TARIMDA KULLANILAN BAZI GÜBRELERİN ENTOMOPATOJEN NEMATODLAR ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yavuz Selim ŞAHİN

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMDA KULLANILAN BAZI GÜBRELERİN ENTOMOPATOJEN NEMATODLAR ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yavuz Selim ŞAHİN
0000-0002-9965-0163

Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA-2019
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Yavuz Selim ŞAHİN tarafından hazırlanan "Tarımda Kullanılan Bazı Gübrelerin Entomopatojen Nematodlar Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Başkan:	Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK 0000-0002-0699-1752 Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı	İmza:
Üye:	Doç. Dr. Nimet Sema GENÇER 0000-0001-8053-5002 Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı	İmza:
Üye:	Dr. Öğr. Üyesi Tufan Can ULU 0000-0003-3640-1474 Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı	İmza:

Yukarıdaki Sonucu Onaylıyorum

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN

Enstitü Müdürü

…./ …./ 2019

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

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

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

beyan ederim.

..../ ..../ 2019

İmza
Yavuz Selim ŞAHİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TARIMDA KULLANILAN BAZI GÜBRELERİN ENTOMOPATOJEN NEMATODLAR ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yavuz Selim ŞAHİN

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopatojen nematodlar (EPN'ler), toprakta yaşayan zararlı böcekleri enfekte edebilmesi, kitlesel bir şekilde üretilip formüle edilebilmesi, uzun süre etkinlik gösterebilmesi ve hedef dışı organizmalara karşı zararının düşük olması sebebiyle biyolojik mücadelede önemli bir yere sahiptirler. EPN'ler, yaşam döngüsünün %90'ından fazlasını zararlı böcek içerisinde geçiren obligat endoparazitik canlılardır. Toprak içerisinde, EPN'lerin yaşamsal aktivitesini ve kalıcılığını etkileyen birçok faktör vardır. Gübreleme, toprak işleme ve sulama gibi bazı tarımsal faaliyetler, toprak içerisinde yaşayan EPN'lerin aktivitelerini olumlu veya olumsuz bir şekilde etkileyebilir. Özellikle N, P ve K içerikli inorganik gübrelerin uzun süreli ve aşırı kullanımı, toprak tuzluluğu ve ağır metal birikimi gibi çeşitli çevresel problemlere sebep olmaktadır. Toprağın fiziksel ve kimyasal yapısını düzeltmek amacıyla başvurulabilecek en iyi yöntemlerden biri organik gübre ilavesidir. Toprakta aynı ortamı paylaşan gübreler ile EPN'ler arasında, olumlu veya olumsuz bir etkileşimin olma ihtimali biyolojik mücadele açısından önemlidir.

Bu tez çalışmasında, gübrelerin EPN'ler üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla 2 ayrı EPN türü (*Steinernema feltiae* TUR-S3, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH) ve 10 tane farklı gübre (ÜRE, amonyum sülfat, amonyum nitrat, NPK, NP, diammonium fosfat, mono amonyum fosfat, magnezyum sülfat heptahidrat, boraks dekahidrat ve %15 organik asit) kullanılmıştır. Gübrelerin araziye uygulandığı formu ve dekara önerilen doz miktarı baz alınarak, her bir gübre için en az iki farklı doz belirlenmiştir. Genel olarak, çalışmada kullanılan bazı inorganik gübreler (DAP, NP, NPK) EPN'lerin ölüm oranını artırırken, hümik asit ve fulvik asit içeren sıvı organik gübre EPN kalıcılığını desteklemiştir. Ayrıca *S. feltiae* (TUR-S3)'nin inorganik gübrelere karşı, *H. bacteriophora* (HBH) türüne göre daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Entomopatojen nematodlar, inorganik gübre, organik gübre

2019, vii + 41 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME AGRICULTURAL FERTILIZERS ON ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES

Yavuz Selim ŞAHİN

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

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Alper SUSURLUK

Entomopathogenic nematodes (EPNs) are used in biological control because they can infect harmful insects living in the soil, can be mass produced and formulated, exhibit long-term efficacy and are harmless to non-target organisms. EPNs are obligate endoparasitic organisms that pass more than 90% of their life cycle in the insect pest. Within the soil, there are many factors that affect the vital activity and permanence of EPNs. Some agricultural activities such as fertilization, tillage and irrigation, can positively or negatively affect the activities of EPNs inhabiting the soil. Especially long-term and excessive use of the inorganic fertilizers originated from N, P and K lead to various environmental problems such as soil salinity and heavy metal accumulation. One of the best methods to improve the physical and chemical structure of soils is the addition of organic fertilizers. The possibility of a positive or negative interaction between fertilizers and EPNs that share the same environment is important for biological control.

In this study, 2 different EPN strain (*Steinernema feltiae* TUR-S3, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH) and 10 different fertilizers were used to determine the effect of fertilizers on EPNs. At least two different doses have been determined for each fertilizer, based on the form in which the fertilizers are applied to the field and the recommended amount per decare. In general, the organic fertilizer which contain humic and fulvic acids supported EPN's persistance, while some inorganic fertilizers (DAP, NP, NPK) used in the study increased the mortality rate of EPNs. It was also found that TUR-S3 is more resistant to inorganic fertilizers than HBH.

Key words: Entomopathogenic nematodes, inorganic fertilizer, organic fertilizer

2019, vii + 41 pages

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

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

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

KUAP(Z)-2018/8 numaralı proje kapsamında BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ (BAP) vasıtasıyla beni destekleyen Bursa Uludağ Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

Yavuz Selim ŞAHİN
…./…/2019

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ v
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
ÇİZELGELER DİZİNİ vii
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 10
3. MATERYAL ve YÖNTEM 14
3.1. Laboratuvar Ortamında *Galleria mellonella* Larvalarının Yetiştirilmesi 14
3.2. Çalışmada Kullanılan EPN Irkları ve *In Vivo* Üretim 17
3.3. Çalışmada Kullanılan Gübre Çeşitleri 19
3.4. Gübre Solisyonlarının Hazırlanışı 19
3.5. *Steinernema feltiae* (TUR-S3) ve *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH) Irklarının Gübre Solüyonlarına Maruz Bırakılması 21
3.6. Periyodik İnceleme 22
3.7. İstatistiksel Analizler 22
4. BULGULAR 23
4.1. Çalışmada Kullanılan İnorganik Gübrelerin *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH) Üzerine Etkisi 23
4.2. Çalışmada Kullanılan İnorganik Gübrelerin *Steinernema feltiae* (TUR-S3) Üzerine Etkisi 26
4.3. Çalışmada Kullanılan Organik Gübrenin *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi 29
4.4. Çalışmada Kullanılan Organik Gübrenin *Steinernema feltiae* (TUR-S3) Üzerine Etkisi 30
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 31
KAYNAKLAR 34
ÖZGEÇMİŞ 40

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	**Açıklamalar**
da	Dekar
g	Gram
ha	Hektar
kg	Kilogram
L	Litre
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mg	Miligram
pH	Power of Hydrogen
cm	Santimetre
cm^2	Santimetre kare
cm^3	Santimetre küp
ºC	Santigrat derece

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
AN	Amonyum nitrat
AS	Amonyum sülfat
DAP	Diamonyum fosfat
EPN	Entomopatojen Nematod
İJ	İnfektif Juvenil
MAP	Mono amonyum fosfat
NP	(%20 N-%20 P_2O_5- %5.5 SO_3- %1 Zn)
NPK	(%15 N- %15 P- %15 K- %20 SO_3- %1 Zn)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. Kavonuzun içerisine yerleştirilen yumurtalarından çıkan *Galleria mellonella* larvaları 15
Şekil 3.2. *Galleria mellonella* için hazırlanan besin ortamının görüntüsü 15
Şekil 3.3. İnkübator içerisinde, *Galleria mellonella* zararlısının farklı dönemlerini barındıran cam kavanozlar 16
Şekil 3.4. Besin ortamından ayıklanmış dördüncü dönem *Galleria mellonella* larvaları 17
Şekil 3.5. Beyaz tuzak yöntemiyle IJ çıkışının beklenmesi 18
Şekil 3.6. Ringer-nematod karışımını içeren kültür kapları 18
Şekil 3.7. Çalışmada kullanılan katı haldeki inorganik NPK, NP, DAP, ÜRE, AN ve AS gübreleri 20
Şekil 3.8. 500 mililitrelik beherlerdeki saf su içerisinde çözündürülen gübreler 21
Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan IJ'lerin 24'lü kültür kaplarında, belirli gübre dozlarına maruz bırakılması 22
Şekil 4.1. Uygulamadan 1 gün sonra, belirli dozlardaki gübre solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi 24
Şekil 4.2. Uygulamadan 5 gün sonra, belirli dozlardaki gübre solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi 24
Şekil 4.3. Uygulamadan 10 gün sonra, belirli dozlardaki gübre solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi 25
Şekil 4.4. Uygulamadan 1, 5 ve 10 gün sonra, belirli dozlardaki gübre (BOR: boraks dekahidrat, Mg: magnezyum sülfat heptahidrat) solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi 25
Şekil 4.5. Uygulamadan 1 gün sonra, belirli dozlardaki gübre solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi 27
Şekil 4.6. Uygulamadan 5 gün sonra, belirli dozlardaki gübre solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi 27
Şekil 4.7. Uygulamadan 10 gün sonra, belirli dozlardaki gübre solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi 28
Şekil 4.8. Uygulamadan 1, 5 ve 10 gün sonra, belirli dozlardaki gübre (BOR: boraks dekahidrat, Mg: magnezyum sülfat heptahidrat) solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi 28
Şekil 4.9. Uygulamadan 1, 5 ve 10 gün sonra, belirli dozlardaki gübre (BLACKJAK SC) solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi 29
Şekil 4.10. Uygulamadan 1, 5 ve 10 gün sonra, belirli dozlardaki gübre (BLACKJAK SC) solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi 30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Yaygın olarak kullanılan inorganik gübreler 2
Çizelge 1.2. Elementlerinin bitkilere yarayışlı formu..... 3
Çizelge 2.1. *Galleria mellonella* için hazırlanan besin ortamının içeriği 14

1. GİRİŞ

Tarımsal faaliyetlerde, verimi artırmak veya ürün kaybını önlemek amacıyla yoğun bir şekilde ilaçlama ve gübreleme yapılmaktadır. Bitkilerin ihtiyaç duyduğu besin elementlerini karşılamak ve verimi artırmak için kullanılan gübreleri, organik gübre (doğal, işletme gübreleri) ve inorganik gübre (ticari gübreler) olarak ikiye ayırabiliriz (Demirtaş ve ark. 2005). Bitkilerin ihtiyaç duyduğu besin elementlerini içeren gübrelerin yapraktan uygulama, yüzeye serpme, banda uygulama ve fertigasyon gibi birbirinden farklı uygulama yöntemleri vardır. Bitkiler yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için bazı besin elementlerine (C, H, O, N, P, K, S, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, B, Cl, Mo) mutlaka ihtiyaç duyarlar. Diğer besin elementlerine (Co, AI, Na, Si, Ni ve V) ise sadece bazı bitkilerde ve bazı özel durumlarda ihtiyaç duyulur. Genel olarak yoğunluğu 5 g/cm^3 den fazla olan besin elementleri ağır metaller olarak adlandırmaktadır ve bitkiler tarafından gereğinden fazla alındığında toksik etki gösterirler. Ekolojik bakımdan önemli bazı ağır metallerin (Çizelge 1.3.) bir kısmı (Fe, Mn, Zn, Cu, V, Mo, Co, Ni, Al) bitkiler ve hayvanlar için besin maddesi olabilmekte ve normalden daha fazla alındığında toksik etki yaratabilmektedir (Kahvecioğlu ve ark. 2003).

Bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için yüksek miktarda ihtiyaç duyduğu, ayrıca ticari gübrelerin içeriğini oluşturan N, P, K, S, Ca ve Mg gibi çok miktarda alınan besin elementlerine makro elementler denmektedir. İnorganik gübrelerin içeriğini büyük oranda azot (N), fosfor (P) ve potasyum (K) elementleri oluşturmaktadır (Çizelge 1.4.). Çok az ihtiyaç duyulan ve bitki tarafından az alınan Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, B, Cl gibi maddelere ise mikro elementler (iz mineraller) (Çizelge 1.5.) denmektedir (Okçu ve ark. 2009).

Ekolojik bakımdan önemli bazı ağır metallerin (Fe, Mn, Zn, Cu, V, Mo, Co, Ni, Cr, Pb, Be, Cd, Tl, Sb, Se, Sn, Ag, As, Hg, Al) bir kısmı, bitkiler ve hayvanlar için besin maddesi olabilmekte ve normalden daha fazla alındığında toksik etki gösterebilmektedir. Bu ağır metallerin toprakta birikmesi ve bitkiler tarafından gereğinden fazla alınması önemli bir problemdir (Okçu ve ark. 2009). Günümüzde yaygın olarak kullanılan inorganik gübrelerin topraklarda ağır metal birikimine sebep olabileceği bilinmektedir (Sönmez ve ark. 2008).

Çizelge 1.1. Yaygın olarak kullanılan inorganik gübreler ve içerikleri

Gübre Cinsi	Kısa Adı	Besin Element İçeriği (%)		
		Azot (N) %	Fosfor (P) %	Potasyum (K) %
Üre		46		
Diamonyum Fosfat	DAP	18	46	
Kompoze	NPK	0-25	0-30	0-20
Amonyum Nitrat	AN33	33		
Amonyum Sülfat	AS	21		
Kalsiyum Amonyum Nitrat	AN26	26		
Triple Süper fosfat	TSP		40-50	
Potasyum Sülfat	PS			50
Normal Süper fosfat	NSP		18	
Potasyum Nitrat	PN	13		46
Kalsiyum Nitrat	KN	15		

Her ne kadar bitkiler iyonların alımında seçici olsa da inorganik gübreler kullanıldıkça bitki bünyesine pasif yollarla geçebilen ağır metaller normalden daha çok birikip besin zincirine dâhil olur, bitkilerle beslenen insan ve hayvanlara toksik etki yaratabilir (Okçu ve ark. 2009).

