

**HİBRİTLENEN ENTOMOPATOJEN NEMATOD
HETERORHABDİTİS BACTERIOPHORA İRKLARININ
EBEVEYNLERİNE GÖRE ETKİNLİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Yasemin KONGU



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİBRİTLENEN ENTOMOPATOJEN NEMATOD *HETERORHABDİTİS*
BACTERIOPHORA IRKLARININ EBEVEYNLERİNE GÖRE
ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Yasemin KONGU

Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA-2012

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Yasemin KONGU tarafından hazırlanan ‘‘Hibritlenen Entomopatojen Nematod *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının Ebeveynlerine Göre Etkinliklerinin Karşılaştırılması zerine Araştırmalar’’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Başkan : Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK İmza:
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı

ye : Prof. Dr. Aydın İPEK İmza:
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Zootekni Anabilim Dalı

ye : Doç. Dr. Nimet Sema GENÇER İmza:
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Kadri ARSLAN
Enstitü Müdürü
.././2012

Bilimsel Etik Bildirim Sayfası

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 esere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

04/06/2012

İmza

Yasemin Kongu

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HİBRİTLENEN ENTOMOPATOJEN NEMATOD *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* IRKLARININ EBEVEYNLERİNE GÖRE ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Yasemin KONGU

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Heterorhabditis bacteriophora Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae) dünya üzerinde biyolojik mücadele içerisinde tarımsal zararlılara karşı etkin olarak kullanılan bir entomopatojen nematod (EPN) türüdür. Yüksek biyolojik mücadele potansiyeline sahip olan bu EPN türünün hedef alınan zararlı böcek üzerindeki etkinliği farklı iklim özelliklerine sahip olan bölgelerde değişiklik göstermektedir. Diğer yandan bu EPN türü 1. dölünde kendileme yoluyla üreyen hermafrodit bireyleri oluştururken, 2. dölünde ise eşeyli üreme yeteneğindeki dişi ve erkek bireyleri meydana getirir. Bu durum kalıtım çalışmalarında bir avantaj sağlamaktadır. Böylelikle istenilen bir özellik 2. dölde meydana gelen erkek ve dişi bireylerin hibridizasyonu yoluyla diğer nesillere aktarılabilirken, 1. dölde meydana gelen hermafrodit bireylerin kendileme yoluyla üremesi sebebiyle de bu özellikeyeni nesillerin bünyesinde korunabilmektedir. Bu tez çalışması kapsamında; Antalya (H.b. 6) , Çanakkale (H.b. 876), Kırklareli (H.b. 17), İzmir (H.b. HIZ), Şanlıurfa (H.b. HSU) ve Adana (H.b. 10) illerinden izole edilmiş olan 6 farklı *H. bacteriophora* ırkı kullanılmış olup, bu ırkların etkinlikleri *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)'nın son dönem larvaları üzerinde 5, 10, 20, 50, 75 ve 100 IJ/Larva olmak üzere 6 farklı uygulama dozunda belirlenmiş, en düşük etkinlik değerine sahip olan ırkın dişi ve erkek bireyleri ile denemelerde kullanılan diğer tüm ırkların erkek ve dişi bireyleri *in vitro* ortam koşullarında hibritlenerek 10 farklı yeni ırk elde edilmiştir. Hibridizasyon sonucunda elde edilen ırkların *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkinlikleri ebeveyn ırklar ile aynı şekilde belirlenmiştir. Çalışma sonunda ebeveyn ve hibrit ırklara ait olan etkinlik verileri karşılaştırılmış ve elde edilen 10 yeni hibrit ırkın %70'inin ebeveynlerine göre yüksek, %30'unun ise ebeveynlerine göre daha düşük değerlerde etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca hibrit ırkların böcek üzerindeki etkinlik değeri üzerine erkek ve dişi bireylerin farklı etkiler gösterdiği de tespit edilmiştir. Ebeveynlerine göre yüksek etkinlik değerine sahip olan hibrit ırkların etkinlik değerlerinin %57.1'inin dişi, %42.9'unun ise erkek bireylerin etkisi altında kaldığı bulunmuştur. Ebeveynlerine göre düşük seviyede etkinlik gösteren hibrit ırkların etkinlik değerinin %66.7'sinde erkek bireylerin, %33.3'ünde ise dişi bireylerin etkisiyle azaldığı belirlenmiştir. Ebeveyn ırkların 5 IJ/larva uygulama dozunda *G. mellonella* larvaları üzerinde ortalama %13.33 ile 60 oranları arasında etkinlik gösterdiği, hibrit ırkların ise aynı uygulama dozunda larva üzerinde ortalama %26.67 ile 83.33 oranları arasında etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Heterorhabditis bacteriophora*, biyolojik mücadele, entomopatojen nematod, etkinlik, hibridizasyon, *in vitro*

2012, xiv + 109 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATIONS ON COMPARING OF EFFECTIVENESS OF HYBRIDIZED ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* STRAINS AND THEIR PARENTS.

Yasemin KONGU

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Heterorhabditis bacteriophora Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae), which is used against agricultural pests in biological control on all world, is a species of entomopathogenic nematodes (EPNs). However, effectiveness of this EPN species having high biological control potential, can be changed on targeted insect pests in different climatic zone. On the other hand, *H. bacteriophora* is produced self-fertilizing hermaphrodite individuals in a first generation and, this species gives rise to a second generations consisting of amphimictic males and females. This situation provides advantage in genetic studies, because a feature could be transmitted new generations through hybridization of males and females individuals, which they comprised in the second generations of *H. bacteriophora*. Moreover, the feature could be protected in structure of new generations, because of self-fertilizing hermaphrodites. In this study, six different *H. bacteriophora* strains, which isolated in following different cities from Turkey; Antalya (H.b. 6), Çanakklae (H.b. 876), Kırklareli (H.b. 17), İzmir (H.b. HIZ) and Adana (H.b.10), were used, and their effectiveness were determined on last instar of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) at six different dosage 5, 10, 20, 50, 75 and 100 IJ/Larva. Then male and female individuals of having lowest effectiveness strains were made crossbreeding with other females and males individuals of other using strains on *in vitro* conditions. In this way, ten different strains were obtained by hybridization and their effectiveness was determined on last instar of *G. mellonella* in the same way with parents. At the end of study, effectiveness of parents and hybridized strains of *H. bacteriophora* were compared each other. According the results 70% of hybridized strains are more effective and 30% of them are less effective than their parents against *G. mellonella* was detected. The results indicated that male and female individuals have different effect on effectiveness against target insects. The hybridized strains, which they are more effective than their parents, were influenced from 57.1% female and from 42.9% male individuals. Other hybridized strains, which have less effectiveness than parents have, were influenced from 66.7% male and from 33.3% female individuals as well. At the applied dose of 5 IJ/Larva, the mean mortality of *G. mellonella* ranged from 13.33 to 60%, and from 26.67 to 83.33 in parent and hybridized strains, respectively.

Key words: *Heterorhabditis bacteriophora*, biological control, entomopathogenic nematodes, effectiveness, hybridization, *in vitro*

2012, xiv + 109 pages.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yürütülmesi için gerekli zemini hazırlayan, bilgi ve tecrübeleriyle beni aydınlatan, yol gösteren ve hiçbir zaman emeğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. İsmail Alper SUSURLUK' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim süresince eğitim hayatıma katkıda bulunan Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi' nin değerli hocalarına teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak eğitim hayatımın başlangıcından itibaren yanımda bulunan ve bana maddi manevi her türlü imkanı sağlayarak hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bu tez çalışması TOVAG 110O161 no' lu projenin bir bölümünden elde edilmiş ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLERDİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	7
2.1. Etkinlik Çalışmaları ile İlgili Kaynak Araştırması	7
2.2. Hibridizasyon Çalışmaları ile İlgili Kaynak Araştırması	15
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irkları.....	19
3.1.2. <i>Galleria mellonella</i> Larvaları	20
3.1.3. Cihazlar.....	20
3.1.4. Kimyasal Malzemeler ve Besin Maddeleri	20
3.1.5. Diğer Sarf Malzemeler	21
3.2. Yöntem	21
3.2.1. <i>Galleria mellonella</i> Larvalarının Üretilmesi	21
3.2.2. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının <i>In vivo</i> Olarak <i>Galleria mellonella</i> Larvaları Üzerinde Üretilmesi.....	23
3.2.3. Ebeveyn <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının <i>Galleria mellonella</i> üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi	27

3.2.4. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının Hibridizasyonu	28
3.2.4.1. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının <i>In vitro</i> Olarak Üretilmesi	29
3.2.4.1.1. Simbiyont bakteri <i>Photorhabdus luminescens</i> ' in izolasyonu	29
3.2.4.1.2. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarından yumurta izolasyonu	34
3.2.4.1.3. Monoksenik nematod kültürünün hazırlanması	39
3.2.4.1.4. <i>In vitro</i> sıvı ortamda <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarının üretilmesi	41
3.2.4.2. Hibridizasyon işleminde birbirleriyle hibritlenecek olan <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarının belirlenmesi	45
3.2.4.3. Hibridizasyon işleminin yapılması	46
3.2.5. Hibrit <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Irklarının <i>Galleria mellonella</i> üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi	49
3.2.6. İstatiksel Değerlendirme	50
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	51
4.1. Ebeveyn Irkların Etkinliklerinin Değerlendirilmesi	51
4.1.1. Ebeveyn Irkların LD ₅₀ ve LD ₉₀ Değerleri	51
4.1.2. Belirlenen Uygulama Dozlarında Elde Edilen Etkinlik Verileri	52
4.1.2.1. 5 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	53
4.1.2.2. 10 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	54
4.1.2.3. 20 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	55
4.1.2.4. 50 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	56
4.1.2.5. 75 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	57
4.1.3. Uygulama Dozlarının Irkların Etkinliği Üzerine Olan Etkileri	58
4.1.3.1. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. 6 (Antalya) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	58

4.1.3.2. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. 876 (Çanakkale) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	59
4.1.3.3. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	60
4.1.3.4. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. HIZ (İzmir) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	61
4.1.3.5. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. HSU (Şanlıurfa) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	62
4.1.3.6. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. 10 (Adana) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	63
4.2. Hibrit Irkların Etkinliklerinin Değerlendirilmesi	64
4.2.1. Hibrit Irkların LD ₅₀ ve LD ₉₀ Değerleri	65
4.2.2. Belirlenen Uygulama Dozlarında Elde Edilen Etkinlik Verileri	66
4.2.2.1. 5 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	67
4.2.2.2. 10 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	68
4.2.2.3. 20 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	69
4.2.2.4. 50 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	70
4.2.2.5. 75 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri	71
4.2.3. Uygulama Dozlarının Irkların Etkinliği Üzerine Olan Etkileri	72
4.2.3.1. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	72
4.2.3.2. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	73
4.2.3.3. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	74
4.2.3.4. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	75

4.2.3.5. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	76
4.2.3.6. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	77
4.2.3.7. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	78
4.2.3.8. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	79
4.2.3.9. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	80
4.2.3.10. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri	81
4.3. Ebeveyn ve Hibrit Irkların Etkinliklerinin Karşılaştırması	82
4.3.1. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. 876 (Çanakkale) Ebeveyn Irkları ile H.b. A (H.b. 6 ♀ X H.b. 876 ♂) ve H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması	83
4.3.2. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. 17 (Kırklareli) Ebeveyn Irkları ile H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ve H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması	84
4.3.3. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. HIZ (İzmir) Ebeveyn Irkları ile H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ve H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması	86
4.3.4. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. HSU (Şanlıurfa) Ebeveyn Irkları ile H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ve H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması	87
4.3.5. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. 10 (Adana) Ebeveyn Irkları ile H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ve H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması	88
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	91
KAYNAKLAR	96
ÖZGEÇMİŞ.....	109

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklamalar
g	Gram
ha	Hektar ($1 \times 10^4 \text{ m}^2$)
kg	Kilogram
l	Litre
m	Metre
m^2	Metrekare
m^3	Metreküp
ml	Mililitre ($1 \times 10^{-3} \text{ l}$)
μl	Mikrolitre ($1 \times 10^{-3} \text{ ml}$)
μm	Mikrometre ($1 \times 10^{-6} \text{ m}$)
mm	Milimetre ($1 \times 10^{-3} \text{ m}$)
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
cm	Santimetre ($1 \times 10^{-2} \text{ m}$)
cm^2	Santimetrekare ($1 \times 10^{-4} \text{ m}^2$)
cm^3	Santimetreküp ($1 \times 10^{-6} \text{ m}^3$)

Kısaltmalar	Açıklamalar
BSA	Bovine serum albumin
dk	Dakika
EPN	Entomopatojen nematod
IJ	İnfektif juvenil
L.	Linnaeus

LD ₅₀	Popülasyonun % 50' sini öldürmesi beklenen doz
LD ₉₀	Popülasyonun % 90' nını öldürmesi beklenen doz
LC ₅₀	Popülasyonun % 50' sini öldürmesi beklenen konsantrasyon
LT ₅₀	Popülasyonun % 50' sini öldürmesi beklenen zaman
M	Molar
NBTA	Nutrient bromothymolblue agar
rpm	Revolutions per minute
spp.	Species (çoğul)
YS	Yeast extract and salt

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarının izole edildikleri iller	19
Şekil 3.2. <i>Galleria mellonella</i> larvaları.....	21
Şekil 3.3. <i>Galleria mellonella</i> yumurtaları.....	22
Şekil 3.4. <i>Galleria mellonella</i> ' nın pupa ve ergin evreri	22
Şekil 3.5. <i>Galleria mellonella</i> ' nın yetiştirildiği cam kavanoz ve etüv	23
Şekil 3.6. İnokülasyon işlemi	23
Şekil 3.7. 25 °C' lik inkübatör	24
Şekil 3.8. Denemelerin yapıldığı plate.....	25
Şekil 3.9. White trap düzeneği	25
Şekil 3.10. White trap düzeneği (14 gün sonra)	26
Şekil 3.11. Enfektif juvenillerin depolandığı flasklar	26
Şekil 3.12. Enfeksiyon sonrası canlı/ölu larvalar	27
Şekil 3.13. Dölllenmemiş dişi	28
Şekil 3.14. Dölllenmiş dişi	29
Şekil 3.15. Simbiyont bakteri <i>Photorhabdus luminescens</i>	30
Şekil 3.16. Larvanın yüzey sterilizasyonu işlemi.....	30
Şekil 3.17. Larvanın ventralinden steril iğne ile delinmesi.....	31
Şekil 3.18. Hemolinf içeriğinin öze ile alınıp NBTA agara sürülmesi.....	31
Şekil 3.19. NBTA agar üzerinde oluşan <i>Photorhabdus luminescens</i> kolonileri	32
Şekil 3.20. Denemelerin yürütüldüğü orbital çalkalayıcı	33
Şekil 3.21. YS sıvı besin ortamı	33
Şekil 3.22. Bakteri stoğu	34
Şekil 3.23. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> hermafrodit evre.....	34
Şekil 3.24. Disekte edilen larvalar toplanan hermafrodit bireyler.....	35

Şekil 3.25. Hermafrodit bireyin jiletle parçalanması sonucu açığa çıkan yumurtalar	36
Şekil 3.26. Santrifüj cihazı	37
Şekil 3.27. Hermafrodit bireylerden izole edilen yumurtalar.....	38
Şekil 3.28. İzole edilen yumurtalardan çıkan 1. evre jüveniller	40
Şekil 3.29. 1. günde wouts agar.....	40
Şekil 3.30. 7. günde wouts agar üzerinde gelişen çeşitli <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> evreleri	41
Şekil 3.31. 15. günde petri kapağında toplanan infeksiif jüveniller.....	42
Şekil 3.32. BSA sıvı besin ortamı.....	43
Şekil 3.33. BSA sıvı besin ortamına IJ inoküle edilmesi.....	44
Şekil 3.34. IJ inoküle edilmiş olan BSA sıvı besin ortamlarının inkübasyonu	44
Şekil 3.35. İnokülasyondan 10 gün sonra BSA sıvı besin ortamında ergin Heterorhabditic bacteriophora evreleri	45
Şekil 3.36. Hibridizasyon işleminin yapılması.....	47
Şekil 3.37. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ' ya ait erkek ve dişi bireyin wouts agar ortamında çiftleşmesi	48
Şekil 3.38. Hibridizasyon sonucunda meydana gelen hibrit IJ' ler	49
Şekil 4.1. Ebeveyn ırkların 5 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=11.6208; df=5, 12; P=0.0003).....	53
Şekil 4.2. Ebeveyn ırkların 10 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=14.0444; df=5, 12; P=0.0001).....	54
Şekil 4.3. Ebeveyn ırkların 20 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=1.6195; df=5, 12; P=0.2285).....	55
Şekil 4.4. Ebeveyn ırkların 50 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=3.3889; df=5, 12; P=0.0386).....	56
Şekil 4.5. Ebeveyn ırkların 75 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=0; df=5, 12; P=1).....	57
Şekil 4.6. Uygulama dozlarının H.b. 6 (Antalya) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=60.2187; df=4, 10; P=0.0001)	58
Şekil 4.7. Uygulama dozlarının H.b. 876 (Çanakkale) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=55.6000; df=4, 10; P=0.0001)	59

Şekil 4.8. Uygulama dozlarının H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=65.8723; df=4, 10; P=0.0001)	60
Şekil 4.9. Uygulama dozlarının H.b. HIZ (İzmir) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=24.2258; df=4, 10; P=0.0001)	61
Şekil 4.10. Uygulama dozlarının H.b. HSU (Şanlıurfa) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=20.0686; df=4, 10; P=0.0001)	62
Şekil 4.11. Uygulama dozlarının H.b. 10 (Adana) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=57.1296; df=4, 10; P=0.0001)	63
Şekil 4.12. Hibrit ırkların 5 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=9.6129; df=9, 20; P=0.0001).....	67
Şekil 4.13. Hibrit ırkların 10 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=11.9352; df=9, 20; P=0.0001).....	68
Şekil 4.14. Hibrit ırkların 20 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=11.2540; df=9, 20; P=0.0001).....	69
Şekil 4.15. Hibrit ırkların 50 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=3.3472; df=9, 20; P=0.0117).....	70
Şekil 4.16. Hibrit ırkların 75 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=0; df=9, 20; P=1).....	71
Şekil 4.17. Uygulama dozlarının H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=21.9643; df=4, 10; P=0.0001).....	72
Şekil 4.18. Uygulama dozlarının H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=40.6700; df=4, 10; P=0.0001)	73
Şekil 4.19. Uygulama dozlarının H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=67.8900; df=4, 10; P=0.0001).....	74
Şekil 4.20. Uygulama dozlarının H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=46.5000; df=4, 10; P=0.0001).....	75
Şekil 4.21. Uygulama dozlarının H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=11.7500; df=4, 10; P=0.0009).....	76
Şekil 4.22. Uygulama dozlarının H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=12.2344; df=4, 10; P=0.0007).....	77
Şekil 4.23. Uygulama dozlarının H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=142.0625; df=4, 10; P=0.0001).....	78
Şekil 4.24. Uygulama dozlarının H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=3.1746; df=4, 10; P=0.0603).....	79

Şekil 4.25. Uygulama dozlarının H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=15.1944; df=4, 10; P=0.0003).....	80
Şekil 4.26. Uygulama dozlarının H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=113.6500; df=4, 10; P=0.0001).....	81
Şekil 4.27. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=40.0599; df=19, 40; P=0.0001).....	84
Şekil 4.28. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=52.0658; df=19, 40; P=0.0001).....	85
Şekil 4.29. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=21.3577; df=19, 40; P=0.0001).....	87
Şekil 4.30. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=19.5556; df=19, 40; P=0.0001).....	88
Şekil 4.31. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=46.8872; df=19, 40; P=0.0001).....	90

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> ırklarının isimleri ve izole edildikleri iller.....	19
Çizelge 3.2. Ringers solüsyonunun içeriği (Ringer 1882).....	25
Çizelge 3.3. NBTA agarın içeriği (Akhurst 1980).....	32
Çizelge 3.4. YS sıvı besin ortamının içeriği (Dye 1968).....	32
Çizelge 3.5. Sterilizasyon solüsyonunun içeriği.....	37
Çizelge 3.6. Nutrient lipid agarın içeriği (Wouts agar) (Wouts 1981).....	39
Çizelge 3.7. BSA sıvı besin ortamının içeriği (Ehlers 1998).....	43
Çizelge 3.8. Ebeveyn ve hibrit ırklar.....	46
Çizelge 4.1. Ebeveyn ırkların LD ₅₀ ve LD ₉₀ değerleri.....	52
Çizelge 4.2. Ebeveyn ırkların larva üzerindeki etkinlik değerleri.....	52
Çizelge 4.3. Ebeveyn ve hibrit ırklar.....	64
Çizelge 4.4. Hibrit ırkların LD ₅₀ ve LD ₉₀ değerleri.....	65
Çizelge 4.5. Hibrit ırkların larva üzerindeki etkinlik değerleri.....	66
Çizelge 4.6. Ebeveyn Irklar.....	82
Çizelge 4.7. Hibrit ırklar.....	82

1.GİRİŞ

Tarımsal savaşım, ekonomik öneme sahip bitkilerin hastalık, zararlı ve yabancı otların etkilerinden ekonomik ölçüler içinde korunarak, ürün veriminin ve kalitesinin arttırılmasıdır (Delen ve ark. 2005). Kullanılan mevcut mücadele yöntemleri arasında ise ilk sırayı kimyasal mücadele yöntemi almaktadır. Ülkemizde de tarımsal savaş denilince genelde ilk akla gelen savaşım yöntemi kimyasal mücadele yöntemidir. Bunun sebebi, bu yöntemin uygulanabilirliğinin kolay olması, fazla bilgi ve deneyim gerektirmemesi ve etkisinin kısa sürede görülebilmesidir. Diğer savaşım yöntemlerine göre, kimyasal mücadele yönteminin bu üstün özelliklerinin yanında bir o kadar da olumsuz etkileri bulunmaktadır. Bu yöntemde pestisitlerin yoğun olarak kullanılıyor olması doğal dengeyi tahrip ederken, insan ve çevre sağlığını tehdit eden olumsuz etkileri de beraberinde getirmektedir (Delen ve Özbek 1993, Delen ve Tosun 1997). Pestisit kullanımının meydana getirdiği ciddi sorunlardan dolayı bilim insanları daha etkili ve güvenli bir mücadele yöntemi bulmaya yönelmiş ve bunun sonucu olarak da çevre ile dost olmasının yanında, uzun süre etki gösteren bir savaşım yöntemi olarak biyolojik mücadele yöntemi ön plana çıkmıştır. Biyolojik mücadele, zararlı popülasyonunu sınırlayıcı etkenler arasında yer alan ve doğada mevcut olarak bulunan canlı etkenlerden doğal düşmanların, insan faktörünün yardımıyla zararlı ve hastalıkların olumsuz etkilerinin azaltılması için yapılan her türlü girişimdir diye tanımlanmaktadır (Toros ve Maden 1991). Diğer bir deyişle, biyolojik mücadele zararlı popülasyonlarını ekonomik zarar eşiğinin altında tutmak için onlar üzerinde yaşayan faydalı organizmalardan yararlanılması olup, doğal dengeyi koruması, çevre ve insan sağlığına karşı olumsuz etkisinin bulunmaması, dayanıklılık sorunlarını ortadan kaldırması ve uzun süreli etkili olması gibi de avantajlar sağlamaktadır (Öncüler 1995).

Biyolojik mücadele, doğal biyolojik mücadele ve uygulamalı biyolojik mücadele olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır. Doğal biyolojik mücadele, bir bölgede bulunan doğal düşmanların yine aynı bölgedeki zararlı popülasyon yoğunluğunu olması gerekenden daha aşağıda tutması; uygulamalı biyolojik mücadele ise, doğal düşmanların insanlar tarafından kullanılarak zararlılarla mücadele edilmesi şeklinde ifade edilebilir. Uygulamalı biyolojik mücadele doğal düşmanların salınması, yetiştirilmesi ya da korunması gibi yöntemlerle yürütülmektedir.

Biyolojik mücadele içerisinde önemli bir yere sahip olan Entomopatojen Nematodlar (EPN), 1923 yılından beri bilindiği halde tarımsal zararlı böceklerle karşı kullanımları üzerine olan ilgi 1970'lerin sonundan itibaren günümüze dek artış göstermiştir (Nickle 1984, Gaugler ve Han 2002a, Kaya ve ark. 2006). Bunun sebebi toprak kaynaklı böcek zararlılarıyla çevreyle dost ve etkili bir şekilde mücadele etmedeki etmenlerin yetersiz olması ve bu nematodların ticari üretim seviyesinde çoğaltılması için sahip olduğu *in vitro* ortam koşullarındaki üreme yetenekleridir (Klein 1990, Ehlers 2001). EPN'ler uygun çevre koşullarında uygulandığında pestisitler kadar etkili olabilmekte ancak etkinliklerisıcaklık, toprak nemi, toprak yapısı ve oksijen içeriği gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Gerorgis ve Gaugler 1991, Glazer 2002). Bununla birlikte EPN'ler, hedef alınan zararlı böceği aktif olarak arama yeteneğine sahip olduğundan, hedef zararlıyı algılayıp ona doğru harekete geçme özelliğine sahiptirler (Csontos 2002, Susurluk ve ark. 2003, Susurluk 2006a,b, 2008a, Susurluk ve ark. 2011). EPN'ler içerisinde 2 cins biyolojik mücadelede etkin şekilde kullanılmaktadır. Bu cinsler *Steinernema* ve *Heterorhabditis*'dir (Grewal ve ark. 2006).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de EPN'ler ile ilgili çeşitli çalışmalar yürütülmüş, bilinen pek çok tür ülkemizin çeşitli bölgelerinden izole edilmiş ve toprak zararlılarına karşı etkinlikleri test edilmiştir (Özer ve ark. 1995, Kepenekçi 2002, Hazır ve ark. 2003, Kepenekçi ve Susurluk 2003, Susurluk 2006a, Susurluk ve ark. 2009, 2011). Türkiye'den izole edilen EPN türlerinden bir tanesi de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae)'dir (Hazır ve ark. 2003, Susurluk ve ark. 2001, Kepenekçi ve Susurluk 2003). *H. bacteriophora*, böceklerde obligat endoparazit olan ve Lepidoptera, Coleoptera, Diptera ve Thysanoptera takımlarına bağlı zararlı böcek türlerine karşı günümüzde ticari olarak biyolojik mücadele olanağı sağlayan bir entomopatojen nematod türüdür (Ehlers 1996). EPN'ler toprak altı zararlılarına karşı pestisitlerden %40-50 oranında daha etkili olmaktadır (Ehlers ve Peters 1995, Sulistyanto ve Ehlers, 1996). Ayrıca toprak altı zararlılarının yanında toprak üstünde zarar yapan, ancak belirli bir hayat dönemini toprakta ya da ağaç kabuklarının altında geçiren *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae), *C. splendana* Hübner, 1799 (Lepidoptera: Tortricidae), *Ceratitidis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae), *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera: Tephritidae), Tripsler (Thysanoptera Haliday, 1836),

Hoplocampa spp. L. (Hymenoptera: Tenthredinidae), *Curculio elephas* Gyllenhal, 1836 (Coleoptera: Curculionidae) ve *C. nucum* L. (Coleoptera: Curculionidae) gibi ekonomik önemdeki zararlılara karşı da etkin olarak kullanılabilir (Peters 1996).

Hayat döngüsü boyunca yumurta, 4 larva dönemi ve ergin dönem olmak üzere 6 evre geçiren *H. bacteriophora*, toprakta serbest halde 3. larval (juvenil) evresi olan infektif juvenil (IJ) ya da dauer juvenil (DJ) olarak adlandırılan evrede bulunur. Bu evrede EPN'ler uygun bir konukçu buluncaya kadar beslenmeksizin 6-8 ay süreyle aktif bir şekilde konukçusunu arayabilme yeteneğindedirler (Ehlers 1996, Burnell ve Stock 2000, Koppenhöfer ve ark. 2000). Uygun bir konukçu bulduklarında ise böceğin ağız, anüs ve trake gibi doğal açıklıklarından direkt olarak ya da ağız kısmının dorsalinde yer alan dişi yapılar yardımıyla böceğin segmentler arasında bulunan zarı delerek giriş yaparlar (Bedding ve Molyneux 1982, Poinar 1990, Wang ve Gaugler 1998). *Heterorhabditis* spp. infektif dönemde *Photorhabdus* cinsine bağlı olan bakterilerle ortak yaşam içerisindedirler (Bird ve Akhurst 1983, Endo ve Nickle 1991). Bu bakteri EPN olmadan doğada kendi başına yaşayamamakla birlikte, direkt olarak uygulandığında ise konukçu böcek üzerinde herhangi bir patojenik etki yaratmaz (Akhurst ve Boemare 1990, Morgan ve ark. 1997). Aynı şekilde *Heterorhabditis* spp., bu bakteri olmadan böceği öldüremez ve üreyemez (Gerritsen ve Smiths 1993, Han ve Ehlers 2000). Her EPN cinsi kendine özgü bir bakteri türüyle bu ilişkiyi sürdürmektedir (Pütz ve ark. 1990). Ancak her bakteri türü aynı cinse bağlı olan birden fazla EPN türüyle ilişkili olabilir (Akhurst ve Boemare 1990). Bu bakterilerin, biyokimyasal testlerde boya emmesine göre ayrılan 1. ve 2. olmak üzere 2 formu bulunmaktadır (Akhurst 1980, 1982). EPN'ler bakterinin 1. formunda gelişim gösterebilmekte ve IJ'ler sadece bu formu taşımaktadırlar (Akhurst 1982, Ehlers ve ark. 1990). *H. bacteriophora*'nın infektif dönemde barsak kısmının ön kısmında özel bir kese içerisinde 200 ile 2000 adet arasında değişen sayıda simbiyont yaşam sürdüğü Enterobacteriaceae familyasına ait *Photorhabdus luminescens* subsp. *laumondii* bakterisi hücrelerini taşır (Endo ve Nickle 1994, Duchaud ve ark. 2003). IJ, böceğe giriş yaptığı anda deri değiştirerek 4. juvenil evresine geçer ve bu bakteriyi ağız ve anüs yoluyla böcek hemolimfine bırakır (Poinar ve ark. 1977). Bakteriler böcek içerisinde hızla çoğalarak böceğin 24-48 saat içinde septisemiadan (kan zehirlenmesi) ölümüne neden olurlar (Akhurst 1983, Forst ve Nealson 1996, Burnell ve Stock 2000, Glazer ve Lewis 2000, Dowds ve Peters 2002). Çoğalan bakteriler böceğin hemolimfini

salgıladıkları proteaz, lipaz gibi enzimlerle metabolize ederek EPN'lerin gelişmesi ve üremesi için elverişli bir ortam yaratmaktadırlar (Forst ve ark. 1997). Bu sırada EPN'ler bakteri hücreleri ve konukçu dokusuyla beslenir, ergin hale geçerek hermafrodit bireylerini oluşturur (Poinar 1975). Dolayısıyla *H. bacteriophroa* ilk dölünde eşeysiz (automictic) olarak üremektedir. Ancak 2. dölünde elverişli ortam koşullarında eşeyli üreme (amphimictic) yeteneğindeki erkek ile dişi bireyleri, elverişsiz ortam koşullarında ise IJ bireyleri meydana getirir. (Strauch ve ark. 1994, Koltai ve ark. 1995). Hermafrodit ya da dişilerin bıraktığı yumurtalar 2 günde açılır ve her birey yumurtadan 1. juvenil döneminde çıkış yapar (Lunau ve ark. 1993). EPN'ler oda sıcaklığında 5-7 günde hayat devrini tamamlar ve enfekte ettikleri böcekte besinin tükenmeye başlaması üzerine, 3. juvenil evre olan IJ dönemde konukçu kütikulasını parçalayarak yeni konukçu böcek aramak üzere dışarıya çıkış yaparlar (Kaya ve Gaugler 1993, Grewal ve ark. 1994, Ehlers 1996).

EPN'ler *in vivo* ve *in vitro* kültür metotları kullanılarak kitle halinde üretilmektedir (Friedman 1990, Lunau ve ark. 1993, Gaugler ve Han 2002b, Shapiro-Ilan ve Gaugler 2002b). Ayrıca EPN'lerin üretim sonrası çeşitli formülasyon seçenekleri de bulunmaktadır (Georgis ve ark. 1995).

In vivo üretim pek çok araştırmacı tarafından ele alınmış ve bu üretim tekniği için temel olarak White Trap (White 1927) düzeneği benimsenmiştir (Dutky ve ark. 1964, Poinar 1979, Woodring ve Kaya 1988, Lindegren ve ark. 1993, Flanders ve ark. 1996, Kaya ve Stock 1997). Bu yöntemde genel olarak yetiştirilmesi kolay, çok sayıda yumurta bırakma ve EPN'lere karşı duyarlılık gösteren büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nin son dönem larvaları kullanılmaktadır (Woodring ve Kaya 1988, Shapiro-Ilan ve Gaugler 2002). *In vivo* üretimdeki en kritik aşama EPN'lerin uygulama dozudur (Zervos ve ark. 1991, Boff ve ark. 2000). Düşük dozaj uygulamalarında konukçunun ölüm oranı çok düşük seviyede olurken, yüksek dozajda yapılan uygulamalarda ikincil döllerin rekabeti nedeniyle başarısız enfeksiyonlar meydana gelmektedir (Woodring ve Kaya 1988). Larvanın EPN tarafından enfekte olup olmadığı belirli belirtilerle anlaşılmaktadır (Lacey ve Brooks 1997). Larvanın, *H. bacteriophora* ile enfekte olduğunda koyu kırmızı renk alması en karakteristik belirtidir (Woodring ve Kaya 1988).

Bir etmenin biyolojik mücadelede kullanılabilmesi için gereken en önemli önemli faktörlerden birisi de üretim maliyetinin düşük olmasıdır. EPN' lerin *in vivo* ortamda kitle halinde üretilmesi *in vitro* üretime kıyasla daha uzun süreli bir iş olup üretilen EPN miktarı da daha azdır. Bu durum geniş alan uygulamaları göz önüne alındığında kendini daha belirgin şekilde belli eder. Bu nedenle günümüzde EPN' ler katı ya da sıvı ortamlarda *in vitro* olarak kitle halinde üretilmektedir (Fridman ve ark. 1990, Ehlers 1996, 2001, Gaugler ve Han 2002). EPN' lerin katı ortamda *in vitro* kitle üretimleri günümüzde hala gelişmekte olan ülkelerde sıvı kültür çalışmalarına öncülük etmektedir (Bedding 1990, Ehlers ve ark. 2000). Ancak EPN' lerin katı ortamda *in vitro* üretilmesi, geniş çaplı üretimde yoğun iş gücü gerektirmesi, bulaşma riskinin yüksek olması ve bu ortamda EPN' lerin düzenli dağılımının engellenmesi gibi dezavantajları da beraberinde getirmektedir. Bu nedenlerden dolayı *in vitro* sıvı ortamda kitle üretim teknikleri geliştirilmiştir (Ehlers 2001). Sıvı ortamda *in vitro* kitle üretim çalışmalarının en önemli iki noktası ise yumurta ve EPN' ler ile simbiyont yaşayan bakterinin izolasyonudur.

EPN' ler yukarıda bahsedilen özelliklerinden dolayı biyolojik mücadele içinde oldukça etkin bir şekilde kullanılmasına rağmen kısa raf ömrü (yaklaşık 3 ay) nedeniyle dezavantaj sağlamaktadır. EPN' ler üretim kalitesinin korunması için metabolizma hareketlerinin yavaşladığı 10° C' nin altındaki sıcaklıklarda depolanmaktadırlar. Ancak özellikle bir yerden bir yere taşınmaları esnasında EPN' lerin yüksek sıcaklıklara maruz kalmaları raf ömrünü azaltmaktadır (Strauch ve ark. 2000). Bununla birlikte *H. bacteriophora*' nın hedef alınan böceklere karşı olan etkinliği genellikle 10 ile 35° C sıcaklık değerleri arasında sınırlıdır (Grewal ve ark. 1994). Bu nedenle bu nematodun 10° C' nin altındaki sıcaklıklarda aktivitesi ve dolayısıyla da etkinliği azalmaktadır (Westerman 1997, 1998). Diğer yandan sığa dayanıklılık kalıtsal bir özelliktir (Glazer ve ark. 1991). EPN üzerine yapılan çalışmalarda aynı türün popülasyonları içerisinde dahi çevre koşullarına farklı tepkiler veren bireylerin var olduğu tespit edilmiştir (Gaugler ve ark. 1989, Glazer ve ark. 1991, Tomalak 1994). *H. bacteriophora*' nın ilk dölünün hermafrodit olması kendileme yoluyla üremesine neden olmakta, böylece var olan özellikler korunabilmektedir. Sonraki dölllerinde ise eşeyli üreme yeteneğindeki erkek ve dişileri oluşturması ve bunların eşeyli olarak üremeleri, sahip oldukları genetik özelliklerini yeni nesillere aktarmasına olanak vermektedir. Bu nedenle hibridizasyon çalışmalarıyla daha dayanıklı ırklar elde edilebilmektedir (Zioni

ve ark. 1992, Koltai ve ark. 1995, Johnigk ve Ehlers 1999a,b).Yapılan hibridizasyon çalışmalarında hibritleme işlemiyle elde edilen hibrit ırkların ebeveynlerine göre kuraklık ve yüksek sıcaklık derecelerine karşı tolerans gösterdiği, ayrıca üreme kapasiteleri ve konukçu böcek üzerindeki etkinlikleri açısından ebeveynlerine göre daha üstün oranlardaki değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir (Strauch ve ark. 2004, Ehlers ve ark. 2005, Mukuka ve ark. 2010a,b,c,d).

