

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
2017-YL-046

Xenorhabdus VE *Photorhabdus* BAKTERİ
SEKONDER METABOLİTLERİNİN
Tetranychus urticae (ACARI:
TETRANYCHIDAE)' YE KARŞI
ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ceren EROĞLU

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. İbrahim ÇAKMAK

AYDIN

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Ceren EROĞLU tarafından hazırlanan “*Xenorhabdus* Ve *Photorhabdus* Bakteri Sekonder Metabolitlerinin *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)’ ye Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesi” başlıklı tez, 29.11.2017 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof. Dr. İbrahim ÇAKMAK	Adnan Menderes Üniv.	
Üye :	Prof. Dr. Hüseyin BAŞPINAR	Adnan Menderes Üniv.	
Üye :	Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU	Ege Üniv.	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY
Enstitü Müdürü

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

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

29/11/2017

Ceren EROĞLU

ÖZET

***Xenorhabdus* VE *Photorhabdus* BAKTERİ SEKONDER METABOLİTLERİNİN *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)' YE KARŞI ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Ceren EROĞLU

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim ÇAKMAK
2017, 41 sayfa

Entomopatojen nematodlarla simbiyotik ilişkili bakteriler *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. bovienii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens* ve *P. temperata* tarafından üretilen sekonder metabolitlerin etkinliği hücrelerinden arındırılmış bakteri süpernatantları kullanılarak *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)' nin farklı gelişme dönemlerine karşı petri koşullarında araştırılmıştır. Ayrıca petri denemelerinde en iyi sonuç veren bakteri süpernatantlarının etkinliği saksı koşullarında *T. urticae* üzerinde test edilmiştir. Çalışma 25±1 °C sıcaklık, %70±5 orantılı nem ve 16 saat aydınlık koşullardaki iklim odasında yürütülmüştür. Petri denemelerinde uygulamadan 7 gün sonra, süpernatantlar *T. urticae*'nin yumurta, larva, protonimf, deutonimf, ergin erkek ve ergin dişi dönemleri üzerinde sırasıyla %2.50-4.50, %46.45-97.86, %30.69-96.04, %41.74-92.41, %92.03-100.00 ve %46.28-93.32 oranında ölüm meydana getirmişlerdir. Tüm bakteri süpernatantları yumurta dönemi üzerinde çok düşük etki göstermiş ve aralarında istatistiki olarak fark ortaya çıkmamıştır. *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantları, *T. urticae*'nin hareketli dönemleri üzerinde %90'ın üzerinde ölüm meydana getirmiş ve diğer bakteri süpernatantları ile karşılaştırıldığında en yüksek etkiyi göstermişlerdir. Saksı denemeleri sonucunda, *X. szentirmaii*, *X. nematophila* ve *X. szentirmaii* + *X. nematophila* karışımı *T. urticae* popülasyonunu önemli derecede düşürmüşlerdir. Sonuç olarak, *X. szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantlarının *T. urticae*'ye karşı potansiyel kontrol etmeni olarak kullanılabileceği ortaya çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kırmızı örümcek, *Tetranychus urticae*, *Xenorhabdus*, *Photorhabdus*, entomopatojen nematodlar.

ABSTRACT

EVALUATION OF *Xenorhabdus* AND *Photorhabdus* BACTERIAL SECONDARY METABOLITES AGAINST *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)

Ceren EROĞLU

M.Sc. Thesis, Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim ÇAKMAK

2017, 41 pages

The effectiveness of secondary metabolites produced by symbiotic bacteria, *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. bovienii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens* and *P. temperata* associated with entomopathogenic nematodes was investigated against different developmental stages of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) using cell-free bacterial supernatants in Petri dishes. In addition, the effectiveness of the most virulence bacterial supernatant(s) found in Petri dish experiments was tested on *T. urticae* in pot experiments. All studies were conducted at $25\pm1^{\circ}\text{C}$ temperature, $70\pm5\%$ relative humidity and a light cycle of 16h in a climate room. The result of the Petri dish experiments showed that the mortality rate of bacterial supernatants on *T. urticae* egg, larva, protonymph, deutonymph, adult male and adult female at 7 days post-treatment varied between 2.50-4.50%, 46.45-97.86%, 30.69-96.04%, 41.74-92.41%, 92.03-100.00% and 46.28-93.32%, respectively. All of the bacterial supernatants showed a very low effect on the egg period and no statistical difference was found among them. *Xenorhabdus szentirmaii* and *X. nematophila* caused more than 90% mortality rate on the mobile stages of *T. urticae* and they showed the highest efficacy when compared to other bacterial supernatants. As a result of the pot experiments, supernatants of *X. szentirmaii*, *X. nematophila* and *X. szentirmaii* + *X. nematophila* combine application significantly reduced the *T. urticae* population. As a result, *X. szentirmaii* and *X. nematophila* supernatants could be used as potential control agents against *T. urticae*.

Key Words: Spider mites, *Tetranychus urticae*, *Xenorhabdus*, *Photorhabdus*, entomopathogenic nematodes.

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyuncaengin bilgi ve tecrübeleriyle değerli katkılarını ve yardımlarını benden esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. İbrahim ÇAKMAK’a,

Bakteri süpernatantların elde edilmesi için tüm imkanlarıyla laboratuvarlarını çalışmalarına açan, bilgi ve deneyimleriyle her türlü yardım ve desteği sağlayan çok değerli hocam Prof. Dr. Selçuk HAZİR’a

Çalışmalarımday kullandığım bakteri süpernatantlarını elde ederek benden yardımlarını ve desteklerini eksik etmeyen Arş. Gör. Derya AŞICI ve Uzman Harun ÇİMEN’e,

Tez çalışmam boyunca yardımlarıyla bana destek olan değerli arkadaşlarım Mustafa ALTINTAŞ ve Duygu CEVİZCİ’ye,

Tez projesine verdikleri maddi destekten dolayı Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu (ZRF-17027)’na,

Bu günlere gelmemde büyük emekleri olan, eğitimim esnasında hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen çok değerli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Ceren EROĞLU

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
2.1. Fungus ve Bakteriler Üzerindeki Etkileri.....	6
2.2. Nematodlar Üzerindeki Etkileri	7
2.3. Böcekler Üzerindeki Etkileri.....	7
2.4. Akarlar Üzerindeki Etkileri.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM	10
3.1. Bitki Üretimi	10
3.2. <i>Tetranychus urticae</i> Üretimi	11
3.3. <i>Xenorhabdus</i> ve <i>Photorhabdus</i> Bakterilerinin Elde Edilmesi.....	12
3.4. Bakteri Sekonder Metabolitlerinin Üretilmesi	13
3.5. Bakteri Sekonder Metabolitlerinin <i>Tetranychus urticae</i> 'nin Farklı Biyolojik Dönemleri Üzerindeki Etkinlikleri.....	16
3.5.1. Petri Denemeleri.....	16
3.5.2. Saksı Denemeleri.....	17
3.6. İstatistiksel Analizler.....	19
4. BULGULAR.....	20
4.1. Petri Denemeleri.....	20

4.2. Saksı Denemeleri.....	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	41



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kırmızı örümcek erginleri.....	1
Şekil 1.2. Kırmızı örümceklerin yaprakta meydana getirdiği zarar	2
Şekil 1.3. Kırmızı örümceklerin bitkide meydana getirdiği ağ tabakası	2
Şekil 1.4. <i>Xenorhabdus</i> bakterileri ve antibiyotik üretimi	4
Şekil 1.5. <i>Photorhabdus</i> bakterileri ve antibiyotik üretimi	5
Şekil 3.1. Fasulye yetiştirmek için kullanılan saksılar	10
Şekil 3.2. Üretilen fasulye bitkileri	11
Şekil 3.3. <i>Tetranychus urticae</i> ile bulaştırılmış fasulye bitkileri.....	12
Şekil 3.4. Kadavradan elde edilen bakterilerin NBTA planklarına ekimi.....	13
Şekil 3.5. Sekonder metabolitlerin bulunduğu bakteri süpernatantı.....	14
Şekil 3.6. Bakteri süpernatantlarının steril falkon tüplere aktarılması	14
Şekil 3.7. Bakteri süpernatantlarının santrifüjlenmesi	15
Şekil 3.8. Bakteri hücreleri uzaklaştırılmış süpernatantlar.....	15
Şekil 3.9. Çalışmalarda kullanılmak üzere hazırlanmış petrilere.....	16
Şekil 3.10. Kültürden petrilere kırmızı örümcek aktarılması	17
Şekil 3.11. Denemede kullanılan saksılar	18
Şekil 3.12. Kırmızı örümceklerin yapraklara transferi.....	18
Şekil 4.1. Bakteri süpernatantlarının <i>Tetranychus urticae</i> 'nin yumurta dönemine etkileri.....	20
Şekil 4.2. Bakteri süpernatantlarının <i>Tetranychus urticae</i> 'nin larva dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra	21
Şekil 4.3. Bakteri süpernatantlarının <i>Tetranychus urticae</i> 'nin protonimf dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra.....	22

- Şekil 4.4. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin deütonimf dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra 24
- Şekil 4.5. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin ergin erkek dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra 25
- Şekil 4.6. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin ergin dişi dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra 26
- Şekil 4.7. *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin farklı biyolojik dönemleri üzerindeki etkileri. 28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. <i>Steinernema</i> ve <i>Heterorhabditis</i> türleri ve ilişkili oldukları bakteriler.....	12
---	----



1. GİRİŞ

İki noktalı kırmızı örümcek *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), dünyada tarımsal alanlarda geniş ölçüde yayılmış önemli polifag bir zararlı türdür. Bu zararlının sebzeler başta olmak üzere, meyveler, mısır, pamuk, süs bitkileri ve yabancı otları da içine alan çok sayıda konukçusunun olduğu ve 800'den fazla konukçu bitki üzerinde tespit edildiği bildirilmektedir (Migeon ve Dorkeld, 2010). *Tetranychus urticae*, bitkilerin yaprak, meyve ve sapsı üzerinde emgi yaparak zarar oluşturmaktadır (Şekil 1.1 ve Şekil 1.2).



Şekil 1.1. Kırmızı örümcek erginleri

Tetranychus urticae'nin yapraklarda beslenmesi sonucu bitkide klorofil sentezi engellenmekte, klorofil kaybından dolayı sarılık ve nekrotik kahverengi lekeler oluşmaktadır (Kulkarni vd., 2008). Ayrıca akarın yapraklarda beslenmesi ve oluşturduğu ağlar nedeniyle bitki renginde solgunluk oluşmaktadır (Lahai vd., 2003) (Şekil 1.3). Özümlenmenin gerilediği bu yapraklar sararıp kuruyarak zamanından önce dökülmektedir. Kırmızı örümceğin zararının devam etmesi meyve deformasyonuna ve bitki büyümesinin engellenmesine neden olmaktadır (Jeppson vd., 1975).

Ürün veriminde %40-60 oranında azalma ve popülasyonun çok yüksek olduğu durumlarda ise tamamen ürün kaybı meydana gelmektedir (Hussey ve Scopes, 1985; Anonim, 2011).



