

***Azadirachta indica* A. Juss ekstraktlarının Patates böceği
[*Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae)]
gelişimine etkisi¹**

Pervin ERDOĞAN²

Seval TOROS³

SUMMARY

The effects of *Azadirachta indica* A. Juss. extracts on development on larvae of Colorado Potato Beetle [*Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.:Chrysomelidae)]

The effects of Neem Azal T/S and Neemix preparations obtained from *Azadirachta indica* A. Juss. were investigated on development larvae of *Leptinotarsa decemlineata* Say.

A. indica preparations were tested to be alternative to chemical insecticide to control *L. decemlineata*. Bioassays to determine the effect of varying concentrations of extracts were used in three different methods. Third instar larvae of about 30-35 mg weight were used for leaf dipping, larvae dipping and topical application. For all experiments 2.2 cm in diameter leaf disks obtained from potatoes grown in the glasshouse were used. For three bioassays four different concentrations were used, for Neem Azal T/S 15, 25, 50, 100 ppm and Neemix 10, 15, 30, 60 ppm. All of experiments were repeated six times.

The results were determined at larvae stage that duration of larvae and pupae periods have been prolonged for all the methods, high mortality at larvae and pupae stages have been obtained, malformed individuals came out, number of individuals from pupae were decreased and the number of eggs laid by the healthy females of the treated pupae decreased.

Key Words: *Leptinotarsa decemlineata*, larvae, pupa, growth effect, fecundity, Neem Azal T/S, Neemix

¹ Bu çalışma A.Ü.Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde 17.01.2002 tarihinde kabul edilen “Bazı Bitki Ekstraktlarının Patates böceği [*Leptinotarsa decemlineata* Say (Col: Chrysomelidae)]’ne Etkileri Üzerinde Araştırmalar” adlı Doktora tezinin bir bölümüdür.

² Zirai Mücadele Merkez araştırma Enstitüsü P.K.49. 06172 Yenimahalle ANKARA

³ A.Ü. Ziraat Fakültesi, Bitki koruma bölümü, 06110 Kalaba ANKARA

İletişim adresi: pervin_erdogan@hotmail.com

Yazının Yayın Kuruluna Geliş Tarihi (Received): 06.04.2010

ÖZET

Azadirachta indica A. Juss bitkisinden elde edilmiş Neem Azal T/S ve Neemix preparatlarının Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say) larvalarının gelişimine etkileri araştırılmıştır.

A indica preparatlarının etkisini belirlemek için üç farklı yöntem kullanılmıştır. Yaprak daldırma, bireyi daldırma ve topikal aplikasyon yöntemleri 30-35 mg ağırlığındaki üçüncü dönem larvalara uygulanmıştır. Bütün denemelerde 2.2cm çapında serada yetiştirilen patates yapraklarından kesilen diskler kullanılmıştır. Her üç yöntem için, Neem Azal T/S, 15, 25, 50, 100 ppm dozlarında ve Neemix 10, 15, 30 ve 60 ppm dozlarında olmak üzere dört farklı dozda kullanılmıştır. Bütün denemeler 6 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Araştırma sonucunda, larva döneminde uygulanan tüm yöntemlerde preparatların doz artışına bağlı olarak, larva ve pupa dönemi süresini uzattığı, larva ve pupa dönemlerinde yüksek oranda ölüme neden olduğu, anormal görünümlü bireylerin meydana geldiği, pupadan çıkan ergin sayısının azaldığı ve pupadan çıkan sağlıklı dişilerin daha az yumurta bıraktığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Leptinotarsa decemlineata*, Larva, Pupa, Gelişime etki, Fekundite, Neem Azal T/S, Neemix

GİRİŞ

Ülkemizde geniş ekiliş alanına sahip olan patates ülke ekonomisinde önemli bir yere sahiptir. Son verilere göre, ekiliş alanı 198.000 ha, üretimi ise 4.196.522 tondur (Anonim 2006).

Patates üretimini olumsuz yönde etkileyen en önemli zararlılarından biri Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say) (Col: Chrysomelidae)'dir (Atak 1973).

Ülkemizde Patates böceği mücadelesinde yoğun olarak kimyasal ilaçlar kullanılmaktadır. Hatalı ve bilinçsizce yapılan uygulamalar zararlıda direnç oluşturmakta, üründe kalıntı bırakmakta, çevre, insan sağlığı ve doğal denge yönünden risk teşkil etmektedir. Son yıllarda kimyasal pestisitlere alternatif oluşturmak amacıyla bazı bitki ekstraktlarının zararlıların mücadelesinde kullanımı önem kazanmıştır. Bitkilerden elde edilen ve spesifik olan bitkisel pestisitler, toksik madde yaymamakta, kısa zamanda dekompoze olarak çevre kirliliğine yol açmamakta ve üründe kalıntı oluşturmamaktadır (Anonim 2009). Bu konuda üzerinde en çok çalışma yapılan bitkilerden biri *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)'dir. Bu bitkiden elde edilen melianone, melianol, 14-epoxyazadiradione, azadiradone, azadirone, gedunin ve meliantriol gibi maddelerin böcekler üzerine beslenme engelleyici, metamorfoza, beslenme düzenleyici, yumurtlamayı engelleyici, uzaklaştırıcı, üremede ve yağ tutmada azalma gibi birçok etkileri vardır (Schmutterer 1990). Günümüzde neem ağacından elde edilen ve farklı oranlarda azadirachtin içeren ticari preparatları bulunmaktadır.

Neem ekstraktı ile birçok böcek türü üzerinde çalışma yapılmıştır. Hindistan'da yapılan ilk ayrıntılı çalışma ile neem yaprak ekstraktının Çöl çekirgesi (*Schistocerca gregaria* F. (Ort.: Acrididae) üzerinde güçlü bir beslenme engelleyici etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Chopra 1928). Patates böceği'nde azadirachtin maddesinin beslenmeyi engellediği ve yumurta verimini azalttığı belirlenmiştir (Schmutterer 1981). ABD 'de yapılan bir araştırmada Neem Azal F (% 5 azadirachtin) preparatının Patates böceği larvalarında %82, erginlerinde ise %91 oranlarında etkili olduğu açıklanmıştır (Baumgart et al. 1996).