Bu çalışmada Türkiye' nin çeşitli illerinden daha önceden izole edilmiş olan *H. bacteriophora* türü nematodun H.b. 6 (Antalya), H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. HIZ (İzmir), H.b. HSU (Şanlıurfa), ve H.b. 10 (Adana) ırklarının *in vitro* ortam koşullarında hibritlenmesi, ebeveyn olarak kullanılan ırklar ile hibridizasyon işlemi sonucunda elde edilen yeni hibrit ırkların 5, 10, 20, 50, 75 ve 100 IJ/Larva uygulama dozlarında *G. mellonella*' nın son dönem larvaları üzerindeki etkinlik değerlerinin belirlenmesi ve çalışma sonunda elde edilen etkinlikverilerine göre hibrit ırkların ebeveyn ırklara göre etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Dünya üzerinde, 60' tan fazla ülkede entomopatojen nematodlar ve bunların simbiyont bakterileriyle ilgili olan çalışmalar devam etmektedir (Gaugler 2002a). Bu bölümde *H. bacteriophora*'nın etkinlik ve hibridizasyon çalışmalarıyla ilgili olan literatür gözden geçirilerek 2 ayrı başlık halinde, yayımlanma tarihine göre aşağıda sunulmuştur.

2.1. Etkinlik Çalışmaları ile İlgili Kaynak Araştırması

Baur ve ark. (1995), yaprak yüzeyinde *H. bacteriophora*'nın *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae)'yı enfekte etme yeteneğini değerlendirmek için yaptıkları bir çalışmada, *H. bacteriophora*'nın zararlının son dönem larvaları üzerindeki LC₅₀ değerini 65.4 nematod/larva olarak hesaplamışlar, pupa üzerindeki etkinlik değerini ise %14 olarak tespit etmişlerdir.

Sulistyanto ve Ehlers (1996), golf sahalarında çimlere zarar veren *Phyllopertha horticola* L. ve *Aphodius contaminatus* Herbst, 1973 (Coleoptera: Scarabaeidae) zararlılarına karşı *H. bacteriophora*'nın etkinliğini değerlendirmek için saha koşullarında yaptıkları bir çalışmada, 0.5 ve 1.5 milyon infektif juvenil (IJ)/m² dozlarında saf EPN uygulaması yapmışlar ve *H. bacteriophora*'nın *P. horticola* üzerinde %83, *A. contaminatus* üzerinde ise %62 oranında etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gonzalez-Ramirez ve ark. (2000), çim zararlısı *Mocis latipes* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)'in larva, prepupa ve pupa evrelerinin *H. bacteriophora*'ya olan duyarlılığını belirlemek amacıyla laboratuvar koşullarında yürüttükleri bir çalışmada, her bir evre için 20 birey içeren gruplar oluşturmuşlar ve tüm gruplar üzerinde 0, 5, 10, 20, 40, 60 ve 120 IJ/birey dozlarını 1' er ml steril saf su içinde uygulayarak test etmişler ve uygulama sonrası 5 gün boyunca larva, prepupa ve pupa ölümlerini günlük olarak kontrol etmişlerdir. Deneme sonunda zararlının *H. bacteriophora*'ya karşı en duyarlı olan evrelerini larva ve prepupa dönemleri olarak tespit etmişler ve *H. bacteriophora*'nın bu evreler üzerinde %22.5 ile 100 arasında değişen oranda etkinlik gösterdiğini, prepupa evresine 10 IJ/birey uygulama dozunda ölüm oranının %97.5 ile 100 arasındaki değerlere ulaştığını bildirmişlerdir. Pupa evresi üzerindeki etkinliğin EPN konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak arttığını ve etkinlik

değerinin %27.5 ile 41.3 değerleri arasında değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca *H. bacteriophora*'nın zararlının larvaları üzerindeki LC₅₀ değerini 5.26-37.66 IJ/larva, LT₅₀ değerini ise 1.5-4.3 gün olarak hesaplamışlardır.

McCoy ve ark. (2000), *H. bacteriophora*'nın biopestisit olarak *Diaprepes abbreviatus* L. (Coleoptera: Curculionidae) larvaları üzerindeki parazitizmini ve kalıcılığını değerlendirmek amacıyla turunçgil bahçelerinde yaptıkları bir çalışmada, ağacın toprak altı kısımlarına 11 ve 22 IJ/cm² dozunda EPN uygulaması yapmışlar, uygulamadan 7 gün sonra *H. bacteriophora*'nın zararlının larvaları üzerindeki ortalama parazitizm oranını %15 olarak tespit etmişler, EPN kalıcılığının ise uygulamadan sonraki 14. günden itibaren azalmaya başladığını bildirmişlerdir.

Ebssa ve ark. (2001), çiçek tripsi, *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895 (Thysanoptera: Thripidae)'e karşı *H. bacteriophora*'nın etkinliğini belirlemek için laboratuvar koşullarında yaptıkları bir çalışmada *H. bacteriophora* HK3 (H) ve *H. bacteriophora* HB Breca (B) olmak üzere iki farklı ırk üzerinde denemeler yapmışlardır. Çalışma sonunda her iki *H. bacteriophora* ırkının da *F. occidentalis*'in toprakta geçirmiş olduğu tüm hayat dönemlerine karşı etkili olduğunu bulmuşlar, HK3 ve HB Breca ırklarının özellikle toprak neminin yüksek olduğu koşullarda zararlının 2. larva dönemi üzerindeki etkinlik değerlerini sırasıyla %70 ile %55 oranlarında bulmuşlar, prepupa dönemi üzerinde ise sırasıyla %70 ile %65 oranlarında etkinlik değerlerine sahip olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca *H. bacteriophora* ırklarının kuru toprak koşullarında pupa dönemi üzerine düşük seviyede etkinlik gösterdiğini ve her iki ırkın pupa üzerindeki etkinlik değerlerinin sırasıyla %30 ile %35 oranlarında olduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte, yapılan denemelerde uygulama dozu arttıkça larva üzerindeki etkinliğin de arttığını, 400 IJ/cm² uygulama dozunda larvaların %60' tan fazlasının öldüğünü, 100-200 IJ/cm² uygulama dozundaki larva ölümünün ise %30-50 oranları arasındaki değerlerde olduğunu tespit etmişlerdir.

Premachandra ve ark. (2003), çiçek tripsi *F. occidentalis*'inin 2. larva evresine karşı *H. bacteriophora*'nın HD01, Nematop[®] ve HK3 olmak üzere 3 ayrı ırkının etkinliklerini laboratuvar koşullarında değerlendirmişler, zararlı üzerinde HD01 ırkının %59, Nematop[®] ırkının %22 ve HK3 ırkının %74 oranında etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tomalak (2003), *H. bacteriophora*'nın *Operophtera brumata* L. ve *O. fagata* Scharfenberg, 1805 (Lepidoptera: Geometridae) zararlılarına karşı olan etkinliğini ve biyolojik mücadele potansiyelini belirlemek için laboratuvar, yarı alan ve saha koşullarında yaptığı bir çalışmada, bu zararlının pupa olmak üzere toprağa iniş yapan olgun larva ve prepupa evrelerinin *H. bacteriophora* enfeksiyonuna karşı oldukça yüksek seviyede duyarlı olmasına rağmen, *H. bacteriophora*'nın pupa üzerinde kolonize olamadığını belirlemiş, *O. brumata* ve *O. fagata*'nın bu nematod türüne karşı olan duyarlılığı konusunda ise istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olmadığını bildirmiştir. Laboratuvar denemelerinde *H. bacteriophora*'nın bu zararlılar üzerinde %73 ile 77 arasında değişen oranlarda etkinlik değerine sahip olduğunu tespit etmiştir.

Kepekçi ve ark. (2004), kestane ağaçlarında meyve zararlısı olan Kestane hortumluböceği, *Curculio elephas* Gyllenhal, 1836 (Coleoptera: Curculionidae)'a karşı EPN'lerin etkinliğini değerlendirmek amacıyla laboratuvar koşullarında yaptıkları bir çalışmada, *H. bacteriophora*'nın Tur-H1 ve Tur-H2 ırklarını zararlının son dönem larvaları üzerinde 10, 15 ve 25 °C olmak üzere 3 farklı sıcaklık derecesinde ve 0, 100, 500 ve 1000 IJ olmak üzere 4 ayrı nematod konsantrasyonunda uygulamışlardır. Çalışma sonunda *H. bacteriophora*'nın Tur-H2 ırkının test edilen tüm sıcaklık derecelerinde zararlı larvalarına karşı olan etkinlik değerinin oldukça yüksek seviyede olduğunu, özellikle 25 °C' de larvalar üzerinde %96.5 oranında etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca Tur-H1 ve Tur-H2 ırklarının 15 °C' deki LC₅₀ değerlerinin sırasıyla 266 ve 494 IJ olduğunu bildirmişlerdir.

Trdan ve ark. (2006), laboratuvar koşullarında yaptıkları bir çalışmada depolarda önemli zarara neden olan *Sitophilus granarius* Hustache A., 1930 (Coleoptera: Curculionidae) ve *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae) erginlerine karşı 15, 20 ve 25 °C olmak üzere 3 farklı sıcaklık derecesinde ve 500, 1000 ve 2000 IJ/ergin olmak üzere 3 farklı nematod konsantrasyonunda *H. bacteriophora* uygulaması yapmışlardır. Deneme sonunda *H. bacteriophora*'nın 15 °C' de her iki zararlı türü üzerindeki etkinliğinin düşük seviyede olduğunu (yaklaşık %20), 20 °C' de ise *S. granarius* üzerinde %76.39, *O. surinamensis* üzerinde ise %63.25 oranında etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

McKern ve ark. (2007), *Pennisetia marginata* Harris, 1839 (Lepidoptera: Sesiidae)' nın biyolojisini keşfetmek ve optimal nematod uygulama zamanını belirlemek için yaptıkları bir araştırmada, *H. bacteriophora*' nın bu zararlı türü üzerinde %33 etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Morton ve Pino (2008), meyve ağaçlarında zararlı olan dipkurdu, *Capnodis tenebrionis* L. (Coleoptera: Buprestidae) larvalarının farklı EPN türlerine karşı olan duyarlılığını belirlemek için yaptıkları bir araştırmada, konukçu bitki olarak kullandıkları saksıya alınmış GF-677® (şeftaliXbadem hibridi) ağaçlarına *H. bacteriophora*' nın Gscl3 ve M110 olmak üzere iki farklı ırkını uygulamışlardır. Uygulama sonrası *H. bacteriophora*' nın *C. tenebrionis*' in yerini saptama yeteneği göstererek zararlı larvalarını öldürdüğünü belirlemişlerdir. Ayrıca Gscl3 ırkının zararlı larvaları üzerinde %71.66 oranında, M110 ırkının ise 76.47 oranında etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Susurluk ve Ehlers (2008), *H. bacteriophora*' nın *Otiorynchus sulcatus* Fabricus, 1775 (Coleoptera: Curculionidae) türlerine karşı olan etkinliğini değerlendirmek için laboratuvar koşullarında yürüttükleri bir çalışmada, daldırma yöntemini kullanarak çilek bitkisinin köklerine EPN uygulaması yapmışlardır. Uygulamada nematod çökmesini engellemek ve kullanılan nematod solüsyonunun köklere tutunmasını arttırmak amacıyla da bu solüsyonuna karboksimetil selüloz eklemişlerdir. Deneme sonunda *H. bacteriophora*' nın *O. sulcatus* türleri üzerinde %90-96 arasındaki oranlarda etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Toepfer ve ark. (2008), mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin köklerinde beslenerek ciddi ürün kaybına neden olan *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, 1868 (Coleoptera: Chrysomelidae) zararlısına karşı *H. bacteriophora*' nın etkinliğini belirlemek için saha koşullarında yaptıkları bir çalışmada, özellikle dikim esnasında toprak içine ya da haziran ayında toprak yüzeyine yapılan uygulamalarda *H. bacteriophora*' nın zararlı üzerinde %81 oranında etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Trdan ve ark. (2008), toprak pire böcekleri, *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae)' nın erginlerine karşı *H. bacteriophora*' nın etkinliğini değerlendirmek amacıyla laboratuvar koşullarında yürüttükleri bir çalışmada, her bir ergin dönemdeki

böceğe 15, 20 ve 25° C sıcaklık derecelerinde; 200, 1000 ve 2000 IJ uygulama dozlarında *H. bacteriophora* uygulaması yapmışlardır. Deneme sonucunda *H. bacteriophora*'nın 15° C' ye göre 20 ve 25° C sıcaklık derecelerinde çok daha iyi etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Yapılan demelerde *H. bacteriophora*'nın zararlı üzerinde 2000 IJ uygulama dozunda 15° C' de %26, 20° C' de uygulamadan 8 gün sonra %65, 25° C' de ise %74 oranında etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ansari ve ark. (2009), laboratuvar koşullarında yaptıkları bir çalışmada *H. bacteriophora*'nın *Agriotes lineatus* L. (Coleoptera: Elateridae) üzerinde %67 oranında etkinlik sağladığını tespit etmişlerdir.

Kurtz ve ark. (2009), mısır bitkisinde zararlı olan *D. virgifera virgifera*'nın 3. larva evresine karşı laboratuvar koşullarında *H. bacteriophora*'nın etkinliğini değerlendirdikleri bir çalışmada, kum ve toprak kullanarak iki ayrı uygulama yapmışlardır. Çalışma sonunda *H. bacteriophora*'nın zararlı üzerindeki etkinliğinin kum ile yapılan uygulamalarda %80.7 oranında, toprak ile yapılan uygulamalarda ise %51.3 oranında olduğunu belirlemişlerdir.

Power ve ark. (2009), *H. bacteriophora* türü entomopatojen nematodun GPS11 ırkının *Popillia japonica* Newman, 1841 (Coleoptera: Scarabaeidae)'nın farklı larva dönemleri üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için 2001 ve 2007 yılları arasında saha ve laboratuvar koşullarında çalışmalar yapmışlardır. Saha denemelerinde yaz dönemi süresince yakaladıkları erginleri ovipozisyon için çim alan üzerindeki kafeslere almışlar ve burada her bir larva döneminin oluştuğundan emin olmak için zararlının larval gelişimini gözlemlemişlerdir. Deneme alanında gelişmekte olan her larva dönemine karşı 2.5×10^9 IJ/ha uygulama dozunda *H. bacteriophora* uygulaması yapmışlardır. 2001 yılında, saha koşullarında uygulamadan 9, 28 ve 69 gün sonra *H. bacteriophora*'nın zararlının 1., 2. ve 3. larval dönemleri üzerindeki etkinliğinin sırasıyla %75, %53 ve %33 oranlarında olduğunu bildirmişlerdir. 2002 yılındaki saha denemelerinde ise uygulamadan 14, 43 ve 66 gün sonra zararlının 1., 2. ve 3. larval dönemlerine karşı olan etkinlik değerlerinin sırasıyla %97, %88 ve %0 oranlarında olduğunu belirlemişlerdir. 2002 yılında denemeye katılan ayrı bir alanda ise uygulamadan 14 gün sonra zararlının 1., 2. ve 3. larva dönemi üzerindeki etkinlik değerinin sırasıyla %55, %53 ve %0 oranlarında gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Laboratuvar denemeleri 2002, 2004 ve

2007 yıllarında yapılmış ve bu amaçla *P. japonica*'nın araziden toplanan larva dönemleri üzerine sırasıyla 0, 10, 33, 100 ve 1000 IJ/larva uygulama dozlarında *H. bacteriophora* uygulaması yapılmıştır. Laboratuvar denemeleri sonucunda zararlının 1., 2. ve 3. larva dönemleri üzerindeki etkinlik değerlerinin 2002 yılı için sırasıyla %15, %10 ve %0; 2004 yılı için sırasıyla %15, %5 ve %5; 2007 yılı içinse sırasıyla %15, %10 ve %10 oranlarında olduğunu belirlemişlerdir. Deneme sonunda yapılan probit analizine göre *H. bacteriophora*'ya karşı en duyarlı larva evresinin 1. dönem olduğunu, 3. larva döneminde ise *H. bacteriophora*'ya karşı olan duyarlılığın azalmaya başladığını bildirmişlerdir.

Susurluk ve ark. (2009), Çim teke böceği, *Dorcadion pseudopreissi* Breuning, 1962 (Coleptera: Cerambycidae)'ye karşı *H. bacteriophora*'nın etkinliğini değerlendirmek üzere laboratuvar koşullarında yürüttükleri bir çalışmada, zararlıya karşı 25 ° C' de 50, 100 ve 150 IJ/larva dozlarında *H. bacteriophora* uygulaması yaparak bu nematodun zararlı üzerindeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda, sırasıyla her bir uygulama dozundaki etkinlik değerinin sırasıyla % 55, 65 ve 85 oranlarında olduğunu bildirmişlerdir.

Trdan ve ark. (2009), *H. bacteriophora*'nın patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Coleptera: Chrysomelidae)'nin larva ve erginlerine karşı olan etkinliği laboratuvar koşullarında 3 ayrı sıcaklık derecesinde (15, 20 ve 25 °C) ve 3 ayrı uygulama dozunda (200, 1000 ve 2000 IJ/Larva) test etmişlerdir. Çalışma sonunda *H. bacteriophora*'nın 15 °C' de tüm böcek evrelerine karşı düşük seviyede etkinlik gösterdiğini, ancak 20 ve 25 °C' de tüm böcek evrelerine karşı olan etkinlik değerinin yüksek seviyede olduğunu ve bu iki sıcaklık derecesi arasında etkinlik açısından istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olmadığını belirlemişlerdir. Ayrıca EPN'ye karşı en duyarlı böcek evresinin genç larva dönemi, en dayanıklı böcek evresinin ise ergin dönem olduğunu tespit etmişlerdir. *H. bacteriophora*'nın zararlının genç larval evrelerine karşı 15, 20, 25 °C' deki LC₅₀ değerlerini sırasıyla 586, 558 ve 481 IJ/larva olarak, LC₉₀ değerlerini ise 1253, 1211 ve 1184 IJ/larva olarak belirlemişlerdir. Ergin dönemlerin ise aynı sıcaklık derecelerinde LC₅₀ değerlerini sırasıyla 1206, 570 ve 1062 IJ/ergin; LC₉₀ değerlerini ise 15 °C' de 1327 IJ/ergin, 25 °C' de ise 1057 IJ/ergin olarak tespit etmişlerdir.

Barbosa-Negrisoni ve ark. (2010), turunçgil zararlısı *Banagota cranaodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae)' in larva ve pupa dönemlerinin *H. bacteriophora*' ya karşı olan duyarlılığını belirlemek için laboratuvar ve saha koşullarında denemeler yapmışlardır. Laboratuvar denemeleri kontrollü ortam koşullarında (25 ± 1 °C ve $\%70 \pm 10$ oransal nem ve 12 saat fotoperiyod) ve 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Her deneme, her biri 1.5x2 cm filtre kağıdı ve *B. cranaodes*' in 10 adet pupa ile 10 adet 3. dönem larvasını içeren 1.5' luk eppendorf tüpleri içinde, 100 IJ/birey uygulama dozunda *H. bacteriophora* uygulanarak yapılmıştır. Laboratuvar koşullarında uygulamadan 72 saat sonra *H. bacteriophora*' nın RS107 ve RS57 ırklarının *B. cranaodes*' in 3. dönem larvaları üzerinde $\%90$ oranında etkinlik gösterdiğini, her iki ırkın zararlının pupaları üzerindeki etkinliğinin ise sırasıyla $\%79$ ve $\%46$ olduğunu tespit etmişlerdir. Saha uygulamaları elma bahçelerinde yapılmış olup, daha önceden 5 adet *B. cranaodes* larvası ile bulaştırılıp plastik materyalle kaplanan ortalama olarak 20 m boyunda ve 3 yıllık olan her ağaca *H. bacteriophora* 100 IJ/cm² dozunda uygulanmıştır. Saha denemelerinde uygulama sonrası *H. bacteriophora*' nın RS107 ve RS57 ırklarının *B. cranaodes* üzerindeki etkinliğinin sırasıyla $\%60.6$ ve $\%52$ oranında olduğunu belirlemişlerdir. Saha koşullarındaki denemelerde *H. bacteriophora*, sorbitol bir dolgu maddesiyle birlikte kullanıldığında ise her iki ırkın zararlı üzerindeki etkinliğinin sırasıyla $\%70.2$ ve $\%61.1$ oranında olduğunu bildirmişlerdir.

Batalla-Carrera ve ark. (2010), domates bitkisinde ciddi kayıplara neden olan domates güvesi, *Tuta absoluta* Meyrick, 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) larva ve pupalarının *H. bacteriophora*' ya karşı olan duyarlılığını laboratuvar koşullarında belirlemek ve *H. bacteriophora*' nın galeri içindeki larvaya ulaşma ve onu öldürme yeteneğini değerlendirmek ve de sera koşullarında yapılan yeşil aksam uygulamalarındaki etkinliği belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, *H. bacteriophora*' nın larvalar üzerinde yüksek etkinlik gösterdiğini ve 25 IJ/cm² dozda $\%78.6$, 50 IJ/cm² dozda ise $\%100$ ölüm oranına neden olduğunu, pupa üzerindeki etkinliğin ise larvadakinin aksine düşük olduğunu ve 25 IJ/cm² dozda $\%10$, 50 IJ/cm² dozda ise $\%17$ ölüm oranına sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan yaprak testlerinde *H. bacteriophora*' nın galeri içindeki larvayı bularak öldürdüğünü belirlemişler ve 60 IJ/cm² dozunda yaprakuygulaması yapıldığında genel etkinlik oranının $\%76.6$ olduğunu, galeri içindeki ve dışındaki larva üzerine olan etkinliğin ise sırasıyla $\%71.4$ ve $\%88.9$ oranlarında

olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca sera koşullarında yapılan yeşil aksam uygulamasında *H. bacteriophora*'nın zararlı kontrolünde %95 oranında başarı sağladığını bildirmişlerdir.

McGraw ve ark. (2010), EPN'lerin *Listronotus maculicollis* Kirby, 1837 (Coleoptera: Curculionidae)'in larval dönemine karşı olan kontrol yeteneğini belirlemek amacıyla arazi koşullarında yaptıkları bir çalışmada, 2.5×10^9 IJ/ha uygulama dozunda *H. bacteriophora*'nın zararlı üzerinde %69 ile 94 oranları arasındaki değerlerde etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Monteiro ve ark. (2010), *Rhipicephalus microplus* Canestrini, 1888 (Acari: Ixodidae)'ın parazit olmayan fazı beslenmiş dişilerinin biyolojik parametreleri üzerinde *H. bacteriophora*'nın HP88 ırkının farklı konsantrasyonlardaki etkinliğini belirlemek için laboratuvar koşullarında yaptıkları bir çalışmada, her biri 20 dişi içeren 6 grup oluşturmuşlar ve her bir grup üzerinde 0, 75, 150, 300, 600 ve 1200 IJ/dişi olmak üzere 6 farklı doz uygulaması yapmışlardır. Ovipozisyon öncesi dişi ağırlığı, yumurta kitle ağırlığı, preovipozisyon dönemi, ovipozisyon dönemi, hayatta kalma dönemi, yumurta açılma oranı, yumurta üretim indeksi (%YÜİ), beslenme indeksi (%Bİ) ve uygulama etkinliğini biyolojik parametre olarak baz alıp uygulama sonrası bu parametre değerlerini gözlemlemişlerdir. Ovipozisyon ve preovipozisyon dönemlerinden önce gruplar arasında dişi ağırlığı açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. EPN uygulamasının yumurta kitle ağırlığı, ovipozisyon dönemi, hayatta kalma dönemi, yumurta açılma oranı, %YÜİ ve %Bİ parametreleri üzerinde kontrol grubu ile uygulama görmüş gruplar arasında istatistiksel olarak önemli değişimler meydana getirdiğini, *H. bacteriophora* uygulamasının tüm gruplar üzerinde %90 oranında etkinlik gösterdiğini, 1200 IJ/dişi uygulama dozunda ise etkinlik değerinin %99 oranına kadar ulaştığını bildirmişlerdir.

Padilla-Cubas ve ark. (2010), muz hortumlu böceği, *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824 (Coleoptera: Curculionidae)'nin 1. dönem larvalarına karşı *H. bacteriophora*'nın etkinliğini değerlendirmek için laboratuvar koşullarında yaptıkları bir çalışmada, zararlı üzerinde 100, 50, 25, 5 ve 2,5 IJ/cm² olmak üzere 5 ayrı uygulama dozunda denemeler yapmışlar ve test edilen her uygulama dozunda *H. bacteriophora*'nın zararlıya karşı %100 oranında etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Uygulama dozunun 2,5 ve 5

IJ/cm² olduğu koşullarda *H. bacteriophora*'nın zararlı popülasyonunun yarısını öldürdüğü süreyi (LT₅₀) 3,6 gün olarak hesaplamışlardır.

William ve ark. (2010), bağ zararlısı *Vitacea polistiformis* Harris, 1854 (Lepidoptera: Sesiidae)'e karşı *H. bacteriophora*'nın etkinlik ve kalıcılığını belirlemek amacıyla saha koşullarında yaptıkları bir çalışmada, *H. bacteriophora*'nın zararlıların larvalarına karşı Mayıs ayında yapılan uygulamalarda %80, Mayıs ve Eylül arasındaki aylarda yapılan uygulamalarda %92, Eylül ayında yapılan uygulamalarda ise %69 oranında etkinlik gösterdiğini belirlemişler, *H. bacteriophora*'nın uygulama alanında 12 ile 21 ay arasında kalıcılık gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Susurluk ve ark. (2011), çim alanlarda ciddi zarar meydana getiren Çim teke böceği, *D. pseudopreissi*'ye karşı *H. bacteriophora*'nın etkinliğini değerlendirmek üzere saha koşullarında yürüttükleri bir çalışmada, *Lolium perenne* ve *Festuca arundinacea* olmak üzere iki farklı çim çeşidine erkek ve dişi *D. pseudopreissi* bireylerini 1x1x1 m ölçülerindeki kafeslere almışlar ve böcekler nemli toprak yüzeyine yumurtalarını bıraktıktan sonra kafesleri kaldırarak 0.5 milyon IJ/m² dozunda *H. bacteriophora* uygulaması yapmışlardır. Uygulama sonrası her iki çim çeşidinde de *D. pseudopreissi* zararının önemli ölçüde azaldığını ve *H. bacteriophora*'nın uygulama alanında 6 ay kalıcılık gösterdiğini saptamışlardır.

2.2. Hibridizasyon Çalışmaları ile İlgili Kaynak Araştırması

Shapiro ve ark. (1997), *H. bacteriophora* üzerinde yaptıkları bir çalışmada, HP88 ırkı ile sıcaklığa tolerans gösteren IS5 ırkını çiftleştirmişler, elde ettikleri hibrit ırkın sıcaklığa toleranslı olup olmadığını belirlemek için bu ırkları 2 saat boyunca 40 °C sıcaklığa maruz bırakmışlar, sonrasında ırkların hayatta kalma oranını hesaplamışlardır. Hibrit ırkın 3 ve 6 kere *G. mellonella* üzerinde üretildikten sonraki hayatta kalma oranının HP88 ırkına göre daha iyi seviyede olduğunu, IS5 ırkı ile benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Hibrit ırkı virülens, depolanma yeteneği ve üreme kapasitesi açısından IS5 ve HP88 ırkları ile karşılaştırmışlardır. 32 °C' de HP88 ırkına kıyasla, IS5 ırkı ve hibrit ırkın *G. mellonella* üzerinde daha hızlı etkinlik gösterdiğini, ayrıca IS5 ile benzer şekilde hibrit ırkın soğuğa duyarlılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bir hafta boyunca tüm ırkları 10° C' de depolamışlar ve bu sıcaklık derecesinin HP88

ırkına kıyasla IS5 ırkı ile hibrit ırkın hayatta kalma oranını önemli derece azalttığını bildirmişler, üreme kapasitesi açısından ise ırklar arasında önemli bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Strauch ve ark. (2004), *H. bacteriophora*'nın su kaybına olan toleranslılığının genetik varyasyonunu belirlemek ve hibritleme yoluyla bu varyasyonları kullanarak bu nematodun su kaybına olan toleranslılığının artırılması için yaptıkları bir çalışmada, 8 farklı bölgeden izole ettikleri *H. bacteriophora* izolatını hibritlemişlerdir. Yapılan çalışmada su stresi koşullarını canlı organizmalardan su çekme özelliğinde olan polyethyleneglycol (PEG 600) solüsyonunu kullanarak oluşturmuşlar, IJ'lerin bünyesinden suyun çekilmesini, bu solüsyonun su aktivitesi (a_w - value = water activity) değerini azaltması yoluyla gerçekleştirmişler ve adaptasyon evresinin su kaybına toleranslılık üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda 0.85 olan a_w değerinin, 72 saatlik adaptasyon evresinden sonra 0.96 değerine ulaştığını tespit etmişler, adaptasyon süresince su kaybına toleranslılık varyansının, a_w değerinin azaltılmasıyla yükseldiğini bildirmişlerdir. Su kaybına toleranslılığın kalıtımını, homozigot olarak kendilenmiş hatları kullanarak belirlemişler ve kalıtım değerini 0.48 olarak hesaplamışlardır. Çalışma boyunca toplam sekiz seleksiyon ve hibridizasyon aşaması gerçekleştirmişler, yeni ırkların tolere edebildikleri a_w değerlerini 0.94 ile 0.93 olarak tespit etmişlerdir.

Ehlers ve ark. (2005), *H. bacteriophora*'nın genetik ıslah yoluyla yüksek sıcaklığa toleranslılığını ve düşük sıcaklık derecelerindeki aktivitesini arttırmak için yaptıkları bir çalışmada, *H. bacteriophora*'nın yüksek sıcaklık derecelerine karşı toleranslılığının kalımsal olarak belirlenmesi için hibrit PS7 ırkı ile 11 adet saf hat ırkı 37.6 ile 39.8 °C arasında değişen değerlerde 5 farklı sıcaklık derecesine maruz bırakmışlardır. Düşük sıcaklık derecelerindeki aktivitesinin kalımsal olarak belirlenmesi için ise hibrit PS7 ırkı ile 27 adet saf hat ırkı 5 ile 10 °C arasında değişen 5 ayrı sıcaklık derecesine maruz bırakarak test etmişlerdir. Deneme sonunda yüksek sıcaklığa toleranslılığın kalıtım değerini 0.68; düşük sıcaklıktaki aktivitenin kalıtım değerini ise 0.38 olarak bulduklarını; yüksek sıcaklıkta tolere edilen değerin 38.5 °C' den 39.2 °C' ye yükseldiğini; düşük sıcaklıktaki aktivitenin ise 7.3 °C' den 6.1 °C' ye indiğini bildirmişlerdir.

Mukuka ve ark. (2010a), *H. bacteriophora*'nın yüksek sıcaklığa olan toleranslılığını değerlendirmek için 37 adet doğal, 18 adet hibrit ırk üzerinde yaptıkları bir çalışmada, tüm ırkları ilk olarak 3 saat 35 °C' de, ardından 1 saat 25 °C' de ve son olarak 2 saat 32 ile 41 °C arasında değişen değerdeki sıcaklık derecelerinde test etmişler, deneme sonunda canlı ve ölü bireyleri sayarak ırkların sıcaklığa olan toleranslılığını değerlendirmişlerdir. Çalışma sonunda tolere edilen ortalama sıcaklık değerinin 34.8 °C' den 39.2 °C' ye çıktığını belirtmişlerdir.

Mukuka ve ark. (2010b), *H. bacteriophora*'nın sıcaklık ve su kaybına toleranslı hibrit ırkları ile ticari ırk EN 01' i konukçu penetrasyonu, virülens ve üreme kapasitesi açısından karşılaştırarak bu faktörler arasındaki performans farklılıklarını değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda sadece sıcaklığa toleranslı ırkların EN 01 ırkı ile benzer ya da EN 01'den üstün değerde performans gösterdiğini, sadece su kaybına toleranslı ırkların performansının ise kuraklığa dayanıklılık için yapılan seleksiyonun muhtemel bir sonucu olarak EN 01' den daha düşük seviyede olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda ırkların virülens değerlerini sadece sıcaklığa toleranslı olanlarda % 75.7 ile 19.3 arasında değişen oranlarda; EN 01' de %51.5 oranında; sadece su kaybına toleranslı olanlarda ise %75.5 ile 8.6 arasındaki oranlarda olduğunu belirlemişlerdir. Konukçu penetrasyonunun ise sadece sıcaklığa toleranslı olan ırklarda %18.8-9.9 oranları arasında; EN 01' de %4.8 oranında; sadece su kaybına toleranslı olan ırklarda ise %14-7.9 arasındaki oranlarda gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. ırkların üreme kapasitesi de sadece sıcaklığa toleranslı olan ırklarda %27.5-7.3 arasındaki oranlarda; EN 01' de %29.7 oranında; sadece su kaybına toleranslı olan ırklarda ise %22.9-3.8 arasındaki oranlarda değişiklik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Adaptasyon süreci geçiren hibrit ırkların, stres faktörüne maruz bırakılmadan önce adaptasyon süreci geçirmeyenlerden daha iyi durumda olduğunu bunun ise pleitropinin bir sonucu olabileceğini bildirmişler, konukçu penetrasyonu ile virülensin ilişkili olmadığını belirtmişlerdir.

Mukuka ve ark. (2010c), *H. bacteriophora*'nın sıcaklığa ve su kaybına olan toleranslılığını bu koşullara toleranslı olan ırklar arasında genetik seleksiyon ve hibritleme yaparak arttırmayı amaçladıkları bir çalışmada, 60 farklı *H. bacteriophora* izolatını denemeye almışlar ve bu izolatların yüksek sıcaklığa ve su kaybına olan

toleranslarını ölçmüşlerdir. Çalışma sonunda yüksek sıcaklığa dayanıklılık 3 °C arttırılarak 43.1 °C' ye; su kaybına dayanıklılık değerinin ise a_w değeri olarak 0.7' den 0.9' a çıktığını tespit etmişlerdir.

Mukuka ve ark. (2010d), *H. bacteriophora*' nın su kaybına olan toleranslılığını değerlendirmek için 37 adet doğal, 18 adet hibrit ırk üzerinde yaptıkları bir çalışmada, tüm ırkları farklı konsantrasyon değerlerindeki PEG 600 solüsyonu içerisinde 25 °C' de 1 gün bekletmişlerdir. Çalışma sonunda tolere edilen ortalama su kaybı değerinin a_w değeri olarak 0.670' ten 0.990' a artış gösterdiğini, hibritleme ile elde edilen ırklarda ise bu değer 0.603' ten 0.950' ye yükseldiğini tespit etmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Heterorhabditis bacteriophora* Irkları

Denemelerde Türkiye' nin 6 farklı ilinden daha önceden izole edilmiş ve her biri moleküler olarak PCR-RFLP yöntemi ile teşhis edilmiş olan 6 farklı *H. bacteriophora* ırkı kullanılmıştır. Bu ırklar laboratuvarımızda mevcut olup, kültürleri sağlıklı olarak devam ettirilmektedir (Çizelge 3.1, Şekil 3.1).

Çizelge 3.1. *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının isimleri ve izole edildikleri iller

İsim	İzole Edildiği İl
H.b. 6	Antalya
H.b. 876	Çanakkale
H.b. 17	Kırklareli
H.b. HIZ	İzmir
H.b. HSU	Şanlıurfa
H.b. 10	Adana



Şekil 3.1. *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının izole edildikleri iller

3.1.2. *Galleria mellonella* Larvaları

Denemelerde kullanılan *H. bacteriophora* ırklarının *in vivo* üretimleri, *in vitro* üretimin temelini oluşturan bakteri ve yumurta izolasyonu işlemleri, ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin belirlenmesi için test böceği olarak Büyük bal mumu güvesi, *G. mellonella*'nın son dönem larvaları kullanılmıştır. Bu böcek türü laboratuvarımızda mevcut olup, kültürleri sağlıklı olarak devam ettirilmektedir.

3.1.3. Cihazlar

Heterorhabditis bacteriophora ırkları ile yapılan denemelerde elektronik sayaç (Marienfeld), hassas terazi (Radwag WPS 3100/c/1), hot-plate (ısıtıcı) (Şimşek Labortechnik), ısıtmalı etüv (Thermal), ısıtmalı-soğutmali etüv (Nüve ES 500), ısıtmalı orbital çalkalayıcı (Amerex Gyromax 747R), manyetik karıştırıcı (ısıtıcılı) (Biosan MSH 300), buzdolabı (Beko), otoklav (Nüve OT 32), saf su cihazı (Elektro.mag M3), santrifüj cihazı (Sigma 1-14), steril kabin (Bilser – Class I), UPS (güç kaynağı) (DigiPower), vorteks karıştırıcı (Biosan BioVortexV1), bilgisayar, invert mikroskop (Leica DM IL LED), dijital mikroskop kamerası (Leica DFC 295) ve stereo mikroskop (Leica S8 APO) kullanılmıştır.

3.1.4. Kimyasal Malzemeler ve Besin Maddeleri

Heterorhabditis bacteriophora ırklarının *in vivo* ve *in vitro* olarak üretilmesi için 2,3,5-triphenyl-tetracolumchloride solüsyon (Merck), agar powder-bakteriyolojik (Himedia), bromothymol blue (Himedia), nutrient agar (Himedia), nutrient broth agar (Himedia), pepton-bakteriyolojik (Himedia), bacto tryptic soy broth agar (Becton), yeast extract granül (Merck), amonyum dihidrojen fosfat ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) (Merck), kalsiyum klorür 2 sulu ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Kimetsan), magnezyum sülfat 7 sulu ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (Merck), potasyum klorür (KCl) (Tekkim), sodyum hidrojen karbonat (NaHCO_3) (Merck), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum hipoklorit (NaClO) (Ay-Kim), sodyum klorür (NaCl) (Ay-Kim), etil alkol (Kimetsan) kimyasal maddeleri ile ayçiçek yağı (Emek), bal, kepek, maya, mısır unu, soya unu, süt tozu besin maddeleri kullanılmıştır.

