

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
2012-YL-013

**ENTOMOPATOJEN NEMATOD (Steinernematidae ve
Heterorhabtidae) TÜR KOMBİNASYONLARININ *Curculio elephas*
(Col: Curculionidae) ve *Polyphylla fullo* (Col: Scarabaeidae)
LARVALARINA ETKİSİ**

Sevdiye DEMİR

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mehmet KARAGÖZ

AYDIN

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Sevdieye Demir tarafından hazırlanan “Entomopatojen Nematod (Steinernematidae ve Heterorhabtidae) Tür Kombinasyonlarının *Curculio elephas* (Col: Curculionidae) ve *Polyphylla fullo* (Col: Scarabaeidae) Larvalarına Etkisi” başlıklı tez, 05.06.2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	: Doç. Dr. Mehmet KARAGÖZ	ADÜ
Üye	: Prof. Dr. Şelçuk HAZIR	ADÜ
Üye	: Doç. Dr. Galip KAŞKAVALCI	ADÜ

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu (*tezin türü*) tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla (*tarih*) tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN

Enstitü Müdürü

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

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.

...../...../20....

İmza

Sevdiye DEMİR

ÖZET**Entomopatojen Nematod (Steinernematidae ve Heterorhabditidae) Tür Kombinasyonlarının *Curculio elephas* (Col: Curculionidae) ve *Polyphylla fullo* (Col: Scarabaeidae) Larvalarına Etkisi**

Sevdiye DEMİR

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Karagöz

2012, 59 sayfa

Bu tez çalışması kapsamında daha önce nematod enfeksiyonuna direnç gösterdikleri bilinen Kestane meyve kurdu *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae) ile çilek, asma ve çeşitli meyve ağaçlarının köklerinde zarar yapan haziran böceği *Polyphylla fullo* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvalarına karşı farklı entomopatojen nematod türleri farklı konsantrasyonlarda 50 ve 100 IJ etkinlik denemeleri yapılmıştır. *C. elephas* larvaları ile yapılan denemelerde en düşük mortaliteyi *Steinernema glaseri* türü (%21) en yüksek mortaliteyi *Heterorhabditis bacteriophora* (%56) tür göstermiştir. Farklı nematod türleri ikili ve üçlü kombinasyonlar halinde kullanıldığında genel olarak sinerjistik bir etki meydana gelmiştir. Her ne kadar nematod kombinasyonları daha fazla ölüm oranı meydana getirmiş olsa da yapılan istatistiksel analizler aradaki farkın önemli olmadığını göstermiştir. Ayrıca kullanılan iki farklı nematod konsantrasyonundan elde edilen veriler arasında da istatistiksel bir farkın olmadığı belirlenmiştir. *P. fullo* larvalarına karşı denemelerde entomopatojen nematodların etkinliklerinin çok düşük olduğu anlaşılmıştır. Bunların içerisinde 50 IJ için en düşük infektiviteyi *S. glaseri* (%2,9), en yüksek infektiviteyi ise *S. glaseri* + *H. bacteriophora* (%6,3) kombinasyonu göstermiştir. Yapılan saksı denemelerinde *S. glaseri* 'ın plastik kap denemelerinde olduğu gibi *P. fullo* larvalarına karşı en etkisiz tür olduğu (%4,7), *S. glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonunun ise %19 ile en etkili uygulama olduğu belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Entomopatojen nematod, *Polyphylla fullo*, *Curculio elephas*, Biyolojik mücadele

ABSTRACT**Efficiency of the Combination of Entomopathogenic Nematodes
(Steinernematidae and Heterorhabditidae) against *Curculio elephas* (Col:
Curculionidae) and *Polyphylla fullo* (Col: Scarabaeidae) Larvae**

Sevdiye DEMİR

M.Sc. Thesis, Department of Plant Protection

Advisor: Assoc. Prof. Mehmet Karagöz

2012, 59 pages

In this study efficiency of entomopathogenic nematodes and their combinations against the larvae of Chestnut fruit pest *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae) and June beetle *Polyphylla fullo* (Coleoptera: Scarabaeidae) which is a polifag pests on the root of strawberries, vineyards and various fruit trees were tested. Two different nematode concentrations (50 and 100 infective juveniles) were used in the experiments. *Steinernema glaseri* species showed the lowest (21%), whereas *Heterorhabditis bacteriophora* showed the highest (56%) mortality against *C. elephas* larvae. In general, combination of different nematode species provided synergic effect. Although this synergistic effect, statistical analyses showed that there was no significant difference in most cases. In addition, there was no statistical difference on larval mortality obtained from two different nematode concentrations. It was observed that tested species of entomopathogenic nematodes were considerably ineffective against *P. fullo* larvae. The lowest larval mortality in 50 IJ concentration obtained from *S. glaseri* (2.9%) and the highest from the combination of *S. glaseri* + *H. bacteriophora* (6.3%)

In the pot experiments, similar to plastic cups results, *S. glaseri* showed the lowest (4.7%) and the combination of *S. glaseri* + *H. bacteriophora* (6.3%) showed the highest (19%) larval mortality.

Key words: Entomopathogenic nematodes, *Polyphylla fullo*, *Curculio elephas*, Biological control

ÖNSÖZ

Eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan bana yol gösteren danışman hocam Doç. Dr. Mehmet KARAGÖZ'e,

Yüksek Lisans eğitimim sırasında tanıştığım, eğitimim boyunca bilime ve hayata dair tecrübeleriyle bana daima yol gösteren, hiçbir zaman yardımını esirgemeyen ADÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden hocam Prof. Dr. Selçuk HAZIR'a,

Çalışmamın istatistiksel analizlerinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. İbrahim ÇAKMAK'a,

Çalışmalarında engin bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan her türlü yardım ve desteği sağlayan Prof. Dr. Harry K. KAYA(California Üniversitesi, Nematoloji Bölümü)' ya

Çalışmalarında yardımını hiçbir zaman esirgemeyen değerli arkadaşım Arş. Gör. Derya AŞICI (Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü)' ya ve laboratuvar ve arazi çalışmalarına katılarak bana yardım eden öğrenci arkadaşlarıma,

Tez çalışmamı ZRF-12039 Nolu proje ile destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimine,

Hayatımın her döneminde yanımda ve bugünlere gelmemde büyük emeği olan, eğitimim esnasında hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen çok değerli ANNEM ve BABAM'a ,

Kendisini tanımaktan gurur duyduğum, hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Hüsnü YORGANCI'ya,

TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFAS.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Nematodların Genel Özellikleri	4
1.2.Entomopatojen Nematodlar (Fam: Steinernematidae ve Heterorhabditidae	5
1.3. Entomopatojen Nematod-Bakteri İlişkisi.....	5
1.4. Entomopatojen Nematodların Hayat Döngüleri.....	7
1.5. Entomopatojen Nematodların Hayatta Kalmaları	9
1.6. Entomopatojen Nematodların Konukçu Dağılımı.....	9
1.7. Entomopatojen Nematodları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler.....	10
1.7.1 Biyotik Faktörler	10
1.7.1.1. UV Işınları	10
1.7.1.2. Nem	10
1.7.1.3. Sıcaklık	11
1.7.1.4. Toprak Yapısı	11
1.7.1.5. Oksijen.....	11
1.7.1.6. PH.....	11
1.7.2. Abiyotik Faktörler	11
1.8. Kitlesele Üretim ve Alan Uygulamaları	12

2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. <i>Galleria mellonella</i> Larvalarının Laboratuvarda Üretimi	18
3.2. Entomopatojen Nematodların Üretilmesi	18
3.3 <i>Curculio elephas</i> Larvalarının Elde Edilmesi	19
3.4. <i>Polyphylla fullo</i> Larvalarının Elde Edilmesi	19
3.5. Denemelerin Yapılması	20
3.5.1. <i>Curculio elephas</i> Larvalarına Karşı Entomopatojen Nematodların Etkinliğinin Denenmesi	20
3.5.2. <i>Polyphylla fullo</i> Larvalarına Karşı Entomopatojen Nematodların Etkinliğinin Denenmesi.....	23
3.5.2.1. Plastik Kavanoz Denemeleri.....	23
3.5.2.2. Saksı Denemeleri	24
3.6. İstatistik Analizler	25
4. BULGULAR	26
4.1 <i>Curculio elephas</i> Larvalarına Yönelik Yapılan Denemeler.....	26
4.1.1. <i>Steinernema glaseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> , <i>S.glaseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> uygulaması.....	26
4.1.2. <i>Steinernema weiseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> , <i>S. weiseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> uygulaması.....	29
4.1.3. <i>Steinernema weiseri</i> , <i>Steinernema glaseri</i> , <i>S. weiseri</i> + <i>S.glaseri</i> Uygulaması.....	33
4.1.4. <i>Steinernema weiseri</i> + <i>Steinernema glaseri</i> + <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> üçlü kombinasyon uygulaması	37
4.1.5. . <i>Steinernema weiseri</i> , <i>Steinernema glaseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> <i>S. weiseri</i> + <i>S.glaseri</i> <i>S. weiseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> , <i>S.glaseri</i> + <i>H. Bacteriophora</i> <i>S. weiseri</i> + <i>S. glaseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> uygulaması.....	40
4.2. <i>Polyphylla fullo</i> Larvalarına Yönelik Yapılan Denemeler.....	42

4.2.1. Plastik kap denemeleri.....	42
4.2.1.1. <i>Steinernema glaseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> , <i>S.glaseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> uygulaması.....	42
4.2.2. Saksı denemeleri	45
4.2.2.1. <i>Steinernema glaseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> , <i>S.glaseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> uygulaması.....	45
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	47
5.1. <i>Curculio elephas</i> Larvalarına Yönelik Yapılan Denemeler.....	47
5.2. <i>Polyphylla fullo</i> Larvalarına Yönelik Yapılan Denemeler.....	48
5.2.1. Plastik kap denemeleri.....	48
5.2.2. Saksı denemeleri.....	50
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 <i>Curculio elephas</i> larva, ergin ve kestanedeki zararı.....	2
Şekil 1.2. <i>Polyphylla fullo</i> larva, ergin ve çilekdeki zararı.....	3
Şekil 1.3. Entomopatojen nematodların genel hayat döngüsü.....	7
Şekil 3.1. Enfekte kadvraların konulduğu White-trap sistemi.....	18
Şekil 3.2. <i>Curculio elephas</i> larvalarının görüntüsü.....	18
Şekil 3.3. <i>Polyphylla fullo</i> larvalarının zarar verdiği çilek tarlası ve bitkisi.....	20
Şekil 3.4. Denemelerde kullanılan 24 gözenekli doku kültür kapları.....	21
Şekil 3.5. Denemelerde kullanılan plastik kavanoz ve saksı düzenekleri.....	23
Şekil 4.1. <i>Steinernema glaseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> , <i>S.glaseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> kombinasyonu 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan <i>Curculio elephas</i> larva ölüm oranları (%).....	26
Şekil 4.2. <i>Steinernema glaseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> , <i>S.glaseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> kombinasyonu 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan <i>Curculio elephas</i> larva ölüm oranları (%).....	27
Şekil 4.3. <i>Curculio elephas</i> larvalarına karşı kullanılan <i>Steinernema glaseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> , <i>S.glaseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> kombinasyonunun 50 ve 100 infektif juvenil uygulamalarının kıyaslanması (%).....	28
Şekil 4.4. <i>Curculio elephas</i> kadvrası içerisinde nematodların üreme oranları.....	29
Şekil 4.5 <i>Steinernema weiseri</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> , <i>S. weiseri</i> + <i>H. bacteriophora</i> kombinasyonu 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan <i>Curculio elephas</i> larva ölüm oranları (%).....	30

- Şekil 4.6. *Steinernema weiseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).....31
- Şekil 4.7. *Curculio elephas* larvalarına karşı kullanılan *Steinernema weiseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonunun 50 ve 100 infektif juvenil uygulamalarının kıyaslanması (%).....32
- Şekil 4.8. *Curculio elephas* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları.33
- Şekil 4.9. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* ikili kombinasyonunun 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).....34
- Şekil 4.10. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* ikili kombinasyonunun 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).....35
- Şekil 4.11. *Steinernema weiseri* ile *Steinernema glaseri* türü entomopatojen nematodların bir arada kullanıldığı iki farklı deneme sonucunun kıyaslanması (%).....35
- Şekil 4.12. İki nematod türünün (*S. weiseri* ve *S. glaseri*) aynı larva içerisinde üremesi.....36
- Şekil 4.13. *Curculio elephas* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları.....37
- Şekil 4.14. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* + *Heterorhabditis bacteriophora* üçlü kombinasyonunun 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).....38
- Şekil 4.15. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* + *Heterorhabditis bacteriophora* kombinasyonu 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).....39

- Şekil 4.16. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* + *Heterorhabditis bacteriophora* üçlü kombinasyon uygulamasının iki farklı deneme sonucunun kıyaslanması (%).39
- Şekil 4.17. *Curculio elephas* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranla...40
- Şekil 4.18. Tüm deneme grupları 50 IJ olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).41
- Şekil 4.19. Tüm deneme grupları 100 IJ olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).42.
- Şekil 4.20. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S.glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Polyphylla fullo* larvalarının ölüm oranları (%).43
- Şekil 4.21. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S.glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Polyphylla fullo* larvalarının ölüm oranları (%).44
- Şekil 4.22. *Polyphylla fullo* larvalarına karşı 50 ve 100 infektif juvenil uygulamalarının kıyaslanması (%).44
- Şekil 4.23. *Polyphylla fullo* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları45
- Şekil 4.24. Saksı denemeleri sonucunda meydana gelen *Polyphylla fullo* larva ölüm oranları (%).46
- Şekil 4.25. *Polyphylla fullo* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları46

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
EPN	Entomopatojenik Nematod
J1	1. Juvenil evre
J2	2. Juvenil evre
J3	3. Juvenil evre
J4	4. Juvenil evre
UV	Ultraviolet
pH	Power of Hydrogen
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
sp.	Tür
vd.	ve diğerleri
g	gram
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
kg	Kilogram
IJ	İnfektif juvenil

1. GİRİŞ

Tarım, ülkemiz ekonomisinde çok önemli bir yere sahiptir. Birçok farklı bölgeye sahip olan ülkemizde her bölgenin kendine özgü yetiştirdiği ürünler mevcuttur. Dolayısıyla yetiştirilmekte olan bu ürünlere ekonomik düzeyde zarar veren pek çok etmen (hastalık, zararlı ve yabancı ot) vardır. Tarımın ana hedefi; sadece birim alandan çok ürün almak olmayıp aynı zamanda çevreye, insan ve hayvan sağlığına duyarlı ürün yetiştirmektir. Bunu sağlayabilmek için hastalık, zararlı ve yabancı otlarla bilinçli mücadele etmek gerekmektedir. Kalite ve kantite yönünden ürün kaybına neden olan böcek türlerine karşı değişik mücadele yöntemleri (kültürel, fiziksel-mekaniksel, kimyasal vb.) geliştirilmiştir. Ancak mücadele yöntemleri içerisinde kimyasal mücadele, kolay uygulanabilmesi ve sonucun hemen alınabilmesi nedeniyle diğer mücadele yöntemlerine oranla daha fazla tercih edilmektedir (Anonymus, 2008). Oysa çözüm olduğu düşünülen kimyasalların aşırı kullanımı sonucunda böceklerde zaman içerisinde direnç oluşumu ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucunda da ya daha yüksek dozda kimyasal ilaç uygulanmaya başlanmakta ya da kullanılan kimyasalların çeşitliliği artmaktadır. Özellikle toprak altında bulunan zararlı böceklerle mücadele etmek oldukça zordur. Çünkü toprak, uygulanan predatör, parazitoid, patojen ve insektisitlerin geçişini engelleyen bir bariyer görevi yapmaktadır. Bu durumda üreticiler ya kullandıkları kimyasalları daha yoğun uygulayarak ya da sıra dışı yolları deneyerek sorunu çözmeye çalışmaktadırlar. Yaygın pestisit kullanımının hayvan ve insan sağlığını tehdit etmesi, gıda maddelerinde ilaç kalıntısı bırakması, çevreyi kirletmesi nedeniyle kimyasal mücadeleye alternatif olarak biyolojik mücadele yöntemlerine geçilmesi ve böceklerde zamanla direnç oluşumu zorunlu hale gelmiştir.

Türkiye kestane üretiminde önemli yeri olan bir ülke olup, 48.000 ton üretimi ile Çin, Kore ve İtalya'dan sonra dünyada 4. sırada yer almaktadır (Anonymous, 2003). Ülkemizde başlıca kestane üretimi yapılan bölgelerin ve illerin genel kestane üretimindeki payları incelendiğinde, bölge olarak Ege bölgesinin birinci, iller itibariyle Aydın İli'nin 13.138 ton yıllık ortalama üretim ile ilk sırada yer aldığı görülmektedir (Anonymous, 2003).

Ege bölgesi pek çok kültür bitkisinin yetiştirildiği önemli bir tarım bölgesidir. Üretimi yapılan bitkilerin çok sayıda ekonomik öneme sahip toprak altı zararlısı mevcuttur. Özellikle son yıllarda bölgemizde kestane meyvelerinde zararlı olan

elephas (Coleptera:Curculionidae) ile çilek, asma ve çeşitli meyve ağaçlarının köklerinde zarar yapan *Polyphylla fullo* (Coleptera:Scarabaeidae) ekonomik öneme sahip zararlılardır.

Curculio elephas dişileri, meyve kabuğu altına hortumu yardımı ile yumurta bırakırlar. Yumurtadan çıkan larvalar kirpi içerisinde gelişmekte olan meyve ile beslenerek zarar yapmaktadır (Şekil 1.1). Genel olarak hasat zamanında gelişmelerini tamamlamış olan larvalar, hasattan sonra yığıldıkları gömü yerlerinde 3-4 mm çapında açtıkları bir delikten meyveyi delip terk eder ve toprağa geçmektedir. Depodaki zararlıları kontrol etmek ve ürünün pazar değerini arttırmak için zarar görmüş meyveler ayrılmaktadır. Bu ise meydana gelen ürün kaybı yanında iş gücü kaybına sebep olmaktadır(Anonymus, 2008).



