tüm tarlalardaki 2014 yılına ait larva sayımlarını gösteren Şekil 2 incelendiğinde, ilk larvalar temmuz ayının ikinci haftasından sonra görülmeye başlamış ve larva popülasyon yoğunluğunda çalışma sonuna kadar dalgalanmalar meydana gelmiştir. Sıcaklığın 40 °C'nin üstünde olduğu temmuz, ağustos aylarında larva yoğunluğu düşük iken, daha serin olan eylül ayında larva sayısında artış olduğu belirlenmiştir. Sayım yapılan alanlarda en yoğun larva popülasyonu 11 Eylül ve 1 Ekim tarihinde (5 ve 6 larva/10 bitki), çiftçinin ticari amaçlı olmayan ve kendi ihtiyacı için üretim yaptığı Hançerli mahallesinde tespit edilmiştir. En az

**Çizelge 2.** Diyarbakır ili Çınar, Bismil ve Ergani ilçeleri 2014 yılı Yeşilkurt (*Helicoverpa armigera*) ile bulaşık bitki oranları (%)

Tarih	Bulaşık bitki (%)			
	Çınar/Yuvacık	Bismil/Köseli	Ergani/Dereboyu	Ergani/Hançerli
14.05.2014	0	0	0	0
22.05.2014	0	0	0	0
30.05.2014	0	0	0	0
05.06.2014	0	0	0	0
12.06.2014	0	0	0	0
20.06.2014	0	0	0	0
26.06.2014	0	0	20	20
03.07.2014	0	0	0	0
10.07.2014	0	0	0	0
17.07.2014	0	40	0	0
24.07.2014	20	30	0	0
31.07.2014	0	0	20	0
07.08.2014	10	10	10	10
14.08.2014	0	0	20	20
21.08.2014	30	30	30	30
28.08.2014	20	20	20	40
04.09.2014	0	0	30	30
11.09.2014	0	0	10	40
18.09.2014	0	0	0	40
26.09.2014	20	0	0	20
01.10.2014	30	30	0	40
09.10.2014	30	30	0	40
16.10.2014	40	40	10	40
24.10.2014	40	40	10	40

larva yoğunluğu ise bir önceki yılda olduğu gibi yine Yuvacık mahallesinde belirlenmiştir.

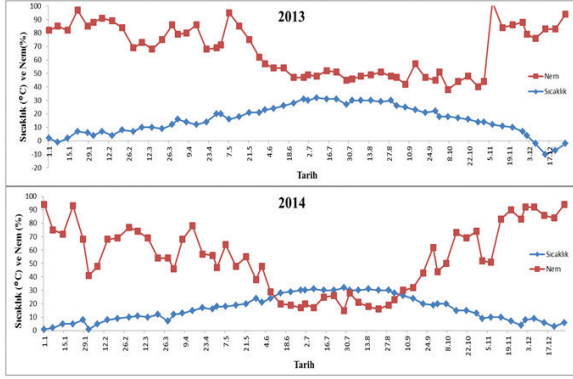
Çalışmada Yeşilkurt'un 2014 yılı ergin döneminin popülasyon seyrini gösteren Şekil 2 incelendiğinde, ergin popülasyon yoğunluğunun en fazla Ergani ilçesinde olduğu görülmektedir. Doğaya çıkan ilk Yeşilkurt erginleri genellikle mayıs sonu - haziran başında tespit edilmiştir. Yuvacık'taki domates tarlasında ilk ergin kelebek 22 Mayıs'ta, Köseli'de 5 Haziran'da, Hançerli'de 20 Haziran'da, Dereboyu'nda ise 22 Mayıs'ta feromon tuzaklarda yakalanmıştır. Yeşilkurt erginleri Yuvacık'ta 24 Ekim'de en yüksek noktaya ulaşmış olup 4 ergin yakalanmıştır. Temmuz ve ağustos aylarının neredeyse tamamında tuzaklarda ergin bireye rastlanılmamıştır. Köseli mahallesinde tuzakta 20 Haziran tarihinde 16 ergin/tuzak ile

en yüksek sayıda kelebek yakalanmış ve çalışmanın sonuna kadar popülasyon dalgalanması devam etmiştir. Hançerli'de tuzakta en yüksek sayıda kelebek 28 Ağustos'ta 29 adet ergin/tuzak yakalanmış ve temmuz ayının başından ekim ayının sonuna kadar yoğunluk devam etmiştir. Dereboyu'nda ise 16 Ekim'de 21 ergin/tuzak yakalanarak Yeşilkurt ergin popülasyonu en yüksek noktaya ulaşmıştır.

Şekil 3'de verilen sıcaklık ve nem verileri incelendiğinde her iki yılda temmuz, ağustos aylarında sıcaklığın arttığı nemin ise azaldığı ve 2013 yılının son aylarında ortalama sıcaklığın sıfırın altına düştüğü görülmektedir. 2013 yılı ergin popülasyon yoğunluğu, 2014 yılına oranla yüksek olarak belirlenmiştir. Çalışmanın ilk yılı en yüksek ergin sayısı Köseli mahallesinde 237 adet/tuzak iken ikinci yılında ise



Hançerli mahallesinde 29 adet/tuzak olarak tespit edilmiştir. 2014 yılı zararlı popülasyon yoğunluğundaki düşüşün nedeninin 2013 Aralık ve 2014 Ocak ayında çok düşük sıcaklıklar ve buna bağlı olarak gerçekleşen don olayından kaynaklanmış olabileceği değerlendirilmektedir.



Şekil 3. Diyarbakır ili 2013-2014 yılları ortalama sıcaklık ve nem değerleri

*Helicoverpa armigera*'nın parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi

Parazitli Yeşilkurt'lardan elde edilen larva parazitoitleri Çizelge 3'de verilmiştir. Örneklem yapılan alanlarda farklı tarihlerde Hymenoptera takımının Ichneumonidae ve Braconidae familyalarına ait *Apanteles* sp., *Campoletis* sp., *Hyposoter* sp. ve *Habrobracon* sp. belirlenmiştir. *Apanteles glomeratus*, *Hyposoter didymator* ve *H. hebetor*'un *H. armigera*'nın ve kültür bitkilerinde zararlı bazı önemli lepidopter türlerin parazitoidi olduğu değişik araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Anonim 2017, Kaya ve Kornoşor 2009, Şimşek et al. 2015). Örneklem yapılan alanlardan toplanan *H. armigera* larvalarının parazitlenme oranı 2013 yılında %2.04; 2014 yılında ise %1.53 olarak belirlenmiştir.

Çalışmanın yürütüldüğü alanlardan atrap kullanılarak toplanan Yeşilkurt predatörleri Çizelge 4'te verilmiştir. Belirlenen predatörlerin çoğu ülkemizde değişik tarımsal üretim alanlarında bulunan yaygın türlerdir.

## TARTIŞMA VE KANI

Çizelge 3. Diyarbakır ili 2013-2014 yıllarında domateste zararlı yeşilkurt'un larva parazitoitleri

Tarih	Takım	Familya	Tür	Bulunduğu Yer
25 Temmuz 2013		Braconidae	<i>Apanteles</i> sp.	Hançerli
31 Temmuz 2013	Hymenoptera	Ichneumonidae	<i>Campoletis</i> sp.	Çakmak
23 Ekim 2013		Ichneumonidae	<i>Hyposoter</i> sp.	Hançerli
21 Ağustos 2014		Braconidae	<i>Habrobracon</i> sp.	Köseli

Çizelge 4. Yeşilkurt'un Diyarbakır ili Merkez, Çınar, Bismil ve Ergani ilçelerindeki predatörleri

Takım	Familya	Tür
Hemiptera	Miridae	<i>Deraeocoris pallens</i> (Reuter, 1904)
		<i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur, 1839)
Lygaeidae		<i>Geocoris pallidipennis</i> (A. Costa, 1843)
		<i>Geocoris megacephalus</i> (Rossi, 1790)
Nabidae		<i>Nabis pseudoferus</i> (Remane, 1949)
		<i>Orius niger</i> (Wolff, 1811)
Anthocoridae		<i>Orius albidipennis</i> (Reuter)
	Chrysopidae	<i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens, 1836)
Coleoptera		<i>Adonia variegata</i> (Goeze, 1777)
	Coccinellidae	<i>Coccinella septempunctata</i> (Linnaeus, 1758)
		<i>Scymnus levallanti</i> (Mulsant, 1850)

Yapılan bu çalışma kapsamında; örneklem yapılan yerlerde ve yıllarda domates bitkisinin fide ve çiçeklenme dönemlerinde (mayıs ayından haziran ayının son haftasına kadar) Yeşilkurt'a ait herhangi bir bulaşıklık veya larva tespit edilmemiştir. Çanakkale'de domates alanlarında *H. armigera* larvalarının temmuz ayı ortasından itibaren görüldüğü ve yoğunluğunun ağustos ayının sonuna doğru yükseldiği, geç ekilen domateslerde zararlı olduğu (Becan et al. 2004); Hatay ilinde önemli yazlık sebze alanlarında yapılan çalışmada haziran ayı ortasından itibaren domateste *H. armigera* ile bulaşık bitki ve vuruk meyve oranının belirlendiği, bulaşıklığın temmuz ayında en yüksek noktaya ulaştığı bildirilmektedir (Kaya 2008).

Diyarbakır ilinde Yeşilkurt ile bulaşıklık oranları, yıllara ve iklim şartlarına göre değişiklik göstermiştir. 2013 yılında bu oran %10-80 arasında iken 2014 yılında %10-

40 olarak belirlenmiştir. Karsavuran ve Durmuşoğlu (2004), tuzakta yakalanan ergin sayıları ile bitkideki yumurta ve larva sayıları arasında ilişki bulunamadığını ve örnekleme yapılan tarlalarda zararlının popülasyon yoğunlukları arasında fark olduğunu; Kaya ve Kornoşor (2009) Hatay'da önemli yazlık sebze alanlarında yürüttükleri çalışmada %40 Yeşilkurt bulaşıklık oranı olduğunu; Koçlu ve Karsavuran (2000) domateste bitkinin çiçeklenme ve meyve döneminde *H. armigera* larvalarının yoğun olarak görüldüğünü tespit etmişlerdir. Yücel ve Genç (2018), Çanakkale'nin farklı ilçelerinde yaptıkları çalışmada, domateste *H. armigera*'nın bulaşıklık oranlarının %9-62.9 arasında değiştiğini; örnekleme yapılan tarlalarda bulaşıklılığın farklı olduğu, bununda üreticilerin zararlı için yaptığı mücadele uygulamalarından kaynaklanabileceğini ve larva popülasyonunun ağustos ayının son günlerinde arttığını; Usman et al. (2013), Pakistan'da 13 farklı domates çeşidindeki yeşilkurt bulaşıklık oranını %21.40-40.47 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Kumar et al. (2013), Hindistan'da domateste yaptıkları çalışmada Yeşilkurt bulaşıklılığının %40-60 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada zararlının ergin öncesi döneminde elde edilen bulgulardan dikkat çekici olanı, çalışmaların aynı örnekleme alanlarında iki yıl tekrar edilmesine rağmen, ilk yıl ile ikinci yıl elde edilen bulaşıklık oranlarının birbirinden oldukça farklılık göstermesidir. Bu durum, örnekleme üretici tarlalarında yapıldığından üreticilerin yapmış olduğu mücadele uygulamalarından kaynaklanabileceği, nitekim domateste *H. armigera* ile yapılan çalışmalarda da belirtildiği üzere örnekleme yapılan tarlalarda benzer şekilde bulaşıklılığın farklı olduğu bildirilmiştir (Koçlu ve Karsavuran 2000, Yücel ve Genç 2018). Ayrıca domateste *H. armigera* bulaşıklılığının farklı olmasının nedenlerinden bir diğerinin de iklim faktörleri, özellikle sıcaklıktan kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir. 2014 yılı iklim verileri incelendiğinde, temmuz ve ağustos aylarında, bir önceki yılın verilerine göre 40 °C'nin üzerindeki sıcaklık değerlerinin daha yoğun görülmesi olduğu söylenebilir. Ayrıca 2013 Aralık ve 2014 Ocak ayları iklim verileri incelendiğinde sıcaklık değerlerinin genellikle sıfırın altında olduğu ve bununda Yeşilkurt'un kışlayan döl popülasyonu üzerinde olumsuz etkisinin olabileceği değerlendirilmektedir. Mironidis and Soultani (2008), Yunanistan'da farklı sıcaklıklarda Yeşilkurt'un gelişimi, hayatta kalması ve çoğalması üzerine yaptıkları çalışmada, ortalama 5-27.5 °C sıcaklık aralığının en uygun sıcaklık olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte ortalama 15 °C'nin altında ve 28 °C'nin üstündeki değerlerde ise yaşamının azaldığı bildirilmiştir.

Yapılan Pearson Korelasyon Analizinde sadece 2014 yılında

Dereboyu (%52,  $P \leq 0,009$ ) ve Hançerli (%53,  $P \leq 0,008$ ) mahallelerinde ergin yoğunluğu ile larva sayısı arasında pozitif bir korelasyon elde edilmiştir. Diğer lokasyonlarda istatistiksel bir ilişki belirlenmemiştir. Başka bir ifade ile tuzaklardaki ergin sayısı fazla olmasına rağmen, bitkilerdeki larva sayısı düşük düzeylerde belirlenmiştir. *H. armigera*'nın 2013 yılı domates vejetasyon dönemi boyunca Köseli'de ergin popülasyonu yüksek düzeyde (858 adet / tuzak) iken, larva popülasyonunun (39 adet / 10 bitki) düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu ilişkiye benzer sonuçları, Mart et al. (2000) Hatay ilindeki pamuk; Karsavuran ve Durmuşoğlu (2004) Bursa ilindeki domates ve Becan et al. (2004) Çanakkale ilindeki domates alanlarındaki yürütmüş oldukları çalışmalarda da tespit etmişlerdir. Akyıldız ve Bayhan (2018), Diyarbakır ili pamuk ekim alanlarında *H. armigera*'nın popülasyon dalgalanması konusunda yaptıkları çalışmada eşeysel çekici feromon tuzakların ergin birey popülasyon yoğunluğu değişiminin izlenmesinde kullanılabileceğini, zararlıya yönelik mücadeleye karar vermede ise tarlada yapılacak larva yoğunluğu sayımlarının esas alınması gerektiğini bildirmişlerdir.

Çalışma sonucunda 4 parazitoit ve 11 predatör tespit edilmiş olup, saptanan parazitoitlerin yaygın parazitoitler olduğu ve parazitlenme oranlarının genel olarak düşük olduğu, bunun da üreticilerin farklı zamanlarda yapmış oldukları mücadele uygulamalarından kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir. Çalışmada belirlenen predatörlerin arasında en yoğun olarak *C. carnea*, *N. pseudoferus*, *Orius* sp. ve *C. septempunctata* bulunmuştur. Bu çalışmada belirlenen predatör türlerini destekler nitelikte, Göven ve Efil (1994) Dicle Vadisinde, pamuk alanlarında zararlı Yeşilkurt'un doğal düşmanları ve etkinlikleri üzerine yaptıkları araştırmada parazitoit, predatör ve patojen olarak 25 tür belirlemişlerdir. Zararlının predatörü olarak *C. carnea*, *Orius* spp., *Nabis* spp., *Deraeocoris* spp., *Geocoris* spp., *Piocoris erythrocephalus* ve *Campylomma diversicornis*'in; parazitoidi olarak *H. hebetor*, *H. didymator*, *Cotesia ruficrus*, *Chelonus oculator*, *Ichneumon sarcitorius* ve *Conomorium patulum* bulunduğunu bildirmişlerdir. Becan et al. (2004), Çanakkale ili domates alanlarında zararlı Yeşilkurt'un popülasyon gelişimi ve önemli doğal düşmanlarının belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada *C. carnea*, *Nabis punctatus*, *Scymnus* spp., *Orius niger* ve *C. septempunctata* türlerini tespit etmişlerdir. Wubneh (2016), Hindistan'da *H. armigera*'nın nohut alanlarındaki biyolojik mücadelesi başlıklı yaptığı derlemede, zararlının predatörü olarak *Chrysopa* spp., *Chrysoperla* spp., *Nabis* spp., *Geocoris* spp., *Orius* spp. ve *Polistes* spp. türlerini bildirmiştir.

Çalışmanın yapıldığı yıllardaki iklim farklılıkları nedeniyle, zararlının popülasyon dalgalanmalarında ve dolayısı ile

mücadele tarihlerinde farklılıklar olabileceği belirlenmiştir. Ayrıca mücadeleye karar vermede *H. armigera*'nın zarar verdiği konukçuda zararının popülasyon yoğunluğunun ekonomik zarar eşiğine ulaştığında mücadelenin yapılması, bununla birlikte domates fide ve çiçeklenme döneminde örnekleme yapılan yıllarda ve yerlerde larva yoğunluğu ekonomik zarar eşiğini aşmadığından koruyucu kimyasal mücadele uygulamalarının kaçınılması yönünde üreticilere uyarılarda bulunulmuştur.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma makalenin birinci yazarının Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde yapılan Yüksek Lisans tez verilerinin bir bölümünden oluşmaktadır. Parazitoit türlerin teşhislerini yapan Sayın Prof. Dr. Ahmet BEYARSLAN ve Doç.Dr. Saliha ÇORUH'a, predatör türlerin teşhislerini yapan Lara BOSCO, Prof. Dr. Luciana TAVELLA, Prof. Dr. Nedim UYGUN ve Prof. Dr. Meral FENT'e teşekkür ederiz.

## ÖZET

Yeşilkurt (*Helicoverpa armigera* Hübner) domates yetiştiriciliğinde verim ve kaliteyi olumsuz yönde etkileyen polifag bir zararlı olup, son yıllarda popülasyon yoğunluğunda görülen artış ile zararlı türler arasındaki önemi artmıştır. Bu çalışmada 2013 ve 2014 yıllarında Diyarbakır ili Merkez, Çınar, Ergani ve Bismil ilçelerinde Yeşilkurt'un popülasyon takibi yapılmıştır. Her lokasyonda araziye temsil edecek şekilde tesadüfi olarak seçilen bitkilerde fide döneminden başlamak üzere hasada kadar, zararlının ergin ve ergin öncesi dönemleri haftalık takip edilmiştir. Zararlının ergin öncesi döneminde en fazla bulaşıklık eylül, ekim aylarında %80 ile Merkez ve Ergani'de; ergin dönemde ise en fazla ağustos ayında 237 ergin/tuzak ile Bismil ilçesinde belirlenmiştir. *H. armigera*'nın larva parazitoitleri *Apanteles* sp., *Habrobracon* sp., *Campoletis* sp., *Hyposoter* sp., olarak belirlenmiştir. Larvaların ilk yıl parazitlenme oranı %2.04 iken ikinci yıl ise %1.53 olarak tespit edilmiştir. Zararlının predatörleri *Deraeocoris pallens* (Reuter, 1904), *Macrolophus pygmaeus* (Rambur, 1839), *Geocoris pallidipennis* (A. Costa, 1843), *G. megacephalus* (Rossi, 1790), *Nabis pseudoferus* (Remane, 1949), *Orius niger* (Wolff, 1811), *O. albidipennis* (Reuter), *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836), *Adonia variegata* (Goeze, 1777), *Coccinella septempunctata* (Linnaeus, 1758) ve *Scymnus levallanti* (Mulsant, 1850) olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda, Diyarbakır ilinde *H. armigera*'nın bulaşıklık ve popülasyon yoğunluğuna ilaçlama ve doğal düşmanların etkinliğinin yanı sıra iklim koşullarının da etkisi olabileceği değerlendirilmektedir.

Anahtar kelimeler: domates, *Helicoverpa armigera*, parazitoit, predatör, Diyarbakır

## KAYNAKLAR

Akyıldız M., Bayhan E., 2018. Diyarbakır ili pamuk ekim alanlarında bulunan yeşilkurt, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)'un popülasyon dalgalanmasının belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 22 (2), 186-195.

Alkan B., 1948. Orta Anadolu hububat zararlıları (zararlı hayvan ve böcekler). A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, Sayı: 1, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 71 s.

Anonim, 1980. 1980 Yılı Zirai Mücadele Programı. T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Bursa Bölge Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Başkanlığı, Bursa, 70 s.

Anonim, 1993. 1993 Yılı Zirai Mücadele Programı. T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Bursa Bölge Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Başkanlığı, Bursa, 59 s.

Anonim, 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları, Cilt 3, 297 s.

Anonim, 2017. Pamuk Entegre Mücadele Teknik Talimatı. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı 108 s.

Anonymous, 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT) <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim Tarihi: 17.05.18).

Becan A., Özpınar A., Polat B., 2004. Çanakkale ili domates alanlarında zararlı yeşilkurt (*Helicoverpa armigera* Hbn.) (Lep.:Noctuidea)'un popülasyon gelişmesi ve predatörlerinin belirlenmesi. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 8-10 Eylül, Samsun, 40 s.

Göven M.A., Efil L., 1994. Dicle vadisi pamuk alanlarında zararlı yeşilkurt (*Helicoverpa armigera* Hbn.) (Lep.; Noctuidea)'un doğal düşmanları ve etkinlikleri üzerinde araştırmalar. Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, 449-457, 25-28 Ocak, İzmir.

Karabhantanal S.S., Awaknavar J.S., 2012. Bio intensive approach for the management of tomato fruit borer, *Helicoverpa armigera* (Hubner), Hindistan. Pest Management in Horticultural Ecosystems, 18 (2), 135-138.

Karsavuran Y., Durmuşoğlu E., 2004. Mustafakemalpaşa (Bursa)'da sanayi domateslerinde *Helicoverpa armigera*

(Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)'ya karşı ilaçlama zamanının saptanmasında feromon tuzaklarından yararlanma olanakları. Türkiye Entomoloji Dergisi, 28 (4), 253-266.

Kaya K., 2008. Hatay ilinde önemli yazlık ve kışık sebze alanlarında bulunan zararlı lepidopter türleri, populasyon yoğunlukları ve parazitoidleri üzerinde araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 86 s.

Kaya M., Kovancı B., 2000. Bursa ilinde yeşilkurt, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)'nın biyolojisi üzerinde araştırmalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 10 (1), 37-43.

Kaya K., Kornoşor S., 2009. Hatay ilinde önemli yazlık sebze alanlarında bulunan zararlı Lepidoptera türleri, populasyon yoğunlukları ve parazitoidleri. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 14 (2), 9-21.

