ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HİBRİT IRKININ BAZI PESTİSİTLERE DAYANIKLI BİREYLERİNİN VÜCUT UZUNLUĞU, ÜREME GÜCÜ VE ETKİNLİK FARKLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Merve İLKTAN

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HİBRİT IRKININ BAZI PESTİSİTLERE DAYANIKLI BİREYLERİNİN VÜCUT UZUNLUĞU, ÜREME GÜCÜ VE ETKİNLİK FARKLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Merve İLKTAN
0009-0007-9999-5034

Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA – 2025
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HİBRİT IRKININ BAZI PESTİSİTLERE DAYANIKLI BİREYLERİNİN VÜCUT UZUNLUĞU, ÜREME GÜCÜ VE ETKİNLİK FARKLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Merve İLKTAN

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopatojen nematodlar (EPN) toprakaltında zararlı böceklerle mücadelede en etkili mücadele ajanlarından birisidir. Ancak etkileri yavaş gözlenir. Bununla beraber hızlı sonuç alınabilmesi ve hızlı etki göstermesi nedeniyle kimyasal mücadele tarımda en fazla tercih edilen mücadele yöntemidir. Kimyasal pestisitlerin kalıntı problemleri, daha düşük dozlarda kullanımını gerektirmektedir. Pestisitler ve EPN'lerin kombinasyon etkileşiminin bilinmesi bu bağlamda önemlidir. Bu amaçla etkili bir EPN türü olan *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) HBH hibrit ırkı ile deltamethrin, glifosat ve tebuconazole + azoxystrobin etken maddelerinin kombinasyonları test edilmiştir.

Pestisitlerle EPN'lerin çoğunlukla uyum sağladıkları bilinmektedir. Etkinlik bakımından değerlendirildiğinde sinerjistik ve additif etkiler EPN ve pestisit etkileşimini destekleyici sonuçlar sağlar. Diğer taraftan antagonistik etkiler de meydana gelebilmektedir. Bu çalışmada deltamethrin etken maddesine dayanıklı infektif juvenillerin enfektivite yeteneğinin kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Üreme gücü dikkate alındığında tebuconazole + azoxystrobin etken maddelerinin üreme gücünü azaltıcı etkisi (~ 40 bin birey) göze çarpmaktadır. İnfektif juvenil boyları karşılaştırıldığında glifosat etken maddesinin IJ boyunu kısaltıcı etkisi saptanmıştır. En uzun IJ boyu fungusite maruz kalan bireylerde gözlenirken en kısa IJ boyu herbisite maruz kalan bireylerde gözlenmiştir.
Bu tez çalışmasının sürdürülebilir tarım ve entegre zararlı yönetimi konularında yol gösterici olması amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: entegre zararlı yönetimi, sürdürülebilir tarım, nematod, biyolojik mücadele
2025, xvi + 58 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF BODY LENGTH, REPRODUCTIVE CAPACITY AND EFFICIENCY DIFFERENCES OF SOME PESTICIDE RESISTANT INDIVIDUALS OF ENTOMOPATHOGEN NEMATODE *Heterorhabditis bacteriophora* HBH HYBRID STRAIN

Merve İLKTAN

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

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopathogenic nematodes (EPNs) are among the most effective agents for controlling soil-dwelling insect pests. However, their effects are typically observed more slowly. In contrast, chemical control methods are the most commonly employed approach in agriculture due to their rapid action and immediate results. Concerns regarding pesticide residues necessitate the use of lower doses, highlighting the importance of understanding the combinatorial interactions between pesticides and EPNs. Accordingly, combinations of the highly effective EPN species *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) HBH hybrid strain with the active ingredients deltamethrin, glyphosate, and tebuconazole + azoxystrobin were evaluated.

EPNs are generally known to be compatible with pesticides. From an efficacy standpoint, synergistic and additive effects provide supportive outcomes for EPN–pesticide interactions. Conversely, antagonistic effects may also occur. In the present study, infective juveniles (IJs) resistant to deltamethrin exhibited higher infectivity compared to the control group. Regarding reproductive potential, exposure to tebuconazole + azoxystrobin resulted in a marked reduction (~40,000 individuals) in progeny production. When IJ body length was assessed, glyphosate was found to reduce IJ size. The longest IJs were observed in individuals exposed to fungicides, whereas the shortest IJs were recorded in individuals exposed to herbicides.
This thesis aims to provide guidance for sustainable agriculture and integrated pest management.

Keywords: integrated pest management, sustainable agriculture, nematode, biological control
2025, xvi + 58 pages

TEŞEKKÜR

Danışmanım Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK başta olmak üzere fakültemiz hocalarına teşekkürlerimi sunarım.

Beni her zaman destekleyen sevgili annem ve babam Sabriye İLKTAN ve Recep İLKTAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisansın bana kazandırdığı en güzel dost, çok sevgili Selenay SEPİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Ve son olarak; sabrım ve azmim için en çok da kendime teşekkürlerimi sunarım.

Merve İLKTAN
…/…/…….

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....vii
ABSTRACT.....ix
TEŞEKKÜR.....x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....xvi
1. GİRİŞ…...……..1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....11
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....15
3.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Yetiştirilmesi……15
3.1.1. *Galleria mellonella* Biyolojisi……15
3.1.2. *Galleria mellonella* Yapay Besini……..17
3.2. Çalışmada Kullanılan Entomopatojen Nematod Irkı……21
3.2.1. Entomopatojen Nematodların In Vivo Üretilmesi ve Stok Kültüre Alınması……22
3.2.2. Ringer Çözeltisinin Stok Kültürlerde Kullanılmak Üzere Hazırlanışı……24
3.3. Pestisitlerin Entomopatojen Nematodlarla Etkileşimi……...25
3.3.1. Glifosat……..……26
3.3.1.2. *H. bacteriophora* ile Glifosat Karışımı Uyumunun Test edilmesi……..26
3.3.1.3. Glifosat ile Muamele Edilmiş *H. bacteriophora* Etkinlik Denemesi……..28
3.3.1.4. Glifosat ile Muamele Edilmiş *H. bacteriophora* Üreme Gücü Denemesi……..29
3.3.2. Deltamethrin ……...…...30
3.3.2.1 *H. bacteriophora* ile Deltamethrin Karışımı Uyumunun Test Edilmesi……..30
3.3.2.2. Deltamethrin ile Muamele Edilmiş *H. bacteriophora* Etkinlik Denemesi……..31
3.3.2.3. Deltamethrin ile Muamele Edilmiş *H. bacteriophora* Üreme Gücü Denemesi..32
3.3.3. Tebuconazole + Azoxystrobin……32
3.3.3.1 *H. bacteriophora* ile Tebuconazole + Azoxystrobin Karışımı Uyumunun Test Edilmesi...……...……32
3.3.3.2. Tebuconazole + Azoxystrobin ile Muamele Edilmiş *H. bacteriophora* Etkinlik Denemesi.……33
3.3.3.3. Tebuconazole + Azoxystrobin ile Muamele Edilmiş *H. bacteriophora* Üreme Gücü Denemesi……34
3.4. IJ'lerin Vücut Uzunluğu Ölçümleri……..35
3.5. İstatistiksel Analizler……35
4. BULGULAR…….....…….37
4.1. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Bazı Pestisitlere Karşı Dayanıklılığı……37
4.1.1. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Deltamethrin'e Karşı Uyumu ve Dayanıklılığı……..….37
4.1.2. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Glifosat'a Karşı Uyumu ve Dayanıklılığı……38
4.1.3. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Tebuconazole + Azoxystrobine Karşı Uyumu ve Dayanıklılığı……..…39
4.2. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Pestisite Dirençli Bireylerinin Enfektivitesi ……..40
4.2.1. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Deltamethrine Dirençli Bireylerinin Enfektivitesi ...……....41

4.2.2. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Glifosata Dirençli Bireylerinin Enfektivitesi ……42
4.2.3. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Tebuconazole + Azoxystrobine Dirençli Bireylerinin Enfektivitesi……...43
4.3. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Pestisite Dirençli Bireylerinin Üreme Gücü……..…44
4.3.1 *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Deltamethrine Dirençli Bireylerinin Üreme Gücü…….45
4.3.2 *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Glifosata Dirençli Bireylerinin Üreme Gücü…….46
4.3.3 *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Tebuconazole + Azoxystrobine Dirençli Bireylerinin Üreme Gücü…… ..47
4.4. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Pestisite Dirençli Bireylerinin Vücut Uzunluğu Ölçümleri…… .48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 49
KAYNAKLAR 52
ÖZGEÇMİŞ 57

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	**Açıklama**
cm^2	Santimetre kare
g	Gram
L	Litre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
˚C	Derece Celcius

Kısaltmalar	**Açıklama**
EPN	Entomopatojen Nematod
EZY	Entegre Zararlı Yönetimi
IJ	İnfektif Juvenil
ROS	Reactive Oxygene Species
rpm	Revolutions Per Minute

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 1.1.	Glifosatın kimyasal yapısı	3
Şekil 1.2.	Deltamethrinin kimyasal yapısı	4
Şekil 1.3.	Tebuconazole (sol) ve azoxystrobinin (sağ) kimyasal yapısı	5
Şekil 1.4.	Mikroskop altında infektif juvenil görüntüsü (İlktan, 2024)	6
Şekil 1.5.	Çoğaltılmış *Photorhabdus luminescens* bakterileri (İlktan,2023)	8
Şekil 1.6.	Endokia matricida ile juvenillerin hermafroditten ayrılışı (İlktan, 2023)	9
Şekil 3.1.	*G. mellonella* yumurtasının mikroskop altındaki görüntüsü (İlktan, 2024)	15
Şekil 3.2.	*G. mellonella* son dönem larva evresi (İlktan, 2024)	16
Şekil 3.3.	*G. mellonella* pupa evresi (İlktan, 2024)	16
Şekil 3.4.	*G. mellonella* ergin evresi (İlktan, 2024)	17
Şekil 3.5.	*G. mellonella* yapay besini (İlktan, 2025)	18
Şekil 3.6.	Besin kavanozuna eklenmiş yumurta kağıtları (İlktan, 2025)	19
Şekil 3.7.	Yapay besin ortamında beslenen *G. mellonella* larvaları (İlktan, 2025)	19
Şekil 3.8.	*G. mellonella* pupaları (İlktan, 2025)	20
Şekil 3.9.	*G. mellonella* erginleri ve bıraktıkları yumurtaları (İlktan, 2025)	20
Şekil 3.10.	*Heterorhabditis bacteriophora* HBH hibrit ırkının mikroskoptaki görüntüsü (İlktan, 2025)	21
Şekil 3.11.	Entomopatojen nematod enfeksiyonun şeması (İlktan, 2025; BioRender)	22
Şekil 3.12.	White Trap düzeneği (İlktan, 2024)	23
Şekil 3.13.	*H. bacteriophora* ile enfekte olarak kırmızı tonlarında renk almış *G. mellonella* larvası	23
Şekil 3.14.	*H. bacteriophora* IJ'lerinin ringer çözeltisi içinde depolanması (İlktan, 2025)	25
Şekil 3.15.	Pestisit ve IJ'lerin kum ortamında birlikte bulundurulması (İlktan, 2025)	27
Şekil 3.16.	Baermann huni tekniği ile IJ'lerin kumdan ayrılması işlemi (İlktan, 2025)	28
Şekil 3.17.	Etkinlik denemesi deney düzeneği (İlktan, 2025)	29
Şekil 3.18.	Üreme gücü denemesi deney düzeneği (İlktan, 2025)	30
Şekil 3.19.	IJ vücut uzunluğu ölçümleri	35
Şekil 4.1.	Pestisit – EPN etkileşiminin kontrol grubu ile uygulama gruplarıyla karşılaştırılması (F=365,56; df= 3,8; p<0,0001)	37
Şekil 4.2.	Deltamethrin etken maddesiyle etkileşime maruz kalan IJ'lerin kontrol grubu ile karşılaştırılması	38
Şekil 4.3.	Glifosat etken maddesiyle etkileşime maruz kalan IJ'lerin kontrol grubu ile karşılaştırılması (p = 0,0005)	39
Şekil 4.4.	Tebuconazole + Azoxystrobin etken maddesiyle etkileşime maruz kalan IJ'lerin kontrol grubu ile karşılaştırılması	40
Şekil 4.5.	Pestisitle etkileşime maruz kalan IJ'lerin etkinlik düzeylerinin karşılaştırılması (F=35,6; df=15,32; p<0,001)	41

Şekil 4.6.	Deltamethrin etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuyla karşılaştırılması (F=17,7; df=7,16; p<0,001)	42
Şekil 4.7.	Glifosat etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuyla karşılaştırılması (F=44,8; df=7,16; p<0,001)	43
Şekil 4.8.	Tebuconazole + Azoxystrobin etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuyla karşılaştırılması (F=22,3; df=7,16; p<0,0001)	44
Şekil 4.9.	Pestisit etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılması (F=16,6; df=3,16; p<0,0001)	45
Şekil 4.10.	Deltamethrin etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılması (F=0,03; df=1,8; p<0,8643)	45
Şekil 4.11.	Glifosat etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılması (F=1,6; df=1,8; p<0,0010)	46
Şekil 4.12.	Tebuconazole + Azoxystrobin etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılması (F=25,5; df=1,8; p<0,0010)	47
Şekil 4.13.	HbH ırkının pestisite dirençli IJ bireylerinin vücut uzunluğu (F=6,24; df=3,96; p=0,0006)	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

		Sayfa
Çizelge 3.1.	*G. mellonella* yapay besin içeriği ve gerekli miktarları	18
Çizelge 3.2.	*Heterorhabditis bacteriophora* HBH hibrit ırkının ebeveynleri	22
Çizelge 3.3.	250 ml ringer çözeltisi içeriği	25
Çizelge 3.4.	Kullanılan pestisitlere ilişkin bilgiler	26

1. GİRİŞ

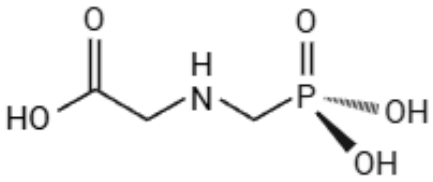
Beslenme, canlılığın sürdürülmesi için mutlak gerekli olan makromolekül, vitamin ve minerallerin alınması demektir ve zorunlu bir ihtiyaçtır (Yüksel, 2022). Avcılık ve toplayıcılıkla başlayan beslenme davranışı yerleşik hayata geçişle tarımsal üretimin gelişmesine neden olmuştur. Tarım devrimi olarak adlandırılan bu olgu neticesinde ıslah çalışmaları yapılmış, bitkisel üretimde verim artışı sağlanmıştır (Direk, 2012). Günümüz verileri dikkate alındığında tarımsal alanların tahribatı, iklim krizleri, bilinçsiz uygulamalar neticesinde su ve toprak kirlilikleri, tarımsal üretimin optimal koşullarının sağlanamaması dolayısıyla artan popülasyonun ihtiyaçlarının karşılanması konusunda endişe uyandırmaktadır. Thomas Malthus 18. yüzyılın sonlarında nüfusun geometrik artışına nazaran bitkisel üretimin aritmetik artışının besin krizine yol açacağını öngörmüştür (Malthus, 2005). Her ne kadar topraksız tarım gibi alternatif üretim yöntemleri yaygınlaşsa da buğday, pirinç gibi temel gıda maddelerinin üretimi bu yeni yöntemlerle sağlanamamakta ve aynı endişeler süregelmektedir (Kurban ve Zengin, 2023; Pimental, 2009).

Tarım alanlarından maksimum verim almak önemini gün geçtikçe arttırmaktadır. Bunun sağlanabilmesi için bitki hastalık ve zararlılarından kaynaklanan kaybın ekonomik zarar eşiği altında tutulması önemlidir. Zararlı kontrolünde en sık tercih edilen yöntem olan kimyasal mücadele insan sağlığına ve doğaya zarar vermesi, çevre kirliliği oluşturması, toprak bozulmalarına neden olması, su kaynaklarını kirletmesi, uygulanan zararlılarının direnç oluşturmaları dolayısıyla etkinliğinin azalması sebepleriyle tercih edilmemeli ve tek başına yeterli gelmemektedir (Triplett ve Dick, 2008; Horrigan ve ark., 2002).
Sürdürülebilir tarım, entegre zararlı yönetimi (EZY) kapsamında bitki zararlı ve hastalıklarına karşı tüm savaşım yöntemlerinin birlikte ve birbirini negatif etkilemeyecek sıralamayla kullanılmasıyla mümkün olabilmektedir. EZY kapsamında öncellikle kültürel mücadeleyle ekim alanı, yetiştirilecek ürüne yönelik hazırlanır. Bu kapsamda toprak işleme, yabancı otlarla mücadele, uygun ekim-dikim derinliği ve yönteminin seçilmesi söz konusudur (Kurtar ve Ayan, 2004). Yani bu aşama daha çok dikim ve dikim öncesi işlemler olarak adlandırılabilir. Bitkinin vejetasyon dönemi ve ürün oluşumu ile hasat dönemlerinde zararlı yahut hastalıkla karşılaşıldığında fiziksel-mekanik, biyolojik,

biyoteknik ve kimyasal mücadele yöntemleri birbiri ardınca ve birlikte uygulanarak bitkinin minimum oranda zarar görmesi için çalışılır (Kurtar ve Ayan, 2004).

1945 yılı sonrası sentetik kimyasal pestisitlerin geliştirilmesiyle kimyasal mücadele tüm dünyada hızla yayılmıştır. Zararlılara kısa sürede etki etmesi ve kolay uygulanabilir oluşu sebebiyle kısa sürede herkes tarafından benimsenmiştir. Ne yazık ki bir iki yıl içinde zararlıların direnç geliştirmesi sonucu kimyasal pestisit uygulamalarında alışılan etki gözlenemez olmuştur. Kaçınılmaz olarak uygulanan dozlar yükselmiş ve bu milyarlarca dolara mal olmuştur. Ayrıca balık ve kuş popülasyonlarındaki düşüş de fark edilmiştir. Bu durumlar kurtarıcı pestisitlerin büyüsünün kısa sürede bozulmasına neden olmuştur. (Pimental, 2009). Kullanılan kimyasal pestisitlerin zararlarını ele alan çalışmalar yaygınlaşmıştır ve süt de dahil olmak üzere gıdalarda pestisit kalıntıları saptanmıştır. Pestisit kalıntıları ve pestisitin uygulanması esnasında deriden nüfuz etmesi sebepleriyle vücuda alınışı zehirlenmelere, kansere ve ölümlere yol açmıştır. Günümüzde de çevreye ve insana olan zararları sebebiyle kimyasal pestisitler son çare olarak düşünülmelidir.

Glifosat gerek tarım alanları gerekse tarım dışı alanlarda bulunan yabancı otların mücadelesinde kullanılan sistemik etkili, seçici olmayan, geniş spektrumlu bir herbisittir. Glifosat, dünya çapında en yaygın kullanılan herbisittir ve aromatik amino asit biyosentez yolunda yer alan 5-enol-pirüvülşikimat-3-fosfat sentaz (EPSPS) enzimini inhibe ederek etkili olur. EPSPS, yalnızca bitkilerde ve bazı mikroorganizmalarda bulunan şikimik asit yolunun kilit bir enzimidir. Bu enzim, bu metabolik yolakta altıncı adımda yer alır ve doğrudan önemli bir dallanma noktası olan korizmat (chorismate) maddesinin oluşumundan önce gelir. Korizmat, neredeyse tüm aromatik bitki metabolitlerinin, özellikle de üç temel aromatik amino asit olan fenilalanin, tirozin ve triptofanın sentezi için gereklidir. Bitkinin kuru ağırlığının yaklaşık %35'i veya daha fazlası, bu yolaktan türetilen aromatik moleküllerle temsil edilebilir. Glifosat, EPSPS enzimini inhibe ederek bu yolaktaki karbon akışını ciddi şekilde bozar ve şikimat birikimine neden olur. Şikimatın bu şekilde aşırı birikmesi, bitkide metabolik dengesizlik yaratır ve sonuç olarak bitkinin ölmesine yol açar (Sikorski ve Gruys, 1997).