Şekil 1.1. *Curculio elephas* larvaları, ergini ve kestanedeki zararı

Polyphylla fullo'nun ise 2-3 yıl süren uzun bir hayat döngüsü vardır ve bitkilerde zarara neden olan bu larva dönemleridir. Üç larva dönemi geçirmektedir. Hayatını toprak altında geçiren larvalar bitkilerin ana köklerini yiyerek beslenmektedir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. *Polyphylla fullo* larvaları, ergini ve çilek bitkisindeki zararı

Bu zararlıya karşı çilekte ruhsatlı bir ilaç bulunmamasına rağmen üreticiler meyve ağaç ve fidanlarında (chlorpyrifosethyl) ya da bağda ruhsatlı (parathion-methyl ve ethoprophos) olan pestisitleri kullanmaktadırlar. Ancak bölgedeki üreticiler bu ilaçları tek tek bazen de bir arada ve yüksek dozda kullanmalarına rağmen mücadelede hiç bir başarı elde edememişlerdir. Bu durumda bölgede yaygın olarak nematisit (ethoprophos) kullanılmaktadır. Hatta üreticiler pek çok pestisiti tek tek ve birarada kullanmalarına rağmen hiç bir sonuç elde edememişlerdir. Zararlının bölgede yaptığı zarar güngeçtikçe artmaya başlayınca üreticiler bu canlılara karşı nematisitler veya kilolarca sarımsak ezip tarlaya vermek gibi sıradışı yollar denemişler; buna rağmen hiç bir sonuç elde edememişlerdir. Anlaşılan şudur ki uygulanan diğer yöntemlerin (sarımsak ezip tarlaya vermek) ve kullanılan pestisitlerin sahip olduğu ağır koku *P. fullo* larvalarının çilek köklerinden uzaklaşmasını sağlamaktadır. Bu durumda larvaları bitkiden uzak tutmak için kısa süreli aralıklarla yeni uygulamalar yapılması gerekmektedir. Bu uygulamalar hem maliyeti arttırmakta hem de yoğun pestisit kullanımı nedeniyle kalıntı yaratmaktadır. Kullanılan pestisitlerin toksisiteleri ve toprakta kalıcılık süreleri çok fazladır.

Gerek *P. fullo* ve *C. elephas* larvalarının vücut yapısı ve gerekse toprak içindeki davranışlarına bağlı olarak kimyasal savaşım yöntemlerinin etkinliğinin sınırlı olması bu zararlılarla mücadelede alternatif yöntemlere ağırlık verilmesini zorunlu kılmaktadır.

Günümüzde biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmak üzere global bir mikrobiyal market oluşmuş durumdadır. Dünyanın pek çok gelişmiş ülkesinde entomopatojen olan virus, bakteri, fungus, nematod ve microsporidia'lar ticari olarak üretilmekte ve zararlı böceklere karşı kullanılmaktadır (Grewal vd., 2005).

Biyolojik mücadele çalışmalarında bakterilerden sonra üzerinde özellikle durulan grup, Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait zorunlu böcek paraziti olarak bilinen entomopatojen nematodlardır (Burnell ve Stock., 2000). Bu organizmaları mikrobiyal market içerisinde yer alan diğer organizmalardan ayıran en önemli özellik konukçularını toprak içerisinde aktif olarak arayıp bulmalarıdır (Kaya ve Gaugler, 1993).

1.1. Nematodların Genel Özellikleri

Nematodlar; çöllerden tundralara, tatlı sulardan denizlere, sıcak su kaynaklarından buzullara kadar oldukça geniş bir yayılım gösteren geniş habitatlara sahiptir. Boyutları mikrometre ile metre arasında değişebilen, genelde silindirik ve uzun bir vücut yapısına sahip, segmentsiz canlılardır. Vücut yapılarının silindirik ve uzunlamasına bir yapıya sahip olmasından dolayı çoğunlukla yuvarlak solucanlar veya ipliksi solucanlar olarak isimlendirilirler (Stock vd.; 2009). Nematodlar sinir, üreme, sindirim, boşaltım ve kas sistemlerine sahiptirler ancak dolaşım ve solunum sistemleri yoktur. Nemli vücut yüzeyleri sayesinde gaz alış verişi yaparak solunumlarını, yalancı tip vücut boşluğu sayesinde de dolaşım fonksiyonlarını yapmaktadırlar (Koppenhöfer, 2000). Nematodlar genellikle ayrı eşyildirler. Erkeklerin bir ya da iki testisleri vardır, çiftleşme organı olarak spikula'ları görev yapar. Ergin dişilerde ise bir veya iki ovaryum bulunmaktadır ve vücudun orta kısmının ventralinde çiftleşme organı olarak görev yapan vulva ile dışarıya açılırlar (Kaya ve Stock, 1997). Nematodlar doğada serbest ya da bitki ve hayvanlarda fakültatif veya zorunlu parazit olarak yaşarlar. Ayrıca nematodlar böceklerle yakından ilişkilidir. Böcek ile nematod ilişkileri rastlantı olaraktan zorunlu olmaya, kommensalden parazitliğe kadar çeşitlilik göstermektedir (Kaya ve Gaugler, 1993). Şimdiye kadar böceklerle ilişkili 30'dan fazla nematod familyası tanımlanmıştır. Bu familyalardan 7 tanesinde [(Mermithidae ve Tetratonematidae (Ordo: Stichosomida); Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae ve Sphaerulariidae (Ordo: Tylenchida); Heterorhabditidae ve Steinernematidae (Ordo: Rhabditida)] bulunan türler böceklerle biyolojik mücadelede kullanılma potansiyeline sahiptir. Fakat bunlar içerisinde sadece Heterorhabditidae ve Steinernematidae familyalarına ait nematodların kitle üretim ve formülasyonları yapılabilmektedir. Dolayısıyla bu iki familya içerisindeki nematodlar mikrobiyal insektisit olarak kullanılmaktadır (Koppenhöfer, 2007).

1.2. Entomopatojen Nematodlar (Fam: Steinernematidae ve Heterorhabditidae)

Bu nematodlar ekonomik önemi olan kültür bitkilerinde zarar yapan pek çok böceğin mücadelesinde biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmaktadır. Steinernematidae familyasında *Steinernema* ve *Neosteinerema* olmak üzere 2 farklı cins bulunmaktadır. Şimdiye kadar *Steinernema*'da 65 tür, *Neosteinerema* cinsinde ise sadece 1 tür tespit edilmiştir. Heterorhabditidae familyasında da

Heterorhabditis cinsine ait 23 tür tanımlanmıştır (Mracek vd., 2006; Uribe-Lorio vd., 2007; Zhang vd. 2008; Lee vd. 2009). Heterorhabditidae ve Steinernematidae familyalarına ait entomopatojen nematodlar sırasıyla *Photorhabdus* ve *Xenorhabdus* cinslerine ait bakteriler ile mutualistik ilişki içerisindedirler (Poinar, 1990). Sahip oldukları bu bakteriler ile konukçularını 48 saat gibi kısa bir süre içerisinde öldürebilme yeteneğine sahip olmaları, bu nematodların “entomopatojen” olarak adlandırılmalarına neden olmuştur (Kaya ve Stock, 1997).

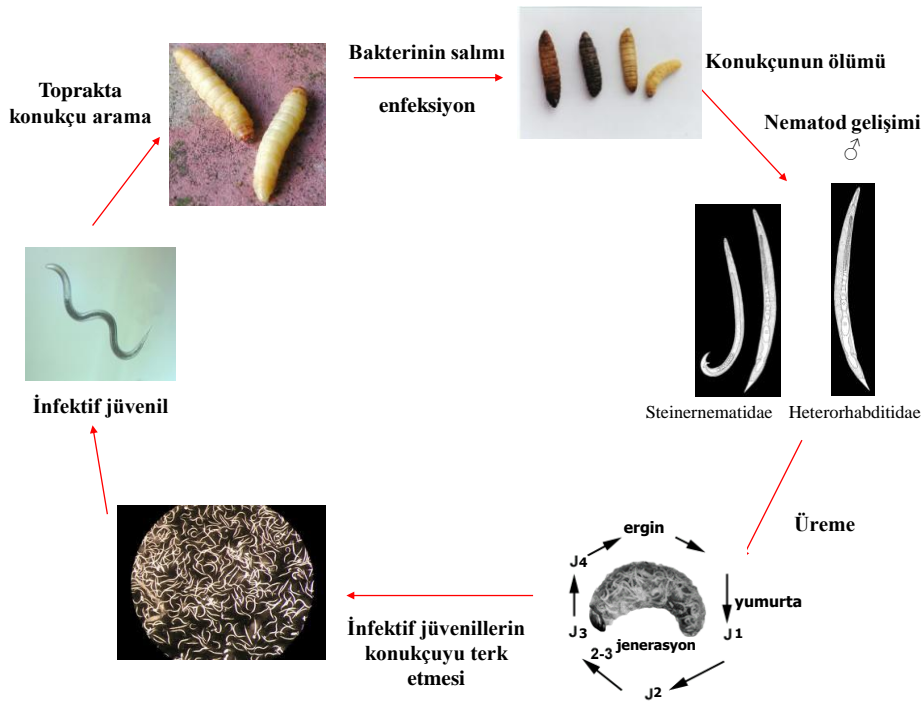
1.3. Entomopatojen Nematod-Bakteri İlişkisi

Entomopatojen nematodların mutualistik ilişki içinde oldukları bu bakteriler nematodların infektif juvenil (IJ) olarak adlandırılan evresi içinde taşınmaktadır. *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* spp. Enterobacteriaceae familyasına ait fakültatif anaerobik, çubuk şeklinde, spor oluşturmayan, oksidaz negatif, hareketli ve gram negatif bakterilerdir (Boemare ve Akhurst, 1988; Boemare, 2002). Bu bakteriler böceklere karşı son derece patojenik etki gösterirler. Ortaya çıkan bu bakteri-nematod ilişkisinin zararlı böceklere karşı güçlü bir biyolojik mücadele silahı haline gelmesini son 15 yıldır bu gruplar üzerine yapılan araştırmaların artmasıyla açıklamak mümkündür (Adams vd., 2006). Bugüne kadar bu bakterilerin topraktan ya da su kaynaklarından serbest yaşayan formları izole edilmemiştir (Forst vd., 1997). Bu bulgular bakterilerin toprak habitatında hayatta kalabilmesi için nematodlarla mutualistik ilişkinin gerekli olduğunu göstermektedir. Buna karşılık bakteriler de konukçunun etkili bir biçimde öldürülmesi ve nematodların hayat döngülerini tamamlaması için gerekli olan besinin sağlanmasında işlevseldir (Kaya ve Gaugler, 1993). Bakteriler durgun fazda iken böcek hemosölü içerisinde lipaz, fosfolipaz, proteaz gibi enzimler ve geniş spektrumlu antibiyotikler gibi pek çok hücre dışı madde salgırlar. Salınan bu enzimler böcek kadavrasındaki makromolekülleri parçalayarak gelişmekte olan nematodlar için gerekli besini sağlarken, üretilen antibiyotikler ise kadavranın diğer mikroorganizmalar tarafından istila edilmesini engeller (Forst ve Clarke, 2002). Entomopatojen nematod enfeksiyonları pek çok belirti ile tanımlanabilmektedir. Ölümünden kısa bir süre sonra kadavralarda yumuşama ve renk değişimi gözlenmektedir. Mum güvesi, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarında nematod türüne göre kadavralarda farklı renklemeler görülmektedir. Steinernematid enfeksiyonunun da koyu sarıdan, kahverenginin farklı tonları veya tamamen siyaha kadar değişen renkler görülürken, heterorhabdit ile enfekte böcekler kırmızı, kiremit kırmızısı, mor, turuncu, sarı veya yeşil renkte olabilmektedir. Steinernematid ile enfekteli

olan böcekler nematod gelişimi sırasında yumuşak ve gevşek görünmektedir. Fakat heterorhabdit enfeksiyonlarında kadavralar daha sıkı bir görüntüye sahiptirler. Entomopatojen nematodla enfekte olan kadavralar çürümez ve kötü bir koku yaymazlar. Kadavranın vücut içeriği zamanla azalmasına rağmen asla akışkan bir hale gelip bütünlüğünü kaybetmez ancak heterorhabdit ile enfekte olan kadavraların içeriği ise sakızimsı bir hal alır (Koppenhöfer, 2007).

1.4. Entomopatojen Nematodların Hayat Döngüleri

Genellikle entomopatojen nematod türleri benzer biyolojiye sahiptir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Entomopatojen nematodların genel hayat döngüsü

Gelişimleri boyunca yumurta, juvenil (J1, J2, J3, J4) ve ergin olmak üzere başlıca 3 ana evre geçirirler. Entomopatojen nematodların toprakta serbest olarak yaşayan tek evresi olan 3. juvenil (J3) evresi “enfektif juvenil olarak adlandırılır. Nematodlar bu evrede toprakta bulunan tek evresi budur. J3’lerin ağız ve anüsleri kapalı durumda olup beslenme ve gelişme olayları görülmez (Kaya ve Gaugler, 1993).

İnfektif juveniller toprakta kendilerine uygun bir konukçu bulduklarında, böceğin ağız, stigmaları, anüsü gibi doğal açıklıklarından hemosölü içerisine girerek taşıdığı bakterileri buraya bırakırlar. Steinernematidae familyasına ait *Xenorhabdus* bakterileri nematodların anüsünden, Heterorhabditidae familyasına ait *Photorhabdus* cinsi bakteriler ise ağızlarından konukçu hemosölü içerisine salınmaktadır (Adams vd., 2006). Böceğin hemosölü içerisine bırakılan bakteriler burada hızla çoğalmaya başlarlar. Salgıladıkları hücre dışı enzimler ve toksinler konukçu böceğin 24-48 saat içerisinde ölmesine neden olur (Kaya ve Gaugler, 1993). Bakteriler tarafından salınan enzimler böcek dokularını parçalayarak nematodların beslenmesi ve gelişmesi için uygun ortam oluştururlar. Konukçu içerisinde gelişmeye başlayan infektif juvenil nematodlar, parçalanmış böcek dokusu ve bakterilerden oluşan karışımla beslenerek 4.juvenil evre, ardından ergin dişi ve erkek nematodlar haline gelmektedir. Çiftleşen dişiler yumurtalarını konukçu dokusuna bırakabilirler veya olgun dişiler uterusları içerisinde yumurtalarını bekletebilmektedir. Gelişimlerini tamamlayıp açılan yumurtalardan çıkan yeni nesil nematodlar konukçunun veya dişi bireyin vücut dokusuyla beslenmeye başlamaktadır. Bu sırada vücutlarının içi yeni nesil infektif juvenillerle dolu olan dişi nematodların bu durumuna “Endotokia matricida” evresi adı verilmektedir (Griffin vd., 2005). Nematodların üremesi kadavradaki besin bitene kadar genellikle 2-3 döl boyunca devam eder. Dişi bireyden geriye kalan tüm dokuları bitiren nematodlar J3 evresinde gelişimlerini durdurarak konukçuyu terk edip toprağa geçer ve yeni konukçular aramaya başlar (Hazır vd., 2003) (Şekil 1). Heterorhabditler ile Steinernematidlerin hayat döngüleri oldukça benzer olmasına karşın aralarındaki en önemli fark *Heterorhabditis* erginlerinin konukçu içerisindeki ilk döldä hermafrodit bireylerden oluşması, *Steinernema* erginlerinin ise bütün döllarda ayrı eşeyli olmasıdır. Tek istisna, ilk döldä 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).

1.5. Entomopatojen Nematodların Hayatta Kalmaları

Bu nematodlar laboratuvar ortamında 4-15 °C arasındaki inkübatörlerde 1 yıl kadar canlı olarak saklanabilmektedirler. Ancak alan uygulamalarında infektif juvenillerin canlı kalma süreleri farklı davranışsal, fizyolojik ve genetik özellikler (Gaugler, 1993) gibi iç faktörlere, ayrıca rekabet ve doğal düşmanlar gibi biyotik (Kopenhöfer ve Kaya, 1996) ve ekstrem sıcaklıklar, toprak yapısı, toprak nemi,

ozmotik stres ve UV ışınları gibi abiyotik dış faktörlere bağlıdır (Glazer, 1996; Smits, 1996; Koppenhöfer, 2000). Uygulamadan kısa süre sonra canlı nematodların sayısı başlangıçtaki kadar ancak %1-5'i kadar olabilmektedir (Smits, 1996).

1.6. Entomopatojen Nematodların Konukçu Dağılımı

Üzerinde detaylı araştırmalar yapılmış olan entomopatojen nematod türlerinin laboratuvar koşullarında geniş bir böcek grubuna karşı etkili olduğu saptanmıştır. *Steinernema carpocapsae* laboratuvar koşullarında farklı takımlardan 250'den fazla böcek türünü enfekte etmiştir (Poinar, 1979). Aynı şekilde *H. bacteriophora* da geniş bir konukçu dağılımı gösterir (Poinar, 1979; Koppenhöfer, 2000). Ancak bazı nematod türleri örneğin *S. scapterisci* Orthoptera grubuna, özellikle de *Gryllotalpidae* familyasına adapte olmuştur ve diğer böcek gruplarına karşı düşük patojenite gösterirler (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). Scarabaeid larvalarının türüne bağlı olarak entomopatojen nematodların etkinlikleri de farklılık göstermektedir. Örneğin *Heterorhabditis zealandica* ve *Heterorhabditis bacteriophora* türü nematodlar *Popillia japonica* ve *Cyclocephala borealis* larvaları üzerinde %50'nin üzerinde ölüm oranı gösterirken *H. marelatus* ve *H. indica* türleri bu zararlılar üzerinde %20'den daha az ölüm meydana getirmektedirler (Grewal vd., 2002).

