ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HİBRİT IRKININ KONUKÇU ARAMA DAVRANIŞI YÜKSEK BİREYLERİNİN ELDE EDİLMESİ VE BUNLARIN BAZI BİYOLOJİK FARKLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Alperen Kaan BÜTÜNER

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HİBRİT IRKININ KONUKÇU ARAMA DAVRANIŞI YÜKSEK BİREYLERİNİN ELDE EDİLMESİ VE BUNLARIN BAZI BİYOLOJİK FARKLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Alperen Kaan BÜTÜNER
0000-0002-2121-3529

Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA – 2024
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans

ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HİBRİT IRKININ KONUKÇU ARAMA DAVRANIŞI YÜKSEK BİREYLERİNİN ELDE EDİLMESİ VE BUNLARIN BAZI BİYOLOJİK FARKLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Alperen Kaan BÜTÜNER

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopatojen nematodlar (EPN), tarım zararlıları ile mücadelede biyolojik mücadele kapsamında yaygınlıkla kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının özel bir düzenek aracılığıyla konukçu arama özellikleri yüksek olan bireylerinin elde edilmesi amaçlanmış ve elde edilen bireylerin, ata kültür (ebeveynleri) ile arasındaki bazı biyolojik özellik farklılıkları incelenmiştir. Çalışmada öncelikle düzeneğin en alt kısmına *Galleria mellonella* son dönem larvaları plastik bir kafes içerisinde olacak şekilde yerleştirilmiş ve sonrasında düzenek silis kumu ile tamamıyla kapatılmıştır. Devamında 1000 infektif Juvenil (IJ) düzeneğin en üst kısmından uygulanmış ve düzenek 25°C'de tutulmuştur. Enfekte işlemi gerçekleştikten sonra *G. mellonella* larvaları White Trap düzeneğine alınmış, IJ çıkışları beklenmiştir. Elde edilen IJ'ler içinde aynı işlem 5. döl elde edilene kadar gerçekleştirilmiştir. 5. döl sonunda elde edilen bireylerin biyolojik özellikleri, ata kültür ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, seleksiyon sonucu elde edilen bireylerin (HBH Plus) *G. mellonella* ve *Tenebrio molitor* larvaları üzerindeki etkinlikleri incelendiğinde sırasıyla bu değerler %100 ve %90 olarak belirlenmiştir. Aynı değerler ata kültür için sırasıyla %80 ve %63.33 olarak belirlenmiştir. IJ ve hermafrodit uzunlukları incelendiğinde HBH Plus için bu değerler sırasıyla 583.75 µ ve 3864.17 µ olarak belirlenmiştir. Aynı değerler ata kültür için sırasıyla 540.30 µ ve 3711.25 µ olarak belirlenmiştir. Üreme güçleri incelendiğinde HBH Plus için ortalama değer 123.825 IJ/*G. mellonella* larvası olarak görülürken aynı değer ata kültür için 109.116 IJ/*G. mellonella* larvası olarak belirlenmiştir. Bu tez çalışması sonucunda HBH Hibrit ırkı bireylerinin konukçu arama davranışı yüksek bireylerinin elde edilmesi sonucunda biyolojik özellikler açısından önemli farklılıklar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Entomopatojen nematod, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit ırkı, Hermafrodit uzunluğu, Üreme gücü
2024, xv + 51 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

OBTAINING INDIVIDUALS OF THE ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HYBRID STRAIN WITH HIGH HOST SEARCH BEHAVIOR AND INVESTIGATING SOME OF THEIR BIOLOGICAL DIFFERENCES

Alperen Kaan BÜTÜNER

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

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopathogenic nematodes (EPN) are widely used in biological control against agricultural pests. This thesis aims to obtain individuals of the *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hybrid Strain with high host-searching abilities through a specific apparatus and to examine the biological differences between these individuals and the parental culture. Initially, *Galleria mellonella* 6th stage larvae were placed in a plastic cage at the bottom of the apparatus, which was then completely filled with silica sand. Subsequently, 1000 IJs were applied from the top of the apparatus, which was maintained at 25°C. After the infection process, *G. mellonella* larvae were transferred to a White Trap for IJ emergence. This process was repeated until the 5th generation IJs were obtained. The biological characteristics of the 5th generation individuals were then compared with the parental culture. As a result, the effectiveness of the selected individuals (HBH Plus) on *G. mellonella* and *T. molitor* larvae was found to be 100% and 90%, respectively. The same values for the parental culture were determined to be 80% and 63.33%, respectively. The lengths of IJs and hermaphrodites were measured as 583.75 µm and 3864.17 µm, respectively for HBH Plus, compared to 540.30 µm and 3711.25 µm, respectively for the parental culture. The reproductive capacity was an average of 123,825 IJs per *G. mellonella* larva for HBH Plus, compared to 109,116 IJs per *G. mellonella* larva for the parental culture. This thesis concluded that significant biological differences were obtained by selecting individuals from the HBH Hybrid Strain with high host-seeking behavior.

Key words: Entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hybrid Strain, Hermaphrodite Length, Reproductive capacity
2024, xv + 51 pages.

ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince desteğini üzerimden esirgemeyen her durum ve koşulda bana inanan, güvenen, varlığını her daim hissettiğim, Sevgili Danışman hocam Sayın Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK'a sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın yürütülmesi aşamasında tecrübelerinden faydalandığım her konuda desteklerini üzerimden esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Hilal SUSURLUK ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hilal ERDOĞAN'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım. Ek olarak eğitim hayatım süresince bilgi, birikim ve tecrübelerinden yararlandığım Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyelerine ve Nematoloji Laboratuvarı ekibine teşekkürlerimi sunuyorum.

Ek olarak, jürimde yer alan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Nimet Sema GENÇER ve Doç. Dr. Tufan Can ULU'ya saygılarımı ve teşekkürlerimi iletiyorum.

Ayrıca, Lisansüstü arkadaşlarım, Osman Nuri YARAŞIR ve Eren ERGENE'ye bana ve bölümümüze vermiş oldukları tüm destekler için ve tez sürecinin daha keyifli geçmesini sağladıkları için teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini üzerimden esirgemeyen, bana her durum ve koşulda inanan, Sevgili annem Yeliz BÜTÜNER'e ve Sevgili babam Şahin BÜTÜNER'e sonsuz sevgilerimi iletiyorum ve bu tez çalışmasını onlara armağan ediyorum.

Sözlerimi hayatıma yön vermiş olan 5 söz ile tamamlamak istiyorum;

"Eğitimdir ki bir milleti ya hür, bağımsız, şanlı, yüksek bir topluluk halinde yaşatır; ya da esaret ve sefalete terk eder." ATATÜRK

"Uyuyan milletler ya ölür ya da köle olarak uyanır." ATATÜRK

"Dinlenmemek üzere yürümeye karar verenler, asla ve asla yorulmazlar." ATATÜRK

"Eğitim, refah anında bir süs, felaket sırasında bir sığınaktır." ARISTOTELES

"Korkuyorsan yapma, yapıyorsan korkma." CENGİZ HAN

Alperen Kaan BÜTÜNER
…/…/…….

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET viii
ABSTRACT ix
ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ xii
ŞEKİLLER DİZİNİ xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ xv
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 7
3. MATERYAL ve YÖNTEM 11
3.1. Laboratuvar ortamında *Galleria mellonella* Larvalarının Üretimi 11
3.1.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Besininin Hazırlanışı 13
3.2. Laboratuvar Ortamında Tenebrio molitor Larvalarının Üretimi 13
3.3. *Heterorhabditis bacteriophora* Hibrit Irkı (HBH) 14
3.4. *In vivo* Ortamda HBH Üretimi 16
3.5. Deneme Düzeneği 18
3.5.1. Silis Kumu 21
3.6. Seleksiyon Sonucunda Elde Edilen Bireylerin Biyolojik Farklılıklarının Belirlenmesi 22
3.6.1. Etkinlik Denemesi 22
3.6.2. IJ Uzunluğunun Belirlenmesi 23
3.6.3. Hermafrodit Bireylerin ve Yumurta Çapları Uzunluğunun Belirlenmesi 24
3.6.4. Üreme Güçlerinin Belirlenmesi 27
3.7. İstatistiksel Analiz 28
4. BULGULAR 29
4.1. Konukçu Arama Davranışı Yüksek Olan Bireylerin Elde Edilmesi 29
4.2. Konukçu Arama Davranışı Yüksek Olan Bireylerin Biyolojik Farklılıklarının Değerlendirilmesi 35
4.2.1. Etkinliğin Değerlendirilmesi 35
4.2.2. IJ Uzunluklarının Değerlendirilmesi 36
4.2.3. Hermafrodit Bireylerin ve Yumurta Çaplarının Uzunluğunun Değerlendirilmesi 37
4.2.4. Üreme Güçlerinin Değerlendirilmesi 38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 39
KAYNAKLAR 43
ÖZGEÇMİŞ 50

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	**Açıklama**
µ	Mikrometre ($1x10^{-6}$ m)
cm	Santimetre
mm	Milimetre
℃	Santigrat Derece
%	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.	Entomopatojen nematodların yaşam çemberi (Bütüner ve Susurluk, 2024) …….	5
Şekil 3.1.	İnkübatör içerisinde 28-30 ºC'de stabil koşullarda üretilen *G. mellonella* kültürleri (Bütüner ve Susurluk, 2024) ……	11
Şekil 3.2.	Besin ortamı içerisinde *G. mellonella*'ların görünümü (Bütüner ve Susurluk,2024)……...	12
Şekil 3.3	Stok HBH kültürlerinin genel görünümü (Bütüner ve Susurluk, 2024 …….	14
Şekil 3.4	Seleksiyon sonucu elde edilen HBH kültürlerinin stoklanması (Bütüner ve Susurluk, 2024)……..	15
Şekil 3.5	Plate içerisinde HBH inokülasyonu (Bütüner ve Susurluk, 2024)….	17
Şekil 3.6	White Trap üzerine alınmış olan son dönem *G. mellonella* larvaları (Bütüner ve Susurluk, 2024) …….	17
Şekil 3.7	Deney düzeneğinin simüle şekilde genel yapısı (Bütüner ve Susurluk, 2024) …….	18
Şekil 3.8	İçerisine steril kum yerleştirilmiş şekliyle deneye hazır hale getirilmiş düzenek (Bütüner ve Susurluk, 2024)……	19
Şekil 3.9	Düzenek içerisinde enfekte olmuş olan *G. mellonella* son dönem larva görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)……	20
Şekil 3.10	Düzenek içerisinde enfekte olmuş olan *G. mellonella* son dönem larvalarının ayrı bir şekilde White Trap düzeneğine alınması (Bütüner ve Susurluk, 2024)……..	21
Şekil 3.11	IJ'lerin anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)……	23
Şekil 3.12	Elde edilen Hermafrodit bireyin anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)……..	25
Şekil 3.13	Elde edilen Hermafrodit bireyin ve vücudundan dağılan bireylerin anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)……	25
Şekil 3.14	Hermafrodit bireyin anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)...	26
Şekil 3.15	Hermafrodit bireylerin yumurtalarının anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024) …….	26
Şekil 3.16	IJ'lerin mikroskop görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024) …….	27
Şekil 4.1	1. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir ……	29
Şekil 4.2	2. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir ……	30

Şekil 4.3	3. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir ……	31
Şekil 4.4	4. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir ……	32
Şekil 4.5	5. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir ……	33
Şekil 4.6	Farklı döller için IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. Sayısal değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir. ……	34
Şekil 4.7	Stok (Ata Kültür) ile seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) bireylerin *G. mellonella* ve *T. molitor* üzerindeki etkinlikleri) ……	35
Şekil 4.8	Stok (Ata Kültür) ile seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) IJ'lerinin vücut uzunluklarının karşılaştırılması) …….	36
Şekil 4.9	Stok (Ata Kültür) ile seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) Hermafrodit bireylerin vücut uzunluklarının karşılaştırılması ……	37
Şekil 4.10	Stok (Ata Kültür) ile seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) bireylerin üreme güçlerinin karşılaştırılması ……	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

			Sayfa
Çizelge	3.1.	*G. mellonella* besini bileşenleri ……	13
Çizelge	3.2.	Ringers solüsyon içeriği ……...	14

1. GİRİŞ

Tarım alanlarında öncelikli amaç, üretim yapılan alandan maksimum miktarda verim almak ve ürün kaybını minimum miktarda tutmaktır. Tarımsal üretim yapılan alanlarda ürün kaybına birçok faktör neden olmaktadır (Matson vd., 1997; Tilman vd., 2002; Chavas, 2008). Bunlar basit bir şekilde biyotik ve abiyotik faktörler olarak sınıflandırılabilmektedir. Biyotik faktörler, bitkilerde verim kaybına neden olan canlı etmenler (böcek, bakteri, virüs vb.) olarak ifade edilebilir. Abiyotik faktörler ise bitkilerde verim kaybına neden olan cansız etmenler (iklim, bitki besin elementleri vb.) olarak ifade edilebilir (Johnston ve Mellor, 1961; Tilman vd., 2002; Sharma vd., 2014).

Tarım alanlarında görülen verim kayıplarının kaynağı incelediğinde ise verim kayıplarının en çok bitki zararlıları ve hastalıklarının neden olduğu belirlenmiştir. Bu oran yaklaşık olarak %80 olarak ifade edilmektedir (Oerke ve Dehne, 2004; Savary vd., 2012; Beckerman vd., 2023). Bitki zararlıları ve hastalıkları ile mücadelede uzun yıllar boyunca kimyasal mücadele kapsamında pestisitler yaygınlıkla kullanılmıştır. Ancak yapılan çalışmalar ile pestisitlerin, insanlar, hayvanlar ve diğer hedef dışı canlılar üzerinde toksik bir etki oluşturduğu ortaya çıkmıştır (Costa, 2008; Hernández vd., 2013; Knipe vd., 2017). Bununla birlikte pestisitlerin uzun yıllar boyunca toprakta çözünmeden kalabilme durumu ve toprak altı sularına karışması sebebiyle ve son olarak 2006-2008 yılları arasında yapılan farklı çalışmalarda, Everest Dağı eteklerinden alınan kar örneklerinde 1980'li yıllarda yaygınlıkla kullanılmakta olan bir pestisitin kalıntıları ile karşılaşılması, tarım alanlarında pestisit kullanımında bir kısıtlamaya gidilmesine neden olmuştur (Li vd., 2006; Wang vd., 2007; Wang vd., 2008; Hillocks, 2012; Syafrudin vd., 2021).