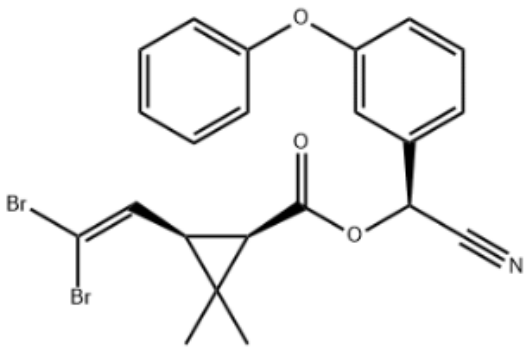


Şekil 1.1. Glifosatın kimyasal yapısı

Deltamethrin, (S) – alfa – siyano – 3 – fenoksibenzil - (1R) – cis – 3 - (2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilsiklopropan karboksilat, dünya genelinde insektisit ve akarisit olarak kullanılan Tip II sentetik bir piretroiddir (Muir vd., 1985; Anadon vd., 2013). Bilinen en güçlü insektisitlerden biridir (Guardiola vd, 2014). Sistemik olamayan kontak etkili pestisitlerdendir. Piretroidler, krizantem çiçeklerinden sentezlenen sentetik organik bileşiklerdir. Tip II piretroidlerin etki mekanizması incelendiğinde; sinir hücrelerinin zarında bulunan voltaj bağımlı sodyum kanallarını (Na^+) hedef alır. Bu kanalları uzun süre açık tutar, bu da sinir hücrelerinde sürekli uyarılmaya neden olur. Sonuç olarak, böceklerde kas seğirmeleri, felç ve ölüm meydana gelir. (Anadon vd., 2013; Shrivastava Bhanu vd., 2011).

Deltamethrin zehirlenmesi, kütikül yoluyla (deri yoluyla) veya ağızdan alım yoluyla gerçekleşebilir. Deltamethrin, çok geniş spektrumlu etkiye sahiptir ve sentetik piretroidler arasında en güçlü olanı olarak kabul edilir (Shrivastava Bhanu vd., 2011).

Sentetik piretroidler, yüksek insektisit etkisine ve kuşlar ile memelilere düşük toksisiteye sahiptir (Bradbury ve Coats, 1989). Organofosfat (OP) insektisitlerin satışının kısıtlanmasından sonra piretroidlerin kullanımı önemli ölçüde artmış ve son yirmi yılda tarıma dayalı birçok ülkede tercih edilen pestisitler haline gelmiştir (Lu vd., 2019)

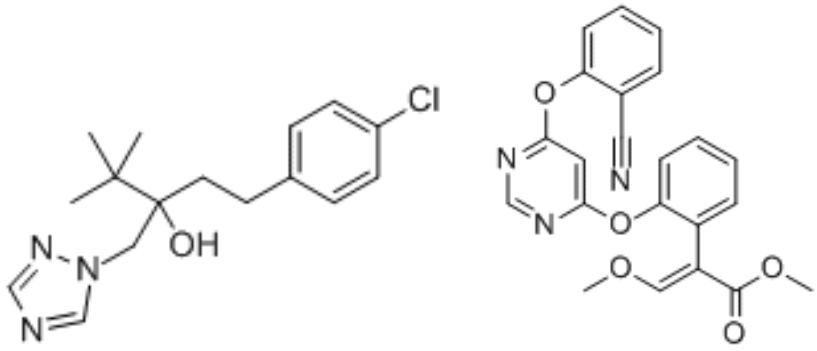


Şekil 1.2. Deltamethrinin kimyasal yapısı

Tebuconazole, DMI-IBE Sınıf I fungisitlere ait olan, moleküler kiralliliğe sahip bir triazol bileşiğidir. Bu bileşik, hedef organizmalarda ergosterol biyosentezini engelleyerek koruyucu, tedavi edici (küratif) ve yok edici (eradikatif) sistemik etki gösterir. Engelleme mekanizması, ergosterol sentezinde gerekli olan demetilasyon basamağını bozması yoluyla gerçekleşir. Hücre zarını zayıflatarak fungusların ölümüne neden olur (Aguiar, 2021; Lewis vd., 2016).

Azoxystrobin, yalnızca E-izomerik formunda bulunan, bir kompleks III - QoI (quinone outside inhibitor) grubuna ait strobilurin fungisittir. Diğer QoI fungisitlerde olduğu gibi, azoxystrobinin temel etki mekanizması, sitokrom b ve c kompleksi arasındaki elektron transferine bağlanması yoluyla mitokondriyal solunumu engellemesi ve bunun sonucunda reaktif oksijen bileşiklerinin (ROS) artmasına neden olmasıdır (Kumar et al., 2020; Liu et al., 2015; Wu et al., 2018).

Hedef organizmalarda gösterdiği etkiler arasında; lokal sistemik - translaminar (yaprak boyunca yayılan) koruyucu etki, ayrıca küratif (iyileştirici) ve eradikatif (yok edici) özellikler yer alır (Hnátová et al., 2003; Lewis vd., 2016).



Şekil 1.3. Tebuconazole (sol) ve azoxystrobinin (sağ) kimyasal yapısı

Biyolojik kontrol, geleneksel kimyasal kontrol yöntemlerine kıyasla çevresel açıdan daha kabul edilebilir bir alternatifi temsil eder. Başarıyla uygulandığında, zararlı popülasyonlarının kalıcı bir şekilde yönetilmesini, çevresel bozulmanın minimum düzeyde olmasını sağlayabilir. Biyolojik kontrol; böcek zararlılarının popülasyonunu bastırmak ve yönetmek amacıyla yırtıcılar, parazitoidler veya patojenlerin uygulanması anlamına gelir. Biyolojik mücadele doğrudan arazide bulunan biyolojik mücadele ajanlarıyla doğal olarak sağlanabildiği gibi kitle olarak üretilip araziye salınarak da sağlanabilmektedir. Araziye predatör/parazitoit salımı yapılmadan önce iklim ve biyolojik mücadele ajanının gereksinimlerinin paralel olmasına ve arazide yeteri kadar besin (zararlı) bulunmasına dikkat edilmelidir (Hoddle ve Van Driesche, 2009; Stenberg vd., 2021).

Biyolojik mücadele kapsamında böcekler, akarlar, bakteri, fungus, nematod gibi entomopatojenler de kullanılmaktadır. Entomopatojen terimi böcekte hastalık yapan anlamına gelir. Patojenler konukçusuna özelleşmiş olmaları dolayısıyla önem kazanır. Entegre mücadelenin etkililiğinin ana koşullarından olan diğer yöntemin engellenmemesi konusunda ayrıcalık oluşturur (Greathead 1986; DeBach ve Rosen, 1991). Tarım zararlılarıyla biyolojik mücadelede entomopatojen nematodların kullanımı 80'li yıllardan sonra ivme kazanmış ve ticari preparatların satışa sunuluşuyla tarım arazilerinde kullanımı artmıştır (Koppenhöfer vd., 2020). Entomopatojen nematod kavramı ilk kez 1923'te Gotthold Steiner tarafından kullanılmıştır. Tanımlamanın ardından birçok EPN türü tanımlanmış olsa da biyolojik mücadelede en sık kullanılanları Heterorhabditidae ve

Steinernematidae familyaları üyeleridir (Dillman ve Sternberg, 2012). Bu iki nematod familyası benzer yaşam döngülerine sahiptir. Tarım zararlıları arasında mücadelesinde en çok zorlanılan grup olan toprakaltı zararlılarla mücadelede başarılı olan entomopatojen nematodlar (EPN) kimyasal ilaçlar olan pestisitlerin kullanımının doğaya ve yararlı organizmalara verdiği zararı vermemektedir. (Stuart vd. 2006; Radová 2011). Hedef zararlı dışındaki bir canlıya zarar verdiğine ilişkin veri bulunmamaktadır (Dillman ve Sternberg, 2012). Ayrıca uygulandığı alanda zararlı ile karşılaştığında yaşam döngüsünü tamamlayarak çoğaldığından tek bir uygulama ile arazideki varlığını koruyacak oluşu hem emek hem zaman hem de bütçe tasarrufu sağlar (Susurluk ve Ehlers, 2008). EPN'lerin araziye uygulanışının ardından zararlı kontrolü vektör olan nematodlarca sağlanır. Toprakta konukçusunu arayan nematod dauer/infektif juvenil olarak adlandırılır. İnfektif juvenil (IJ) toprakta zarar görmeden hareket edebilmesi için diğer dönemlerinden farklı olarak özel bir kılıfla kaplıdır. IJ'ler lipid rezervleri sayesinde beslenmeden uzun süre toprakta konukçusunu arayabilir (Susurluk ve Ehlers, 2008).



Şekil 1.4. Mikroskop altında infektif juvenil görüntüsü (İlktan, 2024)

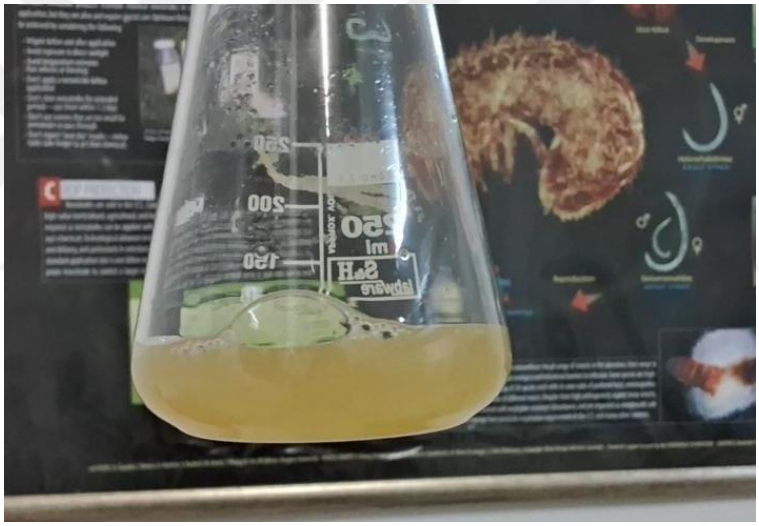
Nematodlar zararlının doğal açıklıkları olan ağız, anüs ve trake açıklıklarından, doğrudan integümentten zararlının vücuduna giriş yapar (Bedding ve Molyneux, 1982; Peters ve Ehlers, 1994; Triggiani ve Poinar, 1976). Zararlı kontrolünü asıl sağlayan nematodun vücudunda bulunan simbiyotik bakterilerdir (Stuart vd., 2006). Simbiyotik bakteriler; Enterobacteriaceae familyası üyesi gram negatif, basil (çubuk) şeklinde hareketli ve entomopatojen bakterilerdir. *Steinernema* türleriyle simbiyotik ilişki halindeki bakteri

Xenorhabdus türleridir. *Heterorhabditis* türleriyle simbiyotik ilişki halindeki bakteri *Photorhabdus* türleridir. *Photorhabdus*, *Xenorhabdus*'tan farklı olarak biyolüminesans özelliğe sahiptir. *Photorhabdus*'un ürettiği toksinler; hücre zarında por oluşturup hücre içine girerek ölümcül hasarlar vermek, apoptozu indüklemek, hücre sinyal iletimini bozmak, aktin filamentlerini bozarak sitoskeletal yapının stabilitesini bozarak hücre şeklinin bozulmasına yol açmak gibi etkiler oluşturarak ölümcül etki meydana getirir (Ciche ve Ensign, 2003; Rodou vd., 2010).

Hemolenfe giren nematodlar bakterilerin salınımını yaparak bakterilerin beslenip gelişebileceği, metabolitlerini üretebileceği ortama kavuşmasını sağlamış olur (Ehlers vd., 1996). Bakterilerin ürettiği toksinler ve enzimler zararlı böceğin ölümüne sebep olur. Bakterilerin neden olunduğu değişimler nematodun böceğin vücudundan beslenmesine olanak tanır. Büyüyen IJ, juvenil 4 dönemine geçer ve devamında ergin olarak neslin devamlılığı sağlanır. Birkaç döl sonrasında besin kalmadığında yumurta – juvenil 1 – juvenil 2 – juvenil 3 (IJ) dönemlerini tamamlayarak ortamdaki bakterilerden yutarak onları diğer zararlı içinde beslenmesine yardımcı olması amacıyla vücudunda depolayarak toprakta yeni konukçu aramaya başlar. Nematod ve bakterisi arasındaki simbiyotik ilişki böyledir (Ffrench-Constant vd., 2003).

Toprakta juvenil 3 (IJ) olarak bulunan EPN'lerden *Steinernema* türleri, pusucu (ambusher) ve yarı pusucu yarı aktif (intermediate) konukçu arayan türleri barındırır. Pusucu türler (örneğin *Steinernema carpocapsae*) toprağın 10 cm altı dolaylarında bulunur ve bu mesafeden geçen konukçularına kuyruğu üzerinde dikilerek (nictation) tutunur (Gaugler vd. 1997) ve bu şekilde konukçusunun ağız ve anüsünden bağırsak duvarını delerek, solunum açıklıklarından girişte trake duvarını delerek hemosöle girer. *Heterorhabditis* türleriyse konukçusunu aktif (cruiser) olarak arar. Hemosöle giren nematod *Steinernema* türlerinde bağırsakların ön kısmında bulunan özel kese içerisindeki bakterilerini hemolenfe bırakır. *Heterorhabditis* türlerinde bakteriler sindirim kanalı boyunca bulunur (Smart, 1995) Bakteriler hemolenfe bırakıldıktan sonra enzimler salgılar ve bu sayede böceğin bağışıklık sistemini zayıflatarak bakterilerin hemolenfte barınmasını ve çoğalmasını kolaylaştırır (Caldas vd., 2002). Antibiyotikler ve bakteriyosinler üreterek diğer patojenlerin konukçu böceğe giriş yapmasını engellerler.

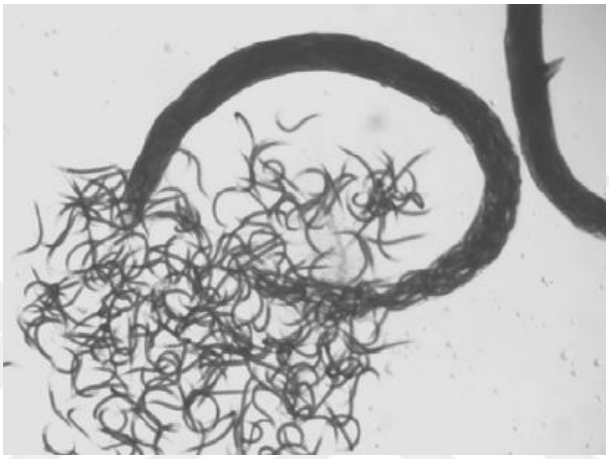
Bakterilerin neden olduğu septisemi ve toksemi sonunda böcek 2-3 günde ölür (Poinar vd., 1977; Gauge ve Snyder, 2006; Mollah ve Kim, 2020). *Steinernema* türlerinde vücut dokularında bütünlüğün korunduğu disekte edilen böceklerde gözlemlenmiştir. Öte yandan *Heterorhabditis* türleriyle enfekte olan larvalar disekte edildiğinde litik enzimlerle vücut dokularında bütünlüğün bozulduğu, homojenleştiği görüntüsüyle karşılaşılır. Kısaca *Steinernema* türlerinin simbiyotik bakterileri daha kontrollü enzimatik aktivite gösterirken, proteaz inhibitörleri salgılarken ve ortamın pH'sı ve amonyak miktarını değiştirerek çürümeyi geciktirirken, *Heterorhabditis* türlerinin simbiyotik bakterileri daha fazla litik enzimler (proteazlar, lipazlar ve diğer hidrolitik enzimler) salgılayarak hücre zarını parçalayıp kasları yıkarak böceğin dokularını çorba haline getirir (Tarasco vd., 2023; Lanois vd., 2008).



Şekil 1.5. Çoğaltılmış *Photorhabdus luminescens* bakterileri (İlktan,2023)

Heterorhabditis türlerinin ve simbiyont bakterisi *Photorhabdus* türlerinin biyolojisi incelendiğinde IJ evresinde toprakta bulunan entomopatojeni başlangıç noktası varsayarsak EPN'nin bağırsak boşluğunda bakteriler dormant halde bulunur. Simbiyotik ilişkileri hem nematod hem de bakterinin devamlılığının sağlanması açısından önemlidir (Ciche ve Ensign, 2003). *Heterorhabditis* türü nematod konukçusunu toprak içerisinde hareket ederek arar ve bulur. *Heterorhabditis* türlerinde ilk ergin form hermafrodit olduğundan tek bir infektif juvenil dahi böceğe giriş yapsa ergin hale gelip kendini dölleyebileceğinden entomopatojen nematod çoğalacaktır. İkinci kez ergin evreye geçen

nematodlarda eşey ayrımı olduğu gözlenir. Dişiler vulva, erkekler spicula bulundurmasıyla ayırt edilir. Ayrıca erkekler boyutsal olarak daha küçüktürler. Hermafroditler en büyük boyutlu formdur. Hermafroditler kendini dölledikten sonra yumurtalar hermafroditin vücudunda gelişir ve burada açılır. Hermafroditin vücudunda yeterli alan kalmadığında parçalanarak juveniller dışarı çıkar. Bu olaya endotokia matricida denir (Acharya vd, 2025).



Şekil 1.6. Endokia matricida ile juvenillerin hermafroditten ayrılışı (İlktan, 2023)

Nematodlar çoğalırken bakterilerde üstel yoğunluğa ulaşmıştır. *Heterorhabditis* türlerinin konukçularının vücudu hızla parçalandığından besin kullanımı *Xenorhabdus* türlerine kıyasla daha kısa sürer. Bu sebeple *Heterorhabditis* türü infektif juveniller bakterileri yutarak kadavrayı daha kısa sürede terk ederler (Acharya vd., 2025).

Steinernema türü entomopatojen nematodun infektif juvenillerine toprağın daha üst katmanlarında rastlanır. Daha pasif halde konukçusunu bekleyen entomopatojenlerdir. Bu durum *Steinernema* türü entomopatojen nematodların konukçu ağını daraltır. Bu türün nematodları küçük sıçrayışlar yaparak ya da kuyruğu üzerinde konukçusuna uzanarak böcek hemosölüne girerler. Hemolenfe salınan *Xenorhabdus* bakterileri de ilk olarak böceğin immün sistemini yok eder ancak böcek dokularının parçalanması konusunda daha temkinli davranarak böcekten beslenme süresini uzatırlar. Ayrıca beslenen nematodlar ergin evreye geçtiklerinde erkek ve dişi olarak ayrıldıklarından nematodun

çoğalması için böceği en az iki nematodun enfekte etmiş olması gerekir (Laznik ve Trdan, 2014; Acharya vd., 2025).

Daha iyi sonuçlar elde edebilmek, çevre ve insan sağlığını gözetmek açısından bitki zararlılarıyla mücadelede farklı savaşım yöntemlerinin birlikte uygulanması önemlidir. Diğer taraftan uygulama kolaylığı sağlamak, zaman ve emek tasarrufu için de birlikte uygulanabilir olan mücadele yöntemleri tercih sebebidir. Örneğin bir pestisitin nematodlarla karıştırılarak tankta depolanıp uygulanabilir olup olmadığını bilmek, zaman ve maliyetten tasarruf sağlamak açısından önemlidir. Bu aynı zamanda Entegre Zararlı Yönetimi (EZY) ile de uyumluluğun değerlendirilmesini sağlar (Grewal, 2002). Kimyasal (insektisitler) ve kimyasal olmayan (EPN'ler) yaklaşımların kombinasyonu hem insektisitlerin hem de EPN'lerin bireysel kullanımına kıyasla dezavantajları azaltabilir; özellikle her iki bileşen sinerjik şekilde çalıştığında (Kary ve ark., 2021). Ayrıca, insektisitler ve EPN'lerin tank karışımı olarak birlikte kullanılması, sürdürülebilir zararlı yönetimini teşvik etmenin yanı sıra maliyet etkin ve zaman tasarruflu çözümler sunabilir (Özdemir ve ark., 2020). Kimyasal insektisitlerin EPN'lerle kombinasyon halinde kullanılması, çeşitli böcek zararlılarının etkili yönetimini sağlayabilir (Kary ve ark., 2021; Özdemir ve ark., 2021).

