

**HİBRİT ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis*
bacteriophora (HBH) İRKİNİN BAZI ZARARLI
BÖCEKLER İLE MÜCADELESİNDE YENİ BİR
UYGULAMA YÖNTEMİ**

Ahcen BOUHARI



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİBRİT ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH)
IRKININ BAZI ZARARLI BÖCEKLER İLE MÜCADELESİNDE YENİ BİR
UYGULAMA YÖNTEMİ**

Ahcen BOUHARI
0000-0003-4132-686X

Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
(Danışman)

-YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA-2020
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Ahcen BOUHARI tarafından hazırlanan "Hibrit Entomopatojen Nematod *Heterorhabditis Bacteriophora* (HBH) Irkının Bazı Zararlı Böcekler ile Mücadelesinde Yeni Bir Uygulama Yöntemi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Başkan: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
0000-0002-0699-1752
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı

İmza: 

Üye: Doç. Dr. Nimet Sema GENÇER
0000-0001-8053-5002
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı

İmza: 

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Tufan Can ULU
0000-0003-3640-1474
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Ziraat ve
Doğa Bilimleri Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı

İmza: 

Yukarıdaki Sonucu Onaylıyorum

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN

Enstitü Müdürü

.../ .../ 2020

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı
- Bu tezin herhangi bir bölümünü, bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

Beyan ederim.

29/09/ 2020

Ahcen BOUHARI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HİBRİT ENTOMOPATOJEN NEMATOD *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH) İRKİNİN BAZI ZARARLI BÖCEKLER İLE MÜCADELESİNDE YENİ BİR UYGULAMA YÖNTEMİ

Ahcen BOUHARI

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Tarımsal açıdan zararlı böceklerle karşı genellikle, insan sağlığı ile çevreye zararlı olan ve böceklerin direnç kazanmasına neden olan kimyasallar kullanılmaktadır. Heterorhabditidae ve Steinernematidae familyalarına ait olan entomopatojen nematodlar (EPN) tarımda birçok toprak kaynaklı zararlı böceklerle karşı biyolojik mücadele ajanları olarak kullanılmaktadır. EPN'ler toprakta yaşayan zararlılar ile mücadele etmek için kullanılan kimyasallara iyi bir alternatiftir. Ancak, böceklerle karşı toprak üstü uygulamaları genellikle nem eksikliğinden dolayı başarısız olmaktadır. Bu nedenle, EPN'ler etkinliklerini hızla kaybederler. Bu çalışmada, göçmen çekirgelerine (*Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae)) ve Türkistan hamamböceklerine (*Blatta lateralis* (Walker) (Dictyoptera: Blattidae)) karşı *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) (Rhabditida: Heterorhabditidae) HBH hibrit ırkının kullanımı için yeni bir uygulama yöntemi geliştirilmiştir. Hidrofilik kumaş tuzakları, toprak üstünde EPN'lerin ihtiyaç duyduğu nemli ortamı sağlayacak şekilde ayarlanmıştır. Tuzak sistemine üç farklı *H. bacteriophora* (HBH) dozajı (50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm²) uygulanmıştır. EPN'ler ile muamele edilen hidrofil kumaş, 200 ml'lik ringer çözeltisi içeren bir rezervuar ile birleştirilmiştir. Kumaş üzerindeki kalıcılıklarını belirlemek için periyodik olarak ölü ve canlı EPN'ler kaydedilmiştir. *H. bacteriophora* (HBH) ırkının etkinliğini belirlemek için *L. migratoria* ve *B. lateralis* ölüm oranları da kaydedilmiştir. Bu çalışmanın bir sonucu olarak HBH'nin toprak üstü kalıcılığı ve *L. migratoria* ile *B. lateralis*'e karşı etkenliği, hidrofil kumaş vasıtasıyla 4 haftadan fazla sürebileceği tespit edilmiştir. Ayrıca, Türkistan hamamböceği ölüm oranlarının, büyük oranda maruz kalma süresine ve EPN dozajına bağlı olarak arttığı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Toprak üstü uygulama, entomopatojen nematodlar, hidrofil kumaş, *Locusta migratoria*, *Blatta lateralis*

2020, vii + 38 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

A NEW APPLICATION METHOD OF HYBRID ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE STRAIN *Heterorhabditis bacteriophora* HBH IN CONTROL OF SOME INSECT PESTS

Ahcen BOUHARI

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

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Chemical insecticides, which are harmful to human health and cause insects to gain resistance, are generally used against agricultural pests. Entomopathogenic nematodes (EPNs) of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae are being used as biocontrol agents against many soil-borne insects pests in agriculture. EPNs are a good alternative to chemicals used to control soil-dwelling pests. However, above-ground applications against the insects are usually unsuccessful due to the lack of humidity. Therefore, EPNs rapidly lose their effectiveness. In this study, a new application method was developed for the use of *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) (Rhabditida: Heterorhabditidae) HBH hybrid strain against the migratory locusts (*Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae)) and Turkestan cockroaches, *Blatta lateralis* (Walker) (Dictyoptera: Blattidae). The hydrophilic fabric traps were set to provide the moist environment needed by the EPNs on aboveground. Three different application rates of *H. bacteriophora* (50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm²) were applied to the trap system. The fabric was inoculated with the EPNs and combined with a reservoir containing 200 ml of ringer solution. The dead and live EPNs were recorded periodically to determine their persistence on the fabric. The mortality of *L. migratoria* and *B. lateralis* were also recorded to determine the infectivity of *H. bacteriophora*. As a result of this study, the above-ground persistence and infectivity of HBH could be achieved more than 4 weeks by using hydrophilic fabric. In addition, the mortality rates of the Turkestan cockroaches were found to increase depending on exposure time and the nematode dosage.

Key words: Above-ground application, entomopathogenic nematodes, hydrophilic fabric, *Locusta migratoria*, *Blatta lateralis*

2020, vii + 38 pages

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının her aşamasında bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim süresince eğitim hayatıma katkıda bulunan Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nin değerli hocalarıyla tez çalışmasının yürütülmesinde tecrübelerini benden esirgemeyerek her fırsatta yardımcı olan değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Tufan Can ULU ve çalışmam boyunca benden yardımlarını esirgemeyen Yavuz Selim ŞAHİN ve Büşra SADIÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Ahcen BOUHARI
29/09/2020

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	11
3.1. Galleria mellonella Larvalarının Laboratuvarında Yetiştirilmesi	11
3.2. Deneylerde Kullanılan Böcek Alınması	14
3.3. Çalışmada Kullanılan EPN Irkı ve In Vivo Üretim	14
3.3.1. Enfeksiyon	14
3.3.2. White Trap Düzenekinin Kurulması	16
3.4. DeneySEL Tasarım.....	18
3.5. Tuzaklardaki <i>Blatta lateralis</i> 'nin Periyodik Olarak İncelemesi	19
3.6. Tuzaklardaki <i>Locusta migratoria</i> 'nin Periyodik Olarak İncelemesi.....	22
3.7. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HBH'nin Kalıcılığı	25
3.8. İstatistiksel Analizler	25
4. BULGULAR	26
4.1. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HBH'nin <i>Blatta lateralis</i> 'e karşı etkinliği	26
4.2. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HBH'nin <i>Locusta migratoria</i> 'ya karşı etkinliği.....	27
4.3. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HBH'nin tuzaklarda kalıcılığı	28
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	30
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	38

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
ml	Mililitre
Mha	Million hectares

Açıklamalar

Kısaltmalar

EPN	Entomopatojen Nematod
IJ	İnfektif Juvenil

Açıklamalar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. Kavanozun içerisine yerleştirilen yumurtalarından çıkan <i>Galleria mellonella</i> larvaları	12
Şekil 3.2. <i>Galleria mellonella</i> için hazırlanan besin ortamının görüntüsü	12
Şekil 3.3. İnkübatör içerisinde, <i>Galleria mellonella</i> 'nın farklı dönemlerini barındıran cam kavanozlar	13
Şekil 3.4. Besin ortamından ayıklanmış son dönem <i>Galleria mellonella</i> larvaları	13
Şekil 3.5. +4 °C'de depolanan EPN flaskları	15
Şekil 3.6. <i>G. mellonella</i> larvası üzerine İJ inokulasyonu	16
Şekil 3.7. Enfekteli <i>Galleria mellonella</i> larvaları	16
Şekil 3.8. White Trap'e alınmış kadavralar	17
Şekil 3.9. Beyaz tuzak yöntemiyle İJ çıkışının beklenmesi	18
Şekil 3.10. EPN'lerle aşılınmış rezervuar ve kumaşı içeren tuzak sistemi	19
Şekil 3.11. Hamamböceğin Tuzak üzerinde görüntüsü	19
Şekil 3.12. İncelemeye alınmış hamamböceklerin görünümü	20
Şekil 3.13. Deneneme desenin zaman çizelgesi	21
Şekil 3.14. Çekirgelerin Tuzak üzerinde görüntüsü	22
Şekil 3.15. İncelemeye alınmış çekirgelerin görünümü	22
Şekil 3.16. Tuzak deneme zaman çizelgesi	24
Şekil 4.1. Üç farklı dozajla (50 İJ/cm ² , 250 İJ/cm ² ve 500 İJ/cm ²) HBH'ye maruz kaldıktan sonra 4 ve 7 gün sonra tüm uygulamalarda <i>B. lateralis</i> mortalite oranları. Kontrol, tüm tedavilerde her iki maruziyet dönemini (4 ve 7 günlük maruziyet) kapsamaktadır (F = 7737.453; df = 17,36; P > 0.0001)	27
Şekil 4.2. 3, 17 ve 32. günlerde <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HBH ırkının 50 İJ/cm ² , 250 İJ/cm ² ve 500 İJ/cm ² dozlarındaki <i>Locusta migratoria</i> ölüm oranı (F = 5410.754; df = 9,20; P > 0.0001)	28
Şekil 4.3. tuzak başına 50 İJ/cm ² , 250 İJ/cm ² ve 500 İJ/cm ² dozlarında, <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HBH ırkının ölüm oranları (F = 3641.405; df = 8,18; P > 0.0001)	29

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. <i>Galleria mellonella</i> için hazırlanan gıda maddesinin içeriği.....	11
Çizelge 3.2. Ringer solüsyonu içeriği	15

1. GİRİŞ

Locusta migratoria (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae) dünyadaki en yıkıcı tarımsal zararlı böceklerden biridir (Zhang ve ark., 2009; Wang ve ark., 2014). Binlerce kilometreden daha fazla göç edebilen çok etkili bir zararlıdır (Showler, 1995) (Zhang ve ark., 2009). *Locusta migratoria*, diğer çekirge türlerinden daha büyük bir alana dağılmıştır ve tüm doğu yarımküreye (Avustralya, Afrika, Avrupa ve Asya) yayılmıştır (Zhang ve ark., 2009). Bu çekirgenin istilaları 1995-2001 yılları arasında Çin'in 30 ilinin 12'sinde yaklaşık 8 Mha tarımsal tesisi yok etmiştir (Ma ve ark., 2005). *Locusta migratoria* salgınlarını tahmin etmenin zorluğu göz önüne alındığında, etkilenen ülkeler çevre ve hedef olmayan organizmalar için toksik olan böcek ilaçlarını aşırı derecede kullanmaktadır (Vos ve diğerleri, 2000; Rai ve Chavhan, 2015). Nematodlar, protozoalar, bakteriler, mantarlar ve virüsler gibi biyolojik ajanlar kullanılarak *L. migratoria* mücadelesine yönelik çevre açısından güvenli alternatiflerin geliştirildiği bildirilmiştir (Rai ve diğerleri, 2013; Rai ve Chavhan, 2015). Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait entomopatojen nematodlar (EPN'ler), tarımsal ilaçların çevre üzerindeki olumsuz etkisini azaltmak amacıyla biyolojik mücadele kapsamında insektisitlerin (Cross ve diğerleri, 1999; Lacey ve Shapiro-Ilan, 2008) yerine birçok zararlı böcekler üzerinde kullanılmaktadırlar (Lewis ve Clarke, 2012; Shapiro-Ilan ve diğerleri, 2014).

