

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİMDALI
2014-YL-034

ZARARLI BÖCEKLERLE MÜCADELEDE YENİ BİR
YAKLAŞIM: ENTOMOPATOJEN NEMATODLA
ENFEKTE CANLI BÖCEK SALIMI

Arife GÜMÜŞ

Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Mehmet KARAGÖZ

AYDIN

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

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

....../....../2014

Arife GÜMÜŞ

ÖZET

ZARARLI BÖCEKLERLE MÜCADELEDE YENİ BİR YAKLAŞIM: ENTOMOPATOJEN NEMATODLA ENFEKTE CANLI BÖCEK SALIMI

Arife GÜMÜŞ

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet KARAGÖZ

2014, 43 sayfa

Entomopatojen nematodlar (EPN) (Fam. Steinernematidae ve Heterorhabditidae) zorunlu böcek patojeni olan biyolojik mücadele organizmalarıdır. Alan uygulamalarında genellikle püskürtme yöntemi kullanılarak infektif juvenil evre nematodlar verilmektedir. Ancak kabuk altı veya sık bitki örtüsü bulunan habitatlardaki zararlı böceklerle karşı püskürtme yöntemi etkili olamamaktadır. Bu tez çalışması kapsamında kestane ağaçlarının kabuk altına yerleşip iletim demetleriyle beslenen *Cossus cossus* larvalarına ve sık bitki örtülü çim alanlarda zarar yapan *Spodoptera cilium* larvalarına karşı yeni bir uygulama yöntemi olarak “nematodla enfekte canlı larva salımı” diğer bir deyişle “canlı bomba” metodunun etkinliği araştırılmıştır. Denemelerde EPN olarak *Steinernema carpocapsae* türü kullanılmıştır. Nematodla enfekte canlı larva elde etmek için *Galleria mellonella* ve *S. cilium* larvaları 24 saat süreyle *S. carpocapsae* infektif juvenilleriyle karşı karşıya bırakılmıştır. *Cossus cossus* denemeleri için kestane kütükleri, *S. cilium* denemeleri içinse hazır rulo çim parselleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda enfekte canlı larva salım tekniği ile kabuk altındaki *C. cossus* larvalarında %86, çim alandaki *S. cilium* larvalarında ise %91 oranında ölüm meydana gelmiştir. Her iki deney grubunda elde edilen ölüm oranlarıyla kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Sonuç olarak kabuk altı ve benzeri kapalı habitatlardaki zararlılara karşı EPN’lerin test edilen bu yeni uygulama yöntemi sayesinde başarıyla uygulanabileceği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Biyolojik mücadele, *Cossus cossus*, *Spodoptera cilium*, entomopatojen nematodlar

ABSTRACT

A NEW APPROACH IN BIOLOGICAL CONTROL OF INSECT PESTS: RELEASING ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE-INFECTED INSECTS

Arife GÜMÜŞ

M.Sc.Thesis, Department of Plant Protection

Advisor: Associate Prof. Dr. Mehmet KARAGÖZ

2014, 43 pages

Entomopathogenic nematodes (Fam. Steinernematidae and Heterorhabditidae) are obligate insect pathogenic nematodes and are used in biological control studies. Generally, infective juvenile stages of the nematodes are sprayed with a large amount of water in feild applications. However, this method is not efficient against the insect pests in cryptic habitats such as sapwoods and dense vegetation covers. With this study, the efficacy of releasing nematode-infected insects “living bomb” as a new application method was evaluated against chestnut tree pest *Cossus cossus*, and lawn caterpillar *Spodoptera cilium* larvae. Entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* species was used in the experiments. *Galleria mellonella* and *S. cilium* larvae were exposed to *S. carpocapsae* IJs for 24 h to get nematode-infected larvae. Chestnut logs were used for *C. cossus* study and the new application technique showed 86% larval mortality. For *S. cilium*, turf grass arenas were used to conduct the experiments and releasing the nematode-infected insect technique showed 91% larval mortality. There were significant difference between treatments and control groups for *C. cossus* and *S. cilium*. As conclusion, the data showed that releasing nematode-infected insect technique can be used against insect pests in cryptic or similar habitats.

Key words: Biological control, *Cossus cossus*, *Spodoptera cilium*, entomopathogenic nematodes,

ÖNSÖZ

Lisans döneminden bu yana tanıdığım ve yanında çalışmaktan onur duyduğum, bilgileriyle bana yardımcı olan, eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen, tez danışman hocam Doç. Dr. Mehmet KARAGÖZ'e,

Çalışmamın her aşamasında büyük yardımlarını gördüğüm, engin bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her türlü yardım ve desteği sağlayan, kendisiyle tanışmış olmaktan onur duyduğum çok değerli bilim insanı Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümünden hocam Prof. Dr. Selçuk HAZIR'a

Çalışmamın istatistiksel analizlerinde yardımlarını esirgemeyen hocam Prof. Dr. İbrahim ÇAKMAK'a

Çalışmalarımdaki yardımlarından dolayı Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümünden hocam Arş. Gör. Derya ULUĞ'a, ADÜ doktora öğrencisi Harun ÇİMEN'e, ADÜ Yüksek lisans öğrencisi Cem ASAN'a, kendisini Yüksek Lisansta tanıdığım ve çalışmaktan zevk aldığım çok değerli arkadaşım Şebnem Hazal GÜLŞEN'e ve laboratuvarında çalışmalara katılan tüm arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan, haklarını ödeyemeyeceğim çok değerli annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Arife GÜMÜŞ

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. Entomopatojen Nematodlar (Fam: Steinernematidae ve Heterorhabditidae)..	2
1.2. Entomopatojen Nematod-Bakteri İlişkisi	3
1.3. Entomopatojen Nematodların Konukçu Bulma Davranışları.....	3
1.4. Entomopatojen Nematodların Konukçu Dağılımı.....	4
1.5. Entomopatojen Nematodları Etkileyen Abiyotik ve Biyotik Faktörler.....	4
1.5.1. Abiyotik Faktörler	5
1.5.1.1. UV ışınları	5
1.5.1.2. Nem	5
1.5.1.3. Sıcaklık.....	5
1.5.1.4. Toprak yapısı.....	5
1.5.1.5. Oksijen	6
1.5.1.6. PH.....	6
1.5.1.7. Tuzluluk	6
1.5.2. Biyotik Faktörler	6
1.6. Entomopatojen Nematodların Kullanım Alanları	6
1.7. Ağaç Kızıl Kurdu, Cossus cossus	7
1.8. Spodoptera ciliun	10

2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1. Galleria mellonella Larvalarının Laboratuvarda Üretilmesi.....	15
3.2. Entomopatojen Nematod Steinernema carpocapsae'nin Üretilmesi	15
3.3. Cossus cossus Larvalarının Elde Edilmesi	16
3.4. Gövde Zararlısı Cossus cossus'un Mücadelesinde Kabuk Altına Nematodla Enfekte Canlı Larva Salınması	17
3.5. Spodoptera cilium Larvalarının Elde Edilmesi ve Üretilmesi.....	20
3.6. Satın Alınan Çim Parsellerinde Entomopatojen Nematod Varlığının Kontrol Edilmesi	22
3.7. Spodoptera cilium Larvalarıyla Mücadelede Nematodla Enfekte Canlı Larva Salınması	22
3.8. Spodoptera cilium Larvalarıyla Mücadelede İnfektif Juvenillerin Püskürtme Yöntemi Kullanılarak Verilmesi.....	24
3.9. İstatistik Analizler	24
4. BULGULAR	25
4.1. Gövde Zararlısı Cossus cossus'un Mücadelesinde Kabuk Altına Nematodla Enfekte Canlı Larva Salınması.....	25
4.2. Spodoptera cilium Larvalarına Karşı Nematodla Enfekte Canlı Larva Salınması	28
5.TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	30
KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	43

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
dk	Dakika
EPN	Entomopatojenik Nematod
IJ	İnfektif juvenil
J2	2. Juvenil evre
J3	3. Juvenil evre
J4	4. Juvenil evre
l	Litre
ml	Mililitre
mM	Milimolar
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
pH	Power of Hydrogen
sp.	Tür
subsp.	Alt tür
UV	Ultraviolet
vd.	ve diğerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Cossus cossus</i> 'un ergin (A) ve pupası (B).....	10
Şekil 1.2. <i>Cossus cossus</i> 'un larva dönemi (A) ve odun dokusundaki zararı (B).....	11
Şekil 1.3. <i>Cossus cossus</i> 'un kuruttuğu ağaçlar (A) ve zarar sonucunda kesilen kestane ağacı (B).....	11
Şekil 1.4. <i>Spodoptera cilium</i> larvaları (A) ve insektaryumda üretilmeleri (B).....	13
Şekil 1.5. <i>Spodoptera cilium</i> 'un bir otelin çim alanında yaptığı zarar.....	14
Şekil 3.1. <i>Cossus cossus</i> larvalarının ağaç odun dokusu içinde beslenmesi.....	19
Şekil 3.2. Kestane kütükleriyle hazırlanan deney düzenekleri	20
Şekil 3.3. Kestane kütüğü üzerine <i>Cossus cossus</i> larvalarının bırakılması.....	21
Şekil 3.4. Nematodla enfekte canlı <i>Galleria mellonella</i> larvalarının kütükler üzerine salınması.....	21
Şekil 3.5. Larvalar toplandıktan sonra kütüklerin yıkanması	22
Şekil 3.6. <i>Spodoptera cilium</i> larvalarının çim alandan toplanması	23
Şekil 3.7. Su verildikten sonra çimin yüzeyine çıkan <i>Spodoptera cilium</i> larvaları.....	24
Şekil 3.8. <i>Spodoptera cilium</i> larvalarıyla yürütülen çalışmanın deney düzeneği.....	26
Şekil 4.1. Kabuk altına yerleşmiş olan <i>Galleria mellonella</i> larvasından çıkış yapan yeni nesil infektif juvenil nematodlar.....	29
Şekil 4.2. Kestane kabuk dokusu altında bulunan enfekte <i>Cossus cossus</i> larvaları.....	30
Şekil 4.3. Kestane odun dokusu içinde bulunan ölü <i>Cossus cossus</i> larvaları.....	30
Şekil 4.4. Nematodla enfekte canlı larva salımı sonucunda ortaya çıkan <i>Cossus cossus</i> larva ölüm oranı.....	31
Şekil 4.5. Kütüklerin yıkanması sonucu elde edilen canlı infektif juvenil evre nematodlar.....	32
Şekil 4.6. <i>Spodoptera cilium</i> larvalarıyla mücadelede kullanılan farklı uygulama yöntemleri sonucu elde edilen ölüm oranları (%).....	33

1. GİRİŞ

Geçmişten günümüze kadar var olan tarım, insanoğlunun toplu hayata geçişinde önemli rol oynamış ve insanlığın büyük çoğunluğunun temel geçim kaynağı haline gelmiştir. Tarım, ülkemiz ekonomisinde de çok önemli bir yere sahiptir. Birçok farklı ekolojik özellikte bölgeye sahip olan ülkemizin her bölgesinde kendine özgü ürünler yetiştirilmektedir.

