

TÜRKİYE' DE TESPİT EDİLEN ENTOMOPATOJEN NEMATOD,
HETERORHABDİTİS BACTERIOPHORA İZOLATLARININ
YÜKSEK SICAKLIĞA VE SU KAYBINA OLAN
TOLERANSLILIKLARI VE ETKİNLİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

Tufan Can ULU



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE' DE TESPİT EDİLEN ENTOMOPATOJEN NEMATOD,
HETERORHABDİTİS BACTERIOPHORA İZOLATLARININ YÜKSEK
SICAKLIĞA VE SU KAYBINA OLAN TOLERANSLILIKLARI VE
ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Tufan Can ULU

Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA-2012

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Tufan Can ULU tarafından hazırlanan “Türkiye’ de Tespit Edilen Entomopatojen Nematod, *Heterorhabditis bacteriophora* İzolatlarının Yüksek Sıcaklığa ve Su Kaybına Olan Toleranslılıkları ve Etkinliklerinin Karşılaştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Başkan : Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı
İmza:

Üye : Doç. Dr. Uğur GÖZEL
Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı
İmza:

Üye : Doç. Dr. Nimet Sema GENÇER
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı
İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Kadri ARSLAN

Enstitü Müdürü

.../.../2012

Bilimsel Etik Bildirim Sayfası

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

.../.../2012

İmza
Tufan Can ULU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TÜRKİYE’ DE TESPİT EDİLEN ENTOMOPATOJEN NEMATOD, *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* İZOLATLARININ YÜKSEK SICAKLIĞA VE SU KAYBINA OLAN TOLERANSLILIKLARI VE ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Tufan Can ULU

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopatojen nematodlar (EPN), özellikle Avrupa ve A.B.D’ de tarımsal zararlılara karşı biyolojik mücadele kapsamında on yılı aşkın bir süredir etkin biçimde kullanılmaktadır. Etki ettiği zararlı aralığının geniş olması, toprak içerisinde konukçusunu arama yeteneği ve uygulama sırasındaki avantajlarının yanında çevreye ve hedef alınmayan canlılara zararının olmaması sebebiyle Avrupa Birliği ülkeleri ve A.B.D tarafından kullanımı tavsiye edilmektedir. EPN’ lerin açık alan uygulamalarındaki başarısını olumsuz etkileyen en önemli faktörler; yüksek sıcaklık ve su kaybına olan hassasiyetleridir. Bu iki stres faktörüne olan hassasiyet, arazideki etkinliğin ve kalıcılığın yanında ambalaj ömrünün de kısılmasına neden olmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile bu iki faktörü kontrol eden genlerin döllere yüksek aktarım oranına sahip olduğu bulunmuş ve hibridizasyon yolu ile bu olumsuzlukların önüne geçilebileceği düşünülmüştür. Bu çalışma ile ileride yapılması planlanan hibridizasyon çalışmaları için gereken temel verilerin elde edilmesi amaçlanmış, bu kapsamda Türkiye’ nin farklı coğrafik bölgelerinden izole edilen EPN türü *Heterorhabditis bacteriophora*’ nın on ırkı yüksek sıcaklık, su kaybı ve etkinlik denemelerine tabi tutulmuştur. Denemeler sonucunda yüksek sıcaklığa en dayanıklı ırk Antalya’ dan izole edilen HB6 ırkı olurken, en hassas ırk ise Erzurum’ dan izole edilen HB11 ırkı olmuştur. Su kaybı denemelerinin sonucunda ise su kaybına en dayanıklı ırk yine HB6 ırkı olurken, su kaybına en hassas ırk Samsun’ dan izole edilen H-101 ırkı olmuştur. Etkinlik denemeleri *Tenebrio molitor* larvaları üzerinde gerçekleştirilmiş ve en etkin ırk Samsun’ dan izole edilen H-101 ırkı olmuştur. Yapılan tüm denemelere ek olarak ırkların izole edildiği bölgelerin iklim şartları ile tolerans seviyeleri arasındaki ilişki incelenmiş, özellikle yüksek sıcaklığa dayanım ile izole edilen bölgenin iklim şartları arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tüm ırkların etkinlikleri ile tolerans seviyeleri karşılaştırılmış ve aralarında bir ilişki olup olmadığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Heterorhabditis bacteriophora*, entomopatojen nematod, yüksek sıcaklık, su kaybı, tolerans

2012, ix + 68 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

HEAT AND DESSICATION TOLERANCES OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE, *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* ISOLATES IDENTIFIED FROM TURKEY AND COMPARISON OF THEIR EFFICACIES

Tufan Can ULU

Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopathogenic nematodes (EPN) are being used efficiently against insect pests over a decade in Europe and United States of America. European Union countries and U.S.A. recommend the use of EPNs, because of their large host spectrum, host seeking ability, application advantages and no hazardous to the human health and environment. Heat and desiccation are two major stress factors in large scale field applications, and the both stress factors cause short shelf life. Recent researches have revealed that the genes, controlling these stress factors, have high heritability, which has led to the idea of preventing these stress factors through hybridization. In the present study, ten strains of *Heterorhabditis bacteriophora*, isolated from different geographic regions of Turkey, exposed to heat and desiccation to obtain basic information for a hybridization study that will be performed in future. Results of the experiments showed that the most tolerant strain to the heat was HB6 from Antalya, while the most susceptible strain was HB11 from Erzurum. For desiccation experiments, the most tolerant strain was HB6, while the most susceptible strain was H-101 from Samsun. Efficacy experiments were performed on *Tenebrio molitor* larvae, and the most efficient strain was H-101. In addition to the all experiments, relationships between tolerances to both stresses, and climatic conditions of geographic origin were examined and relationship found between tolerance to heat and climatic condition of the geographic origin. Furthermore, relationships between efficacies and tolerances to both stress factors were also examined in the present study.

Key Words: *Heterorhabditis bacteriophora*, entomopathogenic nematodes, heat, desiccation, tolerance

2012, ix + 68 pages.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yürütülmesi için gerekli zemini hazırlayan, bilgi ve tecrübeleriyle beni aydınlatan, yol gösteren ve hiçbir zaman emeğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim süresince eğitim hayatıma katkıda bulunan Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi' nin değerli hocalarına ve tez çalışmasında kullanılan bazı ırkların temin edilmesinde emeği geçen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Uğur GÖZEL' e teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak eğitim hayatımın başlangıcından itibaren yanımda bulunan ve bana maddi manevi her türlü imkânı sağlayarak hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bu tez çalışması TOVAG 110O161 no' lu projenin bir bölümünden elde edilmiş ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	15
3.1. Laboratuvarda <i>Galleria mellonella</i> Larvalarının Üretimi	15
3.2. Çalışmada Kullanılan <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irkları	18
3.3. Yüksek Sıcaklığa Toleranslılığın Belirlenmesi	22
3.4. Su Kaybına Toleranslılığın Belirlenmesi	26
3.5. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının Etkinliklerinin Belirlenmesi	29
3.6. İstatistiksel Analizler	32
4. BULGULAR	33
4.1. Yüksek Sıcaklığa Toleranslılık Denemeleri	33
4.2. Su Kaybına Toleranslılık Denemeleri	40
4.3. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının Etkinlik Denemeleri	50
4.4. Stres faktörlerine toleranslılık ile etkinlik arasındaki ilişkiler	57
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	58
6. KAYNAKLAR	63

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklamalar
g	Gram
r	korelasyon katsayısı
ml	Mililitre (1×10^{-3} l)
μ l	Mikrolitre (1×10^{-3} ml)
mm	Milimetre (1×10^{-3} m)
μ m	Mikrometre (1×10^{-3} mm)
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre (1×10^{-2} m)
cm ²	Santimetrekaire (1×10^{-4} m ²)

Kısaltmalar	Açıklamalar
dk	Dakika
EPN	Entomopatojen nematod
IJ	İnfektif Jüvenil
J3	Üçüncü dönem larva
J4	Dördüncü dönem larva
kpa	Kilopaskal (10^{-3} Mpa)
L.	Linnaeus
LD ₅₀	Popülasyonun % 50' sini öldürmesi beklenen doz
LD ₉₀	Popülasyonun % 90' ını öldürmesi beklenen doz
LC ₅₀	Popülasyonun % 50' sini öldürmesi beklenen konsantrasyon
LC ₉₀	Popülasyonun % 90' ını öldürmesi beklenen konsantrasyon
LT ₅₀	Popülasyonun % 50' sini öldürmesi beklenen sıcaklık
LT ₉₀	Popülasyonun % 90' ını öldürmesi beklenen sıcaklık
Mpa	Megapaskal (kg/cm ²)
PEG	Polyethylene Glycol
Rh	Relative humidity (Oransal nem)
spp.	Species (çoğul)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. İnkübatör içerisindeki farklı <i>Galleria mellonella</i> dönemlerinin bulunduğu kavanozlar	16
Şekil 3.2. Kavanoz içerisindeki <i>Galleria mellonella</i> larvaları.....	17
Şekil 3.3. Besin ortamı	17
Şekil 3.4. Besin ortamından ayıklanmış larvalar	18
Şekil 3.5. Irkların izole edildiği iller (★).....	19
Şekil 3.6. +4 °C’ de muhafaza edilen EPN kültürleri	20
Şekil 3.7. EPN’ lerin stok olarak muhafaza edildiği kültür kapları	21
Şekil 3.8. Doz belirleme sonrası kültür kaplarının üzerindeki bilgiler	21
Şekil 3.9. Denemelerin yapıldığı 24 kuyulu hücre kültürü kabı	22
Şekil 3.10. Yüksek sıcaklığa toleranslılık denemesi öncesinde kuyulardaki IJ’ ler üzerine oda sıcaklığındaki saf suyun eklenişi	23
Şekil 3.11. İki saat öncesinden belirlenen sıcaklığa ayarlanan inkübatöre konan kaplar.....	23
Şekil 3.12. Stereo mikroskop altında ölü-canlı birey sayımı	24
Şekil 3.13. Kareli sayım kapları	25
Şekil 3.14. Stereo mikroskop altında ölü ve canlı bireylerin görünümü (Düz bireyler ölü, kıvrık bireyler canlı).....	25
Şekil 3.15. Polyethylene Glycol 600 (Merck®).....	26
Şekil 3.16. Polyethylene Glycol 600 konsantrasyonlarının hazırlanışı.....	27
Şekil 3.17. Hazırlanan PEG 600 konsantrasyonunun kuyulardaki IJ’ ler üzerine eklenişi	27
Şekil 3.18. Su kaybına toleranslılık denemesi için hazırlanan ve oda sıcaklığına ayarlı inkübatöre konan kaplar	28
Şekil 3.19. Su kaybına toleranslılık denemesi sonrası bireylerin saf su ile yıkanışı.....	29
Şekil 3.20. Etkinlik denemesi için hazırlanmış 24 kuyulu hücre kültürü kabı	31
Şekil 3.21. Kuyulardaki larvaların görüntüsü	31
Şekil 3.22. Uygulamadan üç gün sonra açılan kaplardan çıkan ölü larvaların görüntüsü	32
Şekil 4.1. Irkların 32 °C’ deki ölüm oranları (F = 6.55; df = 9, 40; P = <0.0001).....	33
Şekil 4.2. Irkların 34 °C’ deki ölüm oranları (F = 7.21; df = 9, 40; P = <0.0001).....	34
Şekil 4.3. Irkların 36 °C’ deki ölüm oranları (F = 48.30; df = 9, 40; P = <0.0001).....	34

Şekil 4.22. Irkların 5 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 6.69$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)	51
Şekil 4.23. Irkların 10 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 9.34$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)	51
Şekil 4.24. Irkların 20 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 3.57$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)	52
Şekil 4.25. Irkların 50 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 2.83$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)	53
Şekil 4.26. Irkların 75 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 1.0000$; $df = 9, 40$; $P = <0.4711$)	53
Şekil 4.27. Irkların 100 IJ/larva dozundaki etkinlikleri	54
Şekil 4.28. Irkların tüm dozlardaki etkinlikleri ($F = 38.85$; $df = 69, 140$; $P = <0.0001$)	55
Şekil 4.29. Irkların LD_{50} ve LD_{90} değerleri	56

Şekil 4.4. Irkların 38 °C' deki ölüm oranları (F = 121.38; df = 9, 40; P = <0.0001).....	35
Şekil 4.5. Irkların 40 °C' deki ölüm oranları (F = 93.06; df = 9, 40; P = <0.0001).....	36
Şekil 4.6. Irkların 42 °C' deki ölüm oranları (F = 30.46; df = 9, 40; P = <0.0001).....	36
Şekil 4.7. Irkların tüm sıcaklıklardaki ölüm oranları (F = 885.80; df = 59, 240; P = <0.0001).....	38
Şekil 4.8. Irkların LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri ile izole edildikleri illerin yıllık ortalama en yüksek sıcaklık değerleri.....	39
Şekil 4.9. Irkların % 10 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 21.65; df = 9, 40; P = <0.0001).....	40
Şekil 4.10. Irkların % 20 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 115.81; df = 9, 40; P = <0.0001).....	41
Şekil 4.11. Irkların % 30 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 119.51; df = 9, 40; P = <0.0001).....	41
Şekil 4.12. Irkların % 40 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 78.42; df = 9, 40; P = <0.0001).....	42
Şekil 4.13. Irkların % 45 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 21.72; df = 9, 40; P = <0.0001).....	43
Şekil 4.14. Irkların % 47.5 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 30.25; df = 9, 40; P = <0.0001).....	44
Şekil 4.15. Irkların % 50 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 28.05; df = 9, 40; P = <0.0001).....	45
Şekil 4.16. Irkların % 60 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 2.68; df = 9, 40; P = <0.0001).....	46
Şekil 4.17. Irkların %70 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları.....	46
Şekil 4.18. Irkların % 80 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları.....	47
Şekil 4.19. Irkların tüm PEG 600 konsantrasyonlarındaki ölüm oranları (F = 440.19; df = 99, 400; P = <0.0001).....	48
Şekil 4.20. Irkların LC ₅₀ ve LC ₉₀ değerleri ile izole edildikleri illerin yıllık yağış miktarları.....	49
Şekil 4.21. Irkların 2 IJ/larva dozundaki etkinlikleri (F = 3.85; df = 9, 40; P = <0.0001).....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. <i>G. mellonella</i> besin ortamının içeriği	15
---	----

1. GİRİŞ

Tarımsal ürünlerde ekonomik kayba neden olan zararlılara karşı kullanılan kimyasal ilaçların uzun yıllar bilinçsizce tüketilmesi ve günümüzde de tüketilmeye devam etmesi sonucu çevre ve insan sağlığı üzerinde ortaya çıkan ciddi sorunlar nedeniyle özellikle 1970'lerin başından bu yana kimyasal mücadeleye alternatif mücadele yöntemleri aranmış ve bu güne kadar mücadele yöntemlerinin arasında kimyasal mücadele yerine uygulanabilecek en iyi alternatiflerden biri biyolojik mücadele olmuştur. Tarımsal ürünlerdeki zararlı popülasyonlarının, zararlıların doğal düşmanları (predatör, parazitoid, patojen) kullanılarak baskı altına alınması şeklinde tanımlanan biyolojik mücadele, çevre dostu oluşu ve insan sağlığına olumsuz etkisinin olmaması nedeniyle her geçen gün önemini arttırmaktadır. Biyolojik mücadelede kullanılan organizmalara ajan adı verilirken, bu ajanlar arasında şu anda aktif ve etkili biçimde kullanılan ve gelecek vaadeden gruplardan biri entomopatojen nematodlar' dır (Gaugler 2002).

Entomopatojen nematodlar (EPN), Nemata şubesi, Secernentea sınıfı, Rhabditida takımının Heterorhabditidae ve Steinernematidae familyalarına bağlı, yaşam döngüsünü tamamlamak için konukçu bir böceğe ihtiyaç duyan, bu döngü sırasında konukçu böceğin ölümüne neden olan ve biyolojisinin % 90' ından fazlasını toprak içinde geçiren obligat endoparazit canlılardır (Klein 1990, Ehlers 1996). Böcek paraziti nematodlar 17. yüzyıldan beri bilinmelerine rağmen (Nickle 1984), biyolojik mücadelede kullanılabilme potansiyelleri ilk olarak 1920'li yılların sonunda *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvası içinde tespit edilmeleri ile ortaya çıkmıştır (Glaser ve Fox 1930). Gaugler ve Kaya' nın (1990) yayınladığı "Entomopathogenic Nematodes in Biological Control" isimli kitap ise EPN' lerin günümüzdeki önemini kazanmasında bir kilometre taşı olmuş ve EPN' ler üzerinde yapılan araştırmalar bu tarihten sonra artış göstermiştir.

Günümüzde Antarktika hariç diğer tüm kıta ve iklim şartlarında yaşayabildikleri saptanan EPN' lerin (Griffin ve ark. 1990, Poinar 1990, Hominick ve ark. 1996, Hominick 2002), tarımsal ürünlerde zarar yapan 250' den fazla böceğe karşı etkili olması (Peters 1996), hedef dışı organizmalara zararının olmaması (Ehlers 2001),

konukçusunu arama yeteneği (Lewis ve ark. 1992, Grewal ve ark. 1994), klasik pülverizatörler ile rahatlıkla uygulanabilirliği (Georgis 1990, Koppenhöfer 2000, Wright ve ark. 2005), birçok pestisit ile uyumluluğu (Rovesti ve Dese 1990; Georgis ve Kaya 1998) ve açık alanlarda uygulama için *in vitro* sıvı kültürde büyük miktarlarda üretilibilmeleri (Lunau ve ark. 1993, Ehlers ve ark. 1998, Ehlers ve ark. 2000, Ehlers 2003), EPN'lerin pestisitlerin yanında iyi bir alternatif olduğunu göstermiş ve bu canlı grubunu cazip hale getirmiştir.

Entomopatojen nematodların, infektif juvenil (IJ) olarak da bilinen üçüncü dönem larvaları (J3) toprakta beslenmeksizin aylarca konukçularını arayabilme özelliğine sahiptirler (Glazer 2002). İnfektif juveniller, EPN'lerin konukçu böcek dışında geçen tek dönemleri olup, diğer evrelere göre ince ve hızlı yapıdadır. Susurluk ve Ehlers (2008), *Heterorhabditis bacteriophora* türünün IJ'lerinin uygun şartlarda toprakta 22 ay kalıcı olabileceğini göstermiştir.

İnfektif juveniller sindirim sistemlerindeki özel bir kesede buldukları bakteriler ile simbiyotik ilişki içerisindedirler. Enterobacteriaceae familyasına ait ve Gram (-) olan bu bakteriler, konukçu böceğin ölümünde ve EPN'lerin üremesinde önemli rol oynar. Bu simbiyont bakteriler doğada kendi başlarına hayatta kalamazken, *Heterorhabditis* türleri konukçu böceği bakteri olmaksızın öldüremez, *Steinernema* türleri ise bakteri olmadan konukçu böceği öldürmesine rağmen bu böcek içerisinde üreyemezler. Ayrıca EPN türü ile bakterisi arasında bir özelleşme bulunmaktadır. *Heterorhabditis* türü *Photorhabdus* spp., *Steinernema* türleri ise *Xenorhabdus* spp. bakterisi ile simbiyont ilişki içerisindedirler (Boemare ve ark. 1996).

Toprakta yaşayan IJ'ler konukçularını bulduktan sonra, konukçu larvasına doğal açıklıklardan (ağız, anüs, stigma vb.) veya yaralardan girer (Poinar 1979). *Heterorhabditis* spp. ağız kısmında bulunan diş benzeri çıkıntılar sayesinde segmentler arası zarları parçalayarak da giriş yapabilir fakat bu olay nadir görülür. IJ'ler larvaya girdikten sonra larvanın hemosölüne (vücut boşluğu) ulaşırlar ve simbiyont bakterisini ağız ve anüslerinden bırakırlar. Simbiyont bakteri larva hemolimfinde (vücut sıvısı) üremeye başladıktan 36-48 saat sonra larva septisemi (kan zehirlenmesi) nedeniyle ölür

ve bakteri, larvanın içini EPN' lerin üremesi için uygun bir ortam haline dönüştürür (Poinar 1975, Brown ve Gaugler 1997, Susurluk ve ark. 2001, Adams ve Nguyen 2002). Bakterinin üremesi ve çeşitli bileşikler yardımıyla larvanın içini parçalayarak yığın haline getirmesi ile besin sinyalinin alan IJ' ler (Strauch ve Ehlers 1998), buldukları dinlenme döneminden çıkarak dördüncü dönem larva (J4) dönemine ve daha sonra da ergin döneme geçerler. *Heterorhabditis* türlerinin biyolojileri gereği konukçu içerisindeki birinci dölün erginleri hermafrodit olup ve eşeysiz (automictic) ürerlerken, ikinci ve sonraki döllerin erginlerinde dişi ve erkek bireyler oluşur ve eşeyli (amphimictic) üreme gerçekleşir. *Steinernema* türlerinde ise bu durum görülmez ve birinci dölden itibaren eşeyli üreme gerçekleşir. Konukçu larvası içerisindeki besin miktarına göre genellikle iki, bazen de üç döl veren EPN' ler, larvada besin azalmaya başladıktan sonra ergin olmazlar ve IJ döneminde kalırlar. Larva içerisindeki besin tamamen bittiğinde ise larvayı patlatırlar ve toprağa geçerek yeni konukçularını aramaya başlarlar (Poinar 1979, Akhurst ve Boemare 1990).

Özellikle Avrupa' da örtü altı üreticiliğinde kullanılan EPN' lerin açık alan uygulamalarındaki en büyük sorunlarından ikisi yüksek sıcaklığa ve su kaybına olan hassasiyetleridir. Bu iki stres faktörü, EPN etkinliğini olumsuz etkilemesinin yanında ambalaj ömürlerini de kısaltmaktadır (Grewal ve ark. 1994, Strauch ve ark. 2000). Türe ve izole edildiği coğrafik koşula bağlı olmakla birlikte, ortalama 35-40 °C ve üstü sıcaklıklar EPN' lerin gelişimleri, üremeleri ve canlılıkları üzerine olumsuz etki yapar (Grewal ve ark. 1994). Akdeniz bölgesinin iklim şartlarında yaz aylarında sıcaklıklar 45-50 °C' yi bulabilmekte, bölgede yoğun şekilde örtü altı yetiştiriciliğinin yapıldığı seralarda ise sıcaklıklar 50-55 °C' yi geçmektedir. Yüksek sıcaklıkların yaşandığı bu bölgelerde toprak sıcaklığı da artmakta, EPN uygulamalarında başarı düşmekte ve beklenen etkinlik alınmamaktadır. Ayrıca EPN' ler toprak içerisinde rahat hareket etmeleri için ince bir film tabakası şeklinde suya ihtiyaç duyarlar. Yaz aylarında yağışsız geçen uzun süreli dönemler ve sulama sıkıntıları nedeniyle toprak kurumakta ve EPN etkinliğini düşürmektedir. Bunun yanında EPN' ler ticari preparat olarak formüle edilirken toz halinde kuru bir ortam yaratılarak dinlenme (kuyessens) durumuna girmeleri sağlanır. Su kaybına hassas olan türler kuraklığa daha az dayanacağından, EPN' lerin ambalaj ömrü de azalmış olur.

Entomopatojen nematodların yüksek sıcaklık ve su kaybına olan hassasiyetlerini kontrol eden genlerinin döllerine yüksek genetik aktarım oranına sahip olması sayesinde (Glazer ve ark. 1991, Somasekhar ve ark. 2002) bu iki sorunun yapay seleksiyon ile çözülebileceği düşünülmüş ve bu konu ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Shapiro ve ark. (1996), yüksek sıcaklığa dayanıklı olduğu bilinen bir *H. bacteriophora* ırkı ile ticari olarak kullanılan bir *H. bacteriophora* ırkını birbirleriyle hibritleyerek yüksek sıcaklıkla etkinlik, üreme ve hayatta kalma oranlarını karşılaştırmıştır. Hibrit ırkların ticari ırka göre üç faktörde de daha başarılı olduğunu belirlemiştir. Strauch ve ark. (2004), *H. bacteriophora*'nın su kaybına olan toleranslılığını belirlemek ve seleksiyon yoluyla su kaybına olan dayanıklılığı artırmak amacıyla sekiz farklı *H. bacteriophora* ırkı üzerinde denemeler yapmıştır. Yapılan denemeler sonunda deneme öncesi su kaybına adapte edilen ırkların, adapte edilmeyen ırklara göre su kaybına daha dayanıklı olduklarını bulmuştur.