Hamamböcekleri Arthropoda şubesine, Insecta sınıfına ve Dictyoptera takımına aittir. Dünya genelinde 4500'den fazla hamamböceği türü tanımlanmıştır (Hashemi-Aghdam ve Oshaghi, 2015). Nem ve sıcaklığa oldukça duyarlıdırlar özellikle kentsel yerlerde, restoranlarda, banyolarda ve mutfaklarda yaşam sürerler (Nedelchev ve diğerleri, 2013; Mahmoud, 2013). İnsan gıdalarını patojenik organizmalarla kirletebilir ve özellikle çocuklarda astıma neden olabilirler (Sohn ve Kim, 2012; Hashemi-Aghdam ve Oshaghi, 2015). Ayrıca dışkı, tükürük ve döküntü derileri gibi hamamböceği atıkları ciddi alerjik semptomlara neden olabilir (Sookrung ve Chaicumpa, 2010). Fipronil, sülfonamid ve imidacloprid gibi aktif maddeler içeren insan sağlığı için toksik olan kimyasal böcek öldürücüler hamamböceği kontrolünde kullanılmaktadır (Cutler ve diğerleri, 2017). Bununla birlikte, böceklerin yaygın olarak uygulanan insektisitlere dirençli hale gelmesi nedeniyle son yıllarda kimyasalların kullanımı kısıtlanmaya başlamıştır (Ko ve ark., 2016; Cutler ve ark., 2017). Çevreye zararlı kimyasalların yerini alan biyolojik mücadele

gibi alternatif yöntemlerin önemi artmaya devam etmektedir (El-Kady ve ark., 2014; Cutler ve ark. 2017). Biyolojik mücadele kapsamında kimyasal böcek ilaçları yerine kullanılan EPN ile hamamböceği mücadelesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Morton ve García-del-Pino, 2013; Cutler ve ark., 2017).

Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait EPN'ler özellikle toprak kökenli böceklerle karşı etkili biyolojik mücadele ajanlarıdır (Lacey ve Shapiro-Ilan, 2008). Böceklerin hemolenfine doğal açıklıklardan girerler. EPN'ler daha sonra *Xenorhabdus* spp. ve *Photorhabdus* spp. Bakterileri ile simbiyotik ilişkileri nedeniyle 24 ila 48 saat içinde böceklerin septisemiden ölmesine neden olurlar (Stock and Blair, 2008). EPN'ler toprakta doğal olarak bulunurlar ve çoğunlukla toprak kaynaklı böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadırlar (Wright vd., 2005). Ancak, çekirge ve hamamböceği gibi toprak üstünde yaşayan zararlı böcekleri de mücadele etme potansiyeline sahiptirler (Morton ve García-del-Pino, 2013; Şahin ve ark., 2018). EPN'lere karşı duyarlı olan böceklerin spektrumu çok geniştir (Ahmad ve ark., 2010; Şahin ve ark., 2018). Böcekler (insecta) sınıfında, 17 takımın ve 135 familyanın hem açık arazide hem de laboratuvar koşullarında EPN'lere karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir (El-Kady ve ark., 2014).

EPN'ler tarafından toprak üstü zararlı böcekleri mücadele etmek için çeşitli yem teknikleri (Maketon ve diğerleri, 2010) ve jel formülasyonları geliştirilmiştir (Schroer ve Ehlers, 2005; Georgis ve diğerleri, 2006; Beck ve diğerleri, 2013). Toprak üstü uygulamayı başarısız kılan bazı önemli faktörler sıcaklık, ultraviyole radyasyon ve nemdir. Bunlardan nem, EPN'ler için en kısıtlayıcı faktördür çünkü mevcut formülasyonlar yeterli süre boyunca nemli bir ortam sağlayamamaktadır (Georgis ve ark. 2006; Lacey ve Georgis, 2012). Bu formülasyonlara eklenen rimulgan ve ksantan gibi bazı kuruma önleyiciler EPN'nin etkinliğini ve yaprak üzerinde kalıcılığını artırabilmektedir, ancak kalıcılık süresi istenilen seviyeye henüz ulaşamamıştır (Schroer ve Ehlers, 2005). EPN'lerin toprak üzerindeki kalıcılığını test etmek için birçok laboratuvar çalışması yapılmıştır. EPN'lerin sürekliliği genellikle günlerden ziyade birkaç saat sürdüğü görülmüştür (Schroer ve Ehlers, 2005). Her ne kadar bugüne kadar dikkate değer iyileştirmeler yapılmış olsa da, bunlar ticari kullanım için tavsiye edilecek seviyede değildir (Grewal, 2002; Schroer ve Ehlers, 2005).

EPN'lerin öldürebileceği zararlı böcek çeşidi 200'den fazladır (Georgis ve ark. 2006). Ayrıca EPN'lerin bitkilere, topraktaki faydalı organizmalara, çevreye ve insan sağlığına hiçbir bir zararı yoktur. Bundan dolayı, zararlı böcekleri öldürmek amacıyla, EPN'ler kimyasal ilaçların yerine kullanılabilir (Lewis ve Clarke 2012; Shapiro-Ilan, 2014). EPN uygulamasında karşılaşılan problemlerden biri toprak üstü zararlı böceklerle karşı etkili bir yöntem bulunamamış olmasıdır. EPN'ler toprak üstü zararlı böcekleri öldürebilme potansiyeline sahip olmasına rağmen, bu potansiyeli değerlendirebilecek ekonomik bir yöntem geliştirilememiş olması biyolojik mücadele açısından önemli bir eksikliktir.

Bu çalışma *L. migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae)'ya ve *B. lateralis* (Walker) (Dictyoptera: Blattidae)'e karşı, hidrofilik pamuklu kumaş kullanılarak toprak üstü uygulama için yeni bir yöntem geliştirmeyi amaçlamıştır. Bu amaçla, Susurluk tarafından patentli (TPMK Patent No: TR 2013 06141 B) *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) (Heterorhabditidae: Rhabditida)'nın HBH hibrit ırkı, yeni tuzak sisteminde biyolojik bir ajan olarak kullanılacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Baur ve ark. (1997) yaptıkları çalışmanın amacı, daha önceden test edilmemiş yeni adjuvantlar kullanarak *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ve *S. riobravisi*'nin *Plutella xylostella*'ya (L.) karşı yaprak uygulamalarının etkinliğini artırmak için bir yöntem bulmaktır. Sprey katkı maddelerinin *Plutella xylostella* (L.)'a karşı entomopatojenik nematod kalıcılığı ve etkinliği üzerine etkileri araştırıldı. Birkaç adjuvan, turp fideleri (*Raphanus sativus* var. *Capitata* L.) için toksikti, ancak hiçbirisi nematodlar veya *P. xylostella* için toksik değildi. Laboratuvarında, bir rütbe skoruna göre en iyi antidisikant aktiviteyi sağlayan adjuvanlar TX7719, Rodspray yağı ve Nufilm P. idi. Daha az koruma sağlayan ancak geri kalan adjuvanlardan daha iyi olanlar 38-F, dekstroze ve Pluronic F-127 idi. Sera denemelerinde TX7719 ve Rodspray yağı test edilen diğer adjuvanlardan daha etkiliydi. Stilben parlaticısı, Blankophor BBH, sera konsantrasyonlarında nematod etkinliğini, muhtemelen kullanılan konsantrasyonun çok düşük olması nedeniyle, tutarlı bir şekilde artırmamıştır. Saha denemelerinde, TX7719 artı Blankophor BBH kombinasyonu su teresi yapraklarında (*Nasturium officinale* R. Br.) nematod kalıcılığını ve *P. xylostella*'ya karşı etkinliği arttırmıştır. In vitro üretilen nematodlar, laboratuvarında in vivo üretilen nematodlardan daha fazla katkı maddelerinden yararlanmıştır, ancak bu fark sahada kaybolmuştur. Genel olarak, katkı maddelerinin genellikle nematod kalıcılığını ve etkinliğini arttırdığı, ancak iyileşmenin muhtemelen nematodların yaprak uygulamalarının *P. xylostella* ya karşı fizibilitesini arttırmak için yeterli olmadığı bulunmuştur.

Schroer ve ark. (2005) yılında SPF'nin (Süpfaktan-polimer formülasyonu), DBM'nin (Pırlanta güvesi *Plutella xylostella* L.) doğal ortamına daha uyumlu koşullar sağlayan yaprak biyo-tahlillerinde nematodun hayatta kalması ve etkinliği üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla çalışma yapmıştır. *Plutella xylostella* larvalarının larvalarını kontrol etmek amacıyla lahanalar yapraklarında entomopatojenik nematod *Steinernema carpocapsae*'nin kullanımı için, yaprak biyodeneylelerinde % 0,3 yüzey aktif madde Rimulgan ve % 0,3 polimer ksantan içeren bir formülasyon test edildi ve suyla uygulanan nematodlarla karşılaştırıldı. Su ile karşılaştırıldığında, yüzey aktif madde-polimer formülasyonunda (SPF) 75 infektif juvenil (IJ)/cm² kullanılarak % 80 mortalite kaydedildi, % 60 bağıl nemde böcek mortalitesi neredeyse % 60'a ulaştı. Suda uygulanan

S. carpocapsae için hayatta kalma süresi (LT50), % 80 bağıl nemde 36 saat ve % 60 bağıl nemde sadece 3 saatt olduğu tespit edildi. SPF ile LT50, % 80 bağıl nemde 58 saate ve % 60 bağıl nemde > 20 saate uzatılmıştır. Füme silika, çapraz bağılı sodyum poliakrilat veya aljinat jel ilavesi, tek başına SPF'ye kıyasla IJ kalıcılığını önemli ölçüde iyileştirmedi. Nematodların % 98'i 9 saat sonra hala hayatta olduğundan, nematodların etkinliğini kaybetmiş olması gerekir. Böcekler IJ'lere 1, 4 veya 20 saat süreyle maruz bırakıldığında DBM aktivitesinde önemli bir artış kaydedilmemiştir. Bu çalışmadaki verilere göre: yaprak üzerinde enfeksiyonun uygulamadan sonraki ilk saat içinde meydana geldiğini göstermektedir. Bu nedenle, formülasyonu kullanmanın en büyük avantajı, nematodun hayatta kalmasını arttırmak değil, bunun yerine konağın yapraklar üzerinde nematod istilasını destekleyen optimal çevresel koşulları sağlamaktır.

Georgis ve ark. (2006) yaptığı derlemeye göre seri üretimdeki ilerlemeler, entomopatojenik nematodların (EPN) formülasyon teknolojisi, çok sayıda suşun keşfi ve pestisit kullanımının azaltılmasının istenmesi EPN'lere karşı bilimsel ve ticari ilginin artmasına neden olmuştur. Daha önceki problemlerden çıkarılan dersler bilim insanlarını ve önde gelen ticari şirketleri, ürün yetenekleri sınırları dahilinde maliyet verimliliğini ve pazarda daha iyi ürün konumlandırmayı geliştirme çabalarını artırmaya teşvik etti. Bu derlemede, 24 eklembacaklı tarım ve hayvan türüne ve tarımdaki büyük salyangozlara karşı nematodların başarıları veya başarısızlıkları tartışılmıştır. Ek olarak, bir nematodun (*Phasmarhabditis hermaphrodita*) tarım sistemlerindeki salyangozlara karşı başarılı bir şekilde ticarileştirilmesi sunulmaktadır. Bu ilerlemeye rağmen, gerçek şu ki, nematod bazlı ürünler sınırlı pazar payına sahiptir. Sınırlı pay, standart insektisitlere kıyasla daha yüksek ürün maliyetine, olumsuz koşullar altında düşük etkinliğe, uygulama zamanlaması ve koşullarına, IPM programlarındaki sınırlı veri ve maliyet avantajlarına, optimal olmayan nematod türlerinin kullanımı ve ayrıntılı uygulama talimatlarının eksikliği, bağlanmaktadır. Bu faktörlerden biri veya daha fazlası, çimdeki siyah kesik kurdu, şeker pancarında şeker pancarı biti, tatlı patatesten tatlı patates biti ve hayvan yetiştirme çiftliklerinde ev sineği yetişkin gibi böceklerle karşı umut verici alan etkinliğine rağmen nematodların piyasaya sürülmesini etkilemektedir. Lahana kökü kurtçukları, havuç kökü böceği ve patates böceği gibi böcekler, böcek duyarlılığı, biyolojisi veya davranışı nedeniyle düşük etkinlik verilerine rağmen bazı ticari ürünlerin etiketinde listelenmektedir. Entomopatojen nematodları daha başarılı hale getirmek için genetik

mühendisliği, IPM programları ve yeni dağıtım sistemleri veya belirli böceklerle karşı sınırlı alan etkinliğinin üstesinden gelmek için yeni saha sistemleri veya eğitim programları yoluyla gerçekçi stratejilere ihtiyaç vardır.