Koçlu T., Karsavuran Y., 2000. *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)'nın Manisa ilinde biyolojisi ve populasyon düzeyi. Türkiye Entomoloji Dergisi, 24 (3), 179-194.

Kumar A., Ramkishore 2005. Fruitborer on tomato in Western Uttar Pradesh. Insect Environment, 11, 46.

Kumar M., Sharma P.K., Sharma A.K., 2013. Studies on pheromone catches of *Helicoverpa armigera* Hubner and relation of moth activity with larval infestation on tomato in Baghpat Uttar Pradesh. International Journal of Microbial Resource Technology, 2 (1), 13-15.

Mart C., Aslan M.M., Eroğlu N., Doğanlar O., 2000. Pamuk alanlarında yeşilkurt, *Heliothis armigera* Hbn. (Lepidoptera: Noctuidae)'un populasyon takibinde eşeyssel çekici tuzakların kullanım imkanları üzerinde araştırmalar. Fen ve Mühendislik Dergisi, 3 (2), 145-153.

Mironidis G.K., Savopoulou-Soultani M., 2008. Development, survivorship, and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) under constant and alternating temperatures. Environmental Entomology, 37 (1), 16-28.

Öngören K., Kaya N., Türkmen Ş. 1977. Ege Bölgesi'nde domateslerde zarar yapan yeşilkurt (*Heliothis armigera* Hüb.)'un morfolojisi, biyolojisi ve mücadelesi üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 17 (1), 3-28.

Panday A.K., Namgyal D., Mehdi M., Mir M.S., Ahmad S.B., 2006. A case study: major insect pest associated with different vegetable crops in cold arid region Ladakh of Jammu and

Kashmir. Journal of Entomological Research, 30 (2), 169-174.

SPSS, 2012. SPSS IBM Corp. Released 2012. IBM Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY, USA.

Şimşek M., Kondur Y., Özkan C., 2015. Besin durumunun *Helicoverpa armigera* (Hüb.) (Lepidoptera: Noctuidae) üzerinde yetiştirilen *Hyposoter didymator* (Thun.) (Hymenoptera: Ichneumonidae) erginlerinin laboratuvar koşullarında yaşam süresine etkisi. Anadolu Orman Araştırmaları Dergisi, 1 (1-2), 50-55.

Tunç İ., 1988. Bahçe bitkileri zararlıları. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Ders Notları, Antalya, 141 s.

Usman A., Khan I.A., Inayatullah M., Saljoqi A.U.R., Shah M., 2013 Appraisal of different tomato genotypes against tomato fruit worm (*Helicoverpa armigera* Hub.) infestation. Pakistan Journal of Zoology, 45 (1), 113-119.

Uygun N., Ulusoy M.R., Başpınar H., 1998. Sebze zararlıları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No:213. Ders Kitapları No: A- 68, Adana I.Baskı, 168 s.

Wubneh W.Y., 2016. Biological control of chickpea podborer, *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae): a global concern. World Scientific News, 45 (2), 92-110.

Yabaş M.N., 1979. Çukurova Bölgesi'nde *Helicoverpa* cinsine giren *armigera* ve *zea* gruplarının biyolojileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Entomoloji Kürsüsü, Doktora Tezi (Yayınlanmamış), Ankara, 195 s.

Yücel S., Genç H., 2018. Çanakkale ili domates ekim alanlarındaki yeşilkurt, *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)'nın yayılışı ve bulaşıklık durumunun belirlenmesi. ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 6 (özel sayı), 115-122.

Cite this article: Bektaş Karapınar, Ö, Sertkaya, E. (2020). Determination of population development, parasitoid, and predators of tomato fruit borer [*Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)] in Diyarbakır tomato fields Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.556940

Atf için: Bektaş Karapınar, Ö, Sertkaya, E. (2020). Diyarbakır domates alanlarında zararlı Yeşilkurt [*Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)]'un populasyon gelişimi, parazitoid ve predatörlerinin belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.556940

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Experiments on *Plum pox virus* inactivation from micropropagated plum plants through non-thermal plasma treatment

Termal olmayan plazma tedavisi ile mikro çoğaltılmış erik bitkilerinde *Plum pox virus* inaktivasyonu çalışmaları

Snezhana MILUSHEVA<sup>a</sup>, Lilyana NACHEVA<sup>a</sup>, Evgenia BENOVA<sup>b</sup>, Plamena MARINOVA<sup>c</sup>, Nataliya DIMITROVA<sup>a</sup>, Anka GEORGIEVA-HRISTEVA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Fruit Growing Institute, 12 Ostromila str., 4004 Plovdiv, Bulgaria

<sup>b</sup>Sofia University, DLTIS, 27 Kosta Louchev str., 1111 Sofia, Bulgaria

<sup>c</sup>University of Forestry, Faculty of Forest Industry, 10 Kliment Ohridski Blvd., 1797 Sofia, Bulgaria

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.576075](https://doi.org/10.16955/bitkorb.576075)

Received : 11.06.2019

Accepted : 04.09.2019

Keywords:

*Plum pox virus*, cold atmospheric plasma, tissue culture, virus inactivation

\* Corresponding author: Snezhana Milusheva

✉ [snezhnamilusheva@gmail.com](mailto:snezhnamilusheva@gmail.com)

### ABSTRACT

Recently, cold atmospheric plasma (CAP) is under investigation for possibility to be applied for inactivation of pathogens in medicine, food technologies, water cleaning technologies and agriculture. The aim of the current study is to investigate the effect of CAP on microplants, propagated *in vitro* from plum tree (*Prunus domestica* L., cv. 'Kyustendilska siny'a') naturally co-infected by M and D strains of *Plum pox virus* (PPV) and in that respect the possibility for CAP application for virus inactivation. In the present work, we have used two types of plasma sources for biological systems treatments: a surface-wave-sustained Argon plasma torch and an underwater diaphragm discharge. These enabled several variants of plasma treatment to be performed. Based on the data of IC-RT-PCR tests of the microplants on the third subculture after treatment, it was found the most effective variant was the reiterated plasma torch tip treatment to nodal segments without leaves in gas medium. The strain specific RT-PCR analysis results of PPV positive CAP-treated microplants showed that only PPV-M strain was identified after treatment, although the starting material was co-infected by both strains. The results obtained from IC-RT-PCR and strain specific RT-PCR of the acclimatized *ex vitro* plants have been in agreement with the data from molecular analyses of the microplants tested. These are the first experiments on CAP ability for inactivation of PPV from tissue of living woody plants even if in *in vitro* conditions. The completed estimation of this approach for obtaining of PPV-free plum plants will be made after more prolonged observation and testing of the *ex vitro* plants.

### INTRODUCTION

As it is well known unlike other phytopathogens, the application of pesticides against plant viruses in the field

is impossible. Only virus elimination by physical methods and a few chemical agents as well as the biotechnological



approaches like meristem culture can be used with different effectiveness in laboratory conditions.

*Plum pox virus* (PPV), the causal agent of Sharka disease, is one of the major limiting factors of the plum production. Scholthof et al. (2011) listed PPV to a group of 'Top10' plant viruses in molecular plant pathology due to its scientific and economic impact. To date, ten PPV strains - D, M, Rec, C, EA, W, T, CR, An (James et al. 2013) and CV (Chirkov et al. 2018) are recognized on the base of differences in complete genome sequences and phylogenetic analyses. Currently, in Bulgaria the PPV-M, PPV-D and PPV-Rec strains have been identified on stone fruits and in particular in plum (Kamenova et al. 2015).

PPV is widespread in stone fruit trees and the movement of PPV-infected propagating material is considered the main pathway for its long-distance distribution. In that respect production of PPV-free planting material is one of the most important measures for the virus containment. Sometimes, it is impossible to be found PPV uninfected trees of any stone fruit cultivars that require being applied sanitation in order to be obtained PPV-free propagating material. Some researchers reported about PPV elimination from plum and apricot cultivars through combining of tissue culture techniques and thermotherapy (Gabova 1989, Koubouris et al. 2007) or chemotherapy (Hauptmanova and Polak 2011, Paunovic et al. 2007) with different effectiveness. In our earlier experiment on PPV elimination, it was studied possibility to obtain PPV free clones from Sharka infected plum cultivars 'Kyustendilska sinya' and 'Valevka' through tissue culture using apex buds with 2-3 unfolded leaves and as result after eight subcultures 88% of subclones of 'Kyustendilska sinya' and 100% of 'Valjevka' were PPV negative (Nacheva et al. 2002).

The both most frequent applied approaches for sanitation of plants from phytoviruses thermotherapy and chemotherapy are time and costs consuming methods.

Recently, the low temperature, non-equilibrium atmospheric pressure plasma called cold atmospheric plasma (CAP) is under investigation for possibility to be applied for inactivation of pathogens in medicine (Woedtke et al. 2019), food technologies (Pankaj et al. 2018), water cleaning technologies and agriculture (Stryczewska et al. 2016). Using common gases such as air or argon, one can produce reactive oxygen and nitrogen species as well as ozone oxides, peroxides and monoxides, and even in a short treatment time of a few seconds there may have strong impact on pathogens. Both proteins and nucleic acids molecules can be destroyed

during the plasma applying.

Searching for efficient, fast and cheap approach for sanitation of the fruit trees from viruses we have begun investigation on possibility to apply CAP for virus inactivation. The idea is based on some data for virucidal effect of CAP on *Feline calicivirus* (Abaubakr et al. 2016) and a few bacteriophages (Guo et al. 2018, Wu et al. 2015). More recently, Filipic et al. (2019) reported for inactivation of *Potato virus Y* (PVY) in water samples by CAP treatment while the previous attempts for elimination of necrotic isolates of PVY from potato nodes in tissue culture and infected plant extract were unsuccessful (Dobnik et al. 2016).

The plasma sources used in this work for biological systems treatment are two types: a surface-wave-sustained Argon plasma torch and an underwater diaphragm discharge. In contrary to the widely used plasma jets where the plasma treating area is in the afterglow region, in the surface-wave-sustained plasma torch the treatment is in the active discharge zone called from here on "plasma torch tip". This results in high concentrations of short-lived active particles together with electromagnetic field and UV radiation at plasma-liquid interface (Krcma et al. 2018). The underwater diaphragm discharge is the same type plasma source as the one used in Kozakova et al. 2015, Vyhnanikova et al. 2015.

The aim of the study is to investigate the effect of cold atmospheric plasma on PPV infected plum microplants and in that respect the possibility for application of CAP for virus inactivation.

## MATERIALS AND METHODS

### *Plant material*

The model biological system used in the study was established from *in vitro* cultured plum (*Prunus domestica* L.) cultivar 'Kyustendilska sinya', naturally co-infected by M and D strains of PPV. The plum cultivar 'Kyustendilska sinya' is highly susceptible to PPV and for the first time the virus was observed and described on that plum cultivar by Atanasoff (1933).

### *Methods*

#### *In vitro propagation*

The shoot tip culture was established from the mother tree and was maintained (28-day multiplication cycle) on a solidified MS (Murashige and Skoog 1962) nutrient medium,



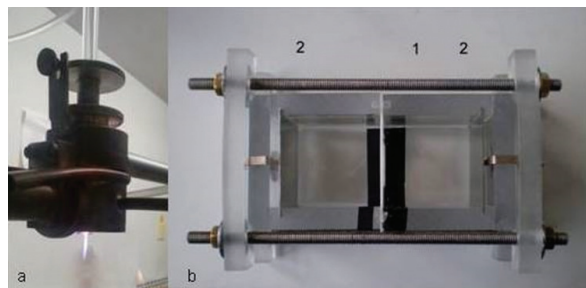
supplemented with 2.5  $\mu\text{M}$  N<sup>6</sup>-benzyladenine (BA), 0.05  $\mu\text{M}$  indole-3-butyric acid (IBA), 30 g l<sup>-1</sup> sucrose, 6.5 g l<sup>-1</sup> Phyto agar (Duchefa, The Netherlands). The cultures were incubated in a growth chamber under temperature of 22±2 °C, photoperiod 16/8 hours supplied by cool-white fluorescent lamps (OSRAM 40 W; 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  PPFD). For the CAP treatment nodal segments (10 mm in length) with or without one leaf were prepared. The shoot clumps obtained after CAP treatment were transferred to the above mentioned fresh culture medium every three weeks. After four passages apical shoots from treated plants and non-treated control were placed on rooting media based on MS with 50% reduced macro salts, 100% micro salts and vitamins, 1.5  $\mu\text{M}$  IBA, 20 g L<sup>-1</sup> sucrose, 6.5 g l<sup>-1</sup> Phyto agar. The rooted plants have been acclimatized to *ex vitro* conditions and currently, six months after acclimatization, they are being under observation for arising of Sharka symptoms and molecular testing for presence/absence of PPV.

#### Cold atmospheric plasma (CAP) treatment

Two approaches were applied for CAP treating of the micropropagated plants:

First - CAP treatment allowing the plasma torch tip to get in contact with the explants for 5 s.

All of explants were treated individually at the torch tip on agar. The discharge is created in an Ar (purity of 99.99999%) flow at atmospheric pressure in open space at constant mass flow 2 l/min controlled by Omega FMA-A2408 mass flow controller. The gas temperature (i.e. the temperature of the heavy particles) in the plasma does not exceed 40 °C while the electron temperature is about 1 eV. The microwave Argon plasma torch tip is presented in Figure 1a.



**Figure 1.** a) Microwave Argon plasma torch, b) Two-chambers tray of underwater diaphragm discharge. 1 – diaphragm with pin-hole; 2 – electrodes

Second - treatment with electrical discharges in liquid media (Figure 1b) for 5 s after plunging the plants in 50-60 ml water

in a two-chamber tray for electrical discharges as the first lead was connected to alternating voltage and the second lead was ground connected.

The following variants of treatment were carried out:

- Single time treatment by plasma torch tip to nodal segments without leaves, placed in petri dish on agar media;
- Single time treatment by plasma torch tip to leaflets, placed in petri dish on agar media;
- Reiterated treatment by plasma torch tip to nodal segments without leaves, prepared from shoots obtained on the fourth subculture after the first plasma torch tip treatment;
- Reiterated treatment with electrical discharges in water media to nodal segments without leaves prepared from shoots obtained on the fourth subculture after the first plasma torch tip treatment.

Each one of the treated plants was labelled with unique number allowing tracing of the CAP effect plant by plant.

#### Molecular methods for PPV detection

The detection of PPV in the plum tree source of the explants for micropropagation, microplants before treatment, CAP-treated plants, non-treated controls and adapted plants was carried out by immunocapture–reverse transcription-polymerase chain reaction (IC-RT-PCR), performed as described by Wetzel et al. (1992), using primer pair P1/P2, targeting 3'-coat protein (CP) genomic region (Wetzel et al. 1991). PPV polyclonal antibodies from Agritest S.r.l (Italy) were used in immunocapture step. The clones obtained from CAP-treated plants were tested on the third subculture after treatment. Each sample was composed from leaves of the microshoots from one cultivation vessel - usually 3 plants.

RNA based two steps RT-PCR was carried out for identification of PPV strains in the mother tree, CAP-treated microplants and acclimatized to *ex vitro* conditions plants. Strain specific RT-PCR tests were performed with primer pairs distinguish PPV-M and PPV-D strains in 3'- terminus of the CP gene using P1/PM and P1/PD primer pairs (Olmos et al. 1997) and genomic region corresponding to C-terminus of the viral replicase and N-terminus of CP using mM5/mM3, mD5/mD3 primer pairs (Subr et al. 2004). Initially, the plum tree source of the explants was also tested with primer pair mD5/mM3 identifying PPV-Rec strain isolates (Subr et al. 2004). Non-treated controls from each variant and

microplants propagated from the mother tree were included as controls.

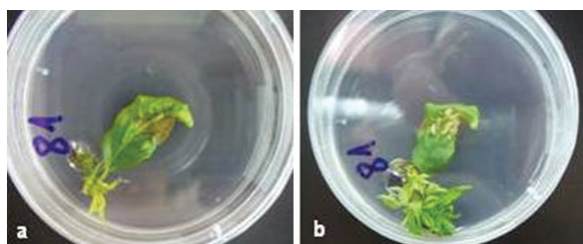
Total RNA was extracted by using commercial kit (Jena Bioscience) according to the instruction of the manufacturer. The reverse transcription (RT) step for synthesis of complementary (c) DNA was performed with random hexamer, using AMV reverse transcriptase (New England, BioLabs Inc.) following the protocol of the supplier.

PCR products were analysed by electrophoresis on 1.5% agarose gel in 1x TBE buffer and stained with ethidium bromide.

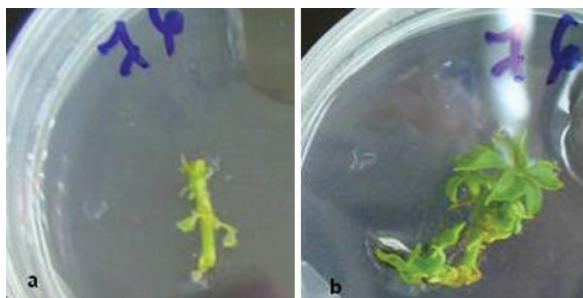
## RESULTS

### *Physiological effect of the CAP on treated nodal segments*

After CAP torch tip treatment of the nodal segments with leaves necrotic lesions were observed on the leaves (Figure 2a) but later on the normal growth recovered and new leaves expanded (Figure 2b). No visual damages were registered on



**Figure 2.** Developing microplants from cold atmospheric plasma (CAP)-treated stems with leaves after treatment. 2a – treated stems with leaves on the 10th day after treatment; 2b – treated stems with leaves on the 33rd day after treatment



**Figure 3.** Developing microplants from cold atmospheric plasma (CAP)-treated stems without leaves. 3a – treated stems without leaves on the 10th day after treatment; 3b – treated stems without leaves on the 33rd day after treatment

the CAP-treated nodal segments without leaves (Figure 3a and 3b) as well as plants treated in water media.

### *IC-RT-PCR and strain specific RT-PCR*

Based on the data of IC-RT-PCR tests of the microplants on the third subculture after treatment, it was found that the most effective variant was the reiterated plasma torch tip treatment of nodal segments without leaves in gas media on agar (Table 1). Single plasma torch treatments and treatment in water media of the plasma torch treated plants were the less effective manner of treatments. Comparison between the both variants of single torch treatments showed a little bit higher effectiveness in variant with nodal segments without leaves.

The results from the strain specific RT-PCR tests of the PPV positive CAP-treated microplants performed using mentioned above primer pairs, distinguished PPV-M and PPV-D in two viral genomic regions, showed that only PPV-M was identified in analysed samples (Table 1) although the starting material was co-infected by M and D strains of PPV. Both strains were detected in the non-treated control microplants.



**Figure 4.** Electrophoresis of the products from strain specific RT-PCR with mD5/mD3 (lines 2-6) and mM5/mM3 (lines 7-11) primer pairs of PPV positive CAP-treated *ex vitro* plants. Line 1 non-infected plum - negative control; lines 2 and 7 mother tree; lines 3 and 8 *ex vitro* plant obtained from treated nodal segments with leaves; lines 4 and 9 *ex vitro* plant obtained from treated nodal segments without leaves; lines 5 and 10 non-treated *in vitro* propagated plant; lines 6 and 11 non-template controls; line 12 1 kb DNA Ladder (Bioneer Inc. 500, 1000, 1600, 2000, 2961, 4000, 5007, 5991, 8000, 10200 bps)

A part of treated PPV negative and positive microplants from two variants and non-treated controls have been acclimatized to *ex vitro* conditions. They are under observations for

**Table 1.** Results of *Plum pox virus* tests by IC-RT-PCR and strain specific RT-PCR of cold atmospheric plasma (CAP)-treated plants on the third subculture after treatment

Variant	IC-RT-PCR tested samples	IC-RT-PCR positive samples	Strain specific RT-PCR of positive samples
a) Single time treatment by plasma torch tip to nodal segments without leaves	15	5	PPV-M
b) Single time treatment by plasma torch tip to the leaflets	10	5	PPV-M
c) Reiterated treatment by plasma torch tip to nodal segments without leaves, prepared from shoots obtained on the fourth subculture after the first torch tip treatment	10	1	PPV-M
d) Reiterated treatment with electrical discharges in water media to nodal segments without leaves prepared from shoots obtained on the fourth subculture after the first torch tip treatment	10	5	PPV-M

**Table 2.** Results of visual observation and *Plum pox virus* tests by IC-RT-PCR and strain specific RT-PCR of acclimatized to *ex vitro* conditions cold atmospheric plasma (CAP)-treated plants

Variant	Number of PPV negative clones	Number of PPV positive clones	Number of symptomatic plants	Symptoms	IC-RT-PCR positive plants/ tested plants	Strains identified by RT-PCR
a) Single treatment by plasma torch tip to nodal segments with leaves	12	3	3	Single chlorotic spots	3/15	PPV-M
b) Single treatment by plasma torch tip to nodal segments without leaves	12	3	3	Single chlorotic spots	3/15	PPV-M
Non-treated control microplants	0	7	7	Chlorotic spots or rings	7/7	PPV-M, PPV-D

arising of PPV symptoms. At this stage, six months after *ex vitro* acclimatization, Sharka symptoms are not registered on CAP-treated PPV negative plants. Very mild symptoms are showing CAP-treated PPV positive plants. Developing of typical Sharka symptoms on non-treated controls have been observed.

The results obtained from IC-RT-PCR of all acclimatized to *ex vitro* conditions plants (Table 2) are in agreement with data from molecular analyses of the microplants tested. PPV was identified only in symptomatic plants and PPV positive plants were not found among asymptomatic *ex vitro* plums. According to data obtained from the strain specific RT-PCR

tests of the acclimatized to *ex vitro* conditions plants, only PPV-M was detected the CAP-treated PPV positive plants (Table 2, Figure 4).

More recently, rooted plantlets from the other two CAP variants of treatment were potted in peat and after successful acclimatization to *ex vitro* conditions they will be also screened.

## DISCUSSION

At this stage, the results from current study have given initial

information about effect of CAP treatment on the used biological model. Torch tip treatment of nodal segments without leaves proved to be more efficient variant and likely one of the reasons for that result is due to removing of the leaves leads to decrease the virus content in plant tissue. The most effective approach was the reiterated CAP torch tip treatment of nodal segments without leaves as that result gives opportunity for improving of the experimental protocol by multiplying the number of treatments and shortening the interval between treatments.

