TOPRAĞA UYGULANAN BAZI İNSEKTİSİT, HERBİSİT VE FUNGUSİTLERİN ENTOMOPATOJEN NEMATOD, Heterorhabditis bacteriophora HBH HİBRİT IRKININ YÖNELİM VE YAYILIMINA ETKİLERİ

Meriç USTA

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TOPRAĞA UYGULANAN BAZI İNSEKTİSİT, HERBİSİT VE FUNGUSİTLERİN ENTOMOPATOJEN NEMATOD, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HİBRİT IRKININ YÖNELİM VE YAYILIMINA ETKİLERİ

Meriç USTA
0009-0000-8774-1458

Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA – 2024
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TOPRAĞA UYGULANAN BAZI İNSEKTİSİT, HERBİSİT VE FUNGUSİTLERİN ENTOMOPATOJEN NEMATOD, Heterorhabditis bacteriophora HBH HİBRİT IRKININ YÖNELİM VE YAYILIMINA ETKİLERİ

Meriç USTA

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopatojen nematodlar (EPN'ler) Rhabditida takımı, Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarında yer alan, mikroskobik ipliksi solucanlar olarak bilinmektedirler. Biyolojik mücadele ajanı olan EPN'ler, bitki zararlılarıyla mücadelede önemli bir rol oynamaktadırlar. Toprak kökenli olan ve toprak içerisinde aktif olarak hareket eden bu nematodlar yaşam döngülerini tamamlamak için konukçuya ihtiyaç duymaktadırlar. Çoğunlukla doğal açıklıklardan konukçularına giren EPN'ler, taşıdıkları simbiyont bakteriler aracılığıyla konukçuların enfekte edip ölümüne neden olurlar. Bu enfeksiyon süreci, nematodların taşıdığı simbiyont bakterilerin böcek vücudunda üremesi ve toksinlerin salınmasıyla gerçekleşmektedir. Son zamanlarda kimyasal pestisitlerle beraber uygulanan EPN'lerin, beraber kullanıldıkları bu pestisitlerle uyumluluğunun bilinmesi önemli bir konu haline gelmiştir. Bu çalışma üllkemizde yaygın olarak kullanılan bazı pestisitlerin *Heterorhabditis bacteriophora* HBH hibrit ırkının davranışı ve yönelimi üzerindeki etkisini incelemeyi amaçlamıştır. Bu doğrultuda, çelik olfaktometreler içerisinde bu EPN türünün pestisitlerin varlığındaki genel yayılımı ve yönelim tercihi ölçülmüştür. Kullanılan pestisitler arasında Cypermethrin ve Difenoconazole'ün EPN'un genel yayılım oranlarını kontrol grubuna göre azaltmakta olduğu görülürken, diğer pestisit gruplarında ise istatistiksel olarak bir etki görülmemiştir. Bununla beraber ikili tercih değerlendirmelerinde ise Pyriproxyfen, Glyphosate, Fosetyl-Al ve Captan'ın bu EPN üzerinde itici/uzaklaştırıcı bir etkiye neden olduğu belirlenirken Cypermethrin ve Difenoconazole'ün çekici etki yaptığı ortaya konulmuştur. Spirotetramat ve Chlorantraniliprole'ün ise EPN'un tercihi üzerinde istatistiksel olarak önemli etkide bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu tez çalışması ile EPN'lerin pestisitlerle birlikte uygulanması durumunda pestisit seçiminin EPN'lerin arazideki başarısına önemli oranda etki etme potansiyelini göstermiştir. Pestisit-EPN ilişkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için farklı EPN türleri ve pestisit çeşitleri ile arazi denemeleri kurulması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Entomopatojen nematod, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit ırkı, Pestisitler, Olfaktometre, Yayılım.

2024, xii + 45 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

EFFECTS OF SOME SOIL INSECTICIDES, HERBICIDES, FUNGICIDES ON ORIENTATION AND DISPERSAL OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES, *Heterorhabditis bacteriophora* HYBRID HBH STRAIN

Meriç USTA

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

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopathogenic nematodes (EPNs) are microscopic, thread-like worms belonging to the order Rhabditida, specifically the families Steinernematidae and Heterorhabditidae. Serving as biological control agents, EPNs play a crucial role in pest management. These nematodes, active in soil throughout most of their lifecycle, requires a host for their life cycle completion. EPNs invade hosts through skin or natural openings, inducing host death through symbiont bacteria. The infection process involves symbiont bacteria reproducing within the insect body, releasing toxins. Recently, understanding the compatibility of EPNs with chemical pesticides has gained significance. This study explores the impact of certain pesticides on the behavior and orientation of the *Heterorhabditis bacteriophora* HBH hybrid strain. General distribution and orientation preferences of the EPN in the presence of selected pesticides were measured in steel olfactometers. Cypermethrin and Difenoconazole exhibited decreased dispersal of the EPN compared to the control group, while other pesticide treatments showed no statistical difference. Moreover, in dual-choice evaluations, Pyriproxyfen, Glyphosate, Fosetyl-Al, and Captan had a repellent effect on EPNs, whereas Cypermethrin and Difenoconazole had an attractive effect. No statistical difference was observed in the preference of Spirotetramat and Chlorantraniliprole. This thesis demonstrates that the choice of pesticide significantly affects the success of EPNs when applied together. To deepen our understanding of the pesticide-EPN relationship, field trials with diverse EPN and pesticide types are recommended.

Key words: Entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hybrid Strain, Pesticides, Olfactometer, Dispersal
2024, xii + 45 pages.

ÖNSÖZ VE/VEYA TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim 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 teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmaların sürdürülmesi için Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Bitki Koruma laboratuvarını bana açan ve çalışmaların sürdürülmesinden tez yazım aşamasına kadar her türlü desteğini sunan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Tufan Can ULU ve yüksek lisans öğrencileri Rabia Nur AKSU ile Aydan TERZİOĞLU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bilecik İl Tarım ve Orman Müdürlüğü Bitkisel Üretim ve Bitki Sağlığı Şube Müdürü Dr. Buğra ERDEM'e çalışmalarım esnasında bana sunduğu her türlü desteği ve yardımları için şükranlarımı sunarım.

Her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Esrin AŞKAR USTA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Meriç USTA
16/01/2024

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET vi
ABSTRACT vii
ÖNSÖZ VE/VEYA TEŞEKKÜR viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
ÇİZELGELER DİZİNİ xii
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 10
2.1. EPN'lerin Konukçu Arama, Yönelim ve Dağılım Davranışları 10
2.2. EPN'lerin Pestisitlerle Uyumluluğu 13
2.3. EPN'lerin Pestisitlere Karşı Yönelim Davranışları 15
3. MATERYAL ve YÖNTEM 17
3.1. Materyal 17
3.1.1 Çalışmada kullanılan *Heterorhabditis bacteriophora* Irkı 17
3.1.2. *Galleria mellonella* Larvaları 17
3.1.3. Kullanılan Pestisitler 18
3.2. Yöntem 19
3.2.1 *Galleria mellonella* Larvalarının Üretimi ve Beslenmesi 19
3.2.2. Larvaların Enfeksiyonu 20
3.2.3. Olfaktometrelerin Kurulumu 21
3.2.4. İnkübasyon Sonrası EPN'lerin Sayımı 23
3.2.5. İstatistiksel Analiz 24
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 26
4.1 Genel Yayılım Oranları 26
4.2 İkili Tercih Oranları 28
5. SONUÇ 36
KAYNAKLAR 38
ÖZGEÇMİŞ 46

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	**Açıklama**
µm	Mikrometre (1x10 −6 m)
cm	Santimetre
mm	Milimetre
℃	Santigrat Derece
CO_2	Karbondioksit
%	Yüzde
ml	Mililitre (1×10^3 l)
L	Litre
g	Gram

Kısaltmalar	**Açıklama**
EPN	Entomopatojen Nematod
IJ	İnfektif Jüvenil
J1	Birinci Dönem Jüvenil
J2	İkinci Dönem Jüvenil
J3	Üçüncü Dönem Jüvenil
J4	Dördüncü Dönem Jüvenil

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 1.1.	EPN'lerin yaşam döngüsü (Lacey ve Unruh, 2005) ……..	5
Şekil 3.1.	*G. mellonella* larvalarının üretimi A) Son dönem larvalar B) Yapay besin bulunan ortama yumurtaların koyulması C) *G. mellonella* pupaları ve üretimin devamı için ergin döneme geçmesine izin verilen bireyler……...	20
Şekil 3.2.	*H. bacteriophora*'nın in vivo ortamda üretimi A) Petrideki enfekte edilmiş *G. mellonella* larvaları B) White Trap'e alınan enfekte *G. mellonella* kadavraları C) +4 ºC'de buzdolabında muhafaza edilen EPN kültürleri…….	21
Şekil 3.3	Çalışmada kullanılan olfaktometre düzeneğinin çizimi…….	21
Şekil 3.4	Olfaktometrelerin kurulumu A) Kurulumu tamamlanmış olfaktometre B) Olfaktometre içerisine doldurulmuş nemli kum içeriği C) Merkezdeki uygulama deliğinden sisteme IJ'lerin uygulanması……	23
Şekil 3.5	Olfaktometrelerdeki IJ'leri sayım işlemi A) Sayım öncesi kolların içerisindeki kumların boşaltılması B) Nematodların analiz eleği yardımıyla ayrılması C) Stereo mikroskop altında IJ'lerin sayımı…	24
Şekil 4.1	Olfaktometrelerdeki genel yayılım oranları. Uygulama karşılaştırmalarındaki yıldızlar istatistiksel fark olduğunu göstermektedir……	27
Şekil 4.2	IJ'lerin boş kol x boş kol (kontrol) uygulamasındaki ikili tercih oranları……	28
Şekil 4.3	IJ'lerin Larva x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları……	29
Şekil 4.4	Şekil 4.4. IJ'lerin Cypermethrin x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları……	30
Şekil 4.5	IJ'lerin Spirotetramat x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları……...	31
Şekil 4.6	IJ'lerin Difenoconazole x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları……	31
Şekil 4.7	IJ'lerin Chlorantraniliprole x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları……	32
Şekil 4.8	IJ'lerin Captan x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları…….	33
Şekil 4.9	IJ'lerin Glyphosate x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları..	34
Şekil 4.10	IJ'lerin Fosetyl-Al x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları...	34
Şekil 4.11	IJ'lerin Pyriproxifen x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan pestisitler……..... 18

1. GİRİŞ

Tarımsal mücadele, bitki hastalıklarına, zararlılarına ve yabancı otlarına karşı uygulanan mücadele stratejilerini içeren, tarım sektöründe verimliliği ve kaliteyi artırmayı hedefleyen bir konsepti ifade etmektedir. Bu bağlamda, tarımsal mücadelenin ana hedefleri, bitki hastalıklarının kontrolü, zararlıların etkin mücadelesi, yabancı otların kontrolü, kimyasal gübre ve pestisit kullanımının optimize edilmesi ve biyoçeşitliliğin korunması olarak belirlenmektedir. Bu stratejiler, ekonomiklik ilkesi temelinde, tarım alanlarında ürün kaybını en aza indirme ve sürdürülebilir bir tarım pratiği oluşturma amacını taşırmaktadır (Delen vd., 2005). Tarımsal mücadelede farklı canlı gruplarına özgü çeşitli mücadele yöntemleri ve teknikleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler, kültürel mücadele, fiziksel-mekaniksel mücadele, kimyasal mücadele, biyolojik mücadele, biyoteknik mücadele ve kanunsal mücadele yöntemlerinden oluşmaktadır. Bunların içerisindeki kimyasal mücadelenin diğer yöntemlere göre kolay uygulanabilir olması ve hızlı sonuç alınabilmesi gibi özellikleri nedeniyle daha yaygın olarak tercih edilen tarımsal mücadele yöntemi olmaktadır (Uygun vd., 2010). Ancak kullanılan kimyasal pestisitlerin hedeflenen zararlıyı ve zararlı gruplarını kontrol altına alma çabalarının yanı sıra, bu kimyasalların hedeflenmeyen organizmalara yönelik olumsuz etkileri de gözlemlenmektedir. Birçok zararlı türün bu kimyasallara karşı direnç geliştirmesi, ikincil zararlıların ana zararlı konumunu alması ve nihayetinde insan sağlığı üzerindeki kronik veya akut etkilerin ortaya çıkmasının yanında (Susurluk ve Ökten, 2000) tüketicilerin organik ürünleri tercih etme eğilimleri gibi unsurlar düşünülerek, araştırmacıları tarımsal mücadelede sürdürülebilir alternatif mücadele yöntemleri üzerine yönlendirmiştir (Özaktan vd., 2010).

Tarımda sürdürülebilirliğin hedefi, doğal kaynakların uzun vadeli korunmasını sağlamanın yanı sıra çevreye zarar vermeyen tarımsal teknolojilerin benimsendiği bir tarımsal yapının oluşturulmasıdır. Dünya genelinde tarımda sürdürülebilirlik önemli bir sorun haline gelmiş ve bu bağlamda, 50 yılı aşkın bir süre önce, kimyasal pestisitlerin zararlılar, hastalıklar ve yabani otların kontrolünde rastgele kullanılmasına karşı bir çözüm olarak Entegre Zararlı Yönetimi (IPM) adı verilen bir yaklaşım ortaya çıkmıştır (Hokkanen, 2015; Turhan, 2005). 1967'de Smith ve van den Bosch tarafından

tanımlanan "Entegre Zararlı Yönetimi (IPM)"; sentetik pestisitlere olan bağımlılığın azaltılması amacıyla gelişen bir mücadele stratejisi olarak tanımlanan, çevresel faktörler ve zararlı türlerinin popülasyon dinamikleri bağlamında mümkün olan en uyumlu şekilde biyolojik mücadele başta olmak üzere, kimyasal mücadeleye alternatif uygun teknikleri ve yöntemleri kullanarak, zararlı popülasyonlarını ekonomik olarak kabul edilemez hasar veya kayıp seviyelerinin altında tutmayı amaçlayan bir yönetim sistemidir (Peshin ve Zhang, 2014).

DeBach, (1964) biyolojik mücadeleyi; "parazitoit, predatör ve patojenler kullanarak, zararlıların popülasyon yoğunluğunu, bu etmenlerin olmadığı zamanki yoğunluğundan daha düşük düzeyde tutulmasını sağlayan uygulamalar" olarak tanımlamıştır. Biyolojik mücadele, ekosistemdeki organizmaların hücresel ve moleküler düzeydeki biyolojik etkileşimlerinin bilgisine bağlı olduğundan fiziksel ve kimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığında yönetilmesi daha karmaşık ve zor olarak nitelendirilir (Sharma vd., 2013). Biyolojik Mücadele kapsamında tarımsal üretimdeki zararlıları kontrol altına almak amaçlı kullanılan organizmalara biyolojik mücadele ajanı adı verilmektedir. Biyolojik kontrolün bilimsel başlangıcı 1889'da Kaliforniya'daki narenciye bahçelerindeki *Icerya purchasi*'yi kontrol etmek için Avustralya'dan *Rodolia cardinalis* ve *Cryptochaetum iceryae*'nin biyolojik mücadele ajanları olarak kullanılmasıyla gerçekleşmiştir (Caltagirone ve Doutt, 1989). O zamandan bu yana eklem bacaklı predatörler ve parazitler, zararlı böceklere karşı kullanılan başlıca doğal düşmanlar olmakla beraber, yapılan araştırmalara ve çalışmalar sayesinde; virüsler, bakteriler, mantarlar, protozoalar ve nematodlar gibi mikrobiyal kontrol ajanları da biyolojik mücadelede önemli aktörler haline gelmiştir.

Biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılan nematodlar, taşıdıkları simbiyotik bakterinin neden olduğu hastalık tarafından konukçunun ölümünü gerçekleştiği için "entomopatojen" olarak adlandırılmaktadırlar (Nguyen ve Hunt, 2007). İlk entomopatojen nematod (EPN), Steiner tarafından 1923'te *Aplectana kraussei* (şimdi *Steinernema kraussei*) ismiyle tanımlanmıştır ve o zamanlar taksonomik sınıflandırması sorunlu olan bir meraktan başka bir şey olarak görülmemiştir. Daha sonrasında, 1976 yılında Poinar'ın yaptığı çalışmalarla, biyolojik mücadele ajanı olarak kullanımda

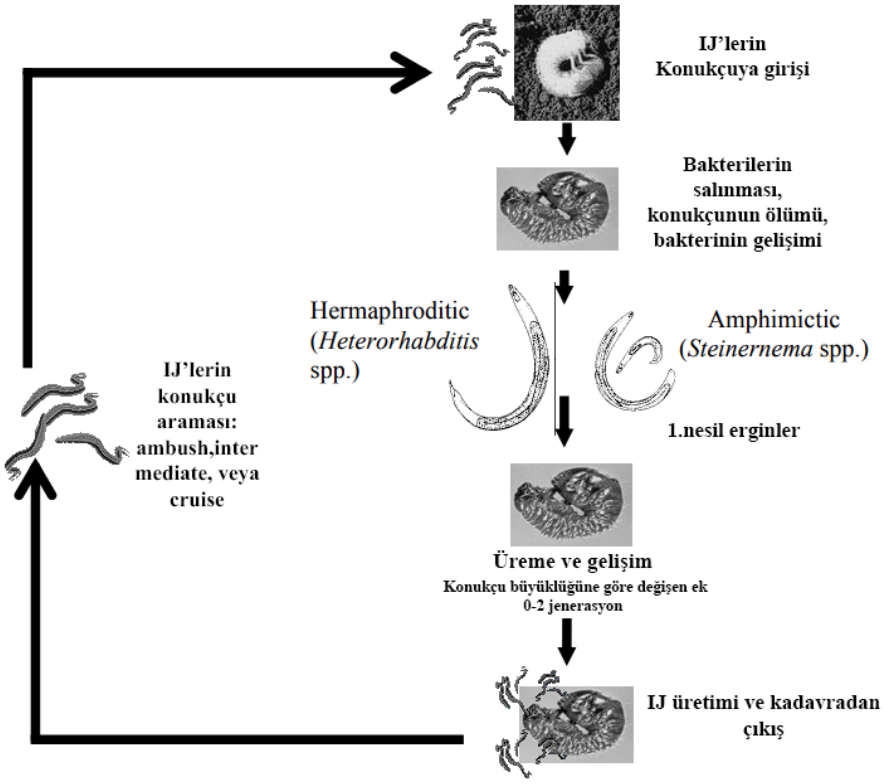
önemli bir yeri olan *Heterorhabditis* cinsi teşhis edilmiştir (Poinar ve Grewal, 2012). 1923 yılından bu yana bilinen EPN'lerin, biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılma potansiyeline 1970'li ve 1980'li yıllara kadar yeterince önem verilmemiştir (Güneş ve Gözel, 2011).

Otuzdan fazla familyadaki nematodların, tarımsal ürünlerdeki zararlılarla ve diğer omurgasızlarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Böceklerin biyolojik mücadelesi için incelenen tüm nematodlar arasında Steinernematidae ve Heterorhabditidae etkili biyolojik mücadele ajanlarının birçok özelliğine sahip olduklarından en fazla ilgiyi çekmektedirler. Diğer familyadaki türlerin üretim kültürlerindeki problemler ve/veya sınırlı virülensi nedenleriyle mikrobiyal kontrol potansiyelleri kısıtlı olmaktadır (Koppenhöfer, 2007; Lacey ve Georgis, 2012).

Küresel ölçekte Antarktika kıtası hariç (Griffin vd., 1990), her yerde mevcut olan EPN'ler 49 ülkeden (19'u Avrupa'dan, 9'u Asya'dan, 3'ü Kuzey Amerika'dan, 7'si Orta Amerika ve Karayipler'den, 8'i Güney Amerika'dan ve 3'ü Afrika'dan) elde edildiği bilinmektedir (Stock, 2015). Yapılan gözlemler, hem Steinernematidae hem de Heterorhabditidae'nin iklim koşullarına adaptasyonunun bir familya özelliğinden çok bir tür özelliği olduğunu göstermektedir (Constant vd., 1998). Coğrafi olarak en yaygın Heterorhabditid türü olan *Heterorhabditis bacteriophora*, karasal ve akdeniz iklimine sahip bölgelerde bulunurken, *H. indica* tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olmaktadır. *H. megidis* ise şu ana kadar sadece kuzey yarımkürede keşfedilmiştir ve genellikle *H. bacteriophora*'dan daha kuzeyde ve daha sınırlı bir dağılıma sahip olmaktadır. *Steinernema feltiae* ve *S. carpocapsae* ise tüm bölgelerde geniş bir dağılım göstermektedir (Hominick, 2002; Hominick vd., 1996).

EPN'ler, boyları türlere göre farklılık göstermekle birlikte ortalama 500-1000 µm arasında olan (Nguyen ve Smart, 1995), segmentsiz, genellikle silindirik ve uzun vücut şekilleri nedeniyle yuvarlak, ipliksi solucanlar olarak da anılan mikroskopik organizmalardır. Sindirim, üreme, kas ve basit boşaltım ve sinir sistemlerine sahiptirler ancak dolaşım ve solunum sistemlerinden yoksundurlar (Koppenhöfer, 2007).

EPN'ler biyolojisinin çoğunu toprak altında geçiren ve obligat endoparazitik organizmalar olarak bilinmektedir (Poinar, 1990). Yaşam döngüsü ise; yumurta evresi, dört jüvenil evre (IJ1, IJ2, IJ3, IJ4) ve ergin evrelerinden oluşmaktadır. Tüm Rhabditid nematodların yaşam döngüsü içerisinde özel bir gelişim aşaması bulunmaktadır ve bu aşama dauer juvenil (DJ) ya da infektif juvenil (IJ) olarak adlandırılır. Fuchs, (1915) tarafından ortaya atılmış olan Dauer juvenil (DJ) terimi ("Dauer" Almanca'da dayanıklı anlamına gelmektedir.) terimi, tükenen besin kaynaklarına ve olumsuz çevresel koşullara karşı dirençli olan morfolojik bir dönemi ifade eder. Bu IJ dönemi, toprakta uzun süreli hayatta kalmaya adapte olmuş, serbest olarak toprakta yaşadığı bir dönem olarak bilinmektedir (Ehlers, 2001). Aynı zamanda bu IJ dönemi; bağırsağının ön kısmında, simbiyont bakterisinin 200-2000 hücresini taşıdığı bir enfeksiyon aşaması olarak da tanımlanmaktadır (Endo ve Nickle, 1994). Steinernematidler ve Heterorhabditidler üreme tarzlarında farklılık göstermektedirler. Heterohabditlerde ilk nesil kendi kendine üreyen hermafroditlerden oluşurken, sonraki nesillerde erkekler, dişiler ve hermafroditler üretilmektedir. Steinernematidlerde ise (*S. hermaphroditum* hariç) tüm nesiller amfimiktik (erkek ve dişilerin dahil olduğu çapraz döllenme) yoluyla üremektedirler (Griffin vd., 2005; Koppenhöfer vd., 2020). IJ konukçusuna ağız, anüs, solunum delikleri yoluyla veya doğrudan kütiküladan nüfuz ederek girmektedir. Nematodun giriş yolu ağız veya anüs yoluyla ise bağırsak duvarını geçerek hemosöle ulaşır, eğer giriş yolu stigma ise trakeal duvara nüfuz etmektedirler. IJ, konukçunun hemosölüne ulaştığında, özel bir kesecik içinde taşıdığı ve hızla çoğalan bakterileri serbest hemolenfe bırakır (Şekil 1.1) ve genellikle takip eden 24-72 saat içinde septisemi (kan zehirlenmesi) nedeniyle konukçunun ölümüne sebep olmaktadır (Ehlers, 2007; Smart, 1995). Konukçu içerisindeki bakteriler, kadavranın içeriğini sindirir ve nematod bu süreçte bakteri kültürüyle beslenmektedir (Atwa vd., 2013). Bakteriyel simbiyontlar, nematod için gerekli besinlerin yanı sıra çeşitli mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen antimikrobiyal maddeler de üreterek nematodların üremesi için uygun koşulları oluşturmaktadır. Nematodlar, çevre ve konukçu koşullarına bağlı olarak iki ila üç hafta içinde tükenmiş konukçu kadavrasından toprağa çıkar ve yeni konukçu arayışına girer (Boemare vd., 1993).



Şekil 1.1. EPN'lerin yaşam döngüsü (Lacey ve Unruh, 2005)

Biyolojik mücadelede önemli ölçüde tercih edilen EPN'ler arasında *Steinernema* ve *Heterorhabditis*, sırasıyla *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* cinslerine ait bakterilerle olan simbiyotik ilişkileri sebebi dolayısıyla diğerlerinden ayırt edici özelliğe sahiptirler (Peters, 1996). Steinernematidler, yemek borusu ile bağırsağın ön kısmı arasında yer alan "bakteriyel kesecik" veya "bağırsak keseciği" (receptacle) olarak bilinen ayrı bir yapıda bu bakterileri taşırken (Flores-Lara vd., 2007), Heterorhabditler simbiyontları olan *Photorhabdus* bakterilerini bağırsak lümeninin tamamında (bağırsak mukozası) bulundurmaktadırlar (Abd-Elgawad, 2021; Godjo vd., 2018). *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* spp. Enterobacteriaceae familyasına ait hareketli gram negatif bakterilerdir ve yaşam döngülerinin genel özellikleri birbirine oldukça benzemektedir (Ehlers vd., 1988). Bakterilerin serbest yaşayan formları henüz toprak veya su kaynaklarından izole edilmemesi, bu simbiyotik ilişkinin toprak ortamında bakterilerin hayatta kalması için gerekli olduğunu göstermektedir. Bununla beraber simbiyont bakteriler konukçu böceğin etkili bir şekilde öldürülmesine sebep olduğu için

nematodun yaşam döngüsünü verimli bir şekilde tamamlaması açısından hayati önem taşımaktadır (Forst vd., 1997). Steinernematid ve Heterorhabditler ile onların bakteriyel simbiyontları, konukçularını o kadar hızlı öldürürler ki, diğer böcek-nematod enfeksiyonlarının tipik olarak oluşturduğu yakın, yüksek derecede uyumlu konukçu-parazit ilişkilerini geliştirememektedirler. Bu yüksek ölüm hızı, nematodların neredeyse tüm böcek takımlarından yararlanmasına olanak tanımakta ve bu etkinlik düzeyi diğer mikrobiyal kontrol ajanlarının çok ötesinde bir aktivite spektrumunu ifade etmektedir (Kaya ve Gaugler, 1993a; Riga, 2004).

Steinernema ve *Heterorhabditis* cinslerine bağlı türler genel olarak geniş bir konukçu aralığına sahip olmaktadır (Poinar ve Grewal, 2012). Örneğin; *Steinernema carpocapsae*, laboratuvar denemelerinde 11 takıma ait 75 familyadan 250 tür konukçuyu enfekte edebilirken, doğal yaşam alanlarında bu konukçu aralığı daha sınırlı olarak, 4 böcek takımından 10 familyayı kapsamaktadır. Bu konukçu türleri çoğunlukla Coleoptera (Curculionidae) ve Lepidoptera takımlarında bulunmaktadır (Peters, 1996). EPN'ler, konukçu aralıklarını büyük ölçüde etkileyen ve türlere göre değişkenlik gösteren, ambusher (Pusu kuranlar) ve cruiser (Aktif arayıcılar) olarak adlandırılan farklı konukçu arama stratejilerine adapte olmuşlardır (Lewis vd., 1992, 2006). Ambusher türler, (*S. carpocapsae* ve *S. scapterisci*) toprakta ve toprak yüzeyindeki, yoğun hareketli konukçuları hedef alan sedanter bir avlanma davranışı ile etkin olmaktadırlar. Bu türler vücutlarının neredeyse tamamını alt tabakadan kaldırarak "niktasyon" adı verilen bir hareket yapmaktadırlar. Bu hareket onları alt tabakada tutan yüzey gerilimi kuvvetlerini azaltır ve geçen böceklere tutunmasını sağlar. Niktasyon, düz hareketsiz davranıştan, alttan kısmi kaldırmaya ve ileri geri sallanmaya kadar birçok formda gerçekleşebilmektedir (J. F. Campbell ve Gaugler, 1993; Grewal vd., 1994; Kondo, 1990; Lewis, 2002). Cruiser olan türler ise (*S. glaseri*, *S. feltiae* ve *H. bacteriophora*) konukçularının sağladığı kimyasal uyarıcılara tepki vererek aktif şekilde arama davranışı gösterirler ve toprak profilinin daha derininde bulunan, hareketsiz ve seyrek dağılım gösteren konukçuları hedef almaktadırlar (Kaya ve Gaugler, 1993b). Geliştirmiş oldukları bu konukçu arama yetenekleri sayesinde biyolojik mücadelede etkin olan EPN'ler içerisindeki Heterorhabditler'in, konukçu aramada

Steinernematidlere göre daha başarılı oldukları da yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Choo vd., 1989).

EPN'ler laboratuvarda *in vivo* ya da *in vitro* olarak kolaylıkla kültüre alınmaktadır (Susurluk vd., 2013). EPN'lerin seri üretimi, Glaser (1940) tarafından ilk büyük ölçekli in vitro katı ortam üretiminden, Dutky ve arkadaşları (1964) tarafından in vivo üretime, Bedding (1981,1984) tarafından üç boyutlu katı ortam in vitro sürecine ve Friedman (1990) tarafından in vitro sıvı fermantasyon üretim yöntemine kadar gelişim göstermektedir (Devi, 2018; Ehlers, 2001; Shapiro-Ilan ve Gaugler, 2002). Her bir üretim şeklinin; üretim maliyeti, sermaye harcaması, gereken teknik uzmanlık seviyesi, üretim kapasitesi ve ürün kalitesine göre avantajları ve dezavantajları bulunmakla beraber tercih edilecek üretim yöntemi seçiminde bu parametreler dikkate alınmaktadır (El-Sadawy, 2015; Shapiro-Ilan ve Gaugler, 2002). EPN'lerin üretiminin ardından ticari uygulama amacıyla; kil, aktif kömür, sünger, vermikülit, turba, aljinat jelleri ve benzeri çeşitli taşıyıcılarla formüle edilmektedir. Etkili bir formülasyon, daha uzun raf ömrü, taşımadan uygulamaya kadar ürünün stabilitesini korumakta ve kullanım kolaylığı sağlamaktadır (Shapiro-Ilan vd., 2001). Günümüzde bazı ülkelerde EPN'lerin ticari formülasyonları üretilmekte olup, tarımsal üretimde zararlı olan böceklere karşı etkin biçimde kullanılmaktadır (Grewal ve Peters, 2005).

EPN'lerin biyoreaktörlerde uygun maliyetli seri üretim yetenekleriyle beraber (Lunau vd., 1993), geleneksel ilaçlama ekipmanları (Gan-Mor ve Matthews, 2003; Garcia vd., 2008; Susurluk ve Ehlers, 2008), yaygın olarak kullanılan damla sulama sistemleri ve gübreleme aletleri aracılığıyla da uygulanabilirliği olması (Campos-Herrera vd., 2022; Conner vd., 1998; Mason vd., 1998), yenilikçi formülasyon teknikleri ve uygulama metodolojileri sayesinde etkinliklerinin sadece toprak altında değil, aynı zamanda toprak üstündeki böcek zararlılarını da hedef alması (Mazurkiewicz vd., 2021; Platt vd., 2020; Şahin vd., 2018) gibi birçok avantajı bulunmaktadır. Ayrıca EPN'lerin çeşitli pestisitlerle uyumluluk sağlaması, bazı kombinasyonlarda sinerjistik etkiler geliştirebilmesi (Amizadeh vd., 2019; Yüksel vd., 2019) ve eş zamanlı uygulama ile zamandan tasarruf sağlanmasıyla birlikte uygulama maliyetleri azalması dikkate değer avantajlar sağlamaktadır.