Şekil 1.2. Kırmızı örümceklerin yaprakta meydana getirdiği zarar



Şekil 1.3. Kırmızı örümceklerin bitkide meydana getirdiği ağ tabakası

Tetranychus urticae gelişme süresinin kısa ve üreme gücünün yüksek olması nedeniyle popülasyonunu kısa sürede hızla arttırabilmektedir (Shih vd., 1976). Zararlıının hızlı çoğalması, yüksek doğurganlık ve kısa yaşam döngüsü birçok kimyasal böcek ilacına karşı kısa sürede dayanıklılık sağlayabilmektedir. Ayrıca kullanılan bu pestisitlerin *T. urticae*'nin doğal düşman popülasyonları üzerinde ölüm meydana getirdiği ve bu nedenle kırmızı örümcek popülasyonunda da artışa neden olduğu düşünülmektedir (Gatarayiha vd., 2010). Bu zararlıya karşı kullanılan pestisitler aynı zamanda çevre kirliliğine neden olmaktadır.

Bu zararlıının kimyasal mücadelesine alternatif olarak biyolojik mücadele çalışmaları birçok ülkede yürütülmüştür ve sonuç olarak predatör akarlar, *T. urticae* popülasyonlarının baskılanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyolojik mücadelede en fazla kullanılan avcı akarlar Phytoseiidae familyasına ait *Phytoseiulus persimilis* ve *Neoseiulus californicus* türleridir (Cakmak vd., 2005; 2009). Avcı akarlar dışında patojen olarak bakteri, fungus, virüs, riketsia, protozoa ve nematodların da akarlar üzerinde hastalık oluşturdıkları bildirilmektedir (Poinar ve Poinar, 1998). Bunların yanında bakterilerin ürettikleri sekonder

metabolitlerin de böcekler ve akarlar üzerinde öldürücü etkiye sahip oldukları bildirilmektedir (Seo vd., 2012; Dhanasekaran ve Thangaraj, 2014).

Sekonder metabolitler mikroorganizmaların kendilerini ve besin kaynaklarını diğer mikroorganizma türlerinden korumak için ürettikleri maddelerdir. Özellikle toprak veya canlı organizmaların bağırsak florasında yaşayan mikroorganizmalar hayatta kalabilmek için pek çok farklı gruptan organizma ile mücadele etmek zorundadırlar. Bu nedenle bu tür habitatlarda yaşayan mikroorganizmaların hem çok çeşitli hem de etki gücü yüksek sekonder metabolitler üretmeleri gerekmektedir. Buna en iyi örneklerden birisi son yıllarda üzerlerinde çalışmaların yapıldığı Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait entomopatojen nematodlarla (böcek öldüren nematodlar) mutualistik yaşayan *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterileridir (Forst vd., 1997).

Photorhabdus spp. ve *Xenorhabdus* spp. Enterobacteriaceae'ya ait gram-negatif bakterilerdir. Simbiyotik ilişkili bulundukları Heterorhabditid ve Steinernematid nematodlardan salındıktan sonra konukçu böcek hemosolü içerisine girerler (Shapiro-llan vd., 2008). Böcek hemosolü içerisine bırakılan bu bakteriler hızla üreyerek bir dizi toksin ve hidrolitik enzim üretirler. Bu olay sonucu konukçu böcek 24-48 saat içerisinde septicemia'dan ölmektedir (Kaya ve Gaugler, 1993). Ayrıca salınan enzimler böcek dokusunu parçalayarak nematodların gelişmeleri ve üremeleri için ihtiyaç duydukları besin çorbasını oluştururlar.

Konukçunun ölümünden sonra da nematod gelişimi ve bakteri üremesi devam eder. Bakteriler kadavra içerisinde hızla çoğaldıktan sonra üreme safhalarının sonuna doğru, bulundukları ortamı diğer mikroorganizmalara karşı koruyacak bir takım antimikrobiyal bileşikler üretmektedirler (Forst ve Clarke, 2002; Clarke ve Eberl, 2006). Bu antimikrobiyal bileşikler diğer, fungus, bakteri virüs ve protozoon'lara karşı etkili olan antimikrobiyallerle *Photorhabdus* türlerine yakın olan bakterilere karşı aktif olan xenorhabdisin ve lumisinler gibi bakteriosinleri içermektedir (Webster vd., 2002, Sharma vd., 2002, Thaler vd., 1995) (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. *Xenorhabdus* bakterileri ve antibiyotik üretimi

Bakteriosinlerin varlığı nematodla aralarındaki simbiyosiz açısından önemlidir. Böylece rekabet oluşturacak benzer bakteri gruplarına üstünlük sağlamaktadırlar. Lumisinler diğer *Photorhabdus* türleri dışında, filogenetik olarak da uzak bir tür olan *E. coli*'ye de etkilidir. Böylece böceğin bağırsak florasının temizlenmesinde de bu bakteriosinlerin rol oynadığı düşünülmektedir (Sharma vd., 2002).

Kültür ortamına *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* cinsi bakteriler tarafından lipazlar, proteazlar, antibiyotikler, lipopolisakkaritler ve toksinlerde dahil olmak üzere bir çok madde salgılanır (Hu ve Webster, 2000; Caldas vd., 2002; Richards vd., 2008).

Photorhabdus, izopropylstilben (isopropylstilbenes) ve etilstilben (ethylstil-benes), antraquinon (anthraquinones-AQs) ve sidrofor fotobaktin (sidero-phore photobactin) ürettiği bilinen tek bakteri cinsidir. *Photorhabdus* bakterileri bitkiler alemi dışında stilben üretebilen tek canlıdır. Stilbenler gram pozitif bakterilere ve funguslara karşı antimikrobiyal aktivite gösterirler, böceklerin immün sistemindeki fenol-oksidazları inhibe ederler ve nematodların tam bir gelişim göstermeleri için gerekli sinyal molekül olarak görev yaparlar (Bode, 2009) (Şekil 1.5).

Entomopatojen nematodlar konukçu içerisine girip öldürdükten sonra enfekte kadavra yeni nesil nematodların çıkış yapmasına kadar geçen sürede (7-15 gün) toprağın içerisinde ya da üzerindedir. Bu süre boyunca içerisinde nematodların üremekte olduğu kadvralar karıncalar, akarlar, çekirgeler, kuşlar, collembolalar ve tardigratlar gibi yağmacıların saldırılarına açıktır (Kaya, 2002). Ancak *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterileri tarafından üretilen bazı sekonder

metabolitler nedeniyle bu yağmacılar nematodlarla enfekte olan kadavralardan uzak durmaktadırlar (Zhou vd., 2002; Gulcu vd., 2012; Jones vd., 2017).



Şekil 1.5. *Photorhabdus* bakterileri ve antibiyotik üretimi

Xenorhabdus ve *Photorhabdus* bakterileri tarafından üretilen antibakteriyal (Akhurst, 1980, 1982; Webster vd. 2002; Boemare ve Akhurst 2006; Furgani vd., 2008) ve antifungal (Chen vd., 1994; Webster vd., 2002; Shapiro-Ilan vd., 2009, 2014; Fang vd., 2011, 2014; Bock vd., 2014; Hazir vd., 2016a) sekonder metabolitler üzerine yürütülmüş pek çok çalışma bulunmasına rağmen entomopatojen nematodlarla ilişkili simbiyotik bakterilerin ürettiği sekonder metabolitlerin akarlar üzerindeki etkileri üzerine literatürde sadece beş çalışma bulunmaktadır (Bussaman vd., 2006, 2009, 2012; Sobanboa vd., 2009; Namsena vd. 2016). *Xenorhabdus* veya *Photorhabdus* bakteriyel sekonder metabolitlerinin tarımsal zararlı *T. urticae*'ye karşı etkisi hakkında literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bakteriler tarafından üretilen sekonder metabolitlerin etkililiği ve çeşitliliğinin türlere (hatta izolata) bağlı olarak değiştiği bilinmektedir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı ilk aşamada farklı *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterileri tarafından üretilen sekonder metabolitlerin *T. urticae*'ye karşı etkisini petri denemelerinde belirlemektir. İkinci aşamada ise; en etkili bakteri süpernatant(lar)ın saksı denemelerinde *T. urticae* üzerindeki etkinlikleri belirlemek amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Entomopatojen nematodlarla simbiyotik ilişkili bakterilerin ürettikleri sekonder metabolitlerin akarlar üzerindeki etkileri ile ilgili çok sınırlı sayıda literatür bulunmaktadır. Bu nedenle bakteri sekonder metabolitlerinin funguslar, bakteriler, nematodlar, böcekler ve akarlar üzerinde etkilerine ilişkin literatür aşağıda özetlenmeye çalışılmıştır.

2.1. Fungus ve Bakteriler Üzerindeki Etkileri

Chen vd. (1994) *Xenorhabdus nematophilus*, *X. bovienii* ve *Photorhabdus luminescens*'in ürettikleri anti-fungal maddelerin 32 fungus türü üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bitki patojeni funguslardan *Botrytis cinerea*, *Ceratocystis ulmi*, *C. dryocoetidis*, *Mucor piriformis*, *Pythium coloratum*, *P. ultimum* ve *Trichoderma pseudokoningii*'nin gelişmesi tamamen inhibe olurken mikorizal fungus *Suillus pseudobrevipes* ise hiç etkilenmemiştir.

Li vd. (1995) *Xenorhabdus bovienii*'nin ürettiği antibiyotikler, indoller ve dithiopyrrolonlar'ın *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Pythium ultimum* 'un gelişmesini tamamen inhibe ettiklerini bildirmişlerdir.

Li vd. (1997) ve Furgani vd. (2008) entomopatojen nematodlarla simbiyotik ilişkili bakteri kültürlerinden biyolojik aktiviteye sahip Xenomins, Xenorxids, Xenorhabdins, suda çözünür Xenocoumacins, Nematophin, Anthrakinonlar gibi sekonder metabolitler tespit etmişlerdir. Bu bileşiklerin in vitro olarak gram pozitif bakterilere ve mantarlara karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Hazır vd. (2016a) arklı *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakteri süpernatantlarını bitki patojenleri *Fusicladium carpophilum*, *F. effusum*, *Monilinia fructicola*, *Glomerella cingulata* ve *Armillaria tabescens* üzerinde test etmişlerdir. *Xenorhabdus* bakterilerinin *Photorhabdus*'lara göre çok daha etkili antifungal metabolit ürettiklerini ve *Xenorhabdus* türleri arasında da etkinlik bakımından patojen türüne bağlı olarak önemli farklılıklar olduğunu belirlemişlerdir.

2.2. Nematodlar Üzerindeki Etkileri

Hu vd. (1999) *Photorhabdus luminescens* bakteri kültüründen elde edilen indole ve 3,5 dihidroxy-4 izopropylstilben metabolitlerinin *Aphelenchoides rhytium* ve *Bursaphelenchus* spp. nematodlarının 4. dönem juvenillerini ve erginlerini %100 oranında öldürdüğünü tespit etmişierdir.

2.3. Böcekler Üzerindeki Etkileri

McInerney vd. (1991) entomopatojen nematodlarla ilişkili bakterilerin ürettikleri *Xenorhabdin-2*'nin *Heliothis punctigera* larvalarına karşı etkinliğini araştırmışlardır. *Xenorhabdin-2*'nin larva beslenmesini engelleyerek %100 oranda ölüm meydana getirdiği ve hayatta kalan larvalarda da ağırlık kaybına neden olduğu tespit edilmiştir.

Ansari vd. (2003) entomopatojen nematodlarla ilişkili simbiyotik bakteriler *Photorhabdus luminescens*, *Xenorhabdus bovienii* ve *Xenorhabdus poinarii*'nin *Hoplia philanthus* (Coleoptera: Scarabaeidae) ve *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları üzerindeki etkinliklerini araştırmışlardır. *P. luminescens* ve *X. bovienii*, her iki larvayı da 72 saat sonra %100 oranında öldürmüştür. *Xenorhabdus poinarii* ise her böcek türünde daha düşük ölüme neden olmuştur.

