



Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 31 (2016)  
ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)  
doi:10.7161/anajas.2016.31.1.25-32



Sıcaklık ve konukçu tipinin entomopatojenik nematod *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1975) (Nematoda: Heterorhabditidae)'nın gelişimine etkisi

Nuran Korkmaz Boz, Eylem Akman Gündüz\*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Atakum, Samsun  
\*Sorumlu yazar/corresponding author: gunduzeylem@gmail.com

Geliş/Received 01/06/2015

Kabul/Accepted 01/02/2016

ÖZET

Denemeler kontrollü koşullarda 15, 24 ve 30 °C'de yürütülmüştür. Konukçu olarak *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae), *Achoria grisella* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) ve *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae)'nın geç evre larvaları kullanılmıştır. Her konukçu 50 *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar 1975) infektif juveniline maruz bırakılmıştır. Sonuçlar üç sıcaklıkta da *H. bacteriophora*'nın bütün konukçu larvalarını öldürdüğünü göstermiştir. Tüm konukçu türleri için, konukçu ölüm süresi 15 °C'de, 24 ve 30 °C'den daha uzun olmuş, ancak 24 ve 30 °C'deki ölüm süreleri arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Konukçu türü konukçu ölüm süresini değiştirmemiştir. *H. bacteriophora*'nın konukçu içerisine giriş gücü, sıcaklık ve konukçu tiplerinden etkilenmiştir. Tüm konukçu türlerinde konukçu içerisine giren *H. bacteriophora* sayısı 24 ve 30 °C'de, 15 °C'ye göre daha fazla olmuştur. Denenen tüm sıcaklık derecelerinde *G. mellonella* konukçusuna giren *H. bacteriophora* sayısı *A. grisella* ve *E. kuehniella*'ya giren nematod sayısından önemli derecede fazla bulunmuştur. Sıcaklık infektif juvenillerinin konukçu kadavrasından çıkış sürelerini önemli derecede etkilemiş, ancak konukçu türlerinin bu süre üzerine önemli bir etkisi olmamıştır. Denenen tüm konukçu türlerinde infektif juveniller en geç 15 °C'de çıkış yapmışlardır. İnfektif juvenil üretimi sıcaklık ve konukçu türü tarafından önemli ölçüde etkilenmiştir. En fazla infektif juvenil üretimi 30 °C'de *G. mellonella* larvalarında, en az üretim ise 15 °C'de *E. kuehniella* larvalarında olmuştur.

Anahtar Sözcükler:  
Biyolojik kontrol  
Entomopathogenic  
Nematode  
*Heterorhabditis bacteriophora*  
Konukçu  
Sıcaklık

The effect of temperature and host type on development of entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1975) (Nematoda: Heterorhabditidae)

ABSTRACT

Experiments were conducted at 15, 24 and 30 °C. Late instar larvae of *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae), *Achoria grisella* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) and *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) were used as host. Every host exposed to 50 infective juveniles of *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1975). Results indicate that *H. bacteriophora* killed all host larvae at these three temperatures. For all host species, host death time was longer at 15 °C than at 24 and 30 °C, whereas there was no significant difference among host death times at 24 and 30 °C. Host species did not change the host death times. Penetration efficiency of *H. bacteriophora* was affected by temperature and host types. Number of *H. bacteriophora* penetrated to host larvae was significantly greater at 24 and 30 °C than at 15 °C for all tested host. For all tested temperatures, significantly greater numbers of *H. bacteriophora* penetrated to the *G. mellonella* than had *A. grisella* and *E. kuehniella*. Temperature significantly affected the time of the emergence of infective juveniles from the host cadaver, but host types are not. For all tested host species the latest emergence was determined at 15 °C. Infective juvenile production was significantly affected by temperature and host species. The highest infective juvenile production was observed at 30 °C in *G. mellonella* whereas *E. kuehniella* had the lowest one at 15 °C.

Keywords:  
Biological control  
Entomopathogenic  
nematod  
*Heterorhabditis bacteriophora*  
Host  
Temperature

## 1. Giriş

Böceklerde parazit yaşayan nematodlar, entomopatojenik nematodlar olarak adlandırılmaktadır (Hominick ve ark., 1996; Hazır, 2002). Entomopatojenik nematodlar, toprakta yaşayan veya en az bir biyolojik dönemini toprakta geçiren birçok zararlı böcek türünün yanı sıra toprak dışında yaşayan böceklerle karşı da biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmaktadır (Kaya ve Gaugler, 1993; Glazer, 1995; Grewal ve ark., 2005; Power ve ark., 2009).

Entomopatojenik nematodlar, böcekleri ergin veya ergin öncesi evrede öldürme, gelişimini yavaşlatma, kısırlaştırma veya üreme gücünü azaltma, ömür uzunluğunu, uçuş aktivitesini ya da davranışlarını değiştirip gerekli yaşam fonksiyonlarını azaltma suretiyle onların zararlı olmalarını engellerler (Webster, 1972; Kaşkavalcı, 1999; Koppenhöfer, 2000; Hazır, 2002). Entomopatojenik nematodların konukçularında ortaya çıkardığı bu etkiler, nematodlar ile mutualistik ilişki içinde olan bakteriler sayesinde meydana gelir. Bu bakteriler yalnızca nematodların serbest yaşayan infektif juvenil evresinde bulunur ve onların sindirim boşluklarında taşınırlar (Kaya ve Koppenhöfer, 2004; Karagöz ve ark., 2009).