EPN uygulamalarında kullanılan mevcut yöntemlerin olumlu sonuçlar göstermesine karşın, uygulama yöntemleri pratikte sınırlı olmaktadır. EPN'lerin üretim maliyetinin, düşük değerli ürünlerde kullanılması için fazla olması (De La Torre, 2003), raf ömrünün kısa olması, uygulamanın uzmanlık gerektirmesi, açık alanda sınırlı kullanım etkinliği ve kullanılan alanlarda EPN'lerin homojen dağılımının sağlanamaması gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Ulu ve Erdoğan, 2023). Bu nedenle EPN'lerin pestisitlerle aynı anda uygulanmaları konusunda araştırmalar yapılmaktadır.

EPN'lerin pestisitlerle olan etkileşimi uzun zamandır araştırmacıların ilgisini çekmektedir. İlk araştırmalar, o dönemde pestisit olarak yaygın olarak kullanılan organofosfor ve karbamat bileşiklerinin EPN'lerin gelişimi ve canlılığı üzerindeki etkilerini üzerine olmuştur. Bu çalışmaların sonucu olarak, pestisitler ile nematod türleri arasındaki uyumsuzluklar dikkat çekmiştir. Bu pestisitlerin, EPN'lerin hareketliliğini azalttığı (Ishibashi ve Takii, 1993), paralize neden olduğu hatta potansiyel olarak ölümlerine yol açtığı kabul edilmektedir (Hara ve Kaya, 1982, 1983). Takip eden yıllarda EPN'lerin kullanımı yaygınlaştıkça, akarisitlerin (Kary vd., 2021), herbisitlerin (Laznik ve Trdan, 2017), fungusitlerin (Ulu vd., 2016) ve diğer çeşitli insektisitler üzerinde (Koppenhöfer vd., 2003; Radová, 2011) de çalışmalar yapılmış ve bunun gibi çalışmalar devam etmektedir. Pestisitlerin nematodların canlılığı ve etkinliği üzerindeki etkilerinin yanı sıra pestisitlerle oluşturdukları sinerjistik etkileri de araştırmacıların dikkatini çekmiş ve bu konular üzerinde yeni araştırmalar yapılmaktadır (Özdemir vd., 2021).

Yapılan birçok çalışmada; pestisitlerin EPN'lerle birlikte kullanılabilirliği, onların canlılığı, üreme yetenekleri ve konukçu enfektivitesi üzerindeki etkileri ortaya koyulmuştur. Ancak pestisitlerin, EPN'lerin yönelim ve dağılım davranışı üzerine çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktır. Pestisit kullanılan üretim alanlarındaki nematodların bu kimyasallara göstereceği çekilme ve kaçış davranışları, EPN uygulamasının verimini etkileyeceği için oldukça önem arz etmektedir. Bu çalışmada, iki kollu olfaktometre kullanılarak, laboratuvar ortamında *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae) türüne ait HBH hibrit ırkının (Patent No: TR 2013

06141 B), ortamda çeşitli pestisitlerin varlığına karşı gösterdiği davranışların belirlenmesi amaçlamıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. EPN'lerin Konukçu Arama, Yönelim ve Dağılım Davranışları

Shapiro-Ilan vd., (2014) EPN'lerin doğuştan gelen grup hareketi davranışına olan eğilimini incelenmiştir. EPN'lerin grup halinde saldırıdan ve enfeksiyondan faydalandığı göz önüne alındığında, popülasyonların dışsal uyaranlar olmadan da toplu halde hareket etme eğiliminde olacağı hipotezi öne sürülmüştür. Altı nematod türü, iki cinste (*Heterorhabditis bacteriophora, H. indica, S. carpocapsae, S. feltiae, S. glaseri* ve *S. riobrave*) incelenmiştir. Nematodlar, belirli bir konuma uygulandığında veya nematodlar doğal olarak enfekte olmuş böcek konaklarından çıktığında, nematodların kumda hareket desenleri araştırılmıştır. Bulgular, nematod dağılımının rastgele veya düzgün bir dağılım yerine toplu bir model oluşturduğunu göstermiştir; tek istisna, doğrudan enfekte konukçulardan çıkan *S. glaseri* olmuştur. Grup hareketinin, başlangıç noktasından sürekli olabileceği gibi, kısa bir rastgele hareket döneminden sonra bir araya gelme eğiliminden kaynaklanmış olabileceği belirlenmiştir. Bu çalışma dış uyarıcı olmadan (böcek, başka bir biyotik veya abiyotik uyarıcı) EPN'lerde grup hareket davranışının ilk raporu olup, bu bulgular nematodların mekansal dağılımı üzerinde etkileri olduğunu ve grup davranışının nematod avcılığında rol oynadığını düşündürmektedir.

Susurluk vd., (2003) bu çalışmada iki farklı entomopatojen nematod izolatının (*H. bacteriophora* Tur-H2, *H. bacteriophora* TurH1) dikey yöndeki hareketleri laboratuvar koşullarında test edilmiş ve *H. bacteriophora* Tur-H2 ile *H. bacteriophora* Tur-H1'in *Galleria mellonella* larvasına doğru olan hareketleri arasında önemli bir fark olduğu bulunmuştur. Her iki izolat için de gerçekleşen en fazla nematod enfeksiyonu 3. günde gözlenmiştir. 25 ºC'de 24, 48, 72, 96, 118 ve 148 saat sonunda *G. mellonella* larvası içine giren *H. bacteriophora* Tur-H2 ve *H. bacteriophora* Tur-H1'in enfektif juvenilleri (IJs) kaydedilmiş ve larva içindeki IJ yüzdeleri verilmiştir. Buna göre; *H. bacteriophora* Tur-H2 icin: % 0.26, 3.20, 52.38, 12.52, 8.20 ve 3.73. *H. bacteriophora* Tur-H1 içinse: % 0.52, 3.28, 28.16, 4.34, 3.90 ve 1.82 sonuçları elde edilmiştir. İki nematod izolatı

aynı türe ait olmasına rağmen, aynı konukçuya karşı farklı etkinlikte arama davranışı göstermişlerdir.

Wu vd., (2018) üç entomopatojen nematodun (*S. carpocapsae, S. feltiae* ve *H. bacteriophora*) infektif juvenillerinin, EPN ile enfekte olmuş *G. mellonella* maseratının (macerate=parçalanmış kadavra) varlığında veya yokluğunda, dikey dağılımını ve enfektivitesini test etmiştir. Üç tür için de toprak sütunu yüzeyine uygulanan enfekte olmuş konukçu maseratı, yüksek sayıdaki IJ'lerin sütunun altına hareket etmesine neden olmuş, bu da konukçu cesedinin IJ'ler üzerinde dağılımı artırıcı bir etkisi olduğunu göstermiştir. Üç EPN arasında konukçu maseratına en duyarlı *H. bacteriophora* olmuş, onu *S. feltiae* takip etmiştir. En az tepki veren ise *S. carpocapsae* olmuştur. Ayrıca, *H. bacteriophora*'nın çok sayıdaki IJ'sinin, toprak sütunlarının altındaki *Tenebrio molitor*'u konukçu maseratı olmayan işleme göre daha çok enfekte ettiği belirtilmiş. Bu bulgular, üç EPN'nin hem dağılımının hem de/veya enfektivitesinin artırılmış olabileceğini ve bu durumun üstün biyolojik mücadele etkinliğine katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Kin vd., (2019) yaptıkları çalışmada beş farklı EPN türünün (*S. carpocapsae* (All), *S. feltiae* (Strain SN), *S. glaseri* (Strain NC), *S. riobrave* (strain TX-355), ve *H. indica* (Strain Hom-1) kullanıldığı bu çalışmada, EPN ile enfekte olmuş, kaynakları tükenmiş böcek kadavralarıyla ilişkilendirilen basit bir izoprenoid ve doğal bir alkol olan prenolün kokusunun EPN'lerin dağılma davranışında rol oynadığı tahmin edilmiştir. Bu hipotez, beş farklı EPN türünün hem distal-kemotaktik bir işaret hem de bir dağılma işareti olarak prenole verdiği davranışsal tepkiler değerlendirilerek test edilmiştir. Sonuçlar, prenolün test edilen beş türün tamamı için itici bir madde olarak hareket ettiğini, yalnızca iki türün ise prenol'e bir dağılma işareti olarak yanıt verdiğini göstermektedir. Buna bağlı olarak, prenol'ün EPN'lerin dağılım davranışlarını etkileyen kimyasal bir sinyal olabileceği ortaya konulmuştur.

Grewal vd., (1993) entomopatojen nematodların dört türünün, doğal veya deneysel konukçuların dışkılarıyla temas sırasında sergilediği davranışsal tepkileri analiz edilmiştir. Nematodların konukçuları tanıma şekli, bir veya daha fazla arama

parametresinin (ileri sürünme, baş sallama, vücut sallama, durma, geri sürünme, baş ovma ve baş vurma) frekansı ve/veya süresindeki değişikliklerle kendini göstermiştir. *H. bacteriophora* ve *S. glaseri,* doğal konukçuları olan *Spodoptera exigua* (Lepidoptera) *ve Popillia japonica* (Coleoptera) ile, ayrıca deneysel konukçu olarak kullanılan *Acheata domesticus* (Orthoptera) ve *Blatella germanica* (Blatteria) ile temas sonrasında davranışsal tepkiler göstermiştir. *S. carpocapsae* sadece *B. germanica* dışkısına tepki gösterirken, *S. scapterisci* hiçbir böcek türüne anlamlı bir tepki göstermemiştir. Hamam böceği dışkısı ile temas sırasında, *S. scapterisci* dışında tüm nematodlar kaçınma davranışı sergilemiştir. Buna göre, hamam böceği dışkısında bulunan amonyakın nematodlar üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu öne sürülmüştür. Entomopatojen nematodların spesifik konukçu tanıma davranışları, konukçularıyla olan ilişkilerini sürdürmek için önemli bir mekanizma olabileceği belirtilmiştir.

Azazy vd., (2014) yaptığı çalışmada, Heterorhabditis (*H. bacteriophora, H. taysearae*) ve Steinernema (*S. carpocapsae, S. glaseri, S. carpocapsae agroitis*) familyalarına ait beş entomopatojen nematod türü kullanılmıştır. Laboratuvar koşullarında, 20 cm uzunluğunda ve 4 cm genişliğindeki plastik tüpler içerisine, %10 nem oranında kumlu toprak sütunu oluşturulmuştur. Bu toprak sütunu içerisine *G. mellonella*'nın tam gelişmiş larvaları, *S. littoralis*'in 6. dönem larvaları veya *S. littoralis*'in dışkıları yem olarak eklenmiştir. Plastik tüpler, nematod uygulamasından önce, böceklerden ve dışkılardan kum sütunu boyunca yayılan difüzyonun dengelenmesine izin vermek amacıyla 25±1°C'de karanlıkta 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra farklı kombinasyonlarda yapılan denemelerle IJ'lerin göçü ve dağılımı incelenmiştir. Çalışma sonuçları, göç ve dağılımın çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu faktörler arasında *G. mellonella* ve *S. littoralis* konukçularının varlığı, böcek dışkısı, nematisit (Nemacur) kullanımı ve konukçu türlerinin varlığı veya yokluğu bulunmaktadır. Nematisitin (Nemacur), hareketliliğinde dikkate değer bir inhibisyonun açıkça gözlemlendiği *Steinernema glaseri* türü hariç, test edilen tüm nematod türlerinin göçünü ve ortalama net mesafesini iyileştirdiği görülmüştür. *S. littoralis*'in dışkısı ise EPN'lerin göç oranını ve dağılımını konukçunun kendisinden daha fazla arttırmıştır. Ayrıca, çoğu nematod suşunun, *G. mellonella* larvalarından ziyade *S. littoralis* tarafından daha fazla etkilendiği belirlenmiştir.

2.2. EPN’lerin Pestisitlerle Uyumluluğu

Özdemir vd., (2020) yaptığı çalışmada Türkiye'de sebze tarımında kayıtlı altı kimyasal pestisitin, *S. feltiae* ve *H. bacteriophora* gibi entomopatojen nematodların Türk izolatlarıyla uyumluluğu araştırılmıştır. Pestisitlere maruz bırakılan EPN'lerin ölümleri, etkinlik ve üreme kapasiteleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada İmidacloprid ve Siflumetofen'in EPN'lerin hayatta kalma, enfektivite ve üreme oranları üzerinde olumsuz bir etki göstermediği ve buna bağlı olarak EPN’lerle uyumlu pestisitler olarak düşünülebileceğini göstermiştir. Çalışmada kullanılmış fungisitler olan Fluksapiroksad + Difenoconazole ve Ametoktradin + Dimetomorf, *S. feltiae* üzerinde önemli ölüm oranlarına neden olmuştur. Bununla beraber sadece Fluksapiroksad + Difenoconazole, *H. bacteriophora*'nın hayatta kalması üzerinde negatif bir etki göstermiştir. Spiromesifen, Spinosad ve Fluksapiroksad + Difenoconazole ile muamele edilen *H. bacteriophora*'nın üreme kapasitesi önemli ölçüde düşük olsa da test edilen pestisitler arasında *S. feltiae*'nin nesil üretimi üzerinde olumsuz bir etki gözlemlenmemiştir. Bu çalışmada, Cyflumetofen, Fluksapiroksad + Difenoconazole ve Ametoktradin + Dimetomorf'un EPN'lerle uyumluluğu ilk kez raporlanmıştır.

Kwizera ve Susurluk, (2017) neonicotinoid grubuna ait iki insektisitin (Acetamiprid ve İmidacloprid) iki EPN türü (*S. carpocapsae* ve *S. feltiae*) üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen çalışmada EPN türlerinin ölüm oranları, uygulamadan sonraki 24, 48 ve 96. saatte ölçülmüştür. Neonicotinoid insektisitlerin EPN'lerle olan uyumluluğundan ilham alınarak, bu insektisitlerin EPN'ler üzerindeki doğrudan etkileri değerlendirilmiştir. Bulguların karşılaştırılmasıyla Acetamiprid’in, İmidacloprid’e kıyasla daha yüksek bir ölüm oranına neden olduğu gözlemlenmiştir. Aynı zamanda bu sonuçlar, Koppenhöfer vd., (2003) yaptığı çalışmayla raporladığı gibi İmidacloprid’in, Acetamiprid’e göre EPN’lerle daha yüksek uyumluluk sağladığını doğrulamıştır.

Bajc vd., (2017) dört farklı EPN türünün (*S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* ve *H. bacteriophora*) beş farklı akarisite (Clofentezine, Spirodiclofen, Tebufenpyrad,

Fenpyroximate, Abamectin + Pyrethrin) karşı laboratuvar koşullarında uyumluluğunu incelemiştir. Laboratuvar araştırması sonuçları, *H. bacteriophora*'nın en toleranslı EPN türü olduğunu göstermiş ve en duyarlı türün *S. feltiae* olduğunu ortaya koymuştur. Gözlemler, *S. feltiae*'nin sadece iki akarisit ile karıştırılabileceğini göstermiştir. EPN ile karıştırılması için en uygun olanı Fenpyroximate olurken, yalnızca 25°C'de *S. feltiae* için (%44 ölüm) ölümcül olmuştur. En yüksek ölüm oranı ise Abamectin ve Pyrethrin içeren akarisitte gözlemlenmiştir. EPN'nin ölüm oranı, tür, maruz kalma süresi, etken madde ve sıcaklık tarafından etkilenmiştir. EPN ve akarisitlerin birlikte kullanımı, entegre mücadele programlarında avantaj sağlayacağı düşünülmüştür.

Meyer vd., (2012) aktif bileşeni Azadirachtin olan NeemAzal-U insektisinin *H. bacteriophora* ve bitki paraziti nematod *Meloidogyne incognita* üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Nematodlar farklı konsantrasyonlardaki NeemAzal-U (0.06%, 0.3% ve 0.6%) ve kontrol formülasyonuyla ayrı ayrı muamele edilmiştir. Her iki nematod türü de NeemAzal-U'ya 14 gün boyunca doğrudan maruz bırakıldığında, *H. bacteriophora* için %14 ve *M. incognita* için %44.5 oranında ölümler meydana gelmiştir. *H. bacteriophora*, farklı NeemAzal-U çözeltilerinde veya suda tutulduğunda, *G. mellonella* larvalarını parazitleme verimliliklerinde farklılık göstermemiştir. Ancak, *M. incognita*'nın enfeksiyon oranı neem konsantrasyonu arttıkça azalmış ve en yüksek neem konsantrasyonuyla %88'e varan bir ur oluşumunda azalma kaydedilmiştir. Larva enfeksiyonu için kullanılan neem ile muamele edilen IJ'lerin, larva başına üretilen *H. bacteriophora*'nın infektif juvenil sayısını etkilemediği görülmüştür. Bunun aksine, en yüksek neem konsantrasyonu, su kullanılan kontrole göre, *M. incognita* juvenilinin çıkışını %85 azaltmış ve ölüm oranında %68 artış sağlamıştır. Sonuç olarak; NeemAzal-U'nun EPN'ler ile, üzerinde olumsuz etkisi olmadan kullanılabileceği ve ayrıca yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında *M. incognita*'nın kontrolüne katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır.