Çizelge 1.2. Elementlerinin bitkilere yarayışlı formu

Bitkilerin mutlak ihtiyaç duyduğu besin elementlerinin kimyasal simgeleri	Bitki besin elementlerinin bitkilere yarayışlı formu
H (Hidrojen)	H_2O
O (Oksijen)	O_2, H_2O
C (Karbon)	CO_2
N (Azot)	NH_4^-, NO_3^+
K (Potasyum)	K^+
P (Fosfor)	HPO_4^{2-}, $H_2PO_4^-$
Ca (Kalsiyum)	Ca^{2+}
Mg (Magnezyum)	Mg^{2+}
S (Kükürt)	SO_4^{2+}
Cl (Klor)	Cl^-
Fe (Demir)	Fe^{2+}, Fe^{3+}
B (Bor)	BO_3^{3-}, $B_4O_7^{2-}$
Mn (Mangan)	Mn^{2+}
Zn (Çinko)	Zn^{2+}
Cu (Bakır)	Cu^+, Cu^{+2}
Mo (Molibden)	MoO_4^{2-}
Ni (Nikel)	Ni^{2+}

Gereğinden fazla ve uzun süreli inorganik gübre kullanıldığında besin maddesi dengesizliği, mikroorganizma etkinliğinin bozulması, sera etkisi, su kaynaklarında ötrofikasyon oluşumu ve nitrat birikimi, topraklarda tuzlanma ve ağır metal birikimi gibi çeşitli çevresel problemler meydana gelmektedir (Sönmez ve ark. 2008).

Özellikle N, P ve K elementlerini içeren inorganik gübreler yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat bitkiler, toprağa uygulanan elementlerin tamamından faydalanamamaktadır. Dünya genelinde kullanılan azotun (N) ancak %50'den daha az bir miktarı bitkiler tarafından alınabilmektedir. Geriye kalan N toprak tarafından fikse edilerek, yıkanıp su kaynaklarına karışarak veya gaz halinde atmosfere geçerek kaybedilmekte ve azotun yaklaşık %20'si su kaynaklarına karışmaktadır (Vitousek ve ark. 1997, Galloway ve ark. 2004). Su kaynaklarında N konsantrasyonu arttıkça ötrifikasyon oluşur, suda yaşayan canlıların gelişmesi ve üremesi olumsuz bir şekilde etkilenir, insanlar sağlık açısından ve ekonomik bakımdan zarar görür (Camargo ve Alonso 2006). Benzer şekilde toprağa uygulanan fosforun (P), %85-90 oranında, büyük bir kısmı bitkiler tarafından alınamaz hale gelir. Çünkü fosfor çoğunlukla Fe, Al ve Ca gibi bazı elementler ile etkileşime girerek adsorpsiyona uğrar vaya çökelir ya da su

kaynaklarına karışır. Su kaynaklarına karışan fosfor sucul çevreyi olumsuz etkilemektedir (Omoregie ve ark. 2009, Malik ve ark. 2012). Omoregie ve arkadaşlarının (2009) yaptığı çalışmada süperfosfat (SPF) içeren gübreler, balıklardaki solungaç solunumunu olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca Fosfor (P) toprakta Fe, Al ve Ca gibi bazı elementleri fikse ederek bitkiler tarafından alınmasını engellemektedir (Malik ve ark. 2012). Sera gazlarının artışı, küresel ısınma ve asit yağmurlarının meydana gelmesi kimyasal gübrelerin tetiklediği diğer çevresel sorunlardandır (Vitousek ve ark. 1997, Flessa ve ark. 2002).

Toprağın fiziksel ve kimyasal yapısını düzeltmek amacıyla başvurulabilecek en iyi yöntemlerden biri organik gübre ilavesidir (Alagöz ve ark. 2006). Organik gübreler tamamen organik maddelerden oluşur, çiftlik gübreleri (hayvan gübresi), kompost, kan tozu, yeşil gübreler, boynuz ve tırnak tozu gibi çeşitleri vardır. En çok kullanılan çiftlik gübreleridir. Organik gübre çeşitlerinde son yıllarda artış görülmektedir. Çeşitli mikroorganizmaları, yosun ekstraktlarını ve enzimleri içeren ürünler, kompost, leonardit, hümik ve fulvik asit gibi çeşitli organik materyaller ticari olarak üretilmektedir (Okur ve ark. 2007). Doğal yollar ile oluşan humik asit ve fulvik asit organik gübre olarak kullanılabilmektedir (Ciavatta ve Govi 1993). Hümik asitler toprağın fiziksel ve kimyasal yapısını olumlu yönde etkilediği ve bitki gelişimini desteklediği bilinmektedir (Vaughan ve Linehan 1976). Hümik asitler ayrışmış organik maddede, kömür yataklarında ve toprakta bulunan, özellikle demir gibi metal katyonlarla kleyt oluşturma özelliğine sahip polimerik fenolik bileşikler içeren kompleks makro organik moleküllerdir. Humik asit, fulvik asit ve humin temel humik madde fraksiyonları olup çoğu topraklarda hümik maddelerin yaklaşık olarak %50 humin, %40 humik asit ve %10 fulvik asit olacak şekilde dağıldığı tahmin edilmektedir. Humik maddeler toprağın biyolojik aktivitesini yükseltmekte, toprak yapısını geliştirmekte, toprağın su tutma kapasitesini artırmaktadır (Russo ve Berlyn 1990). Hümik maddelerin (hümik ve fulvik asit) en önemli özelliklerinden biri topraktaki pH'ı nötralize etmesidir. Toprak içerisinde pH nötralize olunca, fikse edilmiş ve bitki kökleri tarafından alınamayan birçok mikro besin elementi alınabilir hale gelmektedir. Ayrıca hümik maddeler pestisitler ve herbisitler ile etkileşip kararlı yapılar oluşturarak onları bitkiler ve yeraltı suları için zararsız hale getirirler, ağır metallerin bitkiler tarafından alınmasını engellerlerler (Gerzabek ve Ullah 1990, Helal ve ark. 2006). Humik asitler

metal iyonlarla kompleks oluşturarak toprağın mikrobesin maddelerince zenginleşmesini sağlamaktadır. Bu kompleks oluşturma yeteneği kimyasal ve fiziksel yapısından kaynaklanmaktadır. Farklı bitkilerin kullanılmasıyla yapılan araştırmalarda, humik maddelerin bitki besin maddelerinin alımını arttırdığı belirlenmiştir (Rauthan ve Schnitzer 1981, Fanbenro ve Agbeoole 1993). Ayrıca humik maddeler, özellikle kök yapısını ve büyüme dinamiklerini değiştiren bir bitki büyüme hızlandırıcısı olarak kabul edilmektedir (Jindo ve ark. 2012, Canellas ve Olivares 2014). Humik maddelerin, çimlenme sürecinde tohum dokularındaki enzimatik aktiviteleri arttırmak koşuluyla çeşitli türlerin tohumlarında çimlenmeyi teşvik ettiği, çimlenmenin oranını, kök ve sürgün büyümesini arttırdığı bildirilmiştir (Rauthan ve Schnitzer 1981, Bujalski ve Nienow 1991).

Tarımda, zararlı böceklere karşı kullanılan kimyasal ilaçların bilinçsiz ve aşırı tüketimi birçok çevresel problemlere sebep olmaktadır. Ürünlerde kimyasal kalıntı, böceklerde direnç kazanma ve insanlarda kanser riski bu problemlerden sadece birkaç tanesidir. 1970'lerin başından itibaren kimyasal ilaçların yerini alabilecek alternatif yöntemlere eğilim artarak devam etmiştir. Kimyasal ilaçların yerini alabilecek en iyi alternatif yöntemlerden birisi de biyolojik mücadeledir. Çünkü biyolojik mücadelede yapılan uygulamalar hedef dışı organizmaları, insan sağlığını ve doğanın sahip olduğu hassas dengeyi tahrip etmemektedir. Zirai ürünlerde ekonomik kayba yol açan zararlı etmenlerin doğada kendiliğinden var olan düşmanları (parazitoid, predatör, patojen vb.) tarafından insan aracılığı ile baskı altına alınması olarak tanımlanan biyolojik mücadele yönteminde çevreye ve insan sağlığına zarar verilmez. Biyolojik mücadelede, ekonomik kayba yol açan zararlı popülasyonlarına karşı kullanılan organizmalara ajan denilmektedir. Günümüzde etkin bir şekilde kullanmakta olan önemli ajanlardan birisi de Entomopatojen nematodlar'dır (EPN'ler).

Genel olarak nematodlar; vücüt uzunluğu birkaç mm civarında olan, segmentsiz ve silindirik bir yapıya sahip olan ipliksi canlılardır. Yaşam alanları oldukça geniştir. Çöllerde, soğuk iklimlerin hâkim olduğu bölgelerde, tatlı veya tuzlu su kaynaklarında yaşayabilen nematod türleri bulunmaktadır (Stock ve ark 2009). Nematodlarda sindirim, boşaltım, üreme, sinir ve kas sistemleri vardır. Ancak gelişmiş bir solunum ve dolaşım sistemi bulunmamaktadır. Oksijen alışverişi vücut yüzeylerinden oluşurken, dolaşım

kasılma hareketleriyle veya yalancı tip vücut boşlukları vasıtasıyla gerçekleşir. Nematodlar çoğunlukla ayrı eşeylidir. Ergin dişilerin ventralinde, vücudun orta kısmına yakın bölgede, vulva denen çiftleşme organı bulunur. Bir veya iki tane ovaryuma sahiptirler. Erkek bireylerde ise spiküla denen çifleşme organı vardır, bir veya iki tane testis bulunur. Nematodlar doğada serbest halde veya diğer canlılar ile ilişki kurarak yaşam sürerler. Böcek gibi diğer canlı organizmalar ile fakültatif veya zorunlu paraziter bir ilişki kurabilirler.

Günümüze kadar, böceklerle ilişki kuran otuzdan fazla nematod familyası tespit edilmiştir. Bu familyalardan sadece yedi tanesinin [Heterorhabditidae ve Steinernematidae (Rhabditida); Mermithidae ve Tetradonematidae (Stichosomida); Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae ve Sphaerulariidae (Tylenchida)] zararlı böcekleri etkisiz hale getirebilme potansiyeli vardır. Böcekler ile entomopatojen veya entomoparazit bir ilişki kurmaktadırlar. Bundan dolayı biyolojik mücadelede kullanılmaktadırlar. Fakat günümüzde sadece Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarının formülasyonu ve kitlesel üretimi ticari olarak yapılabilmektedir (Stock 2005).

Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait bireyler, yaşam döngülerinin belirli dönemlerinde zararlı konukçuyu enfekte edebilme kabiliyetlerine sahiptirler. Bundan dolayı bu bireylere EPN denmektedir. Günümüzde biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılan EPN'ler hedef dışı organizmalara, insanlara ve çevreyev zararları düşüktür, kitlesel olarak *in vivo* ve *in vitro* yöntemleriyle üretilebilmektedir ve zararlı böceklere karşı yüksek etkiye sahiptirler (Ehlers 2001). EPN'ler günümüzde, zararlı böceklerle mücadele etmek için birçok alanda kullanılmaktadır. Meyve bahçelerinde, sebzelerde, seralarda, süs bitkilerinde ve çim alanalarında EPN uygulaması yapılmaktadır. Yaban mersini, elma, enginar ve mantar gibi birçok bitkinin üretiminde zararlı böceklere karşı EPN'ler çok etkili olabilmektedir (Stock 2005). Nematodlar genel olarak yaşam döngülerini altı temel evrede (yumurta, juvenil ve ergin) tamamlar. Juvenil evresi J1, J2, J3 ve J4 olmak üzere dört aşamadan geçmektedir. Üçüncü juvenil evresi olan J3 döneminin özel bir formu "infektif juvenil" (IJ) olarak adlandırılır ve bazı böcekleri enfekte edebilme kabiliyetine sahiptirler. Bu dönemdeki EPN'lerde üreme, beslenme ve gelişme görülmez. EPN'ler bu dönemde etkinliklerini kaybetmeden, toprak

içerisinde 8 ay gibi uzun bir süre kalabilme potansiyeline sahiptir (Susurluk 2008). Ayrıca Heterorhabditidae ve Steinernematidae familyasına ait nematodlar sırasıyla *Photorahabdus* spp. ve *Xenorhabdus* spp. bakterileri ile simbiyotik bir ilişki kurar. Bakteriler IJ'lerin ön bağırsağına veya bağırsağın içindeki özel bir keseye yerleşir. Bakteriler sadece IJ döneminde taşınır (Bird ve Akhurst 1983, Boemare ve ark. 1996). IJ'lerin pusu kurma (ambusher), gezinerek arama (cruiser) ve yarı gezici-pusucu (intermediate) olmak üzere üç tane farklı konukçu bulma stratejisi vardır. Cruiser stratejisine sahip olan EPN'ler toprak içerisindeki zararlı böcekleri aktif bir şekilde arayabilirler (Lewis ve ark. 1992, Grewal ve ark. 1994) ve insektisitlerin etkili olamadığı, 50 cm kadar derinlikteki bölgelere ulaşabilme potansiyeline sahiptirler (Susurluk 2008).