Entomopatojen nematodların hedef olmayan organizmalar üzerindeki negatif etkilerinin olmadığı saptanmıştır (Boemare vd., 1996). Kobay, fare ve sıçana nematodların mutualistik bakterilerinden *Xenorhabdus bovienii* ağız, deri içi, deri altı ve periton içi yollarla verilmiş ancak hiç bir patojenik ya da toksik etki görülmemiştir. Ayrıca tavşanlar üzerinde konjunktival uygulama yapılmış ve yine hiç bir patojenite belirlenmemiştir. Bunların dışında collembolalar, örümcekler, pseudoscorpionlar, toprak solucanları, bal arıları, kurbağalar, kertenkeleler, yılanlar ve bitkiler ile yapılan çalışmalar sonucunda entomopatojen nematodlar ve bunlarla simbiyotik yaşayan bakterilerin önemli herhangi bir zarara yol açmadıkları belirlenmiştir (Boemare vd., 1996). Bu nedenle entomopatojen nematodlara güvenli biyolojik kontrol ajanı sıfatı eklenmiştir.

1.7. Entomopatojen Nematodları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler

1.7.1. Abiyotik faktörler

Entomopatojen nematodların doğal koşullar altında hayatta kalmalarını etkileyen biyotik ve abiyotik faktörler bulunmaktadır. Abiyotik faktörlerle nematod varlığını etkileyen sıcaklık, UV ışınları, nem, toprak tipi, oksijen, pH, tuzluluk ve kimyasal faktörlerdir(Kaya, 2002).

1.7.1.1. UV ışınları

UV ışığı nematodları inaktive eden ve kısa bir süre içerisinde öldürebilen önemli bir abiyotik faktördür (Gaugler ve Bousch, 1978).

1.7.1.2. Nem

Nematodların yaşamını etkileyen en önemli faktördür. Nematodlar bir yerden bir yere hareket edebilmek için su filmine ihtiyaç duymaktadır. Nematodlar toprakta partiküller arasındaki boşlukları kaplayan su filmlerini kullanarak hareket ederler. Uygun olmayan şartlarda hareketleri sınırlanmaktadır (Kung vd., 1991; Brown ve Gaugler, 1997).

1.7.1.3. Sıcaklık

Sıcaklığın nematodlara etkisi türlere göre hatta aynı türün farklı izolatlarına göre değişiklik göstermektedir (Grewal vd., 1994; Hazir vd., 2001). Genel olarak nematodlar düşük sıcaklık derecelerinde (10-15 °C) durgunlaşmaktadır. Daha yüksek derecelerde ise (30-40 °C) inaktive olmaktadır. 0 °C' nin altında ve 40 °C üzerindeki sıcaklıklarda maruz kalınan süreye bağlı olarak ölmektedir (Glazer, 2002). Pek çok tür için canlı kalınan en uygun sıcaklık 5-15 °C arasındadır.

1.7.1.4. Toprak yapısı

Toprağın yapısı nematodların yayılmaları ve canlılıklarını korumalarıyla doğrudan ilişkilidir. İnce yapılı topraklarda canlılıklarını korumaları ve yayılmaları düşüktür. Ancak en düşük canlılık oranı killi topraklarda görülmektedir. Bu olay toprak porlarındaki az oksijen miktarıyla ilişkilendirilmektedir (Kaya, 1990; Alekseev vd., 2006).

1.7.1.5. Oksijen

Oksijen, suya doymuş ve yoğun miktarda organik materyal içeren topraklarda sınırlayıcı bir faktör olabilmektedir (Kaya, 1990).

1.7.1.6. PH

Toprağın pH değeri nematodların canlılığı üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir. PH 4 ile 8 arasındaki değerlerde etkinlikleri değişiklik göstermektedir. Ancak PH'nın 10 olması canlılık oranını hızla düşürmektedir (Kung vd., 1990).

1.7.2. Biyotik faktörler

Biyotik faktörler de entomopatojen nematodları ve onların mutualistik bakterilerini antagonistik olarak etkileyebilmektedir. Bu faktörleri genel bir gruplandırma yaparak antibiyozis, rekabet, doğal düşmanlar ve yağmacılar olarak tanımlamak mümkündür (Kaya, 2002).

1.8. Kitlesele Üretim ve Alan Uygulamaları

Günümüzde bu nematodlar pek çok firma tarafından *in vivo* ya da *in vitro* olarak kitle halinde üretilebilmektedirler (Han ve Ehlers, 2000). Farklı firmalar tarafından formüle edilerek piyasada satılan türler *S. carpocapsae*, *S. riobrave*, *S. feltiae*, *S. glaseri*, *S. scapterisci*, *H. bacteriophora* ve *H. megidis*'tir. Üretilen bu ticari nematod preparasyonları özellikle Amerika Birleşik Devletleri, Almanya, Avustralya, Finlandiya, Fransa, Hollanda, İngiltere, İspanya, İsrail ve İtalya gibi ülkelerde kullanılmaktadır. Bu ülkelerde entomopatojen nematodlar ticari olarak üretilen bir ürün haline gelmiş olup seralarda (Richardson, 1990; Lenteren, 2000), mantar üretim alanlarında (Richardson vd., 1990), çilek tarlalarında, çim ekili alanlarda (Koppenhöfer ve Kaya, 1998), elma bahçelerinde (Wang, 1990) ve turunçgil yetiştirme alanlarında (Shah ve Goettel, 1999) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Önceki çalışmalar sonucunda *P. fullo* ve *C. elephas* larvalarının nematod infeksiyonuna karşı kısmen direnç gösterdiği belirlenmiştir (Karagöz vd., 2007, 2009). Aydın ilindeki çilek alanlarında önemli bir toprak altı zararlısı olan *P. fullo* larvalarına karşı, Türkiye topraklarından izole edilen 35 entomopatojen nematod izolatu laboratuvarında test edilmiştir. Bu izolatlardan 26 tanesinin *P. fullo*

larvalarını enfekte ettiği, ancak kadavra içerisinde üreyip dışarı çıkabilen sadece 3 nematod izolatının *S. feltiae* (izolat 40-4), *S. weiseri* ve *Heterorhabditis* sp. (izolat 09-48) olduğu rapor edilmiştir (Karagöz vd., 2007).

Karagöz vd. (2009), *Curculio elephas* ve *Cydia splendana* larvalarına karşı Türkiye topraklarından izole edilip tanımlanmış olan *S. feltiae*, *S. weiseri* ve *H. bacteriophora* türü entomopatojen nematodların etkinliklerini test etmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda soğuğa adapte türler olarak bilinen *S. feltiae* ve *S. weiseri* türlerinin 10 °C ve 15 °C' lerde; sıcağa adapte olduğu bilinen *H. bacteriophora* türünün ise 20 ve 25 °C'lerde daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. 15 °C de yürütülen saksı denemelerinde *S. weiseri* türünün hem *Cy. splendana* hem de *C. elephas* larvalarına karşı en etkili tür olduğu tespit etmişlerdir. Ancak yapılan bu çalışmada *C. elephas* larvalarının nematod enfeksiyonuna duyarlılığının oldukça az olduğu saptanmıştır. Bu larvalara karşı test edilen nematodların gösterdiği ölüm oranları ortalama %30 (%22-39) olarak tespit edilmiştir. *Cy. splendana* larvalarının ise nematod enfeksiyonlarına karşı daha duyarlı olduğu elde edilen ortalama %65'lik (%45-80) ölüm oranlarından anlaşılmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda *Cy. splendana*'ya karşı yapılacak alan çalışmalarında *S. weiseri* türünün kullanılması gerektiği, *C. elephas* larvalarına karşı ise virulansı daha yüksek bir nematod türünün bulunmasına yönelik çalışmaların sürdürülmesi önerilmiştir.

Nematod enfeksiyonuna direnç gösteren böceklerle karşı nematodlar ikili kombinasyonlar halinde verilerek test edilmişlerdir. Yapılan bir çalışmada *Diabrotica undecimpunctata* (Coleoptera: Chrysomelidae)'nın 2. dönem larvalarına karşı iki farklı entomopatojen nematod türü *Heterorhabditis indica* ve *Steinernema asiaticum* sera ve laboratuvar koşullarında olmak üzere test edilmiştir. Laboratuvar deneylerinde nematodların ikili olarak uygulanmalarının tek tek uygulanmalarından daha etkili olduğu saptanmıştır (Choo vd., 1996). Bir başka çalışmada ise *Cnaphalocrosis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) ve *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarına karşı iki farklı entomopatojen nematod türü *H. indica* ve *S. asiaticum*'un etkinliği test edilmiştir. *H. indica* ve *S. asiaticum*'un kombinasyon halinde uygulanması sonucunda *C. medinalis* ve *G. mellonella* larvalarının tek tek uygulamaya oranla daha kısa sürede öldükleri tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda çeltikte zarar yapan *C. medinalis*'e karşı *H. indica* ve *S. asiaticum*'un kombinasyon şeklinde tarlalarda uygulanması önerilmiştir (Sankar vd., 2009).

Bu tez çalışmasında daha önce nematod enfeksiyonuna direnç gösterdikleri bilinen *C. elephas* ve *P. fullo* larvalarına karşı farklı nematod türleri tek tek ve bir arada kombinasyonlar şeklinde uygulanarak etkinlik denemeleri yapılmıştır. *C. elephas* larvalarına karşı *S. weiseri*, *S. glaseri* ve *H. bacteriophora*; *P. fullo* larvalarına karşı ise *S. glaseri* ile *H. bacteriophora* türlerine ait entomopatojen nematodlar kullanılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Önuçar ve Ulu (1989), Kestane ağaç altları ve gömü yerlerinde yapılan incelemeler sonucunda *C. elephas* larvalarının hemen hemen tamamının gömü yerlerinde toprağa geçtikleri saptanmıştır. Bu zararının İzmir ili kestaneliklerinde yaptıkları zararın ise %15 olduğu (%11-19) bildirmektedir.

Tuncer ve Serdar (1997), Sinop ilinin kestane yetiştirilen alanlarında meyve kurtlanmalarına *Cy. splendana* ve *C. elephas*'in neden olduğunu tespit etmiş ve Sinop genelinde kurtlanma oranını ilk tür için % 13,3, ikinci tür için % 2,9 ve toplam % 16,2 olarak bulmuşlardır.

Kaya vd., (2006) yaptıkları çalışmada entomopatojen nematodların ticari olarak üretimini yapan firmaların hangi nematod türünü ürettiklerini bunun formülasyon şeklini ve kullanıldığı zararlıları türünü listelemişlerdir. Entomopatojen nematodlarla kontrol edilebilen familyalarından biri olan Coloptera: Scarabaeidae karşı *H. bacteriophora* ve *S. feltiae*; Coloptera: Curculionidae karşı ise *S. carpocapsae*, *S. glaseri*, *S. arenarium* ve *H. bacteriophora*'nın ticari formülasyonlarının kullanıldığını belirtmişlerdir.

Karimi vd., (2010) ; İran için önemli bir zararlı olan *Polyphylla adspersa* (Coloptera: Scarabaeidae)'ye karşı ticari formülasyon şeklinde olan *H. bacteriophora*'yı zararının 2. ve 3. dönem larva ve pupalarına karşı test etmişlerdir. Larva ölümlerinin %42 olduğunu ve 2. dönem larvaların 3. dönem larvalara göre nematod enfeksiyonuna daha duyarlı olduğunu saptamışlardır. Ayrıca *P. adspersa* pupalarının *H. bacteriophora*'ya karşı daha dayanıklı olduğunu bulmuşlardır. Sonuç olarak *H. bacteriophora*'nın *P. adspersa* ile mücadelede kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Koppenhofer ve Fuzy., (2009) çim alanlarda önemli bir zararlı olan *Anomala orientalis*'e (Coleoptera: Scarabaeidae) karşı *Steinernema scarabaei*'yi test etmişler ve hektar başına 2,5 milyar nematod uyguladıklarında %77'lik bir larval ölüm meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Choo vd., (1996) yaptıkları çalışmada *Diabrotica undecimpunctata* (Coleoptera: Chrysomelidae)'nın 2. dönem larvalarına karşı iki farklı entomopatojen nematod türünü sera ve laboratuvar koşullarında olmak üzere test etmişlerdir. Laboratuvar deneylerinde nematodların kombinasyon halinde ikili olarak uygulamalarının tek

olarak uygulanmasından daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Ancak sera çalışmalarında ikili uygulamaların tek başına yapılan nematod uygulamalarından çok daha az etkili olduğunu saptamışlardır.

Sankar vd., (2009) yaptıkları çalışmada iki farklı entomopatojen nematod türünün (*H. indica* ve *S. asiaticum*) etkinliğini *Cnaphalocrosis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) ve *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarına karşı test etmişlerdir. *H. indica* ve *S. asiaticum*'un kombinasyon halinde (75 IJ/larva) uygulanmaları sonucunda *C. medinalis* larvaların 24.6 saat, *G. mellonella* larvalarının 31 saat gibi daha kısa sürede öldüklerini belirlemişlerdir. Bu nedenle *H. indica* ve *S. asiaticum*'un kombinasyon şeklinde çeltikte zarar yapan, *C.medinalis*'e karşı çeltik tarlalarına uygulanmasını önermişlerdir.

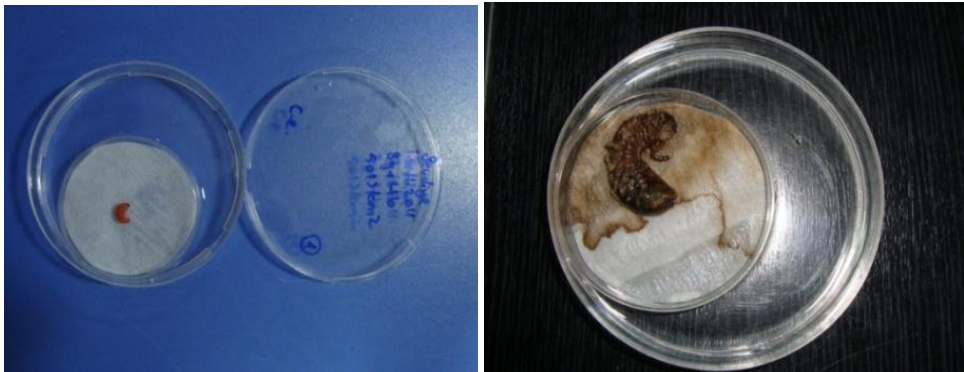
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Laboratuvarda Üretimi

Bu çalışmada kullanılan entomopatojen nematodlar büyük mum güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının son evreleri kullanılarak kitle halinde üretilmiştir (Stock vd.,1999). *G. mellonella* 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 Nematodların Üretilmesi

Çalışmalarda *Steinernema glaseri*, *S. weiseri* ve *Heterorhabditis bacteriophora* türlerine ait entomopatojen nematodlar kullanılmıştır. Laboratuvar koşullarında stok halinde muhafaza edilen bu nematod türleri deneylerde kullanılmak üzere *G. mellonella* larvaları üzerinde üretilmiştir. Bunun için 9 cm'lik cam petrilerin taban kısmına ikişer adet kurutma kağıdı yerleştirilmiştir. Mililitresinde 1000 infeksiif juvenil bulunan her bir nematod stoğundan petri içerisine 800 µl ilave edildikten sonra petri kaplarının her birine 10 adet son dönem *G. mellonella* larvası eklenmiştir. Kurumayı önlemek için petri kapları plastik torbalar içerisine yerleştirilmiş ve oda sıcaklığında ($23-24^{\circ}\text{C}$) tutulmuştur (Kaya ve Stock, 1997). Larvaların enfekte olup olmadıklarını anlamak için 3 gün sonra kontrol edilmiş ve enfekte olanlar pens yardımıyla White-trap (White, 1927) adı verilen sisteme aktarılmıştır (Koppenhöfer, 2000).



Şekil 3.1. Enfekte kadavraların konulduğu White-trap sistemi

White-trap sistemi, içerisine distile su doldurulmuş olan 9 cm'lik bir petri kabı ve bu suda yüzen 6 cm'lik küçük bir petri kabının kapağı yerleştirilerek oluşturulmuştur. Küçük petri kapağının içerisine nemlendirilmiş kurutma kağı konulmuştur. Enfekte olan larvalar bu sistem içerisine yerleştirilmiştir. Kadavra içerisinde üreyerek dışarı çıkan yeni nesil infektif juvenil nematodlar küçük petri kapağını aşarak dış kısımdaki suya geçmesiyle infektif juvenil nematodlar bu sudan toplanmıştır. Daha sonra bu suyun her gün alınması sonucu üreyen yeni nesil nematodlar kolaylıkla toplanmıştır. Toplanan infektif juveniller yüzeylerindeki olası partikülleri uzaklaştırmak için bir cam beher içerisinde 3 kez distile su ile yıkanmıştır (Kaya ve Stock, 1997). Yüzeyleri temizlenen nematodlar sulu süspansiyonlar halinde mililitresinde yaklaşık 1000 infektif juvenil olacak şekilde TetraPak kutuları içerisine alınmış ve 10°C'lik inkübatörlerde deneylerde kullanılmak üzere depolanmıştır. Bu nematodlar en fazla 2 hafta içerisinde deneylerde kullanılmıştır (Karagoz vd., 2009).

3.3. *Curculio elephas* Larvalarının Elde Edilmesi

Denemelerde kullanılacak olan son dönem *C. elephas* larvaları Aydın İli'nin Umurlu ilçesinde bulunan kestane işleme tesisinden toplanmıştır. Bu işletmeye Aydın ilinin önemli kestane yetiştirme alanları olan Nazilli, Köşk ve Sultanhisar ilçelerine bağlı köylerden kestane getirilmektedir. Kestaneler işleme konulmadan ya da depolanmadan önce işletmede beton zemin üzerinde yığınlar halinde bulunmaktadır. Bu süreçte meyveleri terk etmekte olan son dönem *C. elephas* larvaları yığınların etrafından toplanmıştır. Toplanan larvalar, içerisinde toprak bulunan kültür kaplarına konularak laboratuvara getirilmiştir.



şekil 3.2. *Curculio elephas* larvalarının görüntüsü

Her deneme öncesi bu işlemler işletmeye gidip yeni larvalar toplanarak tekrarlanmıştır.

3.4. *Polyphylla fullo* Larvalarının Elde Edilmesi

P. fullo larvaları özellikle zararlıının yoğun olarak görüldüğü Aydın İli'nin Sultanhisar ve İncirliova ilçelerindeki çilek üretim alanlarından toplanmıştır. *P. fullo*'nun 2-3 yıl süren bir yaşam döngüsü olduğundan laboratuvar koşullarında üretilebilmeleri mümkün değildir (Anonymous, 2008). Bunun için larvalar zararın yoğun olarak görüldüğü çilek üretim alanlarından toplanmıştır.