Laznik ve Trdan, (2017) Dört farklı EPN türünün (*S. feltiae, S. kraussei, S. carpocapsae* ve *H. bacteriophora*) infektif juvenil (IJ) larvalarının, sekiz kimyasal herbisite; Linuron, Glufosinate-ammonium, Glyphosate, 2,4-D, Metazachlor, Oxyfluorfen, Diquat dibromide, Metribuzin) maruz kalma sonrasındaki hayatta kalma oranları belirlenmiştir.

IJ'lerin herbisitlere doğrudan maruz kalma etkisi 1, 4 ve 24 saat boyunca Petri kabında 15, 20 ve 25 derece sıcaklıkta test edilmiştir. Çalışmada, test edilen EPN türleri arasında en toleranslı olanın *S. kraussei* olduğunu görülmüş, *S. carpocapsae*'nin ise tüm herbisitlere en duyarlı olanı ortaya koymuştur. IJ'lerin en düşük ölüm oranı 15 derecede (%19) elde edilmiştir. Bulgular, genel olarak herbisitlerin EPN hayatta kalımını olumsuz etkilediğini göstermiş, uyumluluğun tür spesifik bir özellik olduğunu ve sıcaklık ile maruz kalma süresinden etkilendiğini doğrulamıştır.

2.3. EPN'lerin Pestisitlere Karşı Yönelim Davranışları

Patel ve Wright, (1996) bitki paraziti nematodlara karşı yaygın olarak kullanılan nöroaktif pestisitler olan Oxamyl ve Fenamiphos'un, entomopatojen nematod türleri *S. carpocapsae* ve *S. feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae)'nin enfektif juvenillerinin (IJ) davranışları ve enfektiviteleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Oxamyl, başlangıçta *S. feltiae*'de sinüzoidal olmayan hareketi artırmış, ancak *S. carpocapsae*'nin IJ'leri üzerinde belirgin bir etkisi olmamıştır. Fenamiphos ise 48 saatlik bir gözlem süresi boyunca her iki türde de sinüzoidal olmayan hareketi artırmıştır. Her iki pestisit de kontrollerle karşılaştırıldığında, her iki nematod türünün *G. mellonella*'nın geç dönem larvalarına karşı enfektivitesini azaltmıştır. *S. feltiae*'nin enfekte juvenilleri kum yüzeyinde sınırlı vücut sallama davranışı gösterirken, *S. carpocapsae* vücut sallama, sabit düz duruşlar ve sıçrama dahil olmak üzere tüm niktasyon hareketlerini göstermiştir. Oxamyl'in *S. carpocapsae*'nin niktasyon yapan IJ'lerinin sayısı üzerinde, IJ'lerin 24 saat boyunca bu bileşikle ön inkübasyona tabi tutulduğu durumlar haricinde önemli bir etkisi olmamıştır. Fenamiphos, her iki türde de tüm niktasyon ve vücut sallama davranışlarını tamamen bastırmıştır. Filtre kâğıdı biyo-tahlilinde 12 saat boyunca geç dönem *G. mellonella*'ya maruz bırakılan *S. carpocapsae*'nin nictating IJ'lerinin, nictating olmayan IJ'lere kıyasla daha enfektif olduğu bulunmuştur. *S. carpocapsae*'nin IJ'lerinin oxamyl ile muamele edilmesi, kontrollere kıyasla nictating olmayan IJ'lerin enfektivitesini artırmış, ancak 12 saat boyunca *G. mellonella*'ya maruz bırakıldığında niktasyon yapan IJ'lerin enfektivitesini azaltmıştır

Ulu, (2023) bu çalışmada, beş pestisitin (Deltamethrin, İmidacloprid, Pendimetalin, 2,4-D ve Boscalid + Pyraclostrobin) üç ticari EPN türünün (*S. feltiae, S. carpocapsae, H. bacteriophora*) yönelim davranışını nasıl etkilediği araştırılmıştır. EPN'lerin yayılma oranları çelik olfaktometrelerde gerçekleştirilen ve 24 saatlik inkübasyon sonrasında belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan neredeyse tüm pestisitler EPN yayılımı üzerinde önemli etki göstermiştir. Denemelerde tespit edilen en dikkat çekici sonuçlar olan 2,4-D ve İmidacloprid uygulamalarının, EPN türüne göre hem itici hem de çekici etkileri bulunmuştur. Diğer pestisitlerin etkileri ise daha sınırlı kalmıştır. Tüm EPN türleri, kontrol uygulamasına kıyasla larvalara daha yüksek yönelim göstermiştir. Sonuçlar, EPN türlerine ve pestisitlere bağlı olarak yayılma oranlarında farklılıklar olduğunu göstermiştir.

Ishibashi ve Takii, (1993) *S. carpocapsae* türünün ait kılıflı (EnJ) ve kılıfsız (DeJ) infektif juvenillerin, Acephate, Dichlorvos, Methomyl, Oxamyl veya Permethrin insektisitlerine maruz kalması durumunda hareket, niktasyon ve enfektivite özellikleri karşılaştırılmıştır. Nematodların çeşitli çözeltilere tepkisi, normal sinüzoidal hareket, uyumsuz hareket, seğirmeler, kasılma veya halka şekli oluşturma, inaktif "S" duruşu ile ince seğirmeler veya durgun düz bir duruş şeklinde gözlemlenmiştir. Her insektisit uygulamasında; DeJ'ler bu hareketleri EnJ'den daha düşük konsantrasyonlarda sergilemiştir. Petri kabı analizlerinde, insektisit ile muamele edilen EnJ'ler, tek başına uygulanan ENJ'lere kıyasla *S. litura* üzerinde genellikle daha düşük ölüm oranlarına karşın tek başına uygulanan EnJ'ler insektisitlere oranla daha yüksek ölüm oranlarına sebep olmuştur. Nematodların kimyasallara tepkisi, biyoanalizlerde niktasyon davranışıyla nematodların hareketlerinden daha net bir şekilde gösterilmiştir. Acephate ve Permehtrin haricinde düşük konsantrasyonlardaki test kimyasalları DeJ'nin niktasyon davranışını bastırılmıştır. Kimyasallardan bağımsız olarak niktasyon yapan EnJ veya DeJ'nin, kimyasal muamele görmemiş juvenillere kıyasla konukçularını daha hızlı öldürmüştür. Belirli konsantrasyonlarda niktasyon davranışını arttıran insektisitler ile nematodlarla karışık uygulamalar için kullanılabileceği tahmin edilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 Çalışmada kullanılan *Heterorhabditis bacteriophora* Irkı

Çalışmada, *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae) türüne ait HBH hibrit ırkı kullanılmıştır. Bu hibrit ırk, Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Nematoloji Laboratuvarı'nda 2010-2013 yılları arasında yürütülen bir TÜBİTAK projesi (TOVAG 110O161) kapsamında elde edilmiştir. 2018 yılında Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından patentlenen (Patent No: TR 2013 06141 B) bu tür, Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden elde edilen çeşitli *H. bacteriophora* izolatları, üstün özelliklere sahip bir HBH hibrit ırkı oluşturmak için birleştirilmiş ve bu hibrit ırk, yüksek üreme kapasitesi, yüksek sıcaklığa dayanıklılık ve etkinlik gibi özelliklere sahip olmaktadır. Bunlara ek olarak, dünya genelinde yaygın bir EPN türü olması ve ülkemize uyum sağlamış izolatlar kullanılarak elde edilmesi nedeniyle bu hibrit ırkın ticari üretimi gelecekte artacağı düşünülmekte ve bu nedenle HBH hibrit ırkı, ülkemiz için potansiyel bir ticari ırk olarak seçilmiştir.

3.1.2. *Galleria mellonella* Larvaları

Bu çalışmada, arı kovanlarındaki peteklere önemli ölçüde zarar veren Petek güvesi ya da büyük balmumu güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* L.'nın (Lepidoptera: Pyralidae) son dönem larvaları canlı materyal olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1 A). Laboratuvar şartlarında yapay diyetlerle kolaylıkla yetiştirilebilmesi, üreme potansiyelinin yüksek olması, EPN'lere karşı duyarlı olması gibi nedenlerden in vivo üretimde en yaygın şekilde tercih edilen konukçu olmaktadırlar (Kaya ve Stock, 1997; Shapiro-Ilan ve Gaugler, 2002).

3.1.3. Kullanılan Pestisitler

Çalışmada kullanılacak pestisitler, ülkemizde de yaygın olarak kullanılan ve arazi şartlarında EPN'lerle temas etme olasılığı yüksek olan pestisitlerden seçilmiştir. Ayrıca tercih yapılırken farklı tipte, kimyasal grupta, etki mekanizmasında ve formülasyon tiplerinde olmasına dikkat edilmiştir. Kullanılacak dozlar ise ruhsatlı en yüksek arazi dozları olacak şekilde belirlenmiştir (Çizelge 3.1).

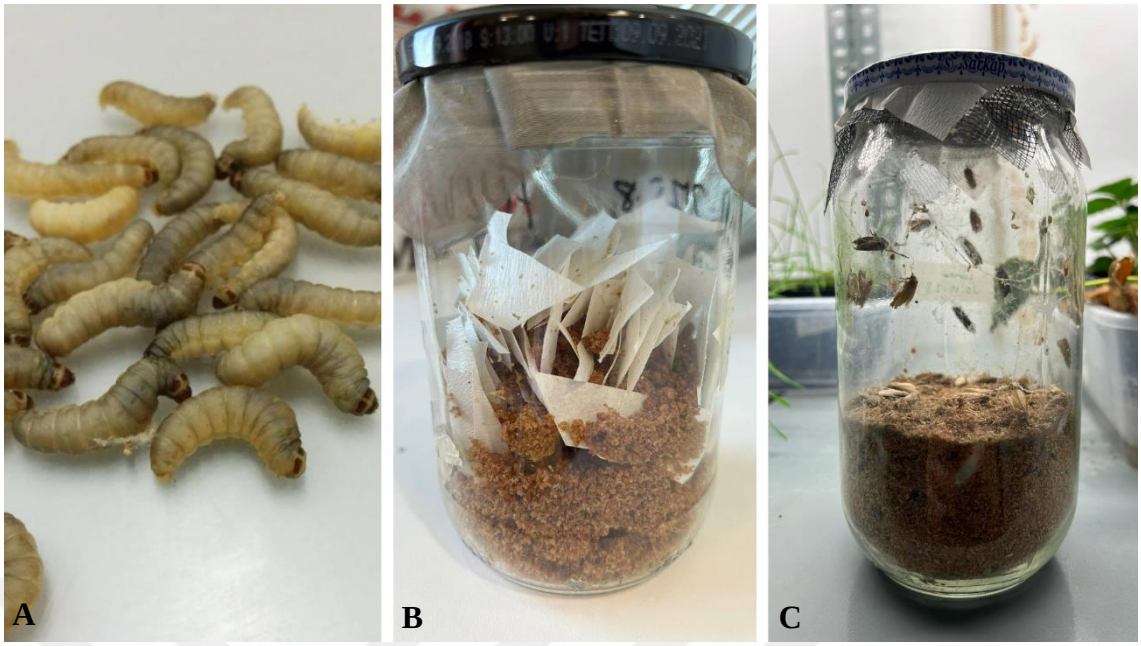
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan pestisitler

Ticari isim ve Formülasyon	Tip	Aktif madde	Kimyasal grup	Etki mekanizması	En yüksek arazi dozu
Nariv 25, EC	İnsektisit	Cypermethrin	Pyrethroidler-Pyrethrinler	Sodyum Kanalı Düzenleyicisi	80ml/100L
Miralav 100, SC	İnsektisit	Spirotetramat	Tetronik ve Tetramik Asit türevleri	Asetil koenzim A karboksilaz engelleyiciler	100ml/100L
Asist 10, EC	İnsektisit	Pyriproxyfen	Pyriproxyfen	Jüvenil hormon reseptör düzenleyici	50ml/100L
Bisect 20, SC	İnsektisit	Chlorantraniliprole	Diamidler	Ryanodin reseptörü düzenleyici	20ml/100L
Agnoround 480, SL	Herbisit	Glyphosate	Glycine	ESPS engelleyici	1000ml/100L
Alfosetil 80, WP	Fungusit	Fosetyl-Al	Ethyl phosphonatler	Savunma sistemi indükleyici	400g/100L
Magical 250, EC	Fungusit	Difenoconazole	Triazoller	Sterol biyosentezi engelleyici	30ml/100L
SİM Captan 50, WP	Fungusit	Captan	Phthalimidler	Çok yer engelleyici	350g/100L

3.2. Yöntem

3.2.1 *Galleria mellonella* Larvalarının Üretimi ve Beslenmesi

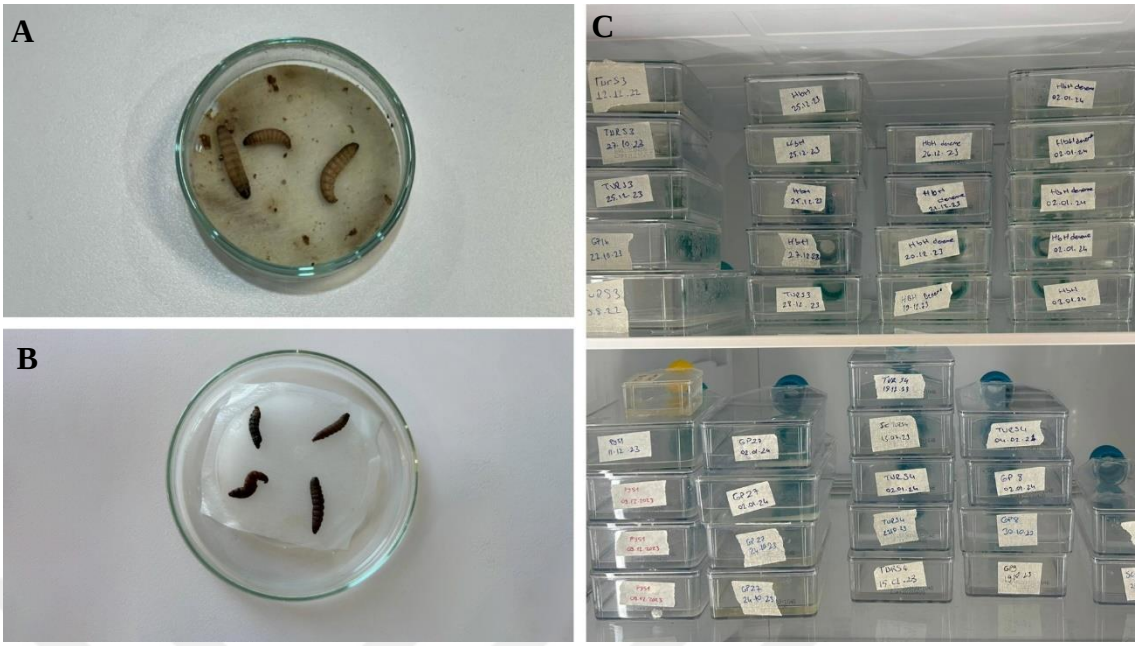
Larvaların beslendiği yapay yem; 200 g bal, 200 g gliserin, 200g kepek, 150 g mısır unu, 100 g soya unu, 100 g süt tozundan ve 50 g mayadan oluşmaktadır (Wiesner, 1993). İlk olarak kepek, mısır unu, soya unu ve süt tozu büyük bir kapta karıştırılmıştır. Daha sonra 200 ºC'ye ulaşan hot-plate üzerindeki tencereye ilk olarak gliserin ve bal konularak kaynayana dek karıştırılırmıştır. Kaynadıktan sonra üzerine maya ilave edilerek iyice erimesi ve köpürmesi sağlanmıştır. Daha sonra diğer malzemeler de yavaş yavaş eklenerek karıştırılmış ve hazır olması için soğumaya bırakılmıştır. Cam kavanozlar içerisine ilk olarak hazırlanan yapay yemden bir miktar konulmuş ve *G. mellonella* yumurtalarının bulunduğu filtre kâğıdı bu yemin üzerine dikkatlice yerleştirilmiştir (Şekil 3.1 B). Cam kavanozların üzeri delikli tel örtü ile kapatılarak, 30±2 ºC'ye ayarlanmış etüv içerisine konulmuştur. Yumurtaların açılmasından sonra ortamdaki yem ile beslenen larvalar yaklaşık 4 hafta içerisinde olgun larva haline gelmektedirler. Elde edilen larvalar in vivo yöntem ile EPN üretmek amacıyla ayrı kültürlere alınmıştır. Üretimin sürdürebilirliği açısından bazı larvaların pupa ve bunu takip eden ergin döneme geçmesine izin verilerek yumurta bırakmaları sağlanmıştır (Şekil 3.1 C). *G. mellonella* türünün yumurta bırakması için belirlenen optimum sıcaklık 30°C olarak bildirilmiş olup, düşük sıcaklıklarda metabolizmanın dişilerin tam potansiyeline ulaşamayacakları bir hızda yavaşladığı ortaya konulmuştur. Daha yüksek sıcaklıklarda ise, özellikle 40°C'de dişilerin potansiyellerine ulaşmadan önce öldüğü tespit edilmiştir (B. Campbell vd., 1975).



