

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***HYPERA POSTICA* (GYLLENHALL)'NİN FUNGAL PATOJENLERİNİN
BELİRLENMESİ VE FUNGAL MÜCADELE ETMENİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Birgöl YÜCEL

**HAZİRAN 2016
TRABZON**



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce

Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / /

Tezin Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :

Trabzon

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Biyoloji Anabilim Dalında
Birgöl YÜCEL Tarafından Hazırlanan**

***HYPERA POSTICA* (GYLLENHALL)'NİN FUNGAL PATOJENLERİNİN BELİRLENMESİ
VE FUNGAL MÜCADELE ETMENİNİN ARAŞTIRILMASI**

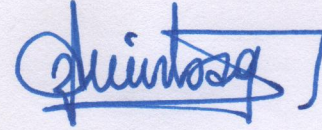
**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 10 / 05 / 2016 gün ve 1652 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.**

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ

Üye : Prof. Dr. İsmail DEMİR

Üye : Prof. Dr. Celal TUNCER



**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ
Enstitü Müdürü**

ÖNSÖZ

"*Hypera postica*'nın Fungal Patojenlerinin Belirlenmesi ve Fungal Mücadele Etmeyinin Araştırılması" başlıklı bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmalarım sırasında karşılaştığım güçlüklerin aşılmasında beni yönlendiren, her türlü desteği ve imkanı sağlayarak değerli bilgilerinden yararlandığım hocam Sayın Prof. Dr. İsmail DEMİR'e, çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aynı zamanda arazi çalışmalarındaki yardımları için Yrd. Doç. Dr. Celalettin GÖZÜAÇIK'a ve Mustafa GÜLLÜ'ye ve laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen tüm Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, varlıklarıyla güç veren ve bugün olduğum yeri borçlu olduğum annem, babam, kardeşlerim yeğenlerime sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Birgül YÜCEL
Trabzon 2016

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Hypera postica*’nın Fungal Patojenlerinin Belirlenmesi ve Fungal Mücadele Etmeyenin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. İsmail DEMİR’in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 01/06/2016

Birgöl YÜCEL

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Yem Bitkileri ve Yonca Yetiştiriciliği	5
1.2.1. Yem Bitkileri Tarımı ve Önemi	5
1.2.2. Yonca Yetiştiriciliği	7
1.3. Yonca Zararlıları	8
1.3.1. <i>Lygus lineolaris</i> (Tarnished Plant Bug,TPB)	8
1.3.2. <i>Subcoccinella vigintiquatuorpunctata</i> (24 Noktalı Gelin Böceği).....	9
1.3.3. <i>Bruchophagus roddi</i> (Yonca Tohum Sineği).....	9
1.3.4. <i>Hypera postica</i> (Yonca Hortumluböceği).....	10
1.3.4.1. <i>Hypera postica</i> 'nın Yayılışı	10
1.3.4.2. <i>Hypera postica</i> 'nın Zararı	10
1.3.4.3. <i>Hypera postica</i> 'nın Biyolojisi	11
1.3.4.4. <i>Hypera postica</i> 'nın Yaşam Döngüsü	12
1.4. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri.....	13
1.4.1. Biyolojik Mücadele	15
1.4.1.1. Entomopatojenik Funguslar (EPF).....	15
1.4.1.1.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması	16

1.4.1.1.2.	Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılmasında Kullanılan Özellikler.....	18
1.4.1.1.3.	Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri	20
1.4.1.1.4.	Fungal Enfeksiyon	21
1.4.1.1.5.	Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri.....	22
1.4.1.1.6.	Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği.....	24
1.4.1.1.7.	Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı	25
1.4.1.1.8.	Entomopatojenik Fungusların Avantaj ve Dezavantajları	25
1.4.1.1.9.	Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı	27
1.4.2.	<i>Hypera postica</i> ile Biyolojik Mücadele	29
1.5.	Tezin Amacı	30
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	31
2.1.	Böcek Örneklerinin Toplanması ve Laboratuvara Getirilmesi	31
2.2.	Böceklerden Fungus İzolasyonu	31
2.3.	Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması.....	32
2.4.	Fungal İzolatların Tür Tayinleri.....	32
2.4.1.	Morfolojik Tür Tayini	32
2.4.1.1.	Agar Blok Kültürü.....	33
2.4.2.	Fungal İzolatların Moleküler Karakterizasyonları	34
2.4.2.1.	DNA İzolasyonu.....	34
2.4.2.2.	rRNA ITS1-5.8S-ITS2 Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması ve Veri Analizleri.....	34
2.4.2.3.	Uzama Faktörü-1-alfa (<i>EF1-α</i>), <i>RPB1</i> ve Bloc Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması	35
2.4.2.4.	İzolatlarda <i>pr1</i> Genlerinin Tespiti.....	36
2.5.	Fungal İzolatların Patojenite Testleri	37
2.5.1.	Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması	37
2.5.2.	<i>Hypera postica</i> 'ya Karşı İnsektisidal Aktivite Tarama Testleri	37
2.5.3.	<i>Hypera postica</i> 'ya Karşı Doz Uygulaması	38
3.	BULGULAR	39
3.1.	<i>Hypera postica</i> 'dan Fungus İzolasyonu.....	39
3.2.	İzolatların Morfolojik Tür Tayinleri	39
3.3.	İzolatların Moleküler Karakterizasyonları	41

3.3.1.	İzolatların <i>pr1</i> Genlerinin Tespiti.....	49
3.4.	Patojenite Testleri.....	50
3.4.1.	İzolatların <i>Hypera postica</i> Üzerindeki İnsektisidal Tarama Testleri	50
3.4.2.	HpI-4 (<i>B. pseudobassiana</i>) ve HpA-5 (<i>B. bassiana</i>) İzolatlarının Farklı Dozlarının <i>Hypera postica</i> Üzerindeki Virulansı.....	52
3.4.2.1.	<i>Hypera postica</i> Larvaları Üzerindeki Virulans	52
3.4.2.2.	<i>Hypera postica</i> Erginleri Üzerindeki Virulans	55
4.	TARTIŞMA	58
5.	SONUÇLAR	65
6.	ÖNERİLER	67
7.	KAYNAKLAR	68
8.	EKLER	79
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

HYPERA POSTICA (GYLLENHALL)'NİN FUNGAL PATOJENLERİNİN
BELİRLENMESİ VE FUNGAL MÜCADELE ETMENİNİN ARAŞTIRILMASI

Birgül YÜCEL

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. İsmail DEMİR
2016, 78 Sayfa, 13 Sayfa Ek

Hypera postica (Yonca hortumluböceği) (Col: Curculionidae), yonca ve yoncaya yakın legümenlerde ciddi zararlara neden olmaktadır. Kimyasal, mekanik ve biyolojik tüm mücadele yöntemlerine rağmen, *H. postica*'nın yonca alanlarındaki zararı halen etkili bir şekilde devam etmektedir.

Bu çalışmada, *H. postica*'ya karşı etkili bir fungal etmen tespit etmek amacıyla, *H. postica*'dan 8 adet fungus izole edildi. Morfolojik (enfeksiyon şekli, koloni morfolojisi, spor şekli) ve moleküler (ITS1-5.8S ITS2 gen bölgesi, *EF1-α*, *RPB1* ve *Bloc* sekansları) karakterizasyon sonucunda izolatların *Beauveria bassiana* (HpI-2, HpI-6, HpI-7, HpI-10, HpA-3, HpA-4, HpA-5) ve *Beauveria pseudobassiana* (HpI-4) olduğu belirlendi. Böyle bir çalışma *H. postica* üzerinde ilk kez gerçekleştirildi. Ayrıca, izolatların zararlıya karşı virülansları da belirlendi. İzolatlar 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 konidia ml⁻¹ yoğunlukta hem larva hem de erginlere uygulandı. Larvalara karşı en yüksek ölüm oranları 14 gün içinde %100 olarak HpA-5 (*B. bassiana*) ve %97 olarak HpI-4 (*B. pseudobassiana*)'ten elde edildi. Ayrıca, erginler üzerinde en yüksek ölüm değerleri ise yine 14 günlük süre içerisinde sırasıyla %98 ve %95 oranlarında HpA-5 ve HpI-4 izolatlarından sağlandı.

Bu sonuçlar, virülansı yüksek olan izolatların *H. postica*'ya karşı mikrobiyal ve entegre mücadele uygulamalarında umut verici olduklarını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Hypera postica*, mikrobiyal mücadele, *Beauveria* sp., yonca

Master Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF FUNGAL PATHOGENS AND INVESTIGATION OF FUNGAL AGENTS OF *HYPERA POSTICA* (GYLLENHALL)

Birgöl YÜCEL

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. İsmail DEMİR
2016, 78 Pages, 13 Pages Appendix

Hypera postica (Alfalfa weevil) (Col: Curculionidae) causes serious damage in alfalfa and a few closely related legumes. Despite the chemical, mechanical and biological methods, the damage of *H. postica* in the alfalfa fields is still continues seriously.

