



**ENTOMOPATOJEN NEMATOD *HETERORHABDİTİS*
BACTERİOPHORA'NİN BAZI HİBRİT İRKLARI İLE
EBEVEYNLERİNİN KONUKÇU ARAMA
DAVRANIŞLARININ KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR**

İREM YETİŞKİN



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENTOMOPATOJEN NEMATOD *HETERORHABDİTİS BACTERİOPHORA*'NIN
BAZI HİBRİT İRKLARI İLE EBEVEYNLERİNİN KONUKÇU ARAMA
DAVRANIŞLARININ KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

İrem YETİŞKİN

Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA-2016

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

İrem YETİŞKİN tarafından hazırlanan “Entomopatojen Nematod *Heterorhabditis bacteriophora*’nın Bazı Hibrit Irkları ile Ebeveynlerinin, Konukçu Arama Davranışlarının Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalar” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile 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
U.Ü. Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Ana Bilim Dalı

İmza



Üye: Doç. Dr. Nimet Sema GENÇER
U.Ü. Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Ana Bilim Dalı

İmza



Üye: Yrd. Doç. Dr. Derya ŞENAL
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi,
Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi
Bitki Koruma Ana Bilim Dalı

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım


Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü

.../.../... (Tarih)

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.

23/09/2016

İrem YETİŞKİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ENTOMOPATOJEN NEMATOD *HETERORHABDİTİS BACTERİOPHORA*'NİN
BAZI HİBRİT IRKLARI İLE EBEVEYNLERİNİN, KONUKÇU ARAMA
DAVRANIŞLARININ KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

İrem YETİŞKİN

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Böcekler üzerinde patojenik etki gösterip, zararlı böcek populasyonlarının kontrol altında tutulmasına katkıda bulunan entomopatojen nematodlar (EPN), toprakta doğal olarak bulunan biyolojik mücadele ajanlarıdır. EPN'lerin geniş konukçu aralığı, aktif konukçu arama yetenekleri, böcek patojeni bakterisi - EPN arasındaki ortak uyum, konukçuyu hızla öldürme, in-vitro koşullarda kolayca ve çok sayıda üretilmesi ve çevreye zararının olmaması EPN'lerin son yıllarda biyolojik mücadelede etkin olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır.

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalar kapsamında; Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden izole edilen, bir entomopatojen nematod türü olan *Heterorhabditis bacteriophora*'nın (Rhabditida : Heterorhabditidae) farklı çevre koşullarına uyum sağlamış olan ırklarının ebeveyn olarak kullanılması ile laboratuvar koşullarında hibridizasyon işlemleri yapılarak üstün özelliklere sahip yeni hibrit ırklar üretilmiştir. Bu tez çalışmasında ise, daha önce elde edilen bazı hibrit ırklar ile bu ırkların ebeveynlerinin konukçu arama özelliklerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar yapılmıştır. Çalışmada ebeveyn ırklardan; Hb.17 (Kırklareli), Hb.5 (İzmir), Hb.1138 (Antalya) ve Hb.4 (Şanlıurfa), hibrit ırklardan ise Hb.C, Hb.E ve Hb.H kullanılmıştır. Denemelerde konukçu olarak *Galleria mellonella* (Lepidoptera : Pyralidae) larvaları kullanılmıştır ve Y-Olfaktometre düzeneği kullanılarak ebeveyn ve hibrit ırkların konukçu arama davranışlarının tespiti ve birbirleriyle karşılaştırılmaları yapılmıştır.

Yapılan denemeler ve istatistiksel analizleri sonucunda Hb.C ırkının konukçuya yönelim konusunda; hem denemelerde kullanılan 7 ırk arasından en iyisi olduğu hem de ebeveyn izolatları Hb.17 ve Hb.1138'den daha yüksek performans gösterdiği saptanmıştır. Buna ek olarak denemelerde kullanılan Hb.H ırkının ebeveynleri Hb.1138 ve Hb.4 ile istatistiksel olarak aralarında bir farklılık olmadığı, Hb.E ırkının ise anne birey Hb.1138'den düşük baba birey Hb.5 ile aynı konukçu arama davranışını gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Entomopatojen nematod, *Heterorhabditis bacteriophora*, Olfaktometre, Nematod davranışları, Konukçu Arama

2016, xi + 60 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATIONS ON COMPARISON OF HOST – SEEKING BEHAVIOR OF HYBRID ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE *HETERORHABDİTİS* *BACTERİOPHORA* STRAINS WITH THEIR PARENTS

İrem YETİŞKİN

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

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopathogenic nematodes (EPN) are soil-dwelling biocontrol agents which have lethal pathogenic effects on insects, and they are used for controlling pest populations. Broad host spectrum, host seeking ability, EPN-bacteria symbiotic relation and in vitro mass production capability of EPN lead them to be used efficiently in biological control.

With some former studies, different *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida : Heterorhabditidae) strains isolated from different regions of Turkey were hybridized under laboratory conditions and ten hybrid strains were obtained. In the present study, host seeking behavior of three different superior hybrid strains and their parents were examined. Hb.17 (Kırklareli), Hb.5 (İzmir), Hb.1138 (Antalya) and Hb.4 (Şanlıurfa) were used as parent isolates and Hb.C, Hb.E and Hb.H were used as hybrid strains. All experiments were performed in Y-Olfactometer and host seeking behavior of the parent isolates and the hybrid strains were compared and *Galleria mellonella* (Lepidoptera : Pyralidae) larvae were used as a host insect.

Results and statistical analyses of the present study showed that Hb.C strain showed the best host seeking ability among other 7 strains and have better host seeking potential than its parents, Hb.17 and Hb.1138. However, Hb.H showed no difference between its parents, Hb.1138 and Hb.4. Furthermore, Hb.E showed worse performance than his female parent Hb.1138 and same performance with male parent Hb.5.

Keywords: Entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora*, Olfactometer, Nematode behavior, Host – Seeking

2016, xi + 60 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 sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Mesleki gelişimimde engin bilgilerinden faydalandığım Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nin tüm hocalarına, bilimsel hazırlık dönemimde, Nematoloji Laboratuvarındaki çalışmalarım sırasında ve tezimin yazım aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Tufan Can ULU'ya, Nematoloji Laboratuvarında birlikte çalıştığım manevi desteğini her daim hissettiğim Y. Lisans Öğrencisi Büşra SADIÇ'a, hayatım boyunca attığım her adımda yanımda olan eğitimim için maddi ve manevi her imkanı sağlayan yol göstericilerim sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İrem YETİŞKİN

23/09/16

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	9
2.1. Entomopatojen Nematodların Konukçu Arama Davranışlarıyla İlgili Kaynak Araştırması	9
2.2. Y-Olfaktometre Düzeneği Kullanılarak EPN Davranışlarının Tespit Edilmesi ile İlgili Kaynak Araştırması	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. <i>Galleria mellonella</i> Larvalarının Laboratuvar Koşullarında Yetiştirilmesi.....	17
3.1.2. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irkları	19
3.1.2.1. Ebeveyn İzolatlar	19
3.1.2.2. Hibrit Irklar	20
3.1.2.3. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarının In vivo Üretimi.....	21
3.1.3. Silis Kumu.....	24
3.1.4. Y-Olfaktometre Düzeneği.....	25
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Y-Olfaktometrenin Hazırlanışı.....	26
3.2.2. EPN'lerin Ekstraksiyonu.....	30
3.2.3. EPN Sayımı.....	33
3.2.4. Veri Analizleri.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. İJ'lerin Y-Olfaktometre Kolları Arasında Dağılımı.....	36
4.1.1. Ebeveyn İzolatların Y-Olfaktometre Kolları Arasında Dağılımı.....	36
4.1.2. Hibrit Irkların Y-Olfaktometre Kolları Arasında Dağılımı.....	38
4.2. Tüm İzolat ve Irkların Larva Yönünde Değerlendirilmesi	40

4.3. Hibrit Irkların Larvaya Yönelim Konusunda Ebeveyn İzolatlarıyla Karşılaştırılması	43
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	46
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	60



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μm
cm
mm
 $^{\circ}\text{C}$
 CO_2
g
 cm^3
%

Açıklamalar

Mikrometre (1×10^{-6} m)
Santimetre
Milimetre
Santigrat Derece
Karbondioksit
Gram
Santimetreküp
Yüzde

Kisaltmalar

EPN
IJ
J3
J4
PVC
L
K1
K2
LSD
df
PEG
MT₅₀
MT₁₀
LC₅₀
LC₉₀

Açıklamalar

Entomopatojen Nematod
İnfektif Jüvenil
Üçüncü dönem larva
Dördüncü dönem larva
Polivinil klorür
Larva Kolu
Kontrol 1 kolu
Kontrol 2 kolu
Least Significant Differences
Degree of freedom
Polyethylene Glycol
Popülasyonun % 50'sinin hayatta kalabildiği ortalama sıcaklık
Popülasyonun % 10'unun hayatta kalabildiği ortalama sıcaklık
Popülasyonun % 50'sini öldürmesi beklenen konsantrasyon
Popülasyonun % 90'ını öldürmesi beklenen konsantrasyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Galleria mellonella</i> larvalarının genel görünümü.	17
Şekil 3.2. <i>Galleria mellonella</i> larvalarının beslenme görüntüsü	18
Şekil 3.3. <i>Galleria mellonella</i> larvalarının kavanoz ve ısıtmalı etüv içerisinde görünümü	19
Şekil 3.4. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> izolatlarının izole edildiği iller	20
Şekil 3.5. İnokülasyon işlemi.....	22
Şekil 3.6. Larvaların enfeksiyon sonrası görünümü	23
Şekil 3.7. White trap düzeneği	23
Şekil 3.8. Yeni nesil IJ'lerin muhafaza edildiği kültür kapları	24
Şekil 3.9. Silis kumu	24
Şekil 3.10. Y-Olfaktometre düzeneği	26
Şekil 3.11. L koluna eklenen metal tel.....	27
Şekil 3.12. Silis kumunun % 10 nemlendirilmesi.....	27
Şekil 3.13. Y-Olfaktometre düzeneğinin hazırlanışı.....	28
Şekil 3.14. Y-Olfaktometrenin kapalı görünümü	29
Şekil 3.15. Larvaların L kolundan çıkarılması	29
Şekil 3.16. Kadavraların disekte edilişi	30
Şekil 3.17. Y-Olfaktometrenin her bir kolundan çıkarılan kumun beherlere alınmış görüntüsü.....	31
Şekil 3.18. Cobb's sieving and decanting yönetimiyle IJ'lerin ekstraksiyonu	32
Şekil 3.19. Ekstrakte edilen IJ'lerin sayım kabındaki görüntüsü	33
Şekil 3.20. IJ'lerin ve silis kumu partiküllerinin mikroskop görüntüsü	34
Şekil 3.21. Disekte edilen larva içeriğinin sayımı	34
Şekil 4.1. Hb.4 ebeveyn izolatının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:10.7164$; $df:2,12$; $P=0,0021$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)	37
Şekil 4.2. Hb.1138 ebeveyn izolatının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:17.7603$; $df:2,12$; $P=0,0003$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)	37
Şekil 4.3. Hb.17 ebeveyn izolatının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:6.9370$; $df:2,12$; $P=0,0100$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)	37
Şekil 4.4. Hb.5 ebeveyn izolatının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:25.6562$; $df:2,12$; $P<0.0001$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)	37
Şekil 4.5. Hb.H ırkının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı.....	39
($F:19.2740$; $df:2,12$; $P=0.0002$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)	39
Şekil 4.6. Hb.C ırkının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı	39

(<i>F</i> :1.8895; <i>df</i> :2,12; <i>P</i> =0,1935) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)	39
Şekil 4.7. Hb.E ırkının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı	39
(<i>F</i> :34.6262; <i>df</i> :2,12; <i>P</i> <0,0001) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)	39
Şekil 4.8. Tüm izolat ve ırkların larva koluna yönelimi	40
(<i>F</i> :8.9783; <i>df</i> :6,28; <i>P</i> <0,0001)	40
Şekil 4.9. Tüm izolat ve ırkların larva içerisine giriş oranları	41
(<i>F</i> :13.6062; <i>df</i> :6,28; <i>P</i> <0,0001)	41
Şekil 4.10. Larva içerisi ve L kolu toplamı IJ sayısı oranı	42
(<i>F</i> :20.7033; <i>df</i> :6,28; <i>P</i> <0,0001)	42
Şekil 4.11. Hb.H ırkı ve ebeveyn izolatlarının larvaya yönelimi.....	43
(<i>F</i> :1.3678; <i>df</i> :2,12; <i>P</i> =0,2917).....	43
Şekil 4.12. Hb.C ırkı ve ebeveyn izolatlarının larvaya yönelimi.....	44
(<i>F</i> :8.7962; <i>df</i> :2,12; <i>P</i> =0,0044).....	44
Şekil 4.13. Hb.E ırkı ve ebeveyn izolatlarının larvaya yönelimi	45
(<i>F</i> :58.5268; <i>df</i> :2,12; <i>P</i> <0,0001).....	45

Not: Şekillerde kullanılan fotoğrafların tamamı Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Nematoloji Laboratuvarında 2016 yılında çekilmiştir.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Ebeveyn izolatlar ve elde edilen hibrit ırklar.....	20
---	----



1. GİRİŞ

Tarımsal ürünlerde zarar yapan böcekler her yıl dünya çapında önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Wyniger 1962, Oerke 2006). Bu zararlıları kontrol altında tutabilmek için yoğun olarak kimyasal pestisitler kullanılmaktadır. Tarımda kullanılan kimyasal ilaçlar birçok tarımsal zararlıları kontrol etmede önemli rol oynamasına rağmen, kimyasalların sürekli kullanımları sonucunda hedef zararlı tarafından geliştirilen pestisit direnci, ikincil zararlı epidemisinin oluşması, ürünlerde pestisit kalıntısı, doğal kaynakların (toprak, su, hava) kirlenmesinin yanı sıra insan ve hayvan sağlığı için tehlike ortaya çıkmaktadır. Dünyanın birçok ülkesindeki sıkı güvenlik kontrollerinin bir sonucu olarak, pestisitlerin ulaşılabilirliği giderek kısıtlanmakta ve birçok ürün dünya piyasasında yasaklanmaktadır (Moazami 2002).

Bu olumsuz sonuçlar ve kimyasalların mevcut durumu, tarımda hedef zararlıların mücadelesinde doğal alternatiflere olan ilginin artmasına katkıda bulunmuş ve bu alternatifler sayesinde doğa ile dost zararlı mücadelesi yapılabilmesini sağlamıştır. Bu alternatifler arasında en önemlilerinden birisi biyolojik mücadeledir. Biyolojik mücadele genel olarak tarımda zararlıların mücadelesinde canlı organizmaların insan eli ile bilinçli kullanımı sayesinde zararlı popülasyon yoğunluğunu daha düşük seviyede tutmak olarak tanımlanabilir (DeBach 1964). Biyolojik mücadele kapsamında kullanılan bu organizmalara ise biyolojik mücadele ajanı adı verilmektedir. Biyolojik mücadele ajanları arasında yaygın olarak kullanılan organizmalardan birisi de Entomopatojen nematodlar (EPN)'dir.

Genel olarak incelendiğinde nematodlar segmentsiz, renksiz, uzantısız, genellikle mikroskopik, iplik solucanlarıdır. Birey sayısı olarak dünya genelinde en çok bireye sahip canlı grubu nematodlardır (Hazır 2013). Tarımsal anlamda ise nematodlar yararlı ve zararlı olarak ikiye ayrılırlar. Zararlı nematodlar bitki paraziti nematodlar olarak da bilinir ve bitkilerin özellikle toprak altı kısımlarında önemli zarara sebep olurlar. Yararlı nematodlar ise toprak kaynaklı zararlı böceklere olan ölümcül etkileri ile bilinirler. Kelime anlamı olarak böcek anlamına gelen 'entomo' ve hastalığa neden olan anlamındaki 'pathogenic' kelimelerinin birleşimiyle meydana gelen entomopatojen

nematod terimi böceklerde hastalık yapıcı anlamına gelmekte ve EPN'ler birçok böcekte ölümcül etkiye neden olmaktadır (Gordh ve Headrick 2001).