Şekil 3.1. *G. mellonella* larvalarının üretimi **A)** Son dönem larvalar **B)** Yapay besin bulunan ortama yumurtaların koyulması **C)** *G. mellonella* pupaları ve üretimin devamı için ergin döneme geçmesine izin verilen bireyler

3.2.2. Larvaların Enfeksiyonu

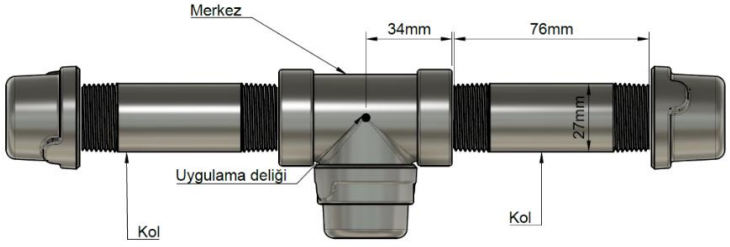
Cam petriler içerisine, tabanına ortam nemini tutması için gerekli nemli filtre kâğıdı koyulduktan sonra yerleştirilen *G. mellonella* larvalarına pipet yardımıyla EPN'ler uygulanarak enfeksiyon yapılmıştır (Şekil 3.2 A). Larva başına yaklaşık 100 IJ/ml dozunda uygulama yapılmıştır. Takip eden günlerde larvaların ölümleri kontrol edilerek, ölenler White Trap olarak adlandırılan; Ringer solüsyonu (9.0 g NaCl, 0.42 g KCl, 0.37 g $CaCl_2$ * 2 H_2O, 0.2 g $NaHCO_3$, 1L distile su) içeren daha büyük bir petri kabında tutulan ters bir petri kabı kapağındaki emici bir substrat yüzeyinin (nemli filtre kâğıdı) üzerine kadavralar alınmıştır (Şekil 3.2 B). Kullanılan Ringer solüsyonu kültürlerin bulaşma olmasını veya saprofit mikroorganizma gelişmesini engellemektedir. Uygulamadan sonraki 2 hafta içerisinde tükenen kadavradan dışarıya çıkan IJ'ler, White Trap içerisindeki petri kabını çevreleyen Ringer solüsyonuna geçiş yapmakta ve burada birikmektedirler. Daha sonra IJ'ler buradan mikropipet yardımıyla toplanmakta ve tekrardan içerisinde Ringer solüsyonu bulunan, oksijen giriş çıkışı olan kültür kapları içerisine aktarılmaktadır. Bu kaplar +4 ºC'de buzdolabında muhafaza edilmektedirler (Şekil 3.2 C).



Şekil 3.2. *H. bacteriophora*'nın in vivo ortamda üretimi **A)** Petrideki enfekte edilmiş *G. mellonella* larvaları **B)** White Trap'e alınan enfekte *G. mellonella* kadavraları **C)** +4 ºC'de buzdolabında muhafaza edilen EPN kültürleri

3.2.3. Olfaktometrelerin Kurulumu

EPN'lerin davranışsal hareketlerini gözlemlemek için orijinal olarak üretilen olfaktometreler kullanılmıştır. Paslanmaz çelikten oluşan bu olfaktometreler, kollar ve merkezden oluşan temel bileşenlere sahiptir. Merkez bileşende IJ'lerin sisteme girişini sağlayacak olan uygulama deliği bulunmaktadır. Tasarım her bir olfaktometreye üç kola kadar takılmasına izin verirken bu çalışmada iki kol konfigürasyonu kullanılmıştır. Geriye kalan diğer bir kol soketi çelik bir altıgen kör tapa ile kapatılmıştır (Şekil 3.3). Olfaktometrenin yaklaşık çapı 2,5 cm ve merkezi uygulama deliğinden kolun sonuna kadar olan uzunluğu yaklaşık 10 cm'dir (Şekil 3.4 A).



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan olfaktometre düzeneğinin çizimi

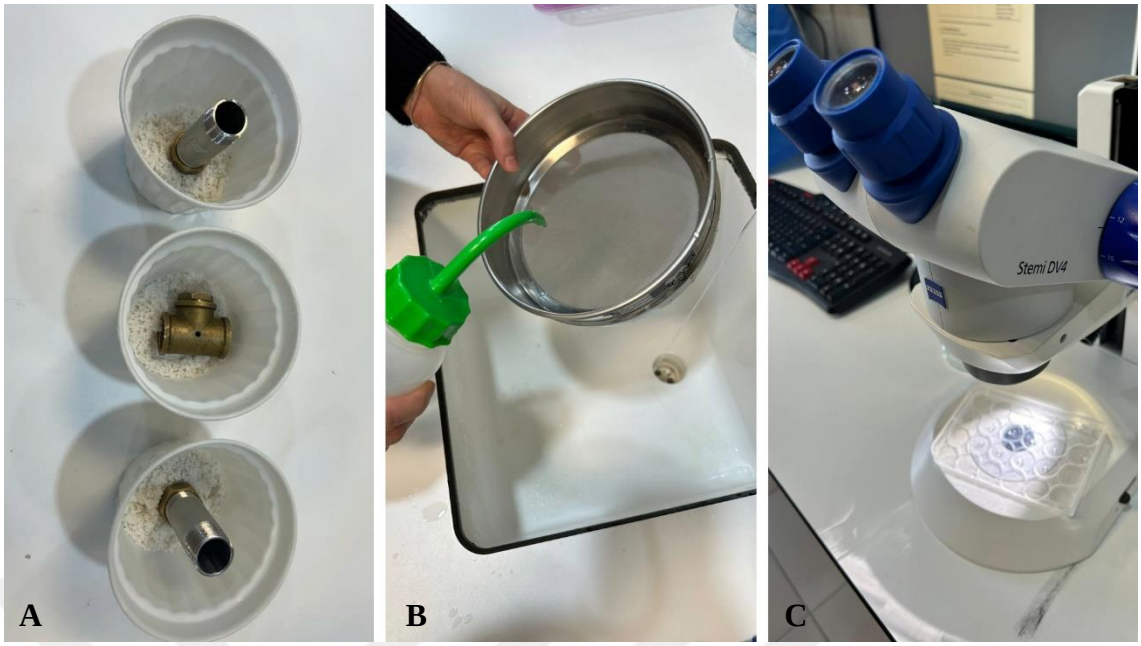
Olfaktometrelerin içi 250 mikron çapında, kimyasal olarak inert olan tozsuz silika kumları ile doldurulmuştur. Her bir kol için 40-45gr, merkez bileşen için 18-20gr olarak belirlenmiş olan miktarlardaki silis kumu EPN'lerin hareketi için gereken %10 oranında nem olacak şekilde hazırlanmıştır (Rasmann ve Turlings, 2008). Negatif kontrol olarak olfaktometrenin her iki kolu da yalnızca musluk suyu ile nemlendirilmiş kumla doldurulmuştur. Negatif kontrol haricinde EPN'lerin hareketini arttırdığı bilinen *G. mellonella* larvasının bulunduğu uygulama grubu da çalışmaya eklenmiştir. Larvalı uygulamada her iki kolu da musluk suyu ile nemlendirilmiş kumla doldurulan olfaktometrenin bir koluna larva koyulmuştur. Ayrıca bu larvanın hareketinin engellenmesi için sık örülmüş çelik tel kullanılmıştır. Pestisitlerin uygulandığı uygulamalarda bir koldaki kum içeriğinin nemlendirme uygulaması su ile yapılırken diğer kola uygulanacak olan kum aynı oranda pestisit ile münavebe edilerek olfaktometrelere doldurulmuştur (Şekil 3.4 B). Nematodların davranışları ile ilgili olan bu çalışmada, onların yönelimlerini ortaya koymak için uygulanacak olan IJ sayısını bilmek büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle kültür kaplarındaki IJ'lerin sayısını bilmek için sayım işlemi ve buna bağlı olarak dozaj belirleme işlemi yapılmıştır. Mikropipet ile şişeden alınan 20µl sıvı, sayım kabına aktarıldıktan sonra stereo mikroskop altında IJ'lerin sayımı yapılmıştır. 10 kere tekrarlanan bu işlem sonucundaki sayıların ortalamaları alınarak 20µl dozdaki IJ'lerin yaklaşık değerdeki sayıları belirlenmiş ve kültür kaplarının üzerine yazılmıştır. Daha sonra kurulan olfaktometrelerin merkezindeki uygulama deliğinden pipet yardımı ile yaklaşık 5000 adet IJ uygulanmıştır (Şekil 3.4 C). Uygulama sonrasında delik parafilm ile kapatıldıktan sonra üzerine tarih ve uygulanan pestisitin adı yazılıp, 24°C sıcaklıkta 24 saat boyunca inkübe edilmiştir.



Şekil 3.4 Olfaktometrelerin kurulumu **A)** Kurulumu tamamlanmış olfaktometre **B)** Olfaktometre içerisine doldurulmuş nemli kum içeriği **C)** Merkezdeki uygulama deliğinden sisteme IJ'lerin uygulanması

3.2.4. İnkübasyon Sonrası EPN'lerin Sayımı

24 saat geçtikten sonra olfaktometrelerin kolları ve merkez bileşeni içerisindeki kumlar ayrı kaplara konulmuştur (Şekil 3.5 A). Üzerine su eklenip hafifçe karıştırılarak kumdaki nematodların suya geçmesi sağlanmıştır. Nematodlu su içeriği 25 mikronluk bir analiz eleği yardımıyla süzülmüştür (Şekil 3.5 B). Eleğin üzerinde kalan nematodlar behere alınmıştır. Beherdeki nematodlu su içeriği 20ml'e tamamlandıktan sonra mikropipet aracılığıyla 20µl örnek çekilerek sayım kabına aktarılmıştır ve stereo mikroskop altında IJ'lerin sayımı yapılmıştır (Şekil 3.5. C). 10 kere tekrarlanan bu işlem sonucundaki sayıların ortalamaları alınarak beherdeki miktara oranlanarak her bir koldaki veya merkez bileşen içerisindeki nematod sayısı belirlenmiştir.



Şekil 3.5. Olfaktometrelerdeki IJ'leri sayım işlemi **A)** Sayım öncesi kolların içerisindeki kumların boşaltılması **B)** Nematodların analiz eleği yardımıyla ayrılması **C)** Stereo mikroskop altında IJ'lerin sayımı

3.2.5. İstatistiksel Analiz

Uygulamaların genel yayılım oranlarının karşılaştırılmasında varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farkların ortaya çıkartılmasında Dunnett's çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır. Denemelerde uygulama gruplarının fazla olmasından dolayı özellikle post-hoc testlerinde alfa hatasının artışı (alpha-inflation) yaşanmakta ve tip 1 hata yapma şansı artmaktadır. Bu nedenle sadece kontrol grubuyla karşılaştırma yapan ve tip 1 hata oranını belli bir seviyenin altında tutan Dunnett's çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

Her uygulama grubunun kendi içerisindeki ikili tercih (dual choice) karşılaştırılmasında ise ki-kare uyum iyiliği (goodness-of-fit) testi kullanılmış ve uygulamalar 50:50 dağılım göstermesi beklenen teorik bir popülasyon ile karşılaştırılmıştır. Benzer karşılaştırma kontrol uygulaması (Boş kol x boş kol) için de yapılmış ve istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. Bu sonuç da ortamda herhangi bir uyarıcı bulunmadığında nematodların beklendiği şekilde 50:50 oranında yayılım gösterdiğini kanıtlamıştır. Tüm

analizler alfa 0,05 seviyesinde gerçekleştirilmiş ve tüm analizler Graphpad Prism v10.0 yazılımında yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Sonuçların değerlendirilmesinde ilk olarak her olfaktometredeki her iki kola da giden IJ'lerin olfaktometrelerde bulunan toplam IJ'lere oranı, yani genel yayılım oranları belirlenmiştir. İkinci olarak ise her bir uygulamanın kendi içerisinde ikili tercih (Dual choice) oranları hesaplanarak itme veya çekme hareketi tespit edilmeye çalışılmıştır.

4.1 Genel Yayılım Oranları

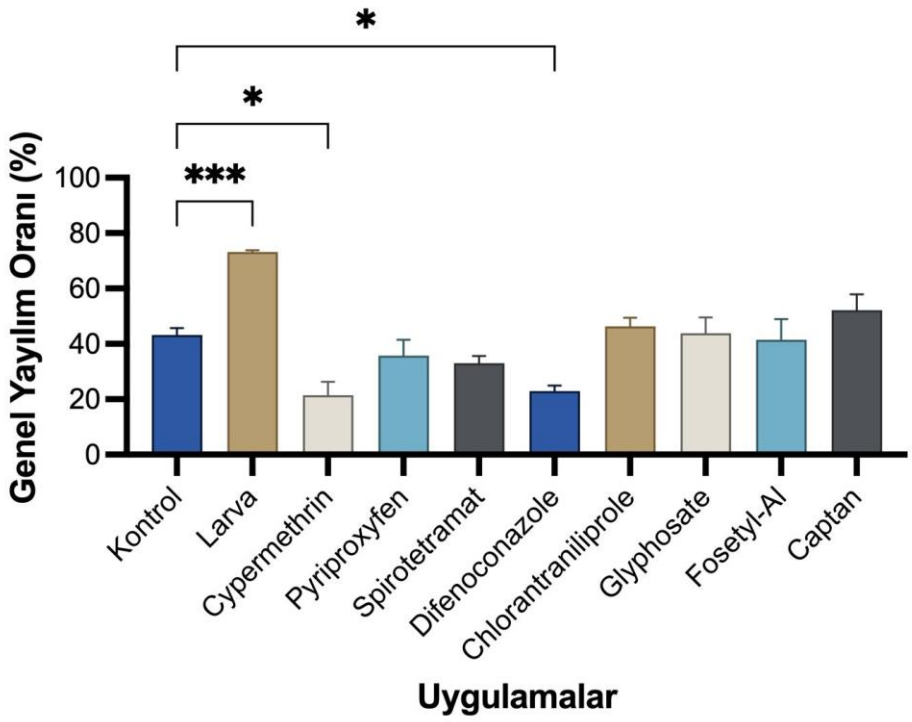
Tüm uygulamaların genel yayılım oranlarına bakıldığında (her iki koldaki toplam nematod oranı) uygulamalar arası istatistiksel fark olduğu tespit edilmiştir ($F(9, 40) = 10.8$ $P<0.0001$) (Şekil 4.1).