Entomopatojenik nematodlarda genellikle 4 farklı larva evresi (J1-J2-J3-J4) görülür. Biyolojik mücadele için en önemli larva dönemi 3. evredir. Bu dönem 'infektif juvenil' ya da 'dauer juvenil' olarak ifade edilmektedir. Yalnızca bu 3. evredeki infektif juvenil serbest yaşarlar. Bu nedenle konukçunun aranıp bulunmasında, toprakta yaşayan bu 3. evre larvalar etkili olur (Kaya ve Koppenhöfer, 1999; Koppenhöfer, 2000; Hazır, 2002). Toprak yüzeyindeki veya içindeki böceklerle yerleşme ve vücutlarının içine girebilme yeteneğine sahip olan bu larvalar, canlı bir böcek buluncaya kadar toprakta aylarca beslenmeden kalabilirler. İnfektif juvenil uygun bir konukçu bulunca konukçunun ağız, anüs ve stigmaları gibi doğal açıklıklarından giriş yaparak sindirim sistemi ya da trake yoluyla vücut sıvısına (hemosölüne) geçer ve konukçunun içerisinde iken gömlek değiştirirler. Bu esnada larvalar sindirim sistemindeki simbiyotik bakteriyi ağız (Heterorhabditidae) veya anüs (Steinernematitidae) yoluyla vücutlarından dışarı atarlar. Bakteriler, konukçu böceğin besinde zengin vücut sıvısında hızla çoğalır ve immün sistemini bloke ederek konukçuyu 24-72 saat içinde öldürürler (Poinar, 1983; Kaşkavalcı, 1999; Hazır ve ark., 2003; Laznik ve ark., 2009).

Böceklerle biyolojik mücadelede daha çok Steinernematitidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait nematod türleri kullanılmaktadır. Çünkü bu familyaların bazı türleri, birçok böcek türünü enfekte eden öldürücü zorunlu patojenlerdir (Kaya ve Gaugler,

1993; Yılmaz ve ark., 2009).

*Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1975) (Nematoda: Heterorhabditidae), biyolojik mücadelede kullanılan böcek paraziti bir nematod olup, *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) simbiyotik bakterisinin de zorunlu konukçusudur (Forst ve ark., 1997; Ciche, 2007). Nematodun konukçu böceğin ağız, stigma veya anüs gibi doğal açıklıklarından içeri girmesiyle enfeksiyon başlamış olur. Nematod, simbiyotik bakterisi *Photorhabdus* spp.'yi ağız yoluyla konukçu hemosölüne bırakır ve bakteri konukçuyu hızla öldürür. *H. bacteriophora*, bu öldürücü etkisi nedeniyle, larvaları toprakta yaşayan birçok böcek popülasyonunu kontrol altına almak için önemli bir biyolojik kontrol ajanıdır (Woodring ve Kaya, 1988; Wozniak ve ark., 1993; Toledo ve ark., 2006a). *Heterorhabditis* cinsine ait türlerdeki nematodların infektif juvenilleri, konukçu içinde hermafrodit olarak gelişir. Bu nedenle tek bir infektif juvenil konukçu böcek içine girmesi büyük bir nematod kolonisinin oluşması için yeterlidir (Poinar, 1983; Kaşkavalcı, 1999).

Biyolojik mücadelede başarılı sonuçlar elde edebilmek için biyolojik kontrol ajanı ile onun konukçusu ya da avı arasındaki fizyolojik ve ekolojik ilişkilerin iyi incelenmesi gerekir (Webster, 1972; Kaşkavalcı, 1999). Sıcaklık; nematodun konukçu arama, patojenite, infektivite, konukçu öldürme süresi, gelişim, üreme ve saklanma süresi gibi özelliklerini doğrudan etkilediği için nematodun biyolojik kontroldeki başarısını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Sıcaklığın nematodun yaşam süresine etkisi, nematod türüne, izolatına ve nematodun sıcaklığa maruz kalma süresine göre değişiklik gösterir (Griffin, 1993; Kaya ve Koppenhöfer, 1999; Hazır, 2002; Chen ve ark., 2003). Yapılan çalışmalarda 0 °C altındaki ve 40 °C üzerindeki sıcaklıkların birçok nematod türü için öldürücü etki yaptığı belirlenmiştir (Kaya, 1990; Brown ve Gaugler, 1996; Kaya ve Koppenhöfer, 1999; Hazır ve ark., 2003). İnfektif juvenillerin en uzun yaşayabildiği sıcaklıklar 5-15 °C arasındaki sıcaklıklardır (Hazır, 2002; Kaya ve Koppenhöfer, 2004).

