



**ENTOMOPATOJEN NEMATOD
HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA'NIN
HİBRİT İRKİ VE EBEVEYNİ ÜZERİNE
FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI**

Büşra SADIÇ



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENTOMOPATOJEN PATOJEN NEMATOD *HETERORHABDİTİS*
BACTERIOPHORA'NİN HİBRİT İRKİ VE EBEVEYİNİ ÜZERİNE
FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI**

Büşra SADIÇ

Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA-2017

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Büşra SADIÇ tarafından hazırlanan "Entomopatojen Nematod *Heterorhabditis bacteriophora*'nın Hibrit Irkı ve Ebeveyni Üzerine Formülasyon Çalışmaları" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman :Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Başkan: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
U.Ü. Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

İmza 

Üye: Doç. Dr. Gül ATANUR
B.T.Ü. Doğa Bilimleri, Mimarlık ve Müh. Fak.
Şehir ve Bölge Planlama Anabilim Dalı

İmza 

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

İmza 

Yukarıdaki sonucu onaylarım



Prof. Dr. Ali BAYRAM
Enstitü Müdürü

22/6/2017 (Tarih)

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

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

beyan ederim.



20.10.2017

Büşra SADIÇ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ENTOMOPATOJEN PATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora*'NİN HİBRİT İRKİ VE EBEVEYİNİ ÜZERİNE FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI

Büşra SADIÇ

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Pestisitlerin bilinçsiz ve yoğun olarak kullanılması insan ve hayvan sağlığını tehdit ederek doğada tahribata neden olmuştur. Bu olumsuzlukların ortaya çıkıp fark edilmesiyle birlikte tarımda kimyasal savaşıma alternatif yollar aranmaya başlanmış ve tarımda sürdürülebilirlik büyük önem kazanmıştır. Sürdürülebilir tarımın yapıtaşı olarak görülen “Entegre Zararlı Yönetimi (IPM)” uygun olan tüm mücadele yöntemlerini ve tekniklerini uyumlu bir şekilde kullanmasıyla zararlı popülasyon yoğunluklarını ekonomik zarar seviyesinin altında tutan bir zararlı yönetim sistemidir. Çevreye, insanlara ve diğer canlılara hiçbir toksik etkisi bulunmayan Biyolojik Mücadele ise IPM içerisinde kullanılacak en iyi alternatif mücadele yöntemlerinden biridir. Biyolojik mücadele kapsamında zararlı böcek popülasyonlarının kontrol altında tutulmasına katkıda bulunan entomopatojen nematodlar (EPN), toprakta doğal olarak bulunan en önemli biyolojik mücadele ajanlarından birisidir. EPN’lerin geniş konukçu aralığı, aktif konukçu arama yetenekleri, böcek patojeni bakterisi - EPN arasındaki ortak uyum, konukçuyu hızla öldürme, *in vitro* koşullarda kolayca ve çok sayıda üretilmesi ve çevreye zararının olmaması EPN’lerin son yıllarda biyolojik mücadelede etkin olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır. Biyolojik mücadele ajanı olan nematodların ticarileştirilmesi açısından formüle edilmeleri ve kalite kontrolleri çok önemli iki unsurdur. Kitle üretimi yapılan nematodların depolanması, taşınması ve uygulanabilirliğinin kolaylığı nedeniyle formülasyon yapılmaktadır.

Önceki yıllarda yapılan çalışmalarda Antalya ve Şanlıurfa’dan elde edilen izolatlar ile hibridizasyon çalışması yapılmış ve bu çalışma sonucunda ebeveynlerinden daha üstün yetenekli HbH ırkı ortaya çıkarılmıştır. Bu tez çalışması kapsamında ise hibrit ırk HbH ile ebeveyni Hb1138 izolatu mısır nişastası, pudra, mısır unu, kitosan ve bu maddelerin kombinasyonları içerisine konularak formüle edilmeye çalışılmıştır. Sayımlar sonucunda grupların ve ırkların arasındaki yaşam oranı karşılaştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde HbH hibrit ırkının 1138 izolatına göre çeşitli maddeler içerisinde istatistiksel olarak daha düşük ölüm oranlarına sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Entomopatojen nematod, *Heterorhabditis bacteriophora*, Formülasyon, Kitosan, Nişasta.

2017, IX+51 sayfa



ABSTRACT

Master's Thesis

INVESTIGATIONS ON FORMULATION OF HYBRID STRAIN AND ITS PARENT OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE, *Heterorhabditis bacteriophora* Büşra SADIÇ

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

Supervisor: Prof. Dr. İ. Alper SUSURLUK

Excessive and improper use of pesticides is threatening human and environment health and has destructive effect on nature. Because of these negative effects, there is a search for alternative control method and sustainable agricultural has gained importance. As a primary component of sustainable agriculture, Integrated Pest Management (IPM) is management system that combines all control methods together to decrease population of pests. With low toxic effect on human and environment, Biological Control is one of the most feasible and alternative control methods for IPM system. Entomopathogenic nematodes (EPN) are natural biocontrol agents and provide effective control on soil-borne insect pests. EPN have wide range of host spectrum, they have active host seeking ability, a symbiotic bacteria, they can be mass produced under in vitro conditions and they don't have negative effects on environment. Considering these positive factors, EPN has become an important biocontrol agent against soil-borne pests. Formulation and quality control are two of the most important factors on commercialization of entomopathogenic nematodes as biocontrol agents. Aim of the formulation is to facilitate storage, transport and application of the mass produced nematodes.

In a prior study, a superior hybrid strain HbH was obtained from EPN isolates which isolated from Antalya and Şanlıurfa. In the present study, HbH and its parent Hb1138 mixed with corn starch, talk, corn flour, chitosan and their different combinations as a formulation. Mortality ratios of strains and compounds were compared. Results of the study showed that, mortality ratio of HbH was significantly lower than Hb1138 in almost all compounds.

Keywords: Entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora*, Formulation, Chitosan, Starch

2017, IX+49 pages

TEŐEKKÜR

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

Mesleki gelişimimde engin bilgilerinden faydalandığım Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nin tüm hocalarına ve araştırma görevlilerine, Nematoloji Laboratuvarındaki çalışmalarım sırasında ve tezimin yazım aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Tufan Can ULU'ya, Nematoloji Laboratuvarında önceki yıllarda birlikte çalıştığım Ziraat Yüksek Mühendisi İrem YETİŐKİN'e, manevi desteğini her daim hissettiğim Y. Lisans Öğrencisi Gülsüm ÇELİK'e, hayatım boyunca attığım her adımda yanımda olan eğitimim için maddi ve manevi her imkanı sağlayan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Büşra SADIÇ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	III
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1. Materyal	13
3.1.1. Çalışmada kullanılan <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> İzolat ve Irkı	13
3.1.2. <i>Galleria mellonella</i> Larvaları	13
3.1.3. Denemede Kullanılan Cihazlar	14
3.1.4. Kimyasal Malzemeler, Besin ve Formülasyon Maddeleri	14
3.2. Yöntem	15
3.2.1. <i>Galleria mellonella</i> 'nın Laboratuvarda Yetiştirilmesi	15
3.2.2. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının In vivo Üretimi	17
3.2.2.1. Enfeksiyon	17
3.2.2.2. White Trap Düzeneğinin Kurulması	19
3.2.3. Formülasyon çalışmaları	22
3.2.3.1. Maddelerin Hazırlanması	22
3.2.3.2. Hb1138 İzolatı ve HbH Irkının Deneme İçin Hazırlanması	23
3.2.3.3. Nematodlar ve Maddelerin Karışımının Yapılması	24
3.2.3.4. Formüle Edilen İJ'lerin Sayımı	26
3.2.4. Veri Analizleri	29
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
6. KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	50

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklamalar

g	Gram
r	Korelasyon katsayısı
ml	Mililitre (1×10^3 l)
μ l	Mikrolitre (1×10^3 ml)
mm	Milimetre (1×10^3 m)
μ m	Mikrometre (1×10^3 mm)
$^{\circ}$ C	Santigrat derece (Celcius)
cm	Santimetre (1×10^2 m)
cm^2	Santimetrekare (1×10^4 m ²)

Kısaltmalar Açıklamalar

dk	Dakika
EPN	Entomopatojen nematod
IJ	İnfektif Jüvenil
J3	Üçüncü dönem larva
J4	Dördüncü dönem larva
Rh	Relative humidity (Oransal nem)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Besinden ayıklanmış <i>Galleria mellonella</i> larvaları.	14
Şekil 3.2. Formülasyonda kullanılan maddeler.....	15
Şekil 3.3. Besin içerisinde bulunan <i>Galleria mellonella</i> larvaları.	16
Şekil 3.4. Etüv içerisinde <i>Galleria mellonella</i> yetiştirme kavanozları.	16
Şekil 3.5. <i>Galleria mellonella</i> yetiştirme kavanozu.....	17
Şekil 3.6. +4 °C’de depolanan EPN flaskları	18
Şekil 3.7. <i>G. mellonella</i> larvası üzerine IJ inokulasyonu.....	18
Şekil 3.8. Enfeksiyon yapılmış 24’lük Well kapları	19
Şekil 3.9. Enfekteli <i>Galleria mellonella</i> larvaları	20
Şekil 3.10. White Trap’e alınmış kadavralar	21
Şekil 3.11. Kadavralardan çıkmış olan IJ’ler	21
Şekil 3.12. Formülasyonların konulduğu 6 kuyucuklu Well kabı	22
Şekil 3.13. Formülasyon maddelerinin hassas terazi üzerinde tartımı.....	23
Şekil 3.14. Sayım kabı	24
Şekil 3.15. Erlenler içine hazırlanmış IJ+saf su solüsyonu.....	24
Şekil 3.16. Formülasyon ortamlarındaki nemi belirlemeye yarayan nem tayin cihazı...25	
Şekil 3.17. Tartımı yapılan maddelerin içerisine IJ+saf su solüsyonu koyulması.....	25
Şekil 3.18. Solüsyon ve fomülasyon maddelerinin karıştırılması.....	25
Şekil 3.19. Formülasyonların hazırlandığı 6 kuyucuklu Well kapları	26
Şekil 3.20. Sayımı yapılacak örneklerin 2 saat suda bekletildiği Well kapları.....	27
Şekil 3.21. 0,01 g örnek tartımı.....	27
Şekil 3.22. IJ’lerin ölü-canlı sayımı	27
Şekil 3.23. Stereo mikroskop altındaki ölü- canlı IJ’ler	28
Şekil 3.24. Işık mikroskobu altında görülen canlı IJ.....	28
Şekil 3.25. Işık mikroskobu altında görülen ölü IJ	28
Şekil 4.1. HbH hibrit ırkının kitosan kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:443.9256; df:4,10; P: <0.0001)	30
Şekil 4.2. HbH hibrit ırkının mısır unu ve nişasta kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:458.6215; df:4,10; P: <0.0001)	31
Şekil 4.3. HbH hibrit ırkının mısır unu ve pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:384.6881; df:4,10; P: <0.0001)	31
Şekil 4.4. HbH hibrit ırkının mısır unu kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:12.7010; df:4,10; P: 0.0006)	32
Şekil 4.5. HbH hibrit ırkının nişasta ve pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:72.7898; df:4,10; P: <0.0001).....	33
Şekil 4.6. HbH hibrit ırkının nişasta, pudra ve mısır unu kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:30.8215; df:4,10; P: <0.0001)	33
Şekil 4.7. HbH hibrit ırkının nişasta kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:44.8350; df:4,10; P: <0.0001)	34

Şekil 4.8. HbH hibrit ırkının pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:231.5218; df:4,10; P: <0.0001)	35
Şekil 4.9. Hb1138 izolatının kitosan kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı.....	35
Şekil 4.10. Hb1338 izolatının mısır unu ve nişasta kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 47.7963; df:4,10; P: <0.0001)	36
Şekil 4.11. Hb1338 izolatının mısır unu ve pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 51.4904; df:4,10; P: <0.0001)	37
Şekil 4.12. Hb1338 izolatının mısır unu kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 28.8809; df:4,10; P: <0.0001)	37
Şekil 4.13. Hb1338 izolatının nişasta ve pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 23.2017; df:4,10; P: <0.0001)	38
Şekil 4.14. Hb1338 izolatının nişasta, pudra ve mısır nişastasını kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 27.4898; df:4,10; P: <0.0001)	39
Şekil 4.15. Hb1338 izolatının nişasta kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 20.8813; df:4,10; P: <0.0001)	39
Şekil 4.16. Hb1338 izolatının pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 101.6758; df:4,10; P: <0.0001)	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kullanılan <i>H. bacteriophora</i> ırkı ve ebeveynleri.....	13
Çizelge 3.2. Ringer solüsyonu içeriği	17



1.GİRİŞ

Tarımsal mücadele, ekonomik öneme sahip bitkilerin hastalık, zararlı ve yabancı otların etkilerinden ekonomik ölçüler içinde korunarak, ürün veriminin ve kalitesinin artırılmasıdır (Delen ve ark. 2005). Hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlar tarafından oluşturulan kayıpları önlemek amacıyla da değişik canlı gruplarına karşı değişik mücadele yöntem ve teknikleri geliştirilmiştir. Günümüzde kullanılan bu yöntemler; kültürel önlemler, fiziksel-mekaniksel mücadele, kimyasal mücadele, biyolojik mücadele, biyoteknik mücadele ve entegre mücadele olarak sıralanabilir (Uygun ve ark. 2015). Bu tarımsal savaş yöntemlerinin bazılarının temelleri Antik Roma uygarlıklarının yaşadığı dönemlerde atılmaya başlanmıştır. İlk olarak M.Ö. 2000’li yıllarda Sarı Kükürt olarak bilinen Sülfür taşlarının yakılarak çıkan dumanın insektisit özelliği olduğu rapor edilmiş ve M.Ö. 100 yılında Antik Yunan uygarlığında yaşayan Homer’ın Odise (Odyssey) destanında da yer almıştır. M.Ö. 1200 yıllarında selektif olmayan herbisitlerin kullanıldığı rapor edilmiş ve M.Ö. 100’lerde yine Antik Roma uygarlıklarının *Helloborus* spp. (Ranunculales: Ranunculaceae) (Düğünçiçeğigiller)’ye ait bitkileri sıçanlar, fareler ve böceklerin mücadelesinde kullandıkları kaydedilmiştir (Fishel 2009). Biyolojik mücadele ilk olarak M.S. 300’lerde Çin’de insanların kırmızımsı-sarı renkli karıncaları toplayıp pamuklu turuncgil dallarına ve filizlerine salınmış daha sonra karıncaların normalden daha büyük olduğu ve karınca salınmayan ağaçlarda büyük zarar görülmesiyle fark edilmiştir (Tsao ve Gordon 1983). 1690’da Tütün bitkisinden nikotin ekstrakte edilerek insektisit olarak kullanılmış, 1850-1860 yılları arasında Bordo Bulamacı bağ mildiyösüne karşı uygulanmış ve Arsenat ise patates böceğini kontrol altına almak için patates tarlalarında kullanılmıştır. 1873’de laboratuvarında ilk defa DDT (Dichlorodiphenyltrichloroethane) üretilmiş ardından 1907-1911 yılları arasında endüstriyel pestisit olarak Arsenat’ın üretilmesi ve sonrasında DDT’nin birçok bitki zararlılarına karşı etkili olduğunun anlaşılmasıyla pestisitlerin endüstriyel devri başlamıştır (Fishel 2009).

Birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de en yoğun kullanılan yöntem tarım ilaçlarının yer aldığı kimyasal savaşımdır. Çünkü kimyasal savaşım diğer yöntemlere oranla, kolay

uygulanabilir olması, daha yüksek etkinlikte olması, daha hızlı sonuç vermesi ve piyasadan hemen temin edilmesi gibi özellikleriyle diğer savaşım yöntemlerinden daha fazla tercih edilmesine neden olmuştur. (Uygun ve ark. 2010, Delen ve ark. 2015).