Mohan vd. (2003) entomopatojen nematod *Heterorhabditis indica* ile simbiyotik yaşayan *Photorhabdus luminescens*'in Lahana keleşi, *Pieris brassicae* larvaları üzerindeki etkileri tarla koşullarında araştırmışlardır. Uygulamadan 24 saat sonra larvalarda % 100 ölüm meydana geldiği bildirilmiştir.

2.4. Akarlar Üzerindeki Etkileri

Bussaman vd. (2006) *Photorhabdus* ve *Xenorhabdus*'ların mantar akarı, *Luciaphorus* sp. (Acari: Pygmephoridae) üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Anti-fungal madde ürettikleri de bilinen bu bakterilerden 21 tanesinin mantar, *Lentinus squarrosulus*'un misel gelişimini etkilediği saptanmıştır. Daha sonra uygulanan sekiz bakteri türünün hücresiz süpernatantları mantar gelişimini olumsuz yönde etkilemediği belirlenmiş ve bu bakterilerin akarlar üzerinde 24-48 saat içinde ölüm meydana getirdikleri saptanmıştır. *Photorhabdus luminescens* ssp. *laumondii*'nin iki suşu (GPS12 ve GPS11), 48 saat içinde akarlarda %90-95

oranında ölüm meydana getirerek test edilen sekiz bakteri içinde en etkili olmuşturlardır. Bu çalışma, entomopatojen bakteriler *Photorhabdus* ve *Xenorhabdus*'ların akarısidal aktiviteleri üzerine ilk kayıttır.

Bussaman vd. (2009)'nin yaptıkları başka bir çalışmada altı bakteri türünün (*P. luminescens* (P1), *X. nematophila* (X1), *X. nematophila* (X2), *X. bovienii* (X3), *X. poinarii* (4) ve *Xenorhabdus* sp. (5)) mantar akarı *Lentinus perniciosus* üzerine etkilerini araştırmışlar ve tüm simbiyotik bakterilerin mantar akarı *L. perniciosus* dişilerine karşı doğrudan toksik olduğunu bildirmişlerdir. *Lentinus perniciosus* dişilerinin maksimum ölüm oranı (sırasıyla % 85 ve % 83), akarların *X. nematophila* (X1) ve *P. luminescens*'in (P1) bakteri kültürleriyle muamele edilmesinden üç gün sonra saptanmıştır. *Xenorhabdus nematophila* (X1) bakteri kültürünün akarlarda oluşturduğu ölüm oranının doza bağlı olarak arttığı belirtilmiştir. *Xenorhabdus nematophila* (X1)'nın en yüksek konsantrasyonu (1×10^8 hücre/ml) dişi akarlarda %85 ölüm oranıyla en yüksek etkiyi gösterirken, en düşük konsantrasyonu (1×10^4 hücre/ml) ise %40'lık en düşük ölüm oranını meydana getirmiştir.

Sobanboa vd. (2009) mantarlarda zararlı akar *Luciaphorus* sp.'ye karşı altı simbiyotik bakteri, *Xenorhabdus* sp. (X1), *X. nematophila* (X2), *X. poinarii* (X3), *Xenorhabdus* sp. (X4), *Photorhabdus luminescens* (P1) ve *P. luminescens akhurstii* (P2)'nin etkinliklerini araştırmışlardır. *Xenorhabdus* sp. (X1)'nin hücre süspansiyonu (1×10^8 hücre/ml) %82.5 oranında akar ölümüne neden olmuştur. Bakteri kültürlerinin yaşı ile akarlarda meydana getirdikleri ölüm oranı değişmiş, iki günlük kültürde %82.5, üç günlük kültürde ise %74.17 ölüm oranı görülmüştür. Bunlara ilave olarak bakteri kültürü 30 °C yetiştirildiğinde akarlarda ölüm oranı %83.33 olmuştur. *Xenorhabdus* sp. (X1)'in hücreleri uzaklaştırılarak elde edilen süpernatantı uygulandığında %90.83 ölüme neden olmuştur. X1 kültürünün iki ve üç günlük hücresiz süpernatantları sırasıyla %87.5 ve %78.33 ölüme neden olmuştur. *Xenorhabdus* sp. (X1) bakteri süpernatantı *L. perniciosus*'un doğurganlığını önemli derecede azaltmıştır. Sonuçta test edilen tüm simbiyotik bakterilerin akarısidal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. *Xenorhabdus* sp. (X1)'nin hem bakteri hücresi içeren süspansiyonu hem de hücreleri uzaklaştırılmış süpernatantının akarısidal etkisinin olduğu ve kültür mantarında zararlı akarların mücadelesinde potansiyel olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Bussaman vd. (2012) Tayland'da mantar akarı *Luciopharus* sp.'ye karşı *Xenorhabdus stokiae* PB09 suşunun bakteri hücrelerini iktiva eden süspansiyonunun, hücrelerin uzaklaştırıldığı süpernatantının ve ham hücre ekstraktının *Luciopharus* sp.'ye karşı etkinliğini araştırmışlardır. Sonuç olarak *X. stokiae* hücresiz süpernatant uygulaması hem yüksek akar ölümü (% 89) hem de düşük üremeye (41 yumurta/dişi) neden olmuştur. İçerisinde bakteri hücrelerinin bulunduğu süspansiyon hücresiz süpernatanta göre daha düşük etkili bulunmuştur. *Xenorhabdus stokiae*'nin ham hücre ekstratı uygulaması ise etkisiz bulunmuştur.

Namsena vd. (2016) *Luciaphorus perniciosus*'un mücadelesinde *Xenorhabdus stockiae* PB09'nin biyoformülasyonu üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda ıslanabilir toz (WP), likid konsantrasyon (LC) ve sıvı süpernatantın sırasıyla %90,25 , %86.5, %92.78 gibi yüksek oranda akarisidal etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Tüm formülasyonlardaki akarisidal aktivite ve canlı hücre miktarı dikkate alındığında, 4 °C de depolamanın oda sıcaklığına göre daha uygun olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak hem WP hem LC formülasyonlarının akarların mücadelesinde kullanabileceği ortaya konmuştur.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Üretimi

Tetranychus urticae üretiminde ve laboratuvar çalışmalarında kullanılmak amacı ile çalışmalar süresince fasulye (*Phaseolus vulgaris* cv. barbunia) üretimi yapılmıştır. Bitki üretimi, içinde orman toprağı bulunan 15 cm boyunda ve 15 cm çapındaki saksılarda gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Fasulye yetiştirmek için kullanılan saksılar

Ekilen fasulye tohumlarının çimlenmesinden sonra bitkiler ilk 5-6 yaprak oluşumuna kadar temiz iklim odasında büyütülmüş ve daha sonra *Tetranychus urticae* üretimi için bir başka iklim odasına alınmıştır (Şekil 3.2). Konukçu bitki üretimi $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\%60\pm 10$ orantılı nem koşullarında 16 saat aydınlatmalı iklim odalarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Üretilen fasulye bitkileri

3.2. *Tetranychus urticae* Üretimi

Aydın' daki çilek tarlalarından toplanan *Tetranychus urticae* konukçu bitki üretimi yapılan iklim odası ile aynı özellikleri taşıyan bir başka iklim odasına alınmış ve üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 5-6 yaprağa ulaşan fasulye bitkileri *T. urticae* üretim odasına alınmış ve üzerinde zararlının değişik dönemleri bulunan fasulye yaprakları ile bulaştırılmıştır. Belirtilen yöntem kullanılarak çalışmalar süresince kesintisiz olarak *T. urticae* üretimi yapılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *Tetranychus urticae* ile bulaştırılmış fasulye bitkileri

3.3. *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* Bakterilerinin Elde Edilmesi

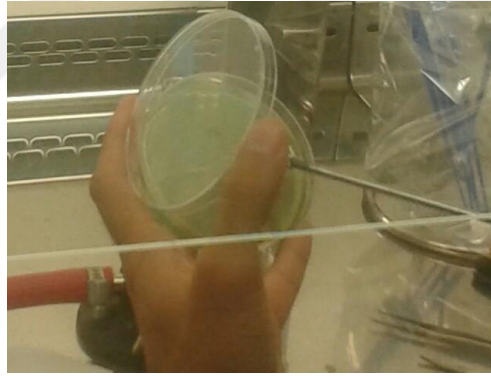
Çalışmada kullanılan bakteri türleri ve ilişkili oldukları entomopatojen nematodlar Çizelge 3.1’de verilmiştir:

Çizelge 3.1. *Steinernema* ve *Heterorhabditis* türleri ve ilişkili oldukları bakteriler

Nematod türü	İzolat	Bakteri türü
<i>Steinernema rarum</i>	17c+e	<i>Xenorhabdus szentirmaii</i>
<i>Steinernema carpocapsae</i>	Rize	<i>Xenorhabdus nematophila</i>
<i>Steinernema feltiae</i>	09-38	<i>Xenorhabdus bovienii</i>
<i>Steinernema riobrave</i>	7-12	<i>Xenorhabdus cabanillasi</i>
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	09-20	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis megidis</i>	Davis	<i>Photorhabdus temperata</i>

Bu bakterilerin tamamı Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde mevcut bulunan ve tür teşhisleri yapılmış entomopatojen nematodlardan izole edilmiştir. Bu amaçla infeksiif juvenil evre nematodlarla enfekte edilen son dönem *Galleria mellonella* larvaları kullanılmıştır. Enfeksiyon

başlangıcından 32 saat sonra larvaların yüzeyleri %70'lik etanol ile 4 dakika süreyle steril edilmiştir. Steril ince uçlu bir iğne yardımıyla bacak köküne girilerek enfekte larvanın hemosöl sıvısı dışarı çıkarılmış ve steril bir öze yardımıyla bu sıvı alınarak NBTA (nutrient agar, 0.004% (w/v) triphenyltetrazolium chloride ve 0.025% (w/v) bromothymol blue) besi ortamına aktarılmıştır (Şekil 3.4) (Akhurst, 1980; Kaya ve Stock, 1997). Simbiyotik bakterilerin aktarıldığı NBTA ortamı bu bakterilerin optimum üreme sıcaklığı olan 28°C'de 48 saat süreyle inkübasyona tabi tutulmuştur (Akhurst ve Boemare, 1990). Saf kültür olarak izole edilen simbiyotik bakteriler Tryptic Soy Broth (TSB) (Difco) ortamında 28°C'de, 150 rpm'de 24 saat boyunca üretilmiş ve %20 oranında gliserol ilave edilerek 2 ml'lik cryo tüpler içerisinde -80 °C'lik derin dondurucularda stok olarak saklanmıştır (Boemare ve Akhurst, 2006).



Şekil 3.4. Kadavradan elde edilen bakterilerin NBTA planklarına ekimi

3.4. Bakteri Sekonder Metabolitlerinin Üretilmesi

Kullanılacak bakteriler -80°C'den alındıktan sonra NBTA ortamına ekimleri yapılarak koloni morfolojileri, mikroskopik incelemeler ve katalaz testlerinin ardından steril edilmiş sıvı besi ortamı olan Nutrient Broth (NB) ortamına 1×10^8 hücre/ml olacak şekilde aktarılmış, 28°C'de ve 150 rpm'de 120 saat süreyle üretilmiştir (bu bakterilerin en fazla sekonder metaboliti 120 saat sonunda ürettikleri bilinmektedir) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Sekonder metabolitlerin bulunduğu bakteri süpernatantı

İçerisinde sekonder metabolitlerin bulunduğu bu bakteri süpernatantları deneylerde kullanılmadan önce bakteri hücrelerinden arındırılmıştır. Bunun için bakteri süpernatantının tamamı 50 ml'lik steril falcon tüplerine aktarılmıştır (Şekil 3.6). Daha sonra 20000 rpm'de ve 4°C'de 20 dakika boyunca santrifüj edilmiştir (Ng ve Webster, 1997; Gulcu vd., 2012) (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. Bakteri süpernatantlarının steril falcon tüplere aktarılması

Santrifüj sonrası üstte kalan süpernatantlar pipet yardımıyla toplanarak yeni bir tüpe aktarılmıştır. Elde edilen bu süpernatantların içerisinde herhangi bir bakteri hücresi kalmadığından emin olmak için toplanan süpernatantlar Millipore™ filtre (0,22 µm) düzeneğinden geçirilmiştir.