Konukçu böcek ile temas kuran IJ'ler böceğin vücüt boşluklarına ağız, solunum delikleri ve anüs gibi doğal açıklıklardan veya segmentler arası ince zardan giriş yaparlar. Böceğe giriş yapan IJ'ler, içerisinde muhafaza ettiği bakterileri serbest bırakır. Serbest kalan bakteriler böceğin vücüt dolaşım sıvısında çoğalmaya başlar. Böylece enfekte olan zararlı böcek, kan zehirlenmesinden dolayı (septisemia) 36 - 48 saat içerisinde ölmektedir (Hazır ve ark. 2003). Bakteriler enzimatik salgılar ile böcek dokularını yıkıma uğratır ve IJ'lerin gelişebilmesi için uygun bir ortam oluşturmuş olur (Susurluk ve ark. 2001). IJ'ler yıkıma uğramış ve uygun kıvama gelmiş olan böcek dokularıyla ve aynı zamanda ortamda üreyerek çoğalmış olan bakteriler ile beslenmeye başlayarak J4 evresine geçiş yapar. Ergin evrede oluşan dişi ve erkek bireyler çiftleşerek yumurta üretir. Yumurtadan dışarı çıkan EPN'ler bazı durumlarda dişinin içindeki vücut dokularıyla beslenir. Bir süre sonra dişinin vücüdunun içi tamamen yeni nesil EPN'ler ile kaplanır. Bu olaya "Endotokia matricida" denmektedir (Ciche ve ark. 2008). Ortamda yeterince besin varsa EPN'ler üremeye ve sırasıyla yumurta, juvenil, ergin evrelerine geçiş yapmaya devam eder. Ortamdaki besin kaynağı bitene kadar bu döngü tekrarlanır. Döngü, konukçu böceğin büyüklüğüne ve besin içeriğine bağlı olarak genelde 2-3 dölde tamamlanır. Ortamdaki besin kaynağı kısıtlı hale geldiğinde yumurtadan çıkan EPN'ler bakteriler ile iş birliğine yönelir ve J3 dönemindeki infektif juvenil formuna dönüşür. IJ'ye dönüşen EPN'ler, konukçu böcekten çıkış yapıp toprakta yeni konukçular aramaya başlamaktadır (Hazır ve ark. 2003).

EPN'lerin çevreye zararsız olması ve neredeyse kimyasal ilaçlar kadar etkili sonuçlar vermesi biyolojik mücadele açısından oldukça önemlidir (Boemare ve ark. 1996, Ehlers 1996). *Heterorhabditis* ve *Steinernema* (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) cinsine ait EPN'ler biyolojik mücadelede insektisitlerin yerine kullanılmaktadır (Griffin ve ark. 1990, Hominick ve ark. 1996). Ayrıca EPN'lerin öldürebileceği zararlı böcek çeşidi 250'den fazladır (Peters 1996). EPN'ler zararlı böceklere karşı toprak içerisinde uzun süre etkili olabilme potansiyeline sahiptir (Susurluk ve Ehlers 2008). Ancak toprakta EPN'lerin yaşamsal faaliyetlerini ve kalıcılığını etkileyen birçok faktör vardır (Koppenhöfer ve Fuzy 2006).

Toprak yapısının EPN'ler üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (Koppenhöfer ve Fuzy 2006). Toprak içerisinde yaşam süren EPN'ler gübreler ile etkileşim halindedir. Çeşitli gübreler EPN'lerin topraktaki kalıcılığını etkileyebilir (Shapiro ve ark. 1996, Bednarek ve Gaugler 1997). Kimyasal gübrelerin yoğun ve uzun süre kullanılmasıyla çeşitli çevresel problemler meydana gelmiştir (Camargo ve Alonso 2006, Omoregie ve ark. 2009, Malik ve ark. 2012).

Kimyasal gübrelerin EPN'ler üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla yapılan araştırmalar az sayıda ve sadece azot (N) içeriğine yönelik olup NPK ve ÜRE gübreleri ile sınırlıdır (Bednarek ve Gaugler 1997, Shapiro-Ilan ve ark. 1999). Azot içerikli birçok gübrenin EPN'ler üzerine etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Azotun ve diğer besin elementlerinin birbirinden farklı türevlerini içeren kimyasal gübrelerin, EPN'ler üzerine nasıl bir etki göstereceğini tespit etmek biyolojik mücadele açısından oldukça önemlidir.

Kimyasal gübrelerin çevresel zararları ortaya çıktıkça organik gübrelere yönelim artmaktadır. Doğal yollar ile oluşan humik asit ve fulvik asit organik gübre olarak kullanılabilmektedir (Ciavatta ve Govi 1993). Hümik asitlerin EPN'lere karşı olumlu veya olumsuz bir etki gösterdiğini belirten herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu tez çalışmasında, tarımda yoğun olarak kullanılan bazı inorganik gübreler (ÜRE, amonyum sülfat, amonyum nitrat, NPK, NP, diamonyum fosfate, mono amonyum fosfat, magnezyum sülfat heptahidrat, boraks dekahidrat, hümik asit ve fulvik asit) ile toprakta pH düzenleyici olan hümik ve fulvik asitin EPN'ler üzerine olan direkt etkisini

belirlemek amacıyla araştırmalar yapılmıştır. Arazide dekara kullanılan oran baz alınarak düşük, orta ve yüksek olacak şekilde üç farklı gübre dozu belirlenerek ve iki farklı EPN türü (*Steinernema feltiae* TUR-S3, *Heterorhabditis bacteriophora* HBH) üzerinde denemeler kurulmuştur.

EPN'leri biyolojik mücadelede daha verimli bir şekilde kullanabilmek amacıyla, kimyasal gübrelerin etkisi üzerine yapılan çalışmalar az sayıda olup sadece NPK ve ÜRE ele alınmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalar genelde gübrelerdeki azot (N) içeriğine yönelik olmuştur. Biyolojik mücadelede EPN'leri daha etkili bir şekilde uygulayabilmek için günümüzde kullanımı yaygın olan farklı türevlerdeki organik ve inorganik gübrelerin etkisi araştırılıp yeni çalışmalar yapılmalıdır. Bu tez çalışması ile bu açığın kısmen kapatılacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Topraktaki pH dengesinin bozulması, aşırı ve dengesiz inorganik gübre kullanımının sonucunda ortaya çıkan problemlerden biridir. "pH" dengesi bozulunca, fosfor (P) ve kalsiyum (Ca) gibi bazı besin elementleri bitkiler tarafından alınamaz hale gelmektedir. Böylece bitkilerde besin eksikliği görülmekte ve ilave gübre uygulanması gerekli olmaktadır (Bilen ve Sezen 1993, Bellitürk 2011). Ayrıca aşırı ve dengesiz bir şekilde gübreleme yapılan arazilerde, toprak tuzluluğu ve ağır metal birikimi oluşabilmektedir (Sönmez ve ark. 2008, Huang ve Jin 2008, Campos-Herrera ve ark. 2010). Nematodlar toprak tuzluluğuna maruz kaldığında, EPN'lerin hareketleri kısıtlanır, konukçularını bulma ve tanıma yetenekleri azalır (Nielsen 2011). Kimyasal gübrelerin çevreye verdiği zarar, organik gübrelerin önemini artırmaktadır. Organik gübre uygulanmış olan toprakların yüksek organik madde içeriğine sahip olduğu ve mikro fauna (microbial biomass) sayısı bakımından kimyasal gübreleme yapılan topraklara göre daha zengin olduğu bilinmektedir (Reganold 1988, Hasebe ve ark. 1985, Hassink ve ark. 1991, Edmeades 2003). Shapiro (1996), *Steinernema carpocapsae*'nin balmumu güvesine (*Galleria mellonella* Lep.: Pyralidae) karşı gösterdiği virülensliğin nasıl etkileneceğini test etmek amacıyla taze inek gübresi, kompost gübresi ve üre kullanmıştır. Laboratuvar ortamında üre ve taze inek gübresi virülensi düşürmüştür. Saha çalışmasında sadece fermente olmamış taze inek gübresi virülensi olumsuz etkilemiştir. Kompost gübre ise hem laboratuvar ortamında hem de saha çalışmasında virülensi olumsuz bir şekilde etkilememiştir.

Seenivasan ve Senthilnathan (2018)'nın yaptığı çalışmada: linyit kömüründen doğal olarak elde edilen hümik asit, muz bitkisinde zarar yapan *Meloidogyne incogntia* türüne karşı kullanıldı. Hümik asitin bütün dozları (%0.04, %0.08, %0.2 ve %0.4) *Meloidogyne incogntia* popülasyonunu önemli derecede kısıtlamıştır. Popülasyon yoğunluğu %53.5-56.7, kök enfeksiyonu %61.9-63.8, yumurta sayısı %61.9-63.8 oranında azalmıştır. Ayrıca hümik asit, çalışmada kullanılan biyolojik ajanlara (*Pseudomonas fluorescens* ve *Trichoderma viride*) olumsuz bir etki göstermemiştir. Sonuç olarak, hümik asit uygulaması bitki gelişimini desteklerken *Meloidogyne incogntia*'nın popülasyon gelişimini kısıtlamaktadır. Jothi ve ark. (2009) %0.4-1.0 oranındaki hümik asitin, *M. incognita* popülasyonunu %93-100 oranında kısıtlayacağını

belirtmiştir. Benzer şekilde, Saravanapriya ve Subramanian (2007) hümik asit uygulamasının, domatesteki *M. incognita* zararını azaltacağını belirtmektedir. Ayrıca humik asitler hayvanlar için gerekli olan makro ve mikro besin maddelerini sağlar ve hayvanlarda antibakteriyel, antifungal özelliğe sahiptir.

Bednarek ve Gaugler (1997) inorganik ve organik gübrelerin EPN'ler üzerine olan etkisini infektivite, üreme ve popülasyon yoğunluğu bakımından araştırmıştır. 1700, 3400 ve 5100 mg/litre olacak şekilde NPK gübresi üç farklı dozda EPN'lere uygulanmıştır. 10-20 gün süren laboratuvar çalışmalarında yüksek dozdaki inorganik gübreler EPN üremesini ve enfektivitesini kısıtlamaktatdır. Fakat 1 günlük süreci kapsayan çalışmada NPK gübresinin enfektiviteyi artırdığı görülmüştür. Ayrıca *Heterorhabditis bacteriophora* türüne ait EPN'ler *Steinernema feltiae* ve *Steinernema anomali* türlerine ait bireylere göre inorganik gübrelerin zararlı etkisine karşı daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Saha çalışmasında, organik gübre uygulaması *S. feltiae*'nin popülasyon yoğunluğunu artırmıştır. NPK uygulaması ise topraktaki organik materyal varlığından etkilenmeksizin EPN popülasyonunu kısıtlamıştır. 1 gün gibi kısa süreli biyolojik mücadele yapılmak istendiğinde EPN'ler NPK gübresi ile birlikte uygulanabilir. Fakat uzun dönemi kapsayacak olan biyolojik mücadelede EPN'lerin NPK gübresi ile birlikte uygulanmaması gerektiği ve organik gübreler kullanıldığında topraktaki EPN kalıcılığı artacağı bu çalışmanın sonuçlarından çıkarılabilir.

Shapiro (1999) bazı gübrelerin, *Steinernema carpocapsae*'nin bozkurtlara (*Agrotis ipsilon*) yönelik olan enfekte edebilme kabiliyetini nasıl etkileyebileceğini araştırmak amacıyla çalışmalar yapmıştır. Mısır fidelerinin ekildiği araziye üç farklı gübre (taze inek gübresi, fermente olmuş organik gübre ve ÜRE) uygulanmıştır. Toplam azot (N) oranı dekara 28 kg ve 56 kg olacak şekilde iki farklı doz kullanılmış ve tahrip olan mısır fidelerinin miktarı baz alınarak bozkurt zararı belirlenmiştir. Kontrol parsellerine kıyasla EPN kullanılan arazilerin tümünde bozkurt zararı daha düşük olmuştur. Sadece taze inek gübresi kullanılan arazide kontrole kıyasla bozkurt zararı azalmamıştır. *S. carpocapsae*'nin bozkurt zararlısına karşı olan enfekte edebilme kabiliyetini ÜRE ve fermente olmuş organik gübre olumsuz bir şekilde etkilemediği tespit edilmiştir. Sadece taze inek gübresi biyolojik mücadelede kullanılan EPN'lerin aktivitesini olumsuz yönde etkilemektedir.

Toprak işleme, sulama, gübreleme (organik gübre ve NPK) ve herbisit kullanma (Trifluralin EC) gibi tarımsal faaliyetlerin EPN'ler (*Steinernema feltiae* ve *Heterorhabditis bacteriophora*) üzerine gösterdiği etkiyi araştırmak amacıyla Susurluk (2008) iki yıl süren saha çalışması yapmıştır. İkinci yılda *Heterorhabditis bacteriophora*, çalışmada uygulanan tarımsal faaliyetlerin tümünden olumsuz yönde etkilenirken *Steinernema feltiae* iki yıl boyunca olumsuz bir şekilde etkilenmemiştir.
S. feltiae'nin kalıcılığı *H. bacteriophora*'ya göre daha uzun sürmüştür. *S. feltiae* ile *H. bacteriophora*'nın kalıcılığını olumsuz yönde etkileyen faktörlerden en önemlileri sırasıyla herbisit uygulanması ve toprağın işlenmesi olmuştur.