Kimyasal mücadele uygulamaları DDT ve benzeri sentetik organik pestisitlerin keşfinden sonra ürün kayıplarına neden olan etmenlerin mücadelesinde tek mücadele yöntemi olarak görülmeye başlanmış ve bu süreci izleyen 50-60 yıl içerisinde sentetik organik ilaç sanayi son yılların en hızlı gelişen endüstrisi haline gelerek hastalık, zararlı ve yabancı otlara karşı kullanılmak üzere çok farklı etken maddeler piyasaya sürülmüştür. Ancak bu pestisitlerin bilinçsiz ve yoğun olarak kullanılması sonucu insan ve hayvan sağlığının tehdit edilmesi, gıda maddelerinde ilaç kalıntıları, doğal dengenin bozulma riski, zararlıların direnç kazanması, hava, toprak, su kirliliği ortaya çıkmış ve Rachel Carson 1962 yılında Silent Spring (Sessiz Bahar) adlı eserinde de bu sorunlara dikkat çekmiştir (Susurluk ve Ökten 2000, Tiryaki ve ark. 2010, Uygun ve ark. 2015, Ulu ve ark. 2016). Ortaya çıkan bu ciddi sorunlar nedeniyle 1970'li yılların başından itibaren kimyasal mücadeleye alternatif aranmış ve tarımda sürdürülebilirlik büyük önem kazanmıştır.

Sürdürülebilir tarım, uzun dönemde doğal kaynakların korunmasının yanı sıra çevreye zarar vermeyen tarımsal teknolojilerin kullanıldığı bir tarımsal yapının oluşturulmasıdır (Turhan 2005). Sürdürülebilir tarım uygulamalarında kimyasal mücadeleye alternatif olarak biyolojik mücadele, entegre mücadele sistemleri ve biyoteknoloji zararlı yönetiminde önemli mücadele yöntemlerindedir (Lewis ve ark. 1997). Sürdürülebilir tarımın yapıtaşısı olarak görülen Entegre Zararlı Yönetimi (IPM), zararlı türlerin popülasyon dinamikleri ve çevre ile ilişkilerini dikkate alarak, uygun olan tüm mücadele yöntemlerini ve tekniklerini uyumlu bir şekilde kullanmasıyla zararlı popülasyon yoğunluklarını ekonomik zarar seviyesinin altında tutan bir zararlı yönetim sistemidir (Peshin ve Zhang 2014). Bu mücadele yöntemleri içerisinde kültürel, fiziksel, kimyasal, biyolojik ve biyoteknik mücadele yöntemleri birlikte kullanılabilir (Ulu ve ark. 2016). Biyolojik mücadelenin çevreye ve insanlara karşı hiçbir toksik etkisi

yoktur. Bu sebeple günümüzde biyolojik mücadele IPM'in temelini oluşturup, en çok tercih edilen alternatif mücadele yöntemlerinden biridir (Gaugler ve ark. 1997, Susurluk ve Ökten 2000, Lomer ve ark. 2001, Armağan ve ark. 2010).

Biyolojik mücadele, ilk kez 1919 yılında Smith tarafından kullanılmış ve basit olarak zararlı popülasyonlarını baskı altına alma ve düzenleme olarak tanımlanmıştır (Uygun ve ark. 2010). Daha sonraki yıllarda ise DeBach (1964) tarımda zararlıların mücadelesinde canlı organizmaların insan faktörü ile bilinçli kullanımı sayesinde zararlı popülasyon yoğunluğunun baskı altına alınarak daha düşük seviyede tutulması olarak tanımlanmıştır. Biyolojik mücadele, “Uygulamalı Biyolojik Mücadele ve Doğal Biyolojik Mücadele” olarak iki ayrı başlık altında incelenmektedir. Uygulamalı biyolojik mücadele, doğal düşmanların insan eli etkisi ile zararlıların baskı altına alınmasıdır. Doğal biyolojik mücadele ise insan eli değmeden doğal düşmanların zararlı popülasyonlarını kendiliğinden oluşan baskıyla kontrol altına almasıdır (Van den Bosh ve ark. 1982). Biyolojik mücadele yönteminde zararlılara karşı kullanılan her türlü organizmaya ajan adı verilmektedir ve bu ajanlar arasında aktif ve etkili bir biçimde kullanılan gruptan biri ise Entomopatojen Nematodlardır (EPN) (Gaugler 2002).

İpliksi solucan olarak da bilinen Nematodlar, genel olarak uzun, ince, segmentsiz ve düz yapıya sahip mikroskobik canlılardır. Vücutları ince deri örtüyle kaplı olan nematodlar halkalı görünüme sahiptir ve bu halkalara annül adı verilir. Uzunlukları 0.2-10 mm, genişlikleri ise 0.02-0.1 mm arasında cinslere ve türlere göre değişiklik göstermektedir. Tarımsal açıdan önemli nematodlar bitki patojeni ve böcek patojeni olmak üzere iki grup altında incelenmektedir. Bitki patojeni nematodlar özellikle bitkinin toprak altı kısımlarında zarara neden olurlar. Böcek patojeni nematodlar ise toprak altındaki böcekleri hastalandırıp öldürme yeteneğine sahiptirler.

İlk entomopatojen nematod *Aplectana kraussei* (*Steinernema kraussei*), 1923 yılında Steiner, ikinci EPN *Neoaplectana glaseri* Steiner 1929 yılında Glaser ve Fox tarafından

bulunmuştur (Glaser ve Fox 1930). Ancak o dönemde sistematikte yaşanan bazı belirsizliklerden dolayı Steiner bulunan bu EPN'leri Oxyuridae familyası içerisinde yerleştirmiştir. *Steinernema glaseri*, ilk defa 1930 yıllarında larva dönemindeki Japon Böceği *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabidae)'ya karşı uygulanmıştır. 1955'te Jaroslav Weiser'in Avrupa'da elma iç kurdu larvasından *Neoplactana carpocapsae*'yi, Dutky ve Hough'un ise Amerika'nın kuzeydoğusunda elma iç kurdundan DD-136 ırkını elde etmesinden sonra entomopatojen nematodların hayat döngüsü ve patojenlikleri hakkında önemli çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. 1965'te *S. carpocapsae* kültürleriyle morfolojik ve hibridizasyon çalışmaları yapılarak *S. carpocapsae*'nin Çekoslovakya ırkı ve Kuzey Amerikan DD-136 ırkı karşılaştırılarak bu iki ırkın türdeş olduğu saptanmıştır (Poinar 1967). Poinar'ın yaptığı incelemeler sonucu da 1976 yılında *Heterorhabditis* cinsine ait entomopatojen nematodlar keşfedilmiştir (Poinar Jr. and Grewal 2012).

Nematodların yer aldığı Nematoda şubesi içerisinde birçok böcek antagonisti bulunmasına rağmen Rhabditidae familyasının *Heterorhabditis* ve *Steinernema* cinsleri içerisinde yer alan biyolojik mücadele ajanları bitki korumada çok önemli bir yere sahiptir. Genom sekansı son zamanlarda tamamlanmış olan ve hayvansal genetik çalışmalarında model olan *Caenorhabditis elegans* entomopatojen nematodlarla yakından ilgilidir (Riddle ve ark. 1997). *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* cinsine ait bakteriler ve EPN'ler arasında eşsiz mutualistik bir ilişki bulunmaktadır. Bu simbiyont bakteriler Entrobacteriaceae familyasına aittir (Ehlers ve ark. 1988). Bu bakteri-nematod kompleksi böceklerin biyolojik mücadelesinde kullanılmaktadır (Ehlers 1996).

Dauer (infektif) juvenil (DJ, IJ, J3) bütün Rhabditid nematodların hayat döngüsünde özel bir gelişim dönemidir. Almanca'da dayanıklı anlamına gelen "Dauer" ilk defa Fuchs (1915) tarafından tanımlanmış ve EPN'lerin diğer juvenil dönemlerinden farklı olarak besin azlığına, kötü çevresel şartlara dayanıklı olduğu dönemi belirtmek için kullanılmaktadır. IJ toprakta serbest olarak uzun süre yaşayabilen ve ortama iyi adaptasyon sağlayan dönemdir. Aynı zamanda IJ bağırsağının ön kısmında 200- 2000

simbiyont bakteri hücresi taşımaktadır (Endo ve Nickle 1994). EPN'ler konukçusu olacak böceklerin doğal açıklıklarından (ağız, anüs ve trake) veya doğrudan kütikula yoluyla hemosöl içerisine girerler (Peters ve Ehlers 1997). Hemolimf nematodların ve EPN bünyesinde bulunan simbiyotik bakterilerin üremesi için optimal koşulları sağlamaktadır. Konukçusunun içine giren IJ'ler besin sinyalini algıladığında bağırsaklarında bulunan simbiyont bakteri hücrelerini böceğin hemosölüne bırakırlar. Hemolimf içerisinde üreyen bakteriler aynı zamanda metabolit ve toksin üreterek konukçusunu kan zehirlenmesi yoluyla (septisemi) 2 gün içinde öldürürler (Simoos ve Rosa 1996). Bakteri hızla çoğalarak nematodun üremesi için uygun koşulları oluşturur ve bu bakteri hücreleriyle beslenen nematodların ergin olup üremeye devam ederler. Konukçu içerisinde besin bitene kadar üremeye devam eden EPN'ler, besin bittiğinde juveniller sinyal olarak IJ haline dönüşür, ardından bağırsağında bakteri ile birlikte kadavrayı terk ederek yeni konukçu aramaya başlarlar (Popiel ve ark. 1989).

Benzer özellikler gösteren iki bakteri cinsi *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus*'ta çevre koşullarına göre birinci ve ikinci faz görülmektedir (Akhurst 1980). Ayrıca intermediate fazın da olduğu rapor edilmiştir (Gerritsen ve Smits 1997). Birinci faz IJ'lerden ve enfekteli larvalardan izole edilebilirken, ikinci faz da *in vitro* alt kültür üretiminin sonrasında ve *in vivo* üretimde ise nematodun kadavrayı terk etmesinden sonra meydana geldiği belirtilmiştir (Grunder 1997). İkinci faza geçen bakterinin alt kültürü yapıldığında optimal şartlar bulunuyorsa, bakteri ikinci fazdan birinci faza geri dönebilir.

Birçok yararlı organizmanın yanı sıra nematodlar da biyolojik mücadelede kullanılan canlılar arasında yer almaktadır. Tarım ve ormancılık alanlarında birçok nematod; böcekler, akarlar ve yumuşakçalarla ilgili olduğu düşünülmektedir (Poinar 1983, Petersen 1985, Gaugler ve Kaya 1990, Bedding 1993, Wilson ve Gaugler 2000). Günümüzde 30'dan fazla nematod familyasının böcekler üzerinde parazit veya böceklerle ilişkili olduğu bilinmektedir (Nickle 1972, Poinar 1975, Kaya ve Stock 1997). Ayrıca biyolojik mücadele ajanı olan nematodlar sadece böceklere karşı

kullanımla sınırlı değildir. *Phasmarhabditis hermaphrodita* Schneider Rhabditidae familyası içinde yer alıp biyolojik mollusit olarak geliştirildiği bilinmektedir (Glen ve Wilson 1997, Wilson ve Gaugler 2000).

Entomopatojen nematodların (EPN) yeni türler ve popülasyon dağılımlarıyla ilgili bilgi edinmek ve keşifler yapmak amacıyla dünya çapında yürütülen çalışmalarda EPN'lerin düzensiz dağılımına rağmen ekili ve ekilmemiş her bölge toprağında bulunabildiği tespit edilmiştir (Hominick ve ark. 1996, Hominick 2002). Dünya üzerinde 49 ülke topraklarında bulunduğu belirtilen ülkeler: Avrupa'da 19, Asya'da 9, Kuzey Amerika'dan 3, Orta Amerika ve Karayipler'den 7, Güney Amerika'dan 8 ve Afrika'dan 3'tür (Stock 2005).

Özellikle toprak altı zararlılarına karşı kullanılan EPN'ler *in vivo* ortamda üretildikleri gibi *in vitro* ortamda da kitle üretimleri yapılabilmektedir. *In vitro* ortamda ilk olarak Glaser 1931 yılında *S. glaseri*'yi petri kabı içerisinde farklı agar ortamlarında üretmeyi başarmıştır (House ve ark. 1965, Wouts 1981, Dunphy ve Webster 1989). *In vitro* sıvı kültürde üretim ise 1952 yılında Stoll tarafından çiğ karaciğer ekstraktlarının bulunduğu çalkalanan flasklar içerisinde yapılmış ancak 1982 yılında biyoreaktörlerle sıvı ortamda kitle üretim yapmaya başlanmıştır. Sıvı kültür ortamı, katı kültürden çok daha fazla nematod üremesini sağladığından günümüzde kitle üretim yapan firmalar biyoreaktörler içerisinde monoksenik sıvı kültür ortamında üretim yapmaktadırlar.

Biyolojik mücadele ajanı olan nematodların ticarileştirilmesi açısından formüle edilmeleri ve kalite kontrolleri çok önemli iki unsurdur. Kitle üretimi yapılan nematodlar depolanması, taşınması ve uygulanabilirliğinin kolaylığı nedeniyle formülasyon yapılmaktadır. Avrupa'da kitle üretim yapan firmalar, ticari olarak EPN formülasyonları oluşturup satmaktadırlar (Grewal ve Peters 2005). Ancak ülkemizde EPN üretim ve formülasyonu yapılmamasından dolayı ticari formülasyon ürünleri ithal edilmek mecburiyetindedir. Ürünlerin ithal edilmesi fiyatı fazlasıyla arttırıp üreticilerin

alım gücünü düşürmekte ve bu ürünlerin geniş tarım alanlarına uygulanabilirliğini azaltmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında enfeksiyon yeteneği yüksek hibrit *Heterorhabditis bacteriophora* HbH ırkı ve HbH'nin ebeveynlerinden biri olan *H. bacteriophora* Hb1138 izolatının IJ'leri, taşıyıcı madde olarak belirlenen maliyeti uygun maddelerle karıştırılmıştır. Formülasyona karıştırılan IJ'lerin hayatta kalma oranları takip edilerek etkin biyolojik mücadele ajanı olan EPN'lerin daha uygun maliyetle formüle edilmeleri, üreticiler tarafından ulaşılabilir olması ve sürdürülebilir tarım açısından daha geniş alanlara uygulanabilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kaya ve ark. (1987) entomojen nematod *Steinernema feltiae*, domates tohumu içeren bir aljinat matris içine kapsüllenmiştir. Bu kapsüller, % 0.8 agar üzerine yerleştirilmiş, 7 günde tohum çimlenmeye başlamış ve nematodların % 20'si kapsüllerden kaçmışken, tohum kullanılmayan kapsüllerden sadece % 0.1'i kaçmıştır. Sterilize edilmiş veya edilmemiş toprağa bir tohum ve nematod içeren kapsül ekildiğinde, nematodlar *Galleria mellonella* larvalarını enfekte etmek için kaçmışlardır. Kapsül başına 274 nematod içeren kapsüllerdeki tohum sterilize edilmemiş toprağa ekildikten 1 hafta sonra *Galleria mellonella* ölüm oranının % 90 olduğu görülmüştür. *Galleria mellonella* ölüm oranının ekim sonrası 2,4 ve 8 haftada sırasıyla 27%, 23% ve 0% olduğu saptanmıştır. Sterilize edilmiş topraktaki *G. mellonella* ölüm oranı % 96 olmuş ve 1 hafta içerisinde sterilize edilmemiş topraklardan anlamlı olarak farklılık göstermezken, sterilize edilmiş topraktaki *G. mellonella* ölüm oranı, 2 haftada (% 81) ve 4 haftada (% 51) sterilize edilmemiş topraklardaki orandan belirgin olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Sadece nematod içeren kapsüller kullanıldığında, *G. mellonella* mortalitesi ekimden 1 hafta sonra steril toprakta % 71 ve ekimden 2, 4 ve 8 hafta sonra sırasıyla % 58, % 33 ve % 12 olarak bulunmuştur. Sterilize edilmemiş toprakta, sadece kapsüllenmiş nematodlar kullanıldığında *G. mellonella* oranı 1,2,4 ve 8 hafta sonra sırasıyla 8%, 30%, 21%, ve 28% olarak belirlenmiştir.