Bu çalışmanın amacı yaygın olarak kullanılan pestisitlerin entomopatojen nematodlarla uyumunun araştırılması ve pestisitle temasta bulanan infektif juvenillerin morfometrik olarak boyunda bir değişim gözlenip gözlenmediğinin araştırılması ile pestisitle temasta bulanan infektif juvenillerin enfektivitesi ve üreme gücü üzerinde etkisinin olup olmadığının araştırılmasıdır (Laznik ve Trdan, 2014; Grewal, 2002).

Bu çalışma neticesinde hibrit entomopatojen nematod *Heterorhabditis bacteriophora* ile pestisitlerin karışabilirliği, birlikte uygulanış imkânı tespit edilecektir. Ek olarak pestisitlerle etkileşimde bulunan infektif juvenillerin bu etkileşim sonucunda morfometrik olarak boy uzunluğu, enfektivite ve üreme gücü bakımından bir değişimin saptanıp saptanmayacağı belli olacaktır. Bir değişiklik olması durumunda değişime neden olan etmenler araştırılacaktır. Uyumlu olmaları neticesinde entegre mücadele ve sürdürülebilir tarımın yaygınlaşmasına ışık tutacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Koppenhöfer ve Fuzy (2008), *Heterorhabditis bacteriophora* ve klorantraniliprole (aktif madde: %18,5) etken maddesinin *Anomala orientalis, Popillia japonica ve Cyclocephala borealis* üzerinde birlikte uygulanması ve ayrı ayrı uygulanması arasındaki farklar araştırılmıştır. İlk olarak krolantraniliprole ile *H. bacteriophora*'nın karışabilirliği araştırılmış 0-900ppm dozlarda denemeler yapılmış ve pestisitin nematodu negatif yönde etkilemediği tespit edilmiştir. Karışabilir oldukları sonucundan yola çıkarak denemeler kurulmuştur. Denemeler saksı ve arazi koşullarında yapılmış, ayrı ayrı uygulamalarda neredeyse tamamında anlamlı ölüm oranlarına rastlanılamamış, birlikte yapılan uygulamalarda larva ölümlerinin daha hızlı gerçekleştiği sonucuna varılmış, sinerjistik ve additif etkiler gözlenmiştir.

Negrisoli vd. (2010), Brezilya'da mısırın en önemli zararlısı olan *Spodoptera frugiperda*'nın kontrolünün sağlanması amacıyla EPN'ler ve insektisitlerin bir arada kullanılabilirliği araştırılmıştır. Denemelerde üç farklı entomopatojen nematod türü ve 18 farklı insektisit kullanılmıştır. EPN'ler *G. mellonella* larvalarında in vivo olarak üretilmiş ve %0,1 sodyum hipoklorit içeren distile su içerisinde 12°C'de kullanım öncesi 1 ay saklanmıştır. Kullanılan EPN türleri *Heterorhabditis indica, Steinernema carpocapsae* ve *Steinernema glaseri*'dir. Denemelerde kullanılan insektisitler tarla dozunun iki katı oranında distile su ile hazırlanmıştır. İnsektisitlerle karışabilirliği test etmek için 1 ml içerisine 2500 IJ eklenmiş ve bir tüp içerisinde 1 ml insektisitle karıştırılarak (uygulamada tarla dozu kullanılmıştır) 48 saat sonunda 100 µl ortalama 100 IJ miktarında örnek alınarak canlı ölü sayımları yapılmış ve ölüm oranları belirlenmiştir. İnfektiflik testi içinse IJ'ler yıkanarak insektisitten arındırılmış ve 100 IJ dozunda enfeksiyon yapılmış ve larvalar disekte edilerek ölümün EPN'den olduğu teyit edilmiştir. Sonuç olarak; *H. indica, S. carpocapsae* ve S. *glaseri, S. frugiperda*'ya karşı kullanılan birçok insektisit ile uyumlu bulunmuştur

Radová (2011), *Steinernema feltiae* ve *Heterorhabditis bacteriophora* entomopatojen nematodlarının 22 farklı pestisit ile uyumluluğu laboratuvar koşullarında test edilmiştir. Bu çalışmada, nematodların infektif juvenillerinin (IJ'ler) ölüm oranı ve *Tenebrio*

molitor'a karşı virülensleri araştırılmıştır. Ölüm oranları araştırılırken pestisitlerin tarla dozlarıyla EPN'ler aynı ortamda 72 saat boyunca tutulmuş ve mikroskopta incelenerek ölüm oranı belirlenmiştir. Subletal etki için EPN'ler pestisitlerden arındırılmış 1 gün boyunca distile su içinde bekletilmiş ve her *T. molitor* böceğine 100 IJ gelecek dozda petriye uygulanarak etkisi test edilmiştir. Test edilen tüm pestisitler, *H. bacteriophora*'nın virülensinde azalmaya neden olmuştur (fenpiroksimat virülensi etkilememiştir). diafenthiuron, diflubenzuron, fenpyroksimat, kinoprene, pyrethrum + piperonil-bütoksit, pyriproxyfen etken maddeli pestisitlerde ölüm oranı %10'un üzerinde olduğu saptanmıştır. Nuarimol, imidacloprid, methomyl, fenpyroksimat, tebufenpyrad etken maddeli pestisitlerin EPN'lerin virülansını arttırdığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak EPN – Pestisit kombinasyonu büyük oranda uyumludur ve kısa süreli maruziyetlerde birlikte uygulanabilirler sonucuna varılmıştır.

Hassan ve Ibrahim (2019), Coragen (chlorantraniliprole), Nomolt (teflubenzuron), Ekio (novaluron) ve Magic Smart (lufenuron) adlı insektisitlerin, *Spodoptera littoralis*'e karşı *Steinernema carpocapsae* ve *Heterorhabditis bacteriophora* ile etkileri test edilmiştir. Nematod ölüm oranı 48 saat sonunda rastgele alınan 100 IJ'nin sayımının ortalaması baz alınarak belirlenmiştir. Ardından nematodlar insektisitten arındırıldıktan sonra etkinlik denemeleri yapılmıştır. 5 günlük inkübasyon süresinin ardından canlı – ölü larvalar sayılmış ve sonuçlar not edilmiştir. Ölüm nedenin netleşmesi için larvalar disekte edilerek EPN varlığı saptanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde EPN – Pestisit etkileşiminin additif ve sinerjistik etkiler ortaya çıkardığı gözlemlenmiş ve tankta karışabilir oldukları saptanmıştır. *Heterorhabditis* türlerinin *Steinernema* türlerine nazaran pestisitlere daha duyarlı olduğu gözlenmiş ve Gaugler (1990)'in çalışmalarıyla uyumlu olduğu görülmüştür. Ayrıca *S. carpocapsae* veya *H. bacteriophora*'nın Coragen, Nomolt, Ekio ve Magic Smart insektisitlerinin her biriyle birlikte LC_{25} dozda uygulanmasının *S. littoralis*'in ölüm oranını artırmada etkili olduğunu göstermiştir.

El-Ashry vd. (2020), domates zararlısı *Helicoverpa armigera*'nın kontrolünde kalıntı problemleri ve etki süresinin kısıtlılığı nedeniyle EPN ve pestisitlerin bir arada kullanımını araştırmışlardır. Laboratuvar ve sera denemelerinde EPN'lerin tankta karışabilirliği ve EPN-Pestisit kombine uygulanışının etkileri değerlendirilmiştir.

EPN'ler ırk ve türlerine göre pestisitlere farklı oranlarda hassasiyet göstermişlerdir. En duyarlı türün *Steinernema feltiae*, en dayanıklı türün *S. glaseri* olduğu gözlenmiştir. *Heterorhabditis* türlerinin dayanıklılık konusunda ikinci sırada olduğu kaydedilmiştir. Artan maruziyet süresinin EPN ölümü ile ilişkisi değerlendirildiğinde *Heterorhabditis* türleri geçen zamana kıyasla *Steinernema* türlerinden daha yavaş ölüm tepkisi vermiştir. EPN'ler ile pestisitler arasındaki etkileşim ANOVA ile analiz edilmiş ve EPN suşları ile pestisitler arasında etkileşim olmadığını fakat her bir faktör arasında anlamlı fark olduğunu göstermiştir ($P < 0.05$). Yedi günlük maruziyet sonrası karşılaştırıldığında, fenamifos %59.12 ile en yüksek ölüm oranını göstermiştir; ardından abamektin (%54.42), klorpirifos formülasyonları gelmiştir. Pestban %43.24, Tafaban %41.88 ile benzer sonuçlar vermiştir. Flubendiamid ise %36.8 ile en düşük ölüm oranını göstermiştir. Abamektin, klorpirifos ve flubendiamid'in EPN türleriyle etkileşimi yüksek oranda additif etki göstermiş olmasına rağmen fenamifos'un EPN'lerle etkileşimi antagonist etki göstermiştir.

Özdemir vd., (2021), önemli patates zararlısı *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) insektisitlere hızla direnç geliştirdiğinden kontrol altına almak güçleşmiş ve entegre mücadele kaçınılmaz olmuştur. Bu çalışmada klorantraniliprol, spinosad ve spinetoram'ın entomopatojen nematod sonuçları incelendiğinde *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) ile uygulanması araştırılmıştır. Nematodun canlılığının araştırılması için 100 IJ/10 µL yoğunlukta nematodlar tarla dozunda, tarla dozunun yarısı ve iki katı dozlarında insektisite maruz bırakılmışlardır. İnsektisite maruz bırakılan IJ'ler etkinlik denemesi için patates böceğinin L1/L2 ve L3/L4 dönem larvalarına her larvaya 100 IJ dozunda uygulanmıştır. Çalışma sonuçları uygulamadan sonraki 24, 48 ve 72saatte kaydedilmiştir. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde test edilen insektisitlerin *S. feltiae*'nin canlılığı ve enfektivitesi üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı ve bu izolatın entegre *Leptinotarsa decemlineata* kontrolüyle uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır. Tüm maruz kalma sürelerinde en düşük ve en yüksek ölüm oranları sırasıyla klorantraniliprol (%0,83, %6,42 ve %7,83) ve spinosad (%1,0, %9,50 ve %10,50) uygulamalarında gözlenmiştir. 24 saatlik maruziyetin ardından, hem insektisit ile muamele edilmiş IJ'ler hem de EPN kontrol grupları genç larva evresinde daha etkili olmuştur ($P < 0.05$).

Campos-Herrera vd. (2023), bağlarda yaygın olarak kullanılan fungisitlerle entomopatojen nematodların birbiriyle uyumunun araştırıldığı bir çalışmadır. Bacillus pumilus, kükürt ve bakır oksiklorür, Trifloxystrobin ve Mancozeb denemelerde kullanılan fungisitler olup deneme boyunca önerilen tarla dozu uygulanmıştır. Canlılık testi için sayımlar 4 ve 24. Saat sonunda yapılmış ve sonuçlar not edilmiştir. 24 saatlik etkiye maruz kalan EPN bireyleriyle virülans test edilmiştir. *Steinernema carpocapsae 'All'* popülasyonunun IJ'lerinin canlılığı ve virülansı, test edilen hiçbir agrokimyasaldan olumsuz etkilenmemiştir. Buna karşılık, *Steinernema feltiae 107* üzerinde bazı olumsuz etkiler gözlemlenmişse de bu etkiler maruziyetten 5 gün sonra virülans kaybı olarak gözlenmemiştir. Çalışmaların neticesinde tankta 4 saatten fazla beklenmeden uygulama yapılması durumunda pestisitlerle nematodların birlikte uygulanmasında bir sakınca görülmemiştir.

Ahmed vd., (2024), *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), birçok tarım ürünü ve çim alanları üzerinde ekonomik öneme sahip bir zararlıdır. Zararlıyla mücadelede istenen sonuçlar elde edilemediğinden farklı stratejilerin entegrasyonu sürdürülebilir yönetim için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada, zararlının beşinci dönem larva (L5) ve pupal evrelerini hedef alarak dört insektisidin (indoksakarb, piridalil, lufenuron ve metoksifenozid) ve üç yerel EPN izolatının (iki *Heterorhabditis indica* ve bir *Heterorhabditis bacteriophora* izolatı) toksisitesi değerlendirilmiştir. BCW kontrolünde potansiyel kullanım gösterildikten sonra, insektisitlerin subletal konsantrasyonları (LC15 veya LC30) ile EPN'lerin LC20 değerlerinin birlikte kullanımı incelenmiştir. Larvalar 5, 10, 20, 40, 80 ve 150 IJs/ml dozda, pupalar 150, 500 ve 1000 IJs/ml dozda inoküle edilerek mortaliteler 72 saat sonra kaydedilmiştir. Bulgular, lufenuron ve metoksifenozidin EPN'lerle birlikte kullanıldığında zararlının L5 evresinde sinerjik etki gösterdiğini, ancak aynı kombinasyonun pupalarda antagonistik etki ortaya koyduğunu göstermiştir. Öte yandan, indoksakarb ve piridalil ile EPN'lerin kombinasyonu pupal evrede sinerjik etki sağlamıştır. Bu sonuçlar, subletal konsantrasyonlarda insektisitler ve EPN'lerin kombinasyonunun BCW kontrolünde etkili olma potansiyelini ortaya koymaktadır. Bu yaklaşım, entegre zararlı yönetimi (IPM) çerçevesinde sürdürülebilir zararlı kontrol stratejilerinin tasarlanması açısından umut vericidir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Yetiştirilmesi

Galleria mellonella Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae), balmumu/petek güvesi olarak bilinir ve arı kovanlarında zararlı olarak bulunur. Entomopatojen nematodların in vivo üretiminde model organizma olarak kullanılır. Bu amaçla tercih edilme nedeni hızlı üremesi, çok sayıda döl vermesi, laboratuvar koşullarında yapay besin ile beslenerek üretilebilmesi, tombul larvaları ve kitinsel bir tabakayla kaplı olmayan yumuşak vücutlu bir larva olması dolayısıyla EPN girişinin kolaylıkla gerçekleşmesidir (Ehlers ve Shapiro-Ilan, 2005, aktaran Desai ve diğerleri, 2019; Delobel ve Laviolette, 1969). Bu sebeple çalışmalarda in vivo üretim gerçekleştirilirken son dönem *G. mellonella* larvaları kullanılmıştır.

3.1.1. *Galleria mellonella* Biyolojisi

Galleria mellonella, Lepidoptera takımının Pyralidae familyasına bağlı Galleriinae alt familyasının bir üyesidir. Dört yaşam evresi geçirir ve holometabola (tam başkalaşım) geçirerek ergin olur (Kwadha vd., 2017).



Şekil 3.1. *G. mellonella* yumurtasının mikroskop altındaki görüntüsü (İlktan, 2024)

Larvalar gerçek tırtıl tipi olup çok bacaklı yapıdadır; thoraxta altı bacak ve abdomenin üçüncü ile altıncı segmentlerinde çeşitli sayıda yalancı bacaklar bulunur. Larva rengi

genellikle krem beyaz olup, her deri değişimiyle birlikte daha koyu bir renge bürünür (Smith,1965; Kwadha vd., 2017).



Şekil 3.2. *G. mellonella* son dönem larva evresi (İlktan, 2024)

Pupalar, genellikle 12–20 mm uzunluğunda ve 7 mm çapındadır. Dişi pupalar, genellikle erkek pupalardan daha uzun olur. Pupa tipi obtekt olarak tanımlanır; tüm uzuvları, deri değişimi sırasında salgılanan bir madde ile vücuda yapışmıştır. Pupalaşmanın başlangıcında, pupa rengi beyaz ile sarı arasında değişir; gelişim süreci ilerledikçe rengi kahverengiye, daha sonra ise koyu kahverengiye dönüşür (Kwadha vd., 2017; Ellis vd., 2013).



Şekil 3.3. *G. mellonella* pupa evresi (İlktan, 2024)

Ergin, 15–20 mm vücut uzunluğuna, 31 mm kanat açıklığına ve yaklaşık 170 mg ağırlığa sahiptir. Erkek güve, dişilere kıyasla daha küçük ve renk olarak daha açık tonlardadır.
Her iki cinsin ön kanatlarında, pigmentasyon yoğunluğu değişkenlik gösterir. Ön kanadın ön (anterior) üçte ikilik kısmı, pullarla kaplıdır ve bu bölge, daha koyu bir renk tonuna

sahiptir. Buna karşılık, arka (posterior) üçte birlik kısım, koyu ve açık renkli şeritlerden oluşan bir karışıma sahiptir. Ek olarak larvaların beslendiği besin ve gelişim süreleri, ergin güvelerin vücut renklerini etkileyebilmektedir (Shimanuki, 1981; Smith, 1965).



Şekil 3.4. *G. mellonella* ergin evresi (İlktan, 2024)

3.1.2. *Galleria mellonella* Yapay Besini

Galleria mellonella yapay besini bal, gliserol, mısır unu, soya unu, süt tozu, kepek ve maya içeren bir karışımdır. Öncelikle %20 oranında bal ve gliserol ısıya dayanıklı bir kap içerisine alınarak ve 200°C'ye ayarlı bir ısıtıcı üzerinde kaynatılmıştır. Kaynama başladıktan sonra %5 oranında maya eklenmiştir. Maya aktifleşerek eridikten sonra ısıtıcı kapatılır. Diğer yanda kuru malzemeler bir karıştırma kabında harmanlanmıştır. Bunlar %20 oranında kepek, %10 oranında süt tozu, %15 oranında mısır unu ve %10 oranında soya unudur. Katı karışım, sıvı karışıma yedirerek karıştırılır ve yapay besin hazırlanmış olur.



Şekil 3.5. *G. mellonella* yapay besini (İlktan, 2025)

Çizelge 3.1. *G. mellonella* yapay besin içeriği ve gerekli miktarları

Ürün	**Miktar (1 kg için)**
Bal	200g
Gliserin	200g
Maya	50g
Kepek	200g
Mısır Unu	150g
Soya Unu	100g
Süt Tozu	100g

Hazırlanan besin soğuduktan sonra 1 litrelik cam kavanozlara yarısını geçecek şekilde alınmıştır. Kavanoz içerisine *G. mellonella* yumurtalarının bulunduğu filtre kâğıtları küçük parçalar halinde kesilerek yeme karıştırılmıştır. Yemin taze olarak hazırlanması yumurtadan çıkacak olan larvaların rahatça beslenebilmesi için önemlidir. Yem bir süre bekledikten sonra su içeriği azalarak katılaşmakta ve 1. dönem larvaların beslenmesine uygun olamamaktadır. Yumurtalar yemle buluşturulduktan sonra kavanozun kapak kısmına filtre kâğıdı yerleştirilmiştir. Bunun sebebi 1. dönem larvaların çok küçük boyutlarda oluşu sebebiyle kavanozu terk etmelerini önlemektir. Filtre kağıdının üzeri

ince telle kaplanmış ve delikli kavanoz kapakları kapatılarak kavanozlar 25°C'ye ayarlı etüve yerleştirilmiştir.