Filipic et al. (2019) and Wu et al. (2015), studying virus inactivation in liquid samples, have found correlation between the time of exposure to atmospheric pressure cold plasma and the degree of virus inactivation and, respectively, damages of the viral genes. More prolonged treatment can cause seriously degradation of the viral RNA and the genes coding virus proteins as coat protein, replicase protein, etc. Taking attention that in the present research the experimental model system includes living explants, the CAP treatments were carried out for very short time, only 5 seconds. Even if that short exposure after CAP torch tip treatment on the leaves of the nodal segments were observed necrotic lesions. Nevertheless that later on the normal growth recovered and new leaves expanded, prolonged treatment probably would be injured the plantlets. Some studies on mechanism of virus inactivation by CAP treatment reported (Abaubark et al. 2016, Guo et al. 2018) the primary role of the singlet oxygen among plasma-generated reactive species for viral nucleic acids and proteins degradation. Working with living plants, there exists risk the plant nucleic acids and proteins to be damaged simultaneously with the viral nucleic acids and proteins degradation so because of that reason the exposure time of CAP treatment there is critical importance. Experiments for optimization of the exposure time of CAP treatment could be made in variants with subject nodal segments without leaves, treated by plasma torch tip on agar media and with electrical discharges in water media.

In virological point of view, the most interesting result from the experiments is the “disappearance” of PPV-D strain from the treated PPV positive microplants as well from the treated PPV positive acclimatized *ex vitro* plants. One of possible explanations of that PPV-D has not been detected in PPV positive CAP treated plants is that after James (2017) some PPV-D isolates may not be aggressive and may not replicate efficiently resulting in low levels of inoculum that are not always detected reliably in routine diagnostic tests. PPV-M strain is more virulent and it replicates in susceptible host plants faster than PPV-D.

These are the first experiments on CAP ability for inactivation of PPV from tissue of living woody plants even if *in vitro* conditions. The results obtained are promising and the experiments have to be continued by including of more variants and parameters of CAP treatments. The completed estimation of this approach for obtaining of PPV-free plum plants will be made after more prolonged observation and testing of the *ex vitro* plants.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study is supported by the Bulgarian National Science Fund under Grant No DN 08/8 from 2016, “Effects and mechanisms of impact of electrical discharges in gases and liquids on model biological systems”.

## ÖZET

Son zamanlarda, soğuk atmosferik plazma (SAP)'ın tıp, gıda teknolojileri, su arıtma teknolojileri ve tarımda patojenlerin inaktivasyonu için uygulanabilme olasılığı araştırılmaktadır. Bu çalışmanın amacı SAP'ın, *Plum pox virus*'ünün (PPV) M ve D ırkları tarafından doğal olarak enfekte edilen erik ağacından, *in vitro* koşullar altında elde edilmiş bitkicikler üzerindeki etkisini ve bu bağlamda SAP'ın virüs inaktivasyonunda uygulanması olasılığını araştırmaktır. Çalışmada, biyolojik sistemlerin uygulanmasında “yüzey dalgası-sürekli Argon plazma torçu” ve “su altı diyafram deşarji” olmak üzere iki tip plazma kaynağı kullanılarak plazma tedavisinin birkaç varyantının gerçekleştirilmesini sağlamıştır. Uygulamadan sonra üçüncü alt kültür üzerindeki bitkiciklerin IC-RT-PCR verilerine dayanarak, en etkili varyantın gaz ortamında yapraksız nodal segmentlere tekrarlanan plazma torç ucu uygulaması olduğu bulunmuştur. SAP ile muamele edilmiş, her iki PPV ırkı ile enfekteli bitkiciklere yapılan ırka spesifik RT-PCR analiz sonucunda, sadece PPV-M tespit edilmiştir. İklimlendirilmiş *ex vitro* bitkilerinin IC-RT-PCR ve ırka spesifik RT-PCR'dan elde edilen sonuçları, test edilmiş bitkiciklerin moleküler analizlerinden elde edilen verilerle uyumlu olduğu görülmüştür. Elde edilen bu veriler, *in vitro* koşullarda yapılmış olsa da canlı odunsu bitkilerin dokusundan PPV'nin inaktivasyonu için CAP yeteneği üzerinde yapılan ilk çalışma niteliğindedir. PPV'den ari erik bitkilerinin elde edilmesinde kullanılan bu yaklaşımın son değerlendirmesi, *ex vitro* bitkilerin daha uzun süre gözlemlenmesi ve test edilmesinden sonra yapılacaktır.

Anahtar kelimeler: *Plum pox virus*, soğuk atmosferik plazma, doku kültürü, virüs inaktivasyonu



## REFERENCES

- Aboubakr H.A., Gangal U., Youssef M.M., Goyal S.M., Bruggeman P.J., 2016. Inactivation of virus in solution by cold atmospheric pressure plasma: Identification of chemical inactivation pathways. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 49, (20), 204001, 17. doi:10.1088/0022-3727/49/20/204001.
- Atanasoff D., 1933. Sharka po slivata. *Godishnik na Sofiiskiya Universitet*, XI, 49-70.
- Chirkov S., Sheveleva A., Ivanov P., Zakubanskiy A., 2018. Analysis of genetic diversity of Russian sour cherry *Plum pox virus* isolates provides evidence of a new strain. *Plant Disease*, 102, (3), 569–575.
- Dobnik D., Junkar I., Primc G., Ravnikar M., 2016. Plasma treatment of potato plants and plant extracts infected with PVYNTN. Workshop on Application of Advanced Plasma Technologies in Central Europe Agriculture 17<sup>th</sup>-21<sup>st</sup> April, Ljubljana, Slovenia. Primc, G. (Ed.). Published by: Slovenian Society for Vacuum Technique (DVTS), Ljubljana, 48p. <http://www.plasmadis.com/wp/waapt-in-cea> (Accessed date: 17.04.2016)
- Filipic A., Primc G., Zaplotnic R., Mehle N., Gutierrez-Aguirre I., Ravnicar M., Mozetic M., Zel J., Dobnik D., 2019. Cold atmospheric plasma as a novel method for inactivation of *Potato virus Y* in water samples. *Food and Environmental Virology*, 11 (3), 220–228.
- Gabova R., 1989. *In vitro* thermotherapy and virus elimination in fruit crops. Proceedings of first national conference “Application of *in vitro* technics in agricultural plants”, 12 October, 1989, Plovdiv, Bulgaria, 74-78.
- Guo L., Xu R., Gou L., Liu Z., Zhao Y., Liu D., Zhang L., Chen H., Kong M.G., 2018. Mechanism of virus inactivation by cold atmospheric-pressure plasma and plasma activated water. *Applied and Environmental Microbiology*, 84, e00726-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.00726-18> (Accessed date: 18.06.2018).
- Hauptmanova A., Polak J., 2011. The elimination of *Plum pox virus* in plum cv. Bluefree and apricot cv. Hanita by chemotherapy of *in vitro* cultures. *Horticulture Science*, 38 (2), 49–53.
- James D., Varga A., Sanderson D., 2013. Genetic diversity of *Plum pox virus*: strains disease and related challenges for control. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 35 (4), 431-441.
- James D., 2017. Perspective on strategies for controlling the spread of *Plum pox virus*, the causal agent of Sharka/plum pox disease. *Acta Horticulturae*, 1163, 129-136.
- Kamenova I., Borisova A., Dragoyski K., Milusheva S., Stefanova B., Dallot S., Glasa M., 2015. *Plum pox virus* strains in Bulgaria. *Acta Horticulturae*, 1063, 47-54.
- Koubouris G., Maliogka V., Efthimiou K., Katis N., Vasilakakis M., 2007. Elimination of *Plum pox virus* through *in vitro* thermotherapy and shoot tip culture compared to conventional heat treatment in apricot cultivar Bebecou. *Journal of General Plant Pathology*, 73 (5), 370-373.
- Kozakova Z., Krčma F., Vašíček M., Hlavatá L., Hlochová L., 2015. Generation of dc pin-hole discharges in liquids: comparison of discharge breakdown in diaphragm and capillary configuration. *The European Physical Journal D*, 69 (100). <https://doi.org/10.1140/epjd/e2015-50331-6> (Accessed date: 07.04.2015).
- Krčma F., Tsonev I., Smejkalová K., Truchlá D., Kozáková Z., Zhekova M., Marinova P., Bogdanov T., Benova E., 2018. Microwave micro torch generated in argon based mixtures for biomedical applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 51 (41), 414001.
- Murashige T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays for tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, (3), 473–497.
- Nacheva L., Milusheva S., Ivanova K., 2002. Elimination of *Plum pox potyvirus* (PPV) in plum (*Prunus domestica* L.) cvs Kyustendilska sinja and Veljevka through *in vitro* techniques. *Acta Horticulturae*, 577, 289-291.
- Olmos A., Cambra M., Dasi M.A., Candresse T., Esteban O., Gorris M.T, Asensio M., 1997. Simultaneous detection and typing of *Plum pox potyvirus* (PPV) isolates by hemi-nested PCR and PCR-ELISA. *Journal of Virological Methods*, 68 (2), 127-137.
- Pankaj S.K., Wan Z., Keener K.M., 2018. Effects of cold plasma on food quality: a review. *Foods*, 7, 4, doi:10.3390/foods7010004. [www.mdpi.com/journal/foods](http://www.mdpi.com/journal/foods) (Accessed date: 01.01.2018).
- Paunovic S., Ruzic D., Vujovic T., Milenkovic S., Jevremovic D., 2007. *In vitro* production of *Plum pox virus*-free plums by chemotherapy with ribavirin. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 21 (4), 417-421, doi:

10.1080/13102818.2007.10817486.

Scholthof K.B., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C., Foster G.D., 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 12 (9), 938-954.

Stryczewska H.D., Ebihara K., Mitsugi F., Pawlat J., 2016. Application of non-thermal plasma in agriculture. Workshop on Application of Advanced Plasma Technologies in Central Europe Agriculture 17<sup>th</sup>-21<sup>st</sup> April, Ljubljana, Slovenia. Primc, G. (Ed.). Published by: Slovenian Society for Vacuum Technique (DVTS), Ljubljana, 12-13 p. <http://www.plasmadis.com/wp/waapt-in-cea> (Accessed date: 17.04.2016).

Subr Z., Pittnerova S., Glasa M., 2004. A simplified RT-PCR-based detection of recombinant *Plum pox virus* isolates. *Acta Virologica*, 48 (3), 173-176.

Wetzel T., Candresse T., Ravelonandro M., Dunez J., 1991. A polymerase chain reaction adapted to *Plum pox potyvirus* detection. *Journal of Virological Methods*, 33 (3), 355-366.

Wetzel T., Candresse T., Masquiare M., Ravelonandro M., Dunez J., 1992. A highly sensitive immunocapture polymerase chain reaction for *Plum pox virus* detection. *Journal of Virological Methods*, Volume: 39 (1-2), 27-37.

Woedtke T., Schmidt A., Bekeschus S., Wende K., Weltmann K.D., 2019. Plasma medicine: a field of applied redox biology. *In vivo*, 33 (4), 1011-1026.

Wu Y., Liang Y.D., Wei K., Li W., Yao M.S., Zhang J., Grinshpun S.A., 2015. MS2 virus inactivation by atmospheric-pressure cold plasma using different gas carriers and power levels. *Applied Environmental Microbiology*, 81 (3), 996-1002.

Vyhnankova E.J., Hammer M.U., Reuter S., Krcma F., 2015. DC diaphragm discharge in water solutions of selected organic acids. *The European Physical Journal Applied Physics*, 71 (2), 20809.

Cite this article: Milusheva, S, Nacheva, L, Benova, E, Marinova, P, Dimitrova, N, Georgieva-hristeva, A. (2020). Experiments on Plum pox virus inactivation from micropropagated plum plants through non-thermal plasma treatment. *Plant Protection Bulletin*, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.576075

Atf için: Milusheva, S, Nacheva, L, Benova, E, Marinova, P, Dimitrova, N, Georgieva-hristeva, A. (2020). Termal olmayan plazma tedavisi ile mikro çoğaltılmış erik bitkilerinde Plum pox virus inaktivasyonu çalışmaları. *Bitki Koruma Bülteni*, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.576075



# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Distribution and molecular detection of *Citrus psorosis virus* (CPsV) based on coat protein gene in Cukurova region

Turunçgil Psorosis Virüsü (CPsV)'nün Çukurova bölgesinde dağılımı ve kılıf protein genine göre moleküler olarak tanılanması

Saime Büşra FİDANCI<sup>a</sup>, Nüket ÖNELGE<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Çukurova University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 01330 Adana, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.618968](https://doi.org/10.16955/bitkorb.618968)

Received : 11.09.2019

Accepted : 13.05.2020

Keywords:

citrus, CPsV, RT-PCR, biological indexing, Turkey

\* Corresponding author: Saime Büşra FİDANCI

✉ [busrafidanci@gmail.com](mailto:busrafidanci@gmail.com)

### ABSTRACT

This study was conducted in the Cukurova region to determine the prevalence of *Citrus psorosis virus* (CPsV), a citrus disease agent in orange, mandarin, and grapefruit orchards. Biological and molecular characterization of collected plant samples were also carried out and the differences between the CPsV isolates were separated by analyzing nucleotide sequences. For the identification and characterization of CPsV, isolates were collected from 50 different citrus trees showing severe barking lesions, vein banding, and oak leaf pattern symptoms on young leaves, old leaves symptoms. The leaf samples were tested by RT-PCR analysis using different primer pairs to identify the coat protein region of CPsV. For the biological indexing studies, CPsV was inoculated to Pineapple orange (*Citrus sinensis*) plants grown from the seed. Vein banding symptoms and shock reactions of CPsV were observed in the first growth flushes of infected indicator plants during biological indexing assays. As a result of Blast analysis, CPsV in the NCBI GenBank had 98% similarity to nucleotide sequences with corresponding regions of the reference genomes.

## GİRİŞ

Turunçgil üretimi ülkemizde en önemli tarım kollarından bir tanesidir. Ülkemiz yaklaşık 125 bin hektar alanda yapılan 4.6 milyon ton üretim ile dünya turunçgil üretiminde önemli bir yere sahiptir. Bununla birlikte Türkiye'deki toplam üretimin %70'i Çukurova Bölgesi'nden sağlanmaktadır (TÜİK 2017). Dünyada virüs ve virüs benzeri hastalıklar,

turunçgil tarımı üzerinde pek çok olumsuz etkiye sahip olup, ekonomik anlamda turunçgil üretimini sınırlayan en önemli faktörlerdendir (Roistacher 1991). Turunçgil virüs hastalıklarından bir tanesi de *Turunçgil psorosis virüsü* (CPsV)'nin neden olduğu Turunçgil kavlama hastalığıdır. Etmen *Ophiovirus* cinsi içinde ss-RNA virüsü olup 3 bölmeli

bir genoma sahiptir (Vaira et al. 2004). CPsV'ye ait partiküller ilk kez Derrick et al. (1993) tarafından tanımlanmış ve partiküllerin oldukça kıvrımlı, iplikli yapıda ve iki farklı biçimde oluşabilen ayırt edilebilir helezonik iplikçiklerden oluştuğu bildirilmiştir. CPsV virionları zarfsızdır ve 3-4 nm çapındaki dairesel iplikçikler halinde olduğu bildirilmiştir (García et al. 1991). Bunlar üç adet tek sarmal, negatif yapıda RNA, RNA polimeraz enzimi ve yaklaşık 48 kDa büyüklüğündeki kılıf proteininden (KP) oluşmaktadır (Derrick et al. 1988, García et al. 1991). RNA1; 8184 nükleotit içerir ve komplementer ipliği (vcRNA) görevi henüz bilinmeyen 24 kDa büyüklüğünde bir proteini kodlayan iki adet açık okuma çerçevesi (Open reading frame; ORF) içerir. RNA2; yaklaşık 1644 nükleotit uzunluğundadır ve 54 kDa büyüklüğünde görevi henüz bilinmeyen bir proteini kodlamaktadır. RNA3 ise; 1377 nükleotit uzunluğunda olup, kılıf proteinini (KP) kodlar (Barthe et al. 1998, Sánchez de la Torre et al. 1998). Turunçgil kavlama hastalığı Asya, Güney Amerika ve Akdeniz ülkeleri de dahil olmak üzere turunçgil yetiştirilen ülkelerde ekonomik kayıplara yol açan yaygın bir turunçgil virüs hastalığıdır (Roistacher 1993). Turunçgil kavlama hastalığı etmeninin (CPsV) iki farklı ırkı olduğu tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi hastalığın en çok görülen ve kabuk kavlamasının yalnızca gövde ve ana dallarda ortaya çıkan ırkı olan Psorosis A (PsA), ikincisi ise hastalığın daha şiddetli ırkı olan ve kabuk kavlamalarının ince dallara kadar hızlı bir şekilde genişlemiş Psorosis B (PsB) olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Fawcett and Klotz 1938, Fawcett and Bitancourt 1943). Turunçgil kavlama hastalığının turunçgil ağaçlarında oluşturduğu genç yaprak belirtileri geçici olup yapraklar olgunlaşmaya başladıktan sonra kaybolmaktadır. Fakat hastalığın şiddetli formu olan PsB varyantında enfekteli ağaçların olgun yapraklarında kalıcı belirtiler oluşturmaktadır. Genç yapraklarda oluşan damar bantlaşması şeklindeki belirtiler birleşerek olgun yapraklarda kalıcı klorotik lekeler meydana getirmekte, bazen de olgun yapraklarda meşe yaprağı desenini koruyacak şekilde yarı şeffaf alanlar ortaya çıkmaktadır (Timmer et al. 1980, Wallace 1968). Kaliforniya'da 6.000 ağaçta yapılan survey sonucunda ağaçların %14'nün CPsV ile bulaşık olduğu hastalığın üründe meydana getirdiği azalma sonucu %6.5 oranında bir gelir kaybı oluşturduğu tespit edilmiştir (Knorr and Childs 1968). CPsV'nin biyolojik olarak tanımlanmasında en uygun indikatör bitkilerin Pineapple, Parson Brown, Hamlin, Koethen ve Madam Vinous portakal çeşitleri olduğu ancak diğer turunçgil çeşitlerinin de CPsV'nin genç yaprak belirtilerini geliştirebildiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Wallace 1968). CPsV'nin PsA ve PsB varyantlarının genomik dizilimlerinin farklılıklarını belirlemek için yapılan bir çalışmada biyolojik

karakterizasyonu gerçekleştirilmiş P121 ve PsF izolatları kullanılarak Pineapple portakal fidanları üzerine simptomsuz ve kabuk kavlama belirtilmeli olarak inokulasyonları gerçekleştirilmiştir. İnokulasyonu gerçekleştirilen bitkilere yapılan SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) analizleri sonucunda PsA ve PsB varyantlarının RNA1 ve RNA3 bölgelerinde hiçbir farklılık gözlenmez iken SSCP analizi sonucunda RNA2 bölgelerinde farklılık olduğu gözlemlenmiş ve PsB varyantının CPsV'nin RNA2 dizilimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Velazquez et al. 2012). Türkiye'de CPsV'nin varlığı ilk kez 1963 yılında Norman tarafından Doğu Akdeniz Bölgesi'nde belirlenmiştir (Norman 1963). Kayım (2010), CPsV'nin biyolojik ve moleküler tanımlanmasını gerçekleştirmek için Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yaptığı bir çalışmada CPsV nin genç yaprak belirtilerinin varlığını indikatör bitkiler üzerinde gözlemlemiş ve RT-PCR yöntemi ile tanımlanmış ancak nükleotid dizilimlerini belirlememiştir. Antalya ili turunçgil üretim alanlarında yapılan bir çalışmada yapılan surveylerde belirlenen 51 şüpheli ağaçtan alınan yaprak ve sürgün örnekleri CPsV ile enfekteli olup olmadığını belirlemek amacıyla öncelikle DTBIA ve ELISA yöntemiyle test edilmiştir. Yapılan testlemlerde 6 örneğin CPsV ile enfekteli olduğu saptanmıştır ve örneklerin total RNA izolasyonu yapıldıktan sonra, CPsV'nin KP geni RT-PCR yöntemi kullanılarak ve sekans analizleri sonucunda belirlenmiştir (Kütük 2011). Ülkemizde Psorosis hastalığı ile ilgili birçok çalışma yürütülmüş fakat hastalığın varyantlarının genomik farklılıkları ile ilgili hiçbir çalışma yürütülmemiştir. Bu çalışma Çukurova Bölgesi'nde hastalığın farklı varyantlarının yaygınlık durumunun belirlenmesi ve aynı zamanda bu izolatların genomik farklılıklarının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

## **MATERYAL VE METOT**

### *Survey çalışmaları*

Çalışma Çukurova Bölgesi Adana, Mersin ve Hatay illerindeki 10 dekardan ve 10 yaşından büyük portakal, mandarin ve altıntop bahçelerinde gerçekleştirilmiştir. Survey çalışmaları bitkilerin aktif sürgün döneminde olduğu ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde yapılmıştır. CPsV'nin yaygınlığının belirlenmesinde hastalığın karakteristik belirtilerinden olan genç yaprak belirtileri ve kabuk kavlaması gösteren ağaçlar değerlendirilerek hastalığın yaygınlık durumu belirlenmiştir.

### *Biyolojik indeksleme çalışmaları*

Çalışmada kullanılan turunçgil örnekleri, Çukurova Bölgesi'ndeki eski turunçgil bahçelerinden CPsV ile bulaşık olduğu tahmin edilen genç yapraklarda damar bantlaşması

ve meşe yaprağı deseni simptomları, kabuk kavlama, şiddetli kabuk kavlama, yaşlı yaprak simptomları gösteren ağaçlardan alınmış ve örnekleme her bir ağacın farklı yönlerinden üçer adet sürgün olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılmış olan indikatör bitkiler Pineapple portakal tohumlarından yetiştirilmiştir. Fidanların gövde kalınlığı kalem boyutuna ulaştığında göz ve kabuk aşılması olarak inokulasyonlar yapılmıştır. Çukurova Bölgesi'nden toplam 5 adet izolat toplanmış ve her bir izolat için 3'er adet indikatör bitki kullanılarak biyolojik indeksleme çalışması gerçekleştirilmiştir. İndikatör bitkiler haftalık olarak yaprak simptomları ve şok reaksiyonları açısından gözlemlenmiştir. Bitkiler 2 ay sonra geriye doğru budanmış ve yeni sürgünlerin gelişmesi sağlanarak hastalık belirtileri gözlemlenmeye çalışılmıştır. Biyolojik indeksleme çalışmalarında etmenin bulaşık olduğu fidanlarda oluşan genç ve olgun yaprak simptomları baz alınarak değerlendirilmiştir.