Şekil 3.3. Atça bölgesinde *Polyphylla fullo* larvalarının zarar verdiği çilek tarlası ve bitkisi

Toplama işlemi Eylül-Kasım ayları arasında çilekler fide dönemindeyken yapılmıştır. Larvaların nerede olduğu solmakta olan çilek fidelerinden kolayca anlaşılmıştır. Solmakta olan bitkinin tespitinin ardından bitki sökülmiş kök derinliği kadar toprak kazılarak larvaya zarar vermeden *P. fullo* larvaları çıkartılmıştır. Alandan toplanan larvalar plastik saksıların içerisine bir miktar toprak ve bitki ile birlikte konularak laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvar koşullarında bu larvaların canlı kalabilmesi için buldukları ortama periyodik olarak havuç meyvesi eklenmiş ve saksıların nem oranı %10 nemli olacak şekilde tutulmuştur. Bu yöntem kullanarak laboratuvar şartlarında *P. fullo* larvaları 6-12 ay kadar canlı tutulabilmiştir.

3.5. Denemelerin Yapılması

3.5.1. *Curculio elephas* larvalarına karşı entomopatojen nematodların etkinliğinin denemesi

Çalışmada son dönem *C. elephas* larvalarına karşı *S. glaseri*, *S. weiseri* ve *H. bacteriophora* türü entomopatojen nematodlar tek tek ve bir arada kombine edilerek uygulanmıştır. Denemelerde 24 gözenekli doku kültür kapları kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Denemelerde kullanılan 24 gözenekli doku kültür kapları

Her gözeneğe 0.5 g steril kum ve 60 mikrolitre distile su içerisinde 50 ve 100 IJ olacak şekilde iki farklı dozda nematodlar eklenmiştir (Hazir vd., 2001).

Çalışmada kullanılan uygulamalar;

50 infektif juvenil için

1. grup: *S. glaseri*, *H. bacteriophora*, *S. glaseri* + *H. bacteriophora*

1- 50 IJ *S. glaseri*

2- 50 IJ *H. bacteriophora*

3- 25 IJ *S. glaseri* + 25 IJ *H. bacteriophora*

2. grup: *S. weiseri*, *H. bacteriophora*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora*

1- 50 IJ *S. weiseri*

2- 50 IJ *H. bacteriophora*

3- 25 IJ *S. weiseri* + 25 IJ *H. bacteriophora*

3. grup: *S. weiseri*, *S. glaseri*, *S. weiseri* + *S. glaseri*

1- 50 IJ *S. weiseri*

2- 50 IJ *S. glaseri*

3- 25 IJ *S. weiseri* + 25 IJ *S. glaseri*

4. grup: *S. weiseri* + *S. glaseri* + *H. bacteriophora*

17 IJ *S. weiseri* + 17 IJ *S. glaseri* + 17 IJ *H. bacteriophora*

Kontrol: Her deney düzeneği için ayrı ayrı kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontrol grupları için hazırlanan düzenekler deney düzenekleriyle tamamen aynı olup kuyucuklara nematod süspansiyonu yerine sadece distile su verilmiştir.

100 infektif Juvenil için

1. grup: *S. glaseri*, *H. bacteriophora*, *S. glaseri* + *H. bacteriophora*

1- 100 IJ *S. glaseri*

2- 100 IJ *H. bacteriophora*

3- 50 IJ *S. glaseri* + 50 IJ *H. bacteriophora*

2. grup: *S. weiseri*, *H. bacteriophora*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora*

1- 100 IJ *S. weiseri*

2- 100 IJ *H. bacteriophora*

3- 50 IJ *S. weiseri* + 50 IJ *H. bacteriophora*

3. grup: *S. weiseri*, *S. glaseri*, *S. weiseri* + *S. glaseri*

1- 100 IJ *S. weiseri*

2- 100 IJ *S. glaseri*

3- 50 IJ *S. weiseri* + 50 IJ *S. glaseri*

4. grup: *S. weiseri* + *S. glaseri* + *H. bacteriophora*

33 IJ *S. weiseri* + 33 IJ *S. glaseri* + 33 IJ *H. bacteriophora*

Kontrol: Hazırlanan kontrol düzenekleri deney düzenekleriyle tamamen aynı olup kuyucuklara nematod süspansiyonu yerine sadece distile su verilmiştir.

Nematod süspansiyonlarının doku kültür kaplarına eklenmesinden 1 saat sonra her gözeneğe bir adet son dönem *C. elephas* larvası bırakılmıştır (Karagoz vd., 2009). Tüm deney düzenekleri oda sıcaklığında (23-24 °C) ve karanlık ortamda tutulmuştur. Deneyler bir hafta süreyle her gün kontrol edilerek ölü larvalar tespit edilmiş ve kayıt altına alınmıştır. Kontroller sonrası kadvralar nematod çıkışlarının gözlenmesi için White trap sistemine aktarılmıştır (Kaya ve Stock, 1997).

Her karakterde 24 larva kullanılmış ve tüm denemeler 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

3.5.2. *Polyphyla fullo* larvalarına karşı entomopatojen nematodların etkinliğinin denemesi

Bu zararlının 2. ve 3. dönem larvalarına karşı *S. glaseri* ve *H. bacteriophora* türlerine ait nematodlar tek tek ve bir arada kombine edilerek kullanılmıştır. *P. fullo* denemeleri iki farklı aşamada yürütülmüştür. Denemelerde önce plastik kavanozlar daha sonra ise saksı düzenekleri kullanılmıştır.



Şekil 3.5. Denemelerde kullanılan plastik kavanoz ve saksı düzenekleri

3.5.2.1. Plastik kavanoz denemeleri

Plastik kavanoz denemeleri için 350 ml'lik kapaklı plastik kavanozlar içerisine çilek alanından alınıp, steril edilmiş 100 g tınlı toprak (kum %48,19; kil %10,10; silt %41,71) eklenmiştir. Bu toprakların nem oranının %10 olacak şekilde ayarlanması için kaplardaki topraklara 3 ml distile su ilave edilmiştir. Her kap içerisine 1 adet *P. fullo* larvası bırakılmış ve nematod uygulamasından önce larvanın yerleşmesi için 1 saat beklenmiştir. Hazırlanan bu ortamın yüzey kısmına her santimetrekareye 50 ve 100 IJ düşecek şekilde 2 farklı nematod dozu uygulanmıştır.

Çalışmada kullanılan uygulamalar;

Her cm² ye 50 infektif Juvenil

1- 50 IJ *S. glaseri* /cm²

2- 50 IJ *H. bacteriophora* /cm²

3- 25 IJ *S. glaseri* + 25 IJ *H. bacteriophora* /cm²

4- Her düzenek için hazırlanan kontrol gruplarına nematod süspansiyonu yerine sadece distile su verilmiştir.

Her cm² ye 100 infektif Juvenil

1- 100 IJ *S. glaseri* /cm²

2- 100 IJ *H. bacteriophora* /cm²

3- 50 IJ *S. glaseri* + 50 IJ *H. bacteriophora* /cm²

4- Her düzenek için hazırlanan kontrol gruplarına nematod süspansiyonu yerine sadece distile su verilmiştir.

Tüm deney düzenekleri oda sıcaklığında (23-24°C) ve karanlık ortamda tutulmuştur. Plastik kavanozlar bir hafta süreyle her gün kontrol edilerek ölü larvalar tespit edilmiş ve nematod çıkışlarının gözlenmesi için kadavralar White trap sistemine alınmıştır (Kaya ve Stock, 1997). Her nematod türü ve kontrol grubu için 10 kavanoz kullanılmıştır ve denemeler 3 kez tekrarlanmıştır.

3.5.2.2. Saksı denemeleri

Saksı denemelerinde 1 litrelik plastik saksılar kullanılmış ve içlerine çilek üretim alanından alınıp steril edilmiş, 1 kg tınlı toprak konulmuştur (toprağın içeriği daha önce verilmişti). Çilek alanlarında her fidenin kök kısmında genelde bir tek larvaya rastlandığı için her saksıya 1 adet *P. fullo* larvası bırakılmış ve larvaların beslenmesi için ortama havuç eklenmiştir. Saksı denemelerinde 100 IJ/cm² olacak şekilde nematod süspansiyonları kullanılmıştır.

Yapılan uygulamalar;

1- 100 IJ *S. glaseri* /cm²

2- 100 IJ *H. bacteriophora*/cm²

3- 50 IJ *S. glaseri* + 50 IJ *H. bacteriophora*/cm²

4- Kontrol grubunda yer alan saksılara sadece distile su verilmiştir.

Toprakların nem oranı %10 olacak şekilde distile su ilave edilerek ayarlanmıştır. Saksılardaki topraklar 7 gün sonra boşaltılarak ölü ve canlı larva sayıları belirlenmiştir. Ölü larvalar olası nematod çıkışlarını gözlemleyebilmek için White-

trap sistemine aktarılmıştır (White, 1927). Her nematod türü ve kontrol grubu için 10 saksı kullanılmış ve denemeler 3 kez tekrarlanmıştır.

Hem *C. elephas* hem de *P. fullo* ile yapılan tüm kombinasyon denemelerinde kadavrada meydana gelen üremelerin kullanılan nematodların hangisine ait olduğu yeni nesil IJ'lerin boy uzunluklarına bakılarak belirlenmiştir.

3.6. İstatistik Analizler

Larva ölüm oranlarına tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) uygulanmış ve gruplar arasındaki farklılıklar Tukey çoklu testi ile belirlenmiştir ($P \leq 0.05$) (SPSS 2010). Ölüm oranlarına Abbott uygulandıktan sonra (Abbott, 1925) verilere arcsin transformasyonu yapılmıştır. Ancak *C. elephas* larvalarına karşı yapılan *S. weiseri* + *S. glaseri* ikili kombinasyon uygulaması ve *S. weiseri* + *S. glaseri* + *H. bacteriophora* üçlü kombinasyon uygulamasında larva ölüm oranlarına Abbott uygulanmamıştır.

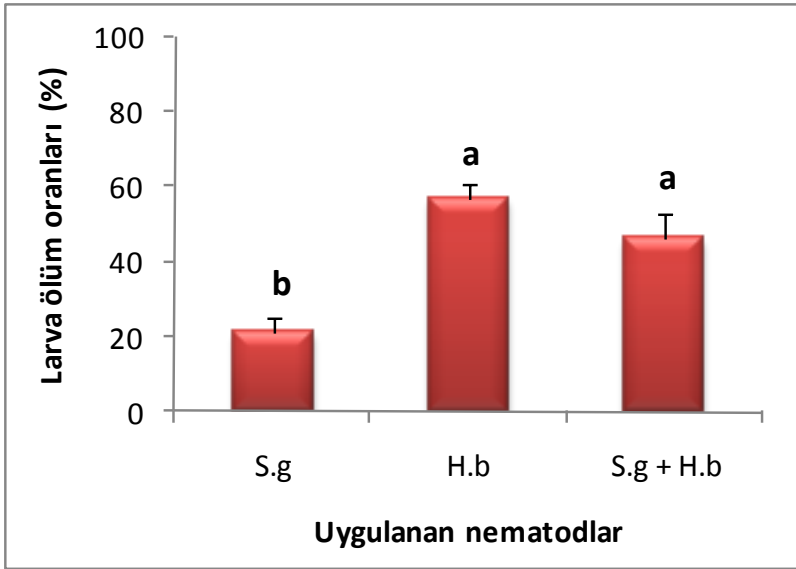
4. BULGULAR

4.1. *Curculio elephas* Larvalarına Yönelik Yapılan Denemeler

4.1.1. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora* ve *S. glaseri* + *H. bacteriophora* uygulaması

50 infektif juvenil için

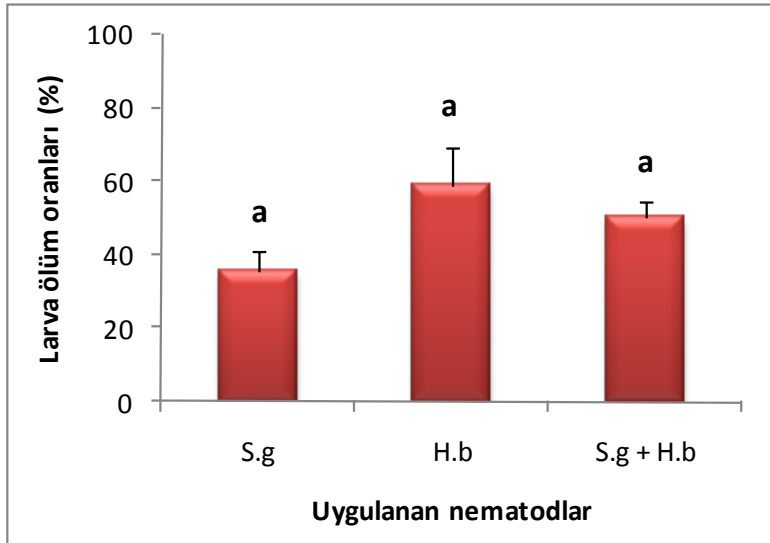
Yapılan denemelerde *C. elephas* larvalarının ölüm oranları *S. glaseri* için %21, *H. bacteriophora* için %56 ve *S. glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu için ise %46 bulunmuştur. Yapılan analizler sonucunda *H. bacteriophora* ile *S. glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu arasında istatistiksel bir fark gözlenmezken, *S. glaseri* ile diğer gruplar arasında önemli ölçüde fark olduğu tespit edilmiştir ($F \leq 12,74$; $df = 2,6$; $P \leq 0,05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S.glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%) (S.g: *Steinernema glaseri*, H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

100 infektif juvenil için

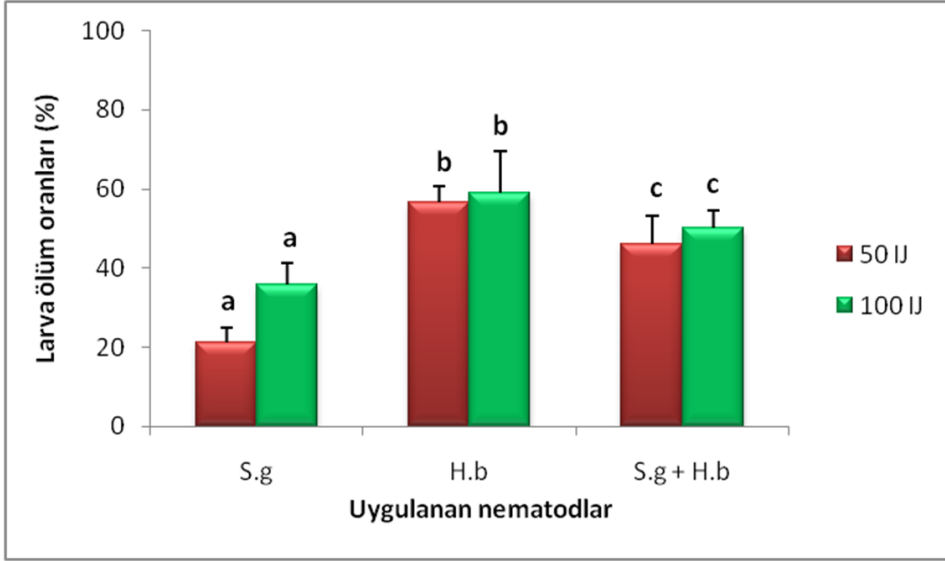
100 IJ kullanılarak yapılan denemelerde *C. elephas* larvalarının ölüm oranları *S. glaseri* için %35, *H. bacteriophora* için %59 ve *S. glaseri* + *H. bacteriophora* için %50 bulunmuştur. Her ne kadar *H. bacteriophora* diğer gruplardan daha fazla ölüm oranı göstermiş olsa da, yapılan istatistiksel analizler sonucunda nematod uygulamaları arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür ($F= 3,75$; $df= 2,6$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S.glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%) (S.g: *Steinernema glaseri*, H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

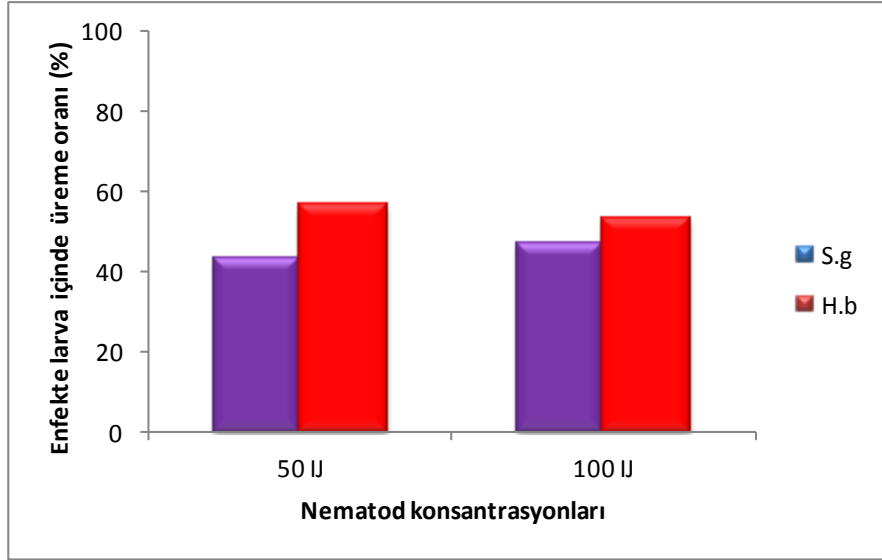
Elli ve 100 IJ'lik iki farklı nematod dozu kullanıldığında meydana gelen *C. elephas* larvalarının ölüm oranları *S. glaseri*' ya ait 50 IJ için %21 iken, IJ sayısı iki katına çıkarıldığında bu oran %35 olmuştur. Ancak 50 ve 100 IJ'lik konsantrasyonlar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır ($F= 6,67$; $df= 1,4$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.3). *H.bacteriophora* türü nematodlar kullanıldığında larva ölüm oranı 50 IJ için %56, 100 IJ uygulandığında ise %59 olarak tespit edilmiş ve gruplar arasında önemli bir fark saptanmamıştır ($F= 0,06$; $df= 1,4$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.3). *S. glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyon grubunda 50 ve 100 IJ için sırasıyla %46 ve %50'lik larva ölüm oranları tespit edilmiş ancak bu iki

konsantrasyonda meydana gelen ölüm oranları arasında da istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($F= 3,87$; $df= 1,4$; $P\leq 0.05$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *Curculio elephas* larvalarına karşı kullanılan *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S. glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonunun 50 ve 100 infektif juvenil uygulamalarının karşılaştırılması (%) (S.g: *Steinernema glaseri*, H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

Entomopatojen nematodlar ikili olarak *S.glaseri* + *H. bacteriophora* şeklinde uygulandıkları zaman 50 IJ'lik konsantrasyonda ölen larvaların %44'ünde *S. glaseri*, %56'sında ise *H. bacteriophora* türünün üreyip kavadradan çıkış yaptığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara benzer olarak, 100 IJ uygulamasında kavadraların % 47'sinde *S. glaseri*, %53'ünde ise *H. bacteriophora* türü nematodların üredikleri anlaşılmıştır (Şekil 4.4).