Maketon ve ark. (2010) yaptığı çalışmada hem Amerikan hem de Alman hamamböceğinin kontrolü için beş EPN suşunun potansiyeli değerlendirildi. EPN'ler, kedi maması ve atapulgit kili içeren yemlerde test edildi, çünkü bu yemlerin üretimi nispeten ucuz ve kullanımı kolay olacaktı. İki yerli ve üç ithal entomopatojen nematod (EPN) türü, Amerikan hamamböceği (*Periplaneta americana*) ve Alman hamamböceği (*Blattella germanica*) kontrolü için test edildi. Steinernematidae'nin sadece iki türü hamamböceğine karşı önemli ölçüde mortaliteye sebep oldu; biri *Steinernema* sp. (T1 suşu) ve diğeri is *S. carpocapsae*'nin ithal bir suşudur. 3: 7 oranında (W: W, yem başına toplam 10 g) kedi maması ve atapulgit kili içeren ve yem başına 10^6 tane *Steinernema* sp. (T1) eklenmiş ev yapımı bir yem, Amerikan hamamböceğinin % $48,0 \pm 4,7$ ölümüne ve Alman hamamböceğinin % $57,7 \pm 8,0$ ölümüne neden oldu. *S. carpocapsae* içeren benzer bir yem, Amerikan hamamböceğinde % $40,0 \pm 3,3$ ve Alman hamamböceğinde % $86,7 \pm 4,7$ ölüm oranına neden oldu. Amerikan ve Alman hamamböceğini kontrol etmek için optimal *Steinernema* sp. (T1) ve *S. carpocapsae* konsantrasyonu, yem başına sırasıyla 1×10^6 ve $5,4 \times 10^4$ tane EPN'dir. Amerikan hamamböceğinin her iki EPN'ye en duyarlı aşaması son deri değiştirme şaması olduğu, ancak Alman hamamböceğinin her iki EPN'ye duyarlılığı hamamböceği aşamaları arasında farklı olduğu tespit edilmiştir.

Lacey ve Georgis (2012) yaptığı araştırmada, EPN'lerin toprak üstünde ve toprak altında tarımsal açıdan zararlı böceklerin kontrolü için başarılı bir şekilde kullanılmasına yönelik literatür gözden geçirilmiş ve bunların ticarileştirilmesinin yönleri tartışılmıştır. Bu çalışmada, zararlı böceklerin zeminin üstünde ve altında kontrolüne yönelik gelişimleri değerlendirilmiştir. Hedef böcekler yaprak, toprak yüzeyi, kriptik ve yeraltı habitatına sahip olanları kapsamaktadır. EPN'lerin seri üretimi ve formülasyonu teknolojisindeki ilerlemeler, çok sayıda etkili izolat keşfi ve pestisit kullanımının azaltılmasının istenmesi, EPN'lerin ticari kullanımında artışa neden olmuştur. Ticari olarak üretilen EPN'ler şu anda çimler ve çimdeki “scarab” böceği larvalarının, mantar üretiminde mantar sivrisineklerinin, çim ve çimdeki invaziv köstebek kriketlerinin, fidanlık bitkilerinde siyah asma biti ve diğer böceklerinin yanı sıra turuncgillerde Diaprepes kök biti kontrolü

için kullanılmaktadır. Özetle, her ne kadar bazı araştırmalar böceklerin başarılı bir şekilde kontrol edildiğini gösterse de, EPN'ler böcek ilacı pazarında önemli bir pay yakalayamamıştır. Maliyet, raf ömrü ve üreticilere ve distribütörlere kar marjları gibi faktörler EPN'lerin birçok pazara girmesini veya mevcut pazarlarda önemli pay elde etmesini engellemektedir.

Beck ve ark. 2013 yılında yaptığı çalışmada, bir dizi adjuvant ve üç farklı meme büyüklüğünün entomopatojen nematodların (EPN) yaprak uygulaması üzerindeki etkisi araştırılmıştır. İki EPN türü ile çalışılmıştır: *Steinernema feltiae* ve *Steinernema carpocapsae*. Adjuvanların farklı çözeltilerinde süspansiyon halinde tutulan bir EPN canlılık testi, seçilen tüm alkol etoksilatların ve bir alkil polisakaritin, seçilen nematod türleri üzerinde hareketsizleştirici bir etkiye sahip olduğunu gösterdi. Bir sedimantasyon testinde, ksantan zmkı, geniş bir seçimde süspansiyonda EPN'nin sedimantasyonunu geciktirebilen tek adjuvan olduğunu kanıtlamıştır. Ksantan zmkı olmadan, *S. carpocapsae* ve *S. feltiae*'nin sedimantasyonu sırasıyla 20 ve 10 dakika sonra fark edildi. Süspansiyona ksantan zmkı (0.3 g / l) eklendiğinde, her iki EPN türü ile 20 dakika sonra herhangi bir sedimantasyon belirtisi fark edilmedi. *S. carpocapsae* püskürtürken ISO 02 düz fan memesi tıkanabilir. Bir biriktirme testi, bir ISO 04 standart düz fan nozulunun karnabahar yaprakları üzerinde daha yüksek bir nispi birikim sağladığını ve bu nedenle *S. carpocapsae*'nin püskürtülmesi için daha büyük ISO 08 standart düz fan nozulundan daha iyi bir nozul seçimidir. Yayıcı bir materyalin eklenmesi, *S. carpocapsae* birikimini geliştirdi. EPN yayıcı malzeme karışımlarına ksantan zmkı eklenmesi birikimi daha da artırmamıştır.

Beck ve ark. (2015), Güneyde ve Batı Avrupa'da pırasa ürünlerinin en önemli zararlısı olan *T. tabaci*'ye karşı *Steinernema feltiae*'nin (Filipjev) sprey uygulamalarının etkisini belirlemek ve mümkünse iyileştirmek için iki saha denemesi kurmuştur. İlk deneme, uygun bir uygulama tekniği seçmeye ve bir çekicinin pırasadaki thrips kontrolü üzerindeki etkisini test etmeye odaklıydı. İkinci deneme, entomopatojenik nematodların (EPN) geleneksel bir insektisit şemasına dâhil edilmesine ve bir yüzey aktif maddenin sprey süspansiyonunda karıştırılmasının etkisine odaklandı. *S. feltiae*'nin, sprey süspansiyonuna bir yüzey aktif cismi veya bir cezbedici madde eklenmesine ve ekipmanın adapte edilmesine rağmen, *T. tabaci*'nin yaprakta yaşayan dönemine karşı

etkisiz olduğu kanıtlanmıştır. Fakat geleneksel bir püskürtme ile karşılaştırıldığında, hem eski hem de yeni pırasa yapraklarının üst tarafında ve altında daha eşit bir EPN dağılımı sağlandığı görülmüştür. Bu teknik, pırasadaki fungusitlerin ve kontakt insektisitlerin etkisini artırabilir.

Entomopatojen nematodlar (EPN) genelde toprak altına uyarlanır ve UV ışığı ve kuruma nedeniyle hasara eğilimlidir. EPN'ler, *Steinernema carpocapsae*, koruyucu bir jel ve anti-UV bileşenleri ile birlikte, toprak üstü zararlı yönetimi için potansiyele sahiptir (Dito ve ark. 2016). Dito ve ark. tarafından 2016 yılında yapılan bir çalışmada: jelin direkt güneşte uygulandığında düşük konsantrasyonlarda EPN'lere koruma sağlayıp sağlayamayacağı, jele eklenen diğer bileşenlerin etkinliği artırıp artırmadığı ve yapraklara uygulanan EPN'lerin hayatta kalma miktarı incelendi. % 1 koruyucu jeldeki EPN'ler, diğer uygulamalara (% 2-37) göre daha yüksek konakçı mortalitesine (% 60) neden olmuştur. % 1 koruyucu jel çözeltisi ile titanyum dioksit (TD) ve oktil metoksisinamat ile sağlanan UV koruması açık havada test edildi; bu formülasyonlar diğer uygulamalardan (% 2-7) daha yüksek konakçı mortalitesi (% 43 ve % 25) ile sonuçlanmıştır. Serada 8 saat sonra, % 0,25'lik koruyucu jel çözeltisi yapraklarda en yüksek canlı EPN yüzdesine sahiptir. Düşük konsantrasyonda jel, EPN'leri korur ve TD'nin eklenmesi formülasyonun EPN koruyucu özelliklerini arttırır. Farklı büyüyen sistemler ve zararlı böcekleri davranışları için seçenekleri sürekli olarak geliştirmek önemlidir. Koruyucu jelin düşük konsantrasyonlu bir formülasyonuna eklenen TD, bu uygulama tekniğini yetiştiricilerin kullanması için daha uygun hale getirmektedir.

Toprak üstünde EPN'nin hayatta kalmasını arttırmak için koruyucu formülasyonlar ve anti-kurutucular önerilmektedir. Örneğin, yüzey aktif madde Rimulgan ve %0,3 polimer ksantan, yüzey aktif madde-polimer formülasyonu (SPF) ve bir yangın geciktirici jel dahil bir dizi adjuvan ile birlikte uygulanan EPN'lerin yaprak uygulamalarında EPN etkinliğini arttırılabileceği söylenmektedir (Noosidum ve ark. 2016). Noosidum ve ark. 2016 yılında yaptıkları araştırmada, iki anti-kurutucu karışımının, EPN kalıcılığını ve etkinliğini üzerindeki etkisini incelemiştir. İnfektif juvenil (IJ) evresinde, iki entomopatojen nematod (EPN) türünün (*Steinernema carpocapsae* ve *Steinernema* sp. İzolat K8) lahana yaprak diskleri üzerine püskürtölmesiyle hayatta kalma oranları incelendi. İnkübasyondan üç saat sonra, % 0.25 ve % 0.5 Barricade (% 80.2-85.0) ile

EPN'lerin hayatta kalma oranları diğer tüm uygulamalardan (% 12.9-70.1) önemli ölçüde yüksekti. Laboratuvarında 1 cm lahanaya yaprağı diskinde 100 IJ / 50 ml püskürtülerek, 72 saatlik uygulamadan sonra, değerlendirilen üçüncü instar *Spodoptera litura* F. ve *Plutella xylostella* L.'ye karşı % 0.25 ve % 0.5 oranında Barricade ile uygulanan EPN'lerin enfektivitesi % 82.5 - 100 arasında olmuştur. Sera testlerinde 72 saatlik süre sonunda, *S. carpocapsae*'nin yapraklara püskürtülmesiyle (% 0.25 ve % 0.5 Barricade oranı ile) üçüncü instar *S. litura* ve *P. xylostella*'ya karşı etkisi değerlendirildi. Sonuçlar, *S. carpocapsae* deki (%0.25 veya%0,5 Barricade uygulaması ile, sırasıyla % 66.0 ve % 61.5 oranında) *S. litura* larvalarının ölüm oranlarının, *S. carpocapsae*'den (musluk suyu ile % 29.5 oranında) önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ve ayrıca kontrol tedavilerine kıyasla (% 33.8-61.6) önemli ölçüde daha az yaprak hasarıyla (% 11.0-11.1) sonuçlandığını göstermiştir. Aynı iki uygulama için *P. xylostella* larvalarının mortalite oranları (% 15.0-27.0) ile yaprak hasarı yüzdeleri (% 7.1-11.0) arasında anlamlı bir fark kaydedimştir. Genel sonuçlar, yangın geciktirici jelin (Barricade) bu iki zararlı böcekleri kontrol etmek için uygulandığında EPN enfektivitesini artırabileceğini gösteren önceki çalışmalar ile uyşmaktadır. Barricade, EPN'leri uygulamayı takiben en az 3 saat boyunca hızlı kurumadan koruyabilmektedir.