#### RT-PCR çalışmaları

CPsV'nin moleküler olarak tanımlanmasının ilk aşamasında araziden sadece genç yaprak simptomu, yaşlı yaprak simptomu, genç yaprak simptomu ve kabuk kavlama simptomunu birarada gösteren farklı turuncgil türlerinden (mandarin, portakal, altıntop) toplanan 50 farklı izolat CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) tampon çözeltisi kullanılarak total nükleik asitler (TNA) elde edilmiştir (Murray and Thompson 1980). Elde edilen TNA'lardan komplementer DNA (cDNA) sentezi ve PCR çalışmaları yapılmıştır. PCR çalışmaları farklı primer çiftleri kullanarak klasik PCR (Barthe et al. 1998) ve Nested-PCR (Kütük 2011) olarak iki farklı şekilde gerçekleştirilmiştir. RT-PCR çalışmalarında kullanılan primer çiftleri Çizelge 1'de belirtilmektedir.

#### Elektroforez çalışmaları

Elektroforez çalışmaları %1.5 agaroz jel kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Boyama işlemi etidyum bromür çözeltisi ile yapılmış ve jeller UV transilluminatör kullanılarak görüntülenmiştir.

#### Sekans analizi ve verilerin karşılaştırılması

PCR ve agaroz jel elektroforez çalışmaları sonucunda pozitif bulunan örnekler, aynı koşullarda RT-PCR uygulanarak 200 µl hacminde çoğaltılmıştır. Çoğaltılan tüm örnekler saflaştırma ve nükleotid dizilimlerinin belirlenmesi amacıyla Molgentek (Adana) firmasına gönderilmiştir. Firmanın nükleotid dizilimleri belirleme çalışmaları, gönderilen etmenlerin "forward" ve "reverse" primerlerine göre iki ayrı şekilde gerçekleştirilmiştir. Sekanslama işlemi tamamlanan tüm örneklerin baz dizilimleri "Finch TV" 1.4.0."(Geospiza, Inc.) programı kullanılarak görüntülenip, mevcut baz dizilimleri NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında "BLAST" yöntemiyle kayıtlı bazı organizmalar ile karşılaştırılmıştır. Filogenetik analiz çalışmalarında da DNA dizileri "Mega X" (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Proprietary freeware) programı kullanılarak "Neighbour Joining" metodu ile sınıflandırılmıştır.

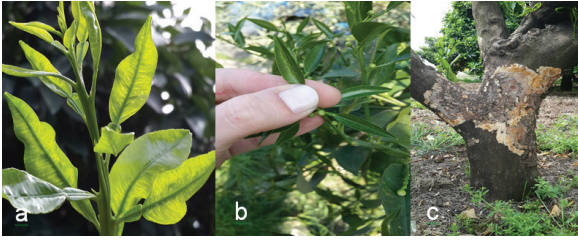
## SONUÇLAR VE TARTIŞMA

#### CPsV hastalığının survey çalışmaları ile yaygınlığının belirlenmesi

Çukurova Bölgesi'nde bitkilerin aktif sürgün döneminde olduğu ilkbahar ve sonbaharda yapılan surveylerde CPsV'nin karakteristik genç yaprak simptomlarından olan damar bantlaşması ve meşe yaprağı deseni simptomlarını gösteren ve kabuk kavlaması simptomu gösteren ağaçlar hastalıkla

**Çizelge 1.** Psorosis virüsünün RT-PCR çalışmalarında kullanılan primer çiftleri

Primerler	Sekans Dizilimi (5'-3')	Çoğaltılan Bölge (bp)	PCR yöntemi
BC76	ATGTCGATCCWATYAAGTSTCAC	1320 bp	Nested-PCR (Kütük 2011)
BC77	TTACATAGTYGMWGCYACCCCAAAG	1320 bp	
BC78	TGCTCCAACAAAGAAATTC	350 bp	
BC79	TTCTGCCATCTGGAGTGAGGC	350 bp	Klasik-PCR (Barthe et al. 1998)
CPV-1	GCTTCCTGGAAAAGCTGATG	600 bp	
CPV-2	TCTGTTTTGTCAACACACTCC	600 bp	



**Şekil 1.** Sürvey çalışmalarında portakal ağacında gözlemlenen a) damar bantlaşması, b) meşe yaprağı, c) kabuk kavlama

bulaşık olarak kabul edilmiştir (Şekil 1).

Fawcett (1933) yaptığı bir çalışmada CPsV'nin kabuk kavlama semptomlarının yanında genç yaprak semptomlarını da tanımlamıştır. Yapılan bu çalışmada da incelenen ağaçların CPsV ile bulaşık olduğunun belirlenmesinde hastalığın karakteristik semptomları olan genç yaprak semptomları ve kabuk kavlama semptomları baz alınarak değerlendirilmeler yapılmıştır. Yapılan arazi çalışmaları sonucunda Çukurova Bölgesi'nde toplamda 11.150 ağaç incelenmiş incelenen ağaçların %33 oranında CPsV ile bulaşık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2).

**Çizelge 2.** CPsV ile bulaşık olduğu belirlenen ağaçların % dağılımları

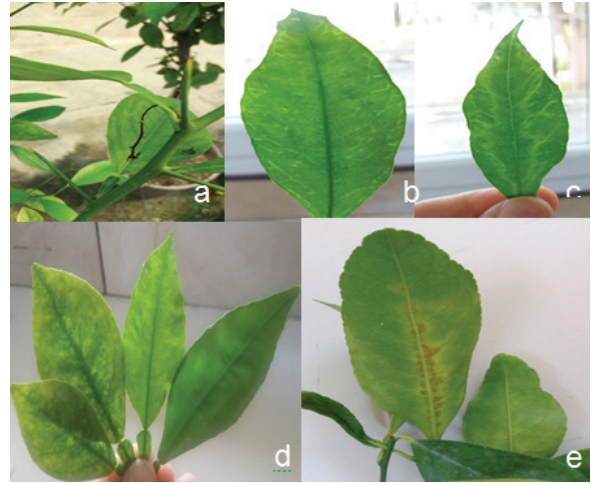
İl	Portakal	Mandarin	Altıntop	Toplam Enfeksiyon (%)
Adana	30	25	10	25
Mersin	50	30	20	36.5
Hatay	35	40	14	37.5
Toplam Enfeksiyon %	38.3	31.3	13.04	33

Yapılmış olan bu çalışmada Çukurova Bölgesi'nde incelenen 4.100 tane portakal ağacının %38.3'nün, 5.800 mandarin ağacının %31.3'nün, 1.250 tane portakal ağacının %13.04'nün CPsV hastalığı ile bulaşık olduğu hastalığın en çok portakal türünde görüldüğü bunu sırasıyla mandarin ve altıntop türlerinin izlediği belirlenmiştir. Güllü (1989) tarafından Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yapılan bir sürveyde ise Navel cinsi portakallarda %64-80, Satsuma cinsi mandarinlerde %15.8-31 oranında CPsV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacı yapmış olduğu çalışmada bölgede aktif sürgün döneminde genç yaprak semptomlarının oldukça yoğun olduğunu, ancak olgun yaprak semptomlarının daha az gözlemlendiğini özellikle şiddetli kabuk kavlaması gözlenen ağaçlarda görüldüğünü bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada

da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Aktif sürgün döneminde genç yaprak semptomları oldukça yoğun olmakla birlikte bu semptomlar yapraklar olgunlaştığında kaybolmaktadır. Kavlama hastalığı ile bulaşık bahçelerde damar bantlaşması ve meşe yaprağı deseni semptomları oldukça yoğun olarak bulunmakta olup aynı hastalığın semptomlarından olan beneklenmeler ve klorotik lekeler daha az görülmektedir. Ayrıca psorosis hastalığının kabuk kavlama semptomu yaşlı bahçelerde görülmekle birlikte bu semptomlar genç yaprak semptomlarına oranla daha azdır.

#### CPsV hastalığının biyolojik indeksleme yöntemi ile tanınması

Pineapple portakalına doku inokulasyonu yöntemi ile aktarılan CPsV hastalığının yaklaşık iki ay gibi bir süre sonunda portakal fidanlarının uç sürgünlerinde hastalığın karakteristik özelliği olan şok reaksiyonları gözlemlenmiştir. Ayrıca genç yapraklarda damarlar üzerinde açık renkli damar bantlaşması ve meşe yaprağı görüntüsü gözlemlenmiştir. Yaşlı yapraklarda ise yaprağın üst kısmında düzensiz klorotik lekeler ve arka kısmında kahverengi kalıcı zamkly lekelerin varlığı belirlenmiştir (Şekil 2). Genç yapraklar üzerinde gelişen semptomların büyük bölümü yapraklar olgunlaştığında kaybolmuşlardır. Negatif kontrol olarak bırakılan sağlıklı Pineapple fidanlarında CPsV'nin genç yaprak semptomlarına rastlanmamıştır.



**Şekil 2.** Psorosis virüsünün Pineapple portakal çeşidinde biyolojik indeksleme çalışmaları sonucunda gözlemlenen a) şok reaksiyonu, b) genç yapraklarda damar bantlaşması, c) genç yapraklarda meşe yaprağı deseni, d) yaşlı yapraklarda klorotik lekeler, e) yaşlı yaprakların arka kısmında zamkly kabarcıklar

Kayım (2010) tarafından Doğu Akdeniz Bölgesi'nde CPsV'nin biyolojik indeksleme yöntemiyle tanınmasını gerçekleştirmek için yapılan bir çalışmada bir yaşındaki

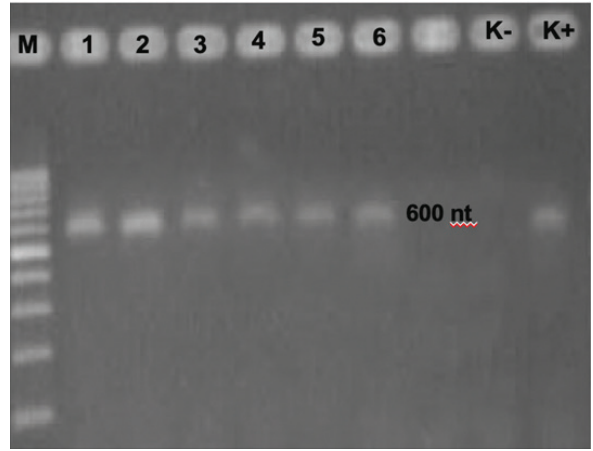


portakal fidanlarına Adana, Mersin, Koza bölgesindeki hastalıkla bulaşık olduğu bilinen ağaçlardan alınan örneklerin inokulasyonu sonucunda indikatör bitkilerin genç yaprakları üzerinde damar bantlaşması, beneklenme ve meşe yaprağı görüntüsü simptomlarını gözlemlediğini bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada da Çukurova Bölgesi'nde CPsV'nin genç yaprak simptomları, kabuk kavlama simptomları, yaşlı yaprak simptomları gösteren ağaçlardan alınan örnekler ile yapılan biyolojik indeksleme çalışmalarında genç yapraklarda damar bantlaşması ve meşe yaprağı görüntüsü simptomları gözlemlenmiştir. Şiddetli kabuk kavlama simptomu sergileyen ağaçlardan alınan örnekler Pineapple indikatör bitkilerinde genç yaprak simptomlarının yanı sıra olgun yaprak simptomları da geliştirmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda genç yaprak simptomlarının PsA ile ilgili bulunurken olgun yaprakların arka yüzeyinde gelişen hafif zamklı yağ lekelerinin PsB tarafından oluşturulduğu bildirilmiştir (Fawcett and Bitancourt 1943, Velázquez et al. 2012). Yapmış olduğumuz biyolojik indeksleme çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Araziden alınan ve olgun yaprak simptomları göstermeyen ağaçlardan yapılan biyolojik indeksleme sonucunda Pineapple indikatör bitkilerinin yapraklarında sadece damar bantlaşması şeklinde genç yaprak simptomları gözlenmiştir (Şekil 2b). Araziden alınan ve kabuk simptomları yanında olgun yapraklarda Turuncgil kavlama hastalığının simptomunu sergileyen ağaçlardan yapılan indeksleme çalışması sonucunda indikatör bitkilerde önce damar bantlaşması şeklinde genç yaprak simptomları daha sonra yaprakların arka yüzeyinde gelişen zamk belirtileri ve lekelenmeler gözlenmiştir (Şekil 2e). Kabuk kavlama simptomlarının PsA ve PsB sendromlarıyla ilgili olduğu, ancak PsB sendromunun bölgemizde yaygın olarak bulunmadığı, hafif şiddette gelişen kabuk kavlamaları ve genç yaprak simptomları ile ilişkilendirilen PsA sendromunun bölgemizde daha yoğun bulunduğu yapılan survey çalışmaları ve biyolojik indeksleme çalışmaları sonucunda belirlenmiştir.

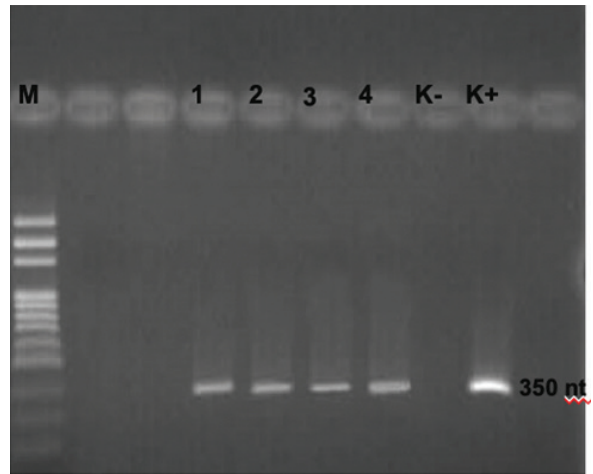
#### CPsV'nin RT-PCR çalışmaları ile tanınması

Yapılan RT-PCR çalışmalarının sonucunda CPV-1/CPV-2 primer çifti ile çoğaltılan örneklerde 600 bp'lık (Şekil 3), BC78/BC79 primer çifti ile çoğaltılan örneklerde 350 bp (Şekil 4) bant oluşumu gözlemlenmiştir. Araziden alınan örneklerde yukarıda verilen baz uzunluğunda bant oluşumları hastalık etmenini taşıdığı kabul edilerek pozitif olarak değerlendirilmiştir. CPsV'nin farklı turuncgil izolatları kullanılarak yapılan RT-PCR çalışmalarından elde edilen jel görüntüleri aşağıda Şekil 3 ve Şekil 4 de yer almaktadır.

Çukurova Bölgesi turuncgil bahçelerinden CPsV ile bulaşık olduğu düşünülen ağaçlardan alınan örneklerle farklı primer



Şekil 3. CPsV'ye ait RT-PCR ürünlerinin elektroforez jel görüntüsü, M: Markör (100 bp), 1-2-3-4-5-6: Pozitif örnekler, K-: Negatif Kontrol, K+: Pozitif Kontrol



Şekil 4. CPsV'ye ait RT-PCR ürünlerinin elektroforez jel görüntüsü, M: Markör (100 bp) 1-2-3-4: Pozitif örnekler, K-: Negatif Kontrol, K+: Pozitif Kontrol

çiftleri kullanılarak gerçekleştirilen RT-PCR çalışmalarında, toplanan 50 örneğin 35'nin CPsV ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Kullanılan primer çiftlerinden CPV-1/CPV-2 ve BC78/BC79 etmenin rutin tanınmasında her zaman başarılı sonuçlar vermiştir. RT-PCR sonucunda en iyi sonuç veren örnekler şiddetli kabuk kavlaması ve genç yaprak simptomu oluşturan örnekler olmuştur. Bu sonuç Çukurova Bölgesi'ndeki tüm iller için geçerlidir. Sadece genç yaprak simptomu oluşturan örneklerden alınarak yapılan RT-PCR çalışmaları, kabuk kavlaması simptomu gösteren ağaçlardan alınan örneklerle yapılan RT-PCR çalışmaları kadar iyi sonuç vermemiştir. CPsV konsantrasyonunun kabuk kavlaması oluşturmeyen ağaçlarda kabuk kavlaması simptomu gösteren ağaçlardan daha az yoğunlukta olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Barthe et al. (1998) tarafından CPsV'nin

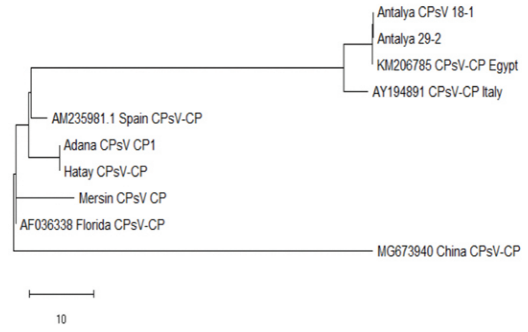
kılıf protein geni dizisini belirlemek için yapılan bir çalışmada biyolojik karakterizasyonu yapılmış, CPV-4 ve CPV-6 izolatları RT-PCR analizinde CPV1 ve CPV2 primer çifti kılıf protein geninin 654 ve 1253 nükleotidleri arasındaki 600 bp'lık alanı çoğaltmak için tasarlanmıştır. Araştırmacıların yaptıkları RT-PCR çalışmalarında 600 bp seviyesinde kılıf protein bantlarını elde etmişlerdir. Barthe et al. (1998) tarafından kılıf protein gen dizisini belirlemek için tasarlanan primer çiftinin kullanıldığı (CPsV-1/ CPsV-2) bu çalışmada da araziden toplanan ve genç yaprak semptomları ve kabuk kavlaması semptomları sergileyen ağaçlardan alınan örnekler RT-PCR sonucunda 600 bp'lık kılıf protein geni elde edilmiştir (Şekil 3). RT-PCR çalışmalarında araziden toplanan 50 örnek içinde sadece genç yaprak semptomu sergileyen ağaçlardan alınan örneklerden bir kısmı oldukça zayıf bant oluştururken, kabuk kavlaması semptomu geliştiren ağaçlardan alınan örneklerin hepsi 600 bp seviyesinde kılıf proteinine ait bant gelişimi göstermiştir.

Kütük (2011), Antalya ilinin farklı turuncgil üretim alanlarından alınan turuncgil örnekleri ile yapmış oldukları bir çalışmada kılıf protein geni belirlemek için BC76/BC77 primer çiftlerini kullanmışlardır. Dahasonra elde ettiği ürünler ile BC78/BC79 primer çiftlerini kullanarak nested-PCR ile genin 759 ve 1139 nükleotidleri arasındaki bölgeyi tanılamak için çoğaltmışlardır. Yapılan analizler sonucunda 51 örneğin 45 tanesinde 350 bp'lık bant elde etmişlerdir. CPsV'nin belirlenmesinde örnekleme zamanına bakılmaksızın hastalığın etkin bir şekilde tanıldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da nested-PCR gerçekleştirilmiş ve BC78/BC79 primer çifti kullanılmıştır. RT-PCR sonucunda 350-400 bp'lık kılıf protein geni elde edilmiş (Şekil 4), çoğaltılmış ve sekans analizine gönderilmiştir. Çalışmada kullanılan genç ve olgun turuncgil yapraklarından yapılan analizlerde benzer sonuçlar elde edilerek araziden alınan örneklerin 35 tanesinde 350 bp seviyesinde pozitif sonuç elde edilmiştir.

Nested-PCR sonucunda %2 agaroz jelde elde edilen bantlar klasik RT-PCR çalışmalarına oranla daha belirgin bir bant oluşumu sergilemiştir (Şekil 4).

#### Filogenetik analiz çalışmaları

Bu çalışmada, nükleotid dizilim analizleri ve yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda dünyada turuncgil yetiştirilen bölgelerde oldukça yaygın bulunan bir virüs hastalığı olarak CPsV'nin farklı turuncgil türlerinden alınan örneklerin RNA3 bölgesinin (kılıf protein geni) İspanya izolatları (Gen Bankası Erişim No:AM235981) ile %96 oranında benzerlik gösterdiği, Florida izolatları (Gen Bankası Erişim No:AF036338) ile %98 oranında benzerlik gösterdiği (Şekil 5) belirlenmiştir. Bu çalışmada ele alınan Çukurova Bölgesi izolatlarının da birbiri ile %98'in üzerinde benzerlik



**Şekil 5.** Nükleotid dizilim analizleri ve yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda farklı turuncgil türlerinden alınan örneklerin kılıf protein (RNA3) bölgesinin dünyadaki farklı izolatlarla karşılaştırılması

gösterdiği filogenetik analiz sonucunda ortaya konmuştur. Turuncgil kavlama hastalığı çok uzun yıllardır bilinmesine rağmen etmenin moleküler tanısı 2000'li yıllardan sonra gerçekleştirilebilmiştir. Bu nedenle bu zamana kadar benzer yaprak semptomları gösteren pek çok hastalık etmeni psorosis grubu hastalıklar olarak bu gruba eklenmiştir. Ancak moleküler tanı yönteminin devreye girmesi ile grup içinde yer alan ve benzer yaprak semptomları sergileyen hastalıklar bu gruptan ayrılmıştır. Günümüzde Turuncgil kavlama hastalığı genç yapraklarda aktif sürgün döneminde geliştirdiği damar bantlaşması semptomları ve genellikle aşı birleşme noktasından başlayarak ilerleyen kabuk kavlamaları ile makroskobik olarak teşhis edilebilen etmeni CPsV olarak değerlendirilen bir hastalıktır. Yürütülen bu çalışma sonucunda Turuncgil kavlama hastalığının Çukurova Bölgesi'nde yaygın bir hastalık olduğu, ancak kabuk kavlaması semptomu oluşturan ve yaşlı yapraklar üzerinde olgun yaprak semptomları sergileyen şiddetli ırklarının çok eski yetiştiricilik alanlarında bulunduğu belirlenmiştir. Yaşı 20'nin altındaki genç turuncgil bahçelerinde etmenin kabuk kavlama semptomunu görmek mümkün değildir ancak genç yaprak semptomlarını her yaşta taze sürgünlerde yer alan yapraklarda görmek mümkündür. Çalışma sonucunda bölgemiz turuncgil bahçelerinde bulunan CPsV'nin moleküler, biyolojik indeksleme ve arazi semptomları ile tanısı gerçekleştirilmiştir. Hala sertifikalı fidan yetiştiriciliğine geçememiş olan bölgemizde, CPsV önemli bir hastalık etmeni olarak yetiştiricilik alanlarında yer almaktadır. Moleküler tanımanın sertifikasyon programlarında ve sağlıklı turuncgil fidan yetiştiriciliğinde mutlaka kullanılması gereken bir yöntem olarak ele alınması ve primer seçiminde dikkatli olunması gerekmektedir. Rutin tanılamada kılıf protein bölgesinin kullanılması hastalığın tanılanmasında başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır.



## TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı finanse eden Çukurova Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz. Proje Numarası: FYL-2016-6198

## ÖZET

Bu çalışmada, Çukurova Bölgesi'nde Turunçgil kavlama hastalığı etmeni *Citrus psorosis virus* (CPsV)'nin portakal, mandarin ve altıntop bahçelerinde yaygınlığı belirlenmiş, alınan bitki örneklerinin biyolojik ve moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. CPsV izolatlarının arasındaki farklılıklar nükleotid dizilimleri analiz edilerek belirlenmiştir. CPsV'nin tanılanması ve karakterizasyonu için 50 farklı turunçgil ağacından şiddetli kabuk kavlama lezyonu ve genç yapraklarda damar bantlaşması, meşe yaprağı deseni simptomu, yaşlı yaprak simptomları gösteren farklı izolatlar toplanmıştır. Toplanan örnekler RT-PCR çalışmalarıyla analiz edilmiştir. Kullanılan farklı primer çiftleri ile CPsV'nin kılıf protein bölgesi belirlenmiştir. Yapılan biyolojik indeksleme çalışmalarında ise tohumdan yetiştirilen Pineapple portakal (*Citrus sinensis*) fidanlarına CPsV'nin inokulasyonu yapılmış ve enfekteli indikatör bitkilerin ilk gelişen sürgünlerinde CPsV'nin damar bantlaşması ve şok simptomları gözlemlenmiştir. Blast analizi ve NCBI gen bankasındaki CPsV'nin referans genomlarının karşılık gelen bölgeleri ile nükleotid dizilimlerinin %98 oranında benzerliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: turunçgil, CPsV, RT-PCR, biyolojik indeksleme, Türkiye

## KAYNAKLAR

Barthe G.A., Ceccardi T.L., Manjunath K.L., Derrick K.S., 1998. Citrus psorosis virus: nucleotide sequencing of the coat protein gene and detection by hybridization and RT-PCR. *Journal of General Virology*, 79 (Pt 6), 1531-1537.

Derrick K.S., Bransky R.H., da Graça J.V., Lee R.F., Timmer L.W., Nguyen T.K., 1988. Partial characterization of a virus associated with citrus ringspot. *Phytopathology*, 78 (10), 1298-1301.

Derrick K.S., Lee R.F., Hewitt B.J., Barthe G.A., 1993. Spiroviruses: a new group of serologically diverse plant viruses associated with citrus psorosis and ringspot. In: *Proceeding 12th Conference of International Organization of Citrus Virologists*, 428-429, IOCV, Riverside, CA.

Fawcett H.S., 1933. New symptoms of psorosis indicating a virus disease of citrus. *Phytopathology*, 23, 930. (Abstract)

Fawcett H.S., Bitancourt A.A., 1943. Comparative

symptomatology of psorosis varieties on citrus in California. *Phytopathology*, 33, 837-864.

Fawcett H.S., Klotz L.J., 1938. Types and symptoms of psorosis and psorosis-like diseases of citrus. *Phytopathology*, 28, 670.

García M.L., Grau O., Sarachu A.N., 1991. Citrus psorosis is probably caused by a bipartite ssRNA virus. *Research in Virology*, 142 (4), 303-311.

Güllü M., 1989. Doğu Akdeniz Bölgesi Navel grubu portakalı ve Satsuma mandarin ağaçlarında yaygın virus ve virus benzeri hastalıkların surveyi ve indekslenmesi üzerinde çalışmalar. Doktora Tezi, 70 s. Araştırma Yayınları Serisi, Ankara.

Kayım M., 2010. Biological and molecular detection of Citrus psorosis virus in citrus in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 19 (2), 259-262.

Knorr L.C., Child J.F.L., 1968. Incidence and spread of citrus viruses: control methods and programs. production of virus-free budwood in citrus past, present, and future. In: Price W.C., (Ed.). *Proceedings 4 th. Conference of the International Organization Of Citrus Virologists Univ. Florida Press, Gainesville*, 351-357 p.

Kütük B., 2011. Antalya ili turunçgil alanlarında psorosis virüsünün belirlenmesi, biyolojik ve moleküler karakterizasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi, 65 s., Isparta.

Murray M.G., Thompson W.F., 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8 (19), 4321-4325.

Norman P.A., 1963. Report to government of Turkey on citrus virus diseases. *FAO Report Rome*, No: 1641, 16 p.

Roistacher C.N., 1991. Psorosis complex: psorosis-A, psorosis-B and ringspot. In: *Graft-transmissible diseases of citrus, Handbook for Detection and Diagnosis*. Food, Agriculture Organization of the United Nations, FAO, Rome, Italy, 115-126 p.

Sánchez de la Torre E., Riva O., Zandomeni R., Grau O., Garcí'a M.L., 1998. The top component of citrus ringspot virus contains two ssRNAs, the smaller encodes the CP. *Molecular Plant Pathology*, Online [http://194.247.68.33/mppol/1998/1019\_sanchez/] (Erişim tarihi 07.06.2019).

Timmer L.W., Garnsey S.M., 1980. Natural spread of citrus ringspot virus in Texas and its association with psorosis-like diseases in Florida and Texas. In: Calavan E.C., Garnsey S.M.,

Timmer L.W., (Eds.). Proceedings of the 8th Conference of the International Organization of Citrus Virologists, Riverside, CA, USA: IOCV, 167–193.

TÜİK 2017. [www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr) (Erişim tarihi 07.06.2019).

Vaira A.M., Accotto G.P., Gago-Zachert S., Garcia M.L., Grau O., Milne R.G., Morikawa T., Torok V., Verbeek M., Vetten H.J., 2005. Ophiovirus. Type species Citrus psorosis virüs (CPsV). In: Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A., (Eds.). Virus Taxonomy, 8th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. London, UK: Elsevier, Academic Press, 673-679.

Velázquez K., Pina J.A., Navarro L., Moreno P., Guerr J., 2012. Association of citrus psorosis B symptoms with a sequence variant of the Citrus psorosis virus RNA2. *Plant Pathology*, 61 (3), 448–456.

Wallace J.M., 1968. Citrange stunt and ringspot, two previously undescribed virus diseases of citrus. In: Proceedings of the 4th Conference, IOCV. Univ. Florida Press, Gainesville, 177-183 p.

Cite this article: Fidancı, S, Önelge, N. (2020). Turunçgil Psorosis Virüsü (CPsV)'nün Çukurova bölgesinde dağılımı ve kılıf protein genine göre moleküler olarak tanılanması. *Plant Protection Bulletin*, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.618968

Atf için: Fidancı, S, Önelge, N. (2020). Distribution and molecular detection of Citrus psorosis virus (CPsV) based on coat protein gene in Cukurova region. *Bitki Koruma Bülteni*, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.618968

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Determination of aphid species (Hemiptera: Aphididae) on some weeds in Atatürk University Campus (Erzurum)

Atatürk Üniversitesi Kampüsü (Erzurum)'nde bazı yabancı otlar üzerinde bulunan afit (Hemiptera: Aphididae) türlerinin belirlenmesi

Gizem BAŞER<sup>a</sup>, Göksel TOZLU<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 25240, Erzurum, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.636070](https://doi.org/10.16955/bitkorb.636070)

Received : 22.10.2019

Accepted : 20.02.2020

Keywords:

aphid, Aphididae, fauna, weed, Erzurum, Turkey

\* Corresponding author: Göksel TOZLU

✉ [gtozlu@atauni.edu.tr](mailto:gtozlu@atauni.edu.tr)

### ABSTRACT

In this study, 29 aphid species were determined on some weeds grown in Atatürk University Campus (Erzurum) between July and August in years 2017-2018. Defined species included in 10 different genus of Aphididae were sampled from 32 different plant species belonging to 14 families. Among these determined species, *Uroleucon taraxaci* (Kaltenbach, 1843) had been identified as the new record for Turkey aphid fauna. With this new record, the number of species included in the aphid fauna of Turkey had increased to 571. The aphids biodiversity of Turkey shows the richness due to intercontinental transition region, geographical regions with different climates and diversity of flora. The result of this study clearly indicated the importance of such local studies for determination of the aphid fauna of Turkey.

## GİRİŞ

Afitler ülkemizde ve dünyanın birçok yerinde bitkilere doğrudan zarar vermeleri ve bitki hastalıklarının taşıyıcısı olmalarından dolayı ekonomik öneme sahip böceklerdir. Afitlerin yayılımı tür potansiyelleri ve küresel iklim değişikliklerini lehlerine çevirebilme potansiyelleri, üreme ve çoğalma stratejileri ile ekolojik çalışmalarda model organizma olmaları nedeniyle oldukça dikkat çekici bir grup oldukları düşünülmektedir (Görür et al. 2019a). Çok kısa zamanda yüksek popülasyon artışına neden olan sıra dışı bir yaşam döngüleri vardır. Yıl içinde çok sayıda nesile ulaşırlar.

Afitlerin en önemli özelliklerinden biri alarm feromonu salgılayan borucuklarının olmasıdır. Anüs yoluyla fazla bitki öz suyu ve şekerli maddeleri dışarı atar ve dışkıları tatlımsıdır. Bu yüzden bitki yüzeyi yapışkan bir hal alır. Şekerli maddelerden karıncalar ve saprofit mikroorganizmalar beslenirler. Beslenme sırasında salgılarından ve emgiden dolayı yapraklarda kıvrılma, çiçek tomurcuklarında sertleşme meydana gelerek çiçek ve yapraklarda tahribata neden olmaktadır. Emgileri sırasında başta virüsler olmak üzere bitki hastalık etmenlerini taşımaktadırlar. Ülkemizde

afit faunasıyla ilgili ilk çalışmalar Trotter (1903), Fahringer (1922), Houard (1922) ve Bodenheimer and Swirsky (1957) gibi yabancı araştırmacılar tarafından yapılmıştır. Düzgüneş ve Tuatay (1956) Türkiye afitleriyle ilgili ilk kapsamlı faunistik çalışmayı yapmışlardır. Daha sonraları günümüze kadar afitlerle ilgili çok sayıda araştırmacı tarafından birçok çalışma yapılmıştır (Çanakçıoğlu 1966, 1975, Tuatay and Remaudiere 1964, Giray 1974, Yiğit et al. 1982, Erkin 1983, Yumruktepe ve Uygun 1994, Tuatay 1999, Uygun et al. 2001, Toros et al. 2002, Öztürk ve Ulusoy 2003, Görür 2004, Aslan 2004, Şahbaz 2005, Ünal ve Özcan 2005, Özdemir et al. 2005, Altay ve Uysal 2005, Akyürek 2006, Şahin 2007, Demirözer 2008, Narmanlıoğlu ve Güçlü 2008, Çıraklı et al. 2008, Eser 2009, Görür et al. 2009, Toper Kaygın et al. 2009, Tepecik 2010, Günçan et al. 2010, Sangün 2010, Görür et al. 2011, Zeybekoğlu et al. 2011, Hazır et al. 2011, Çulcu ve Mart 2015, Şenol et al. 2015, Özdemir and Barjadze 2015, Kök et al. 2016, Kuloğlu et al. 2017, Bayındır Erol et al. 2018, Görür et al. 2019b, Kök ve Kasap 2019).

Türkiye, kıtalar arasında geçiş bölgesi olması, farklı iklim tiplerinin görülmesi, verimli tarım topraklarına sahip olması ve endemik bitki tür sayısının fazlalığı gibi sebeplerden dolayı afit faunasının zengin olması beklenen bir ülkedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda Türkiye afit faunası 570 türle temsil edilmeye başlanmıştır (Görür et al. 2020). Atatürk Üniversitesi Kampüsü araştırma sahası olarak seçilmiş ve buradaki afit türleri ile konukçu bitkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

Çalışmanın yapıldığı alan olarak Atatürk Üniversitesi Kampüsü (Erzurum) seçilmiştir. Bu alan içerisinde bulunan ve doğal olarak yetişen yabancı otlar ve bazı yem bitkileri üzerinde bulunan afitler örneklenmeye çalışılmıştır. 2017 ve 2018 yıllarında afit popülasyonlarının yoğun görüldüğü temmuz-ağustos aylarında tüm alandaki bitkiler temsilen taranmış ve üzerinde afit tespit edilenlerden örneklemeler yapılmıştır. Afitler %80'lik etil alkol bulunan Ependorf tüplerinin içerisine konulmuşlardır. Örneklemeye yapılırken mümkün olduğu oranda afitin bitkinin hangi kısmında beslendiği, koloni yoğunluğu, afitlerin bitki üzerindeki renkleri gibi özellikleri de not alınarak fotoğrafları çekilmiştir. Ayrıca, konukçu bitki örneklerinin de herbaryumları yapılmış ve teşhise hazır hale getirilmiştir. Bu örnekler Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Herbaryumu'nda muhafaza altına alınmışlardır. Örneklerin preparasyonları Martin (1983)'de belirtilen prensiplere göre yapılmıştır.

## SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Araştırma sahasında 29 tür (Çizelge 1) tespit edilmiştir. Aphididae'nin 10 farklı cinsi içerisinde yer alan bu türler, 14 familyaya mensup 32 farklı bitki türü (Çizelge 2) üzerinden örneklenmişlerdir. Türlerin Dünyadaki ve Türkiye'deki dağılımları ile incelenen materyalin bilgileri aşağıda verilmiştir.

Familiya: Aphididae

1. Altfamilya: Aphidinae

Tribus: Aphidini- Aphidina

*Aphis* Linnaeus, 1758

Araştırma alanında bu cinse ait 11 tür saptanmıştır.

*Aphis asclepiadis* Fitch, 1851

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis asclepiadis* 20.VII.2018 tarihinde *Cephalaria syriaca* L. (Dipsacaceae) (pelemir) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: ABD, Arjantin, Brezilya, Kanada, Kazakistan ve Peru (Blackman and Eastop 2019).

Türkiye'deki dağılımı: *Aphis carduella* adıyla Samsun'dan kayıt verilmiştir (Görür et al. 2012).

*Aphis cirsiphila* Pashtshenko, 1992

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis cirsiphila* 15.VII.2018 tarihinde *Cirsium arvense* (L.) Scop. (Asteraceae) (köygöçüren) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Rusya (Blackman and Eastop 2017) ve Sibirya (Blackman and Eastop 2019).

Türkiye'deki dağılımı: Adıyaman-Besni-Taşlıyazı Köyü (Görür et al. 2018).

*Aphis craccivora* Koch, 1854

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis craccivora* 13.VIII.2017 tarihinde *Cichorium intybus* L. (Asteraceae) (hindiba), *Chenopodium album* L. (Amaranthaceae) (sirken otu), *Sonchus oleraceus* L. (Asteraceae) (eşek marulu); 15.VIII.2017 ve 19.VII.2018 tarihlerinde *Medicago sativa* L. (Fabaceae) (yonca); 29.VIII.2017 tarihinde *Melilotus officinalis* (L.) Pall. (Fabaceae) (sarı taşyoncası), *Conyza canadensis* L. (Asteraceae) (şifa otu); 23.VII.2018 tarihinde *Cephalaria syriaca* L. (Dipsacaceae) (pelemir), *Onobrychis sativa* L. (Fabaceae) (korunga) üzerinden örneklenmiştir.

Çizelge 1. Atatürk Üniversitesi Kampüsü (Erzurum)'nde belirlenmiş olan afit türlerinin listesi

Familya	Alt familya	Tribus	Cins	Tür		
Aphididae	Aphidinae	Aphidini	<i>Aphis</i>	<i>Aphis asclepiadis</i> Fitch, 1851		
				<i>Aphis cirsiphila</i> Pashtshenko, 1992		
				<i>Aphis craccivora</i> Koch, 1854		
				<i>Aphis fabae</i> Scopoli, 1763		
				<i>Aphis gossypii</i> Glover, 1877		
				<i>Aphis grossulariae</i> Kaltenbach, 1843		
				<i>Aphis matricariae</i> Haliday, 1834		
				<i>Aphis maulensis</i> Mier Durante & Garcia Tejero, 2016		
				<i>Aphis nasturtii</i> Kaltenbach, 1843		
				<i>Aphis spiraecola</i> Patch, 1914		
				<i>Aphis verbasci</i> Schrank, 1801		
				Macrosiphini	<i>Ammiaphis</i>	<i>Ammiaphis sii</i> Koch, 1855
					<i>Brachycaudus</i>	<i>Brachycaudus cardui</i> Linnaeus, 1758
						<i>Brachycaudus divaricatae</i> Shaposhnikov, 1956
						<i>Brachycaudus helichrysi</i> Kaltenbach, 1843
						<i>Brachycaudus lateralis</i> Walker, 1848
						<i>Brachycaudus tragopogonis</i> Kaltenbach, 1843
					<i>Brevicoryne</i>	<i>Brevicoryne crambe</i> Bozhko, 1950
						<i>Brevicoryne nigrisiphunculata</i> Hodjat, 1981
	<i>Hayhurstia</i>	<i>Hayhurstia atriplicis</i> Linnaeus, 1761				
	<i>Macrosiphoniella</i>	<i>Macrosiphoniella tapuskae</i> Hottes&Frison, 1931				
	<i>Macrosiphum</i>	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> Thomas, 1878				
	<i>Nearctaphis</i>	<i>Nearctaphis bakeri</i> Cowen, 1895				
	<i>Uroleucon</i>	<i>Uroleucon aeneum</i> Hille Ris Lambers, 1939				
		<i>Uroleucon ambrosiae</i> Thomas, 1878				
		<i>Uroleucon combasitae</i> Theobald, 1915				
		<i>Uroleucon sonchi</i> Linnaeus, 1767				
		* <i>Uroleucon taraxaci</i> Kaltenbach, 1843				
Chaitophorinae	Atheroidini	<i>Sipha</i>	<i>Sipha maydis</i> Passerini, 1860			

\*Türkiye afit faunası için yeni kayıt

Çizelge 2. Belirlenen afit türlerinin konukçu dağılımları

Afit türleri	Konukçu bitki	
	Tür	Familiya
<i>Aphis asclepiadis</i> Fitch, 1851	<i>Cephalaria syriaca</i> L.	Dipsacaceae
<i>Aphis cirsiophila</i> Pashtshenko, 1992	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Asteraceae
<i>Aphis craccivora</i> Koch, 1854	<i>Medicago sativa</i> L.	Fabaceae
	<i>Cichorium intybus</i> L.	Asteraceae
	<i>Chenopodium albüm</i> L.	Amaranthaceae
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Asteraceae
	<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pall.	Fabaceae
	<i>Conyza canadensis</i> L.	Asteraceae
	<i>Cephalaria syriaca</i> L.	Dipsacaceae
	<i>Onobrychis sativa</i> L.	Fabaceae
	<i>Aphis fabae</i> Scopoli, 1763	<i>Cichorium intybus</i> L.
<i>Aphis gossypii</i> Glover, 1877	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Asteraceae
	<i>Rumex crispus</i> L.	Polygonaceae
<i>Aphis grassulariae</i> Kaltenbach, 1843	<i>Epilobium angustifolium</i> L.	Onagraceae
<i>Aphis matricariae</i> Haliday, 1834	<i>Tripleurospermum oreades</i> Boiss.	Asteraceae
<i>Aphis maulensis</i> Mier Durante&Garcia Tejero, 2016	<i>Euphorbia virgata</i> Waldst. & Kit.	Euphorbiaceae
<i>Aphis nasturtii</i> Kaltenbach, 1843	<i>Chenopodium albüm</i> L.	Amaranthaceae
	<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pall.	Fabaceae
	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Asteraceae
<i>Aphis spiraeicola</i> Patch, 1914	<i>Verbascum chiranthifolium</i> Boiss.	Scrophulariaceae
<i>Aphis verbasci</i> Schrank, 1801	<i>Falcaria vulgaris</i> Bernh.	Apiaceae
<i>Ammiaphis sii</i> Koch, 1855	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Asteraceae
<i>Brachycaudus cardui</i> L., 1758	<i>Echium vulgare</i> L.	Boraginaceae
	<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke.	Caryophyllaceae
	<i>Anchusa leptophylla</i> Roem.&Schult.	Boraginaceae
<i>Brachycaudus divaricatae</i> Shaposhnikov, 1956	<i>Anchusa</i> sp.	Boraginaceae
<i>Brachycaudus helichrysi</i> Kaltenbach, 1843	<i>Centaurea solstitialis</i> L.	Asteraceae
	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Asteraceae
	<i>Tragopogon dubius</i> Scop.	Asteraceae
<i>Brachycaudus lateralis</i> Walker, 1848	<i>Crambe orientalis</i> L.	Brassicaceae
<i>Brachycaudus tragopogonis</i> Kaltenbach, 1843	<i>Crambe orientalis</i> L.	Brassicaceae
<i>Brevicoryne crame</i> Bozhko, 1950	<i>Chenopodium vulgare</i> Gueldenst. ex Ledeb.	Chenopodiaceae
<i>Brevicoryne nigrisiphunculata</i> Hodjat, 1981	<i>Artemisia splendens</i> Willd	Asteraceae
<i>Hayhurstia atriplicis</i> L., 1761	<i>Cerinthe minor</i>	Boraginaceae
<i>Macrosiphoniella tapuskae</i> Hottes&Frison, 1931	<i>Trifolium pratense</i> L.	Fabaceae
<i>Macrosiphum euphorbiae</i> Thomas, 1878	<i>Trifolium</i> sp.	Fabaceae
<i>Nearctaphis bakeri</i> Cowen, 1895	<i>Trifolium repens</i> L.	Fabaceae
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Asteraceae
	<i>Centaurea solstitialis</i> L.	Asteraceae
<i>Uroleucon aeneum</i> Hille Ris Lambers, 1939	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Asteraceae
<i>Uroleucon ambrosiae</i> Thomas, 1878	<i>Chondrilla juncea</i> L.	Asteraceae
<i>Uroleucon compositae</i> Theobald, 1915	<i>Taraxacum officinale</i> L.	Asteraceae
<i>Uroleucon sonchi</i> Linnaeus, 1767	<i>Elytrigia repens</i> L.	Poaceae
<i>Uroleucon taraxaci</i> Kaltenbach, 1843	<i>Bromus inermis</i> Leys.	Poaceae
<i>Sipha maydis</i> Passerini, 1860		



Dünyadaki dağılımı: Kozmopolit bir türdür (Bodenheimer and Swirski 1957).