Bu tez çalışmasında, Türkiye' nin farklı coğrafik bölgesinden izole edilen on adet *H. bacteriophora* ırkı, tolerans seviyelerinin belirlenmesi amacıyla yüksek sıcaklık ve su kaybına maruz bırakılmış, elde edilen sonuçlar yüksek sıcaklık için LT_{50-90} (Lethal Temperature), su kaybı için LC_{50-90} (Lethal Concentration) olarak ifade edilmiştir. Ayrıca, EPN' lere hassas olduğu bilinen *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) larvaları üzerinde ırkların etkinlikleri ve üreme potansiyelleri belirlenmiş ve sonuçlar LD_{50-90} olarak ifade edilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Salame ve ark. (2010), tarımsal ürünlerde zarar yapan toprak kökenli böceklere karşı etkin bir mücadele olanağı sağladığı için İsrail'in çeşitli bölgelerinden EPN ırkları izole etmişler ve bu ırkların çevresel stres faktörlerine dayanıklılıklarına, enfeksiyon kapasitelerine ve toprak içindeki hareket kabiliyetlerine bakmışlardır. Buradaki amaçları tüm kriterler bakımından en iyi ırkı bularak bunu biyolojik mücadeleye adapte etmek olmuştur. Bu nedenle, izole edilen ve denemeye alınan ırklara bir puanlama sistemi yapılmıştır. Bu sisteme göre eğer bir ırk bir denemede en yüksek değer ile istatistiksel olarak aynı olan değere sahipse 1 puan, istatistiksel olarak en düşük değer ile aynı ise -1 puan, arada bir değer ise 0 puan almıştır. Puanlama sonucunda en yüksek iki puan (+4 ve +3) *Steinernema feltiae* izolatları tarafından alınırken, *Heterorhabditis* spp. izolatlarındaki en yüksek puan 2 olmuştur. Fakat denemeye alınan ırklar, şu anda ticari olarak kullanılan ırklardan birçok kriterde daha iyi bir performans ortaya koymuştur.

Morton ve García-del-Pino (2009), *Capnodis tenebrionis*' e karşı üstün özellikle bir EPN ırkı elde etmek amacıyla İspanya'nın sert çekirdekli meyve üretimi yapılan iki bölgesi Katalunya ve Murcia' daki meyve bahçelerinden sırasıyla 610 ve 90 adet toprak örneği almış ve bu örneklerdeki pozitif EPN oranı yine sırasıyla % 5.2 ve % 20 olmuştur. Tüm pozitif örneklerden elde edilen EPN'lerin teşhis sonucu 10 adeti Steirnermatid, 3 adeti ise Heterorhabditid olmuş ve bu izolatlar *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) larvası üzerinde laboratuvarında çoğaltılmıştır. Morfometrik analiz ile de elde edilen veriler ile türlerin *S. feltiae* ve *H. bacteriophora* olduğu tespit edilmiştir. Denemede, elde edilen ırkların yüksek sıcaklık, su kaybı ve oksijensizliğe karşı dirençleri belirlenmiştir. Deneme sonuçlarına göre, 2 saat boyunca *S. feltiae* ırkları ve *S. carpocapsae* 25-35 °C arasında hayatta kalırken, *H. bacteriophora* ırkları 37 °C' ye kadar dayanabilmiş, 40 °C' de ise tüm nematodlar ölmüştür. Aynı zamanda yüksek sıcaklığın etkinlik üzerine etkisi de incelenmiş; 5 ve 37 °C' lerde *G. mellonella* üzerinde hiç enfeksiyon olmamıştır. Genel olarak 8-30 °C arasında enfeksiyonlar olurken, enfeksiyon sonrası en iyi üreme kapasitesi 15-25 °C arasında olmuştur. Bunun yanında 32 ve 35 °C' lerde konukçu ölümleri yaşanırken ölü larva içerisinden herhangi bir nematod çıkışı olmamıştır. Su kaybına ise bağıl nem üzerinden gidilmiş ve %97 bağıl nem koşullarında *H. bacteriophora* ırklarının hayatta kalma oranı % 44 ile % 70

arasında değişmiştir. *Steinernema* türlerinde ise bu oran % 80' lerin üzerinde olmuştur. Bağıl nem oranı % 93 ve % 88' e düşürüldüğünde ölüm oranları artmış ve nem %85' e düştüğünde tüm ırklarda % 100 ölümler gözlemlenmiştir.

Radova ve Trnkova (2010), toprak sıcaklığı ve nemliliğinin *S. carpocapsae* ve *S. feltiae* türlerinin virülenslikleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Virülenslik testleri *T. molitor* larvaları üzerinde 10, 15, 25 °C' lerde ve % 6 ve 12.5' luk nem oranlarında denenmiştir. *S. carpocapsae* 25 °C' de yapılan denemede *S. feltiae*' ye göre daha etkili olurken, 10 ve 15 °C' lerde *S. feltiae* daha etkili olmuştur. Genel olarak baktığımızda ise 10 °C' de yapılan virülenslik denemesinde iki tür de % 0 ile % 26 arasında değişen düşük oranlarda etkinlik göstermiştir. Bunun yanında % 6 nemli toprakta 15 °C' de yapılan etkinlik denemesinde iki tür için de etkinlik % 4' lerde olurken, % 12.5 nemli toprak etkinlik oranları *S. carpocapsae* için % 54, *S. feltiae* için ise % 70 olmuştur. Toprak nemi arttıkça etkinlik oranları da artmıştır.

Serwe-Rodriguez ve ark. (2004), konukçu su miktarındaki azalışın EPN gelişimine, çıkışına, etkinliğine ve ikincil çevre stres faktörlerine etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla, *S. carpocapsae* A10 ile enfekte edilmiş *G. mellonella* larvaları 56 gün boyunca 23 °C' lik kabinde dehidrasyona bırakılmış ve enfeksiyondan 44 gün sonra larvaların ağırlığının % 86' sını kaybetmeleri sağlamıştır. Daha sonra EPN tarafından enfekte edilmiş kadavralar ıslak kurutma kağıdı üzerine konarak tekrar su kazanmaları sağlanmış ve çıkış yapan IJ' ler belirli zamanlarda toplanarak enfeksiyon, çıkış ve diğer stres faktörlerine toleranslılıkları denenmiştir. Deneme sonucunda, kurak ortama maruz bırakılan IJ' ler kontrole göre hem etkinlikte hem de diğer çevre faktörlerine (Ph ve yüksek sıcaklık) daha dayanıklı olduğu ortaya çıkmıştır. Örneğın, enfeksiyondan 17 gün sonra kurak larvalardan çıkan IJ' lerin etkinliği % 87 olurken kontrol larvalarından çıkan IJ' lerin etkinliği % 72 seviyesinde kalmıştır. 24 gün ve sonrasında ise IJ etkinlik oranları % 100' ü bulmuştur. Aynı zamanda kontrol ve kurutulmuş larvalardan çıkış yapan IJ'lerin protein profilleri incelenmiş ve kuraklığa maruz bırakılan IJ' lerde stres faktörlerine dayanıklılık sağlayan bazı proteinlerin ortaya çıktığı belirlenmiştir.

Liu ve Glazer (2000), İsrail'den izole edilen ve *Heterorhabditis* cinsine ait EPN' lerin su kaybına olan toleranslarını belirlemek amacıyla bir çalışma yapmıştır. Bu kapsamda ilk olarak *H. bacteriophora* HP88 ırkının anhidrobiyosise girmesi için en uygun

koşullar belirlenmiştir. İlk olarak 96 saat boyunca % 97 ve % 93 bağıl neme maruz bırakılan IJ' lerde hayatta kalma oranları % 70' lerin üzerindeyken, % 88 ve % 85 bağıl neme maruz bırakılan IJ' lerde hayatta kalma oranları % 10' ların altına düşmüş hatta ölüm oranları % 100' ü bulmuştur. Bunun yanında % 97 ve % 93 bağıl neme sırayla 24, 48, 72 ve 96 saat maruz bırakılan IJ' lerdeki hayatta kalma oranları % 68-79 arasında değişiklik göstermiş fakat istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. Bağıl nem kademeli olarak düşürüldüğünde (% 97 > 93 > 88 > 85) 24-72 saatlik periyotlarda IJ' lerin hayatta kalma oranları (% 30), doğrudan düşük bağıl neme maruz bırakılanlardan (% 0) ve önce yüksek bağıl neme adapte edilip sonra doğrudan düşük bağıl neme maruz bırakılanlara göre (% 15) daha fazla olmuştur. % 97 bağıl nemde IJ' lerin hayatta kalma oranları % 70-85 arasında sabitlenirken % 93 bağıl nemde % 37-60 arasında sabitlenmiştir. Bu sonuçlar, kurak ortam ve sonucunda IJ' den kaybolan suyun, hayatta kalma oranını olumsuz yönde etkilediği bulunmuştur. Bunun yanında farklı iklimatik bölgelerden izole edilen 12 adet *H. bacteriophora* izolatının aynı bağıl nemde (% 97) farklı hayatta kalma oranları gösterdiği de saptanmıştır.

Finnegan ve ark. (1999), *Heterorhabditis* cinsine ait EPN'lerin genellikle kıyı bölgelerdeki tuzlu ve yüksek sıcaklığa sahip olan kumlu topraklarda yaşamaları nedeniyle bu cinse ait bireylerin tuzlu topraklardaki enfeksiyon kabiliyetini incelemişlerdir. Tüm IJ' ler *G. mellonella* larvaları üzerine uygulanmış ve tuzlu-kumlu toprakta % 25.6 ölüm, tuzlu olmayan kumlu toprakta ise % 95 ölüm meydana getirmişlerdir. Yüksek sıcaklıklardaki uygulamalarda ise etkinlik düşmüş ve tuzsuz toprakta etkinlik 20 °C' de % 96.5, 39 °C' de % 17.5 iken, tuzlu topraklarda 20 °C' de % 25.6, 39 °C' de ise % 18.3 olmuştur. Sulu süspansiyonlarda hayatta kalma oranları Kuzey Batı Avrupa'dan izole edilen ırklarda deniz suyunda 39 °C' de 1 saat boyunca % 95 üzerinde olurken, distile suda aynı süre ve sıcaklıkta bu oran % 0 olmuştur. Sonuç olarak tuzluluk, IJ enfeksiyon kabiliyetini azaltırken sığa dayanımı artırmıştır.

Steinernema carpocapsae ve *S. feltiae*, tarımsal ürünlerde zararlı böceklerle karşı biyolojik kontrol amacıyla ticari olarak yapay sıvı ortamda kitle halinde üretilmektedir. Hirao ve Ehlers (2009), sıvı kültürde üretimde en uygun sıcaklıkları belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada *S. carpocapsae* için 23, 25, 27 ve 29 °C' lerde, *S. feltiae* için 20, 23, 25, 27 °C' lerde üretim yapmışlar ve sıcaklık farkının sadece *S.*

carpocapsae' de 29 °C' de çok az olumsuz etki yaptığını saptamışlardır. Uterustaki yumurta sayısı *S. carpocapsae*' de en fazla 27 °C' de bulunurken, en iyi üreme 25 °C' de saptanmıştır. Her iki tür için de en iyi üreme oranları 15 gün sonunda 25 °C' de bulunmuştur. *S. carpocapsae*, optimal olmayan sıcaklıklardan daha çok etkilenirken, farklı sıcaklıklar her ırk için de üreme üzerine olumsuz etki yapmıştır.

Chen ve ark. (2003), laboratuvar koşullarında 10, 15 ve 20 °C' lerde *Delia radicum* larvası üzerinde *S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. arenarium*, *H. megidis* ve *H. bacteriophora* türlerinin etkinliklerini denemişlerdir. 10 °C' de sadece *S. feltiae* etkili olurken, *H. bacteriophora* sadece 20 °C' de etkili olmuş, diğer üç tür ise 15 ve 20 °C' lerde etkili olmuştur. Sıcaklık tüm türlerde konukçu arama yeteneğini olumsuz yönde etkilemiştir. Ayrıca hareket kabiliyeti de düşük sıcaklıklar ile birlikte azalmıştır. *S. feltiae*, *S. arenarium* ve *H. megidis* türlerinin hareketlilikleri, ortamda konukçu varlığında etkilenirken *S. carpocapsae* ve *H. bacteriophora* etkilenmemiştir. Yapılan çalışmalara ek olarak aynı sıcaklıklarda *S. feltiae* ve *S. carpocapsae* için penetrasyon kabiliyeti de gözlenmiştir. İnokulasyonu izleyen 6-30 saatlik aralıkta *S. carpocapsae* tüm sıcaklıklarda konukçusuna *S. feltiae*'den daha fazla yapışırken, 20 °C' de en yüksek miktara ulaşmış fakat penetrasyonu 30 saat sonunda yapabirmiştir. *S. feltiae* ise tüm sıcaklıklarda diğer türlere göre daha erken saatlerde penetrasyon gerçekleştirmiştir.

Salem ve ark. (2008), sıcaklığın IJ' lerin etkinliği ve üremesi üzerine yaptıkları çalışmada *Heterorhabditis* türlerinin hayatta kalma oranlarının 15-30 °C arasında en yüksek olduğunu fakat en optimal sıcaklığın 25 °C olduğunu tespit etmişlerdir. *Steinernema* türleri daha düşük sıcaklıklarda daha iyi sonuçlar verirken her iki tür için de 30 °C ve üstü sıcaklık olumsuz etkiler ortaya çıkarmıştır. Genel olarak *Heterorhabditis* cinsindeki türler 20-30 °C arasında daha iyi etkinlik oranları verirken 15 ve 35 °C' lerde düşük etkinlik oranları ortaya koymuştur. Bu sonuçların yanında *H. indicus* SAA2 ırkı 15 °C' de hiçbir larvayı öldürememiştir. Genel olarak veriler ele alındığında tüm ırkların için en ideal üreme sıcaklığı 30 °C bulunmuştur.

Grewal ve ark (2002), çeşitli hayvanlar üzerinde yapılan genetik analizler sonucunda, yaşam süreleri ile çevresel stres faktörlerinin güçlü ilişki içinde olduğunun bulunması nedeniyle farklı stres faktörlerinin (sıcaklık, su kaybı, ultraviyole, oksijen yetersizliği) çeşitli bölgelerden izole edilmiş EPN izolatlarının yaşam süreleri üzerine etkisini

araştırmışlardır. Bu kapsamda, sıcaklık denemesinde 40 °C' de 2 saat, su kaybı denemesinde ise 25 °C ve % 25 gliserolde 72 saat boyunca EPN izolatlarını denemeye almışlardır. Deneme sonucunda tüm izolatlar farklı tepkiler gösterse de özellikle sıcaklığın yaşam süresi ile ilişkili olduğu fakat su kaybı ile yaşam süresinin herhangi bir ilişki göstermediği bulunmuştur.

Koppenhöfer ve ark. (1997), EPN' lerin ölü kadavradan çıkışlarının ve hayatta kalma oranlarının toprak nemi ile bir ilgisi olup olmadığını anlamak için bir araştırma yapmışlardır. Bu amaçla *G. mellonella* larvaları *S. carpocapsae*, *S. riobravis*, *S. glaseri* ve *H. bacteriophora* ile inokule edilmiş ve ölen larvalar çok kuru (-500 MPa) ile nemli (-0.006 MPa) değerleri arasında farklı ıslaklıktaki topraklar içerisine konmuştur. Çok kuru toprakta hiçbir larvadan nematod çıkışı olmazken -40 MPa'da *S. carpocapsae* ve *S. glaseri*' den çok az bir miktar çıkış olmuştur. Bunun yanı sıra -5 MPa ve daha büyük değerlerdeki ortamda fazla miktarlarda çıkışlar gözlemlenmiş fakat *S. riobravis* sadece -0.3 MPa ve sonrasındaki değerlerde çıkış yapmıştır. Ayrıca topraktaki nem miktarı ile ölü larvadan çıkış yapan IJ' lerin enfeksiyon kapasiteleri arasındaki bağlantı araştırılmış ve kurak topraklarda bekletilen ölü larvalardan çıkış yapan IJ' lerin daha az enfeksiyon yeteneğine sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

Koppenhöfer ve Fuzy (2007), toprak nemliliğinin dört farklı entomopatojen nematod türü *H. bacteriophora*, *H. zealandica*, *S. scarabaei* ve *S. glaseri* performansı üzerine etkisini araştırmışlardır. Enfeksiyon ve larvaya yerleşme kabiliyeti için *P. japonica* larvası kullanılmıştır. Nematod enfeksiyon kapasitesi ortalama nemli topraklarda (-10 ile -100 kPa arası) en yüksek seviyelere ulaşırken, ıslak (-1 kPa) ve hafif kuru (-1000 kPa) topraklarda daha düşük seviyelerde olmuştur. Kuru toprakta (-3000 kPa) sadece *S. scarabaei* aktivite göstermiştir. Kalıcılık testlerinde petek güvesi larvası kullanılmış ve *Heterorhabditis* türleri için kalıcılık -10 kPa' da kısa, -100 kPa' da ortalama, -1000 kPa' da iyi ve -3000 kPa' da en yüksek seviyesine ulaşmıştır. Bununla birlikte *S. scarabaei* kalıcılığı nem ile bir ilişki kurmamıştır. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde toprak neminin türlerin kalıcılığı ve etkinliği üzerinde farklı farklı etkiler gösterdiği saptanmıştır.

Shapiro-Ilan ve ark (2009), yeni tespit edilen entomopatojen nematod *H. georgiana* (Kesha ırkı)' nın biyolojik mücadeledeki potansiyelini araştırmak amacıyla çeşitli EPN

türleri üzerinde virülenslik, çevre şartlarına dayanıklılık ve konukçu arama yeteneği üzerine denemeler yapmışlardır. Çeşitli sıcaklıklarda petek güvesi üzerinde yapılan virülenslik denemelerinde en etkin olunan sıcaklıklar 17, 25 ve 30 °C' ler olurken en düşük etkinlikler 10 ve 13 °C' lere gerçekleşmiştir. *H. georgiana* için konuşulduğunda beyaz tuzakta sadece 17, 25 ve 30 °C' lere çıkış olmuştur. Bunun yanında en fazla çıkış ise 25 °C' de olmuştur. Su kaybı ve yüksek sıcaklığa toleranslılığa genel olarak bakıldığında *Steinernema* türleri, *Heterorhabditis* türlerine göre daha iyi sonuçlar ortaya koymuştur. Bir günlük su kaybına maruz bırakılmadan sonra en iyi toleranslılığı (EPN ölüm oranına göre) sırasıyla *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. riobrave* ve geri kalan üç *Heterorhabditis* türü takip etmiştir. İki günlük su kaybına maruz bırakıldıktan sonra da sonuç önceki deneme gibi olmuş sadece *S. riobrave*'deki ölüm oranı Heterorhabditidlerden istatistiksel olarak aynı olmuştur. Yüksek sıcaklığa toleranslılık ise 37 °C' deki 3 saatlik denemeden sonra EPN ölüm oranına göre belirlenmiş ve toleranslılık sırasıyla *H. bacteriophora* ve *H. indica*' da en yüksek, *H. georgiana* ve *S. feltiae*' de en düşük olmuştur. Tüm bu denemelerin yanında 10 °C' de bazı türlerin petek güvesini enfekte edip edemeyeceği de araştırılmış ve sadece *S. feltiae* ve *H. indica* hatırı sayılır miktarda ölüme neden olmuştur.

Shapiro-Ilan ve ark. (2005), yeni bulunan entomopatojen nematod ırkı *H. mexicana* (MX4)' nin biyolojik mücadeledeki potansiyelini araştırmak amacıyla farklı EPN türleri üzerinde etkinlik, çevre şartlarına toleranslılık ve konukçu arama yetenekleri üzerine karşılaştırmalı denemeler yapmışlardır. Su kaybı denemeleri % 85 bağıl neme sahip toprakta 48 saatlik denemelerde yapılırken, yüksek sıcaklık denemeleri 40 °C' de 2 saat olarak planlanmıştır. Yüksek sıcaklığa toleranslılık denemesinde IJ' lerin hayatta kalma oranlarına göre yapılan değerlendirmede *S. riobrave* diğer tüm ırklara göre en az 5 kat daha iyi toleranslılık gösterirken geri kalan tüm türler istatistiksel olarak aynı sonuçlar ortaya koymuşlardır. Su kaybına toleranslılıkta ise en iyi türler sırasıyla *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae* ve *S. feltiae* olmuştur.

Patel ve ark. (1997), entomopatojen nematod türleri *S. glaseri*, *S. feltiae*, *S. carpocapsae* ve *S. riobrave*' in lam üzerinde hızlı, % 1' lik agaroz içerisinde ise yavaş su kaybına karşı hayatta kalma oranlarını incelemişlerdir. Denemede kullanılan 75 günlük IJ' ler lam üzerindeki yüzeysel suyun uzaklaştırılmasıyla sağlanan % 0, 20, 40, 60 ve 80 bağıl

neme maruz bırakılmış ve hayatta kalma oranları rehidrasyon sonucu hareket kabiliyeti ile ölçülmüştür. Deneme sonucunda en az su kaybı yaşayan ve doğal olarak su kaybına en toleranslı tür *S. carpocapsae* olmuştur. Yaşlı popülasyonlarda toleranslılık gençlere göre daha düşük olurken, genç popülasyonlarda bulunan kılıfın bunda bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Agaroz üzerindeki yavaş su kaybı denemesinde ise hayatta kalma oranları hızlı su kaybı yaşanan denemeye oranla daha yüksek çıkmıştır.

Solomon ve ark. (1999), üç farklı *S. feltiae* ırkının (IS-6, IS-15 ve N8) su kaybına olan toleranslılığını belirlemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Yavaş dehidrasyon (%97 bağıl nemde üç gün boyunca 23 °C' de ön bekletme) ile tüm ırkların uyuşuk döneme (kuyessens) geçmesi sağlamış ve bu durum daha kurak şartlara (% 75 ve % 85 bağıl nem) daha iyi dayanmalarını sağlamıştır. Negev çölünden izole edilen IS-6 ırkı su kaybına en iyi dayanımı gösterirken kuzey İsrail'den izole edilen IS-15 ırkı ikinci en iyi toleranslılığı göstermiştir. En kötü toleranslılığı gösteren ırk ise Almanya'dan izole edilen N8 ırkı olmuştur.

Raja ve ark. (2011), Hindistan'dan izole edilmiş olan *S. siamkayai* ırkının temel ekolojik karakterlerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada sıcaklığın nematod etkinliğine, gelişmesine, arama davranışına ve konukçu aralığına olan etkisini belirlemişlerdir. Elde edilen veriler göstermiştir ki 15-37.5 °C arasında larval ölüme neden olan ve 20-35 °C arasında üreyebilen bu EPN ırkının sıcağa adapte olmuş bir ırk olduğu belirlenmiştir. Etkinlik denemelerinde, her biri EPN türlerine hassas olduğu bilinen larvalar kullanılmış ve larva başına 60 IJ gelecek şekilde uygulama yapılmıştır. Bu larvalardaki ölüm oranları sırasıyla *G. mellonella* (% 100), *Spodoptera exigua* (% 85), *Ceratitis capitata* (% 60), *Cydia splendana* (% 55), *Tenebrio molitor* (% 45), *Curculio elephas* (25%) olmuştur. *Galleria mellonella* ölüm oranı farklı ortamlarda denenmiş (kum, filtre kağıdı, kumlu filtre kağıdı) ve her ortamda ölüm oranı %100 olmuştur. Bunun yanında IJ' lerin larva içerisine giriş yapma kapasiteleri de incelenmiş ve 100 IJ üzerinden yapılan değerlendirmede en fazla giriş (44 IJ/larva) yüzeyde olurken en az giriş (13 IJ/larva) beş cm derinde olmuştur. Denemede on cm ve altına ise larva ölümleri % 0' a inmiştir. Tüm çalışmalara ek olarak yapılan bakteri incelemesinde ise bakteri gelişimi 15-41 °C' ler arasında görülmüştür.