Şu ana kadar tespit edilen 30'dan fazla nematod familyasının parazitik özellikte veya böceklerle ilişkili olduğu bilinir (Nickle 1972, Poinar 1975, 1983, 1990, Maggenti 1981, Kaya ve Stock 1997). Ancak biyolojik mücadele potansiyelleri sebebiyle araştırmalar yedi familya (Mermithidae, Allantonematidae, Neotylenchidae, Sphaerularidae, Rhabditidae, Steinernematidae and Heterorhabditidae) üzerine yoğunlaşmıştır. Bunlar içerisinde toprak altı zararlılarını kontrol eden etmen olarak en çok Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyaları dikkat çekmektedir (Lacey ve ark. 2001). En son yapılan taksonomik araştırmalara göre Steinernematidae içinden iki cins tespit edilmiştir. Bunlar; yalnızca tek tür içeren *Neosteinerinema* ve 70'ten fazla tanımlanmış türü içeren *Steinerinema* cinsleridir. Heterorhabditidae familyası ise şu anda tanınan 20'den fazla türüyle yalnızca *Heterorhabditis* cinsini içerir (Stock ve Goodrich-Blair 2012).

Heterorhabditis ve *Steinerinema* cinsine bağlı nematodlar Antarktika hariç tüm kıtalarda bulunurlar (Popiel ve Hominick 1992). *Heterorhabditis* popülasyonları genellikle ılıman bölgelerle bağlantılıdır (Nguyen ve Hunt 2007). Ancak, Griffin ve ark. (1991) ve Hominick ve ark. (1995) tarafından yapılan araştırmalara göre yarı kurak iklim bölgelerinde de bulunduğu kaydedilmiştir. *Steinerinema 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 *Heterorhabditis indica* ve *H. bacteriophora* Antarktika hariç tüm kıtalarda bulunmuştur (Griffin ve ark. 1990, Hominick 2002). Bu taksonun geniş bir coğrafyaya dağılmış olması, aktif ve pasif yayılma mekanizmalarının kombinasyonunun bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda toprak ve vejetasyon tipi kadar uygun konukçu dağılımı gibi faktörlerin de EPN türlerinin dağılımını etkileyen en önemli faktörler olduğu gösterilmiştir (Stock 2015).

Entomopatojen nematodlar (EPN) ile ilgili, yeni türler ve popülasyonların yerel koşullara ve zararlı böceklere adaptasyonunu keşfetmek amacıyla dünya çapında

yapılan çalışmalar, EPN'lerin düzensiz dağılımına rağmen dünya genelinde ekili ve ekilmemiş topraklar da dahil olmak üzere her bölgede bulunduğunu göstermiştir (Hominick ve ark. 1996, Hominick 2002, Campos-Herrera ve ark. 2012). Böcek paraziti nematodlar 49 ülkeden bulunmuş olup bu ülkeler; Avrupa'dan 19, Asya'dan 9, Kuzey Amerika'dan 3, Orta Amerika ve Karayipler'den 7, Güney Amerika'dan 8 ve Afrika'dan 3'tür (Stock 2005).

EPN'lerin yaşam döngüsü yumurta evresi, dört juvenil evre ve ergin evrelerini içerir. Ortam şartları uygun olmadığı durumlarda 3. Juvenil (J3) evresi özel bir forma dönüşür ve bu form infektif juvenil (IJ) olarak adlandırılır. Normal beslenme evrelerinin aksine IJ'ler aylarca beslenmeden toprakta yaşayabilir. Gelişimsel olarak durmuş olan bu evre, nematodların toprakta aktif olarak konukçu arama ve uygun konukçu böceği enfekte etme konusunda önemli rol oynar. IJ'ler toprakta hayatta kalabilme, konukçu böceği bulup saldırıya geçme ve enfekte edebilme yeteneklerine sahiptir (Poinar 1990).

IJ'ler konukçu ile temas ettiği anda böceğin doğal açıklıklarından (ağız, anüs, solunum açıklıkları) veya bazı *Heterorhabditis* türleri vücut duvarından içeri giriş yapar. Bu cinsin IJ'leri penetrasyonu kolaylaştıran dorsal diş denen bir yapıya sahiptir ve konukçunun kutikulasındaki segmentler arası zarı delerek içeriye giriş yapar ve hemosöle ulaşırlar (Bedding ve Molyneux 1982, Popiel ve Hominick 1992, Peters ve Ehlers 1994).

Konukçu böceğe penetrasyondan sonra IJ, simbiyotik bakterilerini böceğin hemosölüne bırakır. Bakteri gelişimi için besin değeri açısından zengin olan böcek hemolimfi, bakterinin hızla çoğalmasına yardımcı olur ve bakteriler tarafından üretilen toksinler, antimikrobiyal etmenler ve ekzo – enzimler, septisemiye (kan zehirlenmesi) sebep olurlar ve kısa bir süre sonra konukçu böceğin ölümü gerçekleşir (IJ'nin penetrasyonundan sonra yaklaşık 36 - 48 saat içerisinde). Ayrıca bu maddeler kadavranın çürümeden korunmasını da sağlar (Ehlers 2007). Bu noktada IJ'ler besin sinyalini alır ve beslenebilen fonksiyonel J3'e dönüşüp çoğalan bakteri hücreleri ve metabolize edilmiş konukçu böcek dokusu ile beslenirler. Beslenme devam ederken nematod gelişir, 4. evre juvenil (J4) ve sonunda ergin evreye geçiş yapar. Olgun dişiler

veya hermafroditler içerisindeki yumurtalar, uterus içindeyken açılır ve juvenil ebeveyn dokusunu tüketir. Bu olay *endotokia matricida* olarak bilinir ve anne ölümüne neden olan rahim içi doğum demektir (Askary 2010).

Bugüne kadar teşhis edilen tüm *Heterorhabditis* türlerinin ilk ergin nesli hermafroditir (kendi kendini dölleyebilen dişi), bunu takip eden ikinci nesil ise ayrı eşeylidir (amphimictic) yani ergin erkek ve dişi bireyler olup çiftleşirler. *Steinernema* türlerinin çoğu ergin evrelerinde ayrı eşeylidir ve üreyebilmeleri için çiftleşme gereklidir (Stock 2015).

Steinernema ve *Heterorhabditis*'in her ikisinin de konukçu böcek içerisindeki bir hayat döngüsünü tamamlaması 3 – 7 gün kadar sürer. Konukçu içerisindeki kullanılabilir besin miktarına bağlı olmakla birlikte EPN türleri, konukçu böceğin büyüklüğüne ve hacmine bağlı olarak 1 – 3 nesli konukçu içerisinde tamamlayabilirler. IJ'lerin konukçu böcekten tekrar çıkışı *Steinernema* türlerinde yaklaşık 6 – 11 gün alırken *Heterorhabditis* türleri için bu süre 12 – 14 gün kadardır (Kaya ve Koppenhöfer 1999).

Juveniller yeterli besin olduğu durumlarda gelişip olgunlaşıp ergin olurken, besin kaynağının ve ortam şartlarının sınırlanmaya başladığı koşullarda gelişim IJ evresinde sonlanır (Askary 2010). Bu evre hem anatomik ve fizyolojik değişiklikleri hem de beslenmenin durdurulmasını içerir, ayrıca ağız ve anüs kapanır. Buna ek olarak IJ'ler çift katlı kütikula tabakasının varlığıyla da karakterize edilir (Poinar 1990, Sommer ve Ogawa 2011). Besinin tamamı tükendiğinde IJ'ler yeni konukçu bulmak üzere böcek kadavrasından çıkış yapar (Gaugler 2002).

Serbest yaşayan, beslenmeyen IJ evresi, EPN'lerin yaşam döngüsünde konukçu arayan agresif evredir ve böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadır (Moazami 2002). Bir IJ'nin vücut uzunluğu 418µm ve 1283µm arasında değişir (Nguyen ve Hunt 2007). IJ veya dauer juvenil, 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).

Buna ek olarak, EPN ile bazı bakteriler arasında simbiyotik ilişki olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Kaya 1990, Kaya ve Gaugler 1993, Tanada ve Kaya 1993, Sicard ve ark. 2005, Somavanshi ve ark. 2006, Wang ve ark. 2007). Steinernematidler *Xenorhabdus* türü, Heterorhabditidler ise *Photorhabdus* türü bakteriler ile ilişki içerisindedir (Stock 2015). Bu bakteriler Enterobacteriaceae familyasına ait olup gram negatiftir, anaerob solunum yaparlar ve sporsuzdurlar (Askary 2010).

Steinernema türlerinin IJ'leri, *Xenorhabdus* türü bakterilerini receptacle adı verilen özel bir yapı içerisinde barınmaktadır (Flores-Lara ve ark. 2007, Snyder ve ark. 2007). Receptacle iki en ön bağırsak hücresinin modifikasyonu sonucu oluşan bir yapıdır (Kim ve ark. 2012, Snyder ve ark. 2007). *Steinernema*'nın aksine *Heterorhabditis* IJ'leri, *Photorhabdus* bakterilerini taşımak için bağırsaklarında özelleşmiş bir yapıya sahip değildir, bakteriler bağırsağın önden üçte ikilik kısmında taşınır (Forst ve Clarke 2002).

Nematod – bakteri arasında mevcut olan simbiyotik ilişkisinin yaşam döngüsü iki evre içerir: İlk evre EPN'lerin toprakta serbest oldukları evredir. Hem *Xenorhabdus* hem de *Photorhabdus* bakterilerinin toprakta tek başlarına yaşamaları mümkün değildir, bu nedenle IJ'ler bakterileri olumsuz çevre koşulları ve darbelerden koruyarak konukçu bir böcekten diğerine taşıyarak fayda sağlamış olurlar (Forst ve ark. 1997, Froy 2005). Bu aşamada IJ'ler bakteriyi bağırsaklarında taşırlar ve yeni konukçu böcek arayışında olurlar. İkinci evre ise parazitik evredir. IJ böceği enfekte eder, simbiyont bakterilerini böcek içerisine bırakır (Emelianoff ve ark. 2007). Böylelikle nematodlar da bakterilerin böcek kadavrasını kendilerinin büyüme ve gelişmeleri için uygun ortama dönüştürme yeteneklerinden faydalanırlar (Kaya ve Gaugler 1993, Poinar 1990). İki taraf da bu ilişkiden fayda sağlamış olur. Bakteriler farklı iki şekilde daha yararlıdır; konukçunun hızla ölmesinde büyük ölçüde etkili olmasının yanı sıra, nematoda zarar vermesi muhtemel diğer rakip organizmaları antimikrobiyal, bakteriyosin ve antibiyotik üretimi sayesinde bastırır ve kadavranın kontaminasyonunu engelleyerek nematod partnerleri için koruyucu görevlerini de yerine getirmiş olurlar (Akhurst 1982, Chen ve ark. 1994). Diğer taraftan nematod bazı durumlarda böceğin bağışıklık sistemi tepkisini engeller (Askary 2010).

Xenorhabdus'un 20'den fazla türü tanımlanmış olup, *Photorhabdus*'un bir düzineden fazla alt türü ile birlikte yalnızca 3 türü bulunmaktadır (Boemare 2002, Boemare ve Akhurst 2006, Tailliez ve ark. 2006, Tailliez ve ark. 2010, 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, Akhurst ve Boemare 2003). Bununla birlikte bazı nematod türleri aynı tür bakteriyi paylaşır. Örneğin *Xenorhabdus bovienii*, *Steinernema*'nın dört türüyle birden ilişkilidir. *X. poinarii* iki tür ile ilişkilidir. Daha nadiren, bazı bakteri türleri aynı nematod türünü paylaşır. Örneğin; *Photorhabdus luminescens* ve *P. temperata* ikisi de *H. bacteriophora* ile ilişkilidir. Nematod – bakteri ilişkisi spesifikliğin, kısmen ortak türleşmenin bir sonucu olabileceği düşünülmektedir (Grewal ve ark. 2005).

Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait EPN'lerin en etkili biyolojik mücadele organizması oldukları kanıtlanmıştır (Kaya ve Gaugler 1993). EPN'ler toprakta yaşayan canlılardır ve toprak kaynaklı zararlı böceklerin mücadelesinde etkin bir şekilde kullanılabilirler. EPN'lerin etki ettiği böcekler çok geniş konukçu aralığına sahiptir ve dünya genelinde bitki zararlısı böceklerin mücadelesinde yararlanılmaktadır. Nematodların konukçu aralığı türlere göre değişir ve farklı takımlara ait 200'den fazla böcek türünü farklı oranlarda enfekte edebildikleri gözlemlenmiştir (Woodring ve Kaya 1988). Bu böcekler arasında çeşitli Lepidoptera larvaları, manaslar, mantar sinekleri, trips ve Coleoptera takımına bağlı böcekler yer almaktadır. Örneğin sadece *S. carpocapsae*'nin 11 takımdan 75 familyaya ait 250 böcek türüne karşı patojenik etkisi olduğu bulunmuştur (Poinar 1975). EPN'ler ekim alanlarına kapsamlı bir şekilde yayılmıştır ve hedef olmayan böceğe hemen hemen hiç etkilerinin olmadığı ve çevre için son derece güvenli oldukları kabul edilmiştir (Miles ve ark. 2012).

Nematodun konukçu aralığı büyük ölçüde cruiser (arayıcı) ve ambusher (tuzak kurucu) arasında değişen konukçu arama stratejisine bağlıdır (Campbell ve Gaugler 1997). Ambusher türler, besin kaynağından gelen uyarıcılara daha az tepki vermekte, cruiser türler ise bu tepkileri daha güçlü algılamaktadırlar (Riga 2004). Cruiser'lar aktif arama stratejisine sahiplerdir, toprak içinde hareket ederler ve hareketi sınırlı olan böceklerle

karşı daha etkililerdir (Lewis ve ark. 1993, Campbell ve Gaugler 1997). *Heterorhabditis* türlerinin tümünde ve *S. glaseri* türünde cruiser besin arama davranışı görülür (Lewis 2002). Ambusher'lar ise besin arayışı sırasında neredeyse tüm vücutlarını yükselterek toprak yüzeyine dikey şekilde beklerler. Ayrıca ambusher EPN türleri konukçusunu gördüğünde onunla temasa geçebilmek için ona doğru atlar veya bu türlere has nictate adı verilen hareketi yaparlar (Riga 2004). *S. carpocapsae* ve *S. scapterisci* ambusher özelliğini en yüksek seviyede gösteren iki türdür ve saatlerce bu şekilde konukçularını bekleyebilirler (Campbell ve Gaugler 1993). Heterorhabditid'ler Steinernematid'lere göre daha iyi konukçu arama yeteneğine sahiptir (Choo ve ark. 1989). Konukçunun hareketliliği ve çekiciliği de nematodların konukçu arama yeteneğine etki eden faktörlerdendir. Üçüncü tip besin arama stratejisi ise intermediate (ara) olup bu özelliği gösteren nematod kısa bir süre için toprak yüzeyinde kendini yükseltir. *S. riobrave* ve *S. feltiae* bu tip konukçu arama stratejisine sahip türlere örnektir (Griffin ve ark. 2005). *Heterorhabditis bacteriophora* cruiser tipi nematodtur. Özellikle lepidopter larvaları ve bağ maymuncuğu olarak bilinen *Otiorynchus sulcatus*'un da dahil olduğu çeşitli böcek larvalarına saldırma özelliğindedir.

Nematodlar besin varlığını algılayana kadar rastgele yönelim hareketleri sergilerler. Bu rastgele hareketler genelde kısa fakat geniş dalga boyu, bulunduğu yerden uzağa gidebilme, yüksek sürtünme indeksi ve baş kısmının çok fazla oynamaması şeklinde tanımlanabilir. Besin sinyalini aldıktan sonra nematodun yaptığı davranışa besin arama denir. Besin algılama yeteneği ve besin algılanması sonucu değişen davranışlarla birlikte, rastgele hareket (non-directional) ile bilinçli (directional) hareketler arasındaki sınır çizilir. Birçok nematod türü besin uyarıcısına benzer tepkiler verir. 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).

Besinin araştırılması ve keşfedilmesi yüzey yapısına, besin miktarı, kalitesi 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 davranışları karakterize eder (Riga 2004). Sonuç olarak

nematodların besin arama stratejisini anlamak canlının biyolojisinin diğer yönleri hakkında fikir verebilir (Campbell ve ark. 2003).