Larva kullanılan grupta, kontrol grubuna göre olfaktometrelerdeki genel yayılım oranı daha fazla olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda genel yayılım oranı %43,2 iken larvalı gruptaki genel yayılım oranı %73,1 olarak belirlenmiştir ve bu iki uygulama grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir. Boff vd., (2001) tarafından yapılan çalışmada belirtildiği gibi IJ'lerin *G. mellonella* larvalarına doğrudan yönelim sağladığı ve bu yönelimin larvanın salgıladığı kokularla ilgili olduğu bilinmektedir. Bu tez çalışmasında da IJ'lerin larvalı uygulamada yayılım oranının daha fazla olduğu belirlenmiş ve literatür ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Cypermethrin uygulanan olfaktometrelerdeki genel yayılım oranı kontrol grubuna kıyasla azaldığı belirlenmiştir. Cypermethrin bulunan olfaktometrede genel yayılım oranı neredeyse yarı yarıya düşmüş ve %21,5 olarak bulunmuştur. Elde edilen verilere göre kıyaslanan kontrol grubuyla arasında istatiksel olarak önemli bir azalma belirlenmiştir. Bajc vd., (2017) yaptıkları çalışmada aynı etki mekanizması grubunda bulunan Permethrin'in EPN'lerde ölüm oranlarını arttırdığı bildirilmiştir. Bu çalışmadaki Cypermethrin içeren gruplardaki genel yayılım oranlarının düşmesi ise pestisitin etki mekanizmasının sodyum kanalı düzenleyicisi olması dolayısıyla sinir sistemine sahip olan EPN'lerin üzerinde felç edici etki gösterebileceğinden oluştuğu düşünülmektedir.

Bir diğer genel yayılım oranındaki azalma Difenoconazole aktif maddeli olfaktometrede görülmüştür. Bu uygulama grubundaki genel yayılım oranı %22,9 olarak belirlenmiştir ve benzer şekilde kontrol uygulamasına göre istatistiksel anlamda önemli bir azalma görüşmüştür. Özdemir vd., (2020) yaptığı çalışmada Fluaxapyroxad + Difenoconazole içeriğinin kontrol uygulamalarına göre EPN'lerin ölüm oranlarında artışa neden olduğu bilinmektedir. Bu tez çalışmasında Difenoconazole uygulanan gruplardaki genel yayılım oranlarında azalma görülmüştür. Literatürde bilinen Difenoconazole'ün canlılık üzerine olumsuz etkisi bu tez çalışmalarında elde edilen düşük yayılım oranıyla uyumlu olduğu düşünülmektedir. Bu bilgilerin ışığında Difenoconazole ve EPN'lerin beraber uygulanmaya uygun olmadığı olduğu düşünülmektedir.

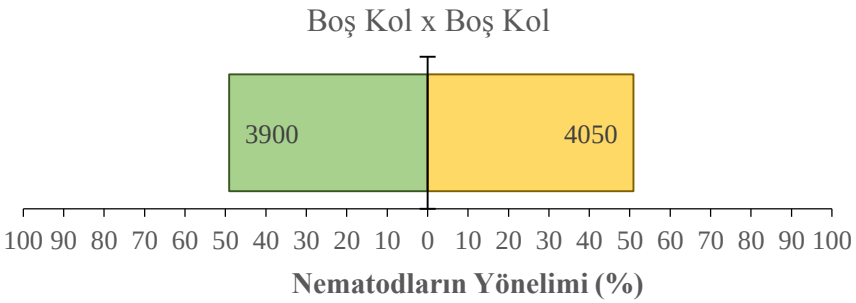
Geri kalan pestisitler olan Pyriproxyfen, Spirotetramat, Chlorantraniliprole, Glyphosate, Fosetyl-Al ve Captan aktif maddeli uygulamalarda kontrol grubuna göre genel yayılım oranlarında istatistiksel bir fark tespit edilememiştir.



Şekil 4.1. Olfaktometrelerdeki genel yayılım oranları. Uygulama karşılaştırmalarındaki yıldızlar istatistiksel fark olduğunu göstermektedir.

4.2 İkili Tercih Oranları

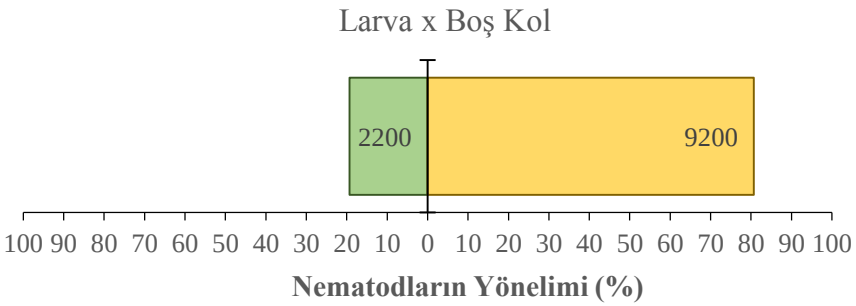
Kontrol grubu olan olfaktometrelerde, IJ'lerin dağılımı beklenildiği üzere birbirine yakın şekilde gerçekleşmiştir. Soldaki boş kola toplam 3900 adet IJ giderken diğer boş kol olan sağ kola 4050 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki boş kola %49,1 oranında yönelim gerçekleşirken sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %50,9 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.2). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($X^2(1) = 2,83$, $p = 0,0925$). Bu tez çalışmasında ikili tercih karşılaştırmalarındaki tüm uygulamalar beklentiler doğrultusunda herhangi bir uyarıcı, çekici, itici bulunmayan ortamda 50:50 dağılım göstermesi beklenen teorik bir popülasyonla karşılaştırılarak yorumlanmıştır. Bununla beraber popülasyon dağılımıyla ilgili beklentilerimizi doğrulamak adına kontrol denemeleri kurulmuştur. Bu kontrol denemelerinde elde edile sonuçlar beklenen teorik dağılımla karşılaştırıldığında herhangi bir istatiksel fark belirlenememiştir. Bu sonuç da beklentilerin doğruluğunu ortaya koymuştur.



Şekil 4.2. IJ'lerin boş kol x boş kol (kontrol) uygulamasındaki ikili tercih oranları

Larva uygulaması olarak kurulan olfaktometrelerde soldaki larvalı kola toplam 2200 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 9200 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki larvalı kola %19,3 oranında yönelim gerçekleşirken boş kolda bu yönelim oranı %80,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.3). İki kola giden IJ oranı karşılaştırıldığında boş kola giden IJ sayısı istatistiksel olarak daha fazla bulunmuştur ($X^2(1) = 4298$, $p < 0,0001$). EPN'lerin baş bölgesinde bulundan duyu organları sayesinde konukçularından gelen uyarıcıları algıladığı ve konukçusuna yöneldiği bilinmektedir.

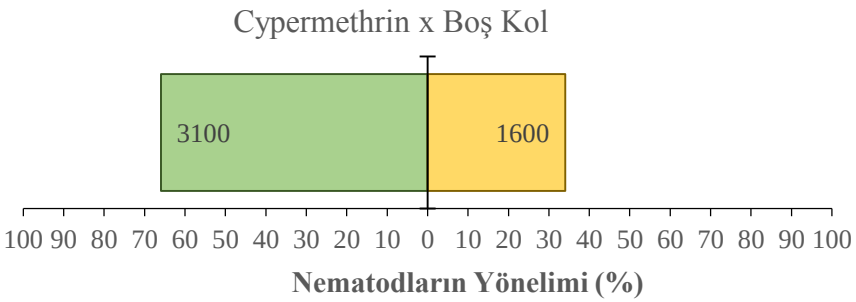
Buna ek olarak CO_2'nin sadece EPN'lerde değil diğer bir çok canlıda yönelim tepkisine neden olduğu bilinmektedir (Banerjee ve Hallem, 2020). Bu tez çalışmasında da olfaktometrelerin hacmi göz önüne alındığında dar bir alanda EPN'lerin konukçudan gelen sinyalleri hızlı bir şekilde aldığı ve konukçuya yönelmesi beklentiler dahilindedir. Larvalı uygulama sonuçları incelendiğinde larvalı koldaki IJ sayısının boş kola göre az olması beklenmedik bir sonuç gibi görünmektedir. Ancak denemelerden sonra her bir larva inkübatörde inkübe edilmiş ve neredeyse tüm larvaların EPN nedeniyle öldüğü gözlemlenmiştir. Bu durum göz önüne alındığında IJ sayısı kumdaki bireylerden elde edildiğinden, larvaya giriş yapanlar sonuçlara dahil edilememiştir. Larvalı koldaki düşük IJ sayısının en önemli sebeplerinden birisi olarak bu görülmektedir. Bununla beraber enfekte olmuş larvaların IJ'ler üzerinde uzaklaştırıcı bir etki sağladığı da bilinmektedir (Shapiro-Ilan vd., 2019; Wu vd., 2018). Olfaktometreler 24 saat boyunca inkübe edildiği için denemelerdeki larvaların EPN'ler tarafından enfekte olduktan sonra itici etkide bulunduğu ve IJ'leri ittiği düşünülmektedir. Bu nedenle boş koldaki yüksek IJ sayısı şaşırtıcı bir sonuç olarak yorumlanmamaktadır.



Şekil 4.3. IJ'lerin Larva x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları

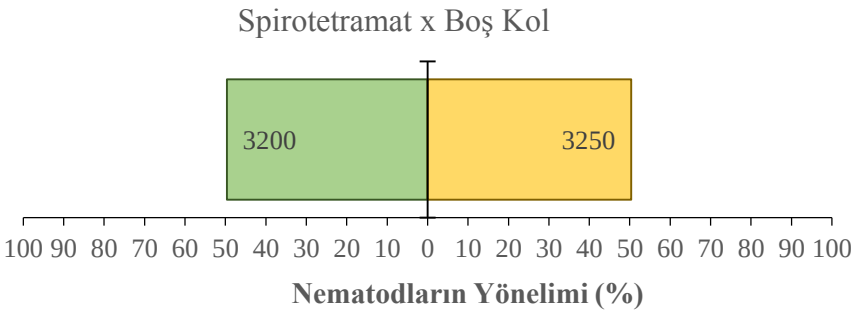
Cypermethrin ile kurulan olfaktometrelerde soldaki pestisitli kola toplam 3100 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 1600 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki pestisitli kola %66 oranında yönelim gerçekleşirken sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %34 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.4). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($X^2(1) = 478{,}7$, $p < 0{,}0001$). Cypermethrin'in EPN'ler üzerindeki itici veya çekici etkisi ile ilgili literatürde herhangi bir bilgi bulunamamıştır. Diğer yandan Cypermethrin ve benzer kimyasal grupta yer

alan pestisitlerin böcekleri ittiği ile ilgili bilgiler literatürde bulunmaktadır (Shemanchuk, 1981). Bu tez çalışmasında ise merkezden uygulanan IJ'lerin Cypermethrin bulunan kola yöneldiği görülmekte fakat pestisitle etkileşime geçtikten sonra hareket kabiliyetinin etkilendiği ve geriye dönemediği düşünülmektedir.



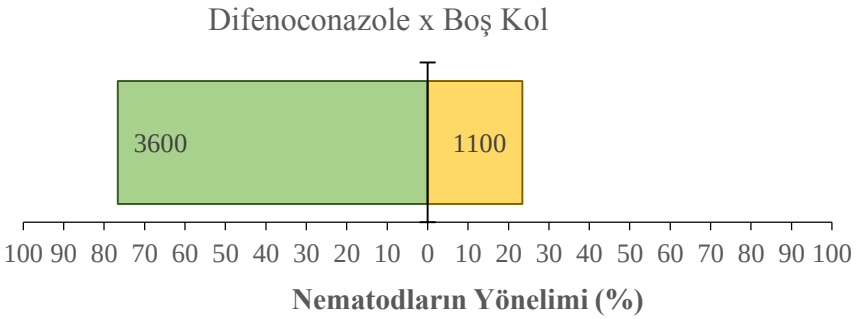
Şekil 4.4. IJ'lerin Cypermethrin x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları

Spirotetramat ile kurulan olfaktometrelerde soldaki pestisitli kola toplam 3200 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 3250 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki pestisitli kola %49,6 oranında yönelim gerçekleşirken sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %50,4 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.5). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($X^2(1) = 0{,}3876$, $p = 0{,}5336$). Yapılan çalışmalarda Spirotetramat'ın nematisit özelliğiyle birlikte bazı bitki paraziti nematodlarda gelişim durdurucu etkisi olduğu ortaya konulmuştur (Gutbrod vd., 2020; Vang vd., 2016). Bu tez çalışmasında Spirotetramat'ın EPN'lerin genel dağılım oranları ve ikili seçimde kontrol grubuna kıyasla ortaya koydukları istatistiksel herhangi bir fark bulunamadığından, Spirotetramat'ın olumsuz etki gösterdiği iki çalışma ile yaptığımız tez çalışması arasında bir ilişki ortaya konulamamıştır.



Şekil 4.5. IJ'lerin Spirotetramat x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları

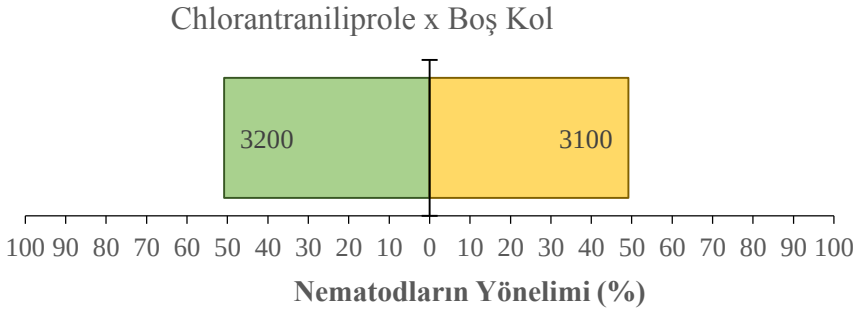
Difenoconazole ile kurulan olfaktometrelerde soldaki pestisitli kola toplam 3600 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 1100 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki pestisitli kola %76,6 oranında yönelim gerçekleşirken sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %23,4 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.6). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($X^2(1) = 1330$, $p < 0{,}0001$). Difenoconazole'de de Cypermethrin uygulamasındaki benzer şekilde genel yayılım oranında azalma ve ikili karşılaştırmada pestisite doğru bir çekici etki olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamada da IJ'lerin Difenoconazole bulunan kola yöneldiği ancak kimyasaldan etkilenerek geri dönemediği düşünülmektedir.



Şekil 4.6. IJ'lerin Difenoconazole x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları

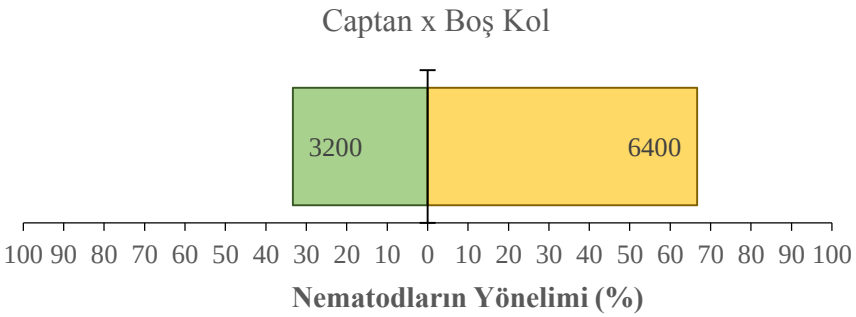
Chlorantraniliprole ile kurulan olfaktometrelerde soldaki pestisitli kola toplam 3200 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 3100 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki pestisitli kola %50,8 oranında yönelim gerçekleşirken

sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %49,2 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.7). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($X^2(1) = 1{,}587$, $p = 0{,}2077$). EPN'ler ve Chlorantraniliprole'ün arazide beraber uygulandığı çalışmalarda da tekli uygulamalara göre sinerjistik etki görüldüğü bildirilmiştir (Guo vd., 2016; Koppenhöfer ve Fuzy, 2007). Bu tez çalışmasında ise elde edilen verilerde ise istatistiksel olarak herhangi bir itme veya çekme davranışı görülmemektedir. Elde edilen bu sonuçların literatürde olduğu gibi EPN'lerin bu etken madde ile uyumlu olduğu söylenebilmektedir.