Sıcaklığın entomopatojenik nematodların etkinlik derecesi üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, farklı sıcaklıklarda farklı entomopatojenik nematod türlerinin ya da izolatlarının aynı konukçu türüne olan etkileri konusunda yoğunlaştığı görülmüştür (Hazır ve ark., 2001; Chen ve ark., 2003; Aydın ve Susurluk, 2005; Mahar ve ark., 2007; Radova ve Trnkova, 2010). Buna karşın konukçu türü ve sıcaklık etkileşimlerini birlikte değerlendiren çalışmalar daha az sayıdadır. Bu nedenle, bu çalışmada farklı sıcaklıkların ve konukçu türlerinin bir entomopatojenik nematod türü olan *H.*

*bacteriophora*'nın gelişimi ve etkinliği üzerine etkisi araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Bu çalışmada entomopatojenik nematod olarak *Heterorhabditis bacteriophora*, konukçu olarak Lepidoptera: Pyralidae'den Büyük Balmumu Güvesi *Galleria mellonella*, Küçük Balmumu Güvesi, *Achoria grisella* ve Un Güvesi *Ephestia kuehniella*'nın geç evre larvaları kullanılmıştır. Çalışmalara nematod ve üç konukçu türüne ait kültürlerin kurulmasıyla başlanmış ve denemeler 15, 24 ve 30 °C'de yapılmıştır.

### 2.2. Yöntem

#### 2.2.1. Konukçu kültürlerinin kurulması

*G. mellonella* ve *A. grisella* erginleri, balsız petek içeren ve ağzı bez ile kapatılmış bir litrelik cam kavanozlara ayrı ayrı konularak 25±2 °C'de, % 65±5 bağıl nem ve 16:8 (A:K) fotoperiyota sahip laboratuvar şartlarında kültüre alınmıştır. Kavanozlarda gelişen konukçu kültürleri sık sık kontrol edilerek, populasyon yoğunluğuna ve besinin tüketilme durumuna göre gerektiğinde kaplara sterilize edilmiş balsız petek ilave edilmiştir. *E. kuehniella* kültürünün oluşturulmasında da *G. mellonella* ve *A. grisella* için kullanılan yöntemler izlenmiş fakat erginlerine besin olarak mısır unu verilmiştir. Denemelerde bu üç ayrı kültürlerden elde edilen geç evre larvalar kullanılmıştır.

#### 2.2.2. Nematod kültürlerinin kurulması

Entomopatojenik nematod *H. bacteriophora* kültürü infektif juveniller kullanılarak oluşturulmuştur. Bu nematodlar, inaktive edilmiş *G. mellonella* larvaları kullanılarak laboratuvar ortamında tekrar üretilmiş ve yeni nesil infektif juveniller elde edilmiştir.

*G. mellonella* larvalarının inaktivasyonu, larvaların 58-60 °C sıcaklıktaki suda birkaç saniye bekletilmesiyle gerçekleştirilmiştir. İçerisinde filtre kağıdı bulunan 90 mm'lik bir petri kabına 800 µl nematod süspansiyonu ve 5 tane inaktive edilmiş *G. mellonella* larvası konulmuş ve petrinin kapağı kapatılmıştır. Kurumayı önlemek için petri kabı plastik poşet içerisine alınmış ve oda sıcaklığında *G. mellonella* larvalarının enfekte olması beklenmiştir. Larvaların ölüm sonrası kırmızı-turuncu renk alması *H. bacteriophora* tarafından enfekte edildiğinin göstergesi olarak kabul edilmiştir. Enfekte olan larvalar birbiri içerisine yerleştirilmiş birisi büyük, diğeri küçük iki petri kabından oluşan White Trap (White, 1927) düzeneğine yerleştirilmiştir (Koppenhöfer, 2000;

Hazır, 2002). Büyük olan petri kabının içerisinde saf su, küçük olanın içerisinde ise filtre kağıdı yer alır. Enfekte larvalar küçük petri içerisindeki filtre kağıdı üzerine yerleştirilir ve büyük petrinin kapağı kapatılır (Şekil 1).



Şekil 1. White trap düzeneği

Şekil 1'de görüldüğü gibi hazırlanan White trap düzenekleri oda sıcaklığında bekletilmiştir. Yaklaşık 7-12 gün sonra infektif juvenillerin ölü larvayı terk ettikleri ve larvadan çıkan bu juvenillerin filtre kağıdı üzerinde ilerleyip büyük petrideki saf su içinde biriktikleri gözlemlenmiştir. Böylece yeni nesil infektif juveniller elde edilmiştir. Elde edilen infektif juveniller, denemelerde kullanılmak üzere saklama kutularında 15 °C'de stoklanmıştır.

Konukçu olarak *A. grisella* ve *E. kuehniella* larvaları kullanılarak yukarıda belirtilen şekilde yeni nesil infektif juveniller elde edilmiştir. *A. grisella* larvalarının inaktivasyonu 50-55 °C'de gerçekleştirilmiştir. *E. kuehniella* larvaları ise fazla hareketli olmadıklarından inaktive edilmemiştir.