Y–Olfaktometre, EPN’lerin konukçuya veya algılayabildiği herhangi başka çekicilere yöneliminin belirlenmesinde başarılı bir şekilde, yaygın olarak kullanılan bir düzenek olup bu tez çalışmasında da kullanılmıştır. Ayrıca bu tez çalışmasında Türkiye’nin farklı illerinden izole edilmiş olan 4 farklı *Heterorhabditis bacteriophora* izolatu (Hb.17, Hb.5, Hb.1138 ve Hb.4) kullanılmıştır. Daha önceki çalışmalarda bu 4 izolatin hibridizasyonu sonucu elde edilen 3 farklı hibrit ırkın (Hb.C, Hb.E ve Hb.H) konukçu arama davranışlarının ebeveynleri ve birbirleriyle karşılaştırılması amaçlanmış olup, Y-Olfaktometre düzeneğinin yönelimi tespit etmeye yardımcı özelliğinden faydalanılarak her izolat ve hibrit ırk için 5’er tekerrürlü deneme kurulmuştur. Çalışmanın sonucunda *Heterorhabditis bacteriophora* türünün konukçu arama davranışının kalıtsal olarak dişi veya erkek bireylerin hangisinden hibrit ırka aktarıldığının tespit edilmesi ve konukçuya yönelimi en iyi olan ırkının tespit edilerek geniş bir konukçu aralığına sahip olan *H. bacteriophora*’nın uygulama alanlarında daha etkin kullanımına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Entomopatojen Nematodların Konukçu Arama Davranışlarıyla İlgili Kaynak Araştırması

Grewal ve ark. (1993) yaptıkları araştırmada, çalışmada kullanılan deneysel ve doğal konukçuların artıklarıyla ilişki içerisinde bulunan dört entomopatojen nematod türünün davranışsal tepkileri analiz etmiştir. Nematodlar tarafından konukçu tanınması sürünme, kafa dalgalanması, vücut dalgalanması, duraklama, kuyruk sürünmesi, baş sürtme 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. Hamamböceği atıklarında bulunan amonyak nematodlar üzerinde inhibitör etkisi yaratmıştır. EPN'ler tarafından özel konukçu tanıma önemli bir mekanizma olup konukçuların çekiciliği ile ilgili olduğuna vurgu yapılmıştır.

Lewis ve ark. (1995) beslenmeyen infektif juvenillerin özellikle bir konukçuyu aramaları sırasındaki metabolik oranları, enerji rezervleri ve arama stratejileri arasındaki ilişkinin ne olduğunu ve arama stratejisi başarısız olduğunda, infektif dönemdeki nematodun konukçu arama davranışını değiştirip değiştirmeyeceği sorularının ortaya çıktığı tespit edilmiş, 3 entomopatojen nematod türü suda depolanmış ve depolama süresi boyunca metabolizmadaki oranlar, enerji rezervleri ve enfeksiyon yeteneği ölçülmüştür. *S. glaseri* ve *H. bacteriophora* cruiser iken, *S. carpocapsae* konukçusuna tuzak kurmuştur, yani ambusher tepki göstermiştir. *S. carpocapsae*'nin en az aktif ve en düşük metabolik oranlara sahip olduğu, *H. bacteriophora*'nın daha aktif ve en yüksek metabolik oranlara sahip olduğu bulunmuştur. *S. glaseri*'nin en aktif ve metabolik oranlarının diğer iki nematodun arasında olduğu bulunmuştur. Hiçbir cruising tür arama

stratejisini değiştirmemiştir. *S. carpocapsae*'nin nictation davranışı azalmış ve hareket oranı ise artmıştır.

Susurluk ve ark. (2003) Böcek paraziti olan bir türe ait iki farklı entomopatojen nematod izolatının (*H. bacteriophora* Tur-H2, *H. bacteriophora* Tur- H1) dikey yöndeki hareketleri laboratuvar koşullarında test etmiş ve *H. bacteriophora* Tur-H2 ile *H. bacteriophora* Tur-H1'in *Galleria mellonella* larvasına doğru olan hareketleri arasında önemli bir fark olduğunu bulmuşlardır. En fazla nematod enfeksiyonu, her iki izolat için de 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 edilmistir. İki nematod izolatı aynı türe ait olduğu halde, ilginç bir sonuç olarak aynı konukçuya karşı farklı etkinlikte arama davranışı gösterdikleri tespit edilmiştir.

Csantos (2002) yaptığı çalışmada *Steinernema glaseri* ve *Heterorhabditis bacteriophora*'nın yatay hareketlerinin belirlenmesi için kumda 15, 20, 25 ve 30 °C'de *Galleria mellonella* larvalarına karşı laboratuvar çalışmaları yrtmştir. Yatay hareket 17 ayrı bölümden oluşmuş 42,5 × 5 cm PVC tüpler kullanılarak uç noktalarına *G. mellonella* larvasıyla orta noktasından nematod yeleştirerek değerlendirmiştir. Nematodun farklı sıcaklıklarda larvaya doğru yakınlama veya uzaklama oranını 8 saatlik aralıklarla lmştir. Her iki türün de cruiser konukçu arama stratejisine sahip olmasına rağmen yalnızca *S. glaseri* konukudan gelen uyarılara yanıt vermiştir. Her iki türünde IJ'lerinin hareketleri, sıcaklık yükseldikçe önemli ölçüde artış göstermiştir. Her iki türün de ekstraksiyon verimi tüm sıcaklık derecelerinde zamanla düşüş göstermiştir.

Bal ve Grewal (2015) ambusher ve cruiser olarak sınıflandırılan entomopatojen 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 haraketsiz,

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 grubu 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 mesafe *S. carpocapsae*'de olduğu görülmüş ve istatistiksel olarak bu fark önemli bulunmuştur. Ayrıca *S. carpocapsae*'nin ortalamaya 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, hareketsiz olması etkilediği tespit edilmiştir.

Lortkipanidze ve ark. (2016) EPN'lerin besin arama davranışlarının türlere göre değişiklik göstermesi ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada *S. carpocapsae*, *H. bacteriophora* ve teşhisi son zamanlarda yapılmış olan *Steinernema tbilisiensis*'in *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae)'a karşı etkinliği test edilerek karşılaştırılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda *S. tbilisiensis* hem ambusher hem de cruiser olmak üzere iki arama stratejisine de adapte olduğu bildirilmiştir.

2.2. Y-Olfaktometre Düzeneği Kullanılarak EPN Davranışlarının Tespit Edilmesi ile İlgili Kaynak Araştırması

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

Boff ve ark. (2002) tarafından *Heterorhabditis megidis*'in çilek ve mazı bitkilerinin kökleri ile bağ maymuncuğu *O. sulcatus*'a karşı gösterdiği tepki üzerine bir araştırma yapılmış ve denemeler, içerisinde nemli kum bulunan Y-Olfaktometre içerisinde gerçekleştirilmiştir. Infektif juveniller taze çilek ve mazı kökleri ile aktive edilmiştir. Bazı nematodlar köklerin yakınlığında toplanmalarına rağmen çoğunluğu köklerden uzaklaşmışlardır. 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 mazı kökleri - larva kombinasyonlarına yönelim de çalışmada incelenmiştir.

Struck ve ark. (2004) konukçu bitki olarak mısır fideleri, böcek olarak toprak altında yaşayan *Cyrtomenus bergi* ve biyolojik mücadele ajanı olan entomopatojen nematod *H. megidis*'in arasındaki etkileşim üzerine, özellikle nematodun konukçu bitkiyi bulma özelliği ile ilgili bir çalışma yapmış çalışmalarda içerisi kum ile doldurulmuş Y-Olfaktometre kullanılmıştır. Kollara mısır fidesi, böcek, her ikisinin kombinasyonu ve kontrol olarak sadece kum konmuştur. Farklı kombinasyonlarda toplam 6 adet deneme kurulmuştur. Nematodlar önemli ölçüde mısır ve mısır - böcek kombinasyonuna yönelmiştir.

San-Blas ve Gowen (2008) entomopatojen nematodların sadece parazitik bir organizma olarak nitelendirilemeyeceğini savunmuş ölü *G. mellonella* larvası ile nematodların hayatta kalma amacıyla yaptıkları leşçilik özelliklerini de ortaya koymuşlardır. EPN'lerin leşçilik özelliği, başka bir EPN tarafından öldürülen böceklerin içerisine girme, gelişme ve üreme davranışları olarak tanımlanmış, 6 *Steinernema* ve 2 *Heterorhabditis* türünün leşçilik özelliği karşılaştırılmıştır. Türler arasında farklılıkların ortaya çıktığı belirlenmiştir. Bu türler arasından en dikkat çekenleri, 240 saat önce ölen konukçu böceğe giriş yapan *S. glaseri* ve 72 saat önce ölen konukçuya giriş yapan *H. indica* olmuştur. Ayrıca EPN'lerin *G. mellonella*'ya çekildiği de belirlenmiştir.

Rasmann ve Turlings (2007) çalışmalarında bitkilerin, herbivorların ve parazitlerin yer aldığı toprak altı tritrofik ilişkiyi incelemişlerdir. Nematodların parçalanmış bitki köklerinden gelen uyarıcıları kullanarak konukçu böceğin yerini belirlediği düşüncesiyle yola çıkarak 6 kollu olfaktometre ile bitkilerin, böceklerin ve EPN'lerin aralarındaki ilişkiler üzerine çalışmalar yapmışlardır. Sonuçlar incelendiğinde toprak altındaki tritrofik ilişkilerin bitkilerden yayılan kokular, böceklerden çıkan kimyasallar ve nematod davranışları ile ilgili olduğu belirlenmiştir. Bu tarz çalışmalarda biyolojik mücadele alanında gelişme sağlanması amacıyla bitki savunma mekanizmalarının da incelenmesi gerektiği düşüncesi ortaya çıkmıştır.

Hiltpold ve ark. (2010) konukçu aramada kullanılan izlere gösterilen tepki konusunda yapılacak yapay seleksiyonlar ile doğal düşmanların böcekler üzerindeki etkinliği artırılabilir olduğunu savunmuşlardır. Mısır kök kurdu (*Diabrotica virgifera virgifera*)'nun mısır köklerinde yaptığı zarar sonucu bitkiden salgılanan bileşiğin, EPN'leri çektiği bilgisinden yola çıkılarak beta carphophylene adındaki bu bileşiğin, mısır kök kurdu üzerinde çok etkili olduğu ve *H. bacteriophora* üzerinde zayıf bir çekiciliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu eksikliğin önüne geçmek için 6 kollu olfaktometre kullanılarak bu bileşiğe yüksek tepki gösteren *H. bacteriophora* ırklarının tespit edilmesi sağlanmıştır. 6 nesil sonunda seçilen ırk, orijinal ırka göre bileşiğe önemli ölçüde tepki göstermiş ve neredeyse 2 kat daha hızlı hareket etmiştir. Ayrıca, köklerinden bileşik salgılayan mısır çeşitleri ile yapılan denemelerde de seleksiyon sonrası elde edilen ırkın, orijinal ırka göre daha etkin olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar incelendiğinde seleksiyon yoluyla biyolojik mücadelenin etkinliğinin artırılacağı görülmüştür.

Susurluk (2011) laboratuvar koşullarında kanola bitkileri üzerindeki lahana sineği, *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae)'a karşı *Steinernema feltiae*'nin mücadele potansiyeli, bu nematodun lahana sineği larvası ile bulaşık olan alanlardaki kalıcılığı, nematodun lahana sineği larvası ve/veya kanola köklerinin bulunduğu ortamda besin arama davranışlarını incelemiştir. *S. feltiae*, laboratuvar denemelerinde 12 hafta kalıcılık göstermiştir. 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.

Turlings ve ark. (2012) EPN'lerin kısa mesafelerde, konukçunun bulunduğu bölgelerden salgılanan çeşitli kimyasalların etkisiyle hareket ettiğinin kanıtlanması üzerine karbondioksitin en önemli işaretlerden biri olduğunu belirlemişlerdir. Uzun mesafe hareketlerde ise böceğin kökte yaptığı zarar sonucunda kökten salgılanan çeşitli uçucuların etkili olduğu belirlenmiştir. Birçok ortamda bulunan çeşitli gazlar ile (CO₂)

bitki köklerinden çıkan uçucu bileşiklerin kombinasyonunun, gazların tek tek uygulanmasından daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. Buna rağmen gelecekte CO₂ ve diğer bitki kaynaklı bileşiklerin kombinasyonunun sinerjik etkilerinin araştırılması gerektiği saptanmıştır.

Nermut ve ark. (2012)'nin çalışmalarında *Phasmarhabditis hermaphrodita*'nın *Deroceras reticulatum* tarafından ortaya çıkan çeşitli işaretlere verdiği tepki agar ve kum dolu olfaktometre içerisinde 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. Sümüklüböcek dışkısı, mukus salgısı ve *G. mellonella* dışkısı yüksek fakat doğrusal olmayan yönelime 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 tespit edilmiştir.

Çakmak ve ark. (2013) Y-Olfaktometre kullanarak *Steinernema pollyphyllae*'nin dişi bireylerinin çeşitli kokulara yönelimlerinde farklılık olup olmadığı üzerine çalışma yapmış, çalışmada uygulama olarak kokusuz, enfekte olmamış parçalanmış *Polyphylla fullo* larvası, *S. glaseri* tarafından enfekte edilmiş *P. fullo* larvası, parçalanmamış fakat 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 iþuçları sayesinde yönelim gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla Y-Olfaktometre sistemi kurulmuþ, 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.

Tonelli ve ark. (2016), böceklerin köklerde beslenmesi ile ortaya çıkan bileşiklerin nematodlar üzerinde çekici etkisinin olması ve *Heterorhabditis indica* ve *S. carpocapsae*'nin şeker kamışında zarar yapan tükürük böceklerine karşı etkin bir biyolojik mücadele ajanı olmasından yola çıkarak yaptıkları çalışmada, 6 kollu olfaktometre kullanmış, tükürük böceği nimflerinin zararı ile ortaya çıkan uçucu bileşiklerin nematodlar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda böcek nimflerinin yaptıkları zarar sonrası köklerin uçucu bileşik profilleri de incelenmiştir. Çalışma sonuçları incelendiğinde EPN'lerin zarar görmemiş sağlıklı köklerle boş kum arasında herhangi bir ayırım yapmadığı, ancak, zarar görmüş kök ile sağlıklı kök karşılaştırıldığında; her iki EPN türü de kokuları algılamış ve zarar görmüş bitki köklerine yöneldiği görülmüştür.

Filgueiras ve ark. (2016) bitki savunma mekanizmalarının; bitki, herbivor ve doğal düşmanın bulunduğu tritrofik ilişkilerde çok fazla etkiye sahip olduğunu, toprak üstündeki doğal düşmanlar üzerindeki etkisi kadar, toprak altında yarattığı etkinin de önemli olduğunu savunmuştur. Bu çalışmada, toprak üstü metil salisilat uygulaması ile uyarılan salisilik asit mekanizmasının toprak altında EPN'ler üzerindeki etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda, toprak üstünden yapılan bu uygulama ile köklerden *Steinernema diaprepesi*'yi çeken bir uçucu kimyasalın salgılandığı tespit edilmiştir. 4 kollu olfaktometrede, metil salisilat uygulanan turunç bitkilerinin kökleri EPN'leri kontrole göre daha fazla çekmiştir. Sonuçlar incelendiğinde bitki savunma mekanizmalarının tritrofik ilişkilerde önemli olduğunu ve toprak üstünde olduğu kadar toprak altında da uyarıcı sinyallere neden olduğu tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Laboratuvar Koşullarında Yetiştirilmesi

Büyük balmumu güvesi, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), larvaları arı yetiştiriciliğinde ana zararlı olup peteklerde ağır hasara neden olmasına rağmen EPN'lere son derece duyarlı olması, larvaların yapay diyetlerle kolayca 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 edilebilir (Zyl ve Malan 2014).



Şekil 3.1. *Galleria mellonella* larvalarının genel görünümü.