3.1.5. Diğer Sarf Malzemeler

Heterorhabditis bacteriophora ırkları ile yapılan denemelerde cam erlen (100, 250 ve 500 ml), ispirto ocağı, cam kavanoz (1 kg), cam petri (6, 9 ve 12 cm), pastör pipeti, şeffaf laboratuvar şişesi (500 ve 1000 ml), cam tüp, cam pipet (2 ve 5 ml), beher (100 ml), well plate (6x4), eppendorf tüpü (1.5 ml), erlen tıpası, filtre kağıdı (55 ve 150 mm), folyo kağıdı, hortum kelepçesi (85x103), kağıt bant, otoklav bandı, jilet, kaşık, kültür flask (kültür kabı) (200 ml), mikropipet ucu (10, 100 ve 1000 µl), nematod iğnesi, otomatik mikropipet (2-20, 20-200, 100-1000 µl), öze, parafin film, pens, plastik petri (6 cm), piset (500 ml), puar, tel örgü ve eldiven sarf malzemeleri kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. *Galleria mellonella* Larvalarının Üretilmesi

Genel olarak yetiştirilmesinin kolay olması, çok sayıda yumurta bırakması ve EPN' lere karşı duyarlılık göstermesi nedeniyle EPN ile ilgili yapılan çalışmalarda büyük bal mumu güvesi *G. mellonella*' nin son dönem larvaları kullanılmaktadır (Woodring ve Kaya 1988, Ehlers 1996, Shapiro-Ilan ve Gaugler 2002) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *Galleria mellonella* larvaları

Bu nedenle çalışmanın başlangıcında *G. mellonella* larvaları 32 ± 2 °C sıcaklık derecesindeki etüvde, üzerinde tel örtü geçirilmiş 1 kg'lık cam kavanozlarda, Wiesner (1993) tarafından önerilen tarifin modifiye edilmesiyle oluşturulmuş 200 g bal, 200 g gliserin, 200 g kepek, 150 g mısır unu, 100 g süt tozu, 100 g soya unu ve 50 g maya içeren yapay besin ortamında yetiştirilmiştir (Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5). Yetiştirilen *G. mellonella* larvalarının bir kısmı tez kapsamında yer alan denemeler için kullanılmış, bir kısmı ile de kültürleri devam ettirilmiştir.



Şekil 3.3. *Galleria mellonella* yumurtaları



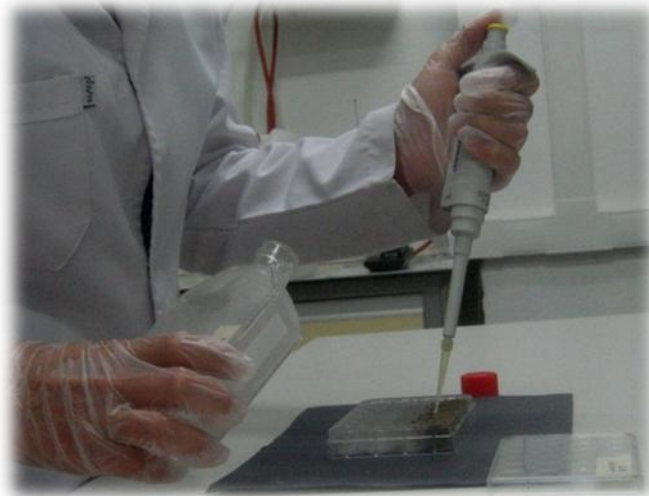
Şekil 3.4. *Galleria mellonella*'nin pupa ve ergin evreleri



Şekil 3.5. *Galleria mellonella*'nın yetiştirildiği cam kavanoz ve etüv

3.2.2. *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının *In vivo* Olarak *Galleria mellonella* Larvaları Üzerinde Üretilmesi

In vivo üretim laboratuvarımızda bulunan mevcut nematod kültürünün devamlılığını sağlamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. *In vivo* üretim için test böceği olarak *G. mellonella*'nın son dönem larvaları kullanılmıştır (Woodring ve Kaya 1988, Ehlers 1996, Shapiro-Ilan ve Gaugler 2002). Bu denemede *G. mellonella* larvaları, *H. bacteriophora*'nın H.b. 6 (Antalya), H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. HIZ (İzmir), H.b. HSU (Şanlıurfa), H.b. 10 (Adana) ırkları ile inoküle edilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. İnokülasyon işlemi

In vivo üretimde her bir ırk için 10 adet larva kullanılmış, her bir larva 50 infeksiif jüvenil ile inoküle edilerek 25 ± 1.5 °C’ de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.7).

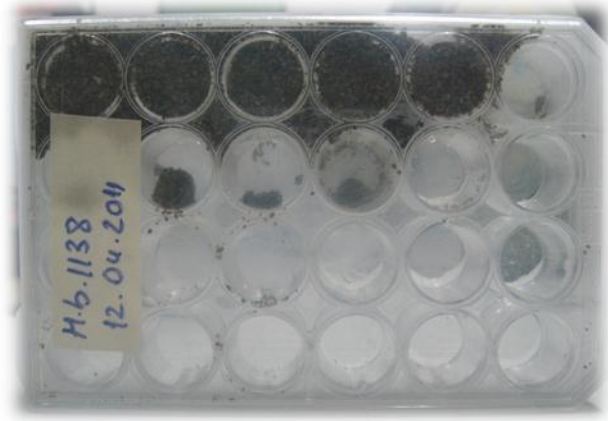


Şekil 3.7. 25 °C’ lik inkübatör

Deneme her biri 1.5 cm çapı olan, 2 cm derinliğindeki ve toplam 24 adet kuyucuğu bulunan plate’ler içinde yapılmıştır (Şekil 3.8). Her bir kuyucuğa 1 adet larva konulmuş ve üzeri %10 oranında steril Ringers solüsyonu (Çizelge 3.2) ile nemlendirilmiş 3 cm^3 steril kum ile kaplanmış ve ardından üzerine belirtilen dozda IJ inoküle edilerek plate’lerin kapağı parafin film ile kapatılmıştır (Susurluk ve ark. 2001, 2003). Dört gün sonunda plate’ler açılarak larvalar steril Ringers solüsyonu ile yıkanmış, ardından White trap düzeneğine alınmıştır (White 1927). White trap düzeneği için çapı 6 ve 9 cm olan petriler kullanılmıştır. Her 9 cm çaplı petrinin içerisine üzeri filtre kağıdı ile kaplanmış 6 cm çaplı petri kapağı yerleştirilmiş, 6 cm çaplı petri kapaklarının üzerine de EPN’ler ile enfekteli olan larvalar konulmuş ve ardından 9 cm çaplı petrilerin içerisine 15 ml steril Ringers solüsyonu eklenerek kapakları kapatılmıştır (Şekil 3.9).

Çizelge 3.2. Ringers solüsyonunun içeriği (Ringer 1882)

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



Şekil 3.8. Denemelerin yapıldığı plate



Şekil 3.9. White trap düzeneği

14 gün sonunda enfekteli larvalardan çıkış yapıp steril Ringers solüsyonu içerisinde biriken yeni nesil IJ' ler (Şekil 3.10) pastör pipeti yardımıyla 200 ml' lik flasklara alınmış ve denemelerde kullanılmak üzere 4-8 ° C' de buzdolabında stoklanmıştır (Kaya ve Stock 1997) (Şekil 3.11).



Şekil 3.10. White trap düzeneği (14 gün sonra)



Şekil 3.11. Infektif juvenillerin depolandığı flasklar

3.2.3. Ebeveyn *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının *Galleria mellonella* üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi

Heterorhabditis bacteriophora türü entomopatojen nematodun H.b. 6 (Antalya), H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. HIZ (İzmir), H.b. HSU (Şanlıurfa), H.b. 10 (Adana) ırklarının etkinlikleri *G. mellonella*'nın son dönem larvaları üzerinde 5, 10, 20, 50, 75, 100 IJ/Larva dozları kullanılarak tespit edilmiştir. Denemede Bölüm 3.2.2.'de belirtilen plate'ler kullanılmıştır. Her bir kuyucuğa 1 adet larva konulmuş ve üzeri %3 oranında steril Ringers solüsyonu ile nemlendirilmiş 3 cm³ steril kum ile kaplanmış ve ardından üzerine 300 µl steril Ringers solüsyonu içinde belirtilen dozlarda IJ inoküle edilmiştir (Susurluk ve ark. 2001, 2003). Inokülasyonun ardından plate'lerin kapağı parafin film ile kapatılarak 25 °C' de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.12. Enfeksiyon sonrası canlı/ölu larvalar

Bu işlem her bir ırk için 3 tekerrürlü olarak yapılmış olup, her bir tekerrürde 20 adet *G. mellonella* larvası kullanılmıştır. Deneme sonunda her bir plate açılarak canlı ve ölu larvalar sayılmış (Şekil 3.12) ve elde edilen verilerin istatistiksel analizi yapılarak LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri belirlenmiştir.

3.2.4. *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının Hibridizasyonu

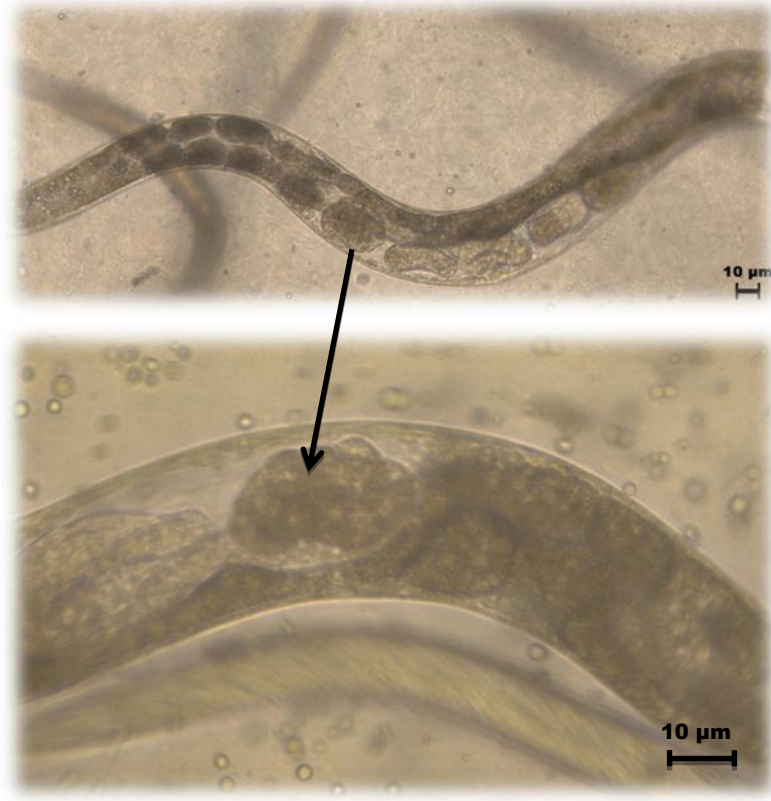
EPN' ler sadece 3. jüvenil evresinde (IJ) böceği penetre edebilir (Adams ve Nguyen 2002). Penetrasyondan sonra böceğin disekte edilmesiyle elde edilen erkek ve dişi bireyler çiftleşmeleri için başka bir böceğe inoküle edildiğinde bu bireyler böceğe giriş yapamaz. Bu nedenle hibridizasyon çalışmaları *H. bacteriophora* ırklarının *in vitro* sıvı ortamda üretilmesi sonucu elde edilmiş olan erkek ve dişi bireylerin agar ortamında çiftleştirilmesiyle yapılmaktadır.

Hibridizasyon çalışmalarındaki en önemli noktalardan birisi *H. bacteriophora*' nın dişi fenotipindeki hermafrodit bireyleri ile eşeyli üreme yeteneğindeki dişi bireylerini ayırt etmek, diğeri ise dişi bireylerin sahip olduğu yumurtalarının döllenip döllenmediğini anlayabilmektir. Dişi bireylerin ovaryelerindeki döllenmemiş yumurtalar binoküler ya da invert mikroskop altında incelendiğinde içleri boş ve hale şeklinde görülmektedir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Döllenmemiş dişi

Döllenmiş yumurtalar ise embriyo gelişmesi başladığından hücre bölünmesinden dolayı içleri dolu olup karnabahar görünümündedir (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Dölllenmiş dişi

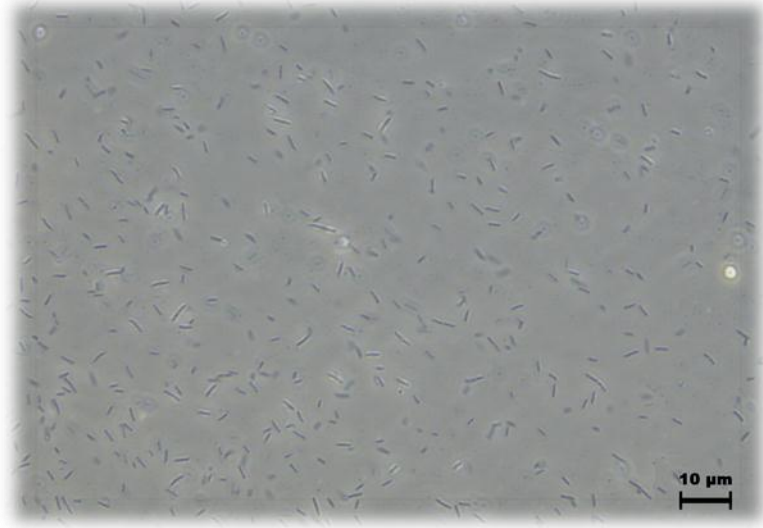
Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı *H. bacteriophora*'nın *in vitro* ortam koşullarında hibritlenmesi, bu nematodun BSA sıvı besin ortamında *in vitro* olarak üretilmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. BSA sıvı besin ortamında *H. bacteriophora*'nın ikinci dölünde meydana gelen eşeyli üreme yeteneğindeki erkek ve dişiler biraraya gelip çiftleşemez (Strauch ve ark. 1994, Ehlers ve ark. 1998). Bu sayede dişiler, dişi fenotipindeki hermafrodit bireylerden; döllenmemiş yumurtalar ise döllenmiş olanlardan kolaylıkla ayırt edilebilmektedir.

3.2.4.1. *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının *In vitro* Olarak Üretilmesi

3.2.4.1.1. Simbiyont bakteri *Photorhabdus luminescens*'in izolasyonu

Heterorhabditis bacteriophora yalnızca infeksiyöz dönemde barsak kısmının ön kısmında, özel bir kese içerisinde bulunan *P. luminescens* (Şekil 3.15) ile simbiyont bir ilişki içerisinde (Endo ve Nickle 1994, Duchaud ve ark. 2003). Bu bakteri türü EPN'lerin gelişmesi ve üremesi için elverişli ortam koşulları yaratmakta, ayrıca EPN'ler için

besin maddesi görevini görmektedir (Poinar 1975, Forst ve ark. 1997). Bu nedenle EPN'lerin *in vitro* olarak üretilmeleri esnasında bu bakterinin bulunması da şarttır.



Şekil 3.15. Simbiyont bakteri *Photorhabdus luminescens*

Photorhabdus luminescens izolasyonu için, 5 adet *G. mellonella*'nın son dönem larvası *H. bacteriophora* ile 100 IJ/Larva dozunda inokule edilmiştir (Susurluk ve ark. 2001). İnokülasyon işlemi Bölüm 3.2.2.'de belirtilen plate'ler içinde yapılmıştır. Her bir kuyucuğa 1 adet larva konulmuş ve üzeri %10 oranında steril Ringers solüsyonu ile nemlendirilmiş 3 cm³ steril kum ile kaplanmış ve ardından üzerine belirtilen dozda IJ inoküle edilmiştir (Susurluk ve ark. 2001, 2003). Plate'lerin kapağı parafin film ile kapatılarak 25 °C' de 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. Belirtilen süre sonunda plate'ler açılarak larvalar steril Ringers solüsyonu ile yıkanmış ve ardından her bir larvanın yüzeyi %70' lik etil alkol ile 5 dk süreyle sterilize edilmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16. Larvanın yüzey sterilizasyonu işlemi

Sterilizasyon işleminin ardından her bir larva parmak arasına alınarak ventralinden steril iğne ucu ile hafifçe delinerek larvanın vücut sıvısı (hemolinf) açığa çıkartılmıştır (Şekil 3.17).



Şekil 3.17.Larvanın ventralinden steril iğne ile delinmesi

Açığa çıkan hemolinf steril bir öze yardımıyla alınarak NBTA agara (Çizelge 3.3) sürülüp (Şekil 3.18) 25 ° C' de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.18. Hemolinf içeriğinin öze ile alınıp NBTA agara sürülmesi

Çizelge 3.3. NBTA agarın içeriği (Akhurst 1980)

Kimyasal Madde Adı	Miktar (g)
Standard-I-Nutrient Agar	37.0
Bromthymolblue	0.025
Saf su	1000
2,3,5-Triphenyl-tetracolumchloride solution	4

Üç gün sonunda koloni gelişimi görülen agar üzerindeki bakteriden (Şekil 3.19) steril öze ile bir ya da birkaç koloni alınarak 250 ml' lik erlen içerisindeki 80 ml steril YS sıvı besin ortamına (Çizelge 3.4) aktarılmıştır.

Çizelge 3.4. YS sıvı besin ortamının içeriği (Dye 1968)

Kimyasal Madde Adı	Miktar (g)
Yeast extract	5.0
NaCl	5.0
NH ₄ H ₂ PO ₄	0.5
K ₂ HPO ₄	0.5
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0.2
Saf su	1000



Şekil 3.19. NBTA agar üzerinde oluşan *Photobacterium luminescens* kolonileri

Steril YS sıvı besin ortamı 25 °C' de 200 rpm' e ayarlanmış sıcaklık kontrollü orbital çalkalayıcıya (Şekil 3.20) yerleştirilmiş ve karanlık ortam koşullarında 1 gün süreyle bakterilerin steril YS sıvı besin ortamında üremesi sağlanmıştır (Akhurst 1980) (Şekil 3.21).



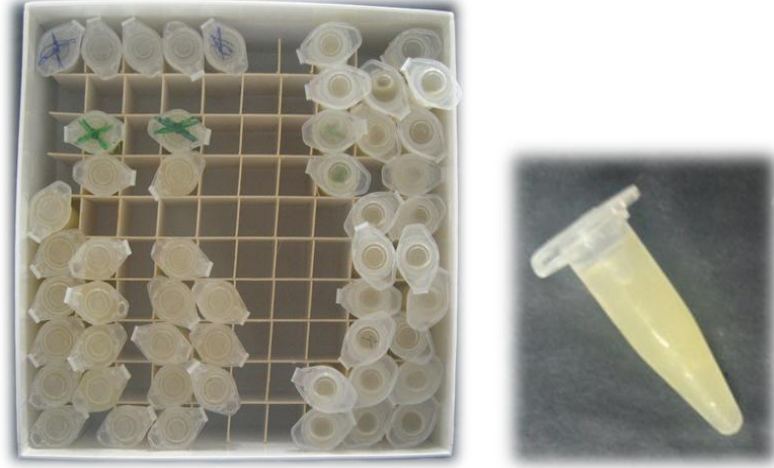
Şekil 3.20. Denemelerin yürütüldüğü orbital çalkalayıcı



Şekil 3.21. YS sıvı besin ortamı

Steril YS sıvı besin ortamında üreyen bakterilerden stok oluşturulması için 1 gün sonunda orbital çalkalayıcıdaki bakteri kültürü alınarak içerisinde %15 oranında steril

gliserin eklenmiş ve karışım 1.5 ml' lik eppendorf tüplerine aktararak daha sonraki aşamalarda kullanılmak üzere -20 ° C' de stoklanmıştır (Lunau ve ark. 1993) (Şekil 3.22).



Şekil 3.22. Bakteri stoğu

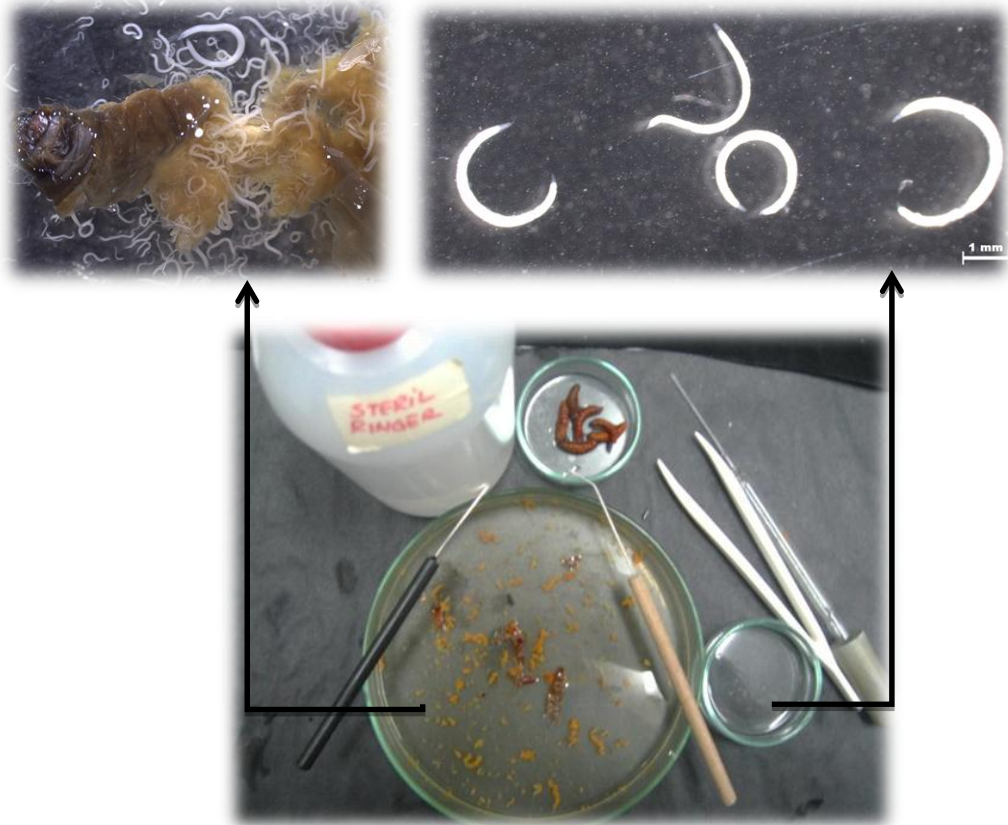
3.2.4.1.2. *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarından yumurta izolasyonu

In vitro ortamda EPN üretimi iki temel esasa dayanmaktadır. Bunlardan birincisi önceki bölümde ele alınan simbiyont bakterinin izole edilmesi, ikincisi ise hedef alınan EPN türünde bulunan yumurtaların izole edilmesidir. *H. bacteriophora*'nın *in vitro* ortamda üretilmesi işlemi hermafrodit bireylerde (Şekil 3.23) bulunan yumurtaların izole edilmesi yoluyla gerçekleşmektedir.



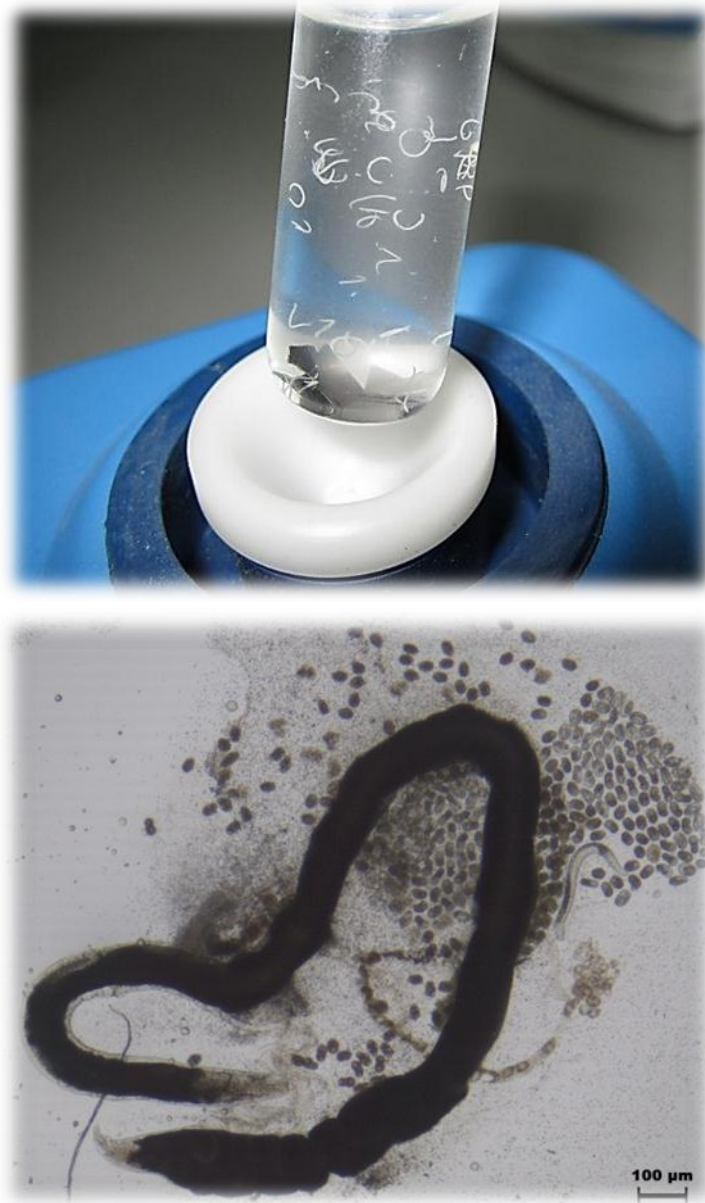
Şekil 3.23. *Heterorhabditis bacteriophora* hermafrodit evre

Yumurta izolasyonu işlemi, Lunau ve ark. (1993) geliştirmiş oldukları yöntemin yeniden düzenlenmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için *G. mellonella*'nın son dönem larvaları *H. bacteriophora*'nın H.b. 6 (Antalya), H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. HIZ (İzmir), H.b. HSU (Şanlıurfa), H.b. 10 (Adana) ırkları ile 50 IJ/Larva dozunda inoküle edilerek 25 °C' de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnokülasyon işlemi Bölüm 3.2.2.' de belirtilen plate' ler içinde yapılmış, her bir kuyucuğa 1 adet larva konulmuş ve üzeri %10 oranında steril Ringers solüsyonu ile nemlendirilmiş 3 cm³ steril kum ile kaplanarak ardından üzerine belirtilen dozda IJ inoküle edilmiş ve plate' lerin kapağı parafin film ile kapatılmıştır (Susurluk ve ark. 2001, 2003). Denemede her bir ırk için 10 adet olmak üzere toplam 60 adet larva kullanılmıştır. Belirtilen süre sonunda IJ enfeksiyonu ile ölen her bir larva çapı 12 cm olan ve içinde steril Ringers solüsyonu bulunan petri kabı içerisinde iyice disekte edilmiş ve her bir ırk için 150-200 kadar hermafrodit birey nematod iğnesi yardımıyla alınarak içerisinde steril Ringers solüsyonu bulunan 6 cm çaplı petri kaplarında toplanmıştır (Şekil 3.24). Toplanan hermafrodit bireyler invert mikroskop altında incelenerek yumurtalarının döllenen döllenenmediği kontrol edilmiştir.



Şekil 3.24. Disekte edilen larvalar toplanan hermafrodit bireyler

Toplanan tüm hermafrodit bireyler 6 cm' lik petri kabından pastör pipeti yardımıyla bir cam tüp içerisine alınmış ve üzerine 5 ml kadar steril Ringers solüsyonu ilave edilmiştir. Hermafrodit bireylerden yumurtaların ayrılması amacıyla cam tüp içerisine ufak parçalara ayrılmış jiletler konulmuş ve ardından bu tüp 1 dk kadar vortex ile muamele edilmiştir (Şekil 3.25). Bu işlemin ardından tüpün içeriği 72 µm' lik elekten süzülerek eleğin altında kalan yumurtaların bulunduğu sıvı kısım başka bir cam tüpe aktarılmıştır. Bu işlem hermafrodit bireylerden yeteri kadar yumurta elde edilene kadar birkaç kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.25. Hermafrodit bireyin jiletle parçalanması sonucu açığa çıkan yumurtalar

İçerisinde steril Ringers solüsyonu bulunan cam tüpte bulunan yumurtalar 1.5 ml' lik eppendorf tüplerine aktarılmış ve 3000 rpm' de 2 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası dibe çöken yumurtaların üzerinde kalan sıvı otomatik mikropipet yardımıyla çekilmiş ve üzerine tekrar steril Ringers solüsyonu konularak tekrar 3000 rpm' de 2 dk süresince santrifüj edilmiştir (Şekil 3.26).



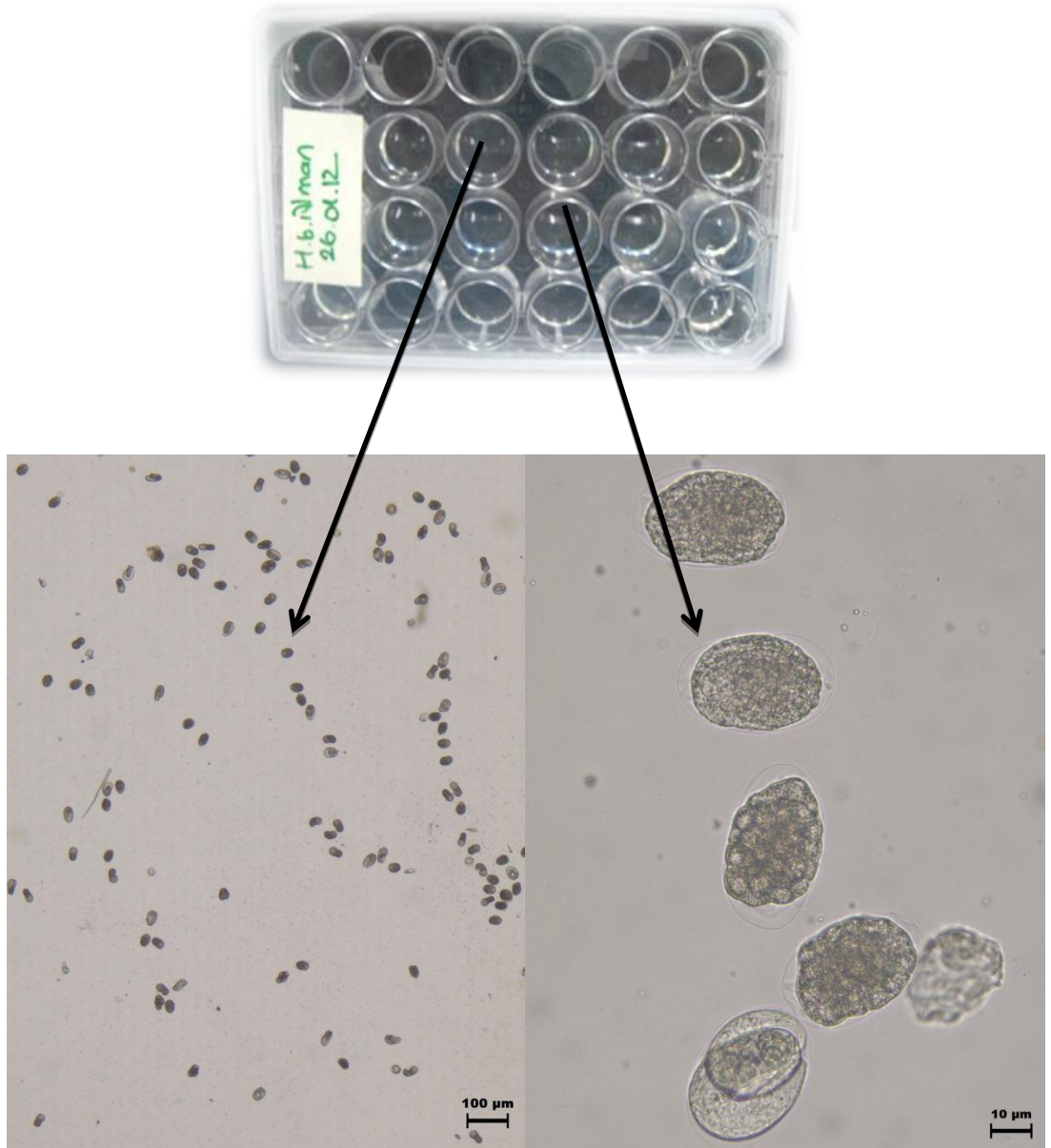
Şekil 3.26. Santrifüj cihazı

Yumurtaların yüzeyinde bulunan *G. mellonella* ve hermafrodit kalıntılarının arındırılması amacıyla bu işlem 3-4 kere tekrarlanmıştır. Son santrifüj işleminden sonra tüplerin diplerine çöken yumurtaların üzerlerinde bulunan sıvı çekilmiş ve ardından yumurtaların yüzey sterilizasyonu için tüm tüplere sterilizasyon solüsyonu (Çizelge 3.5) eklenmiş ve tüpler 4 dk boyunca nazikçe çalkalandıktan sonra 4500 rpm' de 2 dk süresince santrifüj edilmiştir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta, yumurtaların yüzey sterilizasyonu işleminin 6 dk' yı aşmamasıdır. Bu sürenin aşılması halinde yumurtalar sterilizasyon solüsyonundan olumsuz şekilde etkilenerek ölmektedir.

Çizelge 3.5. Sterilizasyon solüsyonunun içeriği

Kimyasal Madde Adı	Miktar (ml)
NaOCl	1
4 M NaOH	1
Saf su	10

Santrifüj sonrası tüpün dibine çöken yumurtalar üzerinden sterilizasyon solüsyonu pastör pipeti yardımıyla çekilerek üzerine steril YS sıvı besin ortamı eklenmiş ve tüpler tekrar 4500 rpm' de 2 dk süresince santrifüj edilmiştir. Son santrifüj işleminin ardından yumurtalar 300 µl steril YS sıvı besin ortamı eklenmiş steril 4x6 plate' lere aktarılmış (Şekil 3.27) ve plate' lerin kapağı parafin film ile kapatılarak 25 °C' de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.27. Hermafrodit bireylerden izole edilen yumurtalar

3.2.4.1.3. Monoksenik nematod kültürünün hazırlanması

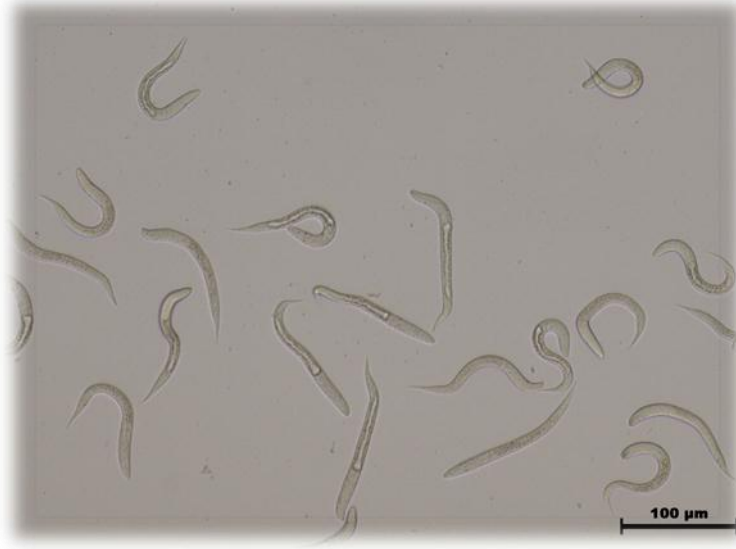
Heterorhabditis bacteriophora'nın *in vitro* olarak sıvı ortamda üretilmesi amacıyla, H.b. 6 (Antalya), H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. HIZ (İzmir), H.b. HSU (Şanlıurfa), H.b. 10 (Adana) ırklarından izole edilen yumurtalardan çıkan 1. evre juveniller BSA sıvı besin ortamından önce bakteri inoküle edilmiş nutrient lipid agar (wouts agar)'a inoküle edilerek monoksenik nematod kültürü oluşturulmuştur. Bu ortam BSA sıvı besin ortamına yeterli sayıda IJ ile inoküle edilmesini sağlamakta, BSA sıvı besin ortamında üretim sürecini kısaltmakta ve BSA sıvı besin ortamından maksimum seviyede IJ elde edilmesine olanak vermektedir (Ehlers ve ark. 1998, Johnigk ve Ehlers 1999a).

Agar ortamında monoksenik nematod kültürünün hazırlanması, Lunau ve ark. (1993) geliştirmiş oldukları yöntemin yeniden düzenlenmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için, daha önceden izole edilmiş ve -20 ° C' de stoklanmış olan simbiyont bakteri *P. luminescens*, oda sıcaklığında eritilerek 100 ml' lik erlen içinde bulunan 30 ml steril YS sıvı besin ortamına aktarılmış, 25 ° C' ye ve 200 rpm' e ayarlanmış ısıtmalı orbital çalkalayıcı üzerinde karanlık ortam koşullarında 24 saat süresince inkübe edilmiştir (Akhurst 1980). İnkübasyonun ardından, steril YS sıvı besin ortamında gelişen bakteri kültüründen 20-50 µl alınmış ve çapı 6 cm olan plastik petri kabının içinde bulunan nutrient lipid agar (wouts agar) (Çizelge 3.6) bu bakteri ile inoküle edilmiştir.

Çizelge 3.6. Nutrient lipid agarın içeriği (Wouts agar) (Wouts 1981)

Kimyasal Madde Adı	Miktar (g)
Nutrient Broth	16.0
Agar powder, Bacteriological	12.0
Ayçiçek yağı	5.0
Saf su	1000

İnokulasyon işleminin ardından hermafrodit bireylerden izole edilen ve 48 saatlik inkübasyon sürecinden sonra açılan yumurtalardan çıkış yapan 1. evre juveniller (Şekil 3.28) de içinde bakteri ile inoküle edilmiş wouts agar bulnan petri kabına aktarılmıştır.