Grewal (2000)'ın yaptığı anhidrobiyotik araştırmada; anhidrobiyoz, biyolojik mücadelede kullanılan entomopatojenik nematodların depolama stabilitesinin elde edilmesinde önemli bir araç olarak düşünülmektedir. Bu çalışmada, 5 ve 25 °C'de üç entomopatojenik nematod *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae* ve *Steinernema riobrave*'nin İnfektif juvenillerin (IJs) patojenitesi ve ömür uzunluğu üzerine anhidrobiyozun etkileri araştırıldı. Anhidrobiyotik IJ'lerin hayatta kalma ve patojenitesi, su içerisinde depolanan farklı periyotlarda ki kurutulmamış IJ'lerle karşılaştırıldı. Anhidrobiyoz ile suda depolanan IJ'lere kıyasla 25 ° C'de *S. riobrave*'i ömrünü yaklaşık 1 ay, *S. carpocapsae* IJs'in ömrünü yaklaşık 3 ay arttırmıştır. Ancak Kuraklığa maruz bırakılan 5°C'deki üç türün hepsinin ve 25 °C'de ise *S.feltiae*'nin ömrünü azaltmıştır. Bu sonuçlar, *S. carpocapsae*'nin % 90 üzerinde IJ sağ kalımı ile

WG'de 5°C'de 9 ay ve 25 ° C'de 5 aylık raf ömrünün olduğunu ortaya koymaktadır. *S. feltiae*'de , WG'de 5 °C'de 5 ayda ve 25°C'de ise 2 ayda %90'ın üzerinde sağ kalım meydana geldi. *Steinernema riobrave*, 25 ° C'de sadece 1 ay boyunca hayatta kalım % 90'ın üzerindeydi ve 5 ° C'de 1 ay içinde hayatta kalma oranı % 85'in altına düşmüştür. WG'de anhidrobiyoz indüksiyonu sırasıyla *S. carpocapsae*, *S. feltiae* ve *S. riobrave* IJ'leri tarafından oksijen tüketiminde % 85, 79 ve % 76'lık bir azalma ile sonuçlanmıştır. 25°C sudaki üç tür arasındaki IJ ömür farklılıkları hem başlangıçtaki lipid içeriği hem de lipid kullanım oranı ile ilişkili olduğu düşünülürken, ancak 5 ° C'de ilişkili değildir. Birebir enfeksiyon biyotahlilleri, kurutmanın, IJ ve / veya simbiyotik bakterileri üzerinde zararlı bir etki yapmadığını düşündüren herhangi bir nematod türünde patojenite üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını göstermiştir. Türlerin IJ ömür farklılıkları ve farklı sıcaklıklarda kuraklığa dayanımda sağ kalım, sıcaklık uyumu ve beslenme stratejisi ile ilişkili olarak tartışılmıştır.

Navon ve ark. (2002) *Spodoptera littoralis* ve *Helicoverpa armigera* larvalarına karşı Kalsiyum Aljinat entomopatojen nematod formülasyonunu geliştirmişlerdir. Jel içerisine 1000 IJ/g oranında *Steinernema carpocapsae* (ALL strain) IJ'leri konulmuş ve 24 saat sonra iki böceğin 4. dönem larvalarına karşı kullanılmıştır. Her iki böcek larvalarında da %100 ölüm görülmüştür. *H. armigera*'nın 2. ve 5. dönem larvalarına, *S. littoralis*'in 3. ve 6. dönem larvalarına yine formülasyondan alınan *S. carpocapsae* IJ'leri inoküle edilmiş ve %70-100 oranında ölüm olduğu tespit edilmiştir. Olgun larvaların nematodlara karşı daha az duyarlı olduğu görülmüştür. Aynı formülasyon içerisine 250 IJ/g dozu hazırlandığında larvaların ölüm oranının azaldığı kaydedilmiştir. Geliştirilen bu formülasyondan 500 IJ/g dozunda jel diskleri hazırlanmış ve serada (28 °C) bulunan pamuk bitkileri üzerine *S. littoralis* larvaları ile mücadele etmek için asılmıştır. *S. feltiae* (IS-7)'nin seradaki larvalar üzerindeki ölüm oranı %89 ± 12.7 olmuş ve pamuk bitkisinin yaprakları zararlının etkisinden korunmuştur. Kontrolde ise larva ölümü %3 oranında olmuş ve bitkiler tamamen zararlının etkisiyle tahrip olmuştur. Bu formülasyonunun zararlılara karşı koruyucu olduğu tartışılmaktadır.

Umamaheswari ve ark. (2005) *Steinernema glaseri*, *S. siamkayai* ve *Heterorhabditis indica* aljinat jel kapsülleri içinde formüle edilmiş ve 5 ve 25 °C'de depolanmıştır. *S. glaseri* 5 °C'de 4 hafta boyunca %100 canlılığını korumuş, 24 hafta boyunca da yaşamıştır. *S. siamkayai* 5 °C'de 22 hafta, 25 °C'de 14 hafta yaşamıştır. *H. indica* ise 5 ve 25 °C'de 2 hafta boyunca canlı kalabilmiştir.

Ganguly ve ark. (2008) yeni geliştirilen ve patenti alınan Nemagel® formülasyonu Hindistan'a özgü tür olan *Steinernema thermophilum* IJ'leri ile karıştırılarak nematodların yaşam süresi incelenmiştir. Nemagel® içerisindeki nematod konsantrasyonu 1×10^5 IJ/g olarak ayarlanmıştır. Nemagel® içerisinde 30 °C'de 16 hafta sonra hayatta kalma oranı %86, 24 hafta sonra ise %50 olmuştur. Formüle edilen nematodlar 35 ve 40 °C'de sırasıyla 16 ve 8 hafta boyunca %50 oranında aktif olarak yaşamaktadır. Kontrolde ise IJ'ler 30, 35 ve 40 °C'de sırasıyla 16, 6 ve 4 hafta yaşamışlardır. Nemagel® kontrole göre istatistiksel olarak daha iyi olduğu, nematodların yüksek sıcaklıklarda bile raf ömrünün uzadığı saptanmıştır.

Andolo ve ark. (2010), entomopatojen nematodların laboratuvar koşullarında yaşama süresinin düşük olması nedeniyle EPN'lerin depolanması amacıyla taşıyıcı madde denemeleri kurmuşlardır. *Heterorhabditis* sp. ve *Steinernema carpocapsae* All nematodları 3000 IJ/ ml olarak hazırlanmış ve taşıyıcı madde olarak (humuslu toprak, ince kum, kaba kum, köpük, kil, fenolik köpük, agar, mısır nişastası, Plantmax®) seçilen substratların içerisine, EPN+madde karışımı ise 5 cm'lik petri kabına konulmuştur. Petri kapları 16 °C'ye ayarlı etüv içerisine yerleştirilip IJ'lerin hayatta kalma oranları 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 gün sonra değerlendirilmiştir. 180 gün sonra en yüksek yaşama oranı *S. carpocapsae*'nin köpük grubunda %57.5 olarak belirlenirken, kilde %28.4, Plantmax®'ta %9.3 ve fenolik köpükte %11 oranında olmuştur. *Heterorhabditis* sp.'de ise 180 gün sonra en yüksek oran %53.1 kaba kumda ve %50.6 ile ince kumda görülmüştür. En düşük oran ise Agar (%19.3), fenolik köpük (%11.6) ve Plantmax® (%10.7) gruplarında olduğu belirlenmiştir. IJ'lerin formülasyonu için en yüksek orana sahip substratların kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Divya ve ark. (2011) böceklerle savaşmada başarılı olarak kullanılan *Heterorhabditis indica*'nın formülasyonu ve depolanmasında maksimum hayatta kalan bireyi sağlamak için optimum koşulları sağlamışlardır. Laboratuvarında 6 farklı yeni formülasyon (testere talaşı, hidrojel, hindistan cevizi lifi, pudra, sünger ve su) geliştirilmiş ve bu formülasyon grupları 27 ± 2 °C'de bekletilmiştir. Formülasyonlarda bekleyen nematodların etkinliği ise Pamuk Yeşil Kurdu *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) üzerinde değerlendirilmiştir. 5. haftaya kadar en yüksek hayatta kalma oranı talaşta %95, hidrojelde ise %85'tir. Hindistan cevizi lifinde %80, pudrada %75, suda %70, süngerde ise %65 oranında yaşayan birey olduğu tespit edilmiştir. 75 gün sonra en yüksek yaşam %65 oranla hidrojelde olurken talaşta bu oran %15 olarak belirlenmiştir. 48 saat boyunca formülasyon maddeleri içinde tutulan ve 100 IJ/larva inokulasyonu yapılan *H. armigera* larvaları üzerinde *H. indica*'nın patojenitesi hidrojelde %85, talaşta ise %70 olarak bulunmuştur.

Hegazi ve ark. (2012) Mısır ülke topraklarından izole edilen, böceklere karşı etkin olarak kullanılan iki adet *Heterorhabditis* spp. N169 ve N195 ırkının oda sıcaklığında (23 ± 2 °C) formülasyon çalışmalarını yürütmüşlerdir. Kullandıkları nematod ırklarının IJ'lerini vermikülit ve kalsiyum aljinate maddeleri ile formüle etmişler ve her hafta sayım gerçekleştirmişlerdir. 10 hafta sonunda en yüksek yaşam oranı N195 ırkında %44.48 oranla kalsiyum aljinate granüllerinde olurken en düşük yaşam oranı ise yine N195 ırkında %13.99 oranında olduğu bulunmuştur. Yapılan araştırmaya göre kalsiyum aljinate granülleri formülasyon için daha uygun olduğu görülmektedir, ancak EPN ticari formülasyon çalışmalarının geliştirilmesi için çalışmaların devam etmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Hussein ve Abdel-Aty (2012) ticari biyopestisit olarak EPN üreten firmaların EPN formülasyonlarını süngerden başlayıp granül formülasyona kadar geliştirildiğini ve bazı oda sıcaklığında yapılacak formülasyonların mikroorganizmalarla bulaşma, kullanım kolaylığı ve EPN'lerin ölüm oranları hakkında büyük sorunlar içerdiğini belirtmişlerdir. Hussein ve Abdel-Aty bu çalışmada hidrojel, kaolin, kalsiyum aljinate ile iki farklı yerli

ırk olan *H. bacteriophora* (BA-1) ve *S. carpocapsae* (BA-2) ırkını oda sıcaklığında formüle etmeyi hedeflemişlerdir. En düşük ölüm oranı 10 gün içerisinde BA2 ırkında %5 ve BA1 ırkında ise %12.1 olarak belirlenmiştir. Fakat sonraki 6 hafta boyunca ani ölümler yaşanmış ve *H. bacteriophora*'nın *S. carpocapsae*'den daha fazla öldüğü tespit edilmiştir.

Güçlü ve Hazır (2012)'in entomopatojen nematodların alternatif depolanması üzerine yürüttükleri bir çalışmada Tetrapak meyve suyu kutularının EPN'ler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu denemede laboratuvarlarda EPN'lerin depolanması için kullanılan doku kültürü flasklar ve Tetrapak kutuların içerisinde bulunan IJ'lerin yaşama oranları karşılaştırılmıştır. *In vivo* üretimi yapılan *H. bacteriophora* 09-48 Türkiye izolatu saf su içerisine 2000 IJ/ ml EPN+saf su süspansiyonu hazırlanmıştır. 600 ml hacmi olan flasklar içerisine 100 ml, 1000 ml'lik Tetrapak kutuların içerisine ise 200 ml hazırlanan süspansiyondan konulmuştur. Deneme için hazırlanan flask ve kutular 10 ve 15 ° C'ye yerleştirilmiş ve 11 ay boyunca sayımı yapılmıştır. 10 °C'de Tetrapak kutularda %98.2, flasklarda ise %98.9 oranında yaşayan birey bulunurken; 15 °C'de Tetrapak kutularda %96.8, flasklarda ise %96.5 oranında yaşayan birey olmuştur. Çalışma sonucunda iki farklı depolama kutusu arasındaki farkın istatistiksel olarak farklı olmadığı belirtilmiştir.

Kim ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, EPN'lerin pahalı ve raf ömürlerinin kısa olması nedeniyle tarımda yaygın olarak kullanılamaması sorunları ele alınmış ve EPN'ler kalsiyum aljinat jel kapsülleri içerisine alınarak formülasyon denemeleri yapılmıştır. Bu denemede *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) IJ'leri kullanılmıştır. Oluşturulan bu kapsüllerden EPN'ler birkaç gün içerisinde kapsül dışına salınım yapmaktadır. Aljinat kapsülleri farklı sertlik derecesinde ve farklı sıcaklıklarda üretilmiştir. +4 °C'de hazırlanan ve kabuk derecesi sert olan kalsiyum aljinat kapsüllerinde salınım +4 °C'de hazırlanan diğer kapsüllere göre %40 oranında yavaşlamıştır. Oluşturulan bu kapsüller EPN'lerin toprak içerisinde yavaş salınım yaparak kalıcılığını arttırmak için yararlı olacaktır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan *Heterorhabditis bacteriophora* İzolat ve Irkı

Çalışmada Hb1138 izolatu ve HbH ırkı olmak üzere iki farklı EPN kullanılmıştır. Hb1138 izolatu Antalya ili topraklarından izole edilmiş ve moleküler olarak PCR-RFLP yöntemi ile teşhis edilmiş yabancı bir ırktır. HbH ırkı ise 2012 yılında laboratuvarımızda gerçekleştirilen “EPN hibridizasyon” çalışması kapsamında iki farklı ilin izolatlarının hibritlenmesinden meydana gelmiştir. Şanlıurfa’dan izole edilen Hb4 izolatının dişisi ve Antalya’dan izole edilen Hb1138 izolatının erkeği hibritlenerek HbH ırkı elde edilmiştir. Laboratuvarımızda bu kültürlerin devamı sağlıklı olarak sürdürülmektedir.

Çizelge 3.1. Kullanılan *H. bacteriophora* ırkı ve ebeveynleri

Ebeveyn Irklar	Hibrit Irk
Hb.4 ♀ × Hb.1138 ♂	HbH

3.1.2. *Galleria mellonella* Larvaları

Petek güvesi veya büyük balmumu güvesi olarak bilinen, arı kovanlarında bulunan peteklere önemli oranda zarar veren *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları, EPN’lerin *in vivo* üretiminde de genellikle tercih edilmektedir. Genel olarak laboratuvar şartlarında yetiştirilmesinin kolay olması, larvalarının iri olması ve EPN’lere karşı duyarlılık göstermesi nedeniyle EPN ile ilgili yapılan çalışmalarda büyük balmumu güvesi *G. mellonella*’nın son dönem larvaları (4. dönem) kullanılmaktadır (Woodring ve Kaya 1988, Ehlers 1996, Shapiro-Ilan ve Gaugler 2002). Laboratuvarımızda *G. mellonella* yetiştiriciliği sağlıklı olarak sürdürülmektedir.



Şekil 3.1. Besinden ayıklanmış *Galleria mellonella* larvaları.

3.1.3. Denemede Kullanılan Cihazlar

Yapılan denemelerde hassas terazi (Radwag WPS 3100/c/1), ısıtmalı etüv (Thermal), ısıtmalı-soğutmalı etüv (Nüve ES 500), manyetik karıştırıcı (ısıtıcılı) (Biosan MSH 300), buzdolabı (Beko), otoklav (Nüve OT 32), saf su cihazı (Elektro.mag M3), bilgisayar, invert mikroskop (Leica DM IL LED), dijital mikroskop kamerası (Leica DFC 295) ve stereo mikroskop (Leica S8 APO) kullanılmıştır.

3.1.4. Kimyasal Malzemeler, Besin ve Formülasyon Maddeleri

Heterorhabditis bacteriophora ırklarının *in vivo* üretimi, *G. mellonella* larvalarının besini ve formülasyon denemelerinde NaCl, KCl, CaCl₂ x 2 H₂O, NaHCO₃, gliserin, bal, kepek, soya unu, mısır unu, süt tozu, maya, mısır nişastası, pudra, kitosan kullanılmıştır.