Portman ve ark. 2016 yılında EPN'lerin buğday sapı testere sineği (WSS) larvalarını enfekte etme ve öldürme yeteneğine sahip olduğunu doğruladı; daha sonra, laboratuvarında ve sahada, buğday anızları üzerinde adjuvanlar içeren EPN çözeltilerinin uygulanmasının, sadece su ile karıştırılan EPN uygulamasına kıyasla daha yüksek WSS mortalitesi ile sonuçlanacağı hipotezini test ettiler. Entomopatojenik nematodlar (EPN'ler) bazı toprak üstü zararlı böceklerine karşı başarılı bir şekilde kullanılmıştır ve EPN içeren spreylere adjuvanların eklenmesinin etkinliklerini arttırdığı bilinmektedir. Bu çalışma, EPN'lerin WSS'yi (*C. cinctus*) enfekte etme yeteneğini test etmesi ve EPN'leri hem laboratuvarında hem de sahada *C. cinctus*'a karşı adjuvanlarla birlikte uygulaması bakımından ilk olmuştur. Enfeksiyon deneyleri, üç farklı EPN türünün WSS larvalarında % 60-100 mortaliteye neden olduğunu göstermiştir. EPN içeren çözeltilere "Penterra", "Silwet L-77", "Sunspray 11N" veya "Syl-Tac" eklenmesiyle, tek başına suyla yapılan çözeltilere göre daha yüksek oranda WSS ölümüne sebep olunabileceği tespit edilmiştir. Açık arazi testleri, 0,1 Penterra" ya *S. hissiæ* içeren spreylere eklendiğinde, WSS'nin mortalitesinin %29,1'e kadar arttığını göstermiştir. Bu sonuçlar WSS için yeni bir kontrol

yöntemi yarattı ve bu kalıcı böcek zararlısının biyolojik mücadelesinde önemli bir ilerlemeyi temsil ediyor.

Renkema ve ark. (2018) yaptığı çalışmada, çileklerdeki yaprakta yaşayan tripsleri baskılamak için *S. feltiae* ve insektisit sulfoxaflor ile yapılan yaprak uygulamalarını değerlendirmek amaçlanmıştır. 2016 kışında *S. feltiae*, çilek çiçeklerinde thrips sayarak ve zarar görmüş meyve sayısını değerlendirerek insektisit spinetoram ile birlikte ve olmadan yaprak uygulaması iki ayrı oranda (hektar başına 2,47 ve 4,94 milyar infektif juvenil) değerlendirildi. Sulfokaflor, spinetoram ve *S. feltiae* uygulamalarını çiçek thrips eşiklerine göre karşılaştırmak için ikinci bir deney yapıldı. Yüksek ve düşük *S. feltiae* oranları, thrips'i azaltmadı veya bastırmadı ve meyve hasarını azaltmadı. Sulfoxaflor, spinetoramın neden olduğu azalmaya kıyasla thripleri % 60 ila 70 oranında azalttı. Sıcak, kuru koşullar muhtemelen *S. feltiae*'nin hayatta kalmasını ve etkinliğini sınırladı. Sulfoxaflor, çiçek thrips için umut verici bir böcek ilacı gibi görünmektedir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Laboratuvarda Yetiştirilmesi

Petek güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* L.'nin (Lepidoptera: Pyralidae) dördüncü dönem -larvaları, topraktan EPN'lerin izolasyonu ve in vivo üretimi için kullanılır. Petek güvesi larvaları EPN'lere karşı çok hassastır, nematodların çoğalması için uygundur ve laboratuvar ortamında kültüre alınması kolaydır (Bedding ve Akhurst 1975). *G. mellonella* larvalarını yetiştirmek için yaklaşık 2 mm gözenek çapına sahip yoğun metal ağ ile kaplanmış cam kavanozlar kullanılmıştır. Kavanoza yerleştirilen yumurtalardan açılan *G. mellonella* larvalarının (Şekil 3.1.) beslenmesi için bal, gliserin, kepek, mısır unu, soya unu, süt tozu ve maya karışımından (Çizelge 3.1.) oluşan bir besin ortamı (Şekil 3.2) hazırlanmıştır. Cam kavanozlar inkübatörde 30-32 °C sıcaklıkta tutulur ve yumurtalar yaklaşık 4 hafta içinde son larva dönemine (4. larva dönemi) ulaşır (Şekil 3.3.). EPN üretiminde kullanılacak olan dördüncü dönem larvaları besin ortamından ayıklanmıştır (Şekil 3.4.). *G. mellonella* üretiminin sürekliliğini sağlamak için, besin ortamında dördüncü dönem larvaları bırakılmış ve sırasıyla tekrar pupa ve yetişkin olarak yumurta bırakmalarına izin verilmiştir.

Çizelge 3.1. *Galleria mellonella* için hazırlanan gıda maddesinin içeriği

200 g bal
200 g gliserin
200 g kepek
150 g mısır unu
100 g soya unu
100 g süt tozu
50 g maya



Şekil 3.1. Kavanozun içerisine yerleştirilen yumurtalarından çıkan *Galleria mellonella* larvaları



Şekil 3.2. *Galleria mellonella* için hazırlanan besin ortamının görüntüsü



Şekil 3.3. İnkübatör içerisinde, *Galleria mellonella*'nın farklı dönemlerini barındıran cam kavanozlar



Şekil 3.4. Besin ortamından ayıklanmış son dönem *Galleria mellonella* larvaları

3.2. Deneylerde Kullanılan Böcek Alınması

Çalışmada kullanılan göçmen çekirgeleri (*L. migratoria*) ve Türkistan hamamböcekleri (*Blatta lateralis*) Türkiye Antalya bölgesinde bulunan Mira Canlı Hayvan Böcek firmasından temin edilmiştir. Böcekler iyonizer ve ozon jeneratörlü ortamda, insan ve hayvan sağlığına uygun, avrupa standartlarında hijyenik ortamda özel yetiştirilmekteler.

3.3. Çalışmada Kullanılan EPN Irkı ve In Vivo Üretim

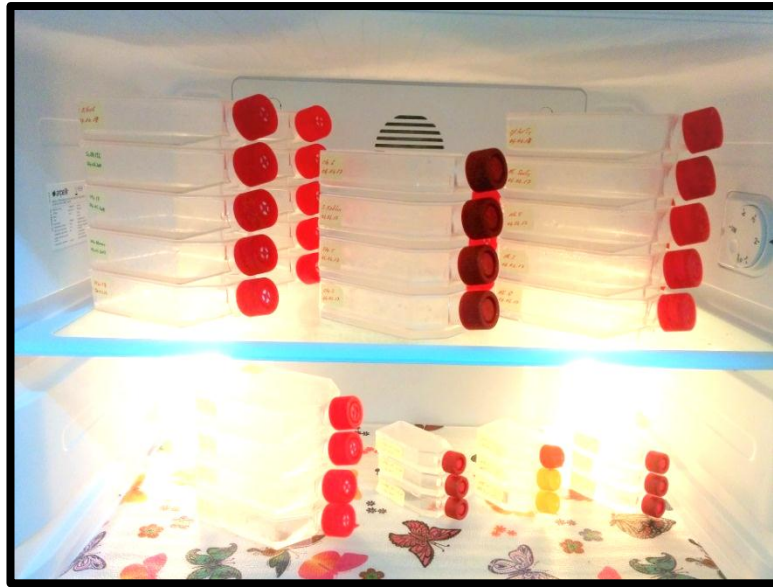
Bu çalışma için *H. bacteriophora*'nın HBH hibrit ırkı seçildi. Hibrit ırkı, Türkiye'nin farklı iklim bölgelerindeki (sıcak, soğuk, yağmurlu ve yarı kurak dahil) Türk doğal *H. bacteriophora* izolatlarının hibridizasyonundan sonra elde edilmiştir. HBH ırkı, üstün biyolojik karakterleri (yüksek etkinlik, uzun süre kalıcılık ve yüksek üreme kapasitesi) nedeniyle Susurluk tarafından patentlenmiştir (TPMK Patent No: TR 2013 06141 B). Laboratuvar koşullarında EPN popülasyonları, Kaya ve ark.'a (1997) göre in vivo yöntemler kullanılarak enfektif juveniller (IJ) elde edilmiştir. Balmumu güvesinin son instarı olan 4. larva evresi (*Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae), 25°C'de EPN üretimi için konukçu olarak kullanılmıştır. İnfektif juveniller white trap yöntemi kullanılarak üretilmiştir (White, 1927). Deneyde elde edilen 2-3 günlük yeni IJ'ler kullanılmıştır.

3.3.1. Enfeksiyon

H. bacteriophora HBH ırkının +4 °C'de buzdolabında oksijen alışverişini sağlayabilen özel kapaklı flasklar içerisinde Ringer solüsyonu ile birlikte depolanan bu kültürlerin laboratuvarında devamlılığını sağlamak amacıyla in vivo üretim yöntemi kullanılarak 2 ayda bir kültür yenilemesi yapılmıştır. Ringer solüsyonu depolama süresi boyunca mikroorganizma gelişimini engellemektedir.

Çizelge 3.2. Ringer solüsyonu içeriği

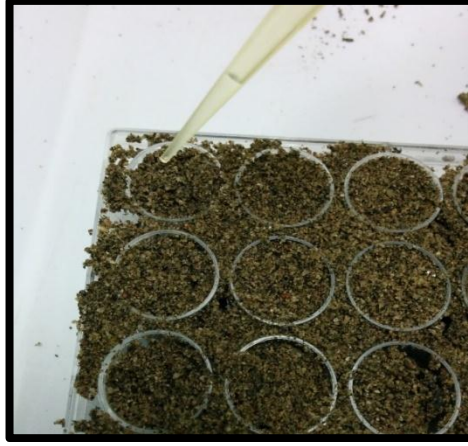
Kimyasal Madde Adı	Miktar (g)
NaCl	9.00
KCl	0.42
CaCl ₂ x 2H ₂ O	0.37
NaHCO ₃	0.20
Saf Su	1000



Şekil 3.5. +4 °C’de depolanan EPN kültür kapları

In vivo üretim için 1.5 cm çapında ve 2 cm derinliğindeki 24 kuyucuklu Well kapları kullanılmış ve her bir kuyucuğa son dönem *G. mellonella* larvası koyulup üzeri Ringer solüsyonu ile %10 nemlendirilmiş steril kumla kapatılmıştır (Susurluk ve ark. 2001, 2003) . Her ırk üretimi için 24 adet son dönem *G. mellonella* larvası kullanılmıştır. Steril kum üzerine buzdolabında saklanan EPN kültürlerinden 50 IJ/ Larva olacak şekilde mikropipet yardımıyla inokulasyon yapılmıştır.

Kapağı kapatılan Plate’lerin içerisinde nem kaybının engellemesi için kabın çevresine parafilm sarılmış ve etüv içerisinde 26 °C’de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.6. *G. mellonella* larvası üzerine IJ inokulasyonu

3.3.2. White Trap Düzeneğinin Kurulması

Enfeksiyon aşamasının gerçekleştirildiği 24 Well Plate'ler 4. günün sonunda etüvden çıkarılmış ve bir küvet içerisine dikkatlice boşaltılmıştır. Kum içerisinde bulunan nematod ile enfekteli larvalar (kadavralar) bir pens yardımıyla patlamamasına dikkat edilerek beher içerisine alınmış ve Ringer solüsyonu ile de kadavra üzerine yapışan kum taneciklerinden arındırılmıştır. Denemelerde kullanılan EPN *H. bacteriophora* ırkı olduğundan kum içerisinde çıkarılan kadavralar kırmızı-bordo renkli olarak gözükmemektedir.



Şekil 3.7. Enfekteli *Galleria mellonella* larvaları

Kumdan arındırılan kadvralar White Trap düzeneğine alınmıştır (White, 1927). White Trap kurulurken 6 ve 15 cm çapında cam petri kapları kullanılmıştır. 6 cm çapındaki petri kabının kapağı, 15 cm'lik petri kabının içerisine yerleştirilmiş ve üzerine yine 6 cm çapında Whatman filtre k ğı konulmuştur. Ringer solüsyonu ile iyice ıslatılan Whatman k ğının altında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek 15 cm çapındaki petri kabının da yüzeyi kaplanacak şekilde Ringer solüsyonu konulmuştur. Nemlendirilmiş Whatman k ğı üzerine kumdan arındırılmış kadvralar dikkatlice dizilmiş ve petri kabı kapatılıp üzeri etiketlenerek 14 gün boyunca oda sıcaklığında ve karanlık ortamda bekletilmiştir.