Gübreleme gibi tarımsal faaliyetlerin yapıldığı arazilerde, doğal alanlara göre daha çok ağır metal birikimi olduğu bilinmektedir (Campos-Herrera ve ark. 20010). EPN'lerin canlılık, infektivite ve hareket kabiliyeti gibi yaşamsal faaliyetlerini metal iyonların nasıl etkileyebileceğini tespit etmek amacıyla Jaworska ve arkadaşaları (1996) 96 saatlik süreyi kapsayan labaratuvar çalışmasında, *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) türüne ait EPN'leri 16 tane iyona (A1, Cd, Co(II), Cr(III), Cr(VI), Cu(II), Fe(III), Li, Mg, Mn(II), Mo(VI), Ni(II), Pb(II), Se(IV), V(V), Zn) maruz bırakmıştır. Cu(II), Pb(II) ve Zn haricindeki hiçbir iyon *S. carpocapsae*'ye karşı öldürücü bir etki göstermemiştir. Fakat uygulanan iyonlar, EPN'lerin petek güvesine (*Galleria mellonella*) karşı olan infektivitesini azaltmaktadır. EPN'ler bazı ağır metallere karşı dayanıklı olsa bile infektivite bakımından etkinliğin azalabileceği bu çalışma ile görülmektedir. Ayrıca Jaworska ve ark. (1997), metal iyonların *Heterorhahditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla 4 günlük süreci kapsayan laboratuvar çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada 16 tane iyon (AI, Cd, Co(ll), Cr(lll), Cr(VI), Cu(lI), Fe(III), Li, Mg, Mn(ll), Mo(VI), Ni(II), Pb(ll), Se(IV), V(V), Zn) kullanılmış ve *Heterorhahditis bacteriophora*'nın enfektivite kabiliyeti ile canlılığı gözlemlenmiştir. Sadece Pb(lI) EPN'ler üzerinde öldürücü etki göstermiştir. Ayrıca *Heterorhahditis bacteriophora*'ya karşı Mn(II), Mg, Fe(lII) ve Ni(ll) iyonları hafif canlandırıcı etki göstermiştir. Fakat bu uygulamalar, EPN'lerin petek güvesi larvalarına (*Galleria mellonella*) karşı gösterdiği enfektiviteyi azaltmıştır. Enfektiviteyi özellikle Ni(ll) ve Pb(ll) iyonları azaltmaktadır.

Aşırı ve dengesiz gübreleme, toprakta zararlı toksik elementlerin birikmesine sebep olmaktadır. Sun ve ark. (2016), toprakta biriken toksik elementlerin faydalı organizmalar (entomopatojen nematodlar) üzerindeki olumsuz etkisini araştırmak amacıyla çalışma yapmıştır. Yapılan çalışmada, ağır metallerin EPN'ler (*Steinernema carpocapsae* ve *Heterorhabditis bacteriophora*) ve bitki paraziti nematodlar (PPN-*Meloidogyne incognita*) üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ayrıca petek güvesi larvasına (*Galleria mellonella*) karşı *H. bacteriophora*'nın gösterdiği enfektivite azalmıştır. 24 saat süren aboratuvar çalışmasında 4.5 mg/L Cu, 50 mg/L Zn ve 7.5 mg/L Cr *H. bacteriophora* ve *M. incognita* üzerine uygulanmış. Uygulama sonucunda *M. incognita*'nın *H. bacteriophora*'ya göre ağır metallere karşı daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *H. bacteriophora* uygulanan araziye Cu, Zn veya Cr tuzları ilave edildiğinde *M. incognita* zararı artmıştır. Bu çalışmaya göre ağır metal birikimi olan arazilerde biyolojik mücadele amacıyla EPN kullanımının başarısız olma ihtimali vardır.

Toprak yapısı, toprak işleme ve gübreleme entomopatojenik nematodların (EPN) yaygınlığını ve kalıcılığını etkilemektedir. Gübrelerin EPN'ler üzerine gösterdiği etkiyi tespit etmek amacıyla yapılan çalışmalara bakıldığında, genel olarak organik gübrelerinin zararsız olduğu öngörülebilmektedir. Sadece taze hayvan gübresi EPN etkinliğini kısıtlamaktadır. Bu olumsuz etkiye taze hayvan gübresinin barındırdığı yüksek orandaki azot (N) miktarı sebep olduğu düşünülmektedir (Shapiro ve ark. 1996, Shapiro ve ark. 1999).

Kimyasal gübreler EPN'lerin aktivitesini direkt olarak kısıtlayabilir veya ağır metal birikimine sebep olarak dolaylı yoldan biyolojik mücadeleye engel olabilir (Campos-Herrera ve ark. 2009). Çünkü bazı ağır metaller EPN'ler üzerinde öldürücü etkiye sahiptir (Jaworska ve ark. 1996, Jaworska ve ark. 1997, Sun ve ark. 2016).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Laboratuvar Ortamında *Galleria mellonella* Larvalarının Yetiştirilmesi

Petek güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın dördüncü dönem larvaları, EPN'lerin topraktan izole edilmesinde ve *in vivo* üretiminde kullanılmaktadır. Petek güvesi larvaları EPN'lere karşı oldukça hassastır ve nematodların çoğalabilmesi için uygun büyüklüğe sahip olup labaratuvar ortamında yetiştirilmesi kolaydır (Bedding ve Akhurst 1975). *G. mellonella* larvası yetiştirmek için, gözenek çapı yaklaşık 2 mm olan sık örülü metal tel ile üzeri kapatılmış cam kavanozlar kullanılmıştır. Kavanozun içerisine yerleştirilen yumurtalarından çıkan *G. mellonella* larvalarının (Şekil 3.1.) beslenmesi için bal, gliserin, kepek, mısır unu, soya unu, süt tozu ve maya karışımından (Çizelge 3.2.) oluşan bir besin ortamı (Şekil 3.2) hazırlanmıştır. Cam kavanozlar inkübator içerisinde 30-32 °C sıcaklıkta tutulmakta ve yumurtalar yaklaşık 4 hafta içerisinde son dönem larva evresine (4. larva evresi) ulaşmaktadır (Şekil 3.3.). EPN üretiminde kullanılmak üzere, dördüncü dönem larvalar besin ortamından ayıklanmaktadır (Şekil 3.4.). *G. mellonella* üretiminin devamlılığını sağlamak amacıyla besin ortamında bir miktar dördüncü dönem larva bırakılarak sırasıyla pupa ve ergin olup tekrardan yumurta bırakmasına müsaade edilmiştir.

Çizelge 2.1. *Galleria mellonella* için hazırlanan besin ortamının içeriği

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



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



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



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



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

3.2. Çalışmada Kullanılan EPN Irkları ve *In Vivo* Üretim

Bu araştırmada iki farklı EPN türü kullanılmıştır, *Steinernema feltiae* (TUR-S3) ve *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH). EPN'ler *in vivo* olarak üretilmiştir. Son dönem *G. mellonella* larvaları EPN'lere maruz bırakılmaktadır ve böylece enfeksiyon gerçekleşmektedir. Enfekte olan *G. mellonella* larvaları, Ringer solüsyonu (7,5 g NaCl, 0,35 g KCL, 0,21 g $CaCl_2$ x $2H_2O$ ve 1 L saf su) ile ıslatılmış beyaz tuzağa alınarak EPN çıkışı beklenmektedir (Şekil 3.5.) (White 1927). Bu çalışmada, enfekte edilmiş *G. mellonella* larvalarından çıkış yapan 2-3 günlük infektif juvenil'ler (IJ) kullanılmıştır. Çıkış yapan IJ'ler toplanarak, 10 µl'de yaklaşık 30 tane IJ olacak şekilde bir Ringer solüsyonu içinde, kültür kaplarında muhafaza edilmiştir (Şekil 3.6.).



Şekil 3.5. Beyaz tuzak yöntemiyle İJ çıkışının beklenmesi



Şekil 3.6. Ringer-nematod karışımını içeren kültür kapları

3.3. Çalışmada Kullanılan Gübre Çeşitleri

Bu çalışmada ÜRE (H_2N-CO-NH_2, toplam azot (N) oranı %46), amonyum sülfat (AS, formülü $(NH_4)_2SO_4$, toplam azot (N) oranı %21, toplam kükürt (S) oranı %24), amonyum nitrat (AN, formülü NH_4NO_3, toplam azot (N) oranı %33), NPK (15-15-15+20(SO_3)+Zn: Toplam azot (N) oranı %15, toplam P_2O_5 oranı %15, toplam K_2O oranı %15, toplam SO_3 oranı %20, toplam Zn oranı %1), NP (20-20-0+5.5(SO_3)+Zn: Toplam azot (N) oranı %20, toplam P_2O_5 oranı %20, toplam SO_3 oranı %5.5, toplam Zn oranı %1), diamonyum fosfat (DAP, formülü $(NH_4)_2HPO_4$, toplam azot (N) oranı %18, toplam (sulu çözeltide) P_2O_5 oranı %46), mono amonyum fosfat (MAP, 12-61-0), magnezyum sülfat heptahidrat (formülü: $MgSO_4.7H_2O$), boraks dekahidrat ($Na_2B_4O_7.10H_2O$), %15 sıvı hümik asit ve fulvik asit (BLACKJAK SC) gübreleri kullanılmıştır.

3.4. Gübre Solüsyonlarının Hazırlanışı

Gübrelerin araziye uygulandığı formu ve genel olarak dekara önerilen doz miktarı baz alınarak, herbir gübre için en az iki farklı doz belirlenmiştir. Erimesi zor olan katı haldeki kimyasal gübreler (NPK, NP, DAP, ÜRE, AN, AS) (Şekil 3.7.) saf su içerisinde kolayca eriyebilmesi ve homojen bir karışım elde edilebilmesi için ezilerek küçük parcacıklara ayrılmıştır. Gübre solüsyonu hazırlanmasında 500 ml'lik beherler kullanılmıştır. 500 ml saf su içerisine aşağıda belirtilen dozlarda ilave edilen gübreler, manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen olacak şekilde çözündürülmüştür (Şekil 3.8.).

Türkiye'de dekara önerilen azot (N) miktarı, ürün ve toprak ihtiyacına bağlı olarak, genellikle 3 ila 20 kg arasında değişmektedir (Demirtaş ve Yılmaz 2003). P_2O_5 ise 4 ila 18 kg arasında değişen miktarlarda önerilmektedir. Bununla birlikte önerilen doz farklı durumlarda daha yüksek olabilir. Örneğin seralardaki domates yetiştiriciliğinde tavsiye edilen N miktarı 53,7 kg/da, fosfor 23,4 kg/da ve potasyum 38,3 kg/da'dır (Demirtaş ve Yılmaz 2003). Genel olarak toprağa uygulanan standart NPK doz miktarının bir litrede 1,7 grama karşılık geldiği hesaba katılarak (Bednarek ve Gaugler 1997) ve tarım arazilerine uygulanan düşük veya yüksek miktarlardaki gübre oranları dikkate alınarak yapılan bu çalışmada NPK, NP, DAP, MAP, ÜRE, AN ve AS gübreleri için 1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L olacak şekilde üç farklı doz belirlenmiştir. Dekara uygulanan doz miktarı,

azotlu gübrelere kıyasla daha düşük olan magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4.7H_2O$) (Horuz ve korkmaz 2006, Deliboran ve ark. 2011) ve boraks dekahidrat ($Na_2B_4O_7.10H_2O$) (Gülümser ve ark. 2005, Katar ve ark. 2014) için 0,03 g/L, 1,5 g/L ve 7,5 g/L olmak üzere üç ayrı solüsyon hazırlanmıştır. %15 oranında hümik ve fulvik asit içeren sıvı organik gübrenin (BLACKJAK SC) etiketinde tavsiye edilen doz miktarları dikkate alınarak, litreye 2 ve 5 ml olacak şekilde iki ayrı solüsyon hazırlanmıştır.



Şekil 3.7. Çalışmada kullanılan katı haldeki inorganik NPK, NP, DAP, ÜRE, AN ve AS gübreleri



Şekil 3.8. 500 ml'lik beherlerdeki saf su içerisinde çözülmüş gübreler

3.5. *Steinernema feltiae* (TUR-S3) ve *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH) Irklarının Gübre Solüyonlarına Maruz Bırakılması

Her bir gübre dozu için bir tane 24'lü kültür kabı kullanılmıştır. İlk olarak 24'lü kültür kaplarının her bir hücresine, içerisinde yaklaşık olarak 30 tane canlı IJ bulunduran 10 µl Ringer-nematod karışımı eklenmiştir. Daha sonra 24'lü kültür kaplarının her bir hücresine, belirlenen 1 ml gübre solüsyonu ilave edilmiştir. Kontrol amaçlı olarak kullanılan 24'lü kültür kabına, gübre solüsyonu yerine sadece 1 ml saf su eklenmiştir. Suyun buharlaşması sonucu konsantrasyonun değişmemesi için, buharlaşmayı engellemek amacıyla, her bir hücredeki karışımın yüzeyi kanola yağı ile kaplanmıştır (Şekil 3.9.).



Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan IJ'lerin 24'lü kültür kaplarında, belirli gübre dozlarına maruz bırakılması

3.6. Periyodik İnceleme

24'lü kültür kaplarının herbir hücresindeki IJ'lerin ölüm oranları, 10 günlük süreci kapsayan deneyde sırasıyla birinci, beşinci ve onuncu gün sonunda belirlenmiştir. Bu çalışma, uygulanan gübrelerin nematodlar üzerine olan direkt etkisini belirlemek amacıyla üç defa tekrar edilmiştir.