In order to, determine an effective fungal agent against *H. postica* we 8 fungal strains had been isolated from field collected *H. postica*. After morphologic (infection pattern, colony morphology, spore shape) and molecular (ITS1-5.8S ITS2 gene area, EF1- α , Bloc, RPB1, sequences) characterizations, the isolates were identified as *Beauveria bassiana* (HpI-2, HpI-6, HpI-7, HpI-10, HpA-3, HpA-4, HpA-5) and *Beauveria pseudobassiana* (HpI-4). All isolates were isolated from *H. postica* for the first time. In addition, virulence of these isolates against *H. postica* was determined. Spore suspensions of 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 conidia ml⁻¹ were applied to both larvae and adults. The highest mortality for larvae were obtained from isolate HpA-5 (*B. bassiana*) with 100% mortality and HpI-4 (*B. pseudobassiana*) with 97% mortality within 14 days. The highest mortality for adults were obtained with isolates HpA-5 (*B. bassiana*) and HpI-4 (*B. pseudobassiana*) with 98% and 95% mortality within 14 days, respectively.

These results are indeed promising, considering isolates with high virulence; they can be used for microbial and entegrated management against *H. postica*.

Key Words: *Hypera postica*, microbial management, *Beauveria* sp., alfalfa

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>Lygus lineolaris</i>	8
Şekil 2. <i>Subcoccinella vigintiquatorpunctata</i> evreleri	9
Şekil 3. <i>Bruchophagus roddi</i> ergini	10
Şekil 4. <i>Hypera postica</i> 'nın yonca bitkisi üzerindeki zararı	11
Şekil 5. <i>Hypera postica</i> 'nın biyolojisi.....	12
Şekil 6. <i>Hypera postica</i> 'nın yaşam döngüsü.....	13
Şekil 7. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamaklarının gösterimi	22
Şekil 8. Doğal enfeksiyondan ölmüş <i>Hypera postica</i> erginleri.....	31
Şekil 9. Fungal örneklerin “Scotch tape” tekniğiyle mikroskopik incelenmesi.....	33
Şekil 10. ITS1-5.8S-ITS2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları .	35
Şekil 11. HpA-5 izolatının larva ve erginde meydana getirdiği enfeksiyon	39
Şekil 12. <i>Hypera postica</i> 'dan izole edilen fungal izolatların alt ve üst koloni morfolojileri.	40
Şekil 13. Fungal izolatların misel, spor ve konidyofor yapıları.....	41
Şekil 14. Fungal izolatların rRNA ITS1-5.8S-ITS2 bölgesinin PCR ile çoğaltılması.....	41
Şekil 15. İzolatların Rehner vd. (2011)'nin çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türleri ile ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.	43
Şekil 16. İzolatların <i>EF1-α</i> bölgesinin PCR ile çoğaltılması	44
Şekil 17. İzolatların <i>RPB1</i> bölgesinin PCR ile çoğaltılması	44
Şekil 18. İzolatların Bloc bölgesinin PCR ile çoğaltılması.....	45
Şekil 19. Tüm izolatların Rehner vd. (2011)'nin çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türleri ile <i>EF1-α</i> dizisine göre taksonomik pozisyonlarını gösteren N-J ağacı..	46
Şekil 20. Tüm izolatların Rehner vd. (2011)'nin çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türleri ile <i>RPB1</i> dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı	47
Şekil 21. Tüm izolatların Rehner vd. (2011)'nin çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türleri ile Bloc dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	48
Şekil 22. İzolatların <i>pr1</i> genlerinin PCR ile çoğaltılması.	49

Şekil 23. İzolatların <i>H. postica</i> larvalarına karşı patojeniteleri ve kadavralar üzerindeki sporlaşma oranları.....	50
Şekil 24. İzolatların <i>H. postica</i> erginlerine karşı patojeniteleri ve kadavralar üzerindeki sporlaşma oranları.....	51
Şekil 25. <i>H. postica</i> larvalarının HpA-5 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları.....	52
Şekil 26. <i>H. postica</i> larvalarının HpA-5 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu 14 gün sonunda elde edilen toplam ölüm ve mikoz oranları.....	53
Şekil 27. <i>H. postica</i> larvalarının HpI-4 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları.....	53
Şekil 28. <i>H. postica</i> larvalarının HpI-4 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu 14 gün sonunda elde edilen toplam ölüm ve mikoz oranları.....	54
Şekil 29. Biyotest sırasında enfekte olan <i>H. postica</i> larvaları.....	54
Şekil 30. <i>H. postica</i> erginlerinin HpA-5 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları.....	55
Şekil 31. <i>H. postica</i> erginlerinin HpA-5 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu 14 gün sonunda elde edilen toplam ölüm ve mikoz oranları.....	56
Şekil 32. <i>H. postica</i> erginlerinin HpI-4 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları.....	56
Şekil 33. <i>H. postica</i> erginlerinin HpI-4 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu 14 gün sonunda elde edilen toplam ölüm ve mikoz oranları.....	57
Şekil 34. Doz denemelerinde erginlerde gerçekleşen ölümlerin mikozlanması.....	57

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Yıllara göre yem bitkileri ekim alanları.....	6
Tablo 2. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojenik fungusların fungi alemi içerisindeki taksonomik pozisyonları.....	17
Tablo 3. Entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler.....	23
Tablo 4. Ticari olarak geliştirilmiş, geliştirilmeye devam edilen ve potansiyel olarak dikkate alınan entomopatojenik funguslar.....	28
Tablo 5. <i>Beauveria</i> türlerinin moleküler karakterizasyonunda kullanılan gen bölgeleri ve primer sıraları.....	35
Tablo 6. Fungus izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri.....	42
Tablo 7. İzolatların LT ₅₀ (Letal time) değerleri	51
Tablo 8. HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının <i>H. postica</i> larvalarına karşı kullanılan farklı dozların uygulanması sonucu hesaplanan probit analizinin parametre değerleri	54
Tablo 9. HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının <i>H. postica</i> erginlerine karşı kullanılan farklı dozların uygulanması sonucu hesaplanan probit analizinin parametre değerleri	57

SEMBOLLER DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
bp	: Baz çifti
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTPs	: Deoksinükleozit trifosfat
EPF	: Entomopatojenik fungus
ha	: Hektar
I:K	: Işık: karanlık
ITS	: Ara transkript bölgesi
kb	: Kilo baz
LC ₅₀	: Popülasyonun %50'sini öldüren konsantrasyon
LT ₅₀	: Popülasyonun %50'sinin öldüğü zaman
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NCBI	: Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDA	: Patates dekstroza agar
PDAY	: Patates dekstroza agar + maya ekstraktı
rRNA	: Ribonükleik asit
SPSS	: Sosyal Bilimlerde İstatistik Paketi
USA	: Amerika Birleşik Devletleri
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
yy.	: Yüzyıl
α	: alfa
μ	: Mikro
μ g	: Mikrogram
μ L	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Türkiye’de ülke nüfusunun önemli bir kısmı geçimini tarım ve hayvancılıktan sağlamaktadır. Ülkemizde devlet tarafından verilen destekler sayesinde tarım ve hayvancılığa ilgi giderek artmaktadır. Hayvancılık ile ilgili olarak en önemli unsurlardan biri elde edilen verimin yüksek olmasıdır. Verim yüksekliğinin sağlanması ise hayvan beslenmesi ile doğrudan ilişkilidir. Ülkemizde hayvancılıkta yem bitkileri bu hususta önemli bir yer tutmaktadır. Yem bitkilerine örnek olarak yonca, korunga, fiğ, sorgum, silajlık mısır, üçgül, yem pancarı, yemlik şalgam, çim ve çayırotu verilebilir. Bunlar arasında özellikle yonca; besin değeri, verimlilik ve adaptasyon gibi özellikleri bakımından diğer bitkilerden çok üstündür. Nitekim, sahip olduğu özellikler nedeniyle bu bitkiye yem bitkilerinin kraliçesi denilmiştir. Ülkemizde ve dünyada en fazla yetiştirme alanına sahip yem bitkilerinden biri yoncadır. Ekonomik ömrü ortalama 7–10 yıl olup, bir yılda toprak yapısına ve iklim koşullarına bağlı olarak birden fazla (2–10) biçim yapılabilir. Bölgeden bölgeye biçim sayısı değişmekle beraber, Doğu Anadolu Bölgesi’nde 2–3, Güney Anadolu Bölgesi’nde ise 8–10 biçim yapılabilir (Anonim, 1999). Yonca, içerdiği yüksek protein ve vitamin oranı nedeniyle hayvanlar için besleyicidir. Hayvanlardaki süt verimliliğine katkısı büyüktür. Toprak yüzeyini örtücü bir bitki olan yonca, yeşil gübre ve toprak ıslah edici olarak da ekilebilir. Aynı zamanda köklerini fazla derinlere indirerek buradaki su ve besin maddelerinden de kolayca faydalanabilir. Köklerindeki yumrucuklar ile toprağa fazla miktarda azot bağlayıp, kendisinden sonra ekilecek olan yüzlek köklü bitkiler için organik maddece ve azotça zengin, su tutma kapasitesi iyi bir tarla toprağı bırakır (Anonim, 1999).