şekil 3.8. White Trap'e alınmış kadvralar

14 gün boyunca kadvraların içerisinde beslenip üreyen EPN'ler, bu süre sonunda kadvraların içerisindeki besinin bitmesi nedeniyle IJ halinde yeni konukçu aramak için kadvraları terk ederek Ringer solüsyonunda birikmişlerdir.

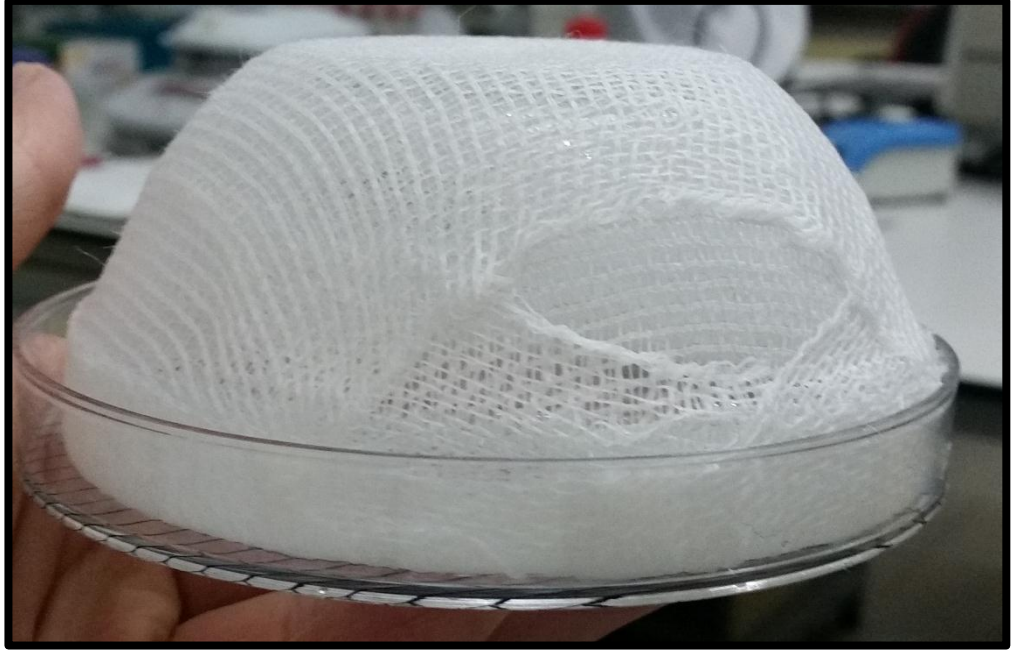


Şekil 3.9. Beyaz tuzak yöntemiyle İJ çıkışının beklenmesi

Ringer solüsyonuna biriken yeni jenerasyon İJ'ler Pastör Pipeti yardımıyla kültür kaplarına konulup +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.4. Deneysel Tasarım

Nematodlar için bir sıvı haznesi sağlamak üzere yarım küre cam kaplara ringer çözeltisi (200 ml) yerleştirildi. Bu çalışmada kullanılan kumaş, bir cm başına yaklaşık 40 mesh (cm²'de toplam gözenek adedi) içeren %100 pamuklu bir gazlı bez bandajıydı ve tüm su rezervuarını daha iyi absorbe edebilmesi için katlanarak uygulandı. Kumaş, EPN'ler ile düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı dozajda İJ'lerle aşılandıktan (50 İJ/cm², 250 İJ/cm² ve 500 İJ/cm²) sonra ringer rezervuarı ile birleştirildi. Kap plastik bir kapakla kapatıldı (Şekil 3.10.). Yapılan bu tuzak yüzeyinden buharlaşma meydana geldikçe, hidrofilik kumaş sıvıyı sürekli olarak hazneden emmektedir. Tuzak, 10 cm çapında ve yaklaşık 150 cm² yüzey alanına sahip yarım küre şeklinde bir hazneden oluşmaktadır. Yüzey pamuklu kumaşla kaplanmış ve çekirgeler için çekici madde veya yem kullanılmamıştır. Kontrol tuzağına, sadece İJ içermeyen damıtılmış su uygulanmıştır. Hem *Locusta migratoria* hem de *Blatta lateralis* üzerine yapılan çalışmalarda aynı tuzak sistemi kullanılmıştır.



Şekil 3.10. EPN'lerle aşılanmış rezervuar ve kumaşı içeren tuzak sistemi

3.5. Tuzaklardaki *Blatta lateralis*'nin Periyodik Olarak İncelemesi

EPN'lerin hidrofil kumaşa inokulasyonundan sonra çalışmada kullanılan ergin hamam böcekleri düzeneğe bırakılmıştır (Şekil 3.11.). Deneneme süresi sonrasında ölen böcekler, EPN'ler tarafından enfekte edilip edilmediğini anlamak amacıyla diekte edilmek üzere düzenekten ayrılmıştır (Şekil 3.12.). Çalışmada kullanılan Türkistan hamamböceklerinin EPN'lere karşı duyarlı olup olmadıkları üç aşamada test edilmiştir.



Şekil 3.11. Hamamböceğin Tuzak üzerinde görüntüsü



Şekil 3.12. İncelemeye alınmış hamamböceklerin görünümü

37 gün süren deney prosedürünün zaman çizelgesi Şekil 3.13.'de verilmiştir. İnceleme aşağıdaki gibi 3 aşamada gerçekleşmiştir.

1. Tuzakları yerleştirdikten hemen sonra birinci uygulamada, enfeksiyon için tuzağa 10 yetişkin hamamböceği eklendi. Hamamböceklerinin ölüm oranı daha sonra IJ'lere 4 ve 7 gün maruz kaldıktan sonra belirlendi. 7 günlük uygulamadan sonra, tüm böcekler tuzaktan çıkarıldı ve ölümler IJ'lerin gelişimini gözlemlemek için parçalandı (Şekil 3.12).
2. İkinci uygulamada, tuzakların yerleştirilmesinden 15 gün sonra 10 yeni hamamböceği değiştirilmiştir. Hamamböceklerinin ölüm oranı daha sonra IJ'lere 4 ve 7 gün maruz kaldıktan sonra belirlenmiştir. 7 günlük uygulamadan sonra, tüm böcekler tuzaktan çıkarıldı ve ölümler IJ gelişimini gözlemlemek için parçalanmıştır (Şekil 3.12).
3. Üçüncü uygulamada, tuzakların yerleştirilmesinden 30 gün sonra 10 yeni hamamböceği değiştirilmiştir. Hamamböceklerinin mortalitesi daha sonra IJ'lere 4 ve 7 gün maruz kaldıktan sonra belirlendi. 7 günlük maruziyetten sonra, tüm böcekler tuzaktan çıkarıldı ve ölümler IJ'lerin gelişimini gözlemlemek için parçalandı (Şekil 3.12). Ayrıca tüm bu aşamalar, IJ içermeyen kontrol tuzaklarında da yürütülmüştür ve tüm denemeler üç kez tekrarlanmıştır.

1. Uygulama  10 adet yeni hamamböceği ilavesi 4 gün sonra ölüm oranı tespiti 7 gün sonra ölüm oranı tespiti 0. gün 4. gün 7. gün	2. Uygulama  10 adet yeni hamamböceği ilavesi 4 gün sonra ölüm oranı tespiti 7 gün sonra ölüm oranı tespiti 15. gün 19. gün 22. gün	3. Uygulama  10 adet yeni hamamböceği ilavesi 4 gün sonra ölüm oranı tespiti 7 gün sonra ölüm oranı tespiti 30. gün 34. gün 37. gün
--	---	---

Şekil 3.13. Deneneme desenin zaman çizelgesi

3.6. Tuzaklardaki *Locusta migratoria*'nin Periyodik Olarak İncelemesi

EPN'lerin hidrofil kumaşa inokulasyonundan sonra çalışmada kullanılan ergin çekirgeler düzeneğe bırakılmıştır (Şekil 3.14.). Deneneme süresi sonrasında ölen böcekler, EPN'ler tarafından enfekte edilip edilmediğini anlamak amacıyla disekte edilmek üzere düzenekten ayrılmıştır (Şekil 3.15.). Çalışmada kullanılan göçmen çekirgelerinin EPN'lere karşı duyarlı olup olmadıkları 32 gün süren bir çalışma periyoduyla test edilmiştir. Denemenin zaman çizelgesi Şekil 3.16.'da verilmiştir.

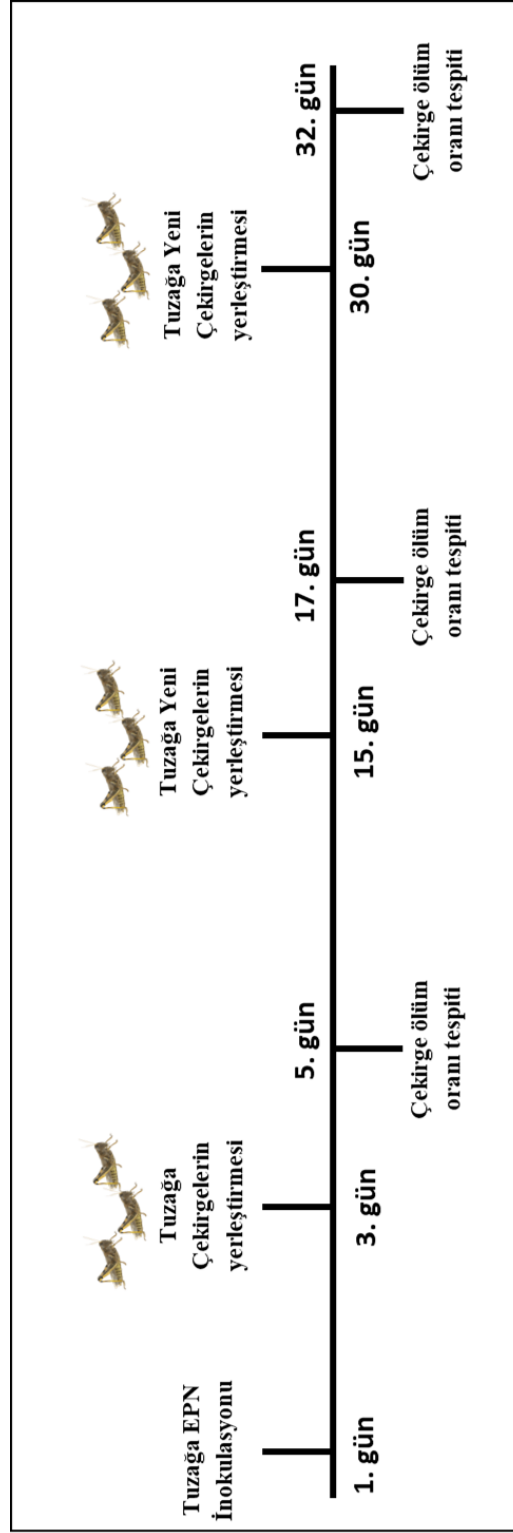


Şekil 3.14. Çekirgelerin Tuzak üzerinde görüntüsü



Şekil 3.15. İncelemeye alınmış çekirgelerin görünümü

Başlangıçta her bir tuzağa 10 yetişkin *L. migratoria* transfer edildi. Ölü ve canlı yetişkin çekirgeler, her transferden 2 gün sonra kaydedilmektedir. İlk transferden sonra, tüm çekirgelerin ölüm oranları kaydedilmekte ve tüm erginler tuzaktan çıkarılmaktadır. 15. ve 30. günlerde aynı tuzaklara 10 yeni ergin çekirge daha transfer edilmektedir. Böylece, her tuzak nematod aşılamasından 1, 15 ve 30 gün sonra aktarılan üç çekirge topluluğuna ev sahipliği yapmıştır (Şekil 3.16.). Kontrol olarak, 10 çekirge hiç nematod uygulanmadan tuzak sistemlerine aktarılmış ve tüm denemeler üç kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.16. Tuzak deneme zaman çizelgesi

3.7. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH'nin Kalıcılığı

Heterorhabditis bacteriophora HBH'nin *L. migratoria*'ya karşı etkinliğine ek olarak, nematodların kumaş üzerindeki kalıcılığını tespit etmek için denek tuzaklar kullanılmıştır. Tuzaklardaki nematodların canlı olarak kalanları (Kalıcılık) bir önceki prosedüre benzer baz alarak, bulaştırmadan 1, 15 ve 30 gün sonra kaydedildi.