Hastalık, zararlı ve yabancı otlar bitkisel üretimi ekonomik düzeyde etkilemektedir. Bitkileri korumak, tarımsal üretimi artırmak ve ürünün kalitesini yükseltmek amacıyla zararlılara karşı mücadele yapılmaktadır. Bunlar içerisinde kimyasal mücadele, kolay uygulanabilmesi, maliyetinin düşük olması ve sonucun kısa sürede alınabilmesi nedeniyle diğer mücadele yöntemlerine oranla daha fazla tercih edilmektedir (Anonymous, 2008). Fakat çözüm olduğu düşünülen kimyasalların aşırı kullanımı sonucunda böceklerde zaman içerisinde direnç oluşumu ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucunda da ya daha yüksek dozda kimyasal ilaç uygulanmakta ya da kullanılan kimyasalların çeşitliliği arttırılmaktadır. Özellikle toprak altında ve kapalı habitatlarda bulunan zararlılara karşı kimyasalların kullanımı olumlu sonuçlar vermemektedir. Yaygın pestisit kullanımının hayvan ve insan sağlığını tehdit etmesi, gıda maddelerinde ilaç kalıntısı bırakması, çevreyi kirletmesi, yer altı su kaynaklarına karışması ve zararlı böceklerin zamanla direnç kazanması nedeniyle kimyasal mücadeleye alternatif olarak çevreyle dost biyolojik mücadele yöntemlerine geçilmesini zorunlu hale getirmiştir.

Biyolojik mücadele, zararlı popülasyonlarının baskılanmasında, yoğunluğunun ve zarar seviyesinin azaltılmasında parazitoid, predatör, patojen, antagonist veya rekabetçi popülasyonların kullanılmasıdır (Waterhouse ve Norris, 1987). Günümüzde biyolojik mücadele, entegre zararlı mücadele (IPM) programının temelini oluşturmaktadır (Gaugler vd., 1997). Biyolojik mücadele içerisindeki canlı gruplarından birisi insan sağlığına olumsuz etkisi olmayan, genelde geniş bir konukçu dağılımına sahip olan ve kitle üretimleri yapılabilen entomopatojen nematodlar (EPN)'dır.

1.1. Entomopatojen Nematodlar (Fam: Steinernematidae ve Heterorhabditidae)

Entomopatojen nematodlar, doğal yaşam alanları toprak olan zorunlu böcek patojenidirler. Bu nematodlar konukçularını aktif olarak arayıp bulma özelliğine sahiptir. Sadece böceklerde zarar oluşturmalarından dolayı ekonomik öneme sahip birçok toprak altı zararlısının kontrolünde kullanımları mümkündür (Kaya ve Gaugler, 1993). Bu iki nematod familyasına ait 3 cins bulunmaktadır. Bunlardan iki tanesi Steinernematidae familyasına ait olup *Steinernema* ve *Neosteinernema* olarak adlandırılmakta, diğeri ise Heterorhabditidae familyasına bağlı olup *Heterorhabditis* olarak adlandırılmaktadır. *Steinernema* cinsine ait nematodlar *Xenorhabdus*, *Heterorhabditis* cinsine ait nematodlar ise *Photorhabdus* cinsi bakterilerle mutualistik ilişki içerisindeyler (Hazır vd., 2003).

Entomopatojen nematodlar gelişimleri boyunca yumurta, juvenil (J1, J2, J3, J4) ve ergin olmak üzere başlıca üç ana evre geçirirler (Kaya, 1993). Toprakta sadece 3. evre juveniller (J3) “infektif juvenil” serbest olarak yaşamaktadır. Nematodlar bu evredeyken beslenmez ve gelişmezler (Kaya ve Gaugler, 1993). Infektif juveniller toprak içerisinde buldukları böceğin doğal açıklıklarından (ağız, anüs ve stigma) böceğin hemosölü içerisine girerler. Taşıdıkları mutualistik bakterileri konukçunun hemosölü içerisine salarlar. Salınan bakteriler hemolenf sıvısı içerisinde hızla çoğalmaya başlar ve bu esnada salgıladıkları hücre dışı enzimler ve toksinler ile konukçu böceğin 48 saat içerisinde septisemi nedeniyle ölmesine neden olurlar (Gaugler ve Kaya, 1990). Bakteriler tarafından salgılanan enzimler böcek dokularını parçalayarak nematodların beslenmesi ve gelişmesi için uygun ortamı oluştururlar. Nematodlar, böcek dokularıyla beslenmekle birlikte bakterilerle de beslenerek 4. evre (J4) olurlar ve daha sonra ergin dişi ve erkek bireye dönüşürler (Steinernematid’lerde). Erkek ve dişi nematodlar çiftleşirler ve dişiler döllenmiş yumurta taşırlar. İlk evre juveniller (J1 ve J2) yumurta içerisinde gömlek değiştirirler. Bu evre de yumurta açılır ve juveniller dişinin vücut dokularıyla beslenmeye başlarlar. Bir süre geçtikten sonra dişinin bütün vücudu yeni nesil nematodlarla kaplanır dişilerin bu durumu “Endotokia matricida” evresi olarak adlandırılır (Ciche vd., 2008).

Nematodların üremesi kadavradaki besin bitene kadar devam etmektedir ve kadvrada ki besine bağlı olarak 2-3 jenerasyon meydana getirilir. Kadvra

dokularını bitiren nematodlar J3 evresinde gelişimlerini durdurarak konukçuyu terk edip toprağa geçer ve yeni konukçular aramaya başlar (Hazır vd., 2003).

Heterorhabditler ile Steinernematidlerin hayat döngüleri çok benzer olmasına rağmen aralarındaki en önemli fark *Heterorhabditis* erginlerinin konukçu içerisindeki ilk jenerasyon da hermafrodit bireylerden oluşması, *Steinernema* erginlerinin ise bütün döllerde ayrı eşeyli olmasıdır. Tek istisna, ilk jenerasyonda hermafrodit bireylere de rastlanılmış olan *Steinernema hermaphroditum* türüdür (Stock vd., 2004). *Heterorhabditis* cinsinde birinci nesilden sonraki nesillerde hermafroditlerle birlikte ayrı eşeyli bireyler de görülmektedir (Kaya, 1990).

1.2. Entomopatojen Nematod-Bakteri İlişkisi

Xenorhabdus ve *Photorhabdus* spp. bakterileri Enterobacteriaceae familyasına ait gram-negatif, fakültatif anaerobik, çubuk şeklinde, spor oluşturmayan, oksidaz negatif ve hareketlidirler (Boemare ve Akhurst, 1988). Steinernematidae familyası *Xenorhabdus*, Heterorhabditidae familyası ise *Photorhabdus* cinsi bakterilerle mutualistik ilişki içerisinde (Bode, 2009). Bu bakteriler, sadece infektif juvenil evrelerce taşınmaktadır. *Steinernema* cinsine ait türlerde bakteriler bağırsağın ön kısmındaki özel bir kesede, *Heterorhabditis* cinsine ait türlerde ise bağırsağın özellikle ilk 1/3'lük kısmında yoğun olarak bulunmaktadır (Boemare vd., 1996). Bakteriler bu mutualistik ilişkide dış ortamdaki olumsuz çevre koşullarından ve topraktaki rekabet ortamından korunarak besince zengin böcek dokusuna kendilerini taşıtır (Adams vd., 2006). Nematodlar ise bakterinin patojenik özelliği ile konukçuyu öldürmesinden ve böcek dokusunu uygun hale getirmesinden yararlanırlar. Ayrıca bakteriler ürettikleri çeşitli toksinler ile nematodların üremekte olduğu kadavraya diğer fırsatçı mikroorganizmaların yerleşmesini engellerler (Boemare, 2002; Griffin vd., 2005).

1.3. Entomopatojen Nematodların Konukçu Bulma Davranışları

İnfektif juveniller toprakta konukçularını pusu kurarak “ambusher” veya aktif bir şekilde dolaşarak “cruiser” aramaktadır. Pusu kurma stratejisini *Steinernema carpocapsae*, *S. scapterisci*, *S. siamkayai* gibi türler tercih etmektedir. Toprak yüzeyine yakın bulunan bu türler pusu kurma esnasında vücutlarını yukarı kaldırarak kuyrukları üzerinde durabilme özelliğine sahiptir. Bazı durumda vücudun düz ve hareketsiz bir şekilde tutulması, vücudun ileri geri sallanması şeklinde farklı formları da bulunmaktadır. Bu farklı formlar yakınından geçen

konukçulara kolayca temas edebilmektedirler. Bu davranış “nictation” olarak adlandırılır. *Steinernema carpocapsae* türünün infektif juvenilleri sıçrama yeteneğine sahiptirler. Doğrudan sıçrama konukçuya tutunma için kullanılırken, dolaylı sıçramanın dağılımda rol oynadığı düşünülmektedir. Infektif juveniller böylece bulunduğu bölgeden başka bir bölgeye geçerek orada konukçu arama işlevlerini sürdürebilmektedir. *Steinernema carpocapsae*’nin kendi vücut uzunluğunun 10 katı mesafeye sıçrayabildiği bilinmektedir. Pusu kuran türler genellikle konukçularının kendilerine gelmesini beklerler (Lewis, 2002; Campbell vd., 2003; Lewis vd., 2006).

Steinernema glaseri ve *Heterorhabditis bacteriophora* gibi türler ise genellikle aktif olarak konukçularını aramaktadırlar. Bu türler toprakta sabit veya çok az hareket eden konukçu böcekleri bulup enfekte etmektedir. *Steinernema riobrave* ve *S. feltiae* türleri ise bu iki davranış biçiminin arasında bir davranışa sahiptirler (Campbell ve Gaugler, 1997).

1.4. Entomopatojen Nematodların Konukçu Dağılımı

Laboratuvar koşullarında entomopatojen nematod türleri *H.bacteriophora* ve *S.carpocapsae* üzerine yapılan araştırmalarda, bu türlerin geniş bir böcek grubuna karşı etkili olduğu saptanmıştır (Poinar, 1979; Koppenhöfer, 2000). Ancak laboratuvar şartlarında çevre koşulları optimumdur ve nematodların etkinliğini kısıtlayacak hiçbir etken bulunmamaktadır (Koppenhöfer, 2000).

Bazı nematod türlerinin ise sadece bir tek böcek grubunu enfekte edip öldürdüğü görülmektedir. Örneğin *S. scapterisci* Orthoptera takımına, özellikle de Gryllotalpidae familyasına adapte olmuştur (Parkman ve Smart, 1996). *Steinernema kushidai* ve *S. scarabei* ise daha çok Scarabaeidae larvalarına adapte olmuştur ve diğer böcekleri enfekte etmeleri oldukça zordur (Koppenhöfer ve Fuzy, 2003).

1.5. Entomopatojen Nematodları Etkileyen Abiyotik ve Biyotik Faktörler

Laboratuvar koşullarında etkinlikleri çok fazla olan nematodların alan uygulamalarına geçildiğinde aynı başarılı sonuçları göstermedikleri bilinmektedir. Çünkü EPN’lerin doğal koşullar altında hayatta kalmalarını etkileyen abiyotik ve biyotik faktörler bulunmaktadır (Hazır vd., 2003).

1.5.1. Abiyotik Faktörler

Abiyotik faktörler arasında nematod varlığını etkileyen sıcaklık, UV ışınları, nem, toprak tipi, oksijen, pH, tuzluluk ve kimyasal faktörler sayılabilir (Kaya, 2002).

1.5.1.1. UV ışınları

UV ışığı nematodları inaktive eden ve çok kısa bir süre içinde ölümlerine sebep olan önemli bir abiyotik faktördür (Gaugler ve Bousch, 1978).

1.5.1.2. Nem

Nematodların yaşamını etkileyen en önemli faktördür. İnfektif juveniller bir yerden bir yere hareket edebilmek için su filmine ihtiyaç duymaktadır. Toprak partikülleri arasındaki su filmi tabakasının çok ince veya tamamen suyla dolu olması durumunda IJ'lerin hareketleri sınırlanmaktadır (Kung vd., 1991; Brown ve Gaugler, 1997).

