

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
2018-YL-023

FARKLI GRUP İNSEKTİSİTLERLE
KONTAMİNE OLMUŞ BÖCEK DOKULARININ
ENTOMOPATOJEN NEMATODLAR
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Esra NALINCI

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Mehmet KARAGÖZ

AYDIN

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Btiki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Esra Nalınca tarafından hazırlanan Farklı Grup İsektisitlerle Kontamine Olmuş Böcek Dokularının Entomopatojen Nematodlar Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi başlıklı tez, 18.06.2018 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof. Dr. Mehmet Karagöz	ADÜ	
Üye :	Prof. Dr. Selçuk HAZIR	ADÜ	
Üye :	Dr. Öğr. Gör. Barış Gülcü	Düzce Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulununsayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY

Enstitü Müdürü

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

.../.../2018

Esra NALINCI

ÖZET

FARKLI GRUP İNSEKTİSİTLERLE KONTAMİNE OLMUŞ BÖCEK DOKULARININ ENTOMOPATOJEN NEMATODLAR ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Esra NALINCI

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet KARAGÖZ

2018, 71 sayfa

Bu tez çalışması entomopatojen nematodların insektisitlerle bir arada kullanıldıklarında ve kontamine böcek dokularıyla beslendiklerinde nasıl etkileneceklerini araştırmıştır. Çalışmada *Steinernema carpocapsae* türüne ait nematodlar ve konukçu böcek olarak *Hyphantria cunea* ve *Galleria mellonella* larvaları kullanılmıştır. Cypermethrin, Spinosad ve Diflubenzuron aktif maddelerinin nematodların canlılık oranları ve infektiviteleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Cypermethrin maddesine maruz kalan infektif juvellerin canlılık oranının %83, kontrol dâhil diğer tüm gruplardaki canlılık oranının ise %93-97 arasında olduğu tespit edilmiştir. İnfektivite oranlarına bakıldığında ise insektisit grupları arasında ve bu gruplarla kontrol arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, insektisite maruz kalan larvalara nematod uygulanmış ve her bir kadavraya giren nematod sayısı, yeni nesil nematodların kadavradan çıkış zamanları ve üreyen toplam yeni nesil nematod sayıları belirlenmiştir. Diflubenzuron ile kontamine olmuş kadvralarda içeri giren nematod sayısı diğer gruplara göre önemli oranda az bulunmuştur. Ancak kadavra başına üreyen nematod sayıları ve kadavradan yeni nesillerin çıkış süreleri göz önüne alındığında gruplar arasında fark olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, entomopatojen nematodlarla insektisitlerin bir arada kullanılabilecekleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik mücadele, Entomopatojen nematodlar, *Steinernema carpocapsae*, Cypermethrin, Spinosad, Diflubenzuron

ABSTRACT

THE EFFECT OF INSECT TISSUES CONTAMINATED WITH DIFFERENT GROUP OF INSECTICIDES ON ENTOMOPATOGENIC NEMATODES

Esra NALINCI

M.Sc. Thesis, Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet KARAGÖZ

2018, 71 pages

This study investigated the effects of 3 insecticides, Cypermethrin, Spinosad or Diflubenzuron on the survival and infectivity of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. Also, the effect of insect tissue contaminated by insecticides on the nematode development and reproduction was assessed. *Hyphantria cunea* and *Galleria mellonella* larvae were used as host insects. The survival ratio of infective juveniles was 83% for cypermethrin and 93-97% for the other insecticides and control. Considering infectivity of the nematodes, there was no significant difference among the treatments. In addition, entomopathogenic nematodes were applied to *H. cunea* larvae contaminated with insecticides and the number of penetrated infective juveniles, time of nematode emergence from the cadavers and total number of new generation infective juveniles were determined. The number of penetrated nematodes was significantly lower in Diflubenzuron treated group than the other treatments and control. However, no significant difference was observed at the time of emergence and the total number of new generation infective juveniles among the treatments including control. As conclusion, it was determined that entomopathogenic nematodes can be used in combine application with insecticides.

Key Words: Biological Control, Entomopathogenic Nematodes, *Steinernema carpocapsae*, Cypermethrin, Spinosad, Diflubenzuron

ÖNSÖZ

Beni tüm destekleri ve sevgileri ile bugünlere getiren, başarılarımla gurur duyan ve daha nice başarılar kazanmam için hep arkamda olan, haklarını ödeyemeyeceğim sevgili annem ve babama,

Lisans ve yüksel lisans eğitimim süresi boyunca bilim konusunda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, manevi desteğini her zaman hissettiren çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Karagöz'e,

Tüm yüksek lisans dönemim boyunca yanında çalıştığım, gerek hayat tecrübelerini gerekse bilimle ilgili faydalı bilgilerini benimle paylaşan çok değerli hocam Prof. Dr. Selçuk Hazır (Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü)'a,

Çalışmamın tüm istatistiksel analizlerinde yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Prof. Dr. İbrahim ÇAKMAK (Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)'a,

Çalışmalarım için larva temininde yardımcı olan sayın Dr. Öğr. Üyesi Barış GÜLCÜ'ye,

Çalışmalarımda her zaman yanımda olan, deneylerim aşamasında bana her türlü destek ve yardımı sağlayan, tüm bilgilerini benimle paylaşan sevgili büyüklerim Arş. Gör. Derya ULUĞ ve Öğr. Gör. Harun ÇİMEN'e,

Çalışmalarımda yardımcı olan laboratuvar arkadaşlarım Şebnem Hazal Gülşen ve Mustapha Touray'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Esra NALINCI

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. Nematodların Genel Özellikleri	2
1.2. Entomopatojen Nematodlar.....	3
1.2.1. Entomopatojen Nematodların Hayat Döngüleri.....	4
1.2.2. Entomopatojen Nematod - Bakteri İlişkisi.....	5
1.2.3. Entomopatojen Nematodların Konukçu Dağılımları	6
1.3. Entomopatojen Nematodları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler.....	6
1.3.1. Biyotik Faktörler	6
1.3.2. Doğal Düşmanlar.....	6
1.3.3. Yağmacılar ve Yağmacı uzaklaştırıcı Faktörler	7
1.3.4. Rekabet.....	7
1.3.4.1. Antibiyosiz	7
1.3.5. Abiyotik Faktörler	8
1.3.5.1. Nem	8
1.3.5.2. Sıcaklık.....	8
1.3.5.3. Toprak Yapısı.....	8
1.3.5.4. Ultra Viole Işınları (UV).....	9

1.3.5.5. pH.....	9
1.3.5.6. Oksijen.....	9
1.3.7. Tuzluluk.....	9
1.3.5.8. Kimyasal Pestisitler.....	10
1.4. Kimyasal İnektisitler.....	11
1.4.1. Sentetik Piretroitli Bileşikler.....	12
1.4.2. Benzoyl Üreler.....	12
1.4.3. Diğerleri.....	12
1.4.4. Diflubenzuron (C ₁₄ H ₉ N ₂ O ₂ F ₂ Cl).....	13
1.4.5. Diğerleri.....	13
1.4.5.1. Spinosad (C ₄₁ H ₆₅ NO ₁₀ (spinosyn A)+ C ₄₂ H ₆₇ NO ₁₀ (spinosyn D))... 13	
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Konukçu Böcek Larvalarının Elde Edilmesi.....	19
3.2. Entomopatojen Nematodların Üretimi.....	19
3.3. Deneylerde kullanılacak insektisitlerin hazırlanması.....	21
3.4. Kimyasal insektisitlere maruz kalan infektif juvenillerin canlılık ve infektivite oranlarının belirlenmesi.....	21
3.5. Canlı ve ölü larvalar içerisinde giren nematod ve her bir kadavrada oluşan yeni nesil infektif juvenil sayılarının belirlenmesi.....	22
3.6. Dokularında insektisit bulunan böceklerin entomopatojen nematodlar üzerindeki etkileri.....	23
3.6.1. Deney Düzenineğinin Hazırlanması.....	23
3.6.2. Kadavra başına içeri giren nematod sayısının belirlenmesi.....	27
3.6.3. Üreyen yeni nesil nematodların kadvradan çıkış sürelerinin ve kadavra başına üreyen nematod sayılarının belirlenmesi.....	28
3.7. İstatistiksel Analizler.....	29

4. BULGULAR	30
4.1. Kimyasal maddelere maruz kalan infektif juvenillerin canlılık ve infektivite oranları.....	30
4.2. Canlı ve ölü larvalar içerisinde giren nematod ve her bir kadavrada oluşan yeni nesil infektif juvenil sayıları.....	31
4.3. Dokularında insektisit bulunan böceklerin entomopatojen nematodlar üzerindeki etkileri.....	32
4.3.1. Kadavra başına içeri giren nematod sayısı.....	32
4.3.2. Üreyen yeni nesil nematodların kadvradan çıkış süreleri.....	33
4.3.3. Kadavra başına üreyen yeni nesil nematod sayıları	34
TARTIŞMA VE SONUÇ	35
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrad derece
IJ	: İnfektif Juvenil
°C	:Santigrad derece
Cm	: Santimetre
L	: Litre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
Ph	: Power of Hydrogen
Sp	: Tür
UV	: Ultraviolet
EPN	: Entomopatojen nematodlar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Toplanan <i>H. cunea</i> larvaları	19
Şekil 3.2. Enfekte kadavraların konulduğu White-trap sistemi	20
Şekil 3.3. Doku kültür kabı (175 ml).....	22
Şekil 3.4.Hazırlanan insektisit düzenekleri	23
Şekil 3.5. Deneylerde kullanılacak dallı yaprakların bulunduğu düzenek.	24
Şekil 3.6. Dut yapraklarına insektisit uygulanması.	24
Şekil 3.7. Larvaların kaplara eklenmesi	24
Şekil 3.8. 24 saat sonrasında larvaların ve bitkilerin durumu	25
Şekil 3.9. Doku kültür kapları ve nematod süspansiyonunun hazırlanması	26
Şekil 3.10. Her bir gözeneğe nematodların verilmesi	26
Şekil 3.11. 24 gözenekli doku kültür kapları.....	27
Şekil 3.12.Kadavraların parçalanması.....	27
Şekil 3.13. Pepsin solüsyonunda parçalanan larvalardaki nematodların sayımı	28
Şekil 4.1. İnsektisitlere doğrudan maruz bırakılmış infektif juvenil evre nematodların canlılık oranı.	30
Şekil 4.2. Farklı insektisite maruz kalan nematodların meydana getirdiği larva ölüm oranları (%).....	31
Şekil 4.3. Kadavra başına içeri giren nematod sayısı	32
Şekil 4.4. Larva içerisinde üreyen yeni nesil nematodların kadavradan çıkış süreleri	33
Şekil 4.5. Kadavra başına üreyen yeni nesil nematod sayıları	34

1. GİRİŞ

Tarım sektörü, çeşitli besin maddelerini üreten, bu maddeleri işleyerek besin maddelerini çeşitlendiren, bireylerin de bu maddelere olan ihtiyacını karşılayan dolayısı ile toplumların sağlığı ve kalkınması üzerinde önemli etkiye sahip bir sektördür. İnsanoğlunun hayatını devam ettirebilmesi için besin ihtiyacı vazgeçilmez bir unsurdur. Tarım, ülkemiz ekonomisinde de çok önemli bir yere sahiptir. Birçok farklı ekolojik özellikleri barındıran bölgelere sahip olan ülkemizin her kısmında kendine özgü ürünler yetiştirilmektedir.

Tarımda hastalık, zararlı ve yabancı otlar bitkisel üretimi ekonomik düzeyde olumsuz olarak etkilemektedir. Tarımsal üretimin artması, bitkilerin korunması ve ürünün kalitesinin yükselmesi amacıyla zararlılara karşı farklı mücadele yöntemleri uygulanmaktadır. Bu yöntemler arasında bulunan kimyasal mücadele, kolay uygulanabilmesi, maliyetinin düşük olması ve sonucun kısa sürede alınması nedeniyle diğer mücadele yöntemlerine oranla daha fazla tercih edilmektedir (Anonymous, 2008). Faydaları olduğu gibi zararları da olan bu yöntemde kimyasalların uzun süreli kullanımı sonucunda böceklerde belli bir süre sonra direnç oluşumu ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucunda da ya daha yüksek dozda kimyasal ilaç uygulanmakta ya da kullanılan ilaçların çeşitliliği arttırılmaktadır. Yaygın pestisit kullanımının hayvan ve insan sağlığını tehdit etmesi, gıda maddelerinde ilaç kalıntısı bırakması, çevreyi kirletmesi, yer altı su kaynaklarına karışması ve zararlı böceklerin zamanla direnç kazanması nedeniyle kimyasal mücadeleye alternatif olarak çevreyle dost biyolojik mücadele yöntemleri geliştirilmektedir.

Biyolojik mücadele zararlı popülasyonlarının baskılanmasında, yoğunluğunun ve zarar seviyesinin azaltılmasında parazitoid, predatör, patojen, antagonist veya rekabetçi popülasyonların kullanılmasıdır (Waterhouse ve Norris, 1987). Günümüzde biyolojik mücadele, entegre zararlı mücadele (IPM) programının temelini oluşturmaktadır (Gaugler vd., 1997).

Yaygın şekilde kullanılan insektisitler hedef zararlı böcek dışında kalan diğer organizmaları da etkileyebilmektedir. Bu durum kimyasal maddeye doğrudan maruz kalarak olabildiği gibi, dolaylı yoldan da gerçekleşebilmektedir. Özellikle insektisitle enfekte olan böcekleri besin maddesi olarak kullanan faydalı organizmalar (örneğin; predatör, parazitoid ve entomopatojen nematodlar)

uygulanan birçok kimyasala dolaylı olarak maruz kalmaktadır. Bu olay sonucunda predatör ve parazitoid gibi doğal biyolojik mücadele ajanları hayatını kaybedebilmektedir. Entomopatojen nematodlarda ise maruz kalınan insektisitlerin etkileri predatör ve parazitoidlerdeki gibi bariz ve net değildir (Shapiro-Ilan vd. 2006)

Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarında yer alan nematodlara “entomopatojen nematodlar” adı verilmektedir. Biyolojik mücadele ajanı olarak bilinen bu nematodlar zorunlu böcek paraziti olup, böcekler dışında başka hiçbir canlıyı enfekte edemezler (Brunel ve Stock., 2000). Zararlı böceklerin kontrolünde kullanılan entomopatojen nematodlar kalıntı ve kirlilik gibi yan etkiler bırakmamakta, dolayısıyla da çevre ve insan sağlığına hiçbir olumsuz etki yapmamaktadır. Bu nedenle bazı entomopatojen nematod türlerinin kitle üretimleri yapılmakta, birçok ülkede ticari olarak satılmakta ve biyolojik mücadele çalışmalarında başarıyla kullanılmaktadır (Gaugler ve Kaya, 1990).