Şekil 3.7. Bakteri süpernatantlarının santrifüjlenmesi

Elde edilen bu süpernatantın hücre içermediğinden emin olmak için 0.1 ml filtre edilmiş süpernatant NBTA (nutrient agar, 0.004% (w/v) triphenyltetrazolium chloride ve 0.025% (w/v) bromothymol blue) besi ortamına ekim yapılarak kontrol edilmiştir (Hazir vd., 2016b) (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Bakteri hücreleri uzaklaştırılmış süpernatantlar

3.5. Bakteri Sekonder Metabolitlerinin *Tetranychus urticae*'nin Farklı Biyolojik Dönemleri Üzerindeki Etkinlikleri

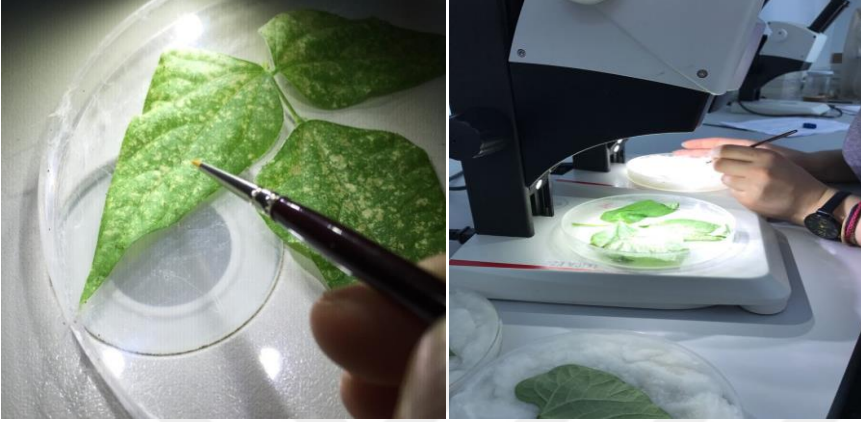
3.5.1. Petri Denemeleri

Bakterilerin ürettiği sekonder metabolitlerin *Tetranychus urticae* üzerindeki etkinliklerini belirlemek amacıyla, çalışmalar 25 ± 1 °C sıcaklık ve $\%70 \pm 5$ orantılı neme sahip iklim odasında yürütülmüştür. Petrilere (15 cm çapında) önce nemlendirilmiş pamuk konulmuş, sonra fasulye yaprağı alt yüzü yukarı gelecek şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.9). Yaprığın uzun süre canlılığını sürdürebilmesi için sap kısmı pamuk içerisine batırılmıştır.



Şekil 3.9. Çalışmalarda kullanılmak üzere hazırlanmış petrilere

Daha sonra *T. urticae*'nin yumurta, larva, protonimf, deutonimf, ergin dişi ve ergin erkek bireyleri ayrı ayrı ve her petriye 20 birey olacak şekilde ince uçlu fırça yardımıyla yerleştirilmiştir (Şekil 3.10). Denemelerde kullanılacak olan *T. urticae*'nin aynı yaşta farklı biyolojik dönemlerini elde etmek amacıyla yaprak adacıkları üzerine 25 adet *T. urticae*'nin ergin dişi bireyleri aktarılmıştır. Yirmidört saat sonra ortamdaki ergin dişi bireyler uzaklaştırılmıştır. Bu şekilde aynı yaşta *T. urticae*'nin farklı biyolojik dönemleri (yumurta, larva, protonimf, deutonimf, ergin dişi ve ergin erkek) elde edilmiştir.



Şekil 3.10. Kültürden petrilere kırmızı örümcek aktarılması

Yapraklara içerisinde bakterilerin ürettiği sekonder metabolitler bulunan süpernatant el spreyi yardımıyla püskürtülmüştür (2.5 ml/petri). Püskürtmeden 2, 5 ve 7 gün sonra canlı ve ölü birey sayıları kaydedilmiştir. Pozitif kontrol olarak petrilere aynı miktarda steril NB püskürtülmüştür. Çalışma *T. urticae*'nin her bir biyolojik döneminde (yumurta, larva, protonimf, deutonimf, ergin dişi ve ergin erkek) ayrı ayrı olmak üzere 20 şer tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Denemeler farklı zamanlarda 4 kez tekrarlanmıştır.

3.5.2. Saksı Denemeleri

Petri denemelerinde olduğu gibi saksı denemelerinde de fasulye bitkileri kullanılmıştır. Fasulye üretimi içinde orman toprağı bulunan 7 cm boyunda, 5 cm çapındaki saksılarda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.11. Denemede kullanılan saksılar

Bu deneylerde fasulye üretim odasından elde edilen aynı yaştaki fasulye bitkileri kullanılmıştır. İki kotiledon yaprağa sahip bitkilerin bir yaprakları koparılarak her saksıda sadece bir yaprak bulunmasına izin verilmiştir (Şekil 3.11). Bu bitkilerin herbirine *Tetranychus urticae* kültüründen elde edilen yumurta, larva, protonimf, deutonimf, ergin dişi ve ergin erkekten 10'ar tane ince uçlu fırça yardımıyla aktarılmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Kırmızı örümceklerin yapraklara transferi

Yaprakların hem alt yüzeyine hemde üst yüzeyine bakteri süpernatantları el spreyi yardımıyla püskürtülmüştür (5 ml/saksı). Püskürtmeden 7 gün sonra canlı ve ölü birey sayıları kaydedilmiştir. Pozitif kontrol olarak yapraklara aynı miktarda steril NB püskürtülmüştür. Çalışma 5 tekerrürlü olarak farklı zamanlarda 4 kez tekrarlanmıştır.

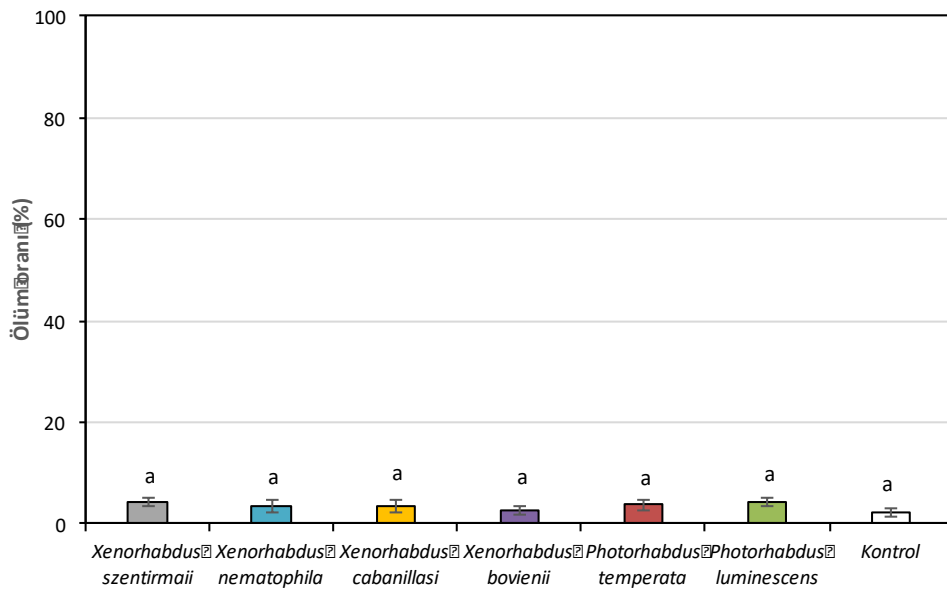
3.6. İstatistiksel Analizler

Veriler Genel Doğrusal Model ile analiz yapılmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar $P=0.05$ seviyesinde Tukey testine göre gruplandırılmıştır. İstatistiksel analiz yapmadan önce akarların ölüm oranlarına Arcsine transformasyonu uygulanmıştır (SPSS, 2011).

4. BULGULAR

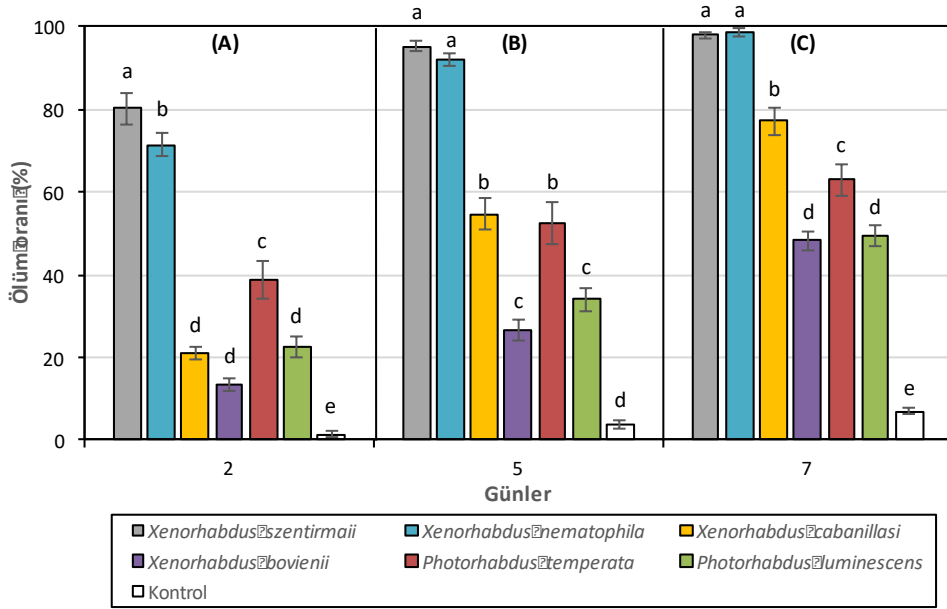
4.1. Petri Denemeleri

Tetranychus urticae yumurtalarına uygulanan; *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. bovienii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens* ve *P. temperata* süpernatantlarının yedi gün sonundaki etki oranları %2.50-4.50 arasında değişirken, bakteri süpernatantları arasında ve bakteri süpernatantlarının kontrol ile arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ($F= 0,915$; $P>0,05$; Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin yumurta dönemine etkileri

Larvalara karşı yapılan uygulamalarda, ikinci günde *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *Photorhabdus temperata*, *P. luminescens*, *X. cabanillasi* ve *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %80.12, %71.43, %38.69, %22.72, %21.00, %13.45 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak fark görülmüştür. *Xenorhabdus szentirmaii* en yüksek etkiyi gösterirken, *X. cabanillasi*, *X. bovienii* ve *Photorhabdus luminescens* süpernatantları en düşük etkiyi göstermişlerdir ($F= 88,532$; $P<0,001$; Şekil 4.2A).