Ülkemiz'de *A.indica* preparatlarının bazı zararlılara etkisi laboratuvar koşullarında araştırılmış olup, *Liriomyza trifolii* B. (Dip.: Agromyzidae)'de yaşam süresinin % 50 oranında kısaldığı, *Ceratitis capitata* W. (Dip.: Tephritidae)'da çiftleşme olgunluğuna erişmede % 50 oranında azalma olduğu, uçma yeteneğinin % 78.8 oranında azaldığı ve dişilerin erkek bireylerin salgıladığı feromona normal tepki gösteremediği dolayısıyla çiftleşme oranının düştüğü belirlenmiştir (Erkılıç ve ark. 1986). Ayrıca *A. indica* preparatlarının *Spodoptera littoralis* B. (Lep.: Noctuidae)'e uygulanması ile zararlının larva dönemi ağırlığını azalttığı, larva dönemi süresini uzattığı ve larval ölüme neden olduğu, larva-pupa arası bireylerin oluştuğu, meydana gelen ergin dişilerin daha az yumurta bıraktığı tespit edilmiştir (Ferizli 1997).

Bu araştırma, Neem Azal T/S ve Neemix preparatlarının Patates böceği gelişimine etkisini belirlemek için ele alınmıştır.

Çalışma 1998-2001 yıllarında Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü laboratuvarında yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın ana materyalini Patates böceği, Neem Azal T/S ve Neemix preparatları, patates bitkisi, laboratuvar malzemeleri, steril kum ve toprak oluşturmuştur.

Neem Azal T/S ekstraktı %1 oranında azadirachtin içeren EC formülasyonlu bir preparattır. Verim İnşaat Turizm A.Ş.'den alınmıştır.

Neemix %0.25 oranında azadirachtin içeren EC formülasyonlu bir preparattır. ABD Ohio Eyalet Üniversitesi'nden temin edilmiştir.

Patates böceği'nin yetiştirilmesi

Patates böceği'nin stok kültürü Wardojo (1969)'nun uyguladığı yetiştirme yönteminden yararlanılarak elde edilmiştir. Bunun için pupadan yeni çıkmış Patates böceği erginleri, kaplara yerleştirilmiş ve besin günlük olarak değiştirilmiştir. Günlük olarak alınan yumurtalar petri kaplarına konulmuştur. Yumurtadan çıkan larvalar petri kaplarına alınmış ve olgunlaşan larvalar, pupa olmaları için plastik küvetlere alınmıştır.

Patates böceği 25±1° C sıcaklık, %65±5 orantılı nem ve 18 saat gün uzunluğuna ayarlı iklim odasında yetiştirilmiş ve denemeler aynı koşullarda yapılmıştır.

***Azadirachta indica* A. Juss. preparatlarının Patates böceği gelişimine etkisi**

Her iki preparatın larva dönemine etkisini belirlemek için yaprak daldırma, bireyi daldırma ve topikal aplikasyon olmak üzere üç farklı yöntem uygulanmıştır. Denemelerde ağırlıkları 30-35mg (3.dönem) arasında olduğu belirlenen larvalar kullanılmıştır. Larvalar deneme öncesi tek tek deneme kaplarına alınmış ve 1 saat süre ile aç bırakılmıştır. Neem Azal T/S'nin, 15, 25, 50, 100 ppm dozları ve Neemix'in 10, 15, 30 ve 60 ppm dozları saf su ile hazırlanmış ve yayıcı yapıştırıcı olarak %0.1 oranında Tritonx-100-kullanılmıştır. Kontrol olarak % 0.1 oranında Tritonx-100 içeren saf su kullanılmıştır.

Deneme süresince yapılan bütün yöntemlerde larva dönemi süresi, larva dönemi ölüm oranı, pupa dönemi süresi, pupa dönemi ölüm oranı ve elde edilen erginlerde erkek-dişi oranına ait etki kategorileri için gerekli veriler alınmıştır. Ayrıca elde edilen ergin bireylerde yumurta verimi tespit edilmiştir. Bu amaçla, uygulama yapılan larvalardan meydana gelen sağlıklı dişi bireyler, her kaba birer adet olmak üzere yerleştirilmiştir. Bu kaplara ikişer adet erkek birey ilave edilmiştir. Deneme 4 tekrarlı olarak kurulmuş ve iki ay süre ile günlük gözlemler sürdürülmüş, bırakılan yumurtalar kaydedilmiş ve uzaklaştırılmıştır.

Yaprak daldırma

Patates yapraklarından kesilen 2.2 cm çapındaki diskler, ekstraktlardan hazırlanan dozlara 3-5 sn. süre ile daldırıldıktan sonra 30 dk. kuruması için bekletilmiştir. Her bir kaba 10 adet disk ve 10 adet larva olacak şekilde, içerisinde nemlendirilmiş filtre kağıdı bulunan kaplara yerleştirilmiştir. 24 saat sonra larvalara tekrar ekstrakt uygulanmış besin verilmiş ve larvaların 48 saat süre ile ekstrakt uygulanmış besinle beslenmesine müsaade edilmiştir. Bu süre sonunda larvalar ekstrakt uygulanmamış besin verilmiştir (Priyono and Hassan 1993).

Bireyi daldırma

Larvalar, hazırlanan dozlara ve kontrol olarak hazırlanan % 0.1 oranında Tritonx-100 içeren suya 1-3 sn. süre ile daldırılmış ve yumuşak pens yardımıyla içerisinde ekstrakt uygulanmamış besin bulunan kaplara, her bir kaba 10 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir (Oroumchi and Lorra 1993).

Topikal aplikasyon

Topikal aplikasyon Kaethner (1992)'in yönteminden yararlanılarak yürütülmüştür. Ekstraktlardan hazırlanan dozlardan larva başına 0.5 µl, 1µl ve 2µl mikroaplikatör ile larvanın thoraks dorsaline verilmiş ve uygulama yapılan larvalar her kaba 10 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir.

Her üç yöntemde de denemeler 6 tekerrürlü olarak yürütülmüş olup, olgunlaşan larvalar pupa olmaları için kaplara alınmıştır. Denemeler ergin çıkışları

tamamlanincaya kadar günlük olarak izlenmiş ve besin olarak her gün 10 adet yaprak diski konulmuştur.

Değerlendirme Yöntemleri

Larva dönemi süresi, deneme başlangıcında larvanın bulunduğu dönemden (üçüncü dönem) pupa oluncaya kadar geçen süre olarak,

Larva dönemi ölüm oranı, deneme başlangıcındaki larva sayısı ile larva dönemi sonunda yaşayan birey farkının başlangıç sayısına oranı ile,

Pupa dönemi süresi, pupa oluştan ergin oluncaya kadar geçen süre olarak,

Pupa dönemi ölüm oranı, pupa olan birey sayısı ile pupa dönemi sonunda çıkan ergin birey farkının başlangıç sayısına oranı ile,

Elde edilen bireylerde erkek-dişi oranı, erkek-dişi ayırımı yapıldıktan sonra erkek bireylerin dişi bireylere oranlanmasıyla elde edilmiştir.