Şekil 3.6. Besin kavanozuna eklenmiş yumurta kağıtları (İlktan, 2025)

Yumurtadan çıkan larvalar kavanozdaki besinle beslenerek gelişir. Larvaların boyutu büyüdükçe tel kaçmalarını engellemeye yeteceğinden filtre kâğıdı kullanılmaz. Larva sayısına ve besin durumuna göre larvalar başka kavanozlara alınarak popülasyon kavanoz hacmiyle doğru orantılı olarak ayarlanmıştır. Son dönem (7. dönem) larvalar test böceği olarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.7. Yapay besin ortamında beslenen *G. mellonella* larvaları (İlktan, 2025)

Popülasyonun devamlılığının sağlanması açısından bir miktar son dönem larva pupa evresine geçmek üzere gelişimini tamamlamaya bırakılmıştır. Bu evreden sonra artık beslenme olmayacağından pupalar temiz bir kavanoza alınmıştır.



Şekil 3.8. *G. mellonella* pupaları (İlktan, 2025)

Ergin forma geçtikten sonra yumurtaların toplanabilmesi için kavanozun kapak kısmına filtre kâğıdı yerleştirilmiştir. Erginler bu filtre kağıdına kavanozun ağız kısmını takip edecek şekilde yumurtalarını bırakırlar. Yumurtalar 2 gün arayla filtre kâğıdı değiştirilerek toplanmıştır. Hemen besinle buluşturulup döngü sağlanmayacaksa bir süre buzdolabında bekletilerek yumurtaların açılması geciktirilebilir.

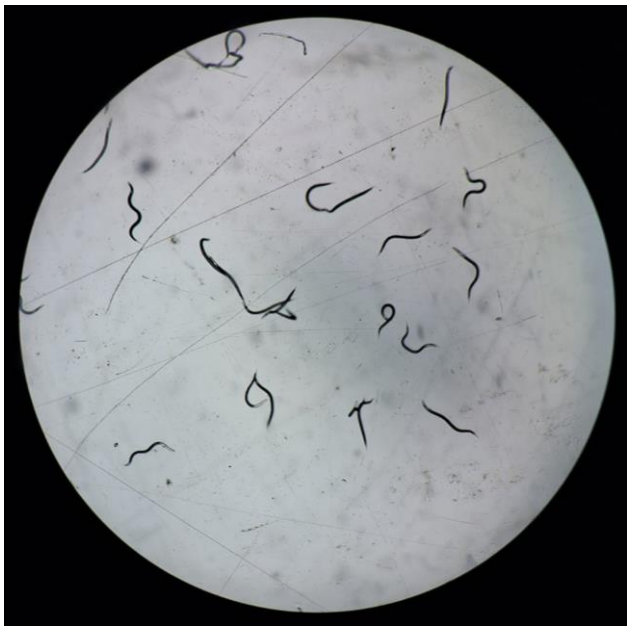


Şekil 3.9. *G. mellonella* erginleri ve bıraktıkları yumurtaları (İlktan, 2025)

3.2. Çalışmada Kullanılan Entomopatojen Nematod Irkı

Çalışmada *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabtidita: Heterorhabditidae) türüne ait Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Nematoloji Laboratuvarı'nda 2010-2013 yılları arasında yürütülen bir TÜBİTAK projesi (TOVAG 110O161) kapsamında ebeveyn ırkları H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀ olan hibrit ırk olarak elde edilen *Heterorhabditis bacteriophora* HBH olarak adlandırılan entomopatojen nematod ırkı kullanılmıştır ve bu ırk 2018 yılında Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından patentlenmiştir (Patent No: TR 2013 06141 B) (Kongu ve Susurluk,2014).

Türkiye'de bulunan entomopatojen nematod türleri ele alındığında en yaygın bulunan türlerden biri de *Heterorhabditis bacteriophora*'dır. Türkiye'nin farklı bölgelerindeki altı ilinden elde edilen yerel *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının melezlenmesi sonucu elde edilen üstün biyoekolojik özelliklere sahip (yüksek virülans, üreme kapasitesi ve yaşam süresi) Antalya ve Şanlıurfa illerinden elde edilen nematodların melezidir (Kongu ve Susurluk,2014; Ulu ve Susurluk 2021). Bu ırk üstün özelliklere sahip olması nedeniyle tez çalışmasında kullanılmak üzere tercih edilmiştir.



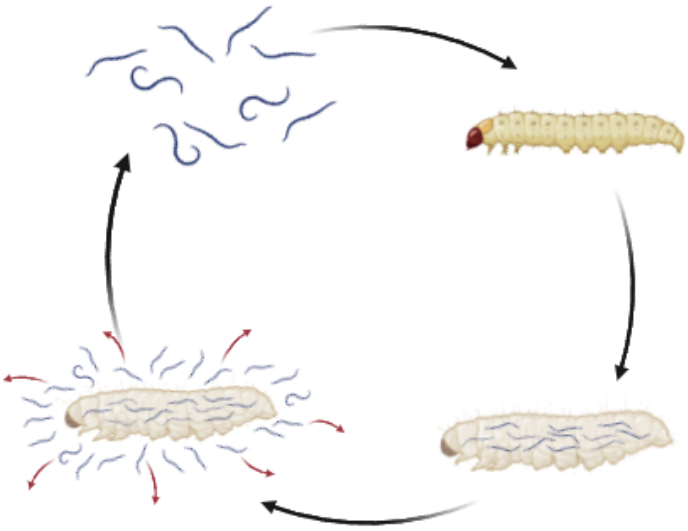
Şekil 3.10. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH hibrit ırkının mikroskoptaki görüntüsü (İlktan, 2025)

Çizelge 3.2. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH hibrit ırkının ebeveynleri

Ebeveyn Irklar	Hibrit Irk
H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀	H.b. H

3.2.1. Entomopatojen Nematodların In Vivo Üretilmesi ve Stok Kültüre Alınması

In vivo üretim canlı içinde üretimin gerçekleştirilmesi anlamına gelir. Bunun için model organizma olarak *G. mellonella* güvesinin son dönem larvaları kullanılmıştır. Son dönem larvalar bir filtre kağıdının yerleştirildiği 6 cm çapındaki petrilere alınarak enfeksiyona hazır hale getirilmiştir. Diğer tarafta Mikroskop ile 100 IJ dozunda sayımı yapılan entomopatojen nematodlar her bir larvanın üzerine 100 IJ gelecek şekilde enfeksiyon yapılmıştır. Filtre kağıdının nemli kalması entomopatojen nematodların yaşamını sürdürüp etkinlik gösterebilmesi için önemlidir (Susurluk ve Bütüner,2024). Enfeksiyon sonrası petrilerin kapağı parafilmlenerek nemin korunması ve herhangi bir bulaşın önüne geçilmesi sağlanmıştır. Petriler 25°C'ye ayarlı etüve kaldırılmıştır. Enfeksiyonun gerçekleşmesi, larvanın ölmesi ve nematodların üremesi için 3 gün süreyle beklenmiştir.



Şekil 3.11. Entomopatojen nematod enfeksiyonun şeması (İlktan, 2025; BioRender)

3. günün ardından 9 cm çapındaki daha büyük bir petri içerisine izotonik ringer çözeltisi eklenmiştir. Petrinin ortasına gelecek şekilde 6 cm çapındaki petrilerin kapağı ters bir şekilde yerleştirilmiştir. 6 cm çapındaki petri kapağının üzerine 6 cm çapında daire

şeklinde bir filtre kâğıdı kesilerek yerleştirilmiştir. Etüvdeki ölü ve kırmızı renge bürünmüş larvalar alınarak ringer çözeltisi ile nemlendirilmiş filtre kâğıdı üzerine yerleştirilmiştir.



Şekil 3.12. White Trap düzeneği (İlktan, 2024)

Kadavradaki renk değişimi *Heterorhabditis* türlerine özelleşmiş simbiyotik bakteri *Photorhabdus* türlerinin ürettiği pigment vasıtasıyla gerçekleşir. Bu renk değişimi yalnızca *Heterorhabditis* türlerine özgü olduğundan *Steinernema* türlerinde bu duruma rastlanmaz. Kırmızı tonlarında renk değişimi gözlenmesi *Heterorhabditis*lerce enfekte olduğunu söylemek için yeterlidir.



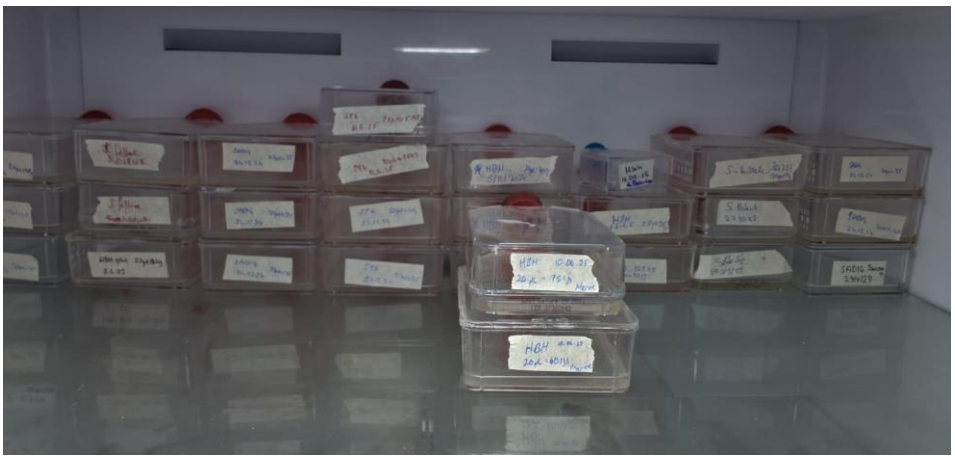
Şekil 3.13. *H. bacteriophora* ile enfekte olarak kırmızı tonlarında renk almış *G. mellonella* larvası

Bu düzenek larva içerisinde yeterinde besin bulamayan infektif juvenillerin yeni bir konukçu aramak üzere ringer çözeltisine geçmesini sağlamıştır ve white trap düzeneği olarak adlandırılır (White, 1927). IJ'lerin çözeltiye geçişi yaklaşık iki hafta sürer. Yaklaşık üç günün ardından 9cm'lik petride biriken IJ'ler mikroskopta kontrol edilmiş ve flask adı verilen 150 ml kapasiteli kapağı filtreli olduğundan hava girişine müsaade eden stok kültür kaplarına ringer miktarı 20 ml olacak şekilde alınmıştır. Flask, nematodun ırkını, o günün tarihini ve yapan kişinin adının yazılı olduğu bir kâğıt bant kullanılarak etiketlenmiştir. Flask hafifçe çalkalanmış ve homojenlik oluşturulduktan sonra 20 µl kapasitesindeki mikropipet yardımıyla tam kapasite çekilmiş ve bir petri üzerine damlatılmıştır. Petri üzerindeki damla mikroskop altında incelenmiş ve 20 µl içerinde kaç adet nematod olduğu sayılmıştır. Doğru sonuca ulaşmak için aynı işlem tekrarlanmış ve sonuçların ortalaması flask üzerine not edilerek 20 µl içerinde kaç adet nematod bulunduğu etikette belirtilmiştir.

3.2.2. Ringer Çözeltisinin Stok Kültürlerde Kullanılmak Üzere Hazırlanışı

Ringer çözeltisinin 1882 yılında fizyolog Sidney Ringer tarafından yapılan çalışmalar sırasında geliştirildiği bilinmektedir. Ringer solüsyonu; sodyum klorür, potasyum klorür, kalsiyum klorür ve sodyum bikarbonat gibi vücut sıvılarında bulunan iyonları doğal konsantrasyonlarında içermektedir. Nematoloji uygulamalarında nematodların yaşamını sterilliğinin devam edeceği şekilde, organizma bütünlüğünü koruyabileceği, izotonik bir ortam olarak kullanılır.

Ringer çözeltisi 1L distile su içerisinde 9,0 g NaCl (sodyum klorür), 0,42 g KCl (potasyum klorür), 0,37 g $CaCl_2$ (kalsiyum klorür), 0,2 g NaHCO3 (sodyum bikarbonat) tuzlarının çözünerek iyonlarına ayrışmasını hızlandırmak için manyetik karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır.



Şekil 3.14. *H. bacteriophora* IJ'lerinin ringer çözeltisi içinde depolanması (İlktan, 2025)

Çizelge 3.3. 250 ml Ringer çözeltisi içeriği

Tuzlar	Miktar
NaCl (Sodyum klorür)	2,25g
KCl (Potasyum klorür)	0,105g
$CaCl_2$ (Kalsiyum klorür)	0,0925g
NaHCO3 (Sodyum bikarkonat)	0,05g
d H_2O (Distile su)	250 ml

3.3. Pestisitlerin Entomopatojen Nematodlarla Etkileşimi

Tez çalışmasında glifosat etken maddeli bir herbisit, deltamethrin etken maddeli bir insektisit ve tebuconazole + azoxystrobin etken maddeli fungusit kullanılmıştır. *Heterorhabditis bacteriophora* ve pestisitlerin aynı ortamda bulunması ve birlikte uygulanabilirliğinin araştırılması amacıyla infektif juveniller ile her pestisit tarla dozunda ayrı ayrı bir erlene alındıktan sonra enfektivitesinin, üreme gücünün test edileceği 6 cm^2 çapındaki petrinin alanı baz alınarak cm^2'ye 50 IJ gelecek şekilde toplam 1500 IJ erlene alınarak 25 ˚C'lik etüvde 150 rpm'de 3 gün boyunca çalkalanarak hayatta kalma oranları test edilmiştir. Canlı ve ölü IJ'lerin belirlenebilmesi için üç günün ardından erlendeki karışımdan örneklem alınarak canlı – ölü sayımları yapılmış ve total miktara oranlanarak

erlendeki canlı ve ölü sayıları belirlenmiştir. Denemeler 5 tekrarlı olarak kurulmuş ve değerlerin ortalaması alınarak hayatta kalma oranları belirlenmiştir.

Çizelge 3.4. Kullanılan pestisitlere ilişkin bilgiler

Etken Madde	Ruhsat Grubu	Formülasyon Tipi	Ticari Adı	Kimyasal Grup	Etki Mekanizması
441 g/l Glyphosate Potasyum Tuzu	Herbisit	SC (Suda Çözünen Konsantre)	ROUNDUP STAR	N-(fosfonometil)glisin Organofosfonat	G: EPSP sentaz inhibitörleri
200 g/l Tebuconazole + 120 g/l Azoxystrobin	Fungisit	SC (Akıcı Konsantre/Süspansiyon Konsantre)	MEICO	Azoller- Strobilurinler	C3,11: QoI – mitokondriyal solunum inhibitörü G1,3: Ergosterol biyosentez inhibitörü
25 g/l Deltamethrin	İnsektisit	EC (Emülsiye Olabilen Konsantre)	DELTHARIN 2.5 EC	Sentetik piretroidler	3A: Sodyum kanal modülatörleri

3.3.1. Glifosat

Tez çalışmasında 441 g/l Glyphosate Potasyum Tuzu etken maddeli herbisit kullanılmıştır.

3.3.1.2 *Heterorhabditis bacteriophora* ile Glifosat Karışımı Uyumunun Test edilmesi

Çalışma, arazi koşullarındakine benzer bir ortam oluşturulması açısından nemlendirilmiş silis kumu içerisinde yapılmıştır. Silis kumu ya da kuvars kumu olarak da adlandırılan kum, yerkabuğunda bol miktarda bulunur ve cam, döküm ve refrakter sanayi gibi başlıca sektörlerde kullanılır. Ayrıca inşaat sektörleri başta olmak üzere kimya ve filtrasyon gibi sektörlerde de tercih edilir (Kurşun ve İpekoğlu, 1995). Kuvars kumunun ayrıca akvaryumlar için de kullanıldığı bilinir. Sterilliği açısından toprak yerine muadil olarak tercih edilmiştir (Hacıfazlıoğlu, 2011).

Öncelikle 1500 adet HBH ırkı entomopatojen nematodlar sayılarak 1,5 ml eppendorf içine alınmıştır. Ardından bir behere 5 ml saf su alınarak tarla dozu olan miktar referans

alınarak 8,5 µL glifosat etken maddesi beherdeki su içine mikropipet yardımıyla eklenmiştir. Pipetaj yapılarak etken madde su içinde çözülerek çözelti hazırlanmıştır. 6 cm^2 çapındaki petri 20g steril silis kumu ile doldurulmuş ve çözelti petriye kumun tamamı ıslanacak şekilde ilave edilmiştir. Entomopatojen nematodlar, petride pestisitle bir araya getirilmiştir. 5 tekerrürlü bir çalışma olması için aynı işlem 4 kez daha tekrarlanmıştır. Kontrol grubu için 1500 IJ, 5 ml saf su içine alınarak aynı boyuttaki petri kabına aktarılmıştır. Kontrol grubu da dahil olmak üzere 6 petri kabı parafilmlenerek 25˚C'ye ayarlanmış etüve kaldırılarak 3 gün bekleme süresi başlatılmıştır.



Şekil 3.15. Pestisit ve IJ'lerin kum ortamında birlikte bulundurulması (İlktan, 2025)

Üçüncü günün ardından silis kumundan nematodları ayırmak için Baermann huni tekniği kullanılmıştır. Bu işlem için 1 L hacimli saksıların üzerine kafesli bir kapak yerleştirilmiş ve bu kapağın üzerine artı şekli oluşturacak biçimde kâğıt havlular yerleştirilmiştir. Kâğıt havluların orta noktasına denk gelecek şekilde petrilerdeki kumlar dökülmüş ve petride nematod kalmaması için saf su işe çalkalanarak kâğıt havlu üzerine aktarılmıştır. Bu işlemin ardından kâğıt havlu katlanarak ters çevrilmiş ve kâğıt havlu ıslatılarak saksı tamamen suyla doldurulmuştur.



Şekil.3.16. Baermann huni tekniği ile IJ'lerin kumdan ayrılması işlemi (İlktan, 2025)

Bu şekilde hareketli IJ'ler suya geçmiş ve kumdan ayrılabilmiştir. Nematodların tamamen suya geçmesi için 3 gün süreyle bu düzenekte suda bekletilmiştir. 3. gün etkinlik ve üreme gücü denemeleri yapılmıştır.

3.3.1.3. Glifosat ile Muamele Edilmiş *Heterorhabditis bacteriophora* Etkinlik Denemesi

Etkinlik denemesi için 80 adet son dönem *G. mellonella* larvası ayrılmıştır. Etkinlik denemesi; 2-5-10-15 adet glifosat ile muamele edilmiş ve saf su ile temizlenmiş IJ kullanılarak her bir doz için her tekerrürde 5'er adet *G. mellonella* larvası kullanılmak üzere 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Kontrol grubu olarak stok kültürdeki IJ'lerden 2-5-10-15 IJ dozlarında deneme kurulmuştur. Deneme 24'lü hücre kültürü kaplarında kurulmuştur. Denemede olası bulaşlardan kaçınmak için steril silis kumu kullanılarak toprak ortamı oluşturulmuştur. Öncelikle kuyular steril kum ile yarısına kadar doldurulmuş (2g) ve son dönem larvalar kuyulara yerleştirilmiştir. Kuyuların tamamı steril kum ile doldurulmuştur. (Toplam 4g) Kuyulara %10 oranında saf su eklenerek kumun nemlenmesi sağlanmıştır. Denemede 3 gün tarla dozunda glifosatta bekletilmiş IJ'ler kullanılacağından IJ'lerin etken maddeden arınması amacıyla 38 µm aralıklı elekten süzülerek saf su ile yıkanmış ve pestisitten arındırılmıştır. Pestisitten ayrılan IJ'ler sayılarak 20 tekerrürlü olacak şekilde 2-5-10-15 IJ dozunda ayrılarak kuyular

entomopatojen nematodlarla enfekte edilmiştir. Hücre kültürü kapları parafilmlenmiş ve 25˚C'ye ayarlı etüvde 3 gün süreyle beklemeye bırakılmıştır. 3. günün ardından canlı – ölü sayımları yapılarak not edilmiştir. Ölü böceklerden belirgin bir renk değişimi gözlenmeyenler white trap düzeneğine alınıp nematod çıkışı gözlenerek ölümün nematoddan kaynaklandığından emin olunmuştur (White, 1927).