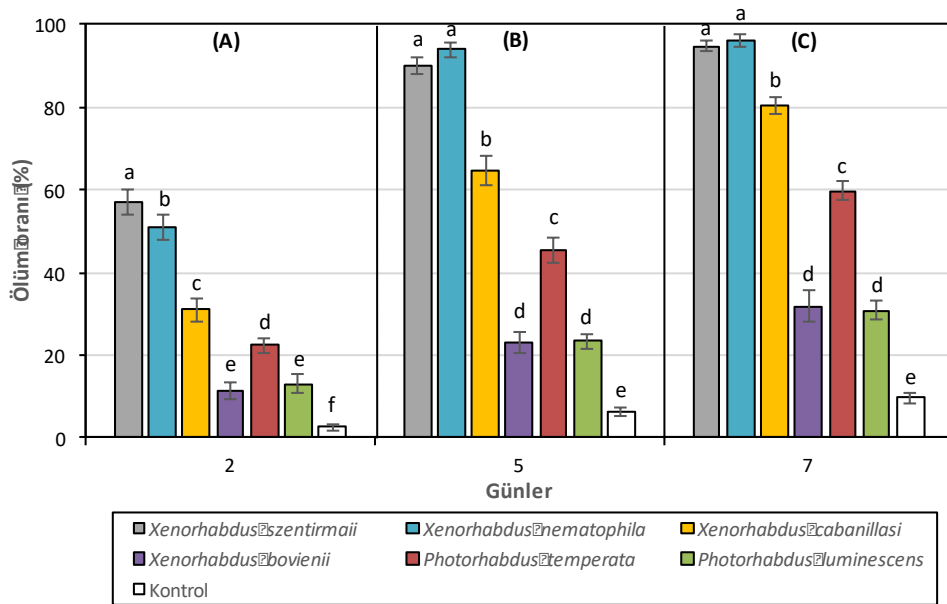
Şekil 4.2. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin larva dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra

Beşinci günde, *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus temperata*, *P. luminescens*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %95.24, %91.89, %54.67, %52.40, %34.00, %26.66 oranında ölüm meydana getirmiştir. *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* arasında; *X. cabanillasi* ve *Photorhabdus temperata* arasında; *P. luminescens* ve *X. bovienii* arasında istatistiksel olarak önemli fark görülmemiştir. Ancak bu üç grup bakteri süpernatantları arasında ve bu bakteri süpernatantlarının kontrolle arasında ise istatistiki olarak fark görülmüştür. *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantları sırasıyla %95.24, %91.89 ölüm oranlarıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre en yüksek oranda etkili bulunmuştur ($F=115,261$; $P<0,001$; Şekil 4.2B).

Larva uygulamasının yedinci gün sayımlarında ise; *Xenorhabdus nematophila*, *X. szentirmaii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus temperata*, *P. luminescens*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %98.38, %97.86, %77.11, %62.83, %49.45, %48.24 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak fark görülmüştür. *X. nematophila* ve *Xenorhabdus szentirmaii*

süpernatantları %98.38 ve %97.86 etki oranlarıyla uygulamanın yedinci gününde en yüksek etkiyi göstermişlerdir. *P. luminescens* ve *X. bovienii* süpernatantları %49.45 ve %48.24 ölüm oranıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F= 191,095$; $P<0,001$; Şekil 4.2C).

Protonimflere karşı yapılan uygulamalarda, ikinci günde *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus temperata*, *P. luminescens*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %56.90, %50.84, %30.92, %22.35, %13.07, %11.35 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak fark görülmüştür. *Xenorhabdus szentirmaii* süpernatantı %56.90 ölüm oranlarıyla uygulamanın ikinci gününde en yüksek etkiyi göstermiştir. *P. luminescens* ve *X. bovienii* sırasıyla %13.07 ve %11.35 ölüm oranıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F= 80,254$; $P<0,001$; Şekil 4.3A).



Şekil 4.3. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin protonimf dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra

Beşinci günde, *Xenorhabdus nematophila*, *X. szentirmaii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus temperata*, *P. luminescens*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %93.81, %89.80, %64.58, %45.30, %23.33, %23.10 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak fark görülmüştür. *Xenorhabdus nematophila* ve *Xenorhabdus szentirmaii* süpernatantları %93.81 ve %89.80 ölüm oranlarıyla uygulamanın beşinci gününde en yüksek etkiyi göstermiştir. *P. luminescens* ve *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %23.33 ve %23.10 ölüm oranıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F=159,238$; $P<0,001$; Şekil 4.3B).

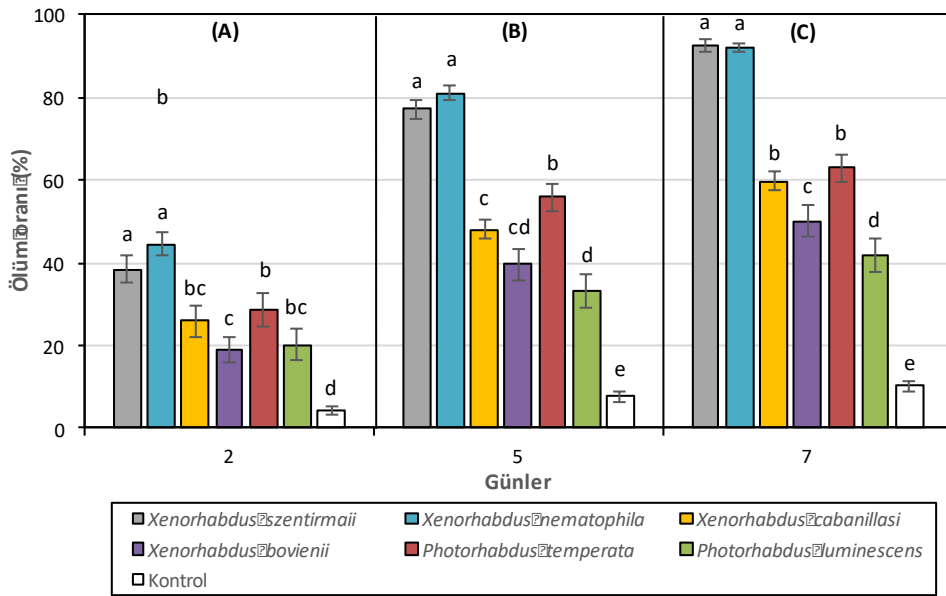
Protonimf uygulamasının yedinci gününde ise; *Xenorhabdus nematophila*, *X. szentirmaii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus temperata*, *X. bovienii*, *P. luminescens* süpernatantları sırasıyla %96.04, %94.73, %80.37, %59.56, %31.91, %30.69 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak fark görülmüştür. *Xenorhabdus nematophila* ve *X. szentirmaii* %96.04 ve %94.73 etki oranlarıyla uygulamanın yedinci gününde en yüksek etkiyi göstermişlerdir. *X. bovienii* ve *P. luminescens* arasında istatistiksel olarak önemli fark görülmemiş ve bu süpernatantlar %31.91, %30.69 ölüm oranlarıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F=235,182$; $P<0,001$; Şekil 4.3C).

Deutonomflere karşı yapılan uygulamalarda, ikinci günde *Xenorhabdus nematophila*, *X. szentirmaii*, *Photorhabdus temperata*, *X. cabanillasi*, *P. luminescens*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %44.45, %38.37, %28.73, %25.89, %20.17, %19.04 etki oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki fark olduğu görülmüştür. *Xenorhabdus nematophila*, *X. szentirmaii* süpernatantları %44.45 ve %38.37 etki oranlarıyla uygulamanın ikinci gününde en yüksek etkiyi göstermiştir. *Photorhabdus luminescens* ve *X. bovienii* süpernatantları %20.17 ve %19.04 ölüm oranlarıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F=20,559$; $P<0,001$; Şekil 4.4A).

Uygulamanın beşinci gününde *Xenorhabdus nematophila*, *X. szentirmaii*, *Photorhabdus temperata*, *X. cabanillasi*, *X. bovienii*, *P. luminescens* süpernatantları sırasıyla %80.89, %77.21, %55.92, %47.93, %39.73, %33.08 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki fark olduğu belirlenmiştir. *Xenorhabdus nematophila*, *X. szentirmaii*

süpernatantları %80.89 ve %77.21 etki oranlarıyla en yüksek etkiyi göstermiştir. *Xenorhabdus bovienii* ve *P. luminescens* süpernatantları sırası ile %39.73, %33.08 etki oranıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F=89,070$; $P<0,001$; Şekil 4.4B).

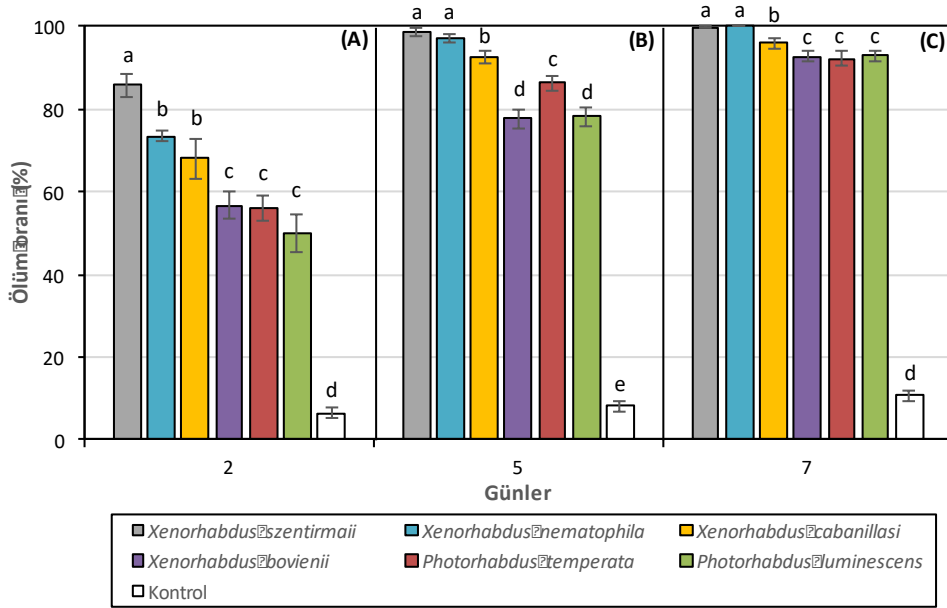
Deutonimf uygulamasının yedinci gününde ise; *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *Photorhabdus temperata*, *X. cabanillasi*, *X. bovienii*, *P. luminescens* süpernatantları sırasıyla %92.41, %91.81, %62.94, %59.72, %49.98, %41.74 etki oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak fark görülmüştür. *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantları %92.41 ve %91.81 oranlarıyla en yüksek etkiyi göstermişlerdir. *P. luminescens* süpernatantı %41.74 ölüm oranıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F=145,093$; $P<0,001$; Şekil 4.4C).



Şekil 4.4. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin deutonimf dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra

Ergin erkeklerle karşı yapılan uygulamalarda ikinci günde, *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. cabanillasi*, *X. bovienii*, *Photorhabdus temperata*, *P. luminescens* süpernatantları sırasıyla %85.72, %73.42, %67.96, %56.72,

%55.88, %49.87 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak fark görülmüştür. *Xenorhabdus szentirmaii* süpernatantı %85.72 oran ile en yüksek etkiyi göstermiştir. *Xenorhabdus bovienii*, *Photorhabdus temperata* ve *P. luminescens* süpernatantları arasında da istatistiksel olarak bir fark görülmemiş ve sırasıyla %56.72, %55.88 ve %49.87 ölüm oranıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre en az etkili bulunmuştur ($F= 75,259$; $P<0,001$; Şekil 4.5A).