1.5.1.3. Sıcaklık

Sıcaklığın nematodlara etkisi türlere göre hatta aynı türün farklı izolatlarına göre farklılık göstermektedir (Grewal vd., 1994; Hazır vd., 2001). Genel olarak nematodlar düşük sıcaklık derecelerinde (10-15 °C) durgunlaşmaktadır. Daha yüksek derecelerde ise (30-40 °C) aktifliğini yitirmektedir. Nematodlar, 0 °C' nin altında ve 40 °C üzerindeki sıcaklıklarda maruz bırakılan süreye bağlı olarak ölmektedir (Glazer, 2002).

1.5.1.4. Toprak yapısı

Toprağın yapısı nematodların dağılımı ve canlılıklarını korumalarıyla doğrudan ilişkilidir. Nematodlar daha çok kumlu ve kumlu-tınlı topraklarda bulunmaktadır. İnce yapılı topraklarda canlılıklarını korumaları ve yayılma potansiyelleri düşüktür. Ancak en düşük canlılık oranı, küçük por boşluklarına sahip olmaları ve bu boşlukların yüksek nem içermesi sebebiyle killi topraklarda görülmektedir. Bu olay toprak porlarında az oksijen bulunmasıyla ilişkilendirilmektedir (Kaya, 1990; Alekseev vd., 2006). Toprak yapısının nematodlar üzerinde etkili olduğu, kil miktarı arttıkça böcekler üzerindeki parazitik etkinin de azaldığı bilinmektedir (Molyneux ve Bedding, 1984; Kung vd.,1990)

1.5.1.5. Oksijen

Oksijenin, suya tamamen doymuş ve organik materyalin yoğun olduğu topraklarda sınırlayıcı bir faktör olabileceği belirtilmiştir (Kaya, 1990).

1.5.1.6. PH

Toprağın pH değeri nematodların canlılığı üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir. pH değeri 4 ile 8 arasında olduğu durumda nematod etkinliklerinde önemli değişiklik görülmemektedir. Fakat pH'nın 10 olması durumunda nematodların canlılığı hızla düşmektedir (Kung vd., 1990).

1.5.1.7. Tuzluluk

16 dS/m den yüksek NaCl konsantrasyonu *H. bacteriophora* üzerinde canlılık açısından olumsuz bir etki gösterirken *S. glaseri* üzerinde bu etki oluşmamaktadır. $CaCl_2$ ve KCl'nin nematod türleri üzerinde herhangi bir etkisi yoktur ve *Heterorhabditis* türleri üzerinde olumsuz etki göstermemektedir (Griffin vd., 1994).

1.5.2. Biyotik Faktörler

Biyotik faktörler, entomopatojen nematodları ve onların mutualistik bakterilerini antagonistik olarak etkileyebilmektedir. Bu faktörleri genel bir gruplandırma yaparak antibiyozis, rekabetçi, doğal düşmanlar ve yağmacılar olarak tanımlamak mümkündür (Kaya, 2002). Nematofag funguslar, tartigradlar, collembolalar, akarlar, predatör nematodlar gibi predatörler EPN'lerin doğal düşmanlarıdır (Kaya, 2000).

1.6. Entomopatojen Nematodların Kullanım Alanları

Günümüzde Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait *S. carpocapsae*, *S. riobrave*, *S. feltiae*, *S. glaseri*, *S. scapterisci*, *H. bacteriophora*, *H. zealandica* ve *H. megidis* türleri endüstrileşmiş ülkeler tarafından ticari olarak üretilmektedir. Başta Amerika Birleşik Devletleri, Almanya, Hollanda, Finlandiya, İsrail, İtalya, İspanya, Fransa, Avusturalya ve İngiltere gibi ülkelerde üretilen bu nematodlar farklı alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Grewal vd., 2005). Nematodlar sıvı süspansiyon halinde damlama sulama yöntemi ve pülverizatörle seralarda (Richardson, 1990; Lenteren, 2000), mantar üretim alanlarında

(Richardson vd.,1990), çilek alanlarında, çim ekili alanlarda (Koppenhöfer ve Kaya, 1998), elma bahçelerinde (Wang, 1990) ve turuçgil yetiştirme alanlarında (Shah ve Goettel, 1999) kullanılmaktadır.

Ancak EPN'ler sıvı süspansiyon halinde uygulandıklarında IJ'lerin uygulamadan sonra canlı kalma oranları oldukça düşüktür. Nematodlar toprak yüzeyine uygulandıklarında UV ışınları, desikasyon, toprak sıcaklığı ve püskürtme kuvveti nedeniyle %50 kadarı kısa süre içerisinde ölür (Smits, 1996). Ayrıca toprak yüzeyinde bulunabilen nematofag funguslar, akarlar, tardigradlar ve collembolalar gibi doğal predatörler, uygulanan IJ'leri toprak içerisine girmeden önce yakalayıp besin olarak tüketebilmektedir (Gilmore ve Potter, 1993; Kaya, 2002; Karagoz vd., 2007). Özellikle çim alanlar gibi fazla miktarda sık bitki dokusu ve organik döküntü bulunan alanlarda uygulanan nematodların ancak %10-17'lik bir kısmı toprağın altına geçebilmektedir (Wright vd., 2005).

Kapalı habitatlarda (odun dokusu, kabuk altı, sık bitki örtüsü vs.) bulunan zararlı böceklerle karşı EPN'lerin sıvı süspansiyon halinde uygulanmaları zordur ve EPN'lerin IJ evreleri hareketli olmasına rağmen bunların aktif dağılımları oldukça kısıtlıdır (Kaya, 1990).

Ancak enfekte olduktan sonra canlılığını bir süre daha devam ettiren konukçu böceklerin nematodları geniş bir alanda ve etkili şekilde yayabildikleri görülmüştür (Finney ve Walker, 1977; Kaya ve Grieve, 1982; Timper vd., 1988, Lacey vd., 1995). Bu çalışmalardan elde edilen bilgilere dayanarak gerçekleştirilen bu tez çalışması kapsamında, **“EPN ile enfekte edilmiş canlı böceklerin kapalı veya sık bitki örtüsü olan habitatlara salınması sonucunda kadavralardan çıkacak yeni nesil IJ'lerin buradaki zararlıları enfekte edeceği”** hipotezi oluşturulmuştur. Bu hipotezi test etmek için hedef konukçular olarak kestane ağaçlarında gövde zararlısı olan Ağaç Kızıl Kurdu, *Cossus cossus* (Lepidoptera: Cossidae) ve çim zararlısı olan *Spodoptera ciliun* (Lepidoptera: Noctuidae) larvaları kullanılmıştır.

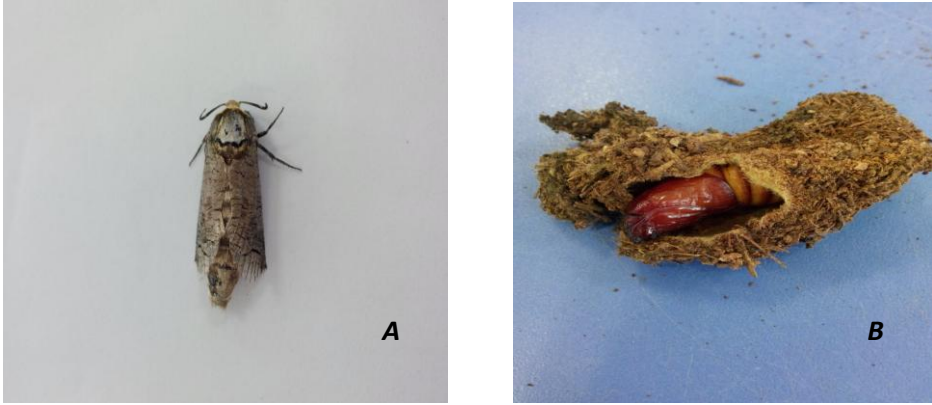
1.7. Ağaç Kızıl Kurdu, *Cossus cossus*

Ülkemizde yetiştirilen önemli tarım ürünlerinden birisi de başta meyvesi olmak üzere yaprakları, odunu, çiçek ve kabuklarından faydalanılan kestane (*Castanea sativa* Mill.)'dir. Kestane, uzun ömürlü bir ağaç türü olarak 200-500 yıl yaşayabilmektedir. Türkiye kestane üretiminde dünyada önemli yeri olan bir

ülkedir. 2010 yılı verilerine göre Türkiye’de meyve veren ve vermeyen ağaç sayısı 2.315.995 adet olup, 59.171 ton üretimi ile Çin, Kore ve İtalya’dan sonra dünyada 4. sırada yer almaktadır (Anonymous, 2010a). Ülkemizde başlıca kestane üretimi yapılan bölgelerin ve illerin kestane üretimindeki paylarına bakıldığında, bölge olarak Ege bölgesinin birinci, iller itibariyle ise Aydın ili’nin 13.138 ton yıllık ortalama üretim ile ilk sırada yer aldığı görülmektedir (Anonymous, 2010b).

Kestane üretiminin bir kısmı iç pazara sunulmakla birlikte son yıllarda ihracat açısından da hızlı bir gelişme göstermektedir. Ancak bu pozitif gelişmeyle birlikte özellikle üreticiler tarafından bitki koruma açısından önemli sorunlar gündeme getirilmektedir. Bu sorunların başında kestane kanseri ile meyve ve odun dokusunda bulunan kestane kurtları gelmektedir.

Aydın ili ve çevresindeki kestane ağaçların odun dokusunda önemli zarar yapan ve ağaçların tamamen kuruyarak ölmesine neden olan zararlılardan birisi *Cossus cossus* larvalarıdır. (Karagöz ve Erincik, 2007). *Cossus cossus*’un 2-3 yıl süren bir hayat döngüsü vardır. Kışı ağaçların kök boğazında, gövde ve kalın dallarda açtıkları galeriler içinde larva olarak geçiren bu zararlılar, ilkbahar ayında etrafını ağaç talaşlarıyla kaplayarak ördüğü bir kokon içerisinde pupa olmaktadır. Haziran ayı sonunda pupadan çıkan erginler beslenmeden çiftleşmekte ve çiftleştikten 2-3 gün sonra yumurtalarını gövdenin toprakla birleştiği yerde, ağaçların yarık ve çatlaklarına, 10-15’li gruplar halinde bırakmaktadırlar. Bir dişi ortalama 700 yumurta bırakmaktadır. Yumurtadan çıkan larvalar ayrı yönlerde dağılarak kabuk kısmına girerler. Zararı oluşturan larvalar, ağaçların toprağa yakın gövde ve dallarında galeriler açmaktadırlar (Şekil 1.1 ve Şekil 1.2). Ayrıca toprağın 10-15 cm derinliğinde ağaç gövdelerinin dip kısmını çepeçevre oyarak ve iletim demetlerini tahrip ederek de önemli derecede zarar yapmaktadırlar. Özellikle ağacın gövde ve toprağa yakın kısmında, yuvarlak ve kenarı siyah galeri deliklerinden larvaların çıkardığı talaşlar dikkat çekmektedir. Mücadelesi yapılmadığı takdirde bu zararlı ağaçların birkaç yıl içerisinde kurumasına neden olur (Anonymous, 2008).



Şekil 1.1. *Cossus cossus*'un ergin (A) ve pupası (B)



Şekil 1.2. *Cossus cossus*'un larva dönemi (A) ve odun dokusundaki zararı (B).