1.1. Nematodların Genel Özellikleri

Nematodlar; boyutları mikrometre ile birkaç metre arasında değişen silindirik yapılı ve uzun vücut yapısına sahip canlılardır. Vücut yapılarından dolayı genellikle ipliksi solucanlar veya yuvarlak solucanlar olarak isimlendirilirler. Ayrıca tatlı sulardan denizlere, sıcak su kaynaklarından buzullar ve çöller gibi ekstrem ortamlara kadar oldukça geniş bir habitat dağılımına sahip ekstrem canlılardır (Stock vd., 2009).

Üreme, sindirim, sinir, boşaltım ve kas sistemleri olan ancak özelleşmiş bir dolaşım ve solunum sistemleri olmayan segmentsiz canlılardır. Nematodlar çoğunlukla aerobik organizmalardır. Vücut şekilleri özel bir solunum ve dolaşım sistemi olmaksızın uygun oksijenin vücut duvarından alınıp organlara aktarılmasına izin verir (Poinar, 1983). Yalancı tip vücut boşluğuna sahip olduklarından iç içe geçmiş 2 tüp şeklinde olan vücut yapısına sahiplerdir (Koppenhöfer, 2007). Solunumlarını gazlara geçirgen olan nemli vücut yüzeyleri ile yaparlar. Dolaşım sisteminde ise, yalancı tip vücut boşluklarının fonksiyonu görülmektedir (Koppenhöfer, 2000).

Erkeklerin üreme sistemlerinde 1 ya da 2 testisleri vardır ve çiftleşme organı olarak bir çift spiküle sahiplerdir. Ergin dişilerde ise 1 veya 2 ovaryum

bulunmaktadır ve bunlar vücudun orta kısmında çiftleşme organı olarak görev yapan vulva ile dışarı açılırlar (Kaya ve Stock, 1997).

Nematodların vücut yüzeyinde bariyer olarak işlev gören ve canlı olmayan elastik bir kütikula bulunmaktadır. Bu kütikula nematodları abiyotik (toprak partikülü gibi) ve biyotik (patojen, parazit ve predatör gibi) faktörlere karşı korur. Sıvıların nematodun vücudu içerisi ve dışarısına geçiş hareketine izin veren bu kütikula yarı geçirgen bir membran özelliğindedir. Stoma, rektum, vulva, kloak, farinks, boşaltım deliği ve bazı duyu organlarını barındıran kütikula nematodun tüm vücut yüzeyini sarar. Böylece nematod ile çevresi arasında doğrudan ilişki kurulabilir (Chen vd., 2004).

Nematodların büyük bölümü genellikle bakteri, fungus ve diğer mikroskobik organizmalarla beslenirler. Ancak az bir bölümü bitki ve hayvanlarda fakültatif veya zorunlu parazit olarak yaşar. Ayrıca nematodlar böceklerle yakından ilişkililerdir ve zararlı böceklerin kontrolünde aktif olarak kullanılırlar (Kaya ve Stock, 1997). Şimdiye kadar böceklerle ilişkili 30'dan fazla nematod familyası tanımlanmıştır. Bu familyalardan 7 tanesinde [(Mermithidae ve Tetradonematidae (Ordo: Stichosomida); Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae ve Sphaerulariidae (Ordo: Tylenchida); Heterorhabditidae ve Steinernematidae (Ordo: Rhabditida)] bulunan türler böceklerle biyolojik mücadelede kullanılma potansiyeline sahiptir (Stock ve Hunt, 2005; Koppenhöfer, 2007). Ancak günümüzde yalnızca Heterorhabditidae ile Steinernematidae familyalarına ait nematodlar mikrobiyal insektisit olarak kullanılmaktadırlar ve dünya genelinde pek çok firma tarafından ticari olarak üretilmektedir. Bu nedenle bu iki familyada bulunan nematodlara “entomopatojen nematodlar” adı verilmiştir (Koppenhöfer, 2007).

1.2. Entomopatojen Nematodlar

Entomopatojen nematodlar, doğal yaşam alanları toprak olan, konukçularını aktif olarak arayıp bulma özelliğine sahip olan zorunlu böcek patojenidirler. Böceklerde zarar oluşturmaları bakımından ekonomik öneme sahip birçok kültür bitkisi ve toprak altı zararlısının kontrolünde kullanılırlar (Kaya ve Gaugler, 1993).

Steinernematidae familyasında, *Steinernema* ve *Neosteinernema* olmak üzere 2 cins, Heterorhabditidae familyasında ise sadece *Heterorhabditis* cinsi

bulunmaktadır. Günümüzde *Steinernema* cinsine ait 102, *Neosteinernema* cinsine ait 1 ve *Heterorhabditis* cinsine ait ise 17 tür teşhis edilmiştir (Gulcu vd., 2017). *Steinernema* cinsine ait nematodlar *Xenorhabdus*, *Heterorhabditis* cinsine ait nematodlar ise *Photorhabdus* cinsi bakterilerle mutualistik ilişki içerisinde (Hazir vd., 2003; Boemare, 2002). Steinernematid'lerde bakteriler özofagusun kaidesinde bulunan özel bir kese içerisinde taşınırken; *Heterorhabditis*'lerde bakteriler bağırsak içerisinde ve dağılmış olarak bulunur (Ciche vd., 2006).

Aslında nematodlar parazitik canlılardır. Bu nematodların "entomopatojen" olarak adlandırılmalarının nedeni, sahip oldukları mutualistik bakteriler sayesinde konukçularını öldürüyor olmalarıdır (Kaya ve Stock, 1997; Goodrich Blair ve Clarke, 2007).

1.2.1. Entomopatojen Nematodların Hayat Döngüleri

Genel olarak tüm entomopatojen nematodlar toplamda 6 evreli ve benzer hayat döngüsüne sahiplerdir. Bu evreler sırayla yumurta, 4 farklı larva (böceklerle karışmaması için nematodlarda larva yerine juvenil terimi kullanılmaktadır) ve ergin dönemlerdir. Toprakta konukçuyu arayıp bulma ve enfekte etme özelliğine sahip olmasından dolayı 3. juvenil döneme "infektif juvenil" adı verilmektedir. Bu dönem konukçu böcek dışında yani toprakta bulunan tek evredir. İnfektif juveniller toprak içerisindeyken ağız ve anüsleri kapalıdır. Dolayısıyla beslenmez ve üreyemezler. Sıcaklık, toprak yapısı ve nem gibi çevresel şartlar uygun olduğunda bir yıl kadar canlılıklarını koruyabilirler (Kaya ve Gaugler, 1993). Toprak içerisinde konukçularını genellikle böceklerin solunumu sonucu çıkardığı karbondioksit ve dışkılarından çıkan kokuları takip ederek bulurlar. Uygun bir konukçu bulduklarında ağız, anüs, stigma gibi böceğin doğal açıklıklarını kullanarak hemosöl içerisine girerler. Bazı durumlarda eğer konukçunun kütikülası inceyse fiziksel kuvvet uygulayarak deriyi delme yoluyla da böcek hemosölüne girebilirler (Shapiro-Ilan vd. 2017). Hemosöle giriş yapan infektif juveniller kapalı olan ağız ve anüslerini açarlar. Mutualistik bakterilerini hemosöl içerisine salmadan önce böcek immün sistemini inaktif hale getirmek için nematodlar kemotripsin proteaz (Balasubramanian vd., 2009), serpin (Toubarro vd., 2013) ve venom proteinler salarlar (Lu vd., 2017). Böylece böcek savunma sisteminin salınacak olan mutualistik bakterileri ortadan kaldırmasını engellemiş olurlar (Lewis vd., 2015; Shapiro-Ilan vd., 2017). Daha sonra Steinernematid familyasına ait infektif juveniller bakterileri anüsten, *Heterorhabditidae* familyasına ait olanlar

ise ağızlarından salarlar (Ciche ve Ensign,2003; Ciche ve ark., 2006). Besince zengin olan böcek hemosölü içerisine geçen bakteriler burada hızla üremeye, çeşitli enzim ve toksinler üretmeye başlarlar. Böcek immün sistemini tamamen inhibe eden bu olay sonucu konukçu böcek 24-48 saat gibi kısa süre içerisinde septisemi ve toksemi sonucu ölür (Lewis vd., 2015; Shapiro-Ilan vd., 2017). *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterileri ürettikleri enzimler sayesinde böcek dokularını parçalayıp nematodlar için uygun hale getirir (Forst ve Clarke, 2002; Clarke ve Eberl, 2006). Konukçu içerisinde hem böcek dokusu hem de üreyen kendi mutualistik bakterileri üzerinden beslenen nematodlar 4. evreye (J4) ve ardından ergin dişi ve erkek bireylere dönüşürler (Heterorhabditlerde ise ilk jenerasyonda ortaya çıkan tüm bireyler hermafrodittir). Ergin hale geldikten sonra çiftleşme davranışını gerçekleştirmiş olan dişi bireyler döllenmiş olan yumurtalarının bir kısmını konukçu içerisine bırakır ancak büyük bölümünü kendi uterusunda bekletir. Yumurtadan çıkan ve gelişimini tamamlamış olan yeni nesil nematodlar konukçu dokusuyla veya ergin dişinin vücuduyla beslenirler (Griffin vd., 2005). Besinleri tükenene kadar üremeye devam eden nematodlar besin miktarına bağlı olarak 1-3 jenerasyon meydana getirirler. Böcek dokularındaki besin miktarı önemli ölçüde azaldığında infektif juvenil evreye dönüşen nematodlar konukçuyu terk ederek dışarı çıkar ve toprak içerisinde kendilerine uygun yeni konukçular aramaya başlarlar (Hazir vd., 2003).

1.2.2. Entomopatojen Nematod - Bakteri İlişkisi

Her entomopatojen nematod türü spesifik bir bakteriyel simbiyont ile ilişkilidir. Ancak bir bakteri birden çok nematod türüyle mutualistik ilişkili olabilmektedir (Lewis vd., 2015). *Xenorhabdus* spp. ve *Photorhabdus* spp. Enterobacteriaceae familyasına ait, hareketli, gram negatif, fakültatif anaerob ve çubuk morfolojili bakterilerdir (Boemare, 1996).

Xenorhabdus ve *Photorhabdus* bakterileri nematod ve konukçu böcekleri dışındaki bir ortamdan bugüne kadar izole edilememiştir. Buda bu bakterilerin doğada serbest yaşayamadıklarını göstermektedir. Nematod-bakteri ortak yaşamında, bakteriler dış ortamdan korunmakta ve ancak nematod vektörlüğünde böcek hemosölü içerisine ulaşabilmektedir. Nematodlar ise konukçu böceklerin öldürülmesinde, böcek dokularının kullanılabilir besin haline dönüştürülmesinde ve besince zengin kadavranın yağmacılardan korunması işlemlerinde bakterilere bağımlıdır. Ayrıca nematodlar, üreyen mutualistik bakterileri de besin olarak

tüketmektedirler (Boemare ve Akhurst, 2006). Böylece her iki tarafta bu yaşam şeklinde birbirine bağımlıdır (Boemare, 2002; Griffin vd., 2005; Adams vd., 2006).

1.2.3. Entomopatojen Nematodların Konukçu Dağılımları

Laboratuvar koşullarında araştırmaları yapılan entomopatojen türlerin geniş böcek grubunu enfekte ederek etki gösterdiği saptanmıştır (Poinar, 1990). Laboratuvar ortamında çevre koşullarının optimum olmasından dolayı nematodların etkinliğini azaltacak olumsuz bir etken bulunmazken, doğal habitat koşullarında yapılan çalışmalarda konukçu dağılımının azaldığı gözlenmiştir (Peters, 1996).

Bazı nematod türlerinin enfekte edebildiği özelleşmiş bir böcek grubu bulunmasına rağmen, bazı türlerin çok geniş konukçu dağılımları bulunabilmektedir. Örneğin; bazı Steinernematid ve Heterorhabditid'ler poliokseniktir. Laboratuvar ortamında oldukça fazla çalışma yapılan *S. carpocapsae* Weiser türünün 250'den fazla böcek türünde etkili olduğu, benzer şekilde *H. bacteriophora* Poinar türünün de geniş bir konukçu dağılımına sahip olduğu gözlenmiştir (Poinar,1990; Koppenhöfer, 2000). Ancak, *S. scapterisci* türüne ait nematodlar sadece ortoptera takımından Gryllotaphidae familyasını enfekte ederken, *S. scarabaei* ve *S. kushidai* türleri daha çok Scarabaeidae familyasının larvalarına etkilidir (Tanada ve Kaya,1993; Koppenhöfer ve Fuzy, 2003).

1.3. Entomopatojen Nematodları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler

1.3.1. Biyotik Faktörler

Entomopatojen nematodları ve sahip oldukları mutualistik bakterilerini antagonistik olarak etkileyen önemli abiyotik faktörler bulunmaktadır. Bu faktörleri; antibiyozis, rekabet, doğal düşmanlar ve yağmacılar olarak genel bir gruba ayırmak mümkündür (Kaya, 2002).

1.3.2. Doğal Düşmanlar

Entomopatojen nematodların doğal düşmanları arasında en çok çalışılan ve dikkat edilmesi gereken grup entomopatojen funguslardır. Bu gruba örnek olarak;

Hirsutella rhossiliensis fungusu verilebilir (Jaffee ve Strong, 2005). Entomopatojen nematodlar çoğunlukla akarlar olmak üzere farklı enfekte kadavra yağmacılarına karşı da oldukça duyarlıdırlar (Karagoz vd., 2007; Cakmak vd., 2013).

1.3.3. Yağmacılar ve Yağmacı Uzaklaştırıcı Faktörler

İnfektif juvenil evreye dönüşen entomopatojen nematodlar konukçuyu terk ederek dışarı çıkar ve toprak içerisinde uygun konukçu bulana kadar aramaya devam eder. Bu dönemde toprakta, karınca, kriket, akar, hamamböceği, yaban arısı, yırtıcı böcek ve kuş gibi yağmacılar yüzünden tüketilme tehlikesi altındadırlar. Entomopatojen nematodların mutualistik bakterileri sayesinde bu kadvralar, birçok yağmacıdan korunmaktadır. Bunun sebebi olarak simbiyotik bakterilerin (*Xenorhabdus* ve *Photorhabdus*) uzaklaştırıcı caydırıcı bir faktör üretmesi gösterilmektedir (Baur vd., 1998; Fenton vd., 2011; Foltan ve Puza, 2009; Gulcu vd., 2012; Lewis vd., 2015).

1.3.4. Rekabet

Böcekler birçok organizma için savunmasız gıda kaynağıdır. Bu sebeple besin kaynağı olan böceklere sahip olmak için organizmalar arasında bir rekabet olmaktadır. Rekabetin sonucu genellikle antagonisttir ve bu türlerin yok olmasına neden olur. Bir böcek kadvrasına giren IJ'lerin sayısı, optimum seviyeyi aştığında gelişen nematodlar arasında kadvradan ortaya çıkacak ve toplam soyu azaltacak içsel rekabet ortaya çıkmıştır yeniden (Alatorre-Rosas ve Kaya, 1990; Sicard vd., 2006).