3.7. İstatistiksel Analizler

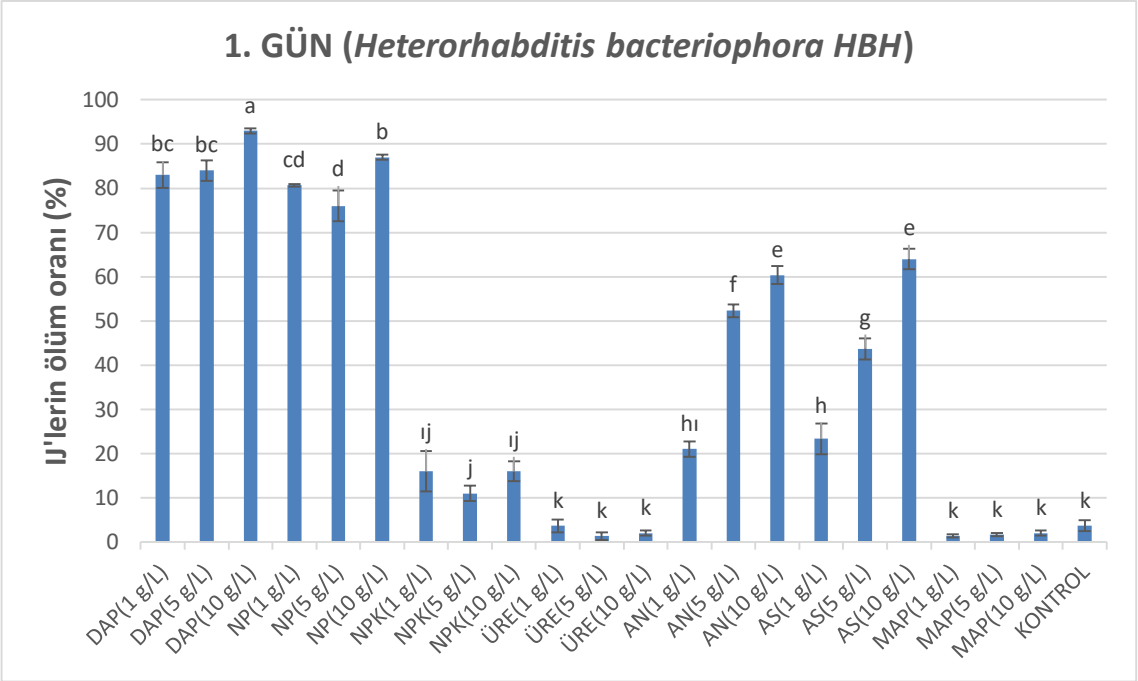
EPN'lerin ölüm oranlarındaki istatistiksel farklılıklar tek yönlü ANOVA (varyans analizi) yöntemiyle analiz edilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkın belirlenmesi için LSD (en önemsiz fark) testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

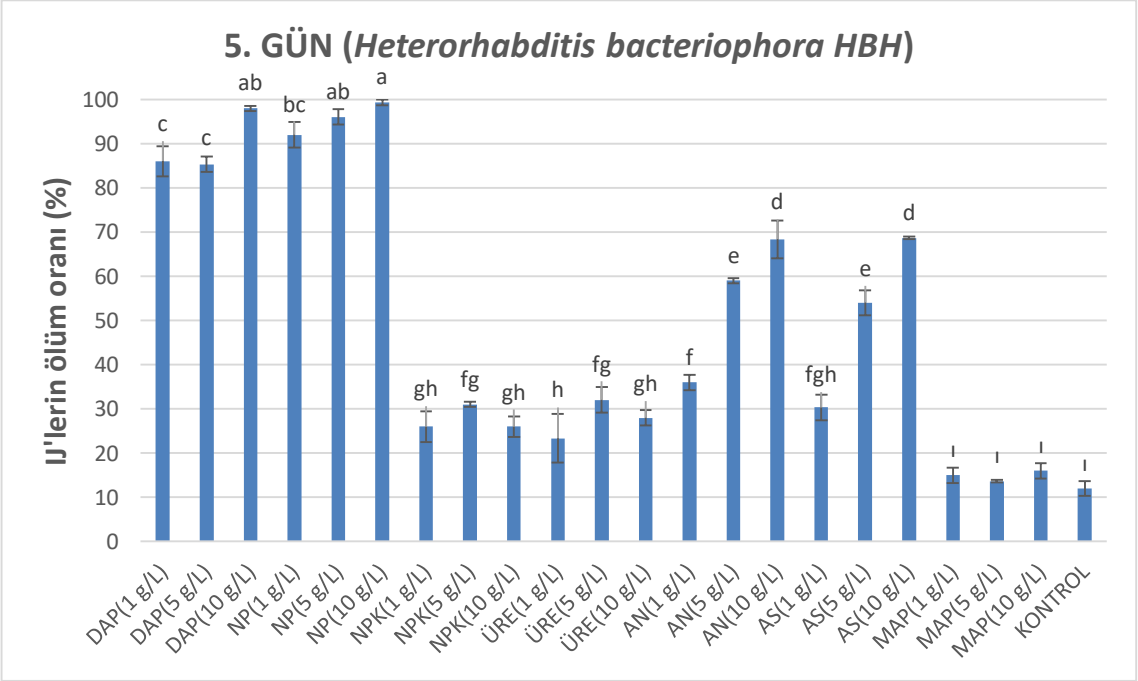
4.1. Çalışmada Kullanılan İnorganik Gübrelerin *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH) Üzerine Etkisi

10 günlük süreci kapsayan çalışmada, *H. bacteriophora* (HBH) ırkı üç ayrı dozdaki (1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L) NPK, NP, DAP, ÜRE, AN, AS ve MAP (mono amonyum fosfat) gübrelerine maruz bırakılmıştır. Bu uygulamadan bir gün sonra, ÜRE ve MAP hariç kullanılan diğer tüm gübre dozları IJ'ler üzerinde önemli derecede öldürücü etki gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.1.). Uygulamadan 5 gün sonra, MAP hariç diğer tüm gübre dozları önemli derecede öldürücü etkiye sahip olmuştur. Ayrıca DAP ve NP'nin IJ'ler üzerindeki öldürücü etkisi diğer solüsyonlara kıyasla daha yüksek belirlenmiştir (Şekil 4.2.). Benzer şekilde, uygulamadan 10 gün sonra MAP hariç diğer tüm gübre dozları önemli derecede öldürücü etkiye sahip olmuştur (Şekil 4.3.).

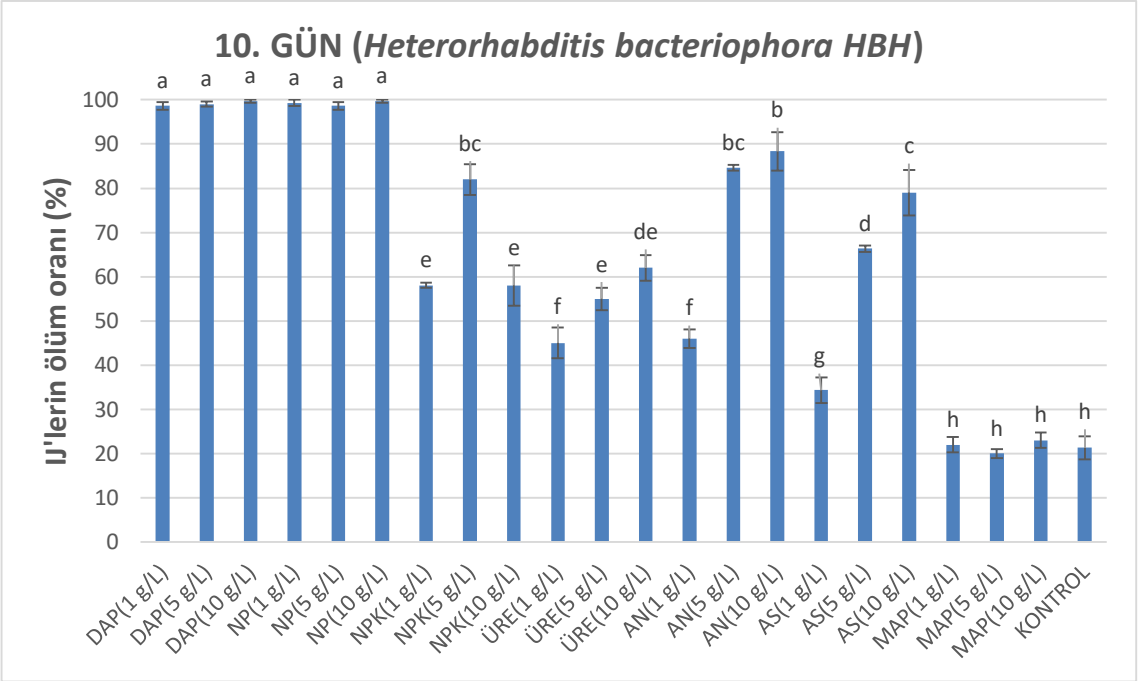
10 günlük süreci kapsayan çalışmada, *H. bacteriophora* (HBH) ırkı üç ayrı dozdaki (0,3 g/L, 1,5 g/L ve 7,5 g/L) magnezyum sülfat heptahidrat (Mg) ve boraks dekahidrat (BOR) gübrelerine maruz bırakılmıştır. Bu uygulamadan bir gün sonra, IJ'ler üzerindeki öldürücü etkileri bakımından, gübre dozları arasında kontrole kıyasla önemli bir farklılık görülmemiştir. Uygulamadan 5 gün sonra, kontrole kıyasla 0,3 g/L dozundaki Mg kaynaklı gübrenin IJ'ler üzerindeki öldürücü etkisi daha yüksek olurken, 1,5 g/L dozunda daha düşük olmuştur. Benzer şekilde uygulamadan 10 gün sonra, kontrole kıyasla en yüksek IJ ölümü 0,3 g/L dozundaki Mg kaynaklı gübre solüsyonunda gerçekleşmiştir (Şekil 4.4.).



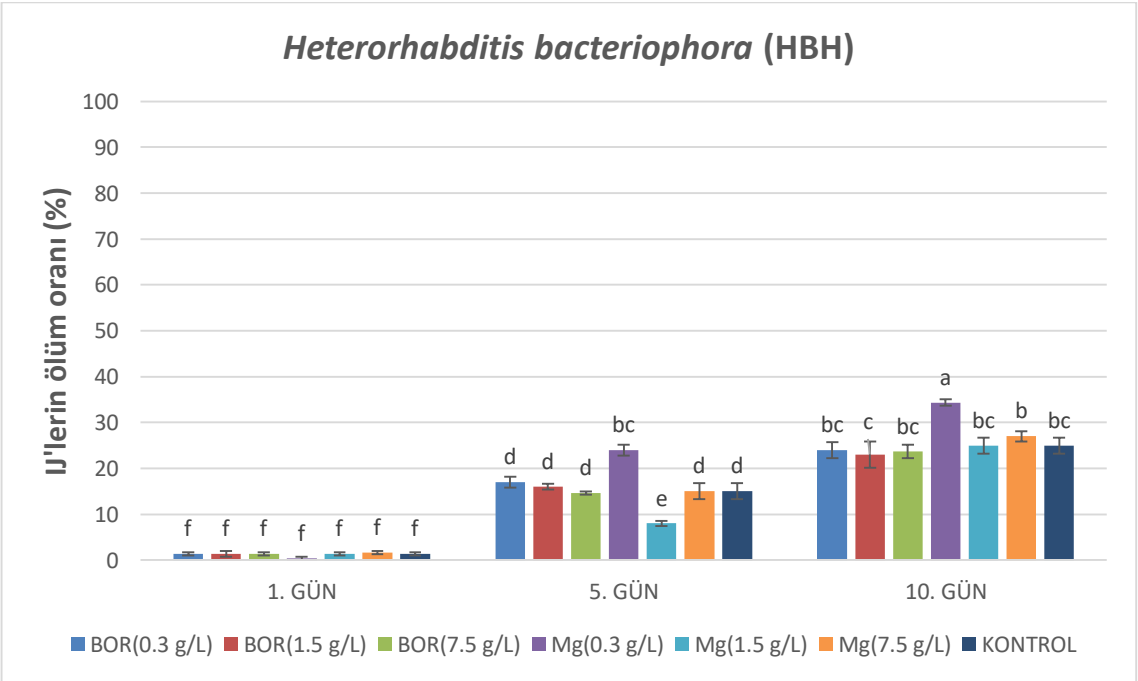
Şekil 4.1. Uygulamadan 1 gün sonra, belirli dozlardaki (1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L) gübre solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi (F: 284.76, df: 21;44, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir



Şekil 4.2. Uygulamadan 5 gün sonra, belirli dozlardaki (1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L) gübre solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi (F: 161.32, df: 21;44, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir



Şekil 4.3. Uygulamadan 10 gün sonra, belirli dozlardaki (1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L) gübre solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi (F: 137.56, df: 21;44, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir

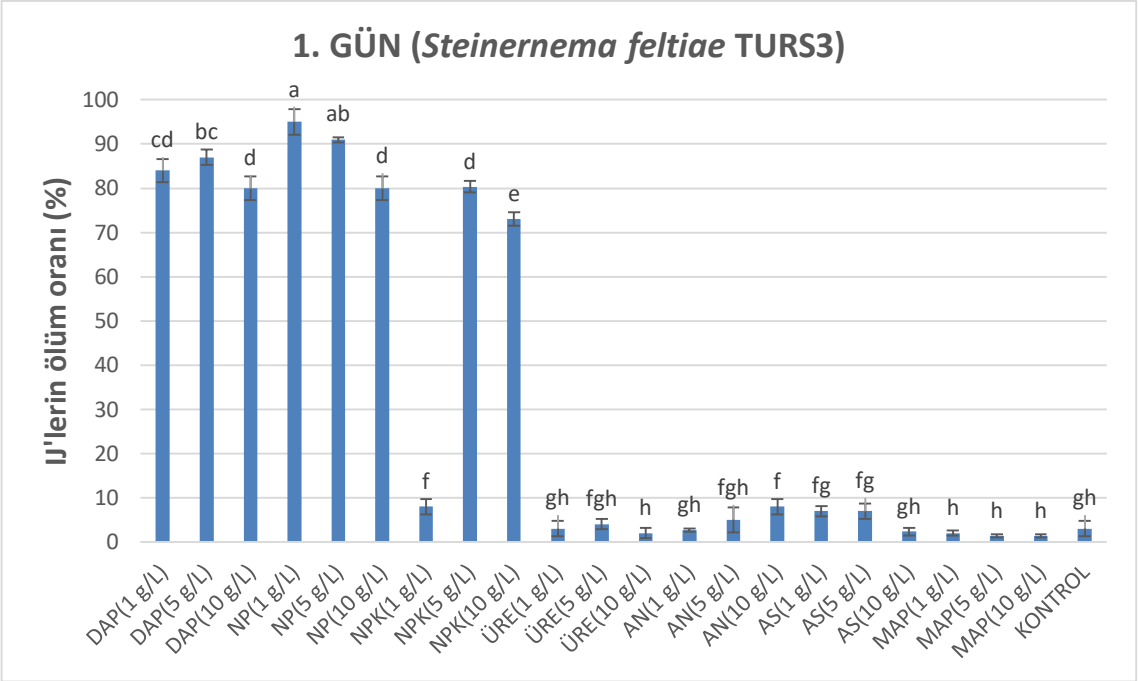


Şekil 4.4. Uygulamadan 1, 5 ve 10 gün sonra, belirli dozlardaki (0,3 g/L, 1,5 g/L ve 7,5 g/L) gübre (BOR: Boraks dekahidrat, Mg: Magnezyum sülfat heptahidrat) solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi (F: 78.95, df: 20;42, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir

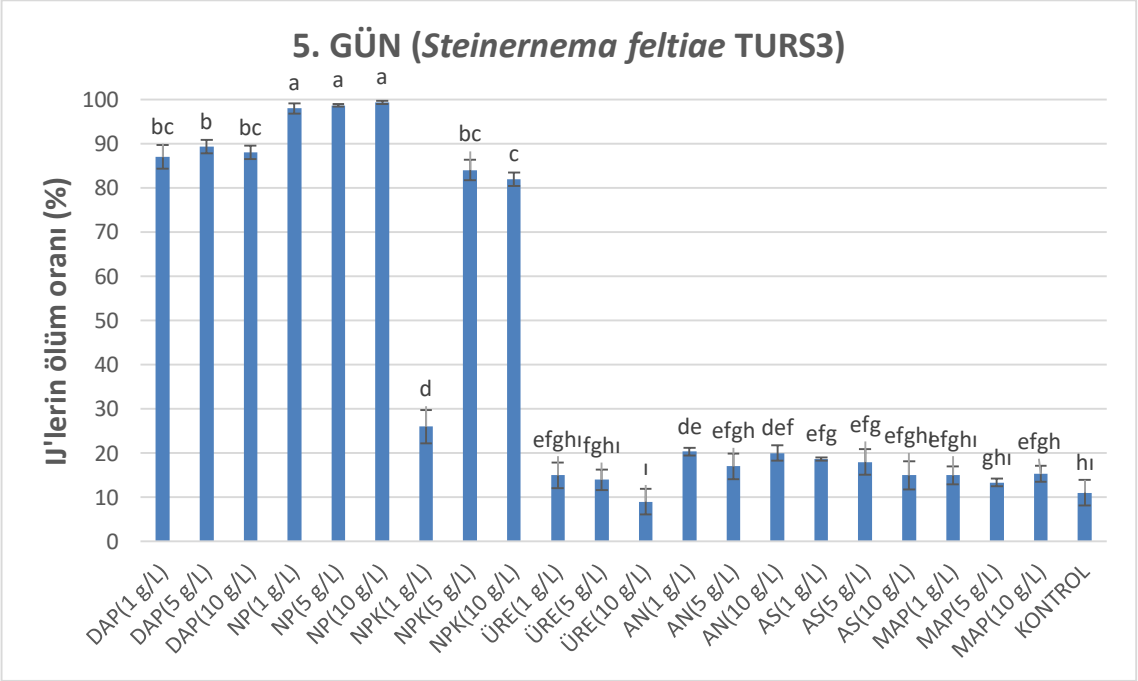
4.2. Çalışmada Kullanılan İnorganik Gübrelerin *Steinernema feltiae* (TUR-S3) Üzerine Etkisi

10 günlük süreci kapsayan çalışmada, *Steinernema feltiae* (TUR-S3) ırkı üç ayrı dozdaki (1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L) NPK, NP, DAP, ÜRE, AN, AS ve MAP (mono amonyum fosfat) gübrelerine maruz bırakılmıştır. Bu uygulamadan bir gün sonra, NPK, NP, DAP gübrelerinin tüm dozları ve AN gübresinin 10 g/L dozu kontrole kıyasla IJ'ler üzerinde önemli derecede öldürücü etki göstermiştir (Şekil 4.5.). Uygulamadan 5 gün sonra, URE ve MAP gübrelerinin tüm dozları ile 5 g/L dozundaki AN ve 10 g/L dozundaki AS gübreleri hariç bütün solüsyonlar kontrole kıyasla önemli derecede öldürücü etki göstermiştir (Şekil 4.6.). Uygulamadan 10 gün sonra sadece DAP, NP ve NPK gübrelerinin tüm dozları kontrole kıyasla önemli derecede öldürücü etkiye sahip olmuştur (Şekil 4.7.).

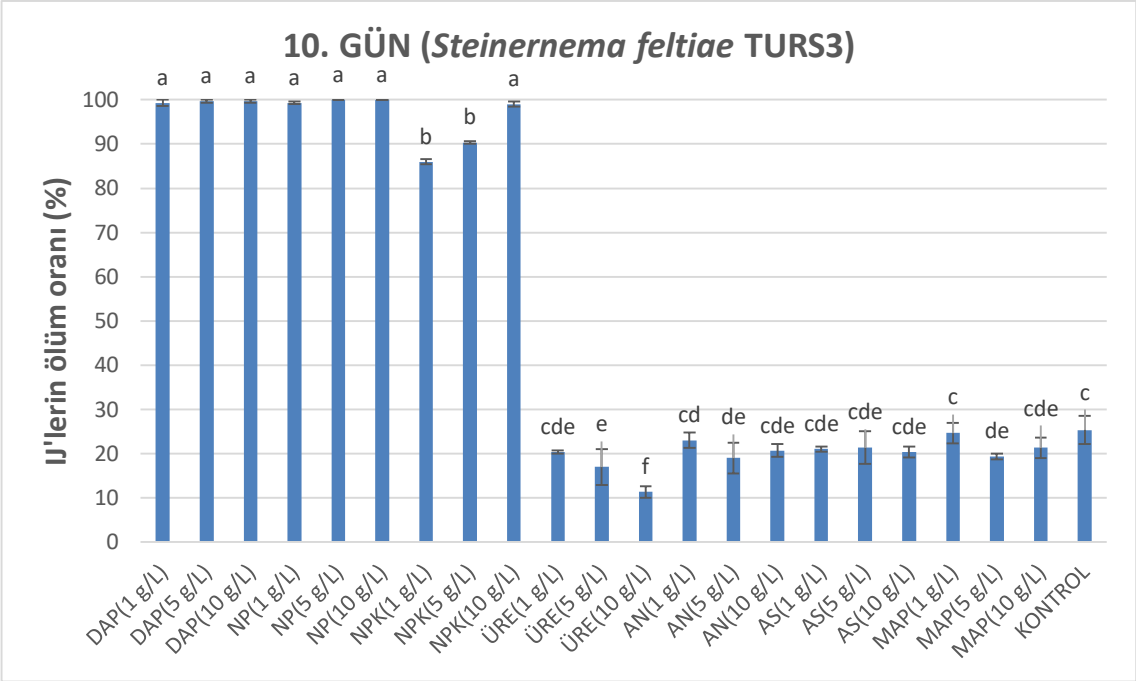
Ayrıca *Steinernema feltiae* (TUR-S3) üç ayrı dozdaki (0,3 g/L, 1,5 g/L ve 7,5 g/L) magnezyum sülfat heptahidrat (Mg) ve boraks dekahidrat (BOR) gübrelerine de maruz bırakılmıştır. Bu uygulamadan 1 gün sonra, İJ'ler üzerindeki öldürücü etkileri bakımından, gübre dozları arasında kontrole kıyasla önemli bir farklılık görülmemiştir. Uygulamadan 5 gün sonra, kontrole kıyasla 0,3 g/L dozundaki Mg kaynaklı gübrenin IJ'ler üzerindeki öldürücü etkisi daha yüksek olurken, 1,5 g/L dozunda daha düşük olmuştur. Uygulamadan 10 gün sonra, IJ'ler üzerindeki öldürücü etkileri bakımından, gübre dozları arasında kontrole kıyasla önemli bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4.8.).



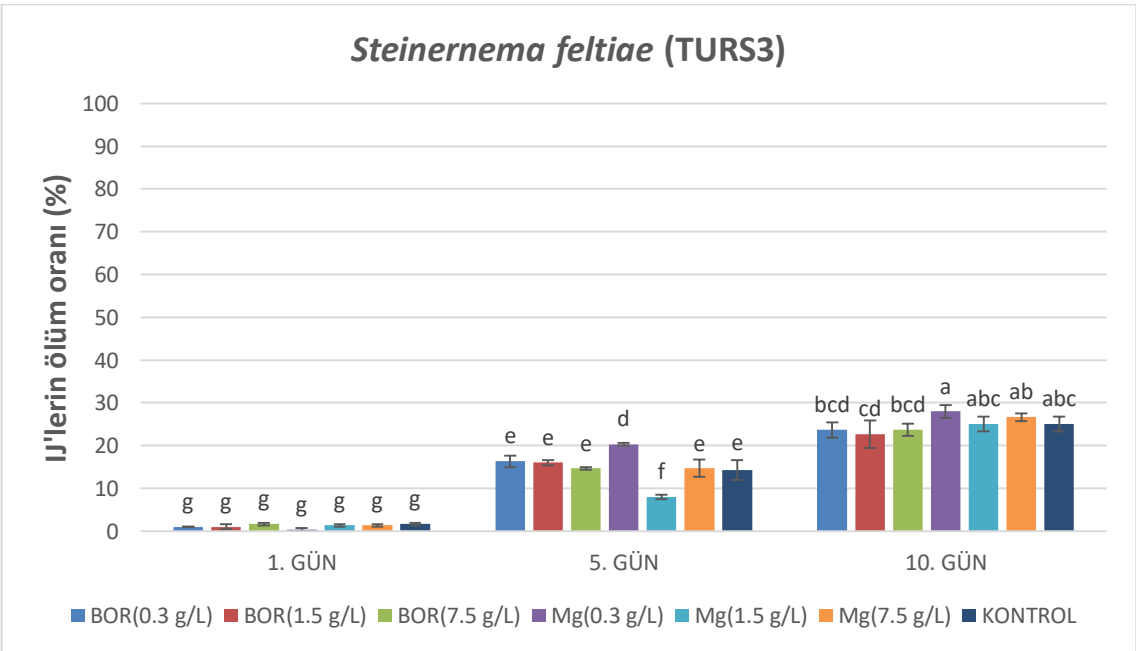
Şekil 4.5. Uygulamadan 1 gün sonra, belirli dozlardaki (1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L) gübre solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi (F: 524.14, df: 21;44, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir



Şekil 4.6. Uygulamadan 5 gün sonra, belirli dozlardaki (1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L) gübre solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi (F: 290.28, df: 21;44, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir



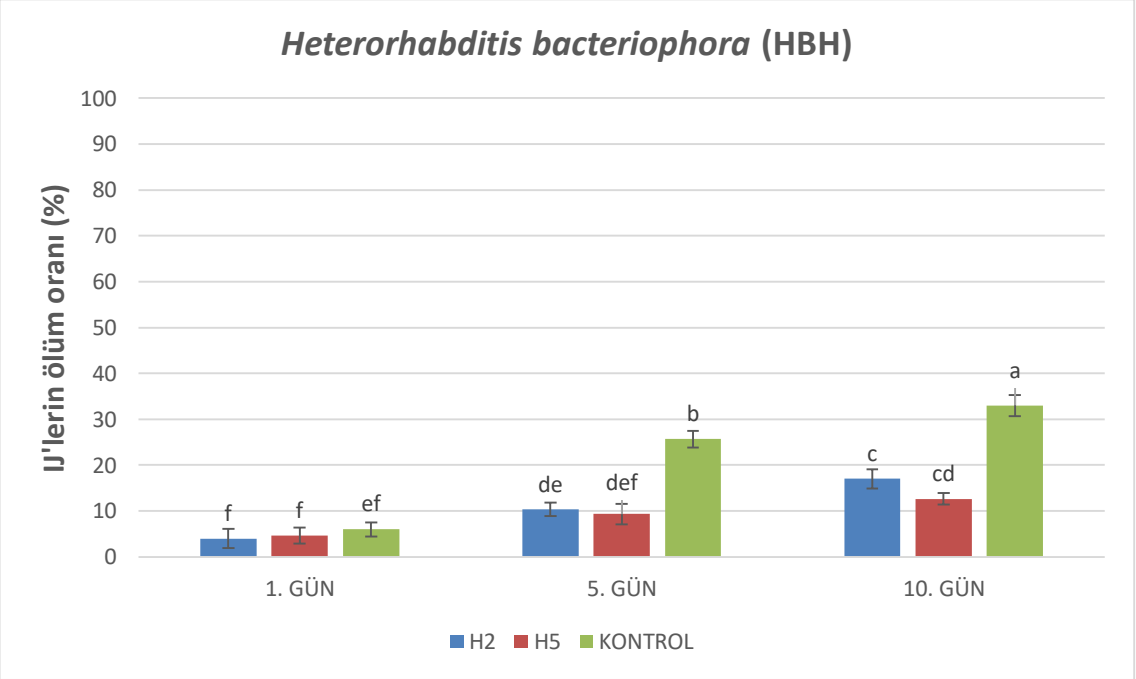
Şekil 4.7. Uygulamadan 10 gün sonra, belirli dozlardaki (1 g/L, 5 g/L ve 10 g/L) gübre solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi (F: 450.48, df: 21;44, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir



Şekil 4.8. Uygulamadan 1, 5 ve 10 gün sonra, belirli dozlardaki (0,3 g/L, 1,5 g/L ve 7,5 g/L) gübre (BOR: Boraks dekahidrat, Mg: Magnezyum sülfat heptahidrat) solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi (F: 58.57, df: 20;42, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir

4.3. Çalışmada Kullanılan Organik Gübrenin *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH) Üzerine Etkisi

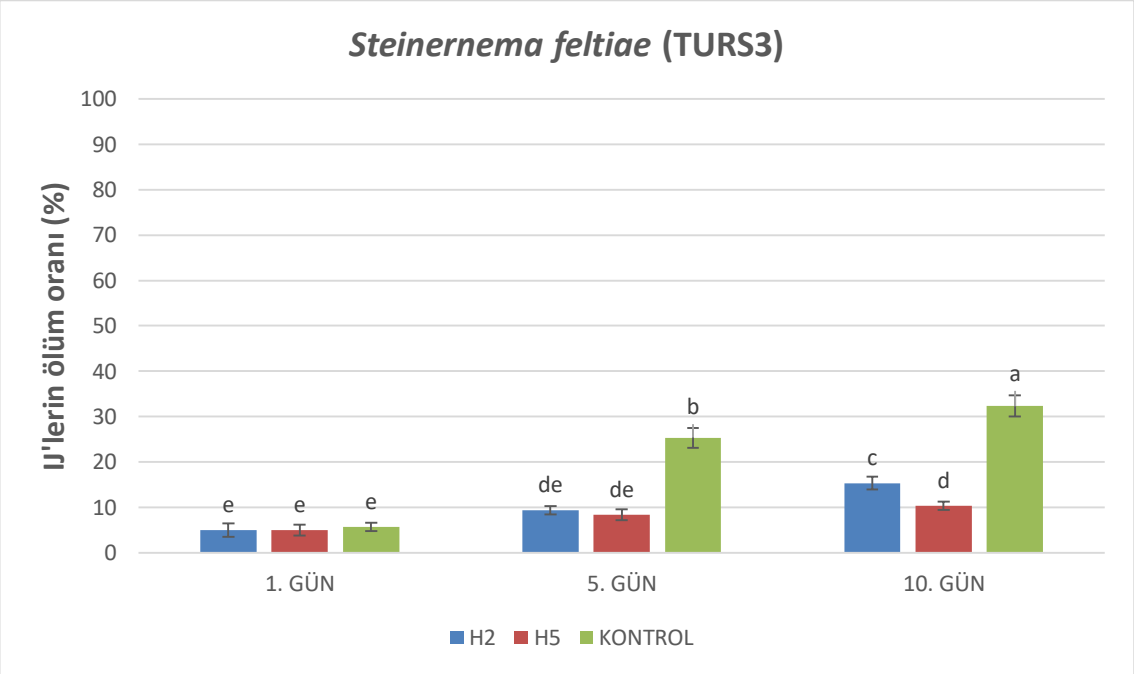
Uygulamadan 1 gün sonra kontrole kıyasla, %15 oranında hümik ve fulvik asit içeren organik gübrenin (BLACKJAK SC) 2 ml/L ve 5 ml/L dozları *Heterorhabditis bacteriophora* (HBH) üzerinde önemli derecede öldürücü etki göstermemiştir. Uygulamadan 5 gün sonra, en yüksek ölüm oranı kontrolde meydana gelmiştir. Benzer şekilde uygulamadan 10 gün sonraki ölüm oranı kontrolde daha yüksek olmuştur (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Uygulamadan 1, 5 ve 10 gün sonra, belirli dozlardaki (H2: 2 ml/L, H5: 5 ml/L) gübre (BLACKJAK SC) solüsyonlarının *H. bacteriophora* (HBH) üzerine etkisi (F: 28.57, df: 8/18, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir

4.4. Çalışmada Kullanılan Organik Gübrenin *Steinernema feltiae* (TUR-S3) Üzerine Etkisi

Uygulamadan 1 gün sonra kontrole kıyasla, %15 oranında hümik ve fulvik asit içeren organik gübrenin (BLACKJAK SC) 2 ml/L ve 5 ml/L dozları *Steinernema feltiae* (TUR-S3) üzerinde önemli derecede öldürücü etki göstermemiştir. Uygulamadan 5 gün sonra, en yüksek ölüm oranı kontrolde meydana gelmiştir. Benzer şekilde uygulamadan 10 gün sonraki ölüm oranı kontrolde daha yüksek olmuştur (Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. Uygulamadan 1, 5 ve 10 gün sonra, belirli dozlardaki (H2: 2 ml/L, H5: 5 ml/L) gübre (BLACKJAK SC) solüsyonlarının *S. feltiae* (TUR-S3) üzerine etkisi (F: 42.97, df: 8/18, P <0.0001). Farklı harfler istatistiksel olarak ortalamaların farklı olduğunu göstermektedir

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Toprak içerisinde, EPN'lerin yaşamsal aktivitesini ve kalıcılığını etkileyen birçok canlı ve cansız faktörler bulunmaktadır (Koppenhöfer ve Fuzy 2006). EPN'ler, topraktaki varlıklarını etkileyebilecek olan gübreler ile etkileşim halindedir (Shapiro ve ark. 1996, Bednarek ve Gaugler 1997). İnorganik gübrelerin aşırı kullanımı, toprak tuzluluğu, ağır metal birikimi, sera etkisi, su kaynaklarında ötrofikasyon ve nitrat birikimi gibi çeşitli çevresel sorunlara yol açmaktadır (Sönmez ve ark. 2008, Huang ve Jin 2008). EPN'ler toprak tuzluluğuna maruz kaldığında, hareketi kısıtlanıp konukçularını bulma ve tanıma yetenekleri azalabilmektedir (Nielsen 2011). Gübreleme gibi tarımsal faaliyetlerin yapıldığı alanlarda doğal topraklara göre daha fazla ağır metal birikiminin olduğu belirlenmiştir (Campos-Herrera ve ark. 2010). Bazı ağır metaller EPN'lere karşı doğrudan öldürücü bir etki gösterebilir veya EPN'lerin enfekte edebilme kabiliyetini azaltabilir (Jaworska ve ark. 1996, Jaworska ve ark. 1997, Sun ve ark. 2016). İnorganik gübrelerin aşırı ve uzun süreli kullanımı nedeniyle, EPN'ler yukarıda bahsedilen olumsuz etkilere normalden daha fazla maruz kalmaktadır. Bu çalışmada, bazı inorganik gübrelerin (NPK, NP, DAP, MAP, ÜRE, AN ve AS) EPN'ler üzerindeki direkt etkisi laboratuvar koşullarında araştırılmıştır. Bu araştırmada, Bednarek ve Gaugler (1997)'in de belirttiği gibi inorganik gübrelerin EPN'ler üzerindeki etkisi bileşik konsantrasyonuna ve nematod türlerine göre değişiklik göstermiştir. Uygulamadan bir gün sonra *S. feltia* (TUR-S3) türüne karşı sadece 10 g/L AN ile DAP, NP ve NPK gübrelerinin tüm dozları önemli derecede öldürücü etki göstermiştir (Şekil 4.5.). *H. bacteriophora* (HBH) türüne karşı ise ÜRE ve MAP hariç bütün gübre solüsyonları önemli derecede öldürücü etkidedir (Şekil 4.1.). Uygulamadan 5 gün sonra, *H. bacteriophora* (HBH) türüne karşı sadece MAP gübresinin tüm dozları önemli derecede öldürücü etki göstermemiştir (Şekil 4.2.). *S. feltia* (TUR-S3) türüne karşı ise ÜRE ile MAP solüsyonlarının tüm dozları ve 5 g/L AN, 10 g/L AS solüsyonları önemli derecede öldürücü etki göstermemiştir (Şekil 4.6.). Uygulamadan 10 gün sonra, *H. bacteriophora* (HBH) türüne karşı sadece MAP gübresinin tüm dozları önemli derecede öldürücü etki göstermezken (Şekil 4.3.), *S. feltia* (TUR-S3) türüne karşı ÜRE, AN, AS ve MAP gübrelerinin tüm dozları önemli derecede öldürücü etki göstermemiştir (Şekil 4.7.). Bu sonuçlardan *S. feltia* (TUR-S3) türünün inorganik gübrelere karşı daha dayanıklı olduğu söylenebilir. Benzer şekilde, Bednarek ve Gaugler (1997) inorganik gübrelere karşı *S.*

feltiae'nin *H. bacteriophora*'dan daha dayanıklı olduğunu belirtmiştir. Ayrıca bu çalışmada, boraks dekahidrat ve magnezyum sülfat gübreleri üç ayrı dozda (0,3 g/L, 1,5 g/L ve 7,5 g/L) kullanılmıştır. Sadece 0,3 g/L magnezyum sülfat solüsyonu her iki EPN türü (*S. feltia* TUR-S3, *H. bacteriophora* HBH) için, uygulamadan 5 gün sonra önemli derecede öldürücü etki göstermiştir. Uygulamadan 10 gün sonra, 0,3 g/L magnezyum sülfat solüsyonu sadece *H. bacteriophora* (HBH) türüne karşı önemli derecede öldürücü etki göstermiştir. Bu deneyde *S. feltia* TUR-S3, *H. bacteriophora* (HBH) türüne göre daha dayanıklı olduğu görülmektedir. Susurluk (2008), iki yıllık saha çalışması sırasında gübreleme (Organik materyal ve NPK), toprak işleme, sulama ve püskürtme (Trifluralin EC) gibi tarımsal faaliyetlerin birlikte uygulandığında ikinci yıl içerisinde *Heterorhabditis*'in bu uygulamalardan olumsuz etkilendiğini ancak *Steinernema*'nın olumsuz etkilenmediğini belirtmektedir. Benzer şekilde Shapiro-Ilan ve ark. (1999) ÜRE gübresinin (280 kg/ha veya daha az miktarda azot) *Steinernema carpocapsae* türünü, 10 günlük süreçte, olumsuz bir şekilde etkilemediğini tespit etmiştir. 10 günlük süreci kapsayan bu araştırmada, DAP, NP ve NPK gübrelerinin tüm solüsyonları uzun vadede her iki EPN türü (*S. feltia* TUR-S3 ve *H. bacteriophora* HBH) üzerinde önemli derecede öldürücü etkiye sahip olduğu görülmektedir. Sadece 1 g/L dozundaki NPK gübresinin öldürücü etkisi, 1 günlük süreçte, DAP ve NP gübrelerinin tüm dozlarına göre daha azdır. Bednarek ve Gaugler (1997) NPK gübresinin, 1 günlük süreçte EPN enfektivitesini arttırdığını fakat 10-20 günlük süreçte azalttığını tespit etmiştir. Susurluk (2008), yüksek konsantrasyondaki NPK gübresine maruz kalındığında *Steinernema* ve *Heterohabditis* aktivitelerinin bozulduğunu belirtmektedir. Bu araştırmada, 1 günlük süreçte bile %20, %46 ve %15 oranında P_2O_5 içeren inorganik gübrelerin (DAP, NP, NPK) tüm dozları, EPN'ler (*S. feltia* TUR-S3, *H. Bacteriophora* HBH) üzerinde son derece öldürücü bir etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Toprağın fiziksel ve kimyasal yapısını düzeltmek amacıyla başvurulabilecek en iyi yöntemlerden biri organik gübre ilavesidir (Alagöz ve ark. 2006). Doğal yollar ile oluşan humik asit ve fulvik asit organik gübre olarak kullanılabilmekte (Ciavatta ve Govi 1993) ve toprağın fiziksel-kimyasal yapısını olumlu yönde etkileyip, bitki gelişimini desteklemektedir (Vaughan ve Linehan 1976). Hümik asitler, ağır metaller ile şelat bağları oluşturarak toksisiteyi azaltmada etkili olurlar (Gerzabek ve Ullah 1990). Ayrıca hümik maddelerin, topraktaki biyolojik aktiviteyi artırdığı ve toprak yapısını

iyileştirdiği söylenmektedir (Russo ve Berlyn 1990). Bu çalışmada %15 oranında hümik ve fulvik asit içeren organik gübrenin (BLACKJAK SC), iki farklı EPN türü (*S. feltia* TUR-S3, *H. bacteriophora* HBH) üzerindeki etkisi incelenmiştir. 10 günlük deney sürecini kapsayan bu çalışmada, Uygulamanın 5. ve 10. gününde, her iki EPN türü için elde edilen ölüm oranları kontrollere göre daha düşük olmuştur. Hümik ve fulvik asit uygulaması, IJ'lerin kalıcılığını olumlu yönde etkilediği görülmektedir. Benzer şekilde Bednarek ve Gaugler (1997) organik gübrelerin *Steinerema*'nın populasyon yoğunluğunu arttırdığını, inorganik gübrelerin (NPK) ise popülasyon yoğunluğunu azalttığını belirtmiştir. Hümik ve fulvik asit uygulaması EPN'lerin canlılığını direkt olarak artırmış olabilir.

Laboratuvar ortamında yapılan bu çalışma, biyolojik mücadelede kullanılan ajanlar üzerine organik ve inorganik gübrelerin etkisini belirlemek açısından önemlidir. Ancak hem laboratuvar ortamında hem de arazi koşullarında, konunun daha net bir şekilde aydınlatılması için daha kapsamlı, yeni çalışmalar yapılmalıdır. EPN uygulanan arazilerde başarılı bir biyolojik mücadele yapabilmek için kimyasal gübre kullanımına dikkat edilmelidir. Özellikle DAP, NP ve NPK gübreleri arazi koşullarında EPN'lerin aktivitelerini kısıtlayabilir.