3.8. İstatistiksel Analizler

Tez kapsamındaki tüm denemeler ergin hamamböcekleri ve çekirgeler için 3 tekerrür olarak yapılmış ve ergin ölümlerindeki istatistiksel farklılıklar, JMP® 7.0 yazılımında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak tespit edilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkı belirlemek için LSD (En Küçük Anlamlı Farklar) testi ($P \leq 0.05$) kullanılmıştır.

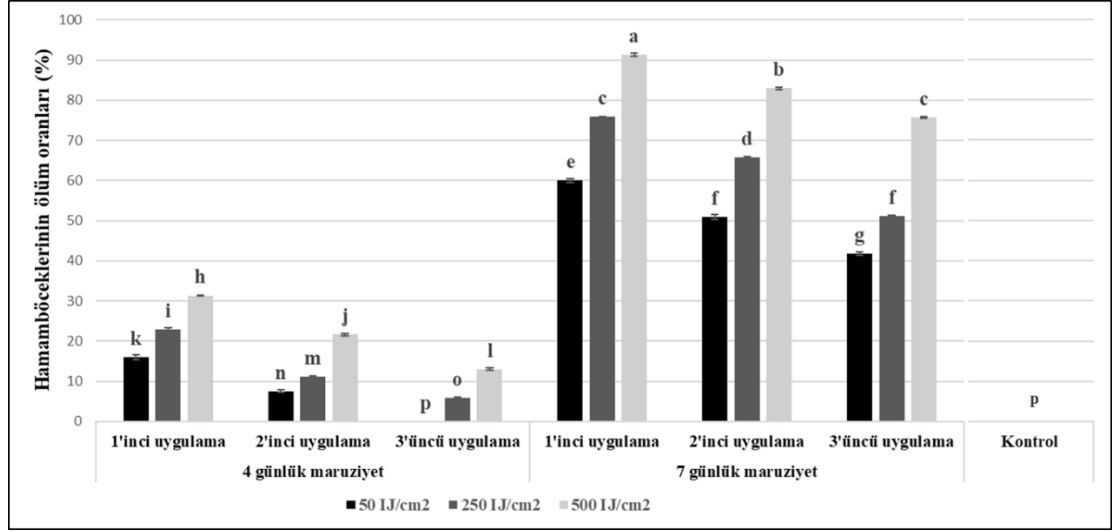
4. BULGULAR

4.1. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH'nin *Blatta lateralis*'e karşı etkinliği

1. aşamanın 4 günlük uygulamasında, 500 IJ/cm² dozunda hamamböceği ölüm oranı %31,33'dür. 50 IJ/cm² dozajının ölüm oranı %16'dır. 50 IJ/cm² ve 250 IJ/cm² dozları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Ayrıca, 7 günlük uygulamadaki ilk aşamada, istatistiksel olarak en yüksek ölüm oranı %91,33 olarak 500 IJ/cm² de tespit edilmiş ve daha sonra 250 IJ/cm² ve 50 IJ/cm² dozajındaki ölüm oranları sırasıyla %75,83 ve %60'dır. Dozlar arasındaki ölüm oranı farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmiştir. 1. aşamada tüm dozlardaki (50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm²) ölüm oranı, hem 4 hem de 7 günlük uygulama için 2. ve 3. aşamadaki dozlardan istatistiksel olarak daha yüksek bulundu (Şekil 4.1.) ($F = 7737.453$; $df = 17,36$; $P > 0.0001$).

4 günlük uygulamadaki 2. aşamada, istatistiksel olarak en yüksek ölüm oranı 500 IJ/cm² dozajında %21,67 olarak tespit edilmiştir. 50 IJ/cm² ve 250 IJ/cm² dozlarının ölüm oranları istatistiksel olarak farklı olup sırasıyla %7,5 ve %11,17 oranındadır. 2. aşamadaki 7 günlük uygulamada, en yüksek ölüm oranı %83 olarak 500 IJ/cm² dozajında tespit edilmiştir. Bununla birlikte, en düşük ölüm oranı 50 IJ/cm² dozunda % 51 olarak gözlenmiştir. Ölüm oranları arasındaki farklar anlamlı derecede önemliydi (Şekil 4.1.) ($F = 7737.453$; $df = 17,36$; $P > 0.0001$)

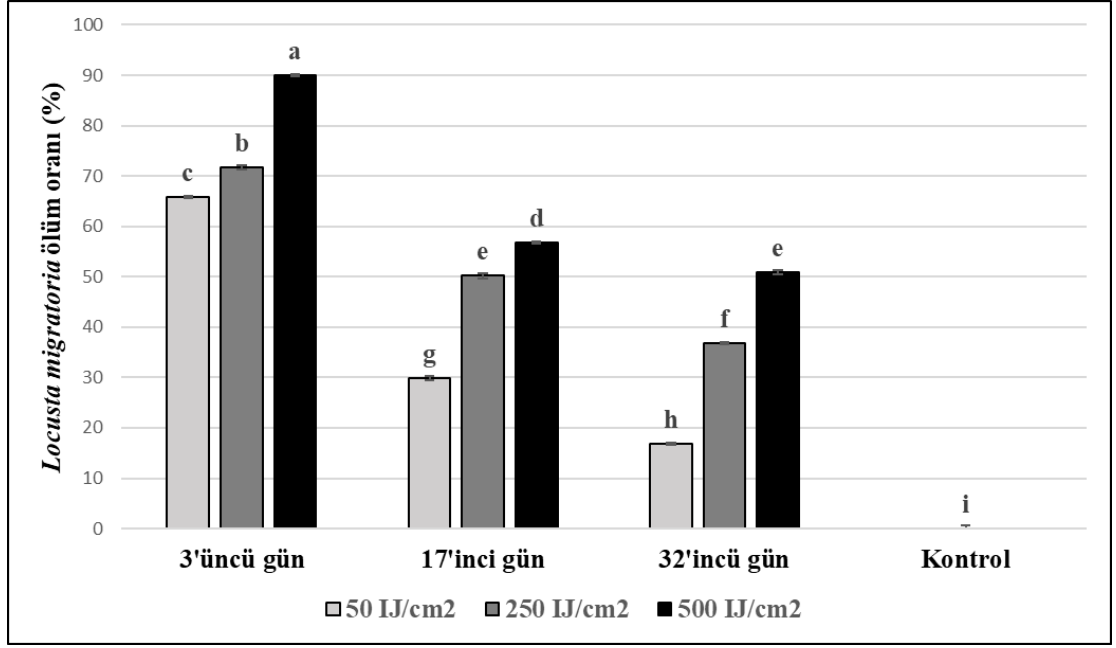
4 günlük uygulamada 3. aşamada, en yüksek mortalite %13 olarak 500 IJ/cm² dozajında istatistiksel olarak tespit edildi. 50 IJ/cm² ve 250 IJ/cm² dozajının mortalite oranları sırasıyla % 0 ve % 5.83 olmuştur. 50 IJ/cm² dozajındaki mortalite kontrol ile istatistiksel olarak aynıdır. 3'üncü Aşamadaki 7 günlük uygulama, en yüksek ölüm oranı 500 IJ/cm² dozunda % 75.67 olarak elde edilmiştir. 50 IJ/cm² ve 250 IJ/cm² dozundaki mortalite oranları sırasıyla % 41.83 ile % 51.17 oranında olmuştur ve bu dozajlar arasındaki mortalite farklılıkları istatistiksel olarak anlamlıdır. 1'inci aşamada tüm dozlarda (50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm²) mortalite, hem 4 hem de 7 günlük maruziyet için hem 2'inci hemde 3'üncü aşamanın dozlarından istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.1.) ($F = 7737.453$; $df = 17,36$; $P > 0.0001$).



Şekil 4.1. Üç farklı dozajla (50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm²) HBH'ye maruz kaldıktan sonra 4 ve 7 gün sonra tüm uygulamalarda *B. lateralis* ölüm oranları. Kontrol, tüm tedavilerde her iki uygulama dönemini (4 ve 7 günlük uygulama) kapsamaktadır (F = 7737.453; df = 17,36; P> 0.0001).

4.2. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH'nin *Locusta migratoria*'ya karşı etkinliği

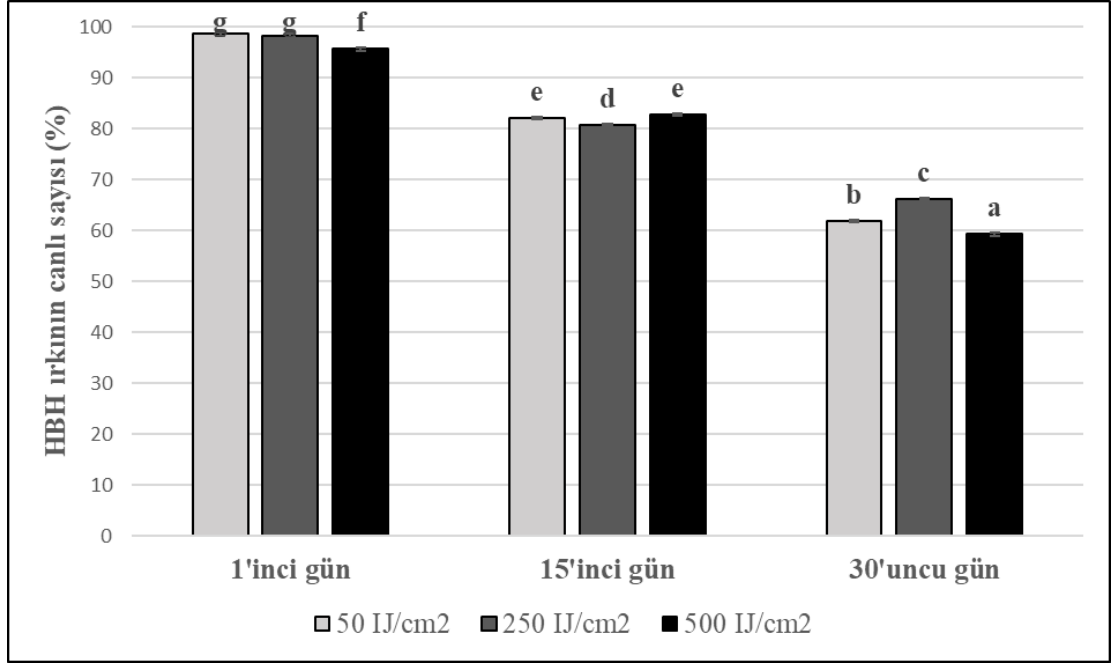
L. migratoria'nın en yüksek ölüm oranı, tuzak başına 500 IJ/cm² ile deneyin 3. gününde kaydedildi. 50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm² dozajların arasındaki ölüm oranı etkisi 3'üncü, 17'inci ve 32'inci günde istatistiksel olarak anlamlı ve birbirinden farklı olmuştur. 32. günde, *L. migratoria*'nın en yüksek ölüm oranı 500 IJ/cm² ile % 50.83 oranında tespit edildi. Tüm uygulamalardaki ölüm oranları kontrole göre istatistiksel açıdan daha yüksektir. 50 IJ/cm² dozajında 3'üncü, 17'inci ve 32'inci günde ölüm oranları sırasıyla %65,83, %29.83 ve %16.83 olmuştur. 250 IJ/cm² dozajında 3'üncü, 17'inci ve 32'inci günde ölüm oranları sırasıyla %71,67, %50,17 ve %36.83 olmuştur. 500 IJ/cm² dozajında 3'üncü, 17'inci ve 32'inci günde ölüm oranları sırasıyla %90, %56,83 ve %50,83 olmuştur (Şekil 4.2.) (F = 5410.754; df = 9,20; P> 0.0001).