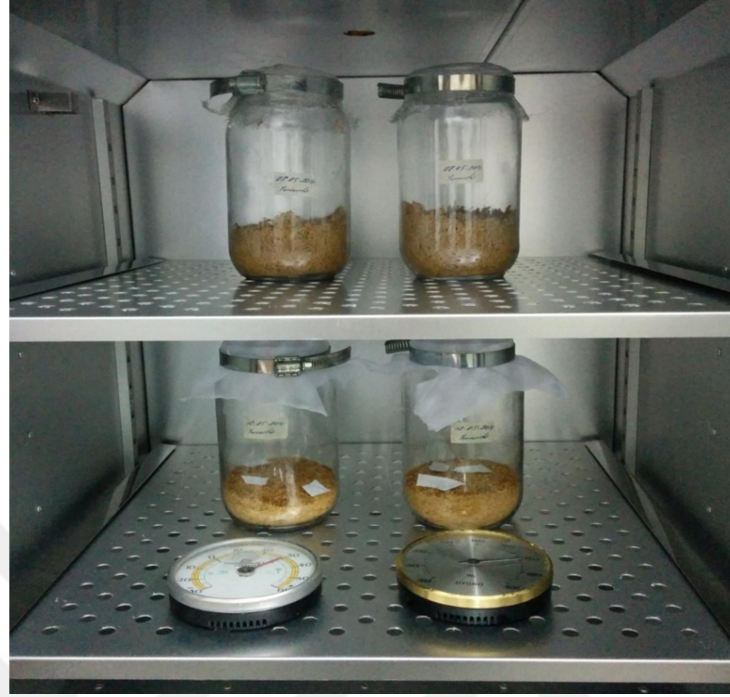


Şekil 3.2. Formülasyonda kullanılan maddeler.

3.2. Yöntem

3.2.1. *Galleria mellonella*'nın Laboratuvarda Yetiştirilmesi

Denemede *G. mellonella* larvalarının son dönem larvaları kullanılmış ve bu larvalar 1 litrelik cam kavanozlardaki suni yem içerisinde üretilmiştir. Larvaların beslendiği suni yem 200 g bal, 200 g gliserin, 50 g maya, 100 g süt tozu, 100 g soya unu, 150 g mısır unu ve 200 g kepekten oluşmaktadır (Wiesner, 1993). Cam kavanozlar içerisine hazırlanan suni yemden bir miktar konulmuş ve *G. mellonella* yumurtalarının bulunduğu filtre kağıdı yem üzerine dikkatlice yerleştirilmiştir. Yumurtaların bulunduğu kavanozlar üzeri delikli tel örtü ile kapatılarak, 30 ± 2 °C'ye ayarlanmış ısıtmalı etüv (Thermal) içerisine konulmuştur. *G. mellonella*'ların yumurta bırakmaları için optimum sıcaklığın 30 °C olduğu bildirilmiş olup daha düşük sıcaklıklarda metabolizmanın gözle görülür şekilde yavaşladığı ve bırakılan yumurta sayısında düşme görüldüğü, daha yüksek sıcaklıklarda ise 3 gün içerisinde yumurtlama oranının yüksek olduğu ancak ömürlerinin kısaldığı ve ölümlerin arttığı tespit edilmiştir (Marston ve ark. 1973). Yumurtadan çıkan bireyler yem içerisine girerek 30 °C'de yaklaşık 4 haftada olgun larva haline gelmişlerdir. Bu kavanozlardaki besin içerisinden tez denemesi kapsamında yeterli miktarda son dönem larva ayıklanıp, denemede kullanılacak EPN'lerin üretimi için ayrılmıştır. Geri kalan larvalar ergin olduğunda tel örtü üzerine filtre kağıdı yerleştirilerek erginlerin yumurtalarını bırakmaları için ortam hazırlanmıştır. Böylelikle *G. mellonella* larvalarının düzenli beslemesi yapılarak laboratuvarda sağlıklı kültür üretimi ve devamlılığı sağlanmıştır.



Şekil 3.3. Besin içerisinde bulunan *Galleria mellonella* larvaları.



Şekil 3.4. Etüv içerisinde *Galleria mellonella* yetiştirme kavanozları.



Şekil 3.5. *Galleria mellonella* yetiştirme kavanozu.

3.2.2. *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının In vivo Üretimi

3.2.2.1. Enfeksiyon

Antalya İlinden izole edilen Hb1138 izolatının tür teşhisi yapılmış ve hibridizasyon sonucu elde edilen HbH ırkının kültürleri düzenli olarak kontrol edilmiştir. +4 °C’de buzdolabında oksijen alışverişini sağlayabilen özel kapaklı flasklar içerisinde Ringer solüsyonu ile birlikte depolanan bu kültürlerin laboratuvarında devamlılığını sağlamak amacıyla *in vivo* üretim yöntemi kullanılarak 2 ayda bir kültür yenilemesi yapılmıştır. Ringer solüsyonu depolama süresi boyunca mikroorganizma gelişimini engellemektedir.

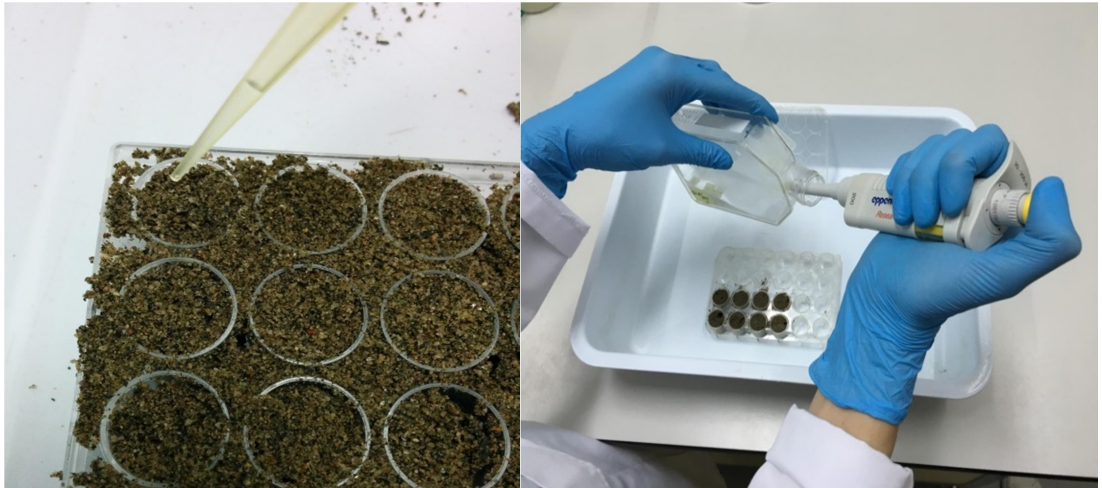
Çizelge 3.2. Ringer solüsyonu içeriği

Kimyasal Madde Adı	Miktar (g)
NaCl	9.00
KCl	0.42
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.37
NaHCO ₃	0.20
Saf Su	1000



Şekil 3.6. +4 °C’de depolanan EPN flaskları

In vivo üretim için 1.5 cm çapında ve 2 cm derinliğindeki 24 kuyucuklu Well kapları kullanılmış ve her bir kuyucuğa son dönem *G. mellonella* larvası koyulup üzeri Ringer solüsyonu ile %10 nemlendirilmiş steril kumla kapatılmıştır (Susurluk ve ark. 2001, 2003) . Her ırk üretimi için 24 adet son dönem *G. mellonella* larvası kullanılmıştır. Steril kum üzerine buzdolabında saklanan EPN kültürlerinden 50 IJ/ Larva olacak şekilde mikropipet yardımıyla inokulasyon yapılmıştır.



Şekil 3.7. *G. mellonella* larvası üzerine IJ inokulasyonu



Şekil 3.8. Enfeksiyon yapılmış 24'lük Well kapları

Kapağı kapatılan Plate'lerin içerisinde nem kaybının engellemesi için kabın çevresine parafilm sarılmış ve etüv içerisinde 26°C'de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.2.2. White Trap Düzeneginin Kurulması

Enfeksiyon aşamasının gerçekleştirildiği Well Plate'ler 4. günün sonunda etüvden çıkarılmış ve bir küvet içerisine dikkatlice boşaltılmıştır. Kum içerisinde bulunan nematod ile enfekteli larvalar (kadavralar) bir pens yardımıyla patlamamasına dikkat edilerek beher içerisine alınmış ve Ringer solüsyonu ile de kadavra üzerine yapışan kum taneciklerinden arındırılmıştır. Denemelerde kullanılan EPN türleri *H. bacteriophora* izolatu ve ırkı olduğundan kum içerisinde çıkarılan kadavralar kırmızı-bordo renkli olarak gözükmemektedir.



Şekil 3.9. Enfekteli *Galleria mellonella* larvaları

Kumdan arındırılan kadavrular White Trap düzeneğine alınmıştır (White, 1927). White Trap kurulurken 6 ve 15 cm çapında cam petri kapları kullanılmıştır. 6 cm çapındaki petri kabının kapağı, 15 cm'lik petri kabının içerisine yerleştirilmiş ve üzerine yine 6 cm çapında Whatman filtre kağıdı konulmuştur. Ringer solüsyonu ile iyice ıslatılan Whatman kağıdının altında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek 15 cm çapındaki petri kabının da yüzeyi kaplanacak şekilde Ringer solüsyonu konulmuştur. Nemlendirilmiş Whatman kağıdı üzerine kumdan arındırılmış kadavrular dikkatlice dizilmiş ve petri kabı kapatılıp üzeri etiketlenerek 14 gün boyunca oda sıcaklığında ve karanlık ortamda bekletilmiştir.



Şekil 3.10. White Trap'e alınmış kadvralar

14 gün boyunca kadvraların içerisinde beslenip üreyen EPN'ler, bu süre sonunda kadvraların içerisindeki besinin bitmesi nedeniyle IJ halinde yeni konukçu aramak için kadvraları terk ederek Ringer solüsyonunda birikmişlerdir.



Şekil 3.11. Kadvralardan çıkmış olan IJ'ler

Ringer solüsyonuna biriken yeni jenerasyon IJ'ler Pastör Pipeti yardımıyla flasklara konulup +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

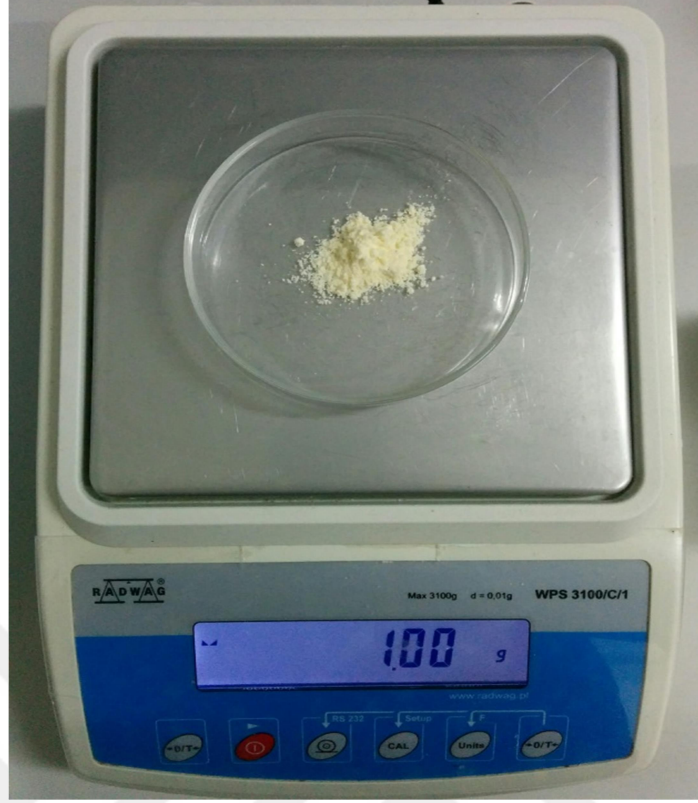
3.2.3. Formülasyon çalışmaları

3.2.3.1. Maddelerin Hazırlanması

Formülasyon çalışmaları 6 kuyucuklu Well kabı (çapı 3,5 cm ve 2 cm derinliğinde) içerisinde 24 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Her ırkın bir madde grubu için Well kabının 3 kuyucuğu kullanılmıştır. Tek maddelerin bulunduğu formülasyon gruplarında (nişasta, pudra, kitosan, mısır unu) maddeler hassas terazi üzerinde 1 g, ikili madde kombinasyonları olan deneme gruplarında maddeler 0,5 g + 0,5 g (Nişasta+Pudra, Nişasta+Mısır Unu, Mısır Unu+Nişasta) ve üçlü kombinasyon grubunda ise maddeler 0,33 g + 0,33 g + 0,33 g (Nişasta+Pudra+Mısır Unu) tartılarak bütün grupların toplam 1 g olması sağlanmıştır. Tartımı yapılan her deneme grubu 9 cm'lik petri kutularına ayrı ayrı konulmuştur.



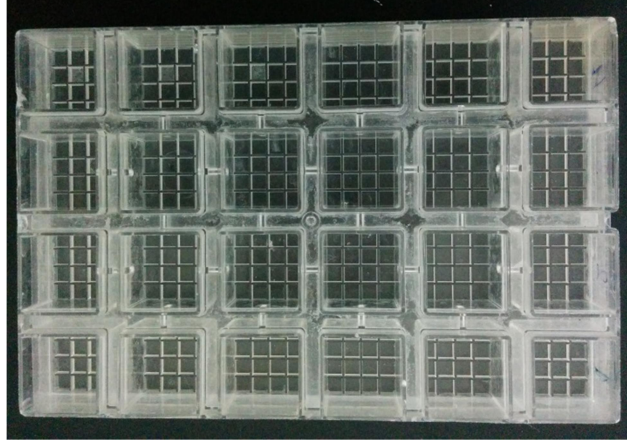
Şekil 3.12. Formülasyonların konulduğu 6 kuyucuklu Well kabı



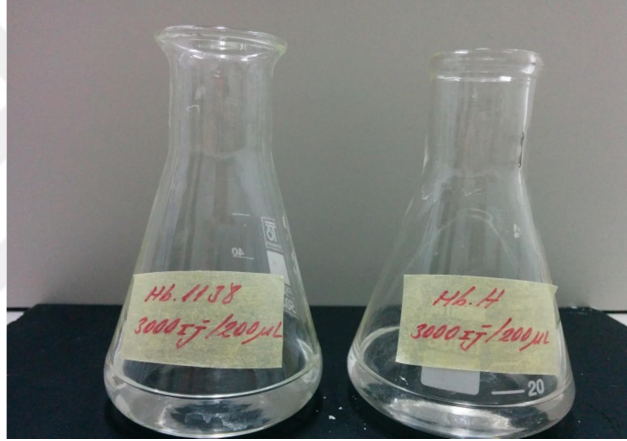
Şekil 3.13. Formülasyon maddelerinin hassas terazi üzerinde tartımı

3.2.3.2. Hb1138 İzolatı ve HbH Irkının Deneme İçin Hazırlanması

Denemelere başlamadan önce +4 °C’de saklanan ırklar buzdolabından çıkartılarak 2 saat boyunca oda sıcaklığına adapte olmaları için bekletilmiştir. 2 saat sonrasında flasklar içinde bulunan IJ+Ringer solüsyonundan 4 adet 10 µl’lik örnek çekilerek sayım kabına konulmuştur. Sayım kabı 24 adet büyük karelerden her bir büyük kare içerisinde ise 16 küçük karecikten oluşmaktadır. Flasklar içerisinde toplam nematod miktarı belirlendikten sonra delikleri 20 µm (500 mesh) olan mikro tüllerden süzölmüştür. Daha sonra 3000 IJ/ 200 µl olacak şekilde saf su ile yeni Hb1138 ve HbH solüsyonu hazırlanmıştır. Yeni hazırlanan solüsyonla birlikte IJ’lerin kuru formülasyon maddeleri içerisinde topaklanmasının önüne geçilmiş ve bu maddenin her yerine homojen dağılım göstermesi sağlanmıştır.



Şekil 3.14. Sayım kabı



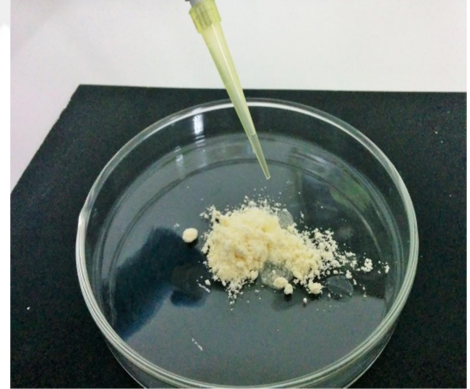
Şekil 3.15. Erlenler içine hazırlanmış IJ+saf su solüsyonu

3.2.3.3. Nematodlar ve Maddelerin Karışımının Yapılması

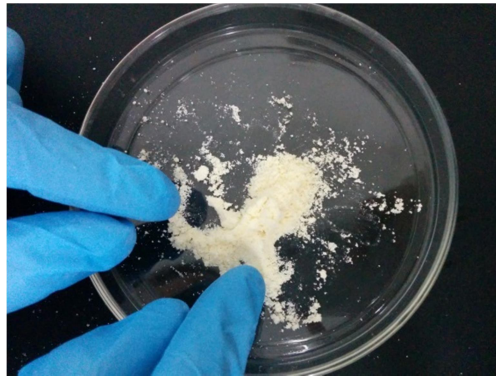
Ayrı ayrı tartımı yapıp tek tek petri kutularına konan her 1 g madde üzerine 200 µL IJ+saf su solüsyonundan konularak 1 gramlık madde ile iyice karışması sağlanmıştır. IJ'lerin saf su ile konulması formülasyon ortamının %20 nemli olmasını ve EPN'lerin homojen olarak dağılmasını sağlamıştır.