Dünyada yonca üretiminin en önemli sorunu hastalık ve zararlıların meydana getirdiği verim kayıplarıdır. Bu hastalıkların en önemlileri arasında *Pseudopeziza*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Pythium* ve *Fusarium* gibi fungal hastalıklar sayılabilir. Yoncada asıl zarara neden olan böcekler arasında *Hypera*, *Acyrtosiphon*, *Therioaphis*, *Sitona*, *Lygus*, *Phytodecta* ve *Bruchaphagus* cinslerine bağlı türler sayılabilir. Bu türler her bölgede zararlı olmamakla beraber, *Hypera postica* (yonca hortumluböceği) tüm dünyada önemli bir zararlıdır. Yurdumuzda da bu böceğin zararından dolayı bazı

bölgelerde yonca tarımı azalmış veya tümden yapılamaz olmuştur (Anonim, 2007b). Yonca hortumluböceğinin larva ve ergininin yonca üzerinde yapmış olduğu zarar dikkat çekicidir. Özellikle larvaların yapmış olduğu zarar erginlerden daha fazladır. Ülkemizde ve dünyada bu böceğin zararının en aza indirilmesi için çeşitli yöntemler denenmiştir. Bunların başında kültürel ve kimyasal mücadele yöntemleri gelmektedir. Yapılan kültürel yöntemler arasında yoncanın kuvvetli ve sık yetiştirilmesinin sağlanması ve böylece tarlalarda güneş ışınlarının toprağa ulaşmasının engellenerek yumurta ve larva gelişiminin yavaşlatılmasının sağlanması, biçimden önce sulamanın yapılarak tarla sıcaklığının düşürülüp larva gelişiminin yavaşlatılarak pupa olmasının geciktirilmesi, biçimden sonra da sulama geciktirilerek yoncanın yeşermesinin ertelenip ve böylece toprak üzerine düşen larvaların direkt güneş ışığına maruz bırakılarak larva zayıtının artırılması, erken biçim yapılarak larvaların daha fazla zarar vermeden yoncaların hasat edilmesi sayılabilir (Özbek ve Hayat, 2003).

Yonca hortumluböceği ile mücadelede kullanılan en yaygın mücadele yöntemi kimyasal mücadeledir. Kimyasal mücadele iklim koşullarına bağlı olarak, ilk biçimden 10-20 gün önce m²'de 25 larva veya ergin bulunduğunda başlamalıdır. Bölgelere ve yıllara göre değişmekle birlikte, Nisan başından Mayıs ortasına kadar olan devrede bitki boyunun yaklaşık 15-30 cm olduğu dönemde, Malathion, Carbaryl, Azinphos-methyl, Fenthion, Fenitrothion gibi etkili maddelerin değişik oranları ve dozları ile yapılması önerilmektedir (Anonim, 2007a). Ancak, ülkemizdeki üreticiler ilaçlamayı kendilerine göre belirledikleri zaman diliminde ve dozunda yapmaktadır. Bu nedenle de istenen sonuçlar alınamamaktadır. Bunun yanı sıra kimyasal mücadelenin neden olduğu ciddi sorunlar hepimiz tarafından iyi bilinmektedir. Kullanılan kimyasal ilaçlar böceklerin bu ilaçlara karşı direnç kazanmalarına, çevredeki faydalı böceklerin, bal arılarının, kuşların ve balıkların ölmelerine, besin zinciri yoluyla insanlara ulaşarak birçok kalıcı ya da öldürücü hastalıklara neden olmaktadır (Ecevit, 1988; Peter, 1984). Kimyasal mücadelenin bu zararlı yönlerinin bilinmesine karşın Türkiye'de kimyasal insektisit tüketimi 1979-2002 yılları arasında %45,29'luk bir artış göstermiştir (Delen vd., 2005). Ancak, bu artışa rağmen halen istenilen sonuçlar alınamamaktadır. Bu nedenlerden dolayı yeni mücadele yöntemlerinin aranması hız kazanmıştır. Bu hususta biyolojik mücadele kimyasal mücadelenin meydana getirdiği birçok problemi ortadan kaldırması ve uzun vadede kalıcı bir çözüm olması nedeniyle vazgeçilmez bir mücadele yöntemidir. Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini olabileceğinden daha aza

indirmek ve daha zararsız hale getirmek için başka organizmaların kullanılmasdır (Eilenberg vd., 2001). Mikrobiyal mücadele ise biyolojik mücadele etmenleri olarak bakteri, fungus, protozoa, virüs ve nematod gibi mikroorganizmaların kullanılmasdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel., 1995; Demirbağ, 2008). Zararlıların biyolojik mücadelesinde kullanılmak üzere çok sayıda böceğin bakteriyel florası belirlenmiş ve bu flora üyelerinin gerek konakları gerekse farklı zararlılar üzerindeki öldürücü etkileri araştırılmıştır (Özkan-Çakıcı vd., 2015; Eski vd., 2015; Danışmazoğlu vd., 2012; Özşahin vd., 2014; Demirci vd., 2013;Seçil vd., 2012; Demir vd., 2012a; Sevim vd., 2010c; Gökçe vd., 2010; İnce vd., 2008; Sezen vd., 2007; Sezen vd., 2004; Demir vd., 2002).

Böceklerle mücadelede mikrobiyal etmenlerin kullanımı, 1800'lü yıllarda funguslarla başlamıştır. Bu etmenlerin böceklerle mücadelede kullanımı, çok eskiye dayanmasına ve genelde olumlu sonuçlar elde edilmesine rağmen, mikrobiyal mücadelenin önemi, 1900'lü yılların ortalarına kadar anlaşılammış ve fazla gelişememiştir. Bu tarihten sonra sıklıkla kullanılan kimyasal insektisitlerin zararlı etkilerinin ortaya çıkmasıyla, araştırmalar, böcekler üzerinde patojenik etkiye sahip mikroorganizmaların tespiti ve zararlılara karşı kullanımına yoğunlaşmıştır. Entomopatojenik funguslar mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Genel olarak, birçok böcek takımı fungal hastalıklara karşı duyarlıdır ve entomopatojenik funguslar, zararlı böceklere karşı mikrobiyal mücadele etmeni olarak iyi bir potansiyele sahiptir (Roberts, 1989).

Entomopatojenik funguslar pek çok zararlı böceğin doğal olarak kontrol altına alınmasında önemli bir etmen olup, bu organizmalar zararlı böcek popülasyonlarında sık sık geniş yayımlı epizootiklere neden olmaktadır. Pek çok entomopatojenik fungus direkt olarak böcek kütikulasından enfeksiyon yapmaktadır ve bu yüzden konak tarafından yenilmelerine gerek yoktur. Bu özellik entomopatojenik fungusları özellikle bitki özsuyla ile beslenen böceklerin mücadelesinde öncü aday konumuna getirmektedir. Günümüzde dünya çapında entomopatojenik funguslardan oluşan pek çok ticari preparat bulunmaktadır ve bunlar çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005). Şimdiye kadar, en azından 90 cinse ait 700 entomopatojenik fungus türü tanımlanmış ve bunlardan *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*) ve *Verticillium lecanii* gibi bazı türler ise birçok ülkede pek çok zararlıyla mücadelede ticari olarak üretilerek kullanılmaktadır (Rath, 2000). Bu amaçla bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de günümüze kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır. Birçok

tarım ve orman zararlılarının fungal patojenleri araştırılmış, bu patojenlerin gerek kendi konakları gerekse farklı zararlılar üzerindeki öldürücü etki ve virulansları belirlenmiştir (Sevim, 2010; Sevim vd., 2010a,b,d; Sevim vd., 2013; Tanyeli vd., 2010; Kocaçevik vd., 2015; Kocaçevik vd., 2016; Demir vd., 2013; Demir vd., 2012b; Sönmez vd., 2016).

Entomopatojenik fungusların, memeliler üzerinde herhangi bir toksik etkilerinin bulunmaması, böceklerde direnç oluşturmamaları, biyoteknolojik geliştirmelere yönelik yüksek bir potansiyele sahip olmaları, uygulama sonrası çevrede uzun süre kalarak uzun ömürlü mücadele sağlamaları, konaklarının tüm gelişme fazlarını enfekte etmeleri, genellikle insektisitlerle birlikte sinerjistik hareket etmeleri ve onlarla beraber kullanılabilmeleri ve kitle üretimi problemlerinin üstesinden kolayca gelmeleri gibi biyolojik mücadelede kullanılmaları açısından birçok önemli avantajlara sahiptir (Wan, 2003; Demirbağ, 2008).