Denemede konukçu olarak son dönem *G. mellonella* larvaları kullanılmış olup, larvaların düzenli beslemesi yapılarak laboratuvarında sağlıklı olarak üretimi gerçekleştirilmiştir. Larvaların yetiştirilmesinde suni yem kullanılmıştır ve yem içeriği 200 g bal, 200 g gliserin, 50 g maya, 100 g süt tozu, 100 g soya unu, 150 g mısır unu ve 200 g kepekten oluşmaktadır (Wiesner, 1993).



Şekil 3.2. *Galleria mellonella* larvalarının beslenme görüntüsü

G. mellonella erginlerinin filtre kağıdı üzerine bırakılmış 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 ısıtmalı etüvde (Thermal) 30 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 3.3.). *G. mellonella*'ların yumurta bırakmaları için optimum sıcaklığın 30 °C olduğu bildirilmiş olup daha düşük sıcaklıklarda metabolizmanın gözle görülür şekilde yavaşladığı ve bırakılan yumurta sayısında düşme görüldüğü, daha yüksek sıcaklıklarda ise 3 gün içerisinde yumurtlama oranının yüksek olduğu ancak ömürlerinin kısaldığı ve ölümlerin arttığı tespit edilmiştir (Marston ve ark. 1973).

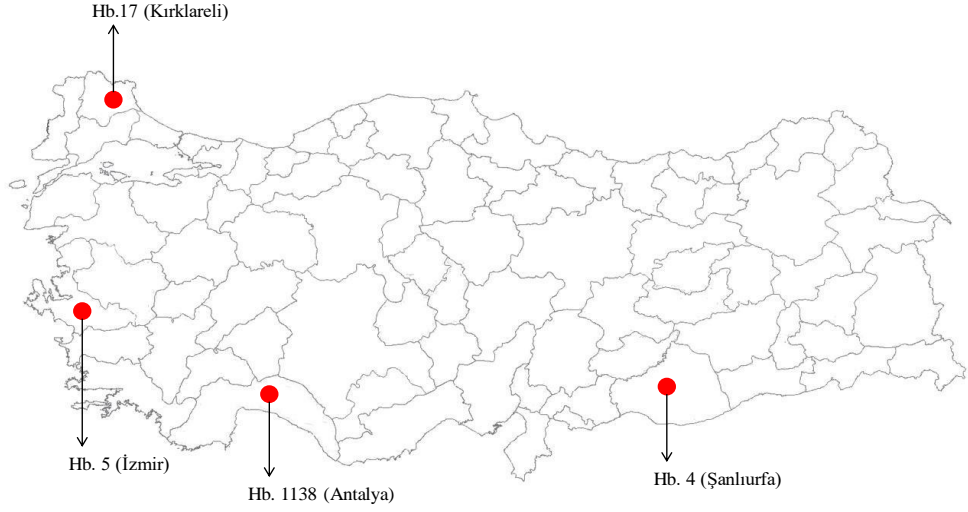


Şekil 3.3. *Galleria mellonella* larvalarının kavanoz ve ısıtmalı etüv içerisinde görünümü

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 ırkların ebeveynleri olarak kullanılan izolatlar ve izole edildikleri iller Şekil 3.4.'te de gösterildiği gibi; Kırklareli İlinden Hb.17, İzmir İlinden Hb.5, Antalya İlinden Hb.1138 ve Şanlıurfa İlinden Hb.4'tür.



Şekil 3.4. *Heterorhabditis bacteriophora* izolatlarının izole edildiği iller

3.1.2.2. Hibrit Irklar

Önceki yıllarda yapılan hibridizasyon işlemleri sonucunda elde edilen yeni hibrit ırklar aşağıdaki çizelgede belirtildiği üzere; Hb.4 ♀ (Şanlıurfa) ve Hb.1138 ♂ (Antalya)' in ebeveyn olarak kullanılmasıyla Hb.H, Hb.1138 ♀ ve Hb.17 ♂ (Kırklareli)'in ebeveyn olarak kullanılmasıyla Hb.C, Hb.1138 ♀ ve Hb.5 ♂ (İzmir)'in ebeveyn olarak kullanılmasıyla da Hb.E hibrit ırkları elde edilmiş ve bu tez çalışması kapsamında kullanılmışlardır (Çizelge 3.1.).

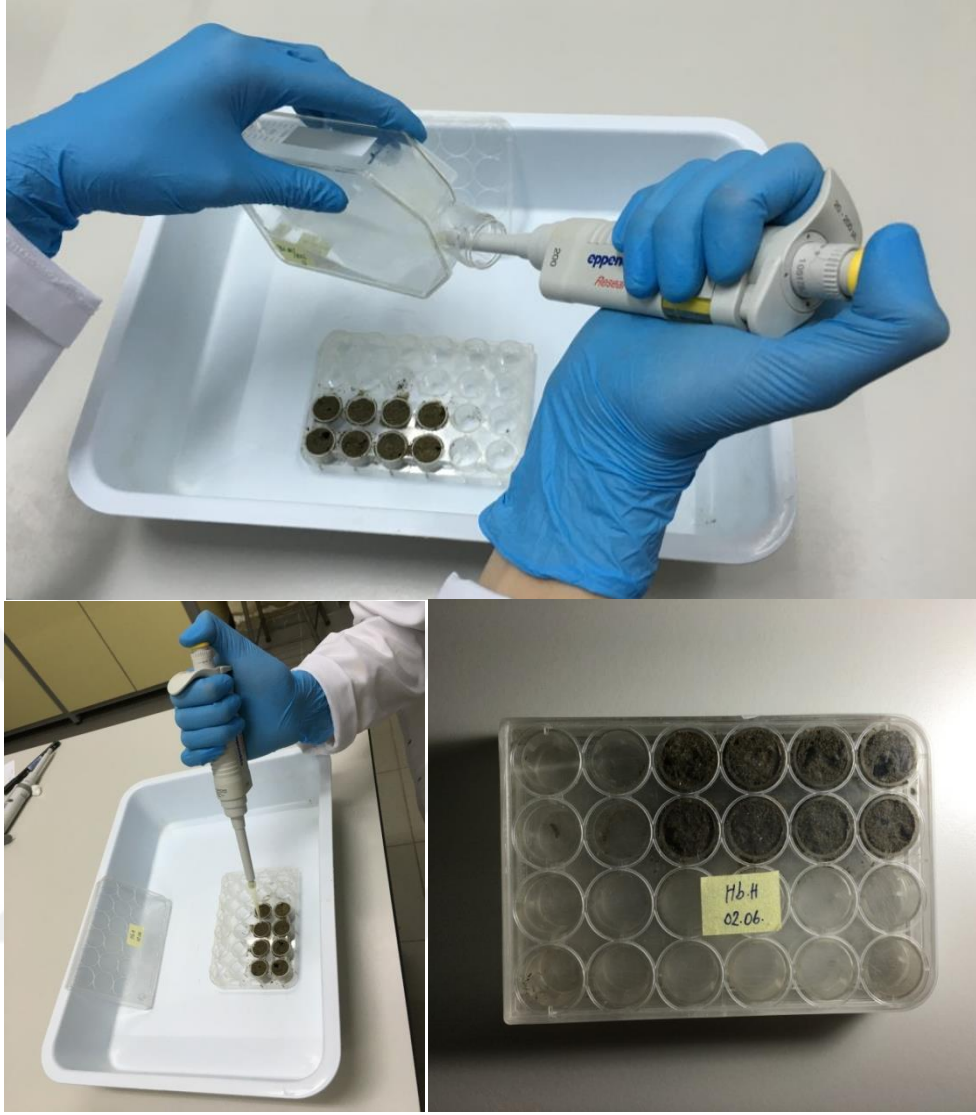
Ebeveyn Irklar	Hibrit Irklar
Hb.4 ♀ × Hb.1138 ♂	Hb.H
Hb.1138 ♀ × Hb.17 ♂	Hb.C
Hb.1138 ♀ × Hb.5 ♂	Hb.E

Çizelge 3.1. Ebeveyn izolatlar ve elde edilen hibrit ırklar

3.1.2.3. *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının In vivo Üretimi

Türkiye'nin çeşitli yerlerinden izole edilip tür teşhisi yapılmış olan izolatlar ve bu ebeveynlerden elde edilmiş olan hibrit ırkların kültürleri düzenli olarak kontrol edilmiştir. Bu kültürler, in vivo üretim tekniği kullanılarak 2 ayda bir yenilenmiş ve böylece kültürlerin devamlılığı sağlanmıştır.

In vivo üretim, 24 kuyucuklu Well Plate içerisinde yapılmıştır. Bu Plate'in her bir kuyucuğuna son dönem *G. mellonella* larvası konulmuş ve üzeri Ringer solüsyonu ile nemlendirilmiş %10 nemli steril kum ile kapatılmıştır. Steril kum üzerine üretimi yapılacak EPN izolat ve ırklarından 50 IJ/ larva olacak şekilde mikropipet yardımıyla inokülasyon yapılmıştır. Kapağı kapatılan Plate'lerdeki nem kaybını önlemek amacıyla kabın çevresine parafilm bant çekilmiş ve 26 °C'de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. İnokülasyon işlemi

Denemelerde *Heterorhabditis bacteriophora* izolat ve ırkları kullanılmış olduğundan 4. gün sonunda açılan plate'ten enfeksiyonu gerçekleştirmiş ise larvalar ölü ve kırmızı - bordo renkli olarak görülürler (Şekil 3.6.). Sonrasında kumdan çıkarılan kavrular steril Ringer solüsyon yardımı ile arındırılmış ve yine Ringer solüsyonu ile nemlendirilmiş olan White Trap düzeneği üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 3.7.). Yaklaşık 2 hafta sonra kavruların içerisinde besini tüketmiş EPN'ler yeni konukçu bulmak üzere IJ evresinde iken kavruları terk etmiş ve White Trap'te bulunan Ringer solüsyonuna içerisine birikmişlerdir.



Şekil 3.6. Larvaların enfeksiyon sonrası görünümü

Kadavradan çıkan yeni jenerasyon IJ'ler White Trap düzeneğindeki Ringer solüsyonu içerisinde yeterince biriktikten sonra mikropipet yardımıyla düzeneden toplanarak, oksijen alışverişinin sağlandığı özel kapaklı kültür kaplarına aktarılmış ve +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.8.).



Şekil 3.7. White trap düzeneği



Şekil 3.8. Yeni nesil IJ'lerin muhafaza edildiği kültür kapları

3.1.3. Silis Kumu

Silis kumu kuvars kumu olarak da bilinir (Hacıfazlıoğlu 2011) ve yer kabuğunda oldukça bol miktarda olup, başlıca kullanım alanlarını cam sanayi, döküm sanayi ve refrakter sanayi oluşturmaktadır. Bunların dışında kimya, filtrasyon ve inşaat sanayinde de kullanılmaktadır (Kurşun ve İpekoğlu 1995). Ayrıca silis kumunun akvaryumlarda da kullanıldığı bilinmektedir.



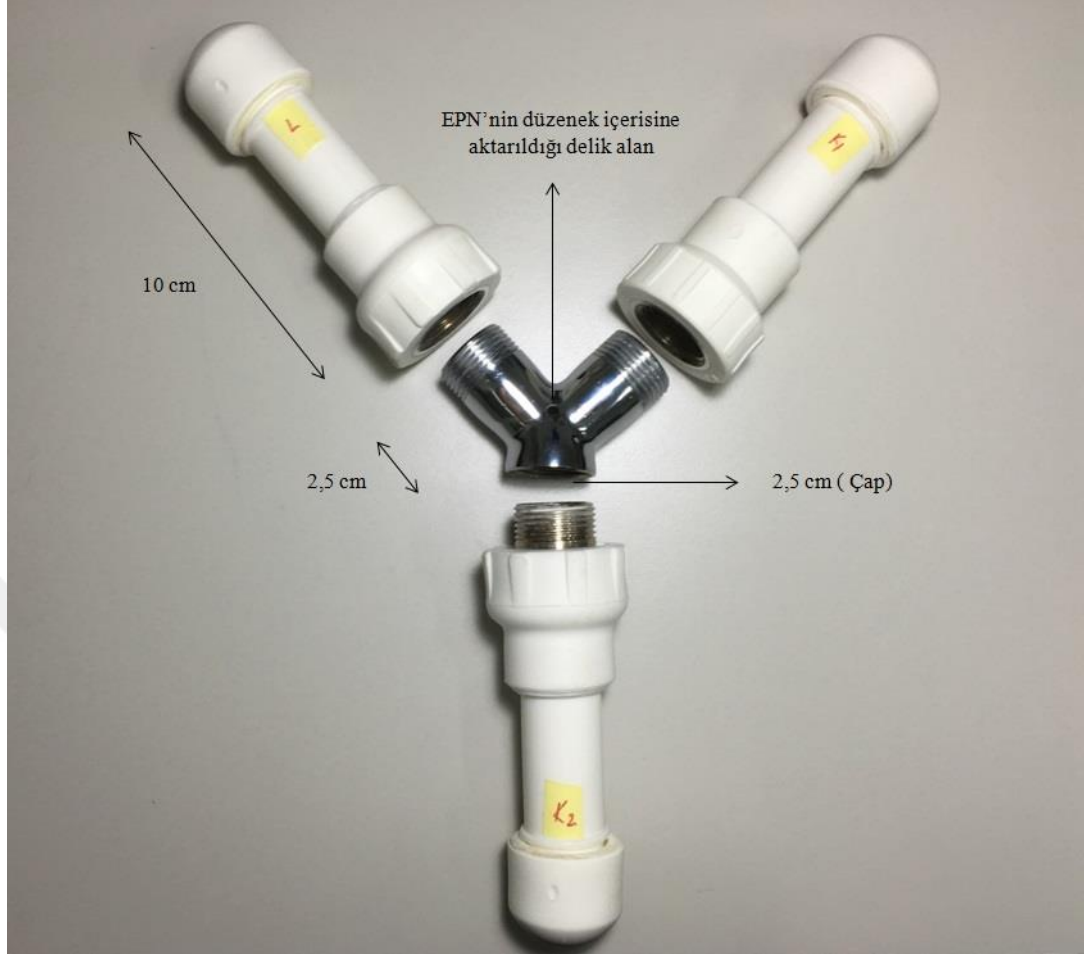
Şekil 3.9. Silis kumu

Denemelerde 0,5–1,0 mm partikül ebatında silis kumu (Şekil 3.9.) kullanılmış olup kullanım avantajları; 10 – 20 yıkama sonrasında kum partiküllerinin suya karışmayıp suyu bulandırmaması, beyaz renkli olduğundan ekstraksiyon işleminden sonra kum kalıntısı olsa bile mikroskop görüntüsünü karartmayıp, kum partiküllerinin önünde veya arkasında kalan EPN'lerin fark edilmesini engellememesi silis kumunun tercih sebepleridir.

3.1.4. Y-Olfaktometre Düzenegi

Olfaktometre kelime anlamı olarak koku duyarlılık ölçeri olup, EPN'lerin yarı – doğal yaşam alanı içinde konukçu arama davranışlarının incelenmesinde Y-Olfaktometrenin kullanışlı bir araç olduğu görülmüştür (Boff ve ark. 2001).

Denemelerde kullanılan Y-Olfaktometrenin her bir kolunun boru kısmı 10 cm'dir ve arka tarafı takılıp çıkarılabilinen kapaktan oluşmaktadır. Borunun ön kısmı ise metal bir parçaya bağlı olup bu metal parçanın tam orta noktasında IJ'lerin Y-Olfaktometre düzenegine aktarılabilmesi için yuvarlak bir delik açılmış ve metal parçanın her bir kolu bu delikten itibaren boru bağlantısına 2,5 cm uzunluğundadır (Şekil 3.10.). Boru çapının 2,5 cm olduğu baz alınarak Y-Olfaktometre düzeneginin iç hacminin~ 184 cm³ olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 3.10. Y-Olfaktometre düzeneği

Y-Olfaktometrenin her bir kolu ayrı ayrı isimlendirilmiş ve her bir tekrürde aynı kollar aynı yöne bağlanmıştır. Metal parçanın delikli kısmı üstte kalacak şekilde yatay pozisyondayken Y-Olfaktometrenin sol kolu 'Larva Kolu' (L), sağ kolu 'Kontrol 1 Kolu' (K1), aşağı koluna ise 'Kontrol 2 Kolu' (K2) isimleri verilmiştir.