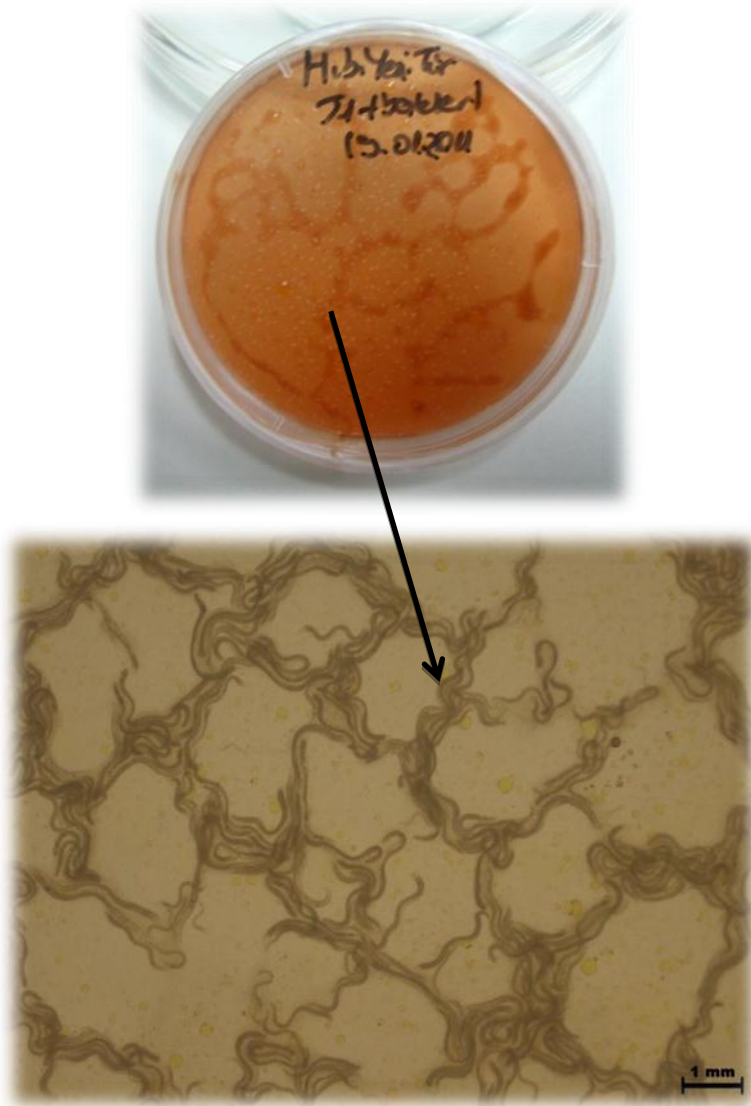
Şekil 3.28. İzole edilen yumurtalardan çıkan 1. evre juveniller

Petri kabı parafin film ile kapatılarak 25 °C’ de karanlık ortam koşullarında inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.29).



Şekil 3.29. 1. günde wouts agar

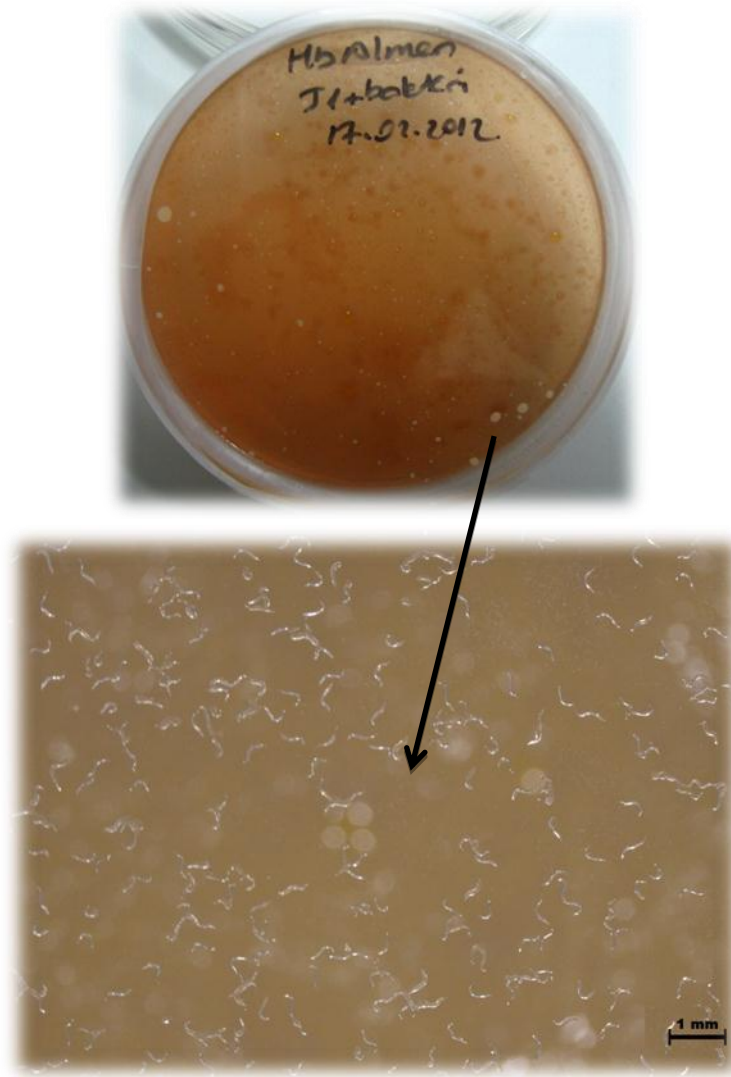
Bu işlem yumurta izolasyonu yapılan her *H. bacteriophora* ırkı için 5 tekerrürlü olarak yapılmıştır. İnkübasyona bırakılan tüm petri kapları infeksiif juvenillerin gelişiminin gözlenmesi amacıyla günlük olarak kontrol edilmiştir (Şekil 3.30).



Şekil 3.30. 7. günde wouts agar üzerinde gelişen çeşitli *Heterorhabditis bacteriophora* evreleri

3.2.4.1.4. *In vitro* sıvı ortamda *Heterorhabditis bacteriophora* ırklarının üretilmesi

EPN' lerinin *in vitro* sıvı ortamda üretilmesi, bir önceki kısımda ele alınan monoksenik nematod kültüründen elde edilen yeni nesil infektif juvenillerin (IJ) kullanılması yoluyla gerçekleştirilmiştir. Birinci evre juvenillerin, *P. luminescens* ile inokule edilmiş wouts agar ortamına aktarılmasından 14 gün sonra yeni nesil IJ' lerin agar ortamından petri kapağı üzerinde toplandıkları gözlemlenmiştir (Şekil 3.31).



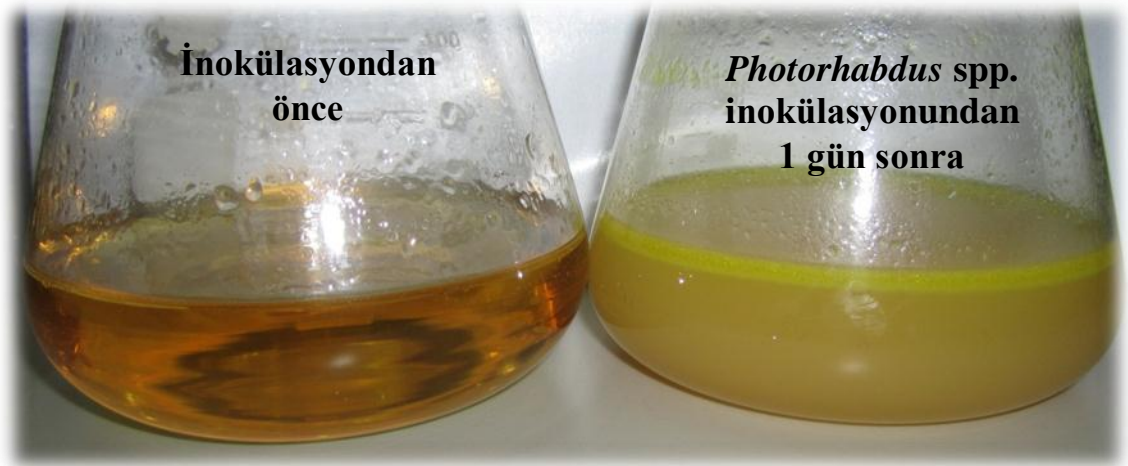
Şekil 3.31. 15. günde petri kapağında toplanan infektif juveniller

In vitro sıvı üretim için, daha önceden izole edilmiş ve -20°C ' de stoklanmış olan simbiyont bakteri *P. luminescens*, oda sıcaklığında eritilerek 250 ml' lik erlen içinde bulunan 80 ml steril YS sıvı besin ortamına aktarılmış, 25°C ' ye ve 200 rpm' e ayarlanmış ısıtmalı orbital çalkalayıcı üzerinde karanlık ortam koşullarında 24 saat süresince inkübe edilmiştir (Akhurst 1980). İnkübasyonun ardından, steril YS sıvı besin ortamında gelişen bakteri kültüründen 2 ml çekilerek, 250 ml' lik erlen içinde bulunan steril 80 ml' lik BSA sıvı besin ortamına (Çizelge 3.7) aktarılmış, 25°C ' ye ve 200 rpm' e ayarlanmış ısıtmalı orbital çalkalayıcı üzerinde karanlık ortam koşullarında 24 saat süresince inkübe edilmiştir (Şekil 3.32). Bu işlemde her ırk için birer adet, kontrol

içinse 1 adet olmak üzere toplam 7 adet içerisinde 80 ya da 150 ml steril BSA sıvı besin ortamı bulunan 250 ya da 500' ml ' lik erlen kullanılmıştır.

Çizelge 3.7. BSA sıvı besin ortamının içeriği (Ehlers 1998)

Kimyasal Madde Adı	Miktar (g)
Nutrient Broth	10.0
Bacto™ Tryptic Soy Broth	10.0
Yeast extract, granulated	5.0
Peptone, Bacteriological	5.0
NaCl	5.0
KCl	0.35
CaCl ₂ x 2H ₂ O	0.21
Saf su	1000
Ayçiçek yağı	30



Şekil 3.32. BSA sıvı besin ortamı

İnkübasyondan 24 saat sonra, wouts agarın bulunduğu petri kabının kapağına çıkan her bir ırka ait bütün IJ' ler her bir erlene inokule edilmiştir (Şekil 3.33).



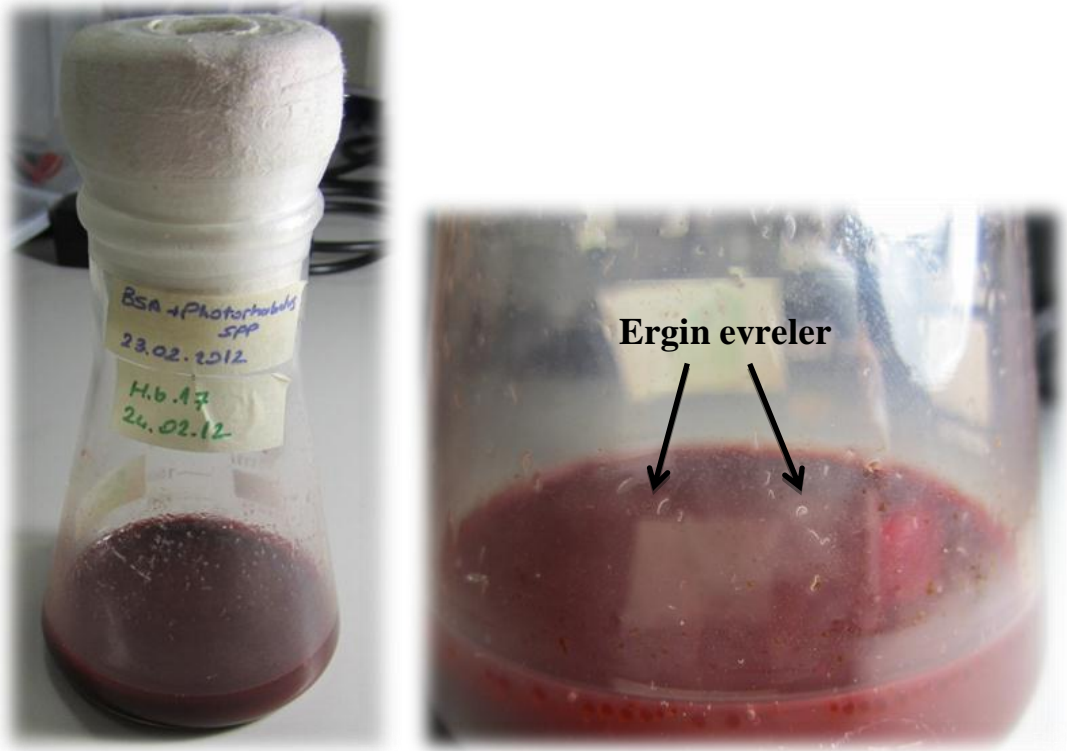
Şekil 3.33. BSA sıvı besin ortamına IJ inoküle edilmesi

İnokülasyon işleminin ardından her bir erlen 25 ° C' ye ve 200 rpm' e ayarlanmış ısıtmalı orbital çalkalayıcı üzerinde karanlık ortam koşullarında inkübe edilmiştir (Lunau ve ark. 1993, Ehlers ve ark. 1998, Ehlers 2001) (Şekil 3.34).



Şekil 3.34. IJ inoküle edilmiş olan BSA sıvı besin ortamlarının inkübasyonu

Nematod ve bakteri inoküle edilmiş olan BSA sıvı besin ortamında inkübasyonun 10. gününden itibaren eşeyli üreme yeteneğindeki dişi ve erkek bireyler (Şekil 3.35), 21. gününden itibaren ise ağırlıkça yeni nesil IJ' ler gözlemlenmiştir.



Şekil 3.35. İnokülyasyondan 10 gün sonra BSA sıvı besin ortamında ergin *Heterorhabditis bacteriophora* evreleri

3.2.4.2. Hibridizasyon işleminde birbirleriyle hibritlenecek olan

Heterorhabditis bacteriophora ırklarının belirlenmesi

Hibridizasyon işleminde hangi iki ırkın birbirleriyle hibritleneceğinin belirlenmesi için her bir ırkın etkinlikleri Bölüm 3.2.3.' de anlatıldığı şekilde belirlenerek her bir ırkın LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda bu iki değerlerin ortalaması alınarak en yüksek LD değerine sahip olan ırk standart olarak alınmış, bu ırkın dişi ve erkek bireyleri ile diğer ırkların erkek ve dişi bireyleri hibritlenmiştir (Çizelge 3.8). Burada amaç negatif kontrol (düşük etkinlik değerine sahip ırkın standart olarak alınması) yoluyla hibrit ve ebeveyn ırkların etkinliklerini karşılaştırarak, etkinliğin kalıtımsal olarak ebeveyn ırklardan hibrit ırklara aktarılıp aktarılmadığını belirlemektir.

Çizelge 3.8. Ebeveyn ve hibrit ırklar

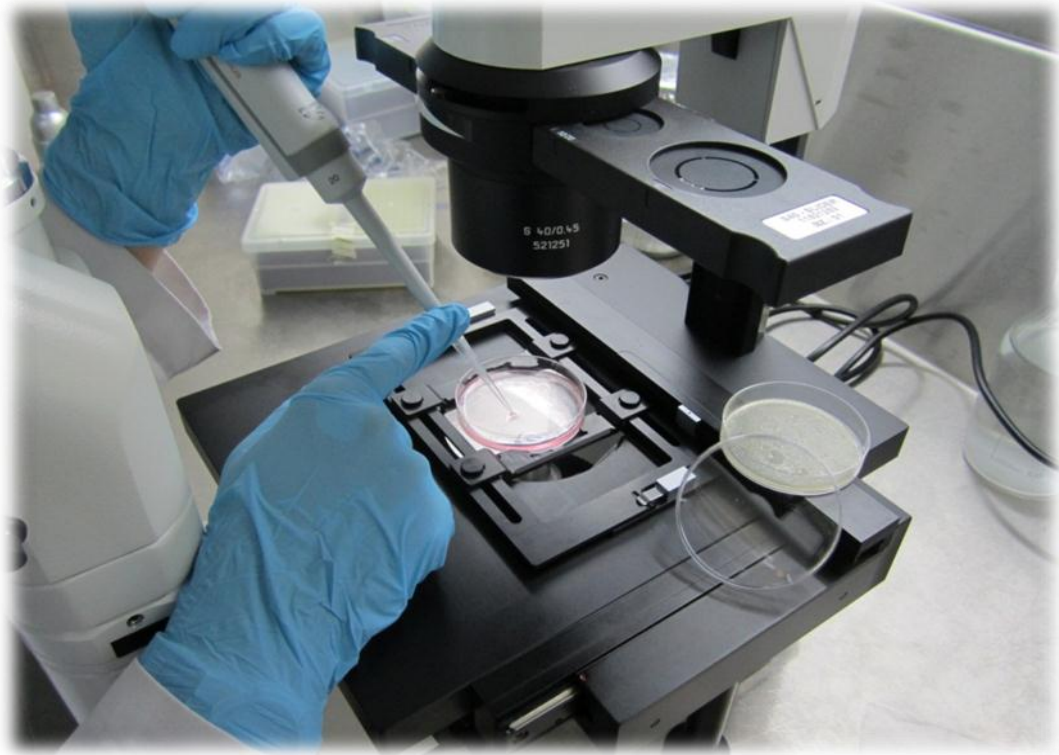
Ebeveyn Irklar	Hibrit Irklar
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 876 (Çanakkale) ♂	H.b. A
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 876 (Çanakkale) ♀	H.b. B
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 17 (Kırklareli) ♂	H.b. C
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 17 (Kırklareli) ♀	H.b. D
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. HIZ (İzmir) ♂	H.b. E
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. HIZ (İzmir) ♀	H.b. F
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. HSU (Şanlıurfa) ♂	H.b. G
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. HSU (Şanlıurfa) ♀	H.b. H
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 10 (Adana) ♂	H.b. K
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 10 (Adana) ♀	H.b. L

3.2.4.3. Hibridizasyon işleminin yapılması

In vitro ortamda hibridizasyon işlemi için *H. bacteriophora*'nın H.b. 6 (Antalya), H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. HIZ (İzmir), H.b. HSU (Şanlıurfa), H.b. 10 (Adana) ırklarının her biri için önceki bölümlerde ayrıntılı şekilde ele alınan yumurta izolasyonu işlemi yapılmış, monoksenik nematod kültürü oluşturulmuş ve buradan elde edilen infektif juveniller (IJ) BSA sıvı besin ortamına inoküle edilerek 25 ° C' ye ve 200 rpm' e ayarlanmış ısıtmalı orbital çalkalayıcı üzerinde karanlık ortam koşullarında 10 gün boyunca inkübe edilmiştir.

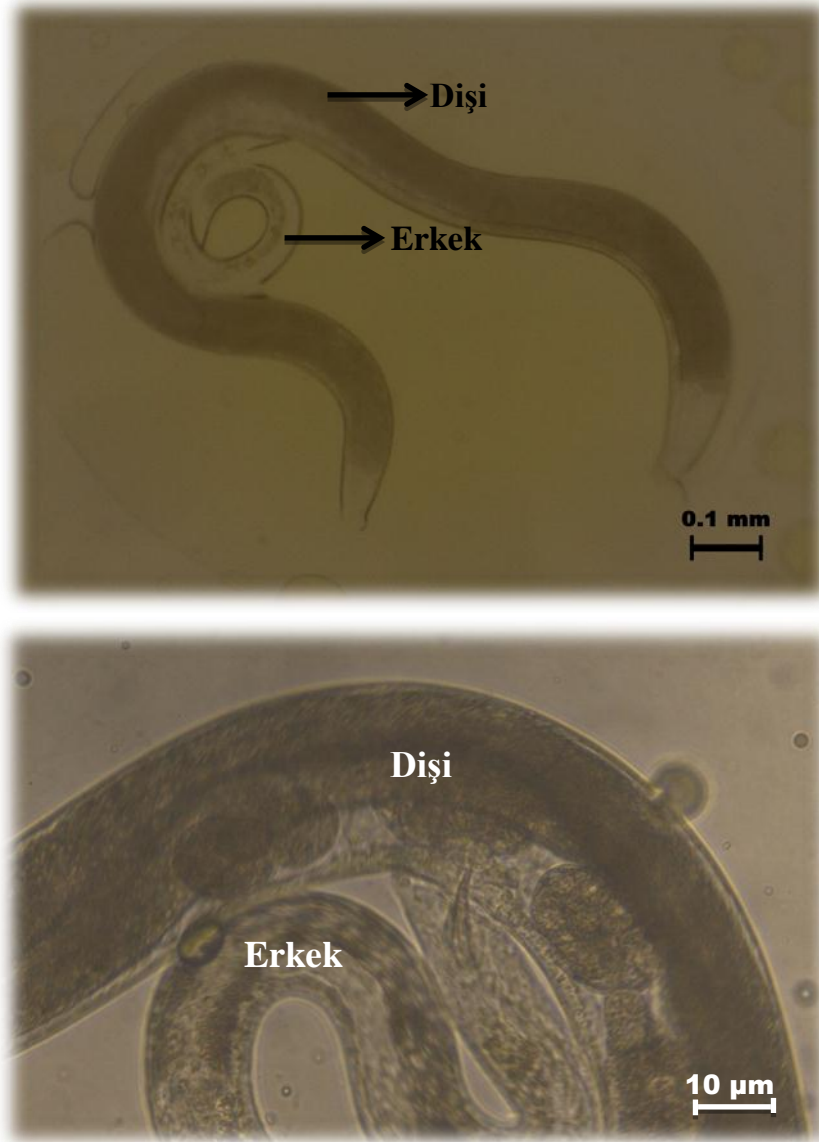
Hibridizasyon işlemine başlamadan önce, daha önceden izole edilmiş ve -20 ° C' de stoklanmış olan simbiyont bakteri *P. luminescens*, oda sıcaklığında eritilerek 250 ml' lik erlen içinde bulunan 80 ml steril YS sıvı besi ortamına aktarılmış, 25 ° C' ye ve 200 rpm' e ayarlanmış ısıtmalı orbital çalkalayıcı üzerinde karanlık ortam koşullarında 24 saat süresince inkübe edilmiştir (Akhurst 1980). İnkübasyon sürecinin ardından, steril

YS sıvı besin ortamında gelişen bakteri kültüründen 20-50 µl alınmış ve çapı 6 cm olan plastik petri kabının içinde bulunan nutrient lipid agar (wouts agar) bu bakteri ile inoküle edilerek 25 ° C' de 2 gün inkübe edilmiştir (Lunau ve ark. 1993). BSA sıvı besin ortamının 10 günlük inkübasyon sürecinden sonra, her bir ırkın sıvı ortamda *in vitro* olarak üretilmesi için hazırlanmış olan 250 ml' lik erlen içinde bulunan 80 ml'lik BSA sıvı besin ortamlarının her biri steril ortam koşullarında açılarak içerisinden 2 ml kadar alınıp çapı 6 cm olan steril plastik petrilerin içerisine aktarılmıştır. Her bir ırka ait olan BSA sıvı besin ortamlarının içerikleri teker teker invert mikroskop altında incelenmiştir. Bu işlemin ardından hangi iki ırk hibritlenecekse birine ait dişiler ile diğerine ait erkeklerden otomatik mikropipet yardımıyla 10' ar adet alınarak 2 gün öncesinden *P. luminescens* ile inoküle edilmiş olan wouts agar üzerine aktarılmıştır (Şekil 3.36).



Şekil 3.36. Hibridizasyon işleminin yapılması

Petri kabı parafin film ile kapatılarak 25 ° C' de karanlık ortam koşullarında 14 gün inkübasyona bırakılmış, wouts agar üzerine aktarılan erkek ve dişi bireylerin çiftleşip çiftleşmedikleri takip edilmiştir (Şekil 3.37).



Şekil 3.37. *Heterorhabditis bacteriophora*' ya ait erkek ve dişi bireyin wouts agar ortamında çiftleşmesi

Bir denemede bir ırka ait dişi diğer ırka ait erkek kullanılmışsa, sonraki denemede bu işlemin tersi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem her bir ırk için yapılmış ve denemede içerisinde 2 gün öncesinden *P. luminescens* ile inoküle edilmiş olan wouts agar bulunan ayrı bir petriye kontrol olarak 5 adet döllenmemiş dişi konulmuştur (İraki ve ark. 2000, Susurluk ve ark. 2001, Ehlers ve ark. 2005, Mukuka ve ark. 2010a, b, c, d).

14 günlük inkübasyon sürecinin ardından wouts agarın bulunduğu petri kabında bulunan ebevyinlerin çiftleşmesi sonucunda oluşan ve petri kapağına çıkan bütün IJ' ler

(Şekil 3.38) Ringers solüsyonu yardımıyla alınarak 200 ml' lik flasklara alınmış ve denemelerde kullanılmak üzere 4-8 ° C' de buzdolabında stoklanmıştır (Kaya ve Stock 1997).



Şekil 3.38. Hibridizasyon sonucunda meydana gelen hibrit IJ' ler

3.2.5. Hibrit *Heterorhabditis bacteriophora* Irklarının *Galleria mellonella* üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi

Heterorhabditis bacteriophora türü entomopatojen nematodun hibrit ırklarının etkinlikleri *G. mellonella*' nin son dönem larvaları üzerinde 5, 10, 20, 50, 75, 100 IJ/Larva dozları kullanılarak tespit edilmiştir. Denemede her biri Bölüm 3.2.2.' de belirtilen plate'ler kullanılmıştır. Her bir kuyucuğa 1 adet larva konulmuş ve üzeri %3 oranında steril Ringers solüsyonu ile nemlendirilmiş 3 cm³ steril kum ile kaplanmış ve ardından üzerine 300 µl steril Ringers solüsyonu içinde belirtilen dozlarda IJ inoküle edilmiştir (Susurluk ve ark. 2001, 2003). Inokülasyonun ardından plate'lerin kapağı parafin film ile kapatılarak 25 °C' de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlem her bir ırk için 3 tekerrürlü olarak yapılmış olup, her bir tekerrürde 20 adet *G. mellonella* larvası kullanılmıştır. Deneme sonunda her bir plate açılarak canlı ve ölü larvalar sayılarak etkinlik belirlenmiştir.

3.2.6. İstatiksel Değerlendirme

Ebeveyn ile hibrit ırkların etkinlikleri arasındaki farklılığın belirlenmesinde JMP® 7.0 istatiksel veri analizi programı kullanılmış olup, tüm analizler ANOVA ve LSD testleri kullanılarak hesaplanmıştır ($P=0.05$). Ebeveyn ve hibrit ırkların LD_{50} ve LD_{90} değerleri BioStat ©2010 programı kullanılarak yapılan probit analizi ile tespit edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu bölümde araştırmadan elde edilen bulgular aşağıda ebeveyn ırkların etkinliklerinin değerlendirilmesi, hibrit ırkların etkinliklerinin değerlendirilmesi, ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırması olmak üzere toplam 3 ana başlık halinde sunulmuştur.

4.1. Ebeveyn Irkların Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

Heterorhabditis bacteriophora'nın ebeveyn olarak kullanılan H.b. 6 (Antalya), H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. HIZ (İzmir), H.b. HSU (Şanlıurfa), H.b. 10 (Adana) ırklarının etkinlikleri *G. mellonella*'nın son dönem larvaları üzerinde 5, 10, 20, 50, 75 ve 100IJ/Larva uygulama dozlarının kullanılarak belirlenmesi amaçlanmış ancak tüm ırkların 75 IJ/Larva uygulama dozunda larvalar üzerinde %100 etkinlik göstermesi sebebiyle 100 IJ/Larva uygulama dozu işleme alınmamıştır. Bu nedenle tüm ebeveyn ırkların larvalar üzerindeki etkinlikleri 5, 10, 20, 50 ve 75 IJ/Larva uygulama dozlarında belirlenmiştir. Ayrıca her bir ırk tüm uygulama dozlarında kendi içerisinde karşılaştırılmıştır. Elde edilen etkinlik değerleri ve uygulama dozlarının ırkların etkinliği üzerine olan etkileri aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

4.1.1. Ebeveyn Irkların LD₅₀ ve LD₉₀ Değerleri

Yapılan denemeler sonucunda *G. mellonella*'nın son dönem larvaları üzerinde en yüksek seviyede etkinlik değerine sahip olan ebeveyn *H. bacteriophora* ırkı H.b. 876 (Çanakkale) (LD₅₀: 0.58, LD₉₀: 21.43) olarak tespit edilmiş, en düşük etkinlik değerlerine sahip olan ebeveyn ırklar ise H.b. 6 (Antalya) (LD₅₀: 5.20, LD₉₀: 28.89) ve H.b. HSU (Şanlıurfa) (LD₅₀: 5.27, LD₉₀: 31.20) olarak bulunmuştur. Yapılan denemelerde en düşük etkinlik değerine sahip olan ebeveyn ırklardan H.b. 6 (Antalya) (LD_{ortalama}: 17.05) standart olarak alınmış ve negatif kontrol oluşturularak hibridizasyon işlemi yapılmıştır. Diğer ırkların LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri ise Çizelge 4.1' de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Ebeveyn ırkların LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri

Ebeveyn Irklar	LD ₅₀	LD ₉₀	LD _{ortalama}
H.b. 6 (Antalya)	5.20	28.89	17.05
H.b. 876 (Çanakkale)	0.58	21.43	11.01
H.b. 17 (Kırklareli)	4.98	27.56	16.27
H.b. HIZ (İzmir)	5.06	24.26	14.66
H.b. HSU (Şanlıurfa)	5.27	31.20	18.24
H.b. 10 (Adana)	5.42	26.56	15.99

4.1.2. Belirlenen Uygulama Dozlarında Elde Edilen Etkinlik Verileri

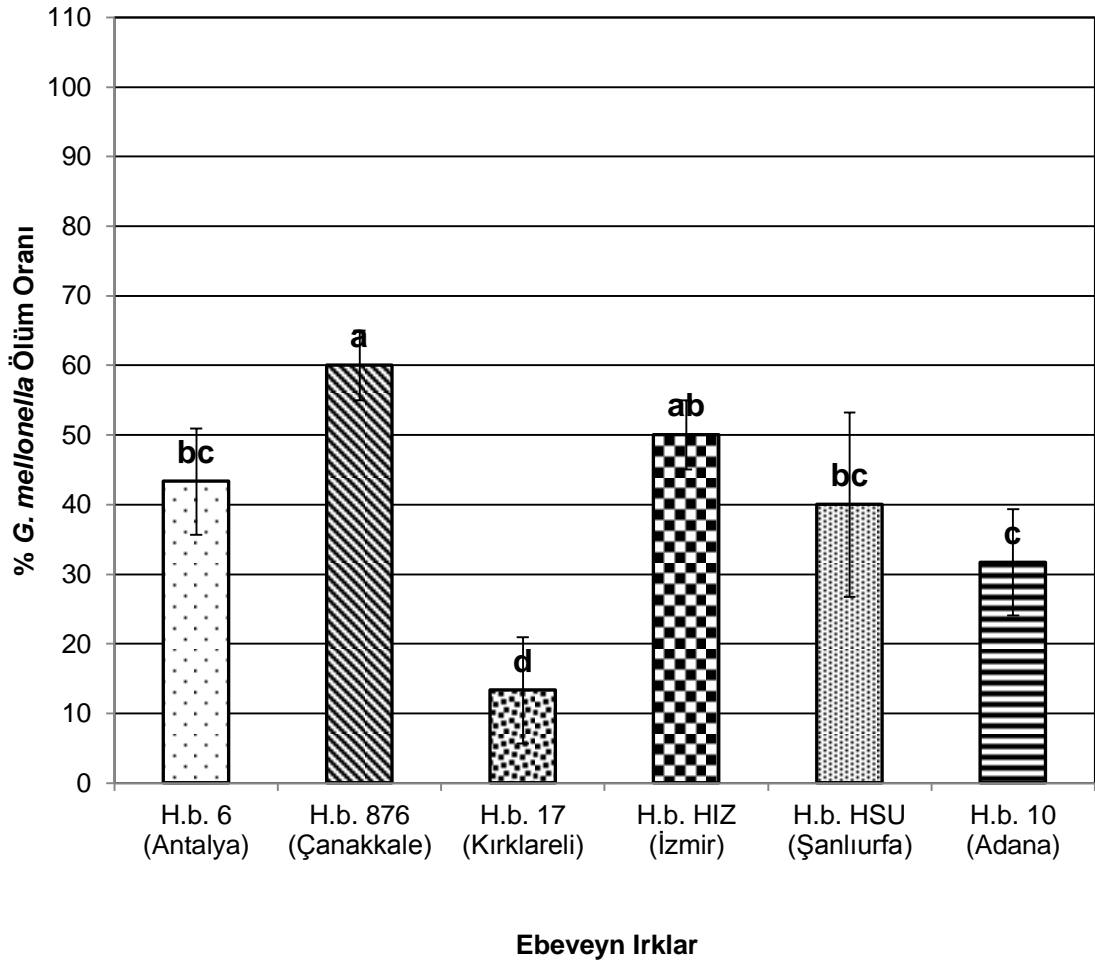
Yapılan denemelerde ırkların sahip olduğu etkinlik değerlerinin kullanılan uygulama dozuyla doğru orantılı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise ebeveyn ırkların *G. mellonella* larvaları üzerinde %13.33 ile 60.00 arasında değişen oranlarda etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Ebeveyn ırkların larva üzerindeki etkinlik değerleri

Irk	Etkinlik Değerleri (%)				
	5 IJ/Larva	10 IJ/Larva	20 IJ/Larva	50 IJ/Larva	75 IJ/Larva
H.b. 6	43.33	78.33	91.67	91.67	100.00
H.b. 876	60.00	83.33	100.00	100.00	100.00
H.b. 17	13.33	30.00	88.33	100.00	100.00
H.b. HIZ	50.00	85.00	83.33	100.00	100.00
H.b. HSU	40.00	83.33	91.67	91.67	100.00
H.b. 10	31.67	50.00	88.33	88.33	100.00

4.1.2.1. 5 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

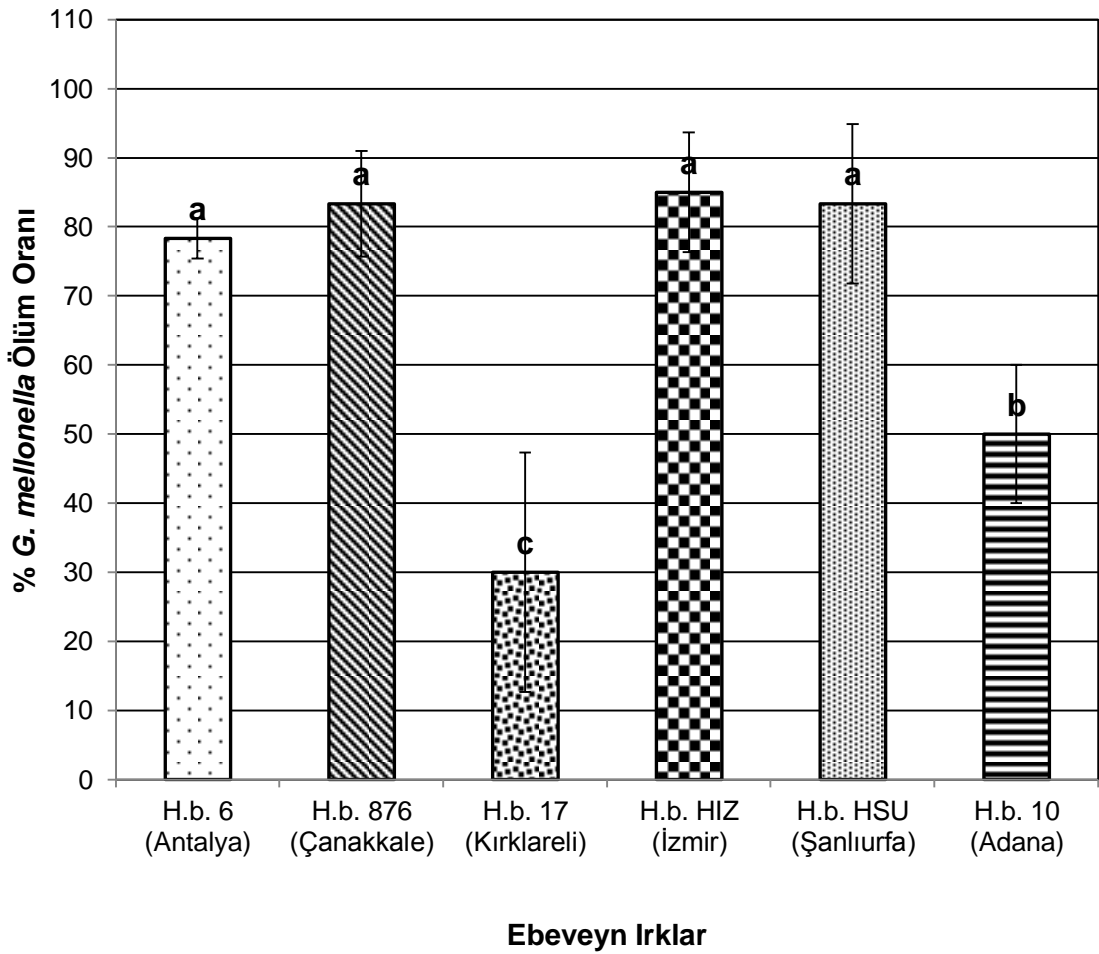
5 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip ırk H.b. 876 (Çanakkale) olarak bulunmuştur. Ayrıca H.b. HIZ (İzmir) ırkının, H.b. 876 (Çanakkale) ırkı ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinlik değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı uygulama dozunda ikinci en yüksek etkinliğe sahip ırk H.b. 6 (Antalya) olarak belirlenmiş, H.b. HSU (Şanlıurfa) ile H.b. 10 (Adana) ırklarının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derece etkinliğe sahip olduğu bulunmuştur. Son olarak, yine aynı uygulama dozunda en düşük etkinliğe sahip ırk ise H.b. 17 (Kırklareli) olarak tespit edilmiştir (Şekil4.1).