Pestisit kullanımının kısıtlanması ile bitki zararlıları ve hastalıklarının mücadelesinde kimyasal mücadele yerine diğer mücadele yöntemlerini ön plana çıkarmıştır (Konradsen vd., 2003; Gunnell vd., 2017).

Bunlar, Kültürel Mücadele, Mekanik (Fiziksel) Mücadele, Biyolojik Mücadele, Biyoteknik Mücadele ve Entegre Mücadele olarak ifade edilmektedir. Bunlardan ise son yıllarda Kimyasal Mücadele yerine yaygınlıkla kullanılan Biyolojik Mücadeledir (Whitten ve Foster, 1975; Brader, 1979; Tang ve Cheke, 2008; Ghosh vd., 2023).

Biyolojik mücadele, bitki hastalık ve zararlılarıyla mücadelede kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem basitçe, zararlı organizmaların doğal düşmanları, parazitoitler, predatörler ve hastalık etmenleri gibi biyolojik ajanlar kullanılarak zararlı popülasyonları etkisiz hale getirme veya kontrol altında tutma prensibine dayanır (Cook, 1988; Sharma vd., 2013; Wyckhuys vd., 2013; Ghosh vd., 2023). Biyolojik mücadele, doğal düşmanların kullanımı temeline dayanır. Zararlı organizmaların doğal düşmanları, onları avlayarak veya parazitleyerek zararlı popülasyonunu düşürür ve böylece bitki sağlığını korur. Bu yöntemde, sadece zararlı organizmalar hedef alınır ve diğer yararlı veya hedef dışı organizmaların etkilenmesi önlenir. Böylelikle, ekosistemde biyolojik çeşitlilik korunur ve dengelenir (Geiger vd., 2010; Wyckhuys vd., 2013; van Lenteren vd., 2018). Biyolojik mücadele yöntemleri, uzun süreli etkilere sahiptir ve sürekli bir mücadele stratejisi olarak kullanılabilmektedir. Doğal düşmanların popülasyonu, zararlı organizmaların baskın olduğu dönemlerde artar ve zararlıların popülasyonunu kontrol altında tutar (Thamsborg vd., 1999; Carroll, 2011; Sentis vd., 2022). Bu yöntem, zararlı organizmaların direnç geliştirmesine karşı etkin bir şekilde çalışmaktadır. Biyolojik mücadele, çevre dostu ve sürdürülebilir bir mücadele stratejisi olup kimyasal mücadele yöntemlerine göre daha az çevresel risk taşımaktadır. Doğal düşmanların kullanımı, çevre ve insan sağlığına zarar vermeden zararlı organizmaların kontrolünü sağlamaktadır. Bu yöntem, entegre tarım yönetimi içinde önemli bir yer tutmaktadır ve tarımsal üretimin sürdürülebilirliğine katkı sağlamaktadır (Schöller vd., 1997; Geiger vd., 2010; Torres ve Bueno, 2018; van Lenteren vd., 2018).

Biyolojik mücadele kapsamında bitki zararlıları ve hastalıklarını kontrol altında tutmak için kullanılan canlılara biyolojik mücadele ajanları da denmektedir. Biyolojik mücadele ajanları olarak, nematodlar, parazitoidler, predatörler, parazitler ve mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Bu ajanlardan, biyolojik mücadele kapsamında en yaygın olarak kullanılanlardan biri Entomopatojen Nematodlardır (EPN) (Hokkanen ve Pimentel, 1984; Pearson ve Callaway, 2003; De Clercq vd., 2011; Subedi vd., 2020).

EPN'ler 17. yüzyıldan itibaren tanınmaya başlanmıştır. Bu dönemde, nematodlarla ilgili temel araştırmalar ve keşifler gerçekleştirilmiştir. 1830'larda, bilim insanları nematodların varlığını tanımış ve bu mikroskobik organizmaları incelemeye başlamışlardır. O dönemde, EPN'lerin zararlı böcekler üzerindeki etkisi hakkında bilgiler elde edilmeye başlanmıştır. Buna rağmen 1990 yıllara kadar ticari anlamda ve etkin bir şekilde kullanımı ve kitle üretimi anlamından etkili bir çalışma görülmemiştir (Ehlers, 1996; Ehlers, 2001; Shapiro-Ilan ve Gaugler, 2002; Sajnaga ve Kazimierczak, 2020).

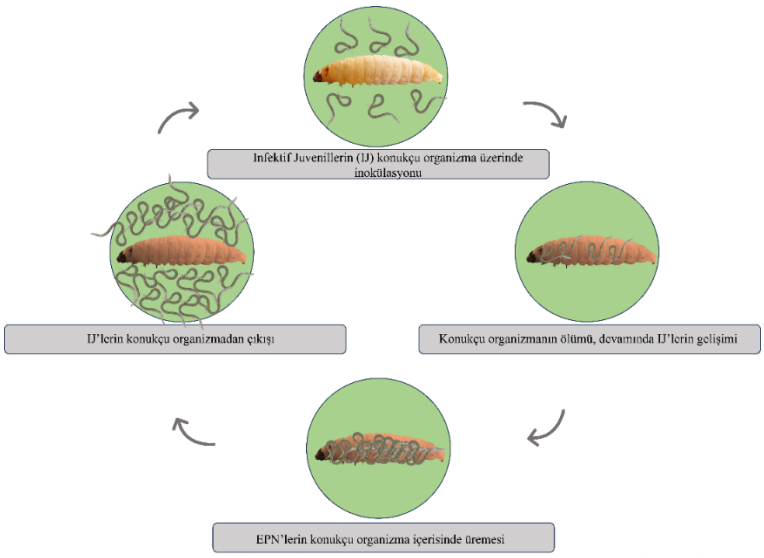
EPN'ler toprak içerisinde konukçu arayan obligat endoparazitik organizmalardır. Yaşamlarını devam ettirebilmek için konukçu bir böceğe ihtiyaç duymaktadırlar. EPN'lerin vücut yapıları, ince, segmentsiz, silindirik ve ipliksi bir yapıya sahiptir. Boyutları genellikle 0.5 ila 2.5 mm arasında değişir, bu da onları çıplak gözle görülmesini zorlaştıran mikroskobik organizmalar yapmaktadır (Ehlers, 2001; Lacey vd., 2001; Campbell vd., 2003; Susurluk ve Ehlers, 2008).

Nematodların, böcekleri parazitleme yeteneğine sahip 23 familyası varken bunlardan sadece 7 familya biyolojik mücadele amacıyla kullanılabilecek potansiyele sahiptir. Ticari olarak bitki zararlıları ile mücadelede kullanılabilen yalnızca 2 familya ya ait üyeler vardır. Bu familyalar Heterorhabditidae ve Steinernematidae olarak isimlendirilmiştir (Grewal vd., 1993; Kaya ve Gaugler, 1993; Ehlers, 2001; Susurluk, 2008; Susurluk ve Ulu, 2015).

EPN'ler taksonomik açıdan incelendiğinde Secernentea sınıfı, Rhabditia takımı, Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait türlerden oluştukları görülmektedir. Bu endoparazitik canlıların yaşam çemberleri, Yumurta, Juvenil 1, Juvenil 2, Juvenil 3 (İnfektif Juvenil), Juvenil 4, Ergin şeklinde ifade edilebilir (Boemare vd., 1996; Griffin, 1996; Noguez vd., 2012; Vashisth vd., 2013). Bu organizmalar yaşam döngülerini yalnızca konukçu üzerinde tamamlayabilmektedirler yani yaşamlarını devam ettirebilmeleri için konukçu bir böceğe ihtiyaç duymaktadırlar (Qiu ve Bedding, 2000; Ciche vd., 2006; Ulu ve Susurluk, 2014; Dede vd., 2022; Susurluk ve Bütüner, 2024).

Ancak Heterorhabditidae familyasına ait bireylerin yalnızca ilk dölü sonunda oluşan ergin bireyleri hermafrodit bireylerden oluşmaktadır. Bu durum Steinernematidae familyasına ait ergin üyelerde ise erkek ve dişi (amfimiktik) şeklinde görülmektedir. EPN'lerin Juvenil 3 dönemi olarak veya infektif juvenil (IJ) olarak bilinen döneminde konukçuları enfekte edebilme yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir

Konukçuyu enfekte edebilme yeteneğine sahip tek dönem olan IJ döneminde EPN'ler konukçuların doğal açıklıklarından (ağız, stigma, anüs vb.) veya varsa vücutlarındaki yaralardan konukçuya giriş yaparlar ve konukçu doku içerisinde beslenirler ve üreme faaliyetlerini gerçekleştirirler. Bunun sonucunda konukçu organizma yaklaşık olarak 36-48 saat içerisinde kan zehirlenmesi (septisemi) geçirerek ölmektedir (Griffin, 1996; Susurluk ve Ehlers, 2008; Ulu ve Susurluk, 2014; Bütüner ve Susurluk, 2023a) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Entomopatojen nematodların yaşam çemberi (Bütüner ve Susurluk, 2024)

Konukçunun ölmesine neden olan Heterorhabditidae familyası için, Heterorhabditidae familyası ile simbiyotik ilişki içerisinde olan gram negatif bir bakteri olan *Photorhabdus* spp. Steinernematidae familyası için, Steinernematidae familyası ile simbiyotik ilişki içerisinde olan gram negatif bir bakteri olan *Xenorhabdus* spp. neden olmaktadır (Forst vd., 1997; Ehlers vd., 2000; Ehlers vd., 2005; Ulu ve Susurluk, 2014).

Steinernematidae türleri konukçu organizmayı simbiyotik ilişki içerisinde oldukları bakteri olmaksızın öldürebilmesine rağmen konukçu içerisinde çoğalamamaktadır. Heterorhabditidae familyasına ait türler ise simbiyotik ilişki içerisinde oldukları gram negatif bakteriler olmaksızın konukçuları öldürme yeteneğinde değillerdir. *Xenorhabdus* spp. Steinernematidae familyasına ait bireylerin vücutları içerisinde özel bir kese içerisinde bulunurken, *Photorhabdus* spp. Heterorhabditidae familyasına ait bireylerin sindirim sistemi içerisinde dağılmış şekildedir (Peters, 1996; Gerritsen ve Smits, 1997; Lewis vd., 2006; Susurluk, 2008; Bütüner ve Susurluk, 2023a).

Entomopatojen nematodların üretimi iki şekilde gerçekleştirilmektedir. Bunlar, *in vivo* ve *in vitro* olarak 2'ye ayrılmaktadır. *In vitro* üretim katı ve sıvı ortamda üretim şeklinde ikiye ayrılmaktadır. *In vitro* üretim genellikle ticari olarak kitle üretim amacıyla daha çok tercih edilmektedir (Ehlers, 2001; Johnigk vd., 2002; Ali vd., 2008; Sharma vd., 2011).

In vivo üretim canlı bir organizma üzerinde üretim anlamına gelmektedir (Johnigk vd., 2002; Chen ve Glazer, 2005; Lacey ve Georgis, 2012). Bu yöntemde EPN'ler bir petri içerisinde bulunan konukçu böcek üzerine uygulanır. Enfeksiyon gerçekleştikten 3 gün sonra konukçu böcek White Trap (White, 1927) üzerine alınmaktadır. White Trap düzeneğine alınan konukçudan IJ'lerin çıkışı beklenir bu süre 7-14 günü bulabilir. Çıkışların hızının belirlenmesinde çevresel faktörlerin önemli bir rolü bulunmaktadır. Çıkışlar olduktan sonra White Trap üzerinden alınan IJ'ler 4-6 ºC' de saklanmaktadır (Grewal, 2000; Ehlers, 2001; Susurluk, 2008; Lacey ve Georgis, 2012).

Bu tez çalışmasında Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Nematoloji Laboratuvarında, üretilmiş olan Türkiye iklim koşullarına uyum sağlamış *Heterorhabditis bacteriophora* türünün üstün bir hibrit ırkı olan HBH kullanılmıştır. HBH hibrit ırkı *in vivo* ortamda üretilmiştir. Üretilen bu bireylerin tasarlanmış olan bir düzenek üzerinde seleksiyon ile konukçu arama davranışı yüksek bireylerinin elde edilmesi ve bunların bazı biyolojik farklılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Grewal vd. (1994), tarafından gerçekleştirilen çalışmada *H. bacteriophora, H. megidis, Steinernema anomali, S. glaseri, Steinernema carpocapsae, Steinernema scapterisci* ve *Steinernema feltiae* türlerinin konukçu arama davranışlarını incelemişlerdir. Bu çalışmada kum ile kaplı agar ve pürüzsüz agar kullanılmıştır. Kum ile kaplı agar üzerinde *H. bacteriophora, H. megidis, S. anomali, S. glaseri* gibi türlerin eşit mesafeler kat ettikleri görülmüştür. Buna karşın *S. carpocapsae* ve *S. scapterisci* gibi türlerin pürüzsüz agar üzerinde ve kum ile kaplı agar üzerinde daha kısa mesafe kat ettikleri görülmektedir.

Ramos-Rodriguez vd. (2006), tarafından gerçekleştirilen çalışmada *S. carpocapsae, S. glaseri* ve *S. riobrave* gibi farklı türlerin, enfekte olmuş ve enfekte olmamış konukçulara olan yönelimleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, enfekte olmuş larvalara karşı en düşük çekim *S. carpocapsae* türünde gözlemlenmiştir. En yüksek çekim ise *S. glaseri* türünde tespit edilmiştir. Bu bulgular, konukçu enfeksiyon durumunun enfeksiyon davranışını etkileyen faktörlerin, konukçu çekiciliğini takip eden konukçu-enfeksiyon sürecinin ilerleyen aşamalarında etkili olduğunu göstermektedir.

