



Bursa İli Nilüfer İlçesi Görükle Mevkii Topraklarında Entomopatojen Nematod Sürveyi*

Birtan Armağan¹, Tufan Can Ulu¹, Tolga İkizer¹

¹Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 16059 Nilüfer-BURSA
e-posta: birtanarmagan@hotmail.com

Özet: Bu çalışmada Bursa İline bağlı Nilüfer İlçesi Görükle mevkiinde entomopatojen nematodların (EPN) tespiti için tüm ilçeyi temsil edecek şekilde toprak örnekleri alınmış ve bu örnekler *Galleria mellonella* L. larvası ile “insect bait” tekniği kullanılarak alınan örneklerdeki EPN’ler izole edilmiştir. Çalışma kapsamında 7860 m²lik alandan toplam 88 adet numune alınmış ve analiz edilmiştir. Analizler sonunda toplam 4 adet EPN tespit edilmiş olup, bunlar *Steinernema* sp. olarak teşhis edilmiştir. Bu çalışma ve tespit edilen türler yöre için ilk kayıt olma özelliğini taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bursa, Nilüfer İlçesi, Entomopatojen Nematod, toprak, sürvey.

Survey of Entomopathogenic Nematodes in Soil of Görükle Region of Nilüfer Town in Bursa

Abstract: In the present study, in order to detect entomopathogenic nematodes, soil samples from Görükle region Nilüfer town in Bursa were collected and baited with larvae of *Galleria mellonella* L. in order to isolate EPN. In framework of this study, total 88 soil samples form 7860 m² areas were analyzed. At the end of the analyzes, 4 EPN were totally detected and they were identified as *Steinernema* sp. Moreover, the study and identified EPN species were the first for the region.

Key Word: Bursa, Nilüfer town, Entomopathogenic Nematodes, soil, survey.

Giriş

Entomopatojen Nematodlar (EPN), hayvanlar aleminin Nemata şubesinin Rhabditida takımının Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına bağlı 0.2 -10 mm uzunluğunda, 20 – 100 mikron genişliğinde iplik şeklinde, şeffaf, Türkçe’de iplik solucanları adı verilen canlı grubundandır. Toprak kökenli olan bu canlı grubu, biyolojik dönemlerini böcek vücudu içinde tamamlaması gerekir ve bu sırada o böceğin ölümüne neden olur. Ayrıca sindirim sistemlerinde özel bir kese içinde bulunan bakterilerle simbiyozis bir ilişki içinde yaşarlar. Bu bakteriler gram (-) tipte olup *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* cinslerine bağlı türlerdir (Boemare ve ark., 1993). EPN’ler toprakta

* Bu araştırma 2008–2009 Yılı Bitirme Çalışmasının bir bölümüdür.

kendilerine uygun konukçu bir böcek bulamadıklarında toprak içinde enfektif larva (3. dönem larva) biyolojik evresinde canlılıklarını 6–10 ay sürdürebilirler (Ehlers, 1996). Konukçularını, ağız kısmında bulunan ve çok gelişmiş papilla adı verilen duyu organlarıyla çok kısa bir sürede algırlar ve hedef konukçu böceğe doğru yönelirler. Böcekle temas haline geldiklerinde böceğin doğal açıklıklarından (stigma, kıl dipleri gibi) veya kütikulanın ince yerlerinden böcek vücuduna girerler, sonra EPN bir deri değiştirip ergin öncesi döneme girerler (4. larva), aynı zamanda simbiyont olan bakterileri ağız ve anüs yoluyla böcek vücut sıvısına (hemolimf) bırakırlar. Hemolimf, bu bakterilerin çoğalması için ideal bir ortamdır, dolayısıyla burada hızla çoğalırlar. Vücudunda çoğalan bakterilerden dolayı böcekte toksik etki sebebiyle ölüm meydana gelir. EPN' ler böceklerin tüm dönemlerine etkili olabildiği gibi en hızlı etkiyi larva döneminde yapmaktadır.