1.3.4.1. Antibiyosiz

Bitki kökleri sadece toprak üstüne etkili değildir, aynı zamanda entomopatojen nematodların dağılımını ve konukçu bulmasını da etkiler. Kökler böcekler tarafından saldırıya uğradığında, zarar görmüş köklerden ortaya çıkan kimyasallar entomopatojen nematodların konukçuyu bulmasında olumsuz etkiye sebep olmaktadır (Boff vd., 2001; Boff vd., 2002; Rasmann vd., 2005). Aynı zaman da ek olarak yapılan çalışmalar, bitki köklerinden çıkan uçucu maddelerin entomopatojen nematodların yayılımını ve çeşitli ortamlarda artan biyolojik kontrol aktivitesini etkilediğini göstermiştir (Ali vd, 2012; Hiltbold ve Turlings, 2012; Willett vd., 2015).

1.3.5. Abiyotik Faktörler

Abiyotik faktörler nematod varlığını etkileyen sıcaklık, nem, toprak yapısı, UV, pH, tuzluluk ve kimyasal pestisitler gibi maddeleri içine almaktadır.

1.3.5.1. Nem

İnfektif juvenillerin canlı kalabilmesinde nem en temel faktördür (Kaya, 1990). Nem miktarının belirli bir miktar azalması durumunda infektif juveniller inaktif evreye geçer ve düşük nem oranlarında canlılıklarını bir süre devam ettirirler (Womersly, 1990; Potel vd. 1997; Solomon vd. 1999). Nem faktörü aynı zamanda nematodların hareket performansını da olumlu şekilde etkilemektedir. İnce bir tabaka halindeki su filmleri, nematodların hareket etmesini kolaylaştırarak nematodların toprak içerisinde bir yerden başka bir yere gitmesinde görev alırlar (Kung vd. 1991; Brown ve Gaugler, 1997).

1.3.5.2. Sıcaklık

Sıcaklık, entomopatojen nematodların infektivitesini, konağı öldürme zamanını, gelişimini, üremesini ve saklanmasını etkiler (Grewal vd. 1994; Koppenhöfer ve Kaya; 1999). Sıcaklığın etkisi nematodların yaşam süreleri üzerinde, nematodun türü ve izolatna bağlı olarak farklılık göstermektedir (Grewal vd., 1994). Genellikle 0°C'nin altı ve 40°C'nin üstü pek çok tür için (sıcaklıkla karşı karşıya kaldığı süreye bağlı olarak) öldürücü olabilir (Brown ve Gaugler, 1996). Toprakta aşırı sıcaklığa maruz kalan nematodlar toprağın derin kısımlarına giderek kendilerini zararlı etkiden kurtarmaya çalışırlar. Birçok tür için optimum sıcaklık koşullarının 5°C - 15°C arasında olduğu saptanmıştır (Koppenhöfer ve Kaya, 1999). Yüksek sıcaklıkların zararı; canlılığın metabolitik aktivitesini arttıracığından ve enerji rezervlerinin tamamını tüketmesine yol açacağından dolayı yaşam süresini kısaltmasıdır (Koppenhöfer, 2000).

1.3.5.3. Toprak Yapısı

Toprağın yapısı, havalandırmayı, nem miktarını, bitki için gerekli besinlerin varlığını, içinde yaşayan mikroorganizmaların hareketlerini ve bitki büyümesini etkileyen faktördür (Kaya,1990). Entomopatojen nematodların yaşam süreleri farklı toprak yapılarına göre değişmektedir. İnce taneli topraklarda canlı kalma ve yayılma olasılıkları düşüktür. Killi topraklar, ağır topraklardır ve por boşlukları

küçük olduğu için bünyelerinde O₂ miktarını az bulundururlar. Bu nedenle de entomopatojen nematodların etkinliğine pek elverişli değildirler. Kumlu-tınlı ve kumlu topraklarda ise büyük por boşlukları bulunduğundan dolayı çok iyi havalandırma sağlanmaktadır. Böylece bu tür toprak tekstürüne sahip ortamlarda nematod varlığı artmaktadır (Kung vd., 1990).

1.3.5.4. Ultra Viole Işınları (UV)

Entomopatojen nematodların hayatta kalma sürelerini veya çoğalmasını olumsuz şekilde etkileyen önemli özelliklerden bir diğeri de UV ışınlarına maruz kalma durumlarıdır. (Gaugler vd., 1992; Fujiie ve Yokoyoma,1998.) Entomopatojen nematod tür ve izolatları arasında UV toleransı bakımından önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Örneğin, *S. carpocapsae*'nin diğer suşlara veya türlere göre daha yüksek düzeyde UV toleransı sergilediği gözlenmiştir (Shapiro-Ilan vd., 2015). UV ışınlarına doğrudan maruz kalmayı önlemek için IJ uygulamalarını sabahın erken saatlerinde yapılması önerilmektedir (Shapiro-Ilan vd., 2012).

1.3.5.5. pH

Ekosistemin birçok bölgesinde toprak pH değeri 4-8 aralığındadır. Bu değer aralığı entomopatojen nematodların yaşamı üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir. Ancak, pH değeri 10 veya üstüne çıktığında veya 1-2'ye düştüğünde zararlı etki oluşabilmektedir (Kung vd.,1990).

1.3.5.6. Oksijen

Oksijeni az miktarda bulduran ve yoğun şekilde suya doymuş topraklarda sınırlayıcı bir faktör olarak bilinmektedir (Kaya,1990). Aslında killi topraklarda nematodların yaşayamamasının asıl nedeni küçük toprak partikülleri arasındaki oksijen yetersizliğidir (Kung vd.,1990).

1.3.7. Tuzluluk

Tuzluluk entomopatojen nematodların canlılığı açısından önemli bir etkidir. Yüksek oranda NaCl konsantrasyonunun (>16 dS/m) *S.glaseri* türünde canlılık açısından olumsuz etki göstermediği ancak *H. bacteriophora* türü üzerinde olumsuz etkisi olduğu gözlenmiştir (Graham vd., 1994). CaCl₂ ve KCl nematod türleri üzerinde etkili değildir. Okyanus yakınlarında ki bölgelerden sıklıkla

Heterorhabditis izolasyonunun yapılmasının nedeni muhtemelen deniz suyunun Heterorhabdit türleri üzerinde negatif etkisinin olmamasıdır (Griffin vd., 1994).

1.3.5.8. Kimyasal Pestisitler

Entomopatojen nematoların, pestisitler, gübreler gibi kimyasal bileşikler ve diğer biyolojik kontrol ajanları ile kültürel teknikler yoluyla yapılan kombinasyonları entegre zararlı mücadelesinde önerilen bir yöntemdir (Duncan, 2013). İki farklı kontrol ajanının bir arada kullanımı antagonistik, sinerjistik veya arttırıcı etkileşim tiplerinden biriyle sonuçlanmaktadır. Arttırıcı bir etki gözlemlendiğinde kullanılan kontrol ajanlarının birbirine etkileşimi yok demektir ve her biri diğerinden bağımsız şekilde etkisini göstermektedir. Ancak, iki kontrol ajanı arasında daha az veya daha çok etkileşim varsa antagonistik veya sinerjistik etki ortaya çıkmaktadır. Sinerjistik etki, iki farklı mücadele ajanının bir araya gelmesiyle ortaya çıkan etkinin bu ajanların tek tek kullanımında ortaya çıkandan daha fazla olduğu durumu tanımlamak için kullanılır (Koppenhöfer ve Grewal, 2005). Bu durumun tersi ise antagonistik etkiyi göstermektedir. Ancak sinerjistik veya antagonistik etkileşimleri gözlemleyebilmek için her bir mücadele ajanının neden olduğu ölüm oranının istatistiksel olarak anlamlı gelişmelerin ortaya çıkmasına izin verecek kadar düşük olması gerekmektedir (Koppenhöfer ve Grewal, 2005). Entomopatojen nematodların diğer bazı ajanlarla birlikte kullanımı sinerjistik etkileşimle sonuçlanmaktadır ve bu durumda zararlının kontrol altına alınma başarı yüzdesi artmaktadır. Kimyasal inseksitlerle (örneğin; carbaryl, chlorpyrifos, dimethoate, endosulfan, fonofos, tefluthrin ve imidacloprid) nematodların kombine edilmesi sonucu sinerjistik etki ortaya çıkabilmektedir (Koppenhöfer ve Kaya, 1998; Nishimatsu ve Jackson, 1998; Alumai ve Grewal, 2004; Koppenhofer ve Grewal, 2005; Koppenhöfer ve Fuzy, 2008; Shapiro-Ilan vd., 2011). Bununla birlikte, formülasyonlarda bulunan bazı kimyasal adjuvantlar ve bazı insektisitler (örneğin; abamectin, acephate, aldicarb, dodine, fenamiphos, methomyl, parathion, and Teflubenzuron) nematodlar için toksik olabilmektedir (Krishnayya ve Grewal, 2002; Koppenhöfer ve Grewal, 2005). Kimyasal pestisitler ile entomopatojen nematodlar arasındaki ilişki kimyasalın özelliğine, nematodun türüne veya izolatına, kimyasalın dozuna ve uygulama zamanına göre farklılık göstermektedir (Benz, 1971; Koppenhöfer ve Grewal, 2005). Bu nedenle hazırlanacak olan kombinasyonlar her defasında duruma göre test edilmelidir. Ancak entomopatojen nematodların kimyasal nematisitler ile birlikte kullanılmaması gerekmektedir. Sonuç olarak entomopatojen nematodların tarım ilaçlarıyla birlikte karıştırılması

sonucu canlılıklarını ve etkinliklerini koruyabilmeleri çok büyük avantaj olup ekonomik zarar eşiği kapsamında kimyasal mücadele ile birlikte kullanılabilirler. Ancak, insektisit bulunan tanka karıştırılarak araziye uygulanacak olan entomopatojen nematodların ilaçlama tankında 24 saatten fazla bekletilmemesi önerilmektedir (Ulu vd., 2016).

1.4. Kimyasal İsektisitler

Pestisitler; pest (haşerat) adı verilen zararlı organizmaları engellemek, zararlarını azaltmak veya kontrol altına almak amacıyla kullanılan bileşiklerdir (Özkaya vd., 2013). İsektisitler ise pestisitlerin bir alt grubu olup zararlı böceklerle mücadelede kullanılan kimyasallara verilen genel bir ad'dır (Yamanel ve Çakır, 2004).

Kimyasal insektisitlerin hepsi nörotoksikandır ve hedef organizma olan böceklerin merkezi sinir sistemleri üzerinde etki göstererek öldürürler (O'Brien, 1974). Sinir sisteminde sodyum, potasyum ve klorür iyonlarının membran iletimine etki ederek, sinir uçlarındaki kimyasal nörotransmitterleri etkileyerek veya spesifik enzimleri inhibe ederek etkilerini gösterirler. Böceklerin merkezi sinir sistemleri (MSS) ve perifer sinir sistemleri (PSS) memelilerinkine benzediği için çok gelişmiştir. Bu nedenle insektisitlerin hedef aldıkları organlar ve toksik etki mekanizmaları tüm böcek türlerinde aynıdır. Toksik etkinin şiddeti alınan dozla doğrudan orantılıdır (Vural, 2005).

İsektisitler etki şekillerine göre; bitkilerde sistemik, yarı sistemik ve sistemik olmayanlar şeklinde; zararlılar da ise sindirim (mide zehiri), temas (değme zehiri) ve solunum zehirleri şeklinde gruplandırılır. Bileşimindeki etkili madde gruplarına göre; inorganik maddeler, bitkisel maddeler, yağlar, klorlandırılmış hidrokarbonlar, organik fosforlar, karbamatlı bileşikler, sentetik piretroidler, mikrobiyal insektisitler, böcek büyüme regülatörleri, fumigantlar, neonikotinoitler, benzoyl üreler ve diğerleri şeklinde sınıflandırılır (Yıldırım, 2012; Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008).

İsektisitler yaygın olarak 4 ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar; (a) Organoklorinler (Organik Klorlular), (b) Piretroidler, (c) Karbamatlar ve (d) Organofosfatlar (Organik Fosforlar) olarak adlandırılabilir (Ishaaya, 2000).

1.4.1. Sentetik Piretroitli Bileşikler

Işığa dayanıklı sentetik piretroidler 1973 yılında sentezlenmiş ve tarımsal zararlılara karşı kullanılmaya başlanmıştır (Yıldırım,2012). Piretrum su ve güneş ışığında kolay bir şekilde hidroliz ve fotolize uğradığı için kendiliğinden parçalanır ve hızlı bir şekilde bozular. Bu nedenle sentetik analogları olan piretroidler geliştirilmiştir. (Klaassen,2001). Sıcakkanlılara etkilerinin düşük olması (Tuzmen vd, 2008), genelde kısa sürede dekompoze olmaları, asidik ortamda hızla inaktif hale gelmeleri ve böceklerle karşı düşük konsantrasyonlarda bile etkili olmaları bu grubun avantajlarıdır. Bu avantajlar sentetik piretroitli bileşiklerin günümüzde en yaygın ve yoğun kullanılan insektisitler olmalarına olanak sağlamıştır. (Soderlund ve ark. 2002).

Etki mekanizmaları, sinir hücrelerinde sodyum kanallarının açık kalmasına neden olarak uyarıların sürekli olması şeklindedir (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008).

1.4.2. Cypermethrin (C₂₂H₁₉C₁₂NO₃)

3A Pyrethroidler grubundadır. Sodyum kanal modulatörüdür (IRAC, 2017). Aktif madde sarımsı kahverenginde sıvıdır. Sistemik olmayan kontak ve sindirim yoluyla etkilidir. Akut ağızdan LD50 değeri sıçanlarda 250-4150 mg/kg'dır. Bekleme süresi 3-15 gündür. Günlük alınabilir zararsız miktarı 0.005 mg/kg'dır (Yıldırım, 2012).

1.4.3. Benzoyl Üreler

Benzoyl üreler kitin sentezini engelleyerek böceklerin gelişimine olumsuz etkiye bulunan insektisit grubudur. Genelde ağız yoluyla alındıklarında midede çok etkilidirler ancak az miktarda kontak etkileri de bulunmaktadır. Isırıcı-çiğneyici ağız yapısına sahip tam başkalaşım gösteren böceklerin larvalarına (Lepidoptera ve Coleoptera) etkilidirler. Larvaların ölüm nedenleri genellikle su kaybı, açlık veya avlanmadır. Bunun sebebi olarak uygun şekilde deri değiştirememeleri gösterilir.

Etki mekanizmaları sebebiyle sıcakkanlılara toksisiteleri oldukça düşüktür. Ancak bitki, toprak ve suda kalıcılıkları fazladır bu nedenle kalıntı problemine dikkat edilmelidir (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008).