İstatistiki analizler Minitab paket programında varyans analizi (Anova) ile yapılmıştır. Farklı bulunanlara Mstat paket programında “Duncan Testi” uygulanmıştır.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Neem Azal T/S ve Neemix’in farklı dozlarına daldırılmış besinle beslenen, farklı dozlarına daldırılan ve topikal aplikasyon yapılan *L. decemlineata* larvalarından elde edilen değerler Çizelge 1, 2 ve 3’te verilmiştir.

Larva dönemi süresi ve ölüm oranı

Yaprak daldırma

Neem Azal T/S uygulamasında; Çizelge 1’de görüldüğü gibi en kısa larva dönemi süresi kontrolde, en uzun ise 100 ppm dozda elde edilmiştir. Doz artışı ile birlikte larva dönemi süresinde uzama meydana gelmiştir. İstatistiki analizler sonucunda preparatın 100 ppm dozu, kontrol ve diğer dozlardan farklı grupta yer almıştır.

Larva dönemi ölüm oranı en düşük kontrolde saptanmış olup, doz yükseldikçe ölüm oranı artış göstermiş ve en yüksek ölüm oranı 100 ppm dozda belirlenmiştir. İstatistiki analizlere göre uygulanan tüm dozlar aynı grupta yer alırken, kontrol farklı grupta yer almıştır.

Neemix uygulamasında; larva dönemi en kısa sürede kontrolde tamamlanmış olup, en uzun süre 30 ppm dozunda tespit edilmiştir. İstatistiki analizlere göre bütün dozlar aynı grupta, kontrol ise farklı grupta yer almıştır (Çizelge 1).

En düşük larva ölüm oranı kontrolde elde edilmiş olup, doz artışıyla ölüm oranı da yükselmiştir. İstatistiki olarak kontrol tüm dozlardan farklı 10 ile 1 ve 30 ile 60 ppm dozları birbirinden farksız bulunmuştur.

Çizelge 1. Neem Azal T/S ve Neemix'in farklı dozlarına daldırılmış besinle beslenen *Leptinotarsa decemlineata* Say larvalarında belirlenen değerler (*)

<i>A. indica</i> preparatları	Dozlar (ppm)	Larva dönemi süresi (gün)	Larva dönemi ölüm oranı (%)	Pupa dönemi Süresi (gün)	Pupa dönemi ölüm oranı (%)	Yumurta sayısı (adet)
Neem Azal T/S	Kontrol	4.24±0.161 (3-7)	1.67±0.068 e (0-10)	9.43±0.178c (7-12)	3.34±0.086 (0-10)	1355.00±52.99a (818-1598)
	15	7.66±0.667c (7-9)	40.00±0.447d (20-50)	12.54±0.114bc (6-24)	11.67±0.307 (0-20)	899.00±24.98ab (810-1040)
	25	8.76±0.610b (5-20)	58.34±0.401c (50-70)	11.43±0.619bc (7-16)	8.34±0.167 (0-10)	703.00±90.39b (444-1236)
	50	8.85±0.357b (6-11)	80.00±0.365b (70-90)	14.42±0.474b (12-16)	5.00±0.224 (0-10)	196.66±13.91c (162-243)
	100	15.00±0.898a (10-17)	91.67±0.307a (90-100)	19.33±0.882a (18-21)	1.67±0.167 (0-10)	**
Neemix	10	9.36±0.374a (6-13)	46.67±0.211b (40-50)	9.31±0.266c (7-12)	8.34±0.167 (0-10)	687.75±54.85ab (607-1102)
	15	10.00±0.010a (6-27)	53.33±0.494b (40-70)	10.44±0.669bc (8-13)	11.67±0.307 (0-20)	624.25±136.68b (0-1324)
	30	10.81±0.989a (8-17)	76.67±0.333a (70-90)	12.05±0.770ab (7-19)	5.00±0.224 (0-10)	389.75±0.344b (83-686)
	60	9.00±0.707a (6-11)	83.34±0.330a (70-90)	13.00±0.577a (12-14)	10.00±0.258 (0-20)	**

* Aynı sütun içerisinde ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark, önemli bulunmuştur (P<0.05, Duncan testi)

** Elde edilen erginlerin kısa süre sonra ölmeleri nedeni ile yumurta elde edilememiştir.

Bireyi daldırma

Neem Azal T/S uygulamasında; çizelge 2'de görüldüğü gibi en kısa larva dönemi süresi kontrolde saptanmıştır. Bu değerleri sırasıyla 15, 25 ve 50 ppm dozları izlemiştir. En uzun larva dönemi süresi ise 100 ppm dozda elde edilmiştir. Yapılan istatistiki analizde 25 ve 50 ppm dozları aynı grupta, kontrol ve uygulanan diğer dozlar farklı grupta yer almıştır.

Larva ölüm oranı en düşük kontrolde, en yüksek 100 ppm dozunda olmuştur. Yapılan istatistiki analizde kontrol tüm dozlardan farklı, 15 ppm ile 25, 50 ile 100 ppm dozları birbirinden farksız bulunmuştur.

Neemix uygulamasında; larva dönemi en kısa sürede kontrolde, en uzun sürede ise 60 ppm de tamamlanmıştır. İstatistiki olarak kontrol uygulanan tüm dozlardan farklı olup, 10 ile 15 dozları birbirinden farksız, diğer dozlar ise farklı bulunmuştur.

Larva ölüm oranının kontrolde en düşük, 60 ppm de en yüksek olduğu saptanmıştır. Doz artışına bağlı olarak larva ölüm oranında artış olmuştur. Yapılan istatistiki analizlerde kontrol tüm dozlardan farklı, 15 ile 30 ppm birbirinden farksız bulunmuştur (Çizelge 2).

Topikal aplikasyon

Neem Azal T/S uygulamasında, larva dönemi süresi en kısa kontrolde belirlenmiş olup, bunu artan sırayla 0.5 µl/birey, 1µl/birey, 2µl/birey dozları izlemiştir. Yapılan istatistiki analizlerde kontrol ile bütün dozlar birbirinden farklı bulunmuştur (Çizelge 3)

Larva dönemi ölüm oranı kontrolde en düşük olmuş, doz artışına bağlı olarak ölüm oranı artmıştır. Larva dönemi ölüm oranı yönünden dozlar arasında istatistiki olarak bir fark belirlenmemiş, kontrol ise farklı grupta yer almıştır.