Lewis vd. (1995), tarafından gerçekleştirilmiş olan çalışmada, araştırmacılar, açlık durumundaki IJ'lerin (infektif juvenil) konukçu arama süreçlerindeki metabolizma hızları, avlanma stratejileri ve enerji depolaması arasındaki ilişkinin etkilerini incelemiştir. Bu bağlamda, üç farklı entomopatojen nematod türünün metabolik hızları, enerji depolama kapasiteleri ve enfeksiyon yetenekleri su ortamında incelenmiştir. *S. carpocapsae*, konukçu hücresine tuzak kurma stratejisi geliştirirken, *H. bacteriophora* ve *S. glaseri* konukçu arama eğiliminde olan türlerdir. *S. carpocapsae*, diğer iki türe kıyasla daha düşük metabolik hızlara sahipken, *H. bacteriophora* en yüksek metabolik hızlara sahip olanıdır. *S. glaseri* ise metabolik hız bakımından diğer iki nematod türünün arasında en yüksek seviyede bulunanıdır.

Lewis vd. (1992), tarafından gerçekleştirilmiş olan çalışmada *S. glaseri*, konukçu organizmaları bulmak için dolaşıcı bir strateji kullanırken, *S. carpocapsae* konukçu

organizmaları pusuya düşürmektedir. Yapılan çalışma ışığında *S. glaseri* gibi konukçularını gezerek arayan entomopatojen nematod türlerinin pusucu türlerden daha fazla kimyasal işaretlerde bulunduklarını belirlenmişlerdir. Bu türler ayrıca konukçu tercihleri açısından da incelendi. Entopatojen nematodlar, *Popillia japonica* veya *Spodoptera exiqua*'nın dışkısı, dış iskeleti veya besini ile temas ettikten sonra vermiş olduğu tepkiler incelendi. *S. glaseri*, seçilmiş konukçu tarafından belirtilen test içeriklerine tepki gösterdiği belirlendi. Buna karşın *S. carpocapsae*'nin test içeriklerine herhangi bir tepki ya da yönelim göstermediği belirlenmiştir.

Grewal vd. (1993), tarafından gerçekleştirilen çalışmada konukçuların kalıntılarıyla ilişkilendirilmiş deneysel ve doğal konukçular üzerine yapılan araştırmada, çeşitli EPN türlerinin farklı uyarıcılara nasıl tepki verdiği incelenmiştir. EPN'ler, konukçu arayışını agresif davranış, vücut hareketleri gibi deneysel parametrelerdeki değişikliklerle göstermiştir. *S. glaseri*, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera) ve *Popillia japonica* (Coleoptera) gibi doğal konukçularla birlikte *Acheata domesticus* (Orthoptera) ve *Blatella germanica* (Blattodea) gibi deneysel konukçuların artıklarıyla etkileşime girerek davranışsal tepkiler sergilemiştir. Vivo scapterisci deneyinde kullanılan farklı böcek türlerinin vücut artıklarına herhangi bir reaksiyon göstermediği gözlemlenmiştir. Ancak *S. carpocapsae*, sadece *B. germanica* vücut artıklarına karşı tepki vermiştir. Hamamböceği artıklarında bulunan amonyak, EPN'ler üzerinde inhibitör bir etki yaparak, sadece *S. scapterisci* dışındaki diğer nematod türlerinin kaçma tepkisine neden olmuştur.

Choo vd. (1989), yapılan çalışmada *Heterorhabditis heliothidis* ve *S. feltiae* türlerinin bitki kökleri varlığında konukçu arama ve bulma yetenekleri incelendi. Bitki kökleri olarak mısır, domates ve kadife çiçeği kökleri kullanıldı. 7 günlük bir süre boyunca, *H. heliothidis*'nin mısır, domates veya kadife çiçeği bitkilerinin kurutulmuş kök ağırlıkları 1.6 gramdan daha az olduğunda konak bulma yeteneği etkilenmedi. Benzer şekilde, *S. feltiae*'nin kurutulmuş kök ağırlıkları 3.6 gramdan daha az olduğunda konak bulma yeteneği bozulmadı. *H. heliothidis* için 1.5 gramdan fazla olan kökler ile kontrol grupları arasında anlamlı farklar gözlemlenmesine rağmen, bu EPN türü, köklerin varlığında *S. feltiae*'ye göre daha fazla hareket kabiliyetine ve dolayısıyla daha yüksek konak bulma

yeteneğine sahipti. Bu durum, konak ölümlerinin daha kısa bir süre içinde, daha yüksek oranlarla ve daha az nematodla gerçekleştiği anlamına gelir.

Stevens vd. (2023), tarafından gerçekleştirilmiş olan çalışmada, EPN'ler genellikle gruplar halinde bulunma eğilimindedir. Ancak bu davranışlarının nedenini ve nasıl bir rol oynadığını tam olarak anlaşılmayan yönler bulunmaktadır. Bu endoparazitik organizmaların neden gruplar halinde toplandığını anlamak için özellikle *S. glaseri* türü incelenmiştir. Hem kendi türleri arasında (*S. glaseri*) hem de farklı türlerle (*S. carpocapsae* ve *S. feltiae*) bir arada bulundukları durumda nasıl hareket ettikleri değerlendirilmiştir. Bunun için özel bir düzenek (olfaktometre) kullanılarak hareketler izlenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, *S. glaseri* besin (konukçu) izleri olsun ya da olmasın genellikle bir arada bulunma eğilimindedir. Olfaktometrenin uçlarında bulunan diğer *S. glaseri* türleri özellikle daha önce konukçu temasında bulunmuşsa, diğer *S. glaseri* bireyleri bu gruplara katılmak için hareket etmeye eğilim gösterilmiştir. Uçlarda farklı türlerde EPN'lerin varlığında ise, *S. glaseri* türleri genellikle daha önce konukçu teması yaşanmış *S. feltiae* türlerinin bulunduğu gruplara katılmayı tercih ettikleri görülmüştür. Ancak *S. carpocapsae* türü bireylerinin bulunduğu gruplara konukçu ile temas yaşamasına bakılmazsızın yönelim göstermedikleri görülmüştür. Bulgular, bu davranışların konukçulara etkili bir şekilde saldırmak için daha iyi iş birliği yapmalarına yardımcı olabileceği ve böcekleri enfekte eden diğer türlerle rekabeti düzenleyebileceği düşünülmektedir.

Lewis vd. (1997), yaptıkları çalışmada, *S. carpocapsae* IJ davranışlarının yaşla birlikte değiştiğini belirlemişlerdir. Enfeksiyon sonucunda konukçudan çıktıktan hemen sonra, *S. carpocapsae* IJ'leri daha çok pusucu bir davranış sergilerler. Bu davranış, konukçu bulma (pusuya düşürme) başarısını artırır. Konukçudan çıkıştan iki ila dört hafta sonra hareket kabiliyetleri artar ve pusucu özelliklerinde bir azalma görülmüştür. Pusuya düşürme başarı oranının yaşla birlikte azaldığını, ancak *S. carpocapsae* IJ'lerde görülen daha çok hareketli durumun konukçuları enfekte etme anlamında başarı oranında bir artış olmadığını belirlemişlerdir.

Lee vd. (2016), tarafından yapılan çalışmada IJ'lerin konukçu arama davranışlarının, yetiştirme sıcaklığına bağlı olarak nasıl değişebileceğini incelemişlerdir. Yapılan araştırma sonuçlarına göre, IJ'lerin kokulara yönelim davranışlarının yetiştirme sıcaklığına göre son derece değişken olduğunu göstermektedir. Daha düşük sıcaklıklarda yetiştirilen IJ'ler için çekici olan koku türleri, daha yüksek sıcaklıklarda yetiştirilenler için itici hale gelebilmektedir. Bu değişiklikler, günler veya haftalar içinde yavaşça meydana gelir ve geri döndürülebilir oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, bazı EPN türleri, IJ yaşına bağlı olarak da benzer kokulara yönelim davranışlarında değişiklikler görülebilmektedir. Bunun yanı sıra, EPN'lerin konukçu arama stratejileri de sıcaklığa bağlı olarak değişebilmektedir. Daha düşük sıcaklıklarda yetiştirilen IJ'ler, daha aktif bir şekilde konak arama davranışı sergilerken, daha yüksek sıcaklıklarda yetiştirilenler daha pasif davranışlar sergileyebilirler.

Dede vd. (2022), tarafından yapılan çalışmada *H. bacteriophora* IJ'lerinin farklı sıcaklık değerlerin *Loxostege sticticalis* L. larvaları üzerinde oluşturduğu etkinlik belirlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda *H. bacteriophora* IJ'lerinin denemede kullanılan düşük sıcaklık değerlerinde etkinlik oranında bir azalma meydana gelmiştir. En çok ölüm oranı IJ'lerin uygulandığı doz da göz önünde bulundurulduğunda 30 ºC' de meydana gelmiştir. Susurluk (2008), gerçekleştirdiği çalışmada, farklı EPN türlerinin *G.mellonella* larvalarının varlığı ve yokluğunda yönelimleri farklı sıcaklıklarda değerlendirildi. Sonuç olarak farklı sıcaklık ve konukçunun varlığı farklı EPN türlerinin yönelimini etkilediği belirlendi.

Susurluk vd. (2003), yaptıkları çalışmada iki farklı *H. bacteriophora* izolatını *G. mellonella* larvalarına yönelimini 25 °C' de farklı sürelerde değerlendirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre aynı tür olmasına rağmen farklı izolatlarda yönelimin farklılık gösterebileceğini belirtmişlerdir. Benzer bir şekilde, Susurluk ve ark. (2009), tarafından yapılan çalışmada farklı EPN izolatlarının *Dorcadion pseudopreissi* (Coleoptera: Cerambycidae) larvası üzerinde yönelimleri ve etkinlikleri değerlendirilmiştir. Tür ve izolatlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar elde edilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Laboratuvar ortamında *Galleria mellonella* Larvalarının Üretimi

Bu çalışma kapsamında, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) test böceği kullanılmıştır. Bu böcek, yaygın olarak balmumu güvesi veya petek güvesi olarak bilinmektedir. Bu böceğin son dönem larvaları (6. Dönem), EPN'lere karşı duyarlılık açısından en uygun konukçu türlerden biri olarak belirlenmiştir ve bu tez çalışmasında bu larvaların değerlendirilmesi yapılmıştır (Kung vd., 1991; Glazer, 1997).



Şekil 3.1. İnkübatör içerisinde 28-30 °C'de stabil koşullarda üretilen *G. mellonella* kültürleri (Bütüner ve Susurluk, 2024)

Bu denemede, böcekler 28-30 ºC sıcaklıkta sabitlenmiş inkübatörlerde cam kavanozlar içerisinde yetiştirilmektedir (Şekil 3.1). Cam kavanozlar sık gözenekli tellerle (1.5-2 mm) kaplanmış ve kelepçe ile sıkıştırılmıştır, böylece larvaların dışarıya kaçışı engellenmektedir (Şekil 3.2). Petek güvesi yumurtaları ve larva besini cam kavanozlara eklenir. Larva besini olarak süt tozu, gliserin, kepek, mısır unu, soya unu, maya ve bal karışımı kullanılmıştır (Eischen ve Dietz, 1990; Metwally vd., 2012).

Besin içeriği ayrıntıları tabloda sunulmuştur (Çizelge 3.1). Yumurtaların açılmasıyla başlayan süreç, 4 haftanın sonunda 6. dönem larva evresine erişmektedir. Bu son dönem larvalar, yemden ayıklanarak EPN'lerin çoğalma ve aktivitelerinin araştırılmasında kullanılmıştır. Sürdürülebilirlik amacıyla belirli sayıda larva alınarak pupa evresine geçirilmiş; böylece ergin bireyler elde edilmiş ve yumurta bırakmaları sağlanmıştır. Yumurtalar, önceden hazırlanan kağıtlar bırakılır ve elde edilen yumurtalar yeni bir besi ortamında toplanır.



Şekil 3.2. Besin ortamını içerisindeki *G. mellonella*' ların görünümü
(Bütüner ve Susurluk, 2024)

3.1.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Besininin Hazırlanışı

İlk olarak, karıştırma kabında soya unu, mısır unu, süt tozu ve kepek bir araya getirilmiştir. Gliserin ve bal, önceden ısıtılmış bir tencerede hot-plate (180 ℃) kullanılarak kaynatılmıştır. Bu sırada, maya da eklenerek tamamen çözülene kadar karıştırılmıştır. Daha sonra, diğer bileşenler yavaşça tencereye ilave edilmiştir. Malzemelerin eklenmesi esnasında dikkatlice karıştırılarak homojen bir karışım elde edilmiştir. En son aşamada, hazırlanan yem soğuması için bırakılmıştır.

Çizelge 3.1. *G. mellonella* Besini Bileşenleri

Kepek	%20
Mısır Unu	%15
Bal	%20
Süt Tozu	%10
Soya Unu	%10
Gliserin	%20
Maya	%5

3.2. Laboratuvar Ortamında *Tenebrio molitor* Larvalarının Üretimi

Çalışma kapsamında, yalnızca seleksiyon sonucu elde edilecek olan bireylerin ve HBH Hibrit Irkının etkinliklerinin belirlenmesi aşamasında kullanılacak olan *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) veya un kurdu olarak da bilinen bu böcek 26 ± 2 ◦C sıcaklıkta ve 16–8 (Aydınlık-Karanlık) fotoperiyotta yetiştirilmiş (Bütüner vd., 2024) ve larvalar buğday kepeği ile beslenmiştir. *T. molitor* larvalarının 15. dönemi (Morales-Ramos vd., 2015) etkinlik amacı ile kullanılmıştır.

3.3. *Heterorhabditis bacteriophora* Hibrit Irkı (HBH)

Bu araştırma kapsamında, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü Nematoloji laboratuvarında yetiştirilen ve ülke koşullarına uyum sağlamış üstün bir hibrit ırk olan *Heterorhabditis bacteriophora* HBH (TPMK Patent No: TR 2013 06141 B) kullanılmıştır. *Heterorhabditis bacteriophora* hibrit ırkı, laboratuvar koşullarında *in vivo* üretim adımlarına bağlı olarak geliştirilmiştir (Kaya ve Stock, 1997). HBH ırkının IJ bireyleri, *G. mellonella* üzerinde yetiştirilip 4-6 ºC' deki soğutucuda saklanmıştır (Şekil 3.3). Kültürlerin bulaşmasını engellemek ve saprofit mikroorganizma üremesini önlemek için Ringer solüsyonu kullanılarak depolanmıştır (Ringers, 1882) (Çizelge 3.2) (Şekil 3.4). Ek olarak bu çalışmada kullanılan HBH Hibrit Irkı, HBH Stok (Ata Kültür) olarak isimlendirilirken, seleksiyon sonucu elde edilen bireyler ise HBH Plus olarak isimlendirilmiştir.