Koppenhöfer ve Fuzy (2003), New Jersey (A.B.D.) Scarabaeidae familyasına ait türlerin çoğunlukta yaşadığı çim alanlarından izole edilen EPN türü *S. scarabaei*' nin ekolojik karakterlerini tanımlamak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Laboratuvar koşullarında *S. scarabaei* çeşitli böcek türlerinin olduğu alanlara uygulanmış ve en iyi kontrolü Scarabaeidae larvalarında sağladığı görülmüştür. En iyi enfeksiyonu iki cm derinlikte bulunan larvalarda yapan bu tür, 17.5-25 °C arasında da enfeksiyonlar yapabilmektedir. Konukçusunu arama yeteneği ve Scarabaeidae larvalarına olan adaptasyonu nedeniyle, *S. scarabaei* iyi bir biyolojik mücadele potansiyeli sunmaktadır.

Spence ve ark. (2011), biyolojik mücadele ajanı olan entomopatojen nematodların su kaybına uğratılmış böcek kadavrası içinde toprağa uygulanabilirliğini araştırmak amacıyla böcek kadavrasındaki su kaybının EPN' lerin üremesi ve etkinliği üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu kapsamda yapılan çalışmalarda *G. mellonella* larvası kullanılmış ve üç farklı EPN türü *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae* ve *S. riobrave* kullanılmıştır. Denemede, IJ çıkışı olan su kaybetmiş kadvralar, çıkış yapan IJ miktarı ve etkinlikleri ve toprakta bulunan suyun su kaybına uğramış kadvralardan IJ çıkışı üzerine etkisini incelenmiştir. Üç tür arasında *H. bacteriophora* en düşük oranlara sahip olmuştur. Su kaybı, kadvralardan çıkan IJ miktarını önemli biçimde etkilemiştir olmasına rağmen su kaybına uğramış kadvraların ıslak toprağa konmasından sonra IJ çıkışında artışlar meydana gelmiş ve böcek kadavrası içinde yapılacak EPN uygulamalarının ileride mümkün olabileceğini göstermiştir.

Jagdale ve Gordon (1998), 4 farklı *Steinernema* izolatını 20 ve 25 °C' de; mümkün olduğu zamanlarda da 15 ve 10 °C' de iki yıl boyunca yetiştirmiş ve yüksek sıcaklık ile dondurucu soğuklara olan toleranslılıklarını belirlemişlerdir. Tüm izolatlarda, yetiştirme sıcaklıkları arttıkça tolerans seviyeleri (LT₅₀) de artmıştır. *Steinernema riobrave* en yüksek LT₅₀ değerine sahipken *S. feltiae* en düşük değere sahip olmuştur. Aşırı soğuğa toleranslılık da ise yetiştirme sıcaklıkları arttıkça soğuğa dayanım düşmüştür. Soğuğa dayanan nematodların etkinlikleri, kontrol grubundan sadece % 10 daha az olduğu belirlenmiştir. *Steinernema feltiae*, tüm izolatlar arasında soğuğa en dayanıklı izolat olmasına rağmen daha yüksek sıcaklıklarda yetiştirildiğinde soğuğa dayanımları düşmüştür.

Hang ve ark. (2007), sıcaklığın iki adet Kore izolatu, (*S. glaseri* Dongrae ve *S. longicaudum* Nonsan) etkinliği, gelişimi, üremesi ve hareket kabiliyeti üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmalara ek olarak simbiyotik bakterilerinin (*Xenorhabdus poinarii* –*S. glaseri* ve *Xenorhabdus* sp.-*S. longicaudum*) farklı sıcaklıklarda gelişimi ve etkinliği üzerine araştırmalar yapmışlardır. Bu kapsamda nematodlar ile enfekte edilmiş böcekler ve simbiyotik bakteri 13, 18, 24, 30 ve 35 C’ lere konmuş ve çeşitli parametreler incelenmiştir. İki nematod izolatu da tüm sıcaklıklarda ölümlere neden olurken 24 ve 30 C’ lerde bu oran daha fazla olmuştur. Bunun yanında *S. longicaudum* soğuğa daha iyi adapte olmuş ve 18 C’ de diğer türden daha yüksek ölüm oranı göstermiştir. İki nematod türü de tüm sıcaklıklarda ergin olmuş fakat 13 ve 35 C’ de dl vermemiştir. *Steinernema glaseri*’nin en iyi dl verdiği sıcaklık 24 ve 30 C olurken, *S. longicaudum* için sadece 24 C iyi olmuştur. Bunun yanında *S. glaseri* 24 C’ de iyi hareket ederken *S. longicaudum* 24 ve 30 C’ lerde iyi hareket kabiliyeti göstermiştir. Her iki bakteri türü de tüm sıcaklıklarda gelişim gösterirken *Xenorhabdus* sp. düşük sıcaklıklarda diğer türden daha etkili olmuştur.

Chung ve ark. (2010), Kore’nin farklı coğrafik alanlarından izole edilmiş iki *H. bacteriophora* izolatu üzerinde ekolojik çalışmalar yapmışlardır. Sıcaklığın ve uygulama dozunun, etkinlik ve üreme yeteneği üzerine etkisini araştıran çalışmada konukçu olarak *G. mellonella* kullanılmış ve sıcaklık arttıka LD₅₀’nin düştüğü gözlemlenmiştir. Enfeksiyon için optimal sıcaklık *H. bacteriophora* Jeju için 30 C olurken *H. bacteriophora* Hamyang için 24 C olmuştur. Popülasyonun yarısını öldürmesi beklenen sreye (Lethal time – LT₅₀) *H. baceriophora* Jeju için 13 ve 35 C’ lerde ulaşılırken, *H. bacteriophora* Hamyang için 18 ve 30 C’ lerde ulaşılmıştır. Enfeksiyondan sonra konukçu içerisinden ilk çıkış süreleri sıcaklıkla beraber azalmış, beyaz tuzaktaki çıkış zamanları da sıcaklık arttıka uzamıştır. En yüksek üreme sayıları ise 24 C’ de grlmştir.

Gonzalez-Ramirez ve ark. (2000), çim zararlısı *Mocis latipes* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)’ in larva, prepupa ve pupa evrelerinin *H. bacteriophora*’ ya olan duyarlılığını belirlemek amacıyla laboratuvar koşullarında yürüttükleri bir çalışmada, her bir evre için yirmi birey içeren gruplar oluşturmuşlar ve tüm gruplar üzerinde 0, 5, 10, 20, 40, 60 ve 120 IJ/birey dozlarını birer ml steril saf su içinde

uygulayarak test etmişler ve uygulama sonrası 5 gün boyunca larva, prepupa ve pupa ölümlerini günlük olarak kontrol etmişlerdir. Deneme sonunda zararlının *H. bacteriophora*' ya karşı en duyarlı olan evrelerini larva ve prepupa dönemleri olarak tespit etmişler ve *H. bacteriophora*' nın bu evreler üzerinde % 22.5 ile 100 arasında değişen oranda etkinlik gösterdiğini, prepupa evresine 10 IJ/birey uygulama dozunda ölüm oranının % 97.5 ile 100 arasındaki değerlere ulaştığını bildirmişlerdir. Pupa evresi üzerindeki etkinliğin EPN konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak arttığını ve etkinlik 8 değerinin % 27.5 ile 41.3 değerleri arasında değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca *H. bacteriophora*' nın zararlının larvaları üzerindeki LC₅₀ değerini 5.26-37.66 IJ/larva, LT₅₀ değerini ise 1.5-4.3 gün olarak hesaplamışlardır.

Kepenekçi ve ark. (2004), kestane ağaçlarında meyve zararlısı olan Kestane hortumluböceği, *Curculio elephas* Gyllenhal, 1836 (Coleoptera: Curculionidae)' a karşı EPN' lerin etkinliğini değerlendirmek amacıyla laboratuvar koşullarında yaptıkları bir çalışmada, *H. bacteriophora*' nın Tur-H1 ve Tur-H2 ırklarını zararlının son dönem larvaları üzerinde 10, 15 ve 25 °C olmak üzere üç farklı sıcaklık derecesinde ve 0, 100, 500 ve 1000 IJ/larva olmak üzere dört ayrı nematod konsantrasyonunda uygulamışlardır. Çalışma sonunda *H. bacteriophora*' nın Tur-H2 ırkının test edilen tüm sıcaklık derecelerinde zararlı larvalarına karşı olan etkinlik değerinin oldukça yüksek seviyede olduğunu, özellikle 25 °C' de larvalar üzerinde % 96.5 oranında etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca Tur-H1 ve Tur-H2 ırklarının 15 C' deki LC₅₀ değerlerinin sırasıyla 266 ve 494 IJ/larva olduğunu bildirmişlerdir.

Susurluk ve ark. (2009), çim teke böceği, *Dorcadion pseudopreissi* Breuning, 1962 (Coleoptera: Cerambycidae)' ye karşı *H. bacteriophora*' nın etkinliğini değerlendirmek üzere laboratuvar koşullarında yürüttükleri bir çalışmada, zararlıya karşı 25 °C' de 50, 100 ve 150 IJ/larva dozlarında *H. bacteriophora* uygulaması yaparak bu nematodun zararlı üzerindeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda, sırasıyla her bir uygulama dozundaki etkinlik değerinin sırasıyla % 55, 65 ve 85 oranlarında olduğunu bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Laboratuvarda *Galleria mellonella* Larvalarının Üretimi

Entomopatojen nematodların topraktan izolasyonunda ve *in vivo* üretimlerinde, Büyük Balmumu Güvesi veya Petek Güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın son dönem (4. dönem) larvaları kullanılmaktadır. Petek güvesi larvalarının laboratuvar şartlarında kolay üretilmesi, larvaların iri olması ve EPN'lere karşı hassasiyetleri nedeniyle EPN çalışmaları için en uygun konukçudur. (Bedding ve Akhurst 1975).

Galleria mellonella yumurtaları, üstüne sık gözenekli tel gerilmiş (gözenek çapı 2 mm) cam kavanozlarda 30-32 °C'ye ayarlı inkübatör içerisinde yetiştirilmiştir. Yumurtadan çıkan larvaların beslenmesi için bal, gliserin, kepek, mısır unu, soya unu, süt tozu ve maya karışımından oluşan bir besin ortamı kullanılmıştır (Kaya ve Stock 1997). Ayrıntılı besin içeriği aşağıda verilmiştir (Çizelge 3.1). Hazırlanan besin ortamına dikkatlice konan yumurtaların son dönem larvaya gelmesi beklenmiş (~ 4 hafta) ve son larva dönemine ulaşıldığında larvalar kavanozlardaki besin ortamlarından ayıklanarak EPN'lerin etkinlik ve üreme denemelerinde kullanılmıştır. Larva üretimine devam edebilmek için gerekli miktarda larva ayrılarak pupa ve sonrasında ergin olması ve tekrar yumurta bırakması sağlanmıştır.

Çizelge 3.1. *G. mellonella* besin ortamının içeriği

200 g bal
200 g gliserin
200 g kepek
150 g mısır unu
100 g soya unu
100 g süt tozu
50 g maya



Şekil 3.1. İnkübatör içerisindeki farklı *Galleria mellonella* dönemlerinin bulunduğu kavanozlar



Şekil 3.2. Kavanoz içerisindeki *Galleria mellonella* larvaları



Şekil 3.3. Besin ortamı



Şekil 3.4. Besin ortamından ayıklanmış larvalar

3.2. Çalışmada Kullanılan *Heterorhabditis bacteriophora* Irkları

Türkiye' nin farklı iklim bölgelerinden izole edilen 10 *H. bacteriophora* ırkı, yüksek sıcaklık ve su kaybına olan dayanıklılıklarını belirlemek ve etkinliklerini karşılaştırmak amacıyla denemelerde kullanılmıştır. Irkların isimleri ve izole edildiği bölgeler aşağıda belirtilmiştir (Şekil 3.5).



İrk No/Ad	İzole Edildiği İl
17	Kırklareli
13	Yalova
876	Çanakkale
HB6	Antalya
HB10	Adana
HB11	Erzurum
H-101	Samsun
HAN	Ankara
HSU	Şanlıurfa
HIZ	İzmir

Şekil 3.5. Irkların izole edildiği iller (★)

Kullanılan EPN ırkları, laboratuvar ortamında Kaya ve Stock (1997)' a göre *in vivo* olarak yetiştirilmiştir. Irklar, *G. mellonella* üzerinde üretildikten sonra IJ dönemindeki bireyler kültür kaplarına konarak buzdolabında +4 °C' de saklanmıştır. Saprofit mikroorganizmaların üremesini önlemek amacıyla kültürler Ringer solüsyonu (NaCl 9g, KCl 0.42g, CaCl₂ x 2H₂O 0.37g, NaHCO₃ 0.2g, saf su 1.000 ml) içerisinde saklanmaktadır (Ringer 1882).

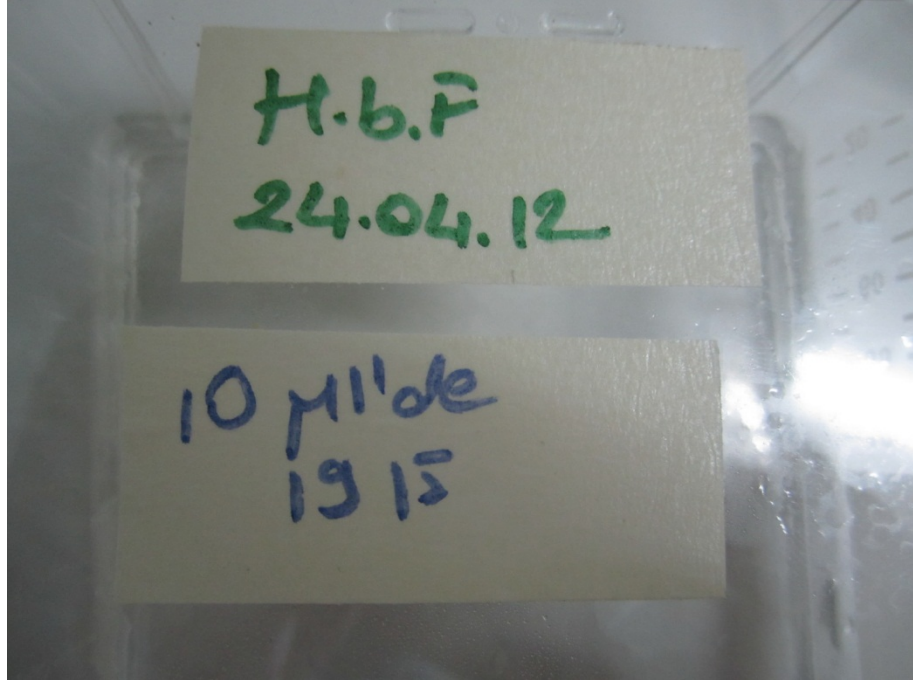


Şekil 3.6. +4 °C’ de muhafaza edilen EPN kültürleri

Etkinlik denemelerinde larva başına uygulanacak IJ sayısı önemli olduğundan, kültür kaplarındaki toplam birey sayısı ve doz belirlemesi yapılmıştır. Bunun için kültür kaplarından 10’ ar μl örnek alınmış ve stereo mikroskop altında sayım yapılmıştır. Bu işlem beş tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve 10 μl ’ deki ortalama IJ sayısı belirlendikten sonra kültür kabının üzerine not edilmiştir.



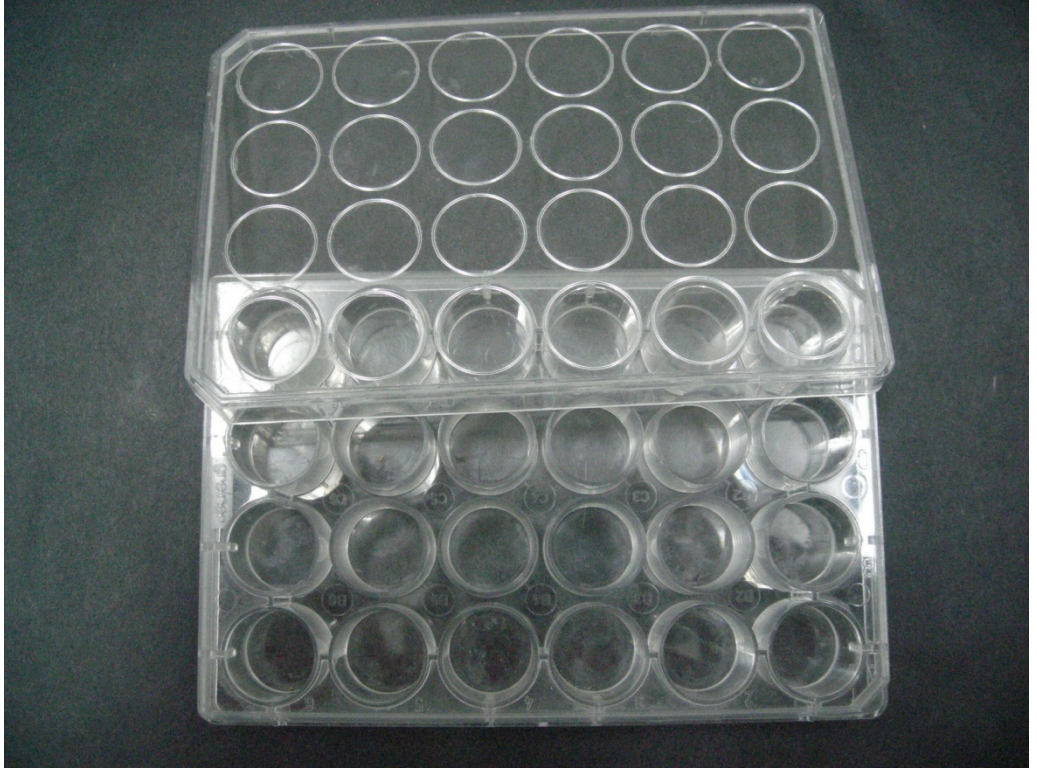
Şekil 3.7. EPN' lerin stok olarak muhafaza edildiği kültür kapları



Şekil 3.8. Doz belirleme sonrası kültür kaplarının üzerindeki bilgiler

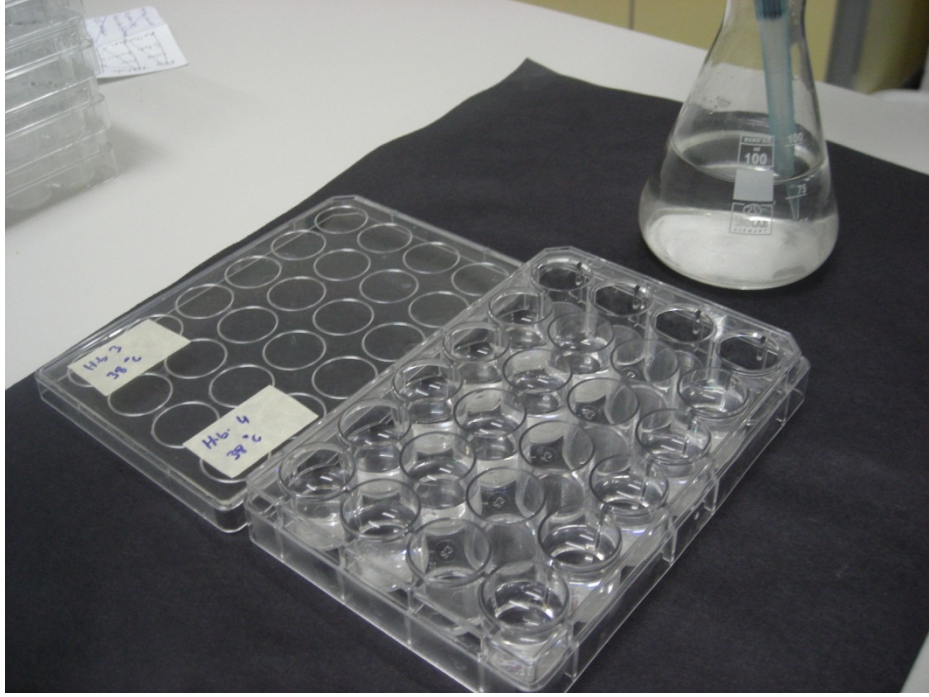
3.3. Yüksek Sıcaklığa Toleranslılığın Belirlenmesi

Yüksek sıcaklığa toleranslılık denemeleri, her ırk için 32, 34, 36, 38, 40 ve 42 °C' lerde yapılmıştır. Tüm dozlar 24 kuyulu (4x6) hücre kültürü kaplarında (24-Well plate – kuyu çapı 1.4 cm, kuyu hacmi 3 cm³) uygulanmış ve denemeler beş tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.9. Denemelerin yapıldığı 24 kuyulu hücre kültürü kabı

Denemelere başlamadan önce, +4 °C' de saklanan ırklar buzdolabından çıkartılarak iki saat boyunca oda sıcaklığına adapte olmaları beklenmiştir. Irklar oda sıcaklığına adapte olduktan sonra, 24 kuyulu hücre kültürü kabının her bir kuyusuna 500 adet IJ gelecek şekilde kültür kaplarından mikropipet ile kuyulara konmuştur (Ortalama 30-50 µl sıvı içerisinde). Daha sonra kuyulardaki IJ' lerin üzerine oda sıcaklığındaki 500 µl saf su eklenmiştir. Hücre kültürü kapları parafilm bant ile kapatıldıktan sonra sıcaklık uygulamasına hazır hale gelen IJ' ler, iki saat öncesinden deneme yapılacak sıcaklığa ayarlanmış inkübatörün içine konarak yine iki saat boyunca belirlenen sıcaklığa maruz bırakılmıştır.

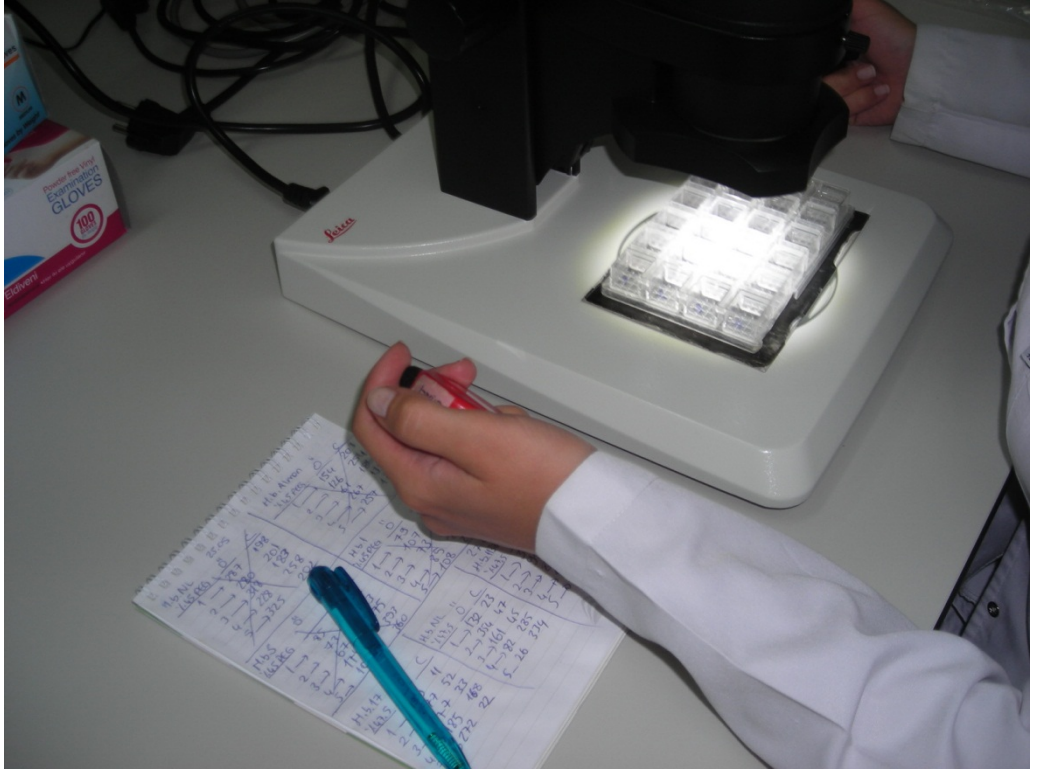


Şekil 3.10. Yüksek sıcaklığa toleranslılık denemesi öncesinde kuyulardaki IJ' ler üzerine oda sıcaklığındaki saf suyun eklenişi

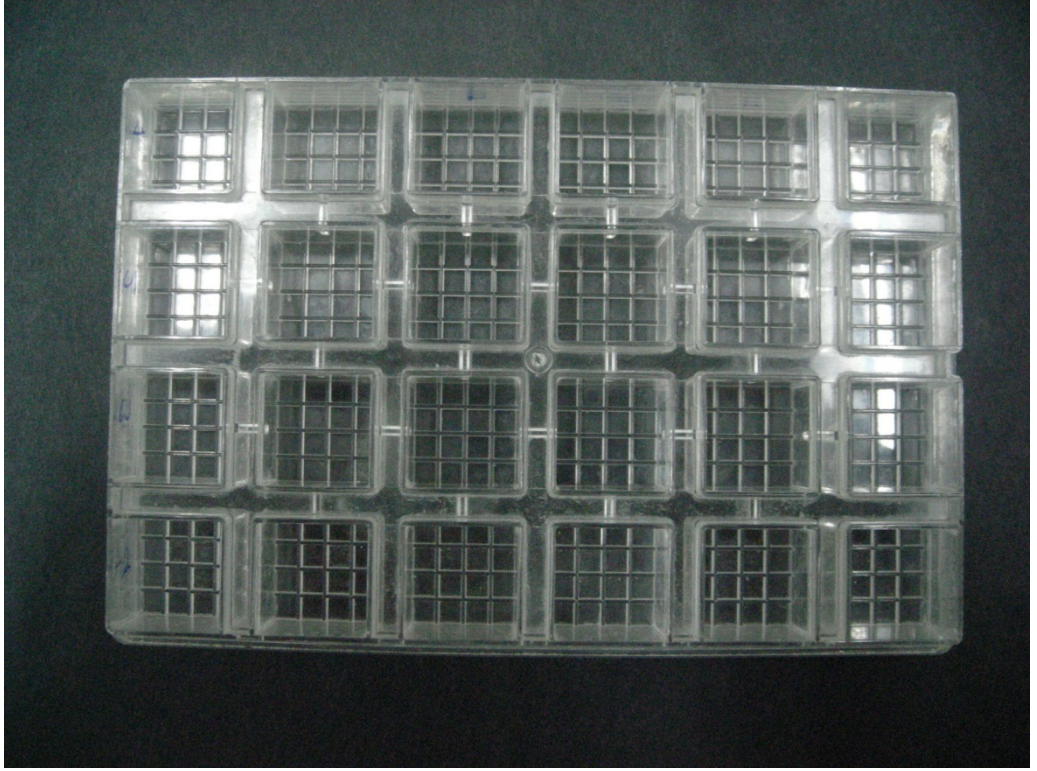


Şekil 3.11. İki saat öncesinden belirlenen sıcaklığa ayarlanan inkübatöre konan kaplar

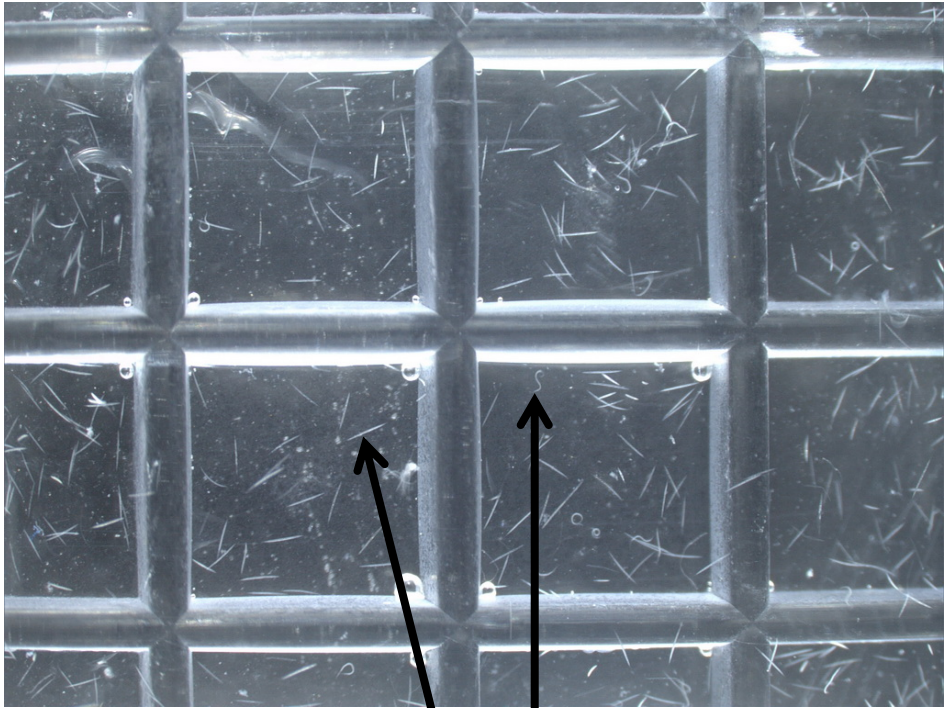
Uygulama sonunda inkübatörden çıkarılan IJ' ler yüksek sıcaklık nedeniyle estivasyona (yazlama) girerler. Estivasyon durumundaki IJ' ler hareketsizdirler. Ölü IJ' ler de hareketsiz olduğundan, ölü-canlı ayırımı yapılamamaktadır. Bu nedenle, iki saatlik yüksek sıcaklık uygulamalarından sonra IJ' ler 24 saat boyunca oda sıcaklığında dinlendirilmiş ve estivasyondan çıkmaları sağlanmıştır. IJ' ler estivasyondan çıkıp hareketlenmeye başladıktan sonra ölü-canlı birey sayımı yapılmış ve sonuçlar not edilmiştir.



Şekil 3.12. Stereo mikroskop altında ölü-canlı birey sayımı



Şekil 3.13. Kareli sayım kapları



Şekil 3.14. Stereo mikroskop altında ölü ve canlı bireylerin görünümü (Düz bireyler ölü, kıvrık bireyler canlı).

3.4. Su Kaybına Toleranslılığın Belirlenmesi

Heterorhabditis bacteriophora ırklarının su kaybına dayanıklılığını ölçmek için Polyethylene Glycol isimli bileşik kullanılmıştır. Polyethylene Glycol (PEG) kokusuz, şeffaf, zehirsiz ve canlı hücrelerden su çekme özelliğinde olan yoğun bir bileşiktir. Molekül ağırlığına göre (g/mol) çok çeşitli formları bulunmaktadır. Entomopatojen nematod denemelerinde en uygun formu PEG 600 olarak belirlenmiştir (Mukuka ve ark. 2010a). Denemelerin ilk başta PEG 600' ün % 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 konsantrasyonlarında gerçekleştirilmesi planlanmış fakat % 40 ile % 50 konsantrasyonları arasındaki ölüm oranları çok farklı olduğu için denemeye % 45 ve % 47.5 ara konsantrasyonları da eklenmiştir. Konsantrasyonlar hazırlanırken oda sıcaklığındaki saf su kullanılmıştır. Denemeler, yüksek sıcaklığa toleranslılık denemesinde olduğu gibi 24 kuyulu hücre kültürü kaplarında gerçekleştirilmiş ve beş tekerrürlü olarak yapılmıştır.



Şekil 3.15. Polyethylene Glycol 600 (Merck®)

Denemelere başlamadan önce, buzdolabında +4 °C’ de saklanan ırklar buzdolabından çıkartılarak iki saat boyunca oda sıcaklığına adapte olmaları beklenmiştir. Irklar oda sıcaklığına adapte olduktan sonra, 24 kuyulu hücre kültürü kabının her bir kuyusuna 500 adet IJ gelecek şekilde kültür kaplarından mikropipet ile alınarak kuyulara konmuştur. Daha sonra kuyulardaki IJ’ lerin üzerine deneme yapılacak olan PEG 600 konsantrasyonundan 500 µl eklenmiş ve hücre kültürü kapları parafilm bant ile kapatılarak 25 °C’ ye ayarlı inkübatöre yerleştirilmiştir. Belirlenen PEG 600 konsantrasyonuna 24 saat boyunca maruz bırakılan IJ’ ler, süre sonunda inkübatörden çıkartılmış ve oda sıcaklığındaki saf su ile yıkanmıştır.



Şekil 3.16. Polyethylene Glycol 600 konsantrasyonlarının hazırlanışı



Şekil 3.17. Hazırlanan PEG 600 konsantrasyonunun kuyulardaki IJ’ ler üzerine eklenişi



Şekil 3.18. Su kaybına toleranslılık denemesi için hazırlanan ve oda sıcaklığına ayarlı inkübatöre konan kaplar



Şekil 3.19. Su kaybına toleranslılık denemesi sonrası bireylerin saf su ile yıkınışı

Canlı hücrelerden su çekme özelliğinde olan PEG 600' ün bu etkisinden dolayı IJ' ler dehidre olmuş ve uyuşuk döneme (cryptobiosis) geçmiştir. Uyuşuk dönemde hareketsiz olan IJ' ler ölü olan bireylerden ayırlanamamakta ve bu da doğru bir sayım yapmaya engel olmaktadır. Bu sorunun önüne geçebilmek için, IJ' ler saf su ile yıkandıktan sonra 24 saat boyunca saf su içerisinde bekletilmiş ve rehidre olmaları sağlanmıştır. Rehidre olan IJ' ler uyuşuk dönemden çıkmış ve hareketlenmeye başlamıştır. Bu işlemden sonra ölü-canlı birey sayımı yapılarak sonuçlar not edilmiştir.

3.5. *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının Etkinliklerinin Belirlenmesi

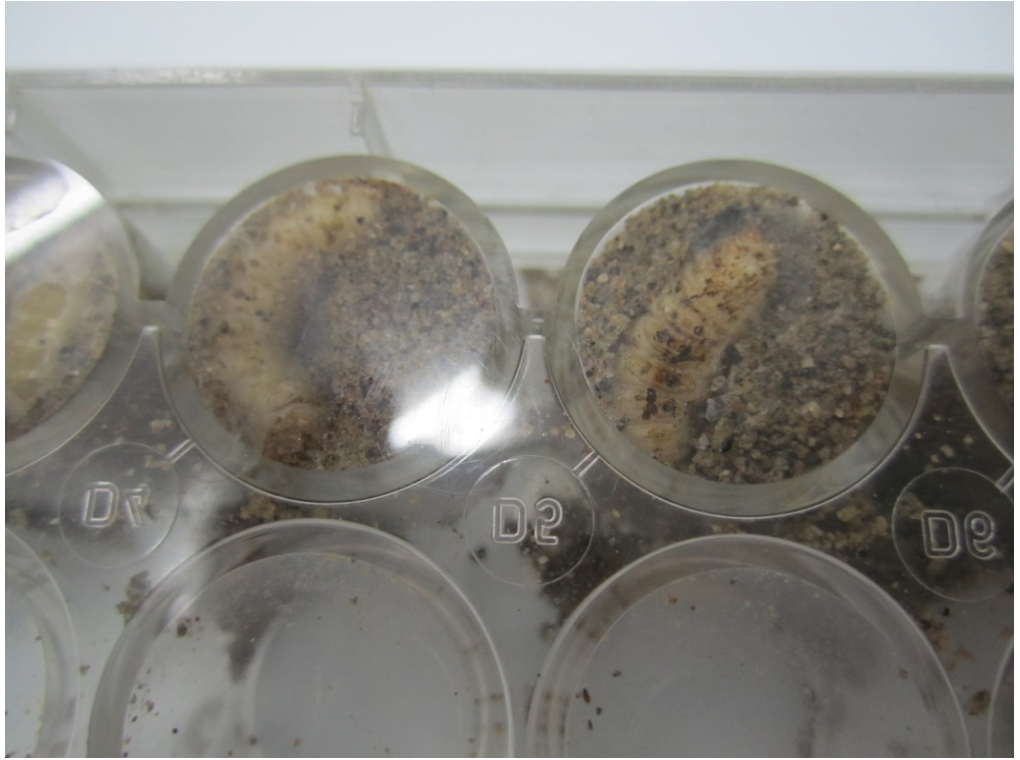
Heterorhabditis bacteriophora ırklarının etkinliklerini belirlemek için, EPN' lere *G. mellonella* larvalarından daha dayanıklı olan ve un kurdu olarak bilinen *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvaları kullanılmıştır. Denemeler larva başına 5, 10, 20, 50, 75 ve 100 IJ şeklinde planlanmış fakat sekiz ırk için 50 IJ/larva denemesinde

larvalardaki ölüm oranı %100'e ulaştığından sadece iki ırk için 75 IJ/larva denemesi yapılmış, 100 IJ/larva denemesi ise hiçbir ırk için gerçekleştirilmemiştir. Tüm bu dozlara ek olarak veri elde etme amacıyla 2 IJ/larva denemesi yapılmıştır. Tüm denemeler oda sıcaklığında ve önceki denemelerde olduğu gibi 24 kuyulu hücre kültürü kaplarında yapılmıştır. Denemeler üç tekerrürlü yapılmış ve her tekerrürde 20 adet *T. molitor* larvası kullanılmıştır.

Denemelerin öncesinde, diğer denemelerde olduğu gibi ırklar buzdolabından çıkartılarak oda sıcaklığına adapte olmaları sağlanmıştır. Daha sonra 24 kuyulu hücre kültürü kabının her bir kuyusuna bir adet *T. molitor* larvası konmuş ve larvanın üzerinde % 3 oranında nemli, ince taneli (tane büyüklüğü 300-400 µm) ve daha önceden 121 °C' de 15 dakika boyunca sterilize edilmiş kum eklenerek kuyu tamamen doldurulmuş ve IJ inokulasyonuna hazır hale getirilmiştir. Bu sırada, her doz uygulaması için özel EPN süspansiyonları hazırlanmıştır. Her doz için ayrı hazırlanan bu süspansiyonlardan 300 µl çekim yapıldığında, uygulanacak doz miktarında IJ gelecek şekilde ayarlama yapılmıştır. Bu süspansiyonlardan mikropipet ile kum üzerine IJ uygulanmış ve hücre kültürü kabının kapağı parafilm bant ile kapatılarak 25 °C' deki inkübatörde üç gün boyunca bekletilmiştir. Üç gün sonunda kaplar açılarak ölü-canlı larva sayımı yapılmış ve ırkların larvalar üzerindeki etkinliği belirlenmiştir.



Şekil 3.20. Etkinlik denemesi için hazırlanmış 24 kuyulu hücre kültürü kabı



Şekil 3.21. Kuyulardaki larvaların görüntüsü



Şekil 3.22. Uygulamadan üç gün sonra açılan kaplardan çıkan ölü larvaların görüntüsü

3.6. İstatistiksel Analizler

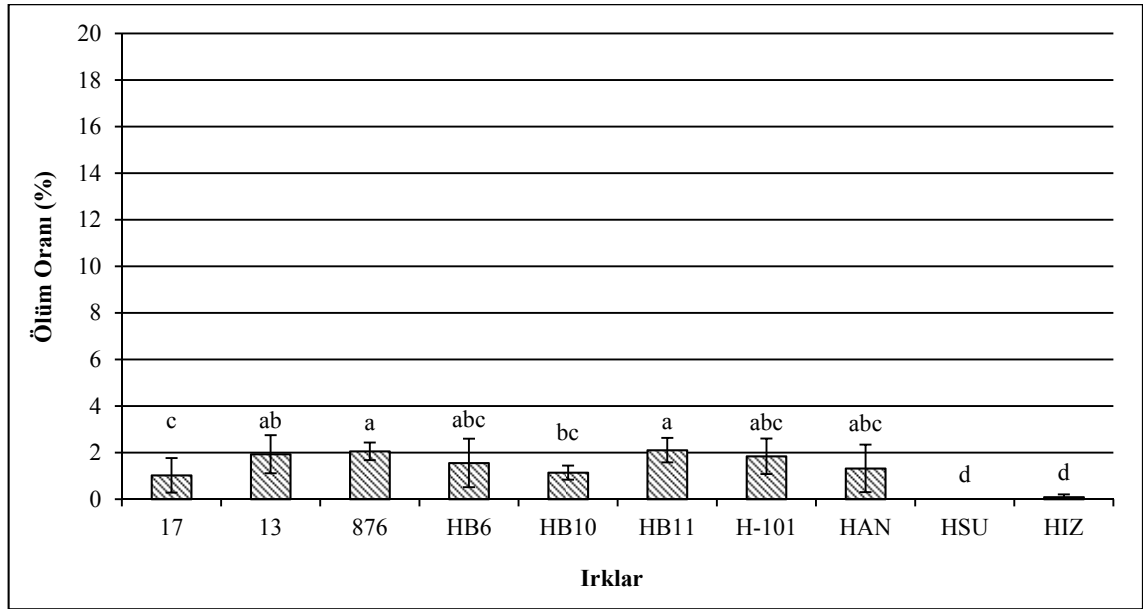
İrkların, sıcaklık ve su kaybı denemeleri sonunda elde edilen ölüm oranlarının birbirleri ve kendileri ile karşılaştırılmasında ANOVA ve LSD (Least Significant Differences) testleri uygulanmıştır ($P=0.05$). Ayrıca, probit analizi yapılarak ırkların LT_{50-90} , LC_{50-90} ve LD_{50-90} değerleri hesaplanmıştır. Ek olarak, ırkların tolerans seviyeleri ile yıllık ortalama yağış ve yıllık ortalama sıcaklık değerleri arasındaki korelasyonlar ($P=0.05$) hesaplanmıştır.

ANOVA ve LSD testleri ile korelasyon analizleri JMP[®] 7.0 programında, probit analizleri ise BioStat[®] 2009 programında yapılmıştır.

4. BULGULAR

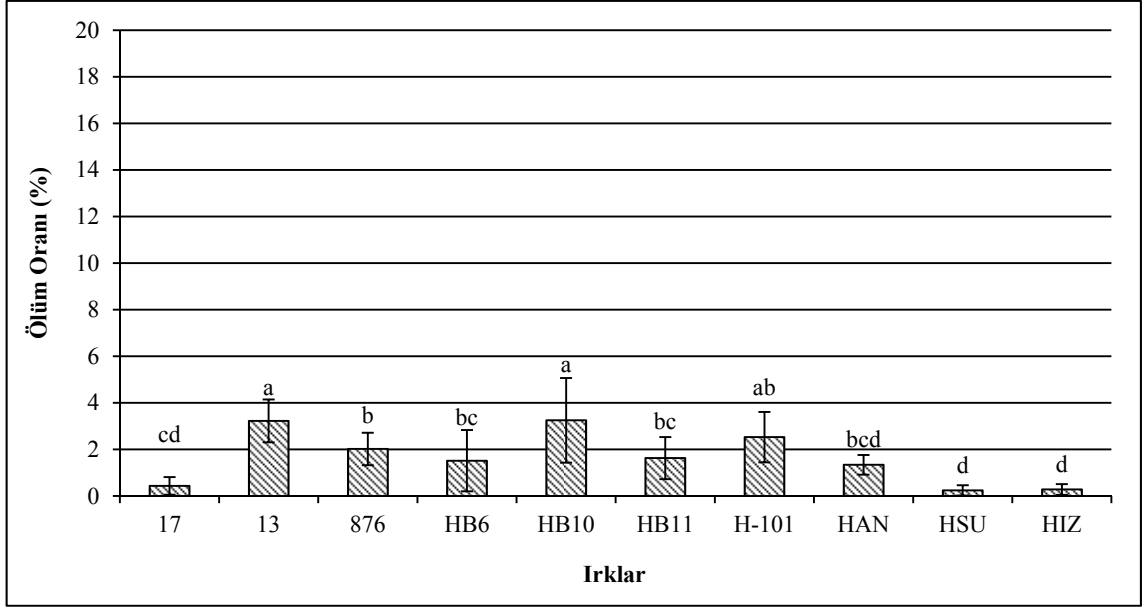
4.1. Yüksek Sıcaklığa Toleranslılık Denemeleri

Yapılan denemelerde elde edilen sonuçlara göre 32 ve 34 °C’ lerde tüm ırkların ölüm oranları % 1-3 seviyelerinde ve birbirine yakın olmasına rağmen (Şekil 4.1, Şekil 4.2) bazı ırklar arasında istatistiksel açıdan farklar bulunmuştur ($F= 6.5525$; $df= 9, 40$; $P=<0.0001$). 36 °C ve sonrasında ırkların ölüm oranları arasında farklılıklar artmaya başlamıştır (Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5). Yüksek sıcaklık denemesindeki en yüksek sıcaklık değeri olan 42 °C’ de ise tüm ırklarda % 100 ölüm görülmüştür (Şekil 4.6).



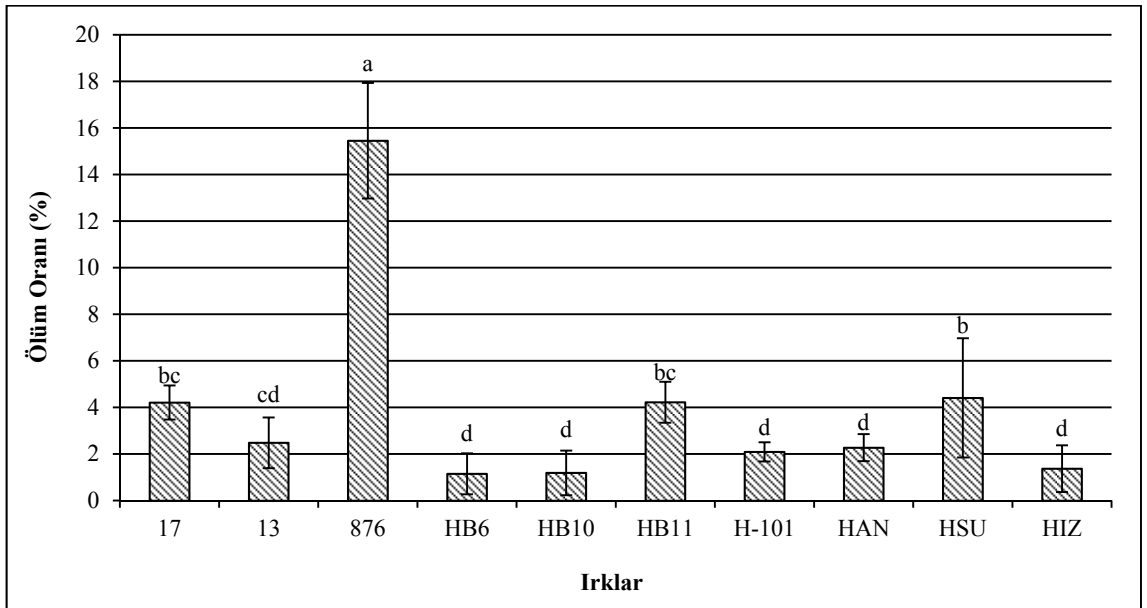
Şekil 4.1. İrkların 32 °C’ deki ölüm oranları ($F = 6.55$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)

32 °C’ de en düşük ölüm oranına sahip ırk HSU (Şanlıurfa) ırkı olurken bunu HIZ (İzmir) ırkı takip etmiş fakat aralarında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır. En yüksek ölüm oranlarına sahip olan ırk HB11 (Erzurum) olurken bu ırkı takip eden sırasıyla 876 (Çanakkale), 13 (Yalova), H-101 (Samsun) ve HAN (Ankara) ırkları arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır (Şekil 4.1).