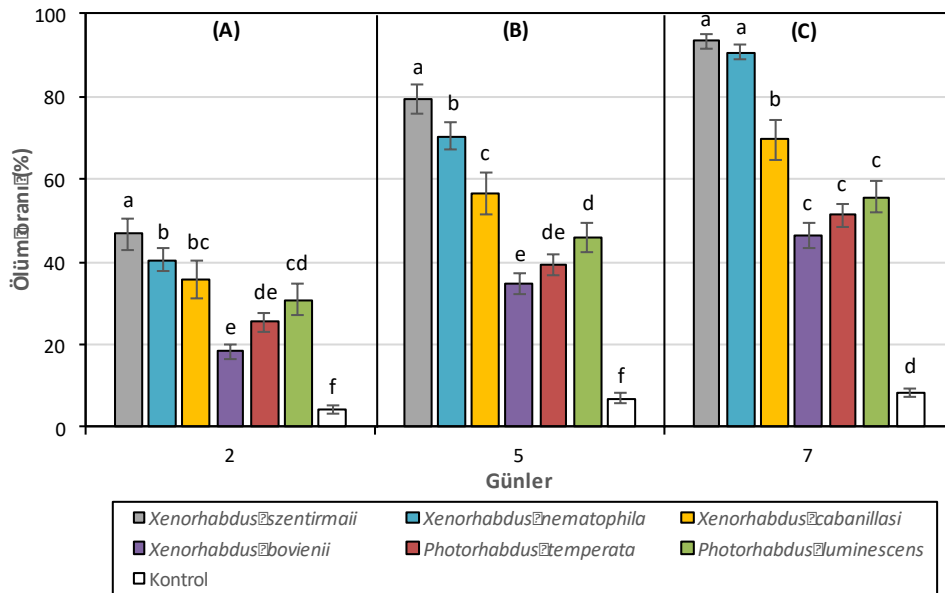


Şekil 4.5. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin ergin erkek dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra

Beşinci günde, *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus temperata*, *P. luminescens*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %98.34, %96.81, %92.44, %86.14, %78.08, %77.62 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan fark olduğu tespit edilmiştir. *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantları %98.34 ve %96.81 oran ile en yüksek etkiyi göstermiştir. *P. luminescens*, *X. bovienii* süpernatantları sırası ile %78.08, %77.62 etki oranıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre en az etkili bulunmuştur ($F= 171,885$; $P<0,001$; Şekil 4.5B).

Yedinci günde ise; *Xenorhabdus nematophila*, *X. szentirmaii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens*, *X. bovienii*, *P. temperata* süpernatantları sırasıyla %100.00, %99.71, %95.81, %92.92, %92.56, %92.03 etki oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak önemli fark görülmüştür. *Xenorhabdus nematophila* ve *X. szentirmaii* süpernatantları %100.00 ve %99.71 oran ile en yüksek etkiyi göstermişlerdir ($F = 164,616$; $P < 0,001$; Şekil 4.5C).

Ergin dişilere karşı yapılan uygulamalarda, ikinci günde, *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens*, *P. temperata*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %46.62, %40.42, %35.72, %30.85, %25.51, %18.28 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak önemli fark görülmüştür. *Xenorhabdus szentirmaii* süpernatantı %46.62 oran ile en yüksek etkiyi göstermiştir. *X. bovienii* süpernatantı %18.28 ile diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F = 24,285$; $P < 0,001$; Şekil 4.6A).



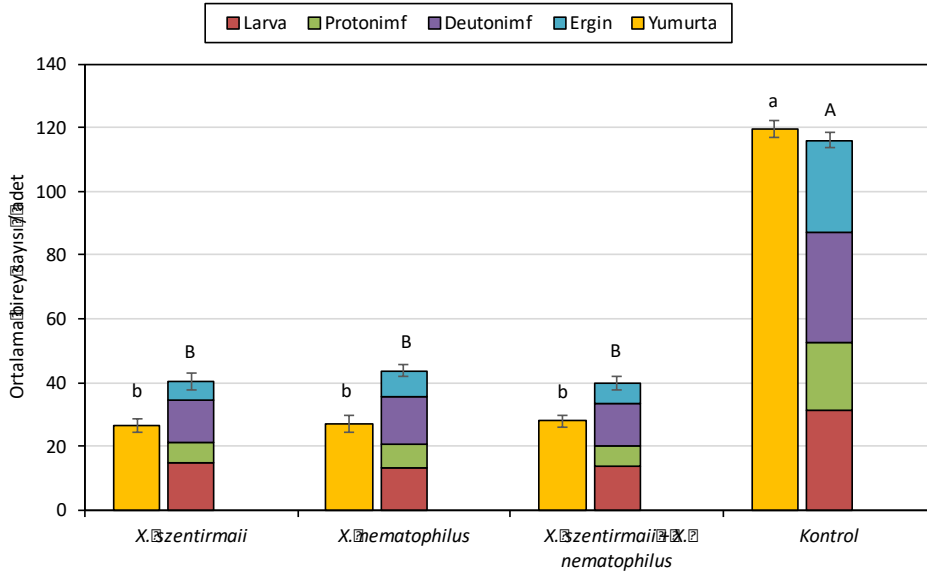
Şekil 4.6. Bakteri süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin ergin dişi dönemine etkileri A) Uygulamadan 2 gün sonra, B) Uygulamadan 5 gün sonra, C) Uygulamadan 7 gün sonra

Uygulamanın beşinci gününde, *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens*, *P. temperata*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %79.14, %70.20, %56.61, %45.82, %39.47, %34.62 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak önemli fark görülmüştür. *Xenorhabdus szentirmaii* süpernatantı %79.14 etki oranı ile uygulamanın beşinci gününde en yüksek etkiyi göstermiştir. *Xenorhabdus bovienii* ve *P. temperata* süpernatantları sırasıyla %34.62 ve %39.47 ölüm oranıyla diğer bakteri süpernatantlarına göre daha az etkili bulunmuştur ($F=75,200$; $P<0,001$; Şekil 4.6B).

Yedinci günde ise; *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens*, *P. temperata*, *X. bovienii* süpernatantları sırasıyla %93.32, %90.50, %69.42, %55.58, %51.28, %46.28 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki açıdan önemli fark olduğu belirlenmiştir. *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantları %93.32 ve %90.50 ölüm oranlarıyla uygulamanın yedinci gününde en yüksek etkiyi göstermişlerdir. *Photorhabdus luminescens*, *P. temperata* ve *X. bovienii* süpernatantları arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir ve bu üç bakteri süpernatantları diğerleri ile karşılaştırıldığında en az etkiyi göstermişlerdir ($F=105,402$; $P<0,001$; Şekil 4.6C).

4.2. Saksı Denemeleri

Petri denemelerinde en etkili bulunan *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantları *Tetranychus urticae*'nin tüm dönemlerinin (yumurta, larva, protonimf, deutonimf ve ergin) bulunduğu saksılara uygulanmasından yedi gün sonra ortamda saptanan canlı birey sayıları Şekil 4.7' de görülmektedir. Deneme başlangıcında *T. urticae*'nin 10 yumurta ve 50 hareketli dönemi (larva, protonimf, deutonimf, ergin dişi ve erkek) yaprakta bulunurken bakteri süpernatantları uygulanmış ve uygulamadan yedi gün sonra *X. szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. szentirmaii* & *X. nematophila* karışımı ve kontrolde sırasıyla 26.5, 27.0, 27.9 ve 119.8 yumurta ve 40.6, 43.7, 39.9 ve 116.0 hareketli dönem elde edilmiştir. Hem yumurta sayıları hem de hareketli dönem sayıları dikkate alındığında bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki olarak önemli fark görülmüştür (yumurta, $F=581,542$; $P<0,001$; hareketli dönem $F=516,988$; $P<0,001$; Şekil 4.7). Ancak bakteri süpernatantları arasında istatistiki olarak önemli fark görülmemiştir.



Şekil 4.7. *Xenorhabdus szentirmai* ve *X. nematophila* süpernatantlarının *Tetranychus urticae*'nin farklı biyolojik dönemleri üzerindeki etkileri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatürde *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterilerinin hem hücre ihtiva eden hem de hücrelerinden arındırılmış süpernatantlarının bazı böceklerle; *Pieris brassicae* (Lahana kelebeği) (Abdel-Rezak, 2003) ve *Plutella xylostella* (Lahana yaprak güvesi) (Mohan vd., 2003) ve bir akar türü *Luciaphorus perniciosus* (Mantar akarı) (Bussaman vd., 2006, 2009, 2012; Sobanboa vd., 2009)'ne karşı toksik oldukları bildirilmiştir. *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* süpernatantlarının *Tetranychus urticae* ya da mantar akarı dışında diğer akar türlerine karşı etkinlikleri ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada yürütülen petri denemeleri sonucunda *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. bovienii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens* ve *P. temperata* bakterilerinin hücrelerinden arındırılmış süpernatantları *T. urticae*'nin hareketli dönemleri (larva, protonimf, deutonimf, ergin) üzerinde %30,69 ile %100,00 arasında etkili bulunmuştur. *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantları *T. urticae*'nin hareketli dönemleri üzerinde %90'ın üzerinde ölüm meydana getirmiş ve diğer bakteri süpernatantları ile karşılaştırıldığında en yüksek etkiyi göstermişlerdir. Bussaman vd. (2006) mantar akarı *Luciaphorus sp.*'un dişi bireyleri üzerinde *Photorhabdus luminescens ssp. laumondii* (GPS12)'nin bakteri kültürünün %76 ve hücreler uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen süpernatantın da %90 oranında etkili olduğunu belirlemişlerdir. Sobanboa vd. (2009) altı simbiyotik bakteri *Xenorhabdus sp.* (X1), *X. nematophila* (X2), *X. poinarii* (X3), *Xenorhabdus sp.* (X4), *Photorhabdus luminescens* (P1) ve *P. akhurstii* (P2)'nin mantar akarı *Luciaphorus sp.*'un dişi bireyleri üzerinde etkinliğini araştırdıkları çalışmada, *Xenorhabdus sp.* (X1) hücre içeren süpernatantının %82,5 akar ölümüne neden olduğunu saptamışlardır. Bussaman vd. (2009) *P. luminescens* (P1), *X. nematophila* (X1), *X. nematophila* (X2), *X. bovienii* (X3), *X. poinarii* (4), *Xenorhabdus sp.* (5)'nin bakteri kültürlerinin mantar akarı *L. perniciosus* dişileri üzerinde etkinliğini araştırdıkları çalışmada *X. nematophila* (X1) ve *P. luminescens* (P1)' in sırasıyla %85 ve %83 ölüm oranlarıyla ile en yüksek etkiyi gösterdiğini belirlemişlerdir. Bussaman vd. (2012) *Xenorhabdus stokiae*'nin PB09 izolatının hücresiz süpernatantının mantar akarı (*Luciaphorus sp.*)'na karşı %89 ölüm meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Xenorhabdus ve *Photorhabdus* süpernatantlarının Mantar akarı *L. perniciosus* dişilerine etkinliği ile ilgili yürütülen çalışmalarda; bakteri türü ve/veya ırkına göre

etkinliğin deðiştiđi, hücresiz süpernatantların hücreli süpernatantlara göre daha etkili olduğu, optimum sıcaklıkta (28-30°C) geliştirilen bakteri kültürünün düşük ve yüksek sıcaklıktakilere göre daha etkili olduğu, 2-3 günlük bakteri kültürünün 1 ve 4-5 günlük kültüre göre daha etkili olduğu, bakteri dozu (en yüksek: 1×10^8 hücre/ml) arttıkça etkinin arttığı, akar doğurganlığı ve meydana gelen dişi yavru sayısında azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Bussaman vd., 2006, 2009, 2012; Sobanboa vd., 2009).