Günümüzde kullanılan pestisitlerin olumsuz etkilerinin her geçen gün daha açık bir şekilde ortaya çıkması alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılmasını zorunlu hale getirmektedir. Bu yöntemlerden en çok üzerinde durulan Biyolojik Mücadeledir. Bugün, dünyanın birçok ülkesinde, biyolojik kontrol çalışmalarında EPN kullanılmaktadır (Mracek, 1980; Blackshaw, 1988; Hominick and Briscoe, 1990; Nguyen and Smart 1990; Ozer ve ark., 1995; Miduturi ve ark., 1996; Elawad ve ark., 1999; Susurluk ve ark., 2001; Hazir ve ark., 2003b; Mracek ve ark., 2003). Bir biyolojik mücadele ajanı olan EPN' lerin birçok avantajı vardır. Örneğin EPN' lerin kitle üretimlerinin hem *in vivo* ortamda hem de *in vitro* ortamda kolay ve seri olması diğer doğal düşmanların sahip olduğu bu mevcut problemleri ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca üstün arama kabiliyetine sahiptirler. Bir alana uygulanan EPN' ler ekstrem ekolojik koşullara rağmen o bölgeye adapte olabilmektedirler (Akhurst and Bedding, 1986). EPN' ler içerisinde çok fazla ekonomik öneme sahip olan 11 takıma bağlı 75 familyadan toplam 250 böcek türüne etkilidir. Bununla birlikte, gerek hedef alınmayan organizmalara gerekse çevre, bitki ve insan sağlığına hiçbir toksik ve olumsuz etkisi yoktur. Böceği hastalandırıp öldürdüğü için konukçusunda dayanıklılık oluşturması çok zordur. EPN' lerin olumsuz yönleri olarak; konukçusunu araması için ince bir film tabakasına ihtiyaç duyarlar ve ticari olarak üretilenlerin 2 ay içinde kullanılmaları gerekmekte aksi takdirde enfeksiyon kabiliyetlerinde %30–60 oranında düşüş gözlemlenmektedir (Ehlers, 1996).

Bu çalışmada, Bursa İli, Nilüfer İlçesi, Görükle mevkiinden saf olarak topraktan entomopatojen nematod izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonunda toprak örneği alınan yerler ve analiz sonuçları ayrıntılı olarak bir tablo halinde sunulmuştur.

Materyal ve Yöntem

Çalışmanın ana materyalini; Bursa İli, Nilüfer İlçesi, Görükle mevkiindeki arazilerinden toprak örnekleri oluşturmaktadır. Çalışma, arazi ve laboratuvar çalışmaları olarak iki aşamalı olarak yürütülmüştür.

Arazi Çalışmaları

Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi arazilerinden, Üniversite kampusundan ve kampus civarındaki (Görükle) arazilerden yaklaşık 200–300 g arasında, toprağın hemen üzerinden olmamak şartı ile 5–20 cm arası derinlikten toprak örnekleri alınmıştır. Toprak örnekleri alınırken alınan arazinin yaklaşık olarak büyüklüğü, alınma tarihi, hangi bitkinin

yanından alındığı ve alındığı yerin bölge adı kayıt edilerek toprak örneğinin bulunduğu plastik poşetin içine konulmuştur. Örnekler alınırken farklı arazilerden ve farklı bitkilerin bulunduğu yerlerden alınmaya özen gösterilmiştir. Alınan toplam örnek sayısı 88'dir. Genel olarak Nilüfer İlçesi şekli 1'de gösterilmiştir.

Alınan örnekler laboratuara götürülünceye kadar polietilen torbalar içerisinde +4 °C'de saklanmıştır.