Şekil 3.16. Formülasyon ortamlarındaki nemi belirlemeye yarayan nem tayin cihazı

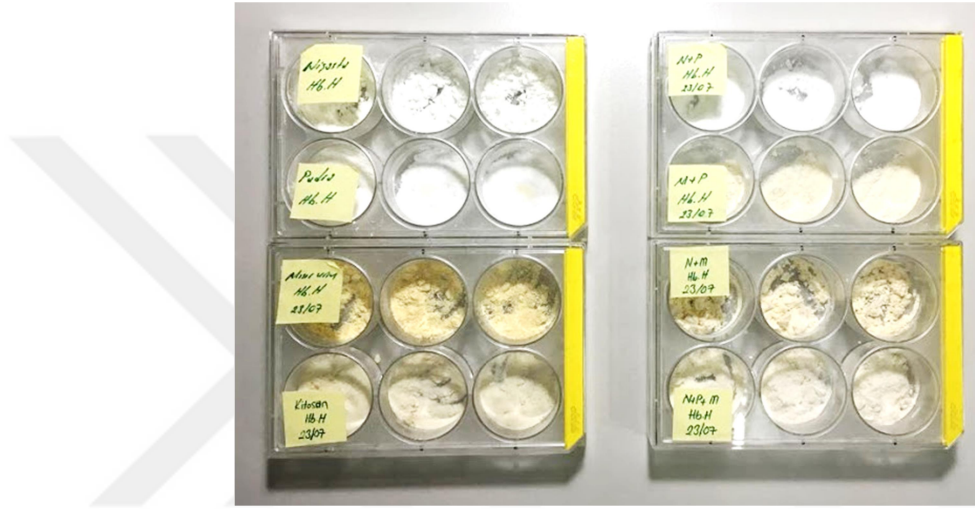


Şekil 3.17. Tartımı yapılan maddelerin içerisine IJ+saf su solüsyonu koyulması



Şekil 3.18. Solüsyon ve fomülasyon maddelerinin karıştırılması

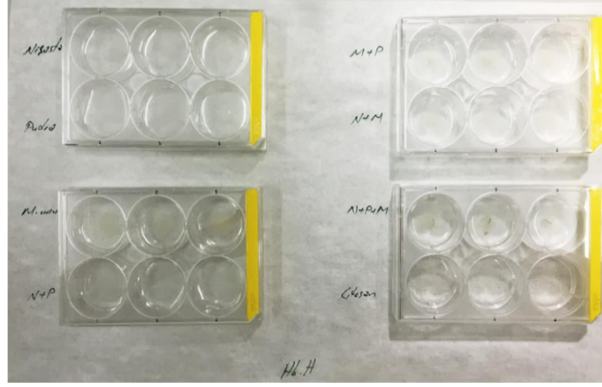
Petri kutusunda IJ ve madde karışımı yapıldıktan hemen sonra her bir petri kutusundaki karışım 6'lı Well kabının bir kuyusuna boşaltılmıştır. Bütün gruplar tamamen kuyucuklara aktarıldığında Well kabının kapağı kapatılarak çevresine nem kaybını engellemek için parafilm sarılmıştır. Bütün kaplar alüminyum folyo ile kapatılarak IJ'lerin ışıktan etkilenmesi engellenmiştir. Hazırlanan bu kaplar 25 °C'ye ayarlı etüv içerisine konulmuştur. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.



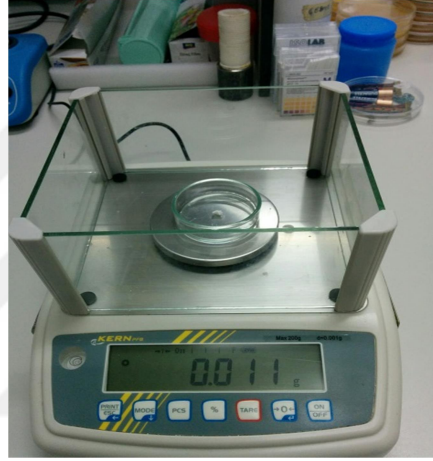
Şekil 3.19. Formülasyonların hazırlandığı 6 kuyucuklu Well kapları

3.2.3.4. Formüle Edilen IJ'lerin Sayımı

Formüle edilmesi hedeflenen Hb1138 ve HbH IJ'lerinin bir hafta boyunca her gün ölü-canlı sayımı yapılmıştır. Hücrelerden her gün 0,01 g karışım tartımı yapılmış ve bu karışımlar saf su ile karıştırılarak sayım kabına konulmuştur. Düşük nem koşullarında EPN'ler estivasyona (yazlama) girdikleri için formülasyon saf suya koyulup 2 saat bekletildikten sonra sayımı yapılmıştır.



Şekil 3.20. Sayımı yapılacak örneklerin 2 saat suda bekletildiği Well kapları



Şekil 3.21. 0,01 g örnek tartımı



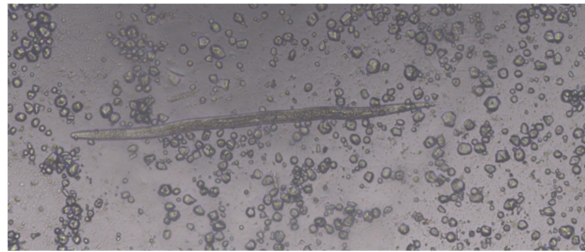
Şekil 3.22. İJ'lerin ölü-canlı sayımı



Şekil 3.23. Stereo mikroskop altındaki ölü- canlı IJ'ler



Şekil 3.24. Işık mikroskobu altında görülen canlı IJ



Şekil 3.25. Işık mikroskobu altında görülen ölü IJ

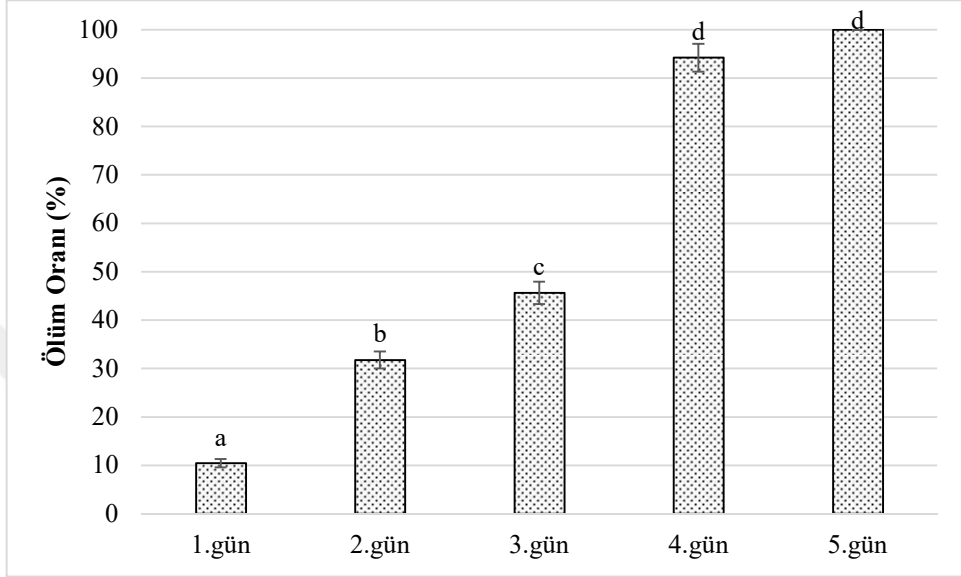
3.2.4. Veri Analizleri

Denemeler sonunda elde edilen tüm verilere tek yönlü varyans analizi (Oneway ANOVA) uygulanmıştır. Hb1138 ve HbH ırkının ölüm oranlarının karşılaştırılmasında %5 düzeyinde LSD (Least Significant Differences) testi kullanılmıştır. Tüm veri analizleri JMP 7.0 programında gerçekleştirilmiştir. Deneme grupları 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve günlük sayımlar da 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.



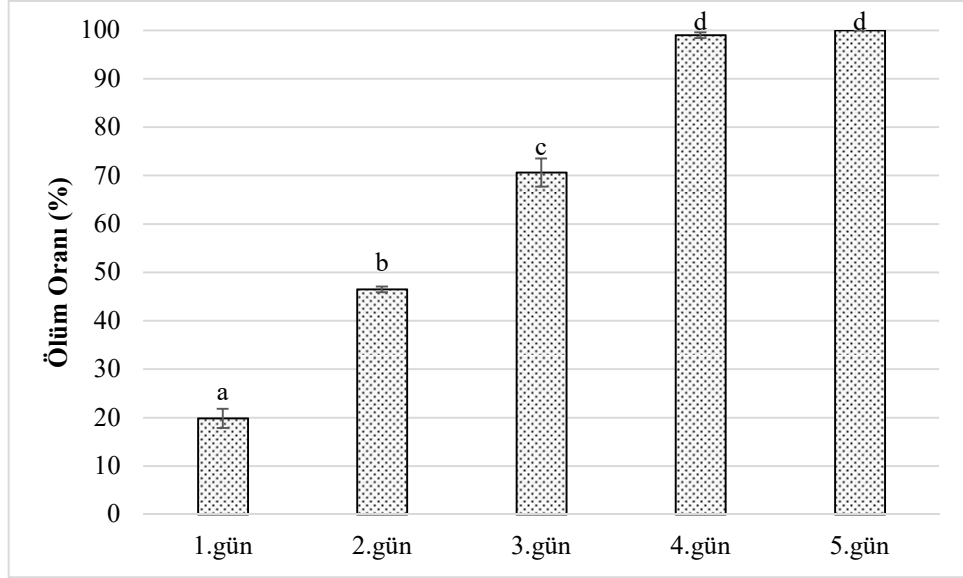
4. BULGULAR

Yapılan formülasyon denemeleri sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde, HbH hibrit ırkının kitosan içerisindeki ölüm oranı günlük sayımlara göre istatistiksel olarak farklılıklar göstermiştir (Şekil 4.1). İlk gün sayımında %10 oranında bir ölüm görünürken 4. gün sayımında bu oran %90'ın üzerine çıkmış, 5. gün sayımında ise %100'e ulaşmıştır.



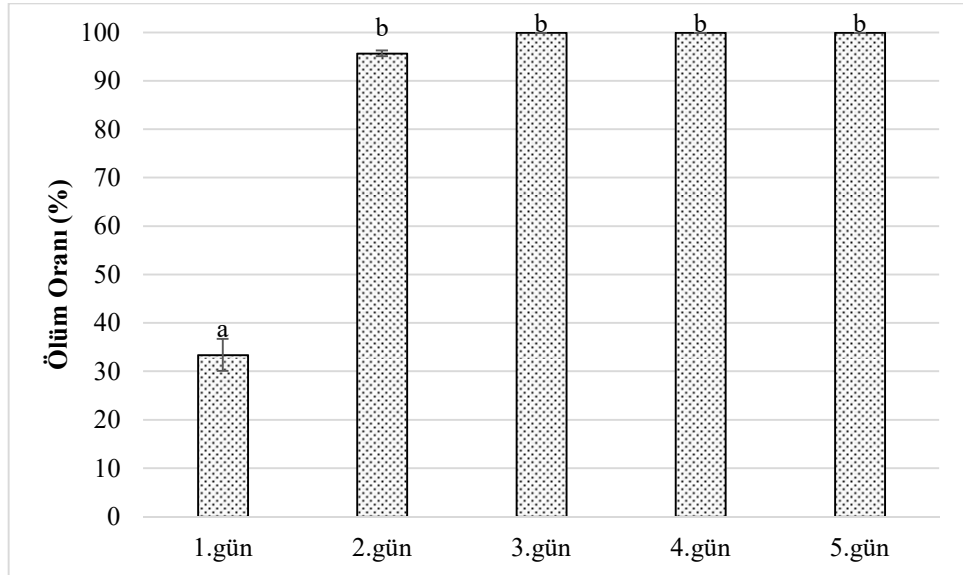
Şekil 4.1. HbH hibrit ırkının kitosan kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:443.9256; df:4,10; P: <0.0001)

HbH hibrit ırkının Mısır Unu+Nişasta içerisindeki ölüm oranları incelendiğinde ilk gün görülen %20'lik ölüm oranının sonraki günlerdeki ölüm oranlarına göre istatistiksel olarak önemli ölçüde az olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2). 4. gün sayımında %90'ın üstüne çıkan ölüm oranı, 5. gün sayımı ile birlikte %100'e ulaşmıştır.



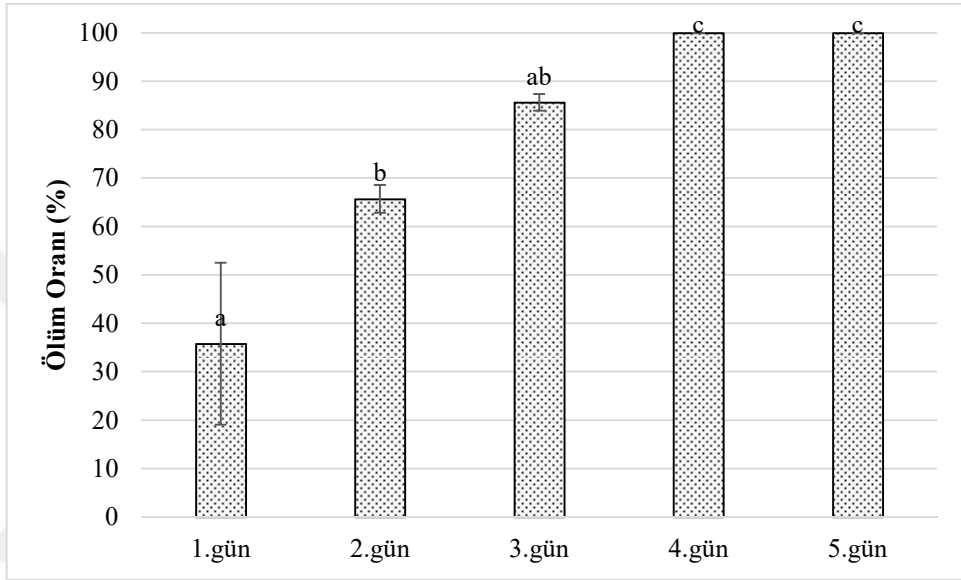
Şekil 4.2. HbH hibrit ırkının mısır unu ve nişasta kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:458.6215; df:4,10; P: <0.0001)

Mısır Unu+Pudra kombinasyonunun HbH hibrit ırkı üzerindeki etkisi incelendiğinde ilk gün sayımında %30 civarında bir ölüm oranı görülmesine karşın 2. gün sayımı sonrasında ölüm oranı hızlı bir şekilde %90'ın üzerine çıkmış ve sonraki sayımlarda ölüm oranı %100 olmuştur (Şekil 4.3).



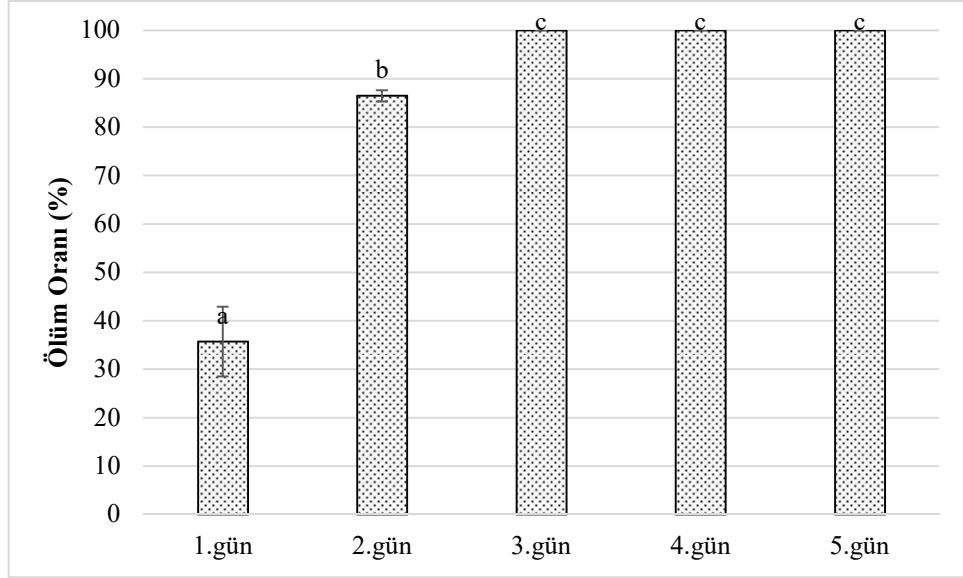
Şekil 4.3. HbH hibrit ırkının mısır unu ve pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:384.6881; df:4,10; P: <0.0001)

Sadece mısır unu içerisinde muhafaza edilen HbH hibrit ırkının ölüm oranları incelendiğinde Mısır Unu+Pudra kombinasyonunun etkisinin aksine ölüm oranında daha yavaş bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.4). İlk gün sayımında %40'ın altında olan ölüm oranı 2. gün sayımında %60'lara ulaşmış, 4. Ve 5. gün sayımlarında ise %100 olmuştur.



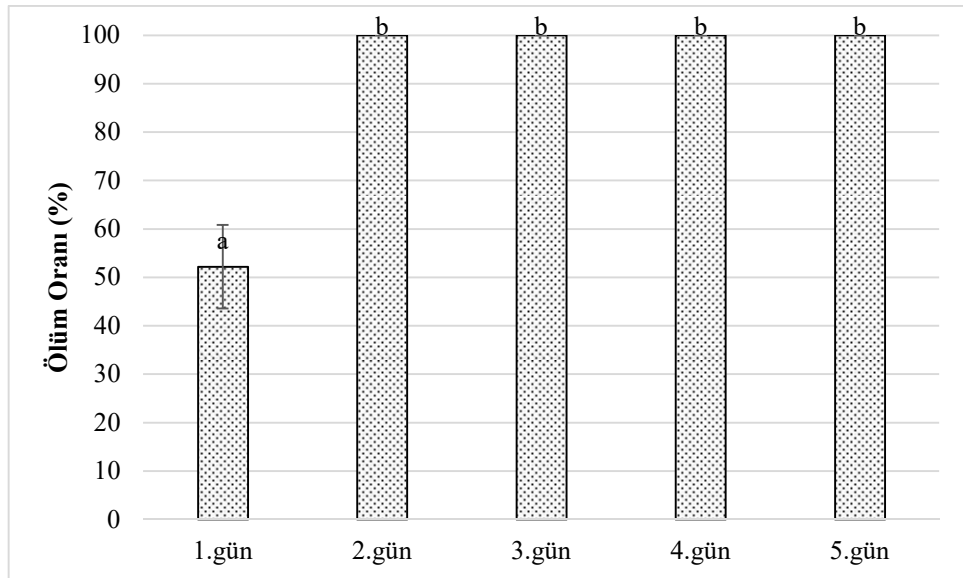
Şekil 4.4. HbH hibrit ırkının mısır unu kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:12.7010; df:4,10; P: 0.0006)

Nişasta+Pudra kombinasyonunun HbH hibrit ırkı üzerindeki etkisine bakıldığında Mısır Unu+Pudra kombinasyonunda olduğu gibi ölüm oranında hızlı bir artış görülmektedir (Şekil 4.5). İlk sayım gününde yaklaşık %35 olan ölüm oranı 2. gün sayımında %85'e, 3. gün sonrasındaki sayımlarda ise %100'e ulaşmıştır.



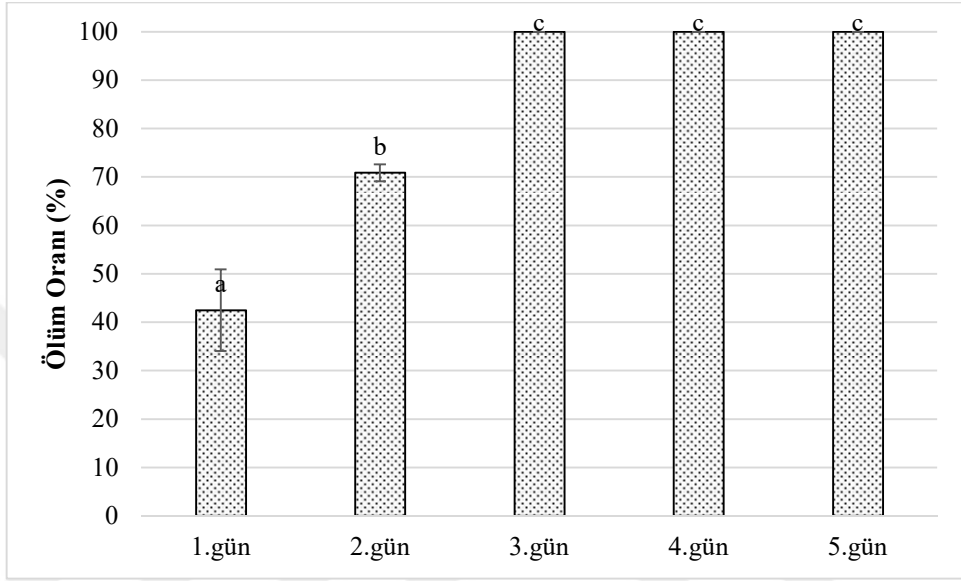
Şekil 4.5. HbH hibrit ırkının nişasta ve pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:72.7898; df:4,10; P: <0.0001)

Kitosan haricindeki diğer tüm maddelerin kombinasyonu ile oluşturulan ortamın HbH hibrit ırkı üzerindeki etkisi incelendiğinde ilk günden itibaren %50'lik yüksek bir ölüm oranı görülmüş ve 2. günden sonra ölüm oranı %100'e ulaşmıştır (Şekil 4.6).



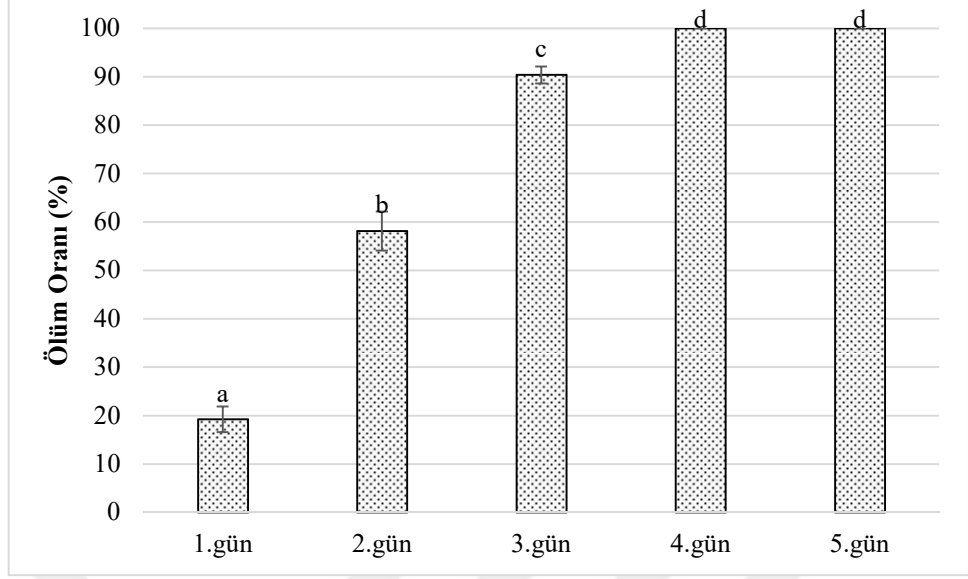
Şekil 4.6. HbH hibrit ırkının nişasta, pudra ve mısır unu kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:30.8215; df:4,10; P: <0.0001)

Sadece nişasta kullanılarak hazırlanan ortamın HbH hibrit ırkının ölüm oranı üzerindeki etkisi incelendiğinde ölüm oranının ilk gün sayımlarında %40'larda olduğu, 2. gün sayımında %70'lere çıktığı ve 3. gün sonrasında ölüm oranının %100 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7).



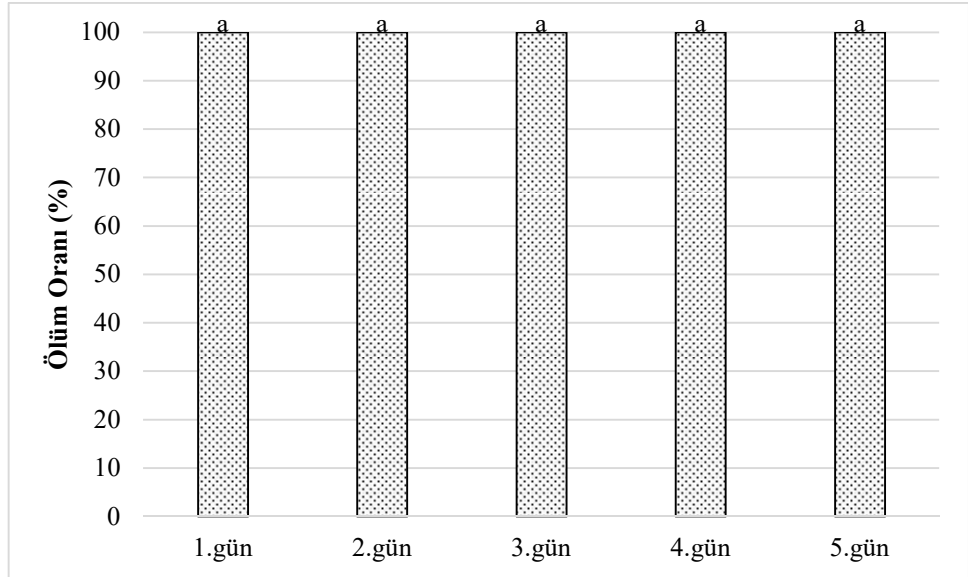
Şekil 4.7. HbH hibrit ırkının nişasta kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:44.8350; df:4,10; P: <0.0001)

Son olarak sadece pudra kullanılarak hazırlanan ortamın HbH hibrit ırkı üzerindeki etkisine bakıldığında diğer kitosana yakın biçimde ilk gün sayımlarındaki ölüm oranının %20'nin altında olduğu ancak 2. gün sayımlarında bu oranın %60'a çıktığı görülmektedir (Şekil 4.8). 3. gün ve sonrasında ise ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.



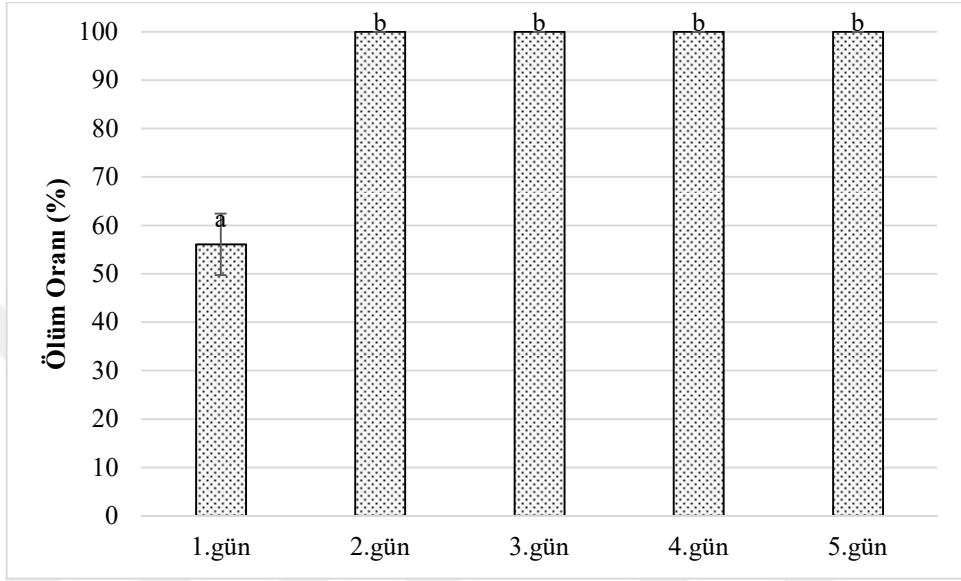
Şekil 4.8. HbH hibrit ırkının pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F:231.5218; df:4,10; P: <0.0001)

Hb1338 izolatının kitosan içerisindeki ölüm oranı HbH hibrit ırkının aksine çok daha yüksek olmuş ve ilk gün sayımından itibaren %100'lük ölüm oranları görülmüştür (Şekil 4.9).



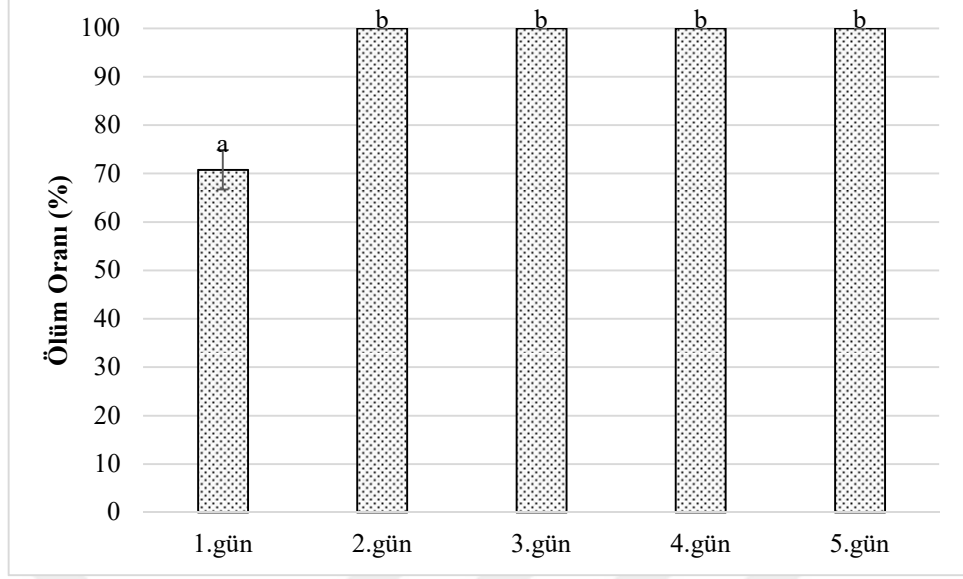
Şekil 4.9. Hb1338 izolatının kitosan kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı

Hb1338 izolatının Mısır Unu+Nişasta kombinasyonu ile hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranları incelendiğinde yüksek ölüm oranları gözlenmektedir (Şekil 4.10). İlk sayım gününde %50'nin üzerinde ölüm oranı gözlenirken, 2. gün sayımlarından itibaren ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.



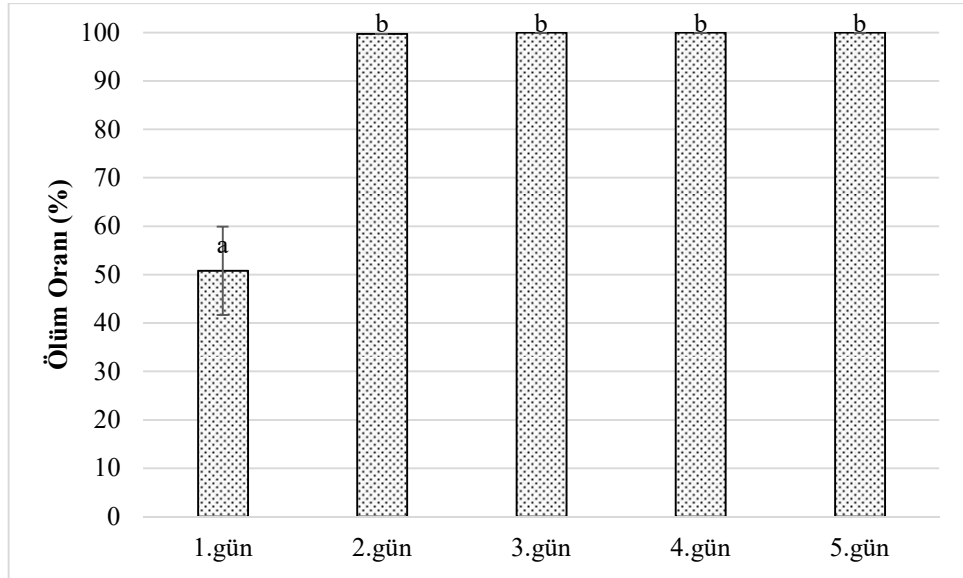
Şekil 4.10. Hb1338 izolatının mısır unu ve nişasta kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 47.7963; df:4,10; P: <0.0001)

Hb1338 izolatının Mısır Unu+Pudra kombinasyonu ile hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranları incelendiğinde yüksek ölüm oranları gözlenmektedir (Şekil 4.11). İlk sayım gününde %60'ın üzerinde ölüm oranı gözlenirken, 2. gün sayımlarından itibaren ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.