Şekil 4.1. Ebeveyn ırkların 5 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=11.6208; df=5, 12; P=0.0003)

4.1.2.2. 10 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

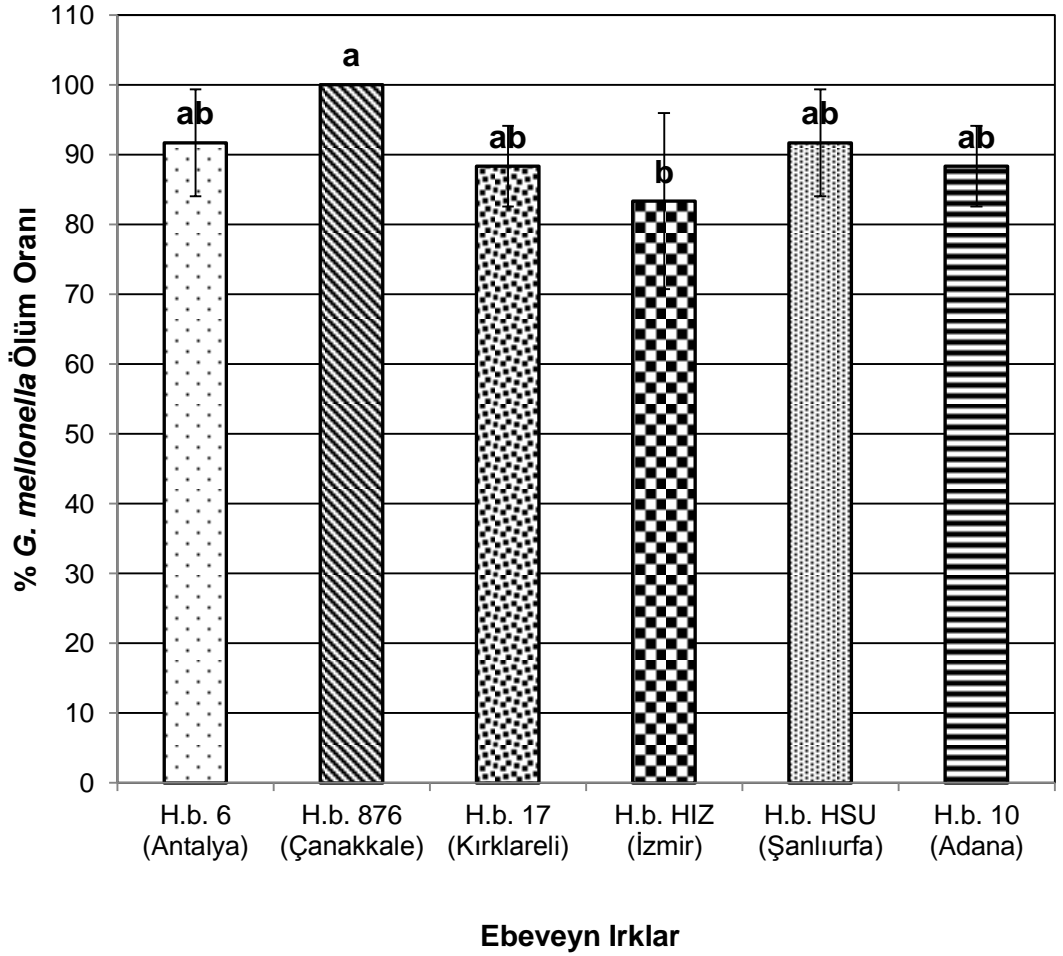
10 IJ/Larva uygulama dozunda da en yüksek etkinlik değerine sahip ırk H.b. HIZ (İzmir) olarak bulunmuştur. Ayrıca H.b. 876 (Çanakkale), HSU (Şanlıurfa) ve H.b. 6 (Antalya) ırklarının, H.b. HIZ (İzmir) ırkı ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı uygulama dozunda ikinci en yüksek etkinliğe sahip ırk H.b. 10 (Adana) olarak belirlenmiş, en düşük etkinliğe sahip ırk ise tekrar H.b. 17 (Kırklareli) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Ebeveyn ırkların 10 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik ($F=14.0444$; $df=5, 12$; $P=0.0001$)

4.1.2.3. 20 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

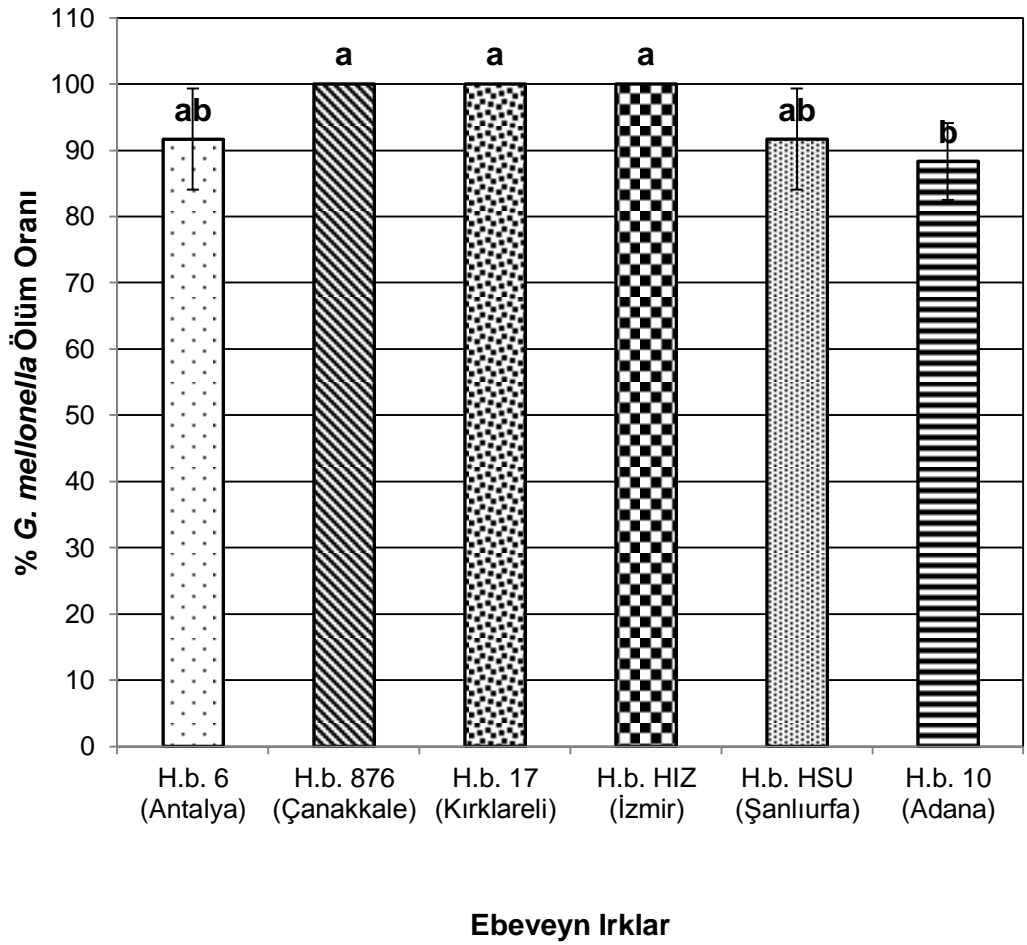
20 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip ırk H.b. 876 (Çanakkale) olarak bulunmuştur. Ayrıca HSU (Şanlıurfa), H.b. 6 (Antalya), H.b. 17 (Kırklareli) ve H.b. 10 (Adana) ırklarının, H.b. 876 (Çanakkale) ırkı ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı uygulama dozunda, en düşük etkinliğe sahip ırk ise H.b. HIZ (İzmir) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3)



Şekil 4.3. Ebeveyn ırkların 20 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=1.6195; df=5, 12; P=0.2285)

4.1.2.4. 50 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

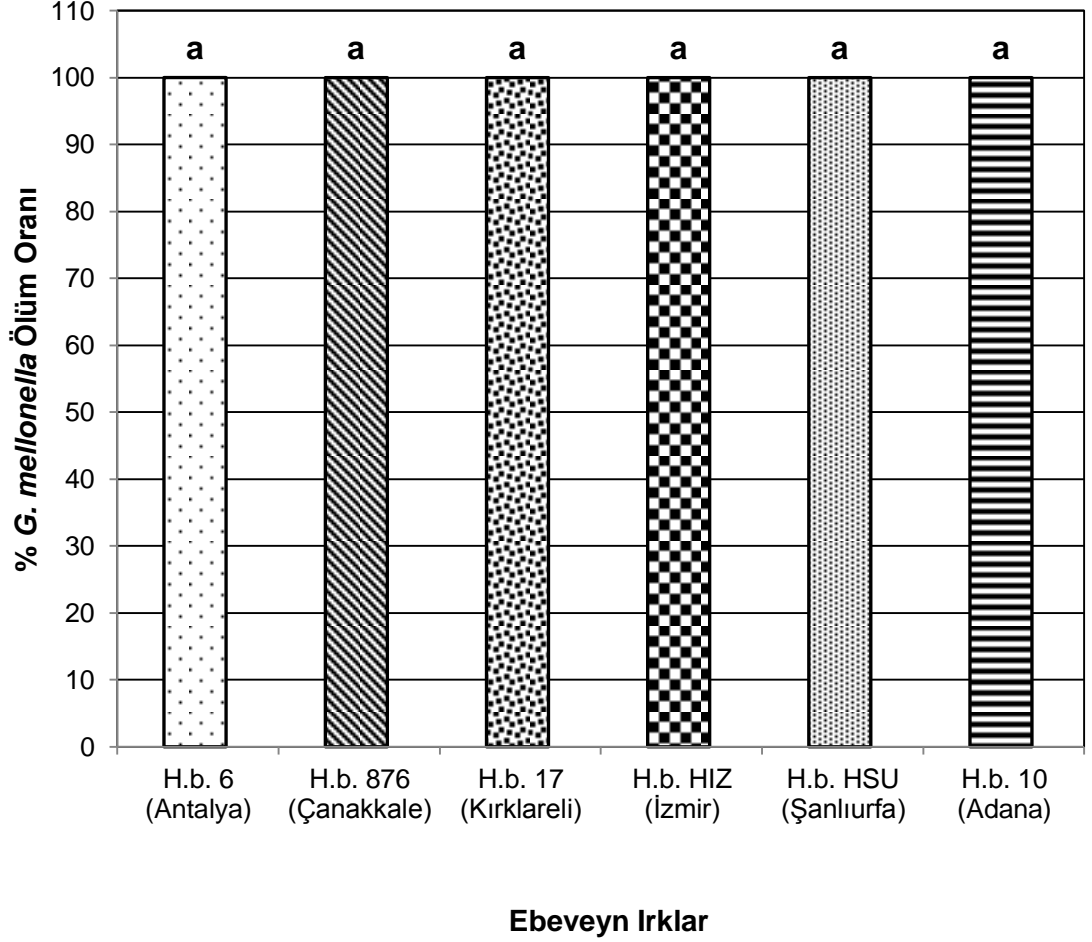
50 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip ırklar H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli) ve H.b. HIZ (İzmir) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca HSU (Şanlıurfa) ve H.b. 6 (Antalya) ırklarının, bu ırklar ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. 10 (Adana) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Ebeveyn ırkların 50 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=3.3889; df=5, 12; P=0.0386)

4.1.2.5. 75 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

75 IJ/Larva uygulama dozunda tüm ırkların istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 4.5).

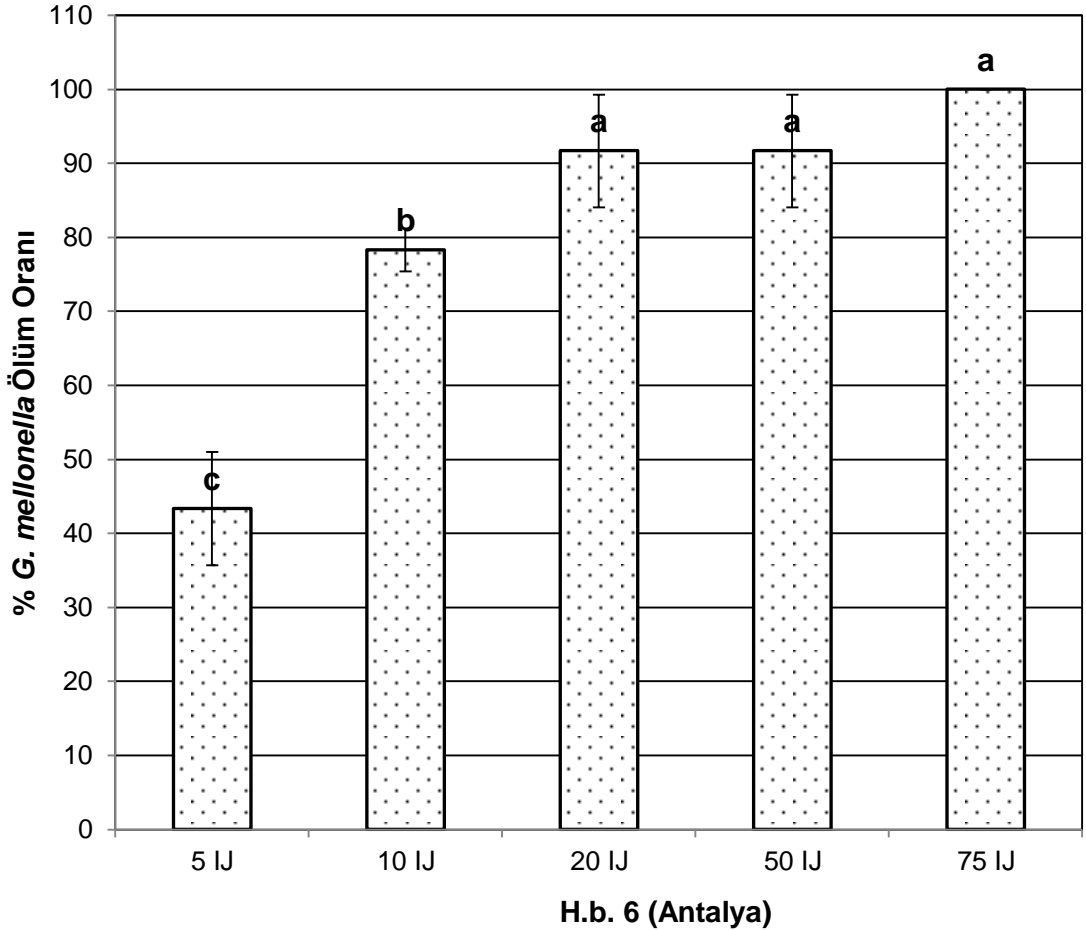


Şekil 4.5. Ebeveyn ırkların 75 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=0; df=5, 12; P=1)

4.1.3. Uygulama Dozlarının Irkların Etkinliği Üzerine Olan Etkileri

4.1.3.1. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. 6 (Antalya) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

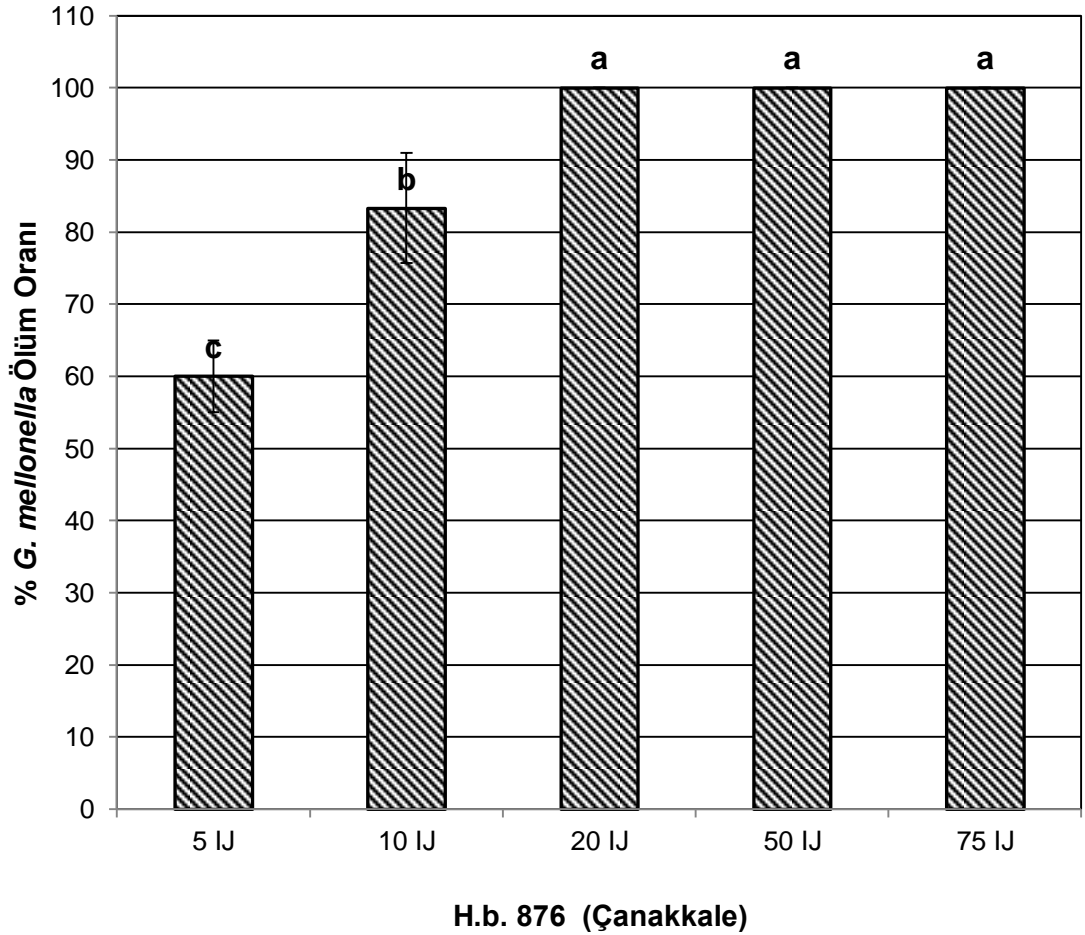
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b.6 (Antalya) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuştur. Ayrıca H.b. 6 (Antalya) ırkının etkinliği üzerine, 50 ve 20 IJ/Larva uygulama dozlarının, 75 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. 10 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 6 (Antalya) ırkının etkinlik değerinin ikinci en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. 6 (Antalya) ırkının etkinlik değerinin en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Uygulama dozlarının H.b. 6 (Antalya) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=60.2187; df=4, 10; P=0.0001)

4.1.3.2. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. 876 (Çanakkale) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

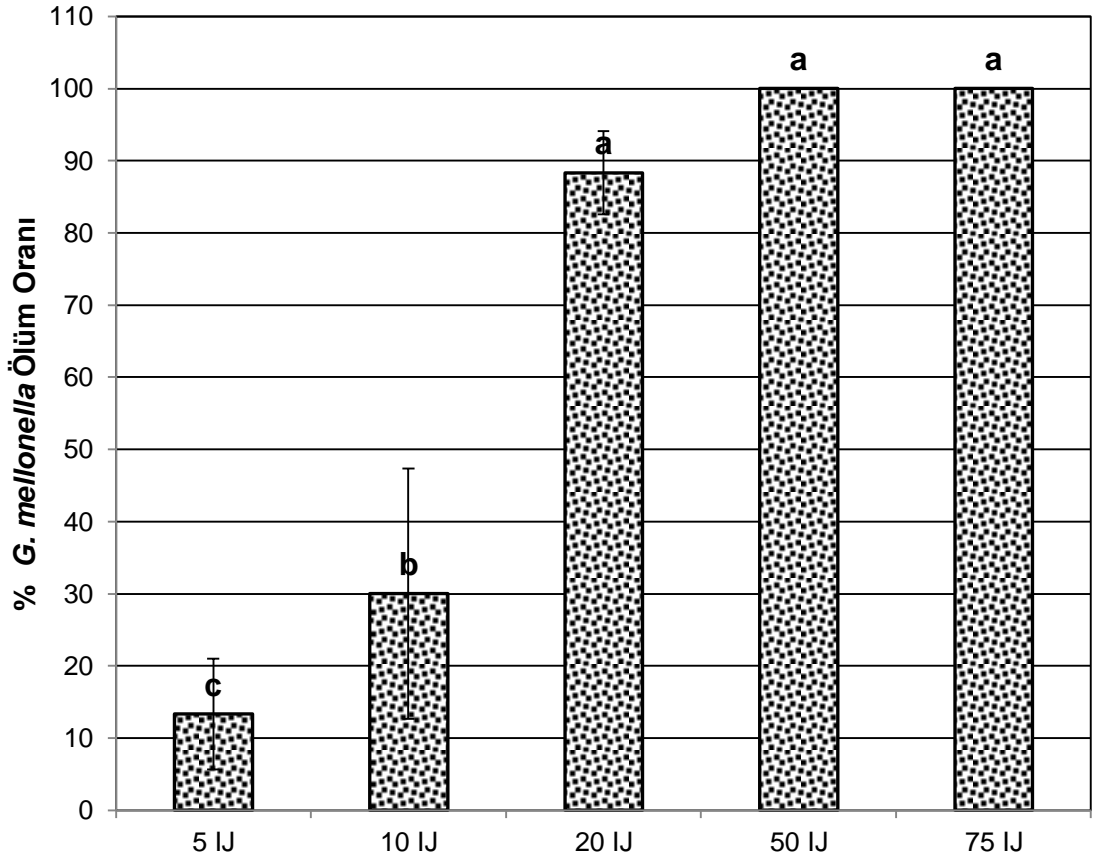
75, 50 ve 20 IJ/Larva uygulama dozlarında H.b. 876 (Çanakkale) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, bu üç uygulama dozunun H.b. 876 (Çanakkale) ırkı üzerinde istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca H.b. 876 (Çanakkale) ırkının etkinlik değerinin 10 IJ/Larva uygulama dozunda ikinci en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. 876 (Çanakkale) ırkının etkinlik değeri en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7).



H.b. 876 (Çanakkale)
Şekil 4.7. Uygulama dozlarının H.b. 876 (Çanakkale) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri (F=55.6000; df=4, 10; P=0.0001)

4.1.3.3. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozlarında H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, bu iki uygulama dozunun H.b. 17 (Kırklareli) ırkı üzerinde istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinliği üzerine 20 IJ/Larva uygulama dozunun, 75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozları ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. 10 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinlik değerinin ikinci en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinlik değeri en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8).

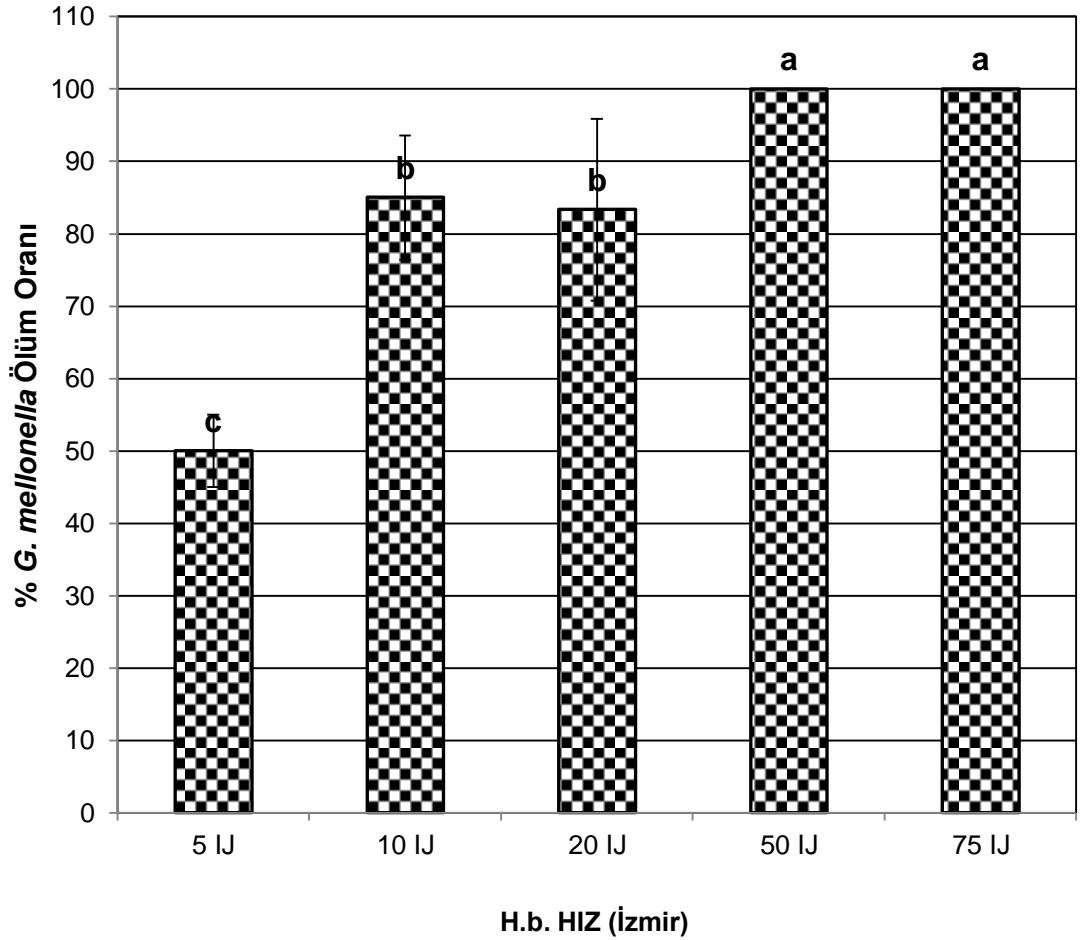


H.b. 17 (Kırklareli)

Şekil 4.8. Uygulama dozlarının H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=65.8723; df=4, 10; P=0.0001)

4.1.3.4. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. HIZ (İzmir) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

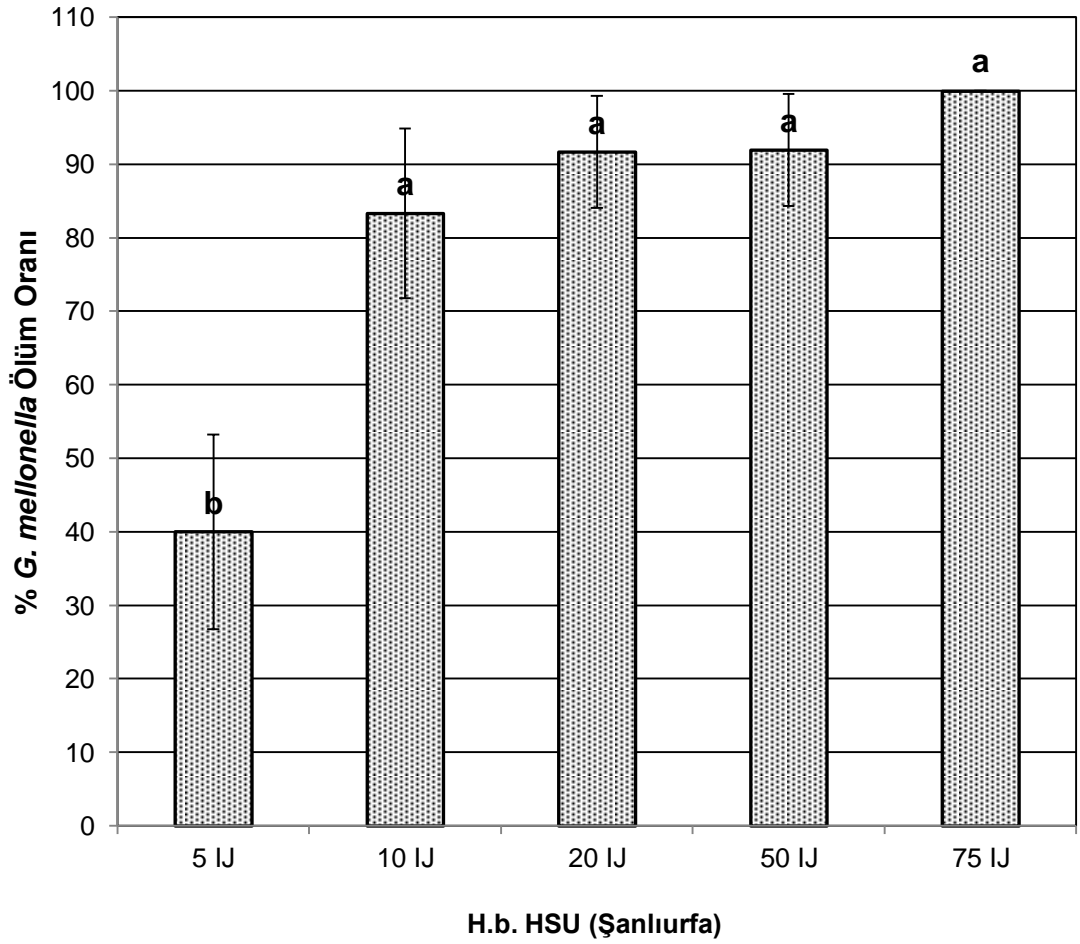
75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozlarında H.b. HIZ (İzmir) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, bu iki uygulama dozunun H.b. HIZ (İzmir) ırkı üzerinde istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca H.b. HIZ (İzmir) ırkının etkinlik değeri 10 ve 20 IJ/Larva uygulama dozlarında ikinci en yüksek seviyeye ulaşmış, bu iki uygulama dozunun da H.b. HIZ (İzmir) ırkı üzerinde istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. HIZ (İzmir) ırkının etkinlik değerinin en düşük seviyede olduğu görülmüştür (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Uygulama dozlarının H.b. HIZ (İzmir) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=24.2258; df=4, 10; P=0.0001)

4.1.3.5. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. HSU (Şanlıurfa) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

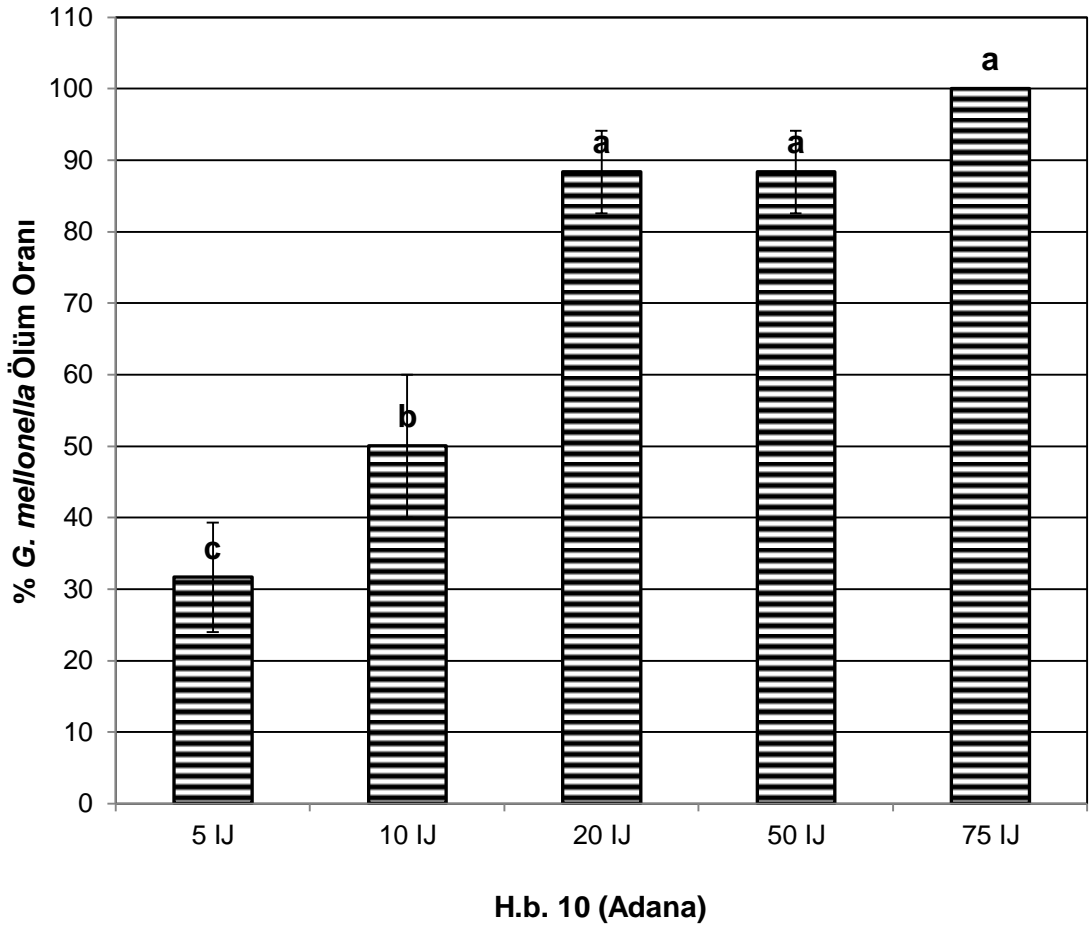
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. HSU (Şanlıurfa) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuştur. Ayrıca H.b. HSU (Şanlıurfa) ırkının etkinliği üzerine, 50, 20 ve 10 IJ/Larva uygulama dozlarının, 75 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. HSU (Şanlıurfa) ırkının etkinlik değerinin en düşük seviyede olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Uygulama dozlarının H.b. HSU (Şanlıurfa) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri (F=20.0686; df=4, 10; P=0.0001)

4.1.3.6. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. 10 (Adana) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 10 (Adana) ırkının etkinlik değerleri en yüksek seviyede olmuştur. Ayrıca H.b. 10 (Adana) ırkının etkinlik değeri üzerine 50 ve 20 IJ/Larva uygulama dozlarının, 75 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. 10 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 10 (Adana) ırkının etkinlik değerinin ikinci en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. 10 (Adana) ırkının etkinlik değeri en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Uygulama dozlarının H.b. 10 (Adana) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=57.1296; df=4, 10; P=0.0001)

4.2. Hibrit Irkların Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

Heterorhabditis bacteriohpora'nın ebeveyn olarak kullanılan H.b. 876 (Çanakkale), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. HIZ (İzmir), H.b. HSU (Şanlıurfa), H.b. 10 (Adana) ırklarının ebeveyn ırk H.b. 6 (Antalya) ile hibritlenmesi sonucu oluşan ırkların (Çizelge 4.3) etkinlikleri *G. mellonella*'nın son dönem larvaları üzerinde 5, 10, 20, 50, 75 ve 100IJ/Larva uygulama dozlarının kullanılarak belirlenmesi amaçlanmış ancak tüm ırkların 75 IJ/Larva uygulama dozunda larvalar üzerinde %100 etkinlik göstermesi sebebiyle 100 IJ/Larva uygulama dozu işleme alınmamıştır. Bu nedenle tüm hibrit ırkların larvalar üzerindeki etkinlikleri 5, 10, 20, 50 ve 75 IJ/Larva uygulama dozlarında belirlenmiştir. Ayrıca her bir ırk tüm uygulama dozlarında kendi içerisinde karşılaştırılmıştır. Elde edilen etkinlik değerleri ve uygulama dozlarının ırkların etkinliği üzerine olan etkileri aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 4.3. Ebeveyn ve hibrit ırklar

Ebeveyn Irklar	Hibrit Irklar
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 876 (Çanakkale) ♂	H.b. A
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 876 (Çanakkale) ♀	H.b. B
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 17 (Kırklareli) ♂	H.b. C
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 17 (Kırklareli) ♀	H.b. D
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. HIZ (İzmir) ♂	H.b. E
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. HIZ (İzmir) ♀	H.b. F
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. HSU (Şanlıurfa) ♂	H.b. G
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. HSU (Şanlıurfa) ♀	H.b. H
H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 10 (Adana) ♂	H.b. K
H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 10 (Adana) ♀	H.b. L

4.2.1. Hibrit Irkların LD₅₀ ve LD₉₀ Değerleri

Yapılan denemeler sonucunda *G. mellonella*' nin son dönem larvaları üzerinde en yüksek seviyede etkinlik değerine sahip olan hibrit *H. bacteriophora* ırkı H.b. A (H.b. 1138 ♀ x H.b. Yeni Tür ♂) (LD₅₀: 0.00960, LD₉₀: 20.6637) olarak tespit edilmiş, en düşük etkinlik değerine sahip olan hibrit ırk ise H.b. B (H.b. 1138 ♂ x H.b. Yeni Tür ♀) (LD₅₀: 11.2499, LD₉₀: 39.0115) olarak bulunmuştur. Diğer hibrit ırkların LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri ise Çizelge 4.4' de belirtilmiştir.