Cossus cossus larvaları odun dokusu içerisinde zarar oluşturması sebebiyle bu zararlıya karşı etkili olan herhangi bir kimyasal ilaç bulunmamaktadır. Zararlının Aydın bölgesinde yaptığı zarar gün geçtikçe artmaya başlayınca üreticiler ağacın kabuk kısmını kaldırarak larvaları toplama yoluna gitmişler ancak bu yöntemin çare olmadığını görmüşlerdir. Etkili bir mücadele yöntemi olmadığı için kuruyan ağaçlar kesilmeye başlanmıştır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. *Cossus cossus*'un kuruttuğu ağaçlar (A) ve zarar sonucunda kesilen kestane ağacı (B)

1.8. *Spodoptera ciliun*

Dünyada çayırlar rekreasyon ve besin amaçlı kullanımının yanı sıra meralar ve yeşil alanlar olarakta kullanılmakta, ayrıca erozyonu önleyerek toprağın iyileştirilmesi ve yenilenmesini sağlamaktadır. Bunun yanında karbon gazlarını tutması, sıcaklığı ayarlaması, gürültü ve ışık kirliliğini azaltmasıyla ayrı bir öneme sahiptir. Günümüzde golf sahaları, stadyumlar ve evlerin bahçeleri gibi pek çok alanda çim sahalar kullanılmaktadır. Ayrıca çayırlar pek çok omurgasız türe yaşam alanı olmaktadır (Grewal vd., 2005; Klein vd., 2007).

Dünya genelinde özellikle Scarabaeidae ve Curculionidae familyaları ile Lepidoptera ve Diptera takımı çim alanlarında önemli zararlara sebep olmaktadır. Golf sahaları ve yürüyüş yollarındaki yeşil alanlar için bu zararlılar sürekli problemdir. Ülkemizde *Spodoptera* cinsine ait (Lepidoptera: Noctuidae) larvalar çok sayıda kültür (pamuk, mısır, ayçiçeği, tütün, sebzeler vb.) bitkilerinde ve yabani bitkilerde zararlı olmakta, daha az oranda ise orman ve meyve ağaçlarında zarar yapabilmektedirler (Anonymous, 2008). Lepidoptera takımı içerisinde yeralan *Spodoptera ciliun* türü çim alanlarında önemli zarar yapmaktadır (Gulcu vd., 2014). Bu türün ergin bireyleri yumurtalarını çim yapraklarının alt ve üst yüzeylerine kümeler halinde bırakmakta, yumurtaların üstünü abdomeninden salgıladığı tüylerle örtmektedir. Yumurtaların açılma süresi sıcaklığa bağlı olarak değişmekle birlikte 25-30 °C sıcaklıkta 5-6 günde açılmaktadır. Yumurtadan çıkan ilk dönem larvalar çok hareketlidir ve oda sıcaklığında larvalar 35-40 gün içerisinde son döneme ulaşmaktadır (Şekil 1.4). Stres durumunda (besin yetersizliği, popülasyonun kalabalık oluşu vs.) larvalar son döneme ulaşmadan

pupaya girmekte ve olgun larvalar toprak içerisinde odacıklar yaparak veya toprak yüzeyinde pupa olmaktadır. Pupaların açılma süresi sıcaklığına göre değişmekle birlikte 25-30 °C de 4-7 günde olmaktadır.



Şekil 1.4. *Spodoptera cilium* larvaları (A) ve insektaryumda üretilmeleri (B).

Gruplar halinde yaşayan larvalar, gündüzleri çimlerin altında saklanmakta geceleri ise faaliyete geçerek ortamdaki yaprakları oburca yemektedir. Zarar derecesi bitkinin durumuna ve zararlı yoğunluğuna bağlı olarak büyük farklılıklar göstermektedir. Bazı durumlarda bu canlılar %100'e yakın zarar yapabilmektedirler (Şekil 1. 4).

Bu larvalarla mücadelede yaygın olarak kimyasal insektisitler kullanılmaktadır. Kullanılan kimyasallar ülkelere göre çeşitlilik göstermektedir. Ancak kullanılan kimyasalların çevre ve insan sağlığı üzerine toksik etki göstermesi nedeniyle doğrudan temasta bulunulan rekreasyon alanlarında kullanımları tehlike arz etmektedir. Bu nedenle başta Avrupa Birliği olmak üzere düzenleyici kuruluşlar tarafından belirli kimyasal insektisitlerin sınırlandırılmasına ve kullanımdan kaldırılmasına başlanmıştır (Cohen vd., 2000). Kimyasallar yerine zararlılarla mücadelede biyolojik yöntemlerin kullanımına yönelik çalışmalar hızlandırılmıştır.



Şekil 1.5. *Spodoptera cilium*'un bir otelin çim alanında yaptığı zarar

Bu tez çalışması kapsamında püskürtme yoluyla IJ'lerin ulaşmasının zor olduğu *S. cilium* ve *C. cossus* larvalarına karşı yeni bir EPN uygulama yöntemi olarak “nematodla enfekte canlı larva salımı” yönteminin etkinliği araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Glaser ve Farrell'in (1935) yaptığı çalışmada *Steinernema glaseri* türüne ait IJ'lerin *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) ergin bireylerinin bağırsak boşluğunda bulunduğunu ve böylece nematodların ergin bireyler aracılığıyla geniş alanlara dağılabileceklerini öne sürmüşlerdir. Fakat daha sonraki yıllarda bu konuyu destekleyici hiçbir çalışma yapılmamıştır.

Finney ve Walker (1977) 'ın yaptıkları çalışmada Karaağaçlarda (*Ceratocystis ulmi*) potansiyeli zararlı bir fungusun yayılmasında Kabuk Böceği *Scolytus scolytus* (Coleoptera: Scolytidae)'un çok büyük bir öneme sahip olduğunu saptamışlardır. Kabuk altına giren *S.scolytus* larva ve erginlerini öldürmek için *Steinernema carpocapsae* (5.000IJ/ m²) uygulanmıştır. Sonuç olarak nematod uygulanan kütüklerde hem larva hem de erginlerde yüksek ölüm oranı tespit edilmiştir. Fakat belirli bir mesafede duran kontrol grubundaki larva ve erginlerin de bazılarının nematodla enfekte olduğu ve ölen bireyler olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu durumu açıklamak için nematod uygulanan kütüklerdeki ergin bireylerin bazılarının IJ'leri foretik olarak taşıyıp kontrol grubundaki kütüklere geçirdiklerini ileri sürmüşlerdir.

Kaya ve Grieve (1982) yaptıkları çalışmada *Spodoptera exigua* prepupa ve pupalarının duyarlılıklarını test etmişlerdir. Bu çalışmada nematodla enfekte olan ergin bireylerin 24 saat içerisinde yumurta bırakmadan öldüğünü saptamışlardır. *Spodoptera exigua* erginlerinin topraktan çıkış esnasında nematodlarca enfekte edildiği ve bu ergin dönemlerin nematod enfeksiyonuna oldukça duyarlı olduğu belirlenmiştir. Enfekte olan ergin bireylerin nematodları yeni bölgelere taşıyabileceği öne sürülmüş fakat bu enfekte bireylerin topraktan çıktıktan sonra doğada ne kadar yol kat edebildikleri tespit edilememiştir.

Timper vd. (1988), entomopatojen nematod *S. feltiae*'nın enfekte ergin böceklerle dağılımı üzerine yaptıkları çalışmada *S. exigua* erginlerinin enfekte oldukları bölgeden 11 m uzaklıktaki bir alana yayıldıklarını belirlemiştir. Enfekte konukçunun yayılımı ve ölümü sonucunda böcek kadavrası içindeki nematodların gelişip çoğalarak kadavrayı terk ettiği ve tekrar toprak içerisine girdiği, ardından toprak içerisindeki yeni *S. exigua*'ların değişik dönemlerini enfekte ettikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak *S. feltiae*'nın enfekte ergin böcekler yoluyla hem lokal alanda hem de dünya çapında dağılımının mümkün olabileceği öne sürülmüştür.

Lacey vd. (1995), yaptıkları çalışmada *Popillia japonica* (Col: Scarabeidae) erginlerinin enfekte olduktan sonra uçarak dağılmasıyla *S. glaseri* nematodlarının dağılımının olup olmayacağını anlamak için ergin böcekler ve IJ'leri karşı karşıya getirmiştir. İşaretledikleri ergin bireyleri tekrar doğaya salmış ve daha sonra tuzaklar yardımıyla ergin bireyler yakalayıp incelemişlerdir. Yakaladıkları erginlerin %33'ünün hemosölünde bir ya da daha fazla nematod olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, gelecekte yapılacak olan çalışmalarla bu ergin bireylerin nematodla enfekte olma oranlarını arttıracak yeni yöntemlerin geliştirilmesi gerektiğini belirtmişler ve farklı nematod türleri kullanılarak ergin böceklerin enfekte olma oranlarının arttırılabileceğini söylemişlerdir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Laboratuvarda Üretilmesi

Bu çalışmada kullanılan entomopatojen nematodlar, büyük mum güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının son evreleri kullanılarak üretilmiştir (Stock vd.,1999). *Galleria* larvaları, içerisinde buğday unu (%22), mısır unu (%22), süt tozu (%11), bal (%11), gliserin (%11), maya (%5.5) ve balmumu (%17.5) bulunan yapay besi ortamında $25 \pm 4^{\circ}\text{C}$ 'de üretilmiştir (Han ve Ehlers, 2000).

3.2. Entomopatojen Nematod *Steinernema carpocapsae*'nin Üretilmesi

Günümüzde *Steinernema carpocapsae* gibi EPN'ler yeşil alanlarda çim zararlısı Lepidoptera türlerine karşı oldukça başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Grewal vd., 2005). Bu nedenle çalışmada *S. carpocapsae* türüne ait EPN'ler kullanılmıştır. İnfektif juvenil evre nematodları elde etmek için 9 cm'lik petri kaplarının içerisine çift katlı kurutma kâğıdı yerleştirilmiş ve üzerine yaklaşık 500 IJ/ml olacak şekilde *S. carpocapsae* verilmiştir. Bu işlemin ardından her petri kabına 5 tane son dönem *G. mellonella* larvası eklenmiştir. Hazırlanan petri kapları plastik poşetler içerisine konularak oda sıcaklığında ($23-24^{\circ}\text{C}$) ve karanlık bir ortamda tutulmuştur. Larvaların enfekte olup olmadıklarını belirlemek için 2 günün sonunda kontroller yapılmış ve enfekte olan larvalar pens yardımıyla White-trap (White,1927) adı verilen sisteme aktarılmıştır (Koppenhöfer, 2000). White Trap, 9 cm'lik petri içerisine 6 cm'lik petrinin kapağı yerleştirilerek ve bu kapağın içine çift katlı kurutma kâğıdı konularak oluşturulmuştur. Büyük petrinin içerisine küçük boy petri kapağı yüzecek şekilde distile su eklenmiştir. Küçük petri kapağının içerisindeki kurutma kâğıdı nemlendirilmiştir. Enfekte olan larvalar bu ortama pensle aktarılmıştır. Kadavra içerisinde üreyerek dışarı çıkan IJ'ler kadavrayı terk ederek büyük petrideki suya geçmiştir. Hergün kadavradan çıkış yapıp suda toplanan nematodlar bir beherin içerisine alınarak 3 kez distile suyla yıkanmıştır. Toplanıp temizlenen nematodlar Tetrapak kutularda sulu süspansiyon halinde ve 10°C sıcaklıktaki iklim dolaplarında depolanmıştır (Gulcu ve Hazir, 2012). Üretilen nematodlar en fazla iki hafta içerisinde denemelerde kullanılmıştır.