Çizelge 3.2. Ringer Solüsyon İçeriği

Kimyasal Maddeler	Miktar (g)
NaCl	9.00
Saf Su	1000
KCl	0.42
$CaCl_2x2H_2O$	0.37
$NaHCO_3$	0.20



Şekil 3.3. Stok HBH kültürlerinin genel görünümü (Bütüner ve Susurluk, 2024)



Şekil 3.4. Seleksiyon sonucu elde edilen HBH kültürlerinin stoklanması (Bütüner ve Susurluk, 2024)

Entomopatojen nematodların etkinliği üzerine yapılan araştırmalarda genellikle larvalar üzerine uygulanacak IJ sayısı büyük bir önem taşır. Bu sebeple, flasklar içinde bulunan IJ miktarı belirlenmiş ve sonrasında dozaj hesaplamaları yapılmıştır. Dozaj hesaplamaları için, 20 µl sıvı mikropipet kullanılarak alınmış ve sayım kabına aktarılmıştır. Ardından, Ringer solüsyonu eklenerek nazikçe çalkalanmış ve IJ'lerin sayım kabında homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Daha sonra alınan örnek, stereo mikroskop altında sayılmıştır. Bu adım beş kez tekrarlanmıştır. 20 µl içinde ortalama IJ sayısı hesaplanmış ve flask üzerine not edilmiştir.

3.4. *In vivo* Ortamda HBH Üretimi

Enfeksiyon işlemi, toplamda 24 kuyucuğa sahip olan plateler içerisinde gerçekleştirilmiştir. Her bir kuyucuğun derinliği 2 cm, çapı ise 1.5 cm'dir. Her bir kuyucuğa ortalama olarak 1 larva eklenmiş ve üzerleri steril Ringer solüsyonu ile %10 oranında nemlendirilmiş olan steril kum ile doldurulmuştur. Ardından, yaklaşık olarak 30 IJ/larva dozunda IJ inokülasyonu yapmak için larvalar eklenmiş ve kuyucuklar kum ile örtülmüştür. Devamında IJ toprağa uygulanmış ve Parafilm kullanılarak platelerin kapakları kapatılmıştır (Şekil 3.5). Plateler, 4 gün boyunca 25°C'de inkübe edilmiştir. 4 gün sonra, enfekte olan larvalar steril Ringer solüsyonu ile yıkanmış ve ardından White trap üzerine yerleştirilmiştir. White Trap düzeneği için çapları 6 cm ve 9 cm olan Petri kapları tercih edilmiştir. 9 cm çaplı Petri kaplarına, içine 6 cm çapında bir Petri kapağı yerleştirilmiş ve üstü filtre kağıdı ile kapatılmıştır. Devamında petri içerisine 20 ml steril Ringer solüsyonu eklenerek kapatılmıştır (Şekil 3.6). 10 gün sonra, enfekte larvalardan yeni nesil IJ'lerin biriktiği steril Ringer solüsyonu, pastör pipeti yardımıyla 200 ml'lik flasklara aktarılmıştır. Bu nesil, çalışmada kullanılmak üzere 4-6°C'de buzdolabında saklanmıştır.



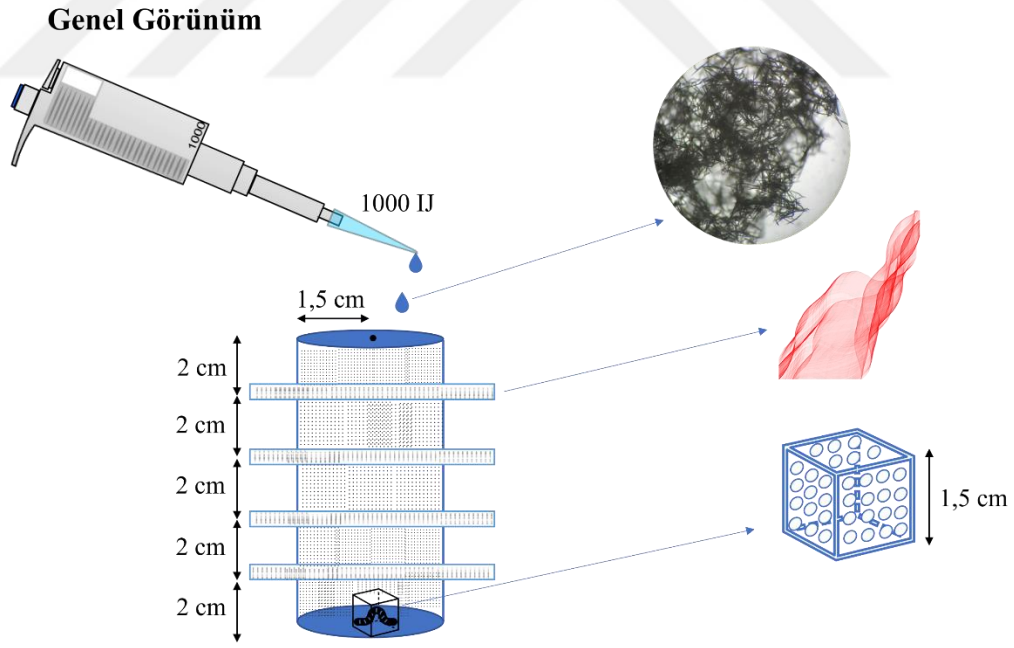
Şekil 3.5. Plate içerisinde HBH inokülasyonu (Bütüner ve Susurluk, 2024)



Şekil 3.6. White Trap üzerine alınmış olan son dönem *G. mellonella* larvaları (Bütüner ve Susurluk, 2024)

3.5. Deneme Düzeneği

Böceklerin veya EPN'lerin farklı uyarıcılara yönelimlerini gözlemlemek amacıyla olfaktometre düzenekleri yaygınlıkla kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar ile farklı olfaktometre düzeneklerinin özellikle farklı deneklerin kokulara yönelimini incelemek amacıyla kullanımının oldukça tutarlı sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur (Turling vd., 2012). Denemelerde kullanılmak amacıyla silindir şeklinde özel olarak tasarlanmış olan düzeneğin uzunluğu 10 cm olarak, çapı ise 3 cm olarak belirlenmiştir. Uzunluğu 10 cm olarak belirlenen bu düzenek birbirine geçmeli şekilde 5 bölümden oluşmaktadır. Her bölmenin yüksekliği 2 cm'dir. Her bölüm içerisinde bulunan bileşenlerin birbirine karışmaması amacıyla bölümler arasına tül bez yerleştirilmiştir. Düzeneğin en alt kısmında ise larvanın düzenek içerisinde dolaşmaması amacıyla yerleştirildiği 1,5 cm kenar uzunluğuna sahip olan bir plastik küp şeklinde kafes bulunmaktadır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Deney düzeneğinin simüle şeklinde genel yapısı (Bütüner ve Susurluk, 2024)

Galleria mellonella son dönem larvasının da bulunduğu plastik kafes içerisine %10 saf su ile nemlendirilmiş olan silis kumu doldurulmuş ve kafes kapatılmıştır. Bu kafes düzeneğin en alt kısmına yerleştirilip düzenek içerisi de tümüyle %10 saf su ile nemlendirilmiş olan silis kumu kullanılarak doldurulmuştur. Devamında düzeneğin en üst kısmından mikropipet kullanılarak 1000±30 IJ uygulanmış ve düzeneğin kapağı kapatılmıştır. Sonrasında düzenek 25 ºC sıcaklıkta sabitlenmiş inkübatörlere alınmış. Böylece inokülasyon işlemi başlatılmıştır (Şekil 3.8)



Şekil 3.8. İçerisine steril kum yerleştirilmiş şekliyle deneye hazır hale getirilmiş düzenek (Bütüner ve Susurluk, 2024)

İnokülasyon işlemi başladıktan yaklaşık 2-3 gün sonunda düzeneğin alt kısmından *G. mellonella* larvasının enfekte olma durumu incelenip (Şekil 3.9), enfeksiyon gerçekleştikten sonra larva düzenek içerisinden alınıp White trap düzeneğine yerleştirilip yeni IJ çıkışları için 10-14 gün beklenmiştir. Devamında düzenekte her bölme içerisinde bulunan kumlar, tüller yardımı ile birbirine karıştırılmadan dikkat edilerek açılmıştır. Her bölmeden elde edilen silis kumu ayrı ayrı elekler üzerinde yıkanmış ve EPN'lerin dağılımları belirlenmiştir. IJ çıkışları sonucunda hasat edilen yeni IJ'ler flasklara alınıp, tekrardan aynı işlemler gerçekleştirilip yeni IJ'lerin çıkışı beklenmiştir (Şekil 3.10). Bu işlemler 5 dölün elde edilmesi ile sonlandırılmış olup bu işlem 3 tekerrür şeklinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.9. Düzenek içerisinde enfekte olmuş olan *G. mellonella* son dönem larvası görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)



Şekil 3.10. Düzenek içerisinde enfekte olmuş olan *G. mellonella* son dönem larvalarının ayrı bir şekilde White Trap düzeneğine alınması (Bütüner ve Susurluk, 2024)

3.5.1. Silis Kumu

Silis kumu, doğada bol miktarda bulunan ve endüstriyel birçok alanda kullanılan bir mineral olan silisyum dioksitin granüler formudur. Bu mineral, çeşitli jeolojik oluşumlar içinde, sahil kumsallarında ve çöllerde yaygın olarak bulunur. Silis kumu, hem doğal yapısı hem de özellikleri nedeniyle cam, seramik, beton gibi endüstriyel ürünlerin üretiminde önemli bir rol oynamaktadır. Yaygın olarak akvaryum kumu olarak da kullanılmaktadır (Terzi vd., 2016; Akoğuz vd., 2018). Bu tez çalışmasında 0.5 mm çapında Beyaz Silis Kumu kullanılmıştır.

3.6. Seleksiyon Sonucunda Elde Edilen Bireylerin Biyolojik Farklılıklarının Belirlenmesi

5 Döl sonunda elde edilen IJ'ler tez çalışmasının 2. aşamasında;

- Etkinlik
- IJ uzunluğu
- Hermafrodit bireylerin uzunluğu
- Yumurta çapı
- Üreme gücü hesaplamasında

kullanılmak üzere flasklara alınmıştır. 6 ºC sabit koşullarda saklanmıştır. Flaskların üzerine etiketler kullanılarak 20 µl solüsyon içerisinde ortalama kaç adet IJ bulunduğu belirtilmiştir.

3.6.1. Etkinlik Denemesi

Seleksiyon sonucunda elde edilen bireylerin etkinliğinin belirlenmesi için *G. mellonella* son dönem larvaları ve *T. molitor* 15-16. dönem larvaları kullanılmıştır. 24'lü doku kültür platelerinin içerisi %10 nemli steril silis kumu ile doldurulduu. Devamında son dönem *G. mellonella* ve *T. molitor* larvaları ayrı platelere yerleştirildi. Her kuyucukta bulunan bir larva üzerine mikropipet yardımı ile 20 IJ dozunda solüsyon uygulanmış ve plateler kapatılarak parafilm ile bantlanmıştır. 24 kuyucuklu doku kültür kabında bulunan larvalar 25 ºC'de 3 gün boyunca inkübe edildi. Kontrol amacı ile stok kültür olan ata kültürler kullanıldı. Aynı süreç kontrol grubu içinde gerçekleştirildi. Bu çalışma, 3 tekerrür olarak gerçekleştirildi. Her bir tekerrürde ise 10 adet *G. mellonella* ve *T. molitor* larvaları kullanıldı. Kontrol grubu olarak ise stok kültür yani ata kültür belirlenmiştir.

3.6.2. IJ Uzunluğunun Belirlenmesi

Tasarlanmış düzenek üzerinde 5 döl sonunda elde edilen konukçu arama davranışı yüksek IJ'ler Leica DM500® binoküler mikroskop kullanılarak incelenmiştir (Şekil 3.11). Devamında mikroskopa entegre şekilde çalışan Leica DFC295® renkli dijital kamera kullanılarak, mikroskoptaki görüntü anlık olarak bilgisayara aktarılmıştır. Leica Application Suite Version 3.6® (LAS V3.6®) programı kullanılarak bilgisayara aktarılan görüntü bu program üzerinde işlenmiştir ve IJ'lerin uzunluğu mikron cinsinden belirlenmiştir. Bu çalışma 3 tekerrür şeklinde gerçekleştirilmiş, her tekerrürde ise 20 ölçüm değeri kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak ise stok kültür yani ata kültür belirlenmiştir.