1.4.4. Diflubenzuron ($C_{14}H_9N_2O_2F_2Cl$)

15 benzoylüre grubundadır. Kitin biyosentezini engelleyerek etkili olur (IRAC, 2017). Aktif madde sarımsı beyaz renkte kristaller halindedir. Sistemik olmayan kontak ve sindirim yoluyla etkilidir. Akut ağızdan LD50 değeri sıçanlarda 4640 mg/kg'dan azdır. Günlük alınabilir zararsız miktarı 0.02 mg/kg'dır. Bekleme süresi iki haftadır (Yıldırım, 2012).

1.4.5. Diğerleri

1.4.5.1. Spinosad ($C_{41}H_{65}NO_{10}$ (spinosyn A)+ $C_{42}H_{67}NO_{10}$ (spinosyn D))

Spinosynler grubundan bulunup grup 5 olarak sınıflandırılmıştır (IRAC, 2017). Nikotinitik asetilkolin reseptörlerine etki ederek sinir ve kas bölgesini etkiler. Aktif madde açık gri-beyaz renkli kristaller halindedir. *Saccharopolyspora spinosa*' dan elde edilmiştir. Sistemik olmayan mide ve kontak yolla sinir sistemine etkilidir. Beslenmeyi durdurucu etki gösterir. Akut ağızdan LD50 değeri sıçanlarda 5000 mg/kg' dan büyüktür (Yıldırım, 2012). Diğer ilaçlarla karıştırılması sakıncalıdır (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Gaugler 1988 yılında, Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarında bulunan entomopatojen nematodların, toprakta yaşayan zararlı böceklerin kontrolü için kullanılan kimyasallara, biyolojik alternatifler olarak etkili bir şekilde kullanılabileceğini bildirmiştir.

Rovesti vd. (1988)'in yılında yaptığı çalışmada, entomopatojen nematod *Heterorhabditis bacteriophora*'nın 24 fungusit, 25 herbisit, 18 insektisit, 5 akarisit ve 2 nematisit olmak üzere toplam 75 pestisit ile interaksyonu incelenmiştir. Değerlendirmelerde nematodların canlılık oranı, hareketliliği ve infektivitesi kriter olarak kullanılmıştır. Sonuçta önerilen uygulama oranlarında veya daha düşük dozlarda kullanıldığında fungusitlerden fentin-asetat, dodin ve carbendazirn, herbisit grubundan alachlor ve parakuat, insektisitlerden parathion, phorate, terbufos, fonofos, izofenfos + phoxim, aldicarb, carbofuran ve methomyl, akarisitlerden flubenzimin ve nematisitlerden metham sodium ve fenamifos'un nematodlar üzerinde toksik etki yaptığını rapor etmişlerdir.

Rovesti ve Deseö'nün 1990 yılında entomopatojen nematodların kimyasal pestisitlerle uyumluluğunun araştırdıkları bu çalışmada iki nematod türü (*Steinernema carpocapsae* ve *S. feltiae*) ve 75 ticari pestisit kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, her iki nematod türüne ait infektif juvenillerin test edilen kimyasalların çoğunu tolere edebildiğini göstermiştir. Her iki nematod türünün farklı pestisitlere verdiği tepkilerin oldukça benzer olduğu tespit edilmiştir. Sadece fungusitler için dodin ve herbisitler için alachlor ve paraquat infektif juvenilleri ciddi şekilde etkilemiştir. Buna karşılık, içerisinde insektisit-akarisit-nematisit bulunan formülasyonların büyük bölümünün nematodlar üzerinde zararlı etki yaptığı belirlenmiştir. Bunlardan parathion, aldicarb, metomyl, flubenzimine, metham sodyum ve fenamiphos'un en fazla toksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, bu nematod türlerinin ve bitki korumadaki kimyasal pestisitlerin bir arada kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Zhang vd. 1994 yılında entomopatojen nematod *S. carpocapsae* üzerinde, 14 organofosfat (OP), 7 karbamat, 4 sentetik piretroid, cartap ve imidakloprid'in toksik etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla kurulan deney düzeneklerinde farklı insektisit çözeltilerinde (1, 10, 100µg/ml) bekletilen infektif juvenillerin canlı-ölü oranlarını belirlemişlerdir. İnfektif juveniller üzerinde en fazla toksik etkiyi cartap

ve iki organofosfat (profenofos ve pyraclofos) göstermiştir. Kırksekiz saat sonunda ve 100µg/ml konsantrasyonda cartap %83,4, profenofos %57,1 ve pyraclofos ise %47,8 oranında ölüm meydana getirmiştir. Buna karşın test edilen 7 adet organofosfat (diazinon, dichlorvos, fenthion, malathion, trichlorfon, propetamphos ve prothiofos) 100µg/ml konsantrasyonda nematodlar üzerinde zayıf toksisite göstermiştir. Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar 100µg/ml konsantrasyonda bile IJ'ler üzerinde herhangi bir negatif etki oluşturmamıştır. Yirmi dört saat süreyle 100µg/ml'lik insektisit solüsyonu içinde inkübe edilen infektif juveniller daha sonra son evreye yeni geçmiş *Spodoptera littoralis* larvaları üzerinde patojenite yönünden denenmiştir. Organofosfatlar (acephate, malathion ve temephos hariç), 1 carbamat (methomyl), 2 pyrethroid (permethrin ve ethofenprox) ve cartap, IJ'lerin infektivitesini bu larvalara karşı önemli derecede azaltmıştır. Bununla birlikte, insektisitler IJ'lerin vücut yüzeyinden yıkandığında, sadece cartap (10µg/ml) ve profenofos (100µg/ml)'un nematodların infektivitesi üzerindeki yıkıcı etkisi devam etmiştir.

Nishimatsu ve Jackson'nun 1998 yılında yaptığı çalışmada, 3 kimyasal insektisiti (terbufos, fonofos, ve tefluthrin) ve iki entomopatojen nematod türünü (*S. carpocapsae* ve *H. bacteriophora*) mısır kök kurdu *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte (Coleoptera: Chrysomelidae)'na karşı kullanmışlardır. İnsektisitlerden terbufos veya fonofos'un entomopatojen nematod *S. carpocapsae* ile kombinasyonu etkiyi artırıcı (additive) bir interaksiyon göstermiştir. Teflutrin ile *S. carpocapsae* kombinasyonunda mortalitede ortalama %24'lük bir artış gözlemlenmiştir ve etkileşim türü sinerjistik olarak belirlenmiştir. Teflutrin ve *H. bacteriophora* arasında da yine sinerjistik etki gözlenmiştir. Sonuç olarak, teflutrin'in bir entomopatojen nematod ile kombine edilerek kullanılmasıyla zararlı böceklerin kontrolünde entomopatojen nematodların etkinliğinin artırılabilirliği öngörülmüştür.

Head vd.'nin 2000 yılında yaptığı çalışmada, Güney Amerika yaprak galeri böceği, *Liriomyza huidobrensis*'in larvalarına karşı entomopatojenik nematod *Steinernema feltiae* ve insektisitleri birlikte kombine ederek kullanmışlardır. İnfektif juveniller 24 saat süreyle 5 farklı insektisite (abamectin, deltamethrin, dimethoate, heptenophos ve tricklorfon) maruz bırakılmış ve ardından bal mumu güvesi *Galleria mellonella* larvaları üzerinde infektiviteleri gözlemlenmiştir. Triklorfon ve dimetoat insektisitlerinin, nematodların *G. mellonella* larvalarını enfekte edebilme kabiliyetleri üzerinde önemli bir azalmaya neden olmadıkları

belirtmiştir. Ancak, abamectin, deltamethrin ve heptenophos ile muamele edilen nematodların enfektivitesinde önemli derecede azalma meydana gelmiştir. İkinci aşamada, üzerinde kurumuş halde pestisit kalıntısı bulunan ve hiç pestisit kalıntısı bulunmayan yapraklarla beslenmiş *L. huidobrensis* larvalarına karşı infektif juvenillerin etkinliği test edilmiş ve iki grup arasında önemli bir ayrıma rastlanmamıştır.

Koppenhöfer vd.'nin 2002 yılında yaptığı çalışmada, neonicotinoid grubu insektisitlerden imidacloprid ve thiamethoxam'ın entomopatojen nematodlarla birlikte kullanıldığında ortaya çıkacak olan interaksiyonları incelemişlerdir. Laboratuvar, sera ve alan denemeleri şeklinde yürütülen çalışmalar sonucunda nematodlarla birlikte kullanılan imidacloprid'in thiamethoxam'a oranla daha tutarlı ve güçlü bir sinerjistik etki meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. Neonicotinoid-nematod etkileşiminin konukçu manas (Coleoptera: Scarabaeidae) türlerine göre değiştiği, imidacloprid'in her zaman *Exomola orientalis* ve *Popillia japonica* türlerine karşı nematodlarla sinerjistik etkileşimde olduğunu göstermişlerdir. Ancak *Rhizotrogus majalis* ve *Maladera castanea* türlerine karşı uygulandıklarında etkide herhangi bir artış olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada imidacloprid *E. orientalis*'e karşı, beş nematod türü, *H. bacteriophora*, *H. megidis*, *H. marelatus*, *S. glaseri* ve *S. feltiae* ile sinerjistik etkileşim göstermiştir. Sonuç olarak sinerjik etkileşim gösteren bir entomopatojen nematod ve bir neonicotinoid insektisidin özellikle *E. orientalis* ve *P. japonica* tarafından hasara uğratılan çim alanlarında kullanılabilceği ve böylece insektisit uygulaması sonucu ortaya çıkacak çevresel zararın azaltılacağı öne sürülmüştür.

Krishnayaand ve Grewal 2001'de yaptığı çalışmada, entomopatojen nematod *S. feltiae* üzerinde neem'in farklı formülasyonlarının ve yaygın olarak kullanılan bazı fungusitlerin etkilerini araştırmışlardır. Saf yağ halindeki Neem'in alan uygulaması için önerilen konsantrasyonuna (5-10ml/L) 120 saat süreyle maruz kalan nematodların canlılığı ve infektivitesi üzerinde herhangi bir olumsuz etki yapmadığı tespit edilmiştir. Ancak, neem formülasyonları olan Nimbecidine ve neem yağı, bakteri öldürücü bir sabun (çoğunlukla neem yağının yüzey aktif maddesi olarak kullanılmakta) ile karıştırıldığında nematodlarda %13-25 ölüm meydana getirmiştir. Ne neem yağı, Nimbecidine ne de sabun nematod virulansı üzerinde herhangi bir negatif etki yaratmamıştır. Fungusit cinnamaldehyde (Cinnamate) ise 4 saatlik inkübasyon sonucu tüm nematodları öldürmüştür. Bunu takiben hydrogen dioxide/peroxyacetic asit karışımı (ZeroTol) 120 saatlik

inkübasyon sonucunda nematodların tamamını öldürmüştür. Oysa bir başka fungusit olan azoxystrobin (Abound) herhangi bir nematod ölümüne yol açmamıştır. Elde edilen sonuçlar neem ve azoxystrobin'in *S. feltiae* ile karıştırılarak alanda kullanılabilceğini göstermiştir. Ancak, cinnamaldehyde (Cinnamate), hydrogen dioxide/peroxyacetic karışımı ve yüzey aktif maddesi ile nematodların bir arada kullanılmasının toksik etkiye neden olabileceği belirtilmiştir.

Alumai ve Grewal 2003 yılında, iki entomopatojen nematod türü olan *H. bacteriophora* (HP88 suşu) ve *S. carpocapsae* (All suşu)'nin çim alanlarda kullanılması önerilen pestisitlerle olan etkileşimlerini incelemişlerdir. Laboratuvar koşullarında yürütülen bu çalışmada nematodlar pestisitlerin önerilen dozlarına veya 100, 300 ya da 500 L/ha'lık dozlarına 3 saat süreyle maruz bırakılmışlardır. Denemeler 24 gözenekli doku kültür kapları içerisinde ve oda sıcaklığında yürütülmüştür. Bu süre sonunda her nematod türüne ait infektif juvenillerin canlılık oranları belirlenmiş, ardından bu nematodların infektiviteleri *G. mellonella* larvaları üzerinde test edilmiştir. Bu amaçla kurulan deneyler 22-26°C'de inkübe edilmiş ve larvaların canlı olup olmadıkları 96 saat sonunda kontrol edilmiştir. Çalışma sonucunda *S. carpocapsae* türüne ait infektif juvenillerin canlılığının kullanılan hiçbir pestisitten etkilenmediği, ancak aliminyum tris ve trichlorfon maddesinin kullanılan tüm dozlarda nematodların patojenitesini azalttığı belirlenmiştir. Thiamethoxam ve trichlorfon maddelerinin *H. bacteriophora* infektif juvenilleri üzerinde canlılıkta azalmaya neden olduğu, ayrıca halofenozide, alüminyum tris, trichlorfon ve carbaryl maddelerinin de nematodların patojenitesini azalttığı tespit edilmiştir. Imidacloprid önerilen dozda (330-440 g/ha) kullanıldığında, *H. bacteriophora*'nın patojenitesini önemli ölçüde artırmıştır.

Ulu vd. 2016 yılında, ülkemizde yaygın olarak kullanılan 4 farklı pestisiti (Glyphosate, Chlorpyrifos-etil, Captan, Fosetyl-al), *Steinernema feltiae* TUR-S3 infektif juvenilleri üzerinde test etmişlerdir. Kullanılan kimyasalların nematodların toksisite ve infektivitesi üzerindeki olası etkilerini 24 ve 48 saatlik periyotlarda incelemişlerdir. Çalışma sonucunda; Fosetyl-al ve Glyphosate'ın nematodların canlılığı, Captan'ın ise nematodların infektivitesi üzerinde olumsuz etki yaptığını bildirmişlerdir.