3.3. *Cossus cossus* Larvalarının Elde Edilmesi

Cossus cossus larvaları zararın yoğun olarak görüldüğü Aydın ilinin Sultanhisar ilçesine bağlı Malgaçmustafa köyünün Ovacık yaylasındaki kestaneliklerden elde edilmiştir. Zararının yaşam döngüsü 2-3 yıl olduğu için laboratuvarda üretilmesi

mümkün değildir. Ancak larvaları yılın her ayında kestane ağaç kabukları altından elde etmek mümkündür. Larva popülasyonu hangi ağaçta çok olduğu, ağaçların kurumasından ve ağaç gövdelerinde bulunan kanserli yaralardan kolayca tespit edilebilmektedir. Larvalar kestane ağaçlarının odun dokusu içerisinde ve kabuk altında bulunmaktadır (Şekil 3.1). Larvaları bulabilmek için kanserli ve çatlak gövdeli ağaçların kabuğu baltayla kaldırılarak açılmıştır. Larvalar kabuğun hemen altında bulunmadığı durumda baltayla ağacın odun dokusuna doğru kesilmiştir. Toplanan larvalar bir miktar yeni kesilmiş odun ve kabuk parçaları bulunan kültür kaplarına konularak laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvar koşullarında bu larvaların canlı kalabilmesi için bulundukları ortama elma meyvesi eklenmiştir.



Şekil 3.1. *Cossus cossus* larvalarının ağaç odun dokusu içerisinde beslenmesi

3.4. Gövde Zararlısı *Cossus cossus*'un Mücadelesinde Kabuk Altına Nematodla Enfekte Canlı Larva Salınması

Bu çalışma kestane kütükleri kullanılarak laboratuvar koşullarında yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan Kestane kütükleri Aydın ilinin Sultanhisar ilçesine bağlı Malgaçmustafa köyünün Ovacık yaylasından temin edilmiştir. Kullanılan kütükler ağaç kesme motoruyla 60 cm boyunda kesilerek laboratuvara getirilmiş ve 50 litrelik plastik kaplar içerisine dik duracak şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Her bir kütüğün üzerine 3 tane sağlıklı 2. veya 3.dönem *C.cossus* larvası bırakılmıştır (Şekil 3.3). Larvalar kütükler üzerine bırakıldıktan sonra doğal ortamı olan kabuk altına girip adapte olması için 24 saat beklenmiştir.

Mücadelede kullanılacak olan nematodla enfekte canlı larvaları hazırlamak için *G. mellonella* larvaları petri kapları içerisinde 20 saat süreyle *S.carpocapsae* IJ'lerine maruz bırakılmıştır. Nematodla enfekte olan ancak hala canlı halde olan *G.mellonella* larvaları her bir kestane kütüğüne 3 tane olacak şekilde kütüklerin üzerine bırakılmıştır (Şekil 3.4). Karanlık ortamı seven *G.mellonella* larvaları kısa süre içerisinde kütüklerin açıklıklarından içeri girerek kabuk altlarına gizlenmiştir.

Kontrol gruplarına ise sadece *C. cossus* larvaları verilmiştir. Hazırlanan deney düzenekleri oda sıcaklığında ve gece-gündüz periyoduna uygun olacak şekilde tutulmuştur. Onbeş gün sonunda kütüklerin kabukları kaldırılmış ve canlı ölü *C.cossus* larva sayıları kaydedilmiştir. Her denemede hem uygulama hem de kontroller için 10'ar kütük kullanılmış ve denemeler farklı zamanlarda 2 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.2. Kestane kütükleriyle hazırlanan deney düzenekleri

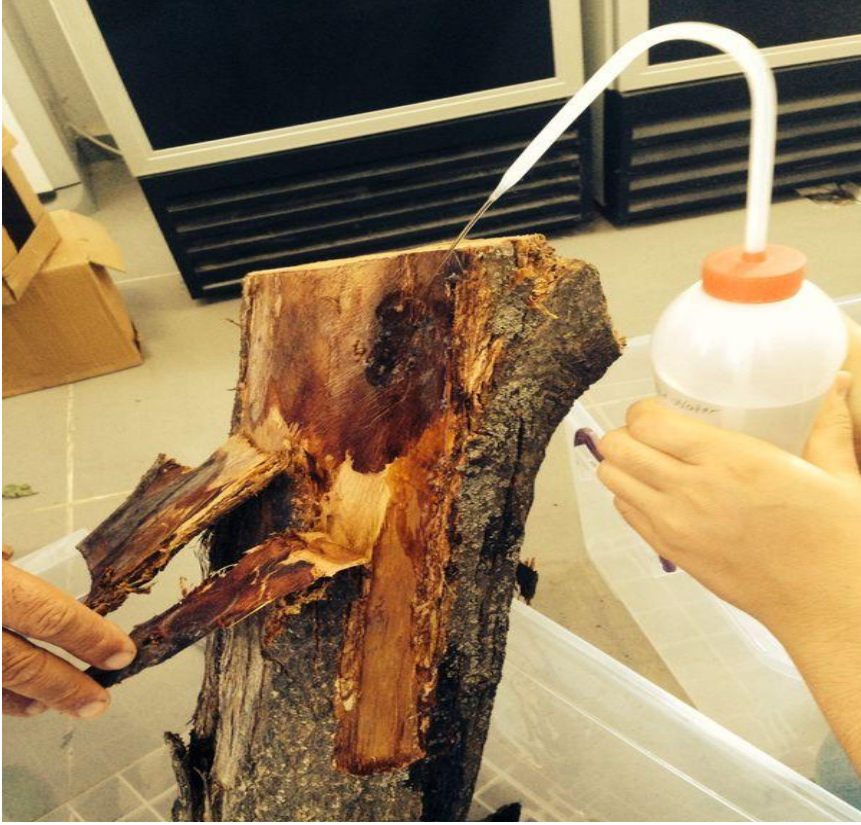


Şekil 3.3.Kestane kütüğü üzerine *Cossus cossus* larvalarının bırakılması



Şekil 3.4. Nematodla enfekte canlı *Galleria mellonella* larvalarının kütükler üzerine salınması

Kütüklerin kabuk altından larvalar alındıktan sonra olası nematod varlığını gözlemlemek için piset yardımıyla odun dokuları yıkanmıştır (Şekil 3.5). Yıkama sonucu elde edilen suyun içerisinde nematod olup olmadığını tespit etmek için mikroskop altında inceleme yapılmıştır. Enfekte olan *C.cossus* kadvralarından nematod çıkışının olup olmayacağını gözlemlemek için tüm kadvralar tek tek White Trap'lere alınmıştır.



Şekil 3.5. Larvalar toplandıktan sonra kütüklerin yıkanması

3.5. *Spodoptera cilium* Larvalarının Elde Edilmesi ve Üretilmesi

Denemelerde kullanılmış olan *Spodoptera cilium* larvaları Aydın ilinin Germencik ilçesindeki çim alanlarından elde edilmiştir. Sık çim bitkilerinin içinde bulunan *S.cilium* larvalarının elde edilmesini kolaylaştırmak için çim yüzeyine bol miktarda su verilmiştir. Boğulmamak için yüzeye çıkan larvalar kolaylıkla toplanmıştır (Şekil 3.6 ve Şekil 3.7). Toplanan larvalar içinde taze çim yaprakları bulunan kültür kavanozlarına konularak laboratuvara getirilmiştir.



Şekil 3.6. *Spodoptera cilium* larvalarının çim alanından toplanması



Şekil 3.7. Su verildikten sonra çimin yüzeyine çıkan *Spodoptera cilium* larvaları

Spodoptera cilium'un laboratuvar koşullarında üretilmesinde 30 litrelik plastik kültür kapları kullanılmıştır. Doğal ortamına uygun olması için plastik kabın zemini *Cynodon dactylon* ekilmiş hazır rulo çim ile kaplanmış ve üzerine larvalar eklenmiştir. Larvaların kaçmasını önlemek için kapların üzeri tüllerle kapatılmıştır. Hazır çimdeki otların oburca tüketilmesi nedeniyle kültür kaplarına hergün taze ot eklenmiştir. Pupa dönemine giren *S. cilium*, içerisinde hazır çim parseli bulunan temiz kültür kaplarına alınmış ve kapların üzeri tüle kapatılmıştır. Pupaların açılmasının ardından çıkan erginlerin beslenmesi için 6 cm'lik plastik petri kaplarına süt tozu ve şeker karışımı içeren besin konulmuştur. Beslenip çiftleşen erginlerin çim yaprakları üzerine bıraktıkları yumurtaların açılması takip edilmiştir. Çok hareketli olan ilk dönem larvaların popülasyonunun yoğun olması durumunda yeni ortamlara alınmıştır.

Koloninin devamlılığının sağlanması için plastik kaplara ek olarak laboratuvarın bir köşesinde (170x140 cm² genişliğinde) çim alan oluşturulup üzerinde larvalar yetiştirilmiştir. Larvaların kaçmaması için her gün taze çimler verilmiş ve sürekli kontrol altında tutulmuştur. Son döneme ulaşan larvalar toplanıp plastik kaplara konularak tekrar ergin olmaları sağlanmıştır.

Spodoptera cilium kolonisi laboratuvar şartlarında (23-24°C) ve gece gündüz periyodu dikkate alınarak kurulmuştur.

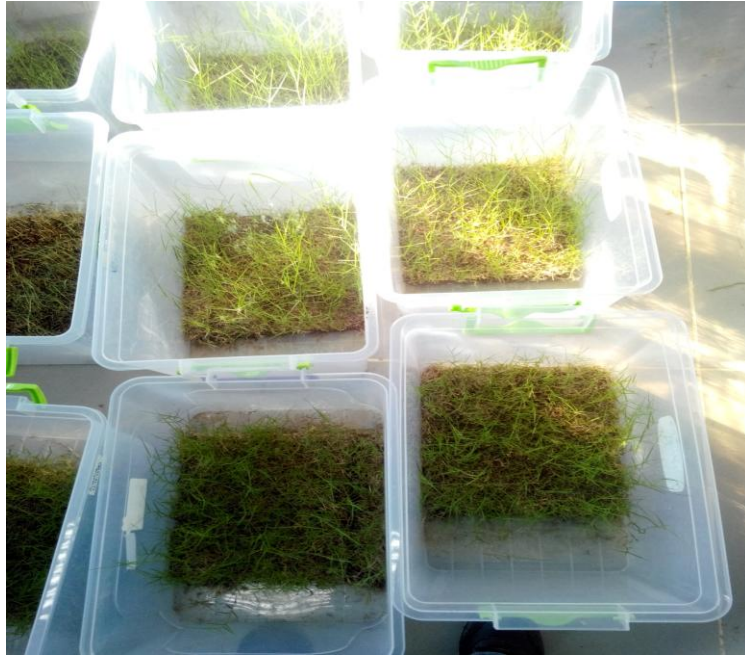
3.6. Satın Alınan Çim Parsellerinde Entomopatojen Nematod Varlığının Kontrol Edilmesi

Özel bir firmadan satın alınan çim parsellerinin toprağında doğal bir entomopatojen nematod varlığının olup olmadığını tespit etmek için çimlerin farklı yerlerinden toprak örnekleri alınmıştır. Alınan toprak örnekleri plastik kaplara konulmuştur ve 5'er tane *G.mellonella* larvası eklenmiştir. Bir hafta boyunca bu larvalar kontrol edilmiş ve herhangi bir larva ölümüne rastlanmamıştır. Bu verilerin ardından nematod uygulamasına yönelik çalışmalara devam edilmiştir.