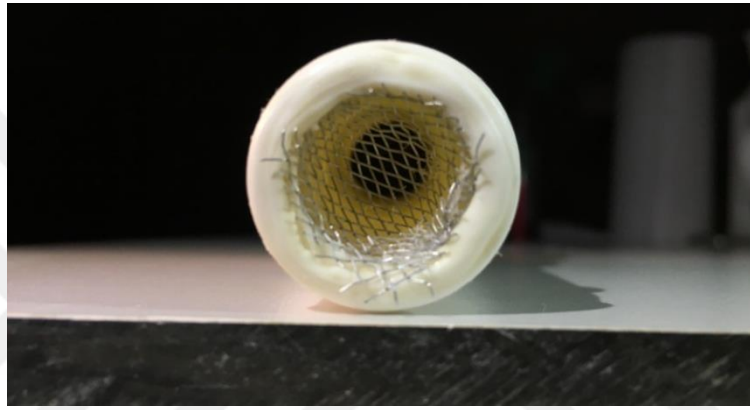
3.2. Yöntem

3.2.1. Y-Olfaktometrenin Hazırlanışı

Her bir kolu ve orta noktası %10 saf su ile nemlendirilmiş silis kumu (kuvars kumu) ile doldurulan Y-Olfaktometre düzeneğinin L kolunun uç noktasına yakın bölgesine 3 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.).

Mikropipet yardımıyla düzeneğin orta noktasından 1000 İJ'nin içeriye salınması sağlanmış, düzenek içerisindeki nemin kaybolmaması için orta kısım parafilm bant ile kapatılmıştır (Şekil 3.13.). 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 3.14.).



Şekil 3.11. L koluna eklenen metal tel



Şekil 3.12. Silis kumunun %10 nemlendirilmesi



Şekil 3.13. Y-Olfaktometre düzeneğinin hazırlanışı

4 gün sonra açılan Y-Olfaktometreden çıkarılan kadvralar (Şekil 3.15.) kumdan ayrıldıktan sonra bir petriye alınıp Ringer solüsyonu eklenerek parçalanmıştır. Disekte edilen kadvraların dokularında bulunan nematodların, pastör pipeti yardımıyla ringer solüsyonuna geçmesi sağlanmıştır (Şekil 3.16). Ayrıca Y-Olfaktometre kollarından

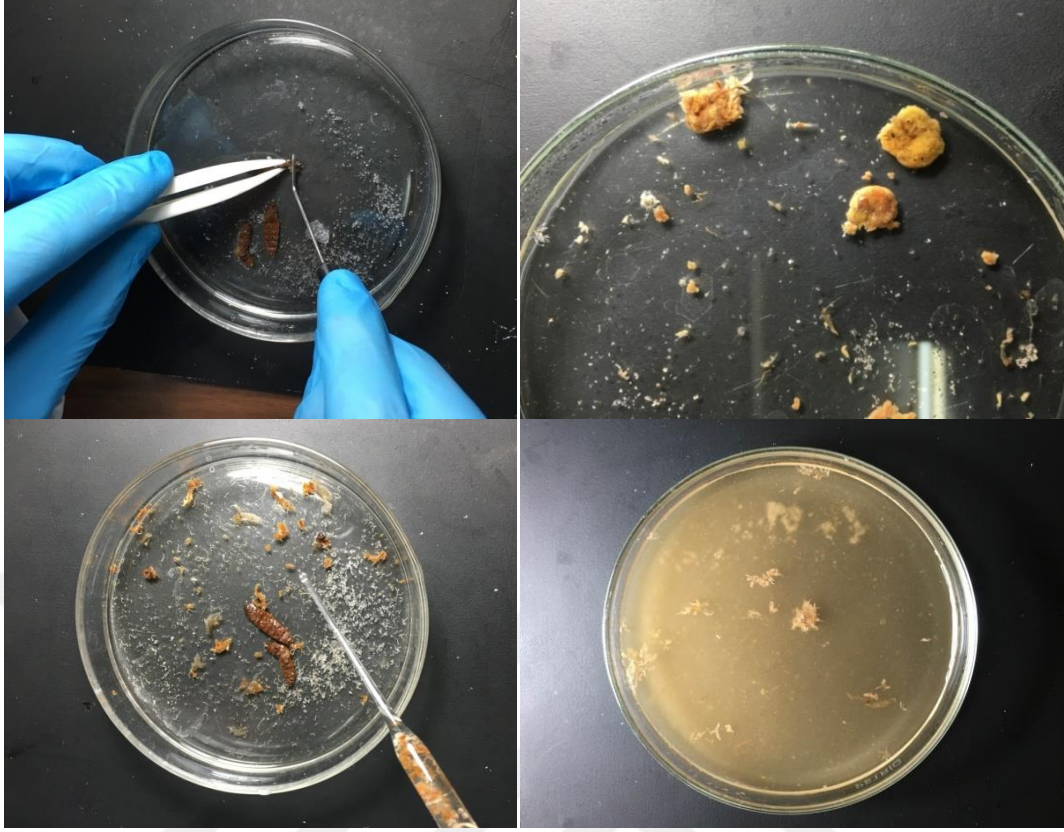
Çıkarılan silis kumu da mikro nematod elekleri üzerinde yıkanarak, olfaktometre kollarına yönelim yapan EPN'ler de elde edilmiştir. Yapılan sayımlarda larva içeriği ve kumdan elde edilen EPN'ler ayrı ayrı sayılıp kollara yönelim miktarları belirlenmiştir.



şekil 3.14. Y-Olfaktometrenin kapalı görünümü



şekil 3.15. Larvaların L kolundan çıkarılması



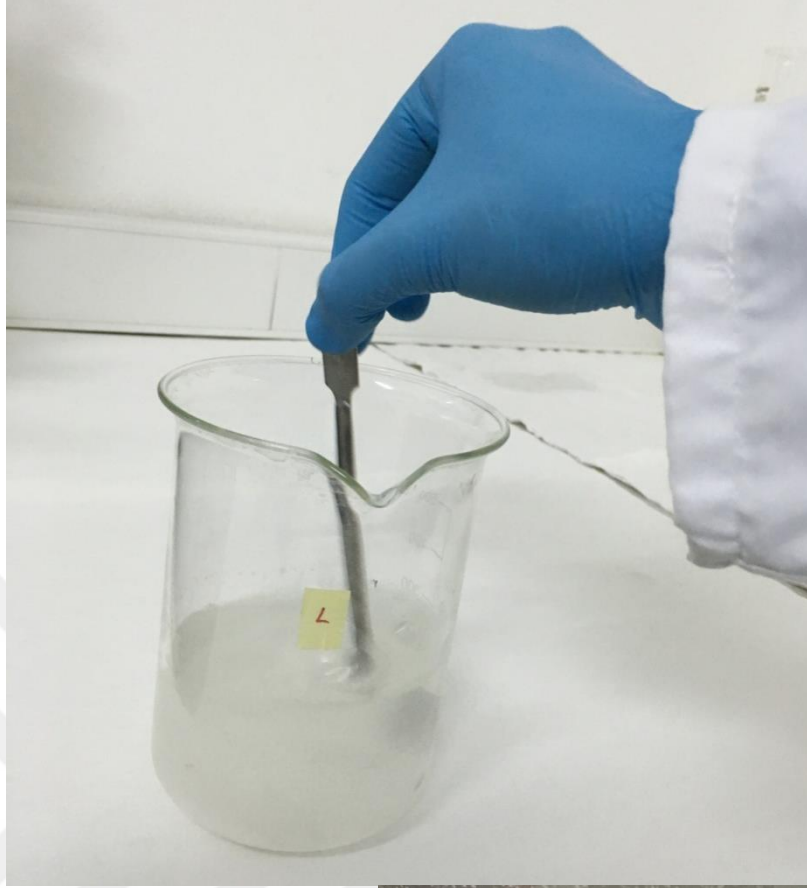
Şekil 3.16. Kadavraların disekte edilişi

3.2.2. EPN'lerin Ekstraksiyonu

Kadavraların Y-Olfaktometreden çıkarılması işleminden sonra, her biri orta noktadan ayrılmış olan L, K1 ve K2 kolları içerisindeki kumlar ayrı ayrı beherlere konulmuş olup (Şekil 3.17.), Cobb's sieving and decanting yöntemi esas alınarak EPN'lerin kumdan ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemin seçilmesinin amacı yüksek ekstraksiyon verimi sağlamasıdır, yani sayım yapılacak sıvı miktarının minimum düzeyde tutulup aynı zamanda eleme işlemleri sırasında EPN kaybını en alt seviyeye düşürmektir (Bezooijen, 2006).



Şekil 3.17. Y-Olfaktometrenin her bir kolundan çıkarılan kumun beherlere alınmış görüntüsü



Şekil 3.18. Cobb's sieving and decanting yöntemiyle IJ'lerin ekstraksiyonu

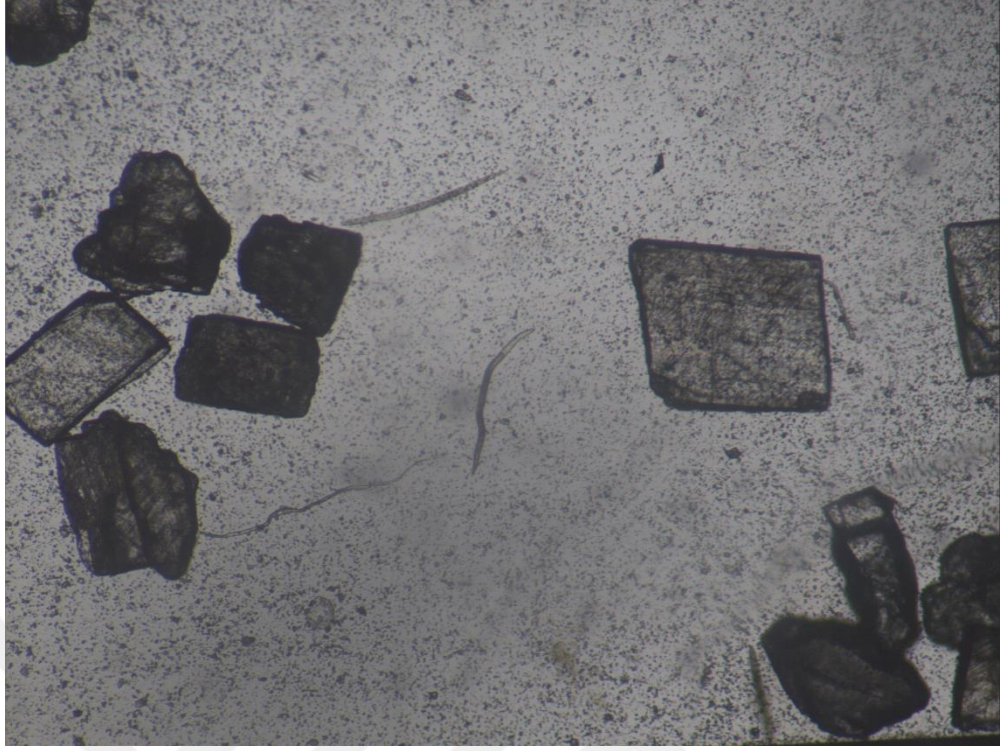
Behrelere alınan her bir kola ait nemli kumlar sırasıyla şu işlemlere tabi tutulmuştur: Beherin içerisine kumun üzeri kapanıp aşacak şekilde su doldurulmuş, su ve kum karışımı metal spatül kaşık ile karıştırılarak kum içerisindeki EPN'lerin kumdan ayrılması sağlanmıştır. Karıştırma işlemi biter bitmez kum dibe çökmüş ve kumun üzerinde kalan sıvı kısım elek delik çapı 38 µm olan eleğe aktarılmıştır. Elek üzerinde kalan sıvı kısım sayılmak üzere bir petride toplanmıştır (Şekil 3.18.). Bu işlem 3 kere tekrarlanıp petride toplanan sıvı sayım kabına alınmış ve böylelikle Y-Olfaktometre içerisinden ekstrakte edilen EPN'ler sayım işlemi için hazırlanmıştır (Şekil 3.19.).



Şekil 3.19. Ekstrakte edilen EPN'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 yapılmış olup, mikroskop görüntüleri Şekil 3.20. ve 3.21.'de gösterildiği gibidir. Sayım kapları 9×13 cm ölçülerinde 24 kuyucuk içermekte ve her bir kuyucuğun alt yüzeyi bir kenarı 0,5 cm olan 16 eşit kare şeklinde bölümlere ayrılmıştır.



Şekil 3.20. İJ'lerin ve silis kumu partiküllerinin mikroskop görüntüsü



Şekil 3.21. Disekte edilen larva içeriğinin sayımı

3.2.4. 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.



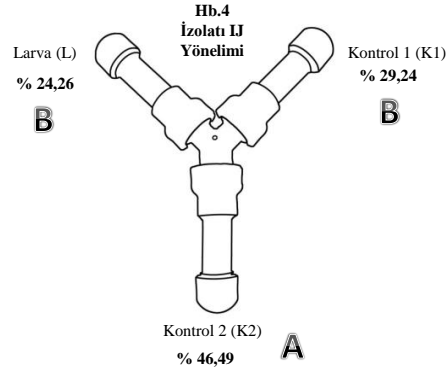
4. BULGULAR

Yapılan denemeler sonucunda elde edilen verilere göre bulgular 3 ana başlık halinde verilmiştir.

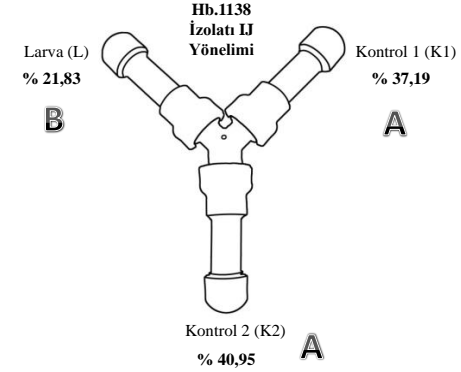
4.1. İJ'lerin Y-Olfaktometre Kolları Arasında Dağılımı

4.1.1. Ebeveyn İzolatların Y-Olfaktometre Kolları Arasında Dağılımı

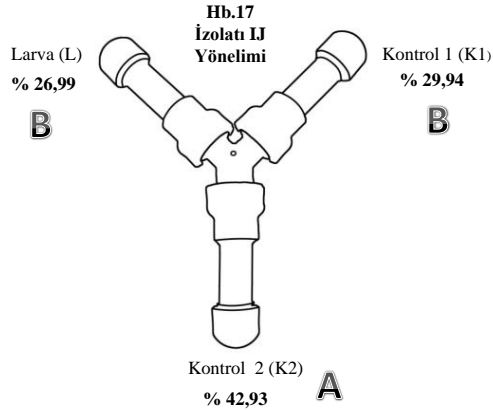
Ebeveyn olarak kullanılan *Heterorhabditis bacteriophora* Hb.4, Hb.1138, Hb.17 ve Hb.5 izolatlarının Y-Olfaktometre düzeneği içerisinde konukçuya yönelimi amacıyla yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar hem yüzde (%) hem de istatistiksel olarak Şekil 4.1., 4.2., 4.3. ve 4.4.'te ayrıntılı biçimde gösterilmiştir.



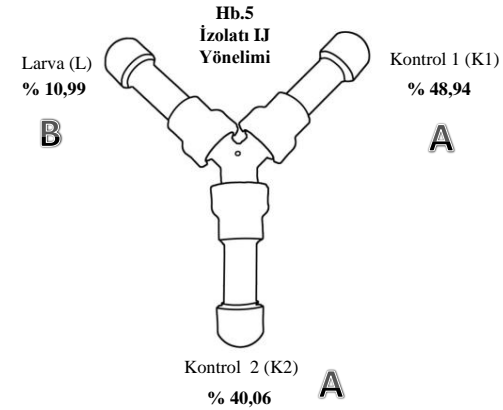
Şekil 4.1. Hb.4 ebeveyn izolatu IJ Yönelimi Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:10.7164$; $df:2,12$; $P=0,0021$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)



Şekil 4.2. Hb.1138 ebeveyn izolatu IJ Yönelimi Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:17.7603$; $df:2,12$; $P=0,0003$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)



Şekil 4.3. Hb.17 ebeveyn izolatu IJ Yönelimi Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:6.9370$; $df:2,12$; $P=0,0100$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)

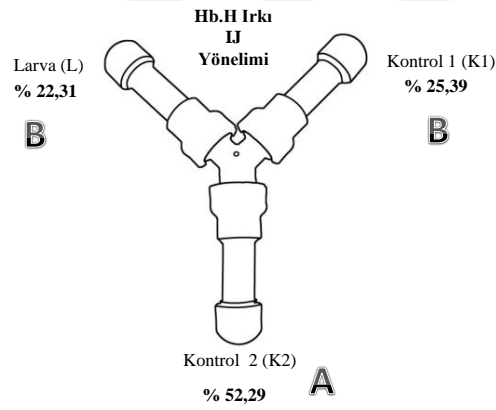


Şekil 4.4. Hb.5 ebeveyn izolatu IJ Yönelimi Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:25.6562$; $df:2,12$; $P<0.0001$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)

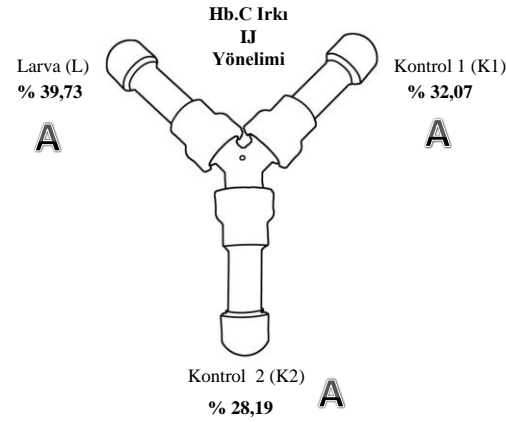
Tüm ebeveyn izolatların Y-Olfaktometre kolları arasında dağılımına bakıldığında yönelimin en yüksek olduğu kolun K2 kolu olduğu tespit edilmiş olup 4 izolat için de % 40 ve üzeri değerlerde olduğu bulunmuştur. İJ'lerin kollar arası dağılımı istatistiksel açıdan incelendiğinde kollar arasında önemli farklılıklar bulunmuş, Hb.4 izolatının kollar arasında en yüksek yönelimi K2 koluna (Şekil 4.1.), Hb.1138 izolatının K1 ve K2 kollarına (Şekil 4.2.), Hb.17'nin K2 koluna (Şekil 4.3.) ve Hb5'in K1 ve K2 kollarına gösterdiği (Şekil 4.4.) tespit edilmiştir.

4.1.2. Hibrit Irkların Y-Olfaktometre Kolları Arasında Dağılımı

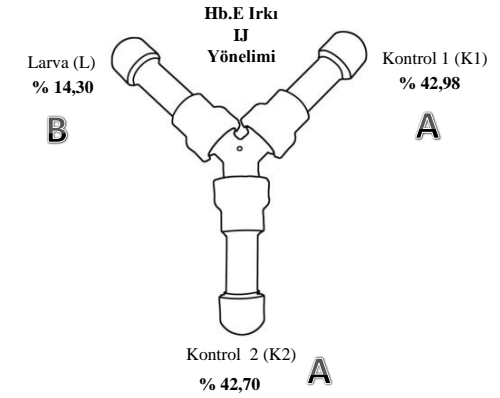
Ebeveyn izolatlarla aynı koşullarda denemeleri yapılan *Heterorhabditis bacteriophora* hibrit ırkları; Hb.H, Hb.C ve Hb.E'nin kollar arası yüzde (%) olarak dağılımı ve istatistiksel olarak analizi sonuçları Şekil 4.5., 4.6. ve 4.7.'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Hb.H ırkının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:19.2740$; $df:2,12$; $P=0.0002$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)



Şekil 4.6. Hb.C ırkının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:1.8895$; $df:2,12$; $P=0,1935$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder.)

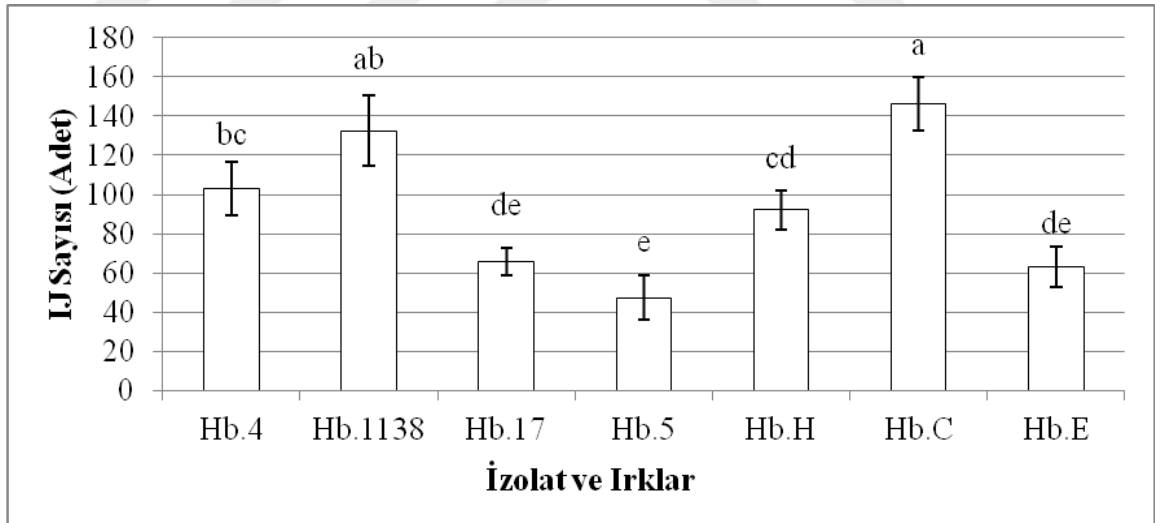


Şekil 4.7. Hb.E ırkının Y-Olfaktometre kolları arasında % dağılımı ($F:34.6262$; $df:2,12$; $P<0,0001$) (A ve B, kollar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade eder)

Hb.H ve Hb.E ırklarının ebeveyn izolatlarında olduğu gibi en yüksek yönelim K2 koluna olurken (Şekil 4.5. ve 4.7.), Hb.C ırkında en yüksek yönelimin L koluna olduğu görülmüştür (Şekil 4.6). Kollar arası dağılımın istatistiksel analizi sonucu Hb.H ırkının K2 koluna, Hb.E'nin K1 ve K2 kollarına, Hb.C'nin kollar arası dağılımında ise istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir.

4.2. Tüm İzolat ve Irkların Larva Yönünde Değerlendirilmesi

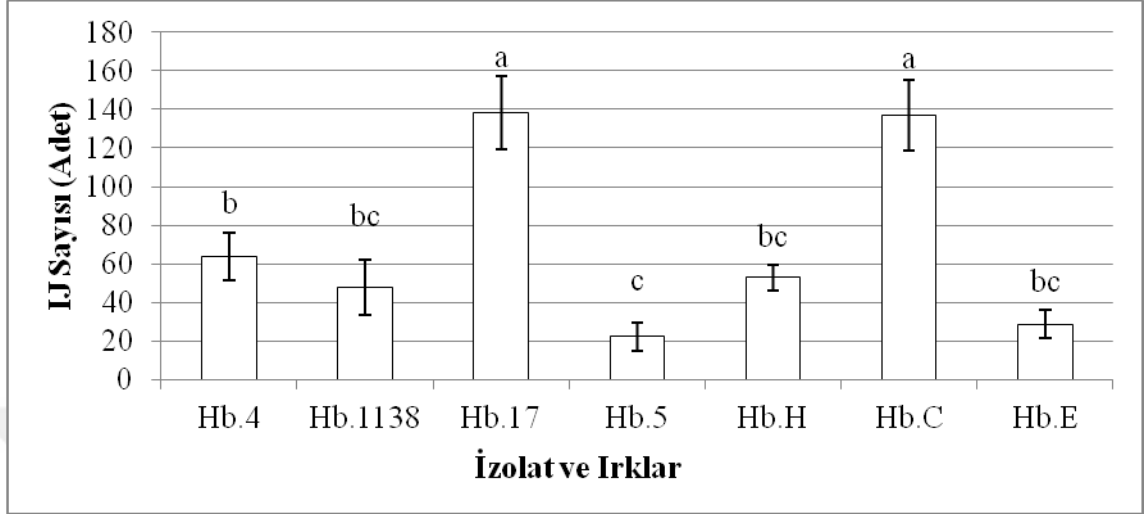
Y-Olfaktometrenin larva kolu olarak seçilen L kolunun uç kısmına 3 adet *G. mellonella*'nın son dönem larvalarından yerleştirilmiş olup, Y-Olfaktometrenin orta noktasından içeriye salınan 1000 IJ'nin kaç adedinin L koluna yöneldiği ve larvaya ulaştığı yapılan sayımlar sonucu elde edilmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilmiş sonuçları şekillerde gösterildiği gibidir.



Şekil 4.8. Tüm izolat ve ırkların larva koluna yönelimi
($F:8.9783$; $df:6,28$; $P<0,0001$)

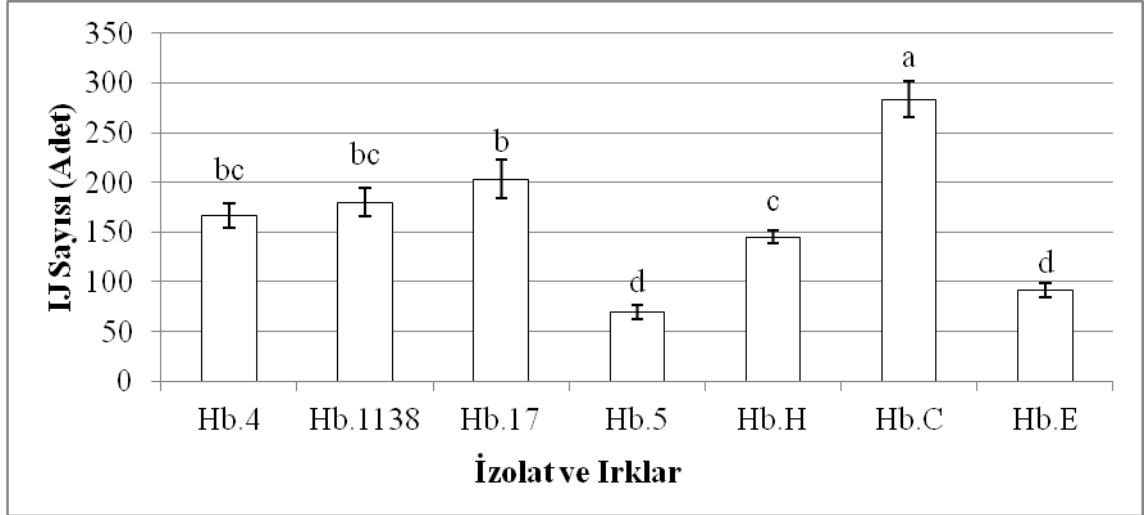
L koluna yönelen ancak larvaya henüz giriş yapamamış olan IJ'ler grubunda en yüksek yönelimi Hb.C ırkı göstermiş ve ardından Hb.1138 izolatu gelmiş olup aralarında istatistiksel olarak farklılık bulunamamıştır. Bunu Hb.4, Hb.H, Hb.17 ve Hb.E takip etmiş olup istatistiksel açıdan aynı grupta yer almışlardır. En düşük yönelimi ise Hb.5

izolatı göstermiş olup bunu Hb.17 izolatı ve Hb.E ırkı takip etmiştir ve aralarında istatistiksel açıdan bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.8.).



Şekil 4.9. Tüm izolat ve ırkların larva içerisine giriş oranları ($F:13.6062$; $df:6,28$; $P<0,0001$)

Larva içerisine giriş yapan IJ'ler grubunda en yüksek performans gösterenlerin Hb.17 izolatı ve Hb.C ırkı olduğu tespit edilmiş ve aralarında istatistiksel olarak bir farklılık bulunamamıştır. Bunu Hb.4 ırkı takip ederken aralarında istatistiksel açıdan farklılık bulunmuştur. Larva içerisine giriş konusunda en düşük özelliği Hb.5 ırkı göstermiştir. Bunu Hb.E, Hb.1138 ve Hb.H takip ederken üçlü grup arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamış ancak Hb.5 ile aralarında farklılık olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9.).

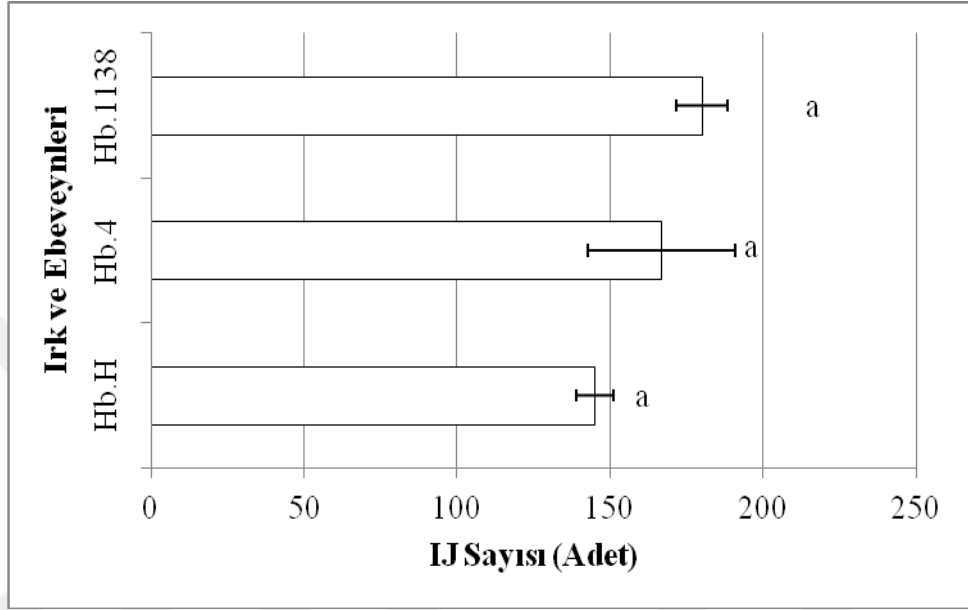


Şekil 4.10. Larva içerisi ve L kolu toplamı IJ sayısı oranı
($F:20.7033$; $df:6,28$; $P<0,0001$)

Larva içerisi ve L koluna olan toplamda yönelime bakıldığında en yüksek yönelimi Hb.C ırkının gösterdiği bulunmuş istatistiksel olarak diğer tüm ırklardan farklı olduğu bulunmuştur. Bunu Hb.17, Hb.1138, Hb.4 ve Hb.H'nin takip ettiği ancak aralarında önemli bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. En düşük yönelimi Hb.E ve Hb.5 göstermiş olup ikisinin arasında herhangi bir farklılık bulunmazken, diğer ırklar ve izolatlarla aralarında istatistiksel açıdan farklılık olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10.).

4.3. Hibrit Irkların Larvaya Yönelim Konusunda Ebeveyn İzolatlarıyla Karşılaştırılması

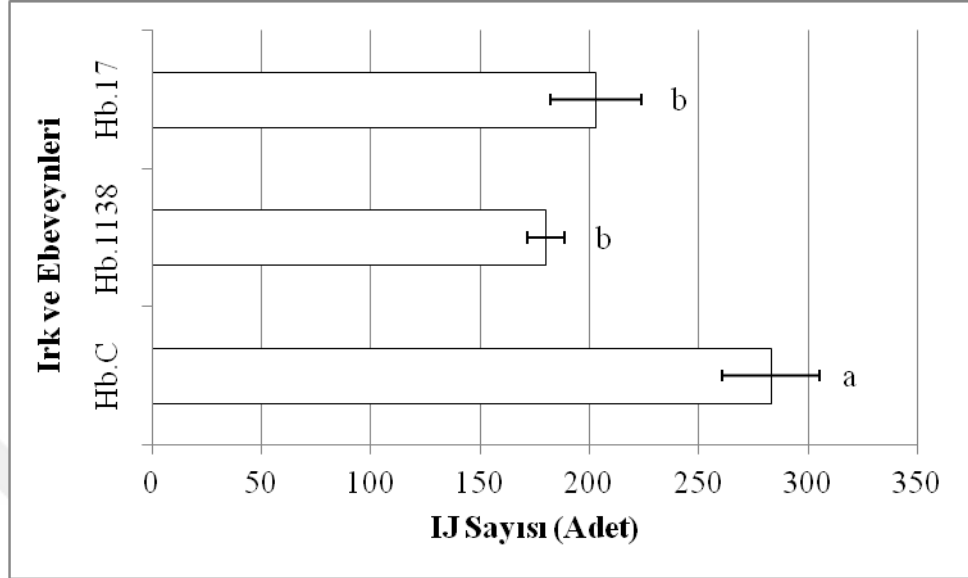
Hb.H hibrit ırkının ebeveynleri (Hb.4 ♀ × Hb.1138 ♂) ile larvaya yönelim konusunda elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinin sonuçları Şekil 4.11.'de verilmiştir.