Mevcut çalışmada kullanılan hücrelerinden arındırılmış 6 bakteri süpernatantı, bitkilerde herhangi bir toksik etki yaratmamıştır. Ancak Bussaman vd. (2006) mantar akarı (*Luciaphorus* sp.)'na karşı kullanılan 21 adet *Photorhabdus* ve *Xenorhabdus* suşundan 13 tanesinin mantarın misel gelişimini engellediğini bildirmişlerdir.

Yürüttüğümüz çalışmada *T. urticae*'nin hareketli dönemlerinin bakteri süpernatantlarından farklı düzeylerde etkilendikleri ve ergin dişiden larvaya doğru gittikçe etkinin arttığı belirlenmiştir. Benzer şekilde akarisitler de *Tetranychus*'ların ergin öncesi dönemlerini ergin dişilerle karşılaştırdığında daha fazla etkilediği/öldürdüğü bilinmektedir (Jeppson vd., 1975). Farklı olarak, Bugeme vd. (2014) ve Dođan vd. (2017) entomopatojen funguslar (EPF)'ın *T. urticae*'nin ergin dönemlerinin nimf ve larva dönemlerine göre fungal enfeksiyona daha hassas olduğunu belirlemişlerdir. EPF'lerin dişi akarları daha fazla etkilediği ile ilgili olarak 1) akarın her bir döneminin kutikula kalınlıklarının farklılığı, 2) ergin öncesi dönemlerin sık deri değiştirmeleri 3) akarların genç dönemlerinin daha küçük olması ve buna bağlı olarak da sınırlı alanda hareket ettikleri için yüzeydeki konidi ile bulaşma ihtimalinin düşük olması gösterilmektedir (Bugeme vd., 2014; Dođan vd., 2017).

Mevcut çalışmada *Xenorhabdus szentirmaii*, *X. nematophila*, *X. bovienii*, *X. cabanillasi*, *Photorhabdus luminescens* ve *P. temperata* süpernatantları *T. urticae* yumurtalarında %2.50-4.50 ölüm oranı ile etkisiz bulunmuşlardır. Bakteri süpernatantları ile kontrol arasında istatistiki açıdan önemli bir fark olmadığı görülmüştür. Benzer şekilde Dođan vd. (2017) EPF'ların *T. urticae* yumurtalarına karşı etkinliğini çok düşük bulmuşlardır. Ülkemizde ruhsatlı birçok akarisit, ergin ve ergin öncesi dönemlere etkiliyken, yumurtalara etkisizdir. Bunda yumurtayı çevreleyen chorion'un kalınlığının önemli olabileceği düşünülmektedir.

Xenorhabdus ve *Photorhabdus* bakterilerinin bulundukları ortam içerisine yüksek derecede virulent insektisit özelliği olan toksinleri (toksin kompleksleri) salgıladıkları bildirilmiştir (Jarrett vd., 1997; Bowen vd., 1998; ffrench-Constant ve Bowen, 2000). *Xenorhabdus* bakterileri böcek öldürücü olarak XaxA, XaxB, Tcc toksin komplekslerini üretirken, *Photorhabdus* bakterileri Tca, Tcb, Tcc, Tcd, PirA ve PirB toksin komplekslerini üretmektedir. Ayrıca *Xenorhabdus* bakterileri tarafından yine böcek öldürücü olarak Xenematide, Xenorhabdin II, Xenortide A,B ve Xenorxide I,II de üretilmektedir (Lewis vd., 2015). Hem bizim hem de diğer araştırmacıların yapmış oldukları çalışmalarda *Xenorhabdus* bakteri sekonder metabolitlerinin *Photorhabdus* bakteri sekonder metabolitlerine göre akarlar karşı daha etkili olduğu görülmüştür. Sadece *Xenorhabdus* bakterileri tarafından üretilen bu bileşiklerin süpernatantları arasındaki farkta rol oynuyor olması muhtemeldir.

Stilben'ler normalde bitkiler tarafından üretilen basit yapıli bileşiklerdir. Ancak *Photorhabdus* bakterileri stilben ürettiği bilinen tek bakteri grubudur (Bode, 2009). Stilbenler böcek immün sistemini engelleyen (Ethylstilben), nematod öldürücü etkisi olan (Hydroxystilben) ve en çokta gram pozitif bakterilere karşı (Ethylstilben, Epoxystilben, Hydroxy stilben) etkili antibiyotik özellikleri olan multipotent bileşiklerdir (Bode, 2009; Lewis ve Clarke, 2012). *Photorhabdus luminescens* bakterilerinin stilbenler dışında başka böcek öldürücü proteinler ürettiği bildirilmiştir (Bowen ve Ensign, 1998; ffrench-Constant ve Bowen, 2000; Au vd., 2004). Ayrıca *X. nematophila* bakterilerinin de böcek öldürücü proteinler içerdiği (Morgan vd., 2001) ve böcek bağışıklık faktörlerine karşı aktif olduğu bilinen proteazları salgıladığı saptanmıştır (Caldas vd., 2002). Çeşitli çalışmalar *Xenorhabdus* sp.'nin benzilidenaseton (antibakteriyel bileşik), iyodin, fenetilamidler, indol türevleri, ksenorabinler gibi etkili biyoaktiviteler ile, xenorxides ve xenocoumacins (antibiyotikler) gibi ikincil metabolitler ve örneğin alkalın proteaz gibi birincil metabolitler üretilip salabileceği (Morgan vd., 2001; Caldas vd., 2002; Ji vd., 2004; Mohamed, 2007; Bode, 2009), böylelikle hepsinin insektisit ve bağışıklık sistemini etkileyici olarak rol oynayabilecekleri düşünülmektedir (Bussaman vd., 2012).

Yapılan bu çalışmada petri denemelerinde en etkili bulunan *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila* süpernatantlarının *T. urticae*'nin popülasyonda önemli derece bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Saksı çalışmalarının sonuçları, petri çalışmalarının sonuçlarını destekler niteliktedir. Sonuç olarak

gerek petri denemeleri gerekse saksı denemeleri *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* (özellikle *Xenorhabdus szentirmaii* ve *X. nematophila*) süpernatantlarının *T. urticae* gibi ekonomik önemi olan bir zararlıya karşı oldukça etkili olduğunu ve gelecekte biyo-akarisit olarak doğrudan kullanılabilme potansiyellerinin olduğunu göstermiştir. Bakteri süpernatantlarının bu şekilde doğrudan kullanılmasının bir çok avantajı olacaktır. Birincisi süpernatant yerine in vitro koşullarda konsantre edilmiş bakteri metaboliti elde etmek oldukça uzun ve pahalı bir işlemdir, ikincisi süpernatantın taşıma ve formülasyon gibi problemleri olmayacaktır, üçüncüsü ise üreticiler tarafından uygulanmaları son derece kolay olacaktır.

Gelecekte yürütülecek çalışmalarla bu bakteri süpernatantlarında bulunan ve akarisit etki gösteren madde(ler)nin tanımlanması ve fitotoksik etkilerinin olup olmadığının belirlenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Razek, A. S. 2003. Pathogenic effects of *Xenorhabdus nematophilus* and *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae) against pupae of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.). **J. Pest. Sci.**, 76(4): 108–111.
- Akhurst, R. J. 1980. Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with the 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**, 28: 3061-3065.
- Akhurst, R. J., Boemare, N. E. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. In: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control (Gaugler, R., Kaya, H.K. Eds.), CRC Press, pp.75–90, Boca Raton, FL.
- Anonim, 2011. Türkiye’den 2011 yılında yapılan domates ihracat rakamları ve ihraç edilen ülkeler, (<http://www.ymis.org.tr>), Erişim Tarihi: 30.08.2017.
- Ansari, M. A., Tirry, L., Moens, M. 2003. Entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria for the biological control of *Hoplia philanthus* (Coleoptera: Scarabaeidae). **Biological Control**, 28: 111–117.
- Au, C., Dean, P., Reynolds, S. E., French-Constant, R. H. 2004. Effect of the insect pathogenic bacterium *Photorhabdus* on insect phagocytes. **Cellular Microbiology**, 1: 89-95.
- Bock, C. H., Shapiro-Ilan, D. I., Wedge, D., Cantrell, C. H. 2014. Identification of the antifungal compound, trans-cinnamic acid, produced by *Photorhabdus luminescens*, a potential biopesticide. **Journal of Pest Science**, 87: 155-162.
- Bode, H. B. 2009. Entomopathogenic bacteria as a source of secondary metabolites. **Current Opinion in Chemical Biology**, 13: 224-230.

- Boemare, N., Akhurst, R. 2006. The Genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: The Prokaryotes (Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E. Eds.), Springer Science+Business Media Inc., pp.451–494, New York.
- Bowen, D. J., Ensign, J. C. 1998. Purification and characterization of a high-molecular weight insecticidal protein complex produced by the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens*. **Appl. Environ. Microbiol.**, 64: 3029–3035.
- Bowen, D., Rocheleau, T., Blackburn, M., Andreev, O., Golubeva, E., Bhartia, R., French-Constant, R. 1998. Novel insecticidal toxins from the bacterium *Photorhabdus luminescens*. **Science**, 280(5372): 2129–2132.
- Bugeme, D. M., Knapp, M., Boga, H. I., Ekesi, S., Maniania, N. K. 2014. Susceptibility of developmental stages of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) to infection by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Hymenozoa: Clavicipitaceae). **International Journal of Tropical Insect Science**, 34: 190–196.
- Bussaman, P., Sermswan, R. W., Grewal, P. S. 2006. Toxicity of the entomopathogenic bacteria *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* to the mushroom mite (*Luciaphorus* sp.; Acari: Pygmephoridae). **Biocon. Sci. Tech.**, 16: 245–256.
- Bussaman, P., Sobanboa, S., Grewal, P. S., Chandrapatya, A. 2009. Pathogenicity of additional strains of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* (Enterobacteriaceae) to the mushroom mite *Luciaphorus perniciosus* (Acari: Pygmephoridae). **Appl. Entomol. Zool.**, 44(2): 293–299.
- Bussaman, P., Sa-Uth, C., Rattanasena, P., Chandrapatya, A. 2012. Acaricidal activities of whole cell suspension, cell-free supernatant, and crude cell extract of *Xenorhabdus stokiae* against mushroom mite (*Luciaphorus* sp.). **J. Zhejiang Univ. Sci. B. (Biomed Biotechnol)**, 13(4): 261–266.
- Cakmak, I., Baspınar, H., Madanlar, N. 2005. Control of the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval by the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) in protected strawberries in Aydın, Turkey. **Turkish journal of Agriculture and Forestry**, 29(4): 259–265.