Şekil 3.11. İnfektif Juvenil (IJ) anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)

3.6.3. Hermafrodit Bireylerin ve Yumurta Çapları Uzunluğunun Belirlenmesi

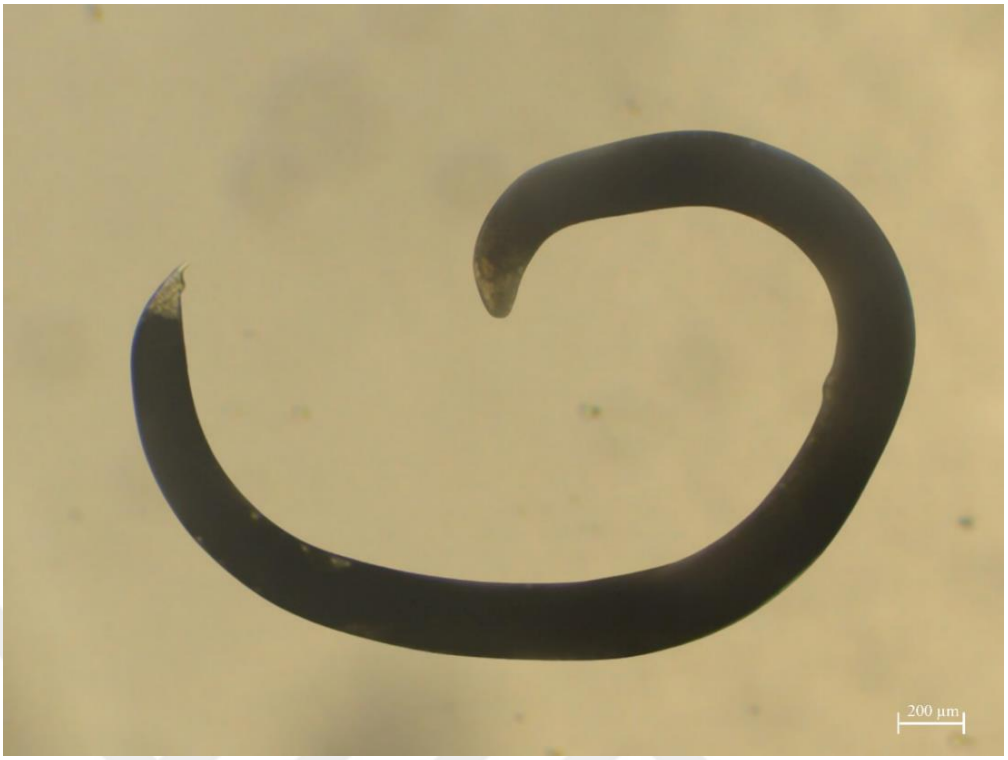
24 Kuyucuklu doku kültür kapları içerisine yerleştirilmiş olan 6. dönem *G. mellonella* larvalarının üzerleri %10 nemli steril kum ile örtülmüştür. Devamında konukçu arama davranışı yüksek bireylerden elde edilen IJ'ler, her *G. mellonella* larvası başına 100 IJ dozunda uygulanmıştır. Enfekte olmuş olan *G. mellonella* larvaları, White Trap üzerine alınmıştır. Bu işlemden 2 gün sonrasında larvalar White Trap düzeneğinden alınıp disekte edilmiştir. Bu işlem sonucunda elde edilen Hermafrodit bireyler (Şekil 3.12) ve yumurtaları (Şekil 3.13) Leica DM500® binoküler mikroskop altında incelenmiştir (Şekil 3.14). Anlık olarak mikroskoptan alınan görüntüler Leica DFC295® renkli dijital kamera yardımı ile bilgisayara aktarılmıştır. Elde edilen görüntüler üzerindeki hermafrodit bireylerin vücut uzunlukları ve yumurta çapları Leica Application Suite Version 3.6® (LAS V3.6®) programı kullanılarak anlık olarak analiz edilmiştir (Şekil 3.15). Bu çalışma 3 tekerrür şeklinde gerçekleştirilmiş, her tekerrürde ise 20 ölçüm değeri kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak ise ata kültür belirlenmiştir.



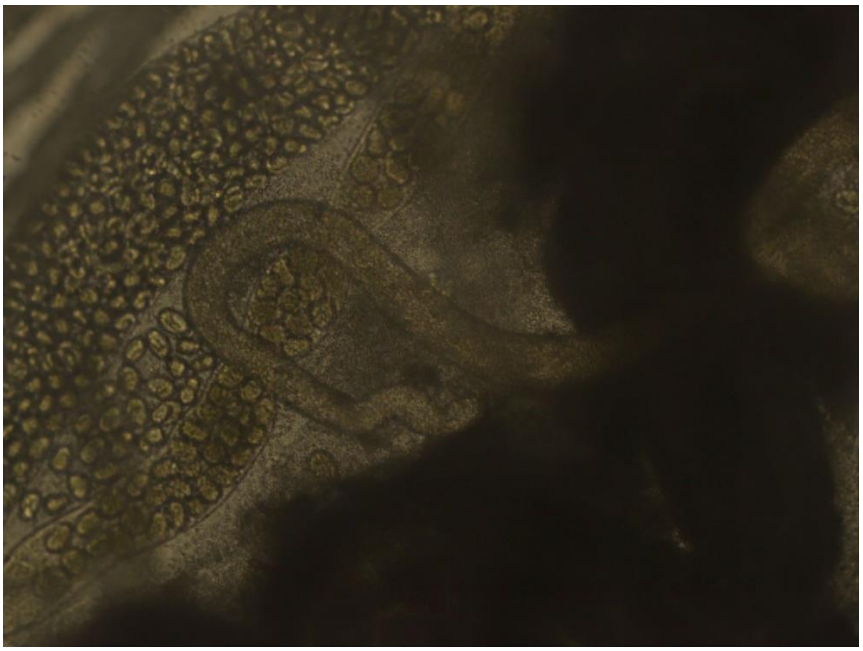
Şekil 3.12. Elde edilen hermafrodit bireyin anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)



Şekil 3.13. Elde edilen hermafrodit bireyin ve vücudundan dağılan yumurtaların anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)



Şekil 3.14. Hermafrodit bireyin anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)



Şekil 3.15. Hermafrodit bireylerin yumurtalarının anlık görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2024)

3.6.4. Üreme Güçlerinin Belirlenmesi

Çalışmanın bu aşaması genel olarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir. Öncelikle 5 döl sonunda elde edilen IJ'ler her biri 300±20 mg ortalama ağırlığa ve yaklaşık olarak 2 cm uzunluğa sahip olan *G. mellonella* son dönem larvaları üzerine 100 IJ dozunda uygulandı. İnokülasyon sonucunda enfekte olan larvalar White trap düzeneklerine alındı. White Trap düzeneğine alındıktan 10-14 gün sonrasında ortaya çıkan IJ miktarı, bu özelliklere sahip larvalardan elde edilen toplam IJsayısı olarak belirlendi (Şekil 3.16). Bu çalışma 3 tekerrür şeklinde gerçekleştirilmiş, her tekerrürde ise 10 *G. mellonella* larvası kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak ise ata kültür belirlenmiştir.



Şekil 3.16. IJ'lerin mikroskopta görüntüsü (Bütüner ve Susurluk, 2023)

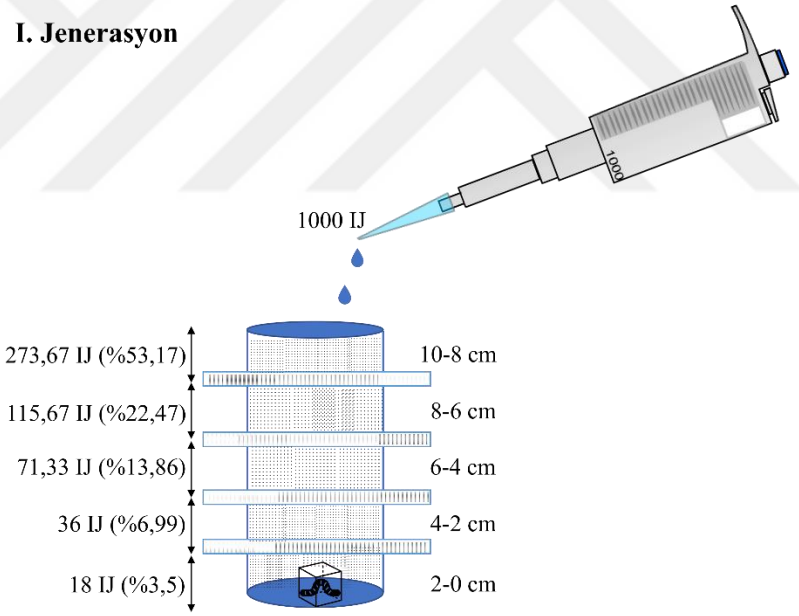
3.7. İstatistiksel Analiz

Entomopatojen nematod *H. bacteriophora* HBH Hibrit Irkının konukçu arama davranışı yüksek bireylerinin elde edilmesinde ve bunların bazı biyolojik farklılıklarının istatistiksel olarak anlamlı farklılıklarını belirlemesi amacıyla Tukey T-test yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada gerçekleştirilen tüm analizler JMP Pro 16.0.0® ve Minitab 21.4.1® analiz programı aracılığıyla yapılmıştır. Ek olarak çalışmada kullanılan şekil ve grafikler Adobe Illustrator® ve Golden Software® algoritmaları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

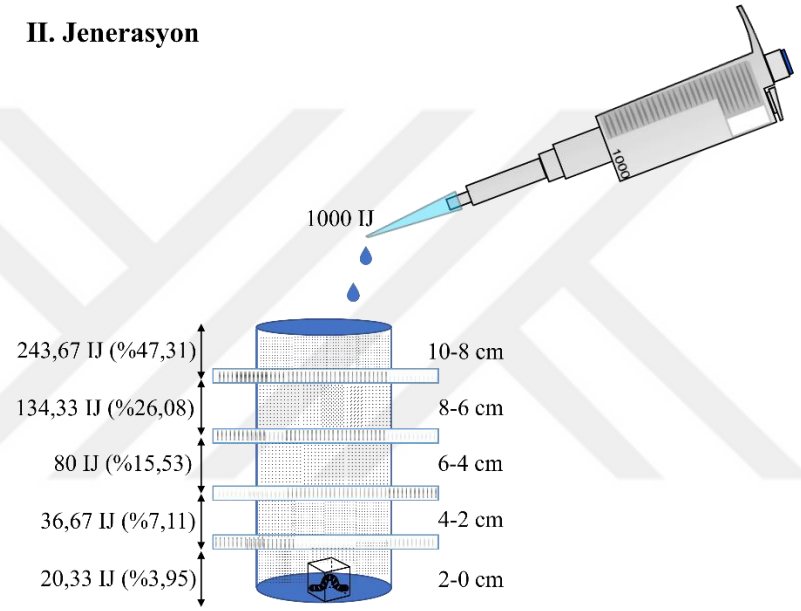
4.1. Konukçu Arama Davranışı Yüksek Olan Bireylerin Elde Edilmesi

Elde edilen verilere göre, 1. dölün elde edilmesi için düzeneğin en üst kısmından salınan IJ'ler larvanın enfekte olması sonrasında bölmelere göre bulunma miktarları ortalama olarak elek yöntemi ile belirlenmiştir. 10-8 cm aralığında en yoğun IJ popülasyonu görülmüştür. Bu değer 273,67 IJ olarak belirlenmiştir. Bu durum 8-6 cm aralığında 115,67 IJ olarak belirlenmiştir. 6-4 cm aralığında belirlenen IJ sayısı 71,33 dür. 4-2 cm aralığında 36 IJ belirlenmiştir. En az IJ dağılımının ise larvanın da içerisinde bulunduğu kafesin olduğu bölmede (2-0 cm) 18 IJ olarak görülmüştür (Şekil 4.1).



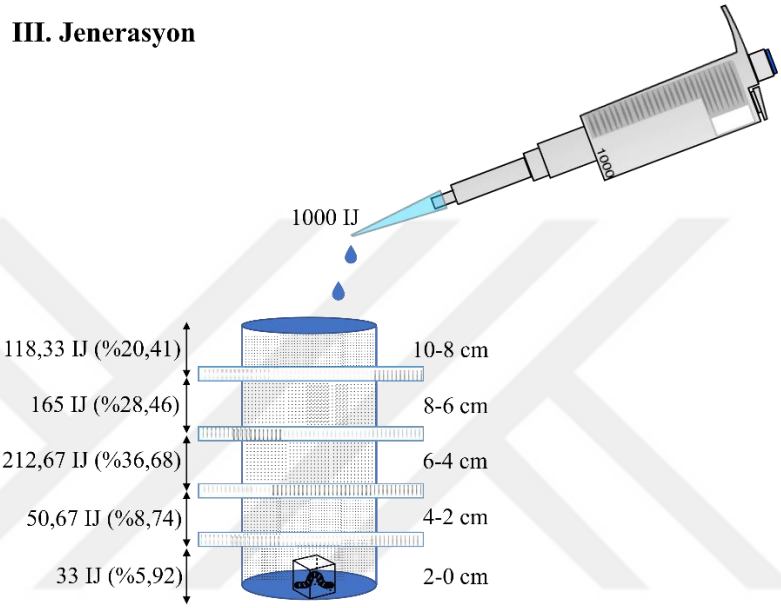
Şekil 4.1. 1. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir

Elde edilen verilere göre, 2. dölün elde edilmesi için düzeneğin en üstünden salınan IJ'ler, larva enfekte olduktan sonra düzenek içerisinde dağılımı belirlenmiştir. 10-8 cm aralığında IJ yoğunluğunun 1. Jenerasyona benzer bir şekilde en fazla olduğu görülmüştür. IJ miktarı ortalama olarak 243,67 IJ olarak belirlenmiştir. Bu durum 8-6 cm aralığında 134,33 IJ olarak belirlenmiştir. 6-4 cm aralığında belirlenen IJ sayısı 80 dür. 4-2 cm aralığında 36,67 IJ belirlenmiştir. Bu değerler 2-0 cm için 20,33 IJ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.2).



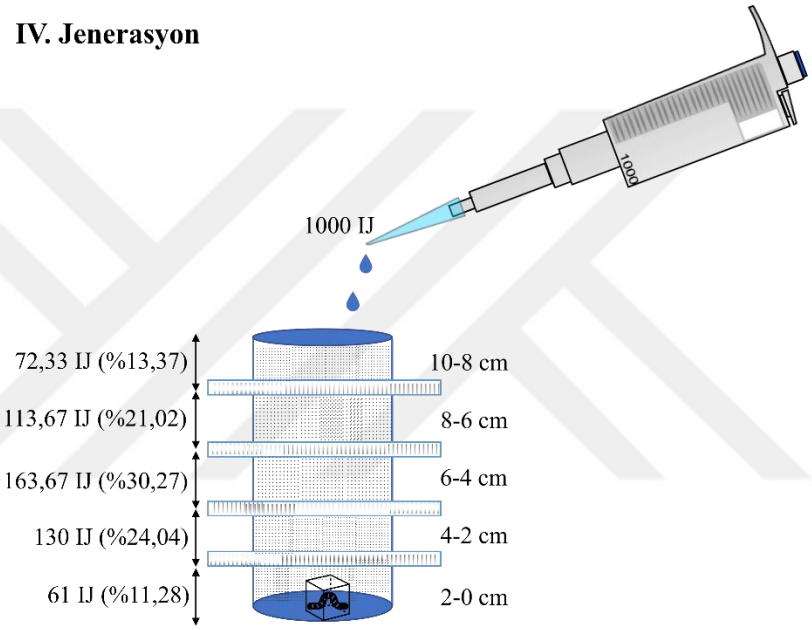
Şekil 4.2. 2. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir

3. dölün elde edilmesi için düzeneğin en üstünden salınan IJ'ler, larva enfekte olduktan sonra düzenek içerisinde dağılımı belirlenmiştir. 10-8 cm aralığında IJ yoğunluğunun ortalama olarak 118,33 IJ şeklinde belirlenmiştir. Bu durum 8-6 cm aralığında 165 IJ olarak belirlenmiştir. 6-4 cm aralığında belirlenen IJ sayısı 212,67 dir. 4-2 cm aralığında 50,67 IJ belirlenmiştir. Bu değerler 2-0 cm için 33 IJ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3).



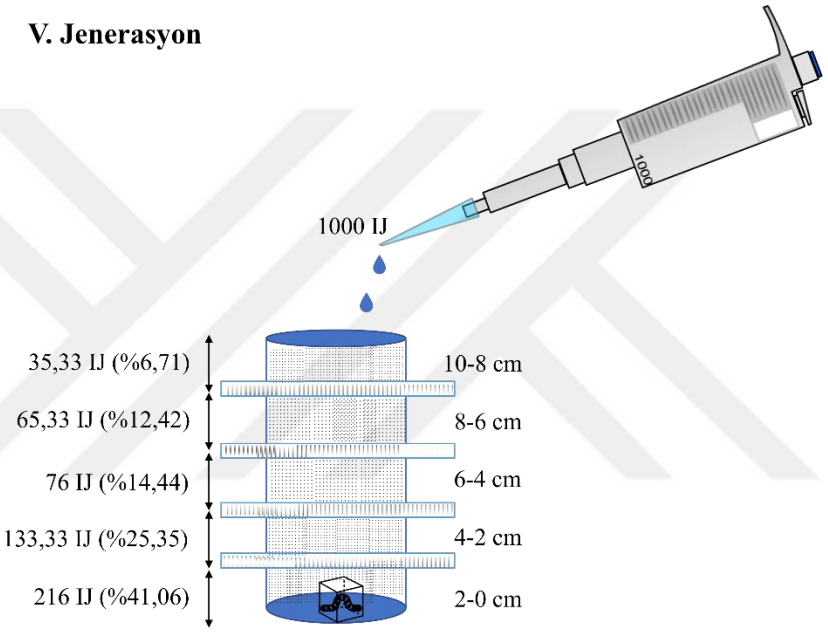
Şekil 4.3. 3. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir

4. dölün elde edilmesi için düzeneğin en üstünden salınan IJ'ler, larva enfekte olduktan sonra düzenek içerisinde dağılımı incelendiğinde 10-8 cm aralığında IJ yoğunluğunun ortalama olarak 72,33 IJ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler 8-6 cm aralığında ortalama 113,67 IJ olarak belirlenmiştir. 6-4 cm aralığında belirlenen IJ sayısı 163,67 dir. 4-2 cm aralığında ortalama olarak 130 IJ belirlenmiştir. Bu değerler 2-0 cm için 61 IJ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4).

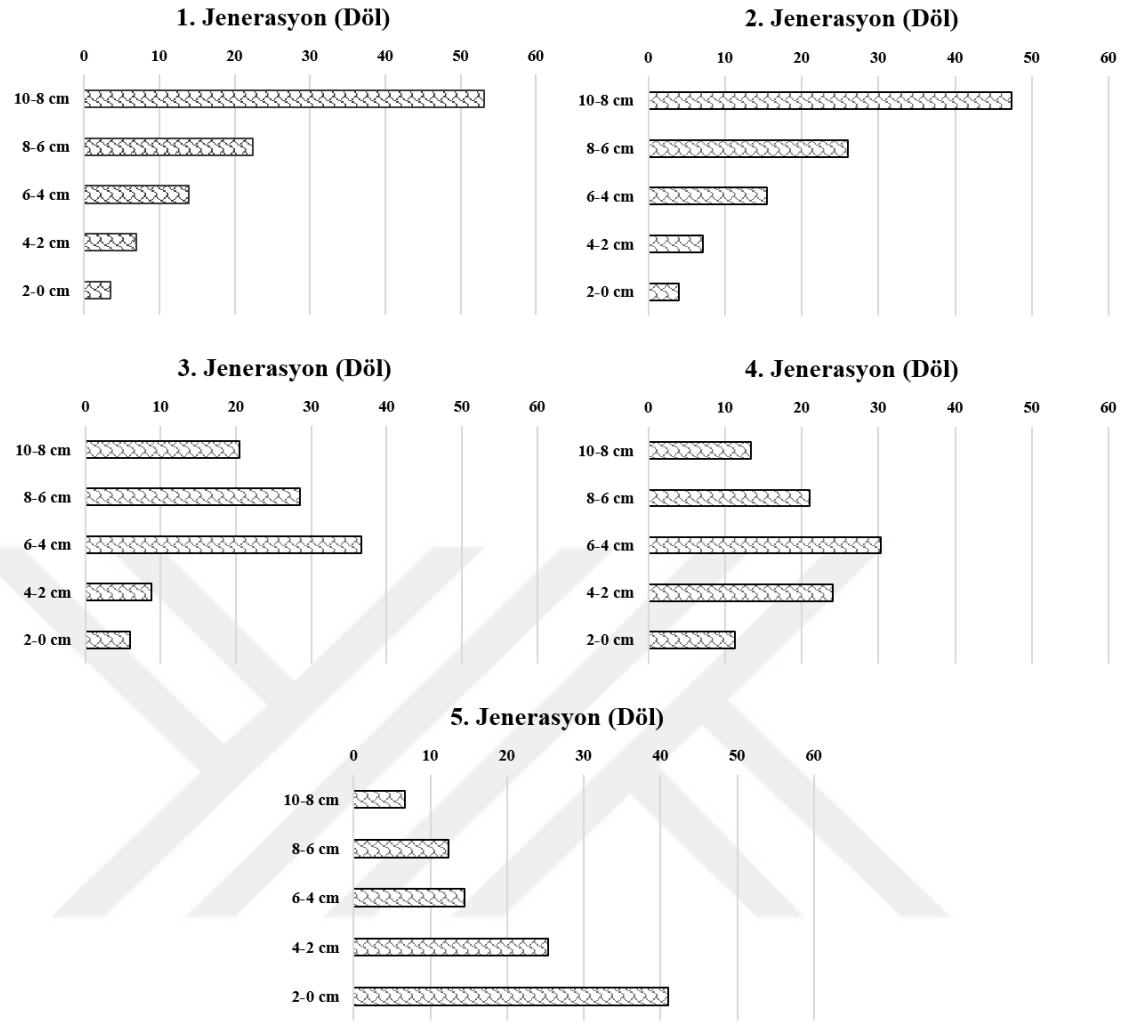


Şekil 4.4. 4. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir

Son olarak 5. dölün elde edilemesi için düzeneğin en üstünden salınan IJ'ler, larva enfekte olduktan sonra düzenek içerisinde dağılımı incelendiğinde 10-8 cm aralığında IJ yoğunluğunun ortalama olarak 35,33 IJ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler 8-6 cm aralığında ortalama 65,33 IJ olarak belirlenmiştir. 6-4 cm aralığında belirlenen IJ sayısı 76 dır. 4-2 cm aralığında ortalama olarak 133,33 IJ belirlenmiştir. En yüksek IJ dağılımı ise 2-0 cm için ortalama olarak 216 IJ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5). Genel olarak tüm sonuçlar toplu bir şekilde Şekil 4.6.' da belirtilmiştir.



Şekil 4.5. 5. döl için elek yöntemi ile elde edilen IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. "%" değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir

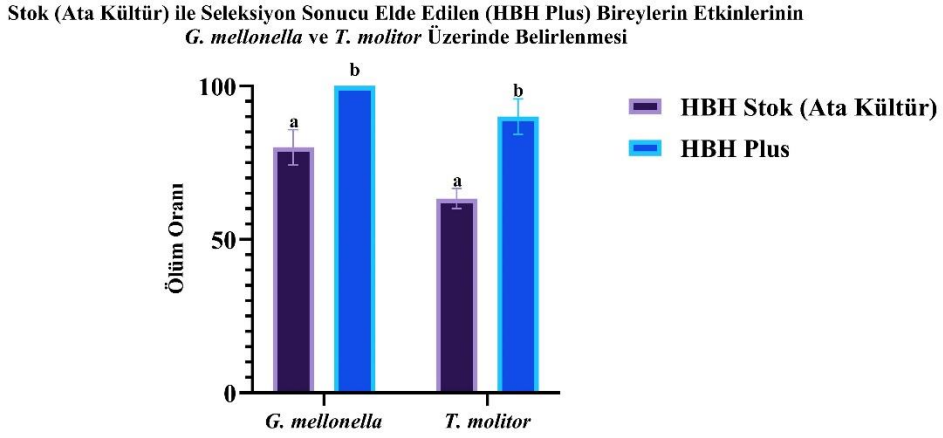


Şekil 4.6. Farklı döller için IJ'lerin düzenek içerisinde ortalama yayılımı. Sayısal değerler düzenek içerisinde elde edilen IJ'lerin yüzdesel olarak dağılımını göstermektedir

4.2. Konukçu Arama Davranışı Yüksek Olan Bireylerin Biyolojik Farklılıklarının Değerlendirilmesi

4.2.1. Etkinliğin Değerlendirilmesi

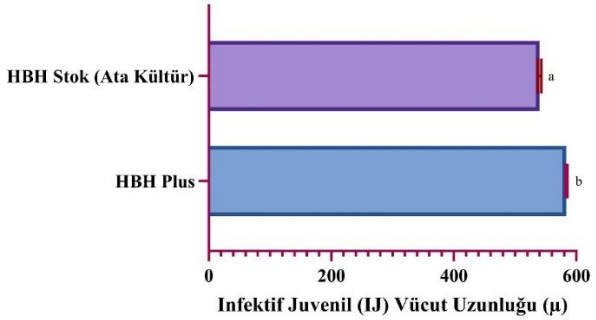
Elde edilen veriler sonucunda, 3. günde 24 kuyucuklu doku kültür kabındaki *G. mellonella* ölüm oranları belirlenmiştir. Seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) uygulanan larvalarda ölüm oranlarına bakıldığında bu oranın %100 olduğu belirlenmiştir. Kontrol olarak, Stok (Ata) Kültürün uygulandığı *G. mellonella* ölüm oranı ise %80 olarak belirlenmiştir. Bu değerler arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilmiştir (F=12; df=1, 4; p=0,0257). *T. molitor* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları incelendiğinde bu oranın HBH Plus için %90 olduğu görülürken, kontrol grubu olarak değerlendirilen, Ata Kültür için bu oranın %63,33 olduğu görülmüştür (Şekil 4.7). Bu değerler arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilmiştir (F=16; df=1, 4; p=0,0161).



Şekil 4.7. Stok (Ata Kültür) ile seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) bireylerin *G. mellonella* ve *T. molitor* üzerindeki etkinlikleri

4.2.2. IJ Uzunluklarının Değerlendirilmesi

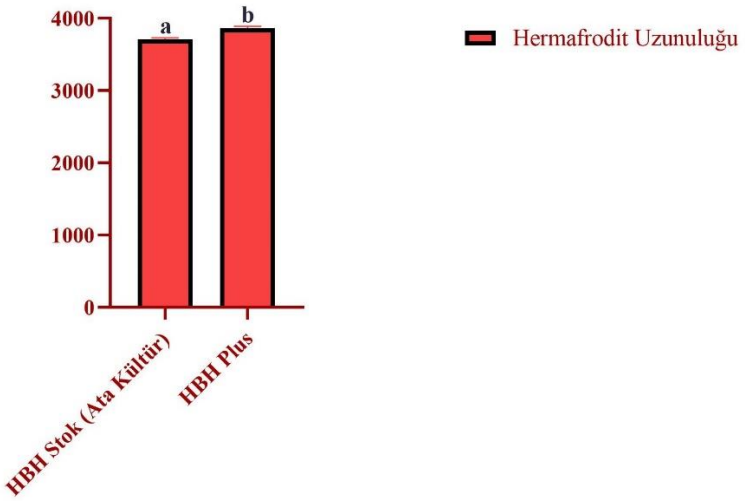
Leica Application Suite Version 3.6® (LAS V3.6®) programı kullanılarak IJ vücut uzunluklarını belirlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda IJ vücut uzunluklarına bakıldığında HBH Plus için bireylerin vücut uzunlukları ortalama olarak 583.75 µ olarak belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan, Ata Kültür IJ vücut uzunlukları ortalaması ise 540.30 µ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.8) değerler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmiştir ($F=290.29$; $df=1, 118$; $p<0.0001$).