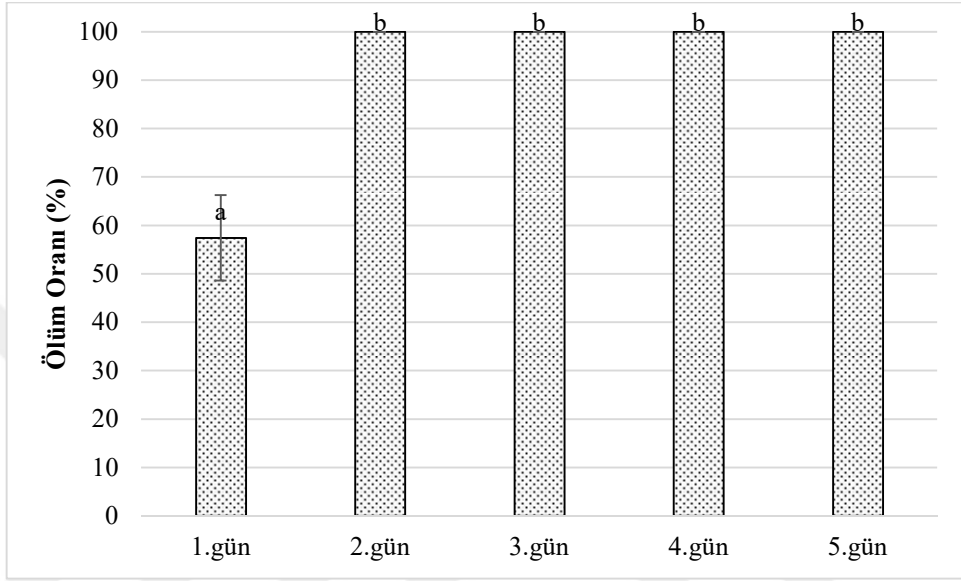
Şekil 4.11. Hb1338 izolatının mısır unu ve pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 51.4904; df:4,10; P: <0.0001)

Hb1338 izolatının Mısır Unu ile hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranları incelendiğinde yüksek ölüm oranları gözlenmektedir (Şekil 4.12). İlk sayım gününde %50'yi bulan ölüm oranı gözlenirken, 2. gün sayımlarından itibaren ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.



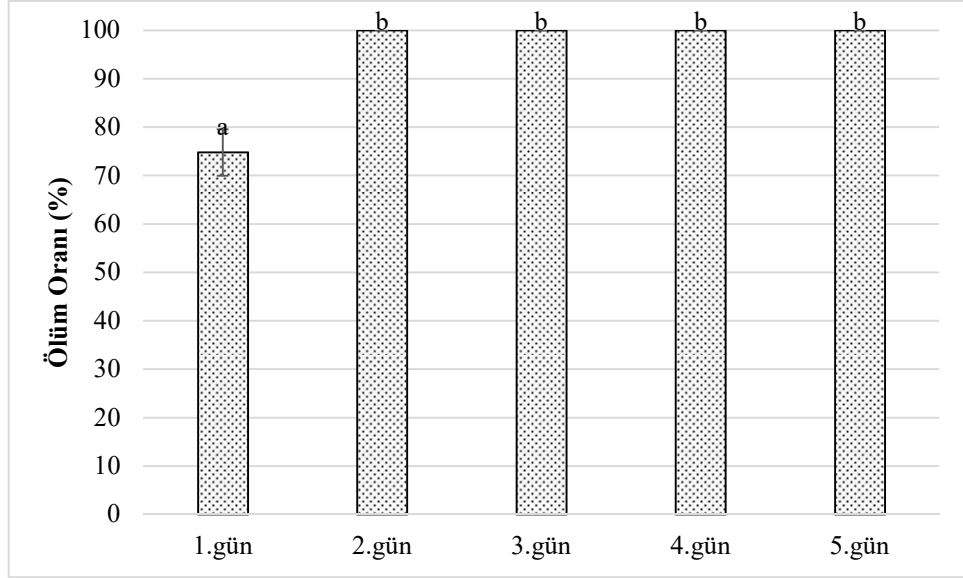
Şekil 4.12. Hb1338 izolatının mısır unu kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 28.8809; df:4,10; P: <0.0001)

Hb1338 izolatının Nişasta+Pudra kombinasyonu ile hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranları incelendiğinde yüksek ölüm oranları gözlenmektedir (Şekil 4.13). İlk sayım gününde %50'yi geçen ölüm oranı gözlenirken, 2. gün sayımlarından itibaren ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.



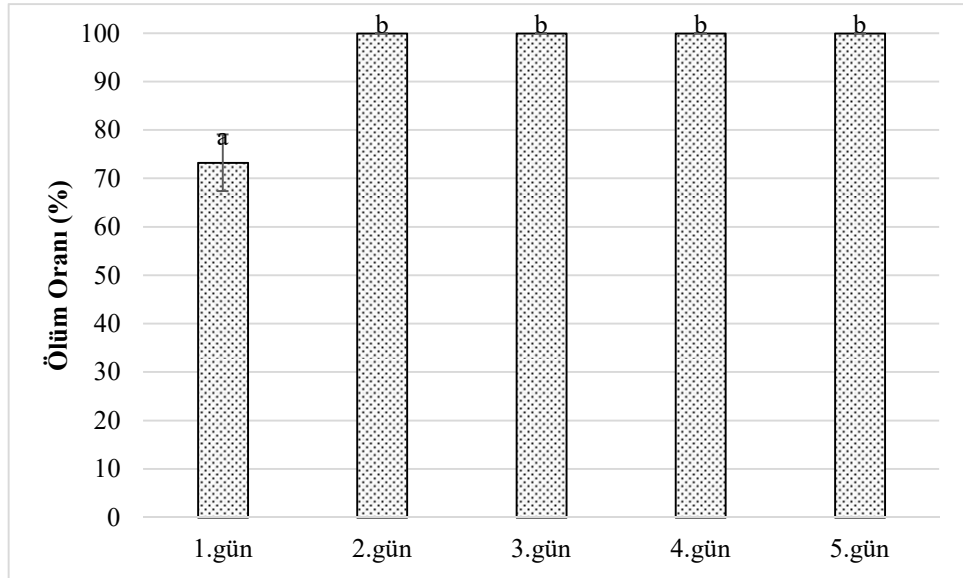
Şekil 4.13. Hb1338 izolatının nişasta ve pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 23.2017; df:4,10; P: <0.0001)

Hb1338 izolatının Nişasta+Pudra+MısırUnu kombinasyonu ile hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranları incelendiğinde yüksek ölüm oranları gözlenmektedir (Şekil 4.14). İlk sayım gününde %70'i geçen ölüm oranı gözlenirken, 2. gün sayımlarından itibaren ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.



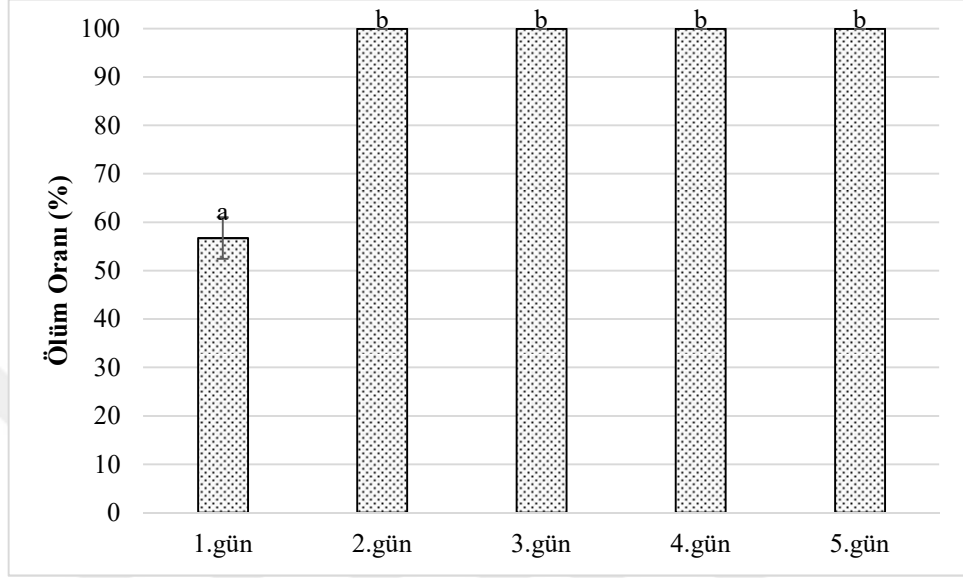
Şekil 4.14. Hb1338 izolatının nişasta, pudra ve mısır nişastası kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 27.4898; df:4,10; P: <0.0001)

Hb1338 izolatının Nişasta ile hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranları incelendiğinde yüksek ölüm oranları gözlenmektedir (Şekil 4.15). İlk sayım gününde %70'i geçen ölüm oranı gözlenirken, 2. gün sayımlarından itibaren ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.



Şekil 4.15. Hb1338 izolatının nişasta kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 20.8813; df:4,10; P: <0.0001)

Hb1338 izolatının Pudra ile hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranları incelendiğinde yüksek ölüm oranları gözlenmektedir (Şekil 4.16). İlk sayım gününde %50'yi geçen ölüm oranı gözlenirken, 2. gün sayımlarından itibaren ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.



Şekil 4.16. Hb1338 izolatının pudra kullanılarak hazırlanan ortam içerisindeki ölüm oranı (F: 101.6758; df:4,10; P: <0.0001)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Entomopatojen nematodların (EPN) IJ'leri su içerisinde ve buzdolabında birkaç ay depolanabilmektedir. Ancak bu method, nematodların yüksek miktarda oksijen bağımlılığı, bazı türlerin düşük sıcaklıklara karşı hassas olması, mikrobiyal bulaşmalara duyarlılığı ve antimikrobiyal ajanların ömür uzunluğu üzerine etkisi su içerisinde depolanan EPN'leri olumsuz etkileyen faktörlerdendir, bu nedenle EPN'den formülasyon oluşturulması hem bu olumsuz etkileri azaltacak hem de biyolojik mücadelede kapsamında taşınabilirlik ve uygulama kolaylığı sağlayacaktır.

1980'lerden sonra EPN'lerin özellikle toprak altı böcek zararlılarına karşı olan etkinliği görülmüş ve çoğu araştırmacı nematodların kitle üretimleri ile ilgili olarak çalışmaya başlamıştır. İlk olarak Avusturalya'da başlayan bu çalışmalar daha sonra Amerika ve Avrupa'da da devam etmiş, Avrupa'da biyoreaktörler ile kitle üretim başarılı bir şekilde yapılmaya başlanmıştır. 20 yıldır Avrupa'da kullanılan EPN'ler kitle üretim sonrasında formüle edilip ticarileştirilmiştir.

Ülkemizde EPN'lerin ruhsatlı olmaması, üretiminin ve formülasyonunun yapılmaması, ithal edildiğinde ise maliyetin çok artması nedeniyle üreticiler tarafından tercih edilmemekte ve Türkiye tarımsal üretim alanlarında üretimi yaygınlaşmamaktadır. Bu nedenle ülkemizde EPN'lerle ilgili yapılan çalışmalar bu tez çalışmasını önemli hale getirmektedir.

Hibritleme çalışması sonucunda üretilen HbH ırkı IJ'leri pudra, nişasta, mısır unu ve kitosan ve bu maddelerin kombinasyonları içerisinde % 20 nemli ortama bırakılmış ve her gün ölü canlı sayımları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre HbH ırkının IJ'lerinin ölüm oranının en düşük olduğu grubun kitosan (% 10) olduğu görülmüştür. Mısır Unu+Nişasta, Pudra ve Mısır Unu+Pudra gruplarında da ilk gün sırasıyla % 20, % 20, % 35 olduğu saptanmıştır.

Antalya topraklarından izole edilen Hb1138 izolatının en düşük ölüm (% 55) oranı Mısır Unu+Nişasta grubunda olduğu görülmüştür. Nişasta+Pudra, Pudra, Mısır unu, Nişasta+Pudra+Mısır Unu gruplarında ise sırasıyla % 58, %57, %70, % 75 oranında olduğu belirlenmiştir.

Divya ve ark. (2011) böceklerle savaşında başarılı olarak kullanılan *Heterorhabditis indica*'nın formülasyonu ve depolanmasında maksimum hayatta kalan bireyi sağlamak için optimum koşulları sağlamışlardır. Laboratuvarda 6 farklı yeni formülasyon (testere talaşı, hidrojel, hindistan cevizi lifi, pudra, sünger ve su) geliştirilmiş ve bu formülasyon grupları 27 ± 2 °C'de bekletilmiştir. Formülasyonlarda bekleyen nematodların etkinliği ise Pamuk Yeşil Kurdu *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) üzerinde değerlendirilmiştir. 5. haftaya kadar en yüksek hayatta kalma oranı talaşta %95, hidrojelde ise %85'tir. Hindistan cevizi lifinde %80, pudrada %75, suda %70, süngerde ise %65 oranında yaşayan birey olduğu tespit edilmiştir. 75 gün sonra en yüksek yaşam %65 oranla hidrojelde olurken talaşta bu oran %15 olarak belirlenmiştir. 48 saat boyunca formülasyon maddeleri içinde tutulan ve 100 IJ/larva inokulasyonu yapılan *H. armigera* larvaları üzerinde *H. indica*'nın patojenitesi hidrojelde %85, talaşta ise %70 olarak bulunmuştur.

Kim ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, EPN'lerin pahalı ve raf ömürlerinin kısa olması nedeniyle tarımda yaygın olarak kullanılamaması sorunları ele alınmış ve EPN'ler kalsiyum aljinat jel kapsülleri içerisine alınarak formülasyon denemeleri yapılmıştır. Bu denemede *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) IJ'leri kullanılmıştır. Oluşturulan bu kapsüllerden EPN'ler birkaç gün içerisinde kapsül dışına salınım yapmaktadır. Aljinat kapsülleri farklı sertlik derecesinde ve farklı sıcaklıklarda üretilmiştir. +4 °C'de hazırlanan ve kabuk derecesi sert olan kalsiyum aljinat kapsüllerinde salınım +4 °C'de hazırlanan diğer kapsüllere göre %40 oranında yavaşlamıştır. Oluşturulan bu kapsüller EPN'lerin toprak içerisinde yavaş salınım yaparak kalıcılığını arttırmak için yararlı olacaktır.

Andolo ve ark. (2010), entomopatojen nematodların laboratuvar koşullarında yaşama süresinin düşük olması nedeniyle EPN'lerin depolanması amacıyla taşıyıcı madde denemeleri kurmuşlardır. *Heterorhabditis* sp. ve *Steinernema carpocapsae* All nematodları 3000 IJ/ ml olarak hazırlanmış ve taşıyıcı madde olarak (humuslu toprak, ince kum, kaba kum, köpük, kil, fenolik köpük, agar, mısır nişastası, Plantmax®) seçilen substratların içerisine, EPN+madde karışımı ise 5 cm'lik petri kabına konulmuştur. Petri kapları 16 °C'ye ayarlı etüv içerisine yerleştirilip IJ'lerin hayatta kalma oranları 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 gün sonra değerlendirilmiştir. 180 gün sonra en yüksek yaşama oranı *S. carpocapsae*'nin köpük grubunda %57.5 olarak belirlenirken, kilde %28.4, Plantmax®'ta %9.3 ve fenolik köpükte %11 oranında olmuştur. *Heterorhabditis* sp.'de ise 180 gün sonra en yüksek oran %53.1 kaba kumda ve %50.6 ile ince kumda görülmüştür. En düşük oran ise Agar (%19.3), fenolik köpük (%11.6) ve Plantmax® (%10.7) gruplarında olduğu belirlenmiştir. IJ'lerin formülasyonu için en yüksek orana sahip substratların kullanılabilceği düşünülmektedir.