Laboratuvar Çalışmaları

İncelemeye alınacak toprak örnekleri elenerek homojen bir yapıda olması sağlanmıştır. Elenen ve homojen hale getirilen toprak örnekleri temiz bir kaba alınıp, her biri 100 g olacak şekilde vidalı kapaklı küçük plastik kaplara konmuştur. Bu kapların her birine 3 adet olacak şekilde *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Galleridae) larvalarının son dönemi konulmuş ve larvaların toprağın içerisine girmelerini kolaylaştırmak için kaplar ters çevrilerek 25 °C'de 3 gün boyunca etüvde tutulmuştur. 3 günün sonunda etüvden alınan örnekler açılarak larvalar kontrol edilmiştir. Ölen larvaların sarı veya kahverengi-kırmızı bir renkte olmaları onların enfekteli olduğunu gösteren bir işaret olarak algılanmıştır. Ölen bu larvalar kaptan alınmış, üzerlerindeki toprak steril su ile temizlenerek arındırılmıştır. Bu metotla alınan toprak örneklerindeki tüm enfektif juveniller *G. mellonella* larvaları sayesinde izole edilmiştir.



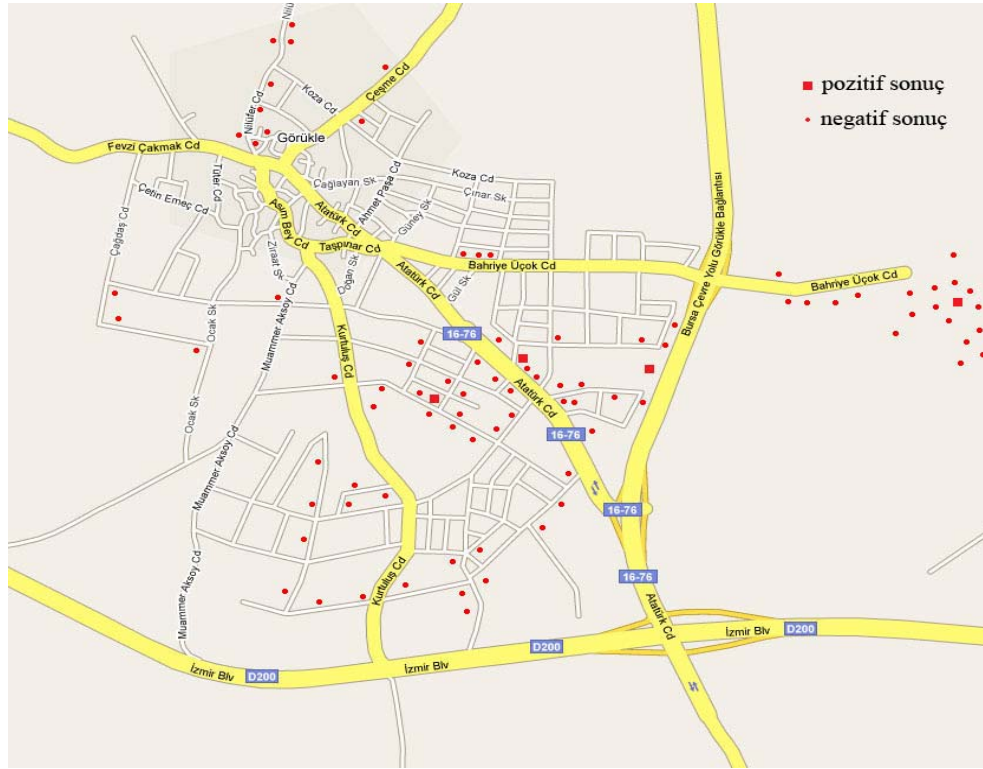
Şekil 1. Bursa İli ve İlçelerini gösteren harita.