#### 2.2.3. Sıcaklık ve konukçu türlerinin nematod gelişimi üzerine etkilerinin belirlenmesi

Sıcaklık ve konukçu türlerinin nematod gelişimi üzerine etkilerini belirlemek için 24 gözenekli doku kültür kaplarından yararlanılmıştır (Şekil 2). Her konukçu türü için biri kontrol grubu olmak üzere üç kültür kabı kullanılmıştır. 24 gözenekli doku kültür kaplarının her gözeneğine ince elekten elenmiş ve etüvde 170 °C'de 2 saat süreyle sterilize edilmiş 0.5 g ince kum doldurulmuş ve kum doldurulan gözeneklerin her birine 60 µl'de 50 tane infektif juvenil olacak şekilde nematod süspansiyonu eklenmiştir. Nematodların eklendiği kaplar 1 saat süreyle deney sıcaklıkları olan 15, 24 ve 30 °C'de bekletilmiştir. Bir saat sonra kapların her gözeneğine *G. mellonella*, *A. grisella* ve *E. kuehniella* larvaları ayrı ayrı konulmuş ve kapları kapatılmıştır.

Kontrol grubunda ise her gözeneğe sadece 60 µl saf su eklenip gözeneklere konukçular yerleştirilmiştir. Hazırlanan deney ortamının kurumaması için kültür



Şekil 2. *Heterorhabditis bacteriophora*'nın konukçularını enfekte etmesi için 24 gözenekli doku kültür kaplarında hazırlanan kum ortamı (a) Nematod tarafından henüz enfekte edilmemiş larvalar, (b) Nematodun enfekte ettiği ve rengi değişmiş larvalar

kapları plastik poşetler içerisine alınmış ve belirlenen sıcaklıklardaki inkübatörlere yerleştirilmiştir.

Konukçu larvalarının ölüm sürelerini belirlemek için deneme kapları her gün kontrol edilmiştir. Her bir konukçu içerisine giren nematod sayısını belirlemek için enfekte olan larvalar alınmış ve saf su ile kumlarından temizlenmiştir. Bu larvalar White trap sistemine alınarak oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra larvalar bir petri kabında konukçu dokusunu parçalamak ve sayılacak olan nematodları net bir şekilde görülür hale getirmek için pepsin solüsyonu (8 g pepsin, 23 g NaCl, 20 ml HCl ve 940 ml saf su) içinde pens ve diseksiyon iğnesi yardımıyla parçalanmıştır (Hazır, 2002). Larvaları parçaladıktan sonra kapağı kapatılan petripler çalkalayıcı inkübatörde (37.5 °C; RPM: 50-55) 2-2.5 saat bekletilmiştir. Dokular kaybolduğunda petripler inkübatörden alınıp her larva içerisine giren nematodlar binoküler mikroskop altında 45X büyütmede sayılmıştır.

Farklı sıcaklıklarda ve farklı konukçularda nematodun gelişimini takip etmek için doku kültür kaplarındaki kum ortamında enfekte olan larvalar White trap sistemine alınarak deneme sıcaklıklarına yerleştirilmiştir. Yeni nesil nematodların konukçulardan ilk çıkış zamanlarını belirlemek için hazırlanan White trap düzenekleri her gün kontrol edilmiştir. Her larvadan çıkış yapan nematodlar ölçekli bir beherin içine alınmıştır. Beherden 80 µl örnek alınarak binoküler mikroskop altında sayılmıştır. Bu işlem birkaç kez tekrarlandıktan sonra ortalama değer belirlenip, bu değer kullanılarak toplam hacime göre genelleştirilmiştir. Böylece her larvadan çıkan yeni nesil nematod sayısı belirlenmiştir.

#### 2.2.4. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Denemeler tüm konukçu türleri ve denenen farklı sıcaklıklarda üçer kez tekrarlanmıştır. Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 15.0 for Windows kullanılarak yapılmıştır. Grupların karşılaştırılmasında

tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Testten elde edilen sonuçların önemli olması durumunda ortalamalar “Student-Newman-Kuel (SNK) Testi” kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde  $\alpha=0.05$  güven sınırı esas alınmıştır.

### 3. Bulgular ve Tartışma

Entomopatojenik nematodlar ve konukçusu olan böcekler ektotermik organizmalardır. Bu nedenle ortam sıcaklığı hem nematod hem de konukçu türlerini etkilemektedir (Griffin, 1993; Gouge ve ark., 1999). Çalışmada, *H. bacteriophora*'nın üç konukçu türünde farklı sıcaklıklardaki bazı biyolojik özellikleri incelenmiştir. Denenen sıcaklıkların ve konukçu türlerinin nematodun konukçuları öldürme süresi, her konukçu içerisine giren nematod sayısı, yeni nesil infektif juvenillerin konukçudan çıkış zamanı ve oluşan yeni nesil infektif juvenillerin sayısı üzerinde etkili olduğu görülmüştür (Çizelge 1-4).