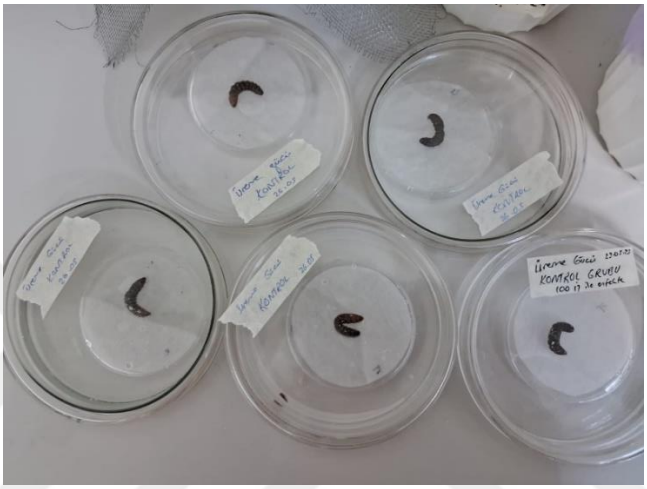


Şekil 3.17. Etkinlik denemesi deney düzeneği (İlktan, 2025)

3.3.1.4. Glifosat ile Muamele Edilmiş *Heterorhabditis bacteriophora* Üreme Gücü Denemesi

Üreme gücü denemesi için 3 gün pestisit ile bekletilmiş, saf su ile temizlenerek pestisitten arındırılmış nematodlardan 100'er adet sayılarak 5 tekerrürlü olacak şekilde 1,5 ml'lik eppendorflara IJ'ler ayrılmıştır. Denemeler 24 kuyulu hücre kültürü kabında steril kum içinde son dönem, 0,3 g ağırlığında, 2 cm uzunluğundaki *G. mellonella* larvalarıyla kurulmuştur. Hücre kültürü kabının 5 kuyusu yarısına kadar %10 oranında nemlendirilmiş steril kumla doldurulmuştur. Kuyulara birer adet son dönem *G. mellonella* larvası koyularak üzeri %10 oranında nemlendirilmiş steril kumla doldurulmuştur. Her kuyuya 100'er IJ koyulmuş ve larvalar enfekte edilmiştir. Kontrol grubu olarak aynı işlemler tekrarlanmış farklı olarak kullanılan entomopatojen nematodlar pestisite maruz bırakılmamış bireylerden inoküle edilmiştir. Hücre kültürü kapları parafilmlenerek 25˚C'ye ayarlı etüve kaldırılmıştır. 3 gün süreyle beklenmiş ve ölü bireyler tek tek white trap düzeneğine alınmıştır (White, 1927). 14 günün ardından ringer çözeltisine birikmiş olan nematodlar bir beherde ringer çözeltisi eklenerek 50 ml'ye tamamlanmıştır. 20 µl

kapasiteli mikropipet yardımıyla beherden 20 µl sıvı çekilerek bu damlada kaç adet IJ olduğu sayılmış ve not edilmiştir. Bu işlem 5 kez tekrarlandıktan sonra çıkan IJ sayılarının ortalaması alınmış ve doğru orantı kullanılarak beherdeki IJ sayısı ortalama olarak bulunmuş ve üreme gücü not edilmiştir. Aynı işlem diğer tekerrürler için de yapılmış ve tüm sonuçların ortalaması esas alınmıştır. Kontrol grubu için de aynı işlemler tekrarlanmış ve kontrol grubunun üreme gücü de not edilmiştir.



Şekil 3.18. Üreme gücü denemesi deney düzeneği (İlktan, 2025)

3.3.2. Deltamethrin

Tez çalışmasında 25 g/l Deltamethrin etken maddeli insektisit kullanılmıştır.

3.3.2.1 *Heterorhabditis bacteriophora* ile Deltamethrin Karışımı Uyumunun Test Edilmesi

Çalışma, arazi koşullarındakine benzer bir ortam oluşturulması açısından nemlendirilmiş silis kumu içerisinde yapılmıştır. Öncelikle 1500 adet HBH ırkı entomopatojen nematodlar sayılarak 1,5 ml eppendorf içine alınmıştır. Ardından bir behere 5 ml saf su alınarak tarla dozu olan miktar referans alınarak 5 µl deltamethrin etken maddesi beherdeki su içine mikropipet yardımıyla eklenmiştir. Pipetaj yapılarak etken madde su içinde çözülerek çözelti hazırlanmıştır. 6 cm^2 çapındaki petri 20g steril kum ile doldurulmuş ve çözelti petriye kumun tamamı ıslanacak şekilde ilave edilmiştir. Entomopaton nematodlar petride pestisitle bir araya getirilmiştir. 5 tekerrürlü bir çalışma

olması için aynı işlem 4 kez daha tekrarlanmıştır. Kontrol grubu için 1500 IJ, 5 ml saf su içine alınarak aynı boyuttaki petri kabına aktarılmıştır. Kontrol grubu da dahil olmak üzere 6 petri kabı parafilmlenerek 25˚C'ye ayarlanmış etüve kaldırılarak 3 gün bekleme süresi başlatılmıştır.

Üçüncü günün ardından silis kumundan nematodları ayırmak için Baermann huni tekniği kullanılmıştır. Bu işlem için 1 L hacimli saksıların üzerine kafesli bir kapak yerleştirilmiş ve bu kapağın üzerine artı şekli oluşturacak biçimde kâğıt havlular yerleştirilmiştir. Kâğıt havluların orta noktasına denk gelecek şekilde petrilerdeki kumlar dökülmüş ve petride nematod kalmaması için saf su işe çalkalanarak kâğıt havlu üzerine aktarılmıştır. Bu işlemin ardından kâğıt havlu katlanarak ters çevrilmiş ve kâğıt havlu ıslatılarak saksı tamamen suyla doldurulmuştur. Bu şekilde hareketli IJ'ler suya geçmiş ve kumdan ayrılabilmiştir. Nematodların tamamen suya geçmesi için 3 gün süreyle suda bekletilmiştir. 3. gün etkinlik ve üreme gücü denemeleri yapılmıştır.

3.3.2.2. Deltamethrin ile Muamele Edilmiş *Heterorhabditis bacteriophora* Etkinlik Denemesi

Etkinlik denemesi için 80 adet son dönem *G. mellonella* larvası ayrılmıştır. Etkinlik denemesi; 2-5-10-15 adet deltamethrin ile muamele edilmiş ve saf su ile temizlenmiş IJ kullanılarak her bir doz için her tekerrürde 5'er adet *G. mellonella* larvası kullanılmak üzere 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Kontrol grubu olarak stok kültürdeki IJ'lerden 2-5-10-15 IJ dozlarında deneme kurulmuştur. Deneme 24'lü hücre kültürü kaplarında kurulmuştur. Denemede olası bulaşlardan kaçınmak için steril silis kumu kullanılarak toprak ortamı oluşturulmuştur. Öncelikle kuyular steril kum ile yarısına kadar doldurulmuş (2g) ve son dönem larvalar kuyulara yerleştirilmiştir. Kuyuların tamamı steril kum ile doldurulmuştur. (Toplam 4g) Kuyulara %10 oranında saf su eklenerek kumun nemlenmesi sağlanmıştır. Denemede 3 gün tarla dozunda glifosatta bekletilmiş IJ'ler kullanılacağından IJ'lerin etken maddeden arınması amacıyla 38 µm aralıklı elekten süzülerek saf su ile yıkanmış ve pestisitten arındırılmıştır. Pestisitten ayrılan IJ'ler sayılarak 20 tekerrürlü olacak şekilde 2-5-10-15 IJ dozunda ayrılarak kuyular entomopatojen nematodlarla enfekte edilmiştir. Hücre kültürü kapları parafilmlenmiş ve 25˚C'ye ayarlı etüvde 3 gün süreyle beklemeye bırakılmıştır. 3. günün ardından canlı –

ölü sayımları yapılarak not edilmiştir. Ölü böceklerden belirgin bir renk değişimi gözlenmeyenler white trap düzeneğine alınıp nematod çıkışı gözlenerek ölümün nematoddan kaynaklandığından emin olunmuştur (White, 1927).

3.3.2.3. Deltamethrin ile Muamele Edilmiş *H. bacteriophora* Üreme Gücü Denemesi

Üreme gücü denemesi için 3 gün pestisit ile bekletilmiş, saf su ile temizlenerek pestisitten arındırılmış nematodlardan 100'er adet sayılarak 5 tekerrürlü olacak şekilde 1,5 ml'lik eppendorflara IJ'ler ayrılmıştır. Denemeler 24 kuyulu hücre kültürü kabında steril kum içinde son dönem, 0,3 g ağırlığında, 2 cm uzunluğundaki *G. mellonella* larvalarıyla kurulmuştur. Hücre kültürü kabının 5 kuyusu yarısına kadar %10 oranında nemlendirilmiş steril kumla doldurulmuştur. Kuyulara birer adet son dönem *G. mellonella* larvası koyularak üzeri %10 oranında nemlendirilmiş steril kumla doldurulmuştur. Her kuyuya 100'er IJ koyulmuş ve larvalar enfekte edilmiştir. Hücre kültürü kapları parafilmlenerek 25˚C'ye ayarlı etüve kaldırılmıştır. 3 gün süreyle beklenmiş ve ölü bireyler tek tek white trap düzeneğine alınmıştır. 14 günün ardından ringer çözeltisine birikmiş olan nematodlar bir beherde ringer çözeltisi eklenerek 50 ml'ye tamamlanmıştır. 20 µl kapasiteli mikropipet yardımıyla beherden 20 µl sıvı çekilerek bu damlada kaç adet IJ olduğu sayılmış ve not edilmiştir. Bu işlem 5 kez tekrarlandıktan sonra çıkan IJ sayılarının ortalaması alınmış ve doğru orantı kullanılarak beherdeki IJ sayısı ortalama olarak bulunmuş ve üreme gücü not edilmiştir. Aynı işlem diğer tekerrürler için de yapılmış ve tüm sonuçların ortalaması esas alınmıştır.

3.3.3. Tebuconazole + Azoxystrobin

Tez çalışmasında 200 g/l Tebuconazole + 120 g/l Azoxystrobin etken maddeli fungusit kullanılmıştır.

3.3.3.1 *Heterorhabditis bacteriophora* ile Tebuconazole + Azoxystrobin Karışımı Uyumunun Test Edilmesi

Öncelikle 1500 adet HBH ırkı entomopatojen nematodlar sayılarak 1,5 ml eppendorf içine alınmıştır. Ardından bir behere 5 ml saf su alınarak tarla dozu olan miktar referans

alınarak 6,25 µl Tebuconazole + Azoxystrobin etken maddesi beherdeki su içine mikropipet yardımıyla eklenmiştir. Pipetaj yapılarak etken madde su içinde çözülerek çözelti hazırlanmıştır. 6 cm^2 çapındaki petri 20 g steril kum ile doldurulmuş ve çözelti petriye kumun tamamı ıslanacak şekilde ilave edilmiştir. Entomopaton nematodlar petride pestisitle bir araya getirilmiştir. 5 tekerrürlü bir çalışma olması için aynı işlem 4 kez daha tekrarlanmıştır. Kontrol grubu için 1500 IJ, 5 ml saf su içine alınarak aynı boyuttaki petri kabına aktarılmıştır. Kontrol grubu da dahil olmak üzere 6 petri kabı parafilmlenerek 25˚C'ye ayarlanmış etüve kaldırılarak 3 gün bekleme süresi başlatılmıştır.

Üçüncü günün ardından silis kumundan nematodları ayırmak için Baermann huni tekniği kullanılmıştır. Bu işlem için 1 L hacimli saksıların üzerine kafesli bir kapak yerleştirilmiş ve bu kapağın üzerine artı şekli oluşturacak biçimde kâğıt havlular yerleştirilmiştir. Kâğıt havluların orta noktasına denk gelecek şekilde petrilerdeki kumlar dökülmüş ve petride nematod kalmaması için saf su işe çalkalanarak kâğıt havlu üzerine aktarılmıştır. Bu işlemin ardından kâğıt havlu katlanarak ters çevrilmiş ve kâğıt havlu ıslatılarak saksı tamamen suyla doldurulmuştur. Bu şekilde hareketli IJ'ler suya geçmiş ve kumdan ayrılabilmiştir. Nematodların tamamen suya geçmesi için 3 gün süreyle suda bekletilmiştir. 3. gün etkinlik ve üreme gücü denemeleri yapılmıştır.

3.3.3.2. Tebuconazole + Azoxystrobin ile Muamele Edilmiş *Heterorhabditis bacteriophora* Etkinlik Denemesi

Etkinlik denemesi için 80 adet son dönem *G. mellonella* larvası ayrılmıştır. Etkinlik denemesi; 2-5-10-15 adet tebuconazole + azoxystrobin ile muamele edilmiş ve saf su ile temizlenmiş IJ kullanılarak her bir doz için her tekerrürde 5'er adet *G. mellonella* larvası kullanılmak üzere 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Kontrol grubu olarak stok kültürdeki IJ'lerden 2-5-10-15 IJ dozlarında deneme kurulmuştur. Deneme 24'lü hücre kültürü kaplarında kurulmuştur. Denemede olası bulaşlardan kaçınmak için steril silis kumu kullanılarak toprak ortamı oluşturulmuştur. Öncelikle kuyular steril kum ile yarısına kadar doldurulmuş (2g) ve son dönem larvalar kuyulara yerleştirilmiştir. Kuyuların tamamı steril kum ile doldurulmuştur. (Toplam 4g) Kuyulara %10 oranında saf su

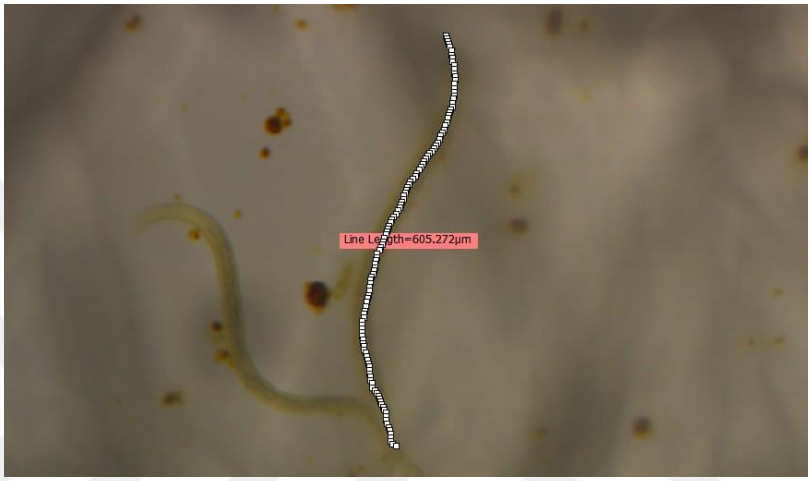
eklenerek kumun nemlenmesi sağlanmıştır. Denemede 3 gün tarla dozunda glifosatta bekletilmiş IJ'ler kullanılacağından IJ'lerin etken maddeden arınması amacıyla 38 µm aralıklı elekten süzülerek saf su ile yıkanmış ve pestisitten arındırılmıştır. Pestisitten ayrılan IJ'ler sayılarak 20 tekerrürlü olacak şekilde 2-5-10-15 IJ dozunda ayrılarak kuyular entomopatojen nematodlarla enfekte edilmiştir. Hücre kültürü kapları parafilmlenmiş ve 25˚C'ye ayarlı etüvde 3 gün süreyle beklemeye bırakılmıştır. 3. günün ardından canlı – ölü sayımları yapılarak not edilmiştir. Ölü böceklerden belirgin bir renk değişimi gözlenmeyenler white trap düzeneğine alınıp nematod çıkışı gözlenerek ölümün nematoddan kaynaklandığından emin olunmuştur (White, 1927).

3.3.3.3. Tebuconazole + Azoxystrobin ile Muamele Edilmiş *Heterorhabditis bacteriophora* Üreme Gücü Denemesi

Üreme gücü denemesi için 3 gün pestisit ile bekletilmiş, saf su ile temizlenerek pestisitten arındırılmış nematodlardan 100'er adet sayılarak 5 tekerrürlü olacak şekilde 1,5 ml'lik eppendorflara IJ'ler ayrılmıştır. Denemeler 24 kuyulu hücre kültürü kabında steril kum içinde son dönem, 0,3 g ağırlığında, 2 cm uzunluğundaki *G. mellonella* larvalarıyla kurulmuştur. Hücre kültürü kabının 5 kuyusu yarısına kadar %10 oranında nemlendirilmiş steril kumla doldurulmuştur. Kuyulara birer adet son dönem *G. mellonella* larvası koyularak üzeri %10 oranında nemlendirilmiş steril kumla doldurulmuştur. Her kuyuya 100'er IJ koyulmuş ve larvalar enfekte edilmiştir. Hücre kültürü kapları parafilmlenerek 25˚C'ye ayarlı etüve kaldırılmıştır. 3 gün süreyle beklenmiş ve ölü bireyler tek tek white trap düzeneğine alınmıştır. 14 günün ardından ringer çözeltisine birikmiş olan nematodlar bir beherde ringer çözeltisi eklenerek 50 ml'ye tamamlanmıştır. 20 µl kapasiteli mikropipet yardımıyla beherden 20 µl sıvı çekilerek bu damlada kaç adet IJ olduğu sayılmış ve not edilmiştir. Bu işlem 5 kez tekrarlandıktan sonra çıkan IJ sayılarının ortalaması alınmış ve doğru orantı kullanılarak beherdeki IJ sayısı ortalama olarak bulunmuş ve üreme gücü not edilmiştir. Aynı işlem diğer tekerrürler için de yapılmış ve tüm sonuçların ortalaması esas alınmıştır.

3.4. Entomopatojen Nematodların Vücut Uzunluğu Ölçümleri

Ölçümlerde kullanılmak üzere 3 farklı pestisitle muamele edilmiş nematodlar kullanılarak 3 ayrı enfeksiyon yapılmış ardından white trap düzeneğine alınarak infektif juvenil çıkışı beklenmiştir. Ringer çözeltisine geçen nematodlar lam üzerine alınarak mikroskopta incelenmiş ve görüntüler bilgisayara aktarılarak ölçümleri yapılmış ve not edilmiştir.



Şekil 3.19. IJ vücut uzunluğu ölçümleri

İnfektif juvenillerin görüntülenmesi Leica DM500® binoküler mikroskop kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikroskop aracılığıyla elde edilen görüntüler, entegre Leica DFC295® dijital renkli kamera ile anında bilgisayara aktarılmıştır. Daha sonra, gerçek zamanlı görüntüler üzerinde yapılan vücut uzunluğu ölçümleri Leica Application Suite Sürüm 3.6® (LAS V3.6®) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her pestisitle muamele edilmiş IJ'lerden elde edilen infektif juveniller için 25'er tanesinin ölçümü yapılmış ve not edilmiştir.