Çizelge 4.4. Hibrit ırkların LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri

Hibrit Irklar	LD ₅₀	LD ₉₀
H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂)	0.00960	20.6637
H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀)	11.2499	39.0115
H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂)	0.54550	26.1796
H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀)	0.47680	33.4722
H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂)	0.07880	20.7189
H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀)	0.23870	21.9252
H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂)	0.15470	29.0246
H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀)	0.40400	29.3109
H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂)	0.38020	24.9347
H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀)	7.32090	41.6751

4.2.2. Belirlenen Uygulama Dozlarında Elde Edilen Etkinlik Verileri

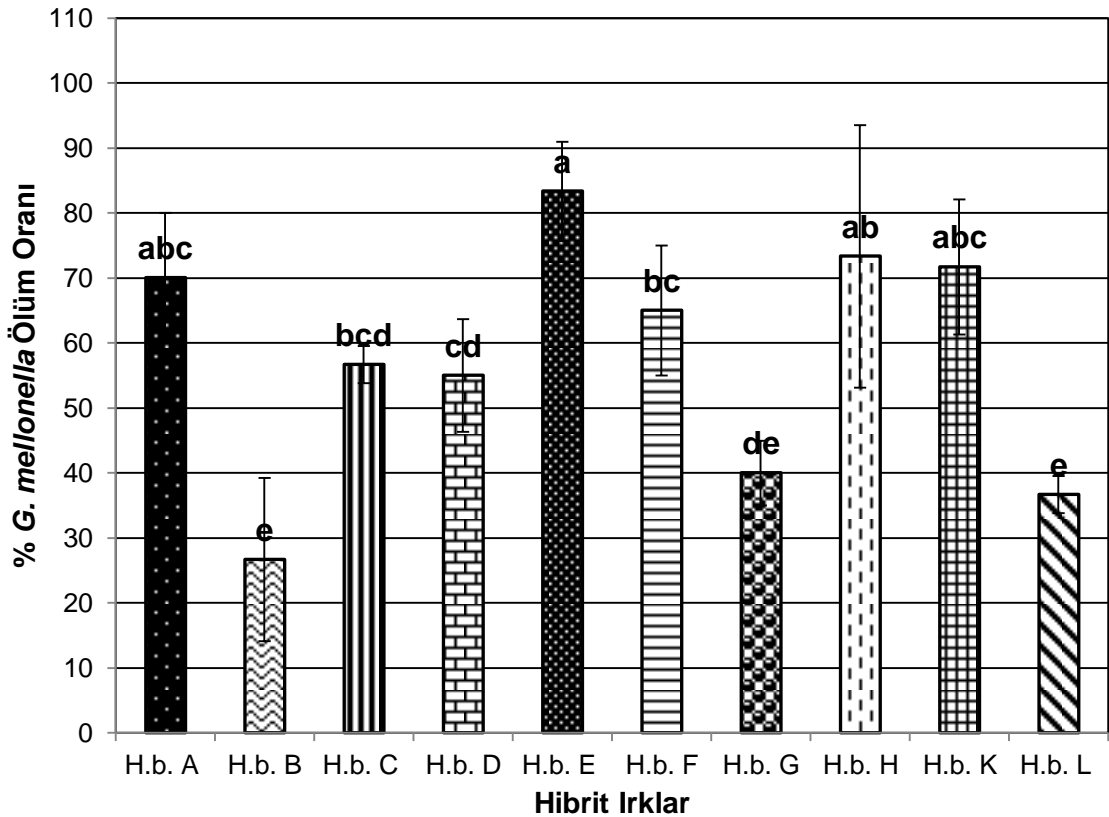
Yapılan denemelerde ırkların sahip olduğu etkinlik değerlerinin kullanılan uygulama dozuyla doğru orantılı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise hibrit ırkların *G. mellonella* larvaları üzerinde %26.67 ile 83.33 arasında değişen oranlarda etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Hibrit ırkların larva üzerindeki etkinlik değerleri

Irk	Ekinlik Değerleri (%)				
	5 IJ/Larva	10 IJ/Larva	20 IJ/Larva	50 IJ/Larva	75 IJ/Larva
H.b. A	70.00	98.33	98.33	100.00	100.00
H.b. B	26.67	60.00	65.00	98.33	100.00
H.b. C	56.67	73.33	90.00	98.33	100.00
H.b. D	55.00	68.33	88.33	95.00	100.00
H.b. E	83.33	90.00	96.67	100.00	100.00
H.b. F	65.00	81.67	91.67	100.00	100.00
H.b. G	40.00	88.33	91.67	100.00	100.00
H.b. H	73.33	85.00	86.67	96.67	100.00
H.b. K	71.67	80.00	93.33	98.33	100.00
H.b. L	36.67	61.67	73.33	91.67	100.00

4.2.2.1. 5 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

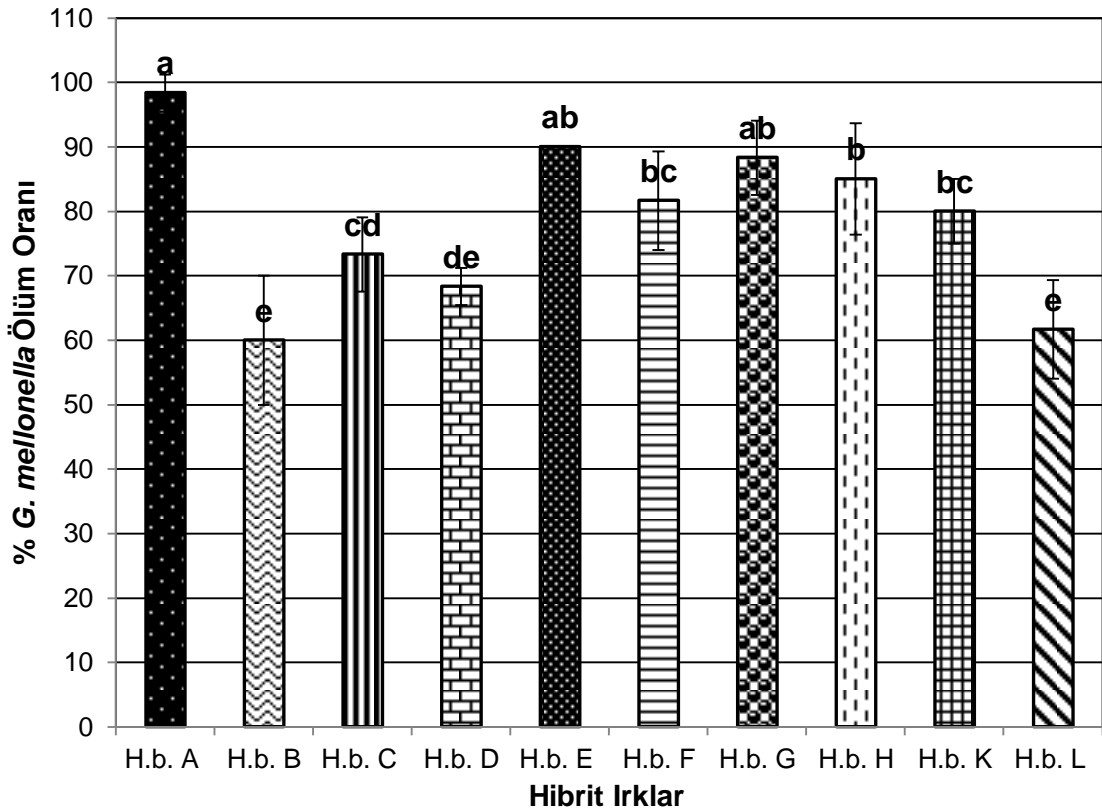
5 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip hibrit ırk H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) olarak bulunmuştur. Ayrıca H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀), H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ve H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) hibrit ırklarının, H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) hibrit ırkı ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek etkinlik değerine sahip olan ikinci ırk H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) olarak belirlenmiş, H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) hibrit ırkının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Üçüncü en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) olarak bulunmuştur. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan hibrit ırk H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) olarak belirlenmiş, H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ve H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) hibrit ırklarının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Hibrit ırkların 5 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=9.6129; df=9, 20; P=0.0001)

4.2.2.2. 10 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

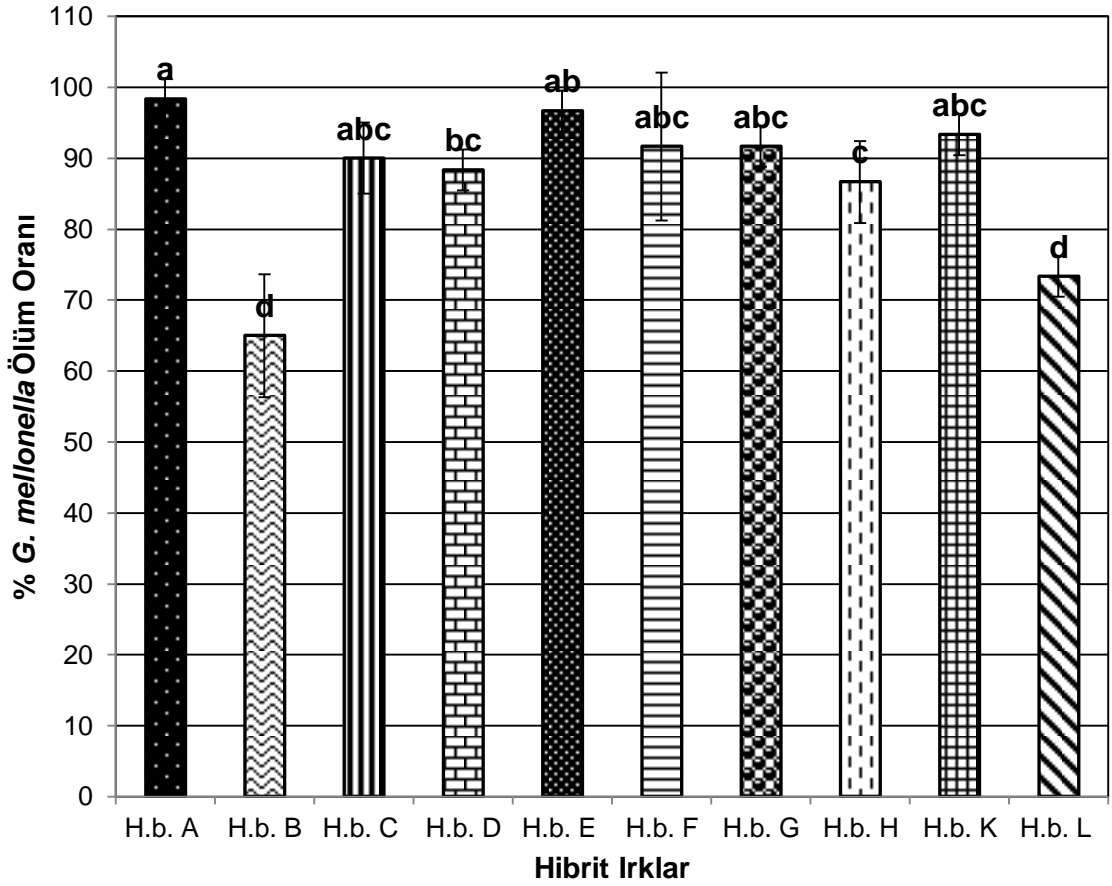
10 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip hibrit ırk A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) olarak bulunmuştur. Ayrıca H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ve H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) hibrit ırklarının, A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) hibrit ırkı ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek etkinlik değerine sahip olan ikinci ırk H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) olarak belirlenmiş, H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ve H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) hibrit ırklarının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Üçüncü en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) olarak bulunmuştur. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan hibrit ırk ise H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) olarak belirlenmiştir, H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ve H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) hibrit ırklarının, bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Hibrit ırkların 10 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=11.9352; df=9, 20; P=0.0001)

4.2.2.3. 20 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

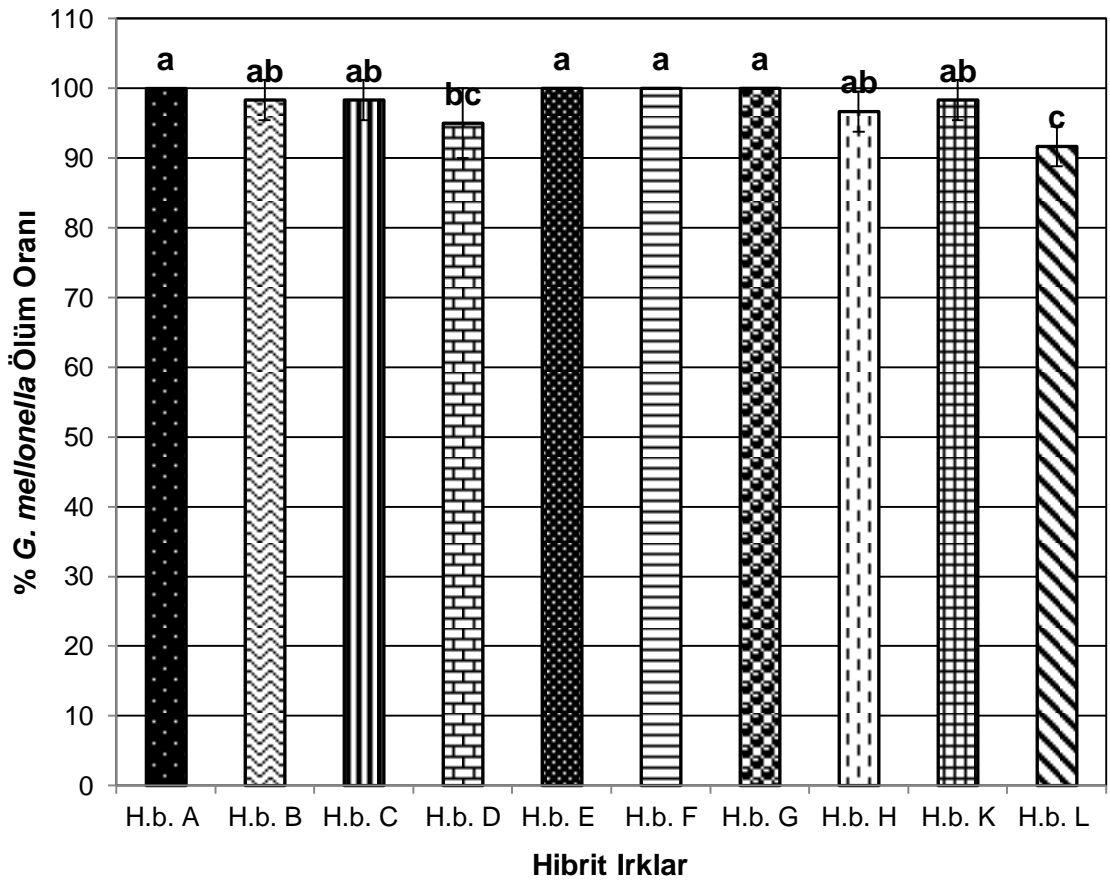
20 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip hibrit ırk A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) olarak bulunmuştur. Ayrıca H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂), H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂), H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂), H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ve H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) hibrit ırklarının, A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) hibrit ırkı ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan hibrit ırk ise H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) olarak belirlenmiş, H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) hibrit ırkının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Hibrit ırkların 20 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik ($F=11.2540$; $df=9, 20$; $P=0.0001$)

4.2.2.4. 50 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

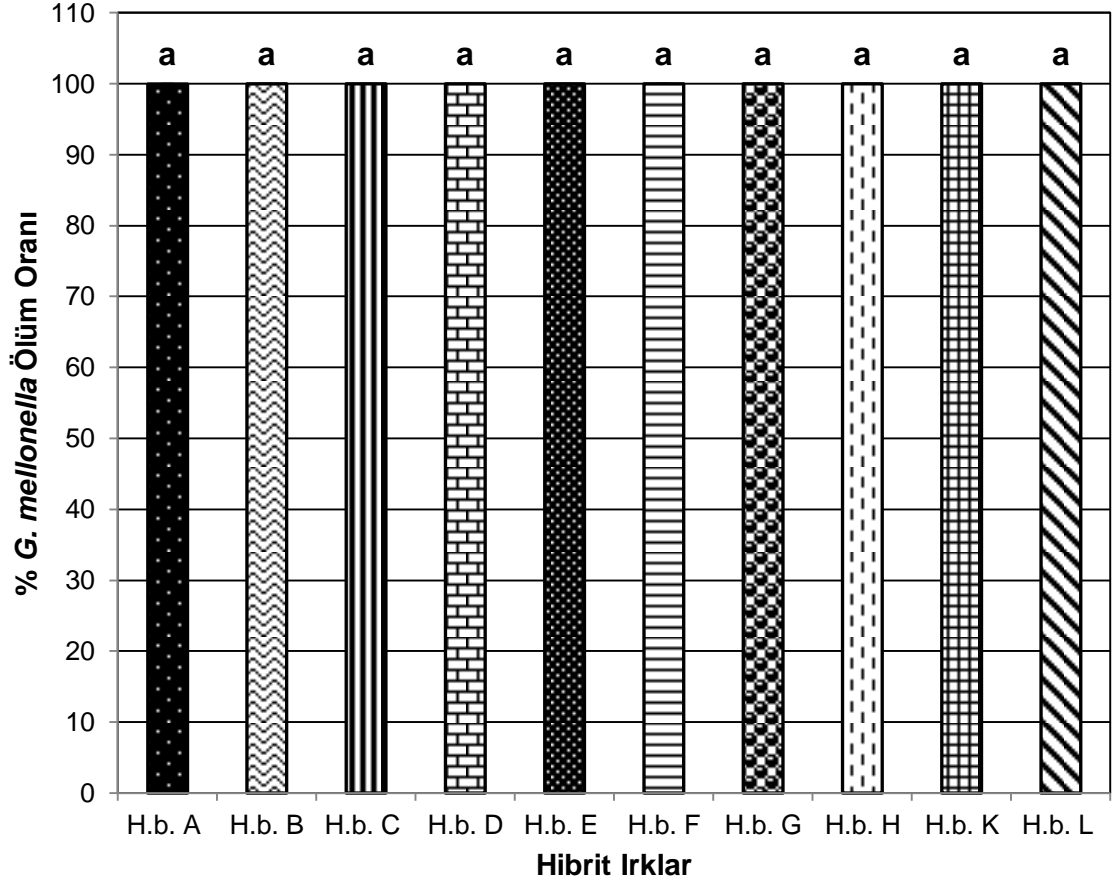
50 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip hibrit ırklar H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂), H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂), H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ve H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) olarak bulunmuştur. Ayrıca H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀), H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂), H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ve H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) hibrit ırklarının, H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂), H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂), H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ve H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) hibrit ırkları ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan hibrit ırk ise H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) olarak belirlenmiş, H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) hibrit ırkının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Hibrit ırkların 50 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=3.3472; df=9, 20; P=0.0117)

4.2.2.5. 75 IJ/Larva uygulama dozunda elde edilen etkinlik verileri

75 IJ/Larva uygulama dozunda tüm hibrit ırkların istatistiksel olarak aynı derecede etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 4.16).

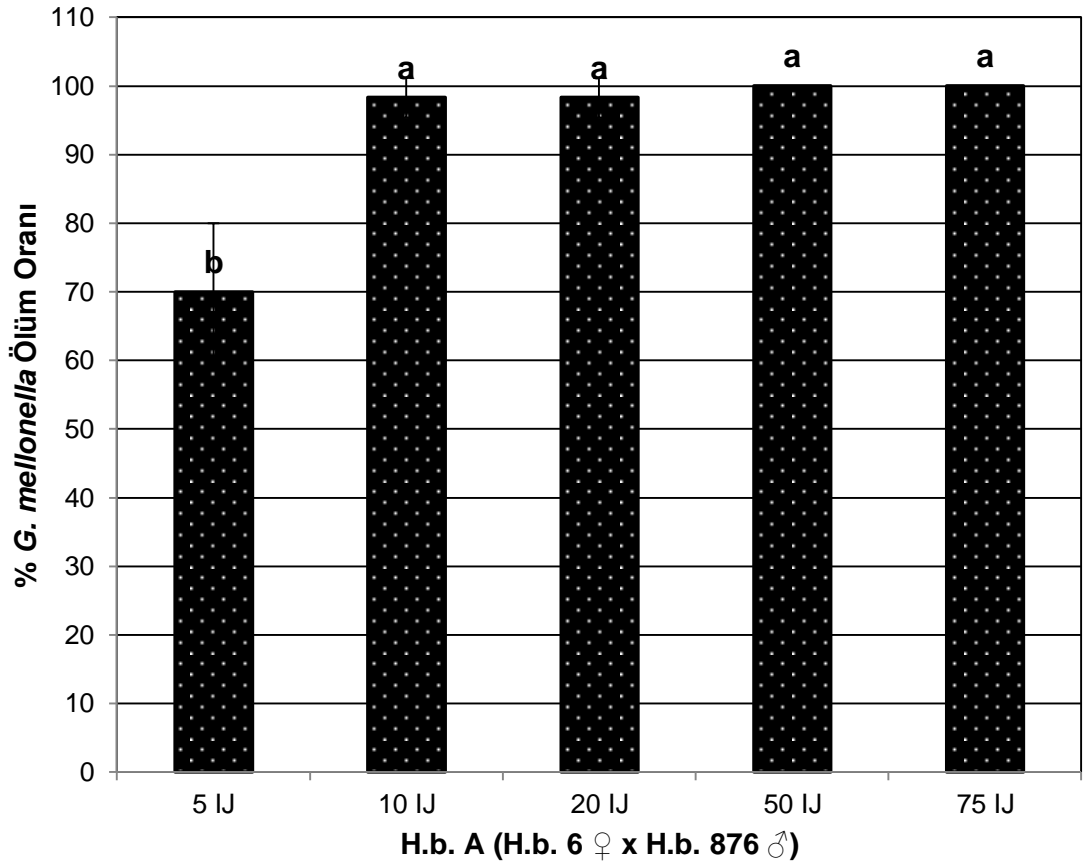


Şekil 4.16. Hibrit ırkların 75 IJ/Larva uygulama dozunda gösterdiği etkinlik (F=0; df=9, 20; P=1)

4.2.3. Uygulama Dozlarının Irkların Etkinliği Üzerine Olan Etkileri

4.2.3.1. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

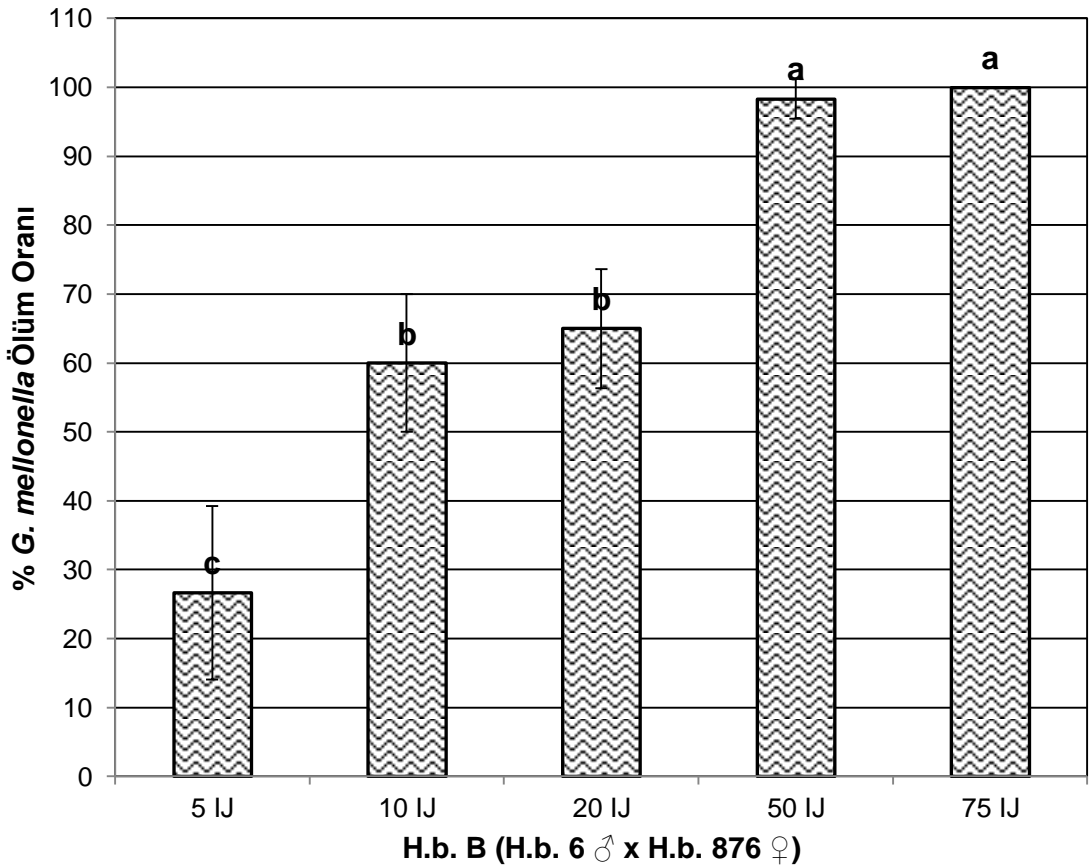
75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozlarında H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, bu iki uygulama dozunun H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırkı üzerinde istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırkının etkinliği üzerine, 20 ve 10 IJ/Larva uygulama dozlarının, 75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozları ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırkının etkinlik değerinin en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (şekil 4.17).



şekil 4.17. Uygulama dozlarının H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=21.9643; df=4, 10; P=0.0001)

4.2.3.2. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

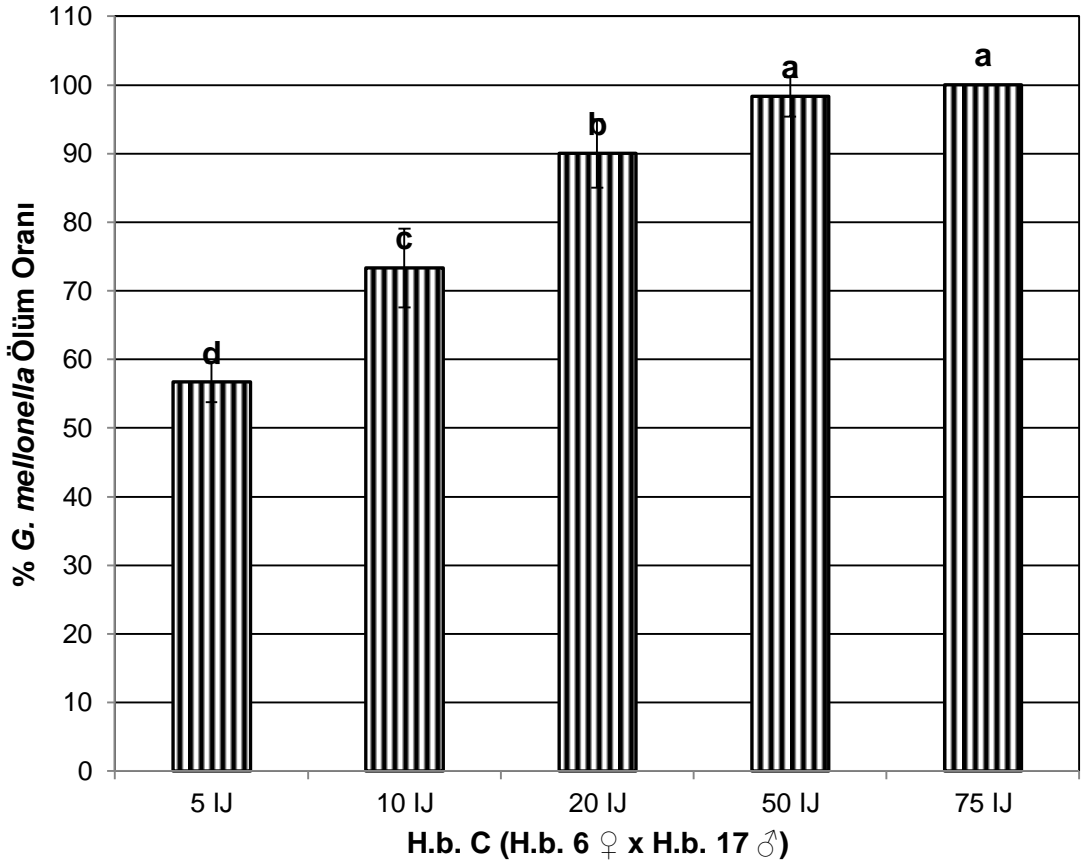
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuştur. Ayrıca H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinliği üzerine, 50 IJ/Larva uygulama dozunun, 75 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. 20 ve 10 IJ/Larva uygulama dozlarında ise H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinlik değerinin ikinci olarak en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüş, bu iki uygulama dozunun H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinliği üzerinde istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği saptanmıştır. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinlik değerinin en düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Uygulama dozlarının H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=40.6700; df=4, 10; P=0.0001)

4.2.3.3. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

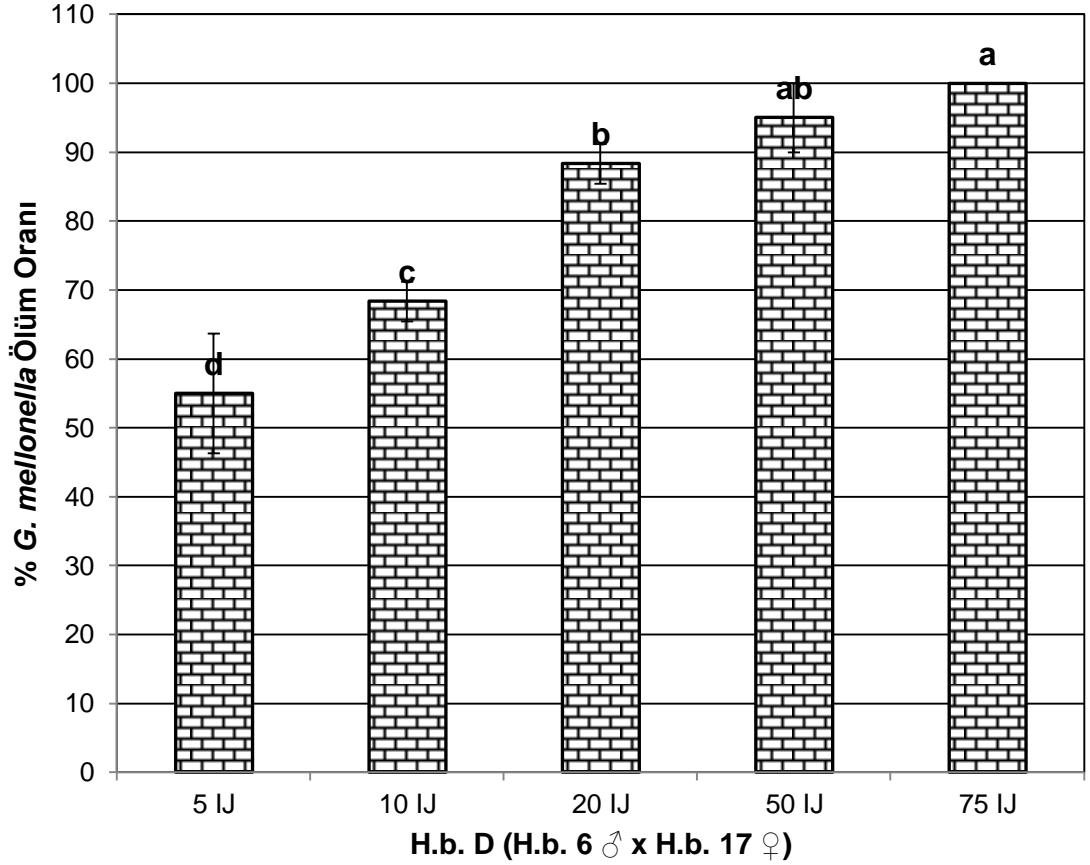
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuştur. Ayrıca H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının etkinliği üzerine, 50 IJ/Larva uygulama dozunun, 75 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının etkinlik değerinin 20 IJ/Larva uygulama dozunda ikinci, 10 IJ/Larva uygulama dozunda ise üçüncü en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının etkinlik değerinin 5 IJ/Larva uygulama dozunda en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Uygulama dozlarının H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=67.8900; df=4, 10; P=0.0001)

4.2.3.4. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

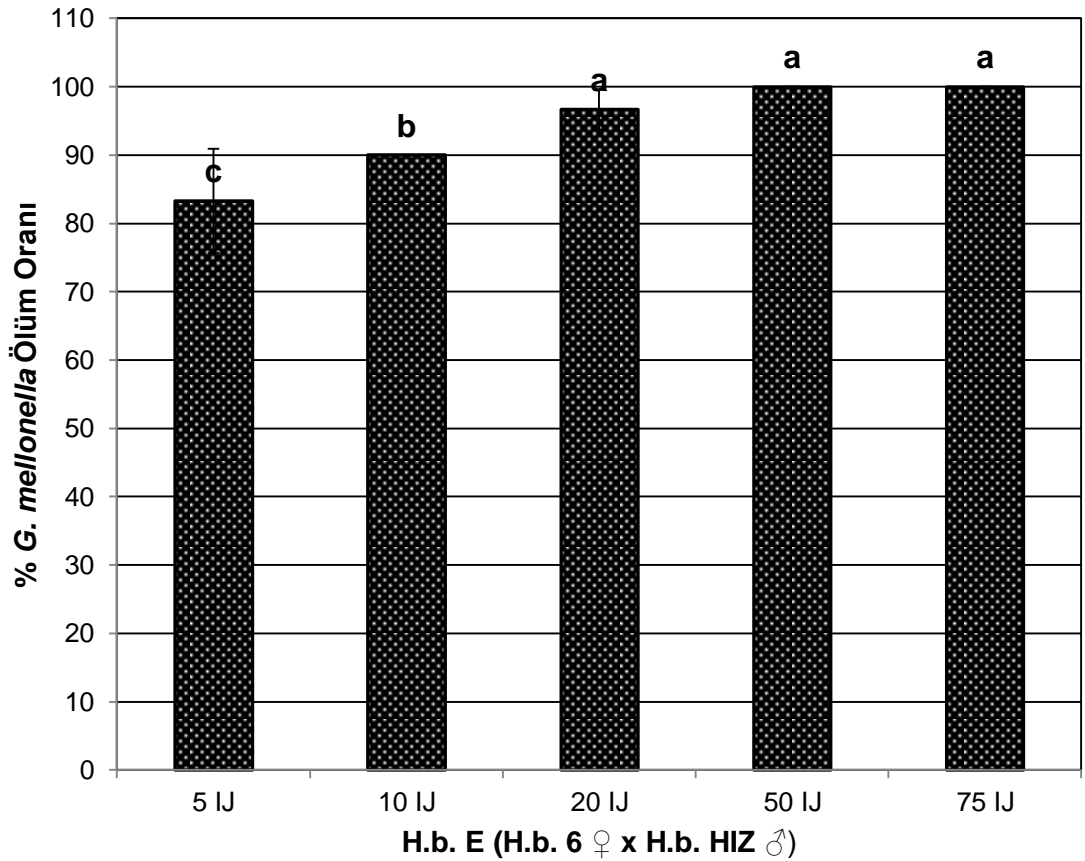
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuştur. Ayrıca H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının etkinliği üzerine, 50 IJ/Larva uygulama dozunun, 75 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının etkinlik değerinin 20 IJ/Larva uygulama dozunda ikinci, 10 IJ/Larva uygulama dozunda ise üçüncü en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının etkinlik değerinin 5 IJ/Larva uygulama dozunda en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Uygulama dozlarının H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=46.5000; df=4, 10; P=0.0001)

4.2.3.5. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

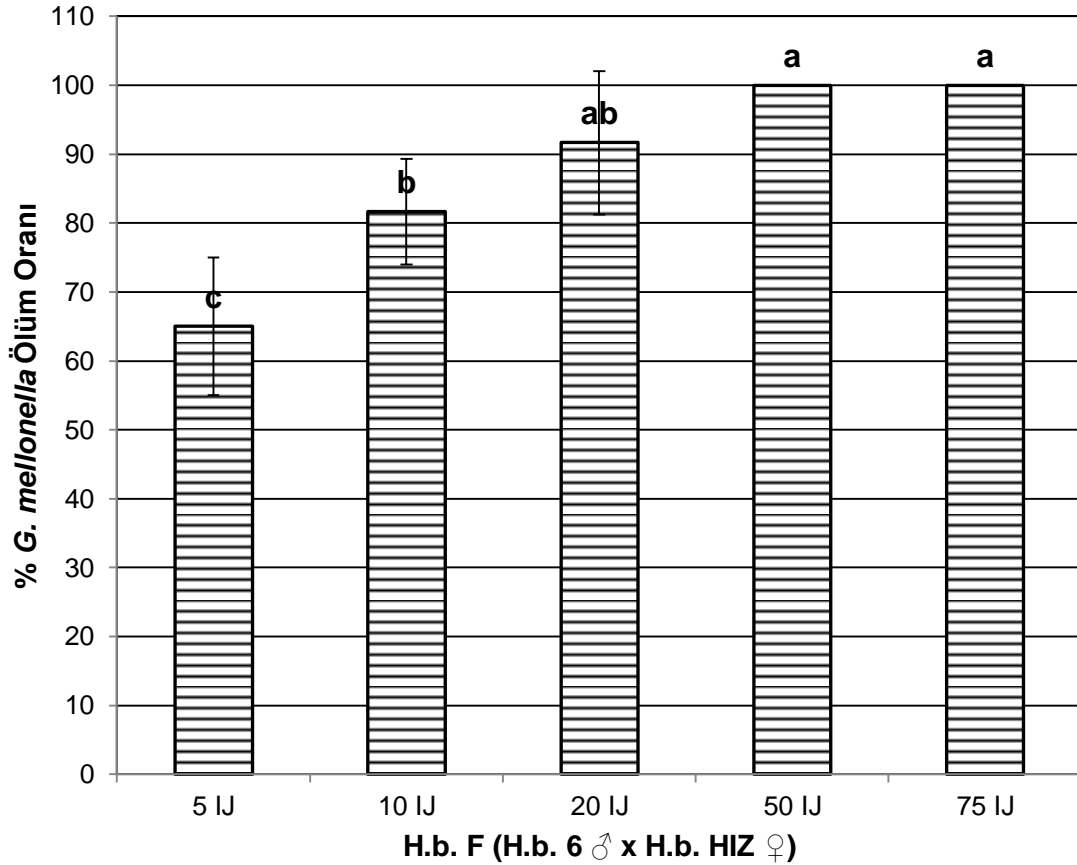
75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozlarında H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, bu iki uygulama dozunun H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkı üzerinde istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkının etkinliği üzerine 20 IJ/Larva uygulama dozunun, 75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozları ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. 10 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkının etkinlik değerinin ikinci en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkının etkinlik değerinin en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Uygulama dozlarının H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=11.7500; df=4, 10; P=0.0009)