Enfekteli larvalar saf su ile topraklarından temizlendikten sonra, EPN çıkışını gözlemlemek için White Trap denilen bir sisteme yerleştirilmiştir. White Trap; büyük bir petri kabının içine ters olarak konulmuş küçük bir petri kabı ve bunun üzerine de Whatman kağıdı konularak oluşturulan bir düzendir. Whatman kağıdının üzerine ise elde edilen

enfekteli larvalar konmuş ve büyük petri kabının altına az miktarda Ringer solüsyonu (7.5g NaCl, 0.35g KCL, 0.21g CaCl₂ x 2H₂O, 1 lt saf su) ilave edilerek büyük petrinin üzeri kapatılmıştır. Bu White Trap düzeneği 25 °C’de inkübe edilmiş, yaklaşık 7–10 gün sonra enfektif juvenillerin kadavrayı terk ettikleri ve kadavradan çıkan bu juvenillerin Whatman kâğıdı üzerinde ilerleyip Ringer solüsyonu içinde biriktikleri gözlemlenmiştir. Bu metotla enfektif juveniller saf olarak elde edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Görükle köyü mevkii ve civarında yapılan çalışma kapsamında alınan örneklerin laboratuvar analizi sonucunda bazı örneklerde EPN olarak *Steinernema* spp. türüne rastlanmıştır. EPN türlerinin görüldüğü toprak örneklerine konulan *G. mellonella* larvalarının öldüğü, sarımsı-bej rengine değiştiği gözlemlenmiş ve bir süre sonra larvalardan EPN çıkışı belirlenmiştir. Toplanan 88 adet örneğin 4 adedinde *Steinernema* spp. bulunmuştur (Çizelge 1). Alınan toprak örneklerinin EPN bakımından pozitif veya negatif olarak tespit edilen alanlar şekil 2’ de gösterilmiştir.



Şekil 2. Çalışma kapsamında örnek alınan bölgelerdeki pozitif ve negatif olarak tespit edilen alanlar harita üzerinde işaretlenmiştir.

Çizelge 1. Nilüfer İlçesinde toplanan örneklerde tespit edilen EPN'ler.

Bölge	EPN saptanan Arazi Büyüklüğü (m ²)	Tespit Edilen EPN
İzmir yolu	120	-
İzmir yolu	120	-
Dumlupınar Mah.	50	-
Dumlupınar Mah.	50	-
Dumlupınar Mah.	80	-
İzmir yolu	100	-
Dumlupınar Mah.	50	-
Dumlupınar Mah.	90	-
Ziraat Fakültesi	200	-
Ziraat Fakültesi	200	-
Ziraat Fakültesi	200	-
Ziraat Fakültesi	120	<i>Steinernema spp.</i>
Ziraat Fakültesi	100	-
Ziraat Fakültesi	100	-
Sakarya Mah.	60	-
Dumlupınar Mah.	80	-
Dumlupınar Mah.	80	-
Ziraat Fakültesi	120	-
Ziraat Fakültesi	100	-
Sakarya Mah.	90	<i>Steinernema spp.</i>
Ziraat Fakültesi	150	-
Ziraat Fakültesi	200	-
Sakarya Mah.	80	-
Ziraat Fakültesi	150	-
Sakarya Mah.	60	-
Sakarya Mah.	60	-
Sakarya Mah.	70	-
Sakarya Mah.	40	-
Sakarya Mah.	40	-
Sakarya Mah.	20	-
Sakarya Mah.	20	-
Sakarya Mah.	50	-
Sakarya Mah.	80	-
Sakarya Mah.	80	-
Dumlupınar Mah.	60	-
Dumlupınar Mah.	60	-
Dumlupınar Mah.	60	-
Dumlupınar Mah.	40	-
Dumlupınar Mah.	40	-
Dumlupınar Mah.	50	-
Sakarya Mah.	100	-
Sakarya Mah.	120	-
Dumlupınar Mah.	50	-
Sakarya Mah.	60	-
Ziraat Fakültesi	100	-
Dumlupınar Mah.	90	-
Dumlupınar Mah.	50	-

Çizelge 1. (Devamı)