#### 3.1.1. Sıcaklık ve konukçu türünün *H. bacteriophora*'nın konukçularını öldürme süresi üzerine etkisi

Denenen tüm konukçu türlerinin *H. bacteriophora* infektif juvenilleri tarafından öldürüldüğü belirlenmiştir. 24 ve 30 °C'de infektif juvenillerin konukçularını öldürme sürelerinin birbirinden farklı olmadığı ( $p>0.05$ ), ancak bu iki sıcaklıkta konukçuların 15 °C'de yetiştirilenlere göre daha erken öldürüldüğü tespit edilmiştir ( $p\leq 0.05$ ) (Çizelge 1). Aynı sıcaklıktaki farklı konukçu türlerinin ölüm süreleri karşılaştırıldığında, konukçular arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir ( $p>0.05$ ).

Hazır ve ark. (2001), beş farklı *Steinernema feltiae* izolatlarını kullanarak yaptıkları çalışmada sıcaklığın konukçunun ölüm süresi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermişler ve tüm izolatların *G. mellonella* larvalarını 25 ve 28 °C'de daha erken, bu sıcaklık değerlerinin altındaki sıcaklıklarda ise daha geç öldürdüklerini gözlemişlerdir. Aydın ve Susurluk (2005), *S. feltiae* ve *H. bacteriophora* nematod türlerinin *Tenebrio molitor* larvalarında neden oldukları ölüm oranlarının sıcaklık düştükçe azaldığını göstermişlerdir. Bununla birlikte, sıcaklığın ölüm oranına etkisi nematod türleri arasında farklılık göstermektedir. *Steinernema carpocapsae*, *S. feltiae*, *Heterorhabditis indica* ve *H. bacteriophora* türlerinin farklı sıcaklıklarda *Phaedon cochleariae* larvalarını öldürme oranlarına etkisinin incelendiği çalışmada, *S. carpocapsae*'nin 25 °C'de, *S. feltiae*'nin 20 °C'de, *H. indica* ve *H. bacteriophora*'nın ise 30 °C'de en iyi ölüm oranlarına ulaştığı ileri sürülmüştür (Mahar ve ark., 2007).

Çizelge 1. Sıcaklık ve konukçu türünün *Heterorhabditis bacteriophora* infektif juvenillerinin konukçularını öldürme süresine etkisi

| Konukçu türü               | Konukçuların ölüm süresi (gün) (Ort±SH)* |              |              |
|----------------------------|--|--------------|--------------|
|                            | Sıcaklık (°C)                            |              |              |
|                            | 15°C                                     | 24°C         | 30°C         |
| <i>Galleria mellonella</i> | 5.73±0.25 Aa                             | 2.23±0.10 Ab | 2.27±0.10 Ab |
| <i>Achroia grisella</i>    | 5.47±0.31 Aa                             | 2.37±0.11 Ab | 2.03±0.08 Ab |
| <i>Ephestia kuehniella</i> | 5.87±0.30 Aa                             | 2.23±0.09 Ab | 2.37±0.14 Ab |

\*: Her biri 10 örnekle 3 tekrarı ortalamasıdır

SH: Standart Hata

Aynı sütunda aynı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ )

Aynı satırda aynı küçük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ )

### 3.1.2. Sıcaklık ve konukçu türünün *H. bacteriophora*'nın konukçuya girebilme gücü üzerine etkisi

Tüm konukçu türleri için 15 °C'de yetiştirilenlerde 24 ve 30 °C'de yetiştirilenlere oranla daha az sayıda nematod girişinin olduğu ( $p\leq 0.05$ ) ancak 24 ve 30 °C arasında önemli bir farklılık bulunmadığı ( $p>0.05$ ) belirlenmiştir (Çizelge 2). Aynı sıcaklık derecesinde farklı konukçu türlerine giren infektif juvenil sayıları arasında önemli farklılıkların olduğu ( $p\leq 0.05$ ) ve tüm gruplarda infektif juvenillerin en fazla *G. mellonella*'ya, en az ise *E. kuehniella*'ya girdiği belirlenmiştir.

Gouge ve ark. (1999)'nın farklı konukçu ve nematod türlerini kullandıkları çalışmada da sıcaklık, konukçu türü ve nematod türünün konukçuya giriş yapan nematod sayısını önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir. Mahar ve ark. (2007)'nin çalışmasında *S. carpocapsae* ve *S. feltiae* türlerinin 25 °C'de; *H. indica* ve *H. bacteriophora* türlerinin ise 30 °C'de *P. cochleariae* larvalarına daha fazla giriş yaptıkları gösterilmiştir. Chen ve ark. (2003) Lahana sineği, *Delia radicum* ile yaptıkları çalışmada ise sıcaklığın

konukçu arama yeteneğini büyük ölçüde etkilediğini ve düşük sıcaklığın nematod aktivitesinde azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir. Bu durumun nematodların hareket kabiliyetindeki azalmadan, konukçunun daha az ipucu üretmesinden ya da nematodun konukçunun bıraktığı ipuçlarına duyarlılığının azalmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. *H. bacteriophora* ile ilgili yaptığımız çalışmada düşük sıcaklıkta konukçuya giriş yapan nematod sayısının daha az olmasında bu etkenlerden biri ya da birkaçı etkili olmuş olabilir.