Neemix uygulamasında, larva dönemi süresi en kısa kontrolde, en uzun ise 2µl/birey dozunda olmuştur. İstatistiki analizde kontrol tüm dozlardan farklı bulunmuştur.

Larva dönemi ölüm oranı en düşük kontrolde, en yüksek ise 1µl/birey dozunda tespit edilmiştir. İstatistiki analize göre kontrol tüm dozlardan farklı olup, dozlar arasında bir fark belirlenmemiştir (Çizelge 3).

Neem ağacı ekstraktlarının Patates böceği'nin larva dönemi süresine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamış olmakla beraber bulgularımızla aynı doğrultuda olan farklı zararlılarla yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, *A.indica* ekstraktının *Ephestia cautella* W. (Lep.: Pyralidae) larvalarına uygulandığı bir çalışmada, kontrolde 29.9 gün olan larva dönemi süresi doz artışına bağlı olarak uzamış ve en yüksek dozda 38.5 gün olarak bulunmuştur (Pereiera and Wohlgemuth 1982), *Popillia japonica* N. (Col.: Scarabeidae) larvalarına azadirachtin'nin uygulanması sonucunda kontrolde 22.5 gün olarak belirlenen larva dönemi süresinin, uygulama yapılan larvalarda bu sürenin 48.2 gün (Ladd et al. 1984) olduğu belirtilmektedir. Schlütter et al.(1985). *Menduca sexta* L. (Lep.: Sphingidae) 'nin larvalarına azadirachtin uygulanması ile belirlenen larva dönemi süresinin kontrolden daha uzun, Zebitz (1984) AZT-VR-K'nin uygulandığı, *Aedes aegypti* L. (Dip.: Culicidae) larvalarında larva dönemi süresinin kontrolde 13, uygulama yapılan larvalarda ise 32 gün, Dorn et al. (1986) *Oplegnatus fasciatus* K. (Perciformes: Oplegnatidae) 'un azadirachtin uygulanan nimflerinde kontrolde 8 gün olan nimf dönemi süresinin 14 gün, Rao and Subrahmanyam (1986), *S. gregaria* 'nın nimflerine azadirachtin uygulaması ile nimf süresinin kontrole göre 40 gün daha uzun olduğunu kaydetmektedirler. Barnaby et al. (1989) *Heliothis virescens* F. (Lep.: Noctuidae) 'in larvalarına azadirachtin uygulaması sonucunda kontrolde 3.8 gün olan larva dönemi süresini en yüksek dozda 7.0 gün olarak saptamışlardır. Nicol and Schmutterer (1991) ise *A. indica* ekstraktını *S. gregaria*'ya uyguladıkları bir çalışmada, farklı nimf dönemlerinde gelişme sürelerinin uzadığını, yapılan uygulama ile kontrolde 24.5 gün olan larva dönemi süresinin, en yüksek dozda 40.7 gün olduğunu bildirmektedirler. Ayrıca Neem Azal T/S'nin *L. decemlineata* larvalarında beslenmeyi engellediği ve buna bağlı olarak larva dönemi süresinin uzadığı belirlenmiştir (Varnagy 2006).

ÇİZELGE 2. Neem Azal T/S ve Neemix'in farklı dozlarına daldırılan *Leptinotarsa decemlineata* Say larvalarında belirlenen değerler (*)

<i>A. indica</i> preparatları	Dozlar (ppm)	Larva dönemi süresi (gün)	Larva dönemi ölüm oranı (%)	Pupa dönemi Süresi (gün)	Pupa dönemi ölüm oranı (%)	Yumurta sayısı (adet)
Neem Azal T/S	Kontrol	4.10±0.153d (3-7)	3.33±0.211c (0-10)	9.00± 0.155b (7-11)	1.67± 0.368 b (0-10)	1268.00±46.35a (917-1316)
	15	8.46±0.401c (5-12)	50.00±0.516b (40-70)	9.73±0.323b (7-12)	13.34±0.300a (0-20)	785.00±57.30ab (515-1035)
	25	9.34±0.479b (6-16)	55.00±0.922b (20-80)	9.13±0.487b (6-12)	15.00±0.510a (0-10)	408.00±70.32bc (0-627)
	50	10.00±0.152b (5-14)	80.00±0.516a (70-100)	16.75±0.921a (14-20)	3.34± 0.211b (0-10)	177.50±31.44c (0-274)
	100	25.67±0.297a (21-49)	88.33±0.307a (80-100)	**	10.00±0.258ab (0-20)	***
Neemix	10	7.40± 0.352c (4-14)	26.67±0.333c (20-40)	9.53± 0.515b (7-13)	16.67± 0.422 (0-30)	893.25±99.86ab (318-1230)
	15	7.61± 0.455c (5-12)	58.33±0.401b (40-70)	10.89±0.459ab (8-17)	11.67± 0.303 (0-20)	611.25±109.33ab (106-1116)
	30	10.50±0.231b (4-21)	66.67±0.615b (50-90)	10.80±0.533ab (8-14)	10.00± 0.258 (0-20)	439.50±77.85bc (142-774)
	60	13.93±0.335a (12-18)	83.33±0.333a (70-90)	13.00± 6.00a (7-19)	6.67± 0.211 (0-10)	328.00±17.88c (251-423)

* Aynı sütun içerisinde aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark, önemli bulunmuştur (P<0.05, Duncan testi)

**Ergin elde edilemediğinden pupa süresi belirlenmemiştir.

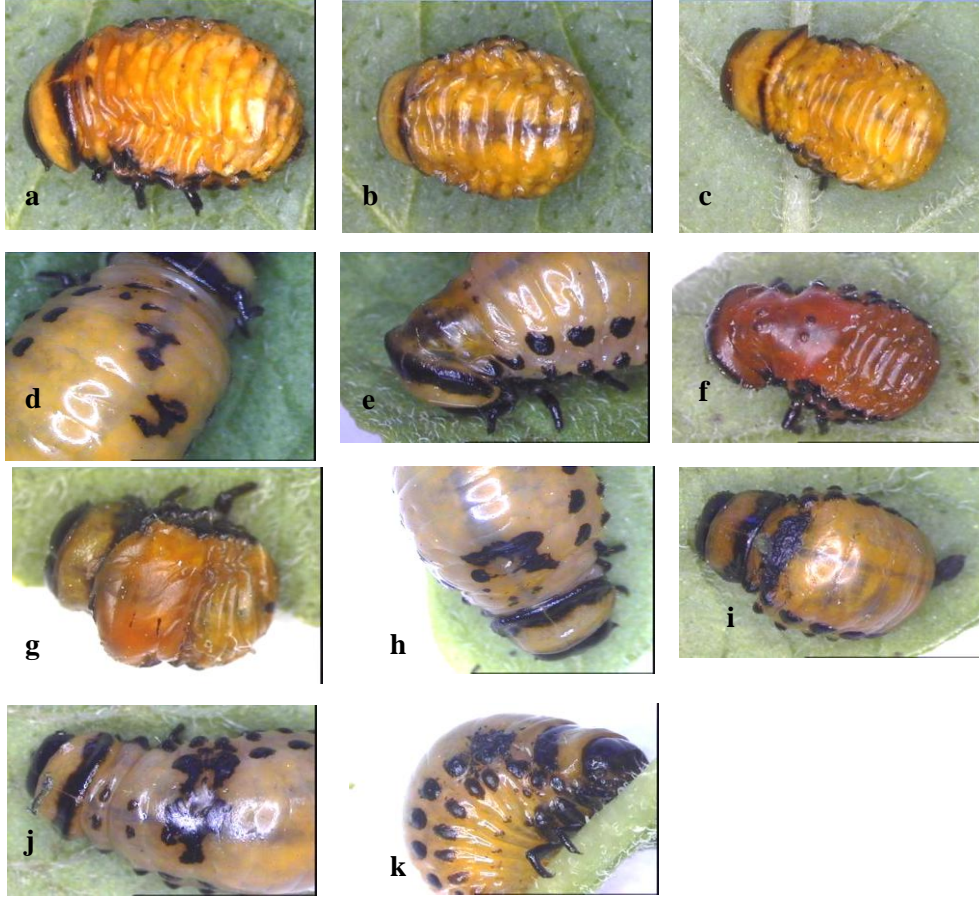
*** Elde edilen erginlerin kısa süre sonra ölmeleri nedeni ile yumurta elde edilememiştir.

Larva dönemi ölüm oranı ile ilgili olarak yapılan farklı çalışma sonuçları bulgularımız ile paralellik göstermektedir. Steets (1976) *A. indica* meyve ekstraktının *L. decemlineata*'nın larvalarında %100, Zehnder and Warthen (1988) *L. decemlineata*'nın larvalarında *A. indica* ekstraktının 72.saatte % 72.7 oranında ölüme neden olduğunu bildirmektedirler. Kaethner (1992), neem yağı uygulanmış patates yaprakları ile 24 saat beslenen ve topikal aplikasyon yapılan *L. decemlineata*'nın larvalarında ölüm oranının % 90 olduğunu belirtmektedir. Gujar and Mehrotra (1983) *Spodoptera litura* L. (Lep.: Noctuidae)'nın larvalarına azadirachtin uygulanması sonucunda görülen ölümlerin deri değiştirme döneminde meydana geldiği ve bu ölümlerin kontrolden çok yüksek oranda olduğu belirtmektedirler. Verkerk and Wright (1993) *Plutella xylostella* L. (Lep.: Plutellidae) larvalarında AZT-VR-K, Neem Azal ve saf azadirachtinin yaprak daldırma yöntemi ile uygulandığı bir çalışmada, AZT-VR-K'nin %100 oranında ölüme neden olduğu bildirilmektedir. Dorn et al. (1986) *O. fasciatus* nimflerine uygulanan azadirachtinin, nimflerde deri değişimini engellediğini, bazen deri değiştirmeden uzun süre hareketsiz ve beslenmeden kalan nimfler oluştuğunu ve bunlara "daimi nimf" adı verildiğini belirtmektedirler. Hiiesaar et al. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, Neem Azal T/S'nin uygulandığı *L. decemlineata*

larvalarında ölümün daha çok prepupa döneminde olduğunu ve gelişmesini tamamlayan bireylerin kanatlarında deformasyon görüldüğünü belirtmektedirler.

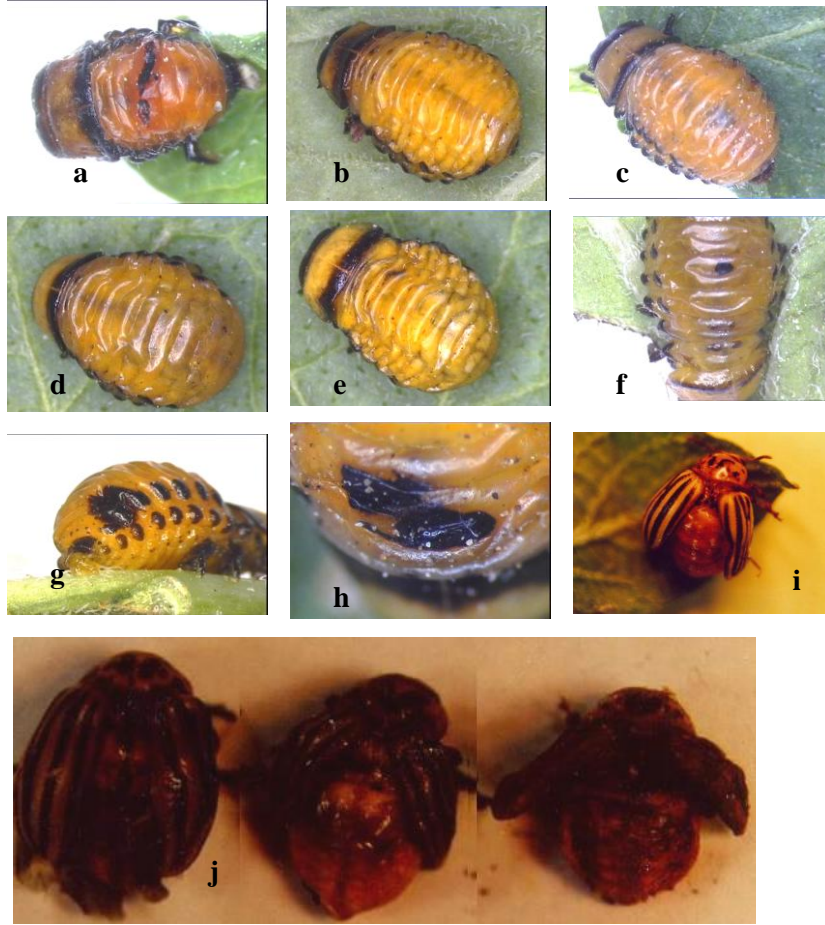
Larva ve ergin dönemde meydana gelen morfolojik değişiklikler

Neem Azal T/S 'nin farklı dozlarına daldırılmış besinle beslenen, farklı dozlarına daldırılan ve farklı dozlarla topikal aplikasyon yapılan *L. decemlineata* larvalarında meydana gelen morfolojik deformasyonlar Şekil 1 'de verilmiştir.