Türkiye'deki dağılımı: Adana, Antalya, Ankara, Aydın, Balıkesir, Bolu, Bursa, Burdur, Diyarbakır, Erzurum, Erzincan, Giresun, Hatay, İstanbul, Manisa, Mersin, Niğde, Urfa ve Van (Görür et al. 2012, Karacaoğlu et al. 2017, Toros et al. 2002).

*Aphis fabae* Scopoli, 1763

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis fabae* 12.VII.2017 tarihinde *Cichorium intybus* L. (Asteraceae) (hindiba) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Tropiklerin ve Orta Doğu'nun sıcak bölgeleri hariç genellikle tüm dünyada yayılış gösterirler (Blackman and Eastop 2000).

Türkiye'deki dağılımı: Neredeyse her bölgede yoğun bir yayılış gösterir (Aslan ve Uygun 2005, Bodenheimer and Swirski 1957, Çanakçıoğlu 1975, Toros et al. 2002, Tuatay 1993, Tuatay and Remaudiere 1964).

*Aphis gossypii* Glover, 1877

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis gossypii* 13.VII.2018 tarihinde *Cirsium arvense* (L.) Scop. (Asteraceae) (köygöçüren); 20.VII.2018 tarihinde ise *Rumex crispus* L. (Polygonaceae) (kıvırcık labada) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Kuzey Afrika, Almanya, Arap Yarımadası, Avusturya, Azerbaycan, Belçika, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Ermenistan, Fransa, Gürcistan, Irak, İran, İngiltere, İtalya, Kafkasya, Kıbrıs, Mısır, Romanya, Rusya ve Suriye (Önder et al. 2011).

Türkiye'deki dağılımı: Adana, Ankara, Artvin, Adıyaman, Aydın, Batman, Denizli, Diyarbakır, Elazığ, Erzurum, Hatay, İstanbul, Kayseri, Karabük, Konya, Mersin, Mardin, Niğde, Rize, Samsun ve Trabzon (Akyıldırım et al. 2011, Akyürek 2006, Altay ve Uysal 2005, Çıraklı et al. 2008, Çota 2007, Eser 2009, Hazır et al. 2011, Görür 2004, Ölmez-Bayhan et al. 2003, Ölmez-Bayhan et al. 2011, Özdemir ve Toros 1997, Şahin 2007, Tepecik 2010, Yoldaş et al. 2011).

*Aphis grossulariae* Kaltenbach, 1843

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis grossulariae* 20.VII.2018 tarihinde *Epilobium angustifolium* L. (Onagraceae) (yakıotu) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Avrupa, Amerika ve Kazakistan (Önder

et al. 2011).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara, Artvin ve Van (Önder et al. 2011).

*Aphis matricariae* Haliday, 1834

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis matricariae* 25.VIII.2017 tarihinde *Tripleurospermum oreades* (Boiss.) (Asteraceae) (hoşhoş otu) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Afro-Tropikal Bölge, Nearktik Bölge, Neotropikal Bölge ve Palaeartik Bölge (Achterberg 2017).

Türkiye'deki dağılımı: Adana, Adapazarı, Bursa, Bilecik, Diyarbakır, Edirne, Hatay, İzmit, İçel, İzmir ve Kahramanmaraş (Çetin Erdoğan et al. 2008). Çorum (Çetin Erdoğan et al. 2010).

*Aphis maulensis* Mier Durante & Garcia Tejero, 2016

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis maulensis* 17.VII.2018 tarihinde *Euphorbia virgata* Waldst. & Kit. (Euphorbiaceae) (çubuksu sütleğen) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Şili (Blackman and Eastop 2019).

Türkiye'deki Dağılımı: Adıyaman ve Malatya (Görür et al. 2018).

*Aphis nasturtii* Kaltenbach, 1843

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis nasturtii* 13.VIII.2017-22.VIII.2017 tarihlerinde *Melilotus officinalis* (L.) Pall. (Fabaceae) (sarı taşyoncası); 16.VII.2018 tarihinde *Chenopodium album* L. (Amaranthaceae) (sirken) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: ABD, Batı ve Kuzey Avrupa, Trans-Kafkasya ve Orta Asya Rusya (Holman 2009).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara, Bolu, İzmir, Isparta ve Erzurum (Giray 1974, Özdemir 2004, Yiğit et al. 1982).

*Aphis spiraeicola* Patch, 1914

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis spiraeicola* 16.VII.2018 tarihinde *Cirsium arvense* (L.) Scop. (Asteraceae) (köygöçüren) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Kuzey Amerika, Brezilya ve Japonya (Anonymous 2019).

Türkiye'deki dağılımı: Adana, Ankara, Bartın, Hatay, İstanbul, Kahramanmaraş ve Niğde (Aslan 2004, Bayındır 2003, Çota

2007, Düzgüneş et al. 1982, Ölmez 2000, Toros et al. 2002, Tuatay 1993, Tuatay and Remaudiere 1964, Yumruktepe ve Uygun 1994).

*Aphis verbasci* Schrank, 1801

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Aphis verbasci* 13.VIII.2017 ve 21.VII.2018 tarihlerinde *Verbascum cheiranthifolium* Boiss. (Scrophulariaceae) (bozkulak otu) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Kuzey Afrika, Kuzey Hindistan, Orta Asya, Orta Doğu ve Rusya (Anonymous 2019).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara, Artvin (Seyitler), Balıkesir (Erdek), Bolu, Bitlis (Aşağıkol), Elazığ ve Tunceli (Pertek) (Çanakçıoğlu 1975, Özdemir 2004, Tuatay ve Remaudiere 1964).

Tribe: Macrosiphini

*Ammiaphis* Börner, 1952

Araştırma alanında bu cinse ait 1 tür saptanmıştır.

*Ammiaphis sii* (Koch, 1855)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Ammiaphis sii* 16.VIII.2018 tarihinde *Falcaria vulgaris* Bernh. (Apiaceae) (orakotu) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Almanya, İran, Kafkasya ve Polonya (Özdemir 2004).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara (Akyurt) (Özdemir 2004).

*Brachycaudus* van der Goot, 1913

Araştırma alanında bu cinse ait 5 tür saptanmıştır.

*Brachycaudus cardui* (Linnaeus, 1758)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Brachycaudus cardui* 18.VIII.2017 tarihinde *Cirsium arvense* (L.) Scop. (Asteraceae) (köygöçüren) ve 22.VII.2018 tarihinde de *Echium vulgare* L. (Boraginaceae) (engerek otu) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Kuzey Amerika, Kuzey Afrika, Avrupa, Almanya, Avusturya, Azerbaycan, Bulgaristan, Ermenistan, Fas, Gürcistan, Irak, İran, İsrail, Japonya, Kafkasya, Kıbrıs, Mısır ve Suriye (Önder et al. 2011).

Türkiye'deki dağılımı: Artvin, Bartın, Adana, Diyarbakır, Denizli, Erzurum, Hatay, Isparta, İzmir, İstanbul, Kayseri, Karabük, Mersin, Samsun, Rize ve Trabzon (Akyıldırım et al. 2011, Akyürek 2006, Aslan 2004, Çıraklı et al. 2008, Çota

2007, Eser 2009, Hazır et al. 2011, Narmanlıoğlu ve Güçlü 2006, Ölmez-Bayhan et al. 2003, Şahin 2007, Tepecik 2010).

*Brachycaudus divaricatae* Shaposhnikov, 1956

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Brachycaudus divaricatae* 27.VIII.2017 tarihinde *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. (Caryophyllaceae) (gıvışgan otu, ecibücü) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Arap Yarımadası, Azerbaycan, Ermenistan, Gürcistan, Irak, İran, İsrail, Mısır, Suriye ve Ukrayna (Önder et al. 2011).

Türkiye'deki dağılımı: Kahramanmaraş (Afşin-Erçene) (Aslan ve Uygun 2005) ve Bitlis (Tatvan) (Tuatay and Remaudiere 1964).

*Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach, 1843)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Brachycaudus helichrysi* 15.VIII.2017 tarihinde *Anchusa* sp. ve *Anchusa leptophylla* Roem & Schult. (Boraginaceae) (ballık otu); 21.VIII.2017 tarihinde ise *Centaurea solstitialis* L. (Asteraceae) (çakır diken) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Kuzey Afrika, Almanya, Azerbaycan, Belçika, Bulgaristan, Ermenistan, Estonya, Fransa, İngiltere, Irak, İran, İtalya, Kıbrıs, Mısır, Rusya ve Suriye (Önder et al. 2011).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara, Adana, Artvin, Bartın, Denizli, Diyarbakır, Erzurum, Gaziantep, Hatay, Isparta, İzmir, İstanbul, Kayseri, Mardin, Niğde, Rize ve Trabzon (Akyıldırım et al. 2011, Aslan 2004, Çıraklı et al. 2008, Çota 2007, Erkin 1983, Eser 2009, Görür et al. 2009, Hazır et al. 2011, Ölmez-Bayhan et al. 2003, Şahin 2007, Tepecik 2010).

*Brachycaudus lateralis* (Walker, 1848)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Brachycaudus lateralis* 17.VII.2018 tarihinde *Cirsium echinus* (L.) Scop. (Asteraceae) (kirpi kangalı) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Avrupa (Önder et al. 2011).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara (Önder et al. 2011).

*Brachycaudus tragopogonis* (Kaltenbach, 1843)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Brachycaudus tragopogonis* 12.VII.2018 tarihinde *Tragopogon dubius* Scop. (Asteraceae) (at yemliği) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Güney İngiltere ve Avrupa'nın büyük

bir kısmında (Anonymous 2019).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara (Anonymous 2019).

*Brevicoryne* van der Goot, 1915

Araştırma alanında bu cinse ait 2 tür saptanmıştır.

*Brevicoryne crambe* Bozhko, 1950

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Brevicoryne crambe* 11.VII.2018 tarihinde *Crambe orientalis* L. (Brassicaceae) (akyumak) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Bulgaristan, Macaristan, Romanya ve Ukrayna (Blackman and Eastop 2019).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara (Özdemir et al. 2005).

*Brevicoryne nigrisiphunculata* Hodjat, 1981

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Brevicoryne nigrisiphunculata* 23.VII.2018 tarihinde *Crambe orientalis* L. (Brassicaceae) (akyumak) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Ermenistan, İran ve Ukrayna (Blackman and Eastop 2019).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara, Niğde ve Malatya (Görür et al. 2018).

*Hayhurstia* del Guercio, 1917

Araştırma alanında bu cinse ait 1 tür saptanmıştır.

*Hayhurstia atriplicis* Linnaeus, 1761

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Hayhurstia atriplicis* 13.VII.2018 tarihinde *Chenopodium vulgare* Gueldenst. ex Ledeb. (Chenopodiaceae) (kokar sirken) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Avrupa, Fas, İsrail, Orta Doğu Ülkeleri, Orta Asya ve Rusya (Bodenheimer and Swirski 1957).

Türkiye'deki dağılımı: Uşak (Görür et al. 2014).

*Macrosiphoniella* del Guercio, 1911

Araştırma alanında bu cinse ait 1 tür saptanmıştır.

*Macrosiphoniella tapuskae* Hottes&Frison, 1931

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Macrosiphoniella tapuskae* 28.VIII.2017 tarihinde *Artemisia splendens* Willd. (Asteraceae) (ocak yavşanı) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Avrupa, Güney Rusya, Orta Asya, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika ve Arjantin (Blackman and Eastop 2019).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara, Bitlis, Niğde ve Van (Önder et al. 2011).

*Macrosiphum* Passerini, 1860

Araştırma alanında bu cinse ait 1 tür saptanmıştır.

*Macrosiphum euphorbiae* Thomas, 1878

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Macrosiphum euphorbiae* 17.VIII.2017 tarihinde *Cerithe minor* (Boraginaceae) (cücegözü) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Afrika, Amerika, Almanya, Belçika, Bulgaristan, Irak, İsrail, Macaristan, Mısır, Romanya, Portekiz, Rusya, Suriye ve Yunanistan (Önder et al. 2011).

Türkiye'deki dağılımı: Adana, Amasya, Erzurum, Hatay, İzmir, Sakarya (İyriboz 1938). Ankara ve İstanbul (Önder et al. 2011).

*Nearctaphis* Shaposhnikov, 1950

Araştırma alanında bu cinse ait 1 tür saptanmıştır.

*Nearctaphis bakeri* Cowen, 1895

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Nearctaphis bakeri* 19.VII.2018 tarihinde *Trifolium repens* L. (Fabaceae) (ak üçgül) 14.VIII.2017 tarihinde *Trifolium* sp. ve *Trifolium pratense* L. (Fabaceae) (kırmızı yonca) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Kuzey Amerika'da yaygın olan bu tür Afganistan, Hindistan, İran, Japonya ve Mısır (Blackman and Eastop 2000).

Türkiye'deki dağılımı: Adana (Toros et al. 2002).

*Uroleucon* Mordvilko, 1914

Araştırma alanında bu cinse ait 5 tür saptanmıştır.

*Uroleucon aeneum* (Hille Ris Lambers, 1939)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Uroleucon aeneum* 29.VIII.2017 tarihinde *Sonchus oleraceus* (eşek marulu) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Avrupa genelinde, Ermenistan, Kazakistan ve Sibirya (Görür et al. 2009, Özdemir et al. 2006).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara ve Trabzon (Akçaabat) (Görür et al. 2009, Özdemir et al. 2006).

*Uroleucon ambrosiae* (Thomas, 1878)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Uroleucon ambrosiae* 12.VIII.2017 tarihinde *Centaurea solstitialis* L. (Asteraceae) (çakırdikeni) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Cezayir, Tunus, Kuzey ve Orta Amerika ile Güney Amerika'nın bir bölümünde (Görür et al. 2014, 2019b).

Türkiye'deki dağılımı: Afyonkarahisar, Kütahya, Malatya, Trabzon (Görür et al. 2014, 2019b).

*Uroleucon compositae* Theobald, 1915

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Uroleucon compositae* 13.VIII.2017 tarihinde *Sonchus oleraceus* L. (Asteraceae) (eşek marulu) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Afrika, Güney Amerika, Hindistan, Sicilya ve Tayvan (Blackman and Eastop 1994).

Türkiye'deki dağılımı: Artvin, Adıyaman, Malatya, Rize, Şanlıurfa ve Trabzon (Görür et al. 2014, 2019b).

*Uroleucon sonchi* (Linnaeus, 1767)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Uroleucon sonchi* 14.VIII.2017 tarihinde *Chondrilla juncea* L. (Asteraceae) (akhindiba) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Kuzey ve Güney Amerika, Kuzey Afrika, Almanya, Avusturya, Azerbaycan, Bulgaristan, Ermenistan, Irak, İtalya, Mısır ve Suriye (Önder et al. 2011).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara, Adana, Antalya, Aydın, Diyarbakır, Edirne, Çanakkale, İstanbul, Hatay, İzmir, Kırklareli ve Sakarya (Çobanoğlu 2000, Ölmez 2000, Tuatay 1991).

*Uroleucon taraxaci* (Kaltenbach, 1843)

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Uroleucon taraxaci* 19.VIII.2017 ve 11.VII.2018 tarihlerinde *Taraxacum officinale* L. (Asteraceae) (karahindiba) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Kuzey Amerika, Asya'nın bazı bölgeleri ve İngiltere (Anonymous 2019).

Türkiye'deki dağılımı: Türkiye faunası için yeni kayıt olduğu bu çalışma ile tespit edilmiştir.

2. Altfamilya: Chaitophorinae

Tribus: Atheroidini

*Sipha* Passerini, 1860

Araştırma alanında bu cinse ait 1 tür saptanmıştır.

*Sipha maydis* Passerini, 1860

İncelenen materyal: Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *Sipha maydis* 22.VII.2018 tarihinde *Elytrigia repens* L. (Poaceae) (ayrık otu); 25.VII.2018 tarihinde *Bromus inermis* Leyss. (Poaceae) (kılçıksız brom) üzerinden örneklenmiştir.

Dünyadaki dağılımı: Akdeniz, Avrupa, Güney Afrika, Orta Doğu, Hindistan, Pakistan ve Orta Asya (Özdemir 2004).

Türkiye'deki dağılımı: Ankara (Özdemir 2004).

Türkiye'nin sahip olduğu biyoçeşitlilik, kıtalar arasında geçiş bölgesi olması ve tarımsal ürünlerin ekonomik önem taşımamasından dolayı yapılan afit faunası belirleme çalışmaları önem arz etmektedir. Afitlerin en önemli tarım zararlısı gruplardan birini oluşturmaları, küresel ısınma nedeniyle tarımsal ürünlere verecekleri zarar oranlarını ve yayılım alanlarını genişletecek olmaları, ülkemizin küresel ısınmadan en çok etkilenen ülkelerden birisi konumunda yer alması, genelinde Doğu Anadolu Bölgesi'nin hem floristik açıdan hem de tarımsal ürün çeşitliliği açısından değişime uğrama ihtimalinin yüksek olması afit faunasıyla ilgili benzer çalışmaların önemini artırmaktadır. Belirtilen bu değişimler istilacı ve yayılımcı afit türlerinin ülkemizde bulunma oranını da ayrıca artırmaktadır (Akyıldırım Beğen 2013, Görür et al. 2018, Türkeş 2017). Sadece Atatürk Üniversitesi Kampüs alanında bazı yabancı otlar üzerinde bulunan afit türlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada bile 29 afit türünün tespit edilmesi ve bunlardan *Uroleucon taraxaci* türünün yeni kayıt olarak ülkemiz faunasına kazandırılmış olması, detaylı çalışmalar yapıldığında Erzurum ilinden Türkiye afit faunasına oldukça fazla sayıda katkıda bulunulacağı yaklaşımını güçlendirmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gizem BAŞER'in Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda 2019 yılında kabul edilen "Atatürk Üniversitesi Kampüsü (Erzurum)'nde Bazı Yabancı Otlar Üzerinde Bulunan Afrit (Hemiptera: Aphididae) Türlerinin Belirlenmesi" adlı Yüksek Lisans Tezi'nin bir bölümüdür. Afritlerin teşhisini yapan Prof. Dr. Gazi GÖRÜR ve Dr. Öğr. Üyesi Özhan ŞENOL ile konukçu bitkilerin teşhisini yapan Prof. Dr. İrfan ÇORUH ve Dr. Öğr. Üyesi Hayal AKYILDIRIM BEĞEN'e teşekkür ederiz.

## ÖZET

2017-2018 yılları temmuz-ağustos aylarında Atatürk Üniversitesi Kampüsü (Erzurum)'da bazı yabancı otlar üzerinde bulunan afit türlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada 29 tür tespit edilmiştir. Aphididae'nin 10 farklı cinsi içerisinde yer alan bu türler, 14 familyaya mensup 32 farklı bitki türü üzerinden örneklenmişlerdir. Belirlenen türlerden *Uroleucon taraxaci* (Kaltenbach, 1843) Türkiye afit faunası için yeni kayıttır. Bu yeni kayıtla birlikte Türkiye afit faunasının içerdiği tür sayısı 571'e yükselmiştir. Türkiye'nin sahip olduğu afit biyoçeşitliliği, kıtalar arası geçiş bölgesi olması, farklı iklim karakterlerine sahip coğrafik bölgelerinin bulunması ve bitki florasının çeşitliliğinden dolayı zenginlik göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları, Türkiye afit faunasının belirlenmesi için lokal çalışmaların önemini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: afit, Aphididae, fauna, yabancı ot, Erzurum, Türkiye

## KAYNAKLAR

Achterberg C van., 2017. Fauna Europaea: Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae. Fauna Europaea version. <https://fauna-eu.org> (Erişim tarihi: 25.09.2019).

Akyıldırım H., Tepecik İ., Görür G., 2011. Büyükada (İstanbul) ilçesinde bitkilere zarar yapan afit (Hemiptera: Aphidoidea) türleri. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş, 195 s.

Akyıldırım Beğen H., Görür G., Şenol Ö., Demirtaş E., 2013. Türkiye afit (Hemiptera, Aphidoidea) faunası ve işgalci elemanlarının zoocoğrafik yapısının değerlendirilmesi. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 6 (1), 44-48.

Akyürek B., 2006. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kurupelit Kampüs alanı afit türlerinin belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 195 s., Samsun.

Altay H., Uysal M., 2005. Selçuk Üniversitesi (Konya) Alaeddin Keykubat Kampüs alanında görülen Aphidoidea (Homoptera) türleri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19 (37), 92-99.

Anonymous, 2019. InfluentialPoints (services for ecologists, medics and veterinarians). <https://influentialpoints.com> (Erişim tarihi: 15.08.2019).

Aslan B., 2004. Isparta ili ve ilçelerinde meyve ağaçlarında zararlı yaprakbiti (Homoptera: Aphidoidea) türleri ve doğal düşmanları. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri

Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 65 s., Isparta.

Aslan M.M., Uygun N., 2005. The aphids (Homoptera: Aphididae) of Kahramanmaraş province, Turkey. Turkish Journal of Zoology, 29 (3), 201-209.

Bayındır N., 2003. Niğde ili ve çevresinde sebzelerde zararlı olan afit (Insecta: Homoptera: Aphidoidea) türlerinin belirlenmesi. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 67 s., Niğde.

Bayındır Erol A., Arzuman Ş., Özdemir I., Karaca İ., 2018. Isparta ili kampüs alanları içerisinde belirlenen yaprakbiti (Hemiptera: Aphididae) türleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 22 (2), 1045-1053.

Blackman R.L., Eastop V.F., 1994. Aphids on the world's trees: an identification and information guide, CAB International, 1012 p.