Şekil 4.8. Stok (Ata Kültür) ile seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) bireylerin vücut uzunluklarının karşılaştırılması

4.2.3. Hermafrodit Bireylerin ve Yumurta Çaplarının Uzunluğunun Değerlendirilmesi

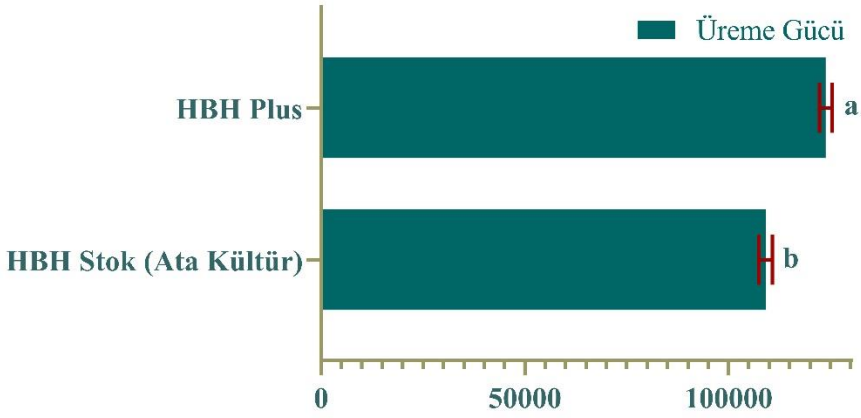
Leica Application Suite Version 3.6® (LAS V3.6®) programı kullanılarak Hermafrodit bireylerin vücut uzunlukları ve yumurta çaplarının uzunluğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda Hermafrodit bireylerin vücut uzunluklarına bakıldığında HBH Plus için bireylerin vücut uzunlukları ortalama olarak 3864.17 µ olarak belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan, Ata Kültür Hermafrodit bireylerin vücut uzunlukları ortalaması ise 3711.25 µ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9). Elde edilen bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar elde edilmiştir ($F=18.46$; $df=1, 118$; $p<0.0001$). Yumurta çapları incelendiğinde HBH Plus bireylerinden elde edilen yumurta çaplarını ortalaması 48.38 µ olarak belirlenmiştir. Bu durum HBH ata kültürü için 48.08 µ olarak elde edilmiştir. Yumurta çapları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar elde edilememiştir ($F=0.50$; $df=1, 118$; $p=0.4807$).



Şekil 4.9. Stok (Ata Kültür) ile seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) Hermafrodit bireylerin vücut uzunluklarının karşılaştırılması

4.2.4. Üreme Güçlerinin Değerlendirilmesi

Elde edilen veriler sonucunda, 3. günde 24 kuyucuklu doku kültür kabında HBH Plus ve Ata Kültür ile enfekte olan *G. mellonella* larvaları White Trap düzeneğine alınmıştır. 10-14 gün sonunda IJ çıkışları değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde HBH Plus uygulanan larvalardan elde edilen ortalama IJ adeti 123.825 olarak belirlenmiştir. Kontrol olarak, Ata kültürün uygulandığı *G. mellonella* larvalarından elde edilen ortalama IJ adeti 109.116 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.10). Bu değerler arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilmiştir ($F=28.42$; $df=1, 58$; $p<0.0001$).



Şekil 4.10. Stok (Ata Kültür) ile seleksiyon sonucu elde edilen (HBH Plus) Hermafrodit bireylerin vücut uzunluklarının karşılaştırılması

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *H. bacteriophora* HBH hibrit ırkının hazırlanmış olan özel düzenek kullanılarak seleksiyon yöntemi ile konukçu arama davranışları yüksek bireylerinin ve biyolojik özelliklerindeki farklılıkların araştırılması amaçlanmıştır. EPN'ler, tarım zararlıları ile mücadelede biyolojik mücadele amacıyla kullanılan çok etkinlik bir biyolojik ajan olarak bilinmektedir. Bu çalışma, bu EPN'lerin seleksiyon sonucu daha etkin bireylerin eldesinin aşamaları anlamak ve elde edilen bireyler üzerinde fizyoloji olarak ata bireylere göre farklılıkların anlaşılması ve belirlenmesi açısından önemli bir adım olmuştur. Elde edilen sonuçlar, EPN'lerin konukçu arama davranışlarının yüksek olduğu seleksiyon sonucu elde edilmiş olan bireylerinin (HBH Plus) ile Ata kültür (HBH) arasındaki biyolojik özelliklerin farklılık gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Yapılan çalışmanın sonuçlarında, HBH Plus ile Ata kültür arasındaki etkinlik ve biyolojik özellikler değerlendirildiğinde, HBH Plus'ın *G. mellonella* ve *T. molitor* üzerinde oluşturduğu etkinlik oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer bir şekilde, IJ uzunluğu ve hermafrodit uzunluğu incelendiğinde HBH Plus'ın bireylerinin HBH'ye göre daha uzun olduğu belirlenmiştir. Üreme gücünde de benzer bir sonuç görülmüştür. Yumurta çapında ise HBH Plus ve HBH arasında herhangi istatistiksel anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Benzer bir şekilde Bütüner ve Susurluk, (2023b), yapılan çalışmada farklı EPN izolatları farklı sıcaklıklarda 7, 14 ve 21 gün tutulmuştur. Sonrasında ise biyolojik özellikler değerlendirilmiştir. Sonuç olarak ise kontrol grubu dahil farklı sıcaklıklarda belirtilen günler boyunca muhafaza edilen bireylerin hermafrodit uzunluğu ve üreme gücü gibi birçok biyolojik özelliklerinde farklılık görülürken, yumurta çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülememiştir. Bu yönüyle bu çalışmanın bulgularıyla tutarlılık göstermektedir.

Özellikle çalışmanın ilk aşaması olan konukçu arama davranışları yüksek olan bireylerin elde edilmesi kısmında, IJ'lerin bir kısmının düzeneğin en alt kısmına yerleştirilmiş olan konukçularını bulup enfekte edebildiklerini, bir kısmının ise düzeneğin farklı bölmelerin de kaldıkları görülmüştür. Bu noktada düzeneğin farklı bölmelerinde kalan bireylerin konukçuyu enfekte eden bireylere göre konukçu arama davranışlarının daha düşük olabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar ise bu ifadeyi destekler niteliktedir. Örneğin Shapiro-Ilan vd. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, IJ'lerin konukçu arama davranışları sırasında hareketlerinin nasıl olduğunu değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada, IJ'lerin ortamda konukçu varlığında birbirini belirli periyotlarda takip ettiği ancak bu durumun sürekliliğinin olmadığını ancak ortamda konukçu olmadığında toplu halde bulunmalarının daha fazla görüldüğü ve bu durumunun EPN türü bazında da değişiklik gösterebileceğini ifade etmişlerdir. Yapılan çalışmanın sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları özellikle farklı konukçu varlığında farklı bölmelerde toplanması ile benzerlik göstermektedir.

Benzer bir şekilde Erdogan vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada 3 *Steinernema* türünün türler arası ve tür içerisindeki iz takip mekanizmalarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmada bir bireyin konukçu kütikulası ile teması sağlanmış sonrasında diğer bireylerin bu bireyi takip edip etmediği incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda türler arasında konukçu kütikulasına temas etmiş olan IJ'nin diğer IJ'ler tarafından takip edildiği belirlenmiştir. Türler arasında ise herhangi net bir sonuç elde edilmemiştir.

Baiocchi vd. (2017) EPN'lerin enfekte olmuş konukçulara yönelimleri ile ilgili bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Yapılan çalışmada EPN'lerin savunmasız ve enfekte olmuş konaklar arasında ayrım yapabildiğini ve konak çekiciliğinin zamanla tür özgü bir şekilde değiştiğini belirlenmişlerdir. Potansiyel bir konukçuda enfeksiyon durumu hakkında bilgi taşıyan uçucu kimyasal sinyalleri tanımlamak için katı faz mikroekstraksiyonu ve gaz kromatografisi/mass spektrometrisi kullanmışlardır. Enfekte olmuş konukçuların kokuları incelendiğinde 3-Hidroksi-2-butanon (AMC) ve 3-Metil-2-buten-1-ol (prenol) gibi birleşikler elde edilmiştir. Bu birleşiklerin ise aynı şekilde IJ'ler üzerinde itici bir etkiye neden olduğu belirlenmiştir. Bu yönüyle çalışma şu anki çalışmada IJ'lerin farklı bölmelere dağılmasının sebebinin enfekte olan konukçudan uzaklaşma sebebiyle olduğunu açıklama potansiyeline sahiptir. Bu yönüyle önceki çalışmada elde edilen sonuçlar ile bu çalışmanın sonuçları tutarlılık göstermektedir.

Çalışmanın ikinci aşaması olan seleksiyon sonucu elde edilen bireylerde görülen biyolojik farklılıklar ile ilgili sonuçlar incelendiğinde, bugüne kadar yapılan çalışmalar genellikle EPN'lerin farklı sıcaklık ve nem gibi koşullarda tutularak sonrasında etkinlikleri ve biyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi üzerine yapılan çalışmalardan oluşmaktadır. Örneğin, Fitters vd. (2001), *H. megidis* türüne ait spesifik bir izolatı, üç haftaya kadar farklı sıcaklıklarda muhafaza etmiştir. Sonrasında, IJ'leri *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) larvaları üzerine inoküle ederek farklı sıcaklıkların IJ'lerin etkinlikleri üzerinde herhangi bir farklılık oluşturup oluşturamayacağı üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak yüksek sıcaklıkların IJ'lerin etkinlikleri üzerinde bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Bütüner ve Susurluk, (2023) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *H. bacteriophora* HBH hibrit ırkı 35, 25 ve 15 °C'de 21, 14 ve 7 gün boyunca tutulmuş. Belirtilen günler sonunda, biyolojik özellikleri değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda farklı sıcaklıklarda belirtilen günler boyunca muhafaza edilen bireylerin hermafrodit uzunluğu ve üreme gücü gibi birçok biyolojik özelliklerinde farklılık görülürken, yumurta çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülememiştir. Bu yönüyle çalışmada farklı sıcaklıklar kullanılmasına rağmen bireylerin yumurta çapların bir değişiklik olmaması ile bu çalışmanın sonuçları örtüşmektedir.

Genellikle önceki yapılan çalışmalar yalnızca konukçu arama davranışı yüksek bireylerin elde edilmesi ile sınırlandırılmıştır. Bu yönüyle özellikle seleksiyon sonucunu davranışı yüksek olan bireylerin elde edilmesi ilgili çalışmalar hali hazırda mevcut olup, seleksiyon sonucunda elde edilen bireylerin Ata izolatlar ile olan biyolojik ve morfolojik farklılıklar değerlendirilmemiştir. Biyolojik özellikler ile ilgili yapılan çalışmalar ise farklı çevre koşullarının IJ'ler üzerine etkileri sonucunda görülen biyolojik değişiklikler üzerine yoğunlaşmıştır. Bu yönüyle bu çalışma konukçu davranışı yüksek bireylerin özellikle IJ uzunluğu, hermafrodit uzunluğu, üreme gücü gibi özelliklerin yanı sıra etkinliklerinin Ata ırktan farklı olduğunu belirlemiştir. Sonuç olarak bu çalışma farklı iki çalışmayı orta noktada buluşturmayı amaçlamıştır. Özellikle ileride yapılacak olan çalışmalar için referans olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Akoğuz, H., Çelik, S., ve Barış, Ö. (2018). Zeminlerin Biyolojik İyileştirilmesinde Viridibacillus Arenosi Bakterisinin Zemin Ortamına Olan Etkisinin Gözlemlenmesi. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, *1*(1), 53-66.

Ali, S. S., Pervez, R., Hussain, M. A., ve Ahmad, R. (2008). Susceptibility of three lepidopteran pests to five entomopathogenic nematodes and *in vivo* mass production of these nematodes. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *41*(4), 300-304.

Baiocchi, T., Lee, G., Choe, D. H., ve Dillman, A. R. (2017). Host seeking parasitic nematodes use specific odors to assess host resources. *Scientific reports*, *7*(1), 1-13.

Beckerman, J., Palmer, C., Tedford, E., ve Ypema, H. (2023). Fifty years of fungicide development, deployment, and future use. *Phytopathology*, *113*(4), 694-706.

Boemare, N., Laumond, C., ve Mauleon, H. (1996). The entomopathogenic nematode-bacterium complex: biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Science and Technology*, *6*(3), 333-346.

Brader, L. (1979). Integrated pest control in the developing world. *Annual Review of Entomology*, *24*(1), 225-254.

Bütüner, A. K., ve Susurluk, A. (2023a). Türk Entomopatojen Nematodların, *Steinernema feltiae* ve *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) Pirinç Biti *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) Üzerinde Patojenisitesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, *10*(3), 541-547.

Bütüner, A. K., ve Susurluk, A. (2023b). Efficiency of temperature and storage duration on some morphological measurements and reproductive capacity of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae)'s Turkish HBH hybrid strain. *Turkish Journal of Entomology*, *47*(4), 469-476.

Bütüner, A. K., Ilktan, M., ve Susurluk, A. (2023). Effects of storage temperature on viability and virulence of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae), *Steinernema carpocapsae* Weiser, 1955 and *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 (Rhabditida: Steinernematidae). *Turkish Journal of Entomology*, *47*(3), 247-257.

Bütüner, A. K., Ergene, E., İlktan, M., Sepin, S., Susurluk, H., ve Susurluk, İ. A. (2024). Impact of some entomopathogenic nematode isolates on the mortality and penetration rate of *Rhyzopertha dominica* and *Tenebrio molitor*. *Crop Protection*, *179*, 106629.

Campbell, J. F., Lewis, E. E., Stock, S. P., Nadler, S., ve Kaya, H. (2003). Evolution of host search strategies in entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology*, *35*(2), 142-145.

Carroll, S. P. (2011). Conciliation biology: the eco-evolutionary management of permanently invaded biotic systems. *Evolutionary Applications*, *4*(2), 184-199.

Chavas, J. P. (2008). On the economics of agricultural production. *Australian Journal of Agricultural and Resource Economics*, *52*(4), 365-380.

Chen, S., ve Glazer, I. (2005). A novel method for long-term storage of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* at room temperature. *Biological Control*, *32*(1), 104-110.

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.

Ciche, T. A., Darby, C., Ehlers, R. U., Forst, S., ve Goodrich-Blair, H. (2006). Dangerous liaisons: the symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria. *Biological Control*, *38*(1), 22-46.

Cook, R. J. (1988). Biological control and holistic plant-health care in agriculture. *American Journal of Alternative Agriculture*, *3*(2-3), 51-62.

Costa, L. G. (2008). Toxic effects of pesticides. *Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons*, *8*, 883-930.

De Clercq, P., Mason, P. G., ve Babendreier, D. (2011). Benefits and risks of exotic biological control agents. *BioControl*, *56*, 681-698.

Dede E., Bütüner, A. K., ve Susurluk, A. (2022). Biocontrol potential of *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae) HBH hybrid strain against the beet webworm, *Loxostege sticticalis* L., 1761 (Lepidoptera: Pyralidae). *Turkish Journal of Entomology*, *46*(4), 399-405.