KAYNAKLAR

Akhurst, R.J. 1983. Neoaplectana species: specificity of association with bacteria of the genus *Xenorhabdus* spp.. *Experimental Parasitology*, 55(2): 258-263.

Alagöz, Z., Yılmaz, E., Öktüren, F. 2006. Organik materyal ilavesinin bazı fiziksel ve kimyasal toprak özellikleri üzerine etkileri. *Medıterranean Agrıcultural Scıences*, 19(2): 245-254.

Bedding, R.A., Akhurst, R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect paristic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21(1): 109-110.

Bednarek, A., Gaugler, R. 1997. Compatibility of soil amendments with entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology*, 29: 220–227.

Bellitürk, K. 2011. Tarım topraklarının kullanımında ve gübrelenmesinde yapılması ve yapılmaması gerekenler üzerine bir değerlendirme. *Gübretaş'la Verim Periyodik Kurumsal Bülten*, 7(25): 24-26.

Bilen, S., Sezen, Y. 1993. Toprak Reaksiyonunun Bitki Besin Elementleri Elverişliliği Üzerine Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(2): 156-166.

Bird, A.F., Akhurst, R.J. 1983. The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. *International Journal of Parasitiology*, 13: 599–606.

Boemare, N., Laumond, C., Mauleon, H. 1996. The entomopathogenic nematode-bacterium complex; biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 333-345.

Bujalski, W., Nienow, A.W. 1991. Large-Scale Osmotic Priming of Onion Seeds: A Comparison of Different Strategies for Oxygenation. *Scientia Horticulturae*, 46: 13-24.

Camargo, J.A., Alonso, Á. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environment international*, 32(6): 831-849.

Campos-Herrera, R., Piedra-Buena, A., Escuer, M., Montalbán, B., Gutiérrez, C. 2010. Effect of seasonality and agricultural practices on occurrence of entomopathogenic nematodes and soil characteristics in La Rioja (Northern Spain). *Pedobiologia*, 53(4): 253-258.

Canellas, L., Olivares, F.L. 2014. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 1: 3.

Ciavatta, C., Govi, M. 1993. Use of insoluble polyvinylpyrrolidone and isoelectric focusing in the study of humic substances in soils and organic wastes. *Journal of Chromatography*, 643: 261-270.

Ciche, T.A., Kim, K.S., Kaufmann-Daszczuk, B., Nguyen, K.C., Hall, D.H. 2008. Cell invasion and matricide during *Photorhabdus luminescens* transmission by *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 2275-2287.

Deliboran, A., Sakin, E., Aslan, H., Mermut, A. 2011. Effects of different water, phosphorus and magnesium doses on the quality and yield factors of soybean (*Glycine max* L.) in Harran plain conditions. *International Journal of Physical Sciences*, 6(6): 1484-1495.

Demirtas, B., Yılmaz, I. 2003. Sera Domates Yetiştiriciliğinde Farklı Gübre Dozlarının Fonksiyonel Analizi. *Alatarım*, 2 (2): 45-52.

Demirtaş, I., Arı, N., Arpacıoğlu, A., Kaya, H., Özkan, C. 2005. Değişik organik kökenli gübrelerin kimyasal özellikleri. *Derim*, 22(2): 47-52.

Edmeades, D.C. 2003. The Long-Term Effects of Manures and Fertilizers on Soil Productivity and Quality: a Review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 66(2): 165-180.

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

Ehlers, R.U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied microbiology and biotechnology*, 56(5-6): 623-633.

Fanbenro, J.A., Agbeoole, A.A. 1993. Effect of Different Levels of Humic Acid on The Growth and Nutrient Uptake of Teak Seedligs. *Journal of. Plant Nutrition*. 16:(8): 1465-1483.

Flessa, H., Ruser, R., Dörsch, P., Kamp, T., Jimenez, M.A., Munch, J.C., Beese, F. 2002. Integrated evaluation of greenhouse gas emissions (CO2, CH4, N2O) from two farming systems in southern Germany. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 91: 175–189.

Galloway, J.N., Dentener, F.J., Capone, D.G., Boyer, E.W., Howarth, R.W., Seitzinger, S. P., Asner, G.P., Cleveland, C.C., Green, P.A., Holland, E.A., Karl, D.M., Michaels, A.F., Porter, J.H., Townsend, A.R., Vorosmarty, C.J. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*, 70: 153-226.

Gaugler, R. 1988. Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects with entomopathogenic nematodes. *Agriculture, ecosystems & environment*, 24(1-3): 351-360.

Gerzabek, M.H., Ullah, S.M., 1990. Influence of Fulvic and Humic Acids on Cd and Ni-toxicity to *Zea mays* (L.). *Die Bodencultur*, 41: 115-124.

Grewal, P.S., Selvan, S., Gaugler, R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *Journal of Thermal Biology*, 19(4): 245-253.

Griffin, C.T., Downes, M.J., Block, W. 1990. Tests of Antarctic soils for insect parasitic nematodes. *Antarctic Science*, 2(3): 221-222.

Gülümser, A., Odabas, M., Özturan, Y. 2005. Fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) yapraktan ve topraktan uygulanan farklı bor dozlarının verim ve verim unsurlarına etkisi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 18(2): 163-168.

Hasebe, A., Kanazava, S., Takai, Y. 1985. Microbial biomass in paddy soil: II. Microbial biomass C measured bye Jenkinson's fumigation method. *Soil Science and Plant Nutrition*, 31: 349-359.

Hassink, J., Lebbink, G., Van Veen, J.A. 1991. Microbial biomass and activity of a reclaimed-polder soil under a conventional or a reduced-input farming system. *Soil Biology and Biochemistry*, 23(6): 507-513.

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

Helal, A.A., Imam, D.M., Khalifa, S.M., Aly, H.F. 2006. Interaction of pesticides with humic compounds and their metal complexes. *Radiochemistry*, 48(4): 419-425.

Hominick, W.M., Reid, A.P., Bohan, D.A., Briscoe, B.R. 1996. Entomopathogenic nematodes: biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity. *Biocontrol Science and Technology*, 6(3): 317-332.

Horuz, A., Korkmaz, A. 2006. Farklı sürgün dönemlerinde hasat edilen çayın verimi, azot içeriği ve mineral madde kompozisyonu. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(1): 49-54.

Huang, S.W., Jin, J.Y. 2008. Status of heavy metals in agricultural soils as affected by different patterns of land use. *Environmental Monitoring and Assessment*, 139(1–3): 317–327.

Jaworska, M., Gorczyca, A., Sepiol, J., Tomasik, P., 1997. Effect of metal ions on the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: heterorhabditidae) under laboratory conditions. *Water, air, and soil pollution*. 93: 157-166.

Jaworska, M., Sepiol, J., Tomasik, P., 1996. Effect of metal ions under laboratory conditions on the entomopathogenic *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: steinernematidae). *Water, air, and soil pollution*. 88: 331–341.

Jindo, K., Martim, S.A., Navarro, E.C., Pérez-Alfocea, F., Hernandez, T., Garcia, C., Aguiar, N.A., Canellas, L.P., 2012. Root Growth Promotion by Humic Acids from Composed and Non-composed Urban Organic Wastes. *Plant and Soil*. 353(1-2): 209-220.

Jothi, G., Ramakrishnan, S., Kumar, S., Jonathan, E.I., Senthilkumar, P. 2009. Effect of humic acid on hatching, longevity and mortality of *Meloidogyne incognita*. *Indian Journal of Nematology*. 39: 175-177.

Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S. 2003. Metallerin çevresel etkileri-I. *Metalurji Dergisi*, 136: 47-53.

Katar, D., Arslan, Y., Kodaş, R., Subaşı, İ., Mutlu, H. 2014. Bor uygulamalarının aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Bitkisinde verim ve kalite unsurları üzerine etkilerinin belirlenmesi. *JOTAF/Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(2): 71-79.

Koppenhöfer, A.M., Fuzy, E.M. 2006. Effect of soil type on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92(1): 11-22.

Lewis, E.E., Gaugler, R., Harrison, R. 1992. Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology*, 105(2): 309-315.

Malik, M.A., Marschner, P., Khan, K.S. 2012. Addition of organic and inorganic P sources to soil–effects on P pools and microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 49: 106-113.

Nielsen, A.L. Spence, K.O., Nakatani, J., Lewis, E.E. 2011. Effect of soil salinity on entomopathogenic nematode survival and behaviour. *Nematology*, 13(7): 859-867.

Okcu, M., Tozlu, E., Kumlay, A.M., Pehluvan, M., 2009. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri. *Alınteri*, 17(B): 14-26.

Okur, N., Kayıkçıoğlu, H.H., Tunç, G., Tüzel, Y. 2007. Organik tarımda kullanılan bazı organik gübrelerin topraktaki mikrobiyal aktivite üzerine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 44(2): 65-80.

Omoregie, E., Ajima, M.N., Keke, R.I., Wieski, K. 2009. Effect of single superphosphate fertilizer on survival and respiratory dynamics of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Perciformes: Cichlidae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 39(2): 103.

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

Rauthan, B.S., Shnitzer, M. 1981. Effects of A Soil Fulvic Acid on The Growth and Nutrient Content of Cucumer (*Cucumis sativus*) Plants. *Plant Soil*, 63: 491-495.

Reganold, J.P. 1988. Comparison of soil properties as influenced by organic and conventional farming systems. *American Journal of Alternative Agriculture*, 3(4): 144-155.

Russo, R.O., Berlyn, G.P. 1990. The Use of Organic Biostimulants to Help Low Input Sustainable Agriculture. *Journal of Sustainable Agriculture*. 1(2):19-42.

Saravanapriya, B., Subramanian, S. 2007. Management of *Meloidogyne incognita* on tomato with humic acid and bioinoculants. *Annals of Plant Protection Sciences*, 15(1): 195-197.

Seenivasan, N., Senthilnathan, S. 2018. Effect of humic acid on *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood infecting banana (*Musa* spp.). *International Journal of Pest Management*, 64(2): 110-118.

Shapiro, D.I., Lewis, L.C., Obrycki, J.J., Abbas, M. 1999. Effects of fertilizers on suppression of black cutworm (*Agrotis ipsilon*) damage with *Steinernema carpocapsae*. *Journal of nematology*, 31(4S): 690.

Shapiro, D.I., Tylka, G.L., Lewis, L.C. 1996. Effects of fertilizers on virulence of *Steinernema carpocapsae*. *Applied Soil Ecology*, 3(1): 27.

Sönmez, İ., Kaplan, M., Sönmez, S. 2008. Kimyasal gübrelerin çevre kirliliği üzerine etkileri ve çözüm önerileri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 25(2): 24-34.

Stock, S.P. 2005. Insect-parasitic nematodes: From lab curiosities to model organisms. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89: 57-66.

Stock, S.P., Rivera-Orduño, B., Flores-Lara, Y. 2009. *Heterorhabditis sonorensis* n. sp. (Nematoda: Heterorhabditidae), a natural pathogen of the seasonal cicada *Diceroprocta ornea* (Walker) (Homoptera: Cicadidae) in the Sonoran desert. *Journal of Invertebrate Pathology*, 100: 175-184.

Sun, Y., Bai, G.Y., Wang, Y.X., Zhang, Y.Y., Pan, J., Cheng, W.M., Feng, X.L., Li, H., Ma, C.C., Ruan, W.B., Shapiro-Ilan, D.I. 2016. The impact of Cu, Zn and Cr salts on the relationship between insect and plant parasitic nematodes: A reduction in biocontrol efficacy. *Applied Soil Ecology*, 107: 108-115.

Susurluk, I.A., Ehlers, R.U. 2008. Field persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in different crops. *BioControl*. 53: 627-641.

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

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

Vaughan, D., Linehan, D.J. 1976. The growth of wheat plants in humic acid solutions under axenic conditions. *Plant and Soil*, 44: 448-449.

Vitousek, P.M., Aber, J.D., Howarth, R.W., Likens, G.E., Matson, P.A., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H., Tilman, D.G. 1997. Technical report: human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological applications*, 7(3): 737-750.

White, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, 66: 302-303.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Yavuz Selim ŞAHİN
Doğum Yeri ve Tarihi	: TRABZON / TÜRKİYE, 15.04.1989
Yabancı Dili	: İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)	
Lise	: Özdil Çok Programlı Lisesi / Trabzon (2005-2009)
Lisans	: Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2011-1016)
Yüksek Lisans	: Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı (2016-2019)
İletişim (e-posta)	: yavuzselimsahin89@gmail.com

Yayınlar:

Sahin, Y.S., Susurluk, İ.A. 2018. Effects of some inorganic fertilizers on entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* (Tur-S3) and *Heterorhabditis bacteriophora* (Hb.H). *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 9(2): 102-109.

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

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

Yıldırım, S., Sahin, Y.S., Susurluk, İ.A. 2019. Orientation of some *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) (Rhabditida: Heterorhabditidae) strains to *Lolium perenne* L. (Poales: Poaceae) and *Galleria mellonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Pyralidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 43 (4): 409-416.

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Yavuz Selim ŞAHİN
Tez Adı	TARIMDA KULLANILAN BAZI GÜBRELERİN ENTOMOPATOJEN NEMATODLAR ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
Enstitü	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Bitki Koruma
Tez Türü	Yüksek Lisans Tezi
Tez Danışmanı	Prof. Dr. İ. Alper SUSURLUK
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) İzni Kısıtlama	☐ Patent Kısıt (2 yıl) ☐ Genel Kısıt (6 ay) ☐ Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum.

Hazırlamış olduğum tezimin belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Bursa Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih:

İmza: