

**HİBRİT ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis*
bacteriophora HBH IRKI İLE EBEVEYLERİNİN ÇİM
BİTKİSİNİN KÖKLERİNE YÖNELİM
DAVRANIŞLARININ KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR**

Sema YILDIRIM



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİBRİT ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora*
HBH IRKI İLE EBEVEYNLERİNİN ÇİM BİTKİSİNİN KÖKLERİNE
YÖNELİM DAVRANIŞLARININ KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR**

Sema YILDIRIM

Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA-2019

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Sema YILDIRIM tarafından hazırlanan "Hibrit Entomopatojen Nematod *Heterorhabditis bacteriophora* Hbh Irkı İle Ebeveylelerinin Çim Bitkisinin Köklerine Yönelim Davranışlarının Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalar" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Başkan: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
0000-0002-0699-1752
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı

İmza:



Üye: Doç. Dr. Nimet Sema GENÇER
0000-0001-8053-5002
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı

İmza:



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Tufan Can ULU
0000-0003-3640-1474
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Ziraat ve
Doğa Bilimleri Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı

İmza:



Yukarıdaki Sonucu Onaylıyorum

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN

Enstitü Müdürü

.../.../2019

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.

04/09/2019

Sema YILDIRIM

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* HBH IRKI İLE EBEVENYLERİNİN ÇİM BİTKİSİNİN KÖKLERİNE YÖNELİMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Sema YILDIRIM

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Kimyasal maddelerin çevre ve insan sağlığı açısından büyük problemlere sebebiyet vermesi ve zararlıların bu kimyasallara karşı direnç kazanmaları, uzmanları biyolojik mücadele seçeneğine ve bu yöntemlerde kullanılan ajanlara yöneltmiştir. Bu canlılardan birisi de insan sağlığına olumsuz etkileri düşük olan, çevre ile uyumlu, kitle üretimlerinin yapılması mümkün olan ve geniş konukçu dağılımlarına sahip entomopatojen nematodlardır (EPN). EPN'ler uygulandıkları alanlarda şartlar uygun olduğu sürece üremeye devam ederek varlıklarını sürdürebilmektedirler. Buna ek olarak biyolojik pestisitler ve diğer kimyasallarla da uyumludurlar. EPN'ler ile bakteri arasındaki simbiyotik ilişkinin anlaşılması, EPN'lerin ticari anlamda biyolojik mücadele ajanı olması konusunda kırılma noktası olmuştur.

Bu tez çalışmasında, bazı *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının İngiliz Çimi (*Lolium perenne*) köklerine ve Petek Güvesi (*Galleria mellonella*) larvalarına yönelimleri araştırılmıştır. Bu amaçla, üç farklı *H. bacteriophora* ırkı kullanılmıştır. Bunlardan biri hibrit tür (HBH) ve diğer ikisi hibrid türün ebeveynidir (HB1138 ve HB4). Çalışma, üç farklı deneysel kombinasyon ile yapılmıştır. Y-Olfaktometre düzeneğinde A kombinasyonu; bitki kökleri, larvalar ve kontrol; B kombinasyonu; bitki kökleri, kontrol-I ve kontrol-II; C kombinasyonu ise mekanik olarak yaralanmış bitki kökleri, kontrol-I ve kontrol-II bölümlerini içermektedir. Kombinasyon A'da bitki köklerine ve böcek larvalarına karşı en yüksek yönelimi HB1138 göstermiştir. Kombinasyon B'de bitki köklerine en yüksek yönelimi HBH ve kombinasyon C'de mekanik olarak yaralı bitki köklerine en yüksek yönelimi HB4 sergilemiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda, birbirinden farklı EPN ırklarının aynı türe ait olsalar bile bitki köklerine ve konukçu böceklerine karşı yönelimlerinin farklı olabileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Entomopatojen nematod, *Heterorhabditis bacteriophora*, Olfaktometre, Nematod davranışları, Çim Bitkisi

2019, vii + 54 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATIONS ON COMPARISON OF GRASS PLANT FORAGING BEHAVIOUR OF HYBRID ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* STRAIN (HBH) AND THEIR PARENTS

Sema YILDIRIM

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

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

The fact that chemical substances caused big serious problems in terms of environment and human health and pests gained resistance against these chemicals directed the experts to biological control pathways and the living things used in these methods. One of the agents entomopathogen nematodes, which have no negative effects on human health, are compatible with the environment, can be mass produced and have wide host distributions. EPNs can survive as long as the conditions are appropriate in their application areas. In addition, they are compatible with biological pesticides and other chemicals. The understanding of the symbiotic relationship between nematodes and bacteria has been the breaking point for the EPNs as a commercial biological agent.

In this thesis, three different strains of *Heterorhabditis bacteriophora* were used. One of them is a hybrid strain (HBH) and the two are parents (HB1138 and HB4) of the hybrid strain. Three experimental combinations were conducted in the study. There were A; plant roots, larvae, control; B; plantroots, control I, control II; C; mechanically wounded plant roots, control-I, control-II in Y-tube olfactometers filled with moist sand. The results indicated that for combination A, the most orientation to plants and larvae was HB1138; for combination B, the most tendency to plant roots was HBH and for combination C, the strain HB4 showed the highest response to mechanically damaged plant roots.

According to the results, each strain of EPNs may have different response to plant roots and host insects.

Key words: Entomopathogen nematode, *Heterorhabditis bacteriophora*, Olfactometer, Nematode behavior, Grass Plant

2019, vii + 54 pages.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca her zaman bilgi ve birikimlerinden faydalandığım, yardımlarını esirgemeyerek çalışmalarımı yönlendiren, bu tez çalışmasının konusunun belirlenmesinde, yürütülmesinde ve tamamlanmasında katkısı büyük olan saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK'a,

Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nin tüm hocalarına, Nematoloji Laboratuvarındaki çalışmalarında yardımcı olan Yavuz Selim ŞAHİN'e,

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sema YILDIRIM
04/09/2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Nematodlar	2
1.2. Entomopatojen Nematodlar (Fam: Heterorhabditidae ve Steinernematidae)	2
1.3. Entomopatojen Nematod- Bakteri İlişkisi	3
1.4. Entomopatojen Nematodların Hayat Döngüleri	4
1.5. Entomopatojen Nematodların Mutualistik Bakterileri: <i>Xenorhabdus</i> ve <i>Photorhabdus</i> spp.	6
1.6. Entomopatojen Nematodların Konukçu Dağılımı	7
1.7. Entomopatojen Nematod- Konukçu İlişkileri	8
1.8. Entomopatojen Nematodların Konukçu Bulma Davranışları	10
1.9. Entomopatojen Nematodların Dağılımı	11
1.10. Entomopatojen Nematodları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler	12
1.10.1. Abiyotik Faktörler	12
1.10.1.1. Sıcaklık	12
1.10.1.2. Nem	12
1.10.1.3. Toprak Yapısı	12
1.10.1.4. UV	13
1.10.1.5. pH	13
1.10.1.6. Oksijen	13
1.10.2. Biyotik Faktörler	13
1.11. Çim Bitkisi	14
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	16
2.1. Y-Olfaktometre Düzenegi Kullanılarak EPN Davranışlarının Tespit Edilmesi İle İlgili Kaynak Araştırması	16
2.2. Entomopatojen Nematodların Konukçu Arama Davranışlarıyla İlgili Kaynak Araştırması	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	24
3.1. Materyal	24
3.1.1. <i>Galleria Mellonella</i> Larvalarının Laboratuvar Koşullarında Yetiştirilmesi	24
3.1.2. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irkları	26
3.1.2.1. Ebeveyn İzolatlar	26
3.1.2.2. Hibrit İrk	26
3.1.2.3. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının <i>in vivo</i> Üretimi	26
3.1.3. Silis Kumu	29
3.1.4. Y-Olfaktometre Düzenegi	30
3.1.5. Denemede Kullanılan Çim Bitkisi	31
3.2. Yöntem	32
3.2.1. Y-Olfaktometrenin Hazırlanışı	32
3.2.2. EPN'lerin Ekstraksiyonu	35

3.2.3. EPN Sayımı	36
3.2.4. Deneysel Tasarım.....	37
3.2.5. Veri Analizleri	38
4. BULGULAR	39
4.1. Kullanılan Irkların <i>Lolium perenne</i> Köklerine ve <i>Galleria mellonella</i> Larvalarına Yönelme Durumları (Kombinasyon A)	39
4.2. Kullanılan Irkların <i>Lolium perenne</i> Köklerine Yönelme Durumları (Kombinasyon B)	39
4.3. Kullanılan Irkların Mekanik Olarak Yaralı <i>Lolium perenne</i> Köklerine Yönelme Durumları (Kombinasyon C).....	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	42
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	54

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
g	Gram
CO ₂	Karbondioksit
µm	Mikrometre(1x10 ⁻⁶ m)
mm	Milimetre
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
cm ³	Santimetreküp
%	Yüzde

Kısaltmalar	Açıklama
Ç	Çim Kolu
Df	Serbestlik Derecesi
EPN	Entomopatojen Nematod
IJ	İnfektif Jüvenil
J3	Üçüncü Dönem Larva
J4	Dördüncü Dönem Larva
K	Kontrol Kolu
L	Larva Kolu
LSD	Anlamlı Fark Testi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3. 1. <i>Galleria mellonella</i> larvalarının genel görünümü.....	23
Şekil 3. 2. <i>Galleria mellonella</i> larvalarının beslenme görüntüsü.....	24
Şekil 3. 3. <i>Galleria mellonella</i> larvalarının ısıtmalı etüv içerisinde görünümü.....	24
Şekil 3. 4. İnokülasyon işlemi.....	26
Şekil 3. 5. Larvaların enfeksiyon sonrası görünümü.....	27
Şekil 3. 6. White trap düzeneği.....	27
Şekil 3. 7. Yeni nesil IJ'lerin muhafaza edildiği kültür kapları.....	28
Şekil 3. 8. Silis kumu.....	28
Şekil 3.9. Y-Olfaktometre düzeneği	29
Şekil 3.10. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri serasında yetiştirilen İngiliz çimi alan.....	31
Şekil 3.11. L koluna eklenen larva ve metal tel	32
Şekil 3. 12. Y-Olfaktometre düzeneğinin bir koluna eklenen çim bitkisi kökü	32
Şekil 3.13. Y-Olfaktometre düzeneğine IJ'lerin eklenmesi.....	33
Şekil 3.14. Y-Olfaktometrenin kapalı görünümü	33
Şekil 3.15. Y-Olfaktometrelerin bekletildiği 25 °C'ye ayarlı etüv	33
Şekil 3.16. Y-Olfaktometrenin her bir kolundan çıkarılan kumun beherlere alınmış görüntüsü.....	34
Şekil 3.17. Cobb's sieving and decanting yönetimiyle IJ'lerin ekstraksiyonu	35
Şekil 3.18. Ekstrakte edilen IJ'lerin sayım kabındaki görüntüsü	35
Şekil 3.19. IJ'lerin mikroskop görüntüsü	36
Şekil 3.20. Çalışmada kullanılan Y-olfaktometrenin şematik çizimi. A, B ve C deneysel kombinasyonları göstermektedir	36
Şekil 3.21. Çalışmada Kullanılan Çim Bitkisi Kökü	37
Şekil 4. 1. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarının (HBH, HB4, HB1138) çok yıllık çim bitkisi köklerine ve balmumu güvesi larvalarına yönelimi	38
Şekil 4. 2. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarının (HBH, HB4, HB1138) çok yıllık çim bitkisi köklerine yönelimi	39
Şekil 4.3. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarının (HBH, HB4, HB1138) mekanik olarak yaralı çim bitkisi köklerine yönelimi	40

1. GİRİŞ

Tarımsal zararlılar ile mücadele yöntemlerinden biri olan kimyasal uygulamalar, 1940 yıllarında sentetik pestisitlerin keşfedilmesinden sonra hızla artış göstermiş ve tek çare olarak görülmüştür. Kimyasalların uzun vadede insan ve çevre sağlığına yaptıkları olumsuz ve dönüşü olmayan etkileri ilk olarak 1962 senesinde "Sessiz Bahar" (Silent Spring) kitabında anlatılmıştır. DDT keşfedilmeden önce 1940'lı yılların başına kadar zararlılar tarafından üründe meydana gelen kaybın dünya ortalaması %7 iken, 1980'lerin sonuna doğru bu kayıp %13'e yükselmiştir. Ürün kaybındaki neredeyse iki katlık artış, ilaç devriminden sonra başlamış ve aynı dönem içinde ilaç kullanımında da 12 katlık bir artış meydana gelmiştir. Ürün kayıplarındaki bu artışın sebebi; potansiyel zararlıların ekonomik zararlı durumuna geçmesi, doğal düşmanların öldürülmesi nedeniyle doğal dengenin bozulması ve zararlıların ilaçlara karşı direnç kazanmasından kaynaklanmıştır. Bu durumlara insan ve hayvan sağlığının tehdit edilmesi, çevre kirliliği, yüksek ilaç maliyetleri ve gıdalar üzerindeki ilaç kalıntıları da eklenince kimyasal mücadeleye alternatif, insan ve çevre dostu, uzun vadeli ve daha ucuz mücadele yöntemlerine geçilmesi zorunlu hale gelmiştir. Bu yöntemlerden en umut verici, ucuz, sürdürülebilir ve çevre dostu olan yöntem Biyolojik Mücadeledir. Bu yönteme ağırlık verilmesinin asıl nedeni doğada zararlıları %90 oranında baskı altında tutan yararlı makro ve mikro organizmalardan faydalanılmak istenmesidir.

Biyolojik mücadele kısaca; zararlılar ile mücadelede canlı olan organizmaların dışardan bilinçli olarak insan eli ile kullanılmasıyla zararlı organizmaların popülasyonunu düşük seviyelerde tutmak diye tanımlanabilir (DeBach 1964). Biyolojik mücadelede kullanılan ajanlardan biri doğanın bir parçası olan ve doğal düşman olarak adlandırılan Entomopatojen nematodlar (EPN)'dir. EPN'ler uygulama alanlarına kapsamlı bir şekilde yayılmıştır ve hedef alınmayan böceğe hemen hemen hiç etkilerinin olmadığı ve çevre için son derece güvenli oldukları kabul edilmiştir.

1.1. Nematodlar

Nematodlar boyları genellikle birkaç mm, segmentsiz, genelde silindirik, uzantısız ve uzun bir vücut yapısına sahip canlılardır. Üreme, sindirim ve kas sistemine sahip olan nematodların ayrıca basit bir sinir ve boşaltım sistemleri de vardır. Ancak solunum ve dolaşım sistemleri yoktur (Koppenhöfer 2007).

Metazoa grubunda bulunurlar. Nematodların tür sayısının 400.000 ile 10 milyon arasında ve hatta 100 milyona kadar yüksek bir sayıda olabileceği düşünülmektedir (Adams ve ark. 2006). Şimdiye kadar böceklerle ilişki içinde olan 30'u aşkın nematod familyası tanımlanmıştır. Bu familyalardan 7 tanesinde [(Mermithidae ve Tetradonematidae (Stichosomida); Phaenopsitylenchidae, Allantonematidae, ve Sphaerulariidae (Tylenchida); Heterorhabditidae ve Steinernematidae (Rhabditida)] bulunan türler böceklere karşı biyolojik mücadelede kullanılma potansiyeline sahiptir (Stock ve Hunt 2005, Koppenhöfer 2007). Geline süreçte sadece Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarında bulunan nematodlar mikrobiyal insektisit olarak kullanılmakta ve dünya çapında birçok firma ticari olarak bunları üretmektedir (Koppenhöfer 2007).

1.2. Entomopatojen Nematodlar (Fam: Heterorhabditidae ve Steinernematidae)

Kelime anlamı olarak böcek anlamına gelen 'entomo' ve hastalığa sebep olan anlamındaki 'patojen' kelimelerinin birleşimiyle meydana gelen entomopatojen nematod terimi böceklerde hastalık yapıcı anlamına gelmektedir. Dağılımları öncelikli olarak uygun konukçuların varlığıyla sınırlanmaktadır (Adams ve ark. 2006). Yapılan en son taksonomik araştırmalar incelendiğinde Steinernematidae içinden 2 cins bulunmuştur. Sadece tek tür içeren *Neosteinerinema* ve 70'ten fazla tanımlanmış türü kapsayan *Steinerinema* cinsleri bu iki cinstir. Heterorhabditidae familyası ise şu anda tanınan 20'den fazla türüyle yalnızca *Heterorhabditis* cinsini içerir (Stock ve Goodrich-Blair 2012). *Steinerinema* ve *Heterorhabditis* cinsine bağlı olarak bulunan nematodlar Antarktika haricinde tüm kıtalarda mevcuttur (Popiel ve Hominick 1992). *Heterorhabditis* cinsinin popülasyonu çoğunlukla ılıman bölgelerle ilişkilidir (Nguyen ve Hunt 2007). Hominick ve ark. (1995)

ve Griffin ve ark. (1991) tarafından gerçekleştirilen araştırmalar *Heterorhabditis* cinsinin yarı kurak iklim bölgelerinde de bulunduğunu göstermiştir. *Steinernema carpocapsae* ve *S. feltiae* gibi türlerin dünyanın birçok yerinde ve iki türün birlikte aynı yaşam alanında, birbirleriyle etkileşim halinde dağılım gösterdiği tespit edilmiştir (Hominick 2002). Heterorhabditidae içerisindeki *H. indica* ve *H. bacteriophora* Antarktika hariç tüm kıtalarda bulunmuştur (Griffin ve ark. 1990, Hominick 2002). Nematodlardaki pasif ve aktif yayılma kombinasyonunun, bu taksonun geniş bir coğrafi alana dağılmış olmasını etkilediği düşünölmektedir. Bazı çalışmalarda toprak ve vejetasyon tipi kadar uygun konukçu dağılımını gibi faktörlerin de EPN türlerinin dağılımını etkileyen en önemli faktörler olduğu gösterilmiştir (Stock 2015).

1.3. Entomopatojen Nematod- Bakteri İlişkisi

Entomopatojen nematodlar simbiyotik bakterilerin yardımıyla, konukçu ve nematod türüne bağlı olarak konukçularını 1-2 gün arasında öldürebilmektedir (Adams ve ark. 2006). Heterorhabditidae familyası *Photorhabdus*, *Steinernematidae* ise *Xenorhabdus* cinsi bakteriler ile simbiyotik ilişki içindedirler (Bode 2009). Bakteri simbiyotları birden çok nematodla ilişkili olabiliyorken her EPN türü tek bir bakteri ile mutualistik ilişki kurabilmektedir (Hazır ve ark. 2003). Bu ilişkinin yaklaşık 350 milyon yıl önce Orta Paleozoik dönemde Steinernematidlerin ve Heterorhabditlerin ataları ile *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* soylarını oluşturacak Gram-negatif enterik bakteriler (Enterobacteriaceae) arasında ilk kez birbirinden bağımsız başladığı tahmin edilmektedir.

EPN- Bakteri arasındaki mutualistik ilişki şu şekilde olmaktadır:

- Bakteriler nematodlar aracılığıyla topraktaki rekabetten ve evre şartlarından korunarak kendilerini besin maddesi yönünden zengin böcek dokusuna taşıtırlar (Adams ve ark. 2006).
- Bakteriler patojenik özellikleriyle konukçuyu öldürürler, topraktaki diğer mikroorganizmaların nematodların gelişip üredikleri konukçu içerisine yerleşmesini engellerler ve nematodların üremesi ve gelişimi için konukçu böcek dokusunu en uygun hale getirirler (Boemare 2002, Griffin ve ark. 2005).

EPN enfeksiyonlarının birçok belirtisi bulunmaktadır. Ölen kadavrada bir süre sonra renk değişimi ve yumuşama görülür. Örneğin; Petek güvesi, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) kadvralarında etki eden nematod türüne bağlı olarak farklı renklemeler gözlemlenmektedir. Heterorhabdit enfeksiyonlarında kadvralar kiremit kırmızısı, kırmızı, turuncu, mor, yeşil ve sarı renkte görülürken, Steinernematid ile enfekte olan böcekler koyu sarı tonları, kahverenginin farklı tonları veya tamamen siyah olabilmektedirler. *Photorhabdus* bakterilerinin ürettiği pigmentler ile kadvraların renklemesi ilişkilidir. Heterorhabdit ile enfekte olan kadvralar daha sıkı bir görünüme sahiptirler. Böceğin kütikulası saydamsa içinde bulunan nematodlar dışardan görülebilir ve kadvra parçalandığında kötü bir koku yaymaz. Kadvraların zamanla vücut içeriği azalır, buna rağmen asla akışkan bir hal alıp bütünlüğünü kaybetmez. Steinernematid enfeksiyonlarında ise kadvralarda gevşek ve yumuşak bir hal görülmektedir (Koppenhöfer 2007).

1.4. Entomopatojen Nematodların Hayat Döngüleri

Şimdiye kadar tespit edilen tüm entomopatojen nematodlar benzer bir biyolojik yapıya sahiptirler. Yalnızca IJ evreleri toprakta geçmektedir. IJ evresinde üreme ve beslenme olayları olmayıp anüs ve ağız kapalı durumdadır (Kaya ve Gaugler 1993). Serbest yaşayan, beslenmeyen IJ evresi, EPN'lerin yaşam döngüsünde konukçu arayan agresif evredir ve böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadır (Moazami 2002). IJ, zorlu çevre koşullarına ve besin kaynağının azlığına karşın toprakta uzun süre hayatta kalmaya yönelik adaptasyon sağlamıştır (Ehlers 2007). IJ'ler toprak içinde konukçusunu bulmak için aktif hareket ederler, iyi gelişmiş olan kemoreseptörleri ile kapsamlı bir şekilde böcek hareketlerini algılayabilirler (Riga 2004). IJ'ler kendilerine uygun konukçuyu toprakta bulunca konukçunun ağız, anüs, stigma gibi doğal açıklıklarından veya Heterorhabditlerde görülen böceğin kütikulasındaki zayıf kısımlardan vücut boşluğuna girerek ortama simbiyont bakterilerini bırakırlar. *Photorhabdus* cinsi bakteriler nematodun ağzından ve anüsünden konukçunun hemosolüne salınırken, *Xenorhabdus* cinsi bakteriler nematodların anüsünden salınmaktadır (Adams ve ark. 2006). *Steinernema* türü nematodlar devamlı olarak salgılamış oldukları proteinler ile konukçu böceğin bağışıklık sistemini baskırlar ve böylece bakterilerin ortama salınmasını kolaylaştırırlar. *Heterorhabditis* türü nematodların böyle enzimler üretilip üretilmedikleri

henüz tespit edilememiştir. *Heterorhabditis* IJ'lerinde simbiyotik bakteriler özellikle bağırsağın anterior kısmında yoğun bir şekilde bulunurken, *Steinernema* türü infektif juvenillerde bu mutualistik bakteriler bağırsaktaki özel bir kese (receptacle) içerisinde bulunmaktadırlar. Bu bakteriler IJ'lerin içerisinde bulunurken durgun haldedirler (Boemare 2002). Bakteriler böceğin vücut boşluğunda hızla üreyerek bir dizi hidrolik enzim ve toksin üretirler. Böylece böcek 24-48 saat içinde kan zehirlenmesinden (septicemia) ölür. Bakteriler tarafından salınan bu enzimler böceğin dokusunu parçalayarak nematodun gelişim ve üremesi için gerekli bir besinin oluşmasını sağlarlar. Aynı zamanda bakterilerin ürettiği bazı maddeler diğer mikroorganizmaların olası istilasına karşı kadavrayı korumaktadır (Forst ve Clarke 2002, Clarke ve Eberl 2006). IJ'ler konukçunun içerisinde gelişmeye başlayıp parçalanmış halde bulunan böcek dokusu ve bakterilerden oluşan karışım ile beslenerek 4. juvenil evre, daha sonra hermafrodit, ergin dişi ve erkek nematod formuna gelmektedir. Ergin hale geldikten sonra çiftleşen dişi nematod yumurtalarını uterusu içerisinde bekletebilir veya konukçu dokusuna bırakabilir. Açılan yumurtadan çıkan gelişimini tamamlamış yeni nesil nematod dişi bireyin vücut dokusuyla veya konukçunun dokusuyla beslenmeye başlar. Bu arada dişi nematodun vücudu içerisinde yeni nesil IJ'ler ile dolu olması durumuna "Endotokia matricida" evresi denilmektedir (Griffin ve ark. 2005). Genele baktığımızda EPN'lerin hayat döngülerinde 4 juvenil (J1, J2, J3, J4), ergin ve yumurta olmak üzere 6 evre bulunmaktadır. 1. ve 2. juvenil evreler yumurtanın içerisinde olmaktadır. Yumurtadan 1. juvenil evrede çıkan bireyler sırayla J2, J3, J4, ergin bireyler olarak gelişmektedirler. Kadavra içerisindeki besin bitene dek nematodlar üremeye devam eder. Bu arada konukçunun büyüklüğüne bağlı olmakla birlikte genellikle 1-3 jenerasyon meydana getirilmektedir. *Heterorhabditis* ve *Steinernema*'nın her ikisi de konukçu böcek içerisindeki bir hayat döngüsünü 3-7 gün kadar sürede tamamlayabilmektedir. *Steinernema* türlerinde IJ'lerin konukçu böcekten tekrar çıkışı yaklaşık 6-11 günü bulurken, *Heterorhabditis* türleri için bu çıkış süresi 12-14 günü bulmaktadır (Kaya ve Koppenhöfer 1999). Konukçu içerisindeki besin tükendiği an gelişimlerini infektif juvenil (J3) evresinde durduran ve simbiyont bakterilerini vücutlarında tekrar depolayan yeni nesil IJ'ler kadavrayı terk ederek yeniden konukçu aramaya yönelmektedirler (Adams ve Nguyen 2002, Hazır ve ark. 2003).

Steinernematidler ve Heterorhabditlerin yaşam döngüleri karşılaştırıldığında en önemli fark; *Heterorhabditis* erginlerinin ölü böcek içerisindeyken ilk jenerasyonda hermafrodit (kendi kendini dölleyebilen dişi) bireylerden meydana gelmesidir. *Heterorhabditis* erginlerinin sonraki nesillerinde hermafroditler ile beraber ayrı eşeyli bireyler de görülebilmektedir (Gaugler ve Kaya 1990). Buna karşın *Steinernema* erginlerinin tüm jenerasyonlarında bireyler ayrı eşeyli (amphimictic) formdadır yani ergin erkek ve dişi bireyler olup çiftleşirler. Tek bir istisna söz konusudur. O da; *Steinernema hermaphroditum* türünde ilk jenerasyonda hermafrodit bireylere rastlanmıştır (Stock ve ark. 2004).

1.5. Entomopatojen Nematodların Mutualistik Bakterileri: *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* spp.

Photorhabdus ve *Xenorhabdus* bakteri türleri Protobacteria'nın altsınıfında yer alan Enterobacteriaceae familyası içerisinde bulunurlar. Bu familyanın üyeleri fakültatif anaerobik, gram-negatif, kemoorganik heterotrof solunum yapan, çubuk morfolojili, sporlanmayan, fermentif metabolizmaya sahiptir. İki cins arasındaki temel farklılık ise; pek çok *Photorhabdus* izolatu biyoluminesens (kelime anlamı olarak canlı bir varlığın kimyasal yolla ışık üretmesidir) yapmaktadır ve katalaz pozitifdir. Diğer yandan *Xenorhabdus* cinsi bakteriler her iki özelliği de barındırmamaktadırlar (Boemare ve Akhurst 2006).

Xenorhabdus'un 20'den fazla türü tanımlanmış olup, *Photorhabdus*'un bir düzineden fazla alt türüyle birlikte sadece 3 türü bulunmaktadır (Boemare 2002, Boemare ve Akhurst 2006, Tailliez ve ark. 2006, Orozco ve ark. 2013). Bakteri türlerinin taksonomisi ve nematodları arasında yakın bir ilişki vardır. Genel olarak her bir nematod türü, özel bir bakteri türü veya alt türü ile ilişkilidir (Fischer-Le Saux ve ark. 1998, Boemare ve Akhurst 2001).

Photorhabdus bakterileri enfeksiyon sırasında belirli bir yol izler. İlk olarak hemolenf (kan) içerisinde hızlı bir şekilde üreyerek immün (bağışıklık) sistemi yok ederler ve orta bağırsağın içinde yoğun bir miktarda toksin salgırlar. Enfeksiyonun ilerleyen aşamalarında metallo-proteazlar salgılayarak bağırsağın epitel dokusunu parçalarlar ve dokuları nematodlar için uygun beslenme ortamı haline getirirler. Mcf (make caterpillar

floppy) genlerince kodlanan toksinler *Photorhabdus* bakterilerinde mevcuttur ve bu toksinler konukçu böceğin bağırsak dokusunun parçalanmasını sağlamaktadır. *Xenorhabdus* bakterilerinin konukçu dokusuna yerleşirken izlemiş oldukları yol henüz tam olarak anlaşılammıştır. Ancak hücrenin dış yüzeyinde bulunan lipopolisakkarit bileşenlerinden endotoksinler salgılayıp doku hücrelerini parçaladıkları düşünülmektedir (Adams ve ark. 2006). Bakteriler ölü böceğin içinde hızlıca çoğalırlar ve üreme evrelerinin sonuna doğru bir takım antimikrobiyal bileşikler üreterek ortamı diğer mikroorganizmalara karşı korurlar. Antimikrobiyal bileşikler diğer maya, fungus ve bakterilere karşı etkili olan antibiyotikleri içermektedir (Webster ve ark. 2002). Ayrıca *Photorhabdus* türlerine yakın olan bakteri çeşitlerine karşı aktif olan xenorhabdisin (Thaler ve ark. 1995) ve lumisinler (Sharma ve ark. 2002) gibi bakteriosinleri bu antimikrobiyal bileşikler bünyelerinde içermektedirler. Nematod ve bakteri arasındaki simbiyosiz için bu bakteriosinlerin varlığı önemlidir. Bunlar sayesinde rekabete girebilme ihtimali olan benzer bakteri gruplarına karşı üstünlük sağlanmaktadır. Lumisinler *E. coli* üzerinde de etkilidir. Aynı zamanda bu bakteriosinlerin konukçu böcek bağırsak florasının temizlenmesini de sağladığı düşünülmektedir (Sharma ve ark. 2002).

1.6. Entomopatojen Nematodların Konukçu Dağılımı

Laboratuvar şartlarında iyi bilinen birçok EPN türü (*S. carpocapsae*, *S. feltiae* ve *H. bacteriophora*) birçok değişik böcek grubunu enfekte edebilmektedir. Örneğin *S. carpocapsae*'nin laboratuvar koşullarında birbirinden farklı takımlardan 250'yi aşkın böcek türünü enfekte edebildiği bilinmektedir (Poinar 1990). Buna karşın açık alan uygulamalarında çevresel faktörler, potansiyel konukçular ve nematodların ekolojileri nedeniyle IJ'ler tarafından enfekte edilen konukçu yelpazesi çok daha sınırlıdır (Peters 1996). Bazı bilinen entomopatojen nematod çeşitleri sınırlı konukçu dağılımına sahiptir. *S. kushidai* ve *S. scarabaei* türleri Scarabaeidae familyasının larvalarına adapte olmuşlardır (Koppenhöfer ve Fuzy 2003). *Steinernema scapterisci* türü ise Gryllotalpidae familyasının üyelerine özelleşmiş bir türdür (Parkman ve Smart 1996). Bu üç tür de diğer böcek gruplarında düşük patojenite göstermişlerdir.

Nematodlar toprak içerisinde yerleşimleri açısından da türler arasında farklılıklar gösterirler. *Heterorhabditis bacteriophora*'nın genellikle toprağın 8-10 cm derinliğine, *S.*

carpocapsae'nin ise ilk 1-2 cm'lik kısma yerleştiği bilinmektedir. *Heterorhabditis bacteriophora*, *S. feltiae* ve *S. carpocapsae*'ye göre parçalı ve düzensiz bir dağılım gösterir. Bu bilgi neticesinde düzenli bir dağılım gösterecek şekilde bir alana uygulanan *Heterorhabditis bacteriophora* türünün, uygulama üzerinden 2 ay kadar zaman geçtikten sonra tekrar parçalı bir yayılım gösterdiği gözlemlenmiştir (Lewis 2002).

Konuyla ilgili yapılmış olan birçok çalışmanın neticesinde EPN'lerin Arachnida, Gastropoda, Symphyla, Isopoda, Collembola, Crustacea, Tardigradae ve Diplopoda gibi birçok değişik omurgasız canlı ve hedef dışı olan organizmalar üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Fakat laboratuvar şartlarında ve yüksek dozda yapılan uygulamalar ile EPN'lerin kesin olmamakla birlikte arthropod türlerini de enfekte edip üreme gösterebildikleri gözlemlenmiştir (Poinar 1989, Jaworska 1993). EPN'lerin toprak solucanlarında herhangi bir patojenik etkiye sahip olup olmadıkları tespit edilememiştir (Akhurst ve Smith 2002). Ayrıca fareler, kertenkeleler ve kurbağalarla yapılan uygulamalarda entomopatojenik nematodlar hiçbir patojenik etkiye sebep olmamıştır (Poinar ve ark. 1982, Kermarrec ve ark. 1991, Akhurst ve Smith 2002).

1.7. Entomopatojen Nematod- Konukçu İlişkileri

Nematod türü, böcek türü ve böceğin gelişim evreleri gibi birçok biyolojik etken EPN'lerin etkinlik derecesini etkiler (Eidt ve Thurston 1995, Simoes ve Rosa 1996). EPN'ler böceğin anüs ve ağız gibi açıklıklarından girmeye çalışırken mekanik veya davranışsal engellemelerle karşı karşıya kalabilmektedir. Konukçu saldırıyı hissettiğinde bacaklarını kullanıp sürekli vücudunu temizleyebilir (Scarabaeidae larvaları), ortamı terk edebilir veya kuvvetli bir şekilde çırpınmalar sergileyebilir (Gaugler ve ark. 1994). Bunlara ek olarak böceklerde yüksek oranda dışkılama veya anüs kısmını kaslar ile sıkıca kapatma, ağız kısmındaki mandibuller yardımıyla nematodları parçalama, CO2 salınımını azaltma veya toprak içinde odacıklar yapma gibi tepkiler gözlemlenmiştir (Gaugler ve ark. 1994, Eidt ve Thurston 1995, Dowds ve Peters 2002). Sosyal böcekler patojenlere karşı koloni şeklinde tepkiler (koloninin yerini değiştirmek, temizlenmek veya hasta bireyi yuvadan uzaklaştırmak vb.) verebilmektedir (Klein 1990, Gouge 2005).

İnfektif juveniller konukçu böceğin hemosolüne ulaşmak için mukus sıvısı, ince kütikül veya dokular gibi bariyerleri geçmek zorundadırlar. Fiziki bir güç kullanarak malpigi tüplerine, peritofik membranla orta bağırsak epitelini arasındaki vücut boşluğuna veya bağırsağın başlangıcına ulaşarak vücudun dışına atılmaktan kurtulurlar. Heterorhabditlerdeki gibi ağızlarındaki terminal şekilde yerleşmiş dişleri kullanarak veya vücutlarını ince kütikülden içeri sokarak fiziki güç kullanırlar (Koppenhöfer 2000, Dowds ve Peters 2002).

Konukçu böceğin vermiş olduğu ilk aşamadaki tepki nematoda yöneliktir. Çünkü bu evrede bakteri nematodun içerisinde. Bakteriler nematodların konukçuya girişinden 30 dakika - 5 saat arasındaki zaman farkından sonra böceğin vücut boşluğuna bırakılırlar. Nematodlar genellikle yapısında melanin içeren vücut sıvıları ile veya melaninle sağlanmış olan hücresel kapsüller ile çevrelenerek hapsedilirler. Melanin içeren kapsülün içine alma olayı Lepidoptera, Coleoptera, Orthoptera ve Diptera takımlarında görülmektedir. Ayrıca tepkinin derecesi böcek ve patojenin türüne ve bu ikisinin o anki fizyolojik durumuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Dowds ve Peters 2002). Yapılan bir çalışmada *Acheta domesticus* (Gryllidae)'un *H. bacteriophora* ve *S. carpocapsae* türlerini kapsül içine aldığı ancak *S. scapterisci* türüne karşı etkisiz kaldığı görülmüştür. *Popillia japonica* (Scarabaeidae) larvaları *S. glaseri* türü nematodu kapsül içine almasına rağmen bu nematod türü kapsül içerisinden kaçmayı başarabilmektedir (Wang ve ark. 1995). Farklı bir çalışmada *Heterorhabditis* II'lerinin penetrasyon sırasında J2 kütikülünü geride bırakıp tipulid larvalarında kapsülün içerisine alınmaktan kurtuldukları gözlemlenmiştir (Peters ve ark. 1997).

Nematod ve bakteriler, birlikte, böceğin bağışıklık sistemine saldırı işlemini gerçekleştirirler. Nematodlar melanin oluşumu için gerekli olan pro-feniloksidaz salınımını ve ek olarak hemolenfteki antimikrobiyal aktiviteyi inhibe ederken bakteriler enzimatik aktivitelerle konukçu böceğin bağışıklığını bozmaktadır (Dowds ve Peters 2002, Ciche ve ark. 2006).

1.8. Entomopatojen Nematodların Konukçu Bulma Davranışları

İnfektif Juvenil (IJ) topraktaki konukçularını pusu kurarak "ambusher" ya da aktif bir şekilde dolaşarak "cruiser" aramaktadır. *S. siamkayai*, *S. carpocapsae* ve *S. scapterisci* gibi nematod türleri pusu kurma stratejisini tercih etmektedirler. Bu türler toprağın yüzeyine yakın dururlar ve pusu esnasında vücutlarının %95'ten fazla kısmını substrat üzerinde yukarıya doğru kaldırarak kuyrukları üzerinde durabilmektedirler. Böylelikle yanlarından geçmekte olan konukçuya temas edebilmektedirler. Sergilemiş oldukları bu davranışa "nictation" denilmektedir. Bu davranışın vücudun dümdüz, kısmen kaldırılması, hareketsiz bir şekilde tutulması veya ileri geri sallanması gibi değişik formları mevcuttur. *S. carpocapsae* ve *S. scapterisci* IJ'lerinin pusu esnasında saatlerce hareketsiz kaldıkları bilinmekte olan bir durumdur. Ayrıca ambusher stratejisi izleyen türlerin sıçrama yetenekleri de vardır. Doğrudan sıçrama yaparak konukçuya tutunurlarken dolaylı sıçrama ile dağılım sağladıkları düşünülmektedir. IJ'ler böylelikle buldukları bölgeden bir başka bölgeye geçip orada konukçu aramaya devam edebilmektedirler. *S. carpocapsae* mevcut vücut uzunluğundan 10 kat fazla mesafeye sıçrayabilmektedir. Ambusher yapan tür çoğunlukla konukçunun kendisine gelmesini bekler (Lewis 2002, Campbell ve ark. 2003, Lewis ve ark. 2006). Aktif olarak konukçularını arayan türler toprak içerisinde çok az hareket etmekte olan veya sabit duran konukçuları bularak onları enfekte etmektedir. *S. glaseri* ve *H. bacteriophora* gibi türler cruiser stratejisi izleyen türlere örnektir. Bu tür nematodların hiç biri "nictation" yapmaz. Ambusher ve cruiser davranış biçimlerinin ortasında bir davranışa (intermediate) sahip nematodlar da vardır. *S. riobrave* ve *S. feltiae* türleri buna örnektir (Campbell ve Gaugler 1997).

Besin sinyalini aldıktan sonra nematodların yapmış oldukları davranışa 'besin arama' denilmektedir. Besin algılama yeteneği ve besin algılanması sonucu değişen davranışlar ile birlikte, rastgele hareket (non-directional) ile bilinçli (directional) hareketler arasındaki sınır çizilir. Genelde nematod türleri besin uyarıcısına benzer tepkiler vermektedirler. Örneğin besin algılandığında hepsinin besine yönelimi baş kısmı ile belirlenir. Besin kaynağına yaklaşıldığında baş kısmında bulunan, labial papilla gibi mekanik reseptörler harekete geçerek besinin ne olduğunu belirlemeye çalışır (Riga 2004). Besin maddesinin keşfedilmesi ve araştırılması, besinin kalitesine, miktarına,

yüzey yapısına ve kompozisyonuna bağlı olarak kısa veya uzun zaman alabilir. Keşfetmede başın kullanılması, ileri ve geri vücut hareketleri ve yatay baş hareketleri genellikle besin arama ve keşfetme davranışlarını karakterize eder (Riga 2004). Sonuç olarak nematodların besin arama stratejisini anlayarak canlıların biyolojisinin diğer yönleri hakkında bilgi edinileceği düşünülmektedir (Campbell ve ark.2003).

1.9. Entomopatojen Nematodların Dağılımı

İnfektif Juvenil ile ilgili yapılan çalışmaların sonucunda toprakta 30 gün içinde dikey ve yatay şekilde 90 cm'e yakın bir mesafe kat edebildikleri gözlemlenmiştir. Bu canlılar konukçularını aktif bir şekilde arayıp bulabilmektedir. Rüzgar, enfekte konukçular, su, insan aktivitesi ve forezis gibi yollar ile de pasif olarak uzak mesafelere yayılabilirler (Kaya 1990). Popülasyonlar doğada düzgün, parçalı veya rastgele dağılım gösterir. Türler arası ve tür içi etkileşimler, ayrıca kaynakların dağılımı da nematodların parçalı dağılımlarını etkilemektedir. Konukçuların sayıca fazla oluşu, uygun habitatlar, toprakta sınırlı sayıda dağılım gösterme, bir tek konukçu böcek içinde fazla sayıda IJ'lerin (30000-40000 IJ) üremesi, varlıklarını devam ettirmeye çalışırken ve bir alana yerleşirken karşılaştıkları koşullar gibi pek çok sebepten ötürü EPN popülasyonları doğada parçalı dağılım gösterebilmektedir (Stuart ve ark. 2006).

İnfektif Juvenillerin toprağa uygulandıkları ilk bir kaç saat içerisinde %50 kadarı kuruma ve UV ışınlarından dolayı canlılıklarını koruyamayıp ölürlür. Geriye kalan IJ'lerin her gün yaklaşık %5-10 kadarı ölür. Bu sebepten dolayı EPN'ler zararlıların en duyarlı evrelerinde uygulanmalıdır (Kaya 1990, Koppenhöfer 2007).

1.10. Entomopatojen Nematodları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler

1.10.1. Abiyotik Faktörler

Abiyotik faktörlerle nematod varlığını etkileyen sıcaklık, toprak yapısı, nem, tuzluluk, UV, pH ve pestisitler kastedilmektedir (Kaya 2002).

1.10.1.1. Sıcaklık

Sıcaklığın nematod performansına etkisi türlere veya soylara göre değişiklik göstermektedir (Grewal ve ark. 1994). Genel olarak IJ'ler düşük sıcaklık derecelerinde (<10-15°C) durgunlaşmaktadır. Daha yüksek derecelerde ise (>30-40°C) inaktive olmaktadır. 0°C'nin altında ve 40°C üzerindeki sıcaklıklar maruz kalınan süreye de bağlı olarak nematodlar için öldürücüdür (Glazer 2002). Pek çok tür için canlı kalınan en uygun sıcaklık aralığı 5-15°C arasındadır. Daha yüksek sıcaklıklar metabolik aktiviteyi artırarak enerji rezervlerinin tükenmesine ve yaşam süresinin kısalmasına sebep olmaktadır (Georgis 1990).

1.10.1.2. Nem

Nem nematodların performansını etkileyen en önemli faktördür. IJ'ler etkili biçimde ilerleyebilmek için film tabakası halinde bir suya ihtiyaç duymaktadırlar. Toprakta, IJ'ler partiküller arasındaki boşlukları kaplayan su filmlerini kullanarak hareket ederler. Eğer bu su filmi kurak topraklardaki gibi çok ince olursa veya suya doymuş topraklarda partiküller arası boşluklar tamamen dolu olursa nematodların hareketi kısıtlanmaktadır (Kung ve ark. 1991, Brown ve Gaugler 1997).

1.10.1.3. Toprak Yapısı

Nematodların yayılmaları ve canlılıklarını korumaları toprak tipleri arasında da farklılık göstermektedir. İnce-taneli yapıdaki topraklarda canlı kalma oranlarının ve yayılmalarının daha düşük olduğu varsayılmaktadır. Ancak en düşük canlılık oranı killi topraklarda görülmektedir. Daha düşük hayatta kalma oranının muhtemelen toprak porlarındaki az oksijen miktarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Kaya 1990, Alekseev ve ark. 2006).

Toprak tipi nematodların hareketini, canlılığını ve infektivitesini etkileyen abiyotik bir faktördür (Kung ve ark. 1990). Küçük partikül yapıları topraklar hareket etmeyi zorlaştırırken, kumlu ve kumlu-tınlı topraklar nematodların kolayca hareket etmelerine imkan vermektedir (Lewis 2002).

1.10.1.4. UV

UV ışığı nematodları inaktive eden ve dakikalar içerisinde ölmelerine neden olan önemli bir abiyotik faktördür (Gaugler ve Bousch 1978).

1.10.1.5. pH

Toprağın pH değerleri IJ canlılığı üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir. pH 4 ile 8 arasındaki değerlerde IJ etkinliği değişiklik göstermemektedir. Ancak pH 10'da IJ canlılık oranı hızla düşmektedir (Kung ve ark. 1990).

1.10.1.6. Oksijen

Aynı şekilde oksijen, suya doymuş veya yoğun miktarda organik materyal içeren topraklarda sınırlayıcı bir faktör olabilmektedir (Kaya 1990).

1.10.2. Biyotik Faktörler

Doğal düşman, bitki varlığı ve ortamdaki konukçular nematodlar için gerekli olan biyotik etkenlerdir. Bu faktörler ortamın fiziki koşullarını (toprağın sıcaklık, nem ve gözenekliliği vb.) iyileştirip nematodların hayatta kalması için uygun bir ortam oluşturmaktadır (Kaya 2002). Biyotik faktörlerin etkileriyle ilgili birçok kapsamlı araştırma yapılmıştır. Antibiyozis denilen bazı durumlarda toprak altındaki bitkinin köklerinden çeşitli kimyasallar salınır ve bunlar IJ'lerin konukçu aramasını olumsuz yönde etkiler. Bazı durumlarda ise enfekte olan konukçunun içerisindeki kimyasallar nematodun üremesini ve enfeksiyonunu etkiler. Bir konukçunun içerisinde çok sayıda IJ olduğunda tür içi rekabet sebebiyle ortam nematodlar için uygun olmayabilmektedir. Özellikle aynı alana uygulandıkları zaman türler arası rekabet diğer böcek patojenleri arasında da yaşanabilmektedir. Rekabetçilerin türü (bakteri, virüs veya entomopatojenik fungus), enfeksiyon zamanı veya nem ve sıcaklık gibi çevresel faktörler rekabetin sonucunu etkilemektedir (Koppenhöfer 2007).

1.11. Çim Bitkisi

Çim alanlar, toprak yüzeyini örten, sık bir halde gelişen, homojen bir görünüşe sahip ve devamlı biçilerek belli bir yükseklikte tutulan, genellikle Graminea familyasına dahil olan bitki ve bitki topluluklarının bulunduğu yatay olarak tesis edilmiş yeşil alanlardır. Dünyada çayırlar rekreasyon ve besin amaçlı kullanımının yanı sıra meralar ve yeşil alanlar olarak da kullanılmakta, ayrıca erozyonu önleyerek toprağın iyileştirilmesi ve yenilenmesini sağlamaktadır. Bunlara ek olarak karbon gazlarını tutması, sıcaklığı ayarlaması, gürültü ve ışık kirliliğini azaltmaları sebebiyle ayrı bir öneme sahiptirler. Günümüzde golf sahaları, stadyumlar ve evlerin bahçeleri gibi pek çok alanda çim sahalar kullanılmaktadır. Çayırlar pek çok omurgasız türe yaşam alanı olmaktadır. Ancak bu canlıların çoğu doğrudan vejetasyon üzerinden beslenmekte ve önemli ölçüde zarara sebep olmaktadır (Grewal ve ark. 2005, Klein ve ark. 2007). Dünya genelinde özellikle Scarabaeidae ve Curculionidae familyaları ile Lepidoptera ve Diptera takımı çim alanlarında önemli zararlara sebep olmaktadır. Golf sahaları ve yürüyüş yollarındaki yeşil alanlar için bu zararlılar sürekli problemdir (Anonim 2008).

1.11.1. Çok yıllık çim (*Lolium perenne* L.)

İngiliz çimi olarak da bilinen çok yıllık çim, sıklıkla ve çokça kullanılan bir buğdaygildir. Orta dokulu, sık kardeşli, üniform bir bitki örtüsü oluşturabilen, çok yıllık, yaprak alt yüzeyinin açık yeşil rengi, biçmeye uygun sürgün yapısı ile de kolayca diğer çimlerden ayrılabilir. Yumak büyüme formuna ek olarak çok sayıda yatay sürgün oluşturduğundan alanı iyi kaplar, ancak stolon veya rizom içermez. Çok yıllık çim esas olarak serin-nemli iklimlerin, kışları sert olmayan ve serin-nemli yazlara sahip bulunan yörelere adapte olmuştur. Sıcaklığın aşırı yüksek veya düşük olmaması koşuluyla, çok yıllık olan ömrü daha da uzayan türün önemli bir eksiği, sıcaklığa olan dayanaksızlığıdır. Kışın gölgeye dayanıklılığı da iyi olan tür, çok değişik toprak tiplerine adapte olabilir ancak, nötr veya hafif asit yapıdaki yüksek verimli topraklarda en iyi performansını göstermektedir.

Aşırı su birikimleri ve tuzluluk ise önemli sorunlar yaratabilmektedir. Ev bahçeleri, mezarlıklar, parklar, bina çevreleri, hava alanları ve genel amaçlı yeşil alanların

kurulmasında yaygın olarak yararlanılır. Tohumunun ucuz, temininin kolay olması ve kısa zamanda ekildiği toprak yüzeyinde yeşil bir örtü oluşturması çok yıllık çimibu özelliklerinden dolayı her türlü yeşil alan tesisinde saf veya karışımlara girmesinde öncelik sahibi yapmıştır (Avcıoğlu 1997).

Y-Olfaktometre, EPN'lerin konukçuya veya algılayabildiği herhangi başka çekicilere yöneliminin belirlenmesinde başarılı bir şekilde ve yaygın olarak kullanılan bir düzenek olup bu tez çalışmasında da kullanılmıştır. Bu çalışmada, *Heterorhabditis bacteriophora*'nın laboratuvar koşullarında hibridizasyonu gerçekleştirildikten sonra elde edilen ırkın çim bitkisinin köklerine yönelim davranışlarının ebeveynlerine göre daha başarılı olup olmadıklarının Y-olfaktometre yardımı ile tespit edilmesi amaçlanmıştır (Boff ve ark. 2001). Ayrıca bu çalışmada; Y-Olfaktometre düzeneğinin yönelimi tespit etmeye yardımcı özelliğinden faydalanılarak her izolat ve hibrit ırk için 3'er tekerrürlü deneme kurulmuştur ve zararlının istilasına uğramış çim bitkisinin köklerine nematodların yönelimlerinde artış olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda geniş bir konukçu aralığına sahip olan *H.bacteriophora*'nın uygulama alanlarında daha etkin kullanımına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Y-Olfaktometre Düzenegi Kullanılarak EPN Davranışlarının Tespit Edilmesi ile İlgili Kaynak Araştırması

H. megidis'in NLH-E 87.3 ırkının kökleri ile konukçu böcekler ve bunların kombinasyonlarının varlığında konukçu arama davranışı üzerine Boff ve ark. (2001) kum ile doldurulmuş Y-Olfaktometre düzeneginde bir çalışma yapmışlardır. 24 saatlik süre içerisinde IJ'lerin *G. mellonella* larvasına önemli ölçüde yöneldiği ve %100 larva ölümüne sebep olduğu tespit edilmiştir. Bunların tam aksine *O. sulcatus* larvası IJ'lerin konukçu yönelimi üzerine etki etmemiş ve herhangi bir larva ölümü görülmemiştir. Çilek kökleri ve *O. sulcatus* kombine edildiğinde ise IJ'ler üzerinde pozitif bir etki görülmüş ve konukçu böcek larvalarında %37 oranında ölüm belirlenmiştir. Çilek bitkilerinin kökleri IJ'ler üzerinde negatif bir etki görülmesine neden olmuştur. Bu çalışma ile Y-Olfaktometrenin entomopatojen nematodların yarı-doğal ortamda konukçu arama davranışı belirlenmesi üzerine yapılacak çalışmalarda kullanıma uygun olduğu saptanmıştır.

Heterorhabditis megidis'in mazı ve çileğin kökleriyle bağ maymuncuğu *O. sulcatus*'a gösterdikleri tepki üzerine, içinde nemli kum bulunan Y-Olfaktometrede Boff ve ark. (2002) tarafından bir çalışma gerçekleştirilmiştir. IJ'ler taze çilek ve mazı kökleri ile aktive edilmiştir. Nematodların bazıları bitki köklerinin yakınlarında toplanmıştır. Çoğunluğu ise köklerden uzaklaşma eğilimi göstermiştir. Karşılaştırma yapıldığında IJ'ler çilek köküne *O. sulcatus* larvasından daha fazla yönelmişlerdir. Mazı kökleri ile *O. sulcatus* larvası arasında ise herhangi bir fark bulunamamıştır. Çilek kökleri ile bağ maymuncuğu larvası kombine edildiğinde sadece köklere oranla daha fazla yönelim gözlenmiştir. Mazı kökleri ve larva bulunan kol ile sadece mazı bulunan kol karşılaştırıldığında IJ'ler bitki kökü ve mazı bulunan kollardan aksi yönde hareket etmiştir. Nematodlar mekanik yollarla parçalanmış köklere, larva tarafından parçalanmış köklere göre farklı yönelim göstermiştir. Parçalanmış mazı kökleri ile yapılan denemede IJ'ler larva tarafından zarar yapılan bitkilere daha fazla yönelirken, çilek kökleri ile yapılan denemelerde IJ'ler mekanik yolla parçalanmış köklere daha fazla yönelmiştir. Çilek ve mazı köklerine yönelim karşılaştırıldığında IJ'ler daha çok çilek köklerini tercih

etmiştir. Çilek kökleri - larva ve mazi kökleri - larva kombinasyonlarına yönelim de çalışmada incelenmiştir.

Struck ve ark. (2004) nematodun konukçu bitkiyi bulma özelliğiyle ilgili bir çalışma yapmış ve çalışmalarında konukçu bitki olarak mısır fideleri, böcek olarak toprak altında yaşayan *Cyrtomenus bergi* ve biyolojik mücadele ajanı olan entomopatojen nematod *H. megidis*'i kullanmışlardır. Çalışmalarında içini kum ile doldurdıkları Y-Olfaktometrenin kollarına mısır fidesi, böcek, her ikisinin kombinasyonu ve kontrol olarak sadece kum konmuştur. Farklı kombinasyonlarda toplam 6 adet deneme kurulmuştur ve sonuç olarak nematodların önemli ölçüde mısır ve mısır - böcek kombinasyonuna yönelindikleri gözlemlenmiştir.

Bitkilerin, parazitlerin ve bazı böceklerin toprak altındaki tritrofik etkileşimini Rasmann ve Turlings (2008) araştırmıştır. Bu araştırmada, entomopatojen nematodların konukçularını bulmak için yaralı bitki köklerinin salgıladığı kimyasal maddeleri kullandığı tahmin edilerek altı kollu olfaktometre düzeneği kullanılmıştır. Bu düzenekte bitkilerin, entomopatojen nematodların ve bazı böceklerin arasındaki etkileşim incelenmiştir. Yapılan çalışmaların sonucunda, bitki köklerinin ve böceklerin salgıladığı kimyasallardan entomopatojen nematodların etkilendiği belirlenmiştir. Biyolojik mücadele açısından bitki savunma mekanizmasının da incelenmesi gerektiği görülmektedir.

Hiltpold ve ark. (2010) doğal düşmanların böceklerin üzerindeki etkinliğinin artırılmasında yapay seleksiyonların önemli bir faktör olduğunu savunmuşlardır. Mısır kök kurdu (*Diabrotica virgifera virgifera*)'nun yapmış olduğu zarardan sonra kökte salgılanan beta carphophylene isimli bileşik hem EPN'leri kendine çekmekte hem de mısır kök kurdu üzerinde oldukça etkili olmaktadır. Ayrıca bu bileşik, *H. bacteriophora* üzerinde etkili bir çekiciliğe sahip değildir. Bu zayıflığı bertaraf edebilmek için *H. bacteriophora* ırklarından bu bileşiğe yüksek tepki veren ırklar 6 kollu olfaktometre kullanılarak tespit edilmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda, 6 nesil sonra seçilen ırkın orijinal ırka göre bu bileşiğe daha fazla oranda tepki gösterdiği ve 2 kat hızlı hareket ettiği tespit edilmiştir. Köklerinden bileşik üreten mısır çeşitleriyle kurulan çalışmalarda ise seleksiyon sonrası elde edilen ırkın, orijinal ırka göre daha fazla etkin

olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmaların sonuçlarına göre, yapay seleksiyonlar yoluyla biyolojik mücadelenin etkinliğini artırabilmenin mümkün olduğu bulunmuştur.

Susurluk (2011) kanola bitkisi üzerindeki lahana sineği, *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae)'a karşı *Steinernema feltiae*'nin mücadele potansiyelinilaboratuvar koşullarında incelemiştir. Laboratuvar testleri, *D. radicum*'un son larva dönemine karşı % 80 oranında etkinliğe ulaşıldığını göstermiştir. Kum (firma Humax® U.K., partikül boyutu: 300-400 µm) ile doldurulmuş Y-Olfaktometre düzeneği kullanılarak *S. feltiae*'nin *D. radicum* ve kanola köklerine doğru besin arama davranışları tek tek ve kombine edilerek 8 ve 15 °C' de denenmiştir. Bu düzenekteki en fazla nematod yöneliminin her iki sıcaklık değerinde de larvaya karşı olduğu tespit edilmiştir.

Entomopatojen nematodların yakın mesafelerde konukçunun olduğu bölgelere kimyasal maddelerin etkisi altında hareket etmesini belirleyen en önemli işaretlerden birinin karbondioksit olduğunu Turling ve ark. (2012) belirlemişlerdir. Zararlının bitki kökünde meydana getirmiş olduğu zarardan sonra kökten salgılanan değişik uçucuların ise uzun mesafe hareketlerde etkili olduğu bildirilmiştir. Birden çok ortamda bulunan gazlar (CO₂) ile kökten çıkan uçucu bileşiklerin oluşturduğu kombinasyonun, gazların tek tek uygulanmasından daha fazla etki göstereceği belirtilmiştir. CO₂ ve bitki kaynaklı bileşiklerin kombinasyonlarının yapmış oldukları sinerjik etkilerin gelecekte araştırılması gerektiği saptanmıştır.

Phasmarhabditis hermaphrodita'nın *Deroceras reticulatum* aracılığı ile meydana gelen birbirinden farklı işaretlere verdikleri tepki; kum ve agar ile doldurulmuş olfaktometrede Nermut ve ark. (2012) tarafından test edilmiştir. Referans olarak *S. feltiae* ve *G. mellonella* kullanılmıştır. Her iki ortamda da (agar ve olfaktometre) *P. hermaphrodita*'nın daha fazla yönelim gösterdiği tespit edilmiştir. Agar üzerinde *P. hermaphrodita* hem kadavra hem de homojenize formdaki *D. reticulatum*'a karşı yönelim göstermiştir. Sümüklü böcek dışkısı, mukus salgısı ve *G. mellonella* dışkısı yüksek fakat doğrusal olmayan yönetime neden olmuştur. Çalışma ile *P. hermaphrodita*'nın işaretleri kullanarak konukçusunu tespit ettiği ve ona yöneldiği ortaya konmuştur. *S. feltiae*'nin de hem böcek hem de sümüklüböcek kokularına karşı tepki gösterdiği belirlenmiş ve

gelecekte EPN'lerin böcek dışındaki diğer canlılar ile mücadelede kullanılma olanaklarının olduğu da ortaya çıkarılmıştır.

Y-Olfaktometre kullanarak *Steinernema pollyphyllae*'nin dişi bireylerinin çeşitli kokulara yönelimlerinde bir farklılık bulunup bulunmadığı üzerine Çakmak ve ark. (2013) bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında; enfekte olmamış, parçalanmış, kokusuz *Polyphylla fullo* larvası, *S. glaseri* tarafından enfekte edilmiş *P. fullo* larvası, parçalanmamış ancak ölmüş *P. fullo* larvası, canlı *S. glaseri* IJ'leri ve canlı *P. fullo* larvası kullanılmıştır. Kokusuz uygulama ile karşılaştırıldığında *S. pollyphyllae* bireyleri koku kaynaklarına önemli oranda yönelim göstermiştir. Ancak, *S. glaseri* IJ'leri ve canlı *P. fullo* larvalarına ise herhangi yönelim gözlenmemiştir. İki koku kaynağı arasında seçim yapıldığında *S. glaseri* IJ'leri ve canlı *P. fullo* yerine diğer koku kaynaklarına yönelim görülmüştür.

Okumura ve Yoshiga (2014) *Caenorhabditis elegans*'ın *Parastrachia japonensis* ile türe özgü foretik bir ilişki içerisinde olduğunu ve *C. japonica*'nın durağan ve beslenmeyen foretik dönemini çoğunlukla dişi konukçularda bulmuş ancak bunun nedenini tam olarak aydınlatamamışlardır. *C. japonica*'nın konukçularından yayılan ipuçları sayesinde yönelim gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla Y-Olfaktometre sistemi kurulmuş, deneme sonuçlarına göre *C. japonica*'nın *P. japonensis* tarafından salgılanan kokulara tepki gösterdiği ancak diğer konukçulardan yayılan kokulara ve CO₂'e herhangi bir tepki göstermediği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile *C. japonica*'nın konukçu seçerken uçucu bileşikler kullandığı, konukçulardan yayılan bazı kairomonların nematodu çektiği saptanmıştır.

Filgueiras ve ark. (2016) doğal düşman, bitki ve herbivorun bulunduğu tritrofik ilişkilerde bitki savunma mekanizmalarının çok fazla etkiye sahip olduğunu, toprak üstündeki doğal düşmanlar üzerindeki etkisi kadar, toprak altında yarattığı etkinin de önemli olduğunu savunmuştur. Çalışmalarında, toprak altında EPN'ler üzerinde, toprak üstü metil salisilat uygulaması ile uyarılan salisilik asit mekanizmasının etkisi incelenmiştir. Ayrıca, toprak üstünden gerçekleştirilen bu uygulama ile köklerden *Steinernema diaprepesi*'yi çeken kimyasal bir uçucunun salgılandığı tespit edilmiştir. Metil salisilat uygulanan turuncu bitkisinin kökleri 4 kollu olfaktometrede EPN'leri kontrole göre daha fazla çekmiştir. Bu

çalışmanın sonuçları incelendiğinde, bitki savunma mekanizmalarının tritrofik ilişkilerde önemli olduğunu ve toprak üstünde olduğu kadar toprak altında da uyarıcı sinyallere neden olduğu tespit edilmiştir.

Tonelli ve ark. (2016), *Heterorhabditis indica* ve *S. carpocapsae*'nin şeker kamışında zarar yapan tükürük böceklerine karşı oldukça etkili bir biyolojik mücadele ajanı olmasından ve zararlıların bitki köklerinde beslenmesi sonucu ortaya çıkan uçucu bileşiklerin nematodları kendine çekmesinden yola çıkarak bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada, 6 kollu olfaktometre kullanılmış, tükürük böceği nimflerinin kökte meydana getirdikleri zarar ile ortaya çıkan uçucu bileşiklerin nematodlar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ayrıca böcek nimflerinin yaptıkları zarar sonrası köklerin uçucu bileşik profilleri de incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; EPN'lerin zarar görmemiş sağlıklı kökler ile boş kum arasında herhangi bir ayırım gözetemediği, buna karşın, zarar görmüş kök ile sağlıklı kök karşılaştırıldığında; her iki EPN türü de kokuları algılamış ve zarar görmüş bitki köklerine yöneldiği görülmüştür.

2.2. Entomopatojen Nematodların Konukçu Arama Davranışlarıyla İlgili Kaynak Araştırması

Grewal ve ark. (1993) tarafından yapılan araştırmada, çalışmada kullanılan deneysel ve doğal konukçuların artıklarıyla ilişki içerisinde bulunan dört entomopatojen nematod türünün davranışsal tepkileri analiz edilmiştir. Nematodlar tarafından konukçu tanınması sürünme, kafa dalgalanması, vücut dalgalanması, duraklama, kuyruk sürünmesi, baş sürünme ve agresif davranma gibi bazı deneysel parametrelerdeki değişiklikler izlenerek açığa çıkarılmıştır. *S. glaseri* doğal konukçularının *Spodoptera exigua* (Lepidoptera) ve *Popillia japonica* (Coleoptera) ve deneysel konukçularının *Acheata domesticus* (Orthoptera) ve *Blatella germanica* (Blattodea) artıklarıyla iletişime girdiğinde davranışsal tepki görülmüştür. *S. scapterisci* herhangi bir böcek türünün atıklarına karşı istatistiksel olarak önemli bir tepki göstermemişken, *S. carpocapsae* ise sadece *B. germanica* atıklarına karşı tepki göstermiştir. *S. scapterisci* hariç diğer nematod türleri hamamböceği atıklarına karşı kaçma tepkisinde bulunmuştur. Nematodlar üzerinde hamamböceği atıklarında bulunan amonyağın inhibitör etkisi yarattığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, EPN'ler tarafından özel konukçu tanınmanın önemli bir mekanizma olduğu ve konukçuların çekiciliği ile ilgili olduğuna vurgu yapılmıştır.

Lewis ve ark. (1995) tarafından, beslenmeyen IJ'lerin özellikle bir konukçuyu aramaları sırasındaki arama stratejileri, metabolik oranları ve enerji rezervleri arasındaki ilişkinin ne olduğu ve arama stratejisi başarısız olduğunda, infektif dönemdeki nematodun konukçu arama davranışını değiştirip değiştirmeyeceği sorularının ortaya çıktığı tespit edilmiştir. 3 EPN türü suda depolanmış ve depolama süresi boyunca metabolizmadaki oranlar, enerji rezervleri ve enfeksiyon yeteneği ölçülmüştür. Çalışmaların sonucuna göre; *H. bacteriophora* daha aktif ve en yüksek metabolik oranlara sahiptir. *S. carpocapsae* en az aktif ve en düşük metabolik oranlara sahiptir, *S. glaseri*'nin en aktif olduğu ve metabolik oranlarının da diğer iki nematodun arasında olduğu bulunmuştur. *S. glaseri* ve *H. bacteriophora* cruiser iken, *S. carpocapsae* konukçusuna tuzak kurmuştur, yani ambusher tepki göstermiştir. Hiçbir cruising tür arama stratejisini değiştirmemiştir. *S. carpocapsae*'nin nictation davranışı azalmış ve hareket oranı ise artmıştır.

Csantos (2002) tarafından yapılan çalışmada *Steinernema glaseri* ve *Heterorhabditis bacteriophora*'nın yatay hareketlerinin belirlenmesi için kumda 15, 20, 25 ve 30 °C'de *Galleria mellonella* larvalarına karşı denemeler yapılmıştır. Yatay hareket 17 ayrı bölümden oluşmuş 42,5 × 5 cm PVC tüpler kullanılarak uç noktalarına *G. mellonella* larvasıyla orta noktadan nematod yerleştirilerek değerlendirilmiştir. 8 saat aralıklar ile nematodların değişik sıcaklıklarda larvaya karşı uzaklaşma ya da yaklaşma oranı ölçülmüştür. Her iki tür de cruiser konukçu arama stratejisine sahiptir. Ancak sadece *S. glaseri* konukçudan gelen uyarılara yanıt vermiştir. *S. glaseri* ve *H. bacteriophora*'nın IJ'lerinin hareketleri, sıcaklık yükseldikçe önemli ölçüde artış göstermiştir. Her iki türün de ekstraksiyon verimi tüm sıcaklık derecelerinde zamanla düşüş eğilimi göstermiştir.

Böcek paraziti olan bir türe ait iki farklı EPN izolatının (*H. bacteriophora* Tur-H2, *H. bacteriophora* Tur- H1) dikey yöndeki hareketleri Susurluk ve ark. (2003) tarafından laboratuvar koşullarında test edilmiş. *H. bacteriophora* Tur-H2 ile *H. bacteriophora* Tur-H1'in *Galleria mellonella* larvasına karşı olan hareketleri arasında oldukça önemli bir farkın bulunduğu saptanmıştır. Her iki izolat ırk için en fazla nematod enfeksiyonu, 3. günde gözlenmiştir. 25 °C'de 24, 48, 72, 96, 118 ve 148 saat sonunda *G. mellonella* larvası içine giren *H. bacteriophora* Tur-H2 ve *H. bacteriophora* Tur-H1'in enfektif juvenilleri (IJs) kaydedilmiş ve larva içindeki IJ yüzdeleri verilmiştir. Buna göre; *H.*

bacteriophora Tur-H2 için: % 0.26, 3.20, 52.38, 12.52, 8.20 ve 3.73. *H. bacteriophora* Tur-H1 içinse: % 0.52, 3.28, 28.16, 4.34, 3.90 ve 1.82 sonuçları elde edilmiştir. İki nematod izolatu aynı türe ait olduğu halde, ilginç bir sonuç olarak aynı konukçuya karşı farklı etkinlikte arama davranışı gösterdikleri tespit edilmiştir.

Bal ve Grewal (2015) ambusher ve cruiser olarak sınıflandırılan entomopatogen nematodların topraktaki yayılma ve beslenme davranışları ile ilgili yapmış oldukları çalışmada enfekteli kadavralardan alınan ambusher olarak *S. carpocapsae* (tüm ırkları), cruiser olarak da *H. bacteriophora* (GPS11 ırkı) türleri ile hareketli veya hareketsiz, larvalı veya larvasız Wooster kumu ve killi toprak karışımıyla elde edilen mikrokozmlarda çalışmalarını yürütmüştür. Sonuçlarda, 24 saat sonunda hareketsiz larvalı grubu (*G. mellonella* tel ile çevrilmiş) ile larva uygulaması olmayan grup karşılaştırılmış *H. bacteriophora*'nın hareketsiz larvalı grubunda yayılım artış göstermiş olmasına rağmen, *S. carpocapsae*'nin dağılımı üzerinde herhangi bir etki bulunmamıştır. Buna karşın, hareketli larva ve larva uygulaması olmayan grup karşılaştırıldığında ise hareketli larva *S. carpocapsae* yayılımını arttırmasına rağmen, *H. bacteriophora*'nın dağılımı üzerinde etkili olmamıştır. Ayrıca *H. bacteriophora* mikrokozmun içerisine konulan hareketsiz larvayı hareketli larvadan daha iyi enfekte etmiştir ve *S. carpocapsae* ise hareketli larvayı hareketsiz larvadan daha iyi enfekte etmiştir, böylelikle ambusher - cruiser teorisi doğrulanmıştır. Ayrıca sonuçlar iki türün IJ'lerinin (88-96% *S. carpocapsae*; 67-79% *H. bacteriophora*), de büyük oranla kadavranın çevresinde olduğu (≤ 3.8) görülmüş ve hareketli larvanın bulunduğu mikrokozmlarda IJ'ler ile kadavra arasındaki mesafe en uzun mesafenin *S. carpocapsae*'da olduğu görülmüş ve istatistiksel olarak da bu fark önemli bulunmuştur. Ayrıca *S. carpocapsae*'nin ortalama popülasyonunun yer değiştirmesi hareketsiz larvada (5.07 - 3.6cm/gün) ve hareketli larvada (8.06 - 5.3 cm/gün) *H. bacteriophora*'dan daha yüksektir. Sonuç olarak, 2 türün yayılım ve besin arama davranışları arasında fark vardır ve bu davranışlar konukçunun varlığı, yokluğu, hareketli veya hareketsiz olması etkilemektedir.

Lortkipanidze ve ark. (2016) EPN'lerin besin arama davranışlarının türlere göre farklılık göstermesi ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. *S. carpocapsae*, *H. bacteriophora* ve teşhisi son zamanlarda yapılmış olan *Steinernema tbilisiensis*'in *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae)'a karşı etkinliği test edilerek karşılaştırılması

gerçekleştirilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda *S. tbilisiensis*'in hem ambusher hem de cruiser olmak üzere iki arama stratejisine de adapte olabildiği bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Laboratuvar Koşullarında Yetiştirilmesi

Petek güvesi, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), larvaları EPN'lere son derece duyarlıdır. Larvalarının yapay besinlerle rahatlıkla beslenerek kısa sürede yetiştirilebilmesi ve üreme potansiyelinin yüksek olması nedeniyle EPN'lerin *in vivo* üretimi sürecinde en genel ve yaygın olarak kullanılan konukçu böcektir. *G. mellonella*'nın son dönem (4. Dönem) larvalarının (Şekil 3.1.) *in vivo* üretimde kullanılmasıyla yeterli sayıda EPN elde edilebilmektedir (Zyl ve Malan 2014).



Şekil 3. 1. *Galleria mellonella* larvalarının genel görünümü

Laboratuvar koşullarında sağlıklı olarak üretilen *G. mellonella* larvaları denemede konukçu olarak kullanılmıştır. Larvaların yetiştirilmesinde kullanılan yapay besin aşağıda yer alan maddelerden oluşmaktadır:

- 200 g bal,
- 200 g gliserin,
- 50 g maya,
- 100 g süt tozu,
- 100 g soya unu,
- 150 g mısır unu
- 200 g kepek (Wiesner 1993).



Şekil 3. 2. *Galleria mellonella* larvalarının beslenme görüntüsü

G. mellonella erginlerinin filtre kağıdı üzerine bırakmış oldukları yumurtaları, cam kavanoz içerisinde bulunan besinin üzerine konulmuş ve kavanozun ağız kısmı delikli metal bir telle kapatılmıştır. Açılan yumurtalardan çıkan bireyler beslenmeye başlayarak yaklaşık 4 hafta içerisinde son dönem larva büyüklüğüne ulaşmıştır (Şekil 3.2.). Bu süreçte kavanozlar ısıtılmalı etüvde (Thermal) 30 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 3.3.). *G. mellonella*'ların yumurta bırakmaları için optimum sıcaklık 30 °C'dir. Daha düşük sıcaklıklarda metabolizmaları bariz şekilde yavaşlar ve bırakılan yumurta sayısında düşme görülür. Daha yüksek sıcaklıklarda ise 3 gün içerisinde yumurtlama oranının yüksek olduğu ancak ömürlerinin kısaldığı ve ölümlerin arttığı tespit edilmiştir (Marston ve ark. 1973).



Şekil 3.3. *Galleria mellonella* larvalarının ısıtılmalı etüv içerisinde görünümü

3.1.2. *Heterorhabditis bacteriophora* Irkları

3.1.2.1. Ebeveyn İzolatlar

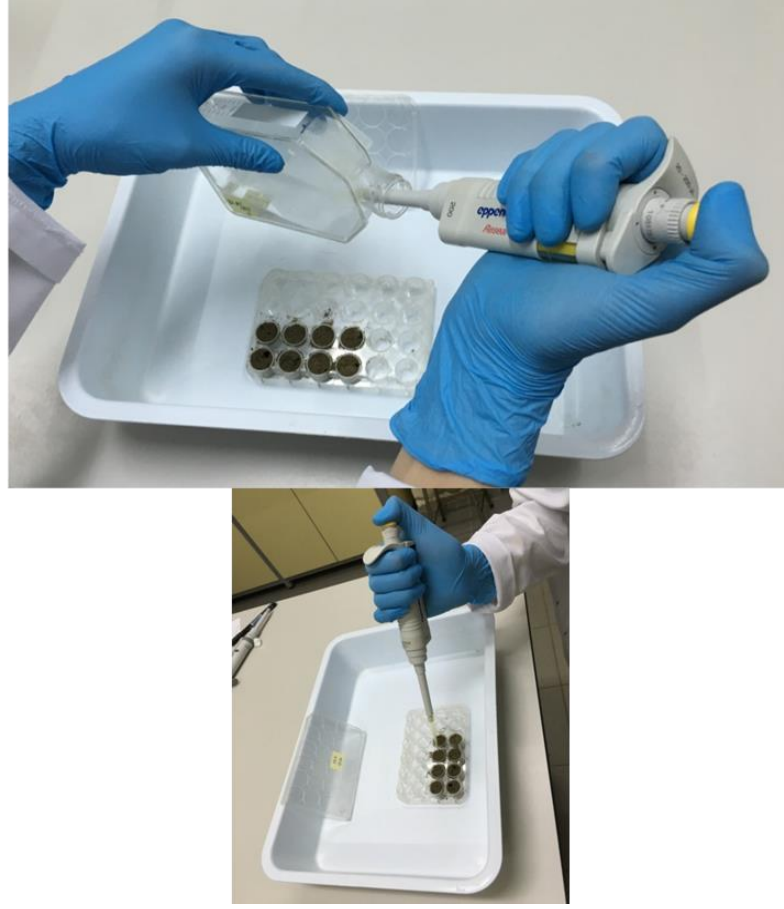
Çalışmada kullanılan ebeveyn ırklar daha önce Türkiye'nin farklı bölgelerindeki illerden izole edilmiş olup, EPN kültürleri düzenli aralıklarla yenilenerek kültürlerin sağlıklı bir şekilde devamlılığı sağlanmıştır. Bu çalışmada yer alan hibrit ırkın ebeveynleri olarak kullanılan izolatlar ve izole edildikleri iller; Antalya İlinden HB1138 ve Şanlıurfa İlinden HB4'tür.

3.1.2.2. Hibrit Irk

Türkiyenin farklı iklimsel bölgelerinden izole edilen HB4 ♀ ve HB1138 ♂' in ebeveyn olarak kullanılmasıyla HBH hibrit ırkı elde edilmiştir ve bu tez çalışması kapsamında kullanılmışlardır. HBH, üstün biyolojik karakterlere (yüksek etkinlik, uzun süreli kalıcılık ve üstün üreme kapasitesi) sahip olduğu için patentlenmiştir.

3.1.2.3. *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının *in vivo* Üretimi

24 kuyucuklu hücre kültürü kabı (Well Plate)'de *in vivo* üretim gerçekleştirilmiştir. Plate'in her bir kuyucuğuna önce biraz Ringer solüsyonu ile nemlendirilmiş %10 nemli steril kum konulmuş, üzerine son dönem *G. mellonella* larvası konulmuş ve son olarak üzeri %10 nemli steril kum ile kapatılmıştır. Steril kum üzerine üretimi yapılacak EPN izolat ve ırkından 50 IJ/ larva olacak şekilde mikropipet yardımıyla inokülasyon yapılmıştır. Kapağı kapatılan kültür kaplarındaki nem kaybını önlemek amacıyla kabın çevresine parafilm bant çekilmiş ve 26 °C'de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.4.).



Şekil 3. 4. İnokülasyon işlemi

4. gün sonunda enfeksiyon gerçekleşmiş ise larvalar ölü ve kırmızı - bordo renkli olarak görülürler (Şekil 3.5.). Kumdan çıkarılan kavrular steril Ringer solüsyon ile arındırılmış ve yine Ringer solüsyonu ile nemlendirilmiş olan White Trap düzeneği üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 3.6.)

EPN'ler IJ evresindeyken kavruların içindeki besini tükettikten yaklaşık 2 hafta sonra yeni konukçu arayışına başlayıp kavrulardan dışarı çıkarlar ve düzenekte bulunan Ringer solüsyonunda birikirler. Ringer solüsyonu içerisinde yeterince biriken IJ'ler mikropipet yardımıyla buradan alınıp, oksijen alışverişinin bulunduğu kapakları özel olan kültür kaplarına aktarılıp, +4 °C'de muhafaza edilmişlerdir. (Şekil 3.7.).



Şekil 3. 5. Larvaların enfeksiyon sonrası görünümü



Şekil 3. 6. White trap düzeneği



Şekil 3. 7. Yeni nesil IJ'lerin muhafaza edildiği kültür kapları

3.1.3. Silis Kumu

Bir diğer adıyla kuvars kumu olarak da bilinen silis kumu (Hacıfazlıoğlu 2011), yer kabuğunda bol oranda bulunur. Cam sanayi, refrakter sanayi ve döküm sanayi başlıca kullanım alanlarını oluşturur. Ayrıca kimya, filtrasyon ve inşaat sanayinde de kullanılmaktadır (Kurşun ve İpekoğlu 1995). Bunların yanı sıra, silis kumu akvaryum kumu olarak da bilinmektedir.

Denemelerde 0,5–1,0 mm partikül ebadında silis kumundan (Şekil 3.8.) yararlanılmıştır. 10 – 20 yıkama sonrasında kum partikülleri suyu bulandırmayıp suya karışmamaktadır. Ayrıca beyaz renkte olması ekstraksiyon işleminden sonra kum kalıntısı olsa bile mikroskop görüntüsünü karartmayıp kum partiküllerinin önünde veya arkasında kalan EPN'lerin fark edilmesini engellemektedir.

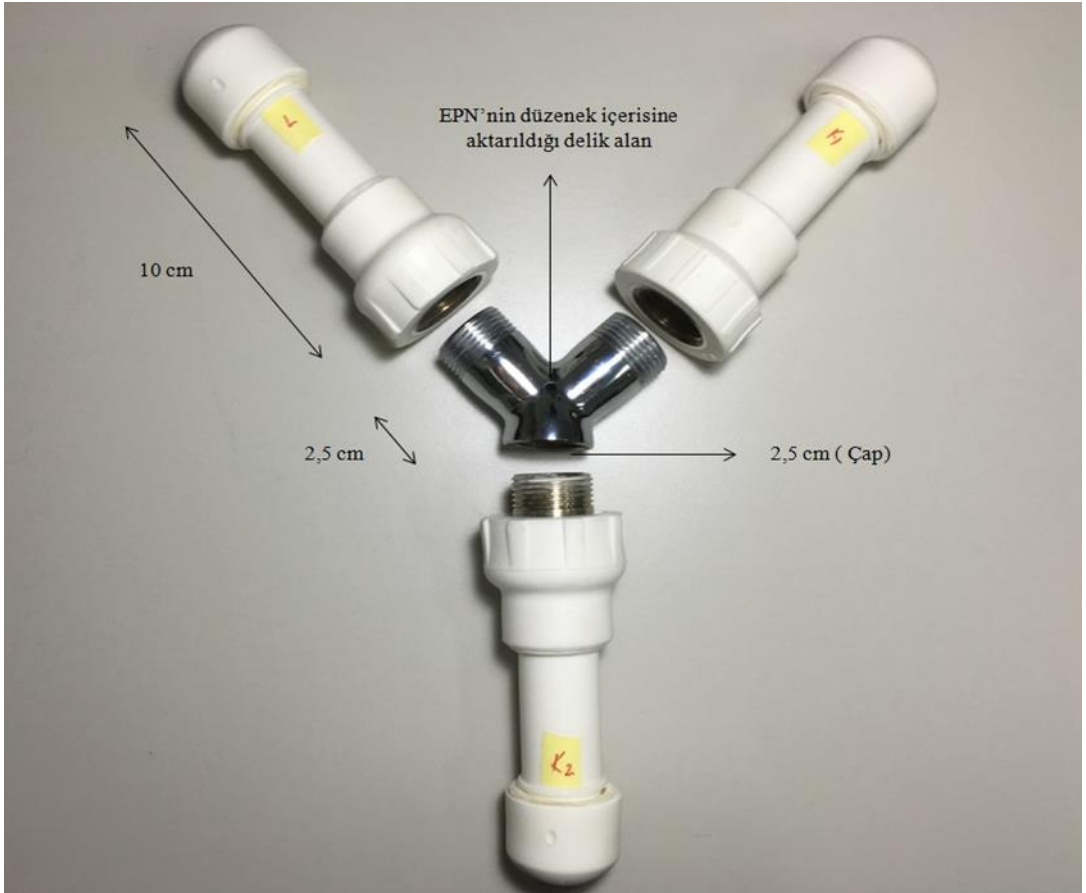


Şekil 3. 8. Silis kumu

3.1.4. Y-Olfaktometre Düzeneği

Anlamı 'koku duyarlılık ölçeri' olan Olfaktometre, EPN'lerin yarı – doğal yaşam alanı içinde konukçu arama davranışlarının incelenip araştırılmasında faydalanılan oldukça kullanışlı bir araçtır (Boff ve ark. 2001).

Laboratuvar denemelerinde kullanılan Y-Olfaktometrenin her bir kolunun boru kısmı 10 cm uzunluğundadır ve uç noktaları takılıp çıkarılabilen kapaktan oluşmaktadır. Borunun diğer uç noktası ise metal bir parçaya bağlantı sağlamaktadır. Bu metal parçanın tam orta noktasında IJ'lerin Y-Olfaktometre düzeneğine aktarılabilmesi için yuvarlak bir delik bulunmaktadır ve metal parçanın her bir kolu bu delikten itibaren boru bağlantısına 2,5 cm uzunluğundadır (Şekil 3.9.). Boru çapının 2,5 cm olduğu baz alınarak Y-Olfaktometre düzeneğinin iç hacminin ~184 cm³ olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 3.9. Y-Olfaktometre düzeneği

3.1.5. Denemede Kullanılan Çim Bitkisi

Çalışmamızda, araştırma materyali olarak Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Serasında (Şekil 3.10.) yetiştirilen İngiliz Çimi (*Lolium perenne* L.) kullanılmıştır. Bu denemede kullanılan çim bitkisinin yetiştirildiği alanda milli dere toprağı kullanılmıştır. Toprak analizleri Tübitak-BUTAL'a yaptırılmıştır. Analiz sonuçlarına göre, toprak; killi, fosfor ve potasyumca zengin, organik madde ve kireç bakımından yetersiz, pH 7,2 ve tuzluluk sorunu bulunmayan topraklardır. Bu alanda yetiştirilen türe ait özellikler aşağıda özetlenmiştir:

İngiliz Çimi (*Lolium perenne* L.)

İngiliz Çimi, çim alanların yapımında en çok kullanılan türlerden birisidir. Asya'nın ılıman kuşağı ile Kuzey Afrika'nın yerli bir bitkisidir. Koyu yeşil yaprakları tüysüz ve parlaktır. Çok kardeşlenen bir bitki olduğundan uygun bir şekilde ekilen ve bakımı yapılan İngiliz Çimi üniform bir bitki örtüsü oluşturur. Genel olarak kısa ömürlü çok yıllık bir bitki olarak kabul edilir. Bazı çeşitler, yazları nemli ve serin, kışları ılıman geçen bölgelerde daha uzun ömürlüdür. İngiliz çimi aşırı soğuk, sıcak ve kuraklıktan zarar görür. Gölgeye dayanımı oldukça zayıftır. Çok değişik toprak tiplerinde yetişebilse de en iyi gelişimini drenajı iyi, verimli, nem tutabilen topraklarda yapar. Nötr veya hafif alkali topraklarda (pH 6-7) iyi gelişir. Toprak tuzluluğuna orta derecede dayanıklıdır. İngiliz çimi; park ve bahçeler, spor alanları, karayolları ve değişik amaçlı çim alanların yapımında çok kullanılır. Tohumla üretilir. Oldukça iri tohumlarıyla kolayca çimlenir ve gelişir. Çim alanları için özel olarak ıslah edilen, birim alanda bol kardeş geliştiren, ince yapraklı ve kısa boylu çeşitler basılmaya ve çiğnenmeye çok dayanıklıdır. Çim bitkisi olarak geliştirilen çeşitler 2 cm'den kısa biçilmezse kış aylarında çiğnenme şartlarına uzun süre dayanırlar (Açıkgöz 1994).



Şekil 3.10. Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri serasında yetiştirilen İngiliz çimi alanı

3.2. Yöntem

3.2.1. Y-Olfaktometrenin Hazırlanışı

Y-Olfaktometre düzeneğinde 3 farklı yöntem kullanılmıştır. İlk 3 tekerrürde; her bir kolu ve orta noktası %10 saf su ile nemlendirilmiş silis kumu (kuvars kumu) ile doldurulan Y-Olfaktometre düzeneğinin bir kolunun uç noktasına yakın bir bölgesine çim bitkisinin normal kökü, bir kolunun uç noktasına yakın bölgesine 2 adet son dönem *G. mellonella* larvası yerleştirilmiş olup larvaların düzenek içerisinde gezinmesini engellemek için borunun kapaktan hemen sonraki bölgesine metal tel yerleştirilmiştir (Şekil 3.11.), diğer kol ise kontrol kolu olarak düzenlenmiştir. İkinci 3'lü tekerrürde; bir kolunun uç noktasına yakın bir bölgeye çim bitkisinin normal kökü bırakılmış olup (Şekil 3.12.), diğer iki kol kontrol kolu olarak düzenlenmiştir. Üçüncü 3'lü tekerrürde ise; bir kolunun uç noktasına yakın bir bölgeye mekanik yolla kesilmiş çim bitkisi kökü bırakılmış ve diğer iki kol kontrol kolu olarak düzenlenmiştir.

Y-olfaktometrelerin ortasına İJ'leri eklemeyen önce, hazırlanan Y-Olfaktometre kombinasyonları 25° C'de yatay olarak 24 saat inkübe edilmiştir. Buradaki amaç Y-Olfaktometre içerisindeki kimyasal dağılımın homojen hale gelmesidir. Mikropipet yardımıyla düzeneğin orta noktasından 1000 İJ'nin içeriye uygulanması sağlanmış (Şekil 3.13) düzenek içerisindeki nemin kaybolmaması için orta kısım parafilm bant ile kapatılmıştır (Şekil 3.14.). Son olarak üzerinde hangi ırk ve düzeneğin hangi tarihte hazırlandığının yazılı olduğu etiketleme işlemi de yapıldıktan sonra Y-Olfaktometre 4

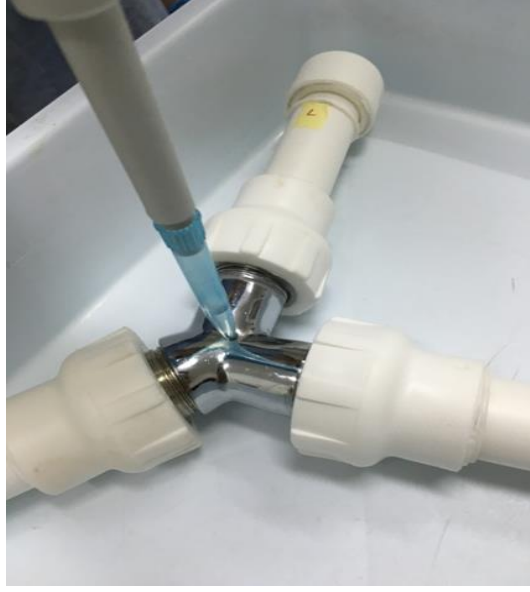
gün süre ile 25 °C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.15.). Y-Olfaktometre düzeneği 4 gün sonra açılıp kollara yönelim yapan EPN'lerin miktarları belirlenmiştir.



Şekil 3.11. L koluna eklenen larva ve metal tel



Şekil 3.12. Y-Olfaktometre düzeneğinin bir koluna eklenen çim bitkisi kökü



Şekil 3.13. Y-Olfaktometre düzeneğine IJ'lerin uygulanması



Şekil 3.14. Y-Olfaktometrenin kapalı görünümü



Şekil 3.15. Y-Olfaktometrelerin bekletildiği 25 °C'ye ayarlı etüv

3.2.2. EPN'lerin Ekstraksiyonu

Her biri orta noktadan ayrılmış olan Y-Olfaktometre kolları içerisindeki kumlar ayrı ayrı beherlere konulup (Şekil 3.17.), Cobb's sieving and decanting yöntemi esas alınarak EPN'lerin kumdan ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem sayesinde yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmektedir. Diğer bir tabirle, sayım yapılacak sıvı miktarı minimum düzeyde tutulup aynı zamanda eleme işlemleri sırasında EPN kaybı en alt seviyeye düşürülmektedir (Bezooijen 2006).



Şekil 3.16. Y-Olfaktometrenin her bir kolundan çıkarılan kumun beherlere alınmış görüntüsü

Her bir koldaki nemli kumlar şu işlemlere tabi tutulmuştur:

- Beherler, içerisindeki kumu aşacak şekilde su ile doldurulmuştur.
- Kum ve su karışımı metal spatül kaşık yardımıyla karıştırılıp kumdaki EPN'lerin kumdan ayrılması sağlanmıştır.
- Dibe çöken kumun üzerinde kalan sıvı kısım 38 µm delik çapı olan eleğe aktarılmıştır.
- Elek üzerinde kalan sıvı sayılmak üzere bir petriye aktarılmıştır (Şekil 3.17.).

Bu işlem her kol için 3 kez tekrarlanmıştır. Böylelikle Y-Olfaktometre içerisindeki ekstrakte edilen EPN'ler sayım işlemi için hazırlanmıştır (Şekil 3.18.).



Şekil 3.17. Cobb's sieving and decanting yöntemiyle IJ'lerin ekstraksiyonu



Şekil 3.18. Ekstrakte edilen IJ'lerin sayım kabındaki görüntüsü

3.2.3. EPN Sayımı

Y-Olfaktometrenin hangi kolundan çıktığı belirtilerek sayım kaplarına alınan EPN'lerin inverted ışık mikroskobu Leica DM IL LED kullanılarak sayımları yapılmıştır. Mikroskop görüntüleri Şekil 3.19. gösterildiği gibidir. Sayım kapları 9×13 cm ölçülerinde

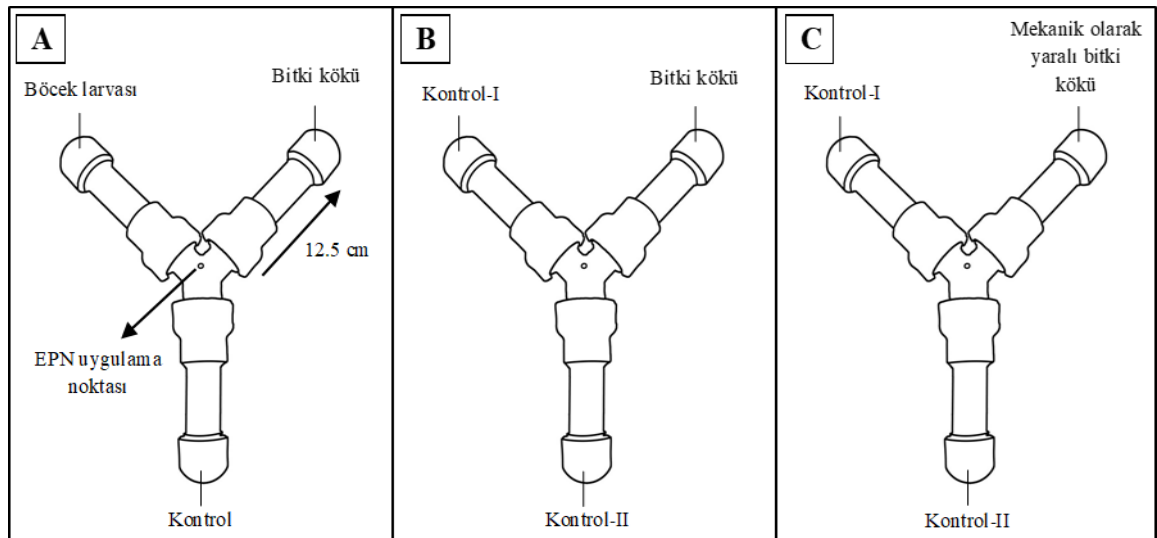
24 kuyucuk içermekte olup, her bir kuyucuğun alt yüzeyi bir kenarı 0,5 cm olan 16 eşit kare şeklinde bölümlere ayrılmıştır.



Şekil 3.19. IJ'lerin mikroskop görüntüsü

3.2.4. Deneysel Tasarım

Denemede kullanılan EPN ırklarının *L. perenne* köklerine, böcek larvalarına (*G. mellonella* L.) ve kontrol kollarına yönelimini incelemek amacıyla Y-Olfaktometre düzeneği (Boff v.r ark. 2001, Susurluk 2011) kullanılmıştır. Üç ayrı kolu (her bir kol için çap 2.5 cm, uzunluk 12.5 cm) olan Y-Olfaktometre düzeneğinin içi %10 nemlendirilmiş steril kuvars kumu ile doldurulmuştur. Farklı kombinasyonlarla aynı anda üç ayrı deney kurulmuştur (Şekil 3.20.).



Şekil 3.20. Çalışmada kullanılan Y-olfaktometrenin şematik çizimi. A, B ve C deneysel kombinasyonları göstermektedir.

A Deney kombinasyonunda; konukçu böcek larvaları ve bitki kökleri sırasıyla Y-Olfaktometrenin ilk iki kolunun sonuna yerleştirilmiştir. Diğer üçüncü kol herhangi bir uygulama yapılmadan kontrol kolu olarak tutulmuştur.

B kombinasyonunda; sadece bitki kökleri (Şekil 3.21.) bir kolun ucuna transfer edilmiştir. Diğer kollar kontrol-I ve kontrol-II olarak seçilmiştir.

C kombinasyonu B kombinasyonuna benzer bir şekilde oluşturulmuştur. Ancak, bu deneyde kullanılan bitki kökleri mekanik olarak yaralıdır.



Şekil 3.21. Çalışmada Kullanılan Çim Bitkisi Kökü

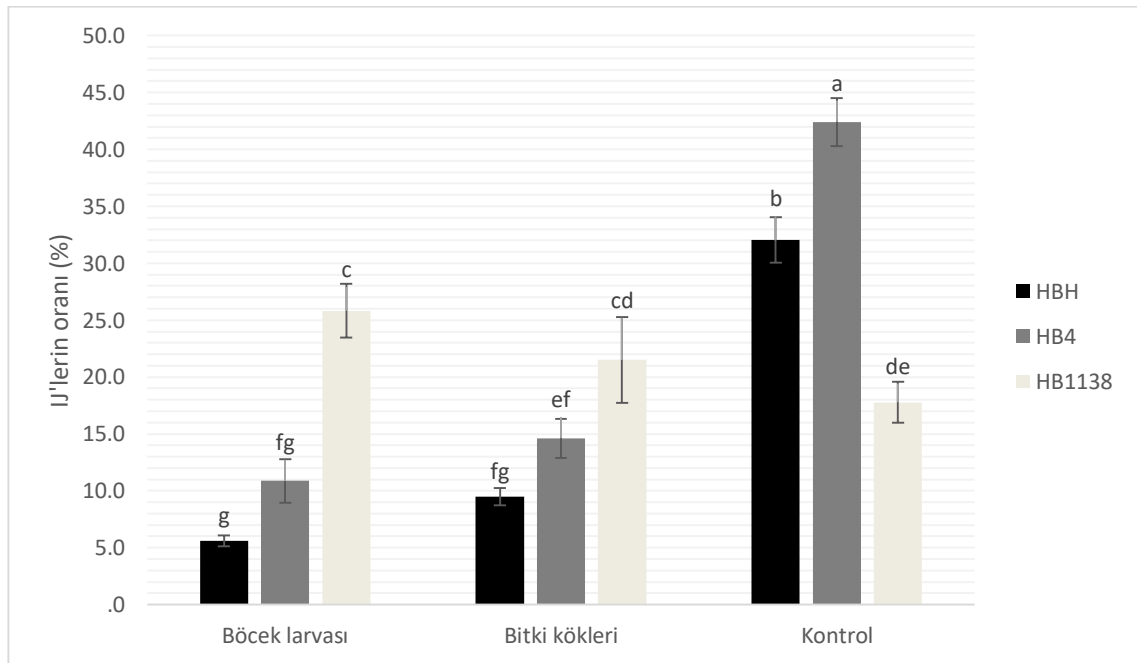
3.2.5. Veri Analizleri

Denemeler sonunda elde edilen tüm verilere tek yönlü varyans analizi (Oneway ANOVA) uygulanmıştır. İzolat ve ırkların Y-Olfaktometre kollarındaki dağılımları ile ilgili verilerin karşılaştırılmasında %5 düzeyinde LSD (Least Significant Differences) testi kullanılmıştır. Tüm veri analizleri JMP 7.0 programında gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Kullanılan Irkların *Lolium perenne* Köklerine ve *Galleria mellonella* Larvalarına Yönelme Durumları (Kombinasyon A)

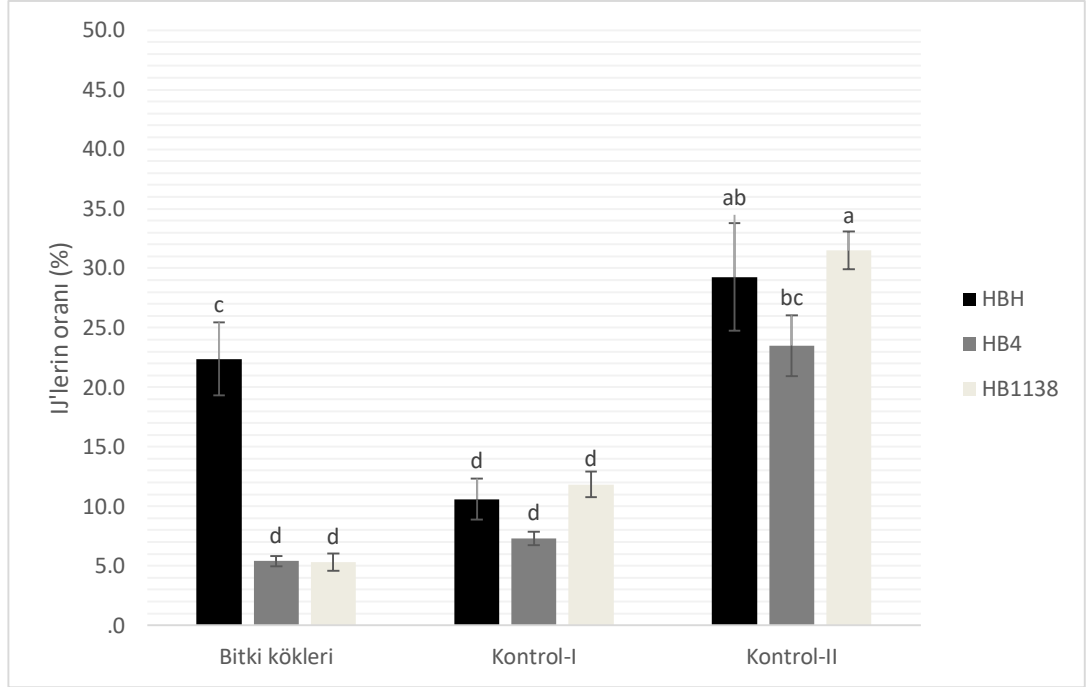
Kullanılan ırklar arasında HB1138, *L. perenne* köklerine ve *G. mellonella* larvalarına karşı HB4 ve HBH'den istatistiksel olarak daha yüksek yönelim göstermiştir. İstatistiksel olarak kontrole yönelik en yüksek yönelimi HB4 gösterirken, en düşük yönelimi HB1138 göstermiştir. HB1138'in *G. mellonella* larvalarına yönelimi kontrole göre istatistiksel olarak daha yüksektir. Ayrıca HB4 ve HB1138 ile aynı şekilde HBH'nin de *G. mellonella* larvalarına ve *L. perenne* köklerine oryantasyonu istatistiksel olarak aynıdır (F: 32.6342, df: 8; 18, P <0.0001) (Şekil 4.1.).



Şekil 4. 1. *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının (HBH, HB4, HB1138) çok yıllık çim bitkisi köklerine ve petek güvesi larvalarına yönelimi

4.2. Kullanılan Irkların *Lolium perenne* Köklerine Yönelme Durumları (Kombinasyon B)

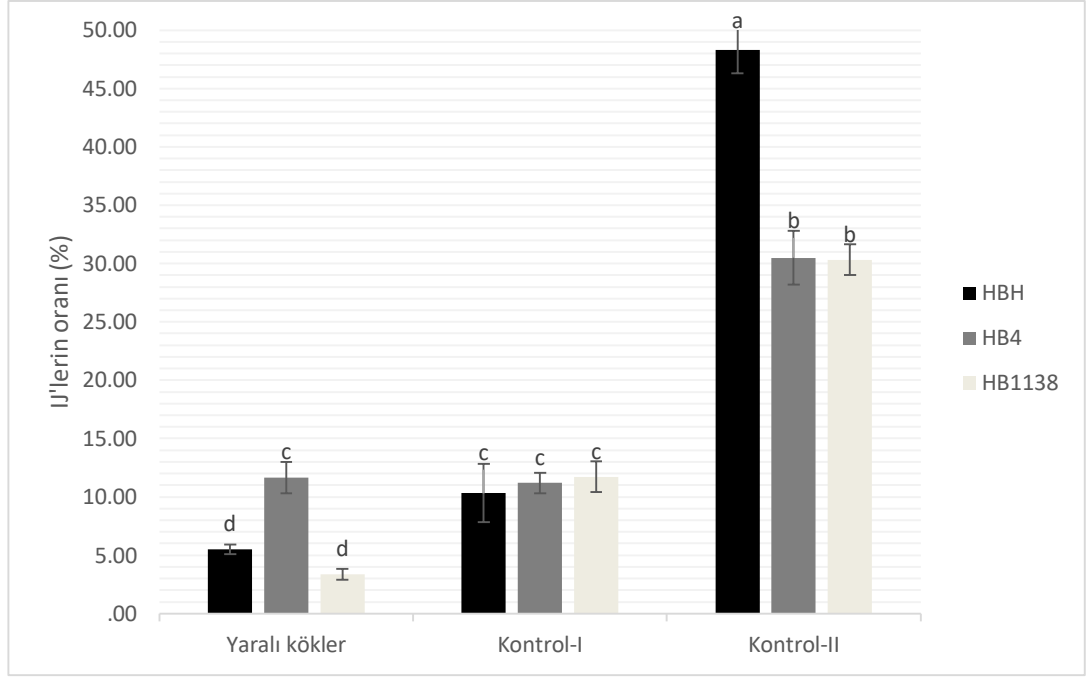
Çalışmada kullanılan diğer ırklara kıyasla HBH, çim köklerine önemli ölçüde yüksek oryantasyon göstermiştir. HB1138 ve HB4'ün bitki köklerine oryantasyonu istatistiksel olarak aynıdır. Kontrol-I'e kıyasla HBH, HB4 ve HB1138 ırkları kontrol-II'ye istatistiksel olarak daha fazla eğilim göstermiştir (F: 21.9879, df: 8; 18, P <0.0001) (Şekil 4.2.).



Şekil 4. 2. *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının (HBH, HB4, HB1138) çok yıllık çim bitkisi köklerine yönelimi

4.3. Kullanılan Irkların Mekanik Olarak Yaralı *Lolium perenne* Köklerine Yönelme Durumları (Kombinasyon C)

Kullanılan türler arasında HB4, mekanik olarak yaralı çim bitkisi köklerine önemli ölçüde yüksek oryantasyon göstermiştir. HB1138 ve HBH'nin yaralı bitki köklerine oryantasyonları istatistiksel olarak aynıdır. Ayrıca ırklar arasında, HB4 kontrol-II'ye karşı istatistiksel olarak en yüksek yönelimi göstermiştir (F: 91.7819, df: 8; 18, P <0.0001) (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının (HBH, HB4, HB1138) mekanik olarak yaralı çim bitkisi köklerine yönelimi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Biyolojik mücadelede, EPN'lerin etkinliği esas olarak konukçu bulma (arama) stratejisi, böcek türleri ve toprak koşulları ile belirlenir (Shapiro-Ilan ve ark. 2006). Konukçu bulma stratejisinin (ambusher, cruiser ve intermediate) EPN türüne bağlı olduğu bilinmektedir (Grewal ve ark. 1994). Campbell ve Gaugler (1993), *H. bacteriophora*'yı cruiser olarak tanımlamıştır. Bu denemede kullanılan tüm ırklar (HBH, HB4, HB1138) *Heterorhabditis bacteriophora* türüne (Rhabditida: Heterorhabditidae) aittir. *H. bacteriophora* ırkları arasındaki yönelim durumunu belirlemek amacıyla *Lolium perenne* (Poales: Poaceae) kökleri ve *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları kullanılmıştır. *H. bacteriophora*'nın etkinliği ve dağılışı, Bal ve Grewal (2015) araştırmalarında da kanıtlandığı gibi hareketli olmayan konukçu böcekler için daha iyidir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar ile EPN'lerin konukçu bulmak için bitkiler veya böcekler tarafından salgılanan kimyasal sinyalleri kullandıkları kanıtlanmıştır (Boff ve ark. 2001, Rasmann ve ark. 2005, Rasmann ve Turlings 2008, Turlings ve ark. 2012, Lortkipanidze ve ark. 2016, Tonelli ve ark. 2016). EPN'ler, bitki köklerinden ve böceklerden salınan karbon dioksit (CO₂) gibi uçucu kimyasalları konukçu bulmak için kullanırlar (Susurluk 2009, Turlings ve ark. 2012, Bal ve Grewal 2015, Tonelli ve ark. 2016). Bununla birlikte, bitki köklerinden salınan uçucu kimyasallara yönelik herhangi bir eğilim göstermeyen bazı EPN ırkları da bulunabilir (Laznik ve Trdan 2013).

Bu çalışmada, *L. perenne* bitkisinin mekanik olarak hasar görmüş ve hasar görmemiş kökleri ayrı ayrı test edilmiştir. Hem böcek larvalarını hem de bitki köklerini ayrı kollarında içeren deneysel kombinasyon A'da istatistiksel olarak, *G. mellonella* larvalarına ve *L. perenne* köklerine karşı en yüksek yönelimi tüm ırklar arasında HB1138 göstermiştir. Ayrıca HBH, HB4 ve HB1138'in böcek larvalarına ve bitki köklerine oryantasyonu istatistiksel olarak aynı olmuştur. Benzer şekilde, Rasmann ve Turlings (2008), mısır bitkisi köklerini, herbivor böcekleri ve EPN'leri içeren tritrofik etkileşimleri incelemiştir. İncelemenin sonucunda, *H. bacteriophora*'nın zarar görmemiş bitki köklerine ve böcek larvalarına yönelimi istatistiksel olarak aynı olmuştur. Rasmann ve Turlings'in (2008) *H. bacteriophora* ile elde ettiği veriler bu tez çalışmasını desteklemektedir. Bununla birlikte, *H. megidis*, çalışmadaki bitki köklerine böcek larvalarından daha fazla yönelim göstermiştir (Rasmann ve Turlings 2008).

Susurluk (2011), *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae) larvaları, kolza kökleri ve Y-Olfaktometre kullanarak iki farklı sıcaklık derecesi (8 ve 15 ° C) altında çalışma yapmıştır. Çalışmaya göre, *S. feltiae*'nin (Rhabditida: Steinernematidae) maksimum yönelimi her iki sıcaklık değerinde de *Delia radicum*'un larvalarına karşı olduğu tespit edilmiştir. Yönelimdeki bu farklılıklar kullanılan EPN türlerinden (*S. feltiae* ve *H. megidis*) kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Her ne kadar HB1138'in böceğe yönelimi diğer ırklara (HBH ve HB4) ve kontrole göre istatistiksel olarak daha yüksek olmasına rağmen, HBH ve HB4'ün kontrole yönelimi bitki köklerine ve böcek larvalarına kıyasla daha yüksektir. Bununla birlikte, Rasmann ve Turlings (2008), mısır bitki köklerini kullanarak, *H. bacteriophora* yöneliminin sağlıklı bitki köklerine, böcek larvalarına (*Diabrotica virgifera virgifera*) veya kontrole karşı istatistiksel olarak aynı olduğunu tespit etmiştir. Fakat *H. megidis*, kontrole göre yarasız bitki köklerine daha çok yönelim göstermiştir (Rasmann ve ark. 2005). *H. megidis* cinsi EPN'lerin yönelimi bu çalışmada kullanılan *H. bacteriophora* ırklarının yöneliminden daha farklı olduğu görülmektedir. Tonelli ve ark. (2016) çalışmalarında şeker kamışı köklerini kullanmış ve *Heterorhabditis indica* ile *Steinernema carpocapsae*'nin yönelimini incelemişlerdir. Her iki tür içinde bitki köklerine ve kontrole yönelimin istatistiksel olarak aynı olduğunu tespit etmişlerdir.

B kombinasyonunda; ırklar arasında, HBH hasarsız *L. perenne* köklerine en yüksek yönelimi göstermiştir. *H. megidis*'in yaralı börülce köklerine kıyasla sağlam mısır ve pamuk bitki köklerine daha yüksek yönelim gösterdiği Rasmann ve Turlings (2008) tarafından tespit edilmiştir. Bu veriler yapılan tez çalışmasıyla uyumaktadır.

C kombinasyonunda; tüm ırklar arasında HB4, mekanik olarak yaralanmış *L. perenne* köklerine en yüksek yönelimi göstermiştir. Bununla birlikte, Rasmann ve ark. (2005), *Heterorhabditis megidis*'in mekanik olarak hasar görmüş ve hasarsız mısır bitkileri köklerine karşı yönelimini altı kollu olfaktometre kullanarak araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda her iki köke karşı yönelimin istatistiksel olarak aynı olduğu tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasını destekleyici bir şekilde, *Otiorynchus sulcatus* larvaları tarafından yaralanan köklere kıyasla *H. megidis*'in yönelimi, mekanik olarak yaralanmış çilek köklerine karşı daha yüksek olduğu Boff ve ark. (2001) tarafından tespit edilmiştir. Fakat *Otiorynchus sulcatus* larvaları tarafından zarar gören *Thuja occidentalis* kökleri,

H.megidis için mekanik olarak zarar görmüş köklerden daha çekici olduğu tespit edilmiştir (Boff ve ark. 2002). Bu veriler tez çalışması ile uyuşmamaktadır, çünkü bitki kökünde makas ile açılan yaralar böceklerin kemirmesiyle oluşturulan yaralardan daha farklı etki gösterebilir. Ek olarak, Ali ve ark. (2010), böcek larvaları tarafından zarar görmüş narenciye köklerinin, mekanik olarak zarar görmüş narenciye köklerine kıyasla daha fazla EPN (*Steinernema diaprepesi*) çekebileceğini belirtmektedir. Bu sonuçlar, mekanik şekilde veya böcek tarafından direkt olarak oluşturulan hasarlara bitkilerin farklı tepkiler vererek EPN'lerin yönelimini etkileyebileceğini göstermektedir. Günümüzde, EPN'lerin oryantasyonu ile ilgili tüm çalışmalar, farklı EPN türleri arasında gerçekleştirilmiştir. Ancak bu tez çalışmasında aynı türe (*H. bacteriophora*) ait olan bazı ırklar arasındaki yönelim araştırılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçlarına bakılarak, *G. mellonella* larvalarına ve hasar görmemiş veya mekanik olarak hasar görmüş *L. perenne* köklerine yönelik *H. bacteriophora* ırkları arasındaki oryantasyonun arasındaki farklılık açıkça tespit edilmiştir. A kombinasyonunda, sağlıklı bitki köklerine ve larvaya istatistiksel olarak en yüksek yönelimi HB1138 göstermiştir. *Galleria mellonella* larvasının bulunmadığı B kombinasyonunda ise, sağlıklı bitki köklerine en yüksek yönelimi HBH göstermiştir. *Galleria mellonella* larvasının bulunmadığı C kombinasyonunda istatistiksel olarak, mekanik yolla parçalanmış bitki köklerine karşı en yüksek yönelim HB4 ırkında saptanmıştır. Aynı türe ait olsalar bile ırklar arasında yönelimin farklılık gösterebileceği tespit edilmiştir.

EPN türleri ve ırkları arasındaki oryantasyonun değişkenliği, tarımsal açıdan zararlı böceklerin biyolojik mücadele kapsamındaki kontrolünü önemli ölçüde etkileyebilir. Bundan dolayı hem arazide hem de laboratuvar ortamında konukçuya yönelim durumunu araştırmak amacıyla yeni çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Açıköz, E., 1994.** Çim Alanlar Ders Kitabı. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Bursa. 81-83 s.
- Adams, B. J., Fodor, A., Koppenhöfer, H. S., Stackebrandt, E., Stocks, S. P., Klein, M. G. 2006.** Reprint of “Biodiversity and systematics of nematode bacterium entomopathogens” [Biol. Control 37 (2006) 32-49]. *Biological Control*. 38: 4-21.
- Adams, B. J. and Nguyen, K. B. 2002.** Taxonomy and systematic. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R. eds.), CABI Publishing, Wallingford, UK. 133. pp.
- Akhurst, R. J. ve Smith, K. 2002.** Regulation and safety. Ed: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R. eds.), CABI Publishing Wallingford, UK. 311-332. pp.
- Alekseev, E., Glazer, I. and Samish, M. 2006.** Effect of soil texture and moisture on the activity of entomopathogenic nematodes against female *Boophilus annulatus* ticks. *BioControl*. 51:507–518.
- Ali, J.G., H.T. Alborn, L.L. Stelinski, 2010.** Subterranean herbivore-induced volatiles released by citrus roots upon feeding by *Diaprepes abbreviatus* recruit entomopathogenic nematodes. *Journal of chemical ecology*, 36(4): 361-368.
- Anonim, 2008.** Zirai Mücadele Teknik Talimatları Cilt I. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Ankara, 273 s.
- Avcıoğlu, R., 1997.** Çim Tekniği Yeşil Alanların Ekimi Dikimi ve Bakımı, Ege Üniversitesi, İzmir, 157-159. s.
- Bal, H.K., Grewal, P.S. 2015.** Lateral Dispersal and Foraging Behavior of Entomopathogenic Nematodes in the Absence and Presence of Mobile and Non-Mobile Hosts. *Plos One*, 10(6): 1-19.
- Bezooijen, J.V. 2006.** Sampling: Methods and Techniques for Nematology, Publisher, Wageningen University, Netherlands, 27-51. pp.
- Bode, H.B. 2009.** Entomopathogenic bacteria as a source of secondary metabolites. *Current Opinion in Chemical Biology*. 13: 224-230.
- Boemare, N. 2002.** Systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*: Entomopathogenic nematology, Ed: Gaugler, R., CABI Publishing, Wallingford, U.K., 35–56. pp.
- Boemare, N. and Akhurst, R., 2006.** The Genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: The Prokaryotes (Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K-H., Stackebrandt E. eds.). Springer Science+Business Media, Inc. New York. 6: 451–494 pp.
- Boemare, N. E., Akhurst, R.J. 2001.** The genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*: The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community,

Ed: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E., Springer-Verlag, New York, 505-515. pp.

Boff, M.I.C., Van Tol, R.H.W.M., Smits, P.H. 2002. Behavioural response of *Heterorhabditis megidis* towards plant roots and insect larvae. *BioControl*, 47: 67–83.

Boff, M.I.C., Zoon, F.C., Smits, P.H. 2001. Orientation of *Heterorhabditis megidis* to insect hosts and plant roots in a Y-tube sand olfactometer. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 98: 329–337.

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

Cakmak, İ., Hazır, S., Uluğ, D., Karagöz, M. 2013. Olfactory response of *Sancassania polyphyllae* (Acari: Acaridae) to its phoretic host larva killed by the entomopathogenic nematode, *Steinernema glaseri* (Rhabditida: Steinernematidae). *Biological Control*, 65: 212–217.

Campbell, J.F., Gaugler, R. 1997. Inter-specific variation in entomopathogenic nematode foraging strategy: Dichotomy or variation along a continuum? *Fundam. Appl. Nematol.* 20: 393-398.

Campbell, J. F., Lewis, E. E., Stock, S. P., Nadler, S. and Kaya, H. K. 2003. Evolution of host search strategies in entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology*. 35: 142-145.

Campbell, J.F., R. Gaugler, 1993. Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Behaviour*, 155-169.

Ciche, T.A., Darby, C., Ehlers, R.U., Forst, S., Goodrich - Blair, H. 2006. Dangerous liaisons: The symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria. *Biological Control* 38: 22–46.

Clarke, D.J., and Eberl, L. 2006. Interactions between bacteria and nematodes. Ed: Intestinal microorganisms of soil invertebrates, Soil biology (König H., Varma A. eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.6: 55-64. pp.

Csantos, A.S. 2002. Lateral Movement of the Entomopathogenic Nematodes *Steinernema glaseri* and *Heterorhabditis bacteriophora* in Sand at Different Temperatures in Response to Host Seeking. *Biocontrol Science and Technology*, 12(1): 137-139.

DeBach, P. 1964. Biological Control of Insect Pests and Weeds. Reinhold Publication Corporation, New York, U.S.A.

Dowds, B.C.A., Peters, A. 2002. Virulence mechanisms. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R. ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK. 79– 98. pp.

- Ehlers, R.U. 2007.** Entomopathogenic nematodes: From science to commercial use: Biological Control: A Global Perspective, Editörler: Vincent, C. Stanislaw, M. Lazarovits, G.; CABI Publishing, Wallingford, U.K., 136–151. pp.
- Eidt, D.C., Thurston, G. S. 1995.** Physical deterrents to infection by entomopathogenic nematodes in wireworm (Coleoptera: Elateridae) and other soil insects. *The Canadian Entomologist*. 127: 423-429.
- Filgueiras, C.C., Willett, D.S., Junior, A.M., Pareja, M., El Bora, F., Dickson, D.W., Stelinski, L., Duncan, L.W. 2016.** Stimulation of the Salicylic Acid Pathway Aboveground Recruits Entomopathogenic Nematodes Belowground. *Plos One*, 11(5): 1-9.
- Fischer-Le Saux, M., Mauleon, H., Constant, P., Brunel, B., Boemare, N. 1998.** PCR ribotyping of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* isolates from the Caribbean region in relation to the taxonomy and geographic distribution of their nematode hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 4246–4254.
- Forst, S., Clarke, D. 2002.** Bacteria-nematode symbiosis: Entomopathogenic nematology, Editör: Gaugler, R.; CAB International, Wallingford, U.K., 57–77. pp.
- Gaugler, R., and Kaya, H.K. 1990.** Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.
- Gaugler, R., Wang, Y., Campbell, J.F. 1994.** Aggressive and evasive behaviors in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: Defenses against entomopathogenic nematode attack. *J. Inverteb. Pathol.* 64: 193-199.
- Gaugler, R., Boush, M.G. 1978.** Effects of ultraviolet radiation and sunlight on the Entomogenous Nematode, *Neoplectana carpocapsae*. *Journal of invertebrate pathology*. 32: 291-296.
- Georgis, R., 1990.** Formulation and application technology. Ed: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control (Gaugler R. and Kaya H. K. eds.), CRC Press, Boca Raton. 173–194. pp.
- Glazer, I. 2002.** Survival biology. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R. ed.). CABI Publishing, Wallingford, UK. 169-187. pp.
- Gordh, G., Headrick, D.H. 2001.** A Dictionary of Entomology. CABI Publishing, Wallingford, U.K., 1032. pp.
- Gouge, D. H. 2005.** Applications for social insect control. Ed: Nematodes as Biocontrol Agents: (Grewal P. S., Ehlers R-U. and Shapiro-Ilan D. I. eds.). CABI Publishing. Wallingford. UK. 317-329. pp.

Grewal, P. S., Koppenhöfer, A. M. and Choo, H. Y. 2005. Lawn, Turfgrass and Pasture Applications. Ed: Nematodes as Biocontrol Agents (Grewal P. S., Ehlers R-U., Shapiro-Ian D. I. ed.). CABI International. Wallingford, UK. 115-146. pp.

Grewal, P.S., E.E. Lewis, R. Gaugler & J.F. Campbell, 1994. Host finding behaviour as a predictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, 108(2): 207-215.

Grewal, P.S., Gaugler, R., Lewis, E.E. 1993. Host Recognition Behavior by Entomopathogenic Nematodes during Contact with Insect Gut Contents. *The Journal of Parasitology*, 79: 495-503.

Grewal, P.S., Selvan, S. and Gaugler, R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *J. Therm. Biol.* 19: 245-253.

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

Griffin, C.T., Boemare, N.E., Lewis, E.E. 2005. Biology and behaviour: Nematodes as biocontrol agents, Editörler: Grewal, P.S. Ehlers, R. Shapiro-Ilan, D.I.; CAB International, Wallingford, U.K., 47–64. pp.

Griffin, C.T., Moore, J.F., Downes, M.J. 1991. Occurrence of insect parasitic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae) in the Republic of Ireland. *Nematologica*, 37: 92–100.

Hacıfazhoğlu, H. 2011. Silis kumunun zenginleştirilmesinde kullanılan yöntemler ve flotasyon ile manyetik ayırma yöntemlerinin demir giderimi bakımından karşılaştırılması. *Madencilik*, 50(3): 35 -48.

Hazır, S., Kaya, H. K., Stock, S. P., Keskin, N. 2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. *Turk J Biol.* 27: 181-202.

Hiltpold, I., Baroni, M., Toepfer, S., Kulhmann, U., Turlings, T.C.J. 2010. Selection of entomopathogenic nematodes for enhanced responsiveness to a volatile root signal helps to control a major root pest. *The Journal of Experimental Biology*, 213: 2417-2423.

Hominick, W.M. 2002. Biogeography: Entomopathogenic Nematology, Ed: Gaugler, R.; CABI Publishing, Wallingford, U.K., 115–144. pp.

Hominick, W.M., Reid, A.P., Briscoe, B.R. 1995. Prevalence and habitat specificity of steinernematid and heterorhabditid nematodes isolated during soil surveys of the UK and the Netherlands. *Journal of Helminthology*, 69: 27–32.

- Jaworska, M. 1993.** Laboratory infection of slugs (Gastropoda: Pulmonata) with entomopathogenic nematodes (Rhabditidae: Nematoda). *Journal of Invertebrate Pathology*. 61: 223-224.
- Kaya, H. K. 1990.** Soil Ecology. Ed: Entomopathogenic nematodes in biological control, (Gaugler R., Kaya H. K. eds.). CRC Press, Boca Raton, FL: 93-115. pp.
- Kaya, H. K. 2002.** Natural enemies and other antagonists. Ed: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, Wallingford, UK. 189-202. pp.
- Kaya, H.K and Gaugler, R. 1993.** Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, 38: 181-206.
- Kaya, H.K., Koppenhöfer, A.M. 1999.** Biology and ecology of insecticidal nematodes: Optimal Use of Insecticidal Nematodes in PestManagement, Ed: Polavarapu, S.; Rutgers University, New Jersey, U.S.A., 1–8. pp.
- Kermarrec, A., Mauleon H., Sirjusingh C. and Baund L. 1991.** Etude experimentale de la sensibilite de vertebres heterothermes tropicaux (crapauds, grenouilles, lezards) a diverse souches de nematodes entomoparasites des genres Heterorhabditis et Steinernema: Recontres Caraibes en Lutte Bioloque. *Les colloques INRA (Paris)*. 58: 193-204.
- Klein, M. G. 1990.** Efficacy against soil-inhabiting insect pests. Ed: Entomopathogenic nematodes in biological control, (Gaugler R., Kaya H. K. eds.). CRC Press, Boca Raton, FL: 385 pp.
- Klein, M. G., Grewal, P. S., Jackson, T. A. and Koppenhöfer, A. M. 2007.** Lawn, turf and grassland pests. In: Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology (Lacey, L. A. and Kaya, H. K., eds). Springer, Germany. 655-675. pp.
- Koppenhöfer, A. M. and Fuzy, E. M. 2003.** Ecological characterization of *Steinernema scarabaei*: a natural pathogen of scarab larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 83: 139-148.
- Koppenhöfer, A.M. 2000.** Nematodes. In: Field manual of techniques in invertebrate pathology (Lacey, L. A. and Kaya, H. K. eds.). Dordrecht, The Netherlands. Kluwer. 283-301 pp.
- Koppenhöfer, A.M. 2007.** Nematodes. In: Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology (Lacey, L. A. and Kaya, H. K.,eds). Springer, 249-264. pp.
- Kung, S-P., Gaugler R. and Kaya, H. K. 1990.** Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. *Journal of Nematology*. 22: 440-445.
- Kung, S-P., Gaugler, R. and Kaya, H. K. 1991.** Effects of soil temperature, moisture and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Invertebrate Pathology*. 57: 242-249.

Kurşun, İ., İpekoğlu, B. 1995. Türkiye Kuvars Kumu Potansiyeline Genel Bir Bakış. Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu, 21-22 Nisan 1995, Türkiye, İzmir.

Laznik, Z&S. Trdan, 2013. An investigation on the chemotactic responses of different entomopathogenic nematode strains to mechanically damaged maize root volatile compounds. *Experimental parasitology*, 134(3): 349-355.

Lewis, E. E. 2002. Behavioural ecology. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R. ed.),. CABI Publishing, Wallingford, UK. 205-223. pp.

Lewis, E. E., Campbell, J., Griffin, C., Kaya, H. K. and Peters, A. 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control* 38: 66–79.

Lewis, E.E., Selvan, S., Campbell, J. F., Gaugler, R. 1995. Changes in foraging behavior during the infective stage of entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, 110: 583 – 590.

Lortkipanidze, M.A., Gorgadze, O.A., Kajaia, G.S., Gratiashvili, N.G., Kuchava, M.A. 2016. Foraging behavior and virulence of some entomopathogenic nematodes. *Annals of Agrarian Sciences*, 14: 99-103.

Marston, N., Campbell, B., Boldt, P.E. 1973. Mass Producing Eggs of the Greater Wax Moth, *Galleria niellonella* (L.). *Technical Bulletin 1510, U.S. Dept. of Agriculture*, 66: 1155-1162.

Moazami, N. 2002. Biopesticide production. In: *Encyclopedia of Life Support Systems*. EoLSS Publishers, Oxford, U.K., 52. pp.

Nermut, J., Puza, V., Mracek, Z. 2012. The response of *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Nematoda: Rhabditidae) and *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) to different host-associated cues. *Biological Control*, 61: 201–206.

Nguyen, K.B., Hunt, D.J. 2007. Entomopathogenic Nematodes: Systematics, Phylogeny and Bacterial Symbionts. Brill, Leiden, Netherlands, 67. pp.

Okumura, E., Yoshiga, T. 2014. Host orientation using volatiles in the phoretic nematode *Caenorhabditis japonica*. *The Journal of Experimental Biology*, 217: 3197-3199.

Orozco, R. A., Hill, T., Stock, S. P. 2013. Characterization and phylogenetic relationship of *Photorhabdus luminescens* subsp. *sonorensis* (Proteobacteria: Enterobacteriaceae) the bacterial symbiont of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis sonorensis* (Nematoda: Heterorhabditidae). *Current Microbiology*, 66: 30–39.

Parkman, J. P. and Smart, G. C. Jr. 1996. Entomopathogenic nematodes, a case study: introduction of *S. scapterisci* in Florida. *Biocontrol Science and Technology*. 6: 423-429.

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

- Peters, A., Gouge, D. H., Ehlers, R-U. and Hauge, N. G. M. 1997.** Avoidance of encapsulation by *Heterorhabditis* spp. infecting larvae of *Tipula oleracea*. *J. Inverteb. Pathol.* 70: 161-164.
- Poinar, G. O. 1989.** Non-insect hosts for the entomogenous rhabditoid nematodes Neoplectana (Steinernematidae) and Heterorhabditis (Heterorhabditidae). *Revue de Nematologie.* 12: 423-428.
- Poinar, G. O. Jr., Thomas, G. M., Presser, S. B. and Hardly, J. L. 1982.** Inoculation of entomogenous nematode, Neoplectana and Heterorhabditis and their associated bacteria, *Xenorhabdus* spp. into chicks and mice. *Environ. Entomol.* 11: 137-138.
- Poinar, G. O., Jr. 1990.** Taxonomy and Biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control (Gaugler R. and Kaya H. K. eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida. 23-61. pp.
- Popiel, I., Hominick, W.M. 1992.** Nematodes as Biological Control Agents 2. *Advances in Parasitology*, 31: 381-433.
- Rasmann, S. & T.C. Turlings, 2008.** First insights into specificity of below ground tritrophic interactions. *Oikos*, 117(3): 362-369.
- Rasmann, S., T.G. Köllner, J. Degenhardt, I. Hiltbold, S. Toepfer, U. Kuhlmann & T.C. Turlings, 2005.** Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*, 434(7034): 732.
- Rasmann, S., Turlings, T.C.J. 2008.** First insights into specificity of below ground tritrophic interactions. *Oikos*, 117: 362-369.
- Riga, E. 2004.** Orientation behaviour: Nematode Behaviour, Editörler: Gaugler, R., Bilgrami, A.L., CABI Publishing, Wallingford, U.K., 63-90. pp.
- Shapiro-Ilan, D.I., D.H. Gouge, S.J. Piggott & J.P. Fife, 2006.** Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Biological Control*, 38(1): 124-133.
- Sharma, S., Waterfield, N., Bowen, D., Thomas, R., Holland, L., James, R., Ffrench-Constant, R. 2002.** The lumicins: novel bacteriocins from *Photorhabdus luminescens* with similarity to the uropathogenic-specific protein (USP) from uropathogenic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters.* 214: 241-249.
- Simoës, N. and Rosa, J. S. 1996.** Pathogenicity and host specificity of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology.* 6: 403-411.

Stock, P.S. 2015. Chapter 1: Diversity, Biology and Evolutionary Relationships: *Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests*, Editor: Herrera, R.C., Springer International Publishing, Switzerland, 3-28. pp.

Stock, S. P. and Hunt D. J. 2005. Morphology and systematic of nematodes used in biocontrol. In: *Nematodes as Biocontrol Agents*. (Grewal P. S., Ehlers R.U., Shapiro-Ian D. I. eds.). CABI Publishing. Wallingford, UK. 3-43. pp.

Stock, S. P., Goodrich-Blair, H. 2012. Nematode parasites, pathogens and associated of insects and invertebrates of economic importance: Manual of techniques in invertebrate pathology, Ed: Lacey L.A., U.S.: Elsevier, Yakima, Washington, 373–426. pp.

Stock, S.P., Griffin, C. T., and Chaerani, R. 2004. Morphological and molecular characterisation of *Steinernema hermaphroditum* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Indonesia, and its phylogenetic relationships with other members of the genus. *Nematology* 6: 401-412.

Stuart, R. J., Barbercheck, M. E., Grewal, P. S., Taylor, R. A. J. and Casey, W. H. 2006. Population biology of entomopathogenic nematodes: Concepts, issues and models. *Biological Control*. 38: 80-102.

Susurluk, A., 2009. Seasonal and vertical distribution of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (TUR-H2) and *Steinernema feltiae* (TUR-S3) in turf and fallow areas. *Nematology*, 11(3): 321-327.

Susurluk, İ.A. 2011. Potential of *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) as a biological control agent against the cabbage maggot *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae) in oilseed rape. *Turk J Agric For*, 35: 413-419.

Susurluk, İ.A., Ünlü, I. O., Kepenekçi, İ. 2003. Host Finding Behavior of Two Different Turkish Isolates of Entomopathogen Nematode Species, *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Turk J Biol*, 27: 203-207.

Tailliez, P., Pages, S., Ginibre, N., Boemare, N. 2006. New insight into diversity in the genus *Xenorhabdus*, including the description of ten novel species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 2805–2818.

Thaler, J-O, Baghdigian, S. and Boemare, N. 1995. Purification and characterization of Xenorhabdicolin, a phage tail-like bacteriocin, from the lysogenic strain F1 of *Xenorhabdus nematophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 61: 2049-2052.

Tonelli, M., Penaflor, M.F.G.V., Leite, L.G., Silva, W.D., Martins, F., Bento, J.M.S. 2016. Attraction of entomopathogenic nematodes to sugarcane root volatiles under herbivory by a sap-sucking insect. *Chemoecology*, 26: 59–66.

Turlings, T.C.J., Hitpold, I., Rassman, S. 2012. The importance of root-produced volatiles as foraging cues for entomopathogenic nematodes. *Plant Soil*, 358: 51–60.

Wang, Y., Campbell, J. F. and Gaugler, R. 1995. Infection of entomopathogenic nematodes *Steinernema glaseri* and *Heterorhabditis bacteriophora* against *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. *J. Inverteb. Pathol.* 66: 178-184.

Webster, J. M., Chen, G., Hu, K. and Li, J. 2002. Bacterial metabolites. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R. ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK. 99114. pp.

Wiesner, A. 1993. Die Induktion der Immunabwehr eines Insekts (*Galleria mellonella*, Lepidoptera) durch synthetische Materialien und arteigene Haemolymphfaktoren. PhD Thesis in Berlin, 107. pp.

Zyl, C.V., Malan, A.P. 2014. The role of entomopathogenic nematodes as biological control agents of insect pests, with emphasis on the history of their mass culturing and *in vivo* production. *African Entomology*, 22(2): 235–249.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sema YILDIRIM
Doğum Yeri ve Tarihi : Kulp – 12.02.1993
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu
Lise : Süleyman Demirel Anadolu Lisesi (2011)
Lisans : Uludağ Üniversitesi, Ziraat Mühendisliği, Bitki Koruma (2016)

İletişim (e-posta) : ekinsema21@gmail.com

Yayımları : **Yıldırım S., Şahin Y. S., Susurluk İ. A. (2019).**
Orientation of some *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) (Rhabditida: Heterorhabditidae) strains to *Lolium perenne* L. (Poales: Poaceae) and *Galleria mellonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Pyralidae). Türkiye Entomoloji Dergisi, 43(4): 409-416. (Baskı aşamasında)

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Sema YILDIRIM
Tez Adı	Hibrit Entomopatojen Nematod <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HBH Irkı İle Ebeveynlerinin Çim Bitkisinin Köklerine Yönelim Davranışlarının Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalara
Enstitü	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans Tezi
Tez Danışmanı	Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) izni	<input checked="" type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input checked="" type="checkbox"/> Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input checked="" type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum
Yayımlama izni	<input checked="" type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum

Hazırlamış olduğum tezimin belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Bursa Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih : 10.09.2019

İmza :