### 3.1.3. Sıcaklık ve konukçu türünün yeni nesil *H. bacteriophora* infektif juvenillerinin konukçulardan çıkış süresi üzerine etkisi

*H. bacteriophora* infektif juvenillerinin konukçularından çıkış süreleri 15 °C'de 24 ve 30 °C'de yetiştirilenlere göre çok daha uzun zaman almıştır ( $p\leq 0.05$ ) (Çizelge 3). Aynı sıcaklık koşullarında konukçu türünün çıkış süreleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde ise, konukçu türleri arasında önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ( $p>0.05$ ).

Çizelge 2. Sıcaklık ve konukçu türünün *Heterorhabditis bacteriophora* infektif juvenillerinin konukçularına girebilme gücü üzerine etkisi

| Konukçu türü               | Konukçuya giren nematod sayısı (Ort±SH)* |               |               |
|----------------------------|--|---------------|---------------|
|                            | Sıcaklık (°C)                            |               |               |
|                            | 15°C                                     | 24°C          | 30°C          |
| <i>Galleria mellonella</i> | 13.30±1.12 Aa                            | 17.43±1.23 Ab | 20.50±1.38 Ab |
| <i>Achroia grisella</i>    | 9.97±0.83 Ba                             | 12.80±0.98 Bb | 13.43±0.99 Bb |
| <i>Ephestia kuehniella</i> | 5.43±0.54 Ca                             | 8.87±0.73 Cb  | 8.10±0.77 Cb  |

\*: Her biri 10 örnekle 3 tekrarı ortalamasıdır

SH: Standart Hata

Aynı sütunda aynı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ )

Aynı satırda aynı küçük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ )

Çizelge 3. Sıcaklık ve konukçu türünün *Heterorhabditis bacteriophora* infektif juvenillerinin konukçulardan çıkış süresi üzerine etkisi

| Konukçu türü               | İnfektif juvenillerin konukçudan çıkış süresi (gün) (Ort±SH)* |              |              |
|----------------------------|---|--------------|--------------|
|                            | Sıcaklık (°C)   |              |              |
|                            | 15°C  | 24°C         | 30°C         |
| <i>Galleria mellonella</i> | 29.70±0.78 Aa   | 6.00±0.17 Ab | 5.57±0.14 Ab |
| <i>Achroia grisella</i>    | 29.60±0.27 Aa   | 6.40±0.18 Ab | 5.80±0.15 Ac |
| <i>Ephestia kuehniella</i> | 30.83±0.48 Aa   | 6.27±0.13 Ab | 5.77±0.17 Ac |

\*: Her biri 10 örneklilik 3 tekrarı ortalamasıdır

SH: Standart Hata

Aynı sütunda aynı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (p>0.05)

Aynı satırda aynı küçük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (p>0.05)

### 3.1.4. Sıcaklık ve konukçu türünün üretilen infektif juvenil sayısı üzerine etkisi

Her konukçunun 50 adet *H. bacteriophora* infektif juveniline maruz bırakıldığı bu çalışmada, üretilen infektif juvenil sayısının sıcaklık ve konukçu türüne bağlı olarak değiştiği görülmektedir (Çizelge 4). *H. bacteriophora* türü laboratuvar koşullarında en iyi 30 °C'de ve *G. mellonella* larvalarında üretilmiştir. En az sayıda üretim her üç konukçu için çalışmadaki en

düşük sıcaklık olan 15 °C'de gerçekleşmiştir. *A. grisella* dışındaki diğer konukçularda sıcaklık arttıkça üretilen infektif juvenil sayısı da artmıştır.

Farklı türler ile yapılan çalışmalar yeni nesil infektif juvenillerin üretilmesinde sıcaklık, konukçu ve nematod türlerinin etkili olduklarını göstermiştir (Mason and Hominick, 1995; Gouge ve ark., 1999; Oğuzoğlu Ünlü ve Özer, 2003; Mahar ve ark., 2007; Oğuzoğlu ve Özer, 2007).

Çizelge 4. Sıcaklık ve konukçu türünün üretilen *Heterorhabditis bacteriophora* infektif juvenil sayısı üzerine etkisi

| Konukçu türü               | Üretilen infektif juvenillerin sayısı (Ort±SH)* |                      |                      |
|----------------------------|---|----------------------|----------------------|
|                            | Sıcaklık (°C)                                   |                      |                      |
|                            | 15°C  | 24°C                 | 30°C                 |
| <i>Galleria mellonella</i> | 88062.50±9798.62 Aa                             | 115430.00±7032.83 Ab | 181441.7±10940.52 Ac |
| <i>Achroia grisella</i>    | 16601.30±1060.84 Ba                             | 37937.50±2711.88 Bb  | 32833.33±2932.15 Bb  |
| <i>Ephestia kuehniella</i> | 9885.00±571.11 Ba                               | 20852.33±799.77 Cb   | 23629.03±1062.99 Bc  |

\*: Her biri 10 örneklilik 3 tekrarı ortalamasıdır

SH: Standart Hata

Aynı sütunda aynı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (p>0.05)

Aynı satırda aynı küçük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (p>0.05)

