

## Orijinal araştırma (Original article)

# Entomopatojen fungus, *Purpureocillium lilacinum* TR1'in kök-ur nematodlarının (*Meloidogyne javanica*, *M. incognita* ve *M. arenaria*) mücadelesinde etkinliği<sup>1</sup>

Evaluation of entomopathogenic fungi, *Purpureocillium lilacinum* TR1 for the control of the Root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*, *M. incognita* and *M. arenaria*)

İlker KEPENEKÇİ<sup>2</sup>

Erçin OKSAL<sup>3\*</sup>

## Summary

Root-knot nematodes (RKNs) (Nematoda: Meloidogynidae) are one of the major pests of the vegetables causing losses in crop production by forming knots on the roots. RKNs are generally seen in the greenhouse vegetable production areas of the coastal regions of Turkey. Because of commercial nematicides are highly toxic to environment and human health, alternative control strategies are needed. One of effective and environmental friendly methods is using entomopathogen fungi (EPFs) against nematodes. In this study, a potential biological control agents, Turkish isolate of EPF, *Purpureocillium lilacinum* TR1 (syn: *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Luangsa-ard, Houbroken, Hywel-Jones & Samson) (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) was evaluated to control three species [*Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood and *M. javanica* (Treub) Chitwood] of RKNs. Experiments were conducted in plastic pots, 1000 J2s and 3000 eegs of RKNs were applied to 2 cm deep holes in the pots. The serial dilutions of *P. lilacinum* conidia were prepared  $10^6$ ,  $10^7$  and  $10^8$  cfu ml<sup>-1</sup> concentrations under haemocytometer. The two controls were pots with RKN eggs or J2s (positive control), and no RKNs (negative control). Bioassays were replicated (pots) five times for each treatment. Total number of egg masses for each plant, plant height, fresh and dry weight of the upper parts of plants and fresh and dry root weight were recorded. Numbers of nematodes were decreased by increasing the inoculum level of the entomopatogenic fungi.  $10^8$  cfu concentrations of *Purpureocillium lilacinum* TR1 were found more effective then other concentrations applied.

**Keywords:** Root-knot nematodes, *Purpureocillium lilacinum*, entomopathogen, biological control, vegetable

## Özet

Kök-ur nematod (KUN) (Nematoda: Meloidogynidae)'ları sebzelerin en önemli zararlılarından. Türkiye'de daha çok kıyı kesimlerinde seralarda yetiştirilen sebzelerde daha yoğun olarak görülmektedir. Ticari nematisitler çevre ve insan sağlığına yüksek oranda toksik olduklarından alternatif mücadele yöntemlerine ihtiyaç vardır. Bu yöntemler arasında en etkili ve çevre dostu olan entomopatojen fungus (EPF)'ların kullanımı önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada KUN [*Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood ve *M. javanica* (Treub) Chitwood]'lerin mücadelesinde *Purpureocillium lilacinum* TR1 (syn: *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Luangsa-ard, Houbroken, Hywel-Jones & Samson) (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae)'in Türk izolatının kullanım olanağı değerlendirilmiştir. Denemeler plastik saksılarda yürütülmüş, KUN'lerin 3000 yumurta ve 1000 L2 dönemleri toprağın 2 cm derinliğine uygulanmıştır. *P. lilacinum*, hemasiyometrede  $10^6$ ,  $10^7$  ve  $10^8$  cfu ml<sup>-1</sup> konsantrasyonda konidi sayımları yapılarak hazırlanmıştır. Pozitif kontrol KUN yumurtaları veya L2'leri içermekte, negatif kontrole nematod uygulanmamış sadece su verilmiştir. Denemeler her uygulama için 5 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Her bitkideki toplam yumurta sayısı, bitki uzunluğu, bitki üst kısımlarının kuru ve yaş ağırlığı ile kök yaş ve kuru ağırlığı kaydedilmiştir. Deneme sonuçlarına göre nematod sayısı inokulum yoğunluğunun artışına bağlı olarak azalmıştır. *Purpureocillium lilacinum* TR1'in  $10^8$  cfu konsantrasyonu diğer konsantrasyonlardan daha etkili bulunmuştur.

**Anahtar sözcükler:** Kök-ur nematodları, *Purpureocillium lilacinum*, entomopatojen, biyolojik kontrol, sebze

<sup>1</sup> Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen 111O784 no'lu proje sonuçlarının bir bölümüdür

<sup>2</sup> Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Tokat, Türkiye

<sup>3</sup> İnönü Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Malatya, Türkiye

\* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: oksalercin@gmail.com

Alınış (Received): 15.06.2015 Kabul ediliş (Accepted): 10.09.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 17.10.2015

## Giriş

Sebze ve meyve insan beslenmesinde çok önemli olan besinlerdir. Özellikle örtü altı yetiştiriciliğinde sebzelerin önemli zararlılarından biri köklerde urlar meydana getirerek ekonomik değerde ürün kayıplarına neden olan kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.) (Nematoda: Meloidogyidae) (KUN)'dır. Kök-ur nematodları geniş konukçu dizisine sahip çok önemli zararlılar arasında yer almakta olup sebzelerde %10'un üzerinde ürün kaybına neden olmaktadır (Sahebani & Hadavi, 2008; Sikora & Fernandez, 2005; Topp et al., 1998; Whitehead, 1998). Dünya genelinde kök-ur nematodlarının 4 türü, *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood ve *M. hapla* (Kofoid & White) Chitwood yaygın olarak bulunmaktadır (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

Türkiye'de bu güne kadar yapılan çalışmalar sonucunda çeşitli konukçularda 8 kök-ur nematodu türü tespit edilmiştir. Bunlar; *M. acrita*, *M. arenaria*, *M. artiellia*, *M. exigua*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. thamesi*'dir (Kepenekci, 2012). Elekcioglu & Uygun (1994), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde muz ve birçok sebzelerin köklerinde kök-ur nematod (*M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*)'larının yoğun olarak bulunduğunu önemli zararlar oluşturduğunu bildirmektedirler.

*Cylindrocarpon*, *Phoma*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Paecilomyces* ve *Pochonia* cinslerine ait funguslar bitki paraziti nematodların dişi ve yumurta paraziti olarak önemlidir ve bu funguslar toprak içerisinde bulunur (Siddiqui & Mahmood, 1995). Bu entomopatojen fungusların en önemli ve en iyi bilinen türleri *Pochonia* ve *Paecilomyces* cinsleri içinde yer alır. Bu fungus türleri içinde Sordariomycetes sınıfına ait toprak funguslarından olan *P. lilacinus* Luangsa-ard, Hywel-Jones, Houbraken & Samson (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) biyolojik mücadele etmenleri arasında yer alan en önemli fungus türü olup bitki paraziti nematodların biyolojik mücadelesinde kullanılan etmenlerdendir (Morgan-Jones et al., 1984; Jatala, 1986; Dube & Smart, 1987; Atkins et al., 2005; Khan et al., 2006). Entomopatojen fungus (EPF)'lar içinde, ürettiği sekonder ürünler ve enzimlerle etkili olan en önemli fungus *P. lilacinus* olup nematofagus (nematophagous) fungus olarak da bilinir (Park et al., 2004; Kiewnick et al., 2006).

Yapılan son çalışmalarla *Paecilomyces lilacinus*'un sistematik konumu değişmiş ve *Purpureocillium lilacinum* olmuştur (Luangsa-ard et al., 2011). *P. lilacinus* kök-ur ve kist nematodlarının önemli parazitidir (Cannayane & Sivakumar, 2001) ve önemli bir biyolojik mücadele etmenidir (Cabanillas & Barker, 1989; Oclarit & Cumagum, 2009; Hashem & Abo-Elyours, 2011; Udo et al., 2013). Khan et al. (2003) *P. lilacinus*'un ürettiği protease ve chitinase enzimleri sayesinde nematod yumurtalarına ve kütikulasına penetre olduğunu bildirmiştir. Cannayane & Sivakumar (2001) biyolojik mücadele etmeni olarak *P. lilacinus*'un kök-ur ve kist nematodlarına (özellikle patates kist nematodlarından *Globodera rostochiensis*) karşı başarılı sonuçların alındığı çok sayıda araştırmayı listelemiştir.

Türkiye'de nematodlara karşı ruhsat almış nematisitlerin büyük bir bölümü toksik olup KUN'lere karşı ruhsatlıdır. Bazı nematisitler nematodların mücadelesinde etkili olmasına rağmen, özellikle geniş spektrumlu bir etkiye sahip olduklarından yasaklanmış ya da kısıtlanmışlardır. Bu bağlamda alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi ve bitki paraziti nematodların kontrolü için, kimyasal mücadeleyi tamamlayıcı ve bütünleyici yöntemlerin uygulamaya konulması kaçınılmaz hale gelmiştir. Bu mücadele yöntemleri içerisinde; biyolojik mücadele yöntemleri kapsamında entomopatojenlerin kullanımı önemli bir yer tutmaktadır. Biyopreparatlar içerisinde kök-ur nematodlarına karşı entomopatojen fungusların (özellikle *P. lilacinus*'un farklı izolatları) kullanımı dünyada son derece yaygın ve etkilidir. Bu çalışmada Türkiye'de daha önce yürütülen çalışmalarda elde edilmiş (Kepenekci et al., 2009) ve tanımlanmış (Kepenekci et al., 2015) *Purpureocillium lilacinum* (syn: *Paecilomyces lilacinus*)'un Türkiye izolati'nin kök-ur nematodlarına karşı etkinliği ortaya konulmuştur.

## Materyal ve Yöntem

### Nematod kültürü ve üretimi

Kök-ur nematod (*Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica*)'larına ait yumurtalar ve larvalar (L2); serada yetiştirilen domates (*Solanum lycopersicum* L.) (Solanaceae) (SC-2121 çeşidi) bitkilerinin urlu köklerinden elde edilmiştir. Nematod kültürleri Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, Ankara (ZMMAE) Nematoloji laboratuvarında bulunmaktadır.

Urlu köklerden kök-ur nematodu yumurtalarının elde edilmesi için, kökler yıkanarak 1 cm boyunda kesilmiş ve %0.525 yoğunlukta NaOCl (sodyum hipoklorit) (çamaşır suyu) çözeltisi içinde 3-3.5 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra bu çözelti 200 ve 500 mesh'lik eleklerden geçirilerek 500 mesh'lik elek üzerinde kalan nematod yumurtaları toplanmıştır (Hussey & Barker, 1973). Bu yumurtaların bir kısmı denemelerde kullanmak amacıyla, mikroskop altında sayım yapılarak 1 ml içinde 3000 yumurta olması sağlanmıştır (3000 yumurta ml<sup>-1</sup>).

Daha sonra elde edilen nematod yumurtaları inkübasyona bırakılmış ve yumurtadan çıkan 2. dönem larvalar (L2) toplanmıştır. Mikroskop altında sayım yapılarak 1 ml içinde 1000 L2 olması sağlanmıştır (1000 L2 ml<sup>-1</sup>). Elde edilen larvalar aynı gün denemelerde kullanılmıştır.

### Fungus kültürü ve üretimi

Çalışmalarda kullanılan entomopatojen fungus, *P. lilacinum* TR1, ZMMAE kültür koleksiyonunda yer almakta olup, daha önce yürütülmüş olan "Burdur, Isparta ve Eskişehir illerindeki örtüaltı sebze yetiştiriciliğinde sorun olan Kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.)'nın fungal ve bakteriyel patojenlerinin belirlenmesi" projesi kapsamında domates bitkisindeki kök-ur nematodları'ndan izole edilmiş (Kepenekçi et al., 2009) ve tanımlanmıştır (Kepenekçi et al., 2015). Fungus izolatu, -85°C' de %15 lik gliserol altında saklanmaktadır. Fungus Richard sıvı ortamında (Riker & Riker, 1936) 15 gün süreyle geliştirilmiştir. Bu süre sonunda, ortamdaki fungus miselleri toplanarak ve destile su ile karıştırılarak 10 ml de 1 g misel olacak şekilde inokulum hazırlanmıştır.

*Purpureocillium lilacinum* TR1 üretimi için PDA (Difco™, Becton Dickinson and Company, USA) içeren petrilere kullanılmış ve bu petrilere stok kültürden öze yardımıyla fungus aşılantısı. Petrilere parafilm ile kapatılarak 12 saat ışık 12 saat karanlık içeren 25±1°C'ye ayarlı iklim dolabında 7-14 gün geliştirilmiştir. Sporulasyon olan petrilere bir miktar steril saf su eklenerek öze yardımıyla sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Misel ve agar parçalarını elemine etmek için süspansiyon tül kullanılarak süzümüştür. Spor süspansiyonuna %0.05 Tween-80 katılarak manyetik karıştırıcıda tamamen homojen olana kadar karıştırılmıştır (Wakil et al., 2012). 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup> ve 10<sup>8</sup> cfu ml<sup>-1</sup> spor konsantrasyonlarını elde etmek amacıyla Thoma lamında sayımlar yapılmış ve steril saf su kullanılarak süspansiyondan seri dilüsyonlar yapılmıştır. Ayrıca hemasitometrede konidi sayımları yapılmıştır. Elde edilen spor konsantrasyonları kullanılabilecek kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

### Sera-Saksı denemeleri

Sera-saksı denemelerinde; denemeler Ekim-Aralık 2012 [13.32-33.59 °C (22.02 ±4.14 °C) ve %23.40-77.10 (%36.34±9.25) orantılı nem]; Aralık 2012-Mayıs 2013 [16.7-39.6 °C (25.04±4.18 °C) ve %23.4-72.6 (%30.14±10.00 orantılı nem] ve Eylül-Kasım 2013 [12.93-38.77 °C (25.92±5.61 °C) ve %27.20-90.00 (%39.98±16.26 orantılı nem)] dönemlerinde 5 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Denemeler boyunca sera içi sıcaklık ve nem değerleri HOB0 (sıcaklık ve nem kaydedici) kullanılarak kaydedilmiştir.

Denemelerde 7×7cm (yaklaşık 340 ml veya 320 g toprak alan) ebatlarında içinde toprak kum karışımı (%80 kum, %15 toprak ve %5 kil) bulunan plastik saksılar kullanılmıştır. Hazırlanan toprak kum karışımı iki kere 121°C de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Toprak karışımları saksılara konulmadan önce alt kısımlarına köklerin dışarı çıkmasını ve toprağın dökülmesini önlemek amacıyla kağıt tela yerleştirilmiştir. 23°C (±2)'de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olarak ayarlanan iklim odasında viyoller [45 gözlü (9x5) (en:5 cm, derinlik:6 cm)]'de yetiştirilen domates fideleri (SC-2121 domates çeşidi), 2-4 yapraklı döneme gelince (yaklaşık 10 cm boyda), her saksıya bir fide olacak şekilde şaşırtılmıştır.

*Purpureocillium lilacinum* TR1 3 farklı konsantrasyonda, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup> ve 10<sup>8</sup> cfu (spor) ml<sup>-1</sup> uygulanmıştır (Oclarit et al., 2009). Fideler şaşırtıldıktan sonra fidelerinin kökleri etrafına açılan 2 cm derinliğinde olan deliğe pipet yardımıyla fungus süspansiyonları verilmiştir. Denemelerinde, *M. arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica* uygulamalarında; fidelerinin kökleri etrafına açılan 2 cm derinliğinde olan deliğe pipet yardımıyla 3000 yumurta ml<sup>-1</sup> veya 1000 L2 ml<sup>-1</sup> olacak şekilde farklı zamanlarda 2 farklı uygulama yapılmıştır. *P. lilacinum* süspansiyonları nematodlarla birlikte aynı anda uygulanmıştır. Tüm denemelerde pozitif (+)

kontrol (sadece nematod yumurtası veya larvasının uygulandığı) ve negatif (-) kontrol (sadece su uygulanan, herhangi bir nematod uygulaması yapılmayan) olmak üzere 2 kontrol grubu bulunmaktadır.

Uygulamalardan 9 hafta sonra bitkiler saksılardan toprakları ile birlikte çıkarılarak musluk suyu altında kök sisteminin topraktan tam arındırılması için yıkanmışlardır. Yıkama işleminden sonra kökler phloxine B ( $0.15 \text{ g L su}^{-1}$ ) ile 15-20 dakika boyanmış (Daykin & Hussey, 1985) ve büyüteç (8x, Klipsli Işıklı Büyüteç) altında yumurta paketleri sayılmıştır. Her bir bitkiye ait üst aksamının uzunluğu (bitki boyu) ölçülmüştür. Daha sonra hassas terazide kökler ve bitki üst aksamı tartılarak kaydedilmiştir. Aynı işlem  $70^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat kurutma (Mohammad et al., 2007) işlemi yapıldıktan sonra tekrarlanmıştır. Denemeler sonunda; her bir bitki kökündeki kök-ur nematodlarına ait yumurta paketi sayısı, bitkinin boyu (cm), bitkinin yaş ve kuru ağırlığı (g), kök yaş ve kuru ağırlığı (g) parametreleri istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere varyans analizi uygulanmıştır. Etkiler kontrol gruplarına kıyaslanarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki ayırım için Duncan testi kullanılmıştır (SPSS, 1999).

### Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Domates bitkilerinin köklerinde bulunan yumurta paketi sayıları değerlendirildiğinde; *P. lilacinum*'un yumurtaya etkisi açısından uygulamalarda en yüksek etkiler  $10^8$  cfu'de görülmüş, *M. arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica* için sırasıyla 3.8, 9.4 ve 4.6 yumurta paketi bitki<sup>-1</sup> olarak kaydedilmiştir. En düşük etkilere yani en fazla yumurta paketi sayısına sahip uygulamalar  $10^6$  cfu'de görülmüştür (*M. arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica* için sırasıyla 102.4, 92.8 ve 102.1 yumurta paketi bitki<sup>-1</sup>). Sadece nematod uygulanmış ve *P. lilacinum* uygulaması yapılmamış + kontrol gruplarında 91.6, 117.5 ve 104.2 yumurta paketi bitki<sup>-1</sup> sayılmıştır (F= 22.40; df: 12.51; P<0.05) (Çizelge 1). Larvaya etki denemelerinde  $10^8$  cfu uygulamaları değerlendirildiğinde en yüksek etki *M. javanica*'nın kullanıldığı denemelerde görülmüştür, bunu *M. incognita* ve *M. arenaria* izlemiştir (42.2, 45.4 ve 51.6 adet yumurta paketi bitki<sup>-1</sup>).  $10^6$  ve  $10^7$  cfu uygulamalarında yüksek sayıda yumurta paketi oluşumu dikkati çekmektedir (F= 33.47; df: 12.51; P<0.05) (Çizelge 1).

Bitki boyları açısından yapılan değerlendirmelerde, yumurtaya etki yönüyle, en yüksek boya sahip bitkiler *M. javanica* ve *M. incognita*'ya karşı  $10^8$  cfu uygulamalarında görülmüştür (46.7 ve 47.6 cm) (F= 3.65; df: 13.55; P<0.05) (Çizelge 1). Larvaya etki denemelerinde; *M. javanica* ve *M. incognita* 'ya karşı  $10^8$  cfu uygulamaları (46.4 ve 47.2 cm) hariç diğer tüm uygulamalar, sadece nematod uygulanan ve fungus uygulaması yapılmayan + kontrol gruplar (*M. arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica* için sırasıyla 44.5, 41.2 ve 44.4 cm)'ına ait bitkilerden daha kısa kalmıştır (F= 4.53; df: 13.55; P<0.05) (Çizelge 1).

Bitki üst aksam yaş ağırlığı açısından denemeler değerlendirildiğinde; yumurtaya etki bakımından en yüksek bitki ağırlığı *M. incognita*'nın  $10^6$  ve  $10^8$  cfu ile *M. arenaria*'nın  $10^7$  cfu uygulamalarının yapıldığı bitkilerde görülmüş (16.76, 16.65 ve 17.42 g) ve istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. Tüm uygulamalar + kontrol grupların (*M. arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica* için sırasıyla 13.75, 14.54 ve 13.10 g)'dan daha ağır bitkilere sahip bulunmuştur (F= 2.47; df: 13.55; P<0.05) (Çizelge 1). Larvaya etki denemelerinde istatistiki olarak fark bulunmamıştır (P>0.05).

Bitki üst aksam kuru ağırlığı değerlendirildiğinde, yumurtaya etki bakımından en yüksek etkiyi  $10^8$  cfu uygulamaları (*M. arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica* için 1.98, 1.96 ve 1.93 g) göstermiştir (F= 2.50; df: 13.55; P<0.05) (Çizelge 1). Larvaya etki denemelerinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (F= 2.54; df: 13.55; P<0.05) (Çizelge 1).

Bitki kök ağırlıkları değerlendirildiğinde; kök yaş ağırlığı açısından yumurtaya etki denemelerinde en yüksek bitki kök ağırlığına sahip bitkiler *M. arenaria*'nın  $10^6$  cfu uygulamalarında görülmüştür (16.74 g) (F= 2.61; df: 13.55; P<0.05) (Çizelge 1). Larvaya etki denemelerinde ise en yüksek bitki kök ağırlığına, istatistiki olarak aynı gruba giren *M. incognita* ve *M. arenaria*'nın  $10^8$  cfu uygulamalarının yapıldığı bitkiler sahiptir (15.54 ve 15.64 g). Fungus uygulamalarının tümü + kontrol gruplarından daha ağır bitki köklerine sahip bulunmuştur (F= 2.68; df: 13.55; P<0.05) (Çizelge 1).

Çizelge 1. Üç farklı kök-ur nematodu (*Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica*) türünün yumurtalarına (Y) ve 2. dönem larvalarına (L2) karşı *Purpureocillium lilacinum* TR1'in üç farklı konsantrasyonunun ( $10^6$ ,  $10^7$  ve  $10^8$  cfu ml<sup>-1</sup>) etkinliği (+ K: Sadece nematod uygulanan; - K: Sadece su uygulanan, nematod uygulanmamış)

Parametreler	Uygulamalar												- K	
	<i>Meloidogyne arenaria</i>				<i>M. incognita</i>				<i>M. javanica</i>					
	+ K	$10^6$ cfu	$10^7$ cfu	$10^8$ cfu	+ K	$10^6$ cfu	$10^7$ cfu	$10^8$ cfu	+ K	$10^6$ cfu	$10^7$ cfu	$10^8$ cfu		
Yumurta paketi sayısı	L2	109.4±23.7 <sup>cd</sup>	97.6±26.2 <sup>e</sup>	101.6±50.3 <sup>d</sup>	51.6±12.4 <sup>e</sup>	234.7±30.1 <sup>a</sup>	238.6±78.6 <sup>a</sup>	158.2±45.8 <sup>b</sup>	45.4±4.5 <sup>e</sup>	150.1±18.2 <sup>bc</sup>	143.4±42.4 <sup>bcd</sup>	104.3±24.2 <sup>d</sup>	42.2±1.7 <sup>e</sup>	-
	Y	91.6±24.9 <sup>abc</sup>	102.4±26.8 <sup>ab</sup>	89.7±22.3 <sup>abc</sup>	3.8±2.6 <sup>d</sup>	117.5±37.4 <sup>a</sup>	92.8±20.7 <sup>abc</sup>	75.6±47.5 <sup>bc</sup>	9.4±5.7 <sup>d</sup>	104.2±11.5 <sup>ab</sup>	102.1±16.3 <sup>ab</sup>	68.8±34.5 <sup>c</sup>	4.6±4.2 <sup>d</sup>	-
Bitki boyu (cm)	L2	44.5±6.4 <sup>abcd</sup>	36.4±4.6 <sup>d</sup>	39.6±3.1 <sup>cde</sup>	36.2±3.7 <sup>d</sup>	41.2±5.6 <sup>bcde</sup>	39.8±7.4 <sup>cde</sup>	34.6±8.7 <sup>e</sup>	47.2±5.5 <sup>ab</sup>	44.4±2.6 <sup>abcd</sup>	37.1±6.5 <sup>de</sup>	39.2±4.5 <sup>cde</sup>	46.4±8.1 <sup>abc</sup>	50.3±3.8 <sup>a</sup>
	Y	42.7±12.2 <sup>abcd</sup>	38.8±4.1 <sup>cd</sup>	39.3±7.4 <sup>bcd</sup>	44.3±5.5 <sup>abcd</sup>	35.3±6.8 <sup>d</sup>	35.2±4.4 <sup>d</sup>	36.2±10.2 <sup>d</sup>	47.6±6.5 <sup>abc</sup>	34.6±5.6 <sup>d</sup>	34.4±4.4 <sup>d</sup>	38.9±3.3 <sup>cd</sup>	46.7±4.6 <sup>abc</sup>	50.5±6.4 <sup>a</sup>
Bitki üst aksam yaş ağırlığı (g)	L2	13.6±0.7 <sup>-</sup>	13.6±2.2 <sup>-</sup>	13±2.8 <sup>-</sup>	14.3±0.8 <sup>-</sup>	13.5±1.1 <sup>-</sup>	14.1±0.9 <sup>-</sup>	13.6±1.8 <sup>-</sup>	15±1.8 <sup>-</sup>	13.9±0.2 <sup>-</sup>	13.6±1 <sup>-</sup>	13.2±0.8 <sup>-</sup>	14.5±1.3 <sup>-</sup>	15.3±2 <sup>-</sup>
	Y	13.75±1.1 <sup>bcd</sup>	14.62±1.2 <sup>bc</sup>	17.42±1.3 <sup>a</sup>	14.95±1.4 <sup>abc</sup>	14.54±1.7 <sup>bc</sup>	16.76±2.2 <sup>a</sup>	15.44±2.5 <sup>abc</sup>	16.65±2.3 <sup>a</sup>	13.10±0.8 <sup>d</sup>	13.81±2.8 <sup>bcd</sup>	13.82±1.6 <sup>bcd</sup>	15.43±1.1 <sup>abc</sup>	15.92±1.2 <sup>ab</sup>
Bitki üst aksam kuru ağırlığı (g)	L2	1.74±0.2 <sup>abc</sup>	1.81±0.2 <sup>ab</sup>	1.81±0.4 <sup>ab</sup>	1.92±0.5 <sup>a</sup>	1.80±0.2 <sup>ab</sup>	1.79±0.2 <sup>ab</sup>	1.52±0.2 <sup>bc</sup>	1.94±0.6 <sup>a</sup>	1.73±0.3 <sup>abc</sup>	1.55±0.2 <sup>bc</sup>	1.72±0.4 <sup>abc</sup>	1.83±0.2 <sup>ab</sup>	1.86±0.2 <sup>ab</sup>
	Y	1.73±0.5 <sup>bc</sup>	1.52±0.4 <sup>cd</sup>	1.83±0.1 <sup>abc</sup>	1.98±0.2 <sup>ab</sup>	1.52±0.1 <sup>cd</sup>	1.66±0.2 <sup>bcd</sup>	1.78±0.3 <sup>bc</sup>	1.96±0.4 <sup>ab</sup>	1.82±0.4 <sup>abc</sup>	1.22±0.3 <sup>d</sup>	1.57±0.4 <sup>cd</sup>	1.93±0.4 <sup>ab</sup>	2.24±0.3 <sup>a</sup>
Kök yaş ağırlığı (g)	L2	12.94±2.5 <sup>d</sup>	13.92±0.7 <sup>d</sup>	14.22±1.2 <sup>cd</sup>	15.64±0.8 <sup>ab</sup>	13.84±1.4 <sup>d</sup>	14.31±0.6 <sup>cd</sup>	14.22±0.7 <sup>cd</sup>	15.54±0.4 <sup>ab</sup>	13.32±0.6 <sup>d</sup>	13.75±0.5 <sup>d</sup>	14.22±0.2 <sup>cd</sup>	14.35±0.5 <sup>cd</sup>	15.95±1.2 <sup>a</sup>
	Y	14.54±0.8 <sup>bcd</sup>	16.74±1.5 <sup>a</sup>	15.52±1.1 <sup>abc</sup>	14.16±1 <sup>cd</sup>	14.47±0.1 <sup>cd</sup>	13.68±1.3 <sup>d</sup>	14.04±1.3 <sup>cd</sup>	14.65±0.6 <sup>bcd</sup>	14.66±0.3 <sup>bcd</sup>	14.28±1.6 <sup>cd</sup>	13.68±1.4 <sup>d</sup>	14.66±0.8 <sup>bcd</sup>	16.26±0.7 <sup>ab</sup>
Kök kuru ağırlığı (g)	L2	1.55±0.4 <sup>bcd</sup>	1.54±0.6 <sup>bcd</sup>	1.24±0.2 <sup>cd</sup>	1.56±0.2 <sup>bcd</sup>	1.76±0.3 <sup>bc</sup>	1.54±0.4 <sup>bcd</sup>	1.88±0.4 <sup>abc</sup>	1.92±0.3 <sup>ab</sup>	1.85±0.2 <sup>abc</sup>	1.84±0.4 <sup>abc</sup>	1.76±0.1 <sup>bc</sup>	2.11±0.5 <sup>a</sup>	2.24±0.2 <sup>a</sup>
	Y	1.96±0.5 <sup>ab</sup>	1.14±0.2 <sup>d</sup>	1.77±0.2 <sup>bc</sup>	1.88±0.5 <sup>abc</sup>	1.65±0.6 <sup>bcd</sup>	1.66±0.3 <sup>bcd</sup>	1.78±0.1 <sup>bc</sup>	1.75±0.2 <sup>bc</sup>	1.67±0.5 <sup>bcd</sup>	1.55±0.1 <sup>bcd</sup>	1.22±0.4 <sup>cd</sup>	1.90±0.2 <sup>ab</sup>	2.14±0.3 <sup>a</sup>

\* Her satır içerisinde farklı harfler önemli derecede farklıdır (P<0.05).

Kök kuru ağırlık açısından; yumurtaya etki denemelerinde en yüksek kuru kök ağırlıkları istatistik olarak aynı grubu giren *M. javanica* ve *M. arenaria*'nın  $10^8$  cfu uygulamalarında bulunmuştur (1.90 ve 1.88 g). ( $F= 2.76$ ;  $df: 13.55$ ;  $P<0.05$ ) (Çizelge 1). Larvaya etki denemelerinde ise en ağır bitki kökleri *M. incognita*'nın  $10^8$  cfu uygulamalarında ortaya konmuş ve bunu *M. javanica*'nın  $10^8$  cfu uygulamaları takip etmiştir (1.92 ve 2.11 g) ( $F= 2.16$ ;  $df: 13.55$ ;  $P<0.05$ ) (Çizelge 1).

İlk olarak; Peru'da *M. incognita* yumurtalarında tespit edilen *P. lilacinus* son yıllarda üzerinde yoğun olarak çalışılan biyolojik mücadele ajanlarının başında gelmektedir. Bu fungus, *M. incognita* yumurtalarının fakültatif bir parazitidir ve diğer kök-ur nematodu türlerini de parazitleyebilmektedir. *P. lilacinus* izolatları *M. incognita* yumurtalarına bulaşıp yumurtadan larva çıkışını azaltmaktadır (Whitehead, 1998). Fungus tarafından, yumurta kabuğunu parçalayıcı enzimlerin üretilmesi ile kök-ur nematodu yumurtaları üzerinde enfeksiyon meydana gelmektedir. Fungusun salgıladığı serine proteaz enzimleri, nematodun yumurta kabuğunda yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Kök-ur nematodu yumurtalarının *P. lilacinus*'un kitinaz enzimine maruz bırakılması sonucu yumurtadan larva çıkışında %60 azalma tespit edilmiştir ve sadece su uygulanmış kontrollerde ise larvaların yumurtadan çıkışında artış gözlenmiş olup çıkan larvaların sadece %9'u ölmüştür (Khan et al., 2005). Ahmad & Khan (2004)'nin yaptığı çalışmalarda; *P. lilacinus*'un toprağa uygulanması ile domates köklerindeki *M. incognita* popülasyonu %67-77 oranında, köklerde meydana gelen ırlar ise %30 oranında azalırken ikinci yılda elde edilen ürün üç misli artmıştır. Bu fungus, dikimden 10 gün önce ve dikim sırasında toprağa uygulandığında, domates bitkileri nematod saldırısından en iyi şekilde korunmaktadır. Ayrıca dikimden 40 gün sonra fungus toprağa uygulandığında birçok nematod yumurtası fungus tarafından enfekte edilmiştir. *P. lilacinus*'un en iyi izolatu "Biocon" ticari ismi ile Filipin'lerde pazarlanmıştır (Davide, 1990). *P. lilacinus* strain 251 etkili bir biyolojik mücadele etmeni olarak çok sayıda çalışma yapılmış ve etkili sonuçlar alınmıştır. Bu fungus preparat haline getirilmiş ve nematod mücadelesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Atkins et al., 2005; Kiewnick, 2004). Sharma et al. (2014) *P. lilacinus* 6029 izolatının nematolojik aktivitesi üzerinde çalışmışlar ve *M. incognita* üzerinde yaptıkları çalışmada yüksek etki bulmuşlardır (%98.2 ve %100). Bizim yaptığımız çalışmada da ülkemiz izolatu olan *P. lilacinum* TR1 tüm denemelerde etkili bulunmuştur. Denemeler sonucunda domates bitkilerinin köklerinde bulunan yumurta paketi sayıları değerlendirildiğinde; yumurta inokulasyonunda en yüksek etki  $10^8$  konsantrasyonunda görülmüştür. L2'lerinin kullanıldığı denemelerde de benzer sonuçlar alınmasına karşın domates köklerinde daha fazla yumurta paketi oluşumu dikkati çekmektedir. Diğer bitki parametreleri açısından da özellikle  $10^8$  uygulamalarının etkili olduğu görülmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından 111O784 nolu proje ile desteklenmiştir. Bu desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

## Yararlanılan Kaynaklar

- Ahmad, S. F. & T. A. Khan, 2004. Management of root knot nematode *Meloidogyne incognita*, by integration of *Paecilomyces lilacinus* with organic materials in Chili. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 37: 35-40.
- Atkins, S. D., I. M. Clark, Pande, S., Hirsch P. R. & B. R. Kerry, 2005. The use of real-time PCR and species-specific primers for the identification and monitoring of *Paecilomyces lilacinus*. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology, 51: 257-264.
- Cabanillas, E. & K. R. Barker, 1989. Impact of *Paecilomyces lilacinus* inoculum level and application time on control of *Meloidogyne incognita* on tomato. Journal of Nematology, 21: 115-120.
- Cannayane, I. & C. V. Sivakumar, 2001. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* (strain PL-nilgiris) against *Meloidogyne incognita* in Chili (*Capsicum annum* L.). Indian Journal of Agricultural Research, 40: 76-78.
- Davide, R. G., 1990. "Biological control of nematodes using *Paecilomyces lilacinus* in the Philippines, 156-163". In: Integrated Pest Management for Tropical Root and Tuber Crops: Proceedings of the Global Status of and

- Prospects for Integrated Pest Management of Root and Tuber Crops in the Tropics (25-30 October 1987, Nigeria), International Institute of Tropical Agriculture, 235 pp.
- Daykin, M. E. & R. S. Hussey, 1985. "Staining and histopathological techniques in nematology, 39-48". In: An advanced treatise on *Meloidogyne* Volume II: Methodology (Eds: K. R. Barker, C. C. Carter & J. N. Sasser). North Carolina State University Graphics, North Carolina, USA, 223 pp.
- Dube, B. & G. C. Smart, 1987. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans*. *Journal of Nematology*, 19: 222–227.
- Eisenback, J. D. & H. H. Triantaphyllou, 1991. "Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races, 281–286". In: *Manual of Agricultural Nematology* (Ed: W. R. Nickle). Marcel Dekker, New York, USA, 1064 pp.
- Elekcioglu, İ. H. & N. Uygun, 1994. "Occurrence And Distribution Of Plant Parasitic Nematodes In Cash Crops In Eastern Mediterranean Region Of Türkiye, 409-410", Proceedings of 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union (18-24 Eylül 1994, Aydın, Türkiye), Turkish Phytopathological Society, 567 pp.
- Hashem, M. & K. A. Abo-Elyousr, 2011. Management of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with combination of different biocontrol organisms. *Crop Protection*, 30: 285-292.
- Hussey, R. S. & K. R. Barker, 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57: 1025-1028.
- Jatala, P., 1986. Biological control of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 24: 453-489.
- Kepenekci, İ., E. Evlice, A. Aşkın, M. Özakman & B. Tunalı, 2009. Burdur, Isparta ve Eskişehir illerindeki örtüaltı sebze yetiştiriciliğinde sorun olan kök-ur nematotları (*Meloidogyne* spp.)'nın fungal ve bakteriyel patojenlerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 49: 21-30.
- Kepenekci, İ., 2012. Nematoloji (Bitki Paraziti ve Entomopatojen Nematotlar) [Genel Nematoloji (Cilt-I), Taksonomik Nematoloji (Cilt-II)]. Eğitim, Yayın ve Yayınlar Dairesi Başkanlığı, Tarım Bilim Serisi Yayın No:3, LIV+1155 s.
- Kepenekci, İ., E. Oksal, H. D. Sağlam, T. Atay, A. Tülek & E. Evlice, 2015. Identification of Turkish isolate of entomopathogenic fungi, *Purpureocillium lilacinum* (syn: *Paecilomyces lilacinus*) and its effect on potato pests, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) and *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 25: 121-127.
- Khan, A., K. L. Williams & H. K. M. Nevalainen, 2003. Testing the nematophagous biological control strain *Paecilomyces lilacinus* 251 for paecilotoxin production. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters*, 227: 107-111.
- Khan, A., K. L. Williams & H. K. M. Nevalainen, 2006. Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *Biocontrol*, 51: 659-678.
- Khan, M. R., S. M. Khan & F. Mohide, 2005. Root-knot nematode problem of some winter ornamental plants and its biomanagement. *Journal of Nematology*, 37: 198-206.
- Kiewnick, S., 2004. "Biological control of plant parasitic nematodes with *Paecilomyces lilacinus*, strain 251, 133-143". In: *Multitrophic Interactions in Soil*. International Organisation for Biological and Integrated Control /West Palearctic Regional Section Bulletin, 302 pp.
- Kiewnick, S. & R. A. Sikora, 2006. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biological Control*, 38: 179-187.
- Luangsa-Ard, J., J. Houbraken, T. van Doorn, S-B. Hong, A. M. Borman, N. L. Hywel-Jones & R. A. Samson, 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *Federation of European Microbiological Societies Microbiol Letters*, 321: 141-149.
- Mohammad, A. B., Z. Eskandar, S. Saeid, J. Mohammad & M. Fariba, 2007. Evaluation of sulfosulfuran for broadleaved and grass weed control in wheat (L.) in Iran. *Crop Protection*, 26: 1385-1389.
- Morgan-Jones, G., J. F. White & R. Rodriguez-Kabana, 1984. Phytonematode pathology: ultrastructural studies II. Parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs and larvae by *Paecilomyces lilacinus*. *Nematropica*, 14: 57–71.
- Oclarit, E. L., C. Joseph & R. Cumagun, 2009. Evaluation of efficacy of *Paecilomyces lilacinus* as biological control agent of *Meloidogyne incognita* attacking tomato. *Journal of Plant Protection Research*, 49: 337-340.

- Park, J. O., J. R. Hargreaves, E. J. McConville, G. R. Stirling, E. L. Ghisalberti & K. Sivasithamparam, 2004. Production of leucinostatins and nematicidal activity of Australian isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. *Letters in Applied Microbiology*, 38: 271-276.
- Riker, A. S. & R. S. Riker, 1936. Introduction of research of plant diseases. John S. Swift, St, St. Louis, 117 pp.
- Sharma, A., S. Sharma & M. Dalela, 2014. Nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* 6029 cultured on Karanja cake medium. *Microbial Pathogenesis*, 75: 16-20.
- Siddiqui, Z. A. & I. Mahmood, 1995. Role of plant symbionts in nematode management, a review. *Bioresource Technology*, 54: 217-226.
- Sikora, R. A. & E. Fernandez, 2005. "Nematode Parasites of Vegetables, 319-392". In: *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture* (Eds: M. Luc, R. A. Sikora & J. Bridge) 2.nd Edition, CABI Wallingford, UK, 492 pp.
- Topp, E., S. Millar, H. Bork & M. Welsh, 1998. Effects of marigold (*Tagetes* sp.) roots on soil microorganisms. *Biology and Fertility of Soils*, 27: 149-154.
- Sahebani, N. & N. Hadavi, 2008. Biological control of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 2016-2020.
- SPSS, 1999. SPSS for Windows, release 10.0.1. Chicago, IL, USA: SPSS.
- Udo, I. A., M. I. Uguru & R. O. Ogbuji, 2013. Pathogenicity of *Meloidogyne incognita* race 1 on tomatoes as influenced by different arbuscular mycorrhizal fungi and bioformulated *Paecilomyces lilacinus* in a Dyseric cambisol soil. *Journal of Plant Protection Research*, 53: 71-78.
- Wakil, W., M. U. Ghazanfar, Y. J. Kwon, E. Ullah, S. Islam & K. Ali, 2012. Testing *Paecilomyces lilacinus*, diatomaceous earth and *Azadirachta indica* alone and in combination against cotton aphid (*Aphis gossypii* Glover) (Insecta: Homoptera: Aphididae). *African Journal of Biotechnology*, 11: 821-828.
- Whitehead, A. G., 1998. *Plant Nematode Control*. CAB. International, New York, USA, 209-236 pp.