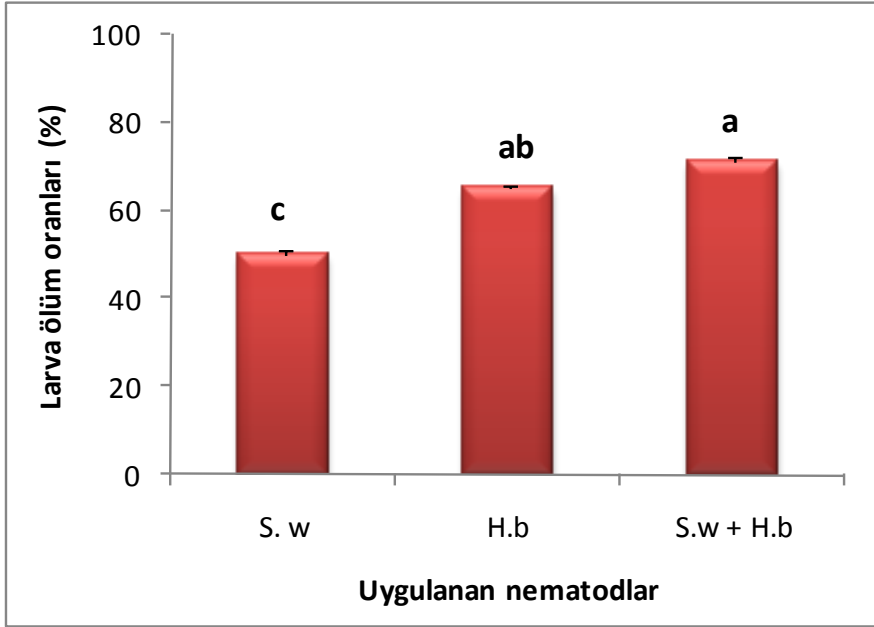
Şekil 4.4. *Curculio elephas* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları (S.g: *Steinernema glaseri*, H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

4.1.2. *Steinernema weiseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora* uygulaması

50 infektif juvenil için

Bu grupta *S. weiseri* ve *H. bacteriophora* türü nematodlar ilk önce tek tek daha sonra kombine edilerek uygulandığında, *C. elephas* larvalarının ölüm oranları *S. weiseri* için %54, *H. bacteriophora* için %67 ve *S. weiseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu için %73 olmuştur.

Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi yapıldığında, *H. bacteriophora* ile kombinasyon grubu arasında önemli bir fark gözlenmez iken, *S. weiseri* ile diğer gruplar arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($F= 6,53$; $df= 2,6$; $P\leq 0.05$) (Şekil 4.5).

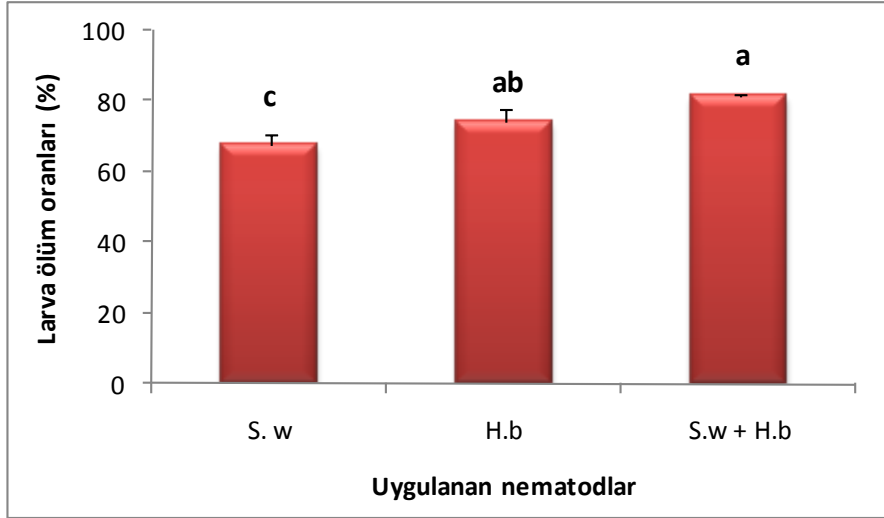


Şekil 4.5. *Steinernema weiseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%) (S.w: *Steinernema weiseri* H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

100 infektif juvenil için

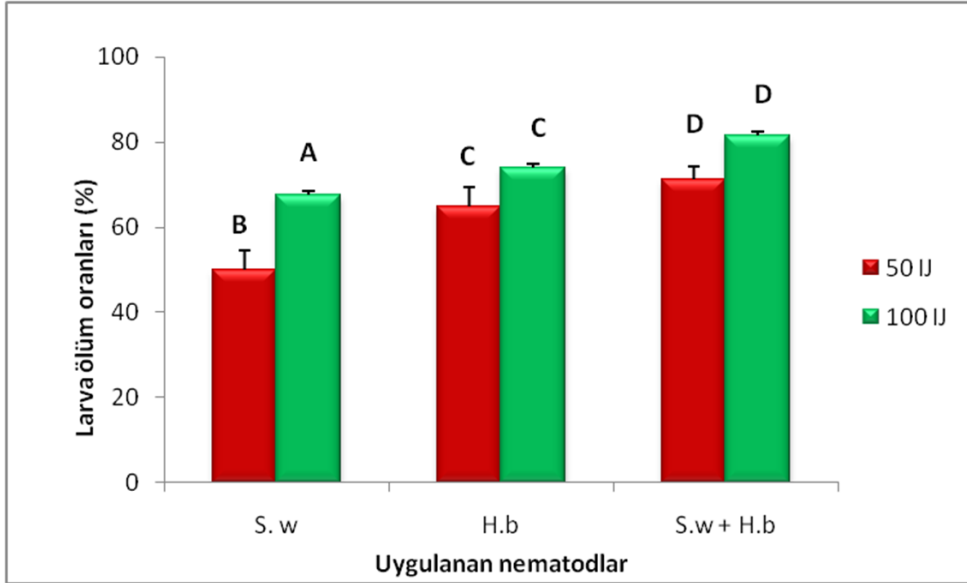
Her bir kuyucuk içerisine verilen nematod sayısı 100 IJ olacak şekilde ayarlandığında larva ölüm oranı en fazla *S. weiseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonundan (%83) elde edilmiş, bunu sırasıyla *H. bacteriophora* (%76) ve *S. weiseri* (%70) takip etmiştir.

Sonuçlar istatistiki olarak değerlendirildiğinde *H. bacteriophora* ile kombinasyon grubu arasında önemli bir farkın olmadığı ancak hem *H. bacteriophora* hem de *S. weiseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonunun *S. weiseri*'den istatistiksel olarak daha fazla larva öldürdüğü görülebilmektedir. ($F= 6,527$; $df= 2,6$; $P\leq 0.05$) (Şekil 4.6).



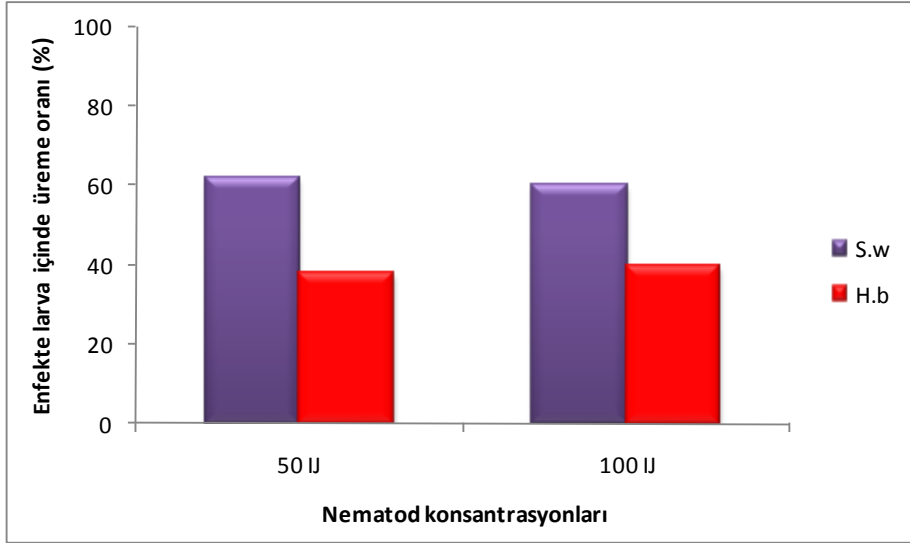
Şekil 4.6. *Steinernema weiseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%) (S.w: *Steinernema weiseri*, H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

İki farklı konsantrasyon 50 ve 100 IJ kıyaslandığında bu gruptaki tüm deney grupları için 100 IJ kullanıldığında larva ölüm oranlarının 50 IJ'e oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, *H. bacteriophora* ($F= 2,24$; $df= 1,4$; $P \leq 0,05$) ve *S. weiseri* + *H. bacteriophora* ikili kombinasyonunun ($F= 11,86$; $df= 1,4$; $P \leq 0,05$) 50 ve 100 IJ'lik konsantrasyonları arasında istatistiksel farklılık bulunamamıştır (Şekil 4.6). Diğer yandan, *S. weiseri* gurubunun 50 ve 100 IJ'lik uygulamaları arasındaki farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir ($F= 10,33$; $df= 1,4$; $P \leq 0,05$) (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *Curculio elephas* larvalarına karşı kullanılan *Steinernema weiseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonunun 50 ve 100 infeksiif juvenil uygulamalarının kıyaslanması (%) (S.w: *Steinernema weiseri*, H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

Steinernema weiseri + *H. bacteriophora* şeklindeki kombinasyon uygulamasında içerisinde *S. weiseri* üreyen kadvraların oranı *H. bacteriophora* olanlara göre daha fazla bulunmuştur. Elli IJ'lik konsantrasyonda ölen larvaların %62'sinde *S. weiseri*, %38'inde ise *H. bacteriophora* türünün, 100 IJ uygulamasında ise kadvraların %60'ında *S. weiseri*, %40'ında *H. bacteriophora* türü nematodların üredikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

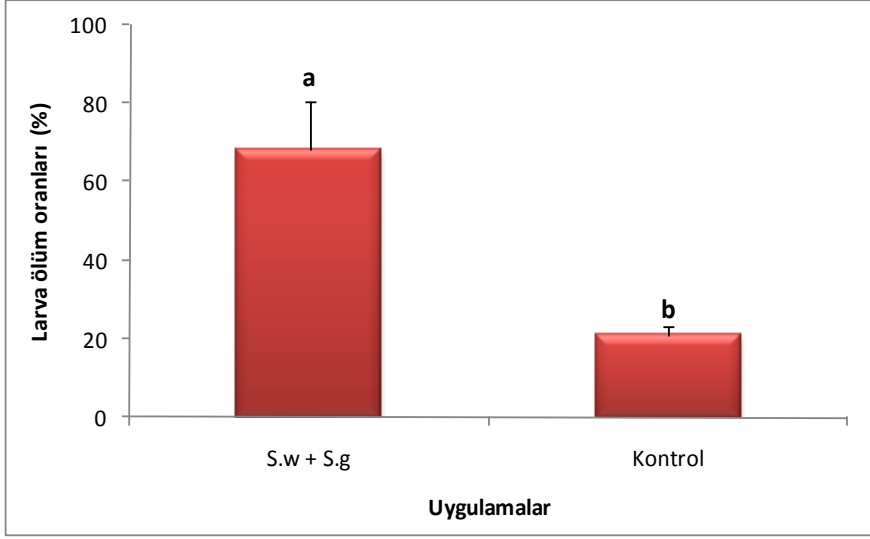


Şekil 4.8. *Curculio elephas* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları (S.w: *Steinernema weiseri*, H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

4.1.3. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* uygulaması

50 infektif juvenil için

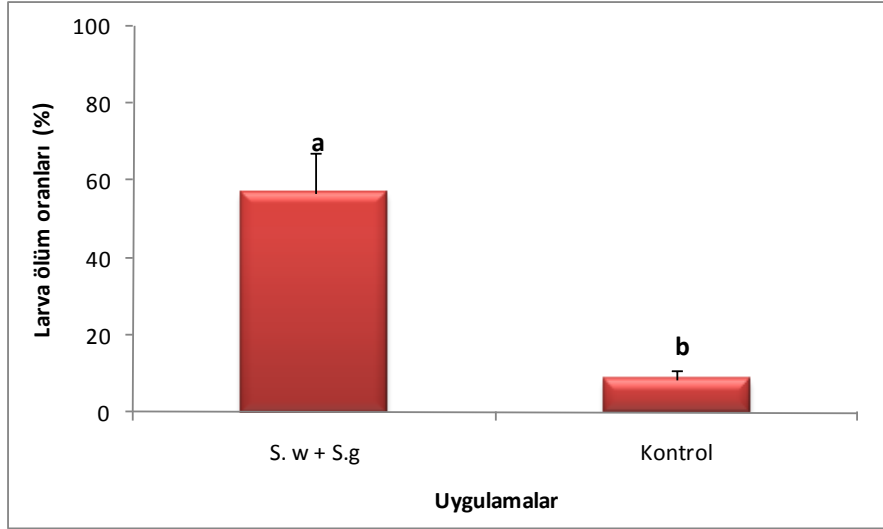
Steinernema weiseri ile *S. glaseri* aynı familyaya (Steinernematidae) ait nematodlardır. Bu iki nematod türünün kombine edilerek uygulanması sonucunda *C. elephas* larvalarının ölüm oranları deney grubu için %68, kontrol grubu içinse %20 olarak saptanmıştır. İki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($F= 8,88$; $df= 1,4$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* ikili kombinasyonunun 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%) (S.w: *Steinernema weiseri*, S.g: *Steinernema glaseri*)

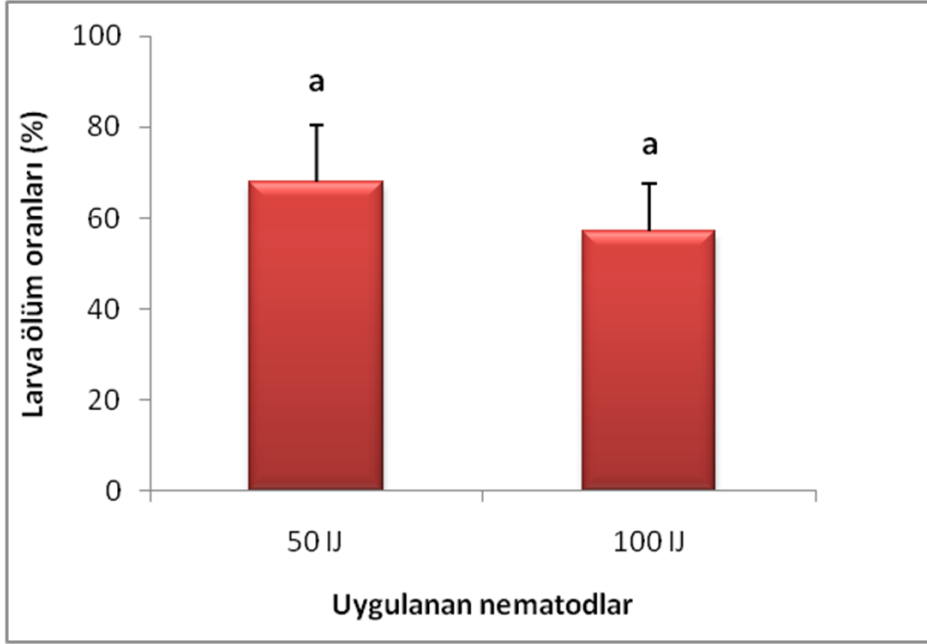
100 infektif juvenil için

Yapılan 100 IJ'lik uygulamada ise larva ölüm oranları *S. weiseri* + *S. glaseri* grubu için %56, kontrol grubu içinse %8 olarak saptanmıştır. Veriler istatistiksel olarak analiz edildiğinde kontrol grubundaki ölüm oranı ile nematod grubu arasındaki farkın önemli olduğu anlaşılmıştır ($F= 18,15$; $df= 1,4$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.10).



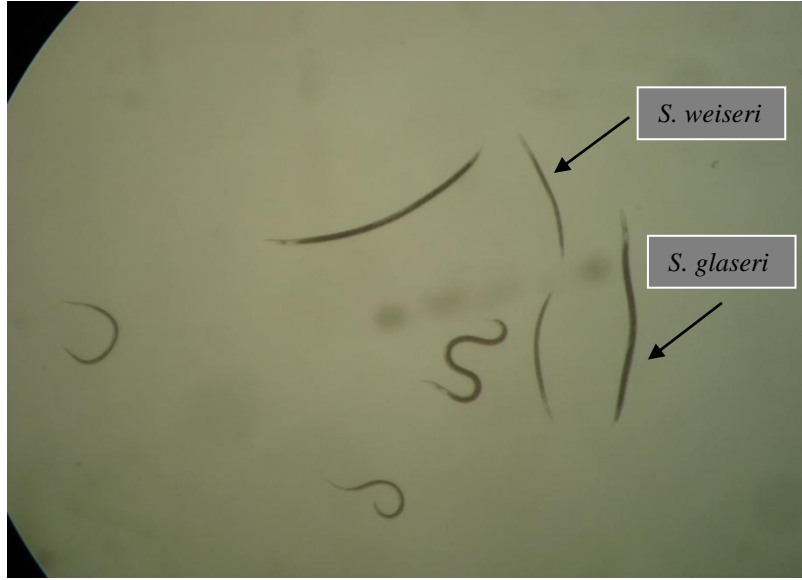
Şekil 4.10. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* ikili kombinasyonunun 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%) (S.w: *Steinernema weiseri*, S.g: *Steinernema glaseri*)

Elli IJ uygulamasında larva ölüm oranı %68 olurken, 100 IJ kullanıldığında bu oranın %56'ya düştüğü görülmüştür. Ancak yapılan analizler sonucunda ortaya çıkan farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($F= 0,55$; $df= 1,4$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.11).