Şekil 1. Neem Azal T/S'nin, a)100 ppm dozuna daldırılmış besinle beslenen larvanın 41 gün sonraki görünümü, b) 39 gün sonraki görünümü, c) 30 ppm dozuna daldırılan larvanın 23 gün sonraki görünümü, d) 100 ppm dozu ile topikal aplikasyon yapılan larvalarda, thorax'ta oluşan lekeler, e) aynı larvada thorax'ın segmentlerinde açılma, f) 4 gün sonra renkte meydana gelen matlaşma, thorax segmentlerinde oluşan düzgün yüzey ve kabarcık, g) 1µl/birey dozunda topikal aplikasyon yapılan larvada 33 gün sonra oluşan şiddetli deformasyon, h) thorax'ta oluşan lekeler, i) 4 gün sonra thorax'ta koyu mat şeklinde oluşum, j) thorax'ta leke ve deformasyon, k) 4 gün sonra meydana gelen leke.

Neemix'in farklı dozlarına daldırılmış besinle beslenen, farklı dozlarına daldırılan ve farklı dozlarla topikal aplikasyon yapılan *L. decemlineata* larvalarında ve erginlerde meydana gelen morfolojik deformasyonlar Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Neemix'in 30 ppm dozuna daldırılmış besinle beslenen larvanın, a) thoraks'ta görülen koyu mat şekilde oluşum, b) aynı larvanın 32 gün sonraki görünümü ve dorsal yüzeyinde oluşan noktacıklar, c) 60 ppm dozuna daldırılmış besin ile beslenen larvanın dorsal yüzeyinde 18 gün sonra meydana gelen buruşuk görüntü ve oluşmaya başlayan siyah alan, d) 60 ppm dozuna daldırılan larvalarında, 39 gün sonra oluşan siyah noktacıklar, e) dorsal yüzeyinde 40 gün sonra oluşan buruşuk bir görünüm ve thoraxta oluşan küçük lekeler, f) 27 gün sonra oluşan siyah nokta, g) 37 gün sonra meydana gelen siyah leke, (60 ppm) 2µl/birey dozunda topikal aplikasyon yapılan larvalarda, h) 11 gün sonra oluşan leke, i) larvalardan meydana gelen deformasyonlu birey, j) larvalardan meydana gelen pupa-ergin arası bireyler.

Neem Azal T/S ve Neemix'in farklı dozlarının değişik yöntemlerde uygulandığı 3.dönem larvaların dorsalinde siyah renkli lekeler meydana gelmiştir. Bazı

uygulamalarda deri değiştirmeyen ve uzun süre yaşayan daimi larvalarda anormal yapılar oluşmuştur. Elde edilen sonuçlarla araştırma sonuçları aynı doğrultudadır. Nitekim Kaethner (1992) azadiractinin (% 90 saf) *L. decemlineata* 'nın larvalarına farklı dozlarda besine uygulama ve topikal aplikasyon yöntemi ile uygulanması sonucu larvaların dorsal yüzeyinde siyah renkte lekelerin oluştuğunu, Schlüter (1989) Neem tohum ekstraktının besine uygulama veya topikal olarak uygulanması ile *Epilachna varivestis* M. (Col.: Coccinellidae)'nin dördüncü dönem larvalarının toraks dorsal kenarı üzerinde 1-4 adet siyah veya koyu kahverengi benekler meydana geldiğini, bu larvaların bir ay süre ile yaşadığını belirtmektedir.

Pupa dönemi süresi ve ölüm oranı

Yaprak daldırma

Neem Azal T/S uygulamasında, pupa dönemi süresi en kısa kontrolde belirlenmiş olup, bunu giderek artan değerlerle 25, 15, 50, 60 ve 100 ppm dozları izlemiştir. Doz artışına bağlı olarak pupa süresi uzamıştır. Pupalarda, en az ölüm kontrolde tespit edilmiştir. Yapılan istatistiki analizlere göre Neem Azal T/S'nin pupa ölüm oranını etkilemediği belirlenmiştir (Çizelge 1).

Neemix uygulamasında, pupa dönemi süresi istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Bu süre en kısa 10 ppm dozunda, en süre ise uzun ise 60 ppm dozunda tespit edilmiştir. Pupa ölüm oranı ise en düşük kontrolde elde edilmiştir. Yapılan istatistiki analiz sonucunda, Neemix'in pupa ölüm oranını etkilemediği belirlenmiştir.

Bireyi daldırma

Neem Azal T/S uygulamasının farklı dozlarına daldırılan larvalardan elde edilen pupalarda, belirlenen pupa dönemi en kısa sürede kontrolde tamamlanmıştır. En uzun pupa dönemi süresi ise 50 ppm dozda belirlenmiştir. 100 ppm dozda ergin elde edilemediğinden bu dönemin süresi belirlenmemiştir. İstatistiki olarak 15 ve 20 ppm dozları kontrolle aynı grupta yer almış, 50 ppm ise farklı olarak tespit edilmiştir. Pupa dönemi ölüm oranında en az ölüm kontrolde saptanmıştır. Bu değeri sırasıyla 50, 100, 15 ppm dozları izlemiştir. En yüksek ölüm ise 25 ppm dozda olmuştur (Çizelge 2).

Neemix uygulamasında belirlenen pupa dönemi süresi kontrolde en kısa olup, en uzun süre 60 ppm dozda saptanmıştır. Diğer dozlar bu iki değer arasında yer almıştır. İstatistiki analizde kontrol ile uygulanan dozlar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Pupa döneminde en az ölüm kontrolde, en fazla ölüm ise 10 ppm dozda elde edilmiştir. Neemix'in pupa ölüm oranına etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 2).

Topikal aplikasyon

Çizelge 3'te görüldüğü gibi, Neem Azal T/S uygulamasında, pupa dönemi 1µl/birey dozunda en kısa, 2 µl/birey dozunda en uzun sürede tamamlanmıştır.

Pupa dönemi ölüm oranı en düşük kontrolde tespit edilmiş olup doz arttıkça ölüm oranı yükselmiş ve en yüksek oran en yüksek dozda saptanmıştır.