Önemli yem bitkilerinin birçoğunda ciddi zararlara neden olan *Hypera postica* (Gyllenhal)'nın parazitoit ve predatörleri Avrupa'da ayrıntılı bir şekilde araştırılmış ve bunlardan birçoğu biyolojik mücadelede kullanılmak amacıyla ABD tarafından ithal edilmiştir. Bunların en önemlileri, Hymenoptera takımından *Bathyplectes curculionis* (Thoms.), *Bathyplectes anurus* (Thoms.) (Ichneumonidae), *Dibrachoides druso* (Wlkr.) (Pteromalidae), *Microctonus aethiopoidea* (Wees) (Braconidae) ve *Tetrastichus incertus* (Ratz) (Eulophidae)'dır. Yonca hortumluböceğinin ülkemizde de bazı doğal düşmanları tespit edilmiştir. Önemli larva parazitoitleri, *Bathyplectes sp. nr. corvina* Ths., *Hoplectis maculator* F. (Hymenoptera: Eulophidae). Bunlar içerisinde en etkili olanı *Bathyplectes sp.*'dir. Ayrıca *Beauveria sp.* fungusu larva erginlerde hastalıklara ve ölümlere neden olmaktadır (Ecevit, 2007).

Hypera postica'nın yonca tarlalarında oluşturduğu zarar ve zarara bağlı olarak meydana getirdiği verim kaybı göz önüne alındığında, bu böceğin zararının engellenmesi ya da en aza indirilmesi tarımda ve hayvancılıkta önemli bir yer tutmaktadır. Bu hususlar doğrultusunda yem bitkilerinin en büyük zararlılarından biri olan *Hypera postica* (Yonca hortumluböceği) ile mücadele etmek amacıyla bu zararlıdan entomopatojenik fungusların izolasyonu, elde edilen izolatların morfolojik ve moleküler yöntemlerle identifikasyonu ve bunların zararlıya karşı mikrobiyal mücadele materyali olarak kullanılabilme potansiyellerinin araştırılması bu çalışmada planlanmıştır.

1.2. Yem Bitkileri ve Yonca Yetiştiriciliği

1.2.1. Yem Bitkileri Tarımı ve Önemi

Yem bitkisi, hayvan yemi olarak yetiştirilen, ancak bunun yanında toprak ve suyu muhafaza etme, ekim nöbeti içerisinde kendinden sonra gelen ürünlerin verimini artırma özellikleri taşıyan, doğrudan doğruya veya sonradan yedirilmek üzere hasat edilerek kurutulan veya silajı yapılan bitkilerdir.

Yem bitkileri tarımının tarihi kesin olarak bilinmemektedir. Ancak, M.Ö. 1350 yıllarında Anadolu'da yoncadan yararlanıldığı Hitit Yazıtlarından anlaşılmaktadır. Yem bitkilerinin tarihi bu kadar eskilere dayanmasına karşın planlı ve sistemli bir üretimin başlaması 17. yy'dan sonra Avrupa'da görülmektedir. Ülkemizde bilinçli bir yem bitkisi tarımı Cumhuriyet Dönemi başında görülmektedir (Soya vd., 1997).

Yurdumuzda, yonca, korunga, adi fiğ ve burçak gibi geleneksel bir kaç yem bitkisinin tarımı yapılmaktadır. Bu bitkilerin yanında, hayvan pancarı, sudan otu, mısır, yem bezelyesi ve mürdümük gibi birçok yem bitkisinin tarımı yapıldığı bilinmektedir. Bugün yem bitkisi ekim alanı, mısır vb bitkiler dahil edildiğinde bile toplam ekilebilir alanın en çok %3'ünü, her yıl ekilen alanın ise %6'sını kaplamaktadır. Yurdumuzda hayvan beslenmesi, geniş ölçüde doğal çayır ve meralara, anızlara ve tahıl samanına dayanmaktadır.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 2016 verilerine göre, ülkemizde 664 bin ha yonca, 493 bin ha fiğ, 191 bin ha korunga ve 1.1 milyon ha mısır ekimi yapılmaktadır (Tablo 1). Bu dört ana yem bitkisinin yanında, hayvan pancarı, sudan otu, yem bezelyesi ve mürdümük, gibi birçok yem bitkisinin tarımı yapıldığı bilinmekle birlikte yaklaşık olarak 157 bin ha ekim alanına sahip oldukları bilinmektedir.

Yem bitkileri, hayvansal üretimin en önemli girdilerden birini oluşturan yemi sağlamanın yanı sıra, toprakların fiziksel ve kimyasal özelliklerine, kendisini takip eden kültür bitkilerinin verim ve kalitesine olumlu etkilerde buldukları bilinmektedir. Çok değişik iklim ve toprak özelliklerine sahip olan ülkemizde, yem bitkileri gerek kıyı bölgelerimizde, gerekse orta ve geçit bölgelerimizde ana ürün ve ikinci ürün olarak üretimde yer alma olanağına sahiptir.

Tablo 1. Yıllara göre yem bitkileri ekim alanları (Ha) (T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2016)

Yıllar	Yonca	Korunga	Fiğ	Mısır	Diğer	Toplam
1981	143.000	75.000	122.000	580.000	32.370	952.370
1990	197.439	95.759	259.000	515.000	17.069	1.084.267
2000	250.800	107.500	225.300	555.000	11.577	1.150.177
2005	385.000	110.000	350.000	800.000	62.000	1.707.000
2006	444.029	117.603	520.814	795.000	55.745	1.933.191
2007	535.000	130.000	640.000	795.000	65.000	2.165.000
2008	555.721	140.129	579.684	850.000	59.100	2.184.634
2009	569.296	150.893	577.469	866.003	74.259	2.237.920
2010	568.760	155.513	520.997	887.734	60.543	2.193.547
2011	558.553	153.645	557.792	901.795	54.597	2.226.382
2012	676.172	197.602	669.432	976.698	169.349	2.689.253
2013	630.463	192.881	589.274	1.062.714	163.487	2.638.819
2014	693.795	194.976	482.253	1.073.598	163.575	2.608.197
2015	664.064	191.454	493.076	1.111.293	157.135	2.617.022

Baklagil yem bitkileri, organik tarım sisteminde yeşil gübreleme yolu ile ana bitkinin ihtiyacı olan azot gereksiniminin hemen hemen tamamı veya önemli bir bölümünü karşılayabilmektedir. Ayrıca, kaba yem olarak tanımlanan yem bitkileri en ucuz besin kaynağıdır. Hayvanların mide mikroflorası için lüzumlu besin maddelerini içermektedir. Mineral ve vitamin kaynağı olmaları nedeniyle hayvanların verim ve üreme performanslarını etkilerler. Aynı zamanda toprağın derin tabakalarında çözünmez halde bulunan bazı besin elementlerini (fosfor gibi) çözündürüp, toprağın üst tabakalarına taşıyarak kendinden sonra gelecek ürün için hazır hale getirirler. Başka yabancı otların gelişmesine müsaade etmezler. Buğdaygil ve baklagil yem bitkileri ekildikleri toprakları yalnız verimli hale getirmekle kalmazlar. Aynı zamanda bol miktarda bırakmış oldukları kök ve toprak üstü artıkları ile toprağın organik madde miktarını artırarak yapısını düzeltirler. Toprağın organik madde yönünden zenginleşmesi ise, özellikle yağışı az olan yerlerde çok önemli husus olan toprağın su tutma ve besin maddeleri kapasitesini artırır.

Yem bitkilerinin önemini kavrayan gelişmiş batı ülkelerinde yem bitkileri alanının tarım arazisi içindeki payı %25-70'dir. Hâlbuki ülkemizin toprakların çoğu engebeli ve meyilli olması nedeniyle işlemeli tarıma uygun olmayıp, tamamen su ve rüzgar erozyonuna açıktır. Bir mm'lik toprak tabakasının oluşması için en az 100 yıl gerektiği ve ülkemizde her yıl Kıbrıs adasının büyüklüğüne eşit ve 10 cm kalınlığındaki bir toprağın denizlere döküldüğü dikkate alındığında, yem bitkilerinin tarla arazileri içerisindeki %3'lük payı çok

düşük kalmaktadır. Ayrıca, hayvan varlığı bakımından önde gelen ülkelerden biri olan Türkiye hayvansal üretim bakımından alt sıralarda yer almaktadır. Böylece insan beslemesi için en önemli kaynaklardan biri olan hayvansal ürünlerin tüketim miktarları diğer ülkelerle kıyaslanamayacak kadar düşüktür. Bu nedenle, hayvanların iyi ve kaliteli yemlerle beslenerek hayvansal ürünlerin verim ve kalitesinin artırılması önemli bir konudur. Bu açıdan değerlendirildiğinde yapılan araştırmalarda hayvanların kaliteli yem bitkileri ile beslenmesi durumunda verimlerinin en az iki kat artırılabilirdiği tespit edilmiştir. Bu durumlar göz önüne alınarak ülkemizde, son yıllarda hayvancılığın desteklenmesi kapsamında yem bitkileri yetiştiriciliğine uygulanan desteklemeler ile yem bitkisi üretimi artış göstermiştir.