Bu tez çalışması doğal yaşam alanı toprak olan, canlı ve ölü böcekleri konukçu olarak kullanarak neslini devam ettiren entomopatojen nematodların, insektisitlerle bir arada kullanıldıklarında IJ'lerin ve beslendikleri böcek dokularındaki olası insektisitlerden nasıl etkilendiklerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Konukçu Böcek Larvalarının Elde Edilmesi

Bu çalışmada kullanılan son dönem *Hyphantria cunea* Drury. (Lepidoptera: Arctiidae) larvaları Düzce Üniversitesi kampüs alanında bulunan dut ağaçlarından toplanmıştır. Toplanan larvalar, içerisinde dut yaprakları bulunan kültür kaplarına konularak laboratuvara getirilmiştir. Larvalar deney kurulmadan önce 15°C sıcaklığa ayarlanmış inkübatörde bekletilmiştir. Beslenmeleri için ise; kültür kaplarına taze dut yaprakları ilave edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Toplanan *H. cunea* larvaları

3.2. Entomopatojen Nematodların Üretimi

Çalışmada *S. carpocapsae* (Rize izolatu) türüne ait entomopatojen nematodlar kullanılmıştır. İnfektif juvenil evre nematodları elde etmek için, laboratuvar koşullarında stok halinde muhafaza edilen bu tür, büyük mum güvesi olarak

bilinen *G. mellonella* larvaları üzerinde üretilmiştir. Bunun için 9cm'lik petri kaplarının tabanına çift katlı kurutma kâğıdı yerleştirilmiş ve üzerine yaklaşık 800 µl distile su ile birlikte 1000 tane II evre nematod verilmiştir. Bu işlem sonrasında petri kaplarının her birine 5 adet son dönem *G. mellonella* larvası eklenmiştir. Hazırlanan petri kapları kurumayı önlemek için plastik torbalar içerisine yerleştirilerek oda sıcaklığında (23-24°C) ve karanlık bir ortamda tutulmuştur (Kaya ve Stock, 1997). Larvaların enfekte olup olmadığını belirlemek için 3 günün sonunda kontroller yapılmış ve enfekte olan larvalar pens yardımıyla White-trap (White, 1927) adı verilen sisteme aktarılmıştır (Koppenhöfer, 2000). White-trap sistemi 9 cm çaplı petri kabının içerisine 6 cm çapındaki petrinin kapağının yerleştirilmesiyle oluşturulmuştur. Büyük petrinin içerisine küçük petri kapağının yüzeceği şekilde distile su eklenmiştir. Küçük petri kapağının içerisine nemlendirilmiş kurutma kâğıdı konulmuştur. Enfekte olan larvalar bu kurutma kâğıdı üzerine pens yardımıyla aktarılmıştır (Şekil 3.2). White-trap'lere aktarılmasından 8-10 gün sonra kadavralardan çıkmaya başlayan yeni nesil II nematodlar küçük petri kapağını terk ederek büyük petri içerisindeki suya geçmiştir. Her gün çıkış yapan yeni nesil infektif juveniller toplanarak yüzeylerindeki olası partikülleri uzaklaştırmak için cam beher içerisinde 3 kez distile suyla yıkanmıştır (Kaya ve Stock, 1997). Toplanıp yıkanan yeni nesil nematodlar Tetrapak kutular içerisinde sıvı süspansiyonlar halinde kutulanmıştır (Gulcu ve Hazir, 2012). Üretilen bu yeni nesil nematodlar en fazla 2 hafta içerisinde deneylerde kullanılmıştır (Karagoz vd., 2009).



Şekil 3.2. Enfekte kadavraların konulduğu White-trap sistemi

3.3. Deneylerde kullanılacak insektisitlerin hazırlanması

Bu çalışmada içerisindeki aktif madde Cypermethrin (25ml/100lt) olan LANCE (Agrikem), aktif maddesi Spinosad (30ml/100lt) olan LACER (Dow AgroSciences) ve aktif maddesi Diflubenzuron (30ml/dekar) olan KORMİLİN (Koruma) ticari insektisitler kullanılmıştır. Burada kullanılan insektisitlerin etkili maddeleri 3 farklı gruptan seçilmiştir. İlaçları hazırlamak için 3 ayrı erlen içerisine 100 ml distile su konulmuş ve üzerlerine önerilen miktarlar göz önünde tutularak Cypermethrin için **0,025 µl**, Spinosad için **0,030 µl**, Diflubenzuron için **0,075 µl** oranlarında eklenip iyice çalkalanmıştır.

3.4. Kimyasal insektisitlere maruz kalan infektif juvenillerin canlılık ve infektivite oranlarının belirlenmesi

İnsektisitleri hazırlamak için 3 ayrı 250 ml'lik beher içerisine 150 ml distile su konulmuş ve üzerlerine ticari firmalar tarafından önerilen miktarlar göz önünde tutularak Cypermethrin (25ml/100lt), Spinosad (30ml/100 Lt) ve Diflubenzuron (30ml/da) eklenmiştir. Kontrol grubu olarak hazırlanan beher içerisine sadece 150 ml distile su konulmuştur. Her behere yaklaşık 2000 adet IJ 1 ml distile su ile eklenmiştir. Nematodlar ile kimyasalların etkileşime girmeleri için hazırlanan süspansiyonlar iyice karıştırılmıştır. Daha sonra hazırlanan bu karışımlar 3 eşit parçaya bölünerek 175ml'lik doku kültür kaplarına 50'er ml olacak şekilde dağıtılmıştır (Şekil 3.3). Bu doku kültür kapları oda sıcaklığında (23-24 °C) ve karanlık bir ortamda 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Yirmi dört saat sonunda her biri farklı insektisitle muamele edilmiş kaplardaki nematodların ölü ve canlı durumları mikroskop altında kontrol edilmiştir. Bu amaçla her nematod saklama kabı içerisinden 1 ml örnek çekilerek cam petri içerisinde konulmuş ve rastgele 100 nematod sayılarak canlı-ölü oranları belirlenmiştir (Koppenhöfer ve Kaya, 1998). Farklı kimyasallara maruz kalan nematodların infektivitesinde herhangi bir değişiklik olup olmadığını belirlemek için deney düzenekleri hazırlanmıştır. Bu amaçla 24 gözenekli doku kültür kabının her bir gözenegine 0.5 g steril kum ve farklı insektisitle 24 saat süresince muamale edilmiş kaplardaki nematodlardan 50IJ/60µl eklenmiştir. Daha sonra her gözeneğe bir adet son dönem *G. mellonella* larvası konulmuştur. Kapakları kapatılan doku kültür kapları oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda larvaların enfekte olup olmadığı yapılan kontroller sonucunda belirlenmiştir. Her kimyasal

grup için 1 doku kültür kabı yani 24 larva kullanılmış ve deneyler farklı zamanlarda 2 kez tekrar edilmiştir.



Şekil 3.3. Doku kültür kabı (175 ml)

3.5. Canlı ve ölü larvalar içerisinde giren nematod ve her bir kadavrada oluşan yeni nesil infektif juvenil sayılarının belirlenmesi

Bu çalışmada 24 gözenekli doku kültür kaplarının (Corning, Corning, NY, USA) her bir gözeneğine 0.5 g steril kum konmuştur. Ardından her gözeneğe 60 µl distile su içerisinde 50 adet *S. carpocapsae* türüne ait infektif juveniller eklenmiştir. Daha sonra birinci gruptaki kültür kaplarının her bir gözeneğine bir adet alınan son dönem canlı *G. mellonella* larvası eklenmiştir. İkinci grupta yer alan kültür kaplarına ise -20°C'de bir saat bekletilmiş, ardından 20 dk oda sıcaklığında muhafaza edilerek dokuları çözündürülmüş *G. mellonella* larvaları konmuştur. Her deney grubu için toplam 48 larva kullanılmıştır.

Hazırlanan kaplar 3 gün (72 saat) boyunca oda sıcaklığında (23-24°C) ve karanlık ortamda bekletilmiştir. Bu süre sonunda her gruptan 24 adet kadavra rastgele seçilerek alınmış ve 10cm'lik cam petripler içerisinde bir miktar pepsin solüsyonu ile parçalandıktan sonra mikroskop altında sayılmıştır (Mauleon vd, 1993). Doku kültür kaplarında geriye kalan kadvralar çıkış yapacak olan yeni nesil nematod sayılarını belirlemek amacıyla her biri ayrı ayrı tartıldıktan sonra White-trap

sistemine alınmıştır (Kaya ve Stock, 1997). Yeni nesil nematodlar kadavralardan çıkış yapana kadar White-trap'ler oda sıcaklığında bekletilmiştir. Enfekte kadavralardan çıkan yeni nesil infektif juvenil evre nematodlar toplanmış ve çıkışlar bitince toplam sayıları mikroskop altında sayılarak belirlenmiştir. Deney farklı zamanlarda 2 kez tekrarlanmıştır.

3.6. Dokularında insektisit bulunan böceklerin entomopatojen nematodlar üzerindeki etkileri

3.6.1. Deney Düzeneginin Hazırlanması

Hazırlanan insektisitler 3 farklı el spreyi (300 ml) düzenegine eklenmiştir. Kontrol grubu olarak hazırlanan el spreyi düzenegine ise sadece 100 ml distile su eklenmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Hazırlanan insektisit düzenekleri

Aydın'ın Efeler ilçesine bağlı Serçeköy mahallesindeki ağaçlardan toplanan dut yaprakları (herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadığından emin olunan ağaçlar seçilmiştir) böcek toplama kafesleri içerisine her dalda 4 adet yaprak olacak şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.5). Yaprakların uzun süre canlı kalabilmesi için kesimler dallı yapılmıştır. Her insektisit grubu için 3 tekerrürlü olacak şekilde kontrol dâhil toplam 12 adet kap kullanılmıştır. Her kabın içerisindeki yaprakların her iki yüzeyine olacak şekilde içerisinde farklı insektisitler bulunan sıvı süspansiyondan 7 kere püskürtme yapılmıştır (yaklaşık 5ml) (Şekil 3.6).



Şekil 3.5. Deneysel düzenek.



Şekil 3.6. Duta yapraklarına insektisit uygulanması.

Spreylenen yapıldıktan sonra uygulanan ilaçların bitki dokusuna geçmesi için 2 saat bekletilmiş ve sonrasında her kupa için 30 adet sağlıklı *H. cunea* larvası eklenmiştir. Hazırlanan düzenekler oda sıcaklığında (23-24°C) 24 saat boyunca bekletilerek konulan larvaların insektisitli bitki dokularıyla beslenmeleri sağlanmıştır (Şekil 3.7).



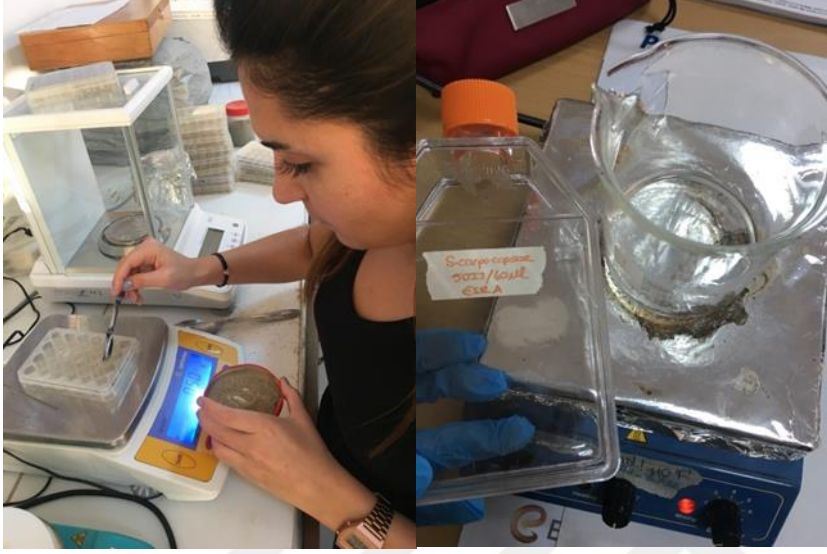
Şekil 3.7. Larvaların kupalara eklenmesi

Yirmi dört saat sonunda her biri farklı insektisitle muamale edilmiş düzeneklerdeki larvaların beslenme ve ölü canlı durumları kontrol edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. 24 saat sonrasında larvaların ve bitkilerin durumu

Her uygulama grubuna ait larvalar dikkatlice alınarak daha önceden hazırlanmış olan 24 gözenekli doku kültür kaplarına (Corning, Corning, NY, USA) aktarılmıştır. Bu 24 gözenekli doku kültür kaplarının her bir gözeneğine 0.5 g steril kum ve ardından her gözeneğe 60 mikrolitre distile su içerisinde 50 IJ evre nematod eklenmiştir (Şekil 3.9; 3.10) (Güngör vd., 2006).

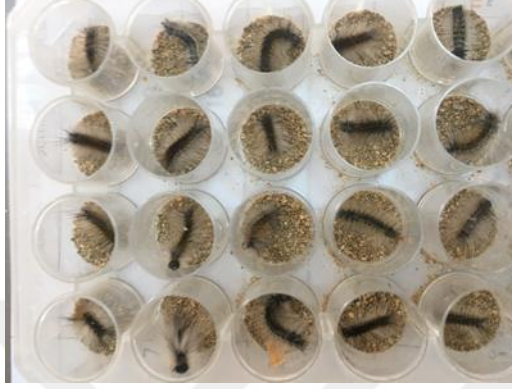


Şekil 3.9. Doku kültür kapları ve nematod süspansiyonunun hazırlanması



Şekil 3.10. Her bir gözeneğe nematodların verilmesi

Farklı uygulamaların yapıldığı kaplardan alınan canlı veya ölü iyi durumda olan *H. cunea* her bir gözeneğe eklenmiştir (Şekil 3.11). Aynı zamanda canlı ve -20°C’de bir saat süreyle dondurularak öldürülen ve oda sıcaklığında 20 dk tutularak donmuş dokularının çözülmesi sağlanan *Hyphantria cunea* larvalarından oluşan 2 farklı kontrol grubu hazırlanmıştır.



Şekil 3.11. 24 gözenekli doku kültür kapları

Larvaların kaçışlarını engellemek için doku kültür kaplarının üzerleri parafilmle kaplanmıştır. Nem kaybını önlemek için plastik poşetler içerisine alınan kaplar 72 saat oda sıcaklığında (23-24°C) ve karanlık ortamda bekletilmiştir.

3.6.2. Kadavra başına içeri giren nematod sayısının belirlenmesi

Her doku kültür kabından ölü olan 12 tane larva rastgele seçilerek alınmış ve 10cm'lik cam petri ler içerisinde parçalanmıştır (Şekil 3.12). Böcek dokularının parçalanmasını ve böylece nematodların daha kolay sayılabilmesini sağlamak için larvalar pepsin solüsyonu içerisinde parçalanmıştır (Mauleon vd., 1993). Pepsin solüsyonu 8gr pepsin, 23gr NaCl, 20ml HCl, 940ml distile su karışımıyla hazırlanmıştır (Kaya ve Stock, 1997).



Şekil 3.12. .Kadavraların parçalanması

Pepsin solüsyonu içerisinde parçalanan kadavralar çalkalamalı inkübatörde 55 rpm ve 37°C'de 2,5-3 saat inkübe edilmiştir. Böcek dokularının erimesinin ardından

nematodlar stereo mikroskop (Leica Zoom 2000) yardımıyla 40x büyütmede sayılmıştır. Böylece her larva içerisine giren nematod sayısı belirlenmiştir (Şekil 3.13) (Gulcu, 2010).