3.7. *Spodoptera cilium* Larvalarıyla Mücadelede Nematodla Enfekte Canlı Larva Salınması

Laboratuvarda gerçekleştirilen yarı alan denemelerinde 25x25 cm ebatlarında hazır rulo çimler kesilerek 30 lt'lik plastik kapların içerisine yerleştirilmiştir (Şekil 3.8). Her denemede 30'ar tane 2. dönem *S. cilium* larvası kullanılmıştır.

Nematodla enfekte canlı larvaları hazırlamak için 9 cm'lik petri kaplarının tabanına kurutma kâğıdı yerleştirilmiş ve üzerine her petriye 5 tane olacak şekilde 3. dönem *S. cilium* larvası eklenmiştir. Daha sonra otomatik pipet aracılığıyla 1000 µl' de 5600 tane *S. carpocapsae* olacak şekilde nematodlar petri ortamına aktarılmıştır. Yirmibeş saat boyunca nematod enfeksiyonuna maruz bırakılan ancak halen canlı olan 4 *S. cilium* larvası alınarak çim parsellerinin köşelerinden ortamlara bırakılmıştır. Denemelerde kullanılan sağlıklı *S. cilium* larvalarının nematodla enfekte canlı larvalar salınmadan 1 saat önce çim parselleri üzerine bırakılarak ortama adapte olmaları ve çimin alt kısmına yerleşmeleri sağlanmıştır. Deneme süresince larvaların beslenmesi için ortama taze ot takviyesi yapılmıştır. Larvaların kaçmasını engellemek için plastik kapların kapakları ortamın havalanmasına olanak sağlayacak şekilde kapatılmıştır. Kontrol grubunda ise aynı düzenek hazırlanmış ancak ortama 4 adet nematodla karşı karşıya getirilmemiş sağlıklı 4 tane larva bırakılmıştır. Hem deney hem de kontrol grubu için 5'er tane çim parseli kullanılmıştır. Denemeler oda sıcaklığında (23-24°C) ve gece-gündüz periyodu dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.8. *Spodoptera cilium* larvalarıyla yürütülen çalışmanın deney düzeneği

Denemelerin kurulmasından 16 gün sonra çim parseller çıkarılıp incelenerek ölü ve canlı larva sayıları belirlenmiştir. Ölü olan larvalar alınarak White-trap'lere aktarılmış ve kadavralardan nematod çıkışının olup olmadığı belirlenmiştir.

3.8. *Spodoptera ciliium* Larvalarıyla Mücadelede İnfektif Juvenillerin Püskürtme Yöntemi Kullanılarak Verilmesi

Bu çalışmada nematodla enfekte canlı larva salınım deneylerindeki düzeneğin aynısı kullanılmıştır. Püskürtme yönteminde her alana uygulanacak nematod sayısını belirlemek için önce her bir enfekte 3.dönem *S.cilium* larvasından meydana gelen yeni nesil IJ sayısı belirlenmiştir. Daha sonra bu sayı 4 ile çarpılarak her bir parselde uygulanacak IJ sayısı hesaplanmıştır (58600 IJ/kadavra $\times 4 = 234.400$ IJ). Böylece enfekte larva salınımıyla püskürtme yöntemi sonucunda ortamda bulunacak olan IJ sayıları eşitlenmiştir.

Çim parsellerinin içerisine sağlıklı 30'ar tane 2. dönem *S.cilium* larvası eklendikten 1 saat sonra *S. carpocapsae* IJ'leri 60 ml distile su ile birlikte çim alanın yüzeyine eşit dağılacak şekilde bir el spreyi ile uygulanmıştır. Kontrol grubunda ise aynı düzenek kullanılmış ancak ortama sadece 60 ml distile su püskürtülmüştür. Bu çalışmada da deney ve kontrol grupları için 5'er tane çim parseli kullanılmıştır. Kurulan deneme düzenekleri aynı laboratuvar koşullarında ve gece-gündüz periyodu dikkate alınarak yürütülmüştür (Gulcu vd., 2014).

Denemelerin kurulmasından 9 gün sonra çim parseller çıkarılıp incelenerek ölü ve canlı *S. ciliium* sayıları belirlenmiştir. Ölü olan larvalar alınarak White-trap'lere aktarılmış ve kadavralardan nematod çıkışının olup olmadığı belirlenmiştir.

3.9. İstatistik Analizler

Spodoptera ciliium ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen verilere tek yönlü varyans analizi uygulanmış (ANOVA) ve gruplar arasındaki farklılıklar Tukey testine göre $P = 0.05$ belirlenmiştir. Veriler analiz yapılmadan önce arcsin transformasyonu uygulanmış, ancak tablolarda transforma edilmemiş değerler verilmemiştir (SPSS, 2004). *Cossus cossus* ile ilgili verilere ise Abbott ve arcsin transformasyonu yapıldıktan sonra student t-testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Gövde Zararlısı *Cossus cossus*'un Mücadelesinde Kabuk Altına Nematodla Enfekte Canlı Larva Salınması

Laboratuvar koşullarında yapılan denemeler de karanlık ortamı sevmesi nedeniyle “**Canlı Bomba**” olarak kullanılan nematodla enfekte *Galleria mellonella* larvaları kütükler üzerine bırakıldıktan kısa bir süre sonra *C.cossus* larvalarının bulunduğu kabuk altlarına gidip saklanmıştır. Kontroller sonucunda kütükler üzerine bırakılan *Galleria* larvalarının kabuk altlarına girip ilerleyerek farklı derinlikteki bölgelerde öldükleri ve ölen kadavralardan yeni nesil infektif juvenil nematodların çıkış yaptıkları gözlenmiştir (Şekil 4.1). Kestane kütükleri içerisindeki kabuk altı ve odun dokusuna yerleşip beslenen *C. cossus* larvalarının %86'sının enfekte oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3). Kontrol grubu kütüklerde ise ölüm oranı %1.6 olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda nematodla enfekte canlı larva salımı (canlı bomba) ile kontrol grubundaki ölüm oranları arasında önemli fark olduğu tespit edilmiştir ($t= 15,92$; $df= 38$; $P= 0.0001$) (Şekil 4.4).



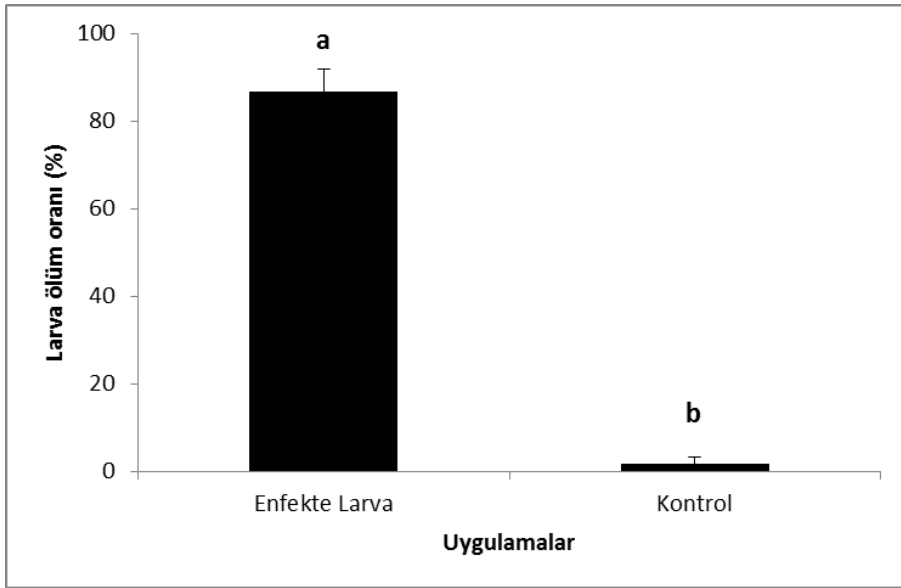
Şekil 4.1. Kabuk altına yerleşmiş olan *Galleria mellonella* larvasından çıkış yapan yeni nesil infektif juvenil nematodlar.



Şekil 4.2. Kestane kabuk dokusu altında bulunan enfekte *Cossus cossus* larvaları



Şekil 4.3. Kestane odun dokusu içinde bulunan ölü *Cossus cossus* larvaları



Şekil 4.4. Nematodla enfekte canlı larva salımı sonucunda ortaya çıkan *Cossus cossus* larva ölüm oranı

Yeni nesil IJ'lerin kabuk altları ve odun dokularında canlılıklarını sürdürüp sürdürmediklerini anlamak için kavrular toplandıktan sonra kütükler distile su ile yıkanmıştır. Yıkama sonucu elde edilen su mikroskop altında incelendiğinde içlerinde çok sayıda canlı IJ olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5).

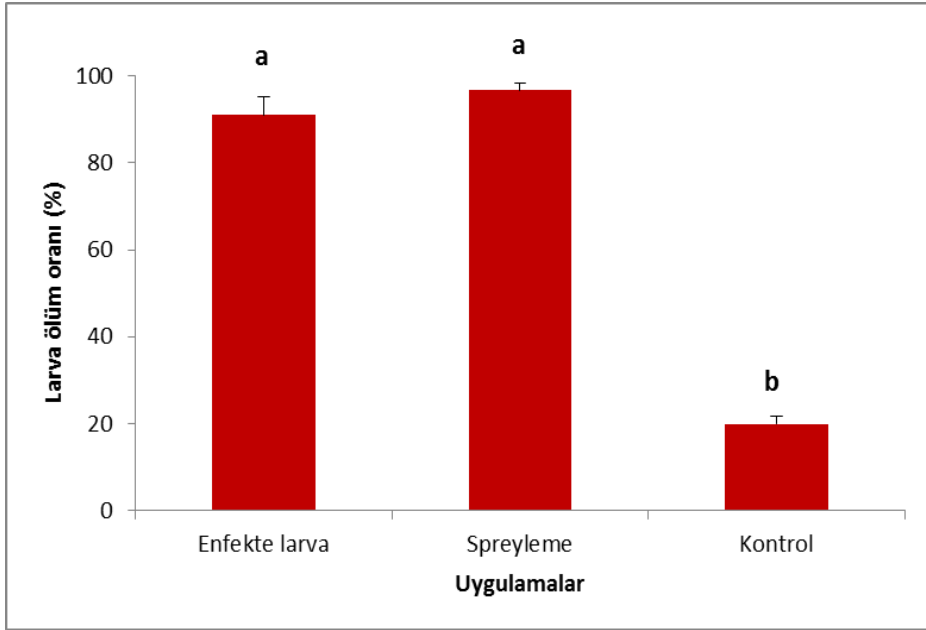
White-traplere alınan tüm *C. cossus* kavrularından nematod çıkışı olduğu gözlenmiş ve böylece ölümlerin tamamının nematod kaynaklı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.5. Kütüklerin yıkanması sonucu elde edilen canlı infektif juvenil evre nematodlar.