1.2.2. Yonca Yetiştiriciliği

Geniş alanlarda yem bitkisi olarak tarımı yapılan yonca (*Medicago sativa* L.)'nın 60 kadar türü olup (Lesins ve Gillies, 1972), adi yonca (*Medicago sativa* L.) ve sarı çiçekli (*Medicago falcata* L.) yoncalardan ibaret olan çok yıllıkların yem bitkisi olarak önemi daha fazladır (Açıkgöz, 2001). Bugün adi yonca doğal olarak Güney ve Orta Avrupa'dan, Ön Asya ve Japonya'ya kadar uzanan geniş bir alanda yetişmektedir. Sarı çiçekli yonca ise çok kuzey bölgeler dışında Avrupa, Ön Asya, Kafkaslar, Sibiryaya ve Çin'de yabani olarak yetişmektedir.

Yonca, diğer bitkilerden besin değeri, verimlilik ve adaptasyon gibi özellikleri bakımından çok üstün olan bir yem bitkisidir. Nitekim, sahip olduğu özellikler nedeniyle bu bitkiye yem bitkilerinin kraliçesi denilmiştir. Yoncanın yem bitkileri içerisinde çok önemli bir yer almasını sağlayan özellikler şunlardır:

- ❖ Geniş bir uyum (adaptasyon) kabiliyetine sahiptir. Yonca, -50°C'den 60°C'ye kadar değişik iklim ve toprak koşullarında yetişebilmektedir.
- ❖ Ot verimi diğer yem bitkilerinden yüksektir.
- ❖ Besleme değeri çok yüksektir. Bunun da sebebi, yonca otunun proteince zengin içerikte olması ve birim alandan alınan ham protein veriminin yüksek olmasıdır. Yonca otu vitamince ve mineral madde bakımından da zengindir. Bünyesinde en az 10 vitamin bulunduğu bilinmektedir.
- ❖ Yonca otunun hazmedilebilirlik oranı yüksektir.
- ❖ Ekim sisteminde kendinden sonra gelen ürünün verimini artırır.
- ❖ Uzun ömürlü bir bitki olup, 7-10 yıl ürün alınabilir.

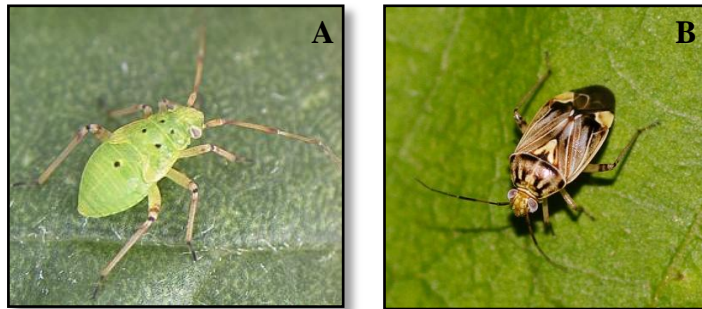
❖ Bir yıl içerisinde yapılan biçim sayısı çok fazladır (Soya vd., 1997).

Bütün bu özellikleri dikkate alındığında yonca yetiştiriciliği yem bitki üretiminde önemli bir yer tutmaktadır. Ülkemizde 2016 verilerine göre 664 bin ha yonca ekim alanı vardır ve bu ekim alanı gün geçtikçe artmaktadır. Yonca alanlarından elde edilen verimin en yüksek düzeyde olması tarımın bir kolu olan hayvancılığın gelişmesi ve hayvan yemi ihtiyacının karşılanması açısından önemli bir husustur. Bu sebeple yonca zararlıları ile mücadele geçmişte ve günümüzde önemli bir konu olmaya devam etmektedir.

1.3. Yonca Zararlıları

1.3.1. *Lygus lineolaris* (Tarnished plant bug, TPB) (Heteroptera: Miridae)

Lygus lineolaris Miridae familyasına ait olup bitkiler ile beslenen bir türdür (Şekil 1). Delici-emici ağız yapısına sahip olup Kuzey Amerika'daki meyve ve sebzelerde ciddi bir zararlı haline gelmiştir. Tüm ticari olarak yetiştirilen kültür bitkilerinin yarısından fazlası ile beslenir. Ama özellikle pamuk, yonca, fasulye, çilek, elma ve kozalaklı fidanlardaki zararı dikkate değerdir. Dünya'nın birçok bölgesinde yayılışa sahiptir. Erginlerinin uzunluğu 6,5 mm'ye kadar olabilir, kahverengidirler ve arka taraflarında "V" şeklinde sarı, turuncu veya kırmızı renkte izleri vardır. Yumurtalarını bitki dokusu içerisine bırakırlar. Nimfleri parlak açık yeşil renkli olup instar olarak adlandırılan 5 aşamadan geçerler. Birinci ve ikinci instarlar afidlere benzerler ancak daha aktif ve daha hızlıdır. Üçüncü, dördüncü ve beşinci instarlar sırtlarında beş siyah noktaya ve gelişmekte olan kanat yastıklarına sahiptir (Liu vd., 2002). Bu zararlı ile biyolojik mücadelede 1980'lerde parazit eşekarı *Peristenus digoneutis* Fransa'dan ithal edilmiş ve kuzey-doğu Amerika'da %63 oranında yoncadaki zararda azalma tespit edilmiştir. Vermont Entomoloji Laboratuvarı Üniversitesi ise TPB'ye karşı çeşitli entomopatojen funguslar denemişler ve bu funguslar arasından *Beauveria bassiana*'yı TPB'ye karşı kullanmışlardır (Vern, 1998).



Şekil1. *Lygus lineolaris* A: Nimf B: Ergin (URL-1)

1.3.2. *Subcoccinella vigintiquatuorpunctata* (24 Noktalı Gelin Böceği) (Coleoptera: Coccinellidae)

Subcoccinella vigintiquatuorpunctata (Linnaeus), *Subcoccinella* cinsinin tek üyesidir. Hemen hemen yarı küresel ve üzerinde noktalar bulunan bir şekle sahiptir. Erginleri 3-4 mm uzunluğunda ve turuncu renk üzerinde siyah noktalara sahiptir (Şekil 2). Nokta sayısı genellikle 20 ile 24 tane olup en fazla 26 tanedir. Bazılarında noktalar kaybolmuş olabilir. Yumurtalar sarı renklidir (Şekil 2) Larvaları soluk gri-yeşil koyu beneklere sahip olup 4-6 mm uzunluğundadır. Larva yüzeyi dalı dikenler ile kaplıdır (Şekil 2). Bu dikenler yırtıcılara karşı bir savunma olarak zararlı alkaloidler salgılaması için pupa döneminde de bulunur (Şekil 2) (Hodek vd., 2012). Böceğin ergin ve larvaları yonca yaprakları ile beslenerek zarar oluşturmaktadır. Yoncaya özelleşmiş olan bu böceğin yurt dışında tohumluk üretimini de olumsuz etkilediği belirtilmektedir (Bournoville vd., 1984). *S. vigintiquatuorpunctata*, ülkemizde özellikle İç Anadolu Bölgesi'nde yoncada önemli zarara neden olduğu için mücadelesine yönelik araştırmalara başlanmıştır.



Şekil 2. *Subcoccinella vigintiquatuorpunctata* evreleri. A: Yumurta B: Larva
C: Pupa D: Ergin (URL-2)

1.3.3. *Bruchophagus roddi* (Yonca Tohum Sineği) (Hymenoptera: Eurytomidae)

Bruchophagus roddi (Gussakovskii), yoncanın tohumlarında beslenen önemli bir zararlı olup, tohumluk üretimi yapılan yerlerde ve popülasyonunun yüksek olduğu yıllarda önemli zararlara yol açabileceği belirtilmektedir (Tamer vd., 1997). Erginleri genellikle siyah ve yaklaşık 1.7 mm'dir (Şekil 3). Tam olarak büyümüş larvası "C" şekilli ve

uzunluğu 1.8 mm olup kahverengi baş tarafı hariç beyazdır. Dünyada geniş bir yayılım göstermektedir.



Şekil 3. *Bruchophagus roddi* ergini (URL-3)

1.3.4. *Hypera postica* (Yonca hortumluböceği) (Coleoptera: Curculionidae) (Gyllenhal) Sinonim: *Hypera variabilis* (Hebst.)

1.3.4.1. *Hypera postica*'nın Yayılışı

Hypera postica esas olarak plearktık bölgenin (Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'yı içine alan bölge) zararlısıdır ve bütün yonca yetiştirilen bölgelerde bulunur. Dünyada özellikle ABD'de Utah, Arizona, Maryland, Iowa, Oklahoma gibi eyaletlerde ciddi zararlara neden olmuş ve bu sebeple mücadelesi önem kazanmıştır (Wehrle, 1939; Poos ve Bissel, 1953). Bunun yanı sıra Kanada, Hindistan, Mısır, Japonya ve Rusya gibi birçok ülkede de yayılışı mevcuttur. Ülkemizde de yonca yetiştirilen her yerde yayılışı mevcuttur. Tokat, Erzurum, Adana, Denizli, Iğdır, Amasya, Elazığ, Ankara ülkemizde başlıca yonca tarımı yapılan iller olup, bu illerde yonca hortumluböceğinin zararı dikkate değerdir.

1.3.4.2. *Hypera postica*'nın Zararı

Yonca hortumluböceği yonca yetiştirilen her yerde ekonomik olarak önemli miktarda zarar oluşturmaktadır. Erginler, genellikle yaprağın yan damarlarını, yaprak ayasını ve sürgün uçlarını yiyerek beslenir. Ancak, ilk iki dönem larvaları sürgün uçları ve yaprak koltukları ile beslenip, bitki gelişimini yavaşlattıkları için larva zararı ergin zararından daha önemlidir. Son iki dönem larvaları ise sadece orta damar ve yan damarlar kalacak şekilde yaprağı dıştan kemirirler (Şekil 4). Larva zararı üstten aşağıya doğru olup, asıl zarar birinci biçime kadar olan zarardır. Larva yoğunluğu fazla ise zarar gören yaprakların kuruması sonucu yonca tarlası boz, gümüşü bir görünüm kazanır. Sulama imkanı kısıtlı ve az biçim yapılan yerlerde ekonomik önemi büyüktür (Anonymous, 1995).

Bu zararlıya ülkemizde yonca yetiştirilen her yerde rastlamak mümkündür. Yonca hortumluböceği yonca bitkisi dışında, fiğ, burçak ve üçgülde de zararlıdır. Bu bitkilerin de yem bitkisi olduğu göz önünde bulundurulduğunda yonca hortumluböceği ile mücadelenin ülkemizde ve dünyada hayvancılık ve tarım açısından ne kadar önemli olduğu anlaşılmaktadır. Dünya’da birçok ülkede yonca hortumluböceğinin zararı tespit edilmiş ve bu zarara karşı etkili mücadele yöntemleri aranmıştır. Bu konuda özellikle ABD’de ciddi çalışmalar yapılmıştır. ABD’de Utah, Maryland, Oklahoma, Arizona, Iowa gibi başlıca eyaletlerde bu böceğin ciddi zararlarına rastlanılmıştır ve bu hususta 1900’lü yılların ilk yarısında biyolojik mücadele yöntemleri denenmeye başlanmıştır. İlk olarak larva parazitöitleri kullanılarak zararlı ile mücadele edilmeye çalışılmıştır. Ancak yine de istenilen sonuç tam olarak alınmadığından etkin mücadele yöntemleri geliştirilmeye çalışılmış ve halen daha çalışılmaktadır.

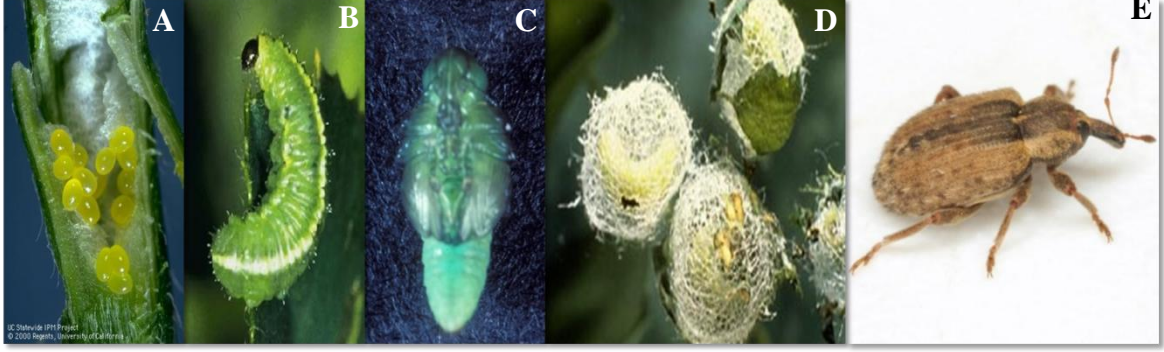


Şekil 4. *Hypera postica*'nın yonca bitkisi üzerindeki zararı

1.3.4.3. *Hypera postica*'nın Biyolojisi

Yonca alanlarının hiç kuşkusuz en büyük zararlısı yonca hortumluböceğidir. Erginleri 5-6 mm uzunluğunda, kahverengiden griye kadar değişen renklerde. Baş uzamış ve petek gözlerden başlayıp hortum şeklini almıştır. Hortum thorax uzunluğunun yarısı kadardır. Antenler dirsekli ve uzun topuzludur. Kanatlar bitişik dururken bitişme hattında arkaya doğru daralan koyu renkli bir bant görünümü vardır (Şekil 5). Yumurtalar 0.4-0.6 mm boyunda oval biçimdedir. İlk bırakıldıklarında saydam, açık sarı renkteyken açılacağı zaman açık kahverengiye dönmektedir (Şekil 5). Renk koyulaşması embriyonun gelişmesiyle bağlantılı olarak koyulaşır. Yumurtadan ilk çıkan larvalar beyaz renkte olmasına rağmen, beslenme ile bu renk yeşile döner. Larvanın baş kısmı siyahtır. Larva bacaksız olup dorsalde uzunlamasına beyaz bir çizgi bulunur (Şekil 5). Olgun larva 7-10

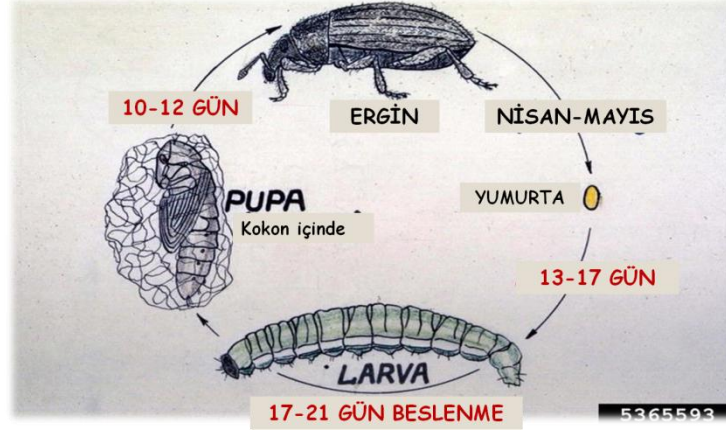
mm uzunluğundadır. Pupa serbest pupa biçiminde olup ortalama 5 mm boyundadır ve kokon içinde bulunur (Şekil 5). Kokon içindeki pupa toprak yüzeyinde bitki artıkları ve yabancı otlar üzerinde bulunmaktadır.



Şekil 5. *Hypera postica*'nın biyolojisi A: Yumurta B: Larva C: Pupa D: Kokon içinde pupa E: Ergin

1.3.4.4. *Hypera postica*'nın Yaşam Döngüsü

Yonca hortumluböceği, kışı yonca tarlalarında, bitki artıkları içerisinde, yarık ve çatlaklarda ergin halde geçirir. İlkbaharda havaların ısınması ile birlikte ortaya çıkarlar ve yonca filizleri ile beslenir. Birkaç gün sonra dişi böcek yumurtalarını bitki fenolojisine bağlı olarak, başlangıçta kuru sap, taze gövde, yaprak sapının gövde ile birleştiği yer, yaprak sapı ve sürgün uçlarında hortumu ile açtığı yaralara 1-29 adet bırakır. Bir dişinin koyduğu yumurta sayısı 1000'e çıkabilir. Yumurtalar 2-3 haftada açılır ve çıkan larvalar, 2-3 gün buldukları yerde beslendikten sonra yaprak ve tepe tomurcuklarına geçerler. İlk iki larva dönemini çoğunlukla tomurcuklar içinde beslenerek, son iki dönemi de bitki üzerinde serbestçe dolaşarak beslenmek suretiyle geçirirler. Yapraklar delik deşik olur, tepe sürgününün tamamen yenildiği durumlar olduğu gibi, bazı hallerde bitkinin sadece sap kısmı kalmaktadır. Olgun larvalar toprağa düşer, bir kokon ördükten sonra içerisinde pupa olurlar. Bu dönem genelde ilk biçimin başlangıçlarına tesadüf eder. Yaklaşık 10 gün sonra erginler çıkar. Beslenmelerini devam ettirirler. Yaz sıcakları bastırınca, toprağın 2-3 cm derinliğinde yaz uykusuna (yazlamaya) girerler. Sonbaharda tekrar hareketlenir ve tarlalarda görülürler. Havalar soğuduktan sonra toprağa geçer ve kışlamaya başlarlar (Şekil 6). Yılda bir döl verir (Anonymous, 1995).



Şekil 6. *Hypera postica*'nın yaşam döngüsü (URL-4)

1.4. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri

Günümüzde gelişmiş ülkelerde tarım ve ormancılıkta kalitenin ve ürün miktarının artırılmasına yönelik; çok sayıda çalışma mevcuttur. Şüphesiz, bunların en önemlileri zararlı böceklerin, zararlarının ortadan kaldırılması veya en aza indirilmesine yönelik yapılan mücadele çalışmalarıdır.

Doğada yararlı ve zararlı olarak tanımlanan çeşitli böcek türleri bulunmaktadır. Doğaya ve insana zararlı olan çok az sayıda böcek türü bulunmasına rağmen, özellikle bu zararlı böcek türleri tarım alanlarında büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hızlı nüfus artışı ile birlikte tarım alanlarında meydana gelen ürün kayıpları ülkemizi her geçen gün dışa bağımlı hale getirmektedir. Zararlı böcek türlerinin oluşturduğu zarar nedeniyle Türkiye birçok ülkeden tarım ürünleri ithal etmektedir.

Zararlı böcekler ile mücadele, kitle üremesi yapan veya yapma yeteneğinde olan böcek popülasyonlarının sayısının artmasını engellemek için gerçekleştirilen çalışmalar olarak bilinir. Tarımda ve ormancılıkta uygulanan çeşitli zirai mücadele yöntemleri bulunmaktadır (Demirbağ vd., 2008; Eilenberg vd., 2001). Bu mücadele yöntemlerini çeşitli gruplara ayırmak mümkündür.

Doğal Mücadele: İnsanın herhangi bir yardımı olmadan doğal kuvvetlerle böcek popülasyonlarının kontrol altında tutulmasıdır. Çevre direncinin bir sonucu olarak böceklerin önemli bir kısmı ya çoğalmadan ya da çoğaldıktan sonra ölürlür. Böylece, zarar oluşturan böceğin ortamdaki sayısı ve oluşturduğu zarar düşük seviyede kalmış olur.

Yasal mücadele: Yasal yollardan yararlanarak, zararlıların yayılmasını önlemektir. Karantina, ambargo, muayene ve sertifika uygulamak bunların başında gelir. Bu tür

uygulamalar bazen kıtalar ve ülkeler arasında olurken, bazen de ülkenin içerisinde bir bölgeye özgü uygulanabilirler.

Mekanik mücadele: Böcekleri çeşitli yöntemlerle toplamak, pusuya düşürmek, yem tuzakları kurmak, feromonlar kullanmak, tuzak odunları hazırlamak veya gıda değişimi yapmak sureti ile yapılan mücadele şeklidir. Feromon uygulamaları günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Orman alanlarında uygulanması nispeten daha yaygındır.

Fiziksel mücadele: Sıcaklık ve nemden yararlanarak böceklerin öldürülmesi, elektrik veya radyoaktivite kullanarak böceklerin kısırlaştırılması işlemlerini içeren mücadele yöntemidir.

Kültürel mücadele: Tarımsal alanın değiştirilmesi yani alanın tarımsal bitkiler için ideal ancak zararlı böcekler için uygunsuz hale getirilmesidir. Bu yöntemde yapılan işlemler ise sanitasyon yani ortamdaki bitki kalıntılarının temizlenmesi, ekim programlarının değiştirilmesi, ekin rotasyonu (farklı ürün ekimi), birkaç farklı bitki türünün ekilmesi ile biyolojik çeşitlilik sağlanması ve tuzak bitkiler kullanarak zararlı böceklerin ilgisinin bu bitkilere çekilmesidir (Van Den Bosch vd., 1973; DeBach ve Rosen, 1991; Hajek, 2004).

Kimyasal mücadele: Çeşitli kimyasal maddelerin toz veya sulu halde kullanılması sureti ile yapılan mücadeledir. Ülkemizde çok yaygın olmasına rağmen, çevreye verdiği olumsuz etkilerden dolayı günümüzde, gelişmiş ülkelerde yavaş yavaş bu yöntemden vazgeçilmektedir (Demirbağ vd., 2008). Önceleri zararlılarla mücadelede kimyasalların kullanılması tek çare olarak belirlenmiştir (Anonim, 2008). Kimyasal insektisitlerin büyük çoğunluğu böceklerin merkezi sinir sistemine etki ederek onları öldürür. Ölümün asıl nedeni sinir sisteminin özel duyarlılığıdır. Birinci hedefleri çoğunlukla başka yerler olan pestisitler bile en son etkilerini sinir sistemine yaparlar. Kimyasal insektisitlerin uygulama sonrası zararlıların ölümüyle sonuçlanmasına rağmen, potansiyel olumsuz etkilerinden dolayı zararlıların mücadelesinde kullanılabilecek diğer yöntemlerin araştırılması yararlı olacaktır.

Biyolojik mücadele: Zararlı böcek popülasyonlarının dolayısıyla böceklerin zararını azaltmak için canlı organizmalardan (mikroorganizmalar, predatörler, parazitoid böcekler, omurgasızlar, omurgalılar, feromonlar, böcek büyüme düzenleyicileri, bitkisel maddeler ve genetik kontroller) faydalanılarak yapılan ekonomik, güvenilir ve başarılı bir mücadele yöntemidir.

1.4.1. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini olabileceğinden daha aza indirmek ve daha zararsız hale getirmek için canlı organizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Biyolojik mücadelenin ilk uygulama dönemleri çok eski tarihlere dayanmaktadır. Asya'da avcı karıncalardan bu hususta yararlanıldığı ve M.S.900-1200 yılları arasında narenciye zararlılarına karşı kullanıldığı bilinmektedir. Bunlara ilave olarak, 1200'lü yıllarda Yemen'de palmiye ağaçlarındaki zararlılara karşı karıncaların kullanıldığı ve Arabistan'da her yıl dağlardan getirilen avcı karınca kolonilerinin, hurma ağaçlarında zarar yapan bir diğer karınca türüne karşı kullanıldığı kayıtlıdır (Çanakçıoğlu, 1998).

Günümüzde zararlılarla biyolojik mücadelede kullanılan organizmalar büyük bir çeşitlilik göstermektedir. Bu organizmaların başlıcaları; örümcekler, akarlar, parazitoid böcek türleri, kuşlar, memeliler, kertenkeleler, amfibiler, sürüngenler, balıklar ve patojen organizmalardır.

Biyolojik mücadelenin bir alt kolu olan mikrobiyal mücadele, zararlı böceklerle mücadelede patojen mikroorganizmaların kullanılmasını kapsar. Entomopatojen olarak adlandırılan bu mikrobiyal mücadele etmenleri (bakteriler, virüsler, funguslar, nematodlar, protozoalar) zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonlarının dengede tutulmasını ve zararlarının en aza indirilmesini sağlamaktadır. Günümüzde bu gruplara dahil birçok mikroorganizmanın kitle üretimi yapılmakta ve çeşitli zararlılara karşı kullanılmaktadır. Özellikle son zamanlarda entomopatojenik funguslar üzerine yapılan araştırmalar artmakta ve çeşitli biyopreparatlar için ruhsatlar alınmaktadır.

1.4.1.1. Entomopatojenik Funguslar (EPF)

Entomopatojenik funguslar, fungusların çeşitli şekillerde böceklerle ve diğer arthropodlarla birlikte hareket eden genuslarını ihtiva eder. Bunlar, böcek konaklarıyla saprofitik, kommensalistik, parazitik veya patojenik ilişkiler kurabilir. Entomopatojenik funguslar böcek popülasyonlarının düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Beş farklı sınıf içerisinde farklı bir diziliş göstermekte olan entomopatojenik funguslar spesifik böcek türlerini enfekte eden zorunlu patojenler, pek çok böcek türünü enfekte edebilen genel patojenler ve fakültatif patojenler olarak gruplandırılabilir. Fungal epizootikler bazı böcek

türlerinde yaygın olmasına rağmen, bazı böcek türlerinde ise nadir görülür (Goettel vd., 2005).

Entomopatojenik fungusların mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmakta olduğu bilinmektedir (Hall vd., 1982). Şimdiye kadar tanımlanan 700'ün üzerinde entomopatojenik fungus bilinmekte ve bunlardan bazıları biyolojik mücadele etmeni olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır (Strasser vd., 2000). Entomopatojenik fungus orijinli yaklaşık 150 ticari preparat 2007 yılından itibaren kullanımdadır ve üretimi devam etmektedir (Faria ve Wraight, 2007).

1.4.1.1.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması

Entomopatojenler, mantarlar aleminin birçok taksonomik grubunda bulunur. Bugün 85 cinse ait 700 kadar entomopatojen fungus türü belirlenmiştir. Bunlardan pekçoğu Ascomycota ve Zygomycota bölümleri içerisinde bulunmaktadır. Zygomycota'ya ait Entomophthorales takımı, *Conidiobolus*, *Entomophaga*, *Erynia* ve *Pandora* cinsleri ile yaygın olarak temsil edilir. En yaygın böcek patojenlerini içeren grup ise Ascomycota'ya ait Hypocreales takımıdır. Bu grubun en tanınmış üyeleri olan *Beauveria* ve *Metarhizium* cinsleri bugün birçok mikoinsektisidin ana materyalini oluşturmaktadır. Ascomycota'ya ait diğer önemli entomopatojenlerin bulunduğu gruplar; *Nomuraea*, eskiden *Verticillium* olarak bilinen *Lecanicillium*, yine eskiden *Paecilomyces* olarak bilinen *Isaria* ve *Aschersonia* cinsleridir (Shah ve Pell 2003; Charnley ve Collins 2007). Entomopatojenik fungusların sistematik pozisyonlarına dayanarak ortaya çıkarılan gruplandırma entomopatojenik veya entomoparazitik funguslar Blastocladiomycota (*Coelomomyces* spp, *Coelomycidium simulii*), Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina (Harpellales ve Asellariales), Eurotiomycetes (Ascosphaera ve diğer cinsler), Laboulbeniomycetes (ektoparazitik ascomycetes), Dothideomycetes (Myriangium), Sordariomycetes (çoğunlukal Hypocreales içerisinde) ve Pucciniomycetes (*Septobasidium* ve akrabaları) grupları içerisinde yer aldığını söylemek mümkündür (Humber, 2008). Bazı önemli entomopatojenik fungusların detaylı sınıflandırılması Tablo 2'de verilmiştir (Humber, 2008; Roy vd., 2006).

Tablo 2. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojenik fungusların fungi alemi içerisindeki taksonomik pozisyonları

Filum	Chytridiomycota	Eski Adı: Zygomycota	Bazal Funguslar
Filum	Neocallimastigomycota		
Filum	Blastocladiomycota		
Filum	Microsporidia		
Filum	Glomeromycetes		
Alt Filum	Mucormycotina (filum atanmadı)		
Alt Filum	Kickxellomycotina (filum atanmadı)		
Alt Filum	Zoopagomycotina (filum atanmadı)		
Alt Filum	Entomophthoromycotina (filum atanmadı)		
Takım	Entomophthoralean		
Familya	Entomophoraceae		
Cins	<i>Entomophaga</i>		
	<i>Entomophthora</i>		
	<i>Erynia</i>		
	<i>Eryniopsis</i>		
	<i>Furia</i>		
	<i>Massospora</i>		
Familya	Neozygitaceae		
Cins	<i>Neozygites</i>		
	<i>Zoophthora</i>		
Alt Alem	Dikarya		
Filum	Ascomycota		
Alt Filum	Pezizomycotina		
Sınıf	Eurotiomycetes		
Sınıf	Dothideomycetes		
Sınıf	Laboulbeniomycetes		
Sınıf	Lecanoromycetes (likenler)		
Sınıf	Orbiliomycetes		
Sınıf	Sordariomycetes		
Takım	Hypocreales		
Familya	Clavicipitaceae		
Cins			
Telemorf	<i>Hypocrella</i>		
	<i>Metacordyceps</i>		
	<i>Regiocrella</i>		
	<i>Torrubiella</i>		
Anamorf	<i>Aschersonia</i>		
	<i>Metarhizium</i>		
	<i>Pochonia</i>		

Tablo 2'nin devamı

	<i>Rotiferophthora</i> <i>Verticillium-gibi</i> ²
Familya	Cordycipitaceae
Cins	
Telemorf	<i>Cordyceps</i> s.str. <i>Torrubiella</i>
Anamorf	<i>Beauveria</i> <i>Engyodontium</i> <i>Isaria</i> <i>Lecanicillium</i> <i>Mariannaea-gibi</i> <i>Microhilum</i> <i>Simplicillium</i>
Familya	Ophiocordycipitaceae
Cins	
Telemorf	<i>Ophiocordyceps</i> <i>Elaphocordyceps</i>
Anamorf	<i>Haptocillium</i> <i>Harposporium</i> <i>Hymenostilbe</i> <i>Paecilomyces gibi</i> ¹ <i>Paraisaria</i> <i>Sorospora</i> <i>Syngliocladium</i> <i>Tolypocladium</i> <i>Verticillium gibi</i> ²
Filum	Basidiomycota
Alt filum	Pucciniomycotina
Sınıf	Pucciniomycetes
Takım	Septobasidiales
Alt filum	Ustialemycotina
Alt filum	Agaricomycotina

1 Önceden *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* içerisinde yer alan türler. Günümüzde bu türler *Paecilomyces*'den ve *Isaria*'dan kesin bir şekilde ayrılmıştır

2 Önceden *Verticillium* sect. *Prostrata* içerisinde yer alan türler. Günümüzde bu türler *Verticillium*'dan kesin bir şekilde, ayrılmış fakat yeni sınıflandırılmaları yapılmamıştır.

1.4.1.1.2. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılmasında Kullanılan Özellikler

Entomopatojenik fungusların sınıflandırılmasında ana olarak morfolojik ve özellikle son zamanlarda moleküler karakterler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Morfolojik özellikler: Entomopatojenik fungusların sınıflandırılmasında birçok farklı morfolojik özellikler kullanılmaktadır. Bunlar sırası ile böcekte meydana gelen enfeksiyon

şekli, katı besiyerindeki koloni morfolojisi ve rengi, sporların şekli ve boyutları, hiflerin yapısı, havai ve septalı olup olmadığı, synnema yapısı, sporların tek tek veya zincir şeklinde olup olmaması, sporokarp (fruiting body) yapısı, konidiyogenez hücrelerinin yapısı ve şekli, stroma yapısı, konidiyoforların yapısı, dinlenme yapılarının (resting spores) şekli ve büyüklüğü, sporangiyum yapısı ve şekli, fungusun hymenia oluşturup oluşturmaması, zoospor yapısı ve diğer bazı özellikler entomopatojenik fungusların morfolojik tür tayininde kullanılmaktadır (Humber, 1997).

Moleküler özellikler: Çeşitli organizmaların karakterizasyonu için PCR temelli metotların kullanılması entomopatojenik funguslarda (özellikle *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae*) tür sınırlarının, filogenilerinin anlaşılmasında ve tür tayinlerinin yapılmasında büyük bir önem arz etmektedir. Birçok spesifik olmayan PCR temelli metotlar *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatlarını karakterize etmek için kullanılmıştır ve pekçok çalışma bu funguslar arasında büyük oranda genetik çeşitliliğin olduğunu göstermiştir (Meyling, 2008).

DNA dizi analizlerinden elde edilen bilgiler ile entomopatojenik fungusların tür tayinlerinin yapılması son zamanlarda kullanılan en ileri teknik olarak belirtilmektedir. DNA dizi analizinden elde edilen bilgileri ile GenBank'ta yer alan diğer entomopatojenik funguslara ait DNA dizileri ile karşılaştırmak mümkündür. DNA dizi analizlerinden elde edilen veriler ile yapılan filogenetik çalışmalarında *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türlerinin kriptik taksonlardan oluştuğu ve bu ayrımın morfolojik olarak yapılamadığı belirtilmektedir (Meyling, 2008; Rehner ve Buckley, 2005; Bischoff vd., 2009).

DNA'da yer alan spesifik bölgelerin dizin analizinin yapılması pekçok organizma için filogenetik çalışmalarda kullanılmaktadır. Entomopatojenik funguslar için, son zamanlarda ITS gen bölgesi tür tayinlerinin yapılmasında ve hatta tür içi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Driver vd., 2000; Muro vd., 2003; Meyling, 2008). Aynı şekilde, EF1- α ve 18S gen bölgeleride tür içi korunmuş olduklarından ve tür içinde yüksek oranda çeşitlilik sağladıklarından dolayı entomopatojenik fungusların sınıflandırılmalarında ve tür tayinlerinde kullanılmaktadır (Rehner ve Buckley, 2005; Rehner vd., 2006; Pantou vd., 2003).