Dumlupınar Mah.	100	-
Ziraat Fakültesi	120	-
Dumlupınar Mah.	80	-
Sakarya Mah.	80	-
Dumlupınar Mah.	60	<i>Steinernema spp.</i>
Dumlupınar Mah.	40	-
Dumlupınar Mah.	80	-
Ziraat Fakültesi	120	-
Ziraat Fakültesi	100	-
Sakarya Mah.	90	<i>Steinernema spp.</i>
Ziraat Fakültesi	100	-
Ziraat Fakültesi	90	-
Sakarya Mah.	30	-
Ziraat Fakültesi	100	-
Sakarya Mah.	150	-
Sakarya Mah.	30	-
Sakarya Mah.	20	-
Dumlupınar Mah.	60	-
Dumlupınar Mah.	60	-
Dumlupınar Mah.	50	-
Dumlupınar Mah.	40	-
Zafer Mah.	150	-
Zafer Mah.	100	-
Zafer Mah.	200	-
Zafer Mah.	200	-
Zafer Mah.	150	-
Dumlupınar Mah.	100	-
Dumlupınar Mah.	100	-
Dumlupınar Mah.	100	-
Sakarya Mah.	20	-
Sakarya Mah.	50	-
Sakarya Mah.	50	-
İrfaniye yolu	100	-
İrfaniye yolu	150	-
İrfaniye	250	-
İrfaniye	250	-
Sakarya Mah.	20	-
Sakarya Mah.	40	-
Sakarya Mah.	40	-
Sakarya Mah.	40	-
Sakarya Mah.	60	-
Toplam:	7860 m ²	

Türkiye’de yakın tarihe kadar beş adet sürvey çalışması yapılmıştır. İlk olarak Özer ve ark.(1995) Karadeniz kıyı şeridinde *Steinernema feltiae* bulduklarını belirtmiştir.

Kepekçi ve ark. (1999) Aksaray İli Ekecik kışlağında kımıl (*Aelia rostrata*) popülasyonlarında *Heterorhabditis bacteriophora* saptanmıştır.

Susurluk ve ark. (2001) Ankara'daki doğal habitatlardan iki adet *Heterorhabditis bacteriophora* izolatu ve bir adet *S. feltiae* bulmuştur.

Kepenekçi (2002) Türkiye'nin güneyinde doğal habitattan *S.carpocapsae* ekstrakte etmiş ve teşhis etmiştir. Bu türün teşhisinde morfolojik karakterler kullanılmıştır.

En detaylı sürvey Hazır ve ark. (2003b) tarafından yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında 1080 toprak örneği toplamış ve 22 pozitif sonuca ulaşmıştır. İzole edilen nematodlar *H. bacteriophora*, *S.feltiae*, *S.affine* ve yeni bir *Steinernema* türüdür. Yeni tür Kars (Doğu Anadolu)'ta bulunan çim alandan ekstrakte edilmiş ve *Steinernema anatoliense* olarak tanımlanmıştır (Hazır ve ark 2003a). En çok bulunan tür 6 bölgedeki 10 mevkiden izole edilen *S. feltiae* olarak rapor edilmiştir. Diğer yandan, *H.bacteriophora* 5 bölgedeki 7 mevkiden elde edilirken, *S. affine* 2 bölgedeki 4 mevkiden izole edilmiştir.

Susurluk ve Toprak (2006) Ankara'dan PCR-RFLP tekniğine göre topladıkları 130 toprak örneğinde iki adet steinernematid ve bir adet heterorhabditid türü tespit etmiştir. Steinernema türleri *S. feltiae* ve *S. carpocapsae* olarak teşhis edilirken, Heterorhabditis türleri *H.bacteriophora* olarak teşhis edilmiştir. Ünlü ve ark. (2007) Ankara'da çapraz yetiştirme ve moleküler metot PCR-RFLP kullanarak *S. weiseri* izole etmiş ve teşhis etmiştir.

Bu çalışma da yapılmış olan mevcut sürvey çalışmalarına Bursa İli ve civarı olarak kayıtlara geçecek EPN türleri tespit edilmiştir.

Teşekkür

Bu çalışmada bize danışmanlık yapan ve bizi yönlendiren sayın hocamız Yrd. Doç. Dr. İ. Alper Susurluk'a sonsuz teşekkürlerimizi sunarız.

Kaynaklar

- Akhurst R.J. and R.A. Bedding. 1986. Natural occurrence of insect pathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in soil in Australia. J Austral Entomologi Soci 25:241-244
- Blackshaw R.P. 1988. A survey of insect parasitic nematodes in Northern Ireland. Ann Appl Biol 113:561-565.
- Boemare N.E., R.J. Akhurst, and R.G. Mourant. 1993. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae) symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. Int. J. System Bacteriol., 43: 249-255.
- Ehlers R.-U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. Biocontrol Sci Technol 6: 303-316.
- Elawad S.A., S.R. Gowen, and N.G. Hague. 1999. The life cycle of *Steinernema abbasi* and *S.riobrave* in *Galleria mellonella*. Nematol 1:762-764.

- Hazir S., N. Keskin, P. Stock and H. Kaya. 2003a. A new entomopathogenic nematode, *Steinernema anatoliense* n.sp. (Rhabditidae: Steinernematidae), from Turkey. System Parasitol 55:211-220.
- Hazir S., S.P. Stock and N. Keskin 2003b. Diversity and distribution of entomopathogenic nematodes (Rhabditia: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Turkey. Biodiver.Conserv. 12:375-386.
- Hominick W.M. and B.R. Brscoe. 1990. Survey of 15 sites over 28 months for entomopathogenic nematodes (Rhabdiia: Steinernematidae). Parasitol 100:289-294
- Kepenekci I. 2002. Entomopathogenic nematodes (Rhabditida) in the Mediterranean Region of Turkey.Nematologia Mediter. 30: 13-16.
- Kepenekci, İ., N.E. Babaroğlu, G. Öztürk, S. Halıcı. 1999. Türkiye için yeni bir entomopatojen nematod; *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar 1976, (Rhabditida: Heterorhabditidae). Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi 26-29 Ocak 1999, 587-596.
- Miduturi J.S., M. Moens, W.M. Hominick, B.R. Briscoe and A.P. Reid. 1996. Naturally occurring entomopathogenic nematodes in the province of West-Flanders,Belgium.J Helminthol 70:319-327.
- Mracek Z. 1980.The use of *Galleria* traps for obtainig nematode parasites of insects in Czechoslovakia(Lepidoptera:Nematoda, Steinernematidae).Acta entomologia bohemoslovoka 77:378-382.
- Mracek Z., D. Sturhan and A.P. Reid. 2003. *Steinernema weiseri* n.sp.(Rhabditida,Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Europa.Syst.Parasitol 56:37-47.
- Nguyen K.B. and G.C. Smart. 1990. *Steinernema scapterisci* n. sp.(Rhabditida:Steinernematidae). J Nematol 22:187-199.
- Ozer N., N. Keskin and Z. Kirbas. 1995. Occurence of entomopathogenic nematodes(Steinernematidae:Heterorhabditidae) in Turkey. Nematologi. 41:639-640.
- Susurluk A., I. Dix, E. Stackebrandt, O. Strauch, U. Wyss, and R.-U. Ehlers. 2001. Identification and ecological characterization of three entomopathogenic nematode-bacterium complexes from Turkey.Nematol 3:833-841.
- Susurluk I.A., and U. Toprak. 2006.Moleculer Identification of Three entomopathogenic Nematodes from Turkey by PRC-RFLP of the ITS Regions.Phytoparasit 34(1):17-20
- Ünlü I., R.-U. Ehlers and A. Susurluk. 2007. Additional data and first record of the entomopathogenic nematode *Steinernema weiseri* from Turkey.Nematol 9(5):739-741.