

ISSN 2146-0035  
E-ISSN 2548-1002

# Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi

Turkish Journal of  
Biological Control



Yıl: 2022

Cilt (Volume): 13

Sayı (Number): 2

**Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi**  
(Turkish Journal of Biological Control)

Turkish Journal of Biological Control is a peer reviewed journal which has been published twice a year (July – December) by the Biological Control Society of Turkey. The Journal accepts original, full-length manuscripts and short communications relating to the biological control of pests, diseases and weeds in Turkish or English.

Annual subscription price: € 30

Price of single issue: € 20

**Corresponding address:**

Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi  
Çukurova Üniversitesi Kampüsü PTT Şubesi  
P.O. Box: 33 - 01330, Adana - Turkey

E-mail: [bimude@cu.edu.tr](mailto:bimude@cu.edu.tr)

Web: <http://www.biyolojikmucadele.org.tr>



CABI ve TÜBİTAK/ULAKBİM tarafından taranmaktadır. Indexed in CABI and TÜBİTAK/ULAKBİM.

All rights to articles published in this Journal are reserved by the Biological Control Society of Turkey. Permission must be obtained for reproduction in whole or in part of any form.

---

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ BASİMEVİ

Tel: 0322 338 60 69

[basimevidizgi@cu.edu.tr](mailto:basimevidizgi@cu.edu.tr)

**Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi**  
(Turkish Journal of Biological Control)

**Sahibi** (Owner – On behalf of Biological Control Society of Turkey):

M. Rifat ULUSOY

**Sorumlu Müdür** (Editor in Chief): Kamil KARUT

**İngilizce Editor (English Editor):** Gregory T. SULLIVAN

**Düzenleme Kurulu** (Editing Board):

Cengiz KAZAK

Mehmet Rifat ULUSOY

Kamil KARUT

Ali ERKILIÇ

Serkan PEHLİVAN

Hilmi TORUN

Miraç YAYLA

**Danışma Kurulu / Advisory Board**

AYSAN Y., Adana

BAŞPINAR H., Aydın

BAYHAN E., Diyarbakır

ÇIKMAN E., Şanlıurfa

DEMİR İ., Trabzon

DEMİR S., Van

ER M. K., Kahramanmaraş

ERKILIÇ A., Adana

ERLER F., Antalya

FURSOV V., Ukrayna

GÖKÇE A., Niğde

GÖZEL U., Çanakkale

HAYAT M., Hindistan

HAZIR A., Adana

JAPOSHVILI G., Gürcistan

KARACA İ., Isparta

KARACAOĞLU M., Adana

KASAP İ., Çanakkale

KARUT K., Adana

KAZAK C., Adana

KODAN M., Ankara

KOTAN R., Erzurum

ÖZAKTAN H., İzmir

ÖZDER N., Tekirdağ

ÖZKAN C., Ankara

SATAR S., Adana

SERTKAYA E., Antakya

STATHAS G., Yunanistan

SULLIVAN S., Samsun

SUSURLUK İ. A., Bursa

ŞENAL D., Kocaeli

ŞENGONCA Ç., Almanya

ULUSOY M. R., Adana

UYGUN N., Adana

UYGUR S., Adana

ÜLGENTÜRK S., Ankara

YOLDAŞ Z., İzmir

YURTCAN M., Edirne

**Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi**  
(Turkish Journal of Biological Control)

Yıl: 2022

Cilt (Volume): 13

Sayı (Number): 2

**İnceleme ve Değerlendirmede Bilimsel Olarak**  
**Katkıda Bulunanlar**  
(Scientific Advisory Board)

Akgül Davut Soner, Adana  
Avcı Mustafa, Isparta  
Birgücü Ali Kemal, Isparta  
Eski Ardahan, Bilecik  
Göçmen Hüseyin, Antalya  
Hazır Adalet, Adana  
Karaca İsmail, Isparta  
Kasap İsmail, Çanakkale  
Kasapoğlu Uludamar Ece Börteçine, Adana  
Kaydan Bora, Adana  
Keçeci Mehtmet, Malatya  
Küsek Mustafa, Kahramanmaraş  
Muştı Murat, Kayseri  
Özpınar Ali, Çanakkale  
Özgönen Özkaya Hülya, Isparta  
Polat Burak, Çanakkale  
Polat Akköprü Evin, Van  
Sarpkaya Kamil, Karabük  
Stathakis Theodoros, Atina  
Susurluk Alper, Bursa  
Telli Selda, Antakya  
Tireng Karut Şebnem, Adana  
Tok Mehmet Fatih, Antakya  
Torun Hilmi, Adana  
Ulaşlı Başak, Antakya  
Ünlü Levent, Konya

İçindekiler (Contents)

Sayfa (Page)

*Orijinal araştırmalar (Original articles)*

Evaluation of the pathogenicity of some entomopathogenic fungi against Tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae

**Bazı entomopatojen fungus izolatlarının Domates güvesi *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) larvalarına karşı etkinliğinin araştırılması**

Tadesse Kebede DABSU, Orkun Barış KOVANCI.....103-117

The weevil, *Hypolixus pica* (F.) (Coleoptera: Curculionidae) as a potential biological control agent of *Amaranthus* species (Amaranthaceae) in Adana Province, Turkey

**Adana'da *Amaranthus* türleri (Amaranthaceae) üzerinde bulunan potansiyel bir biyolojik mücadele etmeni: *Hypolixus pica* (F.) (Coleoptera: Curculionidae)**

Serkan PEHLİVAN, Mahmut ERBEY, Ekrem ATAKAN. ....118-127

Amerikan beyaz kelebeği, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)'nın ergin popülasyon takibi ile biyolojik mücadelesinde parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi

**Determination of adult population monitoring with parasitoids and predators in biological control of the Fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)**

Osman AVCI, Sevcan ÖZTEMİZ, İbrahim CİNER .....128-137

Domates rizosferindeki fungusların domatesteki solgunluk etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'ye karşı antagonistik etkilerinin araştırılması

**Investigation of the antagonistic effects of tomato rhizosphere fungi against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, the causal agent of tomato wilt disease**

Esra TUNABAŞ, Ali ERKİLİÇ .....138-153

First report of *Neoseiulus roumelioticus* (Acari: Phytoseiidae) in Turkey

**Türkiye'de *Neoseiulus roumelioticus* (Acari: Phytoseiidae)'un ilk kaydı**

İsmail DÖKER, Cengiz KAZAK, Kamil KARUT.....154-159



*Orijinal araştırma (Original article)*

**Evaluation of the pathogenicity of some entomopathogenic fungi against Tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae**

Tadesse Kebede DABSU<sup>1</sup>, Orkun Barış KOVANCI<sup>1\*</sup>

**Bazı entomopatojen fungus izolatlarının Domates güvesi *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) larvalarına karşı etkinliğinin araştırılması**

**Öz:** Bu çalışmada, *Tuta absoluta*'ya karşı entomopatojenik fungusların patojenitesi test edilmiştir. Deneme 2020/2021 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü seralarında yürütülmüştür. Araziden toplanan *T. absoluta* erginleri, iklim kabinleri içerisindeki domates fideleri üzerinde üretilmiştir. Daha sonra, tesadüf blokları deneme deseninde faktöryel düzende her izolat için beş farklı konsantrasyonda her tekrerde on birey olmak üzere üç tekerrürlü denemeler kurulmuştur. İzolatların öldürücü etkisi için yapılan varyans analizlerinde, izolatlar ve konsantrasyonlar arasında önemli farklılıklar ( $p<0.05$ ) tespit edilmiştir. En düşük ölüm oranı (% 80.77), en yüksek LC<sub>50</sub> ( $2.3 \times 10^8$ ) ve LT (LT<sub>50</sub>, 4.9 ve LT<sub>90</sub>, 9.9 gün) değerleri ile *Metarhizium anisopliae* Ak-12 izolatı en etkisiz olarak bulunmuştur. Yüksek ölüm oranı (%91) ve düşük LT<sub>50</sub> ve LT<sub>90</sub>, (4 ve 7.6 gün) değerleri ile  $1 \times 10^{10}$  konsantrasyonunda *Beauveria bassiana* Ak-10 en etkili izolat olmuştur. Sonuçlar,  $1 \times 10^9$  ve  $1 \times 10^{10}$  konidia/ml konsantrasyonlarının en etkili,  $1 \times 10^6$  konidia/ml konsantrasyonunun ise etkisiz olduğunu göstermiştir. Çalışma, izolatlar ve konsantrasyonlar arasındaki potansiyel değişimin *T. absoluta* larvalarının ölüm oranlarındaki varyasyonuna olan etkisini göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Biyolojik mücadele, Domates, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Tuta absoluta*

**Abstract:** The current study was initiated to test the pathogenicity of entomopathogenic fungi against *Tuta absoluta*. The experiment was conducted at Bursa Uludag University, Horticulture Department glasshouse in 2020/2021. *Tuta absoluta* adults were collected and larvae were reared on tomatoe seedlings in a growth chamber. Then, ten larvae were treated with each isolate at five inoculum suspension concentrations in a factorial experiment arranged in a completely randomized block design with three replications. The analysis of variance for mortality revealed significant variations ( $p<0.05$ ) among isolates and concentrations. *Metarhizium anisopliae* Ak-12 caused the lowest mortality of 80.77% but had the highest LC<sub>50</sub> ( $2.3 \times 10^8$ ) and the longest incubation period LT<sub>50</sub> 4.9 and LT<sub>90</sub>, 9.9 days and considered to be less pathogenic. Whereas *Beauveria bassiana* Ak-10 showed the highest mortality 91% and the lowest LT<sub>50</sub>, 4 and LT<sub>90</sub>, 7.6 days at  $1 \times 10^{10}$  conidia /ml, followed by *Beauveria bassiana* Ak-14 and is considered the most aggressive. Conidia

<sup>1</sup> Bursa Uludag University, Agricultural Faculty, Plant Protection Department, Görükle Campus, 16059 Bursa, Türkiye

\* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: baris@uludag.edu.tr

ORCID ID (Yazar sırasıyla): 0000-0003-2086-6584; 0000-0002-6459-216X

Alınış (Received): 3 Mayıs 2022

Kabul ediliş (Accepted): 26 Eylül 2022

concentrations of  $1 \times 10^9$  and  $1 \times 10^{10}$  conidia/ml were the most effective while  $1 \times 10^6$  conidia/ml was the least effective. Overall, the current work revealed the potential variation among isolates and concentrations on the mortality of *T. absoluta* larvae.

**Keywords:** *Beauveria bassiana*, Biological control, *Metarhizium anisopliae*, Tomato, *Tuta absoluta*

## Introduction

The tomato (*Solanum lycopersicum*) is one of the most economically important, popular and widely grown crops globally (Nicola et al. 2009). Despite the importance of tomato as a food crop, its production and productivity are threatened by various biotic and abiotic factors (Sora 2018). Mainly insect pests and pathogens are the biotic factors responsible for the loss of tomato production (Veres et al. 2020). Among insect pests, the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), is the most economically important pest in tropical and subtropical regions of tomato cultivation (Rwomushana et al. 2019). It was first reported in Turkey in 2009 and in Ethiopia in 2012 (Kılıç 2010; Gashawbeza & Abiy 2012).

This insect pest can cause high total yield losses wherever tomato is grown (FAO 2017). After eggs are laid on the underside of leaves, stems or fruits, they hatch and develop into larvae. Then the larvae invade tomato fruits and leaves, feeding inside the mesophyll tissue and creating galleries that cause necrosis resulting in reduced yield (Guedes & Picanço 2012; Biondi et al. 2018). Under extensive attacks, plants show signs and symptoms such as abnormal leaf shape, puncture marks, exit holes and necrosis (Rwomushana et al. 2019). Under non-control conditions, tomato yield losses due to *T. absoluta* have been estimated at 80 to 100% of annual production and increased the price of tomatoes by 23% (Desneux et al. 2010). Due to this pest, Ethiopia loses 60% to 82% of tomato production (Shiberu & Getu 2017).

To date, there are no effective measures for sustainable control of *T. absoluta* due to its high reproduction capacity; short generation cycle; and limited opportunity for control with insecticides, as larvae feed on mesophyll within the host plant's tissues and are hidden inside of leaves, (Siqueira et al. 2001). However, early detection by sex pheromone traps; application of various cultural and mechanical control methods; biological control by the parasitoid wasp, *Trichogramma cacoeciae* Marchal, mirid predator, *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Hemiptera: Miridae) (Biondi et al. 2013; CABI 2021), and *Bacillus thuringiensis* (Sabbour & Nayera 2012), have been suggested as management strategies for this pest. Despite the use of these control methods, tomato leaf miner infestation has become increasingly difficult to control due to recommended control options not being effective and/or not being implemented in a timely manner.

Among biological control agents, entomopathogenic fungi have been reported to be very effective agents of infection of insect pests, particularly the lepidopterans (Kaya & Vega 2012; Ruiu 2015). Based on their efficacy against *T. absoluta*, the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* species, were reported to be pathogenic to the tomato leaf miner in different countries (Youssef 2015; Erler & Ozgur 2015; Shiberu & Getu 2017).



Ndereyimana et al. (2020) determined the efficacies of *M. anisopliae* and *B. bassiana* against third instar larvae of *T. absoluta* and reported highest mortality rates of 82.8% and 60.8% at  $1 \times 10^8$  conidia/ml, respectively. This result indicated that *M. anisopliae* is more virulent and pathogenic than *B. bassiana* against third instar larvae. Contradicting that result, Youssef (2015) reported that *B. bassiana* (86.7%) was more effective than *M. anisopliae* (76.7%) against *T. absoluta* larvae at  $1 \times 10^8$  spores/ml. Similarly, Shiberu & Getu (2017) tested the efficacy of *M. anisopliae* and *B. bassiana* isolates against third instar larvae and found larval mortality of 87.5% and 95.83%, respectively, at a dosage of  $2.5 \times 10^9$  conidia/ml under laboratory conditions.

These mixed results indicate that there is a research gap in the efficacy testing of entomopathogenic fungal species which should be resolved by further evaluation to select the best potential candidate for effective *T. absoluta* control. The relative efficacy testing of endemic entomopathogenic isolates occurring in different areas is not widely done (Desneux et al. 2010). This indicates that there has been no conclusive selection of the best entomopathogenic fungal candidates for use against *T. absoluta* due to insufficient comparative efficacy measurements. In addition, the differences in pathogenicity and virulence of entomopathogenic fungal isolates and their concentrations have not been widely investigated. Therefore, the main objective of this study was to evaluate the pathogenicity of some local Turkish entomopathogenic fungal isolates against *T. absoluta*.

## Materials and Methods

### Rearing of *Tuta absoluta*

*Tuta absoluta* adults were collected from infested tomatoes in the glasshouse of the Horticulture Department of the Faculty of Agriculture, Uludag University, and 10 adults were released on young tomato (cultivar H-2274) seedlings planted in plastic pots (8 x 9cm) and kept in insect-proof rearing cages in a growth chamber at 25 °C and 65% RH and 16:8 hours light: dark photoperiod. For two days, adults were fed with 10% sugar solution and then aspirated with a mechanical aspirator. After egg hatching, the larvae were allowed to feed on the potted tomato plants until the targeted third larval instar stage was reached. After 4-5 days, the eggs hatched and the larvae started feeding in galleries. After two generations, they were used for the bioassay. The third instar larvae, based on their age, colour and size (8 to 12 days old and 3-6 mm in length), were harvested by opening the mines (Rahtna & Bhat 2019).

### Preparation of inoculum entomopathogenic fungal isolates

Pathogenicity testing was performed on third instar larvae of *T. absoluta* using four different entomopathogenic fungal (EPF) isolates - *M. anisopliae* Ak-11, *M. anisopliae* Ak-12, *B. bassiana* Ak-14 and *B. bassiana* Ak-10 (Table 1). The EPF isolates, which were provided by Prof. Dr Ali Sevim from Kırşehir Ahi Evran University, were grown on potato dextrose agar (PDA) medium and incubated at 26°C darkness for 14 days. Then the plates were placed in a biosafety cabinet at room temperature for 48hrs to allow the fungi conidial to air dry. After two days of incubation, the dry, powdered conidia were harvested from plates by gently

scraping them from the surface of the media with a sterile metal spatula onto aluminium foil under laminar flow. Finally, the harvested conidia were stored at 4°C until use (Jaronski & Mascarin 2013). For inoculation purposes, 0.00002, 0.0002, 0.002, 0.02 and 0.2 g of powdered conidia were suspended in 1 ml of sterilized, distilled water in 15 ml test tubes, with 0.01% aqueous Tween 20% (two drops) used as a wetting agent. The suspensions were vortexed for one minute and then filtered through a cheesecloth to separate the conidia from the mycelia and then homogenized by vortexing for 3 minutes, as described in Shiberu & Getu (2017).

The concentration of the conidia suspensions of each isolate were adjusted to  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$  and  $1 \times 10^{10}$  conidia /ml by using a hemocytometer, in preparation for inoculation (Kushiyev et al. 2018). Before the bioassays, the viability of the conidia was determined by spreading 0.1 ml of conidial suspension on PDA plates. A sterile microscopic coverslip was placed on each plate and the plates were incubated at  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  and examined after 15 hours. The percentage germination of the conidia was determined by counting 100 spores of each isolate. The viability testing for each isolate was replicated three times. Over 90% of the conidia of each isolate germinated.

Table 1. Source and detail information of entomopathogenic fungal isolates

	Entomopathogenic fungal species			
	<i>Beauveria bassiana</i> AK-10	<i>Beauveria bassiana</i> AK-14	<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-11	<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-12
Source	Soil	Soil	Soil	Soil
Location	Konya, Beşşehir	Konya, Beşşehir	Konya, Beşşehir	Konya, Beşşehir
Coordinates	37°43'04.5"N 31°43'16.9"E	37°42'31.0"N 31°43'38.4"E	37°42'56.1"N 31°43'19.4"E	37°42'29.0"N 31°43'35.7"E
GenBank accession numbers				
ITS	MW689267	MW689268	MW689278	MW689279
Bloc	ON089022	ON089023	-	-
EF1- $\alpha$	ON093091	ON09392	-	-
Rpb1	ON093085	ON093086	ON125481	ON125482
$\beta$ -tubulin	-	-	ON125494	ON125495

### Experimental design

A glasshouse experiment was carried out to determine the pathogenicity of four entomopathogenic fungal isolates at six suspension concentrations ( $0, 1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$  and  $1 \times 10^{10}$  conidia /ml) against third larval stages of *T. absoluta* in a completely randomized block design with three replicates. The pathogenicity of these isolates was tested by using a factorial experimental design with concentration as a subfactor treatment and selected entomopathogenic fungal isolates as the main factor treatment.

For this purpose, tomato cultivar H-2274 was planted in plastic pots (8 cm in diameter x 9cm in height) filled with a mixture of peat soil and perlite at a 2:1 ratio and grown in wooden boxes (150 x120 x 90 cm) lined with netting and allowed to

grow for two months. Ten third instar larvae were released onto the upper side of leaves of each tomato seedling (20cm in height). The pots were covered with muslin cloth and incubated in screened cages for 24 h to allow the formation of mines and galleries. After 24 h, three tomato seedlings infested with third stage larvae (n=30) for each entomopathogen fungal isolate were sprayed with 2000 µl of the appropriate conidial concentration as a foliar spray using a micropipette (Eppendorf pipette, 5000µl) whereas the control seedlings were sprayed with the same volume of distilled sterile water amended with 0.02% Tween 20. After application, observations were performed on days 3, 5 and 7 as described in Youssef (2015), and Shiberu & Getu (2017).

Data on disease measurement parameters included larval mortality; larvae were counted as dead when they were not moving, and they were removed from the sample once the data were collected. In subsequent days counting, data for each assessment day were summed and calculated as cumulative larval mortality.

$$\text{Mortality (\%)} = \frac{\text{Dead larvae} \times 100}{\text{Total larvae}}$$

In the case of death occurring in control treatment larvae as natural mortality, the percentage mortality of larvae killed by the entomopathogenic fungal isolates alone was corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925):

$$\text{Corrected mortality (\%)} = \frac{\text{Observed mortality (\%)} - \text{Control mortality (\%)} * 100}{100 - \text{Control mortality (\%)}}$$

However, when the observed mortality in the treatment was the same as or less than that in the control, the formula was not applied (Singh & Zahra 2017). Furthermore, dead larvae were surface-sterilized in 1% sodium hypochlorite solution, washed 3 times with sterile water, and then taken to another Petri-dish covered with moistened filter paper and kept in darkness at 25±2 °C for one week to allow fungal growth and confirm whether larval death was due to fungal infection or not. The lethal times (LT<sub>50</sub> and LT<sub>90</sub>) for each entomopathogenic fungal isolate against *T. absoluta*, i. e., the number of days required to reach 50% and 90% cumulative mortality, were determined. Lethal concentrations (LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub>) were also calculated.

### Statistical Analysis

A two-way analysis of variance was performed on mortality percentage data using the General Linear Model of JMP @7.0 software package (SAS, Institute 1989–2021). The interaction effect between entomopathogenic fungal isolates and different concentrations was also analyzed with the ANOVA. Differences in mortality means were determined by using Tukey's honestly significant difference test ( $P \leq 0.05$ ). Lethal time and concentration values (LC<sub>50</sub>, LT<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> and LT<sub>90</sub>) were determined by probit analysis using SAS statistical analysis software (Version 9.4) (Finney 1971).

## Results and discussion

### Typical symptoms of fungal infection of *Tuta absoluta*

Observation of disease symptoms was started three days after spraying. Visible disease symptoms were observed on *T. absoluta* third instar larvae which had been infected with the entomopathogenic fungi, *M. anisopliae* and *B. bassiana* isolates. After infection, typical disease symptoms were observed in the tomato leaf galleries such as the immobility of the larvae and their colouration which turned to brown, red and finally black at death (Figure 1). Further, mycosis had emerged from the dead larvae which were removed and placed on moistened filter paper in a Petri dish. Typical mycosis symptoms on the dead larvae treated with *B. bassiana* isolates including whitish mycelia and conidial growth, whereas the dead larvae treated with *M. anisopliae* isolates had a dull green appearance. Similarly, Fergani & Yehia (2020), described such types of symptoms

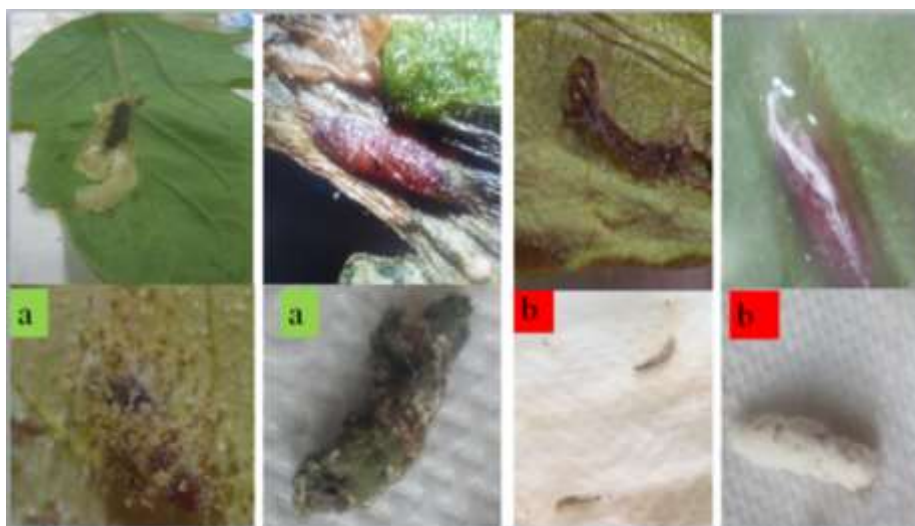


Figure 1. Third larval stage of *Tuta absoluta* showing typical disease symptoms after infection. (a) Green muscardine on cadavers (b) White muscardine on cadavers.

### Pathogenicity of entomopathogenic fungi against *Tuta absoluta* third instar larvae in aglasshouse

Analysis of variance for percentage mortality of larvae revealed significant differences ( $P < 0.05$ ) between the isolates and their conidia concentrations on the third, fifth and seventh days after application (Tables 2 and 3). There was also a significant difference in the interaction five and seven days after application ( $P < 0.05$ ) (Table 2 and 3).

Pathogenicity testing showed that the isolates caused cumulative mortality ranging from 8% to 91% at different conidial concentrations, while 0% to 13.33% mortalities were recorded for sterilized, distilled water-treated controls (Table 2). Seven days after inoculation, the *B. bassiana* isolates AK-10 and AK-14 had

caused the highest cumulative mortality (91.35% and 90.39% ) whereas the *M. anisopliae* isolates AK-11 and AK-12 isolates had caused 80.07% mortality at  $1 \times 10^{10}$  conidia/ml compared to the control (13.33%), respectively (Table 2). In addition, the highest corrected cumulative mortalities were 59.30%, 59.26%, 51.85% and 40.74% for *B. bassiana* AK-10, *B. bassiana* AK-14, *M. anisopliae* AK-11 and *M. anisopliae* AK-12 isolate at  $1 \times 10^{10}$  conidia/ml, respectively, whereas the least corrected cumulative mortalities of 37.03%, 15.65%, 14.81% and 8.24% mortality were recorded for *B. bassiana* AK-10, *B. bassiana* AK-14, *M. anisopliae* AK-11 and *M. anisopliae* AK-12, respectively, at the lowest concentration ( $1 \times 10^6$  conidia/ml) five days after inoculation. Also, compared to the control, *B. bassiana* AK-10 and *B. bassiana* AK-14 caused the highest mortality rates of 33.33% and 33.67%, respectively, followed by *M. anisopliae* AK-11 (26.67%) and *M. anisopliae* AK-12 (23.33%), respectively, three days after treatment (Table 2).