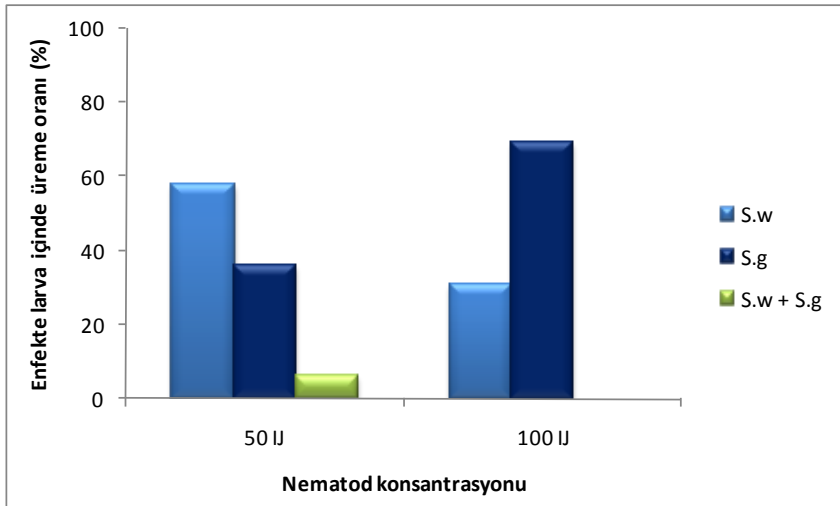
Şekil 4.11. *Steinernema weiseri* ile *Steinernema glaseri* türü entomopatojen nematodların bir arada kullanıldığı iki farklı deneme sonucunun kıyaslanması (%) (S.w: *Steinernema weiseri*, S.g: *Steinernema glaseri*).

Steinernema cinsine ait iki nematod türü olan *S. weiseri* ve *S. glaseri* birlikte uygulandıklarında, 50 IJ'lik nematod konsantrasyonunda kadvraların %58'inde *S. weiseri*, %36'sında *S. glaseri* ve ilginç bir durum olarak %6'sında her iki nematod türü aynı larva içerisinde üreme göstermiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Aynı larva içinde üreyen iki nematod türüne ait (*Steinernema weiseri* ile *Steinernema glaseri*) infektif juveniller

Bu sonuçlardan farklı olarak 100 IJ'lik konsantrasyonda kadavraların çoğunda bu kez *H. bacteriophora* (%69) üremiş olup, *S. weiseri* için bu oran %31 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.13).

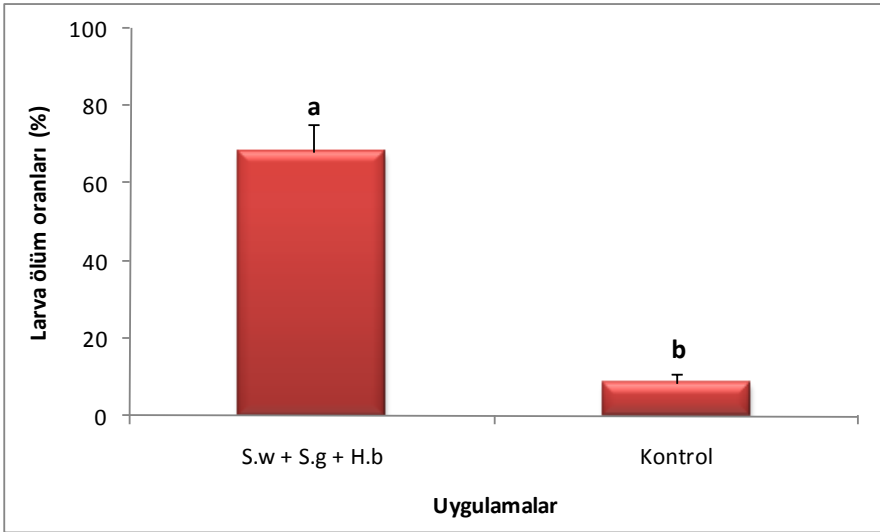


Şekil 4.13. *Curculio elephas* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları (S.w: *Steinernema weiseri*, S.g: *Steinernema glaseri*, H.b: *Heterorhabditis bacteriophora*).

4.1.4. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* + *Heterorhabditis bacteriophora* üçlü kombinasyon uygulaması

50 infektif juvenil için

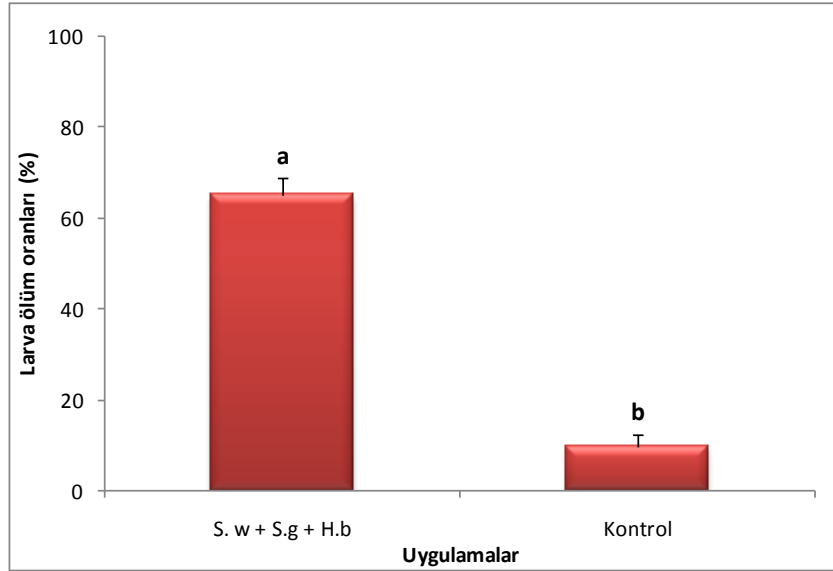
Bu uygulamada denemelerde kullanılan 3 farklı nematod türü 50 IJ olarak kombine edilerek *C. elephas* larvaları üzerinde denenmiştir. Larvaların ölüm oranları *S. weiseri*+ *S. glaseri* + *H. bacteriophora* için %68, kontrol grubu için %8 olarak saptanmıştır. Yapılan istatistiki analizler kontrol grubu ile deney grubu arasındaki farkın önemli olduğunu göstermiştir ($F= 43,30$; $df= 1,4$; $P \leq 0,05$) (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* + *Heterorhabditis bacteriophora* üçlü kombinasyonunun 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).

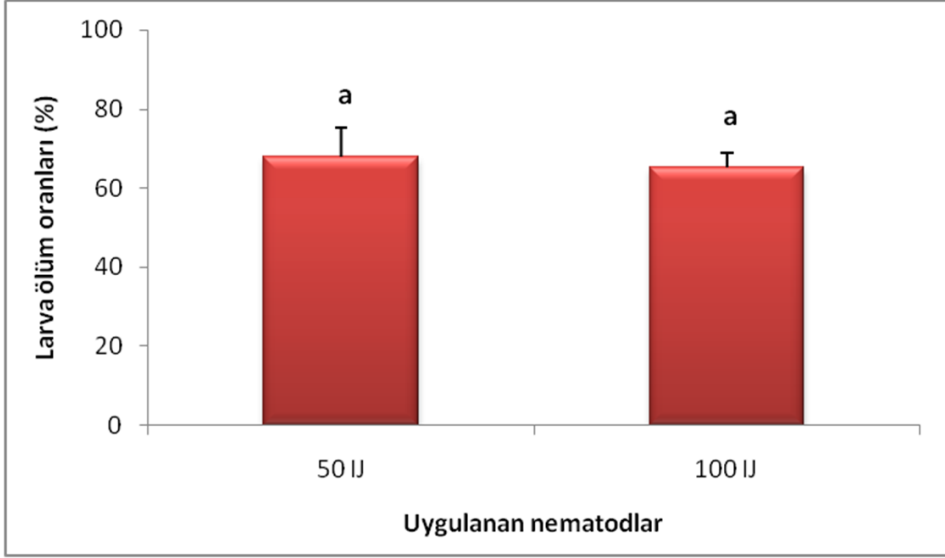
100 infektif juvenil için

Üçlü kombinasyonda kullanılan nematod dozu iki katına çıkarıldığında deney grubunda larva ölüm oranı %65 olarak saptanmış olup kontrol grubunda bu oranın sadece %9 olduğu tespit edilmiştir ($F= 122,46$; $df= 1,4$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.15).



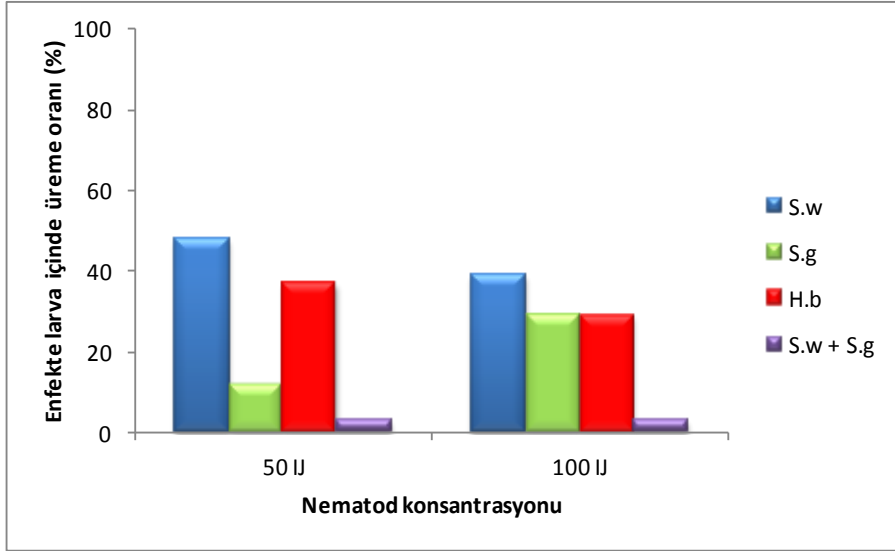
Şekil 4.15. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* + *Heterorhabditis bacteriophora* kombinasyonu 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).

Steinernema weiseri + *S. glaseri* + *H. bacteriophora* üçlü kombinasyon grubunun 50 ve 100 IJ uygulamalarını kıyasladığımızda gruplar arasında istatistiksel bir farkın olmadığı gözlenmiştir ($F= 0,16$; $df= 1,4$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. *Steinernema weiseri* + *Steinernema glaseri* + *Heterorhabditis bacteriophora* üçlü kombinasyon uygulamasının iki farklı deneme sonucunun kıyaslanması (%).

Entomopatojen nematodların 3 farklı türü bir arada uygulandığında (*S. weiseri* + *S. glaseri* + *H. bacteriophora*) kadavralar içerisinde en fazla üremeyi hem 50 hem de 100 IJ'lik konsantrasyonlarda *S. weiseri* (sırasıyla %48 ve %39) göstermiştir. *H. bacteriophora* türü 50 IJ'lik konsantrasyonda kadavraların %37, 100 IJ'de ise %29'unda üremiştir. *S. glaseri* türüne ait nematodların 50 ve 100 IJ'lik konsantrasyonlarda sırasıyla %12 ve %29'luk üreme gösterdikleri tespit edilmiştir. Hem 50 hem de 100 IJ'lik nematod uygulamalarıyla meydana gelen kadavraların %3'ünde *S. weiseri* ile *S. glaseri* türleri aynı kadavra içerisinde birlikte üreme göstermişlerdir (Şekil 4.17).

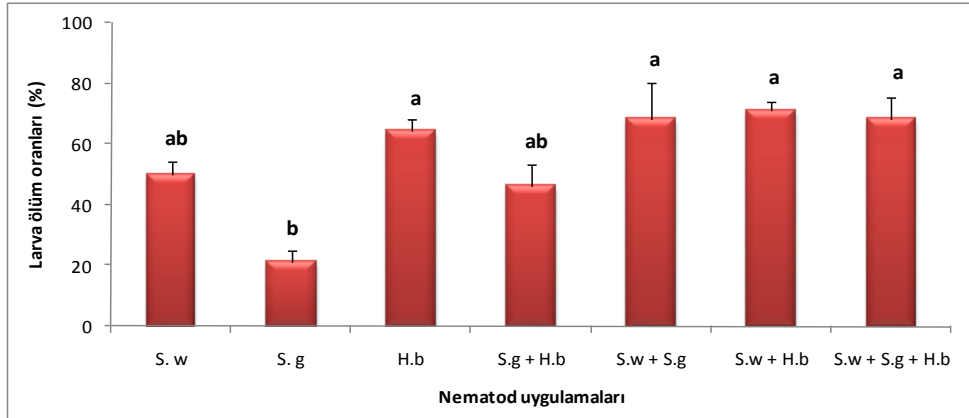


Şekil 4.17. *Curculio elephas* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları

4.1.5 *S. weiseri*, *S. glaseri*, *H. bacteriophora*, *S. weiseri* + *S. glaseri*, *S. weiseri* + *H. bacteriophora*, *S. glaseri* + *H. bacteriophora*, *S. weiseri* + *S. glaseri* + *H. bacteriophora* uygulaması

50 infektif juvenil için

Tüm veriler bir arada değerlendirildiğinde test edilen gruplar arasında en fazla etkinliği *H. bacteriophora* (%64), *S. weiseri* + *S. glaseri* (%68), *S. weiseri* + *H. bacteriophora* (%71) ve *S. weiseri* + *S. glaseri* + *H. bacteriophora* (%68) uygulamaları göstermiştir. Bu grupta yer alan uygulamalar arasında istatistiksel farklılık bulunamamıştır. En düşük larva ölüm oranı ise *S. glaseri* türü tek başına kullanıldığında elde edilmiştir (%21). Yukarıda adı geçen ilk grup içerisinde yer alan uygulamalar ile *S. glaseri* arasında önemli ölçüde fark olduğu saptanmıştır ($F= 5,40$; $df= 6,14$; $P \leq 0.05$). *S. weiseri* tek başına ve *H. bacteriophora* ile birlikte kombine edilerek uygulandığında (*S.w* + *H.b* şeklinde) elde edilen sonuçlar *S. glaseri*'den istatistik olarak farklı olduklarını ancak diğer uygulamalarla aralarında önemli bir farkın olmadığını göstermiştir (Şekil 4.18).

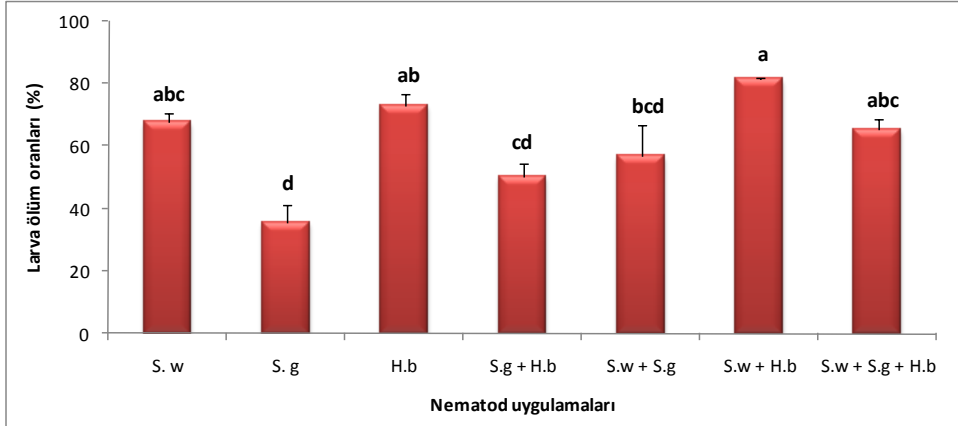


Şekil 4.18. Tüm deneme grupları 50 IJ olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).

100 infektif juvenil için

Yapılan denemelerde tüm grupların 100 IJ uygulamasına toplu olarak bakıldığında *C. elephas* larvaları üzerinde en yüksek ölüm oranını *S. weiseri* ile *H. bacteriophora*'nın kombine ederek kullanıldığı grup (%81) göstermiştir. Daha sonra bunları *H. bacteriophora*'nın tek başına kullanıldığı grup (%73), *S. weiseri* (%67), *S. weiseri* + *S. glaseri* + *H. bacteriophora* (%65) izlemiştir. Ancak bu gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunamamıştır.

En düşük larva ölüm oranı ise *S. glaseri* (%35) türünün tek başına kullanıldığı grupta tespit edilmiştir. En fazla ölüm oranının görüldüğü ilk gruptaki nematodlar ile *S. glaseri* arasındaki fark önemli bulunmuş ($F= 9,48$; $df= 6,14$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.19) ancak *S. glaseri* + *H. bacteriophora* ve *S. weiseri* + *S. glaseri* daha fazla ölüm oranı meydana getirmiş olmasına rağmen *S. glaseri* ile aralarında istatistiksel açıdan fark tespit edilememiştir ($P \leq 0.05$).



Şekil 4.19. Tüm deneme grupları 100 IJ olarak uygulandığında ortaya çıkan *Curculio elephas* larva ölüm oranları (%).