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda da bu tez çalışmasına benzer olarak EPN türleri formüle edilmeye çalışılmıştır. Ancak diğer araştırmacıların da tespitlerine göre EPN formülasyonlarındaki ölüm oranı, nematodun cinsine, türüne hatta ırkına, formüle edilme yöntemine, formülasyon maddelerine ve depolama sıcaklığına göre büyük değişimler göstermektedir.

Yapılan bu tez çalışmasında EPN'lerin biyolojik mücadelede daha yaygın kullanılması amacıyla maliyeti düşük maddelerle formülasyon oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu çalışmalar sırasında nematodların depolanması ve formülasyonlarının oluşturulması ile ilgili bilgi ve deneyimler elde edilmiştir. Ayrıca formülasyon ve depolama çalışmalarında tür aynı olsa bile ırklara göre farklılıkların önemli olduğu görülmüştür. Bu nedenle formülasyon çalışmalarının ırk bazında yapılması önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

Akhurst, R.J. 1980. Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. *Journal of General Microbiology*, 121: 303-309.

Andalo, V., Cavalcanti, R.S., Molina, J.P., Moino Jr., A. 2010. Substrates for storing entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Scientia Agricola*, 67(3): 342-347.

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

Bedding, R.A. 1993. Biological control of *Sirex noctilio* using the nematode *Beddingia siricidicola*: Nematodes and the Biological Control of Insect Pests, Ed: Bedding, R.A., Akhurst, R., Kaya, H.K., CSIRO Publications, East Melbourne, Australia, pp: 11–20.

Carson, R. 1962. Silent Spring. Fawcett Publications Inc Grenweech Coon, Member Of American Book Publishers Council Inc, 155pp.

Crucefix, D. 1998. Organic Agriculture and Sustainable Rural Livelihoods in Developing Countries. Natural Resources and Ethical Trade Programme (NRI). June 1998. Soil Association Bristol House 40-56 Victoria Street Bristol BS1 6BY,UK.

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

Delen, N., Durmuşoğlu E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak A. 2005. Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 3-7 Ocak 2005, Ankara.

Delen, N., Tiryaki, O., Türkseven, S., Temur, C. 2015. Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Dayanıklılık Sorunları, Çözüm Önerileri. Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi, 12-16 Ocak 2015, Ankara.

Divya, K., Sankar, M., Marulasiddesha, K.N., Sambashiv, R., Krupanidhi, K. 2011. Formulation technology of entomopathogenic nematode for the control of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Bioscience Discovery*, 02(2): 174-180.

Dunphy, G.B., Webster, J.M. 1989. The monoxenic culture of *Neoaplectana carpocapsae* DD 136 and *Heterorhabditis heliothidis*. *Review of Plant Nematology*, 12: 113-123.

Ehlers, R-U., Wyss, U., Stackebrandt, E. 1988. 16S RNA cataloguing and the phylogenetic position of the genus *Xenorhabdus*. *System Appl. Microbiol.* 10:121–125.

Ehlers, R.-U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: Practise and commercial aspects in regard to regulatory policies. *Biocontrol Science and Technology*, 6 (3): 303-316.

Endo, B.Y., Nickle W. R. 1994. Ultrastructure of the buccal cavity region and oesophagus of the insect parasitic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora*.. *Nematologica*, 40:379–398.

Fishel, F.M., 2009. Pest Management and Pesticides: A Historical Perspectivel. This document is PI219, one of a series of the Agronomy Department, UF/IFAS Extension, <http://edis.ifas.ufl.edu>.(Reviewed March 2016).

Ganguly, S., Anupama, Kumar, A., and Parmar, B.S. 2008. Nemagel - A Formulation Of The Entomopathogenic Nematode *Steinernema thermophilum* Mitigating The Shelf-Life Constraint Of The Tropics. *Nematologia Mediterrenia*, 36: 125- 130.

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

Gaugler, R. and Kaya, H.K. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp: 365.

Gaugler, R., Lewis, E., Stuart R.J. 1997. Ecology in the service of biological control:the case of entomopathogenic nematodes. *Oecologia*, 109: 483-489.

Gerritsen, L.J.M., Smiths, P.H. 1993. Variation in pathogenicity of recombinations of *Heterorhabditis* and *Xenorhabdus luminescens* strains. *Fundamental and Applied Nematology*, 16: 367-373.

Glaser, R.W., Fox, H. 1930. A nematode parasite of the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newm.). *Science*, 71: 16–17.

Glen, D.M. and Wilson, M. 1997. Slug-parasitic nematodes as biocontrol agents for slugs. *Agro Food Industry Hi Technology*, 8: 23–27.

Grewal, P.S. 2000. Anhydrobiotic potential and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida : Steinernematidae). *International Journal For Parasitology*. 30 (9): 995-1000.

Grewal, P.S., Peters, A. 2005. Formulation and Quality, Ed: Grewal, P.S., Ehlers, R.U., Shapiro-Ilan, D.I., CABI Publishing, Pondicherry India, pp: 79-90.

- Grunder, J. M. 1997.** *Photorhabdus luminescens* als Symbiont insektenpathogener Nematoden. PhD thesis, ETH, Zürich.
- Gülcü, B., Hazır, S. 2012.** Entomopatojenik nematodların saklanması alternatif bir yöntem. *Turk J.Zool*, 36(4): 562-565.
- Hegazi, E., Amer, N., Atwa, A., Ali, S., Hafez, M. 2012.** Storage of Two Egyptian Isolates and/or Strains Belong to *Heterorhabditis* spp. at Room Temperature. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 22(1): 55-60.
- Hominick, W.M., Reid, A.p., Bohan, D.A., Briscoe, B.R. 1996.** Entomopathogenic nematodes – biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 317-331.
- Hominick, W.M. 2002.** Biogeography: Entomopathogenic nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI Publishing, Oxon, UK, pp: 115-143.
- House, H.L., Welch, H.E., Cleugh, T.R. 1965.** Food medium of prepared dog biscuit fort he mass-production of the nematode DD-136 (Nematoda: Steinernematidae). *Nature*, 206-847.
- Hussein, M.A., Abdel-Aty, M.A. 2012.** Formulation of two native entomopathogenic nematodes at room temperature. *J. Biopest*, 5: 23-27.
- Kaya, H.K., Mannion, C.M., Burlando, T.M., Nelsen, C. E. 1987.** Escape of *Steinernema feltiae* from Alginate Capsules Containing Tomato Seeds. *Journal of Nematology*, 19(3):287-291.
- Kaya, H.K., Stock, S.P. 1997.** Techniques in insect nematology: Manual of Techniques in Insect Pathology. Ed: Lacey, L.A., Biological Techniques Series, Academic Press, San Diego, California, pp: 281–324.
- Kim, J., Jaffuel, G., Turlings, T.C.J. 2015.** Enhanced alginate capsule properties as a formulation of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol*, 60(4): 527-535.
- Lewis, W.J., Lenteren, J.C., Phatak, S.C., Tumlinson, J.H. 1997.** A total system approach to sustainable pest management. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94: 12243-12448.
- Lomer, C.J., Bateman, R.P., Johnson, D.L., Langewald, J., Thomas, M. 2001.** Biological Control of Locusts and Grasshoppers. *Annual Review of Entomology*, 46: 667-702.
- Marston, N., Campbell, B., Boldt, P.E. 1973.** Mass Producing Eggs of the Greater Wax Moth, *Galleria niellonella* (L.). *Technical Bulletin 1510, U.S. Dept. of Agriculture*, 66: 1155-1162.

- Navon, A., Nagalakshmi V.K., Levski, S., Salame, L., Glazer, I. 2002.** Effectiveness of Entomopathogenic Nematodes in an Alginate Gel Formulation Against Lepidopterous Pests. *Biocontrol Science and Technology*, 12: 737-746.
- Nickle, W.R. 1972.** A contribution to our knowledge of the Mermithidae (Nematoda). *Journal of Nematology*, 4: 113–146.
- Peshin, R., Zhang, W. 2014.** Integrated Pest Management and Pesticide Use: Integrated Pest Management, Ed: Pimentel, D., Peshin, R., Springer Science, Business Media Dordrecht, Netherlands, 3: 1-46.
- Peters A., Ehlers R-U. 1997.** Encapsulation of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* in *Tipula oleracea*. *ISJ*, 69:218–222.
- Petersen, J.J. 1985.** Nematode parasites: Biological Control of Mosquitoes. American Mosquito Control Association Bulletin, Ed: Chapman, H.C., pp: 110–122.
- Poinar Jr., G.O. 1967.** Description and Taxonomic position of the DD-136 nematode (Steinernematidae, Rhabditoidea) and its relationship to *Neoaplectana carpocapsae* Weiser. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 34: 199–209.
- Poinar Jr., G.O. 1975.** Entomogenous Nematodes. E.J. Brill, Leiden, The Netherlands, pp: 317.
- Poinar Jr., G.O. 1983.** The Natural History of Nematodes. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, pp: 323.
- Poinar Jr., G.O. 1993.** Origins and phylogenetic relationships of the entomophilic rhabditids, *Heterorhabditis* and *Steinernema*. *Fundamental and Applied Nematology*. 16: 333-338.
- Poinar Jr., G.O., Grewal, P. S. 2012.** History of Entomopathogenic Nematology. *Journal of Nematology*, 44 (2): 153-161.
- Popiel, I., Grove, D. L., Friedman, M. J. 1989.** Infective juvenile formation in the insect parasitic nematode *Steinernema feltiae*. *Parasitology*, 99:77–81.
- Riddle, D. L., Blumenthal, T., Meyer, B. J., Priess, J. R. 1997.** Introduction to *C. elegans*. Edt: Riddle, D. L., Blumenthal, T., Meyer, B. J., Priess, J. R. *C. elegans* II. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., pp 1–22.
- Shapiro-Ilan, D.I., Gaugler, R. 2002.** Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28: 137-146.

Simoës, N., Rosa, J. S. 1996. Pathogenicity and host specificity of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Sci. Technol.* 6:403–412

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

Susurluk, I.A., Ökten, M.E. 2000. Bazı Entomopatojen Nematodların *Blatella germanica* L.(Dictyoptera: Blatellidae) Üzerindeki Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 6(4): 111-114.

Susurluk, A., Dix, I., Stackebrandt, E., Strauch, O., Wyss, U., Ehlers, R.-U. 2001. Identification and ecological characterisation of three entomopathogenic nematode-bacterium complex from Turkey. *Nematology*, 3 (8): 833-841.

Susurluk, I.A., Ünlü, I., Kepenekçi, I. 2003. Host finding behaviour of two different Turkish isolates of entomopathogenic nematode species, *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Turkish Journal of Biology*, 27 (4): 203-207.

Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S. 2010. Tarım ilaçları kullanımını ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2): 154-169.

Tsao, W., Li, X. 1983. Biological Control - One Of The Fine Traditions Of Ancient Chinese Agriculture Techniques. *Scientia Agricultura Sinica*,1: 92-98.

Turhan, Ş. 2005. Tarımda sürdürülebilirlik ve organik tarım. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 11(1): 13-24.

Ulu, T.C., Sadic, B., Susurluk, İ.A. 2016. Bazı pestisitlerin entomopatojen nematod *Steinernema feltiae* TUR-S3 üzerine etkileri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 7(1): 55-64.

Ulu, T.C., Sadic, B., Susurluk, İ.A. 2016. Effects of different pesticides on virulence and mortality of some entomopathogenic nematodes. *ISJ*. 13: 111-115.

Umamaheswari, R., Sivakumar, M., Subramanian, S. 2006. Survival and infectivity of entomopathogenic nematodes in alginate gel formulations against rice meal moth larva, *Corcyra cephalonica* Stainton. *Natural Product Radiance*, 5(2): 95-98.

Uygun, N., Elekcioglu, İ.H., Ulusoy, M.R., Kazak, C., Aysan, Y., Uygur, S., Karut, K., Satar, S., Gözel, U., Karacaoğlu, M. 2015. Biyolojik Mücadelede Son Gelişmeler. Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi, 12-16 Ocak 2015, Ankara.

- Uygun, N., Ulusoy, M.R., Satar, S. 2010.** Biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1): 1-14.
- Van den Bosch, R., Messenger, P. S. and Gutierrez, A. P. 1982.** An introduction to biological control. Plenum Press, New York and London. 247 pp.
- White, G.F. 1927.** A Method for Obtaining Infective Nematode Larvae from Culture. *Science*, 66: 302-303.
- Wiesner, A. 1993.** Die Induktion der Immunabwehr eines Insekts (*Galleria mellonella*, Lepidoptera) durch synthetische Materialien und arteigene Haemolymphfaktoren. PhD Thesis in Berlin, s. 107.
- Wilson, M.J. and Gaugler, R. 2000.** Terrestrial mollusc pests: Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology, Ed: Lacey, L., Kaya, H.K., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp: 787–804.
- Woodring, J.L., Kaya, H.K. 1988.** Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A handbook of biology and techniques. Arkarnas Agricultural Experiment Station, Southern Cooperative Series Bulletin 331, Fayetteville, AR, 30 pp.
- Wouts, W.M. 1981.** Mass production of the entomogenous nematode *Heterorhabditis heliothidis* (Nematoda: Heterorhabditidae) on artificial media. *Journal of Nematology*, 13:467-469.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Büşra SADIÇ

Doğum Yeri ve Tarihi : Osmangazi/ TÜRKİYE, 06.04.1993

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Emirsultan Lisesi (2006-2010)

Lisans : Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Bölümü (2010-2014)

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Bitki Koruma Anabilim Dalı (2014-2016)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : ---

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

Yayınları

Ulu, T.C., Sadic, B., Susurluk, I.A. Aksit, T. 2015. Virulence of four entomopathogenic nematode species for plum sawfly, *Hoplocampa flava* L. (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Invertebrate Survival Journal*. 12: 274-277.

Sadiç, B., Ulu, T.C., Susurluk, I.A. 2016. Effects of some pesticides on the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* TUR-S3. *Turkish Journal of Biological Control*. 7(1):55-64.

Ulu, T.C., Sadic, B., Susurluk, I.A. 2016. Effects of different pesticides on virulence and mortality of some entomopathogenic nematodes. *Invertebrate Survival Journal*. 13: 111-115.

Sadiç, B., Ulu, T.C. ve Susurluk A. 2014. Bursa İli Gürsu İlçesi Meyve Bahçesi Topraklarında Entomopatojen Nematod Sürveyi. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat, Antalya.

Ulu, T.C. Sadıç, B., Susurluk A. 2014. Uludağ Üniversitesi (Bursa) Kampüs Alanındaki Domates Ekiliş Alanlarında Entomopatojen Nematod Sürveyi, Sözlü Sunum, I. Domates Yetiştiriciliğinde Entegre Ürün Yönetimi Sempozyumu, 19-22 Kasım, Antalya.

Ulu, T. C., Sadıç, B., Susurluk, I. A., Aksit, T. 2015. Virulence of four entomopathogenic nematode species for plum sawfly, *Hoplocampa flava* L. (Hymenoptera: Tenthredinidae). 26th International Scientific-expert Conference of Agriculture and Food Industry, 27-30 September, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.

Ulu, T. C., Sadıç, B., Susurluk A. 2016. Entomopatojen Nematod *Steinernema feltiae* Tur-S3'ün Canlılığı Ve Etkinliği Üzerine Bazı İnsektisit, Fungusit Ve Herbisitlerin Etkileri. Uluslararası Katılımlı 6. Bitki Koruma Kongresi, 5-8 Eylül, Konya, Türkiye.

Sadıç, B., Oreste, M., Tarasco, E., Susurluk, A. 2016. Efficiency Of Some Entomopathogenic Nematodes From Italy And Turkey On *Cossus Cossus*. Nematodi Entomopatogeni, Entomoparassiti Ed Entomofilici, 26-28 September, Bari, Italy.

Sadıç, B., Ulu, T.C. ve Susurluk A. 2016. Investigations On Entomopathogenic Nematode Formulation With *Heterorhabditis bacteriophora* Hybrid Strain And Its Parents. 27th International Scientific-Expert Congress Of Agriculture And Food Industry, 26- 28 September, Bursa, Turkey.