High mortality was recorded in the larvae inoculated with the *B. bassiana* isolate AK-10, followed by *B. bassiana* isolate AK-14, while the other two isolates caused lower mortality at both  $1 \times 10^{10}$  and  $1 \times 10^9$  conidia/ml. Moreover, the *B. bassiana* AK-10 and AK-14 isolates were significantly superior at all conidial concentrations in their ability to cause larval mortality. In addition, the lowest concentration ( $1 \times 10^6$ ) conidia  $\text{ml}^{-1}$  of all the tested EPF isolates, except for *B. bassiana* AK-10, had caused less than 50% larvae mortality at the termination of the experiment. This result indicates that *B. bassiana* was more effective than *M. anisopliae* as it caused the highest mortality percentage to third instar larvae at higher concentrations. Furthermore, the highest mortality rates were obtained with the highest concentrations ( $1 \times 10^9$  and  $1 \times 10^{10}$  conidia/ml). Hence, the concentrations of  $10^9$  conidia/ml and  $10^{10}$  conidia/ml were the most effective on the third larval instars of *T. absoluta*, followed by  $10^8$  conidia/ml. The most likely reasons for the pathogenicity and virulence differences among the four isolates may be to differences in their enzyme activities and/or a virulence factor which enables them to penetrate the host and cause infection.

The current results were in accordance with the findings of Abdel-Raheem et al. (2015) who reported that the higher the concentration of *B. bassiana* and *M. anisopliae*, the higher the mortality of *T. absoluta* larvae. Tsounara & Gordon (2016) also tested the efficacy of *B. bassiana* against third instar larvae and reported 90 % mortality at a high concentration. Likewise, the result was in agreement with the finding of Rodriguez et al. (2006) who stated that more than 90% larval mortality after larvae were treated with both *M. anisopliae* and *B. bassiana* in a pot experiment. In addition, Ndereyimana et al. (2019) recorded a highest larval mortality of 82.8% after applying *B. bassiana* against third instar *T. absoluta* larvae, and, *M. anisopliae* (77%) caused lower mortality than *B. bassiana* (87%) at  $10^8$  spores/ml (Youssef, 2015).

Table 1. Corrected mortality percentages for *Beauveria* and *Metarhizium* isolates used at different conidial concentrations against the third larval stage of the Tomato leaf miner, *Tuta absoluta*, under glasshouse conditions.

EPF isolates	Concentration (Conidia/ml)	% Corrected mortality larval days after inoculation		
		3DAT	5DAT	7DAT
<i>Beauveria bassiana</i> AK-10	10 <sup>10</sup>	33.33 <sup>a*</sup>	59.30 <sup>a</sup>	91.35 <sup>a</sup>
	10 <sup>9</sup>	26.67 <sup>ab</sup>	53.70 <sup>ab</sup>	88.46 <sup>ab</sup>
	10 <sup>8</sup>	26.6 <sup>ab</sup>	48.15 <sup>ab</sup>	84.61 <sup>ab</sup>
	10 <sup>7</sup>	23.33 <sup>abc</sup>	40.74 <sup>abc</sup>	69.23 <sup>cde</sup>
	10 <sup>6</sup>	20.00 <sup>abc</sup>	37.03 <sup>abcd</sup>	50.0 <sup>defgh</sup>
<i>Beauveria bassiana</i> AK-14	10 <sup>10</sup>	33.67 <sup>a</sup>	59.26 <sup>a</sup>	90.39 <sup>a</sup>
	10 <sup>9</sup>	26.67 <sup>ab</sup>	51.85 <sup>ab</sup>	87.5 <sup>ab</sup>
	10 <sup>8</sup>	23.33 <sup>abc</sup>	48.15 <sup>ab</sup>	84.61 <sup>ab</sup>
	10 <sup>7</sup>	20.00 <sup>abc</sup>	37.03 <sup>abcd</sup>	61.54 <sup>def</sup>
	10 <sup>6</sup>	16.67 <sup>abcd</sup>	15.65 <sup>def</sup>	39.32 <sup>efghi</sup>
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK11	10 <sup>10</sup>	26.67 <sup>ab</sup>	51.85 <sup>ab</sup>	80.77 <sup>abc</sup>
	10 <sup>9</sup>	23.33 <sup>abc</sup>	40.74 <sup>abc</sup>	80.77 <sup>abc</sup>
	10 <sup>8</sup>	20.00 <sup>abc</sup>	33.33 <sup>bcd</sup>	57.70 <sup>defg</sup>
	10 <sup>7</sup>	13.33 <sup>bcd</sup>	14.81 <sup>def</sup>	30.77 <sup>fghi</sup>
	10 <sup>6</sup>	10.00 <sup>abc</sup>	14.81 <sup>def</sup>	27.18 <sup>ghi</sup>
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK12	10 <sup>10</sup>	23.33 <sup>abc</sup>	40.74 <sup>abc</sup>	80.77 <sup>abc</sup>
	10 <sup>9</sup>	20.00 <sup>abc</sup>	29.63 <sup>bcd</sup>	73.08 <sup>bcd</sup>
	10 <sup>8</sup>	13.33 <sup>bcd</sup>	18.52 <sup>cdef</sup>	42.31 <sup>defghi</sup>
	10 <sup>7</sup>	10.83 <sup>bcd</sup>	18.52 <sup>cdef</sup>	30.77 <sup>fghi</sup>
	10 <sup>6</sup>	7.5 <sup>cd</sup>	8.24 <sup>ef</sup>	19.23 <sup>hi</sup>
Control	0.0	0.00 <sup>d</sup>	3.33 <sup>f</sup>	13.33 <sup>i</sup>
	LSD at %5	9.09	12.48	15.44
	CV (%)	18.52	25	17.11
	SE+	5.55	7.63	9.43

\*Means with the same letter(s) in columns are not significantly different from each other.

DAT -Days after treatment

### Concentration–Mortality Bioassay (LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub>)

The response of third instar larvae of *T. absoluta* to different concentrations of EPF isolates fitted the probit model very well and showed a non-significant chi-square value, but not for *M. anisopliae* AK-11 and AK-12, seven days after application ( $P > 0.05$ ; Table 3). The lethal concentrations needed to induce 50% and 90% mortality (LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub>) ranged from 7.47E+06 to 4.32E+19 conidia/ml on the 3<sup>rd</sup>, 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> after application. The lowest LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values obtained against third instar larvae were for the *B. bassiana* isolates AK-10 AK-14 whereas *M. anisopliae* AK-11 and *M. anisopliae* AK-12 showed the highest LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values on all days after treatment. The two *B. bassiana* isolates are therefore better prospects for the control of *T. absoluta*.

In this study, *B. bassiana* AK-10 had the lowest LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values at all days after inoculation, a steeper slope (b=0.26) and the least standard error (SE=0.038) for 50% and 90% larval mortality. Hence, based on these lethal concentration values and the regression slope, *B. bassiana* AK-10 is deemed the most toxic and virulent isolate, followed by *B. bassiana* AK-14, whereas *M. anisopliae* AK-12 had the highest LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values and the lowest slope and is therefore considered the least toxic isolate. Similar results were reported by different authors who conducted concentration-dependent mortality experiments with different conidial suspensions in glasshouses. The current results approximate those of Sabbour (2014) who reported a LC<sub>50</sub> value at 1.02x10<sup>6</sup> spores/ml for *B. bassiana*, and 1.00 x10<sup>6</sup> spores/ml for *M. anisopliae* at 8.25 x 10<sup>8</sup> conidia/ml under glasshouse conditions. Also, the LC<sub>50</sub> values for *B. bassiana* and *M. anisopliae* were 0.7x10<sup>7</sup> conidia ml<sup>-1</sup> and 2.5x10<sup>7</sup> conidia ml<sup>-1</sup>, respectively (Wekesa et al., 2006) and Aynalem et al. (2020) determined LC<sub>50</sub> values ranging from 1.3x10<sup>3</sup> to 7x10<sup>4</sup> conidia/ml for *M. anisopliae* against third instars of *T. absoluta*.

#### **Time–Mortality Bioassays (LT<sub>50</sub> and LT<sub>90</sub>)**

The period for inducing 50% and 90% mortalities of third instar larvae of *T. absoluta* inoculated with four EPF isolates at different concentrations was determined using a probit analysis program. The response of larvae to isolate concentrations over time (Log10 day) fitted the probit model as the  $\chi^2$ - Chi-square values were not significant (P>0.05) (Table 4). The time taken in days to kill 50% and 90% of the larvae treated with the four isolates at varying conidial concentrations differed among the isolates at all concentrations.

Probit analysis produced LT<sub>50</sub> values that ranged from 4.0 days to 13.1 days and LT<sub>90</sub> values from 7.5 days to 19.5 days for all isolates across all conidial concentrations (Table 4). The lowest LT<sub>50</sub> and LT<sub>90</sub> values for *B. bassiana* AK-10 were 4 and 7.6 days, respectively, followed by *B. bassiana* AK-14 at 4.1 and 7.8 days, respectively, at 1x10<sup>10</sup> conidia/ml. The second lowest values were 4.3 and 8.2 days for *B. bassiana* AK-10, respectively, and 4.4 and 8.3 days for *B. bassiana* AK-14, respectively, at 1x10<sup>9</sup> conidia/ml.

Table 2. Lethal concentrations (LC 50 and LC 90) for *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Turkey against third instar larvae of *Tuta absoluta* on the 3rd, 5th and 7th days after treatment

7 Days after treatment						
EPF isolates	LC50 value	LC90 value	Slope±SE	$\chi^2$ (df=4)	95% FL for LC50	P-value
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-12	6.62E+09	9.83E+12	0.21±0.07	14.9	1.65E+06- 5.68E+12	0.005 <sup>a*</sup>
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-11	1.20E+09	6.38E+12	0.22±0.07	12.7	1.48E+06- 2.5E+11	0.013 <sup>a</sup>
<i>Beauveria bassiana</i> AK-14	2.13E+07	6.50E+10	0.25±0.038	6.97	1.66E+04- 1.45E+06	0.14
<i>Beauveria bassiana</i> AK-10	7.47E+06	1.88E+10	0.26±0.038	2.75	4.83E+04- 5.53E+05	0.6
5 Days after treatment						
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-12	1.39E+12	1.95E+14	0.18±0.053	2.22	1.97E+10- 1.57E+13	0.7
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-11	2.08E+10	2.75E+13	0.22±0.053	2.84	1.48E+09- 7.96E+12	0.59
<i>Beauveria bassiana</i> AK-14	6.96E+08	6.36E+11	0.23±0.05	2.4	9.15E+07- 1.51E+10	0.66
<i>Beauveria bassiana</i> AK-10	2.27E+08	5.89E+11	0.24±0.042	0.7	2.25E+07- 5.34E+09	0.95
3 Days after treatment						
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-12	2.12E+13	4.32E+19	0.20 ±0.08	0.22	9.18E+10- 4.26E+27	0.99
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-11	9.20E+11	1.42E+19	0.20±0.068	0.45	1.48E+10- 2.92E+18	0.98
<i>Beauveria bassiana</i> AK-14	4.91E+12	7.02E+18	0.19±0.058	0.92	4.25E+10- 1.87E+22	0.92
<i>Beauveria bassiana</i> AK-10	9.38E+11	3.10E+12	0.21±0.053	1.77	1.28E+10- 4.32E+18	0.78

\*In the P value column, 'a' means the Chi-square value is significant; FL = fiducial limits; df = degrees of freedom of a number of concentrations (n: 4)

The *M. anisopliae* isolates AK-11 and AK-12 had higher  $LT_{50}$  values of 4.5, 4.9, 4.8 and 5.5 days and  $LT_{90}$  values of 9.5, 9.9, 9.9 and 12 days at  $1 \times 10^9$  and  $1 \times 10^{10}$  conidia/ml, in the same order. On the other hand, at the lowest conidia concentration of  $1 \times 10^6$  conidia/ml, the  $LT_{50}$  values were 7, 8.5, 11.7 and 13.1 days



for *B. bassiana* AK-10, *B. bassiana* AK-14, *M. anisopliae* AK-11 and *M. anisopliae* 12, and the LT<sub>90</sub> values were 13.8, 16, 18.7 and 19.5 days. As shown in Table 4, larval mortality increased with increasing isolate concentrations whereas thelethal time values decreased.

Each isolate of the two tested EPF species showed a positive pathogenicity against *T. absoluta* but differed in their pathogenicity levels. *Beauveria bassiana* Ak-10 had an LT<sub>50</sub> of 4 days, followed by *B. bassiana* AK-14 with an LT<sub>50</sub> of 4.1 days and can be considered more virulent than the other tested EPF isolates. Furthermore, *B. bassiana* AK-10 had the lowest LT<sub>90</sub> of 9.5 days, followed by *B. bassiana* AK-14 with an LT<sub>50</sub> of 9.9 days. By having the lowest LT<sub>50</sub> and LT<sub>90</sub> values, *B. bassiana* (AK-10) can be considered the most pathogenic isolate, followed by *B. bassiana* AK-14, while *M. anisopliae* Ak-12 had the third highest LT values and was moderately lethal, followed by *M. anisopliae* Ak-11 isolates.

The results of the present study approximate those of Ozdemir et al. (2020) who reported LT<sub>50</sub> and LT<sub>90</sub> values of 4.45 days and 5.34 days, respectively, for *M. anisopliae*, and 4.07 days and 5.11 days, respectively, for *B. bassiana*, at  $1 \times 10^8$  conidia/ml. Similarly, Shiberu & Getu (2017) reported LT<sub>50</sub> and LT<sub>90</sub> values of 5.01 days and 8.06 days, respectively, for *B. bassiana*, and 4.82 days and 8.14 days, respectively, for *M. anisopliae*, at  $2.5 \times 10^9$  conidia/ml. In contrast to the results of the current study and some other studies cited herein, Nyalal et al. (2019) reported lowest LT<sub>50</sub> values of 3.9 days and 5.2 days for commercial *M. anisopliae* Metatech® WP and *B. bassiana* Beauvitech, respectively, and Aynalem et al. (2020) reported an LT<sub>50</sub> value of 3.9 days for *M. anisopliae* was LT50.

## Conclusions and recommendations

In the current experiments, the pathogenicity results showed that the evaluated EPF isolates caused different third instar larval mortalities. *Beauveria bassiana* caused the highest mortality (91%), had the shortest lethal time (LT50: 4 days), and the lowest lethal concentration (LC<sub>50</sub>,  $7.47 \times 10^6$  conidia/ml) and therefore showed superior virulence compared to the other three EPF isolates tested against third instar *T. absoluta* larvae, while *Metarhizium anisopliae* caused the lowest mortality (20% to 82%), and had the long incubation period before causing death (4.9 to 13 days), and the highest LC<sub>50</sub> ( $6.62 \times 10^9$  -  $2.12 \times 10^{13}$ ), and hence it was considered to have low to moderate virulence. Overall, *B. bassiana* was more effective in killing *T. absoluta* larvae. It was also found that increasing conidial concentrations resulted in increased larval mortality. Among the applied EPF isolates, concentrations of  $1 \times 10^9$  and  $1 \times 10^{10}$  conidia/ml were the most effective in causing larval mortality and can be recommended for application, subject to further laboratory testing and then field testing. Hence, means that the entomopathogenic fungal isolates were more effective at higher concentrations against the third larval instars of *T. absoluta*. As the current work revealed potential pathogenicity variation among the four EPF isolates and different mortalities at different concentrations, further research is needed to better understand why these differences are occurring. Moreover, research should be focused on identifying the mechanisms of pathogenicity of *B. bassiana* and *M. anisopliae* isolates.

Table 3. The mean LT<sub>50</sub> and LT<sub>90</sub> values of third instar *Tuta absoluta* larvae after the application of four entomopathogen fungi (EPF) isolates at a range of different concentrations

EPF isolates	Conidia/ml	LT50	LT90	Slope ±SE	95% FL LT50	χ <sup>2</sup>
<i>Beauveria bassiana</i> AK-10	10 <sup>10</sup>	4.0	7.6	4.66±1.00	3.19-4.56	1.73 <sup>a*</sup>
	10 <sup>9</sup>	4.3	8.2	4.34±0.980	3.6-4.9	1.55 <sup>a</sup>
	10 <sup>8</sup>	4.5	9.0	4.22±0.98	3.7-5.3	1.89 <sup>a</sup>
	10 <sup>7</sup>	5.3	11.0	3.28±0.95	4.8-16	0.73 <sup>a</sup>
	10 <sup>6</sup>	7.0	13.8	2.29 ±0.94	8.31-nf	0.01 <sup>a</sup>
<i>Beauveria bassiana</i> AK-14	10 <sup>10</sup>	4.1	7.8	4.33±0.99	3.2-4.6	1.51 <sup>a</sup>
	10 <sup>9</sup>	4.4	8.3	4.53±0.99	3.6-5	1.72 <sup>a</sup>
	10 <sup>8</sup>	4.6	8.8	4.54±0.99	3.9-5.3	1.53 <sup>a</sup>
	10 <sup>7</sup>	5.9	12.8	3.06 ±0.95	4.8-9.00	0.35 <sup>a</sup>
	10 <sup>6</sup>	8.6	16.0	1.87 ±0.99	-	1.94 <sup>a</sup>
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-11	10 <sup>10</sup>	4.5	9.5	3.94±0.96	3.7-5.3	0.61 <sup>a</sup>
	10 <sup>9</sup>	4.8	9.9	4.14±0.98	4.2-5.8	2.49 <sup>a</sup>
	10 <sup>8</sup>	6.4	11.1	2.79±0.95	5.1-12.2	0.53 <sup>a</sup>
	10 <sup>7</sup>	9.4	16.2	1.65±1.04	-	0.79 <sup>a</sup>
	10 <sup>6</sup>	11.7	18.7	1.85±1.096		0.25 <sup>a</sup>
<i>Metarhizium anisopliae</i> AK-12	10 <sup>10</sup>	4.9	9.9	4.14±0.98	4.1-5.8	2.49 <sup>a</sup>
	10 <sup>9</sup>	5.5	12.0	3.38±1.86	-	3.58 <sup>a</sup>
	10 <sup>8</sup>	9.2	13.2	2.51±1.03	6.5-70	1.09 <sup>a</sup>
	10 <sup>7</sup>	11.2	17.4	1.99±1.06	-	0.097 <sup>a</sup>
	10 <sup>6</sup>	13.1	19.5	1.58±1.2	-	0.56 <sup>a</sup>

\*χ<sup>2</sup>- Chi-square values marked with "a" were not significant at the level of α=0.05, indicating a good fit of the probit model; DF:degrees freedom of a number of days (n:2); FL: fiducial limits; LT<sub>50</sub>: Time taken to cause 50% mortality; LT<sub>90</sub>: Time taken to cause 90% mortality.

### Acknowledgements

The authors acknowledge the support of the Bursa Uludağ University, Faculty of Agriculture, Crop protection, Mycology and Horticulture Departments for providing all the necessary experimental materials including reagents, chemicals, laboratory, greenhouse and other materials for this research work. We also sincerely thank Prof. Dr Ali Sevim (Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection) for the provision of different Turkish entomopathogenic fungal isolates. Sincere thanks are also extended to the Plant Protection Department staff and greenhouse workers for providing the experimental site and other support during our experiments.

## References

- Abbott W.S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*, 18:265-267.
- Abdel-Raheem M., I.A. Ismail, R.S. Abdel-Rahman, N.A. Farag & I.E. Abdel-Raheem, 2015. Entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Bals.) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) as biological control agents on some stored product insects. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(6): 316-320.
- Aynalem A.B., M.D. Diriba, J. Venegas & F. Assefa, 2020. Morphological, molecular, and pathogenicity characteristics of the native isolates of *Metarhizium anisopliae* against the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Ethiopia. *Egyptian Journal Biological Pest Control*, 30:59.
- Biondi A., A. Chailleux, J. Lambion, P. Han, L. Zappala & N. Desneux, 2013. Indigenous Natural Enemies Attacking *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Southern France. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 23 (1): 117-121.
- CABI, 2021. *Tuta absoluta* Natural enemy. European and Mediterranean Plant Protection Organization ,URL: <https://www.cabi.org/isc/20210446032>. Accessed on July 25, 2021.
- Desneux N., E. Wajnberg, K. Wyckhuys, G. Burgio, S. Arpaia, V.C.A. Narvaez, C. Gonzalez, J., Ruescas D.C., Tabone E., Frandon J., Pizzol J., Poncet C., Cabello T. & Urbaneja A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: Ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83: 197-215.
- Fergani Y.A. & R.S. Yehia, 2020. Isolation, molecular characterization of indigenous *Beauveria bassiana* isolate, using ITS-5.8 s rDNA region and its efficacy against the greatest wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) as a model insect. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30:96.
- Finey D.J., 1971. Probit Analysis, 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge University Press, London. Publication No: Publication No: 14, 333 pp.
- Food & Agriculture Organization of the United Nations, 2017. Transboundary Threats To Food And Nutrition Security In Southern Africa. URL: <http://www.fao.org/faostat/en>, (Accessed on April 24, 2022).
- Erler F. & O. Ates 2015. Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* as biological control agents against the June beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) . *Journal of Insect Science*, 15 (1): 44-51.
- Guedes R.N.C. & M.C. Picanço, 2012. The tomato borer *Tuta absoluta* in South America: Pest status, management and insecticide resistance. *EPPO Bulletin*, 42(2):211-216.
- Gashawbeza A. & F. Abiy, 2012. Occurrence of a new leaf-mining and fruit boring moth of tomato, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Ethiopia. *Pest Management Journal of Ethiopia*, 16: 57 – 61.
- Jaronski S.T. & G.M. Mascarin, 2013. Mass Production of Entomopathogenic Fungi: State of the Art. Mass Production of Beneficial Organisms. Published Elsevier Inc. Invertebrates and Entomopathogens, 357-413.
- Kaya H. & Y. Tanada, 2012. Insect pathology. Academic Press, San Diego. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-092625-4.50001-7>.
- Kılıç T., 2010. First record of *Tuta absoluta* in Turkey. *Phytoparasitica*, 38(3): 243-244.
- Kushiyevev R., C. Tuncer, I. Erper, O.I. Ozdemir & I. Saruhan, 2018. Efficacy of native entomopathogenic fungus, *Isaria fumosorosea* against bark and ambrosia beetles, *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28:55.

- Nicola S., G. Tibaldi & E. Fontana, 2009. Tomato Production Systems and Their Application to the Tropics. Vegetable Crops and Medicinal and Aromatic Plants Torino Grugliasco University, Italy. *Acta Horticulturae*, 821, 1 (29): 27-34.
- Ozdemir I.O., C. Tuncer & I. Erper, 2020. Efficacy of the entomopathogenic fungi; *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30 (24).
- Ndereyimana A., S. Nyalala, P. Murerwa & S.V. Gaidashova 2019. Pathogenicity of some commercial formulations of entomopathogenic fungi on the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29:70.
- Ratna B.A.S & B. Binu 2019. The life cycle of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) on different solanaceous host plants under laboratory conditions in Nepal. *Journal of Entomology and Zoology Study*, 7(3):1011-1013.
- Rodriguez M., M. Gerding & A. France, 2006. Effectivity of entomopathogenic fungus strains on tomato moth *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae. *Agricultura Tecnica* (Chile), 66(2):159-165.
- Ruiu L., 2015. Insect pathogenic bacteria in integrated pest management. *Insects*, 6 (2): 352-367.
- Rwomushana I., T. Beale, J. Tambo, F. Makale, C. Pratt, G. Lamontagne & M.P. Gonzalez, 2019. Tomato Leaf miner (*Tuta absoluta*) : impacts and Coping strategy for Africa. CABI working paper, Uk, Wallingford Record No: 20193363037, pp58 .
- Sabbour M.M. & N. Soliman, 2012. Evaluations of three *Bacillus thuringiensis* against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Egypt. *International Journal of Science and Research*, 3(8): 2319-7064.
- Sabbour M.M., 2014. Biocontrol of the Tomato Pinworm *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Egypt. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 3(3): 499-503.
- SAS, 2021. Statistical analysis system software. Ver. 9.4. SAS Institute Inc., Carry. NC. 1989-2021.
- Shiberu T. & E. Getu, 2017. Entomopathogenic effect of *Beauveria bassiana* (Bals.) and *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) on *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae under laboratory and glasshouse conditions in Ethiopia. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 8: 411-414.
- Singh A. & K. Zahra, 2017. LC<sub>50</sub> assessment of cypermethrin in *Heteropneustes fossilis*: Probit analysis. *International Journal Fisheries and Aquatic studies*, 5(5): 126-130.
- Siqueira H.A., R.N.V. Guedes & M.C. Picanço, 2001. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultural and Forest Entomology*, 2 (1): 147-153.
- Sora S.A., 2018. Review on the productivity of Released Tomato (*Solanum Lycopersicum* Mill) varieties in Different Parts of Ethiopia. *Journal of Horticulture Science and Forestry*, 1(1):102.
- Tsoulnara D. & R G. Port, 2016. Efficacy of a *Beauveria bassiana* strain, *Bacillus thuringiensis* and their combination against the tomato leafminer *Tuta absoluta*. *Entomologia Hellenica*, 25(2): 23-30.
- Veres A., K.A. Wyckhuys, J. Kiss, F. Toth, G. Burgio, X. Pons & L. Furlan, 2020. An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic pesticides. Part 4: Alternatives in major cropping systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(24): 29867-29899.