Şekil 3.13. Pepsin solüsyonunda parçalanan larvalardaki nematodların sayımı

3.6.3. Üreyen yeni nesil nematodların kadavradan çıkış sürelerinin ve kadavra başına üreyen nematod sayılarının belirlenmesi

Kadavralardan çıkış yapacak olan yeni nesil nematod sayılarını ve bu nematodların kadavralardan dışarıya çıkış zamanlarını belirlemek amacıyla doku kültür kaplarında geriye kalan tüm kadavralar tek tek White-trap sistemine alınmıştır (Kaya ve Stock, 1997).. Enfekte kadavralar her gün kontrol edilmiş ve dışarıya çıkışların başladığı tarihler kaydedilmiştir. Her kadavradan dışarı çıkan yeni nesil nematodlar çıkışlar bitinceye kadar toplanmış ve mikroskop altında sayılmıştır.

Tüm deney farklı zamanlarda 4 kez tekrarlanmıştır.

3.7. İstatistiksel Analizler

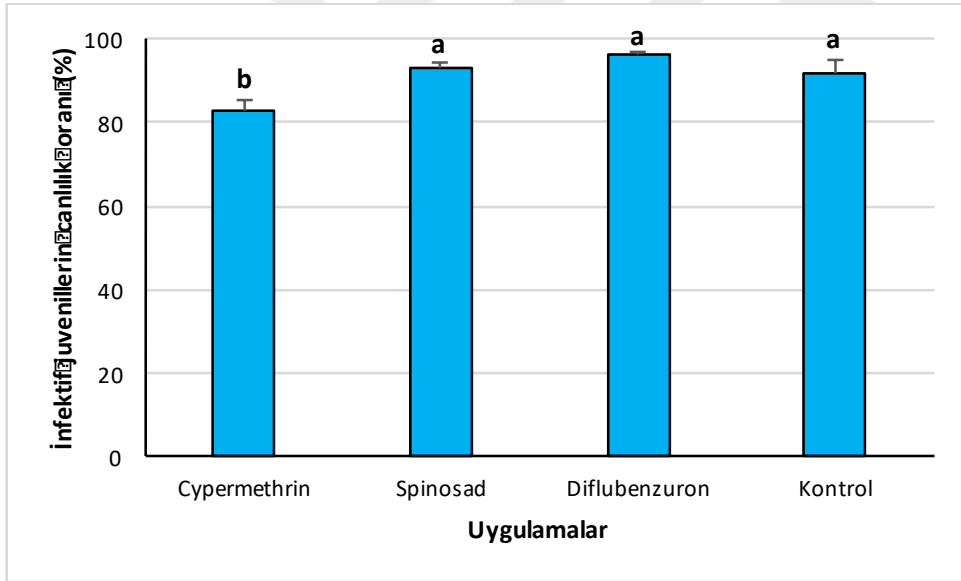
Deneylerden elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş ve gruplar arasındaki farklılıklar Tukey testi ile yapılmıştır (SPSS, 2004). Kimyasal maddelere maruz kalan infektif juvenillerin canlılık oranının belirlenmesinde verilere arsin transformasyonu yapıldıktan sonra GLM testi uygulanmıştır.



4. BULGULAR

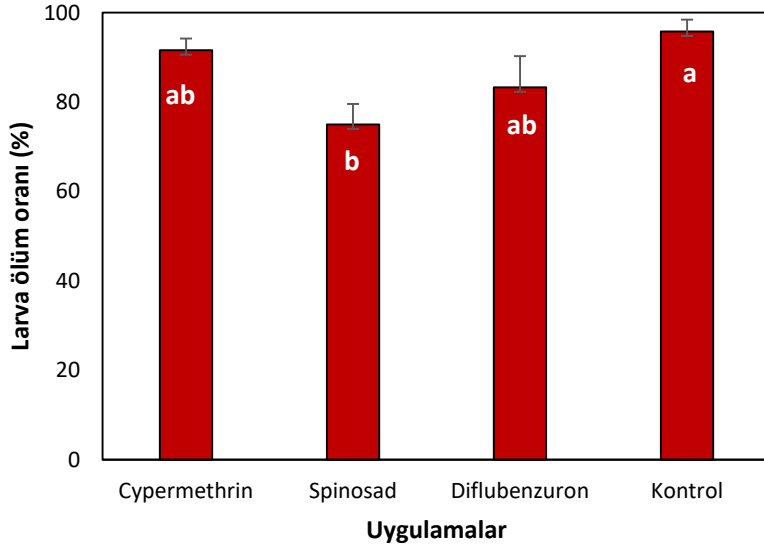
4.1. Kimyasal maddelere maruz kalan infektif juvenillerin canlılık ve infektivite oranları

Üç farklı insektisitte 24 saat boyunca maruz bırakılan nematodlarda görülen canlılık ve ölüm oranlarına bakıldığında cypermethrin maddesine maruz kalan infektif juvellerin canlılık oranının %83, kontrol dahil diğer tüm gruplardaki canlılık oranının ise %93-97 arasında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda cypermethrin ile diğer gruplar arasında istatistiksel fark olduğu belirlenmiştir ($F= 10,684$; $P<0.05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. İsektisitlere doğrudan maruz bırakılmış infektif juvenil evre nematodların canlılık oranı.

Kimyasal insektisitlere maruz kalan infektif juvenillerin *G. mellonella* larvaları üzerindeki infektivite oranlarına bakıldığında cypermethrin, spinosad, diflubenzuron ve kontrol grubunda ortaya çıkan larva ölüm oranları sırasıyla 91,6, 75, 83,3 ve 95,8 olarak belirlenmiştir. Yapılan istatistiki analizler sonucunda sadece spinosad grubu ile kontrol grubu arasında önemli fark olduğu belirlenmiştir ($F=3,786$; $df:3,23$; $P<0.05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Farklı insektisite maruz kalan nematodların meydana getirdiği larva ölüm oranları (%)

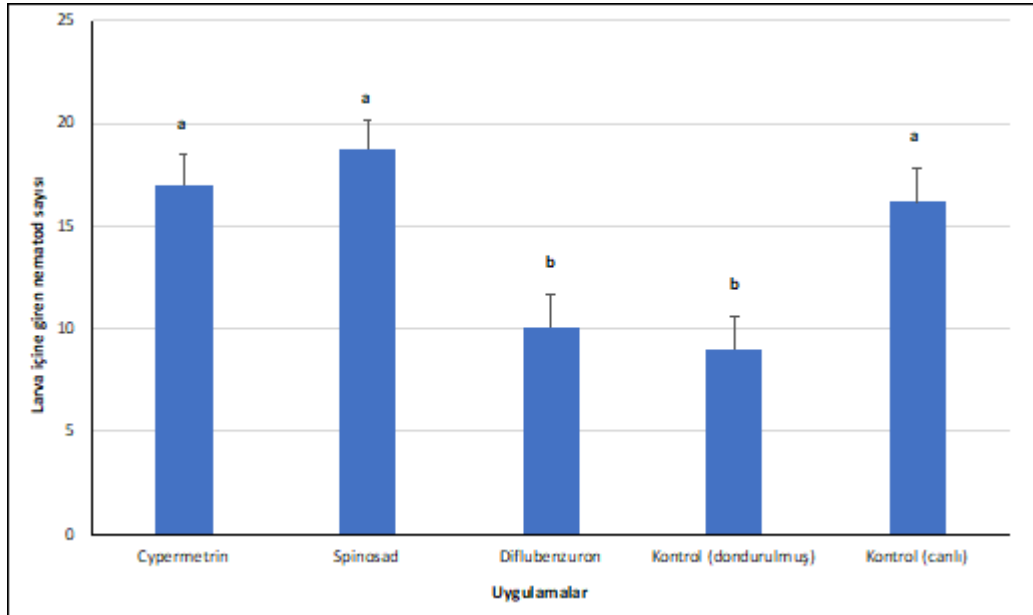
4.2. Canlı ve ölü larvalar içerisine giren nematod ve her bir kadavrada oluşan yeni nesil infektif juvenil sayıları

Deneyler sonucunda canlı ve dondurularak öldürülmüş larvalara giriş yapan ortalama nematod sayılarının sırasıyla 34 ve 32 IJ/kadavra olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda iki grup arasında larva başına içeriye giren nematod sayıları bakımından önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($t= 0.773$; $df=46$; $P=0.47$). Kadavralarda meydana gelen yeni nesil IJ sayısı ortalama 1,69 nematod/mg; dondurularak öldürüldükten sonra enfekte edilen kadavralarda meydana gelen yeni nesil IJ sayısı ise ortalama 1,97 nematod/mg olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler canlı ve dondurularak öldürülmüş larvalarda üreyen nematod sayıları arasında önemli bir farkın olmadığını göstermiştir. ($t= 20.567$; $df=47$; $P=0.07$).

4.3. Dokularında insektisit bulunan böceklerin entomopatojen nematodlar üzerindeki etkileri

4.3.1. Kadavra başına içeri giren nematod sayısı

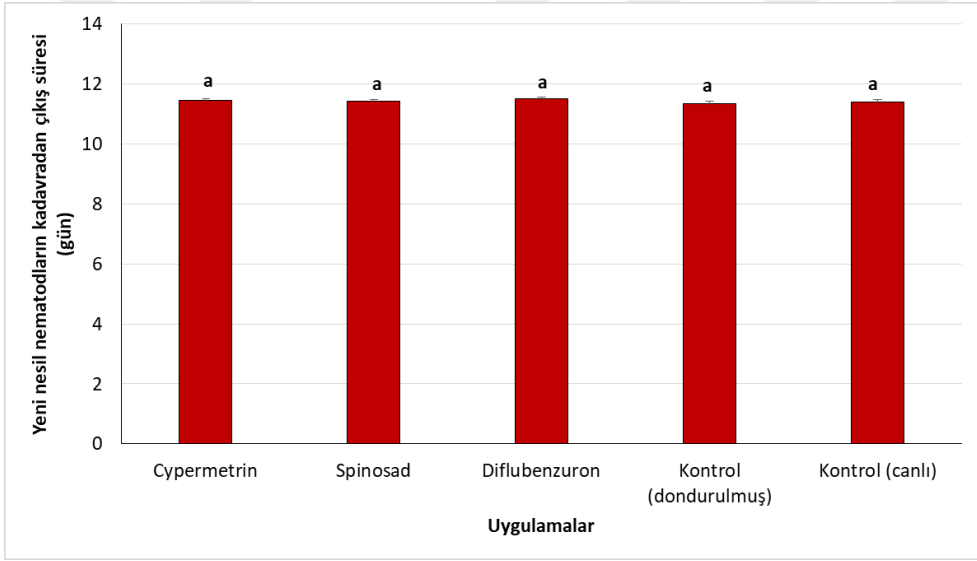
Larva başına içeriye giren infektif juvenil nematod sayılarına baktığımızda Cypermetrin, Spinosad ve canlı larvaların bulunduğu kontrol grubu arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı belirlenmiştir. Bu her üç grupta da larva başına 15'den fazla nematodun giriş yaptığı saptanmıştır. Diflubenzuron ile dondurulmuş larvaların kullanıldığı kontrol grubunda ise içeri giren nematod sayıları sırasıyla 10 ve 9 infektif juvenil olarak belirlenmiştir. Yapılan istatistiki analizler Cypermetrin, Spinosad ve canlı larvaların bulunduğu kontrol grubu ile Diflubenzuron uygulanmış ve dondurulmuş larvaların kullandığı kontrol grubu arasında önemli fark olduğunu göstermiştir ($F= 14.157$; $df= 4, 508$; $P<0.0001$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. 1Kadavra başına içeri giren nematod sayısı

4.3.2. Üreyen yeni nesil nematodların kadvradan çıkış süreleri

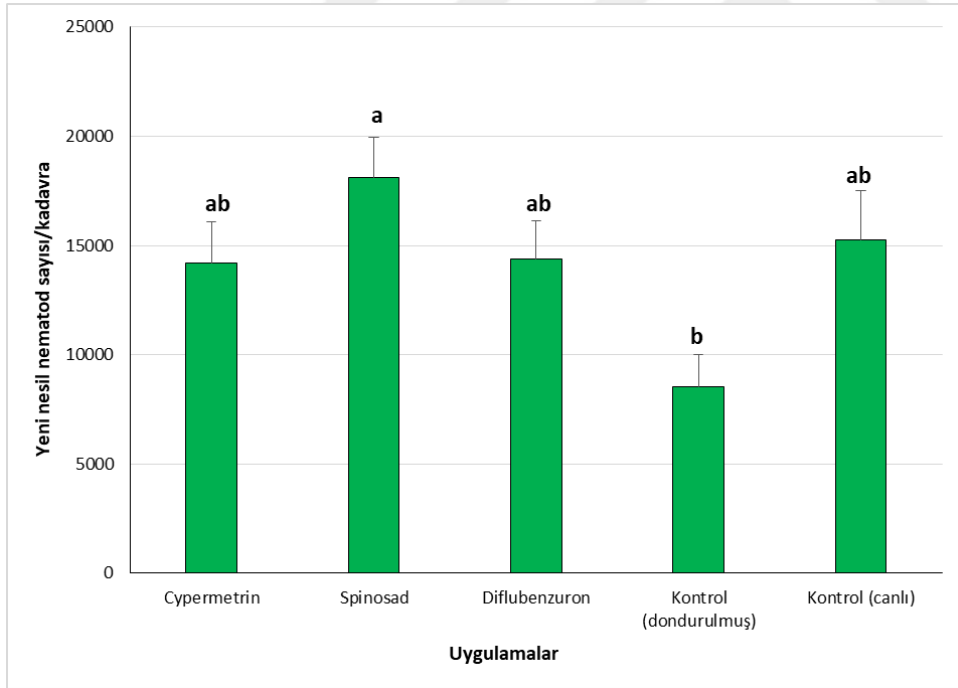
Kadavrular içerisinde üreyen yeni nesil nematodların çıkış sürelerine baktığımızda tüm gruplarda ortalama çıkış sürelerinin 11 gün olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatiki analizler Cypermethrin, Spinosad, Diflubenzuron uygulanmış gruplar ile canlı ve dondurulmuş larvaların bulunduğu kontrol grupları arasında önemli bir fark olmadığını göstermiştir ($F= 0.635$; $df= 4, 453$; $P= 0.637$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Larva içerisinde üreyen yeni nesil nematodların kadvradan çıkış süreleri

4.3.3. Kadavra başına üreyen yeni nesil nematod sayıları

Nematodlar tarafından enfekte edilen her bir kadavra başına üreyen ortalama yeni nesil infektif juvenil nematod sayılarına bakıldığında Cypermethrin uygulanan grupta yer alan kadvralardan 14.199, Spinosad uygulananlardan 18.091 ve Diflubenzuron uygulananlardan ise 14.373 nematod meydana geldiği belirlenmiştir. Canlı larvaların kullanıldığı kontrol grubundaki yeni nesil nematod sayısı 15.266 iken dondurularak öldürüldükten sonra kullanılan larvaların bulunduğu kontrol grubunda ise larva başına ortalama 8.553 nematod ürediği saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda tüm gruplar arasında sadece Spinosad ile dondurulmuş larvaların bulunduğu kontrol grubu arasında önemli bir fark olduğu saptanmıştır ($F= 3.331$; $df= 4, 487$; $P<0.05$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Kadavra başına üreyen yeni nesil nematod sayıları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait entomopatojen nematodlar zararlı böceklerin kontrolünde biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılmaktadır (Kaya and Gaugler, 1993; Hazir vd., 2003). Bu nematodların en önemli avantajları geniş bir konukçu dağılımına sahip olmaları, doğal habitatlarının böceklerle aynı olması, konukçularını toprak içerisinde aktif olarak arayıp bulabilmeleri, uygun biyotik ve abiyotik koşullarda kendilerini yenileyebiliyor (çoğalabiliyor) olmaları, çevre ve insan sağlığına karşı herhangi bir risk oluşturmamaları, birçok ülkede kullanımları için ruhsat almaya gerek olmaması, infektif juvenil evre olarak adlandırılan dayanıklı bir larval döneme sahip olmaları, kitle üretimlerinin mümkün olması ve ticari olarak üretilebiliyor olmaları, kimyasal insektisitlere dirençli böceklerle karşı başarılı olabilmeleri ve gübre, pestisit gibi çeşitli tarımsal ilaçlarla birlikte uygulanabiliyor olmalarıdır (Gaugler ve Kaya, 1990; Gülcü vd., 2017).