4.2. *Spodoptera cilium* Larvalarına Karşı Nematodla Enfekte Canlı Larva Salınması

Spodoptera cilium ile yapılan çalışmanın kontrolleri esnasında ortama bırakılan 30 larvanın tamamına ulaşılammıştır. Yapılan kontroller sonucu nematodla enfekte canlı larva salımı denemesinde % 90,6 larva ölümü görülürken spreyleme yöntemiyle IJ verilmesinde bu oranın % 96,6 olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda görülen ölüm oranı ise %19,9 olarak belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda enfekte canlı larva salımı yöntemi ile spreyleme yöntemi arasında etkinlik açısından önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Ancak her iki uygulama yöntemiyle kontrol grubu arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($F= 45.51$; $df= 2, 12$; $P<0.05$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.6. *Spodoptera cilium* larvalarıyla mücadelede kullanılan farklı uygulama yöntemleri sonucu elde edilen ölüm oranları (%).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler yeni bir uygulama yöntemi olarak test edilen nematodla enfekte canlı larvaların kapalı habitatlara salınmasıyla zararlı kontrolünde entomopatojen nematodların kullanılabileceğini göstermiştir. Nematodla enfekte olan hareket kabiliyeti yüksek böceklerin ölmeden önce farklı bölgelere gidebildiği ve öldüklerinde içlerinde üreyen EPN'lerin bu yeni ortamda yayıldıkları rapor edilmiştir (Finney ve Walker 1977; Kaya ve Grieve, 1982; Timper vd., 1988; Lacey vd., 1995).

İlk defa Glaser ve Farrell (1935) yaptıkları çalışmada *Steinernema glaseri* türüne ait infektif juvenillerin *Popillia japonica* ergin bireylerinin bağırsak boşluğunda bulunduğunu ve böylece nematodları ergin bireyler aracılığıyla geniş alanlara yayılabildiklerini öne sürmüşlerdir. Bu çalışmadan uzunca bir süre geçtikten sonra Finney ve Walker (1977) yaptıkları çalışmada Karaağaçlarda zararlı olan bir fungusun yayılmasında kabuk böceği *Scolytus scolytus*'un büyük öneme sahip olduğunu saptamışlardır. Bu nedenle kabuk altına giren *S.scolytus* larva ve erginlerini öldürmek için kullandıkları ağaç kütüklerine *S. carpocapsae* uygulamışlardır. Yaptıkları kontrollerde nematod uygulanan kütüklerde zararlı böceğin hem larva hem de erginlerinde yüksek ölüm oranı tespit etmişlerdir. Ancak asıl ilginç olanı uzakta duran kontrol grubunda ki larva ve erginlerin de bazılarının nematodla enfekte olup öldüklerini tespit etmeleri olmuştur. Araştırmacılar nematod uygulanan kütüklerdeki ergin bireylerin bazılarının vücutlarına eksternal olarak aldıkları IJ'leri foretik olarak taşıyıp kontrol grubundaki kütüklere geçirmiş olabilecekleri fikrini ileri sürmüşlerdir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda EPN'lerin foretik olarak taşındığını gösteren bir çalışma mevcut değildir. Kaya ve Grieve (1982) ise yaptıkları çalışmada *Spodoptera exigua* erginlerinin topraktan çıkış esnasında nematodlarca enfekte edildiğini ve bu ergin bireylerin ölmeden önce nematodları yeni bölgelere taşıyabileceklerini öne sürmüşlerdir. Fakat bu enfekte bireylerin topraktan çıktıktan sonra doğada ne kadar yol kat edebildikleri tespit edilememiştir.

Nematodla enfekte olup henüz canlı olan böceklerle yapılan çalışmaların tamamı o böceğin erginlerinin nematodları ne kadar uzağa taşıyabiliyor olduğunu kavramaya yönelik olmuştur. Yani amaç nematodların coğrafik alandaki dağılımlarını ve bunda rol oynayabilecek etmenleri tespit etmektir. Bu amaçla yürütülen bir laboratuvar çalışmasında ise *S. exigua* erginlerinin entomopatojen

nematod *S. feltiae* ile enfekte olduktan sonra enfekte oldukları bölgeden 11 m uzaklıktaki bir alana yayılabilirdikleri belirlenmiştir. Enfekte olan bu konukçuların yayılımı ve ölümü sonucunda çoğalıp kadavrayı terk eden IJ'lerin toprak içerisine girerek oradaki *S. exigua* larva ve pupalarını enfekte ettikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak EPN'lerin enfekte ergin böcekler yoluyla hem lokal alanda hem de dünya çapında dağılımlarının mümkün olabileceği öne sürülmüştür (Timper vd. 1988). Daha geniş kapsamlı olarak alan uygulaması şeklinde yürütülen bir başka çalışmada Lacey vd. (1995), *Popillia japonica* erginlerini *S. glaseri* IJ'leri ile karşı karşıya getirdikten sonra işaretledikleri ergin bireyleri serbest bırakmışlardır. Bir süre sonra bu alandan rastgele ergin bireyler yakalayarak bunların ne kadarının işaretli bireylerden oluştuğunu belirlemişlerdir. Elde ettikleri veriler işaretli bireylerinin oranının %1 olduğunu bunlarında sadece %33'ünün hemosolünde 1 veya daha fazla nematod bulunduğunu göstermiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar büyük ölçekli nematod dağılımını sağlamak için bu yöntemin çok kullanışlı olmadığını göstermiştir. Araştırmacılar, gelecekte yapılacak olan çalışmalarla bu ergin bireylerin nematodla enfekte olma oranlarını arttıracak yeni yöntemlerin geliştirilmesi gerektiğini belirtmişler ve farklı nematod türleri kullanılarak ergin böceklerin enfekte olma oranlarının arttırılabileceğini söylemişlerdir.

Bu tez çalışması kapsamında ilk defa denenen nematodla enfekte canlı larvaların kullanılması EPN'lerin daha geniş alanlara yayılmasından ziyade kabuk altı ve sık bitki dokulu habitatlardaki zararlılarla mücadele etmeyi amaçlamaktadır. Yani aslında EPN'lerin alan uygulamalarında kullanılan metodlara eklenebilecek yeni bir yöntemdir. Günümüzde en yaygın EPN uygulama şekli bol su ile gerçekleştirilen püskürtme yöntemidir. Bu yöntem pratik olması ve özel bir uygulama ekipmanına ihtiyaç duyulmaması açısından oldukça kullanışlı ve etkilidir (Grewal, 2002). Ancak bu yöntemin de dezavantajları vardır. Öncelikle püskürtme kuvvetinin çok iyi ayarlanması gerekmektedir. Aksi takdirde uygulanan IJ'lerin büyük çoğunluğu şiddetli çarpma nedeniyle canlılıklarını yitirirler (Smits, 1996). Ayrıca geleneksel uygulama ekipmanlarındaki filtrelerin gözenekleri nematodların geçişine izin verecek por genişliğine sahip olmalıdır. Püskürtme yönteminin en büyük dezavantajı ise kapalı habitatlara ve yoğun bitki örtüsü olan alanlara uygulanamıyor olmasıdır. Bunun en önemli nedeni desikasyondur (Wright vd., 2005), bunu UV ışınları ve yüksek sıcaklık takip etmektedir (Grewal, 2002). Sıvı süspansiyon içerisinde püskürtülerek yapılacak olan uygulamaların sabah erken veya akşam geç saatlerde yapılması, uygulama öncesi ve sonrasında ise

alanın sulanması gerekmektedir (Lello vd., 1996). Oysa bizim bu çalışma kapsamında test ettiğimiz enfekte canlı larva salımı ile günün her saatinde uygulama yapmak mümkündür. Ayrıca püskürtme işlemi sonucunda ortaya çıkan UV, yüzeydeki yüksek sıcaklık, desikasyon, püskürtme kuvveti (Wright vd., 2005), yağmacılar ve doğal düşmanlar (Kaya, 2002; Karagöz vd. 2007), uygulama öncesi ve sonrasındaki sulama yapma zorunluluğu (Koppenhöfer 2000) gibi olumsuzlukların hiçbirisi mevcut değildir. Ağaç kabuk altı veya benzer kapalı habitatlarda bulunan zararlıların bulunduğu ortamlardaki nem düzeyi genelde nematodlar için de uygun olan yerlerdir. Bu nedenle enfekte kadavradan çıkış yapan IJ'lerin tamamı kayıp vermeksizin bu ortamda yaşayabilmekte, konukçularını aktif olarak arayıp bulabilmekte ve bu dar alanda kolayca enfekte edebilmektedirler. Eğer hedef zararlı böceğin kitle halinde üretilebilmesi mümkünse ya da çok miktarda larvanın toplanması mümkünse o takdirde enfekte larvalar oluşturulurken aynı türün larvaları kullanılmalıdır.

Kestane gövde kurdu *C. cossus* larvalarına karşı hazırlanan enfekte canlı larvalarda *Galleria* larvaları kullanılmıştır. Çünkü 2-3 yıl süren bir hayat döngüleri olmasından dolayı *C. cossus* larvalarının laboratuvarda kolonilerini oluşturmak mümkün değildir. Ancak kolay üretilebiliyor olmaları, nematod enfeksiyonlarına oldukça hassas olmaları ve kapalı habitatlara girip saklanma davranışı göstermeleri nedeniyle *G. mellonella* larvaları çok başarılı olmuşlardır. Uygulama yapılan kütüklerdeki *C. cossus* ölüm oranı %86 gibi oldukça yüksek bir orandır. Daha önce laboratuvar koşullarında petri ve plastik kavanozlarda gerçekleştirilen denemelerde *C. cossus* larvalarının EPN enfeksiyonlarına karşı oldukça dirençli oldukları saptanmıştır. Bu denemelerde elde edilen ölüm oranları %10'un üzerine çıkamamıştır. Bu tez çalışmasında kullanılan kestane kütükleri *C. cossus* larvalarının doğal habitatı olduğundan larvaların nematod girişini engelleyecek savunma sistemlerini devreye sokmadan enfekte oldukları düşünülmektedir.

Diğer konukçu olan *S. cilium*'un laboratuvar koşullarında kolonisi kurulabildiğinden ve alandan kolaylıkla elde edilebilmesinden dolayı enfekte canlı larva oluşturulurken aynı türün larvaları kullanılmıştır. Uygulama sonrası elde edilen *S. cilium* larva ölüm oranı hem canlı larva salımında hem de püskürtme yönteminde %90'ın üzerinde bulunmuştur ve aralarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Ancak bu çalışma laboratuvar koşullarında yürütüldüğünden, alan uygulamalarında püskürtme yönteminin karşılaşılabilecek öldürücü UV ışınları,

kuruma, yüksek sıcaklık, doğal düşmanlar ve patojenler gibi dezavantajlardan uzak durulmuştur.

Gelecekte “nematodla enfekte canlı böcek salım” yönteminin alan çalışmalarıyla test edilmesi ve başka zararlılara karşı da kullanımının değerlendirilmesi uygun olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Adams, B. J., Fodor, A., Koppenhöfer, H. S., Stackebrandt, E., Stock, S. P., Klein, M. G. 2006. Reprint of “Biodiversity and systematics of nematode bacterium entomopathogens” **Biological Control**, 38: 4-21.
- Alekseev, E., Glazer, I., Samish, M. 2006. Effect of soil texture and moisture on the activity of entomopathogenic nematodes against female *Boophilus annulatus* ticks. **Biocontrol**, 51: 507–518.
- Anonymous , 2008. Aydın İl Tarım Müdürlüğü verileri.
- Anonymous, 2010a. FAO 2010 verileri, www.fao.org.
- Anonymous, 2010b. www.Tuik.gov.tr.
- Bode, H. B. 2009. Entomopathogenic bacteria as a source of secondary metabolites. **Current Opinion in Chemical Biology**, 13: 224-230.
- Boemare, N. E., Akhurst R. J. 1988. Biochemical and physiological characterization of colony form variants in *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae). **Journal of General Microbiology**, 134: 751–6.
- Boemare, N. E., Laumond, C., Mauleon, H. 1996. The entomopathogenic nematode-bacterium complex: Biology, life cycle and vertebrate safety. **Biocontrol Science and Technology**, 6: 333-346.
- Boemare, N. E. 2002. Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: Entomopathogenic Nematology, (Gaugler, R., Ed.), CABI Publishing, pp. 35-56, Wallingford, UK.
- Brown, I. M., Gaugler, R. 1997. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. **Nematologica**, 43: 363-375.
- Campbell, J. F., Gaugler, R. 1997. Inter-specific variation in entomopathogenic nematode foraging strategy: Dichotomy or variation along a continuum. **Fundamental Applied Nematology**, 20: 393-398.