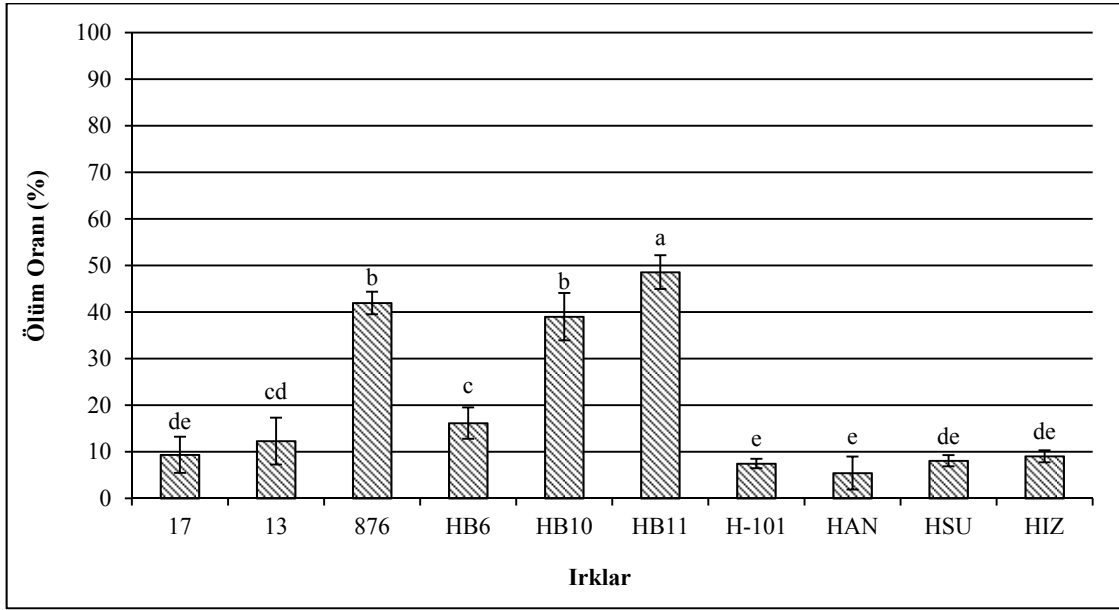
Şekil 4.2. Irkların 34 °C’ deki ölüm oranları (F = 7.21; df = 9, 40; P = <0.0001)

34 °C’ de en düşük ölüm oranına sahip ırk HSU (Şanlıurfa) ırkı olurken bunu HIZ (İzmir) ırkı takip etmiş ve bu iki ırk istatistiksel açıdan aynı grup içerisinde yer almıştır. En yüksek ölüm oranlarına sahip olan ırk HB10 (Adana) olurken bu ırkı 13 (Yalova) ve H-101 (Samsun) ırkları takip etmiş ve bu üç ırk arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.2).



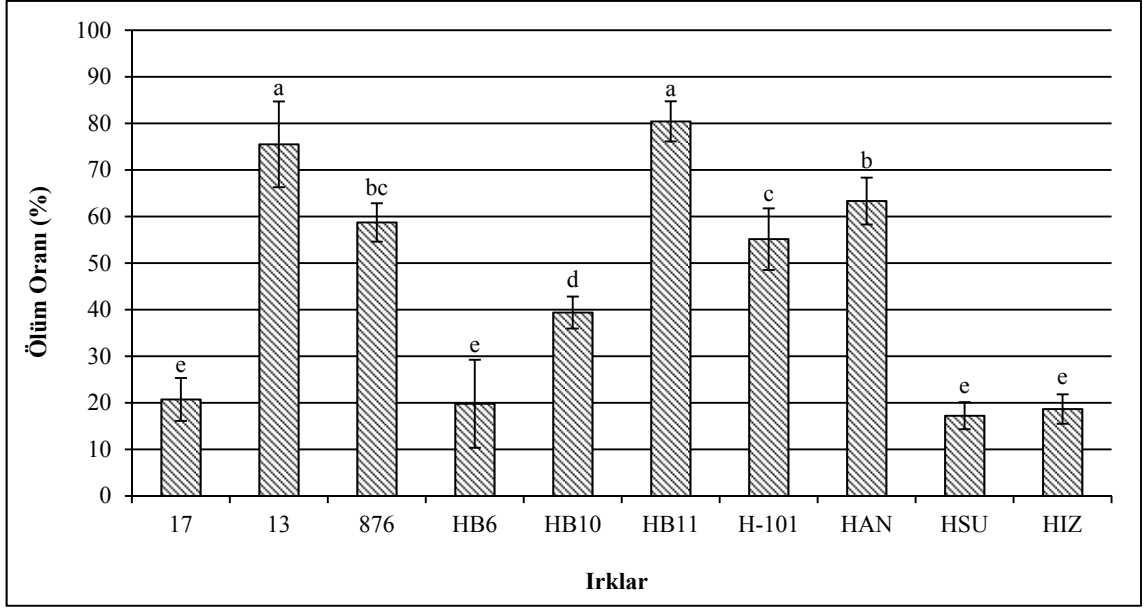
Şekil 4.3. Irkların 36 °C’ deki ölüm oranları (F = 48.30; df = 9, 40; P = <0.0001)

36 °C’ de en düşük ölüm oranına sahip olan ırklar sırasıyla HB10 (Adana), HB6 (Antalya), HIZ (İzmir), H-101 (Samsun), HAN (Ankara) ve 13 (Yalova) ırkları olmuş ve tüm bu ırklar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. 36 °C’ de 876 (Çanakkale) ırkı diğer ırklardan yaklaşık 5 kat fazla ölüm oranı göstermiştir. Bu ırkı sırasıyla HSU (Şanlıurfa), HB11 (Erzurum) ve 17 (Kırklareli) ırkları takip ederken bu üç ırk arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır (Şekil 4.3).



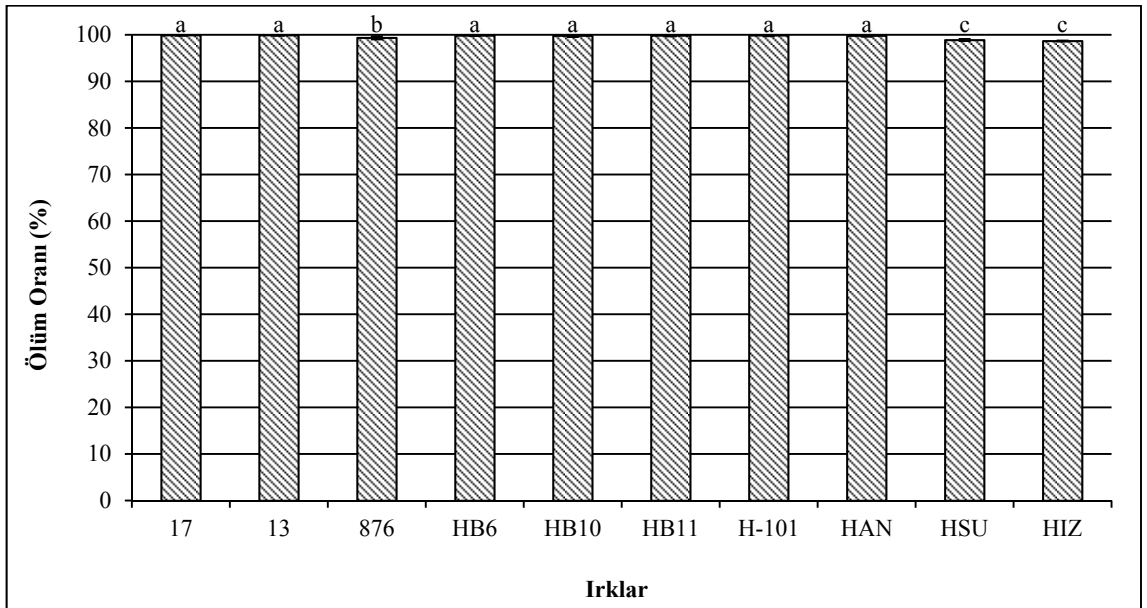
Şekil 4.4. Irkların 38 °C’ deki ölüm oranları (F = 121.38; df = 9, 40; P = <0.0001)

38 °C’ de en düşük ölüm oranına sahip olan HAN (Ankara) ırkı olurken, bu ırkın ardından sırasıyla HSU (Şanlıurfa), H-101 (Samsun), HIZ (İzmir) ve 17 (Kırklareli) ırkları gelmiş, beş ırk aynı istatistiksel grup içerisinde yer almıştır. Denemede en yüksek ölüm oranına sahip ırk HB11 (Erzurum) olurken, bu ırkı 876 (Çanakkale) takip etmiş fakat aralarında istatistiksel açıdan farklılık bulunmuştur. 876 (Çanakkale) ırkı ile ardından gelen HB10 (Adana) arasında ise istatistiksel fark bulunamamıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. Irkların 40 °C’ deki ölüm oranları (F = 93.06; df = 9, 40; P = <0.0001)

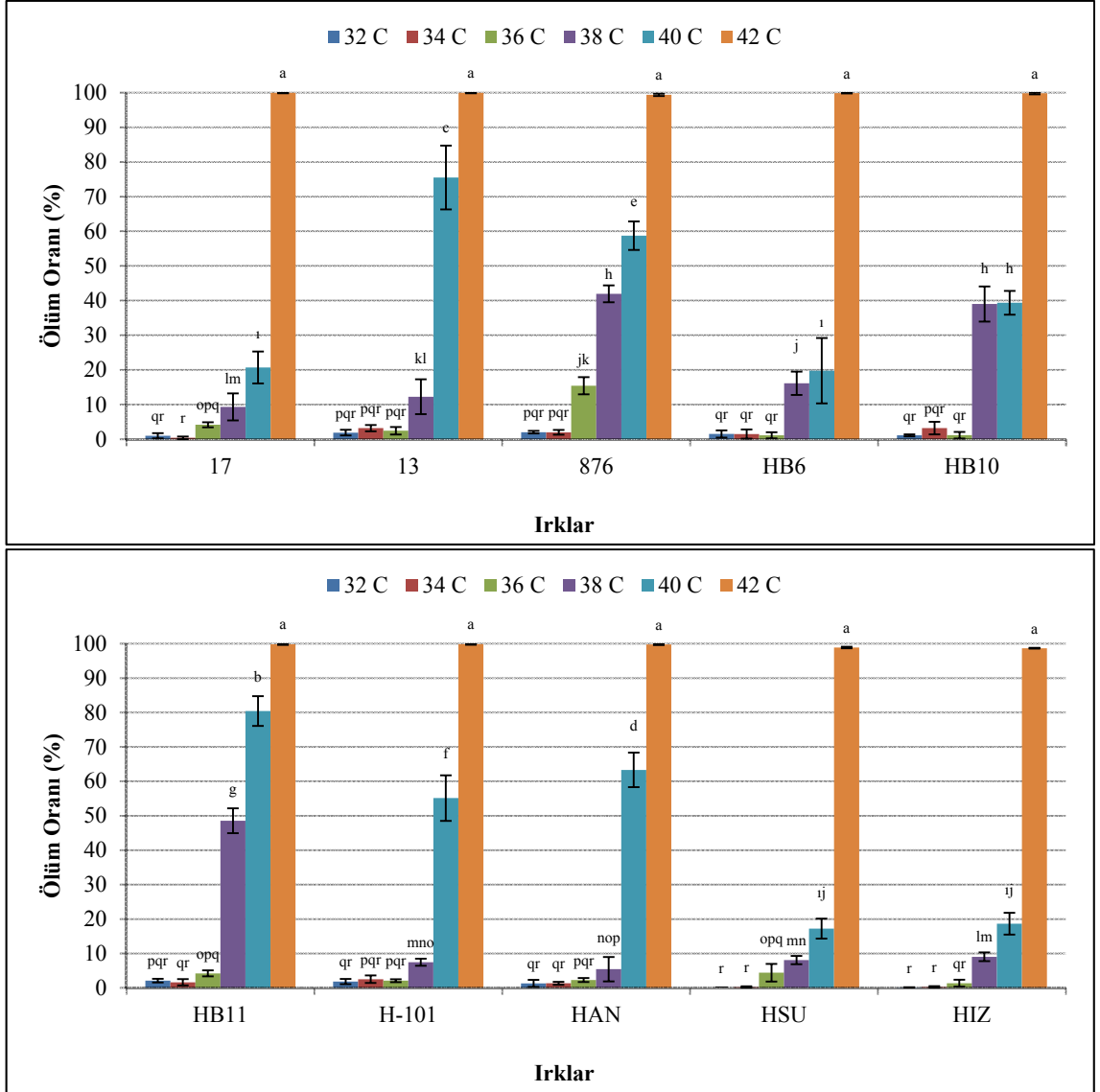
40 °C’ de en düşük ölüm oranına sahip ırk HSU (Şanlıurfa) olurken bu ırkı HIZ (İzmir), HB6 (Antalya) ve 17 (Kırklareli) ırkları takip etmiş, bu dört ırk aynı istatistiksel grup içerisinde yer almıştır. 40 °C’ de ölüm oranları sırasıyla HB11 (Erzurum) ve 13 (Yalova) ırklarında en yüksek seviyeye ulaşırken, bu iki arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunamamıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.6. Irkların 42 °C’ deki ölüm oranları (F = 30.46; df = 9, 40; P = <0.0001)

En yüksek sıcaklık olan 42 °C’ de tüm ırkların ölüm oranları % 98’ in üzerinde olurken istatistiksel açıdan bakıldığında HIZ (İzmir) ve HSU (Şanlıurfa) ırkları en az ölüm oranına sahip olurken aynı istatistiksel grup içinde yer almışlardır. Bu ırkları 876 (Çanakkale) ırkı takip etmiş fakat ilk iki ırk ile aralarında istatistiksel açıdan farklılık bulunmuştur. Geri kalan tüm ırklarda ölüm oranları % 100’ e ulaşmış ve istatistiksel açıdan aralarında fark bulunamamıştır (Şekil 4.6).

Yüksek sıcaklığa en dayanıklı ırkı bulabilmek için deneme yapılan tüm sıcaklıkların verileri toplanarak probit analizi yapılmış ve analiz sonucunda LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine ulaşılmıştır. Elde edilen değerlere göre, kullanılan ırklar arasında yüksek sıcaklığa en dayanıklı ırklar sırasıyla HIZ (İzmir), HB6 (Antalya), HSU (Şanlıurfa), 17 (Kırklareli), HB10 (Adana), H-101 (Samsun), HAN (Ankara), 876 (Çanakkale), 13 (Yalova), HB11 (Erzurum) numaralı ırklar olmuştur. Irkların tüm sıcaklıklardaki ölüm oranları (Şekil 4.7), LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (Şekil 4.8) aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.7. Irkların tüm sıcaklıklardaki ölüm oranları ($F = 885.80$; $df = 59, 240$; $P < 0.0001$)

Irkların tüm sıcaklıklardaki ölüm oranları incelendiğinde 32, 34 ve 36 °C’ lerde ölüm oranları düşük seviyelerde kalmıştır. 38 °C’ de özellikle HB11 (Erzurum), 876 (Çanakkale) ve HB10 (Adana) ırklarında ölüm oranları artmış, geri kalan ırklarda ise ölüm oranlarında çok fazla bir değişim olmamıştır. 40 °C’ deki ölüm oranları incelendiğinde HB11 (Erzurum) ırkı başta yer alırken 13 (Yalova), 876 (Çanakkale), HAN (Ankara), H-101 (Samsun) ve HB10 (Adana) ırklarında da ölüm oranları önemli derece artmış ve % 50’ lerin üzerine çıkmıştır. Denemenin en yüksek sıcaklığı olan 42 °C’ de ise ırklarda ölüm oranları % 100’ lere ulaşmıştır (Şekil 4.7).



Irklar	LT ₅₀ (°C)	LT ₉₀ (°C)	Yıllık Ort. En Yüksek Sıcaklık (°C)*
17 (Kırklareli)	40.46	43.78	31.11
13 (Yalova)	38.62	41.31	34.38
876 (Çanakkale)	38.60	41.94	29.48
HB6 (Antalya)	40.50	44.06	34.67
HB10 (Adana)	39.27	42.58	36.45
HB11 (Erzurum)	38.00	40.58	23.97
H-101 (Samsun)	39.31	42.34	33.17
HAN (Ankara)	39.12	41.91	29.76
HSU (Şanlıurfa)	40.75	43.69	34.95
HIZ (İzmir)	40.90	44.00	34.40

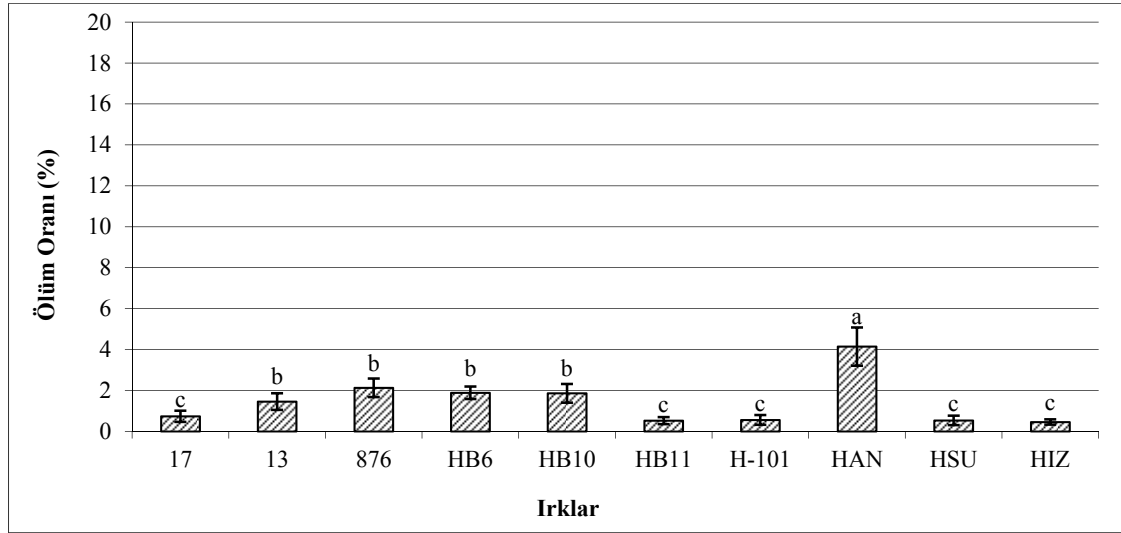
*Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden alınan 1976-2012 yıllarını kapsayan veriler (www.mgm.gov.tr)

Şekil 4.8. Irkların LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri ile izole edildikleri illerin yıllık ortalama en yüksek sıcaklık değerleri

Irkların LT₅₀₋₉₀ değerleri ile yıllık ortalama en yüksek sıcaklık değerleri karşılaştırıldığında aralarında ilişki olduğu tespit edilmiştir ($r = 0.61$) ($P = 0.059$). Bu sonuç, ırkın izole edildiği coğrafik bölgenin sıcaklığının, ırkın yüksek sıcaklığa tolerans göstermesinde etkili olduğunu göstermiştir (Şekil 4.8).

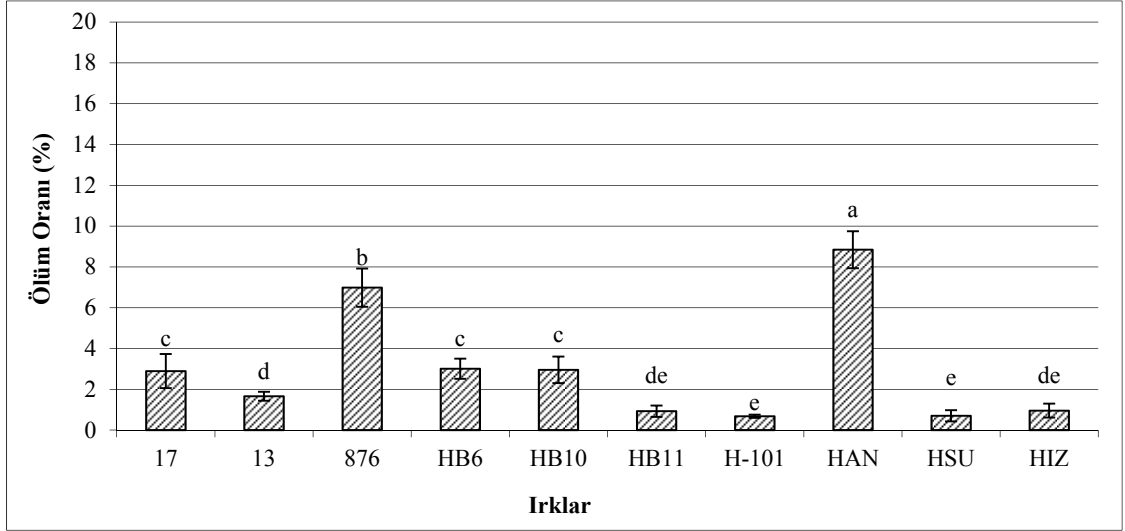
4.2. Su Kaybına Toleranslılık Denemeleri

Su kaybına toleranslılık denemelerinde PEG 600' ün % 10, 20, 30 ve 40 konsantrasyonlarında ırkların ölüm oranları % 1-10 arasında değişirken özellikle HAN (Ankara) ırkı bahsedilen konsantrasyonlarda diğer ırklardan yaklaşık iki kat daha fazla ölüm oranına sahip olmuştur (Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12). Ölüm oranlarının % 40 ile % 50 PEG 600 konsantrasyonu arasında çok farklı olması nedeniyle % 45 ve % 47.5 ara konsantrasyonları da uygulanmıştır (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14). Irkların ölüm oranları % 50 PEG 600 konsantrasyonu ile % 80-100 arası olurken (Şekil 4.15), daha sonraki konsantrasyonlarda ise ölüm oranları % 100' e ulaşmıştır (Şekil 4.16, Şekil 4.17, Şekil 4.18).



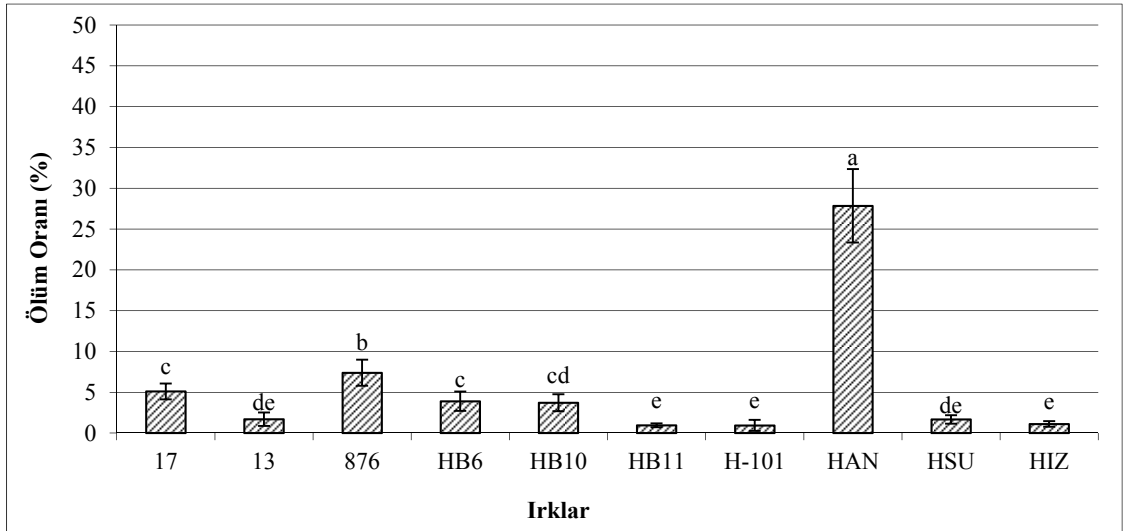
Şekil 4.9. Irkların % 10 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 21.65; df = 9, 40; P = <0.0001)

% 10 PEG 600 konsantrasyonunda en düşük ölüm oranları sırasıyla, birbirine çok yakın sonuçlara sahip olan HIZ (İzmir), HB11 (Erzurum), HSU (Şanlıurfa), H-101 (Samsun) ve 17 (Kırklareli) ırklarında görülmüş ve bu ırklar arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır. En yüksek ölüm oranı HAN (Ankara) ırkında görülürken, diğer ırklar ile istatistiksel açıdan farklı grupta yer almıştır. Bu ırkın ardından gelen sırasıyla 876 (Çanakkale), HB10 (Adana), HB6 (Antalya) ve 13 (Yalova) ırkları arasında istatistiksel fark bulunamamıştır (Şekil 4.9).



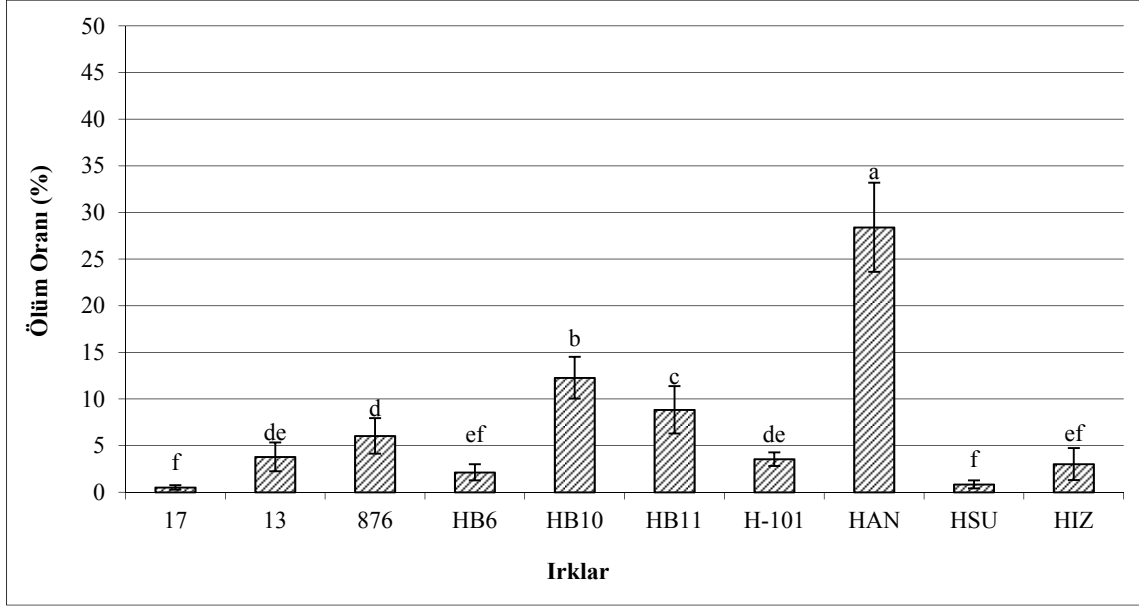
Şekil 4.10. Irkların % 20 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 115.81; df = 9, 40; P = <0.0001)

% 20 PEG 600 konsantrasyonunda en düşük ölüm oranı H-101 (Samsun) ırkında görülürken bu ırkı HSU (Şanlıurfa) takip etmiş fakat aralarında istatistiksel açıdan farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Denemede en yüksek ölüm oranına sahip ırk HAN (Ankara) olurken, bu ırkın ardından gelen 876 (Çanakkale) ırkı ile aralarında istatistiksel fark olduğu bulunmuştur (Şekil 4.10).



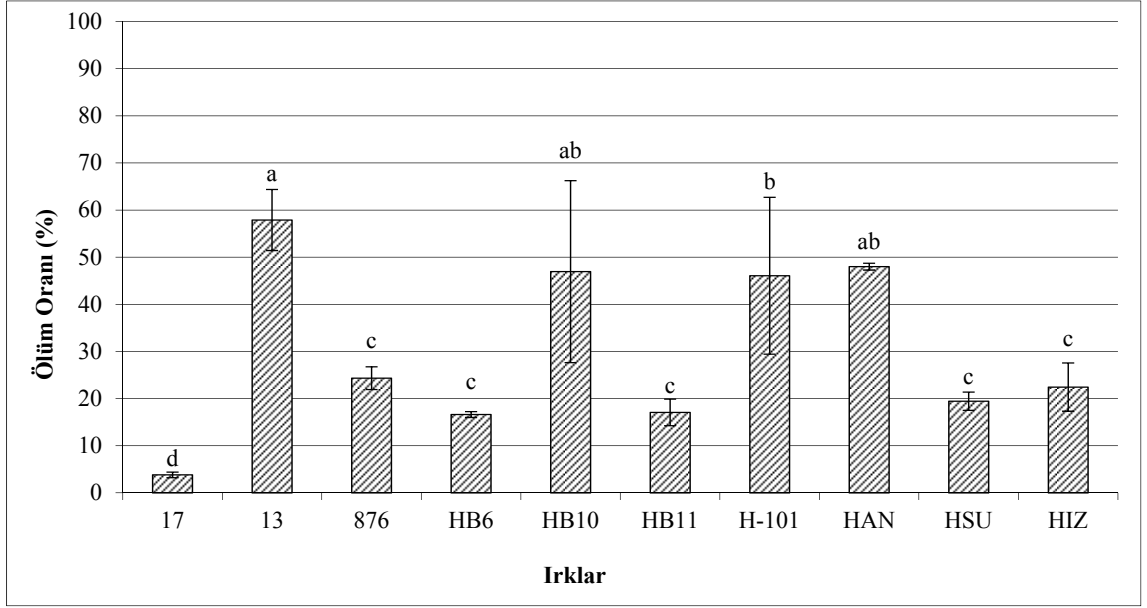
Şekil 4.11. Irkların % 30 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 119.51; df = 9, 40; P = <0.0001)

% 30 PEG 600 konsantrasyonunda en düşük ölüm oranları sırasıyla HB11 (Erzurum), H-101 (Samsun), HIZ (İzmir), HSU (Şanlıurfa) ve 13 (Yalova) ırklarında görülmüş ve bu ırklar istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır. En yüksek ölüm oranı ise HAN (Ankara) ırkında görülmüş ve bu ırk diğer ırklardan yaklaşık 5 kat fazla ölüm oranına sahip olmuştur (Şekil 4.11).



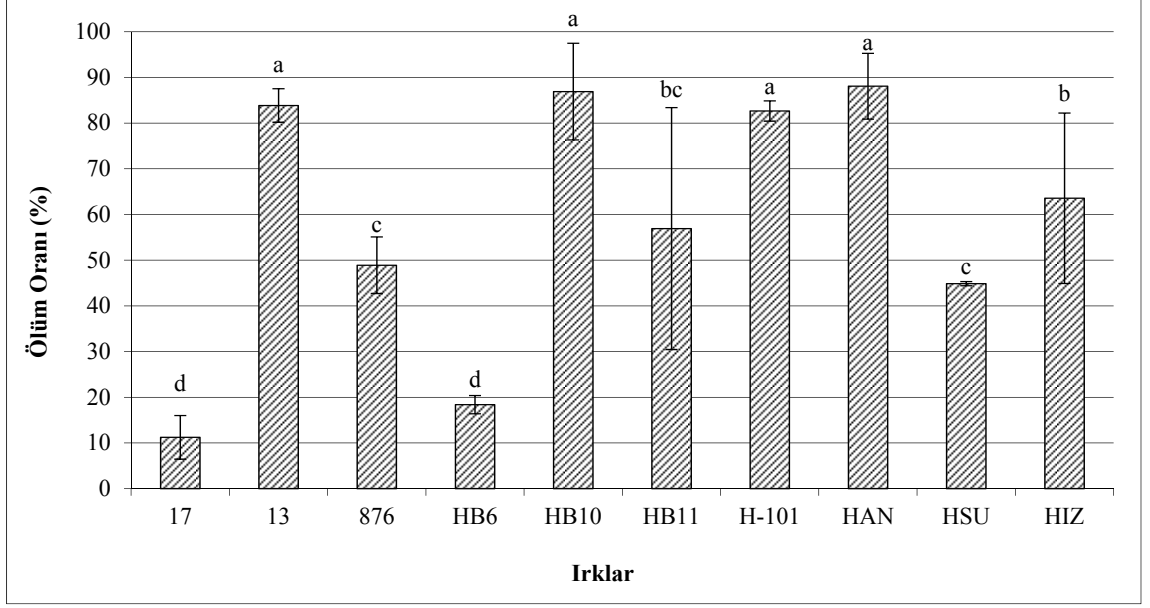
Şekil 4.12. Irkların % 40 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 78.42; df = 9, 40; P = <0.0001)

% 40 PEG 600 konsantrasyonunda en düşük ölüm oranı 17 (Kırklareli) ırkında görülürken bu ırkı sırasıyla HSU (Şanlıurfa), HB6 (Antalya) ve HIZ (İzmir) ırkları takip etmiş, dört ırk arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır. En yüksek ölüm oranı ise önceki konsantrasyonda da olduğu gibi HAN (Ankara) ırkında görülmüş ve diğer ırklar ile arasında istatistiksel farklılık olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.13. Irkların % 45 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 21.72; df = 9, 40; P = <0.0001)

% 45 PEG 600 konsantrasyonunda en düşük ölüm oranı 17 (Kırklareli) ırkında görülmüş ve bu ırkı takip eden HB6 (Antalya) ırkı arasında istatistiksel farklılık tespit edilmiştir. En yüksek ölüm oranı 13 (Yalova) ırkında görülürken bu ırkı HAN (Ankara) ve HB10 (Adana) ırkları takip etmiş fakat bu iki ırk, ölüm oranları daha düşük olmasına rağmen standart sapmalarının fazla olması nedeniyle 13 (Yalova) ırkı ile istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır (Şekil 4.13).



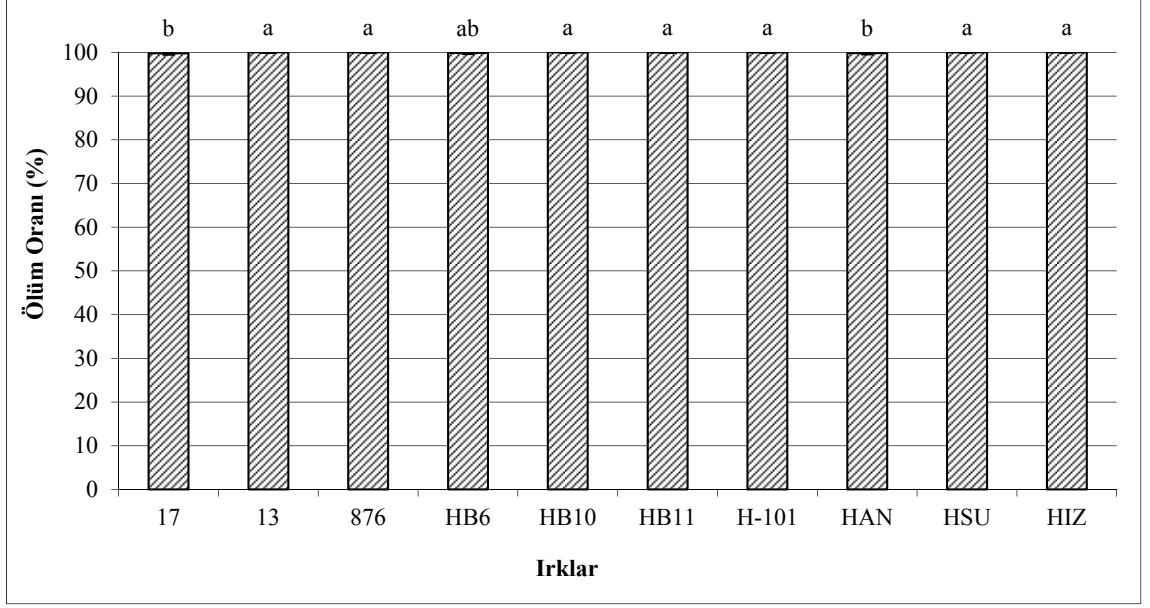
Şekil 4.14. Irkların % 47.5 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları ($F = 30.25$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)

% 47.5 PEG 600 konsantrasyonunda en düşük ölüm oranları sırasıyla 17 (Kırklareli) ve HB6 (Antalya) ırklarında görülürken bu iki ırk arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır. En yüksek ölüm oranları ise sırasıyla HAN (Ankara), HB10 (Adana), 13 (Yalova) ve H-101 (Samsun) ırklarında görülmüş ve bu dört ırk istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.15. Irkların % 50 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 28.05; df = 9, 40; P = <0.0001)

% 50 PEG 600 konsantrasyonunda ırkların ölüm oranları % 80' in üzerine çıkmıştır. Denemede en düşük ölüm oranına 17 (Kırklareli) ırkı sahip olurken, bu ırkı takip eden HB6 (Antalya) ve HAN (Ankara) ırklarıyla arasında istatistiksel açıdan farklılık olduğu bulunmuştur. Bu üç ırk dışındaki diğer tüm ırklarda % 100 ölüm görülmüş ve yedi ırk istatistiksel açıdan aynı grupta yer almıştır (Şekil 4.15).



Şekil 4.16. Irkların % 60 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları (F = 2.68; df = 9, 40; P = <0.0001)

% 60 PEG 600 konsantrasyonunda ölüm oranları 17 (Kırklareli), HAN (Ankara) ve HB6 (Antalya) hariç tüm ırklar için % 100 olmuştur. İstatistiksel olarak incelendiğinde en düşük ölüm oranına sahip olan 17 (Kırklareli) ve HAN (Ankara) ırkları aynı grupta yer almıştır (Şekil 4.16).



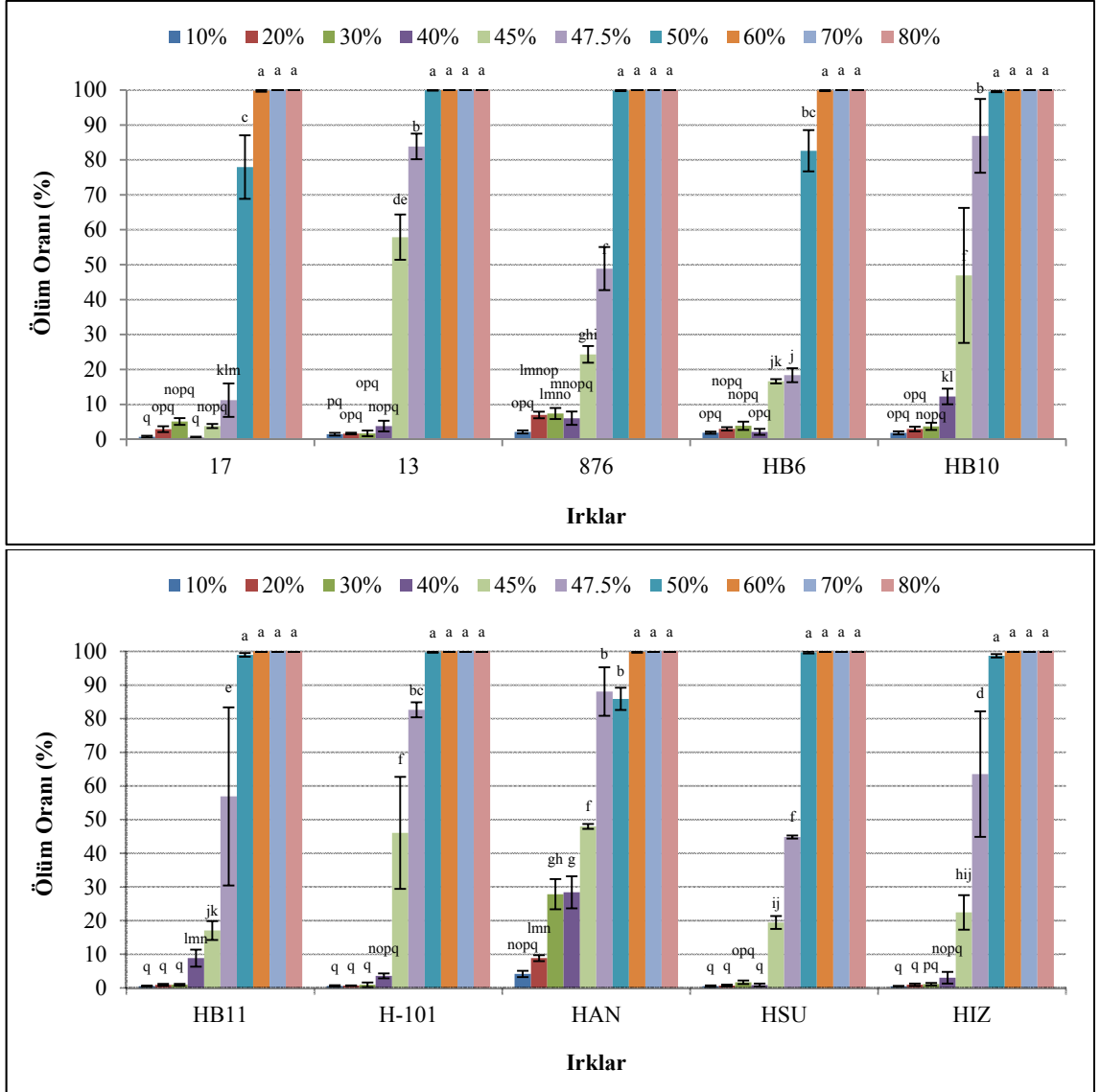
Şekil 4.17. Irkların %70 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları



Şekil 4.18. İrkların % 80 PEG 600 konsantrasyonundaki ölüm oranları

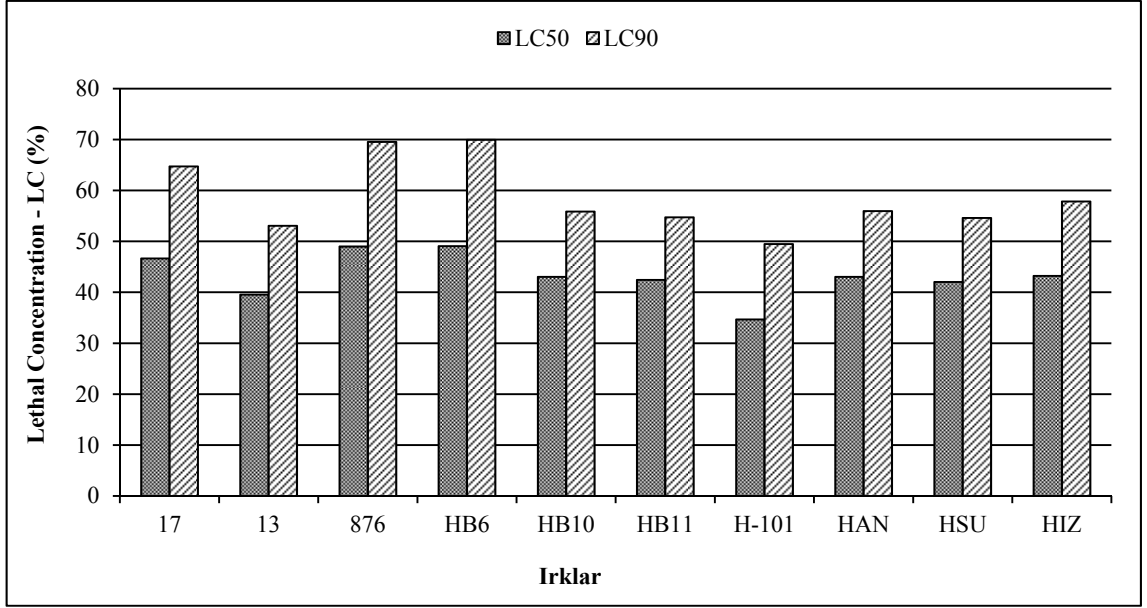
% 70 ve % 80 PEG 600 konsantrasyonlarında ise tüm ırklarda ölüm oranları % 100' e ulaşmıştır (Şekil 4.17, Şekil 4.18).

Su kaybına en dayanıklı ırkı bulabilmek için deneme yapılan tüm PEG 600 konsantrasyonlarındaki ölüm oranları verileri toplanarak probit analizi yapılmış ve analiz sonucunda LC_{50} ve LC_{90} değerlerine ulaşılmıştır. Bu değerlere göre, denemeye alınan ırkların su kaybına tolerans seviyeleri en yüksekten en düşüğe sırasıyla HB6 (Antalya), 876 (Çanakkale), 17 (Kırklareli), HIZ (İzmir), HAN (Ankara), HB10 (Adana), HB11 (Erzurum), HSU (Şanlıurfa), 13 (Yalova) ve H-101 (Samsun) numaralı ırklar olmuştur. İrkların tüm PEG 600 konsantrasyonlarındaki ölüm oranları (Şekil 4.19), LC_{50} ve LC_{90} değerleri (Şekil 4.20) aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.19. Irkların tüm PEG 600 konsantrasyonlarındaki ölüm oranları (F = 440.19; df = 99, 400; P = <0.0001)

Tüm PEG 600 denemesi incelendiğinde ilk dört konsantrasyonda (% 10, 20, 30, 40) HAN (Ankara) ırkı hariç diğer tüm ırklarda ölüm oranları % 10' un altında olmuştur. % 45 konsantrasyonda ölüm oranları 17 (Kırklareli), HB11 (Erzurum), HB6 (Antalya) ve HSU (Şanlıurfa) haricinde % 20' lerin üzerine çıkmış ve özellikle % 50 ve sonrası konsantrasyonları tüm ırklar için ölümcül olmuştur (Şekil 4.19).



Irk	LC ₅₀ (%)	LC ₉₀ (%)	Yıllık Ort. Yağış (Kg/m ²)*
17 (Kırklareli)	46.65	64.73	46.31
13 (Yalova)	39.54	53.06	62.69
876 (Çanakkale)	48.99	69.53	50.46
HB6 (Antalya)	49.06	69.94	90.92
HB10 (Adana)	43.04	55.84	55.08
HB11 (Erzurum)	42.42	54.71	33.87
H-101 (Samsun)	34.67	49.48	57.80
HAN (Ankara)	43.02	55.94	33.51
HSU (Şanlıurfa)	42.04	54.61	36.85
HIZ (İzmir)	43.21	57.82	58.48

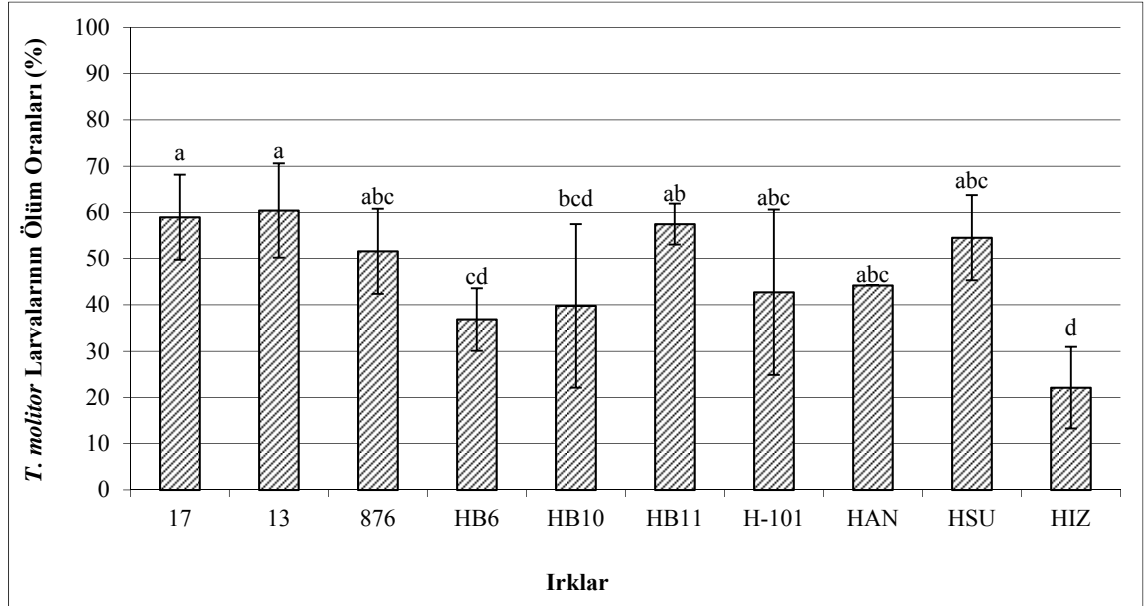
*Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden alınan 1976-2012 yıllarını kapsayan veriler (www.mgm.gov.tr)

Şekil 4.20. Irkların LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri ile izole edildikleri illerin yıllık yağış miktarları

Irkların LC₅₀₋₉₀ değerleri ile yıllık ortalama yağış değerleri karşılaştırıldığında aralarında ilişki olmadığı tespit edilmiştir ($r = 0.34$) ($P = 0.335$). Bu sonuç, ırkın izole edildiği coğrafik bölgenin aldığı yağış miktarının, ırkın su kaybına gösterdiği toleranslılık ile ilişkili olmadığını göstermiştir (Şekil 4.20).