4.2.3.6. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

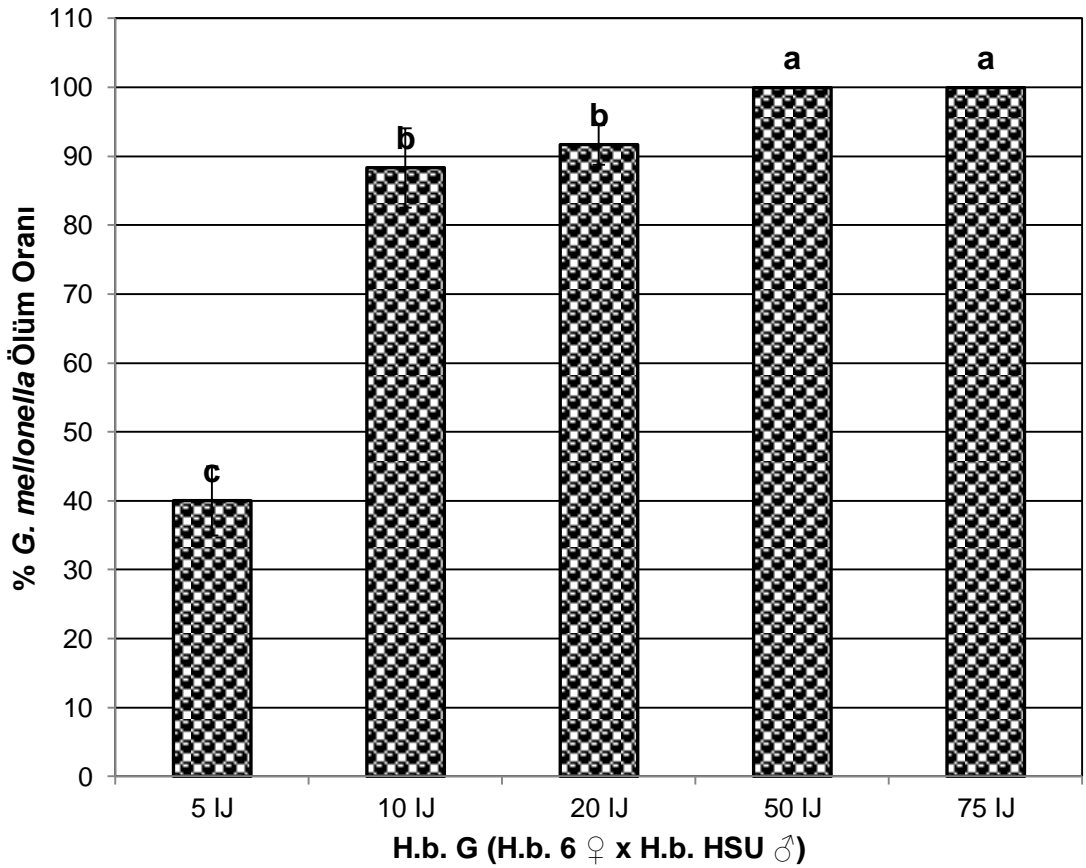
75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozlarında H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, bu iki uygulama dozunun H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkı üzerinde istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkının etkinliği üzerine, 20 IJ/Larva uygulama dozunun, 75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozları ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği saptanmıştır. H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkının etkinlik değerinin 10 IJ/Larva uygulama dozunda ikinci en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüş, 5 IJ/Larva uygulama dozunda en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Uygulama dozlarının H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=12.2344; df=4, 10; P=0.0007)

4.2.3.7. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

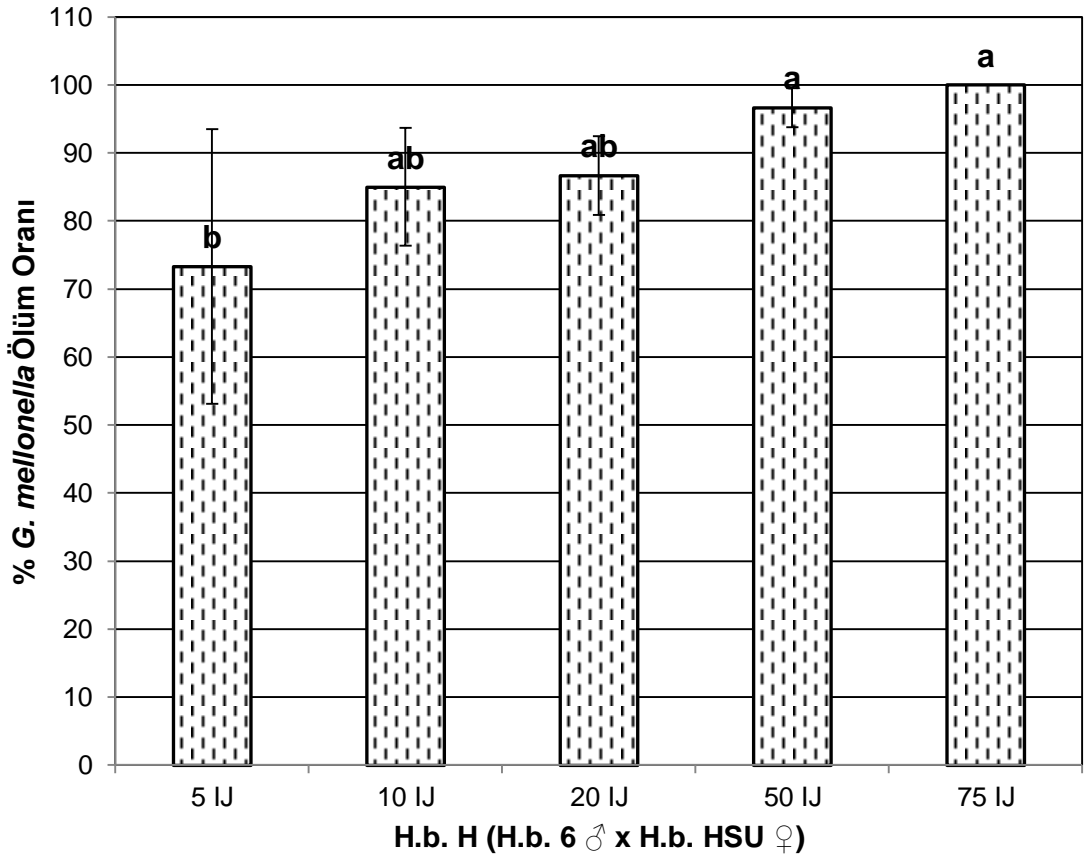
75 ve 50 IJ/Larva uygulama dozlarında H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, bu iki uygulama dozunun H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkı üzerinde istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca 20 ve 10 IJ/Larva uygulama dozlarında H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinlik değerinin ikinci olarak en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüş, bu iki uygulama dozunun H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinliği üzerinde istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği belirlenmiştir. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinlik değerinin en düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.23).



şekil 4.23. Uygulama dozlarının H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=142.0625; df=4, 10; P=0.0001)

4.2.3.8. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

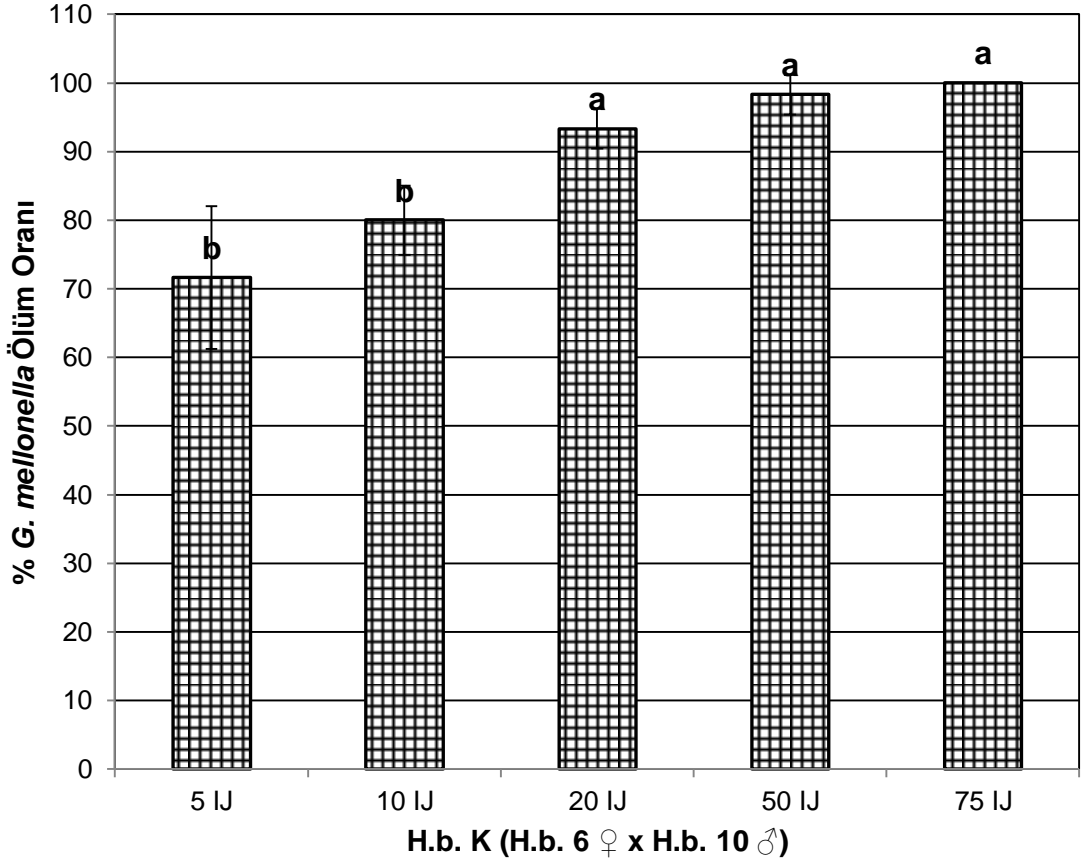
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, 50 IJ/Larva uygulama dozunun H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırkının etkinlik değeri üzerinde, 75 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derece etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırkının etkinlik değerinin 5 IJ/Larva uygulama dozunda en düşük seviyede olduğu görülmüştür. (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Uygulama dozlarının H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=3.1746; df=4, 10; P=0.0603)

4.2.3.9. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

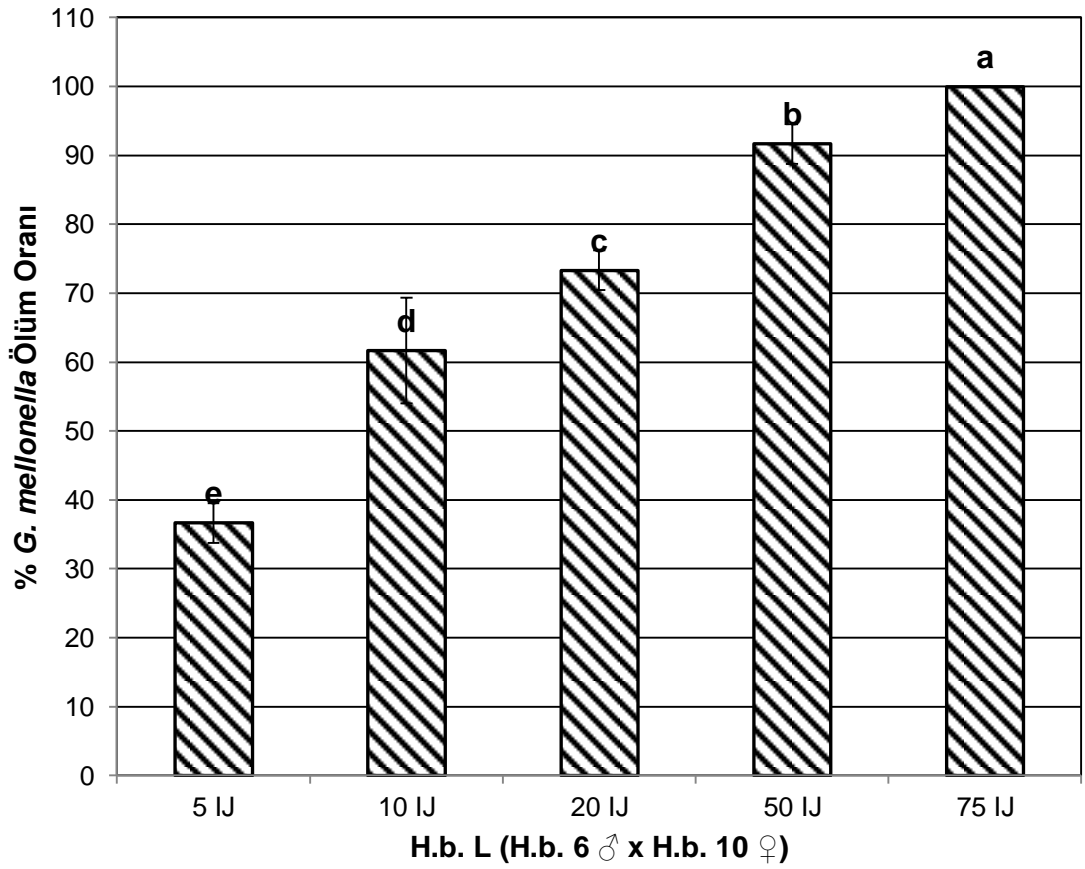
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, 20 ve 50 IJ/Larva uygulama dozlarının H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkının etkinlik değeri üzerinde, 75 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derece etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. 5 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkının etkinlik değerinin en düşük seviyede olduğu görülmüş, 10 IJ/Larva uygulamanın H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkının etkinlik değeri üzerinde, 5 IJ/Larva uygulama dozu ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.25)



Şekil 4.25. Uygulama dozlarının H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=15.1944; df=4, 10; P=0.0003)

4.2.3.10. Belirlenen uygulama dozlarının H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkileri

75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırkının etkinlik değeri en yu'ksek seviyede ulaşmıştır. H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırkının etkinlik değerinin 50, 20 ve 10 IJ/Larva uygulama dozlarında sırasıyla 2., 3. ve 4. en yu'ksek etkinlik seviyesine ulaştığı belirlenmiş, 5 IJ/Larva uygulama dozundaki etkinlik değerinin ise en d'uşuk seviyede olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.26).



şekil 4.26. Uygulama dozlarının H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırkının etkinliği üzerine olan etkisi (F=113.6500; df=4, 10; P=0.0001)

4.3. Ebeveyn ve Hibrit Irkların Etkinliklerinin Karşılaştırması

Heterorhabditis bacteriohpora'nın ebeveyn olarak kullanılan ırkları (Çizelge 4.6) ile bunların hibritlenmesi ile oluşan ırkların (Çizelge 4.7) 5, 10, 20, 50 ve 75 IJ/Larva uygulama dozlarındaki etkinlik verileri aynı grafik üzerinde karşılaştırılmıştır. Elde edilen değerler aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 4.6. Ebeveyn Irklar

İsim	İzole Edildiği İl
H.b. 6	Antalya
H.b. 876	Çanakkale
H.b. 17	Kırklareli
H.b. HIZ	İzmir
H.b. HSU	Şanlıurfa
H.b. 10	Adana

Çizelge 4.7. Hibrit Irklar

Hibrit Irklar	Ebeveynler
H.b. A	H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 876 (Çanakkale) ♂
H.b. B	H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 876 (Çanakkale) ♀
H.b. C	H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 17 (Kırklareli) ♂
H.b. D	H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 17 (Kırklareli) ♀
H.b. E	H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. HIZ (İzmir) ♂
H.b. F	H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. HIZ (İzmir) ♀
H.b. G	H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. HSU (Şanlıurfa) ♂
H.b. H	H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. HSU (Şanlıurfa) ♀
H.b. K	H.b. 6 (Antalya) ♀ X H.b. 10 (Adana) ♂
H.b. L	H.b. 6 (Antalya) ♂ X H.b. 10 (Adana) ♀

**4.3.1. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. 876 (Çanakkale) Ebeveyn Irkları ile
H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ve H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀)**

Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması

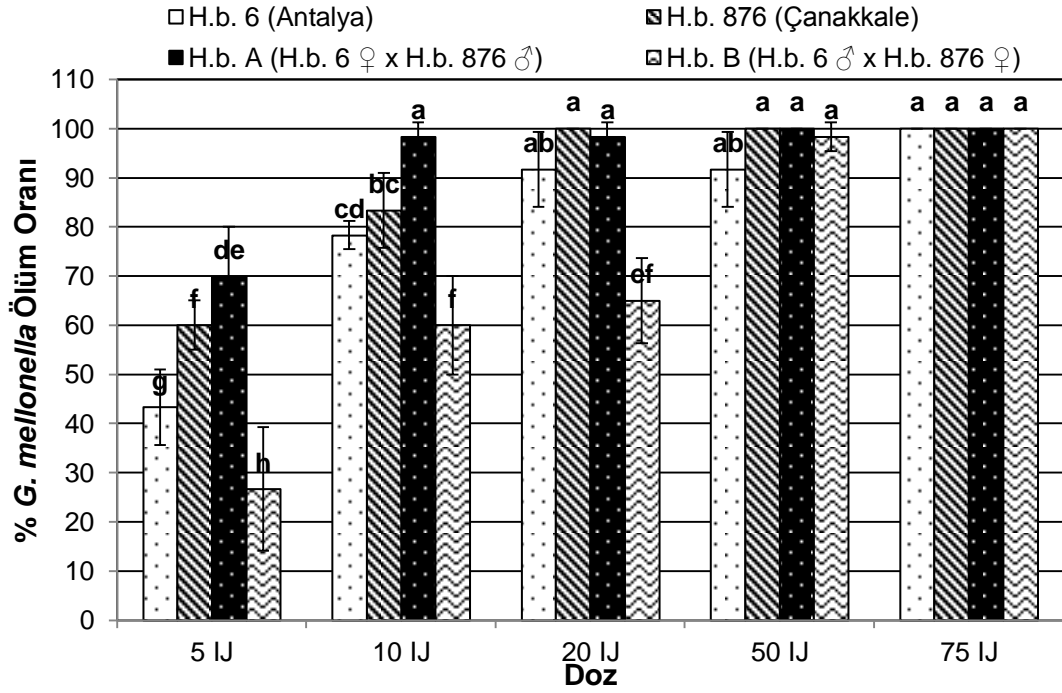
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 6 (Antalya), H.b. 876 (Çanakkale), H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ve H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırklarının etkinlik seviyesi en yüksek düzeye ulaşmış, bu uygulama dozunda tüm ırkların istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği tespit edilmiştir.

50 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. 876 (Çanakkale) ve H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ırklarının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, ayrıca H.b. 6 (Antalya) ve H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırklarının, bu ırklar ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği görülmüştür.

20 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk H.b. 876 (Çanakkale) olarak belirlenmiş, ayrıca H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) ve H.b. 6 (Antalya) ırklarının, bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği bulunmuştur. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinliğe sahip ırk ise H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) olarak tespit edilmiştir.

10 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip ırk H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) olarak tespit edilmiştir. Aynı uygulama dozunda ikinci en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk H.b. 876 (Çanakkale) olarak belirlenmiş, H.b. 6 (Antalya) ırkının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği görülmüştür. H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) ırkı ise bu uygulama dozunda en düşük etkinliğe sahip olan ırk olarak tespit edilmiştir.

5 IJ/Larva uygulama dozunda ise en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk H.b. A (H.b. 6 ♀ x H.b. 876 ♂) olarak tespit edilmiş, bu ırkı H.b. 876 (Çanakkale) ve H.b. 6 (Antalya) ırkları izlemiştir. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik gösteren ırk ise H.b. B (H.b. 6 ♂ x H.b. 876 ♀) olarak bulunmuştur (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=40.0599; df=19, 40; P=0.0001)

4.3.2. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. 17 (Kırklareli) Ebeveyn Irkları ile H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ve H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması

75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 6 (Antalya), H.b. 17 (Kırklareli), H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ve H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırklarının etkinlik seviyesi en yüksek düzeye ulaşmış, bu uygulama dozunda tüm ırkların istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği tespit edilmiştir.

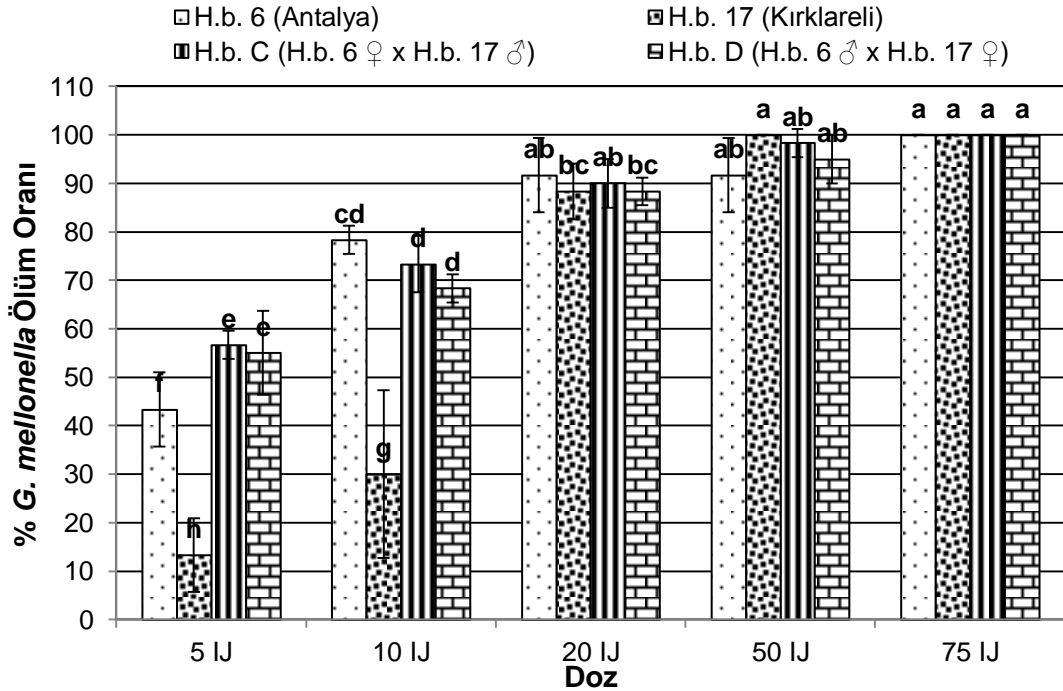
50 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. 17 (Kırklareli) ırkının etkinlik değeri en yüksek seviyede olmuş, ayrıca H.b. 6 (Antalya), H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ve H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırklarının, bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği belirlenmiştir.

20 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk H.b. 6 (Antalya) olarak belirlenmiş, H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ırkının, bu ırk ile

istatistiksel olarak aynı derecede etkili olduğu görülmüştür. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinliğe sahip olan ırklar ise H.b. 17 (Kırklareli) ve H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) olarak belirlenmiş, bu uygulama dozunda her iki ırkın istatistiksel olarak aynı etkiyi gösterdiği belirlenmiştir.

10 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip ırk H.b. 6 (Antalya) olarak belirlenmiş, ayrıca H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) ve H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırklarının, bu ırklar ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip ırk ise H.b. 17 (Kırklareli) olarak bulunmuştur.

5 IJ/Larva uygulama dozunda ise en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk H.b. C (H.b. 6 ♀ x H.b. 17 ♂) olarak bulunmuş, ayrıca H.b. D (H.b. 6 ♂ x H.b. 17 ♀) ırkının, bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derece etkili olduğu belirlenmiştir. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik gösteren ırk ise H.b. 17 (Kırklareli) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.28)



Şekil 4.28. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=52.0658; df=19, 40; P=0.0001)

4.3.3. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. HIZ (İzmir) Ebeveyn Irkları ile H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ve H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması

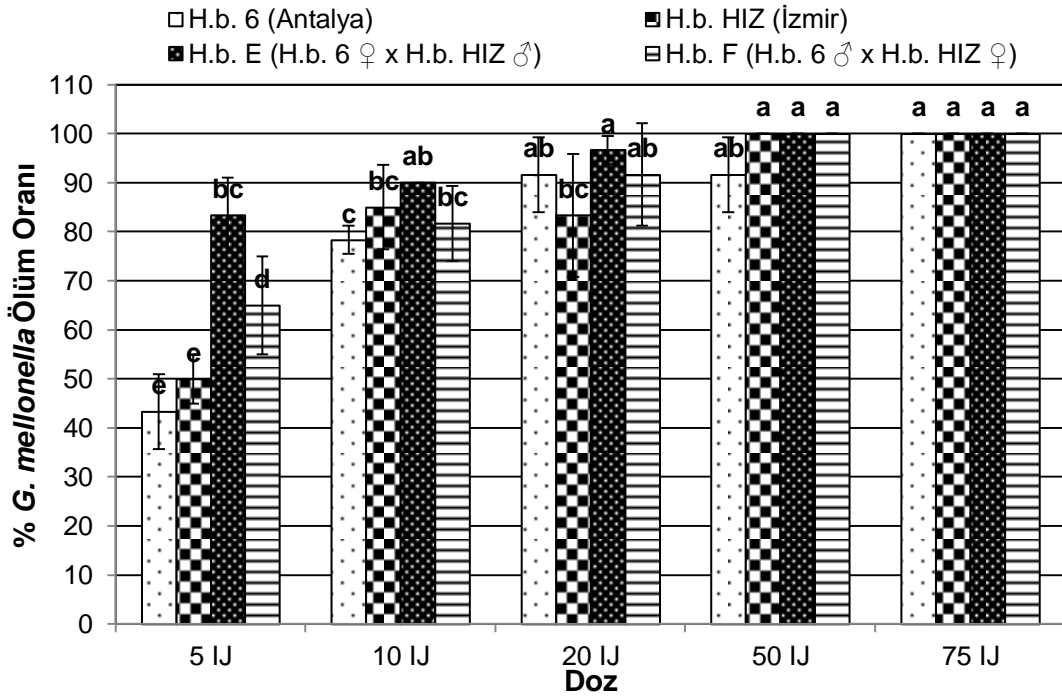
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 6 (Antalya), H.b. HIZ (İzmir), H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ve H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırklarının etkinlik seviyesi en yüksek düzeye ulaşmış, bu uygulama dozunda tüm ırkların istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği tespit edilmiştir.

50 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. HIZ (İzmir), H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) ve H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırklarının etkinlik seviyesi en yüksek seviyede olmuş ayrıca, H.b. 6 (Antalya) ırkının bu ırklar istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği belirlenmiştir.

20 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) olarak tespit edilmiş, ayrıca H.b. 6 (Antalya) ve H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırklarının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği bulunmuştur. Aynı uygulama dozunda en düşük seviyede etkinlik gösteren ırk ise H.b. HIZ (İzmir) olarak belirlenmiştir.

10 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip ırk H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) olarak belirlenmiştir. Aynı uygulama dozunda ikinci en yüksek etkinlik gösteren ırk H.b. HIZ (İzmir) olarak tespit edilmiş, H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) ırkının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etkinlik gösterdiği belirlenmiş, en düşük seviyede etkinlik gösteren ırk ise H.b. 6 (Antalya) olarak bulunmuştur.

5 IJ/Larva uygulama dozunda ise en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) olarak tespit edilmiş, ikinci en yüksek etkinliğe sahip olan ırk ise H.b. F (H.b. 6 ♂ x H.b. HIZ ♀) olarak bulunmuştur. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. 6 (Antalya) olarak belirlenmiş, H.b. HIZ (İzmir) ırkının, bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=21.3577; df=19, 40; P=0.0001)

4.3.4. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. HSU (Şanlıurfa) Ebeveyn Irkları ile H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ve H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması

75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 6 (Antalya), H.b. HSU (Şanlıurfa), H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ve H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırklarının etkinlik seviyesi en yüksek düzeye ulaşmış, bu uygulama dozunda tüm ırkların istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği tespit edilmiştir.

50 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) ırkının etkinlik seviyesi en yüksek düzeyde olmuş, H.b. 6 (Antalya), H.b. HSU (Şanlıurfa) ve H.b. H (H.b. 6 ♂ x H.b. HSU ♀) ırkları, bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği bulunmuştur.

20 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırklar H.b. 6 (Antalya), H.b. HSU (Şanlıurfa) ve H.b. G (H.b. 6 ♀ x H.b. HSU ♂) olarak tespit

**4.3.5. H.b. 6 (Antalya) ve H.b. 10 (Adana) Ebeveyn Irkları ile
H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ve H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀)**

Hibrit Irklarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması

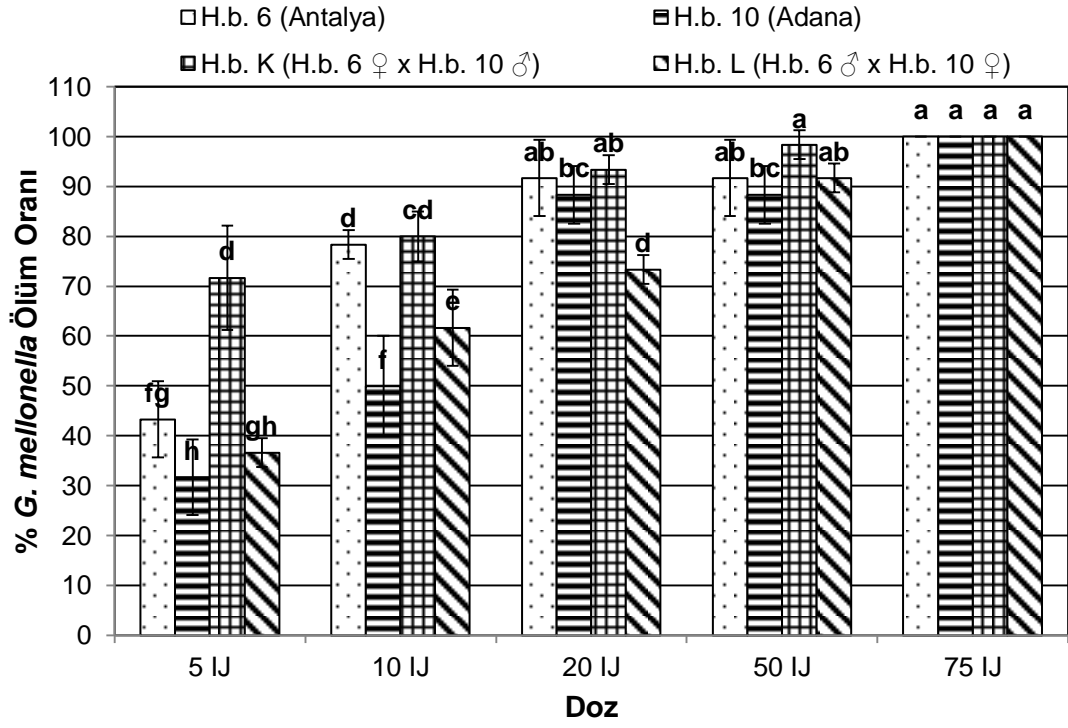
75 IJ/Larva uygulama dozunda H.b. 6 (Antalya), H.b. 10 (Adana), H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ve H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırklarının etkinlik seviyesi en yüksek düzeye ulaşmış, bu uygulama dozunda tüm ırkların istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği tespit edilmiştir.

50 IJ/Larva uygulama dozunda ise H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) ırkı en yüksek seviyede etkinlik gösterdiği belirlenmiş, H.b. 6 (Antalya) ve H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırklarının, bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği bulunmuştur. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. 10 (Adana) olarak saptanmıştır.

20 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) olarak tespit edilmiş, H.b. 6 (Antalya) ve H.b. 10 (Adana) ırklarının, bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği görülmüştür. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik gösteren ırk ise H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) olarak belirlenmiştir.

10 IJ/Larva uygulama dozunda en yüksek etkinlik değerine sahip ırk H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) olarak bulunmuş, H.b. 6 (Antalya) ırkının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derece etki gösterdiği belirlenmiş, ikinci en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) olarak bulunmuştur. Aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. 10 (Adana) olarak tespit edilmiştir.

5 IJ/Larva uygulama dozunda ise en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk H.b. K (H.b. 6 ♀ x H.b. 10 ♂) olarak bulunmuş, ikinci en yüksek etkinlik değerine sahip olan ırk ise H.b. 6 (Antalya) olarak tespit edilmiş, H.b. L (H.b. 6 ♂ x H.b. 10 ♀) ırkının bu ırk ile istatistiksel olarak aynı derecede etki gösterdiği saptanmış, en düşük etkinlik gösteren ırk ise H.b. 10 (Adana) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. Belirlenen uygulama dozlarında ebeveyn ve hibrit ırkların etkinliklerinin karşılaştırılması (F=46.8872; df=19, 40; P=0.0001)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma EPN'lerin hibritlenmesi yoluyla ebeveynlerine göre daha üstün ırkların elde edilmesi açısından ülkemizde yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Ülkemizde daha önceden EPN'ler ile ilgili olarak survey çalışmaları, ekolojilerinin belirlenmesi, tür teşhisi ve bu nematodların çeşitli zararlılar üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar yapılmıştır (Özer ve ark. 1995, Kepenekçi ve ark. 1999, Kepenekçi ve Susurluk 2000, Kepenekçi ve Öztürk 2001, Kepenekçi ve ark. 2002, Hazır 2002, Hazır ve ark. 2003, Susurluk ve Toprak 2006, Gözel ve ark. 2007, Unlu ve ark. 2007, Susurluk 2008b, Susurluk ve ark. 2009, Susurluk 2009, Armağan ve ark. 2010, Güneş ve Gözel 2011).

Hibritleme yoluyla olumsuz çevre koşullarına daha dayanıklı yeni ırkların elde edilmesi fikri ilk olarak Gaugler (1986) tarafından ortaya konmuştur. Dünya üzerinde *H. bacteriophora*, *H. megidis* Poinar, Jackson ve Klein, 1987 (Rhabditida: Heterorhabditidae) ve *H. indica* Poinar, Karunakar ve David, 1992 (Rhabditida: Heterorhabditidae) ile *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 (Rhabditida: Steinernematidae) ve *S. carpocapsae* Weiser, 1955 (Rhabditida: Steinernematidae)'nin çeşitli ırklarıyla hibridizasyon çalışmaları yapılmıştır (Shapiro ve ark. 1997, Iraki ve ark. 2000, Susurluk ve ark. 2001, Somasekhar ve ark. 2002, Strauch ve ark. 2004, Ehlers ve ark. 2005, Bai ve Grewal 2007, Mukuka ve ark. 2010a,b,c,d, Salame ve ark. 2010).

Farklı iklim özelliklerine sahip olan bölgelerden elde edilen EPN'ler yüksek sıcaklık, su kaybı ve etkinlik oranı gibi bazı özellikler açısından birbirinden farklılıklar gösterebilmektedirler (Ehlers 2001, Hominick 2002, Susurluk ve ark. 2003). Ayrıca aynı EPN türünün farklı popülasyonları içerisinde dahi çevre koşullarına farklı tepkiler veren bireyler de bulunmaktadır (Gaugler ve ark. 1989, Glazer ve ark. 1991, Tomalak 1994). Diğer yandan entomopatojen nematod *H. bacteriophora* dünya üzerinde tropikal ve kıyı kesime yakın ılıman iklime sahip olan bölgeler başta olmak üzere, sıcak iklim görülen bölgelerden soğuk iklim özelliği gösteren bölgelere kadar farklı iklim tipi görülen alanlarda yaşayabilme yeteneğine sahip bir türdür (Mráček ve Jenser 1988, Glare ve ark. 1993, Hominick ve ark. 1996, Constant ve ark. 1998, Griffin ve ark.

1999). Çalışmada Türkiye' nin 6 farklı ilinden daha önceden izole edilmiş olan 6 ayrı *H. bacteriophora* ırkı kullanılmış olup, bu ırkların etkinlikleri belirlenmiştir. Elde edilen etkinlik verilerinin her bir ırk için istatistiksel açıdan farklı değerlerde olduğu görülmüştür. Ayrıca ırkların sahip olduğu etkinlik değerinin uygulama dozuyla doğru orantılı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. Irkların sahip olduğu etkinlik değerinin uygulama dozuyla paralel olarak artış göstermesi durumu daha önce Gonzalez-Ramirez ve ark. (2000) ile Ebssa ve ark. (2001)' nin yapmış olduğu çalışmalarda da görülmüştür. Bu güne kadar *H. bacteriophora* ile ilgili yapılan hibridizasyon çalışmalarında farklı coğrafik ve iklim özelliklerine sahip olan ülke ya da kıtalardan izole edilmiş olan *H. bacteriophora* ırkları kullanılmıştır (Shapiro ve ark. 1997, Strauch ve ark. 2004, Ehlers ve ark. 2005, Mukuka ve ark. 2010a,b,c,d). Yapılan bu çalışmada ise Antalya, Çanakkale, Kırklareli, İzmir, Şanlıurfa ve Adana illerinden izole edilmiş olan *H. bacteriophora* ırkları ile hibridizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Ebeveyn ırkların hibridizasyon sonucunda elde edilen olan yeni ırkların etkinlik değerleri üzerindeki etkisinin tespit edilebilmesi amacıyla, etkinlikleri belirlenen ebeveyn ırkların içerisinde en düşük etkinlik değerine sahip olan ırk standart olarak alınmış, bu ırkın dişi ve erkek bireyleri denemede ebeveyn olarak kullanılan diğer ırkların erkek ve dişi bireyleriyle agar ortamında çiftleştirilerek hibridizasyon işlemi yapılmıştır. Hibridizasyon sonrasında işleme giren tüm ırkların agar ortamında ürettiği gözlemlenmiştir.