Blackman R.L., Eastop V.F., 2000. Aphids on the World's Crops, John Wiley & Sons Ltd. Baffins Lane Chichester. Second Edition, 474 p.

Blackman R.L., Eastop V.F., 2019. Aphids on the world's plants: an online identification and information guide. <http://www.aphidsonworldsplants.info> (Erişim tarihi:13.07.2019).

Bodenheimer F.S., Swirski E., 1957. The Aphidoidea of the Middle East, Weizmann Science Press of Israel, Jerusalem, 378 p.

Çanakçıoğlu H., 1966. Türkiye'de orman ağaçlarına arız olan yaprak bitleri (Aphidoidea) üzerine araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 16 (2), 131-139.

Çanakçıoğlu H., 1975. The Aphidoidea of Turkey. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, Yayın No: 189, 309 s.

Çetin Erdoğan Ö., Tomanovic Z., Beyarslan A., 2008. New aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in the region of Marmara. Acta Entomologica Serbica, 13 (1/2), 85-88.

Çetin Erdoğan Ö., Tomanovic Z., Beyarslan A., 2010. New distributional records on the subfamily Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae) in Black Sea Region, Turkey. Linzer Biologische Beiträge, 42 (1), 613-616.

Çıraklı A., Görür G., Işık I., 2008. Denizli il merkezinde tespit edilen afit (Hemiptera: Aphidoidea) türleri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22 (44), 12-18.

Çobanoğlu S., 2000. Aphididae (Hom.) species of Edirne province (thrace part of Turkey). Entomologist's monthly



magazine, 45-52 p.

Çota F., 2007. Bartın yöresi Aphidoidea türleri üzerine araştırmalar. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği Bölümü, Yüksek Mühendislik Tezi, 120 s., Zonguldak.

Çulcu M., Mart C., 2015. Gaziantep ve Şanlıurfa illerinde *Pistacia* sp. yapraklarında gal oluşturan yaprak biti türleri. Bitki Koruma Bülteni, 55 (3), 171-185.

Demirözer O., 2008. Isparta ili yağ gülü (*Rosa damascena* Miller) üretim alanlarında bulunan zararlılar, yayılışları, doğal düşmanları ve önemlerinin popülasyon değişimleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 153 s., Isparta.

Düzgüneş Z., Tuatay N., 1956. Türkiye Aphid'leri. Ankara Zirai Mücadele Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Sayı 4, 63 s.

Düzgüneş Z., Toros S., Kılınçer N., Kovancı B., 1982. Ankara ilinde bulunan Aphidoidea türlerinin parazit ve predatörlerinin tespiti. Tarım ve Orman Bakanlığı, Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, 251 s.

Erkin E., 1983. Investigations on the hosts distribution efficiency on the natural enemies of the family Aphididae (Homoptera) harmful to pome and stone fruit trees in İzmir province of Aegean Region. Türkiye Bitki Koruma Dergisi, 7 (1), 29-49.

Eser S., 2009. İzmir ili Urla ilçesindeki bitkilerde zarar yapan afit (Hemiptera: Aphidoidea) türlerinin belirlenmesi. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 90 s., Niğde.

Fahringer J., 1922. Eine Rhyncotenausbeute der Turkei, Kleinasien und den benachbarten Gebieten, Konowia 1, 296-307, Afididae: 304-305.

Giray H., 1974. İzmir ili çevresinde Aphididae (Homoptera) familyası türlerine ait ilk liste ile bunların konukçu ve zarar şekilleri hakkında notlar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2 (1), 39-68.

Görür G., 2004. Aphid (Homoptera: Aphididae) species on pome fruit trees in Niğde Province of Turkey. Türkiye Entomoloji Dergisi, 28 (1), 21-26.

Görür G., Zeybekoğlu Ü., Akyürek B., Işık M., Akyıldırım H. 2009. Trabzon, Rize ve Artvin illerinin afit (Homoptera: Aphididae) faunasının belirlenmesi. Proje No: Tübitak 107T450, 223.

Görür G., Akyıldırım H., Akyürek B., Olcabey G., 2011. A contribution to the knowledge of the Turkish aphid (Hemiptera: Aphidoidea) fauna. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 41, 185-188.

Görür G., Akyıldırım H., Olcabey G., Akyürek B., 2012. The Aphid fauna of Turkey: an updated checklist. Archives of Biological Science Belgrade, 64 (2), 675-692.

Görür G., Şenol Ö., Akyıldırım H., Demirtaş E., 2014. New entry for the Turkey aphidofauna [Hemiptera: Aphidoidea]. Acta Zoologica Bulgarica, 66 (1), 133-136.

Görür G., Şenol Ö., Akyıldırım Beğen H., Gezici G., Parmaksız D., 2018. Adıyaman, Şanlıurfa, ve Malatya illeri afit faunasının belirlenmesi. Tübitak Proje No: 115Z325.

Görür G., Şenol Ö., Akyıldırım Beğen H., 2019a. Adıyaman, Malatya ve Şanlıurfa illerinden belirlenen afit türlerinin Türkiye afit faunasına katkıları açısından değerlendirilmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi, 45 (2), 103-115.

Görür G., Akyıldırım Beğen H., Şenol Ö., 2019b. *Cinara* (Hemiptera: Aphidoidea) species distributed in Turkey and their host plants. Turkish Journal of Biodiversity, 2/1 (Mart 2019), 24-33.

Görür G., Şenol Ö., Akyıldırım Beğen H., Akyürek B., 2020. Foresights derived from recent studies conducted on Turkey aphid fauna. Atatürk University Journal of Agricultural Faculty, 51 (1), 63-68.

Günçan A., Yoldaş Z., Madanlar N., 2010. İzmir'de şeftali bahçelerinde bulunan yaprakbiti (Hemiptera: Aphididae) türleri ve doğal düşmanları üzerinde araştırmalar. Türkiye Entomoloji Dergisi, 34 (3), 399-408.

Hazır A., Yurtmen M., Özdemir I., Aksoy E., 2011. Doğu Akdeniz Bölgesi sert çekirdekli meyve bahçelerinde ve yabancı otlarda Aphididae (Hemiptera: Aphididae) tür kompozisyonu ve şarka virüsünün potansiyel afit vektörleri. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 28-30 Haziran, 2011, Kahramanmaraş, 226 s.

Holman J., 2009. Host plant catalog of aphids, palaearctic region. Springer, Branisovska, ISBN: 978-1-4020-8285- 6, 1216 pp.

Houard C., 1922. Les zoocécidies des plantes d'Afrique, d'Asie et d'Océanie. Tome premier. Cryptogames, Gymnospermes, Monocotylédones, Dicotylédones (1re partie). Librairie scientifique Jules Hermann, Paris, 496 p.

İyriboz N., 1938. Bağ hastalıkları. Ziraat Vekaleti Neşriyatı,



Pamuk Bürosu, Ankara, 493 s.

Karacaoğlu M., Satar G., Uygun N., Satar S., 2017. Ara ekimin yaprakbitlerine karşı turuncgil bahçelerinde kullanımı. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 8 (2),125-146.

Kök Ş., Kasap İ., 2019. Aphid (Hemiptera: Aphididae) species of the South Marmara region of Turkey including the first record of *Dysaphis radicola meridialis* Shaposhnikov, 1964 for the aphid fauna of Turkey. Türkiye Entomoloji Dergisi, 43 (1), 63-78.

Kök Ş., Kasap İ., Özdemir I., 2016. Aphid (Hemiptera: Aphididae) species determined in Çanakkale province with a new record for the aphid fauna of Turkey. Türkiye Entomoloji Dergisi, 40 (4), 397-412.

Kuloğlu İ., Özder N., 2017. Aphids (Hemiptera: Aphididae) on ornamental plants from Yalova province, Turkey. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5 (2), 69-72.

Martin J.H., 1983. The identification of common aphid pests of tropical agriculture. Tropical Pest Management 29 (4), 395-411.

Narmanlıoğlu H., Güçlü Ş., 2008. İspir (Erzurum) ilçesinde meyve ağaçlarında bulunan yaprak biti türleri (Homoptera: Aphididae) ve doğal düşmanları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 39 (2), 225-229.

Ölmez S., 2000. Diyarbakır ilinde Aphidoidea (Homoptera) türleri ile bunların parazitoit ve predatörlerinin saptanması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 109 s., Adana.

Ölmez Bayhan S., Ulusoy M.R., Toros S., 2003. Determination of Aphididae (Homoptera) fauna of Diyarbakır province of Turkey. Türkiye Entomoloji Dergisi, 27 (4), 253-268.

Ölmez Bayhan S., Özdemir I., Bayhan E., 2011. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin otsu bitkilerinde bulunan yaprakbiti türleri (Hemiptera: Aphididae). Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş, 306 s.

Önder F., Tezcan S., Karsavuran Y., Zeybekoğlu Ü., 2011. Türkiye Cicadomorpha, Fulgoromorpha ve Sternorrhyncha (Insecta: Hemiptera) kataloğu. Meta Basım, Bornova, İzmir, 168 s.

Özdemir I., 2004. Ankara ilinde otsu bitkilerde saptanan Aphidoidea türleri üzerinde taksonomik araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 188 s., Ankara.

Özdemir Ö., Toros S., 1997. Ankara parklarında mevsimlik süs bitkilerinde zararlı Aphidoidea (Homoptera) türleri. Türkiye Entomoloji Dergisi, 21 (4), 283-298.

Özdemir I., Barjadze S., 2015. Some new records of aphid species (Hemiptera: Aphididae) from the Middle East and the Caucasus. Turkish Journal of Zoology, 39 (4), 712-714.

Özdemir I., Remaudiere G., Toros S., Kılınçer N., 2005. New aphid records from Turkey including the description of a new *Lachnus* species (Hemiptera: Aphididae). Revue Francaise d'Entomologie, 27 (3), 97-102.

Özdemir I., Toros S., Kılınçer A.N., Gürkan M.O., 2006. A survey of Aphididae (Homoptera) on wild plants in Ankara, Turkey. Ekoloji, 15 (58), 1-6.

Öztürk M., Ulusoy R., 2003. Mersin ili kayıslarında saptanan zararlılar. Alatarım, 2 (2), 21-26.

Sangün O., 2010. Doğu Akdeniz Bölgesi marul ekim alanlarında zararlı olan Aphidoidea (Hemiptera) türleri ve bunların mücadelesine yönelik araştırmalar. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 60 s., Adana.

Şahbaz A., Uysal M., 2005. Konya ilinde kavaklarda beslenen yaprakbitlerinin (Homoptera: Aphididae) predatör ve parazitoitleri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20 (38), 119-125.

Şahin M., 2007. Kayseri merkez afit (Hemiptera: Aphidoidea) faunasının belirlenmesi. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 92 s., Niğde.

Şenol Ö., Akyıldırım Beğen H., Görür G., Demirtaş E., 2015. New additions and invasive aphids for Turkey's aphidofauna (Hemiptera: Aphidoidea). Turkish Journal of Zoology, 39 (1), 39-45.

Tepecik İ., 2010. Karabük ilinin afit faunasının belirlenmesi. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 128 s., Niğde.

Toper Kaygın A., Görür G., Çota Sade F., 2009. Aphid (Hemiptera: Aphididae) species determined on herbaceous and shrub plants in Bartın Province in Western Blacksea Region of Turkey. African Journal of Biotechnology, 8 (12), 2893-2897.

Toros S., Uygun N., Ulusoy R., Satar S., Özdemir I., 2002. Doğu Akdeniz Bölgesi Aphidoidea Türleri. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara, 108 s.

Trotter A., 1903. Galle della Penisola Balcanica e Asia Minore. Nuovo Giornale Botanico Italiano, 10, 202-232.

Tuatay N., 1991. Türkiye yaprakbitleri (Homoptera: Aphididae) III. Aphidinae: Macropsophini (III. Kısım). Bitki Koruma Bülteni, 31 (1-4), 3-18.

Tuatay N., 1993. Türkiye yaprakbitleri (Homoptera: Aphididae) IV. Aphidinae: Macrosiphini (IV. Kısım). Bitki Koruma Bülteni, 33 (3-4), 83-106.

Tuatay N., 1999., Türkiye yaprakbitleri (Homoptera: Aphididae) V. Chaitophorinae, Lachninae ve Thelaxinae. Bitki Koruma Bülteni, 39 (1-2), 1-21.

Tuatay N., Remaudiere G., 1964. Premiere contribution au catalogue des Aphididae (Homoptera) de la Turquie. Revue de Pathologie Vegetale et d'Entomologie Agricole de France, 43 (4), 243-278.

Türkeş M., 2017. Türkiye'nin iklimsel değişkenlik ve sosyo-ekolojik göstergeler açısından kuraklıktan etkilenebilirlik ve risk çözümlemesi. Ege Coğrafya Dergisi, 26 (2), 47-70.

Uygun N., Toros S., Ulusoy M.R., Satar S., Özdemir I., 2001. Doğu Akdeniz Bölgesi Aphidoidea (Homoptera) türleri ve bunların parazitoit ve predatörlerinin saptanması. Bilim Teknoloji Araştırma Kurumu Tarım ve Orman Araştırma Grubu Proje No: TÜBİTAK-TOGTAG 1720, 214 s.

Ünal S., Özcan E., 2005. Kastamonu yöresi Aphididae (Homoptera) türleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 1 (A), 76-83.

Yiğit A., Uygun N., 1982. Adana, İçel ve Kahramanmaraş illeri elma bahçelerinde zararlı ve yararlı faunanın saptanması üzerine çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 22 (4), 163-178.

Yoldaş Z., Günçan A., Koçlu T., 2011. Seasonal occurrence of aphids and their natural enemies in Satsuma mandarin orchards in İzmir, Turkey. Türkiye Entomoloji Dergisi, 35 (1), 59-74.

Yumruktepe R., Uygun N., 1994. Doğu Akdeniz Bölgesi turuncgil bahçelerinde saptanan (Homoptera: Aphididae) türleri ve doğal düşmanları. Türkiye III. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, 25-28 Ocak 1994, İzmir, 1-12.

Zeybekoğlu Ü., Akyürek B., Görür G., 2011. Samsun ilinin afit (Homoptera: Aphididae) faunasının belirlenmesi. Entomolojik Araştırmalar Derneği Dergisi, 13 (3), 101-106.

Cite this article: Başer, G, Tozlu, G. (2020). Determination of aphid species (Homoptera: Aphididae) on some weeds in Atatürk University Campus (Erzurum). Plant Protection

Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.636070

Atf için: Başer, G, Tozlu, G. (2020). Atatürk Üniversitesi Kampüsü (Erzurum)'da bazı yabancı otlar üzerinde bulunan afit (Homoptera: Aphididae) türlerinin belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.636070

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Essential oil composition and insecticidal activity of *Satureja boissieri* against *Sitophilus granarius* (Coleoptera:Curculionidae) and *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae)

*Satureja boissieri*'nin *Sitophilus granarius* (Coleoptera:Curculionidae) ve *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae)'e insektisidal aktivitesi ve uçucu yağ kompozisyonu

Ömer Cem KARAKOÇ<sup>a</sup>, Ali Rıza TÜFEKÇİ<sup>b</sup>, Fatih GÜL<sup>b</sup>, Serkan KOLDAŞ<sup>b</sup>, Mustafa ALKAN<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Çankırı Karatekin University, Yapraklı Vocational School, Department of Crop and Animal Protection, Çankırı, Turkey

<sup>b</sup>Çankırı Karatekin University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Çankırı, Turkey

<sup>c</sup>Plant Protection Central Research Institute, Department of Entomology, Ankara, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.617362](https://doi.org/10.16955/bitkorb.617362)

Received : 09.09.2019

Accepted : 15.06.2020

Keywords:

fumigant activity, contact toxicity, GC-MS, Lamiaceae, fractions, column chromatography

\* Corresponding author: Ömer Cem KARAKOÇ

✉ [omercem78@hotmail.com](mailto:omercem78@hotmail.com)

### ABSTRACT

In the scope of this study, we have investigated fumigant and contact toxicity effects of *Satureja boissieri* Hausskn. ex Boiss. essential oil against *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) and *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). The fumigant and contact toxicity experiments were carried out with the adults of *Sitophilus granarius* whereas the contact toxicity experiment was carried out with the 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> larvae of *S. littoralis*. Also, various fractions of *S. boissieri* essential oil were investigated for fumigant activity against *S. granarius*. In fumigant toxicity studies, the highest activity was obtained at 36 hours with a dose of 0.1 µl/ml with a 100% mortality rate. Fractions of the essential oil had significant fumigant activity on *S. granarius* (100% fumigant activity at 0.1 µl/ml). Contact toxicity of 100 µl/ml essential oil on the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> larval stage of *S. littoralis*, was determined to be 100%, however, on the 5<sup>th</sup> larval stage it was 90.17%. The activity at 25 µl/ml dose was 71.12% in the 3<sup>rd</sup> larval stage whereas the activity remained very low (6.39- 22.20%) in other larval stages. These results indicated that essential oil of *S. boissieri* have significant potential which merits to be studied further in possible applications as fumigant and contact insecticide in the control of *S. granarius* and *S. littoralis*.

### INTRODUCTION

There are 574 species and 741 taxa belonging to the Lamiaceae family in Turkey (Davis 1982, Erik and Tarikahya 2004).

Many important genus including *Satureja* sp., *Origanum* sp., *Thymus* sp. that have extensive uses such as tea, spice

are members of Lamiaceae family (Kurkcuoglu et al. 2001). In Turkey, genus *Satureja* has 15 species, five of which are endemic. Previous reports indicate that essential oils obtained from plants belonging to the genus *Satureja* have various activities (i.e., antioxidant, antimicrobial, antibacterial, and antidiabetes) (Azaz et al. 2002, Ayvaz et al. 2010, Momtaz and Abdollahi 2010). In addition, the insecticidal activities of essential oils from *Satureja* species on insects have been reported by some other researchers (Maede et al. 2011, Taban et al. 2017, Tozlu et al. 2011). *Satureja boissieri* (Lamiales: Lamiaceae) is distributed in Adiyaman, Bingöl, and Malatya in Turkey and is not an endemic species (Davis 1982). The main components of essential oils obtained from *S. boissieri* were previously reported to be thymol, carvacrol,  $\gamma$ -terpinene and *p*-cymene (Kurkcuoglu et al. 2001). However, the quantities and respective ratios of the main components vary according to the regions and geographical locations (Kurkcuoglu et al. 2001, Sajjadi and Baluchi 2002, Sefidkon and Jamzad 2006). *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) is a polyphagous pest, which spreads over a wide area in Turkey (Aydin and Gurkan 2006). This pest can cause a high-level loss in vegetables and fruits as well as in industrial and field crops with high economic value (Ünlü and Kornoşor 2003, Yıldırım and Başpınar 2008). Significant quality and quantitative losses are observed due to biotic and abiotic factors in agricultural products. Therefore, there is an increasing need for new effective substances and new strategies to be used in pest management. Microorganisms, rodents and harmful insects cause large losses in stored products due to the lack of adequate protection measures in grain storages. *Sitophilus granarius* L. (Curculionidae: Coleoptera) is one of the primary pests causing damage in stored cereal crops (Karakoç et al. 2006). Shaaya et al. (1997) reported that in countries where modern storage techniques is not present, the losses from insects in grains and legumes can reach up to 40%.

In the scope of this study, insecticidal activity and chemical composition of essential oil obtained from *S. boissieri* was determined. Previously, there is no report on the insecticidal activity of *S. boissieri* against *S. littoralis* and *S. granarius* in the literature. Therefore, the insecticidal activity studies carried out against these pest species are reported for the first time.

## MATERIALS AND METHODS

### *Insect rearing*

*Sitophilus granarius* adults used in the experiments were

cultured in the Biology Department of the Faculty of Science of Çankırı Karatekin University. Five-liter glass jars were used for growing adults. In order to obtain single age populations of the insects, females and male insects were placed into jars that contain wheat and stored in a dark climate room at  $27\pm 2$  °C for 48 hours. At the end of 48 hours, adult individuals were removed from the jars and only eggs laid by the insects were left. After 45 days, a new generation of adult individuals emerged. In the experiments, 3-4 weeks old adults were used. *Spodoptera littoralis* were continuously reared on lettuce plants at Karatekin University in Çankırı, Turkey during the study as described in Karakoç and Gökçe (2012). In the rearing of *S. littoralis*, 150-200 larvae were transferred to plastic containers and daily fresh lettuce leaves were given. The larvae were fed with lettuce leaves for ten days. Adults were fed with 15% honey solution to lay eggs on wax paper sheets placed in plastic containers. Honey solution was absorbed in cotton plug and placed in the container. All experiments on *S. littoralis* were conducted at 16:8 (light/dark) light regime condition at 25 °C.

### *Plant material*

Plant material (*Satureja boissieri*) was collected at the flowering stage from its natural habitat in Ortaköy Village (38° 51' 31.77" N, 40° 21' 50.32" E) in July 2012. The plants collected were dried in a room without direct sunlight and air circulation. Plant samples were prepared for identification and to be stored in a herbarium. Plant species was identified at Biology Department of Bingöl University and the voucher specimen was registered in the Herbarium of the department with a voucher number: L. Behçet 176.

### *Isolation of essential oil*

The dried aerial parts of *S. boissieri* were cut into small pieces. Two kilograms of the plant is weighed and used in distillation. Distillation was done in the Clevenger type apparatus for approximately three hours (100 g x 20). A total of 28 ml (~27.3 g) of essential oil was obtained. After the distillation the resulting oil was dried on the anhydrous sodium sulfate. Water was removed from the oil than its removed from sodium sulfate with filtration, which was performed with blue band filter paper. The resulting essential oil was stored until the time of analysis in dark glass containers at +4 °C.

### *Essential oil separation*

Approximately 110 g of silica gel were activated in the oven at 100 °C for 24 hours to separate the essential oils. 7680 mg (8 ml) of crude essential oil material was separated by

column chromatography using analytical grade solvents. Chromatography with 100% n-hexane solvent was initiated and followed by increasing polarity, diethyl ether: n-hexane (1:99, v/v), diethyl ether: n-hexane (2:98, v/v), diethyl ether: n-hexane (3:97, v/v), diethyl ether: n-hexane (4:96, v/v), diethyl ether: n-hexane (5:95, v/v), diethyl ether: The separation process was terminated using hexane (6:94, v/v), diethyl ether: n-hexane (10:90, v/v) and finally 100% diethyl ether solvent system. A total of 1770 fractions were obtained. Combination of similar fractions was made in some series based on the results of GC-MS analysis. Fractions that are sufficient for biological activity tests were investigated for fumigant activity against *S. granarius*. The fractions between 450-550 contained thymol (52.04%) + carvacrol (31.35%) and the fractions between 580-720 contained thymol (100%) were used in this part of the experiment.