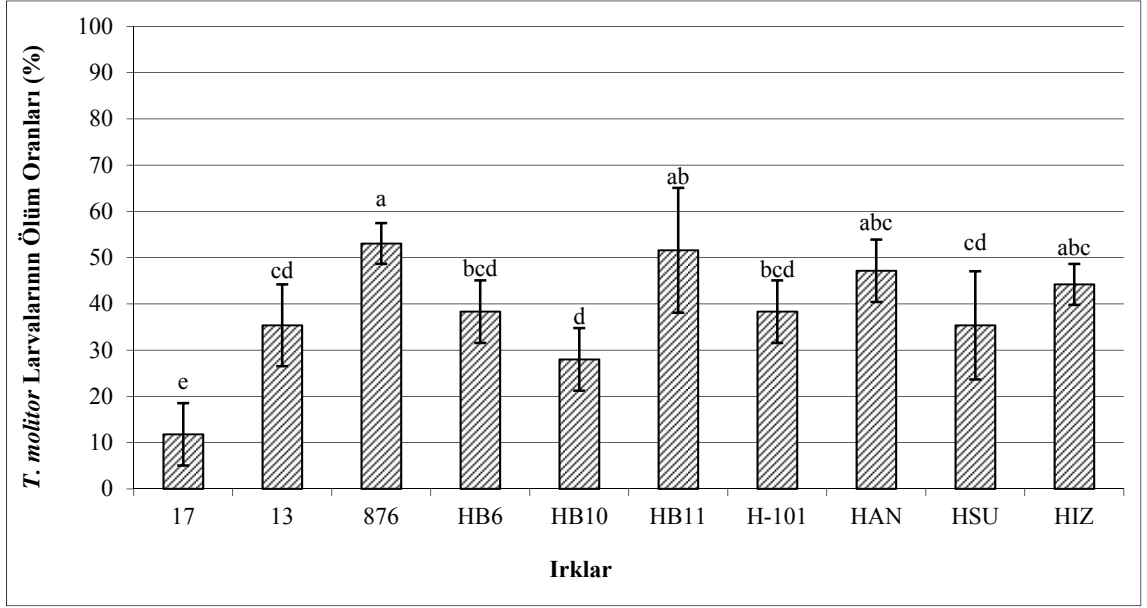
4.3. *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının Etkinlik Denemeleri

Irkların etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan denemelerde ilk başta belirlenen en düşük doz 5 IJ/larva olmasına rağmen 2 IJ/larva dozu da denenmiş ve bu dozda konukçu ölüm oranlarının çoğu ırkta % 50' lere ulaştığı ve bu dozun konukçuyu öldürmede yeterli olabileceği görülmüştür (Şekil 4.21). Dozlar arttıkça konukçu ölüm oranları da artmış ve 20 IJ/larva dozunda % 80' lere ulaşmış (Şekil 4.24), 50 IJ/larva dozundan sonra (75 IJ/larva ve 100 IJ/larva) HB6 ırkı hariç tüm ırklarda konukçu ölüm oranları % 100' e ulaşmıştır (Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27).



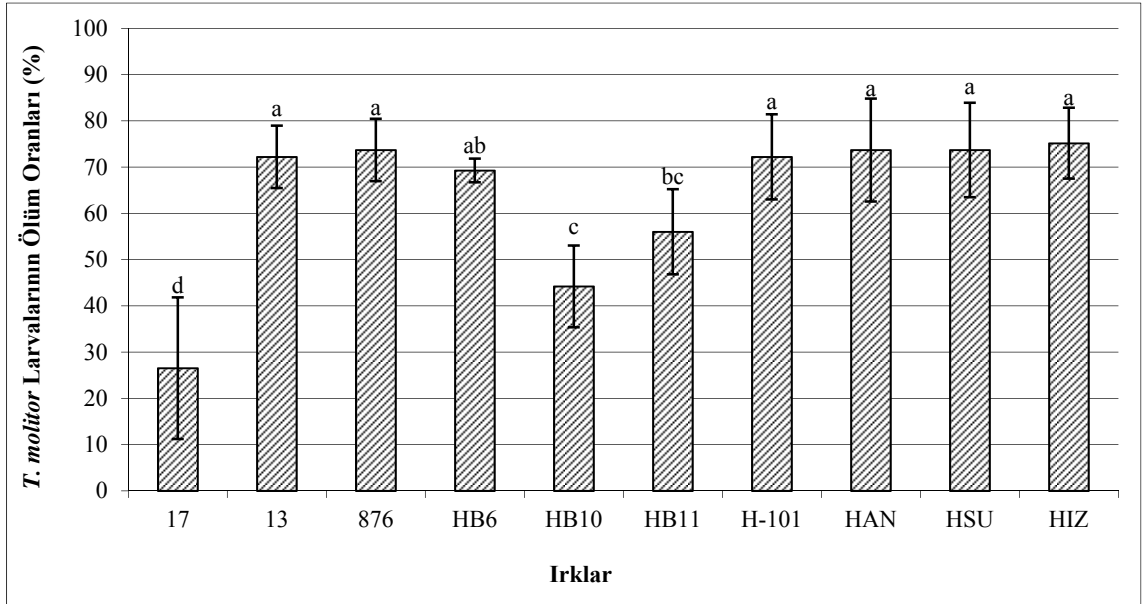
Şekil 4.21. Irkların 2 IJ/larva dozundaki etkinlikleri (F = 3.85; df = 9, 40; P = <0.0001)

2 IJ/larva dozunda en yüksek ölüm etkinliğe sahip olan ırk 13 (Yalova) olurken, bu ırkı sırasıyla 17 (Kırklareli), HB11 (Erzurum), 876 (Çanakkale), HAN (Ankara) ve H-101 (Samsun) ırkları takip etmiş ve bu altı ırk istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır. En düşük etkinliğe sahip olan ırk ise HIZ (İzmir) olurken bu ırkı takip eden sırasıyla HB6 (Antalya) ve HB10 (Adana) ırkları ile istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır (Şekil 4.21).



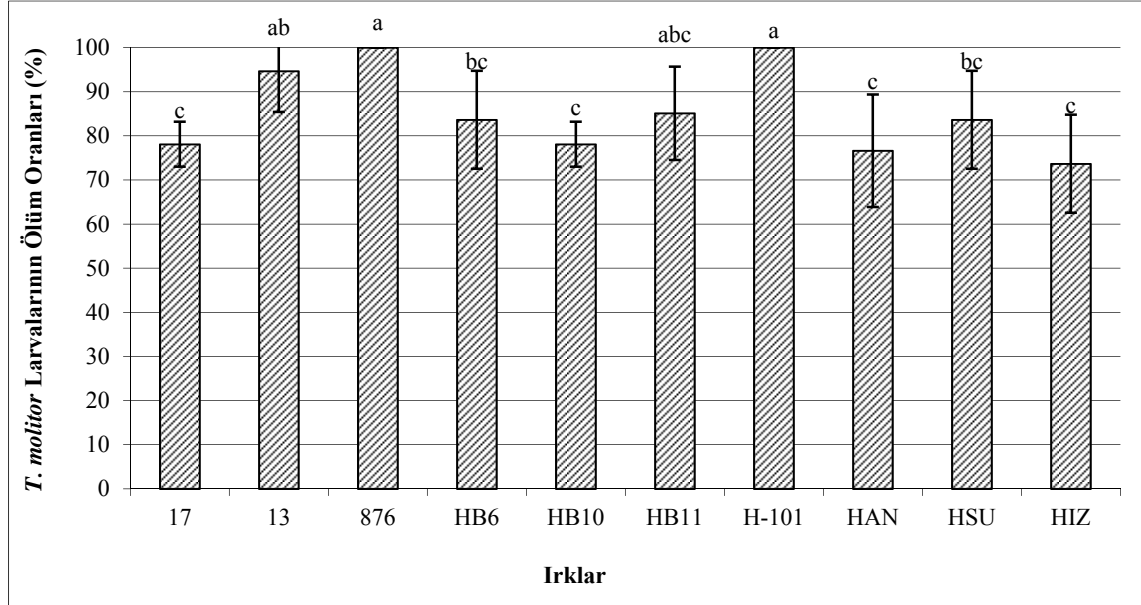
Şekil 4.22. Irkların 5 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 6.69$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)

5 IJ/larva dozunda en yüksek etkinliğe sahip olan ırk 876 (Çanakkale) olurken bu ırkı HB11 (Erzurum), HAN (Ankara) ve HIZ (İzmir) ırkları takip etmiş, dört ırk arasında istatistiksel açıdan farklılık tespit edilememiştir. Önceki dozun aksine 17 (Kırklareli) ırkı en düşük etkinliğe sahip olmuştur (Şekil 4.22).



Şekil 4.23. Irkların 10 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 9.34$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)

10 IJ/larva dozunda etkinlikler artmış ve HB6 (Antalya), HB11 (Erzurum), HB10 (Adana) ve 17 (Kırklareli) hariç diğer tüm ırklarda etkinlik % 70' in üzerine çıkmıştır. En düşük etkinlik 17 (Kırklareli) ırkında görülürken bu ırkı HB10 (Adana) takip etmiş, ırklar istatistiksel olarak farklı gruplarda yer almışlardır (Şekil 4.23).

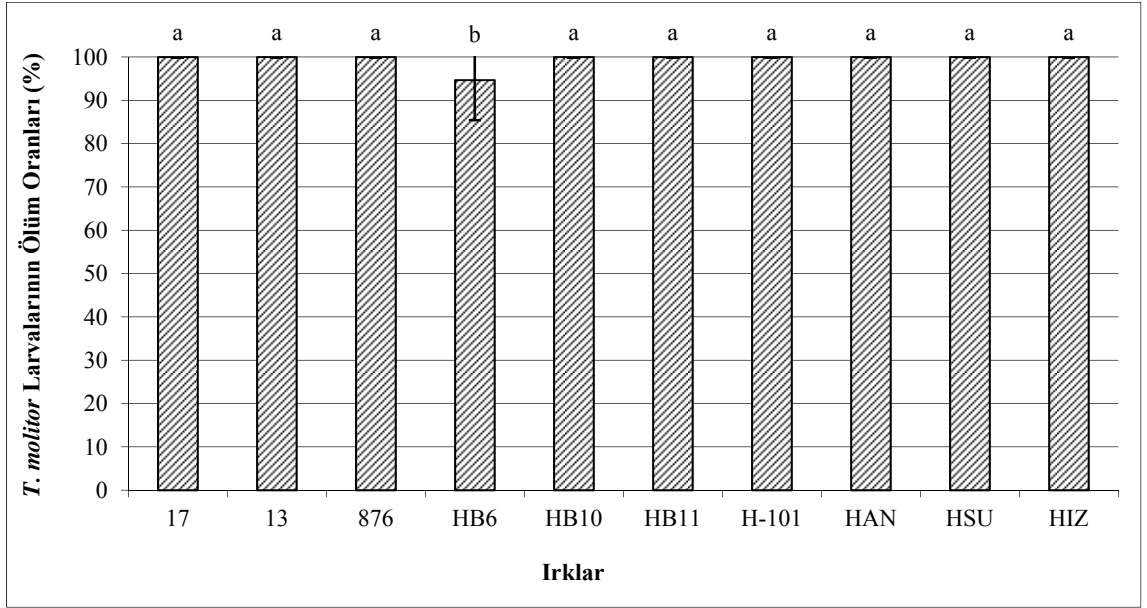


Şekil 4.24. İrkların 20 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 3.57$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)

20 IJ/larva dozunda etkinlikler tüm ırklar için % 70' lerin üzerine çıkmıştır. En yüksek etkinliğe sahip ırk % 100 etkinlik ile 876 (Çanakkale) ve H-101 (Samsun) olmuştur. En düşük etkinliğe sahip olan ırk HIZ (İzmir) olmasına rağmen, kendisini takip eden sırasıyla HAN (Ankara), 17 (Kırklareli) ve HB10 (Adana) ırkları ile arasında istatistiksel farklılık bulunamamıştır (Şekil 4.24).



Şekil 4.25. Irkların 50 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 2.83$; $df = 9, 40$; $P = <0.0001$)



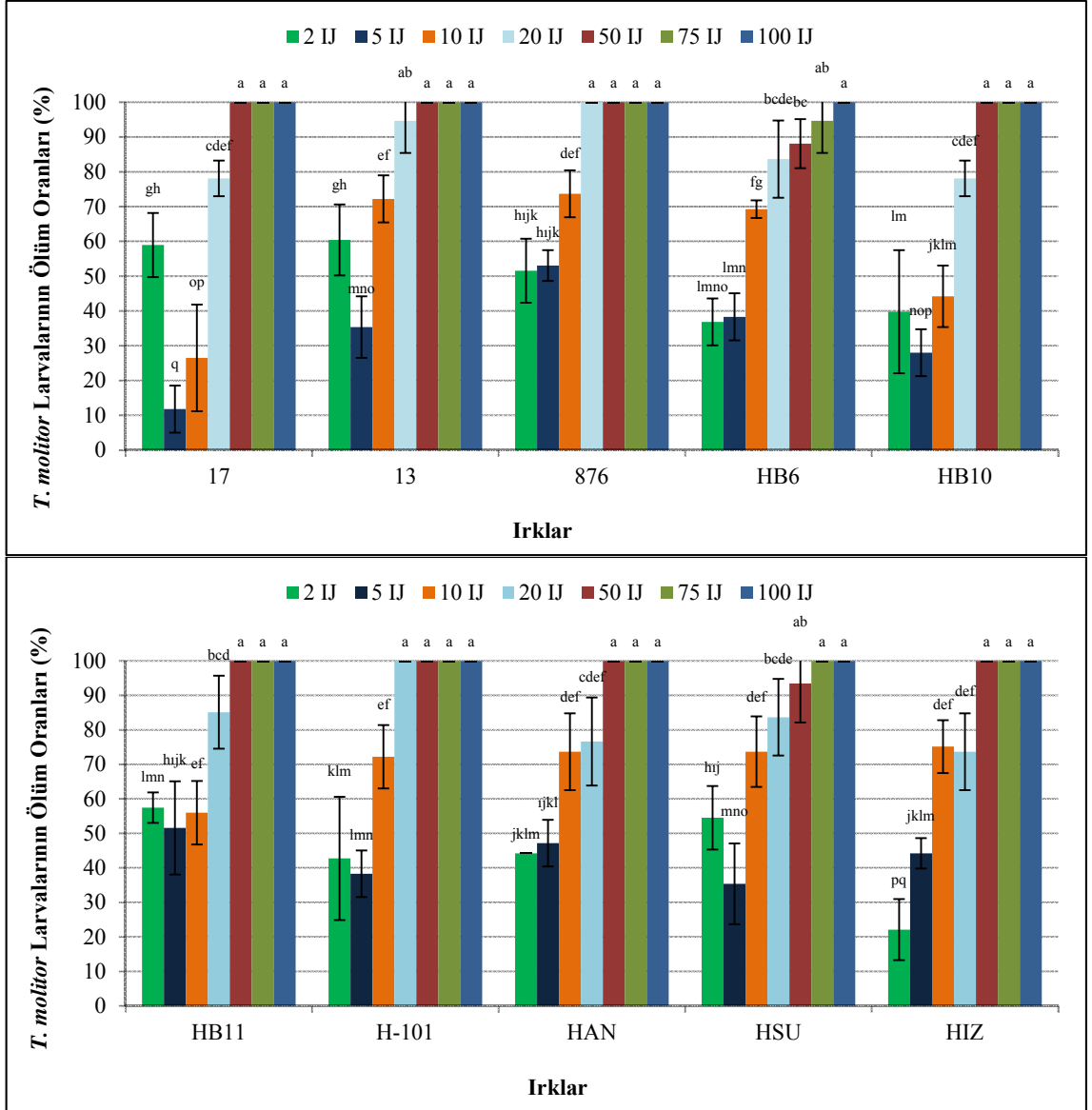
Şekil 4.26. Irkların 75 IJ/larva dozundaki etkinlikleri ($F = 1.0000$; $df = 9, 40$; $P = <0.4711$)



Şekil 4.27. İrkların 100 IJ/larva dozundaki etkinlikleri

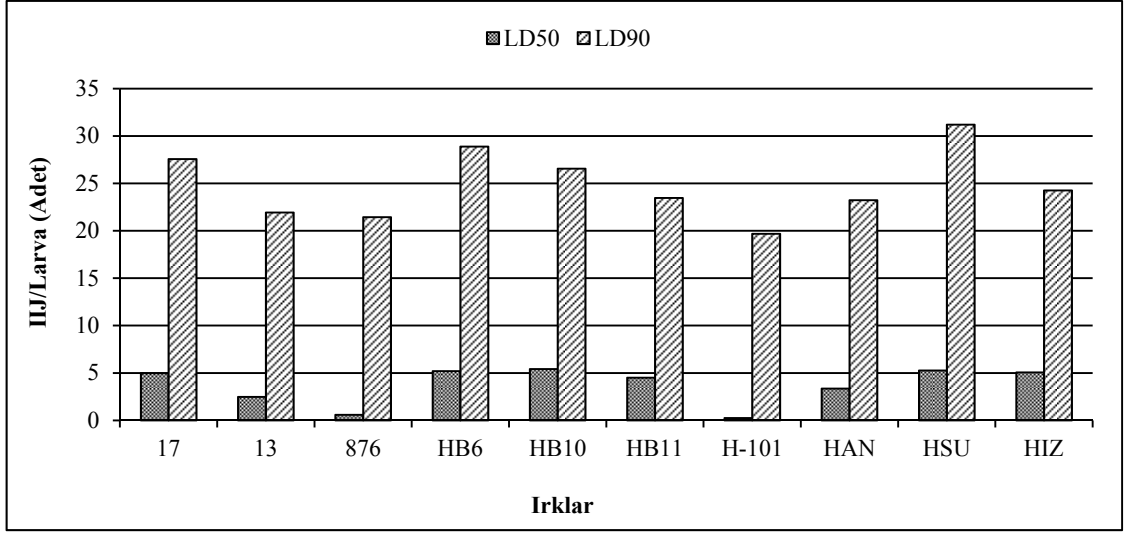
50 IJ/larva dozunda HB6 (Antalya) ve HSU (Şanlıurfa), 75 IJ/larva dozunda ise HB6 (Antalya) hariç diğer tüm ırklar % 100 etkinliğe ulaşmıştır. En yüksek doz olan 100 IJ/larva dozunda ise tüm ırklarda % 100 etkinlik görülmüştür (Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27).

Önceki denemelerde yapıldığı gibi tüm uygulama dozlarından elde edilen veriler toplanarak probit analizi yapılmış ve analiz sonucunda LD₅₀ ve LD₉₀ değerlerine ulaşılmıştır. Bu değerlere göre en etkili ırklar sırasıyla HSU (Şanlıurfa), HB6 (Antalya), 17 (Kırklareli), HB10 (Adana), HIZ (İzmir), HB11 (Erzurum), HAN (Ankara), 13 (Yalova), 876 (Çanakkale) ve H-101 (Samsun) numaralı ırklar olmuştur. *Tenebrio molitor* larvalarının tüm uygulama dozlarındaki ölüm oranları (Şekil 4.26), ırkların LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri (Şekil 4.27) aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.28. Irkların tüm dozlardaki etkinlikleri (F = 38.85; df = 69, 140; P = <0.0001)

Tüm etkinlik denemesi incelendiğinde en düşük doz olan 2 IJ/larva dozunda HIZ (İzmir) ırkı ile 5 IJ/larva dozunda 17 (Çanakkale) ve HB10 (Adana) ırkları haricinde diğer tüm ırkların etkinlikleri % 30' un üzerinde olmuştur. Önceki dozlarda düşük etkinliğe sahip olan 17 (Kırklareli) ve HB10 (Adana) ırkları 10 IJ/larva dozunda da düşük etkinlik gösterirken, 20 IJ/larva dozunda tüm ırklarda ölüm oranları % 80' lere yükselmiş, daha sonrasındaki 50 ve 75 IJ/larva dozlarında HB6 (Antalya) ve HSU (Şanlıurfa) hariç tüm ırklarda % 100 etkinlik görülmüştür. En yüksek uygulama dozu olan 100 IJ/larva dozunda ise tüm ırklarda etkinliğe % 100' e ulaşmıştır (Şekil 4.28).



Irklar	LD ₅₀ (IJ/larva)	LD ₉₀ IJ/larva)
17 (Kırklareli)	4.98	27.56
13 (Yalova)	2.48	21.93
876 (Çanakkale)	0.58	21.43
HB6 (Antalya)	5.20	28.89
HB10 (Adana)	5.42	26.56
HB11 (Erzurum)	4.50	23.47
H-101 (Samsun)	0.25	19.68
HAN (Ankara)	3.35	23.22
HSU (Şanlıurfa)	5.27	31.20
HIZ (İzmir)	5.06	24.26

Şekil 4.29. Irkların LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri

Tüm ırkların LD₅₀ ve LD₉₀ değerlerin incelendiğinde en yüksek etkinliğe sahip ırkın H-101 (Samsun) olduğu görülmektedir. Bu ırkı 876 (Çanakkale) ırkı takip ederken, en düşük etkinliğe sahip ırk LD₅₀ için HB10 (Adana), LD₉₀ için HSU (Şanlıurfa) her iki değer birden elen alındığında ise HB6 (Antalya) olmuştur. Sonuçlar genel olarak incelendiğinde, yüksek sıcaklığa dayanıklı olan ırkların düşük etkinlik gösterdiği, hassas olan ırkları ise yüksek etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.29).

4.4. Stres faktörlerine toleranslılık ile etkinlik arasındaki ilişkiler

Irkların yüksek sıcaklığa toleranslılıkları ile etkinlikleri arasındaki ilişkiyi belirlemek için korelasyon analizi yapılmış ve aralarında pozitif yönlü bir ilişki olduğu saptanmıştır ($r = 0.64$) ($P = 0.046$). Su kaybına toleranslılık ile etkinlik arasındaki ise herhangi bir ilişki tespit edilememiştir ($r = 0.32$) ($P = 0.373$). Bu iki sonuca ek olarak yüksek sıcaklığa ve su kaybına toleranslılık arasındaki ilişki incelenmiş ve bu iki faktör arasında da herhangi bir ilişki bulunamamıştır ($r = 0.31$) ($P = 0.377$) .

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Entomopatojen nematodlar (EPN) özellikle Avrupa ülkelerinde on yılı aşkın bir süredir ticari olarak üretilmekte ve birçok zararlıya karşı etkin biçimde kullanılmaktadır. Açık alanlarda EPN' lerin başarısını etkileyen en önemli iki faktör, yüksek sıcaklığa ve su kaybına olan hassasiyetleridir. Glazer ve ark. (1991) tarafından, bu iki faktörü kontrol eden genlerin döllere yüksek aktarım oranına sahip olmasının bulunması ile EPN' ler üzerinde hibridizasyon fikri doğmasına rağmen bu güne kadar az sayıda çalışma yapılmış olup, en güncel çalışmalar Mukuka ve ark. (2010a, 2010b, 2010c, 2010d) tarafından yapılmıştır.

Hibridizasyon çalışmalarının dışında, dünyanın farklı ülkelerinde EPN' lerin ekolojik karakterizasyonu üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmaların amacı, yüksek sıcaklık ve su kaybına olan hassasiyetlerini minimuma indirerek, biyolojik mücadelede iyi bir potansiyele sahip olan EPN' leri daha etkin bir biçimde kullanmaktır.

Hibridizasyon çalışması kapsamında, Türkiye' nin farklı coğrafik bölgesinde izole edilen on *H. bacteriophora* ırkı yüksek sıcaklığa ve su kaybına maruz bırakılmış, elde edilen sonuçlar doğrultusunda tüm ırkların bu stres faktörlerine olan toleranslılıkları belirlenmiştir. Irklar, özellikle farklı iklim şartlarına sahip bölgelerden izole edilmiş ve bu sayede çevre şartlarına adaptasyonun, tolerans seviyesine etkisi de incelenmiştir. EPN' lerin ekolojik karakterizasyon çalışmaları kapsamında *H. bacteriophora* üzerinde yapılan çalışmaların az sayıda olması, bu tez çalışmasını daha önemli hale getirmektedir.

Yüksek sıcaklığa toleranslılık denemesinde en etkili ırk, HB6 (Antalya) ırkı olmuştur. İrkin izole edildiği bölgenin yüksek sıcaklığa sahip iklim şartları göz önüne alındığında bu durum beklenen bir sonuç olmuştur. Aynı şekilde, HIZ (İzmir) ile HSU (Şanlıurfa) ırkları da yüksek sıcaklığa toleranslılık sıralamasında ikinci ve üçüncü sıradaki ırklar olmuştur. Bu sonuçlarda da, irkin izole edildiği bölgenin yüksek sıcaklığa sahip olması göz önünde bulundurulduğunda, tutarlılık görülmüştür. Bu sonuçların yanında HB11

(Erzurum) ırkı, diğer tüm ırklar arasında yüksek sıcaklığa en düşük toleranslılığa sahip ırk olduğu bulunurken, bu bölgenin sahip olduğu düşük sıcaklıklarla ile karşılaştırıldığında bu durum da beklenen bir sonuç olmuştur.

Su kaybına toleranslılık denemelerinde ise yüksek sıcaklığa toleranslılık denemesindeki kadar tutarlı sonuçlara ulaşamamıştır. Denemede su kaybına en yüksek toleransı gösteren ırk yine HB6 (Antalya) ırkı olurken, bu ırkı 876 (Çanakkale) ve 17 (Kırklareli) ırkları takip etmiştir. En düşük toleranslılık H-101 (Samsun) ırkında görülürken beklenmedik şekilde HB11 (Erzurum), HAN (Ankara), HSU (Şanlıurfa) ve HIZ (İzmir) ırkları birbirlerine çok yakın tolerans seviyeleri göstermiştir. Birbiri ile farklı iklim özelliklerine sahip iki bölgeden izole edilen ırkların birbirlerine çok yakın sonuçlar vermesi, yağışın sıcaklık kadar homojen dağılmasının mümkün olmayışı olarak düşünülmektedir. Ayrıca izolasyon yapılan arazinin konumu, eğimi, çevresindeki bitki örtüsü gibi kriterler de topraktaki su miktarı üzerinde etkili olabilmekte ve sonuç olarak adaptasyonu farklı yönde etkileyebilmektedir.

Etkinlik denemelerinde en etkin ırk H-101 (Samsun) ırkı olurken bu ırkı 876 (Çanakkale) ırkı takip etmiş, yüksek sıcaklık ve su kaybı denemelerinde yüksek tolerans gösteren HB6 (Antalya) ve HSU (Şanlıurfa) ırkları ise etkinlik denemesinde etkinliği en düşük ırklar olmuştur. Etkinlik denemesinde edilen verilere bakıldığında 2 IJ/larva dozunun 5 IJ/larva dozuna göre kimi ırklarda daha etkili olduğu görülmektedir. Denemede uygulanacak dozların tek tek sayılarak hazırlanması mümkün olmadığından, oran-orantı hesabına göre özel bir süspansiyon hazırlanmıştır. Dozlar belirlenirken beş tekerrürlü yapılmalarına rağmen 2 IJ/larva çok düşük bir doz olduğu için fazladan gelecek birkaç birey bile etkinliği fazlasıyla etkileyecektir. Bu nedenle, 2 IJ/larva dozunun 5 IJ/larva dozundan daha yüksek etkinliğe sahip olmasının nedeninin deneysel hata olduğu düşünülmektedir.

Stres faktörlerine toleranslılığın etkinlik ile ilişkisi incelendiğinde, yüksek sıcaklığa toleranslılık ile etkinlik arasında tespit edilen pozitif yönlü ilişki ($r = 0.64$), yüksek sıcaklığa toleranslılık artarken etkinliğin azaldığını göstermektedir. Bu sonuç olumsuz görünmesine rağmen, stres faktörlerine dayanımın artması EPN' lerin hayatta kalma

şansını arttıracığından, ırkların bu iki faktöre toleranslılıkları, etkinliklerinden daha ön planda yer almaktadır. Bu sayede yüksek sıcaklığa sahip bir alana *H. bacteriophora* uygulandığında, uygulanan nematodun canlı kalma oranı artacağından, etkinliği düşük bile olsa sonuç olarak o alandaki hedef böcekleri öldürme şansı artacaktır. Aksi durumda ise, çok daha etkin olan *H. bacteriophora*' lar aynı alana uygulandığında hayatta kalamayacakları için ya da çok düşük oranda canlı birey kalacağından dolayı hedef zararlı üzerinde başarı elde edilemeyecektir.

Morton ve García-del-Pino (2009), iki saat boyunca yaptıkları yüksek sıcaklık denemelerinde *S. feltiae* ırkları ve *S. carpocapsae* 25-35 °C arasında hayatta kalırken, *H. bacteriophora* ırkları 37 °C' ye kadar dayanabilmiş, 40 °C' de ise tüm nematodlar ölmüştür. Sonuçlar incelendiğinde, tez çalışmasından elde edilen sonuçlar ile benzerlikler olduğu görülmektedir. Morton ve García-del-Pino (2009), aynı araştırmada % 97 (~ % 45 PEG 600) bağıl nem koşullarında *H. bacteriophora* ırklarının hayatta kalma oranının % 44 ile % 70 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. *Steirnerma* türlerinde ise bu oran % 80' lerin üzerinde olmuştur. Bağıl nem oranı % 93 ve % 88' e düşürüldüğünde ölüm oranları artmış ve nem % 85' e düştüğünde tüm ırklarda tez çalışmasına benzer şekilde % 100 ölümler gözlemlenmiştir.

Liu ve Glazer (2000), *H. bacteriophora* HP88 ırkında ilk olarak 96 saat boyunca % 97 (~ % 45 PEG 600) ve % 93 (~ % 47.5 PEG 600) bağıl neme maruz bırakılan IJ'lerde hayatta kalma oranları % 70' lerin üzerindeyken, % 88 (~ % 60 PEG 600) ve % 85 (~ % 65 PEG 600) bağıl neme maruz bırakılan IJ' lerde hayatta kalma oranları % 10' ların altına düşmüş hatta ölüm oranları % 100' ü bulmuştur. Bu sonuçlar, kurak ortam ve sonucunda IJ' den kaybolan suyun, hayatta kalma oranını olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir. Bunun yanında Liu ve Glazer (2000), farklı iklimatik bölgelerden izole edilen 12 adet *H. bacteriophora* izolatının aynı bağıl nemde (% 97) farklı hayatta kalma oranları gösterdiğini saptarken, bu tez çalışmasında da farklı iklimatik özelliklere sahip olan coğrafik koşullardan izole edilen ırkların farklı tepkiler verdiği belirlenmiştir.

Solomon ve ark. (1999), 3 farklı *Steirnerma feltiae* ırkının (IS-6, IS-15 ve N8) su kaybına olan toleranslılığını belirlemek amacıyla bir çalışmada ırkları deneme

öncesinde % 97 bağıl nemde 3 gün boyunca 23 °C' de adapte etmiş ile tüm ırkların uyuşuk döneme (kuyessens) geçmesi sağlamış ve bu durum daha kurak şartlara (% 75 ve % 85 bağıl nem) daha iyi dayanmalarını sağlamıştır. Negev çölünden izole edilen IS-6 ırkı su kaybına en iyi dayanımı gösterirken kuzey İsrail'den izole edilen IS-15 ırkı ikinci en iyi toleranslılığı göstermiştir. En az toleranslılığı gösteren ırk ise Almanya'dan izole edilen N8 ırkı olmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, ırkın izole edildiği coğrafik bölgenin iklim şartlarının, stres faktörüne toleranslılıkta etkin bir rol oynadığı görülmüş ve benzer veriler yapılan tez çalışmasında da elde edilmiştir.

Gonzalez-Ramirez ve ark. (2000), *H. bacteriophora*' nın *Mocis latipes* larvası ve prepupası üzerinde % 22.5-100 arasında değişen oranda etkinlik gösterdiğini, prepupa evresine 10 IJ/birey uygulama dozunda ölüm oranının % 97.5-100 arasındaki değerlere ulaştığını bildirirken, elde edilen bu veriler yapılan tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca *H. bacteriophora*' nın zararlının larvaları üzerindeki LD₅₀ değeri 5.26-37.66 IJ/larva bulunurken, bu sonuç tez çalışması kapsamında elde edilen verilerden daha yüksek çıkmıştır.

Kepenekçi ve ark. (2004), Tur-H1 ve Tur-H2 ırklarını *Curculio elephas*' in son dönem larvaları üzerinde etkinlik değerinin oldukça yüksek seviyede olduğunu, özellikle 25 °C' de larvalar üzerinde % 96.5 oranında etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca Tur-H1 ve Tur-H2 ırklarının LD₅₀ değerlerinin sırasıyla 266 ve 494 IJ/larva olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçlar, tez çalışmasında elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında etkinlik açısından benzerlik gösterirken LD₅₀ açısından farklılıklar içermektedir. LD₅₀ değerinin farklı çıkmasının nedeni olarak farklı her canlının EPN' lere aynı hassasiyette olmaması ve farklı dayanıklılık seviyeleri göstermesi şeklinde düşünülmektedir.

Susurluk ve ark. (2009), *Dorcadion pseudopreissi*' ye karşı *H. bacteriophora*' nın etkinliğini değerlendirmek üzere 25 °C' de 50, 100 ve 150 IJ/larva dozlarında *H.* sırasıyla % 55, 65 ve 85 oranlarında olduğunu bildirmişlerdir. Önceki çalışmaya benzer şekilde bu çalışmada da etkinlik, yapılan tez çalışmasına oranla düşük olmuştur. Bunun nedeni olarak da yine farklı türlerin farklı hassasiyet seviyeleri olarak görülmektedir.

Yapılan bu tez çalışması Türkiye’ de bu alanda yapılan ilk çalışma olup, farklı EPN ırklarının yüksek sıcaklık ve su kaybı stres faktörlerine verdiği tepkiler belirlenmiştir. Elde edilen bu veriler sayesinde bu alanda yapılacak hibridizasyon çalışmaları için gerekli temel bilgiler elde edilmiştir. Bunun yanında farklı iklim şartlarından izole edilen ırkların yüksek sıcaklık ve su kaybı stres faktörlerine farklı tepkiler vermesi ve EPN’ lerin bu stres faktörlerini kontrol eden genlerinin ilerideki döllere yüksek aktarım oranına sahip olması, ileride üstün bir ırk elde etme ve biyolojik mücadele alanında bu ırkları kullanarak yeni imkânlar yaratma konusunda bir kilometre taşı olarak görülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Adams, B.J., Nguyen, K.B. 2002. Taxonomy and systematics: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 1-34.

Akhurst, R.J., Boemare, N.E. 1990. Biology and Taxonomy of *Xenorhabdus*: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Ed.: Gaugler, R., Kaya, H.K., CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 75-90.

Boemare, N.E., Laumond, C., Mauleon, H. 1996. The entomopathogenic nematode-bacterium complex: Biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 333-346.

Brown, I., Gaugler, R. 1997. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. *Nematologica*, 43: 363-375.

Chen, S., Li, J., Han, X., Moens, M. 2003. Effect of temperature on the pathogenicity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to *Delia radicum*. *BioControl*, 48(6): 713-724.

Chung, H.J., Lee, D.W., Yoon, H.S., Lee, S.M., Park, C.G., Choo, H.Y. 2010. Temperature and dose effects on the pathogenicity and reproduction of two Korean isolates of *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13(4): 277-282.

Ehlers, R-U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: Practice and commercial aspects in regard to regulatory policies. *Biocontrol Science Technology*, 6: 303-316.

Ehlers, R-U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied Microbiology Biotechnology*, 56: 623-633.

Ehlers, R-U. 2003. Biocontrol nematodes: Environmental Impacts of Microbial Insecticides, Ed.: Hokkanen, H.M.T., Hajek, A.J., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 177-220.

Ehlers, R-U., Lunau, S., Krasomil-Osterfeld, K., Osterfeld, K.H. 1998. Liquid culture of the entomopathogenic nematode-bacterium complex *Heterorhabditis megidis* / *Photorhabdus luminescens*. *Biocontrol*, 43: 77-86.

Ehlers, R-U., Nieman, I., Hollmer, S., Strauch, O., Jende D., Shanmugasundaram, M., Mehta, U.K., Easwaramoorthy, S.K., Burnell, A. 2000. Mass production potential of the bacto-helminthic biocontrol complex *Heterorhabditis indica* - *Photorhabdus luminescens*. *Biocontrol Science and Technology*, 10: 607-616.

Finnegan, M.M., Downes, M.J., O'Regan, M., Griffin, C.T. 1999. Effect of salt and temperature stresses on survival and infectivity of *Heterorhabditis* spp. IJs. *Nematology*, 1: 69-78.

Gaugler, R. 2002. Preface: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 9-10.

Gaugler, R., Kaya, H. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, FL, 365 pp.

Georgis, R. 1990. Formulation and application technology: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Ed.: Gaugler, R., Kaya, H.K., CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 173–191.

Georgis, R., Kaya, H.K. 1998. Formulation of entomopathogenic nematodes. In Burges, H.D. (ed). *Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 289-308.

Glaser, R.W., Fox, H. 1930. A nematode parasite of the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newm.). *Science*, 70: 16-17.

Glazer, I. 2002. Survival biology: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 169–188.

Glazer, I., Gaugler, R., Segal, D. 1991. Genetics of the nematode *Heterorhabditis bacteriophora* strain HP88: The diversity of beneficial traits. *Journal of Nematology*, 23: 324-333.

Gonzalez-Ramirez, M., Lezama-Gutierrez, R., Molina-Ochoa, J., Rebolledo-Dominguez, O., Lopez-Edwards, M., Pescador-Rubio, A. 2000. Susceptibility of *Mocis latipes* (Lepidoptera : Noctuidae) to *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida : Heterorhabditidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(4): 1105-1108.

Grewal, P.S., Selvan, S., Gaugler, R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *Journal of Thermal Biology*, 19: 245–253.

Grewal, P.S., Wang, X., Taylor, R.A. 2002. Dauer juvenile longevity and stress tolerance in natural populations of entomopathogenic nematodes: is there a relationship? *International Journal of Parasitology*, 32(6): 717-725.

Griffin, C.T., Downes, M.J., Block, W. (1990) Tests of antarctic soils for insect parasitic nematodes. *Antarctic Science*, 2: 221–222.

- Hang, D.T., Choo, H.Y., Lee, D.W., Lee, S.M., Kaya, H.K., Park, C.G. 2007.** Temperature effects on Korean entomopathogenic nematodes, *Steinernema glaseri* and *S. longicaudum*, and their symbiotic bacteria. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(3): 420-427.
- Hirao, A., Ehlers, R-U. 2009.** Effect of temperature on the development of *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema feltiae* (Nematoda: Rhabditida) in liquid culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84: 1061-1067.
- Hominick, W.M. 2002.** Biogeography: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 115-143.
- Hominick, W.M., Reid, A.P., Bohan, D.A., Briscoe, B.R. 1996.** Entomopathogenic nematodes: biodiversity, geographical distribution and the Convention on Biological Diversity. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 317–331.
- Jagdale, G.B., Gordon, R. 1998.** Effect of propagation temperatures on temperature tolerances of entomopathogenic nematodes. *Fundamental and Applied Nematology*, 21(2): 177-183.
- Kaya, H.K., Stock, S.P. 1997.** Techniques in insect nematology: Manual of techniques in insect pathology, Ed.: Lacey, L.A., Academic Press, London, UK, pp. 281-324.
- Kepenekçi, İ., Gökçe, A., Gaugler, R. 2004.** Virulence of three species of entomopathogenic nematodes to the chestnut weevil, *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematropica*, 34(2): 199-204.
- Klein, M.G. 1990.** Efficacy against soil-inhabiting insect pests: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Ed.: Gaugler, R., Kaya, H.K., CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 195-214.
- Koppenhöfer, A. 2000.** Nematodes: Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology, Ed.: Lacey, L.A., Kaya, H.K., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 283-301.
- Koppenhöfer, A.M., Baur, M.E., Stock, S.P., Choo, H.Y., Chinnasri, B., Kaya, H.K. 1997.** Survival of entomopathogenic nematodes within host cadavers in dry soil. *Applied Soil Ecology*, 6(3): 231-240.
- Koppenhöfer, A.M., Fuzy, E.M. 2003.** Ecological characterization of *Steinernema scarabaei*, a scarab-adapted entomopathogenic nematode from New Jersey. *Journal of Invertebrate Pathology*, 83(2): 139-148.
- Koppenhöfer, A.M., Fuzy, E.M. 2007.** Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis zealandica* and *H. bacteriophora*. *Applied Soil Ecology*, 35(1): 128-139.

Lewis, E.E., Gaugler, R., Harrison, R. 1992. Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology*, 105: 309–315.

Liu, Q.Z., Glazer, I. 2000. Desiccation survival of entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis*. *Phytoparasitica*, 28(4): 331-340.

Lunau, S., Stoessel, S., Schmidt-Peisker, A.J., Ehlers, R-U. 1993. Establishment of monoxenic inocula for scaling up *in vitro* cultures of the entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Nematologica*, 39: 385-399.

Morton, A., Garcia-del-Pino, F. 2009. Ecological characterization of entomopathogenic nematodes isolated in stone fruit orchard soils of Mediterranean areas. *Journal of Invertebrate Pathology*, 102(3): 203-213.

Mukuka, J., Strauch, O., Al Zainab, M.H., Ehlers, R-U. 2010a. Effect of temperature and desiccation stress on infectivity of stress tolerant hybrid strains of *Heterorhabditis bacteriophora*. *Russian Journal of Nematology*, 18: 111-116.

Mukuka, J., Strauch, O., Ehlers, R-U. 2010b. Variability in desiccation tolerance among different strains of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Nematology*, 12: 711-720.

Mukuka, J., Strauch, O., Hoppe, C., Ehlers, R-U. 2010c. Improvement of heat and desiccation tolerance in *Heterorhabditis bacteriophora* through cross-breeding of tolerant strains and successive genetic selection. *BioControl*, 55: 511-521.

Mukuka, J., Strauch, O., Waeyenberge, L., Viaene, N., Moens, M., Ehlers, R-U. 2010d. Heat tolerance among different strains of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *BioControl*, 55: 423-434.

Nickle, W.R. 1984. History, Development and Importance of Insect Nematology: Plants and Insect Nematodes, Ed.: Nickle, W.R., Marcel Dekker, New York, pp. 627-653.

Patel, M.N., Perry, R.N., Wright, D.J. 1997. Desiccation survival and water contents of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae). *International Journal for Parasitology*, 27(1): 61-70.

Peters, A. 1996. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect populations. *Biocontrol Science and Technology*, 6 (3): 389-402.

Poinar, G.O. Jr. 1975. Entomogenous nematodes. EJ Brill, Leiden, The Netherlands, 317 pp.

Poinar, G.O. Jr. 1979. Nematodes for biological control of insects. CRC Press, Boca Raton, FL, 277 pp.

Poinar, G.O. Jr. 1990. Taxonomy and Biology of *Steinernema* and *Heterorhabditis*: Entomopathogenic Nematodes for Biological Control, Ed.: Gaugler, R., Kaya, H.K., CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 23-61.

Radova, S., Trnkova, Z. 2010. Effect of soil temperature and moisture on the pathogenicity of two species of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). *Journal of Agrobiology*, 27(1): 1-7.

Raja, R.K., Sivaramakrishnan, S., Hazir, S. 2011. Ecological characterisation of *Steinernema siamkayai* (Rhabditida: Steinernematidae), a warm-adapted entomopathogenic nematode isolate from India. *BioControl*, 56(5): 789-798.

Ringer, S. 1882. Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood on the contraction of the ventricle. *The Journal of Physiology*, 3: 380-397.

Rovesti, L., Dese, K.V. 1990. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Weiser and *S. feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica*, 36: 237-245.

Salame, L., I. Glazer, N. Miqaia, and Chkhubianishvili T. 2010. Characterization of Populations of Entomopathogenic Nematodes Isolated at Diverse Sites across Israel. *Phytoparasitica*, 38(1): 39-52.

Salem, S. A., Abdel-Rahman, H. A., Zebitz, C. P. W., Saleh, M. M. E., Ali, F. I., El-Kholy, M.Y. 2008. Survival, pathogenicity and propagation of entomopathogenic nematodes under different temperatures. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 18(1): 91-98.

Serwe-Rodriguez, J., Sonnenberg, K., Appleman, B., Bornstein-Forst, S. 2004. Effects of host desiccation on development, survival, and infectivity of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 85(3): 175-181.

Shapiro, D.I., Glazer, I., Segal, D. 1996. Trait stability and fitness of the heat tolerant entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* IS5 strain. *Biological Control*, 6: 238-244.

Shapiro-Ilan, D.I., Mbata, G.N., Nguyen, K.B., Peat, S.M., Blackburn, D., Adams, B.J. 2009. Characterization of biocontrol traits in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis georgiana* (Kesha strain), and phylogenetic analysis of the nematode's symbiotic bacteria. *Biological Control*, 51(3): 377-387.

Shapiro-Ilan, D.I., Stuart, R.J., McCoy, C.W. 2005. Characterization of biological control traits in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis mexicana* (MX4 strain). *Biological Control*, 32(1): 97-103.

- Solomon, A., Paperna, I., Glazer, I. 1999.** Desiccation survival of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*: induction of anhydrobiosis. *Nematology*, 1: 61-68.
- Somasekhar, N., Grewal, P.S., Klein, M.G. 2002.** Genetic variability in stress tolerance and fitness among natural populations of *Steinernema carpocapsae*. *Biological Control*, 23: 303-310.
- Spence, K.O., Stevens, G.N., Arimoto, H., Ruiz-Vega, J., Kaya, H.K., Lewis, E.E. 2011.** Effect of insect cadaver desiccation and soil water potential during rehydration on entomopathogenic nematode (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) production and virulence. *Journal of Invertebrate Pathology*, 106(2): 268-273.
- Strauch, O., Ehlers, R-U. 1998.** Food signal production of *Photorhabdus luminescens* inducing the recovery of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* spp. in liquid culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50: 369–374.
- Strauch, O., Niemann, I., Neumann, A., Schmidt, A.J., Peters, A., Ehlers, R-U. 2000.** Storage and formulation of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *H. bacteriophora*. *BioControl*, 45: 483–500.
- Strauch, O., Oestergaard, J., Hollmer, S., Ehlers, R-U. 2004.** Genetic improvement of the desiccation tolerance of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* through selective breeding. *Biological Control*, 31: 218-226.
- Susurluk, A., Dix, I., Stackebrandt, E., Strauch, O., Wyss, U., Ehlers, R-U. 2001.** Identification and ecological characterisation of three entomopathogenic nematode-bacterium complexes from Turkey. *Nematology*, 3: 833-841.
- Susurluk, A., Ehlers, R-U. 2008.** Field persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in different crops. *BioControl*, 53: 627-641.
- Susurluk, I.A., Kumral, N.A., Peters, A., Bilgili, U., Açıkgöz, E. 2009.** Pathogenicity, reproduction and foraging behaviours of some entomopathogenic nematodes on a new turf pest, *Dorcadion pseudopreissi* (Coleoptera: Cerambycidae). *Biocontrol Science and Technology*, 19(6): 585–594.
- Wright, D.J., Peters, A., Schroer, S., Fife, J.P. 2005.** Application technology: Nematodes as biological control agents, Ed.: Grewal, P.S., Ehlers, R-U., Shapiro-Ilan, D.I., CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 91-106.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tufan Can ULU
Doğum Yeri ve Tarihi : Üsküdar / TÜRKİYE, 25.09.1988
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : İstek Vakfı Bilge Kağan Koleji / İstanbul (2002-2005)
Lisans : Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Programı (2005-2009)
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı (2009-2012)
İletişim (e-posta) : tculu@uludag.edu.tr, tufancanulu@gmail.com

Yayımları

Armağan B., Ulu, T.C., İkizer, T. 2010. Bursa İli Nilüfer İlçesi Görükle Mevkii Topraklarında Entomopatojen Nematod Sürveyi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(1): 91-98.

Kongu, Y., Ulu, T.C., Susurluk, İ.A. 2011. Entomopatojen Nematodların *in vitro* Üretiminde Simbiyont Bakteri ve Yumurta İzolasyonunun Başarısını Etkileyen Faktörler. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş-Türkiye.

Ulu, T.C., Kongu, Y., Susurluk, İ.A. 2011. Türkiye'nin Değişik Bölgelerinden İzole Edilen Entomopatojen Nematod, *Heterorhabditis bacteriophora* İzolatlarının Yüksek Sıcaklık ve Su Kaybına Tolerans Seviyelerinin Belirlenmesi. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş-Türkiye.