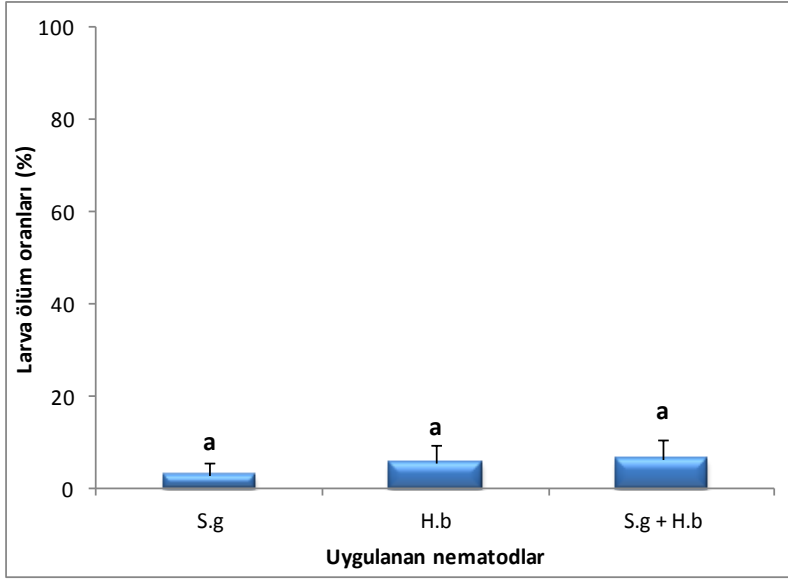
4.2. *Polyphylla fullo* Larvalarına Yönelik Yapılan Denemeler

4.2.1. Plastik kap denemeleri

4.2.1.1. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora* ve *S. glaseri* + *H. bacteriophora* uygulaması

50 infektif juvenil için

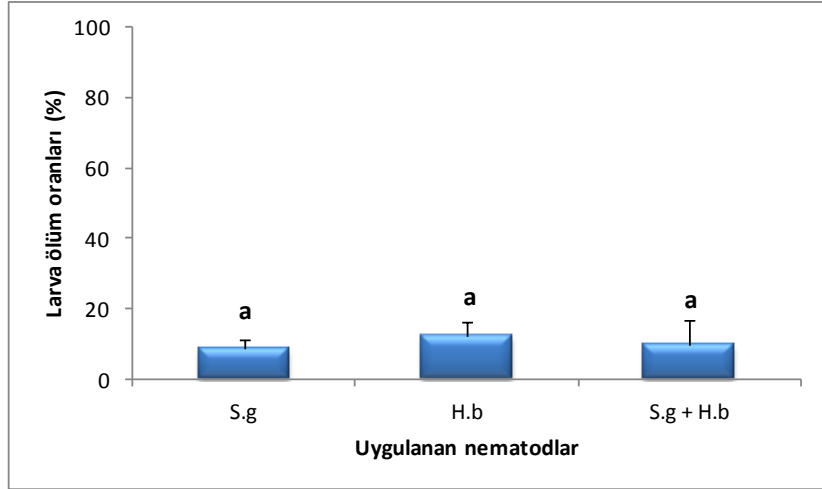
Laboratuvar koşullarında yapılan plastik kap denemeleri 10 gün boyunca kontrol edilmiştir. Bunun sonunda *S. glaseri* ile yapılan denemelerde *P. fullo* larvalarının ölüm oranı % 2,9, *H. bacteriophora* ile yapılanlarda % 5,7, bu iki türün kombinasyon uygulamasında (*S. glaseri* + *H. bacteriophora*) ise ölüm oranı % 6,3 olarak tespit edilmiştir. Yapılan analizler bu üç farklı nematod uygulaması arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını göstermiştir ($F= 0,601$; $df= 2,6$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.20.).



Şekil 4.20. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S.glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 50 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Polyphylla fullo* larvalarının ölüm oranları (%).

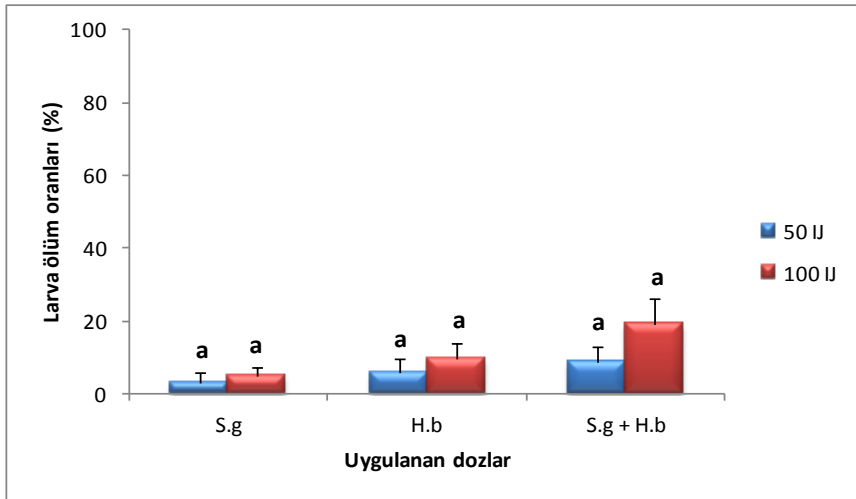
100 infektif juvenil için

Bu denemelerde *P. fullo* larvalarının ölüm oranları *S. glaseri* kullanıldığında % 8.8, *H. bacteriophora* kullanıldığında % 12, *S. glaseri* + *H. bacteriophora* birlikte verildiğinde ise % 9.9 olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda gruplar arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür ($F= 0,275$; $df= 2,6$; $P \leq 0.05$) (Şekil 4.21).



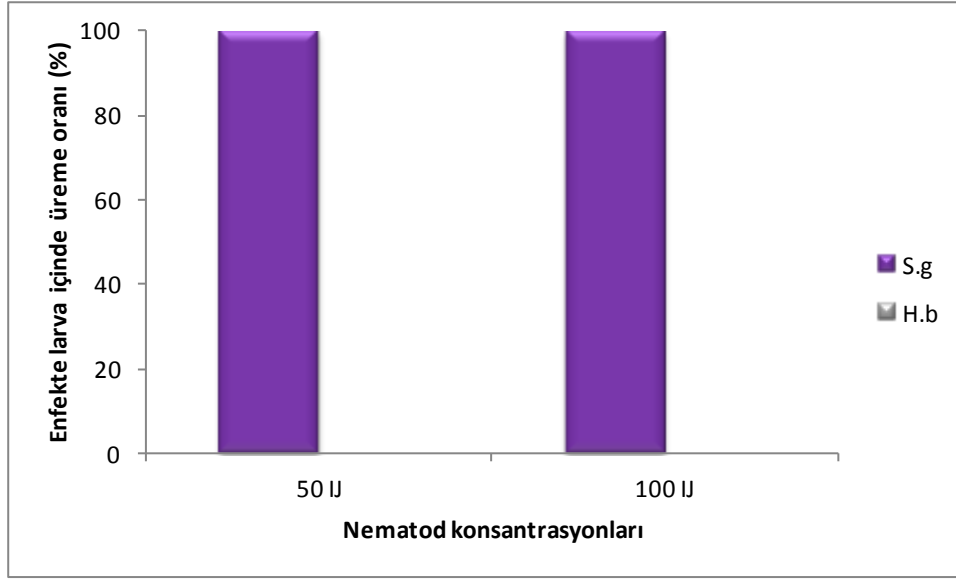
Şekil 4.21. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *S.glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonu 100 infektif juvenil olarak uygulandığında ortaya çıkan *Polyphylla fullo* larvalarının ölüm oranları (%).

Kullanılan farklı nematod konsantrasyonları kıyaslandığında *P. fullo* larvalarının ölüm oranları arasında konsantrasyona bağlı olarak önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir ($P \leq 0.05$) (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. *Polyphylla fullo* larvalarına karşı 50 ve 100 infektif juvenil uygulamalarının kıyaslanması (%).

İki farklı cinse ait entomopatojen nematod türü (*S. glaseri* + *H. bacteriophora*) *P. fullo* larvalarına karşı plastik kaplar içinde birlikte uygulandıklarında kadavradan çıkan yeni nesil nematodların hepsinin *S. glaseri* türüne ait olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.23).

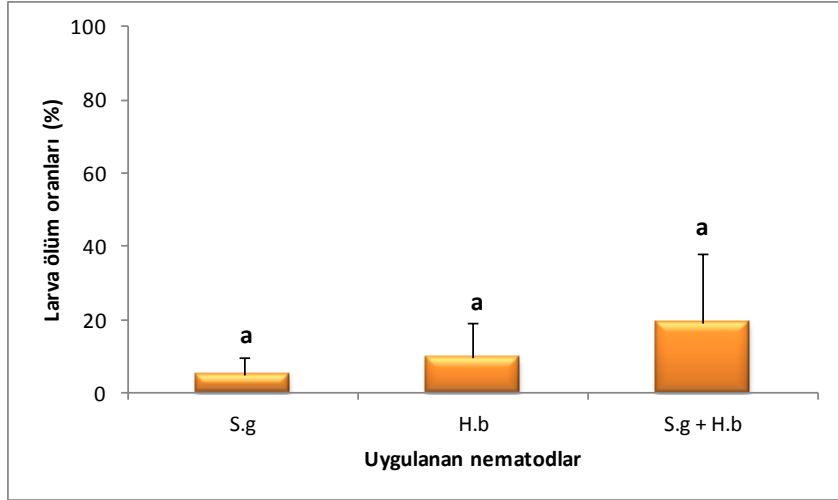


Şekil 4.23. *Polyphylla fullo* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları

4.2.2. Saksı denemeleri

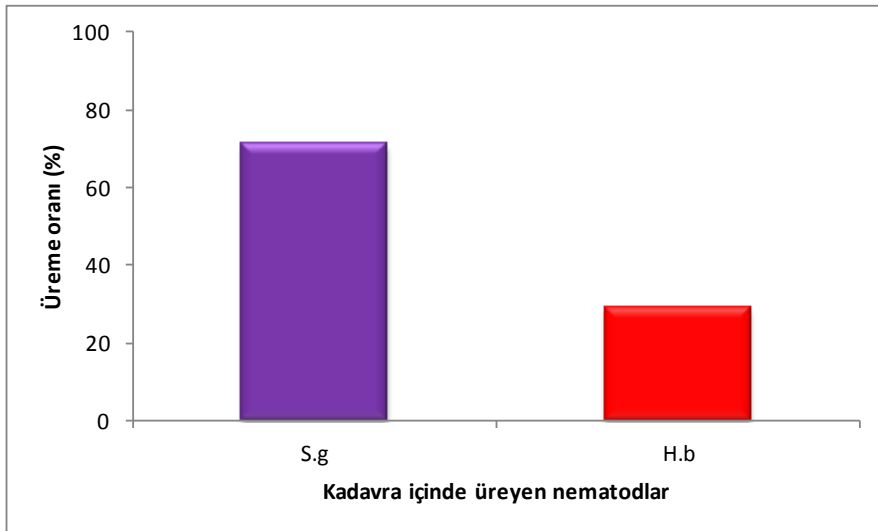
4.2.2.1. *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora* ve *S. glaseri* + *H. bacteriophora* uygulaması

Saksı denemelerinde nematod konsantrasyonu 100 IJ/cm² olacak şekilde uygulama yapılmıştır. Bunun sonunda *S. glaseri* ile yapılan denemelerde *P. fullo* larvalarının ölüm oranı % 4.7, *H. bacteriophora* ile yapılanlarda % 9.5, bu iki türün kombinasyon uygulamasında ise ölüm oranı % 19 olarak bulunmuştur. Yapılan analizler bu üç farklı uygulama arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını göstermiştir (F= 0,357; df= 2; P ≤ 0.05) (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Saksı denemeleri sonucunda meydana gelen *Polyphylla fullo* larva ölüm oranları (%).

Saksı denemelerinde *S. glaseri* + *H. bacteriophora* birlikte uygulandıktan sonra ölen larvaların %71'inde *S. glaseri*, %29'unda ise *H. bacteriophora* türünün ürediği belirlenmiştir (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. *Polyphylla fullo* kadavrası içerisinde nematodların üreme oranları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez kapsamında nematod enfeksiyonuna direnç gösterdikleri bilinen *C. elephas* ve *P. fullo* larvalarına karşı farklı nematod türleri önce tek tek daha sonra bir arada kombinasyonlar şeklinde 50 ve 100 IJ uygulanarak etkinlik denemeleri yapılmıştır.

5.1. *Curculio elephas* Larvalarına Yönelik Yapılan Denemeler

Kestane alanlarında önemli zarara neden olan *C. elephas* larvalarına karşı yürütülen denemelerde kullanılan 2 farklı *Steinernema* türü (*S. weiseri*, *S. glaseri*) ile *H. bacteriophora* türlerine ait entomopatojen nematodların 50 ve 100 IJ uygulamalarında larva ölüm oranları tespit edilmiştir. *S. glaseri* türüne ait nematodlar *C. elephas* larvalarına karşı infektivitesi en düşük; *H. bacteriophora* ise en yüksek tür olarak belirlenmiştir. Farklı nematod türleri ikili ve üçlü kombinasyonlar halinde kullanıldığında genel olarak sinerjistik bir etki meydana gelmiştir. Daha önce *C. elephas* larvalarına karşı entomopatojen nematodların etkinliğini belirlemek üzere yapılan çalışmalarda Kepenekci ve ark. (2004) *C. elephas* larvalarına karşı *H. bacteriophora*, *S. feltiae* ve *S. carpocapsae* türü nematodları denemişlerdir.

Farklı sıcaklık derecelerinde yürüttükleri çalışmada 25°C’de en fazla larva ölüm oranını *H. bacteriophora* izolatlarında (Tur-H1 %72 ve Tur-H2 %96) tespit etmişlerdir. Karagöz ve ark. (2009), *C. elephas* ve *C. splendana* larvalarına karşı Türkiye topraklarından izole edilip tanımlanmış olan *S. feltiae*, *S. weiseri* ve *H. bacteriophora* türü entomopatojen nematodların etkinliklerini test etmişlerdir. Larva başına 50 IJ kullanılarak yürütülen bu çalışmada *C. elephas* larvalarının nematod enfeksiyonuna karşı kısmen direnç gösterdiği saptanmıştır. Bu larvalara karşı test edilen nematodların oda sıcaklığında (23-24 °C) meydana getirdiği ölüm oranları *H. bacteriophora* için %48, *S. feltiae* ve *S. weiseri* içinse %20’nin altında tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bulgular daha önceki sonuçlarla benzer olup yapılan tüm çalışmalar *C. elephas* larvalarına karşı test edilen nematod türleri arasında *H. bacteriophora*’nın en etkili tür olduğunu göstermektedir. Çalışmanın başlangıcında farklı nematod türleri bir arada kullanıldığı zaman sinerjistik bir etkinin ortaya çıkacağı yönündeki hipotezimiz matematiksel olarak doğru çıkmış ancak yapılan istatistiksel analizler aradaki farkın önemli olmadığını göstermiştir.

5.2. *Polyphylla fullo* Larvalarına Yönelik Yapılan Denemeler

5.2.1. Plastik kap denemeleri

Aydın ilindeki çilek alanlarında önemli bir toprak altı zararlısı olan *P. fullo* larvalarına karşı yapılan plastik kap denemeleri 50 ve 100 IJ olarak yürütülmüştür. Elde edilen veriler *S. glaseri*, *H. bacteriophora* ve bunların ikili kombinasyonu (*S. glaseri* + *H. bacteriophora*) şeklindeki tüm uygulamaların *P. fullo* larvaları üzerinde etkisiz olduğunu göstermiştir. Yapılan uygulamalar arasında en düşük infektivite *S. glaseri*'nin tek başına kullanıldığı denemelerden elde edilmiştir.

5.2.2. Saksı denemeleri

Yapılan saksı denemelerinde *S. glaseri*'in plastik kavanoz denemelerinde olduğu gibi *P. fullo* larvalarına karşı en düşük ölüm oranını gösterdiği bulunmuştur. En yüksek ölüm oranı ise *S. glaseri* + *H. bacteriophora* kombinasyonundan elde edilmiştir. Ancak bu uygulamalar arasında istatistiki bir fark bulunamamıştır. Karimi vd., (2010) yaptığı çalışmada İran için önemli bir zararlı olan *Polyphylla adspersa* (Coleoptera: Scarabaeidae)'ye karşı *H. bacteriophora*'yı zararlının 2. ve 3. dönem larva ve pupalarına karşı test etmişlerdir. Larva ölümlerinin %42 olduğunu ve 2. dönem larvaların 3. dönem larvalara göre nematod enfeksiyonuna daha duyarlı olduğunu saptamışlardır.

Ayrıca *P. adspersa* pupalarının da *H. bacteriophora* enfeksiyonuna karşı oldukça duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada *S. feltiae* ve *S. carpocapsae* türleri de test edilmiş ancak bu iki türe ait nematodların *H. bacteriophora* kadar etkili olmadıkları görülmüştür. Bu nedenle *P. adspersa* ile mücadelede *H. bacteriophora* türü nematodların kullanılabilmesi bildirilmiştir. Bununla birlikte, scarabaeid larvalarının türüne bağlı olarak EPN'lerin etkinliklerinin de farklılık gösterdiği bilinmektedir. Örneğin *H. zealandica* ve *H. bacteriophora* türü nematodlar *Popillia japonica* ve *Cyclocephala borealis* larvaları üzerinde %50'nin üzerinde ölüm oranı gösterirken *H. marelatus* ve *H. indica* türleri bu zararlılar üzerinde %20'den daha az ölüm meydana getirmişlerdir (Grewal vd., 2002). Koppenhöfer ve ark. (2004), 12 farklı scarabaeid larvasına karşı farklı entomopatojen nematod türlerinin etkinliklerini test ettikleri çalışmalarında *H. bacteriophora*, *S. glaseri* ve *S. scarabei* türü nematodları kullanmışlardır.