## 4. Sonuç

Bu çalışmada sıcaklık ve konukçu türünün *H. bacteriophora*'nın performansı üzerinde etkili olduğu, nematodun etkinliğinin ve gelişiminin en iyi *G. mellonella* larvalarında ve 30 °C sıcaklıkta gerçekleştiği gösterilmiştir. Steinernematid ve Heterorhabditlerin kullanıldığı çalışmalar sonucunda da Steinernematidlerin genelde soğuk ya da ılıman ortamlara, Heterorhabditlerin ise sıcak ortamlara daha çok uyum sağladığı bulunmuştur (Gouge ve ark., 1999; Hazır ve ark., 2001; Hazır, 2002; Chen ve ark., 2003; Mahar ve ark., 2007; Oğuzoğlu ve Özer, 2007). *G. mellonella*, birçok çalışmada entomopatojenik

nematodlar için en uygun konukçu olarak belirtilmiş (Gaugler, 2002; Oğuzoğlu ve Özer, 2007) ve nematodlar laboratuvar ortamında *G. mellonella* larvaları kullanılarak topraktan izole edilip üretimleri yapılmıştır (Chen ve ark., 2003; Hazır ve ark., 2003; Toledo ve ark., 2006b; Mahar ve ark., 2007; Laznik ve ark., 2009). *H. bacteriophora*'nın *G. mellonella* larvalarında diğer iki konukçuya göre daha iyi gelişim göstermesinin nedeni muhtemelen bu konukçunun diğer iki konukçuya göre daha büyük ve daha fazla besin kaynağına sahip olmasından kaynaklanmış olabilir. Düşük sıcaklıkta nematodun performansındaki azalma ise daha önce de ifade edildiği gibi nematodun hareketliliğindeki azalmadan, konukçunun daha az

ipucu üretmesinden ya da nematodun konukçu ipuçlarına daha az duyarlılık göstermesinden olabilir.

Entomopatojenik nematodlar ile yapılacak biyolojik mücadele çalışmalarında başarı için, konukçu olarak seçilecek türlerin entomopatojenik nematodlar için hedef türler olmasına dikkat edilmesi, ayrıca nematodların özelliklerinin ve konukçuları ile olan değişik ilişkilerinin çok iyi incelenmesi gerekmektedir. Bu doğrultuda entomopatojenik nematodların zararlı böceklerin kontrolünde kullanılmasının, biyolojik mücadele uygulamalarına büyük katkı sağlayacağı ümit edilmektedir.

## Teşekkür

Çalışmada kullanılacak nematod türünün belirlenmesindeki katkısı için Prof Dr. Sevilhan Mennan'a, nematod kültürünün temininde ve yetiştirilmesindeki yardımları için Prof Dr. Selçuk Hazır'a ve Araştırma görevlileri Barış Gülcü ile Derya Aşıcı'ya teşekkür ederiz. Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından PYO.FEN.1904.10.005 kodlu proje ile yüksek lisans tez çalışması olarak desteklenmiştir.