Hibridizasyon işlemindeki ana problem *H. bacteriophora*' nın dişi fenotipindeki hermafrodit bireyleri ile eşeyli üreme yeteneğindeki dişi bireylerini ayırt etmek, diğeri ise dişi bireylerin sahip olduğu yumurtalarının döllenip döllenmediğini anlayabilmektir. *Heterorhabditis* spp. için, infektif juvenil (IJ) böceğe girdikten 5 ya da 6 gün sonra erkek ve dişi bireylerin oluştuğu gözlemlenmiştir (Johnigk ve Ehlers 1999a). Diğer yandan *H. bacteriophora*, konukçu böceği ancak 3. evresinde (IJ) penetre edebilmektedir (Adams ve Nguyen 2002). Bu nedenle *H. bacteriophora* ile enfekte edilmiş böceğin disekte edilmesiyle elde edilen bu erkek ve dişi bireyler çiftleşmeleri için başka bir böceğe aktarıldığında giriş yapamaz ve üreyemez. Bu sebeplerden dolayı hibridizasyon işlemi *in vitro* ortam koşullarında gerçekleştirilmiş, hibritleme işleminde

kullanılacak olan erkek ve dişi bireyler *in vitro* sıvı kültür üretiminden sağlanmış, bu bireyler çiftleşip üremeleri için *in vitro* koşullarda agar ortamına aktarılmıştır. İnokülasyondan 10 gün sonra sıvı ortam koşullarında hibridizasyonda kullanılacak olan erkek ve dişi bireyler gözlemlenmeye başlamıştır. Bu süre Strauch ve ark. (1994) yapmış olduğu bir çalışma ile de benzerlik göstermiştir.

EPN' lerin *in vitro* ortam koşullarında üretimi ilk olarak Glaser (1931) tarafından denenmiş ancak o tarihte EPN' lerin ortak yaşam sürdüğü bakteriden haberdar olunmaması yapılan çalışmanın başarısız olmasına neden olmuştur. İlk olarak Stoll (1952) *Steinernema* spp.' nin aksenik kültür koşullarında geliştirmeyi başarmıştır. Ancak kitle üretim için çok az miktarda IJ elde edilmiş, ayrıca kitle üretim için ortam olarak kullanılan tavşan karaciğerinde üretim zor ve pahalı bulunmuştur. EPN' lerin simbiyont bakterisini ilk olarak Bovien (1937) *S. feltiae*' nin bağırsak kısmında gözlemlenmiş olmasına rağmen, Poinar ve Thomas (1966) *S. carpocapsae*' nin üremesinde simbiyont bakteri *Xenorhabdus nematophilus*' un önemini keşfetmişlerdir. Bu keşif *in vitro* üretim çalışmalarının temelini oluşturmaktadır. Sonrasında yapılan çalışmalarda EPN' ler çeşitli agar ortamlarında üretilmiştir (House ve ark. 1965, Wouts 1981, Dunphy ve Webster 1989). Agar ortamında üretimin ekonomik olması, üretim sürecinin başarısız olmasını engellemek için üretim aşamasının belirli parçalara ayrılabilmesi gibi özelliklerinden dolayı küçük üretim alanları için avantaj sağlamakta, ancak geniş çaplı üretimde yoğun iş gücü gerektirmesi, bulaşma riskinin yüksek olması ve bu ortamda EPN' lerin düzenli dağılımının engellenmesi gibi dezavantajları da beraberinde getirmektedir. Bununla beraber katı ortamda *in vitro* kitle üretim günümüzde hala gelişmekte olan ülkelerde sıvı kültür çalışmalarına öncülük etmektedir (Bedding 1990, Ehlers ve ark. 2000). Agar ortamının EPN' lerin geniş çaplı üretilmesinde doğurduğu olumsuzlukların üstesinden gelmek için sıvı kültürde üretim teknikleri geliştirilmiştir. EPN' lerin sıvı kültürde üretimi için ilk çalışmayı yapan Stoll (1952) başarılı olarak, tavşan karaciğeri ekstraktı içeren sıvı ortamda yaklaşık 400 IJ/ml miktarında nematod elde etmiştir. Ayrıca Stoll (1952), nematod gelişimi için optimal sıcaklık derecesinin 21-25 ° C olduğunu, 6.0-6.5 pH derecesinde optimal üreme sağlandığını tespit etmiştir. Buecher ve Hansen (1971) sıvı ortamın bulunduğu şişelerin içine steril hava kabarcıklarının havalandırmayı sağladığını keşfetmişlerdir. Bu keşif

sıvı ortamda kitle üretimin kapılarını açmıştır. Sonrasında yapılan çalışmalarla EPN'lerin ticari boyutlarda kitlesel üretimine olanak veren *in vitro* sıvı kültürde üretim teknikleri geliştirilmiştir (Ehlers 2001). Günümüzde EPN'ler E-Nema GmbH (www.e-nema.de), Koppert B.V. (www.koppert.nl) ve Microbio Ltd (www.microbio-group.com) firmaları tarafından *in vitro* sıvı ortamda, Bionema (www.bionema.se) ve Andermatt Biocontrol (www.biocontrol.ch) *in vitro* katı ortam koşullarında ticari olarak üretilmektedir (Ehlers 2001). Yürüttüğümüz bu çalışma ile ülkemizde EPN'ler *in vitro* agar ortamı ve *in vitro* sıvı ortam koşullarında ilk kez üretilmiş, üretim seviyesi de ticari boyuttaki değerlere ulaşmıştır.

Yapılan çalışmalar hibridizasyon ile elde edilen ırkların ebeveynlerine göre yüksek sıcaklık, su kaybı gibi çevresel stres koşullarına karşı daha toleranslı olduğunu, bu ırkların böcek üzerindeki etkinlik değeri, üreme kapasitesi, uygulandığı ortamdaki kalıcılığı gibi özelliklerinin arttırılabildiğini göstermiştir. Farklı iklim koşullarına adapte olmuş *H. bacteriophora* ırklarının sahip olduğu su kaybına (=kuraklığa) dayanıklılık kalıtsal olarak yeni döllere aktarılabilmektedir (Strauch ve ark. 2004, Mukuka ve ark. 2010c,d). Ayrıca sıcaklığa dayanıklılık da kalıtsal bir özellik olup, hibridizasyon çalışmalarıyla yüksek sıcaklığa toleranslı ırklar elde edilebilmektedir (Shapiro ve ark. 1997, Ehlers ve ark. 2005, Mukuka ve ark. 2010a,c). Yine farklı ırkların hibritlenmesi yoluyla *H.bacteriophora'* nın konukçu böcek üzerindeki etkinlik değeri, üreme kapasitesi ve konukçuyu penetre etme yeteneği de arttırılabilmektedir (Mukuka ve ark. 2010b).

Yapılan çalışmada hibridizasyon sonucu elde edilen toplam 10 ırkın %70'inin etkinlik değerleri ebeveynlerine göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Bu sonuç Mukuka ve ark. (2010b) tarafından yapılan bir çalışma ile de benzerlik göstermiştir. Ayrıca etkinlik üzerine ebeveyn olarak kullanılan erkek ve dişi bireylerin farklı etkiler gösterdiği tespit edilmiş, yüksek etkinlik değerine sahip olan hibrit ırkların %57.1'inde etkinlik değerinin dişi bireylerin etkisiyle artış gösterdiği, %42.9'unda ise erkek bireylerin etkisi altında kaldığı belirlenmiştir.

Ebeveyn ve bunların hibritlenmesiyle elde edilen hibrit ırkların farklı uygulama dozlarına farklı tepkiler verdiği görülmüş, uygulama dozuyla paralel olarak etkinlik değerlerinin de arttığı belirlenmiştir. En düşük uygulama dozunda (5 IJ/Larva) en yüksek etkinlik değerine sahip olan ebeveyn ırk %60 oranla H.b. 876 (Çanakkale) olarak tespit edilmişken, en yüksek etkinlik değerine sahip olan hibrit ırk ise %83.33 oranla H.b. E (H.b. 6 ♀ x H.b. HIZ ♂) olarak bulunmuştur. Yine aynı uygulama dozunda en düşük etkinlik değerine sahip olan ebeveyn ve hibrit ırklar ise sırasıyla %13,33 oranla H.b. 17 (Kırklareli) ve %26,67 oranla H.b. B (H.b. 1138 ♂ x H.b. 876 ♀) olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada EPN' ler *in vitro* ortam koşullarında üretilmiş ve hibridizasyon yoluyla ebeveynlerine göre daha üstün etkinlik değerine sahip olan ırkların elde edilmesi sağlanmıştır. Dünya üzerinde hibridizasyon ile ilgili çok az çalışma olması, ülkemizde ise *in vitro* üretim ve hibridizasyon açısından daha önce yapılan hiçbir çalışmanın bulunmaması bu çalışmanın önemini arttırmakta, bundan sonra EPN' ler ile yapılacak olan araştırmalara da katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, B.J., Nguyen, K.B. 2002.** Taxonomy and systematics: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI, UK, pp: 1-33.
- Akhurst, R.J. 1980.** Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. *Journal of General Microbiology*, 121: 303-309.
- Akhurst, R.J. 1982.** Antibiotic activity of *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae. *Journal of General Microbiology*, 128: 3061-3065.
- Akhurst, R.J. 1983.** *Neoaplectana* species: Specificity of association with bacteria of the genus *Xenorhabdus*. *Experimental Parasitology*, 55: 258-263.
- Akhurst, R.J., Boemare, N.E. 1990.** Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Ed.: Gaugler, K., Kaya, H.K., CRC, Boca Raton, Florida, pp: 75-87.
- Ansari, M.A., Evans, M., Butt, T.M. 2009.** Identification of pathogenic strains of entomopathogenic nematodes and fungi for wireworm control. *Crop Protection*, 28: 269-272.
- Armağan, B., Ulu, T.C., İkizler, T. 2010.** Bursa İli Nilüfer İlçesi Görükle Mevkii Topraklarında Entomopatojen Nematod Sürveyi. U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 1 (24): 91-98.
- Bai, X., Grewal, P.S. 2007.** Identification of two down-regulated genes in entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* infective juveniles upon contact with insect hemolymph. *Molecular & Biochemical Parasitology*, 156: 162-166.
- Barbosa-Negrisoni, C.R.C., Negrisoni, Jr., A.S., Dolinski, C., Bernardi, D. 2010.** Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) to control Brazilian apple leafroller *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae). *Crop Protection*, 29: 1274-1279.
- Batalla-Carrera, L., Morton, A., Pino, F.G. 2010.** Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. *BioControl*, 55: 523-530
- Baur, M.E., Kaya, H.K., Thurston, G.S. 1995.** Factors affecting entomopathogenic nematode infection of *Plutella xylostella* on a leaf surface. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 77(3): 239-250.
- Bedding, R.A., Molyneux, A.S. 1982.** Penetration of insect cuticle by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae, Nematoda). *Nematologica*, 28 (3): 354-359.

- Bedding, R.A. 1990.** Logistics and strategies for introducing entomopathogenic nematode technology into developing countries: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Ed.: Gaugler, K., Kaya, H.K., CRC, Boca Raton, Florida, pp: 233-248.
- Bird, A.F., Akhurst, R.J. 1983.** The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. *International Journal of Parasitology*, 13: 599-606.
- Boff, M., Wiegers, G.L., Gerritsen, L.J.M., Smits, P.H. 2000.** Development of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* strain NLH-E 87.3 in *Galleria mellonella*. *Nematology*, 2: 303-308.
- Boiven, P. 1937.** Some types of association between nematodes and insects. *Vidensk Medd Dan Naturhist Foren Khobenlavn*, 101: 1-114.
- Buecher, E.J., Hansen E.L. 1971.** Mass culture of axenic nematodes using continuous aeration. *Journal of Nematology*, 3: 199-200.
- Burnell, A.M., Stock, S.P. 2000.** *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts-lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2: 31-42.
- Constant, P., Marchay, L., Fischer-Le Saux, M., Briand-Panoma, S., Mauléon, H. 1998.** Natural occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida:Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Guadeloupe islands. *Fundamental and Applied Nematology*, 21: 667-672.
- Csontos, A.S. 2002.** Lateral movement of the entomopathogenic nematodes *Steinernema glaseri* and *Heterorhabditis bacteriophora* in sand at different temperatures in response to host seeking. *Biocontrol Science and Technology*, 12: 137-139.
- Delen, N., Özbek, T. 1993.** Pestisitlerin çevre kirlenmesindeki rolleri. I. Ulusal Ekolojik ve Çevre Kongresi, 5-7 Ekim 1993, İzmir.
- Delen, N., Tosun, N. 1997.** Türkiye' de pestisit kullanımının toksikolojik değerlendirilmesi. II. Ulusal Toksikoloji Kongresi, 3-6 Nisan 1997, Antalya.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A. 2005.** Türkiye' de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre, 3-7 Ocak 2005, Ankara.
- Dowds, B.C.A., Peters, A. 2002.** Virulence mechanisms: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI, UK, pp: 79-98.
- Duchaud, E., Rusniok, C., Frangeul, L., Buchrieser, C., Givaudan, A., Taourit, S., Bocs, S., Boursaux-Eude, C., Chandler, M., Charles, J.F. ve ark. 2003.** The genome sequence of the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens*. *Nature Biotechnology*, 21: 1307-1313.

Dunphy, G.B., Webster, J.M. 1989. The monoxenic culture of *Neoaplectana carpocapsae* DD 136 and *Heterorhabditis heliothidis*. *Review of Plant Nematology*, 12: 113-123.

Dutky, S.R., Thompson, J.V., Cantwell, G.E. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. *Journal of Insect Pathology*, 6: 417-422.

Dye, D.W. 1968. A taxonomic study of the genus *Erwinia*: I. The “amylovora” group. *New Zealand Journal of Science*, 11: 590-607.

Ebssa, L., Borgemeister, C., Berndt, O., Poehling, H.M. 2001. Efficacy of Entomopathogenic Nematodes against Soil-Dwelling Life Stages of Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 78: 119-127.

Ehlers, R.-U., Stoessel, S., Wyss, U. 1990. The influence of phase variants on *Xenorhabdus* spp. and *Escherichia coli* (Enterobacteriaceae) on the propagation of entomopathogenic nematodes of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*. *Revue de nématologie*, 13: 417-424.

Ehlers, R.-U., Peters, A. 1995. Entomopathogenic nematodes in biological control: Feasibility, perspectives and possible risks: *Biological Control, Benefits and Risks*, Ed.: Hokkanen, H.T., Lynch, J.M., Cambridge University Press, UK, pp: 119-136.

Ehlers, R.-U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: Practise and commercial aspects in regard to regulatory policies. *Biocontrol Science and Technology*, 6 (3): 303-316.

Ehlers, R.-U., Lunau, S., Krasomil-Osterfeld, K., Osterfeld, K.H. 1998. Liquid culture of the entomopathogenic nematode-bacterium complex *Heterorhabditis megidis/Photorhabdus luminescens*. *BioControl*, 43(1): 77-86.

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

Ehlers, R.-U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56: 623-633.

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

Endo, B.Y., Nickle, W.R. 1991. Ultrastructure of the intestinal epithelium, lumen, and associated with bacteria in *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Helminthological Society of Washington*, 58 (2): 202-212.

Endo, B.Y., Nickle, W.R. 1994. Ultrastructure of the buccal cavity region and oesophagus of the insect parasitic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora*. *Nematologica*, 40: 379-398.

Flanders, K.L., Miller, J.M., Shields, E.J. 1996. *In vivo* production of *Heterorhabditis bacteriophora* 'Oswego' (Rhabditida: Heterorhabditidae), a potential biological control agent for soil-inhabiting insects in temperate regions. *Journal of Economic Entomology*, 89: 373-380.

Forst, S., Neelson, K. 1996. Molecular biology of the symbiotic pathogenic bacteria *Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus* spp. *Microbial Reviews*, 60 (1): 21-43.

Forst, S., Dowds, B., Boemare, N., Stackebrandt, E. 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: Bugs that kill bugs. *Annual Review of Microbiology*, 51: 47-72.

Friedman, M.J. 1990. Commercial production and development: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Ed.: Gaugler, K., Kaya, H.K., CRC, Boca Raton, Florida, pp: 153-172.

Gaugler, R. 1986. Entomogenous nematodes and their prospects for genetic improvement: Biotechnology in Invertebrate Pathology and Cell Culture, Ed.: Maramorosch, K., Academic Press, San Diego, pp: 457-484.

Gaugler, R., Campbell, J.F., McGuire, T.R. 1989. Selection for host-finding in *Steinernema feltiae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 54: 363-372.

Gaugler, R., Han, R. 2002a. Preface: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI, UK, pp: 9-10.

Gaugler, R., Han, R. 2002b. Production technology: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI, UK, pp: 289-310.

Georgis, R., Gaugler, R. 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. *Journal of Economic Entomology*, 84 (3): 713-720.

Georgis, R., Dunlop, D.B., Grewal, P.S. 1995. Formulation of entomopathogenic nematodes: Biorational Pest Control Agents: Formulation and Delivery, Ed.: Hall, F.R., Barry, J.W., American Chemical Society, Washington, DC, pp: 197-205.

Gerritsen, L.J.M., Smiths, P.H. 1993. Variation in pathogenicity of recombinations of *Heterorhabditis* and *Xenorhabdus luminescens* strains. *Fundamental and Applied Nematology*, 16: 367-373.

Glare, T.R., Jackson, T.A., Zimmermann, G. 1993. Occurrence of *Bacillus popilliae* and 2 nematode pathogens in populations of *Amphimallon solstitialis* (Col: Scarabaeidae) near Darmstadt, Germany. *Entomophaga*, 38: 441-450.

Glaser, R.W. 1931. The cultivation of a nematode parasite of an insect. *Science*, 73: 614-615.

Glazer, I., Gaugler, R., Segal, D. 1991. Genetics of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (strain HP88): the diversity of beneficial traits. *Journal of Nematology*, 23: 324-333.

Glazer, I., Lewis, E.E. 2000. Bioassays for Entomopathogenic Nematodes: Bioassays for entomopathogens and nematodes, Ed.: Navon, A., Kluwer Academic Publisher, Holland, pp: 271-293.

Glazer, I. 2002. Survival Biology: Entomopathogenic Nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI, Wallingford, Oxon, UK, pp: 167-187.

Gonzalez-Ramirez, M., Lezama-Gutierrez, R., Molina-Ochoa, J., Rebolledo-Dominguez, O., Lopez-Edwards, M., Pescador-Rubio, A. 2000. Susceptibility of *Mocis latipes* (Lepidoptera : Noctuidae) to *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida : Heterorhabditidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(4): 1105-1108.

Gözel, U., Güneş, Ç, Tunaz, H. 2007. Türkiye Entomopatojen Nematod Faunasının Belirlenmesi. Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi, 27-29 Ağustos 2007, Isparta.

Grewal, P.S., Selvan, S., Gaugler, R. 1994. Thermal adaption of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *Journal of Thermal Biology*, 19: 245-253.

Grewal, P.S., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. 2006. Nematodes as Biocontrol Agents, CABI, Oxon, UK, 523 pp.

Griffin, C.T., Dix, I., Joyce, S.A., Burnell, A.M., Downes, M.J. 1999. Isolation and characterization of *Heterorhabditis* spp. (Nematoda: Heterorhabditidae) from Hungary, Estonia, and Denmark. *Nematology*, 1: 321-332.

Güneş, Ç., Gözel U. 2011. Marmara Bölgesi' ndeki entomopatojen nematod faunasının belirlenmesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 2 (2): 93-102.

Han, R., Ehlers, R.-U. 2000. Pathogenicity, development and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75: 55-58.

Hazır, S. 2002. Türkiye' deki Entomopatojenik Nematodlar (Steinernematidae ve Heterorhabditidae) Üzerine Faunistik Çalışmalar. *Doktora Tezi*, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Hazır, S., Keskin, N., Stock, S.P., Kaya, H.K., Özcan, S. 2003. Diversity and distribution of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Turkey. *Biodiversity and Conservation*, 12: 375-386.

Hominick, W.M., Reid, A.p., Bohan, D.A., Briscoe, B.R. 1996. Entomopathogenic nematodes – biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 317-331.

Hominick, W.M. 2002. Biogeography: Entomopathogenic nematology, Ed.: Gaugler, R., CABI Publishing, Oxon, UK, pp: 115-143.

House, H.L., Welch, H.E., Cleugh, T.R. 1965. Food medium of prepared dog biscuit fort he mass-production of the nematode DD-136 (Nematoda: Steignernematidae). *Nature*, 206-847.

Iraki, N., Salah, N., Sansour, N., Segal, D., Glazer, I., Johnigk, S.A., Hussein, M., Ehlers, R.-U. 2000. Isolation and characterization of two entomopathogenic nematode strains, *Heterorhabditis indica* (Nematoda, Rhabditia), from the West Bank, Palestinian Territories. *TheJournalofAppliedEntomology*, 124: 375-380.

Johnigk, S.-A., Ehlers, R.-U. 1999a. Juvenile development and life cycle of *Heterorhabditis bacteriophora* and *H. indica* (Nematoda: Heterorhabditidae). *Nematology*, 1: 251-260.

Johnigk, S.-A., Ehlers, R.-U. 1999b. Endotokia matricida in hermaphrodites of *Heterorhabditis* spp. and the effect of the food supply. *Nematology*, 1: 717-726.

Kaya, H.K., Aguilera, M.M., Alumai, A., Choo, H.Y., Torre, M., Fodor, A., Ganguly, S., Hazır, S., Lakatos, T., Pye, A., Wilson, M., Yamanaka, S., Yang, H., Ehlers R.-U. 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biological Control*, 38: 134-155.

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: Manual of techniques in insect pathology, Ed.: Lacey, L.A., CA: Academic Press, San Diego, pp: 281-324.

Kepenekçi, İ., Babaroğlu, N., Öztürk, G., Halıcı, S. 1999. Türkiye için yeni bir entomopatojen nematod *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). IV. Biyolojik Mücadele Kongresi, 26-29 Ocak 1999, Adana.

Kepenekçi, İ., Susurluk, İ. A., 2000. Türkiye için yeni bir entomopatojen nematod türü; *Heterorhabditis marelatus* Liu and Berry 1996 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Tarım Bilimleri Dergisi*, 6 (2): 59-64.

- Kepenekçi, İ., Öztürk, G. 2001.** Türkiye için yeni bir entomopatojen nematod; *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Rhabditida: Steinernematidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 25 (1): 23-31.
- Kepenekçi, I. 2002.** Entomopathogenic nematodes (Rhabditida) in the Mediterranean Region of Turkey. *Nematologia Mediterranea*, 21: 13-16.
- Kepenekçi, I, Zeki, C., Özdem, A., Öztürk, G. 2002.** Üç entomopatojen nematodun Akdeniz meyve sineği, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) pupalarına etkileri. Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, 4-7 Eylül 2002, Erzurum.
- Kepenekçi, I., Susurluk, I.A. 2003.** Three entomopathogenic nematodes (Rhabditida) from Turkey. *Pakistan Journal of Nematology*, 21: 19-23.
- Kepenekçi, İ., Gökçe, A., Gaugler, R. 2004.** Virulence of three species of entomopathogenic nematodes to the chestnut weevil, *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematropica*, 34 (2): 199-204.
- Klein, M.G. 1990.** Efficacy against soil-inhabiting insect pests: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Ed.: Gaugler, R., Kaya, H.K., CRC Press, Boca Raton, Florida, pp: 195-214.
- Koltai, H., Glazer, I., Segal, D. 1995.** Reproduction of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976: Hermaphroditism vs amphimixis. *Fundamental & Applied Nematology*, 18: 55-61.
- Koppenhöfer, A.M., Grewal, P.S., Kaya H.K. 2000.** Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: greenhouse and field evaluation. *Biological Control*, 19 (3): 245-251.
- Kurtz, G., Hiltbold, I., Turlings, T.C.J., Kuhlmann, U., Toepfer, S. 2009.** Comparative susceptibility of larval instars and pupae of the western corn rootworm to infection by three entomopathogenic nematodes. *BioControl*, 54: 255-262.
- Lacey, L.A., Brooks, W.M. 1997.** Initial handling and diagnosis of diseased insects: Manual of techniques in insect pathology, Ed.: Lacey L.A., CA: Academic Press, San Diego, pp: 1-15.
- Lindergen, J.E., Valero, K.A., Mackey, B.E. 1993.** Simple *in vivo* production and storage methods for *Steinernema carpocapsae* infective juveniles. *Journal of Nematology*, 25: 193-197.
- Lunau, S., Stoessel, S., Schmidt-Peisker, A.J., Ehlers, R.-U. 1993.** Establishment of monoxenic inocula for scaling up *in vitro* cultures of the entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Nematologica*, 39: 385-399.

Mráček, Z., Jenser, G. 1988. First report of entomogenous nematodes of the families Steinernematidae and Heterorhabditidae from Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 23: 153-156.

McCoy, C.W., Shapiro, D.I., Duncan, L.W., Nguyen, K. 2000. Entomopathogenic Nematodes and Other Natural Enemies as Mortality Factors for Larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control*, 19:182-190.

McGraw, B.A., Vittumb, P.J., Cowlesc, R.S., Koppenhöfer, A.M. 2010. Field evaluation of entomopathogenic nematodes for the biological control of the annual bluegrass weevil, *Listronotus maculicollis* (Coleoptera: Curculionidae), in golf course turfgrass. *Biocontrol Science and Technology*, 20(2): 149-163.

McKern, J.A., Johnson, D.T., Lewis, B.A. 2007. Biology and control of the raspberry crown borer (Lepidoptera : Sesiidae). *Journal of Economic Entomology*, 100(2): 398-404.

Monteiro, C.M.d.O., Furlong, J., Prata, M.C.d.A., Soares, A.E., Batista, E.S.d.P, Dolinski, C. 2010. Evaluation of the action of *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) isolate HP88 on the biology of engorged females of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 170: 355-352.

Morgan, J.A.W., Kuntzelmann, V., Tavernor, S., Ousley, M.A., Winstanley, C. 1997. Survival of *Xenorhabdus nematophilus* and *Photorhabdus luminescens* in water and soil. *Journal of Applied Microbiology*, 83: 665-670.

Morton, A., Pino, F.G. 2008. Effectiveness of different species of entomopathogenic nematodes for biocontrol of the Mediterranean flatheaded rootborer, *Capnodis tenebrionis* (Linne') (Coleoptera: Buprestidae) in potted peach tree. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97: 128-133.

Mukuka, J., Strauch, O., Waeyenberge, L., Viaene, N., Moens, M., Ehlers, R.U. 2010a. Heat tolerance among different strains of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *BioControl*, 55:423-434.

Mukuka, J., Strauch, O., Hoppe, C., Ehlers, R.U. 2010b. Fitness of heat and desiccation tolerant hybrid strains of *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidomorpha: Heterorhabditidae). *Journal of Pest Science*, 83:281-287.

Mukuka, J., Strauch, O., Hoppe, C., Ehlers, R.U. 2010c. Improvement of heat and desiccation tolerance in *Heterorhabditis bacteriophora* through cross-breeding of tolerant strains and successive genetic selection. *BioControl*, 55:511-521.

Mukuka, J., Strauch, O., Ehlers, R.U. 2010d. Variability in desiccation tolerance among different strains of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Nematology*, 12(5):711-720.

Nickle, W.R. 1984. History, Development and Importance of Insect Nematology: Plants and Insect Nematodes, Ed., Nickle, W.R., Marcel Dekker, New York, pp: 627-653.

Öncüler, C. 1995. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Ege Üniversitesi Basımevi-3. Baskı, Bornova, İzmir, 333 s.

Özer, N., Keskin, N., Kırbaş, Z. 1995. Occurrence of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae: Heterorhabditidae) in Turkey. *Nematologica*, 41: 639-640.

Padilla-Cubas, Á., Hernández, A.C., García-del-Pino, F. 2010. Laboratory efficacy against neonate larvae of the banana weevil *Cosmopolites sordidus* of two indigenous entomopathogenic nematode species from the Canary Islands (Spain). *International Journal of Pest Management*, 56(3): 211-216.

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

Poinar, G.O. JR., Thomas, G.M. 1966. Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) in the development of the nematode, DD-136 (*Neoaplectana* sp., Steinernematidae). *Parasitology*, 56: 385-390.

Poinar, G.O. JR. 1975. Description and biology of a new parasitic rhabditoid *Heterorhabditis bacteriophora* new gen, new species. *Nematologica*, 21: 463-470.

Poinar, G.O. JR., Thomas, G.M., Hess, R. 1977. Characteristics of the specific bacterium associated with *Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditidae: Rhabditida). *Nematologica*, 23: 97-102.

Poinar, G.O. JR. 1979. Nematodes for biological control of insects. CRC, Boca Raton, Florida, pp: 340.

Poinar, G.O. JR. 1990. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Ed.: Gaugler, R., Kaya, H.K., CRC Press, Boca Raton, Florida, pp: 23-62.

Power, K.T., An, R., Grewal, P.S. 2009. Effectiveness of *Heterorhabditis bacteriophora* strain GPS11 applications targeted against different instars of the Japanese beetle *Popillia japonica*. *Biological Control*, 48: 232-236.

Premachandra, D.W.T.S., Borgemeister, C., Berndt, O., Ehlers, R.-U., Poehling, H.-M. 2003. Laboratory bioassays of virulence of entomopathogenic nematodes against soil-inhabiting stages of *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae). *Nematology*, 5 (4): 539-547.

Pütz, J., Meinert, F., Wyss, U., Ehlers, R.-U. 1990. Development and application of oligonucleotide probes for molecular identification of *Xenorhabdus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 56 (1): 181-186.

Ringer, S. 1882: Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood on the contraction of the ventricle. The *Journal of Physiology*3: 380-397.

Salame, L., Glazer, I., Chubinishvili, M.T., Chkhubianishvili, T. 2010. Genetic improvement of the desiccation tolerance and host-seeking ability of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. *Phytoparasitica*, 38: 359-368.

Shapiro, D.I., Glazer, I., Segal, D. 1997. Genetic Improvement of Heat Tolerance in *Heterorhabditis bacteriophora* through Hybridization. *Biological Control*, 8:153-159.

Shapiro-Ilan, D.I., Gaugler, R. 2002. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28: 137-146.

Somasekhar, N., Grewal, P.S., Klein, M.G. 2002. Genetic Variability in Stress Tolerance and Fitness among Natural Populations of *Steinernema carpocapsae*. *Biological Control*, 23: 303-310.

Strauch, O., Stoessel, S., Ehlers, R.-U. 1994. Culture conditions define automictic or amphimictic reproduction in entomopathogenic rhabditid nematodes of the genus *Heterorhabditis*. *Fundamental and Applied Nematology*, 17: 575-582.

Strauch, O., Niemann, I., Neumann, A., Schmidt, A.J., Peters, A., Ehlers, R.-U. 2000. Storage and formulation of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *H.bacteriophora*. *BioControl*, 45: 483-500.

Strauch, O., Oestergaard, J., Hollmer, S., Ehlers, R.-U. 2004. Genetic improvement of the desiccation tolerance of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* through selective breeding. *Biological Control*, 31: 218-226.

Stoll, N.R. 1952. Axenic cultivation of the parasitic nematode, *Neoplectana glaseri*, in fluid medium containing raw liver extract. *Journal of Parasitology*, 39: 422-444.

Sulistyanto, D., Ehlers, R.-U. 1996. Efficacy of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* for the control of grubs (*Phyllopertha horticola* and *Aphodius contaminatus*) in golf course turf. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 247-250.

Susurluk, A., Dix, I., Stackebrandt, E., Strauch, O., Wyss, U., Ehlers, R.-U. 2001. Identification and ecological characterisation of three entomopathogenic nematode-bacterium complex from Turkey. *Nematology*, 3 (8): 833-841.

Susurluk, I.A., Ünlü, I., Kepenekçi, I. 2003. Host finding behaviour of two different Turkish isolates of entomopathogenic nematode species, *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Turkish Journal of Biology*, 27 (4): 203-207.

Susurluk, I.A. 2006a. Comparison of Some Biological Characterizations of the Entomopathogenic Nematodes, *Steinernema weiseri* and *S. feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae), Isolated in Turkey. *Turkish Journal of Agricultural Science*, 12 (4): 340-344.

Susurluk, A. 2006b. Effectiveness of the Entomopathogenic Nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema feltiae* against *Tenebrio molitor* (Yellow Mealworm) Larvae at Different Temperature and Soil Types. *Turkish Journal of Biology*, 30 (4): 199-205.

Susurluk, I.A., Toprak, U. 2006. Molecular identification of three entomopathogenic nematodes from Turkey by PCR-RFLP of the ITS Regions. *Phytoparasitica*, 34 (1): 17-20.

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

Susurluk, I.A. 2008b. Potential of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae*, *S. weiseri* and *Heterorhabditis bacteriophora* for the biological control of the sugar beet weevil *Bothynoderes punctiventris* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Pest Science*, 81: 221-225.

Susurluk, A., Ehlers, R.-U. 2008. Sustainable control of black vine weevil larvae, *Otiorynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) with *Heterorhabditis bacteriophora* in strawberry. *Biocontrol Science and Technology*, 18 (6): 627-632.

Susurluk, I. A. 2009. Seasonal and vertical distribution of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (TUR-H2) and *Steinernema feltiae* (TUR-S3) in turf and fallow areas. *Nematology*, 11 (3): 321-327.

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

Susurluk, I.A., Kumral, N.A., Bilgili, U., Açıkgöz, E. 2011. Control of a new turf pest, *Dorcadion pseudopreissi* (Coleoptera: Cerambycidae), by the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Pest Science*, 84: 321-326.

Toepfer, S., Peters, A., Ehlers, R.-U., Kuhlmann, U. 2008. Comparative assessment of the efficacy of entomopathogenic nematode species at reducing western corn rootworm larvae and root damage in maize. *Journal of Applied Entomology*, 132 (5): 337-348.

Tomalak, M. 1994. Selective breeding of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae) for improved efficacy in control of a mushroom fly, *Lycoriella solani* Winnertz (Diptera: Sciaridae). *Biocontrol Science and Technology*, 4: 187-198.

Tomalak, M. 2003. Biocontrol Potential of Entomopathogenic Nematodes Against Winter Moths (*Operophtera brumata* and *O. fagata*) (Lepidoptera: Geometridae) Infesting Urban Trees. *Biocontrol Science and Technology*, 13 (5): 517-527.

Toros, S., Maden, S. 1991. Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, 418 s.

Trdan, S., Vidrih, M., Valič 2006. Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113(4): 168-173.

Trdan, S., Vidrih, M., Valič, N., Laznik, Ž. 2008. Impact of entomopathogenic nematodes on adults of *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) under laboratory conditions. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B - Soil and Plant Science*, 58: 169-175.

Trdan, S., Vidrih, M., Andjus, L., Laznik, Ž. 2009. Activity of four entomopathogenic nematode species against different developmental stages of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera, Chrysomelidae). *Helminthologia*, 46 (1): 14-20.

Unlu, I.O., Ehlers, R.-U., Susurluk, A. 2007. Additional data and first record of the entomopathogenic nematode *Steinernema weiseri* from Turkey. *Nematology*, 9 (5): 739-741.

Wang, Y., Gaugler, R. 1998. Host and penetration site location by entomopathogenic nematodes against Japanese beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 72 (3): 313-318.

Westerman, P.R. 1997. Comparative vertical migration of insect parasitic nematodes *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp. in sand at 9°C. *Fundamental & Applied Nematology*, 20: 405-408.

Westerman, P.R. 1998. Penetration of entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* spp. into host insects at 9 and 20 °C. *Journal of Invertebrate Pathology*, 72: 197-205.

White, G.F. 1927. A Method for Obtaining Infective Nematode Larvae from Culture. *Science*, 66: 302-303.

Williams, R.N., Fickle, D.S., Grewal, P.S., Dutcher, J. 2010. Field efficacy against the grape root borer *Vitacea polistiformis* (Lepidoptera: Sesiidae) and persistence of *Heterorhabditis zealandica* and *H. bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae) in vineyards. *Biological Control*, 53: 86-91.

Woodring, J.L., Kaya, H.K. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A handbook of biology and techniques. Arkarnas Agricultural Experiment Station, Southern Cooperative Series Bulletin 331, Fayetteville, AR, 30 pp.

Wouts, W.M. 1981. Mass production of the entomogenous nematode *Heterorhabditis heliothidis* (Nematoda: Heterorhabditidae) on artificial media. *Journal of Nematology*, 13: 467-469.

Zervos, S., Johnson, S.C., Webster, J.M. 1991. Effect of temperature and inoculum size on reproduction and development of *Heterorhabditis heliothidis* and *Steinernema glaseri* (Nematoda: Rhabditioidea) in *Galleria mellonella*. *Canadian Journal of Zoology*, 69: 1261-1264.

Zioni, S., Glazer, I., Segal, D. 1992. Phenotypic and genetic analysis of a mutant of *Heterorhabditis bacteriophora* strain HP88. *Journal of Nematology*, 24: 359-364.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yasemin KONGU
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa / TÜRKİYE, 01.01.1988
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Bursa Anadolu Kız Lisesi (2002-2005)

Lisans : Uludağ Üniversitesi
Ziraat Fakültesi
Ziraat Mühendisliği Programı (2005-2010)

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma A.D. (2010-2012)

İletişim (e-posta) : yaseminkongu@gmail.com

Yayımları :

Kongu, Y., Ulu, T.C., Susurluk, İ.A. 2011. Entomopatojen Nematodların *in vitro* Üretiminde Simbiyont Bakteri ve Yumurta İzolasyonunun Başarısını Etkileyen Faktörler. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş-Türkiye.

Ulu, T.C., Kongu, Y., Susurluk, İ.A. 2011. Türkiye'nin Değişik Bölgelerinden İzole Edilen Entomopatojen Nematod, *Heterorhabditis bacteriophora* İzolatlarının Yüksek Sıcaklık ve Su Kaybına Tolerans Seviyelerinin Belirlenmesi. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş-Türkiye.