#### *Gas chromatography-mass spectrometry analysis of the fractions*

Constituents of *S. boissieri* essential oil fractions was analyzed with the Agilent Technologies 7890A GC System coupled to a 5975C inert MSD with Triple-Axis Detector (Agilent Technologies; Capillary column HP-5-MS (30 m x 0.25 mm I.D. x 0.25 µm). GC temperature program was as follow: From 60 °C to 150 °C at a rate of 3 °C/min and holding for 10 min, then from 150 °C to 200 °C at a rate of 5 °C/min and holding for 3 min, and from 200 °C to 250 °C at a rate of 15 °C/min. Inlet temperature was 250 °C. Spectra were obtained for the range 50–550 m/z, following electron impact ionization at 70 eV. The carrier gas was helium at a flow rate of 1 ml/min and injections were in split mode (50:1). The mass-spectrometer interface temperature was set at 250 °C. The temperature of the ion source was 230 °C, electron energy 70 eV and quadruple temperature 150 °C. Injection volume was 1 µl.

#### *Fumigant toxicity*

In this study, the fumigant effect of essential oil extracted from *S. boissieri* on *S. granarius* was investigated in three different doses (0.025, 0.05, 0.1 µl/ml). Glass tubes with 10 ml volume and compressible cap were used in these experiments. Glass tubes were filled with 1/3 wheat and 10 adult individuals were placed in each. 10 mm in diameter discs were cut from Whatman filter paper and fixed with a pin to the caps of the glass tubes used in the experiment. Essential oil dilutions in acetone at different concentrations were applied with a micropipette to the filter paper to achieve final essential oil solution 0.05; 0.1 and 0.2 µl/ml air in the tubes. The applied filter papers were then placed in the fume hood for 5 minutes to allow the acetone to evaporate. At the end of this period,

the filter papers were fixed to the caps of the glass tubes using a pin and the caps were put on the glass tubes and closed, and tubes were incubated in the dark in a climatic cabinet for 36 hours at 25 °C. Dead insects were counted and recorded after 12, 24 and 36 hours. The study was established according to the randomized block design. The entire trial was repeated three times and each replicate consisted of 3 replicates.

#### *Contact toxicity*

*Satureja boissieri* essential oil was diluted with acetone to obtain 25, 50 and 100 µl/ml stock solution. Stock concentrations were applied to *S. granarius* (1 µl/insect) and *S. littoralis* (1 µl/insect for 3<sup>rd</sup> larval stage, 2 µl/insect for 4<sup>th</sup> larval stage and 3µl /insect for 5<sup>th</sup> larval stage) with a micro applicator. The acetone was applied (1 µl/insect) as blank control. Essential oil concentrations were applied with micro applicator on the dorsal surface of the thorax of the insects Karakoç and Gökçe (2012). After the treatment, insects were transferred to 9 cm petri dishes containing 10 g of wheat. The insects were incubated at 25±2 °C in a climatic chamber. The mortality was recorded after 24 h. Each treatment was replicated three times and the whole experiment was repeated three different times. Twenty larvae was used for each replication.

#### *Statistical analysis*

Results were firstly converted into % death values, and then they were subjected to arcsine transformation. Variance analysis was carried out with transformed data at alpha: 0.05 level, and additionally, the differences among treatments were analyzed by means of Tukey multiple comparison test (α:0.05). All statistical analyses were conducted via MINITAB® Release 16 package program.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

#### *Fumigant toxicity against S. granarius*

Three different doses of essential oil of *S. boissieri* were tested for fumigant toxicity against *S. granarius* (Table 1). According to the results obtained, mortality rates increased with time and dose increase. The highest effect was determined with 100% mortality rate at 0.1 µl/ml dose after 36 hours. Mortality rates of fumigants were reduced as fumigant exposure time decreased, and this decrease was 76.72% at 24 hours and 36.64% at 12 hours, respectively (F=1766.64; df:3,8; P<0.05). When the application concentration was reduced, essential oil of *S. boissieri* did not show considerable fumigant toxicity.

**Table 1.** Fumigant toxicity of essential oils from *Satureja boissieri* on *Sitophilus granarius*

Dose (µl/ml)	% Mortality±SE*		
	12 hour	24 hour	36 hour
0 (Control)	0.00±0.00b <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	0.00±0.00cA	0.00±0.00dA
0.025	0.00±0.00bB	0.00±0.00cB	7.71±0.12cA
0.05	0.00±0.00bB	9.83±0.32bA	16.58±0.20bA
0.1	36.64±0.12aC	76.72±0.16aB	100.00±0.00aA

<sup>1</sup>Means in a column followed by a different lowercase letter are significantly different (Anova P < 0.05, Tukey test). <sup>2</sup>Means in a line followed by a different uppercase letter are significantly different (Anova P < 0.05, Tukey test). \*Standard Error

#### Contact toxicity bioassay

Experiments were carried out at different doses to determine the contact toxicity of essential oil of *S. boissieri* against *S. granarius* after 24 hours. The data at the end of 24 hours were evaluated, mortality rates increased with increase in the dose. The mortality rate at 100 µl/ml concentration was determined as 97.82% and was statistically different from the control and other doses (F=199.39; df:3,8; P<0.05). Contact toxicity of essential oil obtained from *S. boissieri* plant was also tested on different larval stages of *S. littoralis*. The essential oil of *S. boissieri* had high contact toxicity for the all larval stages at the dose of 100 µl/ml. Mortality rate was observed as 100%, 100% and 90.17% for the 3<sup>rd</sup> (0.1 µl essential oil dose per larvae), 4<sup>th</sup> (0.2 µl essential oil dose per larvae) and 5<sup>th</sup> (0.3 µl essential oil dose per larvae) larval stages, respectively (F=96.01; df:2,6; P<0.05). After, the dose was reduced in the experiments (50 µl/ml), the highest effect was observed in the 3<sup>rd</sup> larval stage with 95.68% and the mortality rates in the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> larval stages were 86.79% and 53.34%, respectively (F=125.39; df:2,6; P<0.05). Finally, when the dose was lowered to 25 µl/ml, the mortality rate was 71.12% for the 3<sup>rd</sup> larval stage and activity decreased in the other larval stages. (F=227.10; df:2,6; P<0.05) (Table 2).

#### Chemical composition and insecticidal activity of fractions

Chemical composition of the fractions which were tested for fumigant activity against *S. granarius* was also analyzed with GC/MS. The essential oil fractions showed considerable fumigant activity. The combined fractions between 450-550 caused 70.33% death at 5% (v:v) application concentration and the mortality rate in *S. granarius* reached 100% at 10% (v:v) concentration. When the combined fractions between 580-720 were tested in fumigant contact toxicity against *S. granarius*, 53.35% mortality was determined in 5% (v:v) concentration and 100% mortality was achieved in 10% (v:v) application concentration (Table 3).

The main constituents of the essential oil obtained from the *S. boissieri* plant collected from the Bingöl region were determined as *p*-cymene,  $\gamma$ -terpinene, thymol, and carvacrol. The main constituent in *S. boissieri* used in this study was *p*-cymene with 23.15%, while in other studies this rate was 35.5%, 17.1%, and 6.3%, respectively (Azaz et al. 2002, Sajjadi and Baluchi 2002, Sefidkon et al. 2006). Azaz et al. (2002) reported that carvacrol was the major component of this plant with 44.8%. Similarly, in the study conducted by Sajjadi and Baluchi (2002), the main component of *S. boissieri* was reported to be carvacrol 70.1%. In another study *S. boissieri*

**Table 2.** Contact toxicities of essential oil from *Satureja boissieri* on *Spodoptera littoralis*

Dose (µl/ml)	% Mortality±SE*		
	3 <sup>rd</sup> instar larvae	4 <sup>th</sup> instar larvae	5 <sup>th</sup> instar larvae
0 (Control)	0.00±0.00d <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	0.00±0.00dA	0.00±0.00dA
25	71.12±0.05cA	6.39±0.48cC	22.20±0.05cB
50	95.68±0.20bA	86.79±0.24bB	53.34±0.11bC
100	100.00±0.00aA	100.00±0.00aA	90.17±0.32aB

<sup>1</sup>Means in a column followed by a different lowercase letter are significantly different (Anova P < 0.05, Tukey test). <sup>2</sup>Means in a line followed by a different uppercase letter are significantly different (Anova P < 0.05, Tukey test). \*Standard Error



**Table 3.** Fumigant toxicity of essential oil fractions obtained from *Satureja boissieri* on *Sitophilus granarius*

Fractions	% Mortality±SE*	
	%5	%10
450-550	70.33±1.22a	100.00±0.00a
580-720	53.35±0.34a	100.00±0.00a
Control	0.00±0.00b	0.00±0.00b

\*Means in a column followed by a different lowercase letter are significantly different (Anova P < 0.05, Tukey test). \*Standard Error

essential oil main components were determined as thymol (29.6%) was identified as the major component in the highest proportion (Sefidkon et al. 2006). The results obtained in this study have concluded that there may be a chemotypic variation in *S. boissieri* when compared with previous studies.

*S. boissieri* showed the highest fumigant activity against *S. granarius*. This activity is thought to originate from the main components of the essential oil obtained from the plant. Although there is no study on this insect species with *S. boissieri* essential oil, studies with other *Satureja* species have shown that essential oils obtained from this genus exhibit fumigant activity (Ayvaz et al. 2010, Maede et al. 2011, Yıldırım et al. 2011). Furthermore, the fumigant activity of these major components found in *S. boissieri* was also determined by researchers (Isman 2000, Lee et al. 2001, Rozman et al. 2007). Contact toxicity studies were also carried out on *S. granarius* at the same time and showed high insecticidal activity. Taponjoui et al. (2005) who studied *p*-cymene from the main components of *S. boissieri* demonstrated contact toxicity of this compound on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). It is suggested that contact toxicity can arise from this compound.

Considerable results were obtained in contact effect studies on *S. littoralis*. The dose of 100 µl/ml used in the experiments showed very high insecticidal activity for all larval stages. Pavla (2010) was determined that *p*-cymene,  $\gamma$ -terpinene, thymol and carvacrol, the major components of the plant, exhibit insecticidal activity on this species. When the dose was reduced by 1/4, high activity was still observed for the 3<sup>rd</sup> larval stage, while activity for the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> larval stages remained very low. This may be interpreted as a decrease in activity of the essential oil as the larval period progresses depending on the physiology of the insect. Alkan et al. (2017) found that the activity changed due to the larval period in the study conducted with *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). Similarly, Karakoç and Gökçe (2012) were reported that as larval stages progressed activity

was decreased. Thus, these results are consistent with our study.

As a result, the essential oils obtained from *S. boissieri* plants have the potential to be used as insecticide in both insect species used in the experiments. But the main components of the plant need to be tested on these insect species. However, conducting synergistic activity studies with the main active ingredients will lead to the presence of more effective insecticides.

#### ACKNOWLEDGEMENT

A part of this study was presented as an oral presentation at the International Participation Turkey VI. Plant Protection Congress. 5-8 September 2016, Turkey.

#### ÖZET

Bu araştırmada *Satureja boissieri* Hausskn. ex Boiss. uçucu yağının *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) ve *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae)'e karşı fumigant ve kontakt etkileri araştırılmıştır. *Sitophilus granarius* erginleri ile fumigant ve kontakt toksisitesi denemeleri; *S. littoralis*'in 3., 4. ve 5. dönem larvaları ile sadece kontakt toksisitesi denemeleri yürütülmüştür. Ayrıca, *S. boissieri* uçucu yağının fraksiyonları, *S. granarius*'a karşı fumigant aktivitesi açısından araştırılmıştır. *Sitophilus granarius* ile yapılan fumigant etkisi çalışmalarında en yüksek etki 0.1 µl/ml uygulama dozunda %100 ölüm oranıyla 36 saatte elde edilmiştir. Fraksiyonların *S. granarius* üzerinde önemli oranda fumigant aktiviteye sahip olduğu ve fraksiyonların zararlıya %10 uygulama dozunda önemli bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Spodoptera littoralis*'in 3. ve 4. dönem larvalarına 100 ul/ml uçucu yağ uygulandığında, kontakt aktivite %100 olarak tespit edilirken, ölüm oranı 5. dönem larvada %90.17 olarak belirlenmiştir. Tüm larva dönemlerine 25 ul/ml uçucu yağ dozu uygulandığında, 3. larva döneminde kontakt aktivite

%71.12 olarak belirlenirken, diğer larval dönemlerde aktivite çok düşük kalmıştır. Bu sonuçlar, *S. boissieri* uçucu yağının, *S. granarius* ve *S. littoralis*'in mücadelesinde fumigant ve kontakt insektisitler olarak önemli bir potansiyele sahip olabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: uçucu yağ, fumigant aktivite, kontakt aktivite, GC-MS, Lamiaceae, fraksiyon, kolon kromatografisi

## REFERENCES

Alkan M., Gökçe A., Kara K., 2017. Contact toxicity of six plant extracts to different larval stages of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* SAY (Col: Chrysomelidae)). Journal of Agricultural Science, 23, 309-316.

Aydın H., Gürkan M.O., 2006. The efficacy of spinosad on different strains of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). Turkish Journal of Biology, 30 (2), 5-9.

Ayvaz A., Sagdic O., Karaborklu S., Ozturk I., 2010. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. Journal of Insect Science, 10 (1), 21.

Azaz D., Demirci F., Satil F., Kurkcuoglu M., Baser K.H.C., 2002. Antimicrobial activity of some *Satureja* essential oils. Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences, 57 (9-10), 817-821.

Davis P.H., 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands., University Press, Edinburgh, 947 p.

Erik S., Tarikahya B., 2004. Türkiye florası üzerine. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Kebikeç, 17, 139-162.

Isman M.B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop protection, 19 (8), 603-608.

Karakoç Ö.C., Gökçe A., Telci I., 2006. Bazı bitki uçucu yağlarının *Sitophilus oryzae* L., *Sitophilus granarius* L. (Col.: Curculionidae) ve *Acanthoscelides obtectus* Say. (Col.: Bruchidae)'a karşı fumigant etkileri. Türkiye Entomoloji Dergisi, 30, 123-135.

Karakoç Ö.C., Gökçe A., 2012. Bitki ekstraktlarının *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae)'e olan kontak toksisiteleeri. Türkiye Entomoloji Dergisi, 36 (3), 423-431.

Kurkcuoglu M., Tumen G., Baser K.H.C., 2001. Essential oil

constituents of *Satureja boissieri* from Turkey. Chemistry of Natural Compounds, 37 (4), 329-331.

Lee B.H., Choi W.S., Lee S.E., Park B.S., 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protection, 20 (4), 317-320.

Maede M., Hamzeh I., Hossein D., Majid A., Reza R.K., 2011. Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Lamiaceae) against three stored-product insect species. African Journal of Biotechnology, 10 (34), 6620-6627.

Momtaz S., Abdollahi M., 2010. An update on pharmacology of *Satureja* Species; from antioxidant, antimicrobial, antidiabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive stimulation. International Journal of Pharmacology, 6 (4), 454-461.

Pavela R., 2010. Acute and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the larvae of *Spodoptera littoralis*. Journal of Biopesticides, 3 (3), 573-578.

Rozman V., Kalinovic I., Korunic Z., 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 43 (4), 349-355.

Sajjadi S.E., Baluchi M., 2002. Chemical composition of the essential oil of *Satureja boissieri* Hausskn. ex Boiss. Journal of Essential Oil Research, 14 (1), 49-50.

Sefidkon F., Jamzad Z., 2006. Essential oil composition of *Satureja boissieri*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 9 (3), 287-291.

Shaaya E., Kostjucovski M., Eilberk J., Sukprakarn C., 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 33 (1), 7-15.

Taban A., Saharkhiz M.J., Hooshmandi M., 2017. Insecticidal and repellent activity of three *Satureja* species against adult red flour beetles, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Acta Ecologica Sinica, 37 (3), 201-206.

Tapondjou A.L., Adler C., Fontem D.A., Bouda H., Reichmuth C.H., 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. Journal of Stored Products Research, 41 (1), 91-102.

Tozlu E., Cakir A., Kordali S., Tozlu G., Ozer H., Akcin T.A., 2011. Chemical compositions and insecticidal effects of essential oils isolated from *Achillea gypsicola*, *Satureja hortensis*, *Origanum acutidens* and *Hypericum scabrum* against broadbean weevil (*Bruchus dentipes*). Scientia Horticulturae, 130 (1), 9-17.

Ünlü L., Kornoşor S., 2003. Şanlıurfa ilinde saptanan Noctuidae (Lepidoptera) familyası türleri ve morfolojik özellikleri. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7 (3-4), 19-28.

Yıldırım E., Kordali S., Yazıcı G., 2011. Insecticidal effects of essential oils of eleven plant species from Lamiaceae on *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Romanian Biotechnological Letters, 16 (6), 6702-6709.

Yıldırım E.M., Başpınar H., 2008. Aydın ili çilek alanlarında saptanan Noctuidae (Lepidoptera) familyası türleri, yayılışı, zararı ve popülasyon dalgalanmaları üzerinde çalışmalar. ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 5 (2), 115-121.

Cite this article: Karakoç, Ö, Tüfekçi, A, Gül, F, Koldaş, S, Alkan, M. (2020). Essential oil composition and insecticidal activity of *Satureja boissieri* against *Sitophilus granarius* (Coleoptera:Curculionidae) and *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Plant Protection Bulletin, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.617362

Atıf için: Karakoç, Ö, Tüfekçi, A, Gül, F, Koldaş, S, Alkan, M. (2020). *Satureja boissieri*'nin *Sitophilus granarius* (Coleoptera:Curculionidae) ve *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae)'e insektisidal aktivitesi ve uçucu yağ kompozisyonu. Bitki Koruma Bülteni, 60-2. DOI: 10.16955/bitkorb.617362

## PLANT PROTECTION BULLETIN PRINCIPLES OF PUBLISHING

1. All responsibility for the published article belongs to authors.
2. Plant Protection Bulletin publishes the researches on taxonomic, biological, ecological, physiological and epidemiological studies and methods of protection against diseases, pest, and weed which cause damages on plant products as well as researches on residue, toxicology, and formulations of pesticides and plant protection machinery.
3. The publishing language of the journal is English and Turkish. Turkish abstract would be prepared by the editorial office, if necessary.
4. It is not accepted in Plant Protection Bulletin that biological observations carried out in a single year and in one orchard or field, and short biological notes reported one species of first records for Turkey.
5. The articles submitted to the journal should not have been published in any publication or at the same time in the evaluation phase of another publication.
6. The articles containing the results of postgraduate theses or the projects supported by various institutions such as TÜBİTAK, SPO, TAGEM, BAP should be prepared for publication after the necessary permissions are obtained from the related persons. This must be stated in the “acknowledgments”.
7. Submission of article requested to be published in the journal should be made via Dergipark system (<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>).
8. The article uploaded to the system should be prepared according to the “Manuscript template” in the “For authors” tab. It should be uploaded together with “Manuscript cover page” and the “Copyright release form” and “Conflict of Interest and Reviewer Proposal Form” completed and signed by all authors.
9. In the journal, a blind review process for designated reviewers is being followed.
10. The articles included in the evaluation process are reviewed by subject editors and the designated reviewers and published after the corrections have been completed by their authors in accordance with recommendations.
11. There is no printing fee for articles published in the journal.

## BİTKİ KORUMA BÜLTENİ YAYIN İLKELERİ

1. Yayınlanan esere ait tüm sorumluluk yazarlarına aittir.
2. Bitki Koruma Bülteni bitkisel ürünlerde zarar oluşturan hastalık, zararlı ve yabancı ot konularında yapılan taksonomik, biyolojik, ekolojik, fizyolojik ve epidemiyolojik çalışmaların ve mücadele yöntemleri ile ilgili araştırmaların yanı sıra, zirai mücadele ilaçlarının kalıntı, toksikoloji ve formülasyonları ile zirai mücadele alet ve makinaları ilgili araştırmaları yayınlamaktadır.
3. Bitki Koruma Bülteni'nin yayın dili İngilizce ve Türkçedir. Gerekli hallerde Türkçe özet editör ofisi tarafından hazırlanır.
4. Bitki Koruma Bülteni'nde tek yıllık ve tek bir bahçe veya tarlada gerçekleştirilmiş biyolojik gözlemler, Türkiye için tek bir türe ait ilk kayıtları bildirilen kısa biyolojik notlar gibi eserler kabul edilmemektedir.
5. Bitki Koruma Bülteni'ne gönderilen makaleler, daha önce herhangi bir yayın organında yayınlanmamış veya aynı zamanda başka bir yayın organında değerlendirme aşamasında olmamalıdır.
6. Lisansüstü tezler veya TÜBİTAK, DPT, TAGEM, BAP gibi çeşitli kurumlarca desteklenen projelerin sonuçlarından kısımlar içeren eserler ilgililerinden gerekli izinler alındıktan sonra yayına hazırlanmalı, bu durum teşekkür kısmında mutlaka belirtilmelidir.
7. Bitki Koruma Bülteni'nde yayınlanması istenilen eserler için makale başvurusu DERGİPARK sistemi (<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>) üzerinden yapılmalıdır.
8. Sisteme yüklenen makale "Yazarlar için" sekmesinde yer alan "Makale taslağı"na göre hazırlanmalı, sisteme "Makale giriş sayfası" ve tüm yazarlar tarafından doldurulup imzalanmış "Bitki Koruma Bülteni Telif Hakkı Devir Formu" ve "Çıkar Çakışması ve Hakem Önerileri Formu" ile birlikte yüklenmelidir.
9. Bitki Koruma Bülteni'nde kör hakemlik değerlendirme süreci izlenmektedir.
10. Değerlendirme sürecine dahil edilen makaleler konu editörü ve belirlenen hakemler tarafından incelenip, onların önerileri doğrultusunda yazarları tarafından düzeltildikten sonra yayınlanır.
11. Bitki Koruma Bülteni'nde yayınlanan makaleler için baskı ücreti alınmamaktadır.