## Kaynaklar

- Aydın, H., Susurluk, A., 2005. Competitive abilities of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* in the same host at different temperatures. *Turk. J. Biol.*, 29: 35-39.
- Brown, I.M., Gaugler, R., 1996. Cold tolerance of steinernematid and heterorhabditid nematodes. *J. Thermal Biol.*, 21: 115-121.
- Chen, S., Li, J., Han, X., Moens, M., 2003. Effect of temperature on the pathogenicity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to *Delia radicum*. *BioControl*, 48: 713-724.
- Ciche, T., 2007. The biology and genome of *Heterorhabditis bacteriophora* (February 20, 2007), *WormBook*, ed. The *C. elegans* Research Community, <http://www.wormbook.org>.
- Forst, S., Dowds, B., Boemare, N., Stackebrandt, E. 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: Bugs that kill bugs. *Annu. Rev. Microbiol.*, 51: 47-72.
- Gaugler, R., 2002. *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Wallingford, UK, New York, 388 s.
- Glazer, I., 1995. Application of Entomopathogenic Nematodes on Plant Foliage. *Cost 819 Application and Persistence of Entomopathogenic Nematodes*, EUR 18873, 37 s.
- Gouge, D.H., Lee, L.L., Henneberry, T.J., 1999. Effect of temperature lepidopteran host species on entomopathogenic nematode (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae) infection. *Environ. Entomol.* 28 (5): 876-883.
- Grewal, P.S., Ehlers, R.U., Shapiro-Ilan, D.I., 2005. *Nematodes as Biocontrol Agents*. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK, 505 s.
- Griffin, C.T., 1993. Temperature responses of entomopathogenic nematodes: implication for the success of biological control programmes. In: *Nematodes and the Biological Control of Insect Pests*. (Editörler: R. Bedding, R. Akhurst, H. Kaya), CSRIO Publications, East Melbourne, Victoria, s: 115-126.
- Hazır, S., Stock, S.P., Kaya, H.K., Koppenhöfer, A.M., Keskin N., 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 77: 243-250.
- Hazır, S., 2002. Türkiye'deki entomopatojenik nematodlar (Steinernematidae ve Heterorhabditidae) üzerine faunistik çalışmalar. Doktora Tezi. Hacettepe Üniv. Fen Bil. Enst. Ankara.
- Hazır, S., Kaya, H.K., Stock, P., Keskin, N., 2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. *Turk. J. Biol.*, 27: 181-202.
- 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 Sci. Technol.*, 6:317-331.
- Karagöz, M., Gülcü, B., Hazır, C., 2009. Biological control potential of Turkish entomopathogenic nematodes against the Mediterranean Fruit Fly *Ceratitis capitata*. *Phytoparasitica*, 37: 153-159.
- Kaşkavalı, G., 1999. Böceklerle karşı biyolojik savaşta nematodların yeri. *Tür. Entomol. Derg.*, 23 (4): 305-314.
- Kaya, H.K. 1990. Soil ecology. In *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. (Editörler: R. Gaugler and H.K. Kaya), CRC Press, Boca Raton, FL, s: 93-115.
- Kaya, H.K., Gaugler, R., 1993. Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomol.*, 38: 181-206.
- Kaya, H.K., Koppenhöfer, A.M., 1999. Biology and Ecology of Insecticidal Nematodes. *Proceeding of Workshop, August 28-30, 1999, New Brunswick, New Jersey, USA. Optimal Use of Insecticidal Nematodes in Pest Management* (Editör: Polavarapu, S.), s: 1-8, Blueberry Cranberry Research and Extension Center, Rutgers University, Chatsworth, NJ.
- Kaya, H.K., Koppenhöfer, A.M., 2004. Biological Control of Insects and Other Invertebrates with Nematodes. In *Nematology: Advances and Perspectives. Volume 2: Nematode Management and Utilization*. (Editörler: Z.X. Chen, S.Y. Chen, D.W. Dickson), s: 1083-1132, Tsinghua University Press, CABI Publishing.
- Koppenhöfer, A.M., 2000. Nematodes. In: *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. (Editörler: L.A. Lacey, H.K. Kaya), Kluwer, Dordrecht, The Netherlands s: 283-301.
- Laznik, Z., Toth, T., Lakatos, T., Trdan, S., 2009. *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar)-the first member from Heterorhabditidae family in Slovenia. *Acta Agric. Slov*, 93 (2): 181-187.
- Mahar, A.N., Jan, N.D., Mahar, G.M., Hullio, M.H., Lanjar, A.G., Buriro, A.H., 2007. Effectiveness of entomopathogenic nematodes against the larvae of Mustard Beetle *Phaedon cochleariae* at different temperatures. *Int. J. Agri. Biol.*, 6: 851-856.
- Mason, J.M., Hominic, W.M., 1995. The effect of temperature on infection, development and reproduction of Heterorhabditids. *J. Helminthol.*, 69 (4): 337-345.

- Oğuzoğlu Ünlü, I., Özer, N., 2003. Evaluation of the reproductive potential and competition between two entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). Turk. J. Biol., 27: 149-155.
- Oğuzoğlu, I., Özer, N., 2007. Bioassays of entomopathogen nematode *Steinernema feltiae* all type (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora* Tur-H2 (Rhabditida: Heterorhabditidae). Hacettepe J. Biol. Chem., 35 (1): 39-44.
- Poinar, G.O., 1983. Nematode Parasites of Invertebrates. In The Naturel History of Nematodes. (Editör: G.O. Poinar), Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, s: 161-202.
- 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*. Biol. Control, 48: 232-236.
- Radova, S., Trnkova, Z., 2010. Effect of soil temperature and moisture on the pathogenicity of two species of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). J. Agrabiol., 27 (1): 1-7.
- Toledo, J., Rojas, R., Ibarra, J.E., 2006a. Efficiency of *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae) on *Anastrepha serpentina* (Diptera: Tephritidae) larvae under laboratory conditions. Fla. Entomol., 89 (4): 524-526.
- Toledo, J., Rasgado, M.A., Ibarra, J.E., Gomez, A., Liedo, P., Williams, T., 2006b. Infection of *Anastrepha ludens* following soil application of *Heterorhabditis bacteriophora* in a mango orchard. Entomol. Exp. Appl., 119:155-162.
- Webster, J.M., 1972. Nematodes and Biological Control. In Economic Nematology. (Editör: J.M. Webster), Academic Press, Inc. Ltd., London, s: 469-496.
- White, G.F., 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. Sci., 66, 302-303.
- Woodring, J.L., Kaya, H.K., 1988. Steinernematid and Heterorhabditid Nematodes: A Handbook of Biology and Techniques. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, Arkansas, 30 s.
- Wozniak, C.A., Smith, G.A., Kaplan, D.T., Schroeder, W.J., Campbell, L.G., 1993. Mortality and aberrant development of the sugarbeet root maggot (Diptera: Otitidae) after exposure to Steinernematid nematodes. Biol. Control, 3: 221-225.
- Yılmaz, H., Waeyenberge, L., Demir, İ., Moens, M., Demirbağ, Z., 2009. A new entomopathogenic nematode species for Turkey, *Heterorhabditis megidis* Poinar, Jakson & Klein 1987 (Rhabditida: Heterorhabditidae). Turk. J. Agric. For., 33: 385-391.