3.5. İstatistiksel Analizler

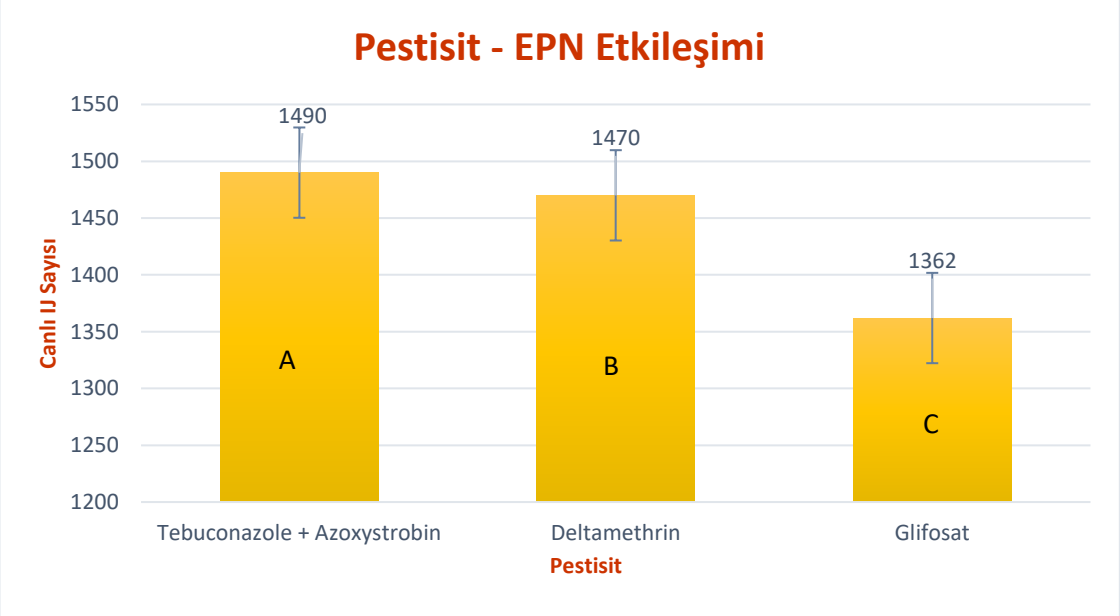
Böcek ölümleri, kontrol grubundaki doğal ölüm oranını düzeltmek için Abbott (1925) yöntemiyle kontrol düzeltmesine tabi tutulmuştur. İstatistiksel analizler JMP® Pro 16 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnfektif juvenil vücut uzunluğu, IJ etkinliği ve üreme kapasitesi üzerindeki farklılıkları değerlendirmek için varyans analizi (ANOVA)

uygulanmıştır. Kontrol grubu ile her pestisitin ayrı ayrı karşılaştırılması ikili karşılaştırma olduğundan t testi yapılmıştır. Ortalama değerler arasındaki farkı belirlemek amacıyla, anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olan En Küçük Önemli Fark (LSD) testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Bazı Pestisitlere Karşı Dayanıklılığı

Yapılan denemelerden elde veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve pestisite maruz kalan infektif juvenillerin canlı ve ölü bireyleri sayılıp pestisite dayanıklı bireylerle denemeler kurularak analiz edilmiştir. *H. bacteriophora* HBH hibrit ırkının deltamethrin, glifosat ve tebuconazole + azoxystrobine karşı canlı kalan bireyleri Abbot formülüne göre düzenlenmiş ve yüzde grafikleri oluşturulmuştur (Abbott, 1925). Bulgular madde madde detaylı olarak aşağıda incelenmiştir.



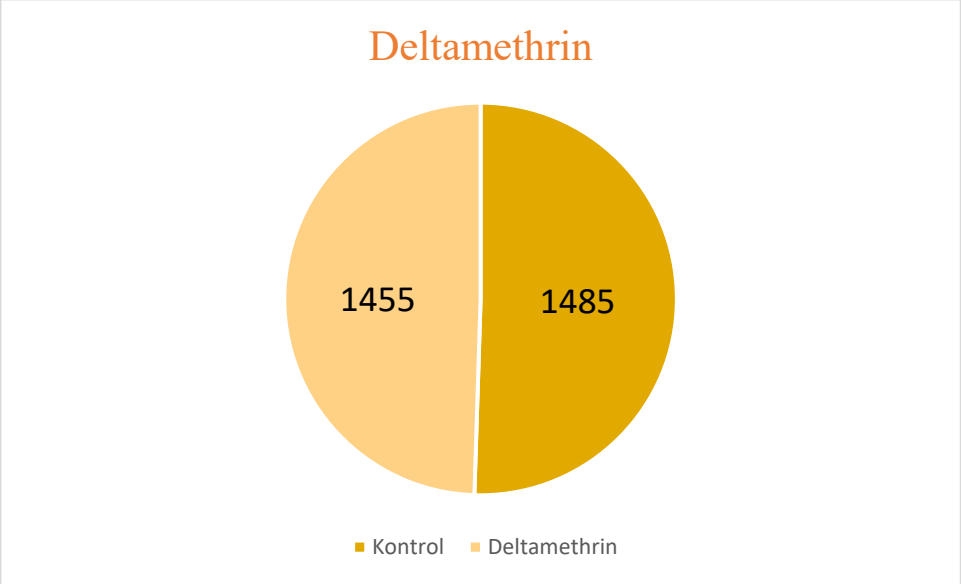
Şekil 4.1. Pestisit – EPN etkileşiminin kontrol grubu ile uygulama gruplarıyla karşılaştırılması grafiği (F= 321,82; df= 2,6; p<0.001). Hata çubukları standart hatayı temsil etmektedir.

4.1.1. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Deltamethrin'e Karşı Uyumu ve Dayanıklılığı

İnsektisit ve infektif juvenillerin üç gün boyunca aynı ortamda bulunması sonrası infektif juveniller saf su ile temizlenmiş ardından kontrol grubu ve deltamethrin etkileşimli

IJ'lerin 1500 IJ içerisinden canlı olanlarının ikili karşılaştırılması t testi ile istatistiksel olarak incelenmiştir (t= 8,5; df=3,2; Prob > |t|= 0,0027).

İstatistiksel karşılaştırmaya göre deltamethrine maruz kalan bireylerdeki ölüm sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır. Genel olarak ölüm oranlarına baktığımızda kontrol grubunda %1'lik ölüm görülürken deltamethrine maruz kalan bireylerde ölüm yüzdesi %3'tür. İstatistiksel olarak aralarında anlamlı bir fark bulunsa da biyolojik olarak baktığımızda düşük bir ölümü oranı olduğunu görüyoruz. Bu sebeple *Heterorhabditis bacteriophora* deltamethrin etken maddeli insektisitin tarla dozundan negatif etkilenmemiştir ve pülverizatörde karıştırılarak birlikte uygulanabilir oldukları sonucuna varılmıştır (Şekil 4.2).

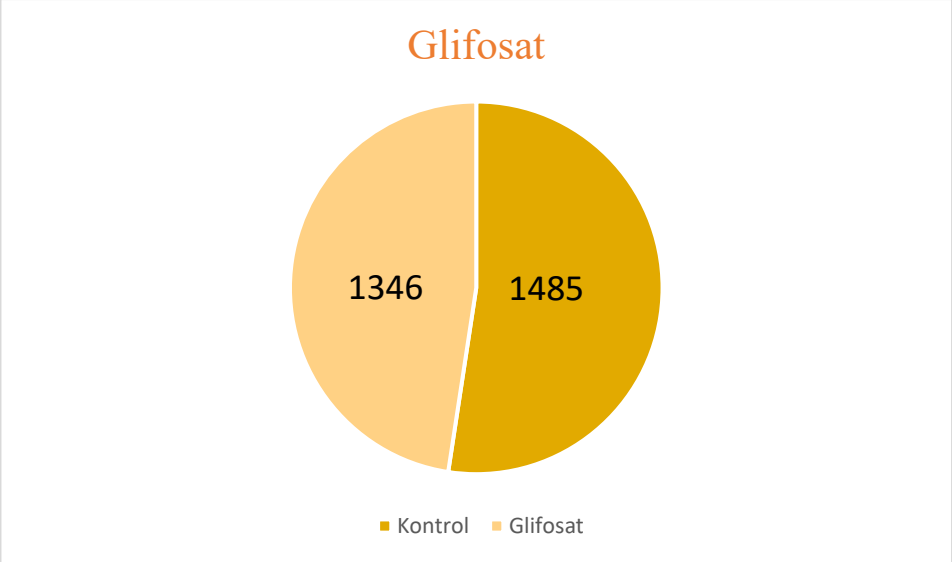


Şekil 4.2. Deltamethrin etken maddesiyle etkileşime maruz kalan IJ'lerin canlı olanlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması (Prob > |t|= 0,0027)

4.1.2. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Glifosata Karşı Uyumu ve Dayanıklılığı

Herbisit ve infektif juvenillerin üç gün boyunca aynı ortamda bulunması sonrası infektif juveniller saf su ile temizlenmiş ardından kontrol grubu ve glifosat etkileşimli IJ'lerin 1500 IJ içerisinden canlı olanlarının ikili karşılaştırılması t testi ile istatistiksel olarak incelenmiştir (t= 21,9; df=3,2; Prob > |t|= 0,0010).

İstatistiksel analiz neticesinde anlaşılmıştır ki infektif juveniller glifosattan etkilenmiş ve ölüm gözlenmiştir. Ancak *Heterorhabditis* cinslerinde tek bir IJ dahi hermafrodit çoğalması dolayısıyla sayısını arrtırmaya yeterli olacağından bu gibi azalma çok da fazla önem arz etmez. Arazide santimetrekareye düşen IJ sayısının istenen değer aralığına yakınlığı önemlidir. Bir diğer önemli olan enfektivitede azalma olmamasıdır.

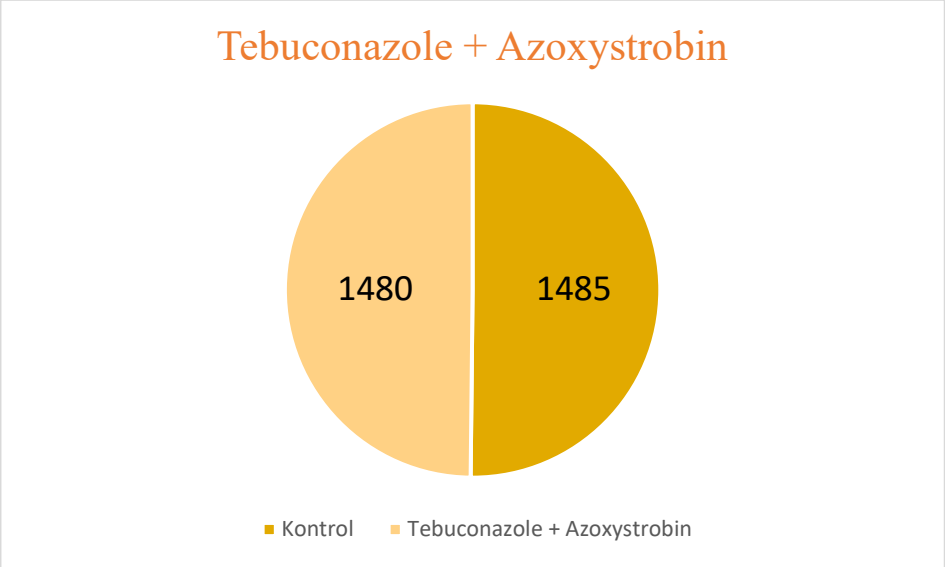


Şekil 4.3. Glifosat etken maddesiyle etkileşime maruz kalan IJ'lerin canlı olanlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması (Prob > |t|= 0,0010)

4.1.3. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Tebuconazole + Azoxystrobine Karşı Uyumu ve Dayanıklılığı

Fungusit ve infektif juvenillerin üç gün boyunca aynı ortamda bulunması sonrası infektif juveniller saf su ile temizlenmiş ardından kontrol grubu ve azoxystrobin + tebuconazole etkileşimli IJ'lerin 1500 IJ içerisinden canlı olanlarının ikili karşılaştırılması t testi ile istatistiksel olarak incelenmiştir (Prob > |t|= 0,1012).

İstatistik sonucu incelendiğinde kontrol grubu ile fungusit ile etkileşime maruz kaldıktan sonra canlı kalan bireylerin sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu bize azoxystrobin + tebuconazole karışımlı fungusitin infektif juvenillere herhangi bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Araştırılan fungusit ve infektif juveniller aynı ortamda bulunabilir ve pülvarizatörlerle birlikte uygulanabilirler.



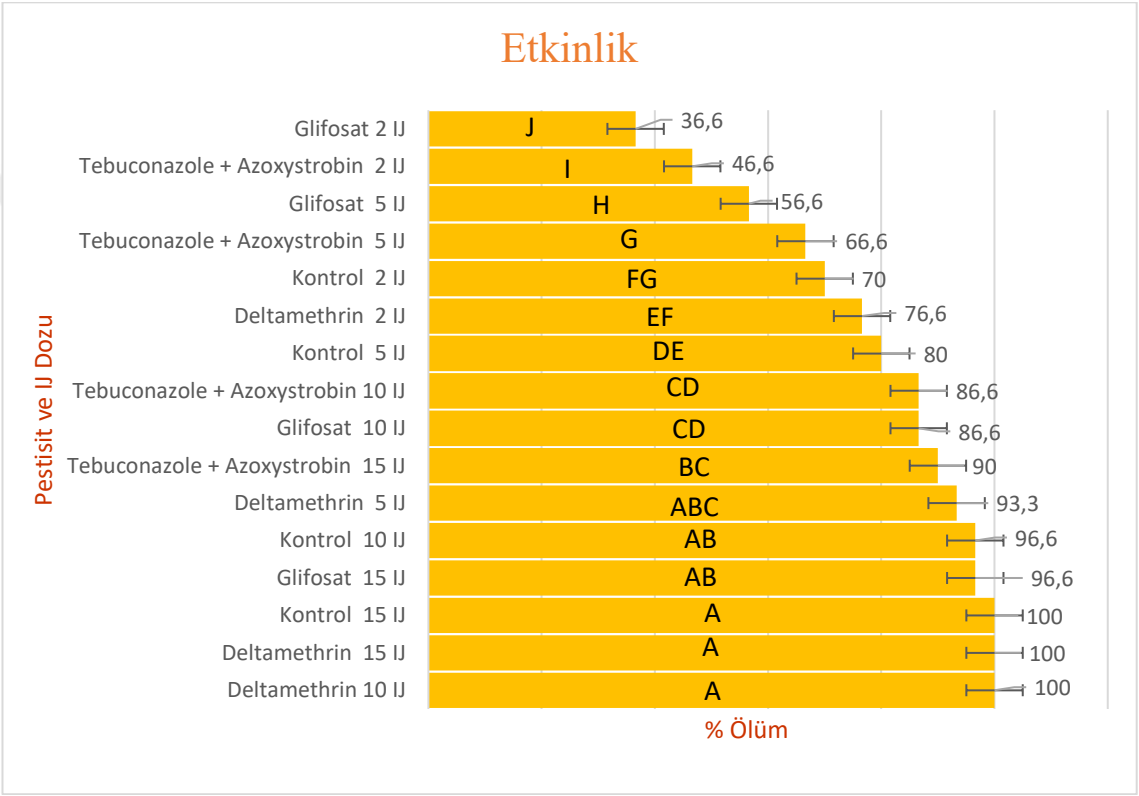
Şekil 4.4. Tebuconazole + Azoxystrobin etken maddesiyle etkileşime maruz kalan IJ'lerin kontrol grubu ile karşılaştırılması (Prob > |t|= 0,1012)

4.2. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Pestisite Dirençli Bireylerinin Enfektivitesi

Yapılan denemelerden elde veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve pestisite maruz kalan infektif juvenillerin canlı olan ve pestisite dayanıklı olduğu anlaşılan bireyleriyle denemeler kurularak analiz edilmiştir. *H. bacteriophora* HBH hibrit ırkının deltamethrin, glifosat ve tebuconazole + azoxystrobine karşı canlı kalan bireylerinin *G. mellonella* son dönem larvaları üzerindeki mortaliteleri (2-5-10-15 IJ dozunda) karşılaştırılmıştır. Bulgular madde madde detaylı olarak aşağıda incelenmiştir. Denemelerin sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve aralarında anlamlı farklar bulunmuştur (Şekil 4.5; $F=35,67$; $df=15,32$; $p<0,001$).

En yüksek etkinlik deltamethrinle etkileşime maruz kalmış 5-10-15 IJ dozlarında (93,3-100-100), glifosatla etkileşime maruz kalmış 15 IJ dozunda (96,6) ve kontrol grubunun 10-15 IJ dozlarında (96,6-100) saptanmıştır. Kontrol grubunun 2-5-10-15 IJ dozlarının (70-80-96,6-100) enfektivitesi ile tebuconazole + azoxystrobinin 2-5-10-15 IJ dozlarının (46,6-66,6-86,6-90) enfektivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. Kontrol grubunun 2-5-10 IJ dozlarının (70-80-96,6) enfektivitesi ile

glifosatın 2-5-10 IJ dozlarının (46,6-66,6-86,6) enfektivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. Kontrol grubunun 5 IJ dozunun (80) enfektivitesi ile deltamethrinle etkileşime maruz kalmış IJ'lerin 5 IJ dozunun (93,3) enfektivitesi arasında önemli bir artış saptanmıştır. Bu durum additif bir etkidir. Kontrol grubunun 2 IJ dozunun (70) enfektivitesi ile deltamethrinle etkileşime maruz kalmış IJ'lerin 2 IJ dozunun (76,6) enfektivitesi arasında önemli bir fark saptanmamıştır (Şekil 4.5).



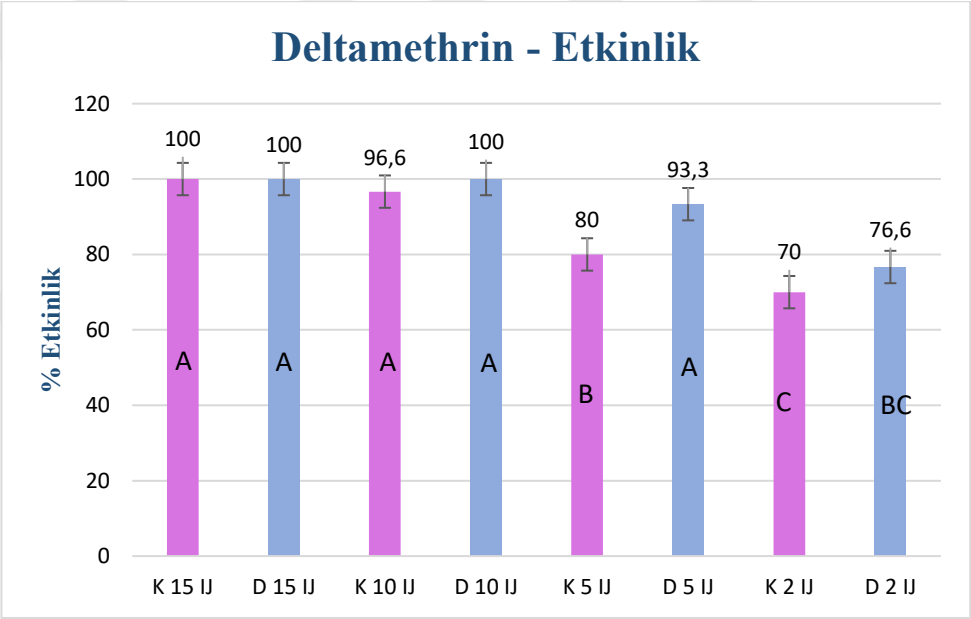
Şekil 4.5. Pestisitle etkileşime maruz kalan IJ'lerin etkinlik düzeylerinin karşılaştırılması (F=35,6; df=15,32; p<0,001). Hata çubukları standart hatayı temsil etmektedir.

4.2.1. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Deltamethrine Dirençli Bireylerinin Enfektivitesi

Deneme sonuçları, kontrol grubuna kıyaslanmıştır. Deltamethrin etkileşimli IJ'lerin 15 ve 10 IJ dozunda uygulamalarında %100 ölüm oranı sağlanmıştır. Kontrol grubunda ancak 15 IJ dozundaki uygulamada %100 ölüm saptanmış olup deltamethrin etkileşimli olanların başarısı diğer dozlarda da gözde çarpmaktadır. Ancak istatistiksel olarak ele

alındığında deltamethrin etkileşimli IJ'lerin 5- 10 -15 IJ dozunda olanları ile kontrol grubunun 10-15 IJ dozundaki denemelerin sonuçları istatistiksel olarak eştir ve yüksek oranda enfektivite göstererek ölümle sonuçlanmıştır (Şekil 4.6.; F=17,7; df=23; p<0,001).