Şekil 4.2. 3, 17 ve 32. günlerde *Heterorhabditis bacteriophora* HBH suşunun 50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm² dozlarındaki *Locusta migratoria* mortalitesi (F = 5410.754; df = 9,20; P > 0.0001).

4.3. *Heterorhabditis bacteriophora* HBH'nin tuzaklarda kalıcılığı

1'inci günde, *H. bacteriophora* HBH'nin canlı sayısı (kalıcılığı) 50 IJ/cm² ve 250 IJ/cm² dozajlarında istatistiksel olarak aynı düzeydedir, fakat 500 IJ/cm² dozajındaki canlılığa kıyasla daha yüksek seviyededir. 15'inci günde, 250 IJ/cm² dozajında *H. bacteriophora* HBH canlılığı istatistiksel olarak en düşük olup %80.83 değerindedir. 50 IJ/cm² ve 500 IJ/cm² dozajlarındaki canlılık ise istatistiksel olarak aynı anlamdadır. Bu çalışmada, 50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm² dozajlarında istatistiksel olarak en düşük *H. bacteriophora* HBH canlılığı 30'uncu günde tespit edilmiştir ve sırasıyla %61.83, %66.16, %59.33 değerlerine sahiptir. Beklendiği gibi, ölü bireyler zamanla artmıştır. Bununla birlikte, *H. bacteriophora* HBH popülasyonunun canlı kalan birey sayısı 30 gün sonra bile % 59.33'ün altına düşmemiştir. Bu deney sonunda, *H. bacteriophora* HBH kalıcılığının yaklaşık %60 oranında olduğu anlamına gelmektedir (Şekil 4.3.) (F=3641.405; df = 8,18; P > 0.0001).



Şekil 4.3. Tuzak başına 50 IJ/cm², 250 IJ/cm² ve 500 IJ/cm² dozlarında, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH canlı sayısı (F = 3641.405; df = 8,18; P> 0.0001)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapraktan uygulamalara yönelik bir talep olmasına rağmen, entomopatojen nematodlar (EPN) toprak üstünde istenen başarıya ulaşamaması nedeniyle toprak üstü böceklerle karşı nadiren kullanılmaktadır (Arthurs ve ark. 2004). Toprak üstü uygulamalarda, EPN'leri ultraviyole ışıktan korumak ve dehidrasyonu önlemek amacıyla çeşitli formülasyonlar geliştirilmiştir (Georgis ve diğerleri, 2006; Beck ve diğerleri, 2013). Bununla birlikte, bu formülasyonların etkisi sadece birkaç saat veya gün sürer, EPN'ler etkinliklerini hızla kaybeder (Glazer, 2002; Arthurs ve diğerleri, 2004; Schroer ve Ehlers, 2005). Bu deneyde kullanılan tuzak sisteminin en kritik özelliği, toprak üstü EPN uygulamasında uzun bir süre nemli bir ortamın sağlanmasıdır. Bu EPN'lerin kalıcılığını artırmıştır. Çalışmada EPN'ler için gerekli olan nemli ortam hidrofilik pamuklu kumaş kullanılarak korunmuştur. Diğer bazı çalışmalarda, bazı katkı maddelerinin genellikle EPN'lerin yapraklar üzerindeki kalıcılığını ve etkinliğini arttırdığı bulunmuştur, ancak bu kat edilen ilerlemeler yetersiz düzeydedir (Baur ve ark. 1997, Schroer ve Ehlers, 2005). EPN'lerin toprak üstünde kalıcılığını (canlı sayısı) test etmek için birçok laboratuvar çalışması yapılmıştır. Bunlar, EPN'lerin kalıcılığının günlerden ziyade sadece birkaç saat sağlayabilmiştir (Schroer ve Ehlers, 2005). Fakat bu çalışmada, *H. bacteriophora* HBH ırkının kalıcılığı 4 haftadan fazla sürmüştür. 30'uncu güne kadar, *H. bacteriophora*'nın mortalitesi yaklaşık % 40'a ulaşmıştır, ancak daha iyi kumaşlar kullanarak veya daha büyük bir sıvı haznesi oluşturularak kalıcılığı arttırmak mümkün olabilir. EPN'lerin hareket için ince bir su tabakası gerekmektedir ve su dolu koşullar altında etkili bir şekilde hareket edemezler (Grewal, 2002). Bu çalışma için seçilen pamuklu kumaş, nematod hareketini kolaylaştırmak için ince bir su tabakası ve nemli bir ortam sağlamıştır.

EPN'lerin toprak üstü uygulamalarında etkinliği arttırmak için yapılan bir çalışmada, Dito ve ark. (2016)'nın kullandıkları koruyucu jel kaplayıcıları EPN kalıcılığını 8 saat boyunca sürdürebilmiştir. Diğer bazı çalışmalarda, toprak üstü zararlılarına (*Thrips tabaci* Lindeman, 1889 ve *Trialeurodes vaporariorum* Westwood 1856) karşı haftalık uygulama şeklinde *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) kullanıldı (Trdan ve diğerleri, 2007; Laznik ve diğerleri, 2011; Beck ve diğerleri, 2015). *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) yaprak uygulaması için *H. bacteriophora*'dan daha uygun olarak kabul

edilir, çünkü *Steinernema carpocapsae* dehidrasyona daha dayanıklıdır, üst toprak katmanlarında kalmaya eğilimlidir ve daha güçlü bir konukçu bulma stratejisine sahiptir (Salame & Glazer, 2015). Mevcut çalışmadan *H. bacteriophora* daha az aktif bir konukçu bulma stratejisine sahip olmasına ve toprağın derinlerine inmeye eğilimli göstermesine rağmen (Grewal ve ark., 1994), *H. bacteriophora*'nın da kullanılabileceği ispatlanmıştır. Ayrıca, toprağın kimyasal-fiziksel doğası, EPN'ler için uygun olmayabilir (Kaya, 1990; Barbercheck, 1992; Koppenhöfer ve Fuzy, 2006), bu nedenle bu tuzak sistemini kullanarak EPN'lerin uygulanması bu tarz problemleri çözebilir. Bu çalışmada geliştirilen yöntemle, *H. bacteriophora* HBH ırkı, toprak üstü bir yüzey üzerinde 4 haftadan uzun süre aktif kalıp *L. migratoria* zararlısını enfekte edebilmiştir.

Bunun yanı sıra, *H. bacteriophora* HBH, ölüm oranlarını belirlemek için Türkistan hamamböceği (*Blatta lateralis*) yetişkinlerine karşı kullanıldı. *B. lateralis* ile yapılan çalışmadaki 3'üncü aşamada, tuzakların kurulmasından 30 gün sonra bile 10 yetişkin hamamböceği eklendiğinde, *H. bacteriophora* HBH dozaj ve maruz kalma süresine bağlı olarak Türkistan hamamböceğini enfekte edebilmiştir. Ancak, tüm uygulamalarda zaman uzadıkça EPN'lerin öldürme oranları azalmıştır. Muhtemelen bunun nedeni, EPN'lerin aktivitesinin nem kaybı, aşırı sıcaklıklar veya toprak üstü ultraviyole radyasyon gibi bazı olumsuz çevresel koşullar nedeniyle zamanla azalmasıdır (Lacey ve Georgis, 2012).

Bu araştırmadaki tüm uygulamalarda, uygulama süresi EPN'lerin tüm dozlarında 4 günden 7 güne yükseldiğinde hamamböceği mortalitesi artmaktadır. Benzer şekilde, bazı çalışmalarda, EPN'lere maruz kalma süresi uzadıkça hamamböceği ölümleri de artmıştır (Maketon ve diğerleri, 2010; Baker ve diğerleri, 2012; Morton ve García-del-Pino, 2013; El-Kady ve diğerleri, 2014). Örneğin, Cutler ve ark. (2017), *Blaptica dubia*'yı EPN'lerin kombinasyonuna (*Heterorhabditis* spp. ve *Steinernema* spp.) maruz bıraktılar ve daha sonra 6 gün EPN'lere maruz kaldığında hamamböceği ölümleri meydana gelebilmiştir. Bu çalışmada ise ilk 4 günlük maruziyet sonucunda Türkistan hamamböceği ölüm oranları %16 ila %31.33 arasında olmuştur. Benzer şekilde Baker ve ark. (2012) 1, 2 ve 3 günlük maruz kalma süreleri boyunca Alman hamamböceği *B. germanica* kontrol etmek için *H. bacteriophora* kullandı. *H. bacteriophora* tarafından enfekte olmuş böceklerin ölüm oranı 3 gün içinde % 20'ye ulaşmıştır. Ayrıca El-Kady ve ark. (2014), Alman hamamböceği (*B.*

germanica) yetişkinlerini 4 gün boyunca EPN'lere (*S. carpocapsae*) maruz bıraktı, dozaj ve maruz kalma süresi arttıkça, hamamböceği ölüm oranı Baker ve ark. (2012) ile Maketon ve ark. (2010)'nin yürüttüğü araştırmalara benzer bir oranda arttı. Bu veriler mevcut çalışmamızı desteklemektedir. Maruz kalma süresindeki artış, mortaliteyi etkilemektedir. Böylece hamamböceği kontrolünde toprak üstü EPN kalıcılığı daha önemli hale gelmektedir.

Hidrofilik kumaşın kullanımı nemli bir ortam sağladığı için, bu çalışmada HBH'nin kalıcılığı 4 haftadan fazla süredir devam etmiştir. Her ne kadar Türkistan hamamböceği tuzakları ayarladıktan 15 ve 30 gün sonra (2. ve 3. aşamalarda) HBH'ye maruz kalsa da, EPN'ler hamamböceği erginlerini enfekte edebilmektedir. Daha iyi sonuçlar için, tuzak sisteminin laboratuvar koşullarından daha zorlu bir ortam olan saha koşullarında test edilmesi gerekir. Tuzak sistemimiz ilk değerlendirme için temel bir prototip görevi görmektedir, ancak EPN'leri korumak veya hedeflerini çekmek için farklı kumaşlar, tuzak şekilleri ve farklı maddeler kullanılarak değiştirilebilir. Bu tür değişiklikleri değerlendirerek, EPN'lerin bir tuzak sistemi ile uygulanması, saha uygulamaları için etkili bir seçenek haline gelme olasılığına sahiptir.

Bu çalışmada geliştirilen tuzak sistemi, *H. bacteriophora* HBH ırkının laboratuvar koşulları altında *L. migratoria* ve *Blatta lateralis*'e karşı başarılı bir şekilde kullanılmasını sağladı, enfektivite ve kalıcılık toprak üstü uygulama yapılmasına rağmen 4 haftadan fazla sürdürüldü. Sahada başarılı olmak için, EPN'leri ultraviyole radyasyondan koruyan ve buharlaşmayı yavaşlatan bir kumaş seçilmelidir. Ek olarak, feromon veya renk gibi iyileştirmeler, hedef zararlıları tuzaklara çekmek için kumaş ile birleştirilebilir. Bu yaklaşımla, EPN'lerin geniş bir alana uygulanmasına gerek kalmadan daha ekonomik kontrol elde edilebilir. Burada sunulan bulgular saha çalışmaları ile doğrulandığı takdirde, toprak üstü uygulamalarda EPN'lerin aktivitesini düşüren dehidrasyon problemine iyi bir çözüm olabilme potansiyeline sahiptir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, R., Hussain, M.A., Shaheen, A., Ali, S.S. 2010.** Susceptibility of 23 agriculturally important insect pests to entomopathogenic nematode, *Steinernema masoodi* (Rhabditida: Steinernematidae). *International Journal of Nematology*, 20(2): 157-161.
- Arthurs, S., K. M. Heinz & J. R. Prasifka, 2004.** An analysis of using entomopathogenic nematodes against aboveground pests. *Bulletin of Entomological Research*, 94 (4): 297-306.
- Baker, N.R., Ali, H.B., Gowen, S. 2012.** Reproduction of Entomopathogenic Nematodes *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora* on the German Cockroach *Blattella germanica* at Different Temperatures. *Iraqi Journal of Science*, 53(3): 505-512.
- Barbercheck, M. E., 1992.** Effect of soil physical factors on biological control agents of soil insect pests. *Florida Entomological*, 75: 539-548.
- Baur, M. E., H. K. Kaya, R. Gaugler & B. Tabashnik, 1997.** Effects of adjuvants on entomopathogenic nematode persistence and efficacy against *Plutella xylostella*. *Biocontrol Science and Technology*, 7: 513-525.
- Beck, B., Brusselman, E., Nuyttens, D., Moens, M., Pollet, S., Temmerman, F., Spanoghe, P. 2013.** Improving foliar applications of entomopathogenic nematodes by selecting adjuvants and spray nozzles. *Biocontrol science and technology*, 23(5): 507-520.
- Beck, B., P. Spanoghe, M. Moens, S. Pollet, F. Temmerman & D. Nuyttens, 2015.** Foliar-applied entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* are not suitable for controlling *Thrips tabaci* in leek. *Bulletin of Insectology*, 68 (2): 287-298.
- Cross, J. V., M. G. Solomon, D. Chandler, P. Jarrett, P. N. Richardson, D. Winstanley, H. Bathon, J. Huber, B. Keller, G. A. Langenbruch & G. Zimmerman, 1999.** Biocontrol of pests of apples and pears in Northern and Central Europe: 1. Microbial agents and nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 9: 125-149.
- Cutler, J., Hughes, K., Rae, R. 2017.** Susceptibility of cockroaches (*Gromphadorhina portentosa*, *Nauphoeta cinerea* and *Blattella germanica*) exposed to entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 27(4): 556-564.
- Dito, D. F., D. I. Shapiro-Ilan, C. A. Dunlap, R. W. Behle & E. E. Lewis, 2016.** Enhanced biological control potential of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, applied with a protective gel formulation. *Biocontrol Science and Technology*, 26 (6): 835-848.
- Ehlers, R. U., 1996.** Current and future use of nematodes in biocontrol: practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and Technology*, 6 (3): 303-316.

- El-Kady, G.A., El-Bahrawy, A.F., El-Sharabasy, H.M., El-Badry, Y.S., El-Ashry, R.M. A., Mahmoud, M.F. 2014.** Pathogenicity and Reproduction of the Entomopathogenic Nematode, *Steinernema carpocapsae* (Wieser) in the German Cockroach, *Blattella germanica* L. (Dictyoptera: Blattellidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 24(1).
- Gaugler, R., 2002.** *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Wallingford, UK, 394 pp.
- Georgis, R., A. M. Koppenhöfer, L. A. Lacey, G. Bélair, L. W. Duncan, P. S. Grewal, M. Samish, L. Tan, P. Torr & R. W. H. M. Van Tol, 2006.** Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biological Control*, 38 (1): 103-123.
- Glazer, I., 2002.** “Survival Biology, 169-187”. In: *Entomopathogenic Nematology* (Ed. R. Gaugler). CABI Publishing, Oxon, UK, 394 pp.
- Grewal, P. S., 2002.** “Formulation and Application Technology, 265-287”. In: *Entomopathogenic Nematology* (Ed. R. Gaugler). CABI Publishing, Oxon, UK, 394 pp.
- Grewal, P. S., E. E. Lewis, R. Gaugler & J. F. Campbell, 1994.** Host finding behavior as a predictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, 108 (2): 207-215.
- Hashemi-Aghdam, S.S., Oshaghi, M.A. 2015.** A checklist of Iranian cockroaches (Blattodea) with description of *Polyphaga* sp. as a new species in Iran. *Journal of arthropod-borne diseases*, 9(2): 161.
- Kaya, H. K. & S. P. Stock, 1997.** “Techniques in Insect Nematology, 281-324”. In: *Manual of Techniques in Insect Pathology* (Ed. L. A. Lacey). Academic Press, San Diego, CA, USA, 409 pp.
- Kaya, H. K., 1990.** “Soil Ecology, 93-111”. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control* (Eds. R. Gaugler & H. K. Kaya). CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 381 pp.
- Kim, T., Rust, M.K. 2013.** Life history and biology of the invasive Turkestan cockroach (Dictyoptera: Blattidae). *Journal of economic entomology*, 106(6): 2428-2432.
- Ko, A.E., Bieman, D.N., Schal, C., Silverman, J. 2016.** Insecticide resistance and diminished secondary kill performance of bait formulations against German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *Pest management science*, 72(9): 1778-1784.
- Koppenhöfer, A. M. & E. M. Fuzy, 2006.** Effect of soil type on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92 (1): 11-22.

- Lacey, L. A. & D. I. Shapiro-Ilan, 2008.** Microbial control of insect pests in temperate orchard systems: Potential for incorporation into IPM. *Annual Review of Entomology*, 53: 121-144.
- Lacey, L. A. & R. Georgis, 2012.** Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *Journal of Nematology*, 44 (2): 218-225.
- Lacey, L.A., Shapiro-Ilan, D.I. 2008.** Microbial control of insect pests in temperate orchard systems: potential for incorporation into IPM. *Annu. Rev. Entomol.*, 53: 121-144.
- Laznik, Ž., D. Znidarcic & S. Trdan, 2011.** Control of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) adults on glasshousegrown cucumbers in four different growth substrates: an efficacy comparison of foliar application of *Steinernema feltiae* (Filipjev) and spraying with thiamethoxam. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35 (6): 631-640.
- Lewis, E.E. & D.J. Clarke, 2012.** "Nematode parasites and entomopathogens, 395-424". In: *Insect Pathology* (Ed. F. E. Vega & H. K. Kaya). Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, 508 pp.
- Ma, J., X. Han, Hasibagan, C. Wang, Y. Zhang, J. Tang, Z. Xie & T. Deveson, 2005.** Monitoring East Asian migratory locust plagues using remote sensing data and field investigations. *International Journal of Remote Sensing*, 26 (3): 629-634.
- Mahmoud, M.F. 2013.** Ecological investigation, density, infestation rate and control strategy of German cockroach, *Blattella germanica* (L.) in two hospitals in Ismailia, Egypt. *Arthropods*, 2(4): 216.
- Maketon, M., Hominchan, A., Hotaka, D. 2010.** Control of American cockroach (*Periplaneta americana*) and German cockroach (*Blattella germanica*) by entomopathogenic nematodes. *Revista Colombiana de Entomología*, 36(2): 249-253.
- McMullen II, J.G., Stock, S.P. 2014.** In vivo and in vitro rearing of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae). *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (91): e52096.
- Morton, A., García-del-Pino, F. 2013.** Sex-related differences in the susceptibility of *Periplaneta americana* and *Capnodis tenebrionis* to the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *Journal of invertebrate pathology*, 112(3): 203-207.
- Nedelchev, S., Pilarska, D., Takov, D., Golemansky, V. 2013.** Protozoan and Nematode Parasites of the American Coackroach *Periplaneta americana* (L.) from Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 65: 403-408.
- Noosidum, A., Satwong, P., Chandrapatya, A., & Lewis, E. E. (2016).** Efficacy of *Steinernema* spp. plus anti-desiccants to control two serious foliage pests of vegetable crops, *Spodoptera litura* F. and *Plutella xylostella* L. *Biological control*, 97, 48-56.

- Portman, S. L., Krishnankutty, S. M., & Reddy, G. V. (2016).** Entomopathogenic nematodes combined with adjuvants presents a new potential biological control method for managing the wheat stem sawfly, *Cephus cinctus* (Hymenoptera: Cephidae). *PloS one*, 11(12), e0169022.
- Rai, M. M. & P. H. Chavhan, 2015.** Effect of weed plant extracts on migratory locust, *Locusta migratoria* (R & F). *International Journal of Pharmacology and Biological Sciences*, 9 (1): 27-32.
- Rai, M. M., D. G. Gore, M. K. Rathod & A. M. Khurad, 2013.** Evidence of transovarial transmission of *Bacillus subtilis* in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal of Pharmacy Research*, 7 (4): 318-323.
- Renkema, J. M., Evans, B., & Devkota, S. (2018).** Management of flower thrips in Florida strawberries with *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) and the insecticide sulfoxaflor. *Florida Entomologist*, 101(1), 102-109.
- Salame, L. & I. Glazer, 2015.** Stress avoidance: vertical movement of entomopathogenic nematodes in response to soil moisture gradient. *Phytoparasitica*, 43: 647-655.
- Schroer, S., Ehlers, R.U. 2005.** Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for biological control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*). *Biological Control*, 33(1): 81-86.
- Shapiro-Ilan, D. I., R. Han & X. Qiu, 2014.** “Production of Entomopathogenic Nematodes, 321-356”. In: *Mass Production of Beneficial Organisms: Invertebrates and Entomopathogens* (Eds. J. A. Morales-Ramos, M. G. Rojas, D. I. Shapiro-Ilan). Academic Press/Elsevier, Waltham, MA, USA, 742 pp.
- Showler, A. T., 1995.** “Desert Locust Control, Public Health, and Environmental Sustainability in North Africa, 217-239”. In: *The North African Environment at Risk* (Eds. W. D. Swearingen & A. Bencherifa), West view Press, Boulder, CO., USA., 415 pp.
- Sohn, M.H., Kim, K.E. 2012.** The cockroach and allergic diseases. *Allergy, asthma & immunology research*, 4(5): 264-269.
- Sookrung, N., Chaicumpa, W. 2010.** A revisit to cockroach allergens. *Asian Pacific journal of allergy and immunology*, 28(2-3): 95.
- Stock, S.P., Blair, H.G. 2008.** Entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts: the inside out of a mutualistic association. *Symbiosis-Rehovot*, 46(2): 65.
- Şahin, Y.S., Bouchari, A., Ulu, T.C., Sadiç, B., Susurluk, A. 2018.** New application method for entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) (Rhabditida: Heterorhabditidae) HBH strain against *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 42(4): 305-312.

- Trdan, S., D. Žnidarčič & M. Vidrih, 2007.** Control of *Frankliniella occidentalis* on greenhouse-grown cucumbers: an efficacy comparison of foliar application of *Steinernema feltiae* and spraying with abamectin. *Russian Journal of Nematology*, 15 (1): 25-34.
- Vos, J. G., E. Dybing, H. A. Greim, O. Ladefoged, C. Lambre, J. V. Tarazona, I. Brandt & A. D. Vethaak, 2000.** Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Critical Reviews in Toxicology*, 30 (1): 71-133.
- Wang, Y., Q. Huang, X. Zhang & B. Ren, 2014.** Application of insect songs in monitoring population density level of *Locusta migratoria migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Zoological Studies*, 53 (1):55 (1-7).
- White, G. F., 1927.** A Method for obtaining infective nematode larvae from culture. *Science*, 66: 302-303.
- Wright, D., A. Peters, S. Schroer & J. Fife, 2005.** "Application Technology, 91-106". In: *Nematodes as Biocontrol Agents* (Eds. P. S. Grewal, R. U. Ehlers & D. I. Shapiro-Ilan). CABI Publishing, Wallingford, UK, 528 pp.
- Wright, D., Peters A., Schroer, S., Fife, J. 2005.** Nematodes as Biocontrol Agents. In P. S. Grewal, R. U. Ehlers, & D. I. Shapiro-Ilan (Eds.), *Application Technology*. CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 91-106.
- Zhang, D. X., L. N. Yan, Y. J. Ji, G. M. Hewitt & Z. S. Huang, 2009.** Unexpected relationships of substructured populations in Chinese *Locusta migratoria*. *BMC Evolutionary Biology*, 9 (1): 144-155.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ahcen BOUHARI
Doğum Yeri ve Tarihi : Ghardaia / CEZAYİR, 20.04.1993
Yabancı Dili : Fransızca, İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Moufdi Zakaria Fen Bilimler Lisesi /
Ghardaia-Cezayir (2009-2012)

Lisans : Mostaganem Üniversitesi Ziraat
Fakültesi Bitki Koruma Bölümü
/Mostaganem-Cezayir (2011-2015)

Yüksek Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri
Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı
(2017-2020)

İletişim (e-posta) : ahcenbouhari@yahoo.fr

Yayınlar:

Sahin, Y.S., Bouhari, A., Susurluk, İ.A. 2018. The effects of humic and fulvic acids on the entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* (Weiser), *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 9(2): 102-109.

Şahin, Y.S., Bouhari, A., Ulu, T.C., Sadıç, B., Susurluk, A. 2018. New application method for entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976)(Rhabditida: Heterorhabditidae) HBH strain against *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758)(Orthoptera: Acrididae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 42(4): 305-312.