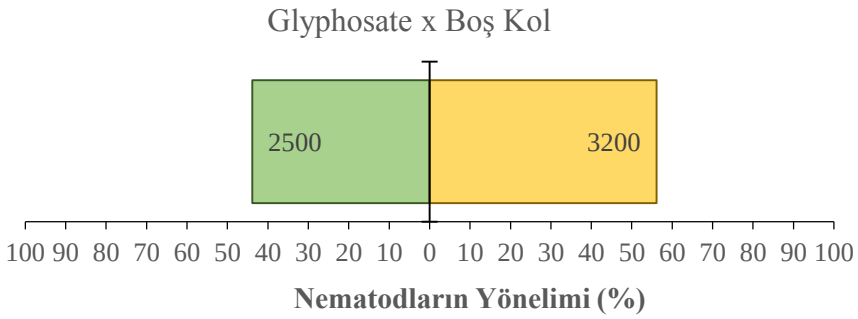
Şekil 4.7. IJ'lerin Chlorantraniliprole x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları

Captan ile kurulan olfaktometrelerde soldaki pestisitli kola toplam 3200 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 6400 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki pestisitli kola %33,3 oranında yönelim gerçekleşirken sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %66,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.8). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($X^2(1) = 1067$, $p < 0{,}0001$). Ulu vd., (2016) pestisitlerin EPN'lerin canlılıkları üzerine yaptıkları çalışmada, uygulamadan 24 saat sonraki ölüm oranın kontrole göre bir farklılık göstermediği ortaya konulmuştur. Ancak bu tez çalışmasında olfaktometrelere uygulanan Captan'ın IJ'lere itici bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu sebeple arazi uygulamalarında EPN'lerin canlılığına etki göstermediği bilinen Captan tercih edilirken, sebep olduğu kaçırıcı etki sebebiyle uygulama etkinliğinin azalabileceği göz önünde bulundurulması gerektiği ortaya konulmuştur.

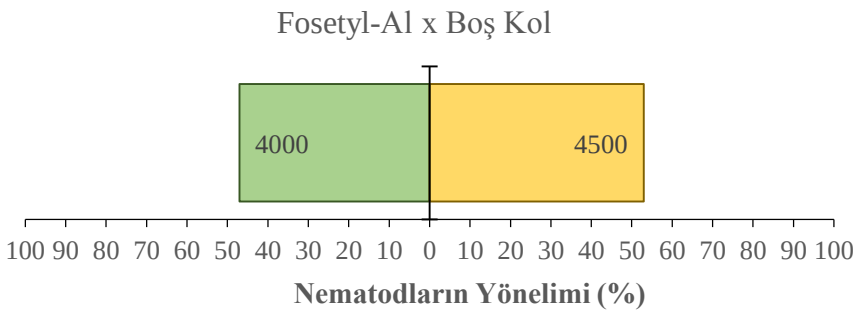


Şekil 4.8. IJ'lerin Captan x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları

Glyphosate ile kurulan olfaktometrelerde soldaki pestisitli kola toplam 2500 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 3200 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki pestisitli kola %43,9 oranında yönelim gerçekleşirken sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %56,1 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.9). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($X^2(1) = 85,96$ p <0,0001). Fosetyl-Al ile kurulan olfaktometrelerde ise soldaki pestisitli kola toplam 4000 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 4500 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki pestisitli kola %47,1 oranında yönelim gerçekleşirken sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %52,9 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.10). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($X^2(1) = 29,41$, p <0,0001). Her iki pestisit uygulanan gruplarda kontrole kıyasla daha çok IJ'nin hareket ettiği görülmekte ve bu pestisitlerin itici etkisinden söz etmek mümkün görülmektedir. Ulu vd., (2016) yaptıkları çalışmada Glyphosate ve Fosetyl-Al'ın uygulamalarından 24 saat sonra yapılan toksisite testlerinde, bu pestisitlerin EPN'ler üzerindeki öldürücü etkisi ortaya konulmuştur. Bu açıdan değerlendirildiğinde her iki pestisitin yalnızca EPN'lerin canlılığı üzerine değil yönelim davranışları üzerine de olumsuz etki yaptığı görülmüştür.

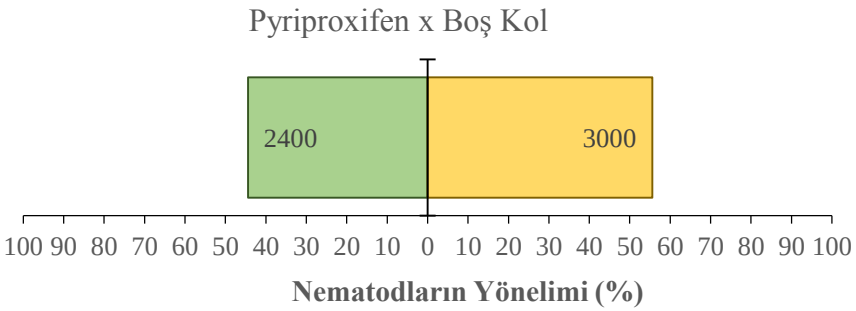


Şekil 4.9. IJ'lerin Glyphosate x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları



Şekil 4.10. IJ'lerin Fosetyl-Al x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları

Pyriproxifen ile kurulan olfaktometrelerde soldaki pestisitli kola toplam 2400 adet IJ yönelirken sağdaki boş kola 3000 adet IJ yönelim göstermiştir. Yüzdesel olarak değerlendirildiğinde soldaki pestisitli kola %44,4 oranında yönelim gerçekleşirken sağdaki boş kolda bu yönelim oranı %55,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.11). İki kola giden IJ oranı istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($X^2(1) = 66,67$, $p < 0,0001$). Radová ve Trnková, (2010) yaptığı çalışmada Pyriproxyfen'in kontol grubuna göre IJ'lerin ölüm oranında artışla beraber daha sonrasında yapılan enfektivite testlerinde bir düşüş bulunduğu ortaya konulmuştur. Bu tez çalışmasında Pyriproxyfen gruplarında IJ'ler üzerinde oluşturduğu itici etki göz önüne alındığında, Pyriproxyfen'in EPN'lerle uyumsuz olduğu desteklenmektedir.



Şekil 4.11. IJ'lerin Pyriproxifen x boş kol uygulamasındaki ikili tercih oranları

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında pestisitlerin EPN'lerin yönelim davranışları üzerindeki etkileri, genel yayılım oranları ve yaptıkları ikili tercihleri göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmelerin sonucunda, literatürde yer alan bilgilere ek olarak EPN'lerin yönelim davranışlarına etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Cypermetherin ve Difenoconazole'ün kontrol grubuna göre IJ'lerin hareketlerini ve yayılımlarını kısıtlayıcı bir etkisi olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber uygulanan diğer pestisit gruplarında genel yayılım oranı ile ilgili herhangi bir etki görülmemiştir. Bir diğer değerlendirme kriteri olan ikili tercihlerde ise Cypermethrin ve Difenoconazole'ün çekici bir etki gösterdiği, Pyriproxyfen, Glyphosate, Fosetyl-Al ve Captan'ın ise itici bir etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Diğer iki pestisit grubu olan Spirotetremat ve Chlorantraniliprole'de ise herhangi bir itici veya çekici etki tespit edilememiştir.

EPN'lerin pestisitlerle uyumluluğu üzerine yapılan çalışmalarda, değerlendirme kriteri olarak yalnızca onların canlılık oranları üzerine olan etkilerinin göz önünde bulundurulmasının uyumluluk değerlendirmelerinde hatalı sonuçlar verebileceği düşünülmektedir. EPN'lerin pestisitlerle olan uyumluluğu ortaya konulurken, onların canlılıklarının yanı sıra EPN'lerin enfeksiyon kapasitesi ve davranışları üzerine olan etkilerinin de değerlendirilmesinin gerekli olduğu Ishibashi ve Takii, (1993) tarafından da belirtilmiştir. Bu tez çalışması, pestisitlerin EPN'lerin davranışı ve hareketi üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmaların sayısının azlığı nedeniyle, literatürdeki bilgi eksikliğinin giderilmesine katkı sağlaması amacıyla yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar, pestisitlerin EPN'ler ile olan uyumluluğunun anlaşılması noktasında kullanılmış olsa da denemelerin laboratuvarda ve kontrollü ortamda yapılmış olması sonuçlara temkinli yaklaşılmasını gerektirmektedir. Arazi koşullarında bulunması muhtemel çokça farklı uyarıcı etkinin bu sonuçların üzerinde etkileri olması hatta farklı sonuçların ortaya çıkabilmesi oldukça muhtemel olduğu öngörülmektedir. Bununla beraber, Ulu vd., (2016) yaptığı çalışmada farklı EPN türlerinin aynı ilacın aynı dozlarından farklı etkilenebildiği bilinmektedir. Bu sebeple ileriye yönelik

çalışmaların devamında farklı nematod türleriyle beraber daha fazla pestisitler tercih edilerek bu çalışma genişletilmesi önerilmektedir. Ayrıca elde edilen sonuçların arazi çalışmalarında denenerek elde edilen sonuçların laboratuvar ortamındaki verilerle kıyaslanması gerekmektedir.

Sürdürülebilir tarım kapsamında kimyasal pestisitlerin kullanımının azaltılması ve biyolojik mücadele yöntemlerini yaygınlaştırılması önemli bir rol oynamaktadır. Ancak mevcut şartlarda biyolojik mücadelenin kimyasal mücadeleye alternatif olması yerine destekleyici olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu kapsamda EPN'ler biyolojik mücadele ajanları olarak pestisitlerle birlikte uygulanabilmektedir. Bu nedenle pestisitlerin EPN'lerin davranışları üzerindeki etkilerinin anlaşılması başarılı bir biyolojik mücadele yapılabilmesi için önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasının da pestisit ve EPN ilişkinin daha iyi anlaşılması ve gelecekte EPN uygulamalarının başarısının artması hususunda katkı sağlaması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

Abd-Elgawad, M. M. M. (2021). Photorhabdus spp.: An Overview of the Beneficial Aspects of Mutualistic Bacteria of Insecticidal Nematodes. *Plants*, *10*(8), 1660. https://doi.org/10.3390/plants10081660

Amizadeh, M., Hejazi, M. J., Niknam, G., ve Askari-Saryazdi, G. (2019). Interaction between the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* and selected chemical insecticides for management of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. *BioControl*, *64*(6), Article 6. https://doi.org/10.1007/s10526-019-09973-x

Atwa, A. A., Shamseldean, M. M., ve Yonis, F. A. (2013). The effect of different pesticides on reproduction of entomopathogenic nematodes. *Turkish Journal of Entomology*, *37*(4), Article 4. https://doi.org/10.16970/ted.55637

Azazy, A. M., El-Lakwah, S., ve Al-ghnam, H. (2014). Impact of some factors on the migration rate and the dispersal of entomopathogenic nematodes. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology ve Pest Control*, *6*(1), 53-63. https://doi.org/10.21608/eajbsf.2014.17259

Bajc, N., Držaj, U., Trdan, S., ve Laznik, Ž. (2017). Compatibility of acaricides with entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis*). *Nematology*, *19*(8), Article 8. https://doi.org/10.1163/15685411-00003095

Banerjee, N., ve Hallem, E. A. (2020). The role of carbon dioxide in nematode behaviour and physiology. *Parasitology*, *147*(8), 841-854. https://doi.org/10.1017/S0031182019001422

Boemare, N. E., Akhurst, R. J., ve Mourant, R. G. (1993). DNA Relatedness between Xenorhabdus spp. (Enterobacteriaceae), Symbiotic Bacteria of Entomopathogenic Nematodes, and a Proposal To Transfer Xenorhabdus luminescens to a New Genus, Photorhabdus gen. Nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *43*(2), 249-255. https://doi.org/10.1099/00207713-43-2-249

Boff, M. I. C., Zoon, F. C., ve 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*(3), 329-337. https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00789.x

Caltagirone, L. E., ve Doutt, R. L. (1989). *The History of the Vedalia Beetle Importation to California and its Impact on the Development of Biological Control*. *34*, 1-16.

Campbell, B., Marston, N., ve Boldt, P. E. (1975). Mass Producing Eggs of the Greater Wax Moth, Galleria mellonella (L.). *United States Department of Agriculture*, *1510*(1), 1-15.

Campbell, J. F., ve Gaugler, R. (1993). Nictation Behaviour and Its Ecological Implications in the Host Search Strategies of Entomopathogenic Nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Behaviour*, *126*(3-4), 155-169. https://doi.org/10.1163/156853993X00092

Campos-Herrera, R., Palomares-Ruis, J. E., Blanco-Pérez, R., Rodríguez-Martín, A., Landa, B. B., ve Castillo, P. (2022). Irrigation modulates entomopathogenic nematode community and its soil food web in olive groves under different agricultural managements. *Agriculture , Ecosystems and Environment*, *337*, 108070. https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108070

Choo, H. Y., Kaya, H. K., Burlando, T. M., ve Gaugler, R. (1989). Entomopathogenic Nematodes: Host-Finding Ability in the Presence of Plant Roots. *Environmental Entomology*, *18*(6), 1136-1140. https://doi.org/10.1093/ee/18.6.1136

Conner, J. M., McSorley, R., Stansly, P. A., ve Pitts, D. J. (1998). Delivery of *Steinernema riobravis* through a drip irrigation system. *Nematropica*, *28*(1), Article 1.

Constant, P., Fischer-Le-Saux, M., Briand-Panoma, S., ve Mauléon, H. (1998). *Natural occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Guadeloupe islands*. *21*(6), 667-672.

De La Torre, M. (2003). Challenges for mass production of nematodes in submerged culture. *Biotechnology Advances*, *21*(5), 407-416. https://doi.org/10.1016/S0734-9750(03)00057-0

DeBach, P. (1964). *Biological control of insect pests and weeds* (ss. 715-815). https://catalog.lib.uchicago.edu/vufind/Record/2237799/Details

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör Savaş, N., Turgut, C., ve Burçak, A. (2005). *Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları [Problems of pesticide use, residues and reduced sensitivity of organisms in Turkey]*.

Devi, G. (2018). Mass production of entomopathogenic nematodes—A review. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, *3*(3), Article 3. https://doi.org/10.22161/ijeab/3.3.41

Ehlers, R.-U. (2001). Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *56*(5-6), Article 5-6. https://doi.org/10.1007/s002530100711

Ehlers, R.-U. (2007). Entomopathogenic nematodes: From science to commercial use. *Biological Control: A Global Perspective*, 136-151. https://doi.org/10.1079/9781845932657.0136

Ehlers, R.-U., Wyss, U., ve Stackebrandt, E. (1988). 16S rRNA Cataloguing and the Phylogenetic Position of the Genus Xenorhabdus. *Systematic and Applied Microbiology*, *10*(2), 121-125. https://doi.org/10.1016/S0723-2020(88)80025-0

El-Sadawy, H. (2015). *Mass production of Steinernema spp. On in-vitro developed solid medium*. *14*(6), 803-813. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5143.8240

Endo, B. Y., ve Nickle, W. R. (1994). Ultrastructure of the Buccal Cavity Region and Oesophagus of the Insect Parasitic Nematode, Heterorhabditis Bacteriophora1). *Nematologica*, *40*(1-4), 379-398. https://doi.org/10.1163/003525994X00274

Flores-Lara, Y., Renneckar, D., Forst, S., Goodrich-Blair, H., ve Stock, P. (2007). Influence of nematode age and culture conditions on morphological and physiological parameters in the bacterial vesicle of Steinernema carpocapsae (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, *95*(2), 110-118. https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.01.006

Forst, S., Dowds, B., Boemare, N., ve Stackebrandt, E. (1997). *XENORHABDUS* AND *PHOTORHABDUS* SPP.: Bugs That Kill Bugs. *Annual Review of Microbiology*, *51*(1), 47-72. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.51.1.47

Gan-Mor, S., ve Matthews, G. A. (2003). Recent developments in sprayers for application of biopesticides—An overview. *Biosystems Engineering*, *84*(2), Article 2. https://doi.org/10.1016/S1537-5110(02)00277-5

Garcia, L. C., Raetano, C. G., ve Leite, L. G. (2008). Application technology for the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *Steinernema* sp.

(Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) to control *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *Neotropical Entomology*, *37*(3), Article 3. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2008000300010

Godjo, A., Afouda, L., Baimey, H., Decraemer, W., ve Willems, A. (2018). Molecular diversity of Photorhabdus and Xenorhabdus bacteria, symbionts of Heterorhabditis and Steinernema nematodes retrieved from soil in Benin. *Archives of Microbiology*, *200*(4), 589-601. https://doi.org/10.1007/s00203-017-1470-2

Grewal, P. S., Gaugler, R., ve Selvan, S. (1993). Host recognition by entomopathogenic nematodes: Behavioral response to contact with host feces. *Journal of Chemical Ecology*, *19*(6), 1219-1231. https://doi.org/10.1007/BF00987382

Grewal, P. S., Lewis, E. E., Gaugler, R., ve Campbell, J. F. (1994). Host finding behaviour as a predictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, *108*(2), 207-215. https://doi.org/10.1017/S003118200006830X

Grewal, P. S., ve Peters, A. (2005). Formulation and quality. *Nematodes as biocontrol agents*, 79-90. https://doi.org/10.1079/9780851990170.0079

Griffin, C. T., Boemare, N. E., ve Lewis, E. E. (2005). Biology and behaviour. *Nematodes as biocontrol agents*, 47-64. https://doi.org/10.1079/9780851990170.0047

Griffin, C. T., Downes, M. J., ve Block, W. (1990). Tests of Antarctic soils for insect parasitic nematodes. *Antarctic Science*, *2*(3), 221-222. https://doi.org/10.1017/S095410209000030X

Guo, W., Yan, X., Zhao, G., ve Han, R. (2016). Increased Efficacy of Entomopathogenic Nematode–Insecticide Combinations Against *Holotrichia oblita* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 1-11. https://doi.org/10.1093/jee/tow241

Gutbrod, P., Gutbrod, K., Nauen, R., Elashry, A., Siddique, S., Benting, J., Dörmann, P., ve Grundler, F. M. W. (2020). Inhibition of acetyl-CoA carboxylase by spirotetramat causes growth arrest and lipid depletion in nematodes. *Scientific Reports*, *10*(1), 12710. https://doi.org/10.1038/s41598-020-69624-5

Güneş, Ç., ve Gözel, U. (2011). Marmara Bölgesi'ndeki entomopatojen nematod faunasının belirlenmesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, *2*(2), 93-102.

Hara, A. H., ve Kaya, H. K. (1982). Effects of selected insecticides and nematicides on the in vitro development of the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae*. *Journal of Nematology*, *14*(4), Article 4.

Hara, A. H., ve Kaya, H. K. (1983). Toxicity of selected organophosphate and carbamate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Environmental Entomology*, *12*(2), Article 2. https://doi.org/10.1093/ee/12.2.496

Hokkanen, H. M. T. (2015). Integrated pest management at the crossroads: Science, politics, or business (as usual)? *Arthropod-Plant Interactions*, *9*(6), 543-545. https://doi.org/10.1007/s11829-015-9403-y

Hominick, W. M. (2002). Biogeography. *Entomopathogenic nematology*, 115-143. https://doi.org/10.1079/9780851995670.0115

Hominick, W. M., Reid, A. P., Bohan, D. A., ve Briscoe, B. R. (1996). Entomopathogenic Nematodes: Biodiversity, Geographical Distribution and the Convention on Biological Diversity. *Biocontrol Science and Technology*, *6*(3), 317-332. https://doi.org/10.1080/09583159631307

Ishibashi, N., ve Takii, S. (1993). Effects of insecticides on movement, nictation, and infectivity of *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Nematology*, *25*(2), Article 2.

Kary, N. E., Sanatipour, Z., Mohammadi, D., ve Dillon, A. B. (2021). Combination effects of entomopathogenic nematodes, Heterorhabditis bacteriophora and Steinernema feltiae, with Abamectin on developmental stages of Phthorimaea operculella (Lepidoptera, Gelechiidae). *Crop Protection*, *143*, 105543. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105543

Kaya, H. K., ve Gaugler, R. (1993a). Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, *38*(1), Article 1. https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001145

Kaya, H. K., ve Gaugler, R. (1993b). Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, *38*(1), Article 1. https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001145

Kaya, H. K., ve Stock, S. P. (1997). Techniques in insect nematology. İçinde *Manual of Techniques in Insect Pathology* (ss. 281-324). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-012432555-5/50016-6

Kin, K., Baiocchi, T., ve Dillman, A. R. (2019). Dispersal and Repulsion of Entomopathogenic Nematodes to Prenol. *Biology*, *8*(3), Article 3. https://doi.org/10.3390/biology8030058

Kondo, N. I., E. (1990). Behavior of Infective Juveniles. İçinde R. Gaugler (Ed.), *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control* (ss. 139-148). CRC Press.

Koppenhöfer, A. M. (2007). Nematodes. Içinde L. A. Lacey ve H. K. Kaya (Ed.), *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and other Invertebrate Pests* (ss. 249-264). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5933-9_11

Koppenhöfer, A. M., Cowles, R. S., Cowles, E. A., Fuzy, E. M., ve Kaya, H. K. (2003). Effect of neonicotinoid synergists on entomopathogenic nematode fitness. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *106*(1), Article 1. https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2003.00008.x

Koppenhöfer, A. M., ve Fuzy, E. M. (2007). Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *H. bacteriophora*. *Applied Soil Ecology*, *35*(1), Article 1. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.05.007

Koppenhöfer, A. M., Shapiro-Ilan, D. I., ve Hiltpold, I. (2020). Entomopathogenic nematodes in sustainable food production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *4*(125), Article 125. https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00125

Kwizera, V., ve Susurluk, I. A. (2017). Evaluation of the effects of some insecticides based on neonicotinoids on entomopathogenic nematodes, Steinernema feltiae and S. carpocapsae. *Invertebrate Survival Journal*, *14*(1), Article 1. https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v14i1.375-378

Lacey, L. A., ve Georgis, R. (2012). Entomopathogenic Nematodes for Control of Insect Pests Above and Below Ground with Comments on Commercial Production. *Journal of Nematology*, *44*(2), 218-225.

Lacey, L. A., ve Unruh, T. R. (2005). *Biological control of codling moth (Cydia pomonella, Lepidoptera: Tortricidae) and its role in integrated pest management, with emphasis on entomopathogens*. *12*(1), 33-60.

Laznik, Ž., ve Trdan, S. (2017). The influence of herbicides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae). *International Journal of Pest Management*, *63*(2), Article 2. https://doi.org/10.1080/09670874.2016.1227882

Lewis, E. E. (2002). Behavioural ecology. *Entomopathogenic nematology*, 205-223. https://doi.org/10.1079/9780851995670.0205

Lewis, E. E., Campbell, J., Griffin, C., Kaya, H., ve Peters, A. (2006). Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, *38*(1), 66-79. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.11.007

Lewis, E. E., Gaugler, R., ve Harrison, R. (1992). Entomopathogenic nematode host finding: Response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology*, *105*(2), 309-315. https://doi.org/10.1017/S0031182000074230

Lunau, S., Stoessel, S., ve Schmidt-Peisker, A. J. (1993). *Establishment of monoxenic inocula for scaling up in vitro cultures of the enthomopathogenic nematodes Steinernema spp. And Heterorhabditis spp. 39*, 385-399.

Mason, J. M., Matthews, G. A., ve Wright, D. J. (1998). Appraisal of spinning disc technology for the application of entomopathogenic nematodes. *Crop Protection*, *17*(5), Article 5. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00042-8

Mazurkiewicz, A., Jakubowska, M., Tumialis, D., Bocianowski, J., ve Roik, K. (2021). Foliar application of entomopathogenic nematodes against cereal leaf beetle *Oulema melanopus* L. (Coleoptera: Chrysomelidae) on wheat. *Agronomy*, *11*(8), Article 8. https://doi.org/10.3390/agronomy11081662

Meyer, J., Ebssa, L., ve Poehling, H. M. (2012). Effects of NeemAzal-U on survival, host infestation and reproduction of entomopathogenic and plant-parasitic nematodes: Heterorhabditis bacteriophora and Meloidogyne incognita. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *119*(4), Article 4. https://doi.org/10.1007/BF03356433

Nguyen, K., ve Hunt, D. (2007). *Entomopathogenic Nematodes: Systematics, Phylogeny and Bacterial Symbionts*. BRILL. https://doi.org/10.1163/ej.9789004152939.i-816

Nguyen, K., ve Smart, G. C. (1995). Scanning Electron Microscope Studies of Steinernema Glaseri (Nematoda: Steinernematidae) 1. *Nematologica*, *41*(1-4), 183-190. https://doi.org/10.1163/003925995X00152

Özaktan, H., Aysan, Y., Yildiz, F., ve Kinay, P. (2010). *Fitopatolojide biyolojik mücadele*.

Özdemir, E., İnak, E., Evlice, E., ve Laznik, Z. (2020). Compatibility of entomopathogenic nematodes with pesticides registered in vegetable crops under laboratory conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *127*(4), Article 4. https://doi.org/10.1007/s41348-020-00337-7

Özdemir, E., İnak, E., Evlice, E., Yüksel, E., Delialioğlu, R. A., ve Susurluk, I. A. (2021). Effects of insecticides and synergistic chemicals on the efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) against *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Crop Protection*, *144*, 105605. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105605

Patel, M. N., ve Wright, D. J. (1996). The influence of neuroactive pesticides on the behaviour of entomopathogenic nematodes. *Journal of Helminthology*, *70*(1), 53-61. https://doi.org/10.1017/S0022149X00015133

Peshin, R., ve Zhang, W. (2014). Integrated Pest Management and Pesticide Use. Içinde D. Pimentel ve R. Peshin (Ed.), *Integrated Pest Management* (ss. 1-46). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7796-5_1

Peters, A. (1996). The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. And their impact on insect populations. *Biocontrol Science and Technology*, *6*(3), Article 3. https://doi.org/10.1080/09583159631361

Platt, T., Stokwe, N. F., ve Malan, A. P. (2020). A review of the potential use of entomopathogenic nematodes to control above-ground insect pests in South Africa. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *41*(1), Article 1. https://doi.org/10.21548/41-1-2424

Poinar, G. (1990). Taxonomy and Biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. İçinde R. Gaugler (Ed.), *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control* (ss. 23-62). CRC Press.

Poinar, G., ve Grewal, P. (2012). History of Entomopathogenic Nematology. *Journal of nematology*, *44*, 153-161.

Radová, Š. (2011). Effects of selected pesticides on survival and virulence of two nematode species. *Polish Journal of Environmental Studies*, *20*(1), Article 1.

Radová, Š., ve Trnková, Z. (2010). Effect of soil temperature and moisture on the pathogenicity of two species of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). *Journal of Agrobiology*, *27*(1), Article 1. https://doi.org/10.2478/s10146-009-0001-4

Rasmann, S., ve Turlings, T. (2008). Rasmann, S. ve Turlings, T.C.J. First insights into specificity of belowground tritrophic interactions. Oikos 117, 362-369. *Oikos*, *117*. https://doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299.16204.x

Riga, E. (2004). Orientation behaviour. *Nematode behaviour*, 63-90. https://doi.org/10.1079/9780851998183.0063

Shapiro-Ilan, D. I., ve Gaugler, R. (2002). Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *28*(3), Article 3. https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000230

Shapiro-Ilan, D. I., Kaplan, F., Oliveira-Hofman, C., Schliekelman, P., Alborn, H. T., ve Lewis, E. E. (2019). Conspecific pheromone extracts enhance entomopathogenic infectivity. *Journal of Nematology*, *51*(1), 1-5. https://doi.org/10.21307/jofnem-2019-082

Shapiro-Ilan, D. I., Lewis, E. E., Behle, R. W., ve McGuire, M. R. (2001). Formulation of Entomopathogenic Nematode-Infected Cadavers. *Journal of Invertebrate Pathology*, *78*(1), 17-23. https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5030

Shapiro-Ilan, D. I., Lewis, E. E., ve Schliekelman, P. (2014). Aggregative group behavior in insect parasitic nematode dispersal. *International Journal for Parasitology*, *44*(1), 49-54. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.10.002

Sharma, A., Diwevidi, V. D., Singh, S., Pawar, K. K., Jerman, M., Singh, L. B., Singh, S., ve Srivastawa, D. (2013). *Biological Control and its Important in Agriculture*. *4*(3), 175-180.

Shemanchuk, J. A. (1981). Repellent action of permethrin, cypermethrin and resmethrin against black flies (Simulium spp.) attacking cattle. *Pesticide Science*, *12*(4), 412-416. https://doi.org/10.1002/ps.2780120407

Smart, G. C. (1995). Entomopathogenic Nematodes for the Biological Control of Insects. *Journal of Nematology*, *27*(4S), 529-534.

Stock, S. P. (2015). Diversity, Biology and Evolutionary Relationships. Içinde R. Campos-Herrera (Ed.), *Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests* (ss. 3-27). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-18266-7_1

Susurluk, A. I., ve Ehlers, R.-U. (2008). Field persistence of the entomopathogenic nematode Heterorhabditis bacteriophora in different crops. *BioControl*, *53*(4), 627-641. https://doi.org/10.1007/s10526-007-9104-2

Susurluk, A. I., Kongu, Y., ve Ulu, T. C. (2013). Quality control of in vitro produced Heterorhabditis bacteriophora (Rhabditida: Heterorhabditidae) strains isolated from Turkey. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, *37*(3), 283-291.

Susurluk, A. I., ve Ökten, M. E. (2000). Bazı Entomopatojen Nematodların Blattella germanica L. (Dictyoptera: Blattellidae) Üzerindeki Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, *6*(4), 111-114. https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000001005

Susurluk, A. I., Ünlü, I., ve Kepenekci, I. (2003). Host finding behavior of two different Turkish isolates of entomopathogenic nematode species, *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Turkish Journal of Biology*, *27*(4), Article 4. https://doi.org/-

Şahin, Y. S., Bouhari, A., Ulu, T. C., Sadıç, B., ve Susurluk, İ. A. (2018). New application method for entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) (Rhabditida: Heterorhabditidae) HBH strain against *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae). *Turkish Journal of Entomology*, *42*(4), Article 4. https://doi.org/10.16970/ENTOTED.471095

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

Ulu, T. C. (2023). Effect of selected pesticides on the orientation of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Turkish Journal of Entomology*, *47*(3), Article 3. https://doi.org/10.16970/entoted.1345508

Ulu, T. C., ve Erdoğan, H. (2023). Field application of encapsulated entomopathogenic nematodes using a precision planter. *Biological Control*, *182*, 105240. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105240

Ulu, T. C., Sadic, B., ve Susurluk, I. A. (2016). Effects of different pesticides on virulence and mortality of some entomopathogenic nematodes. *Invertebrate Survival Journal*, *13*(1), Article 1. https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v13i1.111-115

Uygun, N., Ulusoy, R., ve Satar, S. (2010). Biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, *1*(1), 1-14.

Vang, L. E., Opperman, C. H., Schwarz, M. R., ve Davis, E. L. (2016). Spirotetramat causes an arrest of nematode juvenile development. *Nematology*, *18*(2), 121-131. https://doi.org/10.1163/15685411-00002948

Wiesner, A. (1993). *Die Induktion Der Immunabwehr Eines Insekts (Galleria mellonella ,Lep.) Durch Synthetische Materialien Und Arteiyene Haemolympfaktoren.* [PhD Thesis]. University of Berlin.

Wu, S., Kaplan, F., Lewis, E., Alborn, H. T., ve Shapiro-Ilan, D. I. (2018). Infected host macerate enhances entomopathogenic nematode movement towards hosts and infectivity in a soil profile. *Journal of Invertebrate Pathology*, *159*, 141-144. https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.10.007

Yüksel, E., Canhilal, R., ve İmren, M. (2019). Azadirachtin ve spinosadın bazı yerel entomoapatojen nematod izolatlarının canlılığı ve virülensliği üzerine etkileri. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, *5*(2), Article 2. https://doi.org/10.24180/ijaws.591287