- Wekesa V.W., M. Knapp, N.K. Maniania & H.I. Boga, 2006. Effects of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on mortality, fecundity and egg fertility of *Tetranychus evansi*. *Journal Applied Entomology*, 130(3):155–159.
- Youssef A.N., 2015. Efficacy of the entomopathogenic nematodes and fungi for controlling the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Arab Universities Journal of Agricultural Science*, 23(2): 591–598.





**Orijinal araştırma (Original article)**

**The weevil, *Hypolixus pica* (F.) (Coleoptera: Curculionidae) as a potential biological control agent of *Amaranthus* species (Amaranthaceae) in Adana Province, Turkey**

Serkan PEHLİVAN<sup>1\*</sup>, Mahmut ERBEY<sup>2</sup>, Ekrem ATAKAN<sup>1</sup>,

**Adana’da *Amaranthus* türleri (Amaranthaceae) üzerinde bulunan potansiyel bir biyolojik mücadele etmeni: *Hypolixus pica* (F.) (Coleoptera: Curculionidae)**

**Öz:** *Amaranthus* türleri, Türkiye’de yazlık kültür bitkileri ile bahçelerde verimi etkileyen önemli yabancı otların başında yer almaktadır. Pestisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri ile *Amaranthus* türlerinin çeşitli herbisit etki mekanizmalarına karşı yüksek düzeyde dayanıklılık geliştirmesi, alternatif yabancı ot kontrol yöntemlerine ilgi duyulmasına neden olmuştur. Yabancı otlarla biyolojik mücadele son zamanlarda büyük önem kazandığından, bu çalışma Adana ilindeki *Amaranthus* türlerinin potansiyel olabilecek biyolojik mücadele ajanlarının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla Adana’nın üç ilçesinde (Yüreğir-Ceyhan-İmamoğlu) rastlantısal olarak 10 tarlada sörvey yapılmıştır. Her tarladan rastgele 10 adet *Amaranthus* bitkisi toplanmış, kesip açılmış ve farklı evrelerde bulunan böceklerin sayıları kaydedilmiştir. Bu çalışma ile, *Amaranthus* cinsine bağlı 3 yabancı ot türü tespit edilmiş olup *Amaranthus palmeri* L. en yaygın tür olmuş, bu türü *Amaranthus retroflexus* L. ve *Amaranthus spinosus* L. izlemiştir. *Amaranthus* bitkilerinde toplam olarak, 59 larva, 26 pupa ve 10 adet ergin birey tespit edilmiştir. Ergin bireylerin tamamı genital organlarına göre *Hypolixus pica* (F.) (Coleoptera: Curculionidae) olarak tanımlanmıştır. Sonuçlar, *H. pica*’nın *A. palmeri* ve *A. retroflexus*’un potansiyel biyolojik mücadele ajanı olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle *H. pica* gibi potansiyel faydalı böcekler için kitle üretim yöntemleri geliştirmelidir. Ayrıca, ekolojileri ile hedef yabancı ot türleri üzerinde biyolojik mücadele etmeni olarak rollerini belirlemek için daha detaylı çalışmalara gereksinim vardır.

**Anahtar kelimeler:** Adana, *Amaranthus* spp., biyolojik mücadele, horoz ibiği, Türkiye

**Abstract:** *Amaranthus* species (Family) are among the most important weeds in summer crops and orchards in Turkey. The detrimental effects of pesticides on the environment and human health and the development of high levels of resistance to several herbicide classes by *Amaranthus* species have generate interest in alternative weed control methods. Since the biological control of weeds has gained great prominence recently, this study was carried

<sup>1</sup> Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü-01330 Adana

<sup>2</sup> Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü-40100 Kırşehir

ORCID ID (Yazar sırasıyla): 0000-0002-9444-7457; 0000-0001-7352-4815; 0000-0003-0917-8684

\*Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: spehlivan@cu.edu.tr

Alınış (Received): 3 Haziran 2022

Kabul ediliş (Accepted): 26 Ağustos 2022



out to determine the potential biological control agents of *Amaranthus* spp. in Adana Province, Turkey. For this aim, ten randomly selected fields randomly were in three districts (Yüreğir-Ceyhan-İmamoğlu). In each field, ten *Amaranthus* plants were collected randomly and dissected, and the numbers of the weevils and their different stages were recorded. In this study, three *Amaranthus* species were identified and *A. palmeri* was the most common, followed by *A. retroflexus* and *A. spinosus*. Fifty-nine larvae, 26 pupae and 10 adults were collected from the *Amaranthus* plants. All adult individuals were identified as *H. pica* according to their genital organs. Our results show that *H. pica* could be considered to be a potential biological control agent of *A. palmeri* and *A. retroflexus*. More detailed studies are needed to determine its ecology and role as a biological control agent of the target weed species. In addition, it is crucial to develop mass rearing methods for potential beneficial insects such as *H. pica*.

**Keywords:** Adana, *Amaranthus* spp., biological control, pigweeds, Turkey

## Introduction

Turkey, which is located at the intersection of the continents of Asia and Europe, has different geographical regions in terms of climate and soil characteristics, and is especially rich in plant biodiversity. It has more than 12.000 plant species (Akbaş & Asav 2015). The highly diverse environment in Turkey also has many invasive plants that cause great productivity losses in agroecosystems.

Weeds, which are among these invasive plant species, are one of the major plant protection problems in cropping areas and can reduce the yields by more than 90% (Uygur 2002). Invasive weeds that cause harm in many parts of the world have been reported in different studies in Turkey (Önen 2015; Eren et al. 2016).

Seventy four amaranth species (*Amaranthus* spp., Amaranthaceae) which can become weeds have been described worldwide, mainly in the tropical and temperate zones (Mosyakin & Robertson 2004). *Amaranthus* species are among the most important weeds in summer crops and orchards in Turkey. With the listing of *Amaranthus crassipes* L. in the 'Flora of Turkey', the number of *Amaranthus* species increased to 15 and the number of taxa increased to 18 (Uygur et al. 2021). Moreover, *Amaranthus retroflexus* L. is one of the most important weed species in Europe because of the economic losses causes (Schroeder et al. 1993). Due to their wide ecological tolerance, their naturalization in Turkey was not difficult (Uygur et al., 2021). The first records in Turkey of *Amaranthus palmeri* L., a weed that is difficult to control, were from Adana, Osmaniye and Hatay Provinces of Turkey in 2014 (Eren et al. 2016).

*Amaranthus palmeri* is an invasive species that is quickly spreading across the western parts of Europe, Asia, Australia and North America (Steckel 2007). It is estimated that this weed was introduced to Turkey in animal manure, irrigation water and crop seeds. Although *A. palmeri* is seen especially in non-agricultural areas such as roadsides and irrigation canals, it can be seen in the citrus orchards, corn and peanut fields, which are important agricultural products of Turkey (Turhan 2017). Another *Amaranthus* species, *Amaranthus spinosus* L., which is native to tropical America is a noxious weed affecting 28 different crops in 44 countries (Waterhouse 1994). The presence of these weedy plant species was reported in the Eastern Mediterranean Region of Turkey in 2000 (Gönen & Uygur 2000).

Herbicides are widely used to control weeds, including *Amaranthus* species, but their residues cause insidious environmental pollution (Uygun et al. 1994). Moreover, overreliance on herbicides has resulted in weak control of *Amaranthus* species due to high levels of resistance to several herbicides (Barralis & Gasquez 1987; Gossett et al. 1992; Horak & Peterson 1995; Steckel 2007; Vencill et al. 2008; Norsworthy et al. 2008). For these reasons, classical biological control methods are one of the most important strategies for sustainable agroecosystems. Although biological control requires intensive research and investment in the short term, it is the easiest, cheapest and sustainable method to apply for long term success.

Over the past 100 years, a total of 114 weed species have been targeted with 200 biological control agents. There are many studies on insect species with biological control potential on *Amaranthus* species in Europe; 241 insect species have been reported from 21 *Amaranthus* species (El Aydam & Bürki 1997; Winston et al., 2017). Among them, the Curculionidae (Coleoptera) family is the most important, including 48 beneficial species (Haseeb et al. 2006).

In this family, the genus *Hypolixus* Desbrochers, 1898 (Curculionidae: Lixinae) is distributed in the Palearctic, Afrotropical, Oriental and Australian regions (Alonso-Zarazaga & Lyal 2002). *Hypolixus truncatulus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae) has been substituted for the use of herbicides in the control of *A. spinosus* in Thailand (Napompeth 1982). Moreover, *H. pica* was harmful to the roots and stems of *A. caudatus* L. in Egypt and the damage could reach 100% locally (Kolaib et al. 1986). Also, Gültekin & Korotyaev (2012) reported that *Cosmobaris discolor* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) and *H. pica* may be useful as biological control agents against the *A. spinosus*.

Despite the increasing importance of biological control agents against weeds across the world, a very limited number of studies have been conducted in Turkey. Against that background, survey studies were carried out to determine potential biological control agents on *Amaranthus* species in Adana Province, Turkey.

## **Materials and Methods**

Ten fields (3 corn, 2 cotton, 2 soybean, 2 peanut and 1 sunflower) were surveyed randomly in three districts (Yüreğir-Ceyhan-İmamoğlu) of Adana Province in 2021 (Figure 1).



Figure 1. Survey areas for *Hypolixus pica* on *Amaranthus* species in different cultivated crops in Adana Province, Turkey.

Sampling was generally carried out at the edge of the field where *Amaranthus* weeds were growing. In each field, ten plants were collected randomly and dissected, and the numbers of weevils and their different stages were counted (Gültekin & Korotyaev 2012) (Figure 2). Immature stages of the sampled weevils were cultured in a laboratory at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $60 \pm 10\%$  relative humidity, and 14L:10D (L: light; D: dark) conditions, to obtain adults. All adult individuals were identified by the second author.

To determine the *Amaranthus* species, plant samples were wrapped in paper, put into labelled plastic bags and brought to the laboratory where they were identified by Prof. Dr. Sibel UYGUR and Selin TÜNK M.Sc. (Çukurova University, Plant Protection Department, Herbology Laboratory, Adana, Turkey)

### Data evaluation

The figure for surveyed areas was created on Google Earth with coordinated data. The ratios of different *Amaranthus* species were determined by dividing the number of *Amaranthus* identified in the same species by the total number of *Amaranthus* sampled. Different life stages of *H. pica* found within the plant tissues (galleries) of plants in the surveyed areas were determined. Ratios of the different life stages of *H. pica* in different *Amaranthus* species were calculated from the numbers of each biological stage of the weevil and the total number of the weevil in the same weed.



Figure 2. Damaged parts of *Amaranthus* spp. due to the feeding activity of *Hypolixus pica* and different life stages of the weevil in Adana Province, Turkey in 2021.

## Results and Discussion

Three *Amaranthus* species were identified and *A. palmeri* was the most common one, followed by *A. retroflexus* and *A. spinosus* (Figure 3).

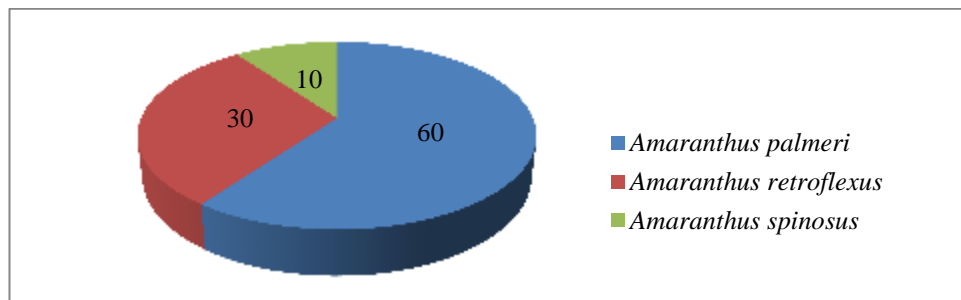


Figure 3. Proportions of three *Amaranthus* species sampled and identified in Adana Province, Turkey in 2021.

Three corn, two cotton, two soybean and two peanut fields, and 1 sunflower field, infested with *Amaranthus* plants, were surveyed. A total of fifty-nine larvae, 26 pupae and 10 adults were collected from the *Amaranthus* plants (Table 1).

Table 1. Total numbers of the different life stages of *Hypolixus pica* on *Amaranthus* species in the sampling locations in Adana, Turkey in 2021

Sampling locations		<i>Amaranthus</i> species	Cultured plants with amaranths	Total number of <i>Hypolixus pica</i>		
				Larvae	Pupae	Adult
Yüreğir	1	<i>A. spinosus</i>	Corn	0	0	0
	2	<i>A. palmeri</i>	Corn	7	2	2
	3	<i>A. palmeri</i>	Cotton	1	2	0
	4	<i>A. retroflexus</i>	Cotton	6	2	3
Ceyhan	1	<i>A. retroflexus</i>	Soybean	3	2	1
	2	<i>A. palmeri</i>	Peanut	9	3	1
	3	<i>A. palmeri</i>	Corn	9	4	1
İmamoğlu	1	<i>A. retroflexus</i>	Peanut	13	2	0
	2	<i>A. palmeri</i>	Soybean	1	0	1
	3	<i>A. palmeri</i>	Sunflower	10	9	1
<i>Amaranthus spp.</i>			Total	59	26	10

All adult individuals were identified as *H. pica*, based on their genital organs (Figure 4). There were no individuals recorded from *A. spinosus*. More than half of the insects were collected from the *A. palmeri* and the rest were from *A. retroflexus* (Table 1)



Figure 4. Aedeagus: (a) dorsal view, (b) lateral view, (c) spermatheca and (d) spiculum ventral of the male of *Hypolixus pica*.

From *A. retroflexus*, a total of 32 *H. pica* individuals were collected; a substantial majority (68.75%) were larvae, followed by pupae (18.75%) and the rest were adults (12.50%). For *A. palmeri*, 58.73% were larvae of *H. pica*, followed by pupae (31.75%) and adults (9.52%) (Figure 5).

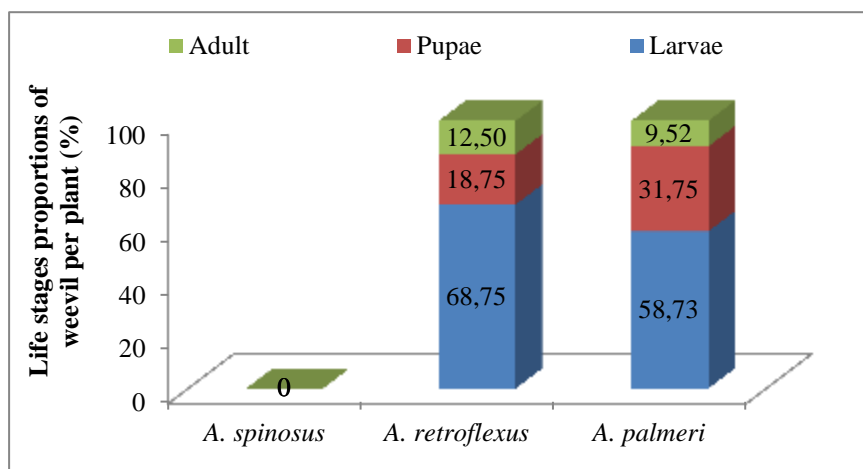


Figure 5. Ratios of different life stages of *Hypolixus pica* collected from three *Amaranthus* species in Adana Province, Turkey

*Amaranthus* species are some of the most important invasive weeds in crop fields and wastelands. In the United States of America, *A. palmeri* has been ranked as one of the most problematic weeds of crop plant species such as cotton, maize, and soybean (Ward et al. 2013). In the current research in 2021, *A. palmeri* was one of the most common species and it was detected in cotton, maize, peanut and soybean fields. In addition, *A. retroflexus* was collected from cotton, peanut and soybean fields (Table 1). Although *A. retroflexus* grows on a wide range of soil types and textures, it is less common on the acid soils in the south-eastern USA, where the other pigweed species, *A. palmeri*, is more abundant (Weaver & McWilliams 1980). The abundance and ecological impacts of some invasive plant species are much greater in their exotic ranges than in their native ranges (Hierro et al. 2013). Eren et al. (2016) reported that *A. palmeri* was an extremely aggressive species that had the potential to spread across large areas in Turkey.

Overreliance on herbicides to control weeds, including *Amaranthus* spp., and their detrimental effects on the environment and human health, and the risk of further deterioration of the natural balance, plus high levels of resistance to several herbicide classes, have generated interest in alternative weed control management such as biological control by arthropods and pathogens.

For more than a century, scientists have been interested in the potential use of insects for the control of *Amaranthus* spp. regarded as weeds in Europe; 241 species were reported from 21 *Amaranthus* species by El Aydam & Bürki (1997). *Amaranthus palmeri* was reported to be a host of some sucking insects, including *Aufeius impressicollis* Stål, 1870 (Hemiptera: Rhopalidae), *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Lygidae), *Polymerus basalis* (Reuter, 1876) and *Taylorilygus pallidulus* (Blanchard, 1852) (Hemiptera: Miridae) (Snodgrass et al. 1984; Jones & Allen 2012). Moreover, *A. retroflexus* has been determined to be a host plant for many insects such as *Ceutorrhynchus floralis* (Paykull), *Lixus subtilis* Boheman, *Rhinoncus perpendicularis* (Reich), *Sitona lineatus* Linnaeus, *Sitona hispidulus* (Fabricius) and *Tychius picirostris* (Fabricius) (Coleoptera:

Curculionidae) (Burki 1997). Also, several authors have suggested *Disonycha glabrata* (Tisler, 1990) (Coleoptera: Chrysomelidae) as a potential control agent of *Amaranthus* species (Hamenway & Whitcomb 1968; Vogt & Cordo 1976; Burki et al., 1997). *Disonycha glabrata* (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae), which is native to South America, feeds on *A. retroflexus*, and lays eggs internally (Hamenway & Whitcomb 1968). Balsbaugh et al. (1981) reported that adults of this species were released to suppress amaranths in North Dakota (USA) in 1979-80. Also, Tisler (1990) noted that the same species was being successfully used in the biological control of *A. retroflexus* in the warm regions of the USA.

Although many studies have reported different insect species on amaranth plants, in this study only *H. pica* was collected from *A. palmeri* and *A. retroflexus* growing naturally at the edges of, or inside fields of five different cultivated crops in Adana Province (Table 1). Napompeth (1982) noted that the Curculionidae species, *Hypolixus truncatulus* (F.), has been substituted for the use of herbicides in the control of *A. spinosus* in Thailand. Moreover, some *Amaranthus* species have been determined to be host plants of *H. pica* in different countries (Tawfik et al. 1976; Kolaib et al. 1986; Pourtahezareei et al. 2010). Kolaib et al. (1986) reported that *H. pica* was harmful to the roots and stems of *A. caudatus* plants in Egypt, and its damage could reach 100%. In Iran, adults of *H. pica* fed on leaves and seeds of *A. retroflexus* and laid their eggs inside stems and the larvae tunneled in the stem. New generation adults, which made holes when emerging from stems, produced three offspring per year (Pourtahezareei et al. 2010). More recently, *H. pica* and *C. discolor* were determined to be potential biological control agents of *A. spinosus* in Turkey (Gültekin & Koryataev 2012). Overall, the results of the current study corroborated the findings of earlier research in Turkey.

In conclusion, with increasing public pressure to use more environmentally friendly and sustainable crop production, interest in alternative weed control strategies is rising. Biological control could be one of the most important tools for controlling weedy *Amaranthus* spp. However, controlling the weeds in the initial stages of crop growth limits the potential use of classical biological control due to the slow build-up of effective populations. For this reason, it is crucial to develop mass rearing methods for potential beneficial insects such as *H. pica* and to understand their ecology and interactions with the target weed species.

### Acknowledgments

The authors are thanks to Prof. Dr. Sibel UYGUR and MSc. Selin TÜNK at Çukurova University, Plant Protection Department, Herbology Laboratory for identification of the amaranth plants.

### References

- Akbaş B. & Ü. Asav, 2015. Ülkemizde istilacı türlere genel bir bakış. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 18: 3-4.
- Alonso-Zarazaga M.A. & C.H. Lyal, 2002. Addenda and corrigenda to 'A world catalogue of families and genera of Curculionoidea (Insecta: Coleoptera)'. *Zootaxa*, 63(1), 1-37.
- Balsbaugh E.U., R.D. Jr Frye, C.G. Scholl & A.W. Anderson, 1981. Insects for weed control: status in North Dakota. *North Dakota Farm Research*, 39:3-7.

- Barralis G. & J. Gasquez, 1987. Investigations on herbicide resistant weeds. *Newsletter of the European Weed Research Society*, 38: 5-10.
- Bürki H.M., 1997. Investigations on the Feasibility of Biological Control of Pigweeds (*Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S. Wats. and *A. bouchonii* Thell.) with Phytophagous Insects, Fungal Pathogens and Crop Management. University of Bern, PhD Thesis, Switzerland.
- Bürki H.M., D. Schroeder, J. Lawrie, L. Cagán, M. Vráblová, M. El Aydam, F. Szentkirályi, R. Ghorbani, B. Jüttersonke & H.U. Ammon, 1997. Biological control of pigweeds (*Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S. Watson and *A. bouchonii* Thell.) using phytophagous insects, fungal pathogens and crop management. *Integrated Pest Management Reviews*, 2: 51–59.
- El-Aydam M. & H.M. Bürki, 1997. Biological control of noxious pigweeds in Europe: a literature review of the insect species associated with *Amaranthus* spp. worldwide. *Biocontrol News and Information*, 18(1).
- Eren Ö, M.N. Doğan, Ö. Boz, S. Türkseven, Özcan, R. 2016. *Amaranthus palmeri* L. [In: Raab-Straube, E. von & T. Raus, (Editors), Euro+Med-Checklist Notulae, 6], *Willdenowia*. 423-424, 437-441.
- Gossett B.J., E.C. Murdock & J.E. Toler, 1992. Resistance of palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) to the dinitroaniline herbicides. *Weed Technology*, 6(3): 587-591.
- Gönen O. & F.N. Uygur, 2000. A new record for the flora of Turkey *Amaranthus spinosus* L. (Amaranthaceae). *Turkish Journal of Botany*, 24: 359–360.
- Gültekin L. & B.A. Korotyayev, 2012. New Data on *Cosmobaris discolor* (Boheman) and *Hypolixus pica* (F.) (Coleoptera: Curculionidae) associated with *Amaranthus* (L.) (Amaranthaceae). *Coleopterists Bulletin*, 66(3): 226-232.
- Hamenway R. & W.H. Whitcomb, 1968. The Life History of *Disonycha glabrata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 41: 174-178.
- Haseeb M., C.W. O'Brien, R.W. Flowers & M.T.K.M. Kairo, 2006. Identification tool for weevil biological control agents of aquatic and terrestrial weeds in the United States and Canada. Lucid Key (Ver. 3.3), December, 2006.
- Hierro J.L., Ö. Eren, M.N. Chiuffo & D. Villarreal, 2013. Non-native conditions favor non-native populations of invasive plant: demographic consequences of seed size variation? *Oikos*, 122: 583-590.
- Horak M. J. & D. E. Peterson, 1995. Biotypes of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) and common waterhemp are resistant to imazethapyr and thifensulfuron. *Weed Technology*, 9: 192-195.
- Jones G.D. & K.C. Allen, 2012. Using *Amaranthus palmeri* pollen to mark captured tarnished plant bugs. *Palynology*, 36(2): 153-161.
- Kolaib, M.O., M.W.F. Younes & E.T.E. Darwish, 1986. *Hypolixus nubilosus* as a factor in biological control of *Amaranthus* weeds in Egypt. *Annals of Agricultural Science* (Cairo), 31: 767-776.
- Napompeth, B. 1982. Biological research and development in Thailand. In Proceedings of the International Conference on Plant Protection Tropics, pp. 301–303.
- Norsworthy J.K., G.M. Griffith, R.C. Scott, K.L. Smith & L.R. Oliver, 2008. Confirmation and control glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in Arkansas. *Weed Technology*, 22: 108-113.
- Önen H., 2015. Türkiye istilacı bitkiler kataloğu. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı. Ankara, p:1-10.
- Pourtaherzarei, R.A, P. Shishebor & R. Eslamizadeh, 2010. A study of the biology of *Amaranthus* stem boring weevil, *Hypolixus pica* (F.) on red root pig weed, *Amaranthus*



- retroflexus* L. in Dezful. *Iran Journal of Plant Protection Science*, 41: 225-232 (in Persian with English abstract).
- Rajeshkanna, S., N. Sivaraga & G. Mikunthan, 2017. Biology and Management of *Amaranthus* Stem Borer (*Hypolixus Truncatulus*) (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of Sri Lanka Department of Agriculture*, 19: 258-266.
- Schroeder D., H.M. Schaerer & C.S.A. Stinson, 1993. A European weed survey in 10 major crop systems to identify targets for biological control. *Weed Research*, 33: 449-58.
- Snodgrass G.L., W.P. Scott & J.W. Smith, 1984. Host plants and seasonal distribution of the tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) in the Delta of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. *Environmental Entomology*, 13: 110-116.
- Steckel L. E., 2007. The dioecious *Amaranthus* spp.: here to stay. *Weed Technology*, 21: 567-570.
- Tawfik M.F.S, K. Awadallah & F.F. Shalaby, 1976. The biology of *Hypolixus nubilosus* Boh., an insect infesting the weed *Amaranthus caudatus* L. in Egypt (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin of Entomological Society of Egypt*, 60: 65-74.
- Tisler A.M., 1990. Feeding in the pigweed flea beetle. *Disonycha glabrata* Fab. (Coleoptera: Chrysomelidae) on *Amaranthus retroflexus*. *Virginia Journal of Science*, 41: 243-5.
- Turhan G., 2017. *Amaranthus palmeri*'nin mücadelesinde kullanılabilir herbisitlerin belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Yüksek lisans tezi, Aydın, 51s.
- Uygun N., N.K. Koç, F.N. Uygur, İ. Karaca, S. Uygur & M. Küsek, 1994. Doğu Akdeniz Bölgesi çayır-meralarındaki yabancı ot türleri ve doğal düşmanları üzerinde araştırmalar. Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kong. Bildirileri, 25-28 Ocak, İzmir, 321-330.
- Uygur F.N., 2002. Yabancı otlar ve biyolojik mücadele. Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kong. Bildirileri, 4-7 Eylül, Erzurum, 49-60.
- Uygur S., Ö. Tetik & A.D. Koca, 2021. Türkiye için yeni bir yabancı ot türü: *Amaranthus crassipes* Schldl.(Horozibiğigiller/Amaranthaceae Juss.). *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 8(2): 7-11.
- Vencill V.K., 2002. Herbicide Handbook 8th Edition. Weed Science Society of America, p.493.
- Vogt G.B. & H.A. Cordo, 1976. Recent South American field studies of prospective biocontrol agents of weeds. In proceedings of the Res. *Planning Conference on Aquatic Plant Control Program*, Charleston, 36-55.
- Waterhouse D.F., 1994. Biological Control of Weeds: Southeast Asian Prospects. ACIAR Monograph No. 26. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra, Australia.
- Ward S.M., T.M. Webster & L.E. Steckel, 2013. Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*): a review. *Weed Technology*, 27(1):12-27.
- Weaver S.E. & E.L. McWilliams, 1980. The biology of Canadian weeds. 44. *Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S. Wats. and *A. hybridus* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 60(4):1215-1234.
- Winston R., C.B. Randall, B. Blossy, P.W. Tipping, E.C. Lake & J. Hough-Goldstein, 2017. Field guide for the biological control of weeds in eastern North America. US Department of Agriculture, Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team.