Neemix uygulamasında, pupa dönemi süresi en uzun 2 µl/birey dozunda, en kısa süre ise 0.5µl/birey dozunda elde edilmiştir. İstatistiki analizde kontrol ile 2µl/birey doz uygulamasının birbirinden farksız olduğu, 1µl/birey dozunun, 0.5µl/birey dozu ile aynı grupta yer aldığı tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Pupa dönemi ölüm oranı kontrolde en düşük olup, doz artışına bağlı olarak ölüm oranı da artmıştır. Kontrol bütün dozlardan farklı grupta yer almıştır

Patates böceği'nin pupa dönemi süresine ekstraktların etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamış ancak, farklı zararlılarla yapılan çalışma sonuçları bulgularımızla aynı doğrultudadır. Örneğin azadirachtinin *E. varivestis*, *Ephestia kuehniella* Z. (Lep.: Pyralidae) *Aphis mellifera* L. (Hym.: Aphidae) larvalarının besinine uygulanması sonucunda meydana gelen pupalarda pupa dönemi süresinin 14.1, kontrolde 13.6 günde tamamlandığı, topikal aplikasyon yönteminde ise, *E. kuehniella*'da bu sürenin kontrolde 14.6 gün, uygulama yapılanlarda 14.9 gün olduğu belirtilmektedir (Rembold et al. 1982).

Pupa dönemi ölüm oranı ile ilgili olarak başka zararlılara Neem ekstraktlarının etkisi ile ilgili olarak yapılan çalışma sonuçları bulgularımızla aynı paraleldedir. Rembold ve ark. (1982) *E. variestis* larvalarına azadirachtinin topikal aplikasyonu sonucunda pupalarda %10 ölüm oranında meydana geldiğini bildirilmektedir.

Çizelge 3. Neem Azal T/S ve Neemix'in farklı dozları ile topikal aplikasyon yapılan *Leptinotarsa decemlineata* Say larvalarında belirlenen değerler (*)

<i>A. indica</i> preparatları	Dozlar (100ppm) µl/birey	Larva dönemi süresi (gün)	Larva dönemi ölüm oranı (%)	Pupa dönemi Süresi (gün)	Pupa dönemi ölüm oranı (%)
Neem Azal T/S	Kontrol	3.81±0.165d (2-7)	3.33±0.211b (0-10)	9.86±0.141a (7-11)	3.44±0.245c (0-10)
	0.5	4.95±0.221c (3-8)	52.00±0.663a (30-70)	9.42±0.224ab (8-11)	10.00±0.316bc (0-20)
	1	5.71±0.184b (5-7)	58.00±0.800a (40-80)	8.88± 0.271b (8-10)	20.00±0.447ab (10-30)
	2	6.50±0.310a (5-10)	64.00±0.245a (60-70)	10.25±0.111a (7-12)	24.00± 0.245a (20-30)
Neemix	0.5	4.80±0.316a (5-9)	41.68±0.601a (20-60)	9.42± 0.224b (8-11)	4.00± 0.245a (0-10)
	1	5.28±0.251a (4-8)	44.00±0.103a (10-60)	9.62± 0.121b (8-10)	15.00±0.563ab (0-40)
	2	5.30±0.263a (4-9)	43.34±0.803a (20-70)	10.00±0.617a (7-12)	28.34± 0.601a (10-50)

* Aynı sütun içerisinde ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark, önemli bulunmuştur (P<0.05, Duncan testi)

Yumurta verimi

Yaprak daldırma

Neem Azal T/S uygulamasında, en fazla yumurta kontrolde bırakılmış, en az yumurta ise 50 ppm dozunda belirlenmiştir. Doz artışına bağlı olarak bırakılan yumurta sayısında önemli düzeyde azalma olmuştur (Çizelge 1).

Neemix uygulamasında; en fazla yumurta kontrolde elde edilmiştir. Bu değeri sırasıyla 5, 10, ve 30 ppm dozları izlemiştir. 60 ppm dozda denemeye alınan erginlerin kısa süre içinde ölmeleri nedeni ile yumurta elde edilememiştir. İstatistiki olarak kontrol ile uygulanan dozlar arasındaki fark önemli bulunmuştur (Çizelge 1).

Bireyi daldırma

Neem Azal T/S, Çizelge 2’de görüldüğü gibi en fazla yumurta kontrolde, en az yumurta ise 50 ppm dozda elde edilmiştir. İstatistiki analizlerde kontrol diğer dozlarından farklı grupta yer almıştır.

Neemix uygulamasında en fazla yumurta kontrolde, en az 60 ppm dozda elde edilmiştir. Doz artışına bağlı olarak bırakılan yumurta sayısında azalma meydana gelmiştir. Kontrol ile uygulanan dozlar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Bu konuda Patates böceği ile yapılan çalışmaya rastlanmamış ancak farklı zararlılarla yapılan çalışma sonuçları bulgularımızla aynı paraleldedir. Nitekim *Dacus dorsalis* (Dip.: Tephritidae), *D. cucurbitae* ve *C. capitata* larvalarına *A. indica* ekstraktının uygulanmış larvalardan oluşan dişilerinden *D. dorsalis*’in 849.9 adet ve kontrolde 781.1 adet, *D. cucurbitae* ‘nin 315.0 adet ve kontrolde 398.1 adet, *C. capitata*’da 338.1 ve kontrolde 525.1 adet yumurta bıraktığı bildirilmiştir (Stark et al. 1990). Ascher et al. (1983) tarafından *S. littoralis* larvalarına *A. indica* ekstraktlarının etkileri araştırılmış uygulama yapılan larvalardan oluşan dişilerin kontrolden daha az yumurta bıraktığı saptanmıştır. Seets and Schmutterer (1975) *E. varivestis*’in 50 ppm konsantrasyondaki azadirachtin ile muamele edilmiş fasulye bitkisi ile beslenen larvalarından oluşan dişilerin kontrolden çok daha az yumurta bıraktığını belirtmektedirler.