Ehlers, R. U. (1996). Current and future use of nematodes in biocontrol: practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and technology*, *6*(3), 303-316.

Ehlers, R. U. (2001). Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied microbiology and biotechnology*, *56*, 623-633.

Ehlers, R. U., Niemann, I., Hollmer, S., Strauch, O., Jende, D., Shanmugasundaram, M., Mehta, U. K., Easwaramoorthy, S. K., ve Burnell, A. (2000). Mass production potential of the bacto-helminthic biocontrol complex *Heterorhabditis indica-Photorhabdus luminescens*. *Biocontrol Science and Technology*, *10*(5), 607-616.

Ehlers, R. U., Oestergaard, J., Hollmer, S., Wingen, M., ve Strauch, O. (2005). Genetic selection for heat tolerance and low temperature activity of the entomopathogenic nematode–bacterium complex *Heterorhabditis bacteriophora–Photorhabdus luminescens*. *BioControl*, *50*, 699-716.

Eischen, F. A., ve Dietz, A. (1990). Improved culture techniques for mass rearing *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Entomological News*, *101*(2), 123-128.

Fitters, P. F., Dunne, R., ve Griffin, C. T., 2001. Improved control of *Otiorhynchus sulcatus* at 9ºC by cold-stored *Heterorhabditis megidis* UK211. *Biocontrol Science and Technology*, *11*(4): 483-492.

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.

Geiger, F., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W. W., Emmerson, M., Morales, M. B., Ceryngier, P., Liira, J., Tscharntke, T., Winqvist, C., Eggers, S., Bommarco, R., Part, T., Bretagnolle, V., Plantegenest, M., Clement, L. W., Dennis, C., Palmer, C., Oñate, J. J., Guerrero, I., ve Inchausti, P. (2010). Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology*, *11*(2), 97-105.

Gerritsen, L. J. M., ve Smits, P. H. (1997). The influence of *Photorhabdus luminescens* strains and form variants on the reproduction and bacterial retention of *Heterorhabditis megidis*. *Fundamental and Applied Nematology*, *20*(4), 317-322.

Ghosh, D., John, E. A., ve Wilkinson, A. (2023). Clever pest control? The role of cognition in biological pest regulation. *Animal Cognition*, *26*(1), 189-197.

Glazer, I. (1997). Effects of infected insects on secondary invasion of steinernematid entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, *114*(6), 597-604.

Grewal, P. S. (2000). Enhanced ambient storage stability of an entomopathogenic nematode through anhydrobiosis. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, *56*(5), 401-406.

Grewal, P. S., Gaugler, R., ve Lewis, E. E. (1993). Host recognition behavior by entomopathogenic nematodes during contact with insect gut contents. *The Journal of Parasitology*, 495-503.

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.

Griffin, C. T. (1996). Effects of prior storage conditions on the infectivity of *Heterorhabditis* sp. (Nematoda: Heterorhabditidae). *Fundamental and Applied Nematology*, *19*(1), 95-102.

Gunnell, D., Knipe, D., Chang, S. S., Pearson, M., Konradsen, F., Lee, W. J., ve Eddleston, M. (2017). Prevention of suicide with regulations aimed at restricting access to highly hazardous pesticides: a systematic review of the international evidence. *The Lancet Global Health*, *5*(10), e1026-e1037.

Hernández, A. F., Parrón, T., Tsatsakis, A. M., Requena, M., Alarcón, R., ve López-Guarnido, O. (2013). Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. *Toxicology*, *307*, 136-145.

Hillocks, R. J. (2012). Farming with fewer pesticides: EU pesticide review and resulting challenges for UK agriculture. *Crop Protection*, *31*(1), 85-93.

Hokkanen, H., ve Pimentel, D. (1984). New approach for selecting biological control agents. *The Canadian Entomologist*, *116*(8), 1109-1121.

Johnigk, S. A., Hollmer, S., Strauch, O., Wyss, U., ve Ehlers, R. U. (2002). Heritability of the liquid culture mass production potential of the entomopathogenic nematode Heterorhabditis bacteriophora. *Biocontrol Science and Technology*, *12*(2), 267-276.

Johnston, B. F., ve Mellor, J. W. (1961). The role of agriculture in economic development. *The American Economic Review*, *51*(4), 566-593.

Kaya, H. K., ve Gaugler, R. (1993). Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, *38*(1), 181-206.

Kaya, H. K., ve Stock, S. P. (1997). Techniques in insect nematology. *In Manual of techniques in insect pathology* (ss. 281-324). Academic Press.

Knipe, D. W., Chang, S. S., Dawson, A., Eddleston, M., Konradsen, F., Metcalfe, C., ve Gunnell, D. (2017). Suicide prevention through means restriction: Impact of the 2008-2011 pesticide restrictions on suicide in Sri Lanka. *PloS One*, *12*(3), e0172893.

Konradsen, F., van der Hoek, W., Cole, D. C., Hutchinson, G., Daisley, H., Singh, S., ve Eddleston, M. (2003). Reducing acute poisoning in developing countries—options for restricting the availability of pesticides. *Toxicology*, *192*(2-3), 249-261.

Kung, S. P., Gaugler, R., ve Kaya, H. K. (1991). Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Invertebrate Pathology*, *57*(2), 242-249.

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., Frutos, R., Kaya, H. K., ve Vail, P. (2001). Insect pathogens as biological control agents: do they have a future?. *Biological Control*, *21*(3), 230-248.

Lee, J. H., Dillman, A. R., ve Hallem, E. A. (2016). Temperature-dependent changes in the host-seeking behaviors of parasitic nematodes. *BMC Biology*, *14*, 1-17.

Lewis, E. E., Campbell, J. F., ve Gaugler, R. (1997). The effects of aging on the foraging behaviour of *Steinernema carpocapsae* (Rhabdita: Steinernematidae). *Nematologica*, *43*(5), 355-362.

Lewis, E. E., Campbell, J., Griffin, C., Kaya, H., ve Peters, A. (2006). Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, *38*(1), 66-79.

Lewis, E. E., Selvan, S., Campbell, J. F., ve Gaugler, R. (1995). Changes in foraging behavior during the infective stage of entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, *110*(5): 583 – 590.

Lewis, 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

Li, J., Zhu, T., Wang, F., Qiu, X. H., ve Lin, W. L. (2006). Observation of organochlorine pesticides in the air of the Mt. Everest region. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *63*(1), 33-41.

Matson, P. A., Parton, W. J., Power, A. G., ve Swift, M. J. (1997). Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, *277*(5325), 504-509.

Metwally, H. M., Hafez, G. A., Hussein, M. A., Hussein, M. A., Salem, H. A., ve Saleh, M. M. E. (2012). Low cost artificial diet for rearing the greater wax moth, *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae) as a host for entomopathogenic nematodes. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *22*(1), 15-17.

Morales-Ramos, J.A., Kay, S., Rojas, M.G., Shapiro-Ilan, D.I., Tedders, W.L., 2015. Morphometric analysis Of instar variation in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, *108*(2), 146–159.

Noguez, J. H., Conner, E. S., Zhou, Y., Ciche, T. A., Ragains, J. R., ve Butcher, R. A. (2012). A novel ascaroside controls the parasitic life cycle of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *ACS Chemical Biology*, *7*(6), 961-966.

Oerke, E. C., ve Dehne, H. W. (2004). Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*, *23*(4), 275-285.

Pearson, D. E., ve Callaway, R. M. (2003). Indirect effects of host-specific biological control agents. *Trends in Ecology & Evolution*, *18*(9), 456-461.

Peters, A. (1996). The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect populations. *Biocontrol Science and Technology*, *6*(3), 389-402.

Qiu, L., ve Bedding, R. (2000). Energy metabolism and its relation to survival and infectivity of infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* under aerobic conditions. *Nematology*, *2*(5), 551-559.

Ramos-Rodriguez, O., Campbell, J. F., Christen, J. M., Shapiro-Ilan, D. I., Lewis, E. E., ve Ramaswamy, S. B. (2006). Attraction behaviour of three entomopathogenic nematode species towards infected and uninfected hosts. *Parasitology*, *134*(5), 729- 738.

Ringer, S. (1882). Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood on the contraction of the ventricle. *The Journal of Physiology*, *3*(5-6), 380.

Sajnaga, E., ve Kazimierczak, W. (2020). Evolution and taxonomy of nematode-associated entomopathogenic bacteria of the genera *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: An overview. *Symbiosis*, *80*(1), 1-13.

Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J. N., ve Hollier, C. (2012). Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Security*, *4*(4), 519-537.

Schöller, M., Prozell, S., Al-Kirshi, A. G., ve Reichmuth, C. (1997). Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. *Journal of Stored Products Research*, *33*(1), 81-97.

Sentis, A., Hemptinne, J. L., Magro, A., ve Outreman, Y. (2022). Biological control needs evolutionary perspectives of ecological interactions. *Evolutionary Applications*, *15*(10), 1537-1554.

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), 137-146.

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.

Sharma, A., Diwevidi, V. D., Singh, S., Pawar, K. K., Jerman, M., Singh, L. B., Singh, S., ve Srivastawav, D. (2013). Biological control and its important in agriculture. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*, *4*(3), 175-180.

Sharma, H. S., Fleming, C., Selby, C., Rao, J. R., ve Martin, T. (2014). Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *Journal of Applied Phycology*, *26*, 465-490.

Sharma, M. P., Sharma, A. N., & Hussaini, S. S. (2011). Entomopathogenic nematodes, a potential microbial biopesticide: mass production and commercialisation status–a mini review. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *44*(9), 855-870.

Stevens, G., Erdogan, H., Pimentel, E., Dotson, J., Stevens, A., Shapiro-Ilan, D., Kaplan, F., Schliekelman, P., ve Lewis, E. (2023). Group joining behaviours in the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri*. *Biological Control*, *181*(5), 105220.

Subedi, P., Gattoni, K., Liu, W., Lawrence, K. S., ve Park, S. W. (2020). Current utility of plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents towards plant-parasitic nematodes. *Plants*, *9*(9), 1167-1185.

Susurluk, I. A., Ünlü, I. O., 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), 203-207.

Susurluk, I. A. (2008). Influence of temperature on the vertical movement of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (TUR-S3) and *Heterorhabditis bacteriophora* (TUR-H2), and infectivity of the moving nematodes. *Nematology*, *10*(1), 137-141.

Susurluk, I. A., ve Ehlers, R. U. (2008). Comparison of some characterizations of recovered from soil and newly fermented entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Journal of Biological and Environmental Sciences*, *2*(6), 65-71.

Susurluk, I. A., Kumral, N. A., Peters, A., Bilgili, U., ve Açıkgöz, E. (2009). Pathogenicity, reproduction and foraging behaviours of some entomopathogenic nematodes on a new turf pest, *Dorcadion pseudopreissi* (Coleoptera: Cerambycidae). *Biocontrol science and technology*, *19*(6), 585-594.

Susurluk, I. A., ve Ulu, T. C. (2015). Virulence comparisons of high-temperature-adapted *Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema feltiae* and *S. carpocapsae*. *Helminthologia*, *52*(2), 118-122.

Susurluk, A., ve Bütüner, A. K. (2024). The role of drought in the efficacy of some entomopathogenic nematodes. *Turkish Journal of Entomology*, *48*(1), 103-110.

Syafrudin, M., Kristanti, R. A., Yuniarto, A., Hadibarata, T., Rhee, J., Al-Onazi, W. A., Algarni, T. S., Almarri, A. H. ve Al-Mohaimeed, A. M. (2021). Pesticides in drinking water—a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(2), 468-482.

Tang, S., ve Cheke, R. A. (2008). Models for integrated pest control and their biological implications. *Mathematical Biosciences*, *215*(1), 115-125.

Terzi, M., Hacıfazlıoğlu, H., Tombal, T. D., ve Kurşun, İ. (2016). Silis Kumunun Liç Yöntemi ile Saflaştırılmasında Organik Asitlerin Verimliliğinin Araştırılması. *Adıyaman Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, *3*(4), 11-18.

Thamsborg, S. M., Roepstorff, A., ve Larsen, M. (1999). Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Veterinary Parasitology*, *84*(3-4), 169-186.

Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., ve Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, *418*(6898), 671-677.

Torres, J. B., ve Bueno, A. D. F. (2018). Conservation biological control using selective insecticides–a valuable tool for IPM. *Biological Control*, *126*, 53-64.

Turlings, T., Hiltpold, I., ve Rasmann, S. (2012). The importance of root-produced volatiles as foraging cues for entomopathogenic nematodes (Marschner Review for the" Rhizosphere 3" Special Issue). *Plant and Soil*, *1*(358), 47-56.

Ulu, T. C., ve Susurluk, I. A. (2014). Heat and desiccation tolerances of Heterorhabditis bacteriophora strains and relationships between their tolerances and some bioecological characteristics. *Invertebrate Survival Journal*, *11*(1), 4-10.

van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., ve Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, *63*, 39-59.

Vashisth, S., Chandel, Y. S., ve Sharma, P. K. (2013). Entomopathogenic nematodes-A review. *Agricultural Reviews*, *34*(3), 163-175.

Wang, F., Zhu, T., Xu, B., ve Kang, S. (2007). Organochlorine pesticides in fresh-fallen snow on East Rongbuk Glacier of Mt. Qomolangma (Everest). *Science in China Series D: Earth Sciences*, *50*(7), 1097-1102.

Wang, X. P., Xu, B. Q., Kang, S.C., Cong, Z. Y., ve Yao, T. D. (2008). The historical residue trends of DDT, hexachlorocyclohexanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in an ice core from Mt. Everest, central Himalayas, China. *Atmospheric Environment*, *42*(27), 6699-6709.

White, G. F. (1927). A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, *66*(1709), 302-303.

Whitten, M. J., ve Foster, G. G. (1975). Genetical methods of pest control. *Annual Review of Entomology*, *20*(1), 461-476.

Wyckhuys, K. A., Lu, Y., Morales, H., Vazquez, L. L., Legaspi, J. C., Eliopoulos, P. A., ve Hernandez, L. M. (2013). Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. *Biological Control*, *65*(1), 152-167