*Orijinal araştırma (Original article)*

**Amerikan beyaz kelebeği, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)'nın ergin popülasyon takibi ile biyolojik mücadelesinde parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi\***

Osman AVCI<sup>1</sup>, Sevcan ÖZTEMİZ<sup>1\*\*</sup>, İbrahim CİNER<sup>1</sup>

**Determination of adult population monitoring with parasitoids and predators in biological control of the Fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)**

**Abstract:** The aims of this study were to determine the population dynamics of adults of the polyphagous pest, the fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae), and also its parasitoids and predators, in hazelnut plantations in Düzce Province, Turkey in 2019. In order to monitor the adult populations of this pest, light traps were installed in plantations at two different locations in the Central and Cumayeri districts of Düzce. There were population peaks in June and August that produced two generations of offspring. To determine the parasitoids and predators of *H. cunea* infested leaf were sampled in a total of 165 hazelnut plantations in 8 districts (Akçakoca, Cumayeri, Çilimli, Gümüşova, Gölyaka, Merkez, Kaynaşlı, Yığılca) and the collected samples were maintained in the laboratory. *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Chouioia cunea* Yang (Hymenoptera: Eulophidae), *Baryscapus* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), *Apanteles hyphantriae* Riley (Hymenoptera: Braconidae), *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), and *Pales pavida* Meigen (Diptera: Tachinidae) and *Exorista larvarum* (L.) (Diptera: Tachinidae), were identified as parasitoids of *H. cunea*, and *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera: Chrysopidae) was identified as a predator. The pupal parasitoid, *C. cunea*, is a first record for Düzce Province.

**Key words:** Fall webworm, *Hyphantria cunea*, biological control, parasitoid, predator, Düzce, hazelnut, population monitoring

**Öz:** Çalışmada Düzce ili fındık bahçelerinde zararlı Amerikan beyaz kelebeği *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)'nın ergin popülasyon takibi ile parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi amaçlanmış olup 2019 yılında yürütülmüştür. Ergin popülasyon takibi Düzce ili Merkez ve Cumayeri ilçeleri olmak üzere iki farklı lokasyonda belirlenen bahçelere kurulan ışık tuzağı ile yapılmıştır. Zararlının ergin bireyleri haziran ve ağustos aylarında olmak üzere yılda iki tepe noktası oluşturduğu ve iki döl verdiği saptanmıştır. *Hyphantria cunea*'nın parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi için 8 ilçede (Akçakoca, Cumayeri, Çilimli, Gümüşova, Gölyaka, Merkez, Kaynaşlı, Yığılca) toplam 165 fındık bahçesinde örnekleme yapılmış ve zararlı ile bulaşık toplanan örnekler laboratuvarında kültüre alınmıştır. Zararlının parazitoitleri olarak *Trichogramma brassicae*

\*Bu çalışma yüksek lisans tezinin bir bölümüdür.

<sup>1</sup> Düzce Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Düzce

\*\* Sorumlu yazar (Corresponding author): e-mail: sevcanoztemiz@duzce.edu.tr

ORCID ID (Yazar sırasıyla): 0000-0002-6382-2293, 0000-0001-9643-0694, 0000-0002-2134-9151

Alınış (Received): 26 Temmuz 2022

Kabul edilmiş (Accepted): 24 Ekim 2022

Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Chouioia cunea* Yang (Hymenoptera: Eulophidae), *Baryscapus* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), *Apanteles hyphantriae* Riley (Hymenoptera: Braconidae), *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Pales pavidus* Meigen (Diptera: Tachinidae), *Exorista larvarum* (L.) (Diptera: Tachinidae); preadatorleri olarak *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera: Chrysopidae) tespit edilmiştir. Pupa parazitoidi, *C. cunea* Düzce ili için ilk kayıttır.

**Anahtar kelimeler:** Amerikan beyaz kelebeği, *Hyphantria cunea*, biyolojik mücadele, parazitoit, predatör, Düzce, fındık, popülasyon takibi

## Giriş

Dünyada gerek üretim ve gerekse tüketim bakımından sert kabuklu meyveler içerisinde bademden sonra ikinci sırada yer alan fındık, Türkiye, ABD, İtalya, İspanya ve Gürcistan gibi uygun iklim koşullarına sahip ülkelerde yetişebilmektedir. Dünyada fındık üretimi ve ihracatı konusunda birinci konumda olan Türkiye, Dünya üretiminin %75'ini, ihracatının ise %80-85'ini gerçekleştirmektedir (Anonymous 2016). Fındık iki milyar dolar döviz girdisi sağlaması ile ülkemiz ekonomisinde önemli bir yere sahiptir (Aktaş et al. 2011). Ülkemizde 2019 yılında 730.000 hektar alanda fındık yetiştiriciliği yapılmış olup, üretim 776 bin ton'dur (TÜİK 2019). Düzce ili 2019 yılı verilerine göre fındık üretim alanı bakımından (63,650 ha) Türkiye'de altıncı üretim miktarı açısından (85,688 ton) ise beşinci sıradadır. Düzce ilinde tarım alanlarının yaklaşık %85'i fındık üretimine ayrılmıştır (Anonymous 2019).

Fındık yetiştiriciliğinde verimi etkileyen faktörlerin başında ana zararlı olarak bilinen Amerikan beyaz kelebeği, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae) Kuzey Amerika orijinli olup, Avrupa ve Asya kıtalarına yayılmıştır. Amerika'dan Macaristan'a ticari ürünlerle birlikte gelerek 1940 yılında ilk kez Budapeşte'de belirlenmiş ve daha sonra bütün Avrupa'ya yayılmıştır. Zararlı 1945 yılında Asya kıtasında Japonya, Çin, Kore, Rusya, Türkmenistan, Özbekistan, Gürcistan, Azerbeycan ve Kazakistan'da görülmüştür (Boyev 1954; Gomi 2007; Tuncer & Mdivani, 2014; Yang et al. 2015). Türkiye'de ilk kez 1975 yılında Marmara Bölgesinde; Edirne, İstanbul (Çatalca, Silivri) ve Tekirdağ illerinde görülmüştür. Karadeniz Bölgesi ile Kuzey Ege'de yayılmıştır. Zararlı 1982 yılında Orta Karadeniz Bölgesi'nde, 1997 yılında ise Düzce ilinde görülmüştür (İren 1977; Baş 1982).

Ergin kelebekler gece aktiftir ve geceleri uçar, gündüzleri dinlenirler. Düzce'de hava sıcaklığı ve gün uzunluğuna bağlı olarak 2-3 generasyon vermektedir (Anonymous 2011). Kışı ağaçların toprak ile birleştiği yerlerde, ağaç kabuğunda ve çok yaşlı ağaçların kovuklarında bir koza içinde pupa olarak geçirirler. Kışlayan pupalardan çıkan birinci generasyona ait kelebek uçuşu genellikle Mayıs ayında, ikinci generasyon ait kelebek çıkışları ise Temmuz ayında görülür. Hava sıcaklığına ve yağışlara bağlı olarak bu süre bir hafta gecikerek Haziran ayına kayabilmektedir. Yumurtalarını genel olarak uç dalların yaprakları altına bırakırlar. Yumurtadan çıkan genç larvalar birden fazla dalı ve yaprakları da içine alarak ipeksi ağlar örürler, yaprakları sadece ana damar kalacak şekilde yiyerek zararlı olurlar. Bitki gelişimine verdikleri zarar ile önemli ürün kaybına neden olurlar (Karadeniz et al. 2008; Anonim 2011).

Düzce ilinde 1997 yılında giriş yapan zararlıya karşı yaklaşık 20 yıldan fazla zararlı ile mücadele yapılmakla birlikte zararlı popülasyonunda azalma meydana gelmemekte, aksine her yıl artan bir popülasyon ile mücadele yapılması zorunluluk hale gelmiştir. Düzce ilinde fındık üretimini tehdit eden bu durumun sebebine yönelik herhangi bir bilimsel veriye ulaşılamamış olup, bu amaçla ele alınan çalışmada zararlının ergin popülasyon takibi ve doğal düşmanlarının etkinliğinin artması için zararlının parazitoit ve predatörleri belirlenmiştir.

### Materyal ve yöntem

Çalışmanın materyalini Düzce ili fındık (*Corylus avellana* L.) (Betulaceae) ağaçları, Amerikan beyaz kelebeği, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)'nın biyolojik dönemleri, parazitoit ve predatörleri, ışık tuzağı, parazitoit çıkış kutuları, tül, pamuk, makas, pens, yumuşak fırça, örneklerin muhafazası için buzdolabı, stereo mikroskop, iklim odası ve laboratuvar plastik ve cam malzemeleri oluşturmuştur.

Çalışmada zararlının ergin popülasyon takibi Düzce ilinin Cumayeri ve Merkez ilçe olmak üzere iki farklı lokasyonunda, parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi için ise Düzce ilinin sekiz ilçesinin tamamında 2019 yılında yürütülmüştür.

### Düzce İli Fındık Bahçelerinde *Hyphantria cunea* (Drury)'nın Ergin Popülasyon Takibinin Belirlenmesi

*Hyphantria cunea* (Drury)'nın ergin popülasyon takibi için Düzce ilinin Cumayeri ve Merkez ilçeleri olmak üzere iki farklı lokasyonunda belirlenen bahçelere birer adet Robinson tipi ışık tuzağı kurulmuştur (Şekil 1) (Smith et al. 1992; Zhang et al. 1998). Işık tuzakları nisan ayından itibaren hasada kadar haftada bir kontrol edilerek tuzakta yakalanan ergin bireylerin sayımı yapılmıştır (Şekil 2). Sayımı yapılan numuneler plastik kaplara konularak laboratuvara getirilmiş ve kaydedilmiştir. Sıcaklık ve nem verileri Düzce meteoroloji istasyonundan alınmıştır.



Şekil 1. *Hyphantria cunea*'nın ergin popülasyon takibinde kullanılan ışık tuzağı.

Figure 1. Light trap used for monitoring of *Hyphantria cunea* adult.



Şekil 2. *Hyphantria cunea* erginleri.

Figure 2. Adults of *Hyphantria cunea*

### **Düzce İli Fındık Bahçelerinde *Hyphantria cunea* (Drury)'nın Parazitoit ve Predatörlerinin Belirlenmesi**

*Hyphantria cunea* (Drury)'nın biyolojik mücadelesine yönelik parazitoit ve predatörlerin belirlenmesi için örneklemeler periyodik olmayan arazi çıkışları ile Mayıs-Kasım aylarında Düzce ilinin 8 ilçesinde (Akçakoca, Cumayeri, Çilimli, Gümüsova, Gölyaka, Merkez, Kaynaşlı, Yığılca) yürütülmüş ve zararlının ergin öncesi dönemleri ile bulaşık örnekler doğadan toplanarak plastik kaplara konulmuş ve laboratuvara getirilmiştir. Örnekleme yöntemi Fındık Entegre Mücadele Teknik Talimatında belirtildiği şekilde yapılmıştır (Anonymous 2011).

**Parazitoitlerin Belirlenmesi:** Yumurta parazitoitlerini belirlemek için fındık bahçelerinde örneklenen bitkilere bırakılan yumurtalar yapraklarıyla beraber plastik kaplar içine konularak laboratuvara getirilmiş ve 26 °C sıcaklık % 60±5 nem ve 16:8 aydınlık: karanlık iklim odasında kültüre alınmıştır. *Hyphantria cunea*'nın larva ve pupa parazitoitlerini belirlemek için zararlı ile bulaşık olduğu tespit edilen bahçelerde ağaç gövdelerine sarılan oluklu karton veya çuval gibi malzemelerden larva ve pupalar toplanmış ve doğal düşmanların çıkışları takip edilmiştir (Jarfas & Viola 1986). *H. cunea* pupaları kurumuş ve sağlıklı ağaçların kabuk altlarından, iç kısımlarından, bahçelerdeki kütüklerin içlerinden, alt kısımlarından, odun yığınlarından, özellikle de çit kazıklarından ve fındık ocaklarının köklerinden toplanmıştır. Toplanan örnekler polietilen torbalara konularak buz kaplarında laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarında sağlıklı larva ve pupalar ile hastalıklı veya parazitlenmiş olanlar ayrılmıştır. Parazitlenmiş olanların her biri ayrı plastik kaplarda kültüre alınarak takip edilmiş ve kayıt altına alınmıştır. Elde edilen parazitoidlerin teşhisleri konu uzmanları tarafından yapılmıştır.

**Predatörlerin Belirlenmesi:** *Hyphantria cunea*'nın avcılarını belirlemek için örnekleme yapılan bahçelerde ağız aspiratörü ile ergin avcı böcekler toplanmış, diğer biyolojik dönemleri ise bitki üzerinde bulunduğu bitki organıyla beraber veya

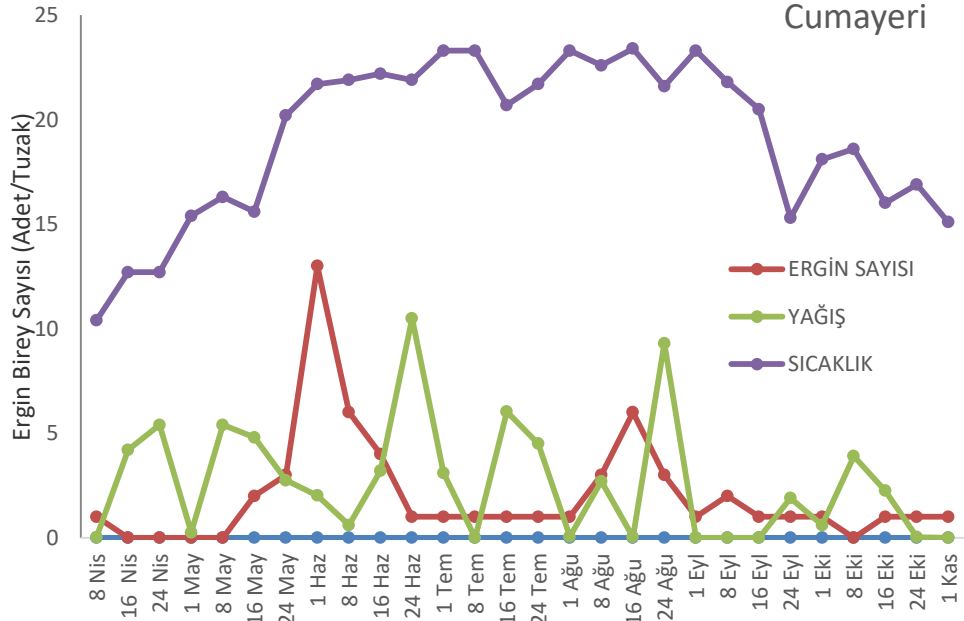
samur fırçalar yardımıyla alınarak küçük plastik kap, tüp ve polietilen torbalar içerisinde buz kaplarında laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarında predatörlerin ergin öncesi dönemleri farklı kültür kaplarında zararlının yumurta ve larvaları verilerek iklim odasında kültüre alınmıştır. Predatörler ergin oluncaya kadar zararlının yumurta ve larvalarından besin takviyesi yapılmıştır. Ayrıca örneklemelerde fındıkta zararlının ergin öncesi dönemleri ile beslendiği tespit edilemeyen avcılar da toplanarak iklim odasında zararlının yumurta ve larvalarıyla beslenmeye alınmıştır. Elde edilen predatör erginlerin teşhisi yapılarak kaydedilmiştir (Anonymous 2011).

## **Bulgular ve Tartışma**

### **Düzce İli Fındık Bahçelerinde *Hyphantria cunea* (Drury)'nın Ergin Popülasyon Takibinin Belirlenmesi**

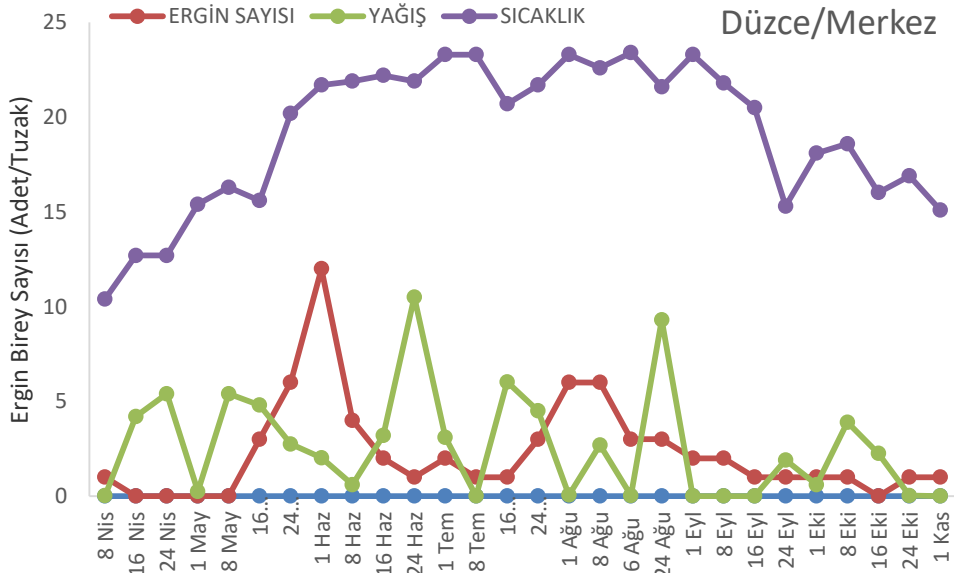
Zararlının ergin popülasyon takibini yapmak amacıyla Düzce ili Merkez ve Cumayeri ilçelerinde kurulan ışık tuzaklarında gözlemler yapılmıştır. Cumayeri ilçesine kurulan tuzaktan elde edilen verilerde zararlıya ait ilk erginin nisan ayında (08.04.2019) yakalandığı, zararlının yıl içerisinde Haziran (01.06.2019) ve Ağustos (16.08.2019) aylarında iki kez pik yaptığı belirlenmiştir (Şekil 3). Haftalık yapılan gözlemlerde zararlının hava sıcaklığının ortalama 15,4 °C olduğu Mayıs ayının ikinci haftasında (08.05.2019) ilk döl çıkışlarının başladığı, sıcaklığın ortalama 21,7°C olduğu Haziran ayının ilk haftasında (01.06.2019) en yoğun ergin çıkışı gözlemlenmiştir. Bu tarihten sonra ergin çıkışının azaldığı ve ortalama sıcaklığın 20°C'nin üzerinde olduğu Ağustos ayının ilk haftasında ergin popülasyonunun arttığı ve ikinci döl çıkışlarının başladığı gözlemlenmiştir. İkinci döl ergin çıkışları ortalama hava sıcaklığının 23,3°C'ye ulaştığı Ağustos ayının ikinci haftasında pik noktasına ulaşmıştır. Hava sıcaklığının düştüğü Eylül ayından itibaren zararlının ergin çıkışının azaldığı ve Kasım ayının ilk haftasına kadar (01.11.2019) kadar ergin çıkışlarının devam ettiği saptanmıştır. Fındıkta meyve nohut büyüklüğüne yaklaştığında popülasyonun en yüksek seviyeye ulaştığı gözlemlenmiştir. Düzce ili Merkez ilçesinde de Cumayeri ilçesindeki verilere benzer sonuçlar elde edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 4). Sakarya ilinde zararlının ergin çıkışını takip ettiği çalışmada birinci dölle ait ergin çıkışının ortalama 10 günde bitirse de, ikinci dölle ait ergin çıkışının üç ay kadar sürdüğünü; iki cinsiyetteki ergin bireylerin mart ayının başlarında çıkış yapmaya başladığı, dişi bireylerin çıkışının haziranın başına, erkek bireylerin ise mayıs başına kadar devam ettiğini saptamışlardır. Sakarya ilinde yapılan çalışma ile sıcaklık değerlerinde ergin çıkışlarının benzerlikler gösterdiği saptanmıştır (Akkuzu & Mol 2006). Benzer şekilde yurtdışında yapılan çalışmalarda da zararlının iki döl verdiği bildirilmiştir (Itô et al. 1970).





Şekil 3. *Hyphantria cunea*'nın Düzce ili Cumayeri ilçesinde ergin popülasyon gelişimi

Figure 3. Population development of *Hyphantria cunea* in Düzce, Cumayeri



Şekil 4. *Hyphantria cunea*'nın Düzce ili Merkez ilçesinde ergin popülasyon takibi

Figure 4. Population development of *Hyphantria cunea* in Düzce, Merkez

## Düzce İli Fındık Bahçelerinde *Hyphantria cunea*'nın Parazitoit ve Predatörlerinin Belirlenmesi

Düzce ilinde zararlının doğal düşmanları olarak üç takımdan altı familyaya bağlı sekiz tür tespit edilmiştir. *Hyphantria cunea*'nin parazitoidleri olarak *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Chouioia cunea* Yang (Hymenoptera: Eulophidae), *Baryscapus* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), *Apanteles hyphantriae* Riley (Hymenoptera: Braconidae), *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Pales pavidata* Meigen (Diptera: Tachinidae), *Exorista larvarum* (L.) (Diptera: Tachinidae); predatörü olarak *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera: Chrysopidae) tespit edilmiştir. Pupa parazitoidi, *C. cunea* Düzce ili için ilk kayıttır.

Çizelge 1. *Hyphantria cunea*'nin parazitoit ve predatörleri

Table 1. Parasitoids and predators of *Hyphantria cunea*

Takım	Familya	Tür
<b>Parazitoit</b>		
Hymenoptera	Trichogrammatidae	<i>Trichogramma brassicae</i> Bezdenko
Hymenoptera	Eulophidae	<i>Chouioia cunea</i> Yang
Hymenoptera	Eulophidae	<i>Baryscapus</i> sp.
Hymenoptera	Braconidae	<i>Apanteles hyphantriae</i> Riley
Hymenoptera	Ichneumonidae	<i>Hyposoter</i> sp.
Diptera	Tachinidae	<i>Pales pavidata</i> Meigen
Diptera	Tachinidae	<i>Exorista larvarum</i> (L.)
<b>Predatör</b>		
Neuroptera	Chrysopidae	<i>Chrysoperla carnea</i> (Steph.)

Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya kıtalarında Amerikan beyaz kelebeğinin doğal düşmanları ile yapılan çalışmalarda; Tachinidae familyasına ait toplam 27 parazitoit tür tespit edilmiştir (Warren & Tadic 1967). Bir başka çalışmada ise, Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da Tachinidae familyasına ait tür sayısının 54'e ulaştığı bildirilmiştir (Sullivan & Özman-Sullivan 2012). Japonya'da *H.cunea*'yı parazitleyen Tachinidae familyasına bağlı 6 türden en yaygın olanların *Exorista japonica* (Townsend 1909), *Drino inconspicua* (Meigen) ve *Compsilura concinnata* (Meigen) olduğu rapor edilmiştir (Watanabe 2005). Ülkemizde Orta Karadeniz Bölgesinde Neuroptera, Hemiptera, Diptera ve Hymenoptera takımlarına bağlı 12 adet doğal düşmanı saptanmıştır. Bazı örümcek ve kuş türlerinin *H. cunea* larvaları ile beslendiği bildirilmiştir (Tuncer 1992).

Samsun'da zararlının parazitoidleri arasında Chalcididae, Ichneumonidae ve Tachinidae familyalarına bağlı türler saptanmıştır (Sullivan et al. 2010, Sullivan et al. 2011; Sullivan & Özman-Sullivan 2012). Marmara Bölgesinde *C. concinnata*, *Exorista larvarum* (Linnaeus) ve *Pales pavidata* (Meigen) türlerinin belirlendiği (Baş 1982), Samsun'da bu 3 türe ilave olarak *Nemoraeva pellucida* (Meigen) türlerinin tespit edildiği bildirilmiştir (Tuncer 1992). Zararlının kışlayan popülasyonunu baskılayan etkin pupa parazitoidi, *Chouioia cunea* Yang (Hymenoptera:

Eulophidae) 1989 yılında tespit edilmiştir (Sullivan et al. 2009). Bir başka çalışmada ise, Eylül-Kasım aylarında toplanan *H. cunea* pupalarından *Psychophagus omnivorus* (Walker, 1835) ve *C. cunea* olmak üzere iki tür parazitoit tespit edilmiştir (Rezaei et al. 2006). Çin'de *H. cunea*'nin en etkili parazitoidi olarak *Chouioia cunea* Yang (Hymenoptera: Eulophidae) tespit edilmiştir (Xin et al. 2017). Ayrıca, *Chouioia cunea*'nin Avrupa için ilk kayıt olduğu da bildirilmiştir (Boriani 1991). İran'da da *Psychophagus omnivorus* (Walker) ve *Chouioia cunea* (Yang) parazitoitleri ilk kez zararlının pupalarında tespit edilmiştir (Rezaei et al. 2003). Zararlının yumurta parazitoidi olarak *Trichogramma dendrolimi* Matsumura İran'da belirlenmiştir (Rezaei et al. 2006). Bu çalışmada ise *Trichogramma brassicae* Bezdenko tespit edilmiştir. Benzer şekilde Tachinidae, Trichogrammatidae ve Eulophidae familyalarına ait parazitoit türler tespit edilmiş olup, üç farklı takımdan altı familyaya bağlı sekiz tür belirlenmiştir. Belirlenen türler Düzce ili için ilk kayıttır.

### **Sonuç**

Düzce ilinde zararlının yaygın bulunduğu ve bulaşma oranının yüksek olduğu görülmüştür. Zararlının ergin bireylerinin 2019 yılının haziran ve ağustos aylarında iki tepe noktası oluşturduğu ve iki döl verdiği tespit edilmiştir. Zararlının entegre mücadelesinde doğru zamanda uygulama yapmak için bu ayların kritik dönem olduğu belirlenmiştir. Doğal düşmanları olarak üç farklı takımdan altı familyaya bağlı sekiz tür tespit edilmiştir. Belirlenen türler daha önce Düzce ilinde tespit edilmemiş olup doğal düşman faunasına katkı sağlamıştır. Gelecekte yapılacak biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılabilir potansiyeline sahiptir. Biyolojik mücadelenin de dahil olduğu entegre zararlı yönetiminde var olan doğal düşmanlara zarar vermeyecek çevre dostu uygulamalar ile bitki koruma ürünlerinin tercih edilmesi ve uygun doz ve zamanda uygulanmasının doğal dengenin korunması ve sürdürülebilir olması açısından önemli olduğu kaanatine varılmıştır. Özellikle zararlının mücadelesinde toplu mücadele yapmanın gerekli olduğu ve alınacak tedbirlerin geciktirilmeden alınması zararlının yayılışına engel olmak ve popülasyonunun ekonomik zarar eşliğinin altında tutulması açısından önemlidir. Zararlı ile mücadelede doğru zaman seçimi ve doğal düşmanlara en az zarar verecek çevre dostu alternatif mücadele yöntemleri uygulanmalıdır.

### **Teşekkür**

Yumurta parazitoidinin teşhisini yapan Prof. Dr. Richard STOUTHAMER ve Doç. Dr. Fahriye ERCAN, Tachinidae familyasına bağlı türlerin teşhisini yapan Prof. Dr. Kenan KARA, Eulophidae familyasına bağlı türlerin teşhisini yapan Prof. Dr. Mikat DOĞANLAR'a teşekkür ederiz.

### **Kaynaklar**

- Akkuzu E. & T. Mol, 2006. Amerikan Beyaz Kelebeği (*Hyphantria cunea* (Dry.) üzerine biyolojik ve morfolojik araştırmalar. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, A (2): 50-57.
- Aktaş A.R., E. Öztürk & S.A. Hatırlı, 2011. Türkiye fındık tarımında kar etkinsizliğinin analizi (Analysis of Profit Inefficiencies in Turkish Hazelnut Agriculture). *Tarım Bilimleri Dergisi*, 17: 230-240.

- Anonymous, 2011. Fındık Entegre Mücadele Teknik Talimatı. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara. 135 s.
- Anonymous, 2016. Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü “2016 Yılı Fındık Raporu”, <http://koop.gtb.gov.tr> (Erişim tarihi: 06 Nisan 2020).
- Anonymous, 2019. T.C. Düzce Valiliği İl Tarım ve Orman Müdürlüğü Faaliyet Raporu. 143s. <http://duzce.tarimorman.gov.tr/>(Erişim tarihi: 30 Eylül 2022).
- Baş R., 1982. Türkiye için yeni bir bitki zararlısı, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera, Arctiidae). Yüksek Lisans tezi, İstanbul, Türkiye, 65s.
- Boriani M., 1991. *Chouioia cunea* Yang (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae), new for Europe. *Bollettino di zoologia Zgraria e di Bachicoltura*, 23 (2): 193-196.
- Bovey P., 1954. Un Nouveau Ravageur en Europe: l'Écaille fileuse (*Hyphantria cunea* Drury). *Journal Forestier Suisse*, No. I.
- Gomi T., 2007. Seasonal adaptations of the fall webworm *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae) following its invasion of Japan. *Ecological Research*, 22 (6): 855-861.
- Itô Y., A. Shibazaki & O. Iwahashi, 1970. Biology of *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae) in Japan: Xi. Results of Road-Survey. *Applied Entomology and Zoology*, 5(3) : 133-144.
- İren Z., 1977. Önemli meyve zararlıları, tanınmaları, zararları, yaşayışları ve mücadele metodları. Ankara Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Yayınları, Mesleki Eserler Serisi, Yayın No: 36, Ankara, 165s.
- Jarfas J. & M. Viola, 1986. Activity and nutrition of the fall webworm (*Hyphantria cunea* Drury, Lepidoptera: Arctiidae). I. *Kerteszi Egyetem Közlemenyei*, 49: 173-182.
- Karadeniz T., S. Z. Bostan, C. Tuncer & C. Tarakçıoğlu, 2008. Fındık Yetiştiriciliği. Ziraat Odası Başkanlığı Bilimsel Yayınlar Serisi, Yayın No: 1, 126 s.
- Rezaei V., S. Moharramipour & A.A. Talebi, 2003. The first report of *Psychophagus omnivorus* (Walker) and *Chouioia cunea* (Yang) parasitoid wasps of American white webworm *Hyphantria cunea* Drury (Lep.: Arctiidae) from Iran. *Applied Entomology and Phytopathology*, 70(2) : 137-138.
- Rezaei V., S. Moharramipour, Y. Fathipour & A.A. Talebi, 2006. Somebiological characteristics of American white webworm, *Hyphantria cunea* Drury, (Lep.: Arctiidae) in the Guilan province. *Journal of Entomological society of Iran*, 26 (1) : 33-43.
- Smith I.M., D.G. McNamara, P.R. Scott & K.M. Harris, 1992. Data sheets on quarantine pests: *Hyphantria cunea* (Drury). CABI and EPPO.
- Sullivan G.T., S.K. Özman-Sullivan, İ. Karaca & G. Karaca, 2011. *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)'nın Kışlayan Pupalardan Elde Edilen Fungusların Entomopatojen Etkilerinin Belirlenmesi. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş.
- Sullivan G.T. & S.K. Özman-Sullivan, 2012. Tachinid (Diptera) parasitoids of *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) in its native North America and in Europe and Asia – a literature review, *Entomologica Fennica*, 23: 181-192.
- Sullivan G.T., H.M. Aksoy, S.K. Özman Sullivan & İ. Karaca, 2010. Bacteria isolated from overwintering *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) pupae as potential entomopathogens. 43th Annual Meeting of Society for Invertebrata Pathology, 11-15 July, 2010, Trabzon, Turkey, 154.
- Sullivan G.T., İ. Karaca, S.K. Özman Sullivan & G. Japoshvili, 2009. Karadeniz Bölgesi'nde *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae) üzerinde yeni bir parazitoid: *Chouioia cunea* Yang (Hymenoptera: Eulophidae). Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi Bildiri Özetleri, 15-18 Temmuz 2009, Van, 349.

- Tuncer C., 1992. Amerikan Beyaz Kelebeği (*Hyphantria cunea* Drury)'nin Orta Karadeniz Bölgesinde biyolojisi ve özellikle konukçu bitkilerin değişik açılardan etkisi üzerinde araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 154 s.
- Tuncer C. & R. Mdivani, 2014. Hazelnut pests of silkroad countries, with specific emphasis on pests of Georgia. *Acta Horticulturae*, 1032: 175-182.
- TÜİK, 2019. Türkiye İstatistik Kurumu, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>, (Erişim tarihi: 26 Haziran 2019).
- Warren L.O. & M. Tadic, 1967. The fall webworm, *Hyphantria cunea*, its distribution and natural enemies. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 40(2) : 194-202.
- Watanabe M., 2005. Parasitism and over-wintering status of Tachinids (Diptera) on larvae of the fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae), in the Kanto Region of Japan. *Applied Entomology and Zoology*, 40 (2) : 293-301.
- Xin B., P. Liu, S. Zhang, Z. Yang, K.M. Daane & Y. Zheng, 2017. Research and application of *Chouioia cunea* Yang (Hymenoptera: Eulophidae) in China. *Journal of Biocontrol Science and Technology*, 27: 301-310.
- Yang Z.Q., L.M. Cao, C.Z. Wang, X.Y. Wang & L.W. Song, 2015. *Trichospilus albiflagellatus* (Hymenoptera: Eulophidae), a New Species Parasitizing Pupa of *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) in China. *Annals of the Entomological Society of America*, 108 (4) : 641-647.
- Zhang Q.H., F. Schlyter, D. Chu, X.Y. Ma & Y. Ninomiya, 1998. Diurnal and seasonal flight activity of males and dynamics of fall webworm moth, *Hyphantria cunea*, (Drury) (Lep., Arctiidae) monitored by pheromone traps. *Journal of Applied Entomology*, 122 (9-10) : 523-53.





*Orijinal araştırma (Original article)*

**Domates rizosferindeki fungusların domatesteki solgunluk etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'ye karşı antagonistik etkilerinin araştırılması\***

Esra TUNABAŞ<sup>1\*</sup>, Ali ERKİLİÇ<sup>1</sup>

**Investigation of the antagonistic effects of tomato rhizosphere fungi against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, the causal agent of tomato wilt disease**

**Abstract:** In this research on the biological control of tomato wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL), a total of 29 candidate fungal antagonists were isolated from tomato rhizospheres. All of the tested *Aspergillus* and *Penicillium* species inhibited the *in vitro* mycelial growth of FOL but at different levels. While all these fungi produced inhibition zones on PDA medium, some of them preceded with their volatile and non-volatile antibiotics or mycelial competition. *Trichoderma* species, which were isolated at low frequency, exhibited a suppressive effect on the mycelial growth rate of FOL via volatile and non-volatile antibiotic production *in vitro*. In addition, *Aspergillus flavus*, *Penicillium griseofulvum* and *Trichoderma aggressivum* inoculation inhibited disease incidence in plants by 26.3%, 31.6% and 21.1%, respectively. However, *T. brevicompactum* was the most effective fungus; it reduced the incidence of disease by 78.9%.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum*, Rhizosphere fungi, Antagonism

**Öz:** Domateste *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL)'nin hastalık oluşturmalarını engellemeye yönelik olarak yürütülen bu çalışmada, domates rizosferinden 29 fungus türü izole edilmiştir. *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin hepsi *in vitro*'da FOL'ün miseliyal gelişmesini değişen oranlarda engellemişlerdir. Bu fungusların hepsi PDA besi yerinde inhibisyon zonu oluştururken bazıları miseliyal gelişmeyi engelleyici, bazıları da uçucu ve uçucu olmayan antibiyotik etkileriyle ön plana çıkmıştır. *Trichoderma* türleri çok düşük oranda elde edilmiş olmasına rağmen, *in vitro*'da miseliyal gelişme hızı, uçucu ve uçucu olmayan antibiyotik üretimleriyle FOL'ü baskılama özelliği göstermişlerdir. FOL'ün domates bitkilerinde hastalık oluşturmalarını *A. flavus*, *P. griseofulvum* ve *T. aggressivum* sırasıyla %26.3, 31.6 ve 21.1 oranlarında engellemişlerdir. Hastalık oluşumunu en iyi engelleyen fungus %78.9 etki oranıyla *T. brevicompactum* olmuştur.

**Anahtar kelimeler:** *Fusarium oxysporum*, Rizosfer fungusları, Antagonizm

\* Bu eser birinci yazarın yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiştir.

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 01330, Sarıçam, Adana

\*Sorumlu yazar (Corresponding author): esratnbs@gmail.com

ORCID ID (Yazar sırasıyla): 0000-0002-7783-8915, 0000-0003-0159-2039

Alınış (Received): 3 Ekim 2022

Kabul edilmiş (Accepted): 18 Kasım 2022



## Giriş

Domates yetiştiriciliğinde fungus, bakteri ve viral etmenlerden dolayı önemli kayıplar söz konusu olmaktadır. Üretim yapılan bölgelerimizde kök ve kök boğazı çürüklüğü ve solgunluk etmenleri önemli olup, bu konuya yönelik çalışmalarda *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Fusarium solani*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Phytophthora parasitica*, *Rhizoctonia solani* ve *Verticillium dahliae*, fungal etmenleri önemli patojenler olarak rapor edilmiştir. Bu hastalık etmenleri içerisinde *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL)'nin neden olduğu solgunluk hastalığı önemli verim kayıplarına yol açmaktadır (Yücel 1994; Uslu & Yıldız 1995; Yıldız & Döken 2001).

Toprak kökenli patojenlere karşı kimyasal mücadele oldukça zor olup, entansif tarım alanlarında bazı toprak fumigantları başarılı sonuçlar verebilmektedir. Ancak toprağa fumigant uygulanması topraktaki kalıntının giderilememesi durumunda fitotoksik etkilere neden olmakta ve bu nedenle zahmetli ve pahalı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde domateste FOL'e karşı en yaygın kullanımı olan yöntem toprak solarizasyonudur. Bu yöntem yazları sıcak geçen bölgelerde entansif tarım alanlarında kullanılabilir. Serin bölgelerde ve geniş alanlarda yapılan tarla tarımında solarizasyonun kullanılması başarısız olmasının yanı sıra, uygulanması güç ve pahalıdır. (Rowe & Farley 1981). Günümüzde ticari olarak yetiştiriciliği yapılan domates çeşitleri içerisinde patojene tam dayanıklı çeşit olmaması, alternatif mücadele yöntemleri geliştirmeyi zorunlu kılmaktadır. Bu yöntemler içerisinde bitkide patojenlere karşı biyotik ve abiyotik uyarıcılarla dayanıklılığın teşvik edilmesi ve biyolojik mücadele önem kazanmaktadır.

Patojenlere karşı bitkilerde dayanıklılığı sağlayan kimyasallardan özellikle salisilik asit, BABA ( $\beta$ -1,3 amino-n- butyric asit) ve asibenzolar s-methyl pekçok patojene karşı çalışmalarda kullanılmış abiyotik uyarıcılardır (Kuc 1987; Raupach & Kloepper 2000; Güven 2007). Abiyotik uyarıcıların toprak kökenli patojenler, iletim demeti patojenleri ve yeşil aksam patojenlerine karşı etkinliği ile ilgili pekçok çalışma mevcuttur (Ojha et al. 2012; Gülser et al. 2014; Puhur 2020). Bitki kökleri ile simbiyotik olarak yaşayan mikorizal funguslar da aslında bitkiyle kurdukları simbiyosiz sırasında bitkileri uyararak patojen infeksiyonlarından korunmalarına yardımcı olur. Mikorizaların bitki besleme açısından önemi dışında patojenlere karşı bu uyarıcı özellikleri *Glomus* cinsinden pekçok fungusun Bitki Koruma alanında kullanımına olanak sağlamıştır (Demir & Onoğur 1999; Özgönen et al. 2001).

Bitki patojenlerine karşı yürütülecek biyolojik mücadele sadece ticari olarak geliştirilmiş preparatların kullanımı ile değil, aynı zamanda doğada mevcut rekabetçi saprofitlerin geliştirilmesi şeklinde de yürütülmektedir (Monaco et al. 2009). Rizosfer olarak adlandırılan bitkilerin kök bölgesi pek çok saprofit mikroorganizmanın ve patojenlerin yaşam yerleridir. Bu mikroorganizmalar rizosferde saprofit olarak kök eksudatları ve organik madde ile beslenmektedirler. Rizosferde saprofit mikroorganizmaların yüksek popülasyonlara ulaşması, daha az rekabetçi olan patojenleri baskılayabilir. Saprofit mikroorganizmaların rizosferde besin ve yer için girdikleri rekabet sırasında ürettikleri antibiyotikler de

patojenlerin bu bölgeye girişini sınırlandırıcı faktörlerdendir (Vega 2007; Doğan et al. 2019).

Bir bitkinin vejetasyonu süresince, bitkiyle beraber yaşayan mikroorganizmaları bilmek, bunların popülasyon dalgalanmalarını ve bunu etkileyen nedenlerini anlayabilmek, patojenlere karşı rizosferi bir kalkan olarak kullanabilmenin ön şartıdır. Buradan hareketle bu çalışmada domates rizosferindeki fungusları saptamak ve bunların FOL'e karşı antagonistik etkilerini belirleyerek Fusarium solgunluğunun mücadelesinde kullanılma olanakları araştırmak hedeflenmiştir.

## Materyal ve yöntem

### Domates rizosferindeki fungal popülasyonun belirlenmesi

Bu amaçla Adana ili Seyhan ilçesinde bir tarlaya Haziran 2020'de, 120 adet sanayi tipi Cüsseli domates fidesi, 3 sıra halinde dikilmiştir. Bitkiler damla sulama ile sulanıp, normal gübreleme programı uygulanmış ve herhangi bir pestisit kullanılmaya özen gösterilmiştir. Rizosfer mikoflorasını saptamak amacıyla dikimden 2 hafta sonra örneklemeler başlamış ve bu örnekleme 2'şer hafta aralıklarla 5 kez yapılmıştır. Bitkiler her sıra 1 tekerrür olacak şekilde sıraların orta kısımlarından bir bel yardımıyla sökülerek, bitkinin tüm kök bölgesi toprağıyla birlikte laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen bitkilerin kök bölgesi toprağı bir küvet içerisine silkelenerek rizosfer toprağı elde edilmiş ve bu toprak 1 gün oda koşullarında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan toprak 5-6 mm'lik eleklerden geçirilip 10'ar gram toprak tartılmıştır. Aynı zamanda erlenmayerlerde 90 ml distile su 121°C'de 20 dakika otoklav edilmiştir. Otoklav sonrası soğuyan erlenlerin içerisine 10'ar gram toprak ilave edilmiştir ve 2 saat süreyle 120 rpm'de çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Elde edilen süspansiyondan seyreltme serisi hazırlanmış ve 2. ve 3. seyreltme serilerinden alınan 100µl süspansiyon PDA bulunan petrilerin katılaşmış ortam yüzeyine aktarılmış ve steril baget yardımıyla ortam yüzeyine yayılmıştır. Petriler 25°C sıcaklıkta 4 gün süreyle inkübe edilmiş, bu sürenin sonunda gelişen koloniler sayılmıştır. Sayım sırasında farklı gelişme gösteren koloniler saflaştırılmıştır. Saf olarak elde edilen bu funguslar sonraki aşamalarda kullanılmak üzere eğik agarlı cam tüplerde +4 °C ve kâğıt kültürlerde -20 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

### Rizosfer fungus türlerinin klasik ve moleküler tanılanması

Fungus türlerinin klasik yöntemlerle tanılanmasında kolonilerin rengi, şekli ve büyüklükleri, gelişme hızı, konidiofor, vesikül, fialid ve konidilerin özellikleri, eşeyli ve eşeysiz üreme yapılarının şekli, özellikleri ve sklerot varlığı incelenmiştir. (Sutton 1973; Barnett & Hunter 1972; Domsch et al. 1980).

**DNA ekstraksiyonu;** PDA ortamında geliştirilmiş saf kültürden alınan miselyum ezme poşetleri içerisine 650 µl 2X CTAB buffer ilave edilerek ezilmiş ve homojenat pipet yardımıyla 1.5 ml'lik steril eppendorf tüpler içerisine aktarılmıştır. Tüplere 2 µl mercaptoethanol eklenmiş ve vortex ile karıştırılmıştır. Tüpler 65°C sıcaklıktaki kuru blok ısıtıcıda yarım saat kadar inkübe edilmiş ve karışıma 600 µl chloroform-isoamylalkol (24:1) eklenmiş, 45 saniye kadar vortekslenmiş ve 14000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiş, üstteki berrak fazdan 200 µl alınıp yeni tüplere konulmuştur. Bu sıvının üzerine yeniden 200 µl

chloroform-isoamylalkol eklenip vortekslenmiş ve 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş, üstteki berrak fazdan 120 µl alınarak yeni eppendorf tüplere aktarılmış, üzerine 100 µl isopropanol eklenerek, tüpler hafifçe 5-6 kez çalkalanmıştır. DNA'nın bu aşamada alkolle bağlanıp dibe çökmesi için eppendorf tüpleri yaklaşık yarım saat -20°C'de buzdolabında bekletilmiştir. Buzdolabından çıkarılan eppendorf tüpleri 14000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek DNA'nın çökmesi gerçekleşmiş, üst sıvı kısmı dökülmüş ve dibe çöken DNA 1 ml hacmindeki %70'lik alkolle yıkanmış, kurutma kağıtları üzerine dökülerek 10 dakika süreyle kurutulmuştur. Pelet haldeki DNA'nın 50 µl TE buffer eklenerek çözünmesi sağlanmıştır (Doyle & Doyle 1990; Nejat et al. 2009). DNA'ların bulunduğu tüpler -20°C'de buzdolabında saklanmıştır.

**Genomik DNA'nın PCR ile çoğaltılması;** Her izolat için santrifüj tüpü içerisine 38.75 µl PCR grade su, 0.25 µl Taq polimeraz enzimi, 2 µl dNTP nükleotidleri, 5 µl Taq PCR Buffer (10X), 1 µl ileri ve 1 µl geri yönlerde primerlerden (ITS4 / ITS5; White ve ark., 1990) karışım hazırlanmıştır. Bu bileşenleri içeren karışım tüplere konulduktan sonra içerisine hedef gen bölgesinden çoğaltılacak DNA'dan 1 µl ilave edilmiş ve tüpler karıştırılarak thermocycler cihazına yerleştirilmiştir. Thermocycler cihazı 95°C'de 3 dk. (ilk denatürasyon), 95°C'de 1 dk., 52°C'de 1dk., 72°C'de 1 dk. (35 kez) ve sonra 72°C'de 7 dk., olacak şekilde programlanmış ve DNA çoğaltma işlemi gerçekleştirilmiştir (Hirano & Arie 2006).

İzolatlara ait çoğaltılan DNA'ları görüntülemek için %2'lik agaroz jel elektroforez kullanılmıştır. DNA örnekleri parafilm üzerine damlatılıp 2 µl 40X'lik SYBR Green I® (Lonza, USA) boyası ile boyanmış ve tarakların oluşturduğu çukurlara doldurulmuştur. Tank uçlarına 55 volt'luk gerilim ve 250 mA akım verilerek DNA'nın akım yönünde yürütülmesi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra UV ışık (320 nm) altına alınmış ve oluşan DNA bantları görülmüş ve fotoğraflanmıştır. Gen sekanslama sonucu elde edilen nükleotid dizileri NCBI-BLASTn sisteminde analiz edilerek moleküler tanı işlemi gerçekleştirilmiştir.