5 IJ dozundaki denemede uygulama grubuna (93,3) kıyasla kontrol grubunda (80) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. 2 IJ dozundaki uygulama grubuna (76,6) kıyasla kontrol grubunda (70) istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bulgular neticesinde uygulanan IJ dozu arttıkça enfektivite artmakta ve daha başarılı bir kontrol sağlanmaktadır. Deltametrin IJ etkileşimi additif bir etki göstermiş ve enfektiviteyi arttırmıştır (Şekil 4.6).

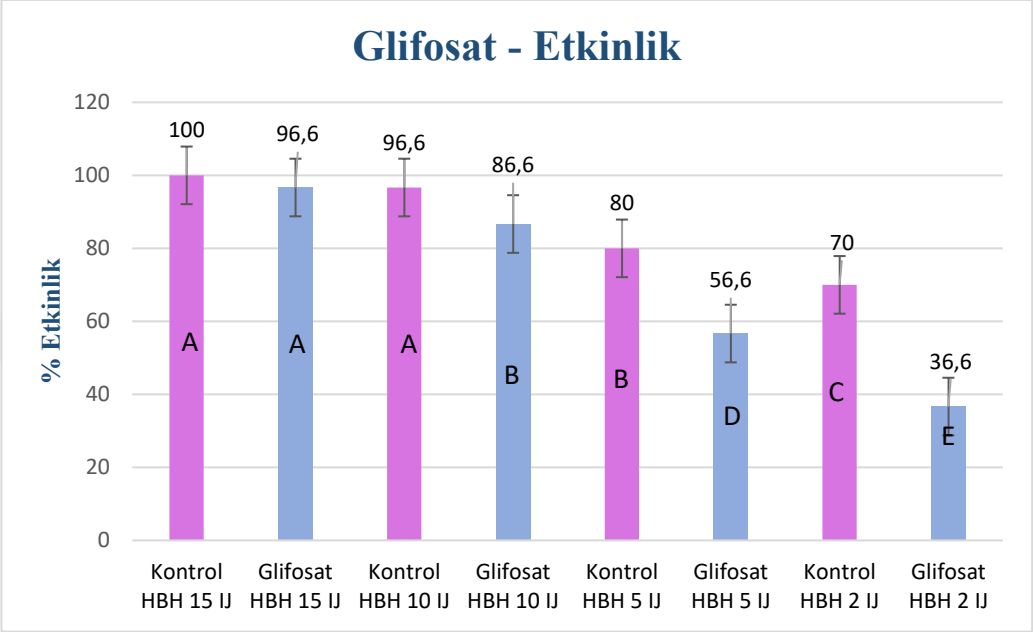


Şekil 4.6. Deltamethrin etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuyla karşılaştırılması (F=17,7; df=7,16; p<0,001). Hata çubukları standart hatayı temsil etmektedir.

4.2.2. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Glifosata Dirençli Bireylerinin Enfektivitesi

Deneme sonuçları, kontrol grubuyla kıyaslanmıştır. Kontrol grubu ve uygulama grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar mevcuttur (F=44,8; df=23; p<0,0001). Kontrol grubunun 10-15 IJ dozlu (96,6-100) denemeleri ve glifosat etkileşimli 15 IJ dozlu (96,6) denemede istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ve en yüksek

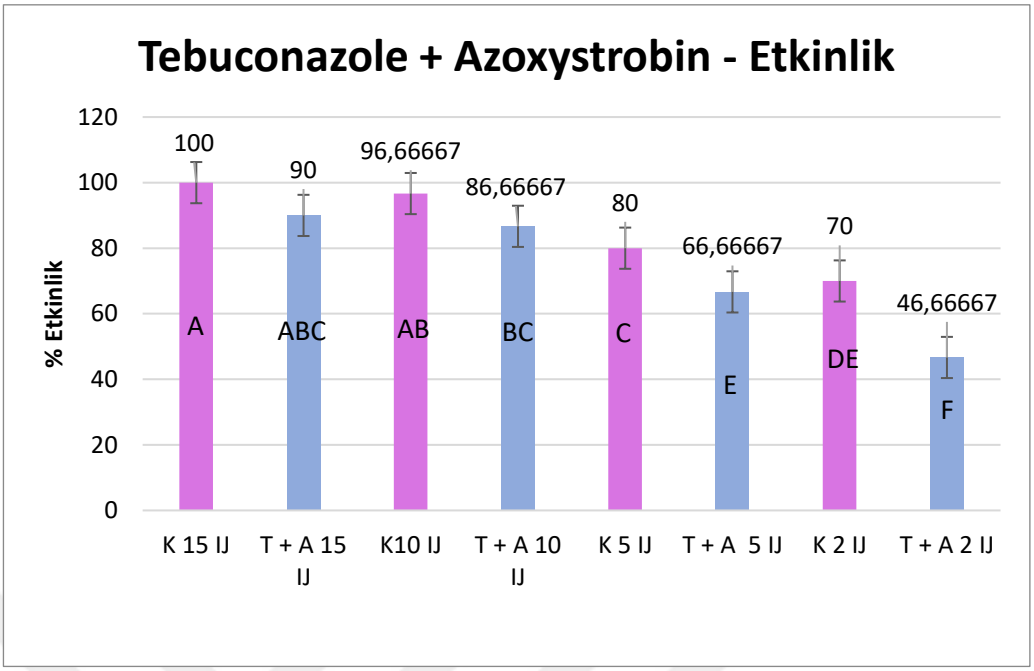
enfektivite bu dozlarda tespit edilmiştir. Kontrol grubunun 2-5-10 IJ dozu (70-80-96,6) ile uygulama grubunun 2-5-10 IJ dozu (36,6-56,6-86,6) arasında istatistiksel olarak önemli bir azalma tespit edilmiştir. Bu durum pestisitle etkileşimin IJ'ler üzerinde antagonist bir etki meydana geldiğini gösterir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Glifosat etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuyla karşılaştırılması (F=44,8; df=7,16; p<0,0001). Hata çubukları standart hatayı temsil etmektedir.

4.2.3. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Tebuconazole + Azoxystrobine Dirençli Bireylerinin Enfektivitesi

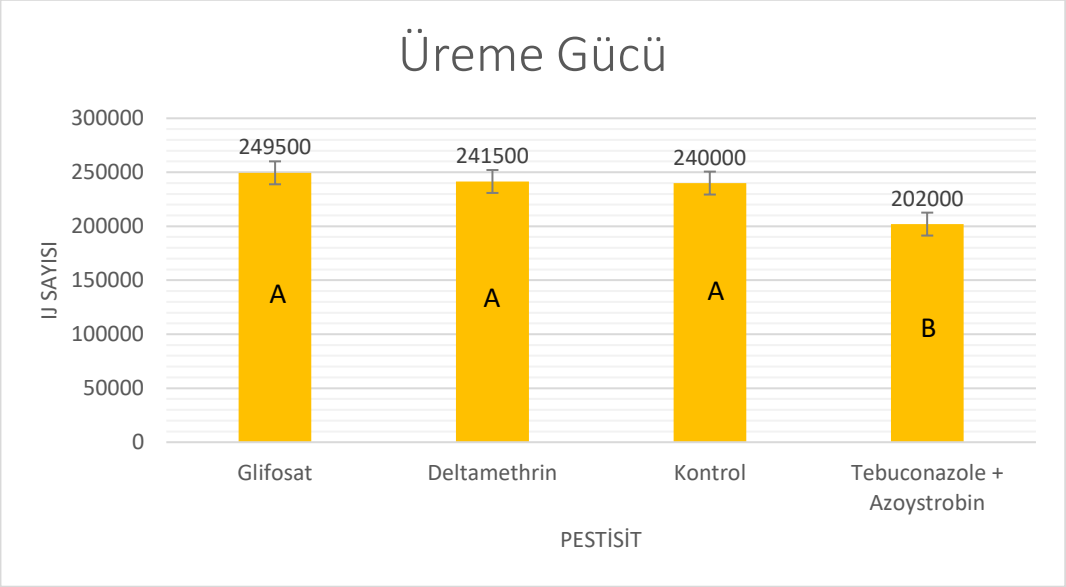
Deneme sonuçları, kontrol grubuyla kıyaslanmıştır. Kontrol grubu ve uygulama grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar mevcuttur (F=22,7; df=23; p<0,0001). Kontrol grubunun 10-15 IJ dozları (96,6 – 100) ile uygulama grubunun 15 IJ dozu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ve en yüksek enfektivite bu denemelerde saptanmıştır. Kontrol ve uygulama grubunun 10 IJ dozunda da istatiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak kontrol grubunun 2-5 IJ dozlarına (70-80) kıyasla uygulama grubunun 2-5 IJ dozlarında (46,6-66,6) anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu da düşük dozlarda enfektivitenin azaldığını ve fungusitin düşük dozlarda IJ'lerde antagonistik etki meydana getirdiği saptanmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Tebuconazole + Azoxystrobin etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuyla karşılaştırılması ($F=22,3$; $df=7,16$; $p<0,0001$). Hata çubukları standart hatayı temsil etmektedir.

4.3. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Pestisite Dirençli Bireylerinin Üreme Gücü

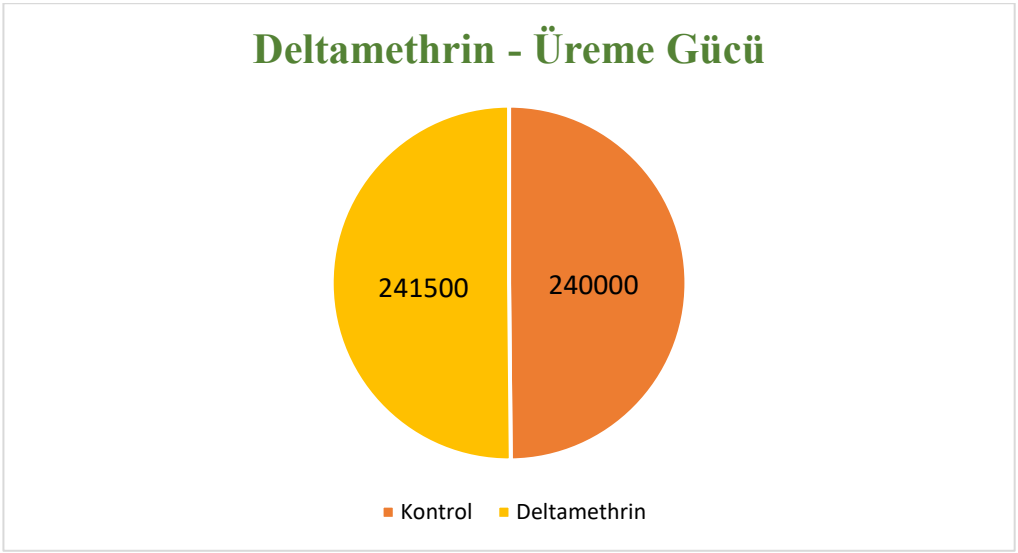
Üreme güçleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu (240000) ile deltamethrin (241500) ile glifosat (249500) etkileşimli IJ'ler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Kontrol grubu (240000) ile tebuconazole + azoxystrobin (202000) etkileşimli IJ'lerin üreme gücü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttur (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Pestisit etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılması (F=16,6; df=3,16; p<0,0001). Hata çubukları standart hatayı temsil etmektedir.

4.3.1 *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Deltamethrine Dirençli Bireylerinin Üreme Gücü

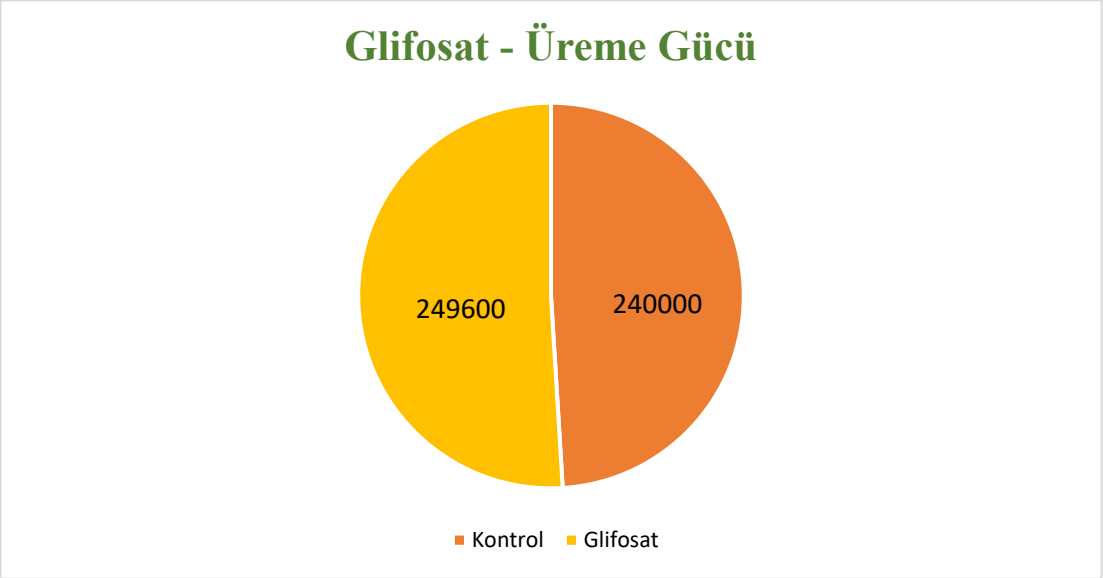
Kontrol grubunun IJ'lerinin üreme gücünün uygulama grubunun deltamethrinle etkileşimde bulunmuş IJ'lerine göre üreme gücü arasında t testi yapılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.10; Prob > |t|= 0,8643)



Şekil 4.10. Deltamethrin etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılması (Prob > |t|= 0,8643)

4.3.2 *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Glifosata Dirençli Bireylerinin Üreme Gücü

Kontrol grubunun IJ'lerinin üreme gücünün uygulama grubunun glifosatla etkileşimde bulunmuş IJ'lerine göre üreme gücü arasında arasında t testi yapılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.11; Prob > |t|= 0,2394).

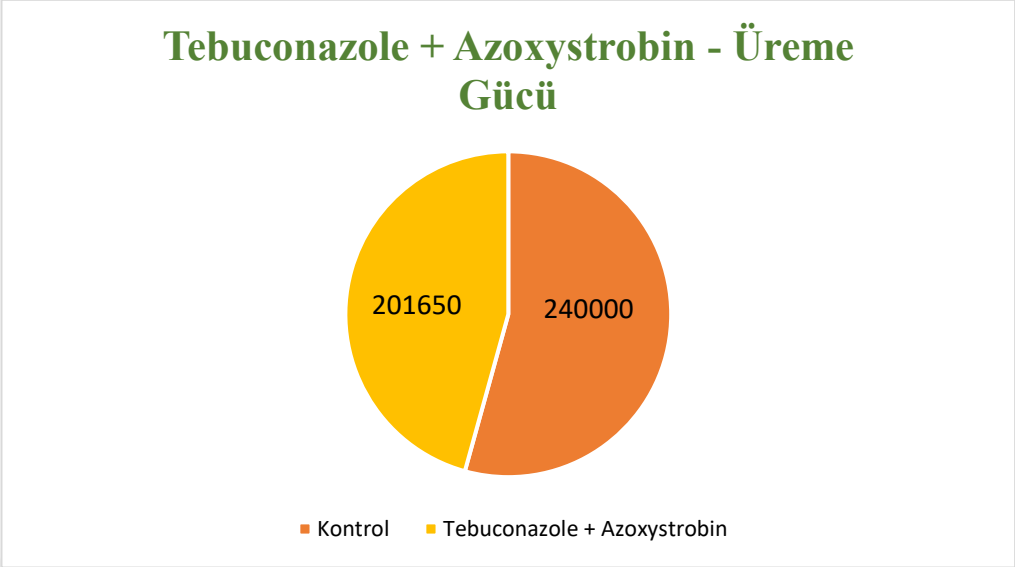


Şekil 4.11. Glifosat etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılması (Prob > |t|= 0,2394)

4.3.3 *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Tebuconazole + Azoxystrobine Dirençli Bireylerinin Üreme Gücü

Kontrol grubunun IJ'lerinin üreme gücünün uygulama grubunun tebuconazole + azoxystrobinle etkileşimde bulunmuş IJ'lerine göre üreme gücü arasında arasında t testi yapılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (Şekil 4.12; F=25,5; df=9; p=0,0010).

Tebuconazole + azoxystrobinle etkileşimde bulunmuş IJ'lerin üreme gücü kontrol grubuna göre daha azdır. İnfektif juveniller fungusitten üreme gücü bakımından negatif etkilenmişlerdir.

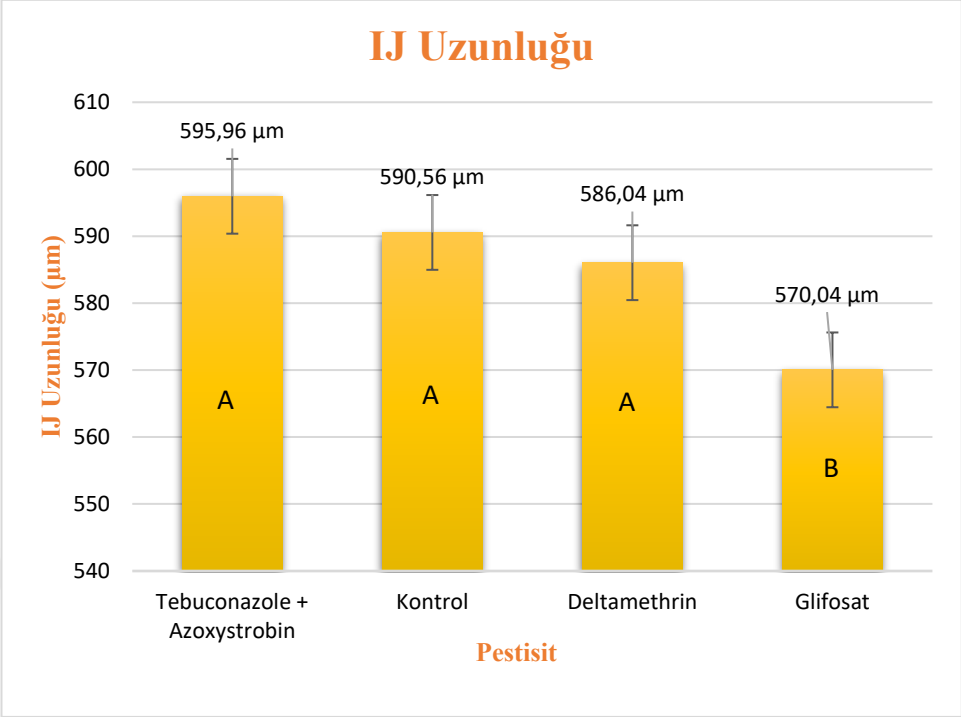


Şekil 4.12. Tebuconazole + Azoxystrobin etkileşimli IJ'lerin kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılması (Prob > |t|= 0,0013)

4.4. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH Hibrit Irkının Pestisite Dirençli IJ Bireylerinin Vücut Uzunluğu Ölçümleri

Pestisitlere maruz kalan IJ'lerin nesilleri lam – lamel arasına alınarak mikroskopta incelenmiş ve bilgisayarda ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar kontrol grubuna göre kıyaslanarak istatistiksel olarak incelenmiştir (F=6,24; df=3,96; p=0,0006).