Elde ettikleri veriler *Popillia japonica* türünün kullanılan tüm nematod türlerine karşı oldukça hassas olduğunu göstermiştir. *Exomala orientalis*, *Rhizotrogus majalis*, *Maladera catanea*, *Phyllophaga crinita*, *Phyllophaga congrua* ve *Phyllophaga georgiana* türlerine ait larvaların *S. scarabei* türü nematodlara karşı oldukça duyarlı oldukları ancak *H. bacteriophora* ve *S. glaseri* enfeksiyonlarına karşı kısmen dirençli oldukları bildirilmiştir. *Ataenius spretulus* türüne ait scarabeid larvalarının ise *H. bacteriophora* nematodlarına oldukça duyarlı oldukları ancak *S. glaseri* ve *S. scarabei* türlerine karşı kısmen duyarlı oldukları belirlenmiştir. Bununla birlikte test edilen hiç bir entomopatojen nematod *Cyclocephala borealis*, *Cyclocephala lurida*, *Cyclocephala pasadena* ve *Cotinis nitida* türü scarabeid larvalarına karşı etkili olamamıştır. Karagöz vd., (2007) Türkiye topraklarından izole edilen 35 entomopatojen nematod izolatını laboratuvarında *P. fullo* larvalarına karşı test etmişlerdir. Bu izolatlardan 26 tanesinin *P. fullo* larvalarını enfekte ettiği ancak kadavra içerisinde üreyip dışarı çıkabilen sadece 3 nematod izolatının *S. feltiae* (izolat 40-4), *S. weiseri* ve *Heterorhabditis* sp. (izolat 09-48) olduğunu rapor etmişlerdir. Elde ettikleri veriler *P. fullo* larvalarının nematod enfeksiyonuna karşı dirençli olduğunu gösteren ilk çalışma olmuştur.

Entomopatojen nematod enfeksiyonuna direnç gösteren zararlılara karşı farklı bir yaklaşım tarzı olarak iki farklı nematod türü veya bir nematod ile bir entomopatojen fungus, bakteri ya da bir insektisit kombinasyon şeklinde uygulamalar yapılmıştır. Choo ve ark. (2002), Güney Kore Cumhuriyetinde yer alan golf sahalarında bitki kökleriyle beslenerek zarar yapan iki farklı Scarabeid larvasına (*Ectinohoplia rufipes* ve *Exomala orientalis*) karşı yürüttükleri alan çalışmasında *S. carpocapsae*, *S. glaseri* ve *Heterorhabditis bacteriophora* türlerine ait entomopatojen nematodları ve bir entomopatojen fungus olan *Beauveria brongniartii* türünün etkinliğini test etmişlerdir. Çalışmada nematod türlerini tek tek, ikili kombinasyonlar halinde ve nematode-fungus kombinasyonu şeklinde kullanmışlardır.

Nematod, fungus ve insektisit (fenitrothion) tek başına *E. rufipes* larvalarına karşı kullanıldığı denemelerde %70.2 ile %79.4, *E. orientalis* larvalarına karşı ise %62.7 ile %82.8 arasında larva ölüm oranları elde edilmiştir. İki farklı nematod türü bir arada kombinasyon şeklinde kullanıldığında herhangi bir sinerjistik etki ortaya çıkmamış ancak *S. carpocapsae* ile *B. brogniartii* bir arada kullanıldığında %84.5 ölüm elde edilmiştir. Bu ölüm oranı *B. brogniartii*'nin tek başına

kullanıldığında elde edilen ölüm oranına göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Yapılan bir başka çalışmada ise *Diabrotica undecimpunctata undecimpunctata* larvalarının ikinci dönemine karşı yürütülen sera denemelerinde *S. carpocapsae*, *S. riobravisi*, *Steinernema* sp. ve *H. bacteriophora* türü nematodlar tek tek ve ikili kombinasyonlar şeklinde test edilmiştir. Elde edilen veriler *D. undecimpunctata* larvalarına karşı nematodların ikili kombinasyonlar şeklinde kullanımının herhangi bir sinerjistik etki yaratmadığını göstermiştir (Choo vd, 1996).

Bu tez çalışmasında yapılan denemeler *P. fullo* larvalarına karşı kullanılan entomopatojen nematodların etkinliğinin oldukça düşük olduğunu göstermiştir. Bu sonucun *P. fullo* larvalarının nematod enfeksiyonuna karşı ortaya koydukları yapısal ve davranışsal özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Entomopatojen nematodların konukçu içerisine girişte en fazla kullandığı yollar anal açıklık, ağız boşluğu ve stigma'lardır (Kaya ve Gaugler, 1993). Bir scarabeid olan *Popilla japonica* larvalarının bacaklarını kullanarak son segmentlerini temizledikleri ve nematod girişine izin vermedikleri belirlenmiştir (Gaugler vd., 1994). Pek çok scarabeid larvasında nematodların en fazla giriş yaptığı stigma'ların elek şeklinde dar gözenekli bir yapıya sahip olduğu ve buraların nematod girişine uygun olmadığı rapor edilmiştir (Forschler ve Gardner, 1991). Nematodlar tarafından tercih edilen ikinci yol ise ağız ve anüstür. Bu her iki açıklığında genişliği bazı türlerde infektif juvenillerin içeriye girmesine engel olacak şekilde dardır (örnek tel kurtları) (Eidt ve Thurston, 1995). Bazı türlerde de mandibullar içeri girmeye çalışan nematodları parçalamaktadır (Gaugler ve Molloy, 1981). Scarabeid larvalarında görülen bir diğer savunma sistemi anüsten bol miktarda ve sıkça dışkı çıkartmaktır. *Heterorhabditis*'lerin kullandığı alternatif bir başka yol olan ince deriden doğrudan giriş yapma da (Bedding ve Molyneux, 1982) kalın kütikülaları nedeniyle Scarabeid larvalarında pek olası görünmemektedir.

Bir scarabeid olan *P. fullo* larvalarının yukarıda sayılan nedenlerden dolayı nematod girişini engellediği düşünülmektedir. Buna ilaveten, içeri girebilen nematodlar böceğin savunma sistemi tarafından kapsül içerisine alınarak inhibe ediliyor olabilir. Ayrıca mutualistik bakterilerin böceğin immün sistemi tarafından baskılanıyor olması da olasılık dahilindedir.

Sonuç olarak, *C. elephas* larvalarına karşı *H. bacteriophora* + *S. weiseri* kombinasyonun kullanılması başarı oranını arttıracak bir yöntem olarak görünmektedir. *P. fullo* larvalarıyla mücadele için ise ya başka entomopatojen nematod tür veya izolatları denenmeli ya da diğere entomopatojen organizmalar (entomopatojen fungus, bakteri gibi) ile nematod kombinasyonları bir arada test edilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Anonymous, 2003. FAO 2003 verileri, www. fao.org.
- Anonymous, 2008. Aydın İl Tarım Müdürlüğü verileri.
- Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economical Entomology**, 18: 265-267.
- 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” [Biol. Control 37 (2006) 32-49]. **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.
- Bedding, R. A., Molyneux, A.S. 1982. Penetration of insect cuticle by infective larvae of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae: Nematoda). **Nematologica** 28: 354-359.
- 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. Maulen, 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: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp 35-56.
- Brown, I. M. Gaugler, R. 1997. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. **Nematologica**. 43: 363-375.
- Burnell, A.M. Stock, S.P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts- lethal pathogens of insect. **Nematology**. 2(1):31–42.

- Choo, H. Y., Koppenhöfer, A. M., Kaya, H. K. 1996. Combination of two entomopathogenic nematode species for suppression of an insect pest. **Biocontrol and Microbial Control**, 89(1): 97-103.
- Choo, H.Y., Kaya, H.K., Huh, J., Lee, D.W. , 2002. Entomopathogenic nematodes (*Steinernema* spp. and *Heterorhabditis bacteriophora*) and a fungus *Beauveria brongniartii* for biological control of the white grubs, *Ectinohoplia rufipes* and *Exomala orientalis*, in Korean golf courses. **BioControl**, 47: 177-192.
- Eidt, D.C., Thurston, G.S. 1995. Physical deterrents to infection by entomopathogenic nematodes in wireworm (Coleptera: Elateridae) and other soil pests. **Canadian Entomologist**, 127: 423-429.
- Forschler, B.T., Gardner, W.A. 1991. Parasitism of *Phyllophaga hirticula* (Coleptera: Scarabaeidae) by *Heterorhabditis heliothidis* and *Steinernema carpocapsae*. **Journal of invertebrate pathology**, 58: 396-407.
- Forst, S., Dowds, B., Boemare, N. E, Stackebrandt, E., 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. **Annu Rev Microbiol**, 51: 47-72.
- Forst, S., Clarke, D., 2002. Bacteria–nematodes symbiosis. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R. eds.), CABI Publishing, pp. 57–77. Wallingford, UK.
- 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., Molloy, D. 1981. Instar susceptibility of *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae) to the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae*. **Journal of Nematology** 13: 1-5.
- Gaugler, R., Kaya, H. K. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.

- Gaugler, R., 1993. Ecological genetics of entomopathogenic nematodes. In: Nematodes and the Biological Control of Insects (R. Beddig, R.Akhurst, and H. K. Kaya, eds.) East Melbourne, Australia: CRSIO Publications. pp. 89-95.
- Gaugler, R., Wang, Y., Campell, J.F. 1994. Aggressive and evasive behaviours in *Popillia japonica* (Coleptera: Scarabaeidae) larvae: defenses against entomopathogenic nematode attack. **Journal of invertebrate pathology**, 64: 193-199.
- Glazer, I., 1996. Survival mechanisms of entomopathogenic nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, 6: 373-378.
- 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. **J. Therm. Biol.** 19: 245-253.
- Grewal, P.S., Grewal, S.K., Malik, V.S Klein, M.G., 2002. Differences in susceptibility of introduced and native white grub species to entomopathogenic nematodes from various geographic localities. **Biological Control**, 24, 230-237.
- Grewal, P.S., 2002. Formulation and application technology. In: Entomopathogenic Nematology. (Gaugler, R. Ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK. pp265-287.
- 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. ed.). CABI International. pp 115-146. Wallingford, UK.
- 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.

- Hazır, S., Stock, S. P., Kaya, H. K., Koppenhofer, A. M., Keskin, N., 2001. Developmental temperature effects on five geographic 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. **Turk J Biol.** 27: 181-202.
- Han, R. C., Ehlers, R.U., 2000. Pathogenicity, development, and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions. **J. Invertebr. Pathol.** 75: 55-58.
- Karagöz, M., Gülcü, B., Çakmak, I., Kaya, H.K., Hazır, S., 2007. Predation of entomopathogenic nematodes by *Sancassania* sp. (Acari: Acaridae). **Experimental and Applied Acarology**, 43: 85-95.
- Karagöz, M., Gülcü, B. Hazır, S., 2007. “Manas larvalarının (Coleoptera: Scarabaeidae) biyolojik mücadelesinde entomopatojen nematodların test edilmesi”, I. Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele Sempozyumu, Trabzon, 2007.
- Karagöz M., Gülcü.,B. Hazır, S. H.K. Kaya, 2009.Laboratory evaluation of Turkish entomopathogenic nematodes for suppression of the chestnut pests, *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae) and *Cydia splendana* (Lepidoptera: Tortricidae), **Biocontrol Science and Technology**, 19, 755-768.
- Karimi J., Rezapanah M., Monfared F., Mirsaeidi H., 2010. Biological control potential of an entomopathogenic preparation of heterorhabditis bacteriophora on the white grub polyphylla adspersa.SIP 11-15 july Trabzon Turkey.
- Kaya, H. K. 1990. Soil ecology. In: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, (Gaugler R., Kaya H. K. eds.). pp. 93-115. CRC Press, Boca Raton.
- Kaya, H.K Gaugler, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. **Annual Review of Entomology**, 38: 181-206.

- Kaya, H. K. Stock, S. P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Manual of Techniques in Insect Pathology (Lacey L. ed.). Academic Press. pp. 281-324. San Diego, CA.
- Kaya, H. K. 2002. Natural enemies and other antagonists. In: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, pp. 189-202. Wallingford, UK.
- Kepenekçi, I., Gökçe, A., Gaugler, R. 2004. Virulence of three species of entomopathogenic nematodes to the chestnut weevil, *Curculio elephas* (Col.: Curculionidae). **Nematropica** 34: 199-204.
- Koppenhöfer, A. M., Kaya, H. K. 1996. Coexistence of entomopathogenic nematode species (Steinernematidae and Heterorhabditidae) with different foraging behavior. **Fundam. Appl. Nematol.** 19 (2): 175-183.
- Koppenhöfer, A. M., Kaya, H. K. 1998. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: A novel approach to White Grub (Coleoptera:Scarabeidae) control in turfgrass. **Journal of Econ. Entomology**, 91(3): 618-623.
- Koppenhöfer, A.M. 2000. Nematodes. In: Field Manual of Techniques in Invertebrate pathology (Lacey, L. A. and Kaya, H. K. eds.). pp. 283-301 Dordrecht, The Netherlands. Kluwer.
- Koppenhöfer, A. M., Fuzy, E. M. 2003. Ecological characterization of *Steinernema scarabaei*: a natural pathogen of scarab larvae. **J. Invertebr. Pathol.** 83: 139-148.
- Koppenhöfer, A.M., Fuzy, E.M., Crocker, R.L., Gelernter, W.D., Polavarapu, S., 2004. Pathogenicity of *Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema glaseri*, and *S. scarabei* (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) against 12 white grub species (Coleoptra: Scarabeidae). **Biocontrol Science and Technology**, 14: 87-92.
- Koppenhöfer, A.M., 2007. Nematodes. In: Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology (Lacey, L. A. and Kaya, H. K., eds). Springer, pp 249-264. Germany.

- Koppenhofer, A.M., Fuzy, E.M. 2009. Long-term effects and persistence of *Steinernema scarabaei* applied for suppression of *Anomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae). **Biological Control**, 48: 63-72.
- Kung, S-P., Gaugler, R., Kaya, H. K. 1990. Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema spp.* **Journal of Nematology**, 22: 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.
- Lenteren, J. C., 2000. A greenhouse without pesticides: fact or fantasy? **Crop proctcion**, 19:375-384.
- Lee, M-M., Sicard, M., Skeie, M., Stock S. P. 2009. *Steinernema boemarei n. sp.* (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from southern France. **Syst. Parasitol.** 72: 127–141.
- Mráček, Z., Nguyen, K. B., Tailliez, P., Boemare, N., Chen, S. 2006. *Steinernema sichuanense n. sp.* (Rhabditida, Steinernematidae), a new species of entomopathogenic nematode from the province of Sichuan, east Tibetan Mts., China. **Journal of Invertebrate Pathology**, 93: 157–169.
- Önuçar, A. O., Ulu, 1989. İzmir ili çevresindeki kestane yetiştirme alanlarında fauna tespiti ve meyvelerde kurtlanmaya neden olan zararlılar ile savaşım olanakları üzerine araştırmalar. **Doğ.-Türk Tarımı ve Ormancılık Dergisi**,. 13 (3a): 637-643.
- 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.

- Poinar, G. O., Jr. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control (Gaugler R. and Kaya H. K. eds.). Pp. 23-61. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- 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., Grewal, P. S., Collins, G., 1990. Potential of Heterorhabditid nematodes for the biological control of mushroom sciarid flies. **Nematologica**, 36(4):386-389.
- Sankar, M., Prasad, J.S., Padmakumari, A. P., Katti, G. Divya, K., 2009. Combined application of two entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis indica* and *Steinernema asiaticum* to control the rice leaf folder, *Cnaphalocrosis medinalis*. **Journal of Biopesticides**, 2(2):135-140.
- Shah, P. A. Goettel, M. S., 1999. Directory of microbial control products and services. Microbial Control. Div., **Soc. Interv. Pathol**, Gainesville, FL.
- Shapiro-Ilan, D. I., Duncan, L. W., Lacey, L. A. Han, R., 2005. Orchard applications. In: Nematodes as Biocontrol Agents (Grewal P.S., Ehlers R.U., Shapiro-Ilan D. I. eds.) CABI International. Wallingford, UK. pp 215-230.
- 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.
- Stock, S. P., Hunt, D. J. 2005. Morphology and systematic of nematodes used in biocontrol. In: Nematodes as Biocontrol Agents. (Grewal P. S., Ehlers R-U., Shapiro-Ian D. I. eds.). CABI Publishing. pp 3-43. Wallingford, UK.

- Stock, S. P., Rivera-Orduño, B., and Flores-Lara, Y. 2009. *Heterorhabditis sonorensis* n. sp. (Nematoda: Heterorhabditidae), a natural pathogen of the seasonal cicada *Diceroprocta ornea* (Walker) (Homoptera: Cicadidae) in the Sonoran desert. **Journal of Invertebrate Pathology**, 100: 175–184.
- Smits, P. 1996. Post-application persistence of entomopathogenic nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, 6:379-387.
- Tuncer, C. Serdar, U., 1997. Sinop ili kestane üretim alanlarındaki meyve kurtlanma oranları ve larvaların meyveyi terk etme zamanınının saptanması üzerinde araştırmalar. **O.M.Ü.Z.F. Dergisi**, 11: 127-144.
- Uribe-Lorio, L., Mora, M., Stock, S. P. 2007. *Steinernema costaricense* n. sp. and *S. puntauvense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), two new entomopathogenic nematodes from Costa Rica. **Syst Parasitol.** 68: 167–182.
- Wang, J., 1990. Use of nematode *Steinernema carpocapse* to control the major apple pest *Carposina nipponensis* in China. Pro. Vth. Int. Collog. **Invertebrate Pathol. and Microb. Adalaide**, Australia. P.392.
- White, G. F., 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. **Science**. 66: 302-303.
- Zhang, C., Liu, J., Xu M., Sun, J., Yang, S., An, X., Gao, G., Lin M., Lai R., He, Z., Wub, Y., Zhang, K. 2008. *Heterorhabditoides chongmingensis* gen. nov., sp. nov. (Rhabditida: Rhabditidae), a novel member of the entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, 98: 153–168.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sevdiye Demir
Doğum Yeri ve Tarihi : Aydın 04.08.1986

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi :Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi :Adnan Menderes Üniversitesi Entomoloji Anabilimdalı
Bildiği Yabancı Diller :İngilizce

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Çine İlçe Tarım Müdürlüğü/ Çaltı Köyü 2011-

İLETİŞİM

E-posta Adresi : sevdiedmr@gmail.com
Tarih :