- Cakmak, I., Janssen, A., Sabelis, M. W., Baspinar, H. 2009. Biological control of an acarine pest by single and multiple natural enemies. **Biological Control**, 50(1): 60-65.
- Caldas, C., Pereira, A., Cherqui, A., Simoes, N. 2002. Purification and characterization of an extracellular protease from *Xenorhabdus nematophila* involved in insect immunosuppression. **Appl. Environ. Microb.**, 68(3): 1297-1304.
- Chen, G., Dunphy, G. B., Webster, J. M. 1994. Antifungal activity of two *Xenorhabdus* species and *Photorhabdus luminescens*, bacteria associated with the nematodes *Steinernema* species and *Heterorhabditis megidis*. **Biol. Control**, 4(2): 157-162.
- Clarke, D. J., Eberl, L. 2006. Interactions between bacteria and nematodes. In: Intestinal Microorganisms of Soil Invertebrates, Soil Biology (König H., Varma, A., Eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp.55-64, Germany.
- Dhanasekaran, D., Thangaraj, R. 2014. Microbial secondary metabolites are an alternative approaches against insect vector to prevent zoonotic diseases. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, 4(4): 253-261.
- Dogan, Y. O., Hazir, S., Yildiz, A., Butt, T. M., Cakmak, I. 2017. Evaluation of entomopathogenic fungi for the control of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and the effect of *Metarhizium brunneum* on the predatory mites (Acari: Phytoseiidae). **Biological Control**, 111: 6–12.
- Dutky, S. R., Thompson, J. V., Cantwell, G. E. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. **J. Insect Pathol.**, 6: 417-422.
- Fang, X. L., Li, Z. Z., Wang, Y. H., Zhang, X. 2011. In vitro and in vivo antimicrobial activity of *Xenorhabdus bovienii* YL002 against *Phytophthora capsici* and *Botrytis cinerea*. **Journal of Applied Microbiology**, 111(1): 145-154.
- Fang, X., Zhang, M., Tang, Q., Wang, Y., Zhang, X. 2014. Inhibitory effect of *Xenorhabdus nematophila* TB on plant pathogens *Phytophthora capsici* and *Botrytis cinerea* in vitro and in planta. **Scientific Reports**, 4:1-7.

- Ffrench-Constant, R., Bowen, D. 2000. Novel insecticidal toxins from nematode-symbiotic bacteria. CMLS Cell. **Molecular Life Science**, 57: 828-833.
- Forst, S., Dowds, B., Boemare, N. E., Stackebrandt, E. 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. **Annu. Rev. Microbiol.**, 51: 47-72.
- Forst, S., Clarke, D. 2002. Bacteria–nematodes symbiosis. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R., Ed.), CABI Publishing, pp.57–77, Wallingford, UK.
- Furgani, G., Böszörményi, E., Fodor, A., Máthé-Fodor, A., Forst, S., Hogan, J. S., Katona, Z., Klein, M. G., Stackebrandt, E., Szentirmai, A., Sztaricskai, F., Wolf, S. L. 2008. *Xenorhabdus* antibiotics: a comparative analysis and potential utility for controlling mastitis caused by bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, 104(3): 745-758.
- Gatarayiha, C. M., Laing, M. D., Miller, R. M. 2010. Effects of adjuvant and conidial concentration on the efficacy of *Beauveria bassiana* for the control of the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, 50: 217-229.
- Gulcu, B., Hazır, S., Kaya, H. K. 2012. Scavenger deterrent factor (SDF) from symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, 110: 326–333.
- Hazır, S., Shapiro-Ilan, D. I., Bock, C. H., Hazır, C., Leite, L. G., Hotchkiss, M. W. 2016a. Relative potency of culture super-natants of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp. on growth of some fungal phytopathogens. **European Journal of Plant Pathology**, 146: 369–381.
- Hazır, S., Shapiro-Ilan, D. I., Hazır, C., Leited, L. G., Cakmak, I., Olson, D. 2016b. Multifaceted effects of host plants on entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, 135: 53–59.
- Hu, K., Li, J., Webster, J. M. 1999. Nematicidal metabolites produced by *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae), bacterial symbionts of entomopathogenic nematodes. **Nematology**, 1: 457–469.

- Hu, K., Webster, J. M. 2000. Antibiotic production in relation to bacterial growth and nematode development in *Photorhabdus-Heterorhabditis* infected *Galleria mellonella* larvae. **FEMS Microbiology Letters**, 189(2): 219-223.
- Hussey, N. W., Scopes, N. E. A. 1985. Greenhouse vegetables (Britain). In: Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control (Helle, W., Sabelis, M. W., Eds.), Elsevier, pp.285-297, Amsterdam.
- Jarrett, P. D., Ellis, D., Morgan, J. A. W. 1997. World Intellectual Property. Patent GB, 9: 02284.
- Jeppson, L. R., Keifer, H. H., Baker, E. W. 1975. Mites Injurious to Economic Plants. University of California, Berkeley, CA, USA.
- Ji, D., Yi, Y., Kang, G. H., Choi, Y. H., Kim, P., Baek, N. I., Kim, Y. 2004. Identification of an antibacterial compound, benzylideneacetone, from *Xenorhabdus nematophila* against major plant-pathogenic bacteria. **Fems Microbiol. Lett.**, 239(2): 241-248.
- Jones, R. S., Fenton, A., Speed, M. P., Mappes, J. 2017. Investment in multiple defences protects a nematode-bacterium symbiosis from predation. **Animal Behaviour**, 129: 1-8.
- Kaya, H. K., Gaugler, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. **Ann. Rev. Entomol.**, 38: 181-206.
- Kaya, H. K., Stock, S. P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Manual of Techniques in Insect Pathology (Lacey, L.A., Eds.), Academic Press, pp.281–324, San Diego, CA.
- Kaya H. K. 2002. Natural enemies and other antagonists. In: Entomopathogenic Nematodes (Gaugler, R., Ed.), CABI Publishing, pp.189-202, Wallingford, UK.
- Kulkarni, N. S., Mani, M., Banerjee, K. 2008. Management of Mites on Grape. Extension Folder, 15, National Research Centre for Grape, (ICAR), Manji Farm, Pune, Maharashtra, India, p.2.

- Lahai, M. T., Ekanayake, I. J., George, J. B. 2003. Leaf chlorophyll content and tuberous root yield of cassava in inland valley. **Afr. Crop Sci. J.**, 11: 107-117.
- Lewis, E. E., Clarke, D. J. 2012. Nematode parasites and entomopathogens. In: Insect Pathology (Fernando, E. V., Kaya, H. K., Eds.), Elsevier Inc, pp.95-424. London, UK.
- Lewis, E. E., Hazir, S., Hodson, A. Gulcu, B. 2015. Trophic relationships of entomopathogenic nematodes in agricultural habitats. In: Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests (Campos-Herrera, R., Ed.), Springer International Publishing, pp.137-163, Switzerland.
- Li, J., Chen, G., Czyzewskai, E., Webster, J. M. 1995. Antimicrobial metabolites from a bacterial symbiont. **Journal of Natural Products**, 58: 1081–1086.
- Li, J. X., Chen, G. H., Webster, J. M. 1997. Nematophin, a novel antimicrobial substance produced by *Xenorhabdus nematophilus* (Enterobacteriaceae). **Canadian Journal of Microbiology**, 43: 770-773.
- McInerney, B. V., Gregson, R. P., Lacey, M., Akhurst, R. J., Lyons, G. R., Rhodes, S. H., Smith, D. R. J., Lutz, M. E., White, A. H. 1991. Biologically active metabolites from *Xenorhabdus* spp. Part 1. Dithiopyrrolone derivatives with antibiotics activity. **Journal of Natural Products**, 54: 774-784.
- Migeon, A., Dorkeld, F. 2010. Spider mites web: a Comprehensive database for the Tetranychidae, (<http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>), Erişim Tarihi: 20.08.2017.
- Mohan, S., Raman, R., Gaur, H. 2003. Foliar application of *Photorhabdus luminescens*, symbiotic bacteria from entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indica*, to kill cabbage butterfly *Pieris brassicae*. **Current Science**, 84: 1397.
- Mohamed, M. A. 2007. Purification and characterization of an alkaline protease produced by the bacterium *Xenorhabdus nematophila* BA2, a symbiont of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. **Res. J. Agric. Biol. Sci.**, 3(5): 510-521.

- Morgan, J. A., Sergeant, M., Ellis, D., Ousley, M., Jarrett, P. 2001. Sequence analysis of insecticidal gene from *Xenorhabdus nematophila* PME1296. **Appl. Environ. Microbiol.**, 67(5): 2062-2069.
- Namsena, P., Bussaman, P., Rattanasena, P. 2016. Bioformulation of *Xenorhabdus stockiae* PB09 for controlling mushroom mite, *Luciaphorus perniciosus* Rack. **Bioresources and Bioprocessing**, 3(1): 19.
- Ng, K. K., Webster, J. M. 1997. Antimycotic activity of *Xenorhabdus bovienii* (Enterobacteriaceae) metabolites against *Phytophthora infestans* on potato plants. **Can. J. Plant Path.**, 19: 125-132.
- Poinar, Jr. G., Poinar, R. 1998. Parasites and pathogens of mites. **Annual Review of Entomology**, 43: 449-469.
- Richards, G. R., Herbert, E. E., Park, Y., Goodrich-Blair, H. 2008. *Xenorhabdus nematophila* IrhA is necessary for motility, lipase activity, toxin expression, and virulence in *Manduca sexta* insects. **Journal of bacteriology**, 190(14): 4870-4879.
- Seo, M. D., Won, H. S., Kim, J. H., Mishig-Ochir, T., Lee, B. J. 2012. Antimicrobial peptides for therapeutic applications: a review. **Molecules**, 17(10): 12276-12286.
- Shapiro-Ilan, D. I., Guadalupe-Rojas, M., Morales-Ramos, J. A., Lewis, E. E., Tedders, W. L. 2008. Effects of host nutrition on virulence and fitness of entomopathogenic nematodes: Lipid and protein based supplements in *Tenebrio molitor* diets. **Journal of Nematology**, 40: 13–19.
- Shapiro-Ilan, D. I., Reilly, C. C., Hotchkiss, M. W. 2009. Suppressive effects of metabolites from *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* spp. on phytopathogens of peach and pecan. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 42: 715-728.
- Shapiro-Ilan, D. I., Bock, C. H., Hotchkiss, M. W. 2014. Suppression of pecan and peach pathogens on different substrates using *Xenorhabdus bovienii* and *Photorhabdus luminescens*. **Biological Control**, 77: 1-6.

- Sharma, S., Waterfield, N., Bowen, D., Thomas, R., Holland, L., James, R., Ffrench-Constant, R. 2002. The lumicins: novel bacteriocins from *Photorhabdus luminescens* with similarity to the uropathogenic-specific protein (USP) from uropathogenic *Escherichia coli*. **FEMS Microbiology Letters**, 214: 241-249.
- Shih, C. T., Poe, S. L., Cromroy, H. L. 1976. Biology, lifetable and intrinsic rate of increase of *Tetranychus urticae*. **Annals of the Entomological Society of America**, 69: 362-364.
- Sobanboa, S., Bussaman, P., Chandrapatya, A. 2009. Efficacy of *Xenorhabdus* sp. (X1) as biocontrol against for controlling mushroom mites (*Luciaphorus* sp.). **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, 2(Special Issue): 145-154.
- Thaler, J. O., Baghdiguan, S., Boemare, N. 1995. Purification and characterization of xenorhabdicolin, a phage tail-like bacteriocin, from the lysogenic strain F1 of *Xenorhabdus nematophilus*. **Applied and Environmental Microbiology**, 61(5): 2049-2052.
- Webster, J. M., Chen, G., Hu, K., Li, J. 2002. Bacterial metabolites. In: Entomopathogenic Nematology (Gaugler, R., Ed.), CABI Publishing, pp.99-114, Wallingford, UK.
- Zhou, X. S., Kaya, H. K., Heungens, K., Goodrich-Blair, H. 2002. Response of ants to a deterrent factor (s) produced by the symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes. **Appl. Environ. Microbiol.**, 68: 6202–6209.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ceren EROĞLU

Doğum Yeri Ve Tarihi : Sarayköy, 10.02.1990

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat
Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yabancı Diller: İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Makaleler

-SCI

İLETİŞİM

E-Posta Adresi: ceren.eroglu.ce@gmail.com

Tarih: 29.11.2017