Sonuçlar incelendiğinde kontrol grubunun IJ uzunlukları ortalaması (590,56 µm) deltametrine direçli IJ uzunlukları ortalaması (586,04 µm) ve tebuconazole + azoxystrobine dirençli IJ uzunlukları ortalaması (595,96 µm) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak glifosata dirençli bireylerin IJ uzunluklarında (570,04 µm) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir kısalma söz konudur (Şekil 4.13). Bu sonuçtan yola çıkarak glifosat etken maddeli herbisitin infektif juvenil morfometrisi üzerinde etkisi olduğu saptanmıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. HBH ırkının pestisite dirençli IJ bireylerinin vücut uzunluğu (F=6,24; df=3,96; p=0,0006). Hata çubukları standart hatayı temsil etmektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Entomopatojen nematodlar biyolojik mücadelenin başarılı ajanlarındandır. Entegre mücadeleyle kimyasal pestisitlerle birlikte uygulanma potansiyelleri birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır ve araştırılmaya devam etmektedir (Koppenhöfer ve Fuzy, 2008; Radová 2011; Hassan ve Ibrahim, 2019; Özdemir vd., 2020; Özdemir vd., 2021; Ahmed vd., 2024) Bu çalışma kapsamında *H. bacteriophorora* HBH hibrit ırkının deltamethrin, glifosat ve tebuconazole + azoxystrobin etken maddeli insektisitlerle uyumu ve pestisite maruz kalan infektif juvenillerin enfektivitesi, üreme gücü ve IJ'lerin vücut uzunluğu araştırılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre *H. bacteriophorora* HBH hibrit ırkı tebuconazole + azoxystrobin etken maddeli pestisitle uyumlu olduğu sonucuna varılmış ve bu pestisite maruz kalan bireylerin ölüm oranları kontrol grubuyla istatistiksel olarak aynı olduğu tespit edilmiştir. IJ'ler deltamethrin ve glifosattan negatif etkilenmiş ve kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ölüm oranları gözlenmiştir. Ek olarak pestisit ve IJ'ler 3 gün boyunca etkileşimde bulunmuştur. Uygulama öncesi tank karışımı oluşturulduktan sonra hemen uygulanması durumunda toprağa geçişten sonra daha az yoğun bir maruziyet bekleneceğinden daha az ölüm oranlarının karşılaşılması muhtemeldir. Nematodların kimyasal insektisitlerle etkileşiminin, nematod türü, kombine ajanların konsantrasyonu, hedef zararlının gelişim evresi, maruziyet yöntemi ve etkileşimin gerçekleştiği çevrenin karmaşıklığı gibi birçok faktöre bağlı olduğu diğer araştırmacıların çalışmalarıyla da desteklenmektedir (Kary vd., 2021)

Pestisite dayanıklı bireyler, pestisitten arındırıldıktan sonra IJ'lerin boy uzunlukları ölçülmüş ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak karşılaştırılmışlardır. Kontrol grubu ve deltamethrin ile tebuconazole + azoxystrobin uygulama gruplarının pestisite dirençli IJ'lerinin vücut uzunlukları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yalnızca glifosat etken maddesi kontrol grubuna kıyasla IJ uzunluğunda kısalmaya neden olmuştur. Bunun nedeni EPN'lerin de aromatik halkalı aminoasitleri protein sentezi esnasında kullanmaları ve glifosat etken maddesinin aromatik halkalı aminoasitlerin sentezini inhibe etmesi olduğu düşünülebilir. Aromatik halkalı aminoasitler simbiyotik

bakteriler tarafından da kullanılmaktadır. Bakteriler nematodun besleneceği ortamı hazırladığından besinin yeterince bulunamayışı IJ boyunda kısalmaya neden olmuş olabilir.

Tezde kullanılan pestisitlere dayanıklı bireyler saf su ile pestisitten arındırıldıktan sonra üreme güçleri kontrol grubuna kıyasla karşılaştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde kontrol grubu, deltamethrin uygulama grubu ve glifosat uygulama grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ve kontrol grubunda üreme gücü 240000'dir. Tebuconazole – azoxystrobin etken maddesine dayanıklı bireylerin üreme gücü kontrol grubuna ve diğer uygulama gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalış göstermiştir. Bunun muhtemel nedeni azoxystrobin etken maddesinin mitokondriyel solunuma etkisi ve reaktif oksijen bileşiklerinin miktarca artışına neden olmasıdır. ROS'ların EPN'lerin simbiyotik bakterilerine zarar verdiği bilinmektedir (Li vd., 2016).

Pestisite dayanıklı bireylerin etkinliği değerlendirildiğinde kontrol grubunun 10-15 IJ dozu, glifosatın 15 IJ dozu, deltamethrinin 5-10-15 IJ dozu istatistiksel olarak en yüksek enfektivite gösteren doz ve pestisite dirençli IJ'leri göstermiştir. Deltamethrinin maksimum enfektiviteyi düşük dozlarda sağlayabilmesi muhtemelen Na^+ iyonuyla ilişkilidir. EPN bakterileri enfeksiyon esnasında doğal olarak sodyum dengesini bozar aynı etki deltamethrinin çalışma prensibinde de vardır. Bunun sonucunda sinir sistemine iletim durur, sinirsel iletimdeki blokaj felce neden olur. Sonuç additif etki olarak adlandırılır (Shapiro-Ilan vd., 2012). En düşük enfektivite glifosat dirençli IJ'lerde gözlenmiştir. Muhtemel sebep glifosatın aromatik aminoasitlerin sentezini engellemesi ve bakterilerde de bitkilerdeki yolağın bulunması dolayısıyla enkinliğinin azaldığı düşünülebilir. Çünkü aromatik aminoasitler sekonder metabolit üretiminde hammadde olarak kullanılır (Herrman, 1995). Ek olarak herbisit etken maddesinde bulunan potasyum tuzu nematodda hasara neden olmuş olabilir bu durum da etkinlikte azalmaya neden olmuş olabilir.

Özetle araştırma neticesinde üç farklı pestisit ile *H. bacteriophora* HBH hibrit ırkının ve simbiyotik bakterilerinin aralarındaki etkileşim morfometrik özellikler, enfektivite ve üreme gücü bakımından değerlendirilmiştir. Entomopatojen nematodların enfeksiyon

yeteneği bir kimyasal pestisitle desteklenerek zararlının ölümünün daha az IJ ile sağlanabileceği saptanmıştır. Aynı zamanda zamansal olarak da daha kısa sürede ölümcül olunabileceği değerlendirilmeli ve bu konuda çalışmalar yapılmalıdır. Pestisitlerin entomopatojen nematodlar üzerinde ölümcül etkisi yapılan diğer çalışmaların da göz önünde bulunuşuyla yüksek dozlarda ve uzun süreli maruziyette önem kazanmaktadır. Entomopatojenlerin zararlıyla karşılaşarak kendilerini çoğaltabilmeleri ve dolayısıyla yerini alabilecek yeni bireylerle ölenlerin ikame edilmesi ölümcül etkileşimin dezavantajını azalmaktadır. Kullanılan pestisitlerde glifosat harici kayda değer bir ölüm oranı saptanmaması ancak etkinliğin artışı sürdürülebilir tarım açısından umut vadedicidir. Yapılan benzer çalışmalarda da glifosat etken maddesinin *H. bacteriophora* üzerindeki etkisi çalışmayı destekler niteliktedir. (Garcia-del-Pino vd., 2010)

KAYNAKLAR

Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*, 18, 265–267

Acharya, R., Shapiro-Ilan, D. I., & Barman, A. K. (2025). Entomopathogenic nematodes in pecan orchards in Georgia and their virulence on selected pecan pests. *Journal of Economic Entomology*, *118*(3), 1146-1155.

Aguiar, N. F. B. (2021). *Tebuconazole and Azoxystrobin: Understanding the Fungicide Potential of the Combination Used in a Commercial Formulation* (Master's thesis, Universidade de Aveiro (Portugal)).

Ahmed, F. S., İnak, E., Helmy, W. S., & Abo-Shady, N. M. (2024). The combined effect of sublethal concentrations of insecticides and local entomopathogenic nematode isolates on larval and pupal stages of *Agrotis ipsilon* (Hufnagel)(Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection*, *184*, 106856.

Anadon, A., Arés, I., Martínez, M. A., & Martínez-Larrañaga, M. R. (2013). Pyrethrins and synthetic pyrethroids: use in veterinary medicine. In *Natural products* (pp. 4061-4086). Springer, Berlin, Heidelberg.

Bradbury, S. P., & Coats, J. R. (1989). Comparative toxicology of the pyrethroid insecticides. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 133-177.

Campos-Herrera, R. (2015). Nematode pathogenesis of insects and other pests. *Ecology and applied technologies for sustainable plant and crop protection. Switzerland: Springer International Publishing*, 10-1007.

Ciche, T. A., & Ensign, J. C. (2003). For the insect pathogen Photorhabdus luminescens, which end of a nematode is out?. *Applied and environmental microbiology*, *69*(4), 1890-1897.

Caldas, C., Cherqui, A., Pereira, A., & Simoes, N. (2002). Purification and characterization of an extracellular protease from Xenorhabdus nematophila involved in insect immunosuppression. *Applied and environmental microbiology*, *68*(3), 1297-1304.

Campos-Herrera, R., Carpentero, E., Puelles, M., de Ojer, J. L. R. S., & Pérez, R. B. (2023). Entomopathogenic nematode compatibility with vineyard fungicides. *Journal of Nematology*, *55*(1), 20230057.

DeBach P, Rosen D (1991) Biological control by natural enemies, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, 1-295.

Dillman, A. R., & Sternberg, P. W. (2012). Entomopathogenic nematodes. *Current Biology*, *22*(11), R430-R431.

Delobel, B., & Laviolette, P. (1969). Rearing Phryxe caudata (Larvaevoridae), a parasite of Thaumetopoea pityocampa, on a substitute host, *Galleria mellonella Biology*, *22*(11), R430-R431

Direk, M. (2012). *Tarım tarihi ve deontoloji*. Eğitim Yayınevi, 9-11.

Desai, A. V., Siddhapara, M. R., Patel, P. K., & Prajapati, A. P. (2019). Biology of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. on artificial diet, 22(2), 1262-1272.

Ehlers, R. U., & Shapiro-Ilan, D. I. (2005). Mass production. In *Nematodes as biocontrol agents* (pp. 65-78). Wallingford UK: CABI Publishing.

El-Ashry, R. M., Ali, M. A., & Ali, A. A. (2020). The joint action of entomopathogenic nematodes mixtures and chemical pesticides on controlling Helicoverpa armigera (Hübner). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control*, *12*(1), 101-116.

Ellis, J. D., Graham, J. R., & Mortensen, A. (2013). Standard methods for wax moth research. *Journal of Apicultural Research*, *52*(1), 1-17.

Ffrench-Constant, R., Waterfield, N., Daborn, P., Joyce, S., Bennett, H., Au, C., ... & Clarke, D. (2003). Photorhabdus: towards a functional genomic analysis of a symbiont and pathogen. *FEMS Microbiology Reviews*, *26*(5), 433-456.

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

Gaugler, R. (1990). *Entomopathogenic nematodes in biological control* (Vol. 227). H. K. Kaya (Ed.). Boca Raton: CRC press, 1-15.

Grewal, P. S., Ehlers, R. U., & Shapiro-Ilan, D. I. (Eds.). (2005). *Nematodes as biocontrol agents*. Cabi publishing.

Greathead DJ (1986) Parasitoids in classical biological control. In: Waage JK, Greathead DJ (eds) Insect parasitoids. Academic Press, London, pp 289–318

Grewal, P. S., Lewis, E. E., Gaugler, R., & Campbell, J. F. (1994). Host finding behaviour as a predictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, *108*(2), 207-215.

Guardiola, F. A., Gónzalez-Párraga, P., Meseguer, J., Cuesta, A., & Esteban, M. A. (2014). Modulatory effects of deltamethrin-exposure on the immune status, metabolism and oxidative stress in gilthead seabream (Sparus aurata L.). *Fish & Shellfish Immunology*, *36*(1), 120-129.

Hassan, H. M., & Ibrahim, S. A. (2019). Combined efficacy of insecticides and entomopathogenic nematodes in the management of cotton leaf worm Spodoptera littoralis. *Pakistan Journal of Nematology*, *37*(1), 45-52.

Herrmann, K. M. (1995). The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *The Plant Cell*, *7*(7), 907.

Hoddle, M. S., & Van Driesche, R. G. (2009). Biological control of insect pests. In *Encyclopedia of insects* (pp. 91-101). Academic Press.

Horrigan L, Lawrence RS, Walker P (2002) How sustainable agriculture can address the environmental and human health harms of industrial agriculture. Environ Health Perspect 110:445–456.

Kary, N. E., Sanatipour, Z., Mohammadi, D., & 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.

Kumar, N., Willis, A., Satbhai, K., Ramalingam, L., Schmitt, C., Moustaid-Moussa, N., & Crago, J. (2020). Developmental toxicity in embryo-larval zebrafish (Danio rerio) exposed to strobilurin fungicides (azoxystrobin and pyraclostrobin). *Chemosphere*, *241*, 124-980.

Kurban, D., & Zengin, G. (2023). Sürdürülebilir Kent Yaklaşımlarından Kentsel ve Topraksız Tarım: Paris, Barselona ve İzmir Örnekler. *Balkan and Near Eastern Journal of Social Sciences, 23*(09), 90-101.

Kurtar, E. S., & Ayan, A. K., 2004. Organik Tarım Ve Türkiye'deki Durumu. J. Of Fac. Of. Agric., Omu, 19(1), 56-64.Bedding, R., Akhurst, R., Kaya, H., & Nickle, W. R. (1995). Nematodes and the biological control of insect pests. *Environmental Entomology*, *24*(1), 164.

Kwadha, C. A., Ong'amo, G. O., Ndegwa, P. N., Raina, S. K., & Fombong, A. T. (2017). The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Insects*, *8*(2), 61.

Koppenhöfer, A. M., Shapiro-Ilan, D. I., & Hiltpold, I. (2020). Entomopathogenic nematodes in sustainable food production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *4*, 125.

Koppenhöfer, A. M., & Fuzy, E. M. (2008). Effect of the anthranilic diamide insecticide, chlorantraniliprole, on *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) efficacy against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). *Biological control*, *45*(1), 93-102.

Kongu, Y., & Susurluk, İ. A. (2014). Hibrit entomopatojen nematod *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının ebeveynlerine göre etkinliklerinin karşılaştırılması. *Turkish Journal of Entomology*, *38*(2), 125-134.

Laznik, Ž., & Trdan, S. (2014). The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions. *Pest management science*, *70*(5), 784-789

Lewis, K. A., Tzilivakis, J., Warner, D. J., & Green, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and ecological risk assessment: An International Journal*, *22*(4), 1050-1064.

Li, X., Liu, Q., Lewis, E. E., & Tarasco, E. (2016). Activity changes of antioxidant and detoxifying enzymes in Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae infected by the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis beicherriana* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Parasitology research*, *115*, 4485-4494.

Liu, L., Zhu, B., & Wang, G. X. (2015). Azoxystrobin-induced excessive reactive oxygen species (ROS) production and inhibition of photosynthesis in the unicellular green algae Chlorella vulgaris. Environmental Science and Pollution Research, 22(10), 7766–7775.

Lu, Q., Sun, Y., Ares, I., Anadón, A., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M. R., Martínez, M. A. (2019). Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism. *Environmental research*, *170*, 260-281.

Malthus, T. (2005). The theory of population. *Sustainability: Sustainability*, 1, 23-292.

Mollah, M. M. I., & Kim, Y. (2020). Virulent secondary metabolites of entomopathogenic bacteria genera, Xenorhabdus and Photorhabdus, inhibit phospholipase A 2 to suppress host insect immunity. *BMC microbiology*, *20*, 1-13.

Muir, D. C., Rawn, G. P., & Grift, N. P. (1985). Fate of the pyrethroid insecticide deltamethrin in small ponds: a mass balance study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *33*(4), 603-609.

Negrisoli, A. S., Garcia, M. S., Negrisoli, C. R. B., Bernardi, D., & da Silva, A. (2010). Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) and insecticide mixtures to control *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn crops. *Crop Protection*, *29*(7), 677-683.

Özdemir, E., İnak, E., Evlice, E., & Laznik, Z. (2020). Compatibility of entomopathogenic nematodes with pesticides registered in vegetable crops under laboratory conditions. *Journal of plant diseases and protection*, *127*(4), 529-535.

Özdemir, E., İnak, E., Evlice, E., Yüksel, E., Delialioğlu, R. A., & 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.

Poinar Jr, G. O. (1993). Origins and phylogenetic relationships of the entomophilic rhabditids, *Heterorhabditis* and *Steinernema*. *Fundamental and Applied Nematology*, *16*(4), 333-338.

Poinar, G. J., Thomas, G. M., & Hess, R. (1977). Characteristics of the specific bacterium associated with *Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditidae: Rhabditida), 23(1), 96-102.

Radová, Š. (2011). Effect of selected pesticides on survival and virulence of two nematode species. *Polish Journal of Environmental Studies*, *20*(1), 181-185.

Rodou, A., Ankrah, D. O., & Stathopoulos, C. (2010). Toxins and secretion systems of *Photorhabdus luminescens*. *Toxins*, *2*(6), 1250-1264.

Shapiro-Ilan, D. I., Lewis, E. E., Campbell, J. F., & Kim-Shapiro, D. B. (2012). Directional movement of entomopathogenic nematodes in response to electrical field: effects of species, magnitude of voltage, and infective juvenile age. *Journal of Invertebrate Pathology*, *109*(1), 34-40.

Shimanuki, H. (1981). *Controlling the greater wax moth: a pest of honeycombs* (No. 2217). US Department of Agriculture, Science and Education Administration, 3-11.

Shrivastava, B., Shrivastava, A., Kumar, A., Bhatt, J. L., Bajpai, S. P., Parihar, S. S., & Bhatnagar, V. (2011). Impact of Deltamethrin on Environment, use as an Insecticide and its Bacterial degradation-A preliminary study. *International Journal of Environmental Sciences*, *1*(5), 977-985.

Smith, T. L. (1965). External morphology of the larva, pupa, and adult of the wax moth, *Galleria mellonella* L. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 287-310.

Sikorski, J. A., & Gruys, K. J. (1997). Understanding glyphosate's molecular mode of action with EPSP synthase: evidence favoring an allosteric inhibitor model. *Accounts of Chemical Research*, *30*(1), 2-8.

Stenberg, J. A., Sundh, I., Becher, P. G., Björkman, C., Dubey, M., Egan, P. A., ... & Viketoft, M. (2021). When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *Journal of Pest Science*, *94*(3), 665-676.

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

Susurluk, I. A., & 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.

Tarasco, E., Fanelli, E., Salvemini, C., El-Khoury, Y., Troccoli, A., Vovlas, A., & De Luca, F. (2023). Entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria: from genes to field uses. *Frontiers in insect science*, *3*, 1195254.

Triggiani, O., & Poinar, G. J. (1976). Infection of adult Lepidoptera by Neoaplectana carpocapsae (Nematoda). 27(3), 413-414.

Triplett GB, Dick WA (2008) No-tillage crop production: a revolution in agriculture. Agron J 100:153–165.

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

Wu, S., Lei, L., Liu, M., Song, Y., Lu, S., Li, D., Shi, H., Raley-Susman, K. M., & He, D. (2018). Single and mixture toxicity of strobilurin and SDHI fungicides to Xenopus tropicalis embryos. Ecotoxicology and Environmental Safety, 153(October 2017), 8–15.

Yüksel, M. (2022). Beslenme Nörobiyokimyası. *Beslenme ve Diyetetikte Biyopsikososyal Konulara Multidisipliner Yaklaşım*, 15.