### **Rizosfer funguslarının *in vitro*'da FOL'e antagonistik etkilerin belirlenmesi**

Aday antagonistlerin FOL'ün miseliyal gelişmesi üzerine etkileri *in vitro* çalışmalarla bir dizi farklı test uygulanarak belirlenmiştir. Çalışmada virülensliği kanıtlanmış bir FOL izolatı kullanılmıştır.

**İkili kültür:** Domates rizosferinden elde edilen fungusların ikili kültürde FOL'ün miseliyal gelişmesi üzerine etkilerini incelemek için, aday antagonistler ve FOL'ün 6 mm'lik miseliyal diskleri PDA ortamına karşılıklı gelecek şekilde kenarlardan 2 cm uzağa yerleştirilmişlerdir. Fazla spor oluşturan funguslar için 2-3 günlük kültürlerden iğne ucuyla alınan parça FOL karşısına yerleştirilmiştir. Mayalarda bu işlem çizgi yöntemiyle yapılmıştır. Bu şekilde hazırlanan ikili kültürler 25°C'de inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyondan 5-6 gün sonra ikili kültür petripleri incelenerek patojen ve saprofit kolonisi arasındaki inhibisyon zonu ölçülmüştür. Aynı zamanda FOL'ün kısa ve uzun yarıçapları ölçülerek % Engellenme Oranı hesaplanmıştır {% Engellenme: [(Uzun yarıçap-Kısa yarıçap)/Uzun yarıçap]\*100}.

**Hifsel interaksiyonlar:** İkili kültür çalışmaları esnasında patojen ve saprofit koloniler arasında iki koloni birbirlerine değdikten hemen sonra, kolonilerin birbirleriyle temas ettikleri yerlerden parçalar alınarak trypan blue ile boyanmış ve mikroskop altında incelenmiştir. Bu incelemelerde patojen hiflerinde dejenerasyon, antagonistin patojen hiflerini sararak gelişmeyi engelleme, boğma ve penetre etme gibi özelliklerinin olup olmadığı incelenmiştir.

**Sıvı Ortamda antibiyotik üretimi:** İkili kültürde oluşturdukları inhibisyon zonu veya hifsel interaksiyon yoluyla FOL'ün miseliyal gelişmesini engelleyen funguslar, sıvı ortamda antibiyotik üreterek FOL'ün gelişmesi üzerindeki etkileri incelemek amacıyla seçilmiştir. Antagonistlerin 6 mm'lik miseliyal diski 250 ml'lik erlenmayer içerisindeki 100 ml PD sıvı ortamına aktarılmış ve bu erlenmayerler 24°C sıcaklıkta, 120 rpm'de 7 gün boyunca inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda sıvı kültür Whatman no:1 filtre kağıdından geçirilerek hifler uzaklaştırılmış, kalan sıvı 0.22 µm millipore filtreden geçirilerek steril kültür filtratı elde edilmiştir. Bu kültür filtratından, 50°C'ye soğutulmuş 10 ml PDA bulunan tüplere, 500 µl eklenmiştir. Tüpler yaklaşık 15 saniye kadar vortekslenmiş ve petri kaplarına dökülmüştür. Katılaştıran ortam üzerine FOL izolatından 6 mm'lik disk alınıp petrilerin tam ortasına inoküle edilmiştir. Bu petriler 25°C'de 7 gün boyunca inkübe edilmiştir. 7 günün sonunda FOL'ün koloni çapı ölçülmüş ve kontrolle karşılaştırılarak, FOL'ün miseliyal gelişmesinin engellenme oranları % Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

**Uçucu antibiyotik üretimi:** Saprofit mikroorganizmalar ve FOL, PDA bulunan petrilerin ortasına inoküle edilmiş ve daha sonra petri kapakları çıkarılmış FOL'ün bulunduğu petri patojenlerin üzerine ters çevrilerek birbirinin üzerine denk getirilip bantlanmıştır. 25°C'de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda FOL'ün koloni çapı ölçülmüştür. FOL'ün miseliyal gelişmesinin engellenme oranları % Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

### **Antagonist fungusların FOL'ün hastalık oluşturması üzerine etkilerinin belirlenmesi**

Çalışmanın bu bölümünde, *in vitro*'da FOL'ün miseliyal gelişmesini engellemede etkili oldukları belirlenen 12 fungal tür, patojenin bitkide hastalık oluşturmasını engelleme yönünü test etmek için saksı çalışması olarak 24°C sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık koşullardaki iklim odasında denemeye alınmıştır. Bu hedef doğrultusunda öncelikle domates fidelerinin inokulasyonunda kullanılmak üzere FOL'ün buğday inokulumu hazırlanmıştır. Antagonist funguslar ise PDA ortamında geliştirilen 10 günlük kültür olarak uygulanmıştır.

Denemede kullanılan 15 cm çaplı saksılar yarıya kadar toprak-torf-kum (3:1:1) ile doldurulmuş, daha sonra 9 cm'lik petride geliştirilen 10 günlük antagonist kültürünün ¼'lik içeriği saksı toprağına eklenmiş ve saksı aynı yetiştirme harcı ile doldurulmuştur. Bu şekilde hazırlanan saksılar iklim odasında 3 gün süreyle bekletilerek antagonistlerin toprağına kolonizasyonu sağlanmıştır. Bu süre sonunda her saksıya FOL'ün 12 gram buğday inokulumu eklenmiş ve saksı toprağının fide dikim derinliğine kadar karıştırılmıştır. Domates fidelerinin dikimi 1 gün sonra yapılmış ve fidelerin kök ucu hafifçe kesilerek dikim gerçekleştirilmiştir. İklim odasında 3 hafta geliştirilen saksılara gübreleme ve sulama gibi bakım işlemleri

yapılmış ve bu süre sonunda FOL'ün hastalık oluşturması değerlendirilmiştir. Bu çalışmada her antagonist için 10 saksı kullanılmış, bunun yanında sadece patojen uygulanan saksılar kontrol olarak bırakılmıştır. Değerlendirme işlemi ölü-canlı fide olarak yapılmış, uygulamalardaki hasta bitki oranları (%) ve uygulamaların etkinliği (%) hesaplanmıştır.

İkinci denemede iklim odasında 12 antagonist ile yürütülen bu çalışmada etkili bulunan 4 antagonist ile tekrar saksı denemesi kurulmuştur. Bu deneme 4 antagonist, 1 kontrol olmak üzere tesadüf parselleri deneme deseninde, 5 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her tekerrürde 4 saksı yer almıştır. Böylece her uygulama için 20 saksı ve her saksıda bir bitki kullanılmıştır. İklim odasında 3 hafta geliştirilen bitkilerde FOL'ün hastalık oluşturması ölü-sağlam fide olarak değerlendirilmiş, uygulamalar arasındaki farklar LSD çoklu karşılaştırma testi ve uygulamaların etkinliği %Abbott formülü ile hesaplanmıştır.

Üçüncü denemede ise yukarıdaki denemede bitkiler söküldükten sonra saksı toprağı 2 ay süreyle iklim odasında tutulmuştur. Buradaki amaç hem antagonist hem de patojenin dayanıklı formlarda yaşamını sürdürerek, bitki varlığında nasıl bir aktivite göstereceklerini belirlemek olmuştur. Bu nedenle saksı toprağının tamamen kurumasına izin verilmemiştir. 2 aylık bekleme süresinin ardından hiçbir uygulama yapılmadan domates fidesi dikilmiştir. Diğer denemede olduğu gibi, burada da değerlendirme hasta ve ölü şeklinde yapılmış, elde edilen bu değerlere varyans analizi uygulanmış ve uygulamalar arasındaki farklar LSD çoklu karşılaştırma testi, uygulamaların etkinliği ise % Abbott formülü ile hesaplanmıştır.

## **Bulgular ve tartışma**

### **Domates rizosferinden elde edilen funguslar**

Adana ili Seyhan ilçesinde Haziran başında dikilen sanayi tipi Cüsseli domates çeşidinde 15 gün aralıklarla 5 kez yapılan rizosfer toprağı izolasyonlarından elde edilen fungal izolatlar makroskobik olarak koloni özelliklerine göre gruplandırılmış ve ardından mikroskobik ve moleküler yöntemlere göre tanımlanmıştır. İzolasyonlar sonunda domates rizosferinden 11 cinse ait 29 fungus türü izole edilmiştir. İzole edilerek tanımlanan bu fungal türlerin 10'u *Aspergillus*, 5'i *Penicillium*, 4'ü *Fusarium*, 2'si *Talaromyces*, 2'si *Trichoderma* ve birer adet *Absidia*, *Cladosporium*, *Clonostachys*, *Mortierella*, *Mucor* ve Beyaz maya oldukları belirlenmiştir (Çizelge 1).

Rizosfer funguslarının patojenleri baskılayıcı özelliklerini incelemeye yönelik olarak yapılan pek çok çalışmada, benzer şekilde bitkilerin rizosfer toprağından *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Rhizopus* ve *Mucor* cinslerine ait fungus türleri izole edilmiştir (Yücel 1989; Chandrashekar et al. 2014; Nurbailis et al. 2015; Shinkafi & Gobir 2018). Bu çalışma sonucunda da *Aspergillus* türleri rizosfer toprağından en çok izole edilen fungus grubu olmuştur.

### **Rizosfer funguslarının *in vitro*'da FOL'e Antagonistik Etkileri**

Domates rizosferinden izole edilen 29 fungus türünün *in vitro*'da FOL'e karşı antagonistik etkileri ikili kültür, sıvı ortamda antibiyotik üretimi ve uçucu antibiyotik üretimi açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 1. Domates rizosferinden izole edilen funguslar  
Table 1. Fungi isolated from the tomato rhizosphere

Fungus Adı	İzolot No.	Fungus Adı	İzolot No.
<b><i>Aspergillus</i> spp.</b>		<b><i>Fusarium</i> spp.</b>	
<i>Aspergillus chevalieri</i>	ET10	<i>Fusarium acuminatum</i>	ET25
<i>Aspergillus flavus</i>	ET21	<i>Fusarium brachygibbosum</i>	ET37
<i>Aspergillus fumigatiaffinis</i>	ET43	<i>Fusarium nygamai</i>	ET7
<i>Aspergillus insuetus</i>	ET6	<i>Fusarium solani</i>	ET8
<i>Aspergillus keveii</i>	ET33	<b><i>Talaromyces</i> spp.</b>	
<i>Aspergillus niger</i>	ET19	<i>Talaromyces oumae-annae</i>	ET46
<i>Aspergillus ochraceopetaliformis</i>	ET39	<i>Talaromyces pinophilus</i>	ET47
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	ET35	<b><i>Trichoderma</i> spp.</b>	
<i>Aspergillus terreus</i>	ET4	<i>Trichoderma aggressivum</i>	ET27
<i>Aspergillus ustus</i>	ET13	<i>Trichoderma brevicompactum</i>	ET26
<b><i>Penicillium</i> spp.</b>		<b>Diğerleri</b>	
<i>Penicillium brocae</i>	ET30	<i>Absidia</i> sp.	ET2
<i>Penicillium citrinum</i>	ET32	<i>Beyaz maya</i>	ET16
<i>Penicillium griseofulvum</i>	ET12	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	ET28
<i>Penicillium pinophilum</i>	ET41	<i>Clonostachys rosea</i>	ET1
<i>Penicillium shearii</i>	ET38	<i>Mortierella alpina</i>	ET42
		<i>Mucor circinelloides</i>	ET31

**İkili kültür:** FOL'e karşı 29 fungus türünün ikili kültürdeki antagonistik etkileri, patojen ve antagonist kolonileri arasındaki inhibisyon zonu, petride FOL'ün koloni gelişmesinin engellenme oranı (%) ve kolonilerin birleştiği noktada hifsel interaksiyon varlığı olmak üzere 3 açıdan değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 2'de gösterilmiştir. Çizelgeden de görüleceği gibi bazı türler inhibisyon zonu oluşturmamıştır (*Fusarium* ve *Trichoderma* türleri gibi). FOL ile aralarında inhibisyon zonu oluşturan funguslarda bu zonun genişliği 2.1 ila 15.6 mm arasında değişmiştir.

Domates rizosferinin en yaygın grubu olan *Aspergillus* türlerinden *A. chevalieri* 2.1 mm ile en düşük inhibisyon zonunu oluştururken, *A. ochraceopetaliformis* en yüksek engelleme zonuna (7.2 mm) sahip olmuştur. Şekil 1'de iki *Aspergillus* türünün FOL'e karşı oluşturdukları inhibisyon zonu görülmektedir. Rizosferin diğer önemli bir grubu olan *Penicillium* türleri 2.5 mm ile en düşük inhibisyon zonu oluşturan 2 tür *P. citrinum* ve *P. griseofulvum* olmuş, *P. shearii* ise 8.7 mm ile en yüksek inhibisyon zonuna sahip olmuştur.

Çizelge 2. Rizosfer funguslarının ikili kültürde *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'ye etkileri  
 Table 2. Effects on *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* of rhizosphere fungi in dual culture

Fungus Adı	İnhibisyon Zonu (mm)	Engelleme Oranı (%)
<i>Aspergillus chevalieri</i>	2.1	17.2
<i>Aspergillus flavus</i>	4.0	18.2
<i>Aspergillus fumigatiaffinis</i>	2.4	12.9
<i>Aspergillus insuetus</i>	5.6	18.8
<i>Aspergillus keveii</i>	3.6	25.8
<i>Aspergillus niger</i>	5.4	28.8
<i>Aspergillus ochraceopetaliformis</i>	7.2	32.6
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	5.4	27.4
<i>Aspergillus terreus</i>	5.6	18.9
<i>Aspergillus ustus</i>	3.6	9.3
<i>Penicillium brocae</i>	6.3	9.1
<i>Penicillium citrinum</i>	2.5	14.5
<i>Penicillium griseofulvum</i>	2.5	13.1
<i>Penicillium pinophilum</i>	3.6	13.9
<i>Penicillium shearii</i>	8.7	23.4
<i>Fusarium acuminatum</i>	0.0	8.3
<i>Fusarium brachygibbosum</i>	0.0	47.5
<i>Fusarium nygamai</i>	0.0	10.5
<i>Fusarium solani</i>	0.0	24.8
<i>Talaromyces oumae-annae</i>	6.6	17.1
<i>Talaromyces pinophilus</i>	6.4	17.1
<i>Trichoderma aggressivum</i>	0.0	18.5
<i>Trichoderma brevicompactum</i>	0.0	26.4
<i>Absidia</i> sp.	0.0	31.9
<i>Beyaz maya</i>	15.6	8.3
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	7.6	13.9
<i>Clonostachys rosea</i>	0.0	9.4
<i>Mortierella alpina</i>	4.2	18.3
<i>Mucor circinelloides</i>	0.0	12.6

İkili kültürde FOL'e karşı antagonistik etki açısından denemeye alınan funguslar inhibisyon zonu oluşturmuş veya oluşturmuş, miseliyal gelişmesi sonucu petrideki yer açısından rekabeti ortaya koyabilmek amacıyla da değerlendirilmiştir. Bunun için FOL'ün ikili kültür ve kontrol petri gelişmesi dikkate alınarak, miseliyal gelişmesinin engellenme oranı (%) hesaplanmıştır (Çizelge 2). Çizelgeden görüleceği gibi *Aspergillus* türleri %9.3 ila 32.6 arasındaki

oranlarla FOL'ün miseliyal gelişmesini engellemiş ve en etkili tür *A. ochraceopetaliformis* olmuştur. *Penicillium* türlerinde engelleme oranı daha düşük bulunmuş ve en başarılı tür *P. shearii* (%23,4) olarak saptanmıştır. *Fusarium* türleri içerisinde *F. brachygibbosum* miseliyal gelişme hızının yüksek oluşu nedeniyle FOL'e karşı %47,5 oranında en yüksek engelleme oranı sergilemiştir. *Trichoderma aggressivum* ve *T. brevicompactum* da sırasıyla %18,5 ve 26.4 oranındaki etkisi ile FOL üzerinde önemli bir engelleme göstermiştir.

İkili kültürde FOL ve aday antagonist arasında inhibisyon zonu oluşturmadan temas eden kolonilerde ayrıca, kolonilerin birbirlerine değdiği noktalar mikroskop altında incelenerek hifsel interaksiyon aranmıştır. Bu durum özellikle *Trichoderma* türleri açısından önemlidir (Boosalis, 1964; Wegrzyn and Gorzyska, 2019). Ancak çalışmada yer alan 2 *Trichoderma* türünde ve diğer aday antagonistlerde FOL hiflerini boğma, sarma ve penetre etme gibi herhangi bir hifsel ilişki saptanamamıştır.



Şekil 1. *Aspergillus terreus* ve *A. flavus*'un *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ile oluşturdukları inhibisyon zonu

Figure 1. Inhibition zone of *Aspergillus terreus* and *A. flavus* with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

**Sıvı kültürde antibiyotik üretimi:** İkili kültürde FOL üzerine etkileri dikkate alınarak *Fusarium* türleri ve ayrıca beyaz maya ile iz miktarda elde edilen bazı türler olmak üzere 8 tür elenmiş, geriye kalan 21 fungal tür ise sıvı ortamda ürettikleri antibiyotiklerin patojenin miseliyal gelişmesi üzerine etkileri yönünden testlenmiştir. *Aspergillus* türlerinde 4'ü kontrole göre negatif bir etki gösterirken, 2 türün FOL'ü engelleme oranı oldukça düşük olmuştur. Ancak *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* ve *A. ustus* kültür filtratları FOL'ün miseliyal gelişmesini sırasıyla %22.3, 33.2, 42.1 ve 53.4 oranlarında engellemiştir. *Penicillium* türleri içerisinde *P. griseofulvum* ve *P. citrinum* %32.7 ve 33.0 oranları ile yüksek bir engelleme oranına sahip olmuşlardır. *Trichoderma* türleri %29.3-33.0 ve *Talaromyces* türleri %45.5-50.2 oranlarında engelleme gösterirken, izolasyonlarda düşük miktarlarda elde edilen *Cladosporium cladosporioides* ve *Mortierella alpina* da sırasıyla %33.0 ve 38.0 gibi yüksek etki oranlarına sahip olmuşlardır (Çizelge 3).



**Uçucu antibiyotik üretimi:** Antagonist fungusların uçucu antibiyotik üretimlerinin FOL'ün miseliyal gelişmesine etkileri incelendiğinde *Aspergillus* türlerinden 2'si negatif, birisi de iz miktarda engelleme gösterirken, diğer türler patojen gelişmesini %21.4 ila 43.3 arasında değişen oranlarda etkilemişlerdir. *Penicillium* türleri içerisinde sadece *P. citrinum* %33.0 engelleme oranı ile önemli olurken, *Trichoderma* türleri kültür filtratındakine benzer şekilde etkili olmuştur (%36.0 ve 39.0). Yine izolasyonlarda düşük miktarlarda elde edilen *Cladosporium cladosporioides* ve *Mortierella alpina* da sırasıyla %54.3 ve 43.8 gibi yüksek etki oranlarına sahip olmuşlardır (Çizelge 3).

Çizelge 3. Fungusların kültür filtratlarının ve uçucu antibiyotiklerinin *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin miseliyal gelişmesi üzerine etkileri (% engelleme oranı)  
Table 3. Effects of culture filtrates and volatile antibiotics of fungi on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (% Inhibition Rate)

Fungus Adı	Sıvı Kültür	Uçucu Antibiyotik
<i>Aspergillus chevalieri</i>	-1.9	33.4
<i>Aspergillus flavus</i>	22.3	37.7
<i>Aspergillus fumigatiiformis</i>	2.2	34.8
<i>Aspergillus insuetus</i>	-7.5	43.0
<i>Aspergillus keveii</i>	-9.9	2.2
<i>Aspergillus niger</i>	33.2	42.5
<i>Aspergillus ochraceopetaliformis</i>	9.9	43.3
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	-13.0	-7.9
<i>Aspergillus terreus</i>	42.1	21.4
<i>Aspergillus ustus</i>	53.4	-12.2
<i>Penicillium brocae</i>	15.2	6.0
<i>Penicillium citrinum</i>	33.0	33.0
<i>Penicillium griseofulvum</i>	32.7	-6.8
<i>Penicillium pinophilum</i>	13.0	19.2
<i>Penicillium shearii</i>	11.5	-0.9
<i>Talaromyces oumae-annae</i>	50.2	-5.7
<i>Talaromyces pinophilus</i>	45.5	14.6
<i>Trichoderma aggressivum</i>	33.0	36.0
<i>Trichoderma brevicompactum</i>	29.3	39.0
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	33.0	54.3
<i>Mortierella alpina</i>	38.0	43.8

Rizosfer fungusları içerisinde yüksek bir popülasyona sahip olan *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri pek çok çalışmada bitkilerde patojen *Fusarium* türlerine karşı özellikle ikili kültür testlerinde yüksek etkinlik göstermişlerdir. Alwathnani & Perveen (2011), FOL'e karşı *A. niger*'in %70 *Penicillium* sp.'nin ise %58 oranında engelleyici etkisinden söz etmektedir. Benzer şekilde Emmanuel et al. (2019), yine FOL'e karşı yürüttükleri çalışmada *Aspergillus* türlerinin %78 ve *Penicillium*'ların ise %88 engelleme oranlarını elde etmişlerdir. Populasyonları yüksek oranlarda

olmasa da *Trichoderma* türlerinin patojenleri baskılayıcı etkisi çalışmalarda hep ön plana çıkmaktadır. Oskay (2007), *T. harzianum*'un *Fusarium* türlerine karşı %92 oranında engelleyici etkiye sahip olduğunu bildirmektedir. Antagonist fungusların ikili kültürde oluşturdukları inhibisyon zonu, gerçekte antibiyotik üretimlerinden kaynaklanmaktadır. Antagonistlerin sıvı ortamda ürettikleri antibiyotikler ve uçucu antibiyotiklerin de patojen fungusların miseliyal gelişmesini engelleyici etkilerine yönelik olarak yapılan çalışmalarda, *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin yanısıra özellikle *Trichoderma* türlerinin yüksek etkinlikleri dikkat çekici olmaktadır. *Trichoderma* türleri uçucu ve uçucu olmayan antibiyotik üretimleri ile patojen funguslar üzerinde önemli etkiye sahip oldukları bildirilmiştir (Erkılıç1988; Özgönen et al. 2010; Tapwal et al. 2015; Erdevil 2020).

### **Rizosfer funguslarının Domates Bitkilerinde FOL'ün Hastalık Oluşturması Üzerine Etkileri**

Antagonist fungusların *in vitro*'da FOL'ün miseliyal gelişmesini engelleme oranları göz önüne alınarak, 12 fungal tür seçilmiş ve bunların domates fidelerinde FOL'ün hastalık oluşturması üzerine etkileri testlenmiştir. Bu amaçla 4 *Aspergillus*, 1 *Cladosporium*, 1 *Mortierella*, 2 *Penicillium* 2 *Talaromyces* ve 2 *Trichoderma* türü FOL'ün domates fidelerinde hastalık oluşturmasını engellemelerine yönelik olarak iklim odasında saksı denemesiyle olarak testlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4'de gösterilmiştir. Çizelgeden de görüleceği gibi hastalık oluşumunu engelleme üzerine en yüksek etki %87.5 oranıyla *Aspergillus flavus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium griseofulvum* ve *Trichoderma aggressivum*'dan elde edilmiştir. Özellikle *A. niger*, *A. terreus* ve *Talaromyces* türleri *in vitro*'da FOL'e yüksek etkinlik göstermelerine karşın, bitkide hastalık oluşumunu engelleme üzerine hiçbir varlık gösterememişlerdir.

FOL'ün domates fidelerinde hastalık oluşturmasını engellemede yüksek başarı *A. flavus*, *P. griseofulvum*, *T. aggressivum* ve diğer *Trichoderma* türü olan *T. brevicompactum* ile daha fazla sayıda domates fidesi kullanılarak tekrar saksı denemesi kurulmuştur. *T. brevicompactum* ilk denemede düşük bir etkinlik göstermiş olsa da, antagonistik etkilerinin yüksek olduğu bilinen bu fungus tekrar daha fazla sayıda bitki ile denenmek üzere seçilmiştir. İkinci deneme değerlendirildikten 2 ay sonra aynı saksılara tekrar domates dikimi yapılarak 3'üncü bir deneme olarak tekrarlanmıştır. Dört fungus türü ile kurulan ikinci denemede *P. griseofulvum* ve *T. brevicompactum* %62.5 oranı ile hastalık oluşumunu en fazla engelleyen uygulamalar olmuştur. Aynı saksılara başka bir uygulama yapmadan 2 ay sonra tekrar fide dikimi yapıldığında *T. brevicompactum*'un %78.9 etki oranıyla diğer uygulamalardan önemli bir fark göstererek öne çıktığı görülmektedir. Diğer uygulamaların etkinliği %21.1 ila 31.6 arasında olmuş ve istatistiksel olarak benzer etki göstermişlerdir (Çizelge 5).

Çizelge 4. Antagonistlerin *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin domates bitkilerinde hastalık oluşturmaya üzerine etkileri (1. Deneme)

Table 4. Effects of antagonists on disease induction by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in tomato plants (1st trial)

Aday Antagonist	Hasta Bitki Oranı (%)	% Etki
<i>Aspergillus flavus</i>	10	87.5
<i>Aspergillus insuetus</i>	60	25.0
<i>Aspergillus niger</i>	80	0.0
<i>Aspergillus terreus</i>	80	0.0
<i>Clodosporium cladosporioides</i>	10	87.5
<i>Mortierella alpina</i>	60	25.0
<i>Penicillium citrinum</i>	50	37.5
<i>Penicillium griseofulvum</i>	10	87.5
<i>Talaromyces oumae-annae</i>	80	0.0
<i>Talaromyces pinophilus</i>	80	0.0
<i>Trichoderma aggressivum</i>	10	87.5
<i>Trichoderma brevicompactum</i>	50	37.5
Kontrol	80	

*A. flavus* ikili kültür çalışmalarında hem sıvı ortamda ürettiği, hem de uçucu antibiyotikleri ile patojen gelişmesini sınırlandırıcı etki göstermiştir. *P. griseofulvum* ise uçucu antibiyotik üretmemiştir. Bu iki fungus hem antibiyotik üretimleri, hem de rekabetçi özellikleri ile hastalık oluşumunu %6.3-26.3 ve 62.5-31.6 oranlarında engelleyebilmişlerdir. Oysa *Trichoderma* türleri hem antibiyotik üretimlerinin yüksekliği, hem de rekabetçi yönleri ile öne çıkan funguslar olmuştur.

Farklı kültür bitkilerinde *Fusarium* türlerinin neden olduğu kök çürüklüğü ve solgunluk hastalıklarına kontrol etmeye yönelik olarak yürütülen çalışmalarda fungal antagonist olarak, *Trichoderma* türleri ön plana çıkmaktadır. Thalenko et al. (2020), *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* ve *Alternaria cucumerina*'nın neden olduğu hıyar kök çürüklüğünü *Trichoderma viride* ve *T. longibrachium* türlerini kullanarak %83 oranında azaltabilmişlerdir. El-Sharkawy et al. (2021) ise bezelyede *Fusarium* kök çürüklüğünü *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens* ve asbusküler mikorizal fungus kombinasyonu ile %80 oranında engellediklerini bildirmişlerdir. Benzer çalışmalarda soğanda *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* %89 (Moka et al. 2021) ve patlıcan solgunluk etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae*'nin hastalık oluşturmaya %45 oranında azaltıldığı (Pinto et al. 2021) ifade edilmiştir.

Çizelge 5. Antagonistlerin *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin domates bitkilerinde hastalık oluşturmaya üzerine etkileri (2. ve 3. denemeler)  
 Table 5. Effects of antagonists on disease induction by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in tomato plants (2nd and 3rd trials)

Uygulama	2. Deneme		3. Deneme	
	Hasta Bitki Oranı (%)	% Etki	Hasta Bitki Oranı (%)	% Etki
<i>Aspergillus flavus</i>	75 b*	6.3	70 b	26.3
<i>Penicillium griseofulvum</i>	30 a	62.5	65 b	31.6
<i>Trichoderma aggressivum</i>	65 b	18.8	75 b	21.1
<i>Trichoderma brevicompactum</i>	30 a	62.5	20 a	78.9
Kontrol	80 b		95 b	

\* Sütun içerisinde farklı harf içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre farklıdır

## Sonuç

Domateste FOL'e karşı saprofit mikofloranın antagonistik etkilerini saptamak amacıyla, domates rizosferinde 29 fungus türü elde edilmiştir. En yüksek fungal popülasyonu *Aspergillus* türleri oluştururken, bunu *Mortirella* ve *Penicillium* türleri izlemiştir. Saprofit fungusların FOL'ün miseliyal gelişmesi üzerine etkileri değişkenlik göstermiştir. Yüksek popülasyona sahip *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin hepsi FOL ile ikili kültürde inhibisyon zonu oluşturmuş, ancak bazıları sıvı ortamda, bazıları da uçucu antibiyotik üretimleri ile daha etkili olmuşlardır. *Trichoderma* türlerinin özellikle hızlı gelişmeleri ve uçucu ve uçucu olmayan antibiyotik üretimleri önemli olmuş ve patojeni bu yönleriyle baskılamışlardır. Antagonist funguslar içerisinde FOL'ün bitkide hastalık oluşumunu engelleme açısından *A. flavus*, *C. clodosporoides*, *P. griseofulvum*, *T. aggressivum* ve *T. brevicompactum* ön plana çıkmışlardır. Ancak en başarılı fungus *T. brevicompactum* olarak belirlenmiştir.

## Teşekkür

Bu çalışmayı parasal yönden destekleyen Çukurova Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu Birimi'ne teşekkür ederiz (Proje no: FYL-2021-13458).

## Kaynaklar

- Alwathnani A. & K. Perveen, 2011. Biological Control Of Fusarium Wilt Of Tomato By Antagonist Fungi And Cyanobacteria. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11(5), pp. 1100-1105.
- Barnett H.L. & B.B. Hunter, 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burges Publishing Company, Minnesota, 241 p.

- Boosalis M.G., 1964. Hyperparasitism. Annual Review of Phytopathology. Vol.:2 Pages: 363-376.
- Chandrashekar M.A., K. Soumya & N.S. Raju, 2014. Diversity Fungal of Rhizosphere Soils in Different Agricultural fields of Nanjangud Taluk of Mysore District, Karnataka, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(5): 559-566 .
- Demir S. & E. Onoğur, 1999. Bitkilerde Vesiküler-Arbüsküler Mikoriza Oluşumunun Bitki Besleme ve Bitki Korumadaki Önemi. *Anadolu Dergisi*, 9(2): 12-32.
- Doğan K., S. Bozkurt & N. Agca, 2019. The effect of calcium (Ca<sup>2+</sup>) applications on R/S values in tomato and pepper rhizosphere soils. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 24 (Özel Sayı):290-300.
- Domsch K.H., W. Gams & T. Anderson, 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London, 859 p.
- Doyle J.J., & J.L. Doyle, 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, 12:13-15.
- El-Sharkawy H.A.H., S.M. Abbas, S.A. Soliman, S.A. Ibrahim & A.I.I. El-Nady, 2021. Synergistic effect of growth-promoting microorganisms on bio-control of *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi, growth, yield, physiological and anatomical characteristics of pea plants. Cilt 178.
- Emmanuel C.E.S., S.M. Angelina, R. Debbarma & H. Mochahary, 2019. Antagonistic Effect of *Aspergillus* and *Penicillium* Against Wilt Disease of Tomato by *Fusarium Oxysporum*. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, Page:51-58.
- Erdevil A.Z., 2020. Patateslerde Kök Boğazı Nekrozu ve Siyah Siđil Hastalığı (*Rhizoctonia Solani*)'nın Kimyasal ve Biyolojik Yollarla Mücadele Olanaklarının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma anabilim dalı Yüksek lisans tezi, 85 s.
- Erkiş A., 1988. Limon Ağaçlarındaki Mikroorganizmalar ve Uçkurutan Hastalığı (*Phoma Tracheiphila* Kanc. Et Ghik.) Arasındaki Antagonistik İlişkilerin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim dalı Doktora tezi. S:159.
- Gülser E., Ş. Tüfenkçi & S. Demir, 2014. Domateste Potasyum, Salisilik Asit ve Humik Asit Uygulamalarının Fide Çıkışı ve *Fusarium Solgunluğuna* (*Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici) Etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 24(1):16-22.
- Güven B., 2007. Yerfıstığı ve Biberde Gövde Çürüklüğü (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) Hastalığına Karşı Bazı Bitki Materyalleri ve Abiyotik Uyarıcılarının Etkilerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 38
- Hirano Y. & T. Arie, 2006. PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici and radices –lycopersici and races of *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici. *Journal of General Plant Pathology*, 72:273–283.
- Kuc J., 1987. Immunization and its applicability for disease control. in: "Innovative approaches to plant disease control". John Willey and Sons, New York 255-274pp.
- Moka S., N. Singh & S.D. Buttar, 2021. Identification of potential native chitinase-producing *Trichoderma* spp. and its efficacy against damping-off in onion. *European Journal of Plant Pathology*, 161:289-300.

- Monaco C., G. Dal Bello, M.C. Rollan, L. Ronco, G. Lampugnani, N. Arteta, C. Abramoff, A. Aprea, S. Larran & M. Stocco, 2009. Biological Control of *Botrytis cinerea* on Tomato Using Naturally Occurring Fungal Antagonists. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 42:8, 729- 737..
- Nejat N., K. Sijam S., N.A. Abdullah, G. Vadamalai & M. Dickinson, 2009. Molecular characterization of a phytoplasma associated with Coconut Yellow Decline in Malaysia. *American Journal of Applied Sciences*, 6(7):1331-1340.
- Nurbailis N., W. Winarto & A. Panko, 2015. Screening for Antagonistic Fungi Indigenous to Ginger Rhizosphere and Evaluation of Their Inhibitory Effect on the Growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 11(1): 9.
- Ojha S., M. Chakraborty & N.C. Chatterjee, 2012. Influence of salicylic acid and *Glomus fasciculatum* on fusarial wilt of tomato and brinjal. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(13): 1599-1609.
- Oskay F., 2007. Çankırı (Eldivan) Karaçam Orman topraklarında saptanan bazı mikrofungusların in vitro koşullarda antagonistik etkileşimlerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği Anabilim dalı, Yüksek lisans tezi, 100s.
- Özgönen H., M. Biçici & A. Erkilic, 2001. The Effect of Salicylic Acid and Endomycorrhizal Fungus *Glomus etunicatum* on Plant Development of Tomatoes Fusarium Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 25:25-29.
- Özgönen H., S. Kazaz & G. Bilge, 2010. Kala (*Zandeteschia aethiopica*)'da Rizom Kökenli Fungal Hastalıklar ve Bunlar Üzerinde Faydalı Fungus, *Trichoderma harzianum*'un Etkilerinin Belirlenmesi, IV.Süs Bitkileri Kongresi Bildirileri, Mersin. 144-151 s.
- Pinto R., M. Delvella, R. Orlando, C. Arana, C. Enrique, C. Ayala, E. Emilio, M. Cogollo, B. Jose & R. Tordecilla, 2021. *Trichoderma* spp. vascular wilt biocontroller (*Fusarium* spp.) of eggplant in the Colombian Caribbean. *Biotechnologia en el Sector Agropecuario Agroindustrial Rev. Bio. Agro* vol.19.
- Puhur F.B., 2020. Adana İli Domates Yetiştiriciliğinde *Fusarium* Solgunluğu'nun Yaygınlığının Belirlenmesi ve Mücadele Olanaklarının Araştırılması. Ç.Ü Fen Bil. Enst. Bitki Koruma Anabilim Dalı, Türkiye, Yüksek lisans tezi, 61s.
- Raupach G.S. & J.W. Kloepper, 2000. Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growth promoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Disease*, 84: 1073-1075. 435.
- Rowe R.C. & J.D. Farley, 1981. Strategies for controlling *Fusarium* crown and root in greenhouse tomatoes. *Plant Disease*, 65:107-111.
- Shinkafi S.A. & M.A. Gobir, 2018. Isolation and identification of Rhizosphere Mycoflora of *Lycopersicum esculentum* (tomato). *Advances in Plants & Agriculture Research*,8(6): 512-515.
- Sutton B.C., 1973. Coelomycetes. In 'The Fungi. IV A, A Imperfecti'. Pp. 513-582, Academic Press, London, 621p.
- Tapwal A., A. Tyagi, G. Thakur & S. Chandra, 2015. *In vitro* Evaluation Of *Trichoderma* Species Against Seed Borne Pathogens. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 1: 14-19.
- Thalenko H.M., Borzykh O.I., Horal S.V., Barvas-Hremiakova K.M., Janse L.A., 2020. Screening New *Trichoderma* Isolates For Antagonistic Activity Against Several

- Phytopathogenic Fungi, Including *Fusarium* Spp. Agricultural Science and Practice, Vol. 7, No. 3.
- Uslu E. & M. Yıldız, 1995. Domateslerde Kahverengi Kök Çürüklüğü (*Pyrenochaeta lycopersici* (Schneider und Gerlach) ve Patlıcangiller Solgunluğu (*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) (Hughes) Hastalıklarının Gelişimini Etkileyen Bazı Faktörler Üzerinde Çalışmalar. Türkiye VII. Fitopatoloji Kongresi 26-29 Eylül, Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 555 (53-56), Adana.
- Vega N.W.O., 2007. A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. 60 (1):3621-3643.
- Wegrzyn E. & K. Gorzyska, 2019. Influence of the fungal hyperparasite *Trichoderma harzianum* on the growth of *Epichloe* typhina, an agent of choke disease in grasses. Journal of Plant Diseases and Protection, 126:39-45.
- White T.J., T. Bruns, S. Lee & J. Taylor, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Snisky JJ, White TJ, eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press, 315–322.
- Yücel S., 1989. Domates *Fusarium* solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hans) karşı biyolojik kontrolde antagonistlerin ve toprak solarizasyon uygulamasının karşılıklı etkileşimlerinden yararlanma olanakları üzerinde araştırmalar. Adana Zir. Müc. Araş. Enst. Müd. Araştırma Yayınları Serisi Yayın No: 64, Adana, 108 s.
- Yücel S., 1994. Akdeniz Bölgesi Örtü Altı Sebze Alanlarında Görülen Fungal Hastalıklar. Bitki Koruma Bülteni, Cilt 34 (1-2); 23-34 s.
- Yıldız A. & T. Döken, 2001. Aydın ili Domates Ekim Alanlarında Saptanan *Fusarium* spp.ve Bazı Domates Çeşitlerinin Bu Etmenlere Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi Üzerinde Çalışmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kong. 3-8 Eylül, Trakya Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları No: 45 (364-371).







*Orijinal araştırma (Original article)*

## First report of *Neoseiulus roumelioticus* (Acari: Phytoseiidae) in Turkey

İsmail DÖKER<sup>1,\*</sup>, Cengiz KAZAK<sup>1</sup>, Kamil KARUT<sup>1</sup>

Türkiye’de *Neoseiulus roumelioticus* (Acari: Phytoseiidae)’un ilk kaydı

**Öz:** Daha önce sadece Yunanistan’dan yapılan orijinal tanımı üzerinden bilinen avcı akar, *Neoseiulus roumelioticus* Papadoulis, Emmanouel & Kapaxidi (Acari: Phytoseiidae) Türkiye’de ilk kez kayıt edilmektedir. Avcı akar türü, İstanbul ili Çilingöz Tabiat Parkı’ndan Asteraceae familyasına ait bir bitkiden toplanmış bireyler üzerinden yeniden tanımlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Biyolojik mücadele, avcı akar, fauna, morfoloji, yeniden tanımlama

**Abstract:** *Neoseiulus roumelioticus* Papadoulis, Emmanouel & Kapaxidi (Acari: Phytoseiidae), a predatory mite previously known only from its original description from Greece, is reported for the first time in Turkey. The species is re-described and illustrated, based on specimens collected from an unknown species of plant in the family Asteraceae in Çilingöz Nature Park in Istanbul Province, Turkey.

**Keywords:** Biological control, predatory mite, fauna, morphology, re-description

### Introduction

The phytoseiid mites (Acari: Mesostigmata: Phytoseiidae) are one of the most utilized groups of predators for the biological control of plant-feeding mites and some small soft-bodied insects that include thrips and whiteflies (Papadoulis et al. 2009). The genus *Neoseiulus* Hughes includes several important species, such as *N. californicus* (McGregor), *N. fallacis* (Garman), *N. longispinosus* (Evans) and *N. womersleyi* (Schicha), which are Type II selective predators of tetranychid mites, but also Type III generalist predators, such as *N. barkeri* Hughes and *N. cucumeris* (Oudemans), found in soil/litter habitats (McMurtry et al. 2013). All of them have been widely used commercially for the biological control of the pest groups mentioned earlier.

*Neoseiulus roumelioticus* Papadoulis, Emmanouel & Kapaxidi was described by Papadoulis et al. (2009), based on material collected from moss and low herbaceous plants, in Greece. Later studies showed no indication of the presence of *N. roumelioticus*, not only in Turkey, but also in other Mediterranean countries (Kasap & Cobanoglu 2009; Faraji et al. 2011; Kasap et al. 2013; Döker et al. 2020; Tsolakis & Ragusa 2016; Cakar et al. 2020; Kreiter et al. 2020; Bas et al. 2022).

<sup>1</sup>Cukurova University, Agricultural Faculty, Department of Plant Protection, Adana Turkey

\* Sorumlu yazar (Corresponding author): idoker@cu.edu.tr

ORCID ID (Yazar sırasıyla): 0000-0002-1412-1554, 0000-0002-2810-0244, 0000-0002-1173-7265

Alınış (Received): 24 Ekim 2022

Kabul edilmiş (Accepted): 5 Aralık 2022

In this study, *N. roumelioticus* is re-described and illustrated, based on material specimens collected from Çilingöz Nature Park in Istanbul Province, Turkey.

## Materials and Methods

Plant samples collected from Çilingöz Nature Park in Istanbul Province, Turkey were transferred to the laboratory in an icebox. Phytoseiid mites were extracted by using Berlese-Tullgren funnels and stored in 75% alcohol. Before slide preparation, they were kept in 60% lactic acid for 24 hours at 50 °C. Microscope slides were prepared using Hoyer's medium. Further examinations were conducted using an Olympus® CX-41 microscope. Drawings were prepared with a pencil while using a camera lucida attached to the microscope. The lines were further corrected using tracing paper and a rapidograph pen. Final corrections were made using a computer program (Adobe Photoshop version CS6), whenever required. Measurements are given in micrometers. The taxonomic system used follows that of Chant and McMurtry (2007). The setal nomenclature used follows Lindquist and Evans (1965), as adapted by Rowell et al. (1978). The dorsal and ventral setal pattern utilized is that of Chant and Yoshida-Shaul (1989; 1991). The examined specimens are deposited in the mite collection of the Acarology Laboratory, Cukurova University, Adana, Turkey.

## Results

### Systematics

#### *Neoseiulus roumelioticus* Papadoulis, Emmanouel & Kapaxidi (Figure 1–5)

*Neoseiulus roumelioticus* Papadoulis, Emmanouel & Kapaxidi, 2009: 87.

#### Female (n=5).

Dorsum (Figure 1). Dorsal setal pattern 10A:9B (*r3* and *R1* off shield). Dorsal shield, sclerotized, oval with slight waist at level of *Z1*, smooth except some patches of lateral striations or reticulations. Bearing five pairs of solenostomes (*gd1*, *gd2*, *gd4*, *gd6*, and *gd9*). Muscle-marks (sigilla) visible mostly on podosoma, length of dorsal shield 328 (320–335), width 163 (155–165) at level of *s4*, width 183 (170–190) at level of *S2*. All dorsal setae smooth, except *Z4* and *Z5* slightly serrated. Measurements of dorsal setae as follows: *j1* 14 (13–15), *j3* 19 (18–20), *j4* 15 (13–18), *j5* 17 (15–18), *j6* 17 (15–18), *J2* 24 (23–25), *J5* 11 (10–13), *z2* 19 (18–20), *z4* 19 (18–20), *z5* 16 (15–18), *Z1* 24 (23–25), *Z4* 47 (45–50), *Z5* 63 (60–65), *s4* 28 (25–30), *S2* 26 (25–28), *S4* 28 (25–30), *S5* 14 (13–15), *r3* 18 (17–19), and *R1* 17 (16–18). Peritreme extending seta level of *j3*.

Venter (Figure 2). Ventral setal pattern 14:JV–3:ZV. Sternal shield smooth, slightly sclerotized with three pairs of setae (*ST1*, *ST2*, *ST3*), two pairs of poroids (*pst1* and *pst2*). Distance between *ST1*–*ST3* 66 (65–68), distance between *ST2*–*ST2* 56 (55–58). Metasternal setae *ST4* and a pair of pores (*pst3*) on metasternal shields. Genital shield smooth; width at level of genital setae (*ST5*) 61 (60–63). Ventrianal shield reticulated posteriorly and striated anteriorly, bearing three pairs of pre-anal setae (*JV1*, *JV2*, and *ZV2*), a pair of para-anal (*Pa*) and a post-anal setae (*Pst*). Preanal solenostomes (*gv3*) small rounded and located posteromedian to *JV2*.

Length of ventrianal shield 118 (118–120), width at level of ZV2 102 (100–105). Setae JV4, JV5, ZV1, ZV3, and six pairs of poroids on integument surrounding ventrianal shield. Setae JV5 smooth, much longer than other ventral setae, 53 (50–55) in length.

Chelicera (Figure 3). Fixed digit 27 (25–28) long with three teeth clustered apically and a pilus dentilis; movable digit 27 (25–28) long with three teeth.

Spermatheca (Figure 4). Calyx of spermathecal bell-shaped flaring distally, 11 (10–13) in length; atrium nodular and narrower than base of calyx, with major duct thick-walled, fusiform, vacuolated area where it joins atrium; without neck between atrium and calyx; major duct long; minor duct visible.

Legs (Figure 5). Length of legs (base of coxae to base of claws) as follows: leg I 318 (310–325), leg II 233 (225–245), leg III 228 (220–235), leg IV 315 (310–320). Genua II, III, and IV each with seven setae. Leg IV with one sharp pointed macrosetae, *StIV* 59 (55–63) in length.

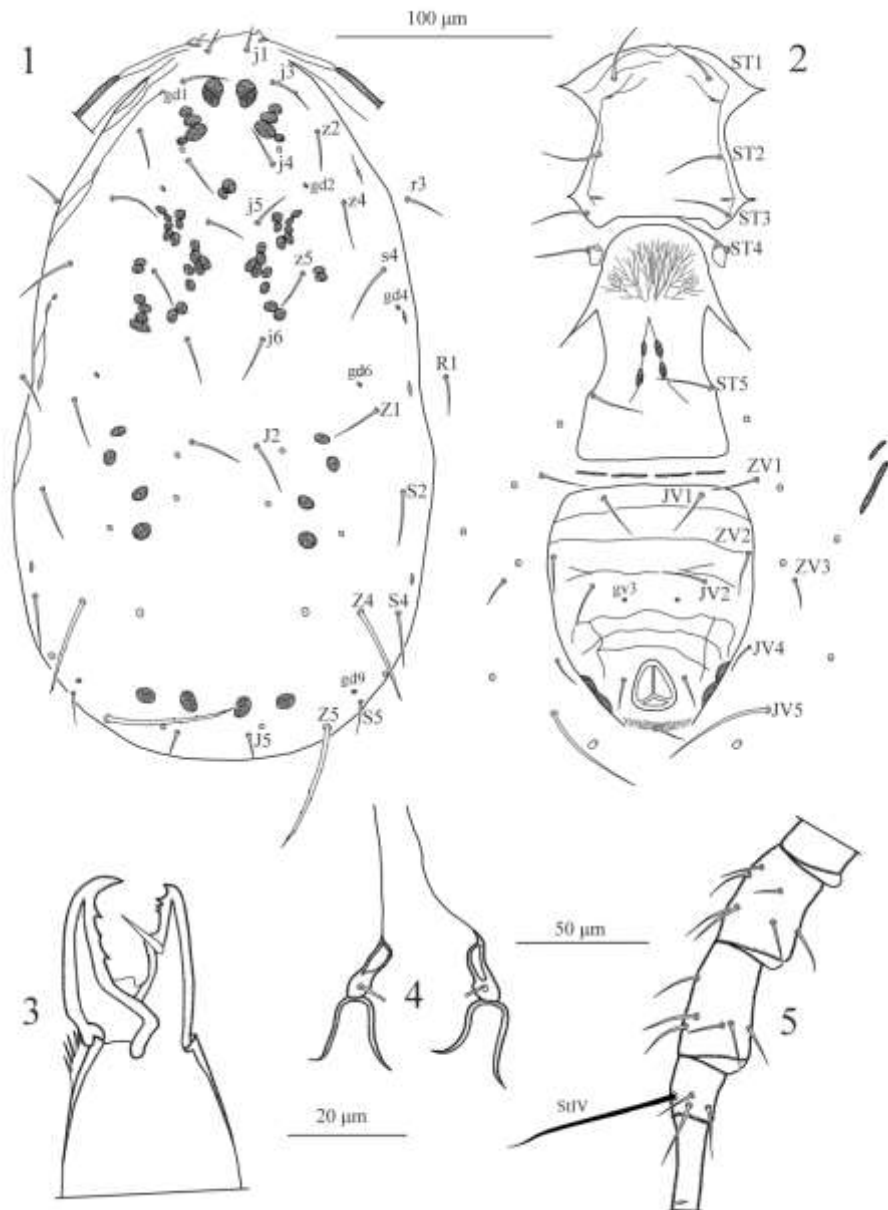
**Male.** Not collected in this study.

**Material examined.** Five females collected from an unknown species of plant in the family Asteraceae, in association with thrips, Çilingöz Nature Park, Istanbul Province, May 1, 2017, coll. İ. Döker.

**World Distribution.** Greece (Papadoulis et al. 2009) and Turkey (this study).

#### **Remarks**

*Neoseiulus roumelioticus* was described by Papadoulis et al. (2009), based on the specimens collected from moss and low herbaceous plants in various locations in Northern (Macedonia) and Central Greece. The species is only known to date from Greece, based on its original description.



Figures 1–5. *Neoseiulus roumelioticus* Papadoulis, Emmanouel & Kapaxidi, female: 1. Dorsal shield; 2. Ventral idiosoma; 3. Chelicera; 4. Spermatheca; 5. Leg IV (Genu, tibia and basitarsus). Scale bars = 100 µm for 1, 2; 20 µm for 3, 4; 50 µm for 5.

Therefore, the finding of the current study represents a new record for the Turkish fauna, as well as the first discovery of the species after its original description. Morphological characters and measurements of the Turkish specimens are almost identical to the original description, except for the length of the calyx of spermatheca. Papadoulis et al. (2009) also reported a bell-shaped calyx of

spermatheca but its length was 24 in the original description as opposed to 11 (10–13) in the current materials. Upon a request by the present authors, Dr. Theodoros I. Stathakis (Agricultural University of Athens, Greece) kindly examined and confirmed that the length of the calyx of spermatheca in the holotype and a paratype specimen were 12 in length.

*Neoseiulus roumelioticus* is similar to *N. alustoni* which was reported by Döker et al. (2016) for the Turkish fauna. This species can be separated from *N. alustoni* by having an almost smooth dorsal shield (reticulated in *N. alustoni*), three teeth on the movable digit of the chelicera (two in *N. alustoni*), five pairs of dorsal solenostomes (four in *N. alustoni*, gd2 absent), and generally shorter dorsal setae which do not reach the base of subsequent setae (longer and reaching the base of subsequent setae in *N. alustoni*).

Nothing is known of the biology and feeding habits of *N. roumelioticus* as it has been reported only from Greece and Turkey, based on taxonomical descriptions. However, the finding of this predator in association with unknown thrips suggests that studies should be conducted under laboratory and field conditions to determine its potential as a biological control agent of this group of pests.

### Acknowledgements

The authors are grateful to Dr. Theodoros I. Stathakis (Agricultural University of Athens, Greece) for his careful examination of the type materials of *Neoseiulus roumelioticus*. This study was supported by the Cukurova University Scientific Projects Foundation Units under grant number, FAY-2022-14495.

### References

- Bas H., I. Döker & S.K. Ozman-Sullivan, 2022. New records and complementary descriptions of three Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) species from Turkey. *International Journal of Acarology*, 48(4-5): 393-400.
- Çakar T., D. Yanar & I. Döker, 2020. Re-descriptions of *Neoseiulus reductus* (Wainstein) and *Typhlodromus (Anthoseius) caucasicus* (Abbasova) (Acari: Phytoseiidae) from Turkey. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 11(2): 208-216.
- Chant D.A., E. Yoshida-Shaul, 1989. Adult dorsal setal patterns of the family Phytoseiidae (Acari: Gamasina). *International Journal of Acarology*, 15 (4): 219-233.
- Chant D.A., E. Yoshida-Shaul, 1991. Adult ventral setal patterns in the family Phytoseiidae (Acari: Gamasina). *International Journal of Acarology*, 17 (3): 187-199.
- Chant D.A., J.A. McMurtry, 2007. Illustrated keys and diagnoses for the genera and subgenera of the Phytoseiidae of the world. *Indira Publishing House*, West Bloomfield, MI, USA. 220pp.
- Döker I., C. Kazak & K. Karut 2016. Contributions to the Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) fauna of Turkey: morphological variations, twelve new records, re-description of some species and a revised key to the Turkish species. *Systematic and Applied Acarology*, 21(4): 505-527.

- Döker I., C. Kazak, & K. Karut, 2020. The genus *Amblyseius* Berlese (Acari: Phytoseiidae) in Turkey with discussion on the identity of *Amblyseius meridionalis*. *Systematic & Applied Acarology*, 25(8): 1395-1420.
- Faraji F., S. Cobanoglu & I. Cakmak, 2011. A checklist and a key for the Phytoseiidae species of Turkey with two new species records (Acari: Mesostigmata). *International Journal of Acarology*, 37(1): 221-243.
- Kasap İ., & S. Cobanoglu, 2009. Phytoseiid mites of Hakkâri province, with *Typhlodromus (Anthoseius) tamaricis* Kolodochka, 1982 (Acari: Phytoseiidae), a new record for the predatory mite fauna of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 33: 301-308.
- Kasap İ., S. Cobanoglu & S. Pehlivan, 2013. Çanakkale ve Balıkesir illeri yumuşak çekirdekli meyve ağaçları ve yabancı otlar üzerinde bulunan predatör akar türleri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 4: 109-124.
- Kreiter S., K. Amiri, M. Douin, T. Bohinc, S. Trdan & M.S. Tixier, 2020. Phytoseiid mites of Slovenia (Acari: Mesostigmata): new records and first description of the male of *Amblyseius microorientalis*. *Acarologia*, 60(2): 203-242.
- Lindquist E.E. & G.O. Evans, 1965. Taxonomic concepts in the Ascidae, with a modified setal nomenclature for the idiosoma of the Gamasina (Acarina: Mesostigmata). *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 47: 1-64.
- McMurtry J.A., G.J. de Moraes & N. Famah-Sourassou, 2013. Revision of the lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. *Systematic & Applied Acarology*, 18(4): 297-320.
- Papadoulis G.Th., N.G. Emmanouel & E.V. Kapaxidi, 2009. Phytoseiidae of Greece and Cyprus (Acari: Mesostigmata). *Indira Publishing House*. 200 pp.
- Rowell H.L., D.A. Chant & R.I.C. Hansell, 1978. The determination of setal homologies and setal patterns on the dorsal shield in the family Phytoseiidae (Acarina: Mesostigmata). *The Canadian Entomologist*, 110: 859-876.
- Stathakis T., E.V. Kapaxidi & G.Th. Papadoulis, 2016. A new species and three new records of Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) found on coastal and wetland vegetations in Greece. *Systematic and Applied Acarology*, 21(5): 567-582.
- Tsolakis H. & S. Ragusa, 2016. On the identity of *Neoseiulus fallacis* (Garman 1948) (Parasitiformes, Phytoseiidae) re-description of the species and description of the new species *Neoseiulus garmani*. *International Journal of Acarology*, 42(8): 394-404.

### **Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi Yazım Kuralları**

1. Makale; Microsoft Word programında (MS Word 2000 veya üzeri versiyonu), Times New Roman karakterde, 11 punto, tek satır aralığında ve normal karakterde yazılmalıdır.
2. Eserler, standart A4 kağıdına ve sayfa yapısı; üst ve alt bilgiler dâhil üstten ve alttan 4.5 cm, sol ve sağ 4.0 cm boşluk bırakılarak sayfanın sağ kenarı hizalı biçimde yazılmalı ve şekil ve çizelgeler ile birlikte 16 sayfayı geçmemelidir.
3. Makalenin ilk sayfasında üst bilgi olarak sola dayalı, 10 punto, normal karakterde;  
Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi  
Turkish Journal of Biological Control  
ISSN 2146-0035  
ifadeleri yazılmalı ve altında da 14 punto tek satır boşluk bırakılmalıdır.
4. Türkçe eserler; “Başlık, Yazar adı-soyadı, İngilizce başlık ve Abstract, Keywords, Öz, Anahtar kelimeler, Giriş, Materyal ve yöntem, Bulgular ve tartışma, Sonuç (istenirse), Teşekkür (istenirse), Kaynaklar”
5. İngilizce eserler; “Title, Author's name, Türkçe başlık, Öz, Anahtar kelimeler, Abstract, Keywords, Introduction, Materials and methods, Results and discussion, Conclusion (optional), Acknowledgement (optional), References” ana başlıklarından oluşmalıdır.
6. Derleme eserlerde ise, “Abstract, Öz ve Giriş” bölümlerinden sonra uygun bölüm başlıkları verilebilir.
7. Eserin başlığı hangi dilde yazılıyorsa bold ve 14 karakterde, sola yaslı, tamamı küçük harf (sadece özel isimlerin baş harfleri büyük), tek satır aralığında yazılmalı, başlıkta verilen latince isimler italik yapılmalıdır.
8. Başlıktan sonra 11 punto bir satır boşluk bırakıldıktan sonra yazarların açık adları unvan belirtilmeden küçük harflerle (baş harfi büyük), soyadları ise büyük harflerle, sola yaslı, birden fazla yazar adı arasında virgöl ve bir boşluk olacak şekilde 11 karakterde bold olarak yazılmalıdır. Eser ve yazar adlarına “Ekle → Başvuru → Dipnot” takip edilerek numara verilmeli ve ilk sayfanın sonunda bunlara ait bilgiler, sorumlu yazarın e-mail adresi ile alınış ve kabul ediliş ifadeleri 9 karakterde yazılmalıdır.
9. Yazar adlarından sonra 11 punto bir satır boşluk bırakılarak eserin ikinci dildeki başlığı 11 karakterde, sola yaslı ve bold olarak yazılmalıdır.
10. Abstract ve Öz başlıkları 12 karakter, bold, paragraf girintisi yapılmadan iki nokta (:) konduktan sonra aynı satırdan başlayarak, metin kısmı 10 karakterde, tek satır aralığı ile yazılmalı ve 150 kelimeyi geçmemelidir.
11. “Keywords ve Anahtar kelimelerler (bold)” Abstract ve Öz metinlerinden sonra 6 nk boşluk bırakılarak sola yaslı ve 10 karakterde yazılmalıdır.
12. Eserin; 2, 4, 6, 8 gibi çift nolu sayfalarında üst bilgi olarak makale başlığını kısaca ifade eden bir cümle sağa yaslı; yine 3, 5, 7, 9 gibi tek nolu sayfalarında ise sol tarafta derginin Türkçe ve İngilizce açık adı ve sağ tarafta yazar adı (Öztürk & Karacaoğlu veya Uygun et al. gibi) ile derginin yıl, cilt ve sayı numarası 10 karakterde normal ve sonrasında 10 punto bir satır boşluk olacak şekilde yazılmalıdır.



## Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi Yazım Kuralları

13. Ana bölüm başlıkları; sola yaslı, bold, ilk harfleri büyük ve 13 karakterde yazılmalı, başlıklardan önce 11 punto tek satır, sonra 6 nk boşluk bırakılmalıdır. Alt başlık varsa 12 karakterde, sola yaslı, ilk harfi büyük diğerleri küçük, bold olarak yazılmalıdır.
14. Eserin tüm metin kısmı 11 karakterde, normal, iki yana yaslı, tek satır aralığında, ilk paragrafta girinti yok, ancak ara paragraflarda ise 0.5 cm girinti olmalı ve paragraflar arasında boşluk bırakılmamalıdır.
15. Fotoğraf ve grafikler “**Şekil**”, sayısal değerleri içeren tablo ve çizelgeler ise “**Çizelge**” olarak belirtilmeli ve **Şekil 1**, **Şekil 2** veya **Çizelge 1**, **Çizelge 2** gibi ardışık olarak numaralandırılmalıdır. Şekil başlıkları şeklin altında, öncesinde 6 nk boşluk ve çizelge başlıkları ise çizelgenin üstünde sonrasında 6 nk boşluk olmalı, normal, 10 karakterde olacak şekilde ve tek satır aralığında yazılmalıdır. Eğer varsa, çizelge dipnotları çizelge altında, normal, sola yaslı ve 8 karakterde kısa ve öz olarak verilmelidir.
16. Türkçe hazırlanan eserlerde, İngilizce "Figure" ve "Table" başlıkları ayrıca verilmelidir.
17. Her iki dilde de yazılan eserde kaynaklara ilişkin bildirimler metin içerisinde "yazar ve yıl" sırasına göre yapılmalı, metin içindeki açıklama ve yazar sayısına bağlı olarak bildirim "Uygur (2008), Ulusoy & Kazak (2009), Aysan et al. (2010)," örneğinde olduğu gibi veya bildirim sonunda tamamı parantez içinde olacak şekilde verilmelidir Örneğin; (Karut 2008; Ulusoy & Öztürk 2009; Elekçioğlu et al. 2010).
18. Eser metninde organizmaların bilimsel adları ilk geçtiği yerde "Author" adı ile birlikte açık, daha sonra cins adı kısaltılmış olarak yazılmalı ve gerek metin ve gerekse kaynaklar da "*italik*" olmalıdır. Ana ve alt başlıklar ile çizelge ve şekil başlıklarında ise, Author adı verilmeden açık yazılmalıdır.
19. Kaynaklar listesi ilk yazarın soyadına göre, numara verilmeden alfabetik olarak, 10 karakterde, tümü küçük harf (özel isimler hariç), 0.5 cm asılı ve tek satır aralığında yazılmalıdır. Tek veya daha fazla yazarlı eserlerin bildiriminde son yazardan önce "&" işareti kullanılmalıdır. (Örn.: Öztürk N. 2011., Karut K. & S. Satar 2009., Uygun N., S. Satar & M. Karacaoğlu 2010.). Dergilerin isimleri açık ve italik, diğer kaynaklar normal karakterde açık olarak yazılmalıdır. İnternette alınan kaynakların ise ayrıca web adresleri ile erişim tarihleri de belirtilmelidir (Örn.: Erişim tarihi: 10 Ocak 2010).

### **Dergi:**

Öztürk N. & M.R. Ulusoy 2003. Mersin ili kayısılarında saptanan zararlılar. *Alatarım Dergisi*, 2 (2): 21-26.

Pruszyński S. & W.W. Cone 1973. Biological observations of *Typhlodromus athiasae* Porath and Swirski (Acari: Phytoseiidae) on hops. *Annals of the Entomological Society of America*, 66: 47-51.

### **Kongre veya sempozyum:**

## Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi Yazım Kuralları

---

Karut K. & E. Şekeroğlu 1999. *Chrysoperla carnea* (Stephens) yumurtalarının laboratuvar koşullarında depolanma olanaklarının araştırılması. Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, 26-29 Ocak 1999, Adana, 203-210.

Öztürk N. & M.R. Ulusoy 2009. Pests and natural enemies determined in pomegranate orchards in Turkey. I. International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits, 16-19 October 2006, Adana-Turkey, 350-355.

### **Tez:**

Şenal D. 2006. Avcı böcek *Chilocarus nigrinus* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae)'un bazı biyolojik ve ekolojik özellikleri ile doğaya adaptasyonu üzerinde araştırmalar. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balcalı-Adana, 127 s.

### **Kitap:**

Uygun N. 1981. Türkiye Coccinellidae (Coleoptera) Faunası Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 157, 111 s.

### **Kitaptan bir bölüm:**

Elekçioğlu İ.H. & U. Gözel 2001. Turunçgillerde zararlı nematodlar ve entegre mücadelesi (Editör: N. Uygun, Türkiye turunçgil bahçelerinde entegre mücadele, zararlılar-nematodlar-hastalıklar-yabancıotlar). TÜBİTAK-TARP Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları, Ankara, 61-69.

### **İnternet:**

Neden Biyolojik Mücadele? URL: <http://www.biyolojikmucadele.org.tr> (Erişim tarihi: 24 Nisan 2008).

### **Yazarı belli olmayan yayınlar:**

Anonymous 2008. Türkiye'de çilek üretimi. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No: 1577, Ankara.

20. Hazırlanan makale metinlerinin word dosyası, e-mail: [bimude@cu.edu.tr](mailto:bimude@cu.edu.tr) adresi ile dergiye gönderilmelidir.

21. Eser yayına kabul edildiğinde, telif hakları formu tüm yazarlar tarafından imzalanıp dergiye gönderildikten sonra basım aşamasına geçilir (Telif hakları formu, dernek web sayfasında mevcuttur).

**Not 1:** Sözlü görüşmeler ve yayımlanmamış eserlere (Yüksek lisans ve Doktora tezleri hariç) ait bildirimler kaynak olarak kullanılmamalı ve kaynak listesinde yer almamalıdır.

**Not 2:** Makaleler araştırma ve yayın etiğine uygun olarak hazırlanmalıdır.



**Turkish Journal of Biological Control**

**Instructions for Authors**

1. Manuscripts should be prepared in Microsoft Word (MS Word 2000 or later) with Times New Roman font, size 11 pt, single line spacing and standard letters.
2. Manuscripts should be prepared on standard A4 pages, with 4.5 cm margins above and below the text and 4.0 cm margins on each side. Manuscripts should not be more than 16 pages, including figures and tables.
3. On the first page of the manuscript; include “Türk. biyo. mük. derg., ISSN 2146-0035”, in 10 pt standard letters as a header and leave a single line spacing in 14 pt.
4. The following sections are required:  
*For original research papers:* Title, Author name(s) and affiliation(s), Abstract (In English and Turkish), Keywords, Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, Acknowledgements (if needed), and References.  
*For review papers:* Appropriate sub-titles can be used following the abstract and the introduction.
5. The title should be in the same language as the main text, bold type, 14pt font, left-justified and with single line spacing. The first letters of proper nouns should be capitalized (e.g. Ankara, Turkey, Germany). Italic characters should be used for the scientific name of the organism(s). The author(s) name(s) should be included. The name of the manuscript and the author’s should be numbered by "References → Insert Footnote" and the information about them at the end of the first page should be written in 9 characters with the e-mail address of the responsible author including date of acceptance.
6. Following the title, leave a single line spacing in 11 pt. Author’s name(s) in standard letters, except for the capitalized first letter, and without the author’s title or any academic qualifications; left-justified, bold type and 11 pt. A comma followed by a space should be used to separate authors’ names.
7. Following the authors’ name(s), leave a single line spacing in 11 pt, and the title in the other language (Turkish or English) should be provided 11 pt, left-justified and bold.
8. Abstracts in both languages in 12 pt, bold, without a paragraph space, and after a full colon (:), in 10 pt, single-spaced. The abstract should be less than 150 words.
9. Six “Key words (bold)” in 10pt, left-justified, following a 6nk space after the abstract.
10. A right-justified running title and left-justified author’s name/authors’ name(s), in 10pt, standard letters at the top of the page on odd and even numbered pages, respectively (e.g. on P. 1, 3, 5, 7... Öztürk & Karacaoğlu or Uygun et al.; and on P. 2, 4, 6, 8... Phytoseiidae in Turkey).
11. Titles for main sections should be left-justified, bold, 13 pt and with the first letter capitalized. Leave a single line spacing and 6 nk spaced lines, both in 11 pt,

before and after the titles, respectively. If needed, sub-titles should be in 12 pt, left-justified, bold, and with the first letter capitalized.

12. The main text should be 11pt, standard letters, justified, single-spaced, without a paragraph space for the first, leave a 0.5 cm space for the second and following paragraphs.

13. Photos and graphs should be named "Figure", as Figure 1, Figure 2, etc.; tables which contain numerical data or any other text, such as comparison, information etc., should be named "Table", as Table 1, Table 2, etc. Figure captions should be given below the figures. Leave an 6nk space between the figures and their captions. All captions to be in 10 pt and standard letters.

14. Citations in the text in chronological order e.g. Uygur (2008), Ulusoy & Kazak (2009), Aysan et al. (2010), or at the end of sentence, e.g. (Karut 2008; Ulusoy & Öztürk 2009; Elekçioğlu et al. 2010).

15. Use author's name/authors' names and year after the scientific name for organisms at the first mention. If mentioned again, the genus name should be abbreviated, followed by species name and without the authors name/authors' names and year. All scientific names should be given in italic font, both in the text and in the reference list. In Figure and Table captions and main titles and sub-titles, use only the full name of the organism(s), without abbreviation, not including author's name/authors' names and publication year.

16. The reference list should have the surnames of the first authors in alphabetical order, without numbering, 10 pt, normal letters, except for proper nouns, with 0.5 cm hanging indent, and single line spacing. For papers authored by more than one person, the symbol "&" should be given before the last author's name (e.g. Öztürk N. 2011, Karut K. & S. Satar 2009, Uygun N., S. Satar & M. Karacaoğlu 2010). The full name of the journal should be provided without abbreviation and in italic type.

Include the accession date for the internet source e.g. Web Accessed: January 10, 2010.

Personal communications can be cited in the text as e.g. (C. Kazak pers. comm. June, 2017) but should not be included in the reference list.

**For Journal:**

Pruszyński S. & W.W. Cone 1973. Biological observations of *Typhlodromus athiasae* Porath and Swirski (Acari: Phytoseiidae) on hops. *Annals of the Entomological Society of America*, 66: 47-51.

**For Meetings and symposiums:**

Öztürk N. & M.R. Ulusoy 2009. Pests and natural enemies determined in pomegranate orchards in Turkey. I. International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits, 16-19 October 2006, Adana-Turkey, 350-355.

## Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi Yazım Kuralları

---

### **For Thesis:**

Şenal D. 2006. Avcı böcek *Chilocarus nigrinus* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae)'un bazı biyolojik ve ekolojik özellikleri ile doğaya adaptasyonu üzerinde araştırmalar. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balcalı-Adana, 127 s.

### **For Books:**

Chant, D.A. & J.A. McMurtry 2007. Illustrated keys and diagnoses for the genera and subgenera of the Phytoseiidae of the world (Acari: Mesostigmata). Indira Publishing House, West Bloomfield, 219pp.

### **For Book Chapters:**

Elekçioğlu İ.H. & U. Gözel 2001. Turunçgillerde zararlı nematodlar ve entegre mücadelesi (Editör: N. Uygun, Türkiye turunçgil bahçelerinde entegre mücadele, zararlılar-nematodlar-hastalıklar-yabancıotlar). TÜBİTAK-TARP Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları, Ankara, 61-69.

### **For Internet Sources:**

Why Biological Control? URL: <http://www.biyolojikmucadele.org.tr> (Web Access: April 24, 2008).

### **For Publications by Unknown Authors:**

Anonymous 2008. Strawberry production in Turkey. Turkish Statistical Institution, Pub. No: 1577, Ankara.

Prepared manuscripts should be submitted via the online manuscript submission system by clicking on “<http://dergipark.gov.tr/tbmd>” and following the prompts. All manuscripts will be directed to the related editor, and if the editor is satisfied with the contents of the paper, the manuscript will be subjected to the blind peer review process. You will ultimately be informed whether your manuscript is accepted for publication. If it is accepted, the corresponding author should submit the journal’s copyright form signed by all the authors; the form can be obtained from the web site of the Biological Control Society of Turkey by clicking on “<http://www.biyolojikmucadele.org.tr/default.asp>”.

**Thank you for submitting your manuscript to the Turkish Journal of Biological Control.**



## Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi Yayın İlkeleri

1. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, Türkiye Biyolojik Mücadele Derneği'nin yayın organıdır.
2. Dergi zararlılar, hastalıklar ve yabancı otların biyolojik mücadele etmenleri (böcekler, akarlar, nematodlar, bakteriler, funguslar, virüsler, antogonistler vb.) üzerinde yapılan faunistik, sistematik, biyolojik, ekolojik, av-avcı, konukçuparazitoit ilişkileri, antogonistlik, ilaçların yararlılar üzerindeki yan etkileri vb. temel ve uygulamalı orijinal çalışmaları yayımlar. Ayrıca entegre mücadele içinde biyolojik mücadele ve biyolojik mücadelenin başarısını artıracak biyoteknik mücadele çalışmaları da derginin ilgi alanı içindedir.
3. Dergide, yukarıda belirtilen konularda olmak üzere özgün bilimsel çalışma, bilimsel not ve yayın kurulu tarafından davet edilen derleme çalışmalar da yayımlanır.
4. Derginin yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.
5. Çalışmanın daha önce herhangi bir yerde yayınlanmamış ve yayınlanması için değerlendirme aşamasında olmaması gerekir.
6. Yurtiçi - yurtdışı bilimsel toplantılarda sözlü veya poster olarak sunulmuş ve sadece özeti basılmış çalışmalar da sunum yeri belirtilmek koşuluyla yayımlanabilir.
7. Her çalışma için, başvuru sırasında "Dernek Yönetim Kurulu" nun o yıl için belirlediği basım ücreti alınır.
8. Elektronik ortamda gönderilen orijinal çalışmalar yayın kurulu tarafından belirlenen en az 2 hakem tarafından incelendikten sonra eserin yayımlanıp yayımlanmayacağına karar verilir.
9. Dergide yayımlanması için başvurusu yapılan eserlerle birlikte "Telif Hakkı Formu" da tüm yazarlar tarafından imzalanarak gönderilmelidir.
10. Basılan çalışmalar için yazarlarına telif ücreti ödenmez.
11. Dergide basılan makalelerde görülen bilimsel hataların sorumluluğu yazarlarına aittir.

### Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi

Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, Türkiye Biyolojik Mücadele Derneği tarafından yılda iki kez (Temmuz-Aralık) yayımlanır. Dergide zararlılar, hastalıklar ve yabancı otların biyolojik mücadelesi ile ilgili Türkçe veya İngilizce yazılmış orijinal araştırmalar ile kısa notlar yayımlanır.

Yıllık abone bedeli: 100 TL

Tek sayı bedeli: 65 TL

CABI ve TÜBİTAK/ULAKBİM tarafından taranmaktadır. Indexed in CABI and TÜBİTAK/ULAKBİM.

#### Yazışma adresi:

Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi  
Çukurova Üniversitesi Kampüsü PTT Şubesi  
Posta Kutusu:33  
01330 Adana - Turkey

E-mail: bimude@cu.edu.tr

Web: <http://www.biyolojikmucadele.org.tr>

Bu dergide yayımlanan eserlerin tüm hakları Türkiye Biyolojik Mücadele Derneği'ne aittir. Yayımlanan eserlerin herhangi bir şekilde kısmen veya tamamen çoğaltılması için izin alınması zorunludur.