- Campbell, J. F., Lewis, E. E., Stock, S. P., Nadler, S., Kaya, H. K. 2003. Evolution of host search strategies in entomopathogenic nematodes. **Journal of Nematology**, 35: 142-145.
- Ciche, T. A., Kim, K. S., Kaufmann-Daszczuk, B., Nguyen, K. C., Hall, D. H. 2008. Cell Invasion and Matricide during *Photorhabdus luminescens* Transmission by *Heterorhabditis bacteriophora* Nematodes. **Applied and Environmental Microbiology**, 74: 2275-2287.
- Cohen, M. B., Gould, F., Bentur, J.S. 2000. Bt Rice: Practical Steps to Sustainable Use. IRRI, August, <http://www.cgiar.org/irri>.
- Finney, J. R., Walker, C. 1977. The DD-136 strain of *Neoplectana* sp. as a potential biological control agent for the European elm bark beetle, *Scolytus scolytus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, 29: 7-9.
- Gaugler, R., Bousch, M.G. 1978. Effects of ultraviolet radiation and sunlight on the Entomogenous Nematode, *Neoplectana carpocapsae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, 32: 291-296.
- Gaugler, R., Kaya, H. K. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.
- Gaugler, R., Lewis, E., Stuart, R. J. 1997. Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. **Oecologia**, 109: 483-489.
- Gilmore, S. K., Potter, D. 1993. A Potential role of collembola as biotic mortality agents for entomopathogenic nematodes, **Pedobiologia**, 37: 30-38.
- Glaser, R.W., Farrel, C.C. 1935. Field experiments with the Japanese beetle and its nematode parasite. **Journal of the New York Entomological Society**, 43: 345-371.
- Glazer, I. 2002. Survival biology. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R., Ed.). CABI Publishing, pp. 169-187, Wallingford, UK.
- Grewal, P.S., Selvan, S., Gaugler, R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. **Journal of Thermal Biology**, 19: 245-253.

- Grewal, P. S. 2002. Formulation and application technology. In: Entomopathogenic Nematology, (Gaugler, R., Ed.) CABI Publishing, pp. 265-287. Wallingford, UK.
- Grewal, P. S., Koppenhöfer, A. M., Choo, H. Y. 2005. Lawn, turfgrass and pasture applications. In: Nematodes as Biocontrol Agents (Grewal, P. S., Ehlers, R-U., Shapiro-Ian, D. I., Eds.). CABI International. pp. 115-146. Wallingford, UK.
- Griffin, C.T., Finnegan, M. M., Downes, M.J. 1994. Environmental tolerances and the dispersal of *Heterorhabditis*: Survival and infectivity of European *Heterorhabditis* following prolonged immersion in seawater. **Fundamental and Applied Nematology**, 17: 415-421.
- Griffin, C. T., Boemare, N. E., Lewis, E. E. 2005. Biology and behaviour. In: Nematodes as Biocontrol Agents (Grewal, P. S., Ehlers, R-U., Shapiro-Ian, D.I., Eds.) CABI International, pp. 47-64, Wallingford, UK.
- Gulcu, B., Hazir, S. 2012. An alternative storage method for entomopathogenic nematodes. **Turkish Journal of Zoology**, 36: 562-565.
- Gulcu, B., Hazir, S., Ulug, D., Karagoz, M. 2014. Biological control potential of native entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) against *Spodoptera ciliun* (Lepidoptera: Noctuidae) in turfgrass. **Biocontrol Science and Technology**, 8: 965–970.
- Han, R. C., Ehlers, R.U. 2000. Pathogenicity, development, and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic in vivo conditions. **Journal of Invertebrate Pathology**, 75: 55-58.
- Hazır, S., Stock, S. P., Kaya, H. K., Koppenhofer, A. M., Keskin, N. 2001. Developmental temperature effects on five geografic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, 77: 243-250.
- Hazır, S., Kaya, H. K., Stock, S. P., Keskin, N. 2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. **Turkish Journal of Biology**, 27: 181-202.

- Karagoz, M., Gulcu, B., Çakmak İ., Kaya, H.K., Hazır, S. 2007. Predation of entomopathogenic nematodes by *Sancassania* sp., (Acari:Acaridae), **Experimental and Applied Acarology**, 43: 85-95.
- Karagöz, M., Erincik, Ö. 2007. Distribution, damage and economic importance of the chestnut pests, *Synanthedon vespiformis* (L.) (Lepidoptera: Sessiidae), *Cossus cossus* (L.) (Lepidoptera: Coccidae), and *Capnodis* spp. (Coleoptera: Buprestidae), in the Aydın Province. **International Workshop on Chestnut Management in Mediterranean Countries: Problems and Prospects**, Bursa-TURKEY,
- Kaya, H. K., Grieve. B. J. 1982. The nematode *Neoplactana carpocapsae* and the beet armyworm *Spodoptera exigua*: Infectivity of prepupae and pupae in soil and of adults during emergence from soil. **Journal of Invertebrate Pathology**, 39: 192-197.
- Kaya, H. K. 1990. Soil ecology. In: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, (Gaugler, R., and Kaya, H. K. Eds.), CRC Press, pp. 93-115. Boca Raton.
- Kaya, H. K., Gaugler, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. **Annual Review of Entomology**, 38: 181–206.
- Kaya, H. K. 2000. Field manual of techniques in invertebrata pathology. In: Natural Enemies of Nematodes, (Lacey, L.A. and Kaya, H. K., Eds.), Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Kaya, H.K. 2002. Natural enemies and other antagonists. In: Entomopathogenic Nematology, (Gaugler, R., Ed.), CABI Publishing., pp. 189-205. Wallingford, UK,
- Klein, M. G., Grewal, P. S., Jackson, T. A., Koppenhöfer, A. M. 2007. Lawn,turf and grassland pests. In: Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology (Lacey, L. A., Kaya, H. K., Eds). Springer, pp 655-675, Germany.

- Koppenhöfer, A. M., Kaya, H. K. 1998. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: A novel approach to White Grub (Coleoptera:Scarabaeidae) control in turfgrass. **Journal of Economic Entomology**, 91(3): 618-623.
- Koppenhöfer, A.M. 2000. Nematodes. In: Field Manual of Techniques in Invertebrate pathology (Lacey, L. A., Kaya, H. K. Eds.), Kluwer pp. 283-301 Dordrecht, The Netherlands.
- Koppenhöfer, A. M., Fuzy, E. M. 2003. Ecological characterization of *Steinernema scarabaei*: a natural pathogen of scarab larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, 83: 139-148.
- Kung, S.P., Gaugler, R., Kaya, H.K. 1990. Soil type and entomopathogenic nematode persistence. **Journal of Invertebrate Pathology**, 55: 440-445.
- Kung, S-P., Gaugler, R., Kaya, H. K. 1991. Effects of soil temperature, moisture and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. **Journal of Invertebrate Pathology**, 57: 242-249.
- Lacey, L. A., Kaya, H.K., Bettencourt, R. 1995. Dispersal of *Steinernema glaseri* (Nematoda:Steinernematidae) in adult Japanese beetles, *Popillia japonica* (Coleoptera :Scarabaeidae). **Biocontrol Science and Technology**, 5: 121-130.
- Lello, E. R., Patel, M. N., Matthews, G.A. Wright, D. J. 1996. Application technology for entomopathogenic nematodes against foliar pests. **Crop Protection**, 15: 567-574.
- Lenteren, J. C., 2000. A greenhouse without pesticides: fact or fantasy. **Crop protection**, 19: 375-384.
- Lewis, E. E. 2002. Behavioural ecology. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R. Ed.),. CABI Publishing, pp. 205-223, Wallingford, UK.
- Lewis, E. E., Campbell, J., Griffin, C., Kaya, H. K., Peters, A. 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, 38: 66–79.

- Molyneux, A.S., Bedding, R.A. 1984. Influence of soil texture and moisture on the infectivity of *Heterorhabditis* sp. D1 and *Steinernema glaseri* for larvae of the sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. **Nematologica**, 30: 358-365.
- Parkman, J. P., Smart, G. C. Jr. 1996. Entomopathogenic nematodes, a case study: introduction of *S. scapterisci* in Florida. **Biocontrol Science and Technology**, 6: 423-429.
- Poinar, G. O., Jr. 1979. Nematodes for Biological Control of Insects. CRC Press Inc, Boca Raton, FL. 277p.
- Richardson, P. N. 1990. Uses for parasitic nematodes in insect control strategies in protected crops. **Aspects of Applied Biology**, 24: 205-210.
- Richardson, P. N., Gewal, P. S., Collins, G. 1990. Potential of Heterorhabditid nematodes for the biological control of mushroom sciarid flies. **Nematologica**, 36(4):386-389.
- Shah, P. A., Goettel, M. S. 1999. Directory of Microbial Control Products and Services. Microbial Control. Div., Society Invertebrate Pathology, Gainesville, FL.
- Smits, P. H. 1996. Post- application persistence of entomopathogenic nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, 6: 379-387.
- SPSS, 2004. SPSS v.13.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA.
- Stock, S.P., Pryor, B. M., Kaya, H. K. 1999. Distribution of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in natural habitats in California. **Biodivers. Conserv.** 8: 535-549.
- Stock, S. P., Griffin, C. T., Chaerani, R. 2004. Morphological and molecular characterisation of *Steinernema hermaphroditum* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Indonesia, and its phylogenetic relationships with other members of the genus. **Nematology**, 6: 401-412.

- Timper, P., Kaya, H. K. Gaugler, R. 1988. Dispersal of the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida:Steinernematidae) by infected adult insects. **Environmental Entomology**, 17(3):546-550.
- Wang, J. 1990. Use of nematode *Steinernema carpocapse* to control the major apple pest *Carposina nipponensis* in China. **Pro. Vth. Int. Collog. Invertebrate Pathology and Microbiology Adalaide**, Australia. p.392.
- Waterhouse, D. F., Norris, K. R., 1987. Biological Control Pacific prospects, Australian Centre for International Agricultural Research, p. 454.
- White, G. F., 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. **Science**, 66: 302-303.
- Wright, D.J., Peters, A., Schroer, S., Fife, J.P. 2005. Application technology. In: Nematodes as Biocontrol Agents, (Grewal P. S., Ehlers, R-U. and Shapiro-Ian, D. I., Eds.) CABI International, pp. 91-107, Wallingford, UK.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Arife GÜMÜŞ
Doğum Yeri ve Tarihi : Köceğiz/MUĞLA, 01.07.1990

EĞİTİM DURUMU

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

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : -

İLETİŞİM

E-posta Adresi : arife.gumus1@gmail.com
Tarih :