A. indica’dan elde edilen Neem Azal T/S ve Neemix preparatlarının *L. decemlineata* larvalarının gelişimine etkileri üç farklı yöntemle laboratuvar koşullarında araştırılmış ve etkili olduğu belirlenmiştir. Tarla koşullarında etkilerinin araştırılması sonucunda elde edilecek bulgulara göre söz konusu preparatların *L. decemlineata*’ya karşı özellikle organik tarım, iyi tarım uygulamaları ve entegre mücadelede kullanılabilceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Anonim 2006. Tarımsal Yapı ve Üretim, Başbakanlık DİE No: Ankara
- Anonim 2009. <http://www.epa.gov>. (Erişim tarihi: 20.10.2009)
- Ascher K.R.S. Eliyahum M. Nemny N.E. and Meisner J. 1983. Neem seed kernel extracts as an inhibitor of growth and fecundity in *Spodoptera littoralis*. Proc. 2nd. Int. Neem Conf.(Raiuishholzhausen, 1983),pp 331-344.
- Atak U. 1973. Trakya Bölgesinde Patates bceği (*Leptinotarsa decemlineata* (Say))'nin morfolojisi, bio-ekolojisi ve savaş metotları üzerinde araştırmalar. T.C Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, Teknik Bülten 6, 63 s.
- Barnaby M.A. Yamasaki R.B. and Klocke J.A. 1989. Biological activity of azadirachtin,three derivatives, and their ultraviolet radiation degradation products against tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. J.Econ. Entomol. 82(1):58-63.
- Baumgart M. Brocke K. and Crow M.H. 1996. Control of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say) in organic Gardening Systems with *Bacillus thuringiensis* var. San. Diego (M-one) and new product from the neem tree (Neem Azal F- and Align) Proceedings at the 5th workshop. Wetzlar, Germany, Jan, 22-25 1996.
- Chopra R. L. 1928. Ann. Rep. of the Entomologist to the Govt.of Punjab, Lyallpur, for the year 1925-26. Rep.Dept. Agric. Puncab. 1(pt.2):67-125.
- Dorn A., Rademacher J.M. and Sehn E. 1986. Effects of azadirachtin on the moulting cycle, endocrine system,and ovaries in last-instar larvae of the milkweed bug, *Oncepalpus fasciatus* J. Insect Physiol. 32(3), 231-238.
- Erkılıç L.,Yumruktepe R., Ulubilir A. ve Aytaş M. 1986.T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı II. Ulusal Zirai Mücadele Simpozyumu. Ankara 156-167.
- Ferizli A.G.1997. *Azadirachta indica* A. Juss ve *Melia azedarach* L. (Meliaceae) süzütlerinin *Spodoptera littoralis* Boisid (Lep: Noctuidae)'e Bazı Etkileri Üzerinde Araştırmalar (Yayımlanmamış Doktora tezi) .
- Gujar G.T. and Mehrotra K.N.1983. Inhibition oh growth and development of the tobacco caterpillar *Spodoptera litura* Fabr. Due to azadirachtin and neem products. Indian J.Ent.45(4),431-435.
- Hiisaar K. Metspalu L., Jõudu J. and Kuusik A. 2004. Diverse effects of Neem Azal T/S revealed by preimaiginal stages of Colorado potato betle, *Leptinotarsa decemlineata* Say. Proceedings of the 9th Workshop. Hohensolmos, Germany.
- Kaethner M.1992. Fitness reduction and mortality effects of neem-based pesticides on the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col: Chrysomelidae). J.Appl. Ent.113 (1992), 456-465.

- Ladd T. L. Jr. Warthen J. D. Jr. and Klein M.G. 1984. Japanese Beetle (Coleoptera: Scarabaeidae): The effects of azadirachtin on the growth and development of the immature forms. *J. Econ.Entomol.* 77,903-905.
- Nicol C.M.Y. and Schmutterer H. 1991. Kontaktwirkungen des samenöls des neimbaumes *Azadirachta indica* A.Juss bei gregaren larven der wüstenheuschrecke *Schistocerca gregaria* (Forsk.) *J. Appl. Ent.* 111 (1991), 197-205.
- Oroumchi S. and Lorra C.1993. Investigation on the effects of aqueous extracts of neem and chinaberry on development and mortality of alfalfa weevil *Hyperia postica* Gyllenh.(Col., Curculionidae) *J. Appl.Ent.* 116 (1993), 345-351.
- Pereira D. and Wohlgemuth R. 1982. Neem (*Azadirachta indica* A.Juss) of west african origin as a protectant of stored maize. *J. Appl. Ent.* 94: 208-214.
- Prijiono D. and E. Hassan.1993. Laboratory and field efficacy of neem (*Azadirachta indica* A.Juss) extracts against two broccoli pest. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. Journal of Plant Diseases and Protection* 100 (4), 354-370.
- Rao P.J.and Subrahmanyam B.1986. Azadirachtin induced changes in development, food utilization and haemolymph constituents of *Schistocerca gregaria* Forskal. *J.Appl.Ent.*102,217-224.
- Rembold H. Sharma G.K. Czoppelt CH. and Schmutterer H. 1982. Azadirachtin A patent insect growth regulator of plant origin. *J. Appl. Ent.* 93, 12-17.
- Stark J.D., Vargas R.I., and Thalman R.K. 1990. Azadirachtin effects on metamorphosis longevity and reproduction of three tephritid fruit fly species (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 83(6): 2168-2174.
- Steets R. 1976. Studies on the effect of a purified extract of fruits of *Azadirachta indica* on *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col: Chrysomelidae).*Z.ang. Ent.* 82, 169-176.
- Schlüter U. Bidmon H. J. and Grewe S. 1985. Azadirachtin effects growth and endocrine events in larvae of the tobacco hornworm, *Menduca sexta*. *J. Insect*
- Schmutterer H. 1981. Some properties of components of the neem tree (*Azadirachta indica*) and their use in pest control in developing countries. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 46/1, 39-47.
- Schmutterer H. 1990. Properties and Potential of Natural Pesticides from the neem tree , *Azadirachta indica*. *Annu.Rev.Entomol.*1990. 35:271-97.
- Steets R. and Schmutterer H. 1975. The effect of azadirachtin on the longevity and reproduction of *Epilachna varivestis* Mulls. (Coleoptera: Coccinellidae). *Z.pfl krank.* 3/75 176-179.
- Varnagy L. 2006. Feeding inhibitors effects of several extracts of plant and animal origin on some phytophagous insect species. D. Sc. University of Veszprem Georgikon Faculty of Agriculture Interdisciplinary doctoral School. Head of School.
- Verkerk R.H.J. and Wright D.J. 1993. Biological activity of neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L. *Pestic. Sci.* 1993, 37, 83-91.

- Wardajo S. 1969. Some factors relating to the larval growth of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae), on artificial diets. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen, Nederland, Mededeling No. 166,71 s.
- Zebitz C.P.W. 1984. Effect of some crude and azadirachtin- enriched neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts on larvae of *Aedes aegypti*. Entomol. exp.appl. 35, 22-16.
- Zehnder G. and Warthen J.D. 1988. Feeding inhibition and mortality effect of neem-seed extract on the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). J.Econ. Entomol. 81(4): 1040-1044.