Entomopatojen nematodlarla pestisitler arasındaki etkileşimleri araştıran birçok çalışma yapılmıştır (Nishimatsu ve Jackson, 1998; Rovesti vd., 1988; Zhang vd., 1994; Koppenhöfer vd., 2002; Alumai ve Grewal, 2003). Bu çalışmalardan bazıları nematodların pestisitlerden negatif olarak etkilendiğini rapor ederken, bazı yayınlar ise negatif bir etkileşimin olmadığını hatta bazı insektisitlerle birlikte kullanıldıklarında sinerjistik etkileşimin ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Bu tez çalışması kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler birçok insektisitinin aktif maddesi olan cypermethrin, spinosad ve diflubenzuron'un entomopatojen nematod *S. carpacapsae* IJ'lerinin canlılığı üzerinde farklı etkiler yaptığını göstermiştir. Cypermethrin maddesine 24 saat süresince maruz kalan IJ'lerin canlılığında %17'lik bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Oysa spinosad ve diflubenzuron ile interaksiyona giren IJ'lerin canlılığındaki azalma kontrol grubuyla aynı (%5 civarında) bulunmuştur. Bu durum kullanılan kimyasalın yapısı ile nematodun canlılığı arasında bağlantı olduğunu göstermektedir. Benzer olarak, Ulu vd. (2016) ülkemizde yaygın olarak kullanılan 4 farklı pestisiti (Glyphosate, Chlorpyrifos-etil, Captan, Fosetyl-al), *S. feltiae* TUR-S3 IJ'leri üzerinde test etmişlerdir. Çalışma sonucunda; Fosetyl-al ve Glyphosate'm nematodların canlılığı üzerinde olumsuz etki yaptığını bildirmişlerdir.

Bu konuda yapılan daha önceki çalışmalarda *S. carpocapsae* ve *S. feltiae* IJ'lerinin 75 farklı ticari pestisitın çoğunu tolere edebildiği bildirilmiştir. Sadece fungusitler için dodin ve herbisitler içinalachlor ve paraquat IJ'leri ciddi şekilde etkilemiştir (Rovesti ve Deseö, 1990). Buna benzer olarak, fungusitlerden fentin-asetat, dodin ve carbendazirn, herbisit grubundanalachlor ve paraquat, insektisitlerden parathion, phorate, terbufos, fonofos, izofenfos + phoxim, aldicarb, carbofuran ve methomyl, akarisitlerden flubenzimin ve nematisitlerden metham sodium ve fenamifos'un *H. bacteriophora* IJ'leri üzerinde toksik etki yaptığı rapor edilmiştir (Rovesti vd., 1988). Nematod-pestisit etkileşiminde sadece kimyasalın yapısı değil aynı zamanda test edilen dozu ve IJ'lerin kimyasalla karşı karşıya kalma süresi de önemli bulunmuştur. Zhang vd. 1994 yılında entomopatojen nematod *S. carpocapsae* üzerinde, 14 organofosfat (OP), 7 karbamat, 4 sentetik piretroid, cartap ve imidakloprid'in toksik etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla kurulan deney düzeneklerinde farklı insektisit çözeltilerinde (1, 10, 100µg/ml) bekletilen IJ'lerin canlı-ölü oranlarını belirlemişlerdir. İnfektif juveniller üzerinde en fazla toksik etkiyi cartap ve iki organofosfat (profenofos ve pyraclofos) göstermiştir. Kırksekiz saat sonunda ve 100µg/ml konsantrasyonda cartap %83,4, profenofos %57,1 ve pyraclofos ise %47,8 oranında ölüm meydana getirmiştir. Buna karşın test edilen 7 adet organofosfat (diazinon, dichlorvos, fenthion, malathion, trichlorfon, propetamphos ve prothiofos) 100µg/ml konsantrasyonda nematodlar üzerinde zayıf toksisite göstermiştir. Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar 100µg/ml konsantrasyonda bile IJ'ler üzerinde herhangi bir negatif etki oluşturmamıştır.

Bazı çalışmalarda ise nematodun maruz kaldığı kimyasal maddeler IJ'lerin canlılığında herhangi bir olumsuz etki yapmazken nematodların infektivitesinde azalmaya neden olmuştur. Alumai ve Grewal 2003 yılında, iki entomopatojen nematod türü olan *H. bacteriophora* (HP88 suşu) ve *S. carpocapsae* (All suşu)'nin çim alanlarda kullanılması önerilen pestisitlerle olan etkileşimlerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *S. carpocapsae* türüne ait IJ'lerin canlılığının kullanılan hiçbir pestisitten etkilenmediği, ancak aliminyum tris ve trichlorfon maddesinin kullanılan tüm dozlarda nematodların patojenitesini azalttığı belirlenmiştir. Thiamethoxam ve trichlorfon maddelerinin *H. bacteriophora* IJ'leri üzerinde canlılıkta azalmaya neden olduğu, ayrıca halofenozide, alüminum tris, trichlorfon ve carbaryl maddelerinin de nematodların patojenitesini azalttığı tespit edilmiştir. Bunların aksine, Imidacloprid önerilen dozda (330-440 g/ha)

kullanıldığında, *H. bacteriophora*'nın patojenitesini önemli ölçüde artırmıştır. Imidacloprid ile yapılan bir başka çalışmada ise laboratuvar, sera ve alan denemelerinde nematodlarla birlikte kullanılan imidacloprid'in güçlü bir sinerjistik etki meydana getirdiği rapor edilmiştir (Koppenhöfer vd., 2002).

Bu tez çalışmasından elde edilen veriler kullanılan her 3 insektisit aktif maddesinin IJ'lerin infektivitesi üzerinde herhangi bir olumsuz etki yapmadığını göstermiştir. Head vd.'nin 2000 yılında yaptığı çalışmada, Güney Amerika yaprak galeri böceği, *Liriomyza huidobrensis*'in larvalarına karşı *S. feltiae* ve insektisitler birlikte kombine edilerek kullanılmıştır. Bizim yaptığımız gibi IJ'ler 24 saat süreyle 5 farklı insektisite (abamectin, deltamethrin, dimethoate, heptenophos ve tricklorfon) maruz bırakılmış ve ardından bal mumu güvesi *G. mellonella* larvaları üzerinde infektiviteleri yönünden test edilmiştir. Triklorfon ve dimetoat insektisitlerinin, nematodların *G. mellonella* larvalarını enfekte edebilme kabiliyetleri üzerinde önemli bir azalmaya neden olmadıkları belirtilmiştir. Ancak, abamectin, deltamethrin ve heptenophos ile muamele edilen nematodların infektivitesinde önemli derecede azalma meydana gelmiştir. İkinci aşamada, üzerinde kurumuş halde pestisit kalıntısı bulunan ve hiç pestisit kalıntısı bulunmayan yapraklarla beslenmiş *L. huidobrensis* larvalarına karşı IJ'lerin etkinliği test edilmiş ve iki grup arasında önemli bir ayrıma rastlanmamıştır.

İnfektivite denemelerinde kullanılan konukçu böceğin türü oldukça önemlidir. Imidacloprid'in manas türlerinden (Coleoptera: Scarabeidae) *Exomola orientalis* ve *Popillia japonica* türlerine karşı nematodlarla sinerjistik etkileşimde olduğu, ancak *Rhizotrogus majalis* ve *Maladera castanea* türlerine karşı uygulandıklarında etkide herhangi bir artış olmadığı bildirilmiştir (Koppenhöfer vd., 2002).

Yirmi dört saat süreyle 100µg/ml'lik insektisit solüsyonu içinde inkübe edilen IJ'ler daha sonra son evreye yeni geçmiş *Spodoptera littoralis* larvaları üzerinde patojenite yönünden denenmiştir. Organofosfatlar (acephate, malathion ve temephos hariç), 1 carbamat (methomyl), 2 pyrethroid (permethrin ve ethofenprox) ve cartap, IJ'lerin infektivitesini önemli derecede azaltmıştır. Bununla birlikte, insektisitler IJ'lerin vücut yüzeyinden yıkandığında, sadece cartap (10µg/ml) ve profenofos (100µg/ml)'un nematodların infektivitesi üzerindeki yıkıcı etkisi devam etmiştir (Zhang vd. 1994).

Entomopatojen nematodlar doğada sadece canlı böcekleri enfekte edip onları konukçu olarak kullanmazlar. Ölü böceklerin de içerisine girerek orada üreyebilirler (Puza ve Mracek, 2010). Bu böceklerin bir kısmının ölüm nedeni muhtemelen maruz kaldıkları insektisitlerdir. Bu durumda kadavra içerisine giren IJ'ler gömlek değiştirip sindirim sistemlerini aktif hale getirdikten sonra konukçu dokularıyla beslenmeye başlayacaktır (Lewis ve Clarke, 2012). Bu durumda J4-ergin-J1-J2 gibi konukçu vücudu dışında bulunmayan ve IJ'lere göre çok daha hassas olan evreler insektisit içeren böcek dokularıyla beslenecek ve onlara maruz kalacaktır. Entomopatojen nematodların en önemli avantajlarından birisi girdikleri konukçu böcek içerisinde çoğalabilmeleridir (Georgis vd., 2006). Son dönem bir *G. mellonella* larvasına (200-300mg) giren birkaç IJ, çevre şartlarına bağlı olarak bir-iki hafta içerisinde yaklaşık 80.000-120.000 yeni nesil nematodları meydana getirirler (Hazır vd., 2001; Bazman vd., 2008). Konukçu vücudunda besin maddelerinin tükenmesi sonucu konukçuyu terk eden bu yeni nesil IJ'ler toprak içerisine dağılarak yeni ve uygun konukçu böcek aramaya başlarlar (Griffin vd., 2015; Lewis vd., 2015). Bu nedenle EPN'lerin bir zararlı böceği öldürmesi kadar onun içerisinde üreyebiliyor olması da son derece önemlidir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda farklı kimyasal pestisitlere, farklı sürelerde ve dozlarda maruz kalan IJ'lerin canlılık oranlarına ve infektivitelerine bakılmıştır. Oysa gözönüne alınması gereken önemli kriterlerden birisi de kimyasal madde içeren konukçu böcek vücudunda nematodların üreyip üreyemedikleri olmalıdır. İlk defa bu tez çalışması kapsamında dokularında farklı insektisitler bulunan böcek larvaları içerisinde beslenip-gelişen ve üreyen nematodlar göz önüne alınmıştır. Yapılan deneyler sonucunda elde edilen veriler farklı dönem nematodların böcek dokularında bulunan insektisitlerden etkilenmediğini göstermiştir. Bunun olası nedeni bitkiyle beslenen böcek vücudunda kimyasalların detoksifiye edilmesi olabilir. Pestisitlerin metabolitik süreçleri çevresel koşullara (sıcaklık, nem, toprak, pH vb.), mikrobiyal topluluk ve bitki türüne veya pestisit karakterine (hidrofiliklik, pKa, Kow vb.), biyolojik ve kimyasal reaksiyonlara bağlıdır. Bazı pestisitler yapısı bozulmadan toprakta tutunma özelliğine sahipken bazıları abiyotik olarak transformasyona uğrar. Bitki ve mikroorganizmalarda ise biyotik süreç sonucu enzimatik transformasyon ile detoksifikasyon mekанизması çalıştırılır (Eerd vd., 2003). İnsektisitleri metabolitik transformasyona uğratan 3 biotransformasyon süreci vardır bunlar; oksidasyon, ester hidrolizi ve glutathion konjugasyonudur. Genellikle bu reaksiyonlardan sonra oluşan ürün daha az toksik olduğu belirtilse de bazı durumlarda da insektisit toksisitesinde artış olduğu

bilinmektedir. Örneğin, insektisitlerin geneli ester bağlarından oluşmaktadır. Karbamatlılar, organikfosforular, pyrethroidlerde ester gruplarının hidrolize uğraması sonucu belirtilen insektisitlerin toksisitesinde azalma gözlenmektedir. Yine kalsiyuma bağlı fosfotriesterazlar birçok organik fosforlu insektisiti hidrolize etmektedir. Sitokrom P450 enzimi ile katalize olan çok fonksiyonlu monooksijenazlar böceklerde insektisit metabolizmasında önemli rol oynamaktadırlar. Bu enzimler sadece pestisitlerin toksisitesinin saptanması ile ilişkili değil aynı zamanda böceklerin bu metabolitlere direnç oluşturmasında da rol oynamaktadır (Whalon vd., 2008).

Bu çalışma sonucunda, EPN'lerin insektisitlerle birlikte kullanılabileceği, kimyasalların IJ'lerin canlılığı üzerinde kısmen de olsa olumsuz etkiler yapabileceği ancak kadavra içerisinde gelişen nematodlar üzerinde önemli bir etki yapmadıkları belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Adams, B.J., Fodor, A., Koppenhöfer, H.S., Stackebrandt, E., Stock, S.P., Klein, M. G. 2006. Reprint of “Biodiversity and systematics of nematode bacterium entomopathogens”. **Biological Control**, 1: 4-21.
- Alatorre-Rosas, R., Kaya, H.K. 1990. Interspecific competition between entomopathogenic nematodes in the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema* for an insect host in sand. **Journal of Invertebrate Pathology**, 55: 179–188.
- Ali, J.G., Alborn, H.T. Campos-Herrera, R., Kaplan, F., Duncan, L.W., Rodriguez-Saona, C., Koppenhöfer, A.M., Stelinski, L.L., 2012. Subterranean, herbivore-induced plant volatile increases biological control activity of multiple beneficial nematode species in distinct habitats. **Plos One**, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.00381460038146>.
- Alumai. A., Grewal, P.S., 2003. Tank-Mix compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. **Biocontrol Science and Technology**, 7: 725-730.
- Anonymous, 2008. Aydın İl Tarım Müdürlüğü verileri.
- Balasubramanian N., Hao, Y.J., Toubarro. D, Nascimento, G., Simoes, N. 2009. Purification, biochemical and molecular analysis of a chymotrypsin protease with prophenoloxidase suppression activity from the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. **International Journal for Parasitology**, 9: 975–84. [1]
[SEP]
- Baur, M.E., Kaya, H.K., Strong, D.R. 1998. Foraging ants as scavengers on entomopathogenic nematode-killed insects. **Biological Control**, 3: 231–236.
- Bazman, I., Ozer, N., Hazir, S. 2008. Bionomics of the entomopathogenic nematode, *Steinernema weiseri* (Rhabditida: Steinernematidae). **Nematology**, 10: 735–742.

- Bhatnagar, A., Shinde, V., Bareth, S.S. 2004. Evaluation of entomopathogenic nematodes against White grub, *Maladera insanabilis* Brenske. **International Journal of Pest Management**, 4: 285–289.
- Boemare, N., Akhurst, R. 2006. The Genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: *The Prokaryotes: Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass* (M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, E. Stackebrandt Eds.), Springer, pp. 451–494, New York.
- Boemare, N.E. 2002. Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: *Entomopathogenic Nematology* (Gaugler, R., Eds.), CABI Publishing, pp 35-56, Wallingford, UK.
- Boemare, N.E., Laumond, C. Maulen, H. 1996. The entomopathogenic nematode-bacterium complex: Biology, life cycle and vertebrate safety. **Biocontrol Science and Technology**, 6: 333-346.
- Boff, M.I.C., van Tol, R.H.W.M., Smits, P.H. 2002. Behavioural response of *Heterorhabditis megidis* towards plant roots and insect larvae. **BioControl**, 47: 67–83.
- Boff, M.I.C., Zoon, F.C., Smits, P.H. 2001. Orientation of *Heterorhabditis megidis* to insect hosts and plant roots in a Y-tube sand olfactometer. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 98, 329–337.
- Brown, I. M., Gaugler, R. 1997. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. **Nematologica**, 5: 363-375.
- Burnell, A. M. Stock, S. P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts- lethal pathogens of insect. **Nematology**, 1: 31-42.
- Cakmak, I., Hazir, S., Ulug, D. and Karagoz, 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**, 2: 212–217.

- Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W. 2004. Nematology- Advances and Perspectives Nematode Morphology, Physiology and Ecology. 1. Baskı. Tsinghua University Press Beijing ve CABI Publishing , China.
- Ciche, T.A., Darby, C., Ehlers, R.U., Forst, S., Goodrich-Blair, H. 2006. Dangerous liaisons: The symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria. **Biological Control**, 1: 22–46.
- Ciche, T.A., Ensign, J.C. 2003. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens* which end of a nematode is out?. **Applied and Environmental Microbiology**, 4: 1890–1897.
- Eerd, L.V., Hoagland, R.E., Zablotowicz, R.M., Hall, J.C. 2003. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. **Weed Science**, 51:472-495.
- Fenton, A., Magoolagan, L., Kennedy, Z., Spencer, K.A. 2011. Parasite-induced warning coloration: A novel form of host manipulation. **Animal Behavior**, 2: 417-422.
- Foltan, P., Puza, V. 2009. To complete their life cycle, pathogenic nematode-bacteria complexes deter scavengers from feeding on their host cadaver. **Behavioural Processes**, 1: 76-79.
- Gaugler, R., Kaya, H.K. 1990. Entomopathogenic Nematodes In Biological Control. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Gaugler, R., Lewis, E., Stuart, R.J. 1997. Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. **Oecologia**, 109: 483-489.
- Georgis, R., Koppenhöfer, A.M., Lacey, L.A., Bélair, G., Duncan, L.W., Grewal, P.S., Samish, M., Tan, L., Torr, P., van Tol, R.W.H.M. 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, 1: 103–123.
- Goodrich-Blair, H., Clarke, D.J. 2007. Mutualism and pathogenesis in *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: two roads to the same destination. **Molecular Microbiology**, 2 :260- 268.

- Griffin, C. T., Boemare, N.E., Lewis, E.E. 2005. Biology and behaviour. In: Nematodes as Biocontrol Agents (Grewal, P. S., Ehlers, R-U., Shapiro-Ian, D.I., Eds.) CABI International, pp.47-64, Wallingford, UK.
- Griffin, C.T. 2015. Behaviour and population dynamics of entomopathogenic nematodes following application. In: Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests: Ecology and Applied Technologies for Sustainable Plant and Crop Protection (R. Campos-Herrera Eds.), Springer International Publishing, pp.57–95, Switzerland.
- Gulcu, B., Cimen, H., Raja, R.K., Hazır, S. 2017. Entomopathogenic Nematodes and their Mutualistic Bacteria: Their Ecology and Application as Microbial Control Agents. **Biopesticides International**, 2 :79-112.
- Gulcu, B., Hazır, S. 2012. An alternative storage method for entomopathogenic nematodes. **Turkish Journal of Zoology**, 4: 562-565.
- Gulcu, B., Hazır, S. and Kaya, H.K. 2012. Scavenger deterrent factor (SDF) from symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, 3: 326–333.
- Hazır, S., Kaya, H.K., Stock, S.P., Keskin, N. 2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. **Turkish Journal of Biology**, 27: 181-202.
- Hazır, S., Stock, S.P., Kaya, H.K., Koppenhofer, A.M., Keskin, N. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae), **Journal of Invertebrate Pathology**, 4:243–250.
- Hiltpold, I., Turlings, T.C.J. 2012. Manipulation of chemically mediated interactions in agricultural soils to enhance the control of crop pests and to improve crop yield. **Journal of Chemical Ecology**, 6: 641-650.
- Ishaaya, I. 2000. Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance (Çeviri: Isaac), Springer- Verlag Berlin Heidelberg, New York.

- Jaffee, B.A., Strong, D.R. 2005. Strong bottom-up and weak top-down effects in soil: Nematode parasitized insects and nematode-trapping fungi. **Soil Biology & Biochemistry**, 37: 1011–1021.
- Karagoz M., Gülcü, B., Hazir, S., Kaya, H.K. 2009. Laboratory evaluation of Turkish entomopathogenic nematodes for suppression of the chestnut pests, *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae) and *Cydia splendana* (Lepidoptera: Tortricidae). **Biocontrol Science and Technology**, 7: 755-768.
- Karagoz, M., Gulcu, B., Cakmak, I., Kaya, H.K., Hazir, S. 2007. Predation of entomopathogenic nematodes by *Sancassania* sp. (Acari: Acaridae). **Experimental and Applied Acarology**, 2: 85–95.
- Kaya, H.K. 2002. Natural Enemies and Other Antagonists. In: *Entomopathogenic Nematology*. (Gaugler, R., Eds.), CABI Publishing, pp.189-205, Wallingford, UK.
- Kaya, H.K., Gaugler, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. **Annual Review of Entomology**, 38: 181-206.
- Kaya, H.K., Stock, S.P. 1997. Techniques in insect nematology. In: *Manual of Techniques in Insect Pathology* (Lacey L., Eds.), Academic Press, pp.281-324, San Diego, CA.
- Klaassen, C.D. 2001. (Ed.), 6th Edition, Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons, 8. Baskı, McGraw-Hill, Medical Pub, United States of America.
- Koppenhöfer, A M. 2007. Nematodes. In: *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (Lacey, L. A. and Kaya H. K. Eds.), Springer, pp.246-264. Germany.
- Koppenhöfer, A.M. 2000. Nematodes. In: *Field Manual of Techniques in Invertebrate pathology* (Lacey, L. A., Kaya, H.K. Eds.). Dordrecht, pp.283-301, The Netherlands, Kluwer.

- Koppenhöfer, A.M., Cowles, E.A., Cowles, R.S., Baumgartner, L. 2002. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, 1: 90-97.
- Koppenhöfer, A.M., Fuzy, E. M. 2003. Ecological characterization of *Steinernema scarabaei*: a natural pathogen of scarab larvae. **Journal Invertebrate Pathology**, 1: 139-148.
- Krishnayya, P .V., Grewal, P .S. 2002. Effect of neem and selected fungicides on viability and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. **Biocontrol Science and Technology**, 2: 259-266.
- Kung, S., Gaugler, R., Kaya, H.K. 1990. Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. **The Journal of Nematology**, 4: 440-445.
- Kung, S.P., Gaugler, R., Kaya, H.K. 1991. Effects of soil temperature, moisture and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. **Journal of Invertebrate Pathology**, 2: 242-249.
- Lewis, E.E., Clarke, D.J. 2012. Nematode parasites and entomopathogens. In: *Insect Pathology* (Vega, F.E., Kaya, H.K. Eds.), Elsevier, pp.395–424, Amsterdam. ^[1]_[SEP]
- Lewis, E.E., Hazir, S., Hodson, A. and Gulcu, B. (2015) Trophic relationships of entomopathogenic nematodes in agricultural habitats. In R. Campos-Herrera (ed.), *Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests: Ecology and Applied Technologies for Sustainable Plant and Crop Protection*, Springer International Publishing, pp. 139–163, Switzerland.
- Lu, D., Macchietto, M., Chang, D., Barros, M.M., Baldwin, J., Mortazavi, A., and Dillman, A.R. 2017. Activated entomopathogenic nematode infective juveniles release lethal venom proteins. **Plos Pathogens**, e1006302.
- Mauléon, H., Briand, S., Laumond, C., Bonnifassi, E. 1993. Utilisation d'enzymes digestives pour l'étude du parasitisme des *Steinernematidae* et *Heterorhabditidae* envers les larves d'insectes. **Fundamental and Applied Nematology**, 2, 185-186.

- Nishimatsu, T. Jackson., J.J. 1998. Interaction of insecticides, entomopathogenic nematodes, and larvae of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, 2: 410-418.
- Peters, A. 1996. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. And their impact on insect populations. **Biocontrol Science and Tecnology**. 3: 423-429.
- Poinar, G.O., Jr. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control (Gaugler R., Kaya H. K., Eds.), CRC Press, pp. 23-61, Boca Raton, Florida.
- Potel, M.N., Stolinski, M., Wright, D.J. 1997. Neutral lipids and the assessment of infectivity in entomopathogenic nematodes: observations on four *Steinernema* species. **Parasitology**, 5: 489-496.
- Puza, V., Mracek, Z. 2010. Does scavenging extend the host range of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae). **Journal of Invertebrate Pathology** 1, 1-3.
- Rasmann, S., Kollner, T.O., Degenhardt, J., Hiltpold, I., Toepfer, S., Kuhlmann, U., Gershenson, J. and Turlings, T.C.J. 2005. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*, 4: 732–737.
- Rovesti, L., Deseo, K.V. 1990. Compatibility of chemical pesticides with entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Weiser and *S. feltiae* Filipzev (Nematoda: Steinernematidae). **Nematology**, 1: 237-245.
- Rovesti, L., Heinzpeter, E.W., Tagliente, F., Deseo, K.V. 1988. Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). **Nematology**, 4: 462-476.
- Shapiro-Ilan, D.I., Hazir, S., Glazer, I. 2017. Basic and applied research: Entomopathogenic nematodes. In: Microbial Control of Insect and Mite

Pests (Lacey L.A., Eds.), From Theory to Practice, Academic Press, pp.91–108, San Diego, USA.

Shapiro-Ilan, D.I., Stuart, R.J., McCoy, C.W. 2006. A comparison of entomopathogenic nematode longevity in soil under laboratory conditions. **The Journal of Nematology**, 1: 119–129.

Sicard, M., Hinsinger, J., Le Brun, N., Pages, S., Boemare, N.E., Moulia, C. 2006. Inter-specific competition between entomopathogenic nematodes (*Steinernema*) is modified by their bacterial symbionts (*Xenorhabdus*). *BMC Evolutionary Biology*, 6: 68.

Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., Stevens, J.T., Weiner, M.L. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment, **Toxicology**, 1: 3-59.

Solomon, M.B. 1999. The callipyge phenomenon: toughness intervention methods. **Journal of Animal Science**, 2: 238-242.

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

Stock, S.P., Goodrich-Blair, H. 2012. Invertebrate parasitic and pathogenic nematodes. In: *Manual of Techniques in Insect Pathology* Second Edition (Lacey L. Eds.), Academic Press, pp.373-426, San Diego, CA.

Stock, S.P., Rivera-Orduno, B., Flores-Lara, Y. 2009. *Heterorhabditis sonorensis* n. sp. (Nematoda: Heterorhabditidae), a natural pathogen of the seasonal cicada *Diceroprocta ornea* (Walker) (Homoptera: Cicadidae) in the Sonoran desert. **Journal of Invertebrate Pathology**, 3: 175-184.

Tanada, Y., Kaya, H.K. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press, San Diego, CA.

- Toubarro, D., Avila, M.M, Hao, Y.J., Balasubramanian, N., Jing, Y.J., Montiel, R. 2013. A serpin released by an entomopathogen impairs clot formation in insect defense system. **Plos One**, 7:e69161. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069161> PMID: 23874900 ^[1]_[SEP]
- Tuzmen, N., Candan, N., Kaya, E., Demiryas, N. 2008. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. **Cell Biochemistry and Function**, 1: 119–124.
- Ulu, T.C., Sadiç, B., Susurluk, A. 2016. Bazı pestisitlerin entomopatojen nematod *Steinernema feltiae* TUR-S3 üzerine etkileri. **Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi**, 1: 55-64.
- Vural, N. 2005. Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara.
- Waterhouse, D.F., Norris, K.R., 1987. Biological Control Pacific prospects, Australian Centre for International Agricultural Research.
- Whalon, M., Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R. 2008. Global Pesticide Resistance in Arthropods, pp.55.
- White, G.F., 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. **Science**. 1709: 302-303.
- Willett, D.S., Alborn, H.T., Duncan, L.W., Stelinski, L.L., 2015. Social networks of educated nematodes. *Scientific Reports*, doi:10.1038/srep14388.
- Womersly, C.Z., 1990. Dehydration sucvial and anhydroiotic potential. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control* (Gaugler, R., Kaya, H.K., Eds.), CRC. Press, pp.117-137, Boca Raton, Florida.
- Yamanel, Ş., Çakır, Ş. 2004. Türkiye'nin bazı karasinek (*Musca domestica* L.) populasyonlarında organofosfatlı insektisidlerden metil paration ve diazinon karşı gelişmiş direnç. **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, 4: 210-214.

Zhang, L., Shono, T., Yamanka, S., Tanabe, H. 1994. Effects of insecticides on the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* Weiser. **Applied Entomology and Zoology**. 4: 539-547.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Esra Nalıncı

Doğum Yeri Ve Tarihi : Karacasu, 10.09.1994

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Bölümü

Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

A) Bildiriler

-

İLETİŞİM

E-Posta Adresi : esranalinci94@hotmail.com

Tarih :.././....