Şekil 4.11. Hb.H ırkı ve ebeveyn izolatlarının larvaya yönelimi ($F:1.3678$; $df:2,12$; $P=0,2917$)

Hb.H ırkının larvaya yönelimi, ebeveyn izolatları Hb.4 ve Hb.1138'e göre düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak aralarında farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.11.).

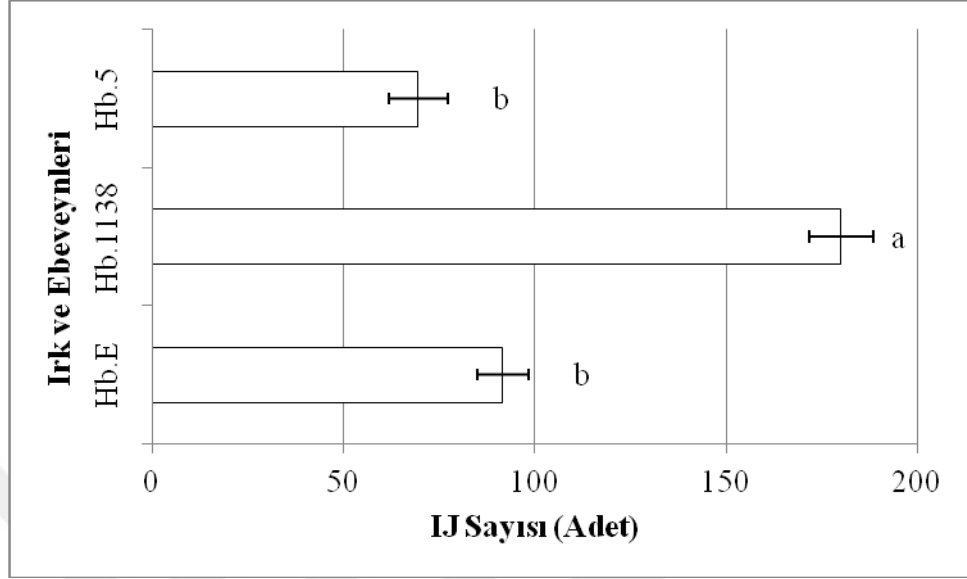
Hb.C hibrit ırkının ebeveynleri (Hb.1138 ♀ × Hb.17 ♂) ile larvaya yönelim konusunda istatistiksel analizleri yapılmış olup sonuçlar aşağıda gösterildiği gibidir.



Şekil 4.12. Hb.C ırkı ve ebeveyn izolatlarının larvaya yönelimi (F:8.7962; df:2,12; P=0,0044)

Larvaya yönelim konusunda Hb.C ırkı, ebeveynleri olan Hb.1138 ve Hb.17'ye göre dikkate alınması gereken bir üstün özellik derecesi göstermiş olup (heterosis) istatistiksel olarak da ebeveynleriyle arasında farklılık bulunmuştur (Şekil 4.12.).

Hb.E hibrit ırkının ebeveynleri (Hb.1138 ♀ × Hb.5 ♂) ile larvaya yönelim konusunda istatistiksel analizleri yapılmış olup sonuçlar aşağıda gösterildiği gibidir.



Şekil 4.13. Hb.E ırkı ve ebeveyn izolatlarının larvaya yönelimi ($F:58.5268$; $df:2,12$; $P<0,0001$)

Hb.E hibrit ırkının larvaya yönelimi anne birey Hb.1138'den düşük, baba birey Hb.5'ten de düşük ancak istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.13.).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Entomopatojen nematodların biyolojik mücadelede kullanımları gün geçtikçe artmakta ve bu gelişmeyle birlikte EPN'ler üzerinde yapılan çalışmalar da hız kazanmaktadır. Son yıllarda EPN'lerin yüksek sıcaklık, su kaybı, etkinlik veya üreme potansiyeli gibi özellikleri üzerine yapılan araştırmalarda bu özellikler bakımından yüksek kapasiteye sahip ırkların tespiti ile zararlı böcek üzerindeki etkinliklerinin doğrudan ve dolaylı olarak artması ve daha verimli bir üretimin yapılabilmesi amaçlanmıştır. Bu özelliklerden biri olan EPN'lerin konukçuya yönelimi ve konukçuya yönelimini etkileyen faktörler de benzer şekilde yapılan araştırmalara konu olmuştur. EPN'lerin laboratuvar koşullarında son derece geniş bir konukçu aralığına sahip olmalarına rağmen (Poinar 1975), ekolojik ve davranışsal faktörler doğal konukçu aralıkları oranını sınırlamaktadır (Kaya. 1990, Lewis ve ark. 1993). Bu nedenden dolayı EPN'lerin etkinliğini artırmaya yönelik bu araştırmalar önem kazanmaktadır.

Son yıllarda yapılan hibridizasyon uygulamalarıyla birlikte EPN türlerinin birçok çevresel koşula adaptasyon sağlayabilecek yeni ırkları da ortaya çıkmış ve EPN'lerin gelişimine ve etkin kullanımına katkı sağlayabilmek için yeni çalışmalara öncü olmuştur. Zararlı böceklere karşı biyolojik mücadele ajanı olan doğal düşmanların etkinliğinin, teorik olarak besin aramada önemli etkiye sahip olan çekicilere karşı yüksek duyarlılığın yapay seleksiyon ile geliştirilebileceği düşünülmektedir (Hiltpold ve ark. 2010).

Bu tez çalışması kapsamında yapılan denemede 7 farklı *H. bacteriophora* izolatu ve ırkı (4 adedi ebeveyn izolat ve 3 adedi hibrit ırk olmak üzere) kullanılmış ve konukçuya yönelimleri Y-Olfaktometreyle tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre konukçuya en yüksek yönelimi Hb.C ırkı göstermiş olup anne ve baba izolatları sırasıyla Hb.1138 ve Hb.5'e göre önemli ölçüde üstün olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12.). İkinci en iyi ırk olan Hb.H'nin ise anne ve baba izolatları sırasıyla Hb.4 ve Hb.1138 ile istatistiksel olarak aralarında bir farklılık bulunmadığı (Şekil 4.11.), hibrit ırklar arasında son sırada yer alan Hb.E'nin ise anne izolatı Hb.1138'den daha düşük, baba izolatı Hb.5 ile istatistiksel olarak aynı seviyede olduğu görülmüştür (Şekil 4.13.). Bu bilgiler *H.*

bacteriophora türünde yapılan hibridizasyon işlemi sonucunda elde edilen hibrit bireylerin konukçuya yönelim özelliğinin baba bireyden aktarılmış olabileceği düşüncesine yol açmıştır. Ayrıca denemede kullanılan izolat ve ırkların Y-Olfaktometre içerisinde her kola dağılım göstermeleri; geniş alanlara uygulanacak EPN'lerin tümünün tek bir konukçu bireye yönelmeyecekleri, homojen bir dağılım göstererek daha fazla sayıda konukçuya etki edebilecekleri konusunda arazi koşullarında avantaj sağlayacakları düşünülmektedir.

Boff ve ark. (2001) tarafından yapılan araştırmaya göre *Heterorhabditis megidis* ırkı NLH-E 87.3'ün konukçu arama davranışı konukçu böcek, bitki kökleri ayrı ayrı ve kombinasyonları yapılarak, kum ile doldurulmuş ve yeni geliştirilen Y-Olfaktometre kullanılarak incelenmiştir. 24 saatlik süre içinde canlı *G. mellonella* larvarı, IJ'leri önemli ölçüde kendilerine çekmiş ve % 100 larva ölümü gerçekleşmiştir. Ancak, IJ'ler bağ maymuncuğu *Otiorrhynchus sulcatus* larvalarına karşı konukçuya yönelim hareketi göstermemiş ve larvalarda ölüm gözlenmemiştir. IJ'ler çilek bitkisi köklerine karşı olumsuz yönde uyarılmıştır. Çilek kökleri ve *O. sulcatus* larvası kombinasyonunda ise IJ'ler % 37 oranında larva ölümüne sebep olmuştur. Yine Boff ve ark. (2002) *Heterorhabditis megidis*'in çilek ve mazı bitkilerinin kökleri ile *O. sulcatus*'a karşı gösterdiği tepki üzerine bir araştırma yapmış ve denemeler, içerisinde nemli kum bulunan Y-Olfaktometre içerisinde gerçekleştirilmiştir. İnfektif juveniller taze çilek ve mazı kökleri ile aktive edilmiştir. Bazı nematodlar köklerin yakınlarında toplanmalarına rağmen çoğunluğu köklerden uzaklaşmışlardır. 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 *O. sulcatus* 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. 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. Y-Olfaktometre sistemi ilk olarak bu çalışmalarda tercih edilmiş olup, EPN'lerin yarı – doğal ortamda arama davranışlarının

araştırılmasında kullanışlı bir araç olduğunu gösterilmiştir. Buradan yola çıkılarak bu tez çalışmasında Y-Olfaktometre kullanılması araştırma amacına uygun olduğu ön görülmüştür. Yukarıda anlatılan çalışmalarda EPN *H. megidis*'in konukçu böceğe yönelimi istatistiksel açıdan anlamlıyken, bu tez çalışmasında *H. bacteriophora* ırklarının konukçu böceğe yönelimi istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Bunun; *H. megidis*'in konukçu arama özelliklerinin daha yüksek olması, *O. sulcatus*'un daha çekici bir konukçu olması veya konukçu – EPN arasındaki ilişkinin *H. bacteriophora* ve *G. mellonella* arasında olan ilişkiden daha iyi olması gibi sebeplerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Susurluk ve ark. (2003) böcek paraziti olan bir türe ait iki farklı entomopatojen nematod izolatının (*H. bacteriophora* Tur-H2, *H. bacteriophora* Tur- H1) dikey yöndeki hareketleri laboratuvar koşullarında test etmiş ve *H. bacteriophora* Tur-H2 ile *H. bacteriophora* Tur-H1'in *G. mellonella* larvasına doğru olan hareketleri arasında önemli bir fark olduğunu bulmuşlardır. En fazla nematod enfeksiyonu, her iki izolat için de 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 IJ'leri 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 izolatı aynı türe ait olduğu halde, ilginç bir sonuç olarak aynı konukçuya karşı farklı etkinlikte arama davranışı göstermişlerdir. Bu çalışma ile yapılan bu tez aynı türün farklı izolatlarının, aynı konukçuya karşı yönelimlerinin karşılaştırılması konusunda benzerlik göstermektedir. Her iki çalışmada da *H. bacteriophora* türü ele alınmıştır ve çalışmada da olduğu gibi bu tez çalışmasında da izolatlar arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Bu bakımdan çalışma ile tez arasında örtüşme vardır. Ayrıca benzer olarak bu tez çalışmasında da konukçu olarak EPN'lere karşı yüksek hassasiyeti bilinen *G. mellonella* larvaları kullanılmıştır. Tez çalışmasında larvaya yönelim sayımlarının 4. günde yapılmış olmasına rağmen, çalışmada 3. günde larva içine giren *H. bacteriophora* oranı kadar yüksek oranlara ulaşamadığı gözlemlenmiştir. Bunun sebebinin ırklar arası farklılık olabileceği düşünülmektedir.

Hiltpold ve ark. (2010) tarafından yapılan güncel bir çalışmada mısır kök kurdu (*Diabrotica virgifera virgifera*) tarafından zarar gören mısır köklerinin, EPN'ler için önemli bir çekici koku yaydığına bulunması üzerine seleksiyon ile kök zararlılarının kontrolünün artırılabilir olup olmadığının keşfedilmesi amaçlanmıştır. Söz konusu bileşik (E)- β -kariyofilen olup mısır kök kurduna karşı en etkili nematod olan *H. bacteriophora* için zayıf bir çekici olduğu, bu dezavantajı aşabilmek için (E)- β -kariyofilen'e karşı en yüksek tepki gösteren *H. bacteriophora* ırklarını seçebilmek için yerin altında 6 kollu olfaktometre kullanılmıştır. 6 jenerasyon seleksiyondan sonra seçilmiş olan ırkların orijinal ırklara göre (E)- β -kariyofilen'e önemli ölçüde daha iyi yanıt verdiği ve çekici kaynağa iki kat daha hızlı ilerlediği tespit edilmiştir. Bu gelişmiş duyarlılık ve nematod etkinliği arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan arazi çalışmalarında seçilen ırk diğer ırklara göre batı mısır kök kurdunun popülasyonunun azaltılmasında belirgin derecede daha etkili olmuştur. Yapılan çalışmada olduğu gibi bu tez çalışmasında da *H. bacteriophora*'nın farklı ırkları kullanılmıştır ve konukçuya yönelim olfaktometre düzeneğinin farklı bir şekilde tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda tez çalışmasıyla aynı şekilde konukçuya yönelim konusunda ırklar arasında önemli farklılık bulunmuştur.

Daha önceki yıllarda bu tez çalışmasında kullanılan aynı ırklarla hibridizasyon çalışmaları yapılmış ve elde edilen hibrit ırkların etkinlikleri, sıcaklığa ve su kaybına toleransları üzerine de çalışmalar yapılmıştır. Susurluk ve ark. (2013) Türkiye'nin değişik coğrafik bölgelerinden izole edilen *H. bacteriophora*'nın 6 farklı yerli ırkından hibritlenmiş 10 farklı hibrit ırkın yüksek sıcaklık ve su kaybına olan toleranslarını belirlemiştir. Yüksek sıcaklık denemeleri 32, 34, 36, 38, 40 ve 42 °C'lerde gerçekleştirilirken, su kaybı denemeleri PolyEhtylene Glycol (PEG) adlı desikatörün % 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 konsantrasyonlarında gerçekleştirilmiştir. Denemelerin sonuçları yüksek sıcaklık için popülasyonun % 50'sinin hayatta kalabildiği ortalama sıcaklık (MT₅₀) ve % 10'unun hayatta kalabildiği ortalama sıcaklık (MT₁₀) olarak belirtilmişken, su kaybı için lethal konsantrasyon (LC₅₀ ve LC₉₀) olarak belirtilmiştir. Yüksek sıcaklık denemesinde hibrit ırkların sıcaklığa ebeveynlerinin biraz üzerinde tolerans gösterebildiği saptanırken, su kaybı denemesinde hibrit ırkların hemen hepsinin su kaybına ebeveynlerinden daha iyi tolerans gösterdiği belirlenmiştir. Bu tezde de

önceki çalışmayla aynı ırklar kullanılmış olup, yüksek sıcaklık ve su kaybına toleranslılık sonuçlarından farklı olarak hibrit ırkların biri ebeveynlerinden üstün iken, biri ebeveynleriyle eşit seviyede özellik göstermiştir. Bir diğer hibrit ırk ise ebeveynlerinin birinden düşük seviyede iken diğeriyle aynı seviyede olduğu tespit edilmiştir. Yani konukçuya yönelim konusunda sıcaklık ve su kaybına toleranslılıkta olduğu gibi hibrit ırklar ve ebeveynleri arasında net bir ayırım yapmak mümkün olmamıştır.

Kongu ve Susurluk'un (2014) çalışmasında Antalya (H.b. 6), Çanakkale (H.b. 876), Kırklareli (H.b. 17), İzmir (H.b. HIZ), Şanlıurfa (H.b. HSU) ve Adana (H.b. 10) illerinden izole edilmiş olan 6 farklı *H. bacteriophora* izolatı kullanılmıştır. Bu izolatların etkinlikleri *G. mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)'nin son dönem larvaları üzerinde 6 farklı uygulama dozunda belirlenmiştir. En düşük etkinlik değerine sahip olan izolatın erkek ve dişi bireyleri ile denemelerde kullanılan diğer tüm ırkların erkek ve dişi bireyleri *in vitro* ortam koşullarında hibritlenerek 10 farklı ırk elde edilmiştir. Hibridizasyon sonucunda elde edilen ırkların *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkinlikleri ebeveyn ırklar ile aynı şekilde belirlenmiştir. Çalışma sonunda ebeveyn ve hibrit ırklara ait olan etkinlik verileri karşılaştırılmış ve elde edilen 10 yeni hibrit ırkın %70'inin ebeveynlerine göre yüksek, %30'unun ise ebeveynlerine göre daha düşük değerlerde etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca hibrit ırkların böcek üzerindeki etkinlik değeri üzerine erkek ve dişi bireylerin farklı etkiler gösterdiği de tespit edilmiştir. Ebeveynlerine göre yüksek etkinlik değerine sahip olan hibrit ırkların etkinlik değerlerinin %57.1'inin erkek, %42.9'unun ise dişi bireylerin etkisi altında kaldığı bulunmuştur. Bu tezde bu çalışmadan elde edilen hibrit ırklar ve ebeveynleri kullanılmış olup etkinlik değeriyle benzer olarak konukçuya yönelimin erkek bireyden aktarıldığı tespit edilmiştir. Adı geçen çalışma ile sunulan bu tezin sonuçları bazı özelliklerin hibrit ırklara aktarılmasında erkek bireyin daha etkili olduğu sonucu bakımından örtüşmektedir.

Bu tez çalışması yukarıda açıklanan araştırmaların devamı niteliğinde olup, bu hibrit ırkların konukçu arama davranışlarının tespit edilmesi de en az etkinlikleri, sıcağa ve su kaybına toleransları kadar önemli görülmektedir. Tez çalışmasında kullanılmak üzere

önceki çalışmalarda en yüksek performans gösteren hibrit ırklar tercih edilmiştir. Böylelikle önceki çalışmalarda iyi olduğu tespit edilen özelliklerin yanında konukçu arama açısından da iyi özellik gösteren ırk ve izolatlar saptanmıştır. Tez çalışması önceki çalışmalarla ilişkilendirildiğinde; Kongu ve Susurluk (2014) tarafından yapılan çalışmada hibrit ırk Hb.E etkinliği en yüksek ırk olurken, tez çalışmasında konukçuya yönelimi en düşük olan ırk olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde Hb.17 izolatının etkinliği en düşük ırklardan biri olduğu bulunmuş fakat tez çalışmasında konukçuya yönelim konusunda 2. sırada yer almıştır. Ulu ve Susurluk (2014)'nun araştırmasına göre ise Hb.1138 izolatı sıcaklığa ve su kaybına en yüksek toleransı göstermiş ancak, en düşük etkinliğe sahip olan ırk olup tez çalışmasında konukçuya yönelim konusunda 3. sırada yer almıştır. Etkinliği en düşük ancak, sıcaklığa tolerans konusunda 3. sırada yer alan Hb.4 ise tez çalışmasında konukçuya yönelim konusunda 7 ırk ve izolat arasında 4. sırada yer almıştır.

Sonuç olarak bu ırkların doğal şartlarda etkin kullanımları için laboratuvar koşullarında bu gibi özellikler bakımından testlerinin yapılıp aynı türe ait en iyi ırkların tespit edilmesi önem arz etmektedir. Y-Olfaktometrenin EPN'lerin konukçuya yöneliminin belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanılabileceği ve net sonuçlar verdiği tespit edilmiş olup, ileride yapılacak olan çalışmalarda hem konukçuya hem de diğer çekicilere olan yönelimin ölçülmesinde etkin olarak kullanılmasında fayda olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmalara moleküler biyoloji tekniklerinin de entegre edilmesiyle hibrit ırkların çok daha etkin kullanılabilir ve EPN'lerin toprakta kalıcılıklarının ve olumsuz çevre koşullarına dayanımlarının arttırılarak biyolojik mücadelede kullanımlarının iyileştirilmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akhurst, R. J. 1982.** Antibiotic activity of *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae. *Journal of General Microbiology*, 128: 3061–3065.
- Akhurst, R.J., Boemare, N.E. 2005.** The *Xenorhabdus* genus: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Editörler: Krieg, N.R., Staley, J.T., Brenner, D.J., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
- Askary, T.H. 2010.** Nematodes as Biocontrol Agents: Sociology, Organic Farming, Climate Change and Soil Science, Editör: Lichtfouse, E., Springer, Netherlands, s. 347-378.
- 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.
- Bedding, R.A. 1982.** Penetration of insect cuticle by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae: Nematoda). *Nematol*, 28: 354–359.
- Bezooijen, J.V. 2006.** Sampling: Methods and Techniques for Nematology, Publisher, Wageningen University, Netherlands, s. 27-51.
- Boemare, N.E., Akhurst, R.J. 2001.** The genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*: The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community, Editörler: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E., Springer-Verlag, New York, s. 505-515.
- Boemare, N. 2002.** Systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*: Entomopathogenic nematology, Editör: Gaugler, R., CABI Publishing, Wallingford, U.K., s. 35–56.
- Boemare, N., Akhurst, R. 2006.** The genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*: The prokaryotes, Editörler: Dworkin, M., Falkow, S., Springer, New York, s. 451–494.
- 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.
- 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.
- 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. 1993. Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Behavior*, 126: 155–169.

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

Campbell, J.F., Lewis, E.E., Stock, S.P., Nadler, S., Kaya, H.K. 2003. Evolution of Host Search Strategies in Entomopathogenic Nematodes. *Journal of Nematology*, 35(2): 142–145.

Chen, G., Dunphy, G. B., Webster, J. M. 1994. Antifungal activity of two *Xenorhabdus* species and *Photorhabdus luminescens*, bacteria associated with the nematodes *Steinernema* species and *Heterorhabditis megidis*. *Biological Control*, 42: 157–162.

Choo, H.L., Kaya, H.K., Burlando, T.M., Gaugler, R. 1989. Entomopathogenic nematodes: Host-finding ability in the presence of plant roots. *Environmental Entomology*, 18:1136–1140.

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.

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., s. 136–151.

Emelianoff, V., Sicard, M., Brun, N., Moulia, C., Ferdy, J.B. 2007. Effect of bacterial symbionts *Xenorhabdus* on mortality of infective juveniles of two *Steinernema* species. *Parasitology Research*, 100:657–659.

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. PCRribotyping 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.

- Flores-Lara, Y., Rennekar, D., Forst, S., Goodrich-Blair, H., Stock, S. P. 2007.** Influence of nematode age and culture conditions on morphological and physiological parameters in the bacterial vesicle of *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 95: 110–118.
- Forst, S., Dowds, B., Boemare, N., Stackebrandt, E. 1997.** *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: Bugs that kill bugs. *Annual Review of Microbiology*, 51:47–72.
- Forst, S., Clarke, D. 2002.** Bacteria-nematode symbiosis: Entomopathogenic nematology, Editör: Gaugler, R.; CAB International, Wallingford, U.K., s. 57–77.
- Froy, O. 2005.** Convergent evolution of invertebrate defensins and nematode antibacterial factors. *Trends in Microbiology*, 13: 314–319.
- Gaugler, R. 2002.** Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, Wallingford, U.K., s. 393.
- Gordh, G., Headrick, D.H. 2001.** A Dictionary of Entomology. CABI Publishing, Wallingford, U.K., s. 1032.
- 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.
- 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., Moore, J.F., Downes, M.J. 1991.** Occurrence of insect parasitic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae) in the Republic of Ireland. *Nematologica*, 37: 92–100.
- 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., s. 47–64.
- Hazır, C. 2013.** Nematodlar ile böcekler arasındaki ilişki tipleri. *Türk. entomol. bült.*, 3(4): 183-188.
- Hacıfazhoğlu, H. 2011.** Silis kumunun zenginleştirilmesinde kullanılan yöntemler ve flotasyon ile manyetik ayırma yöntemlerinin demir giderimi bakımından karşılaştırılması. *Madencilik*, 50(3): 35 -48.
- Herrera, C., Barbercheck, R., Hoy, M., Stock, S. P. 2012.** Entomopathogenic nematodes as a model system for advancing the frontiers of ecology. *Journal of Nematology*, 44: 162–176.

Hiltbold, 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., 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.

Hominick, W. M., Reid, A. P., Bohan, D. A., Briscoe, B. R. 1996. Entomopathogenic nematodes: Biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity. *Biocontrol Science and Technology*, 63: 317–332.

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

Kaya, H.K. 1990. Soil ecology: Entomopathogenic nematodes in biological control, Editörler: Gaugler, R. Kaya, H.K.; CRC Press, Boca Raton, Florida, s. 93–115.

Kaya, H. K., Gaugler, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Revue de Nematology*, 38:181–206.

Kaya, H.K., Stock, S.P. 1997. Techniques in insect nematology: Manual of Techniques in Insect Pathology, Editör: Lacey, L.A.; Biological Techniques Series, Academic Press, San Diego, California, s. 281–324.

Kaya, H.K., Koppenhöfer, A.M. 1999. Biology and ecology of insecticidal nematodes: Optimal Use of Insecticidal Nematodes in Pest Management, Editör: Polavarapu, S.; Rutgers University, New Jersey, U.S.A., s. 1–8.

Kim, S. K., Flores-Lara, Y., Stock, S. P. 2012. Morphology and ultrastructure of the bacterial receptacle in *Steinernema* nematodes Nematoda: Steinernematidae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110: 366–374.

Kongu, Y., Susurluk, İ.A., 2014. Comparison of virulence of hybridized entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) strains and their parents. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 38(2): 125-134.

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

Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H.K., Vails, P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future?. *Biological Control*, 21: 230–248.

Lewis, E.E., Gaugler, R., Harrison, R. 1993. Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. *Canadian Journal of Zoology*, 71: 765–769.

- 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.
- Lewis, E.E. 2002.** Behavioural ecology: Entomopathogenic Nematology, Editör: Gaugler, R.; CAB International, Wallingford, U.K., 190–205.
- Lewis, E.E., Campbell, J., Griffin, C., Kaya, H., Peters, A. 2006.** Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 38: 66–79.
- 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.
- Maggenti, A.R. 1981.** General Nematology. Springer-Verlag, New York, U.S.A., s. 372.
- 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.
- Miles, C., Blethen, C., Gaugler, R., Shapiro, D., Murray, T. 2012.** Using Entomopathogenic Nematodes for Crop Insect Pest Control. Washington State University publication, Washington, s. 10.
- Moazami, N. 2002.** Biopesticide production. In: *Encyclopedia of Life Support Systems*. EoLSS Publishers, Oxford, U.K., s. 52.
- 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, s. 67.
- Nickle, W.R. 1972.** A contribution to our knowledge of the Mermithidae (Nematoda). *Journal of Nematology*, 4: 113–146.
- Oerke, E.C. 2006.** Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*, 144: 31–43.
- 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.
- Peters, A., Ehlers, R.U. 1994.** Susceptibility of leather jackets (*Tipula paludosa* and *Tipula oleracea*; Tipulidae: Nematocera) to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. *J Inver Path*, 63: 163–171.
- Poinar, G.O. Jr. 1975.** Entomogenous Nematodes. E.J. Brill, Leiden, The Netherlands, s. 317.
- Poinar, G.O. Jr. 1975.** Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae n. fam.). *Nematologica*, 21: 463–470.
- Poinar, G.O. Jr. 1983.** The Natural History of Nematodes. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, s. 323.
- Poinar, G. O. Jr. 1990.** Entomopathogenic nematodes in biological control: Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae, Editörler: Gaugler, R., Kaya, K. H., CRC Press, Boca Raton, Florida, s. 23–74.
- Popiel, I., Hominick, W.M. 1992.** Nematodes as biological control agents 2. *Advances in Parasitology*, 31: 381–433.
- Rasmann, S., Turlings, T.C.J. 2008.** First insights into specificity of belowground tritrophic interactions. *Oikos*, 117: 362–369.
- Riga, E. 2004.** Orientation behaviour: Nematode Behaviour, Editörler: Gaugler, R., Bilgrami, A.L., CABI Publishing, Wallingford, U.K., s. 63–90.
- San-Blas, E., Gowen, S.R. 2008.** Facultative scavenging as a survival strategy of entomopathogenic nematodes. *International Journal for Parasitology*, 38: 85–91.
- Sicard, M., Ramone, H., Brun, N-le., Pages, S., Moulia, C. 2005.** Specialization of the entomopathogenic nematode *Steinernema scapterisci* with its mutualistic *Xenorhabdus* symbiont. *Naturwissenschaften*, 92:472–476.
- Snyder, H., Stock, S. P., Kim, S. K., Flores-Lara, Y., Forst, S. 2007.** New insights into the colonization and release processes of *Xenorhabdus nematophila* and the morphology and ultrastructure of the bacterial receptacle of its nematode host, *Steinernema carpocapsae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 5338–5346.

- Somavanshi, V.S., Ganguly, S., Paul, A.V.N. 2006.** Field efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema thermophilum* Ganguly and Singh (Rhabditida: Steinernematidae) against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) infesting cabbage. *Bio Cont*, 37: 9–15.
- Sommer, R., Ogawa, A. 2011.** Hormone signaling and phenotypic plasticity review in nematode development and evolution. *Current Biology*, 21: 758–766.
- Stock, S. P., Hunt, D. J. 2005.** Morphology and systematics of nematodes used in biocontrol: Nematodes as biocontrol agents, Editörler: Grewal, P. S., Ehlers, R.U., Shapiro-Ilan D., U.S: CABI Publishing, New York, s. 3-47.
- 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, Editör: Lacey L.A., U.S.: Elsevier, Yakima, Washington, s. 373–426.
- Stock, P.S. 2015.** Chapter 1: Diversity, Biology and Evolutionary Relationships: *Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests*, Editör: Herrera, R.C., Springer International Publishing, Switzerland, s. 3-28.
- Susurluk, İ.A., Ünlü, I.O., Kepenekçi, İ. 2003.** Host Finding Behavior of Two Different Turkish Isolates of Entomopathogenic Nematode Species, *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Turk J Biol*, 27: 203-207.
- 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., Ulu, T.C., Kongu, Y. 2013.** Tolerances of hybridized entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) strains to heat and desiccation. *Türk entomoloji dergisi*, 37 (2): 221-228.
- 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.
- Tanada, Y., Kaya, H.K., 1993.** Insect pathology. Gulf Professional Publishing, New York, s. 666.
- 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., Rossman, S. 2012.** The importance of root-produced volatiles as foraging cues for entomopathogenic nematodes. *Plant Soil*, 358: 51–60.

Ulu, T.C., Susurluk, İ.A. 2014. Heat and desiccation tolerances of *Heterorhabditis bacteriophora* strains and relationships between their tolerances and some bioecological characteristics. *Invertebrate Survival Journal*, 11: 4-10.

Wang, G., Han, R., Chen, J., Cao, L. 2007. Combined efficacy of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* and pesticide against *Rhabdoscelus lineaticollis* (Heller). *Chin J Biol Cont*, 23: 218–222.

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

Woodring, J.L., Kaya, H.K. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: a handbook of biology and techniques. Southern cooperative series bulletin 331, Arkansas Agricultural Experimental station, Fayetteville, Arkansas, s. 30.

Wyniger, R. 1962. Pests of crops in warm climates and their control. *Weed Research*, 3(4): 353–371.

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 : İrem YETİŞKİN
Doğum Yeri ve Tarihi : Şahinbey 19.11.1990
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)
Lise : Bursa Hasan Ali Yücel Lisesi (Sayısal) 2007
Lisans : U.Ü. Ziraat Fakültesi, Ziraat Mühendisliği,
Tarla Bitkileri Bölümü, 2013

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

Yayın : **Yetişkin, İ., Susurluk İ.A. 2016.** Entomopatojen Nematod *Heterorhabditis bacteriophora*'nın Bazı Hibrit Irkları İle Ebeveynlerinin, Konukçu Arama Davranışlarının Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalar. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi, 5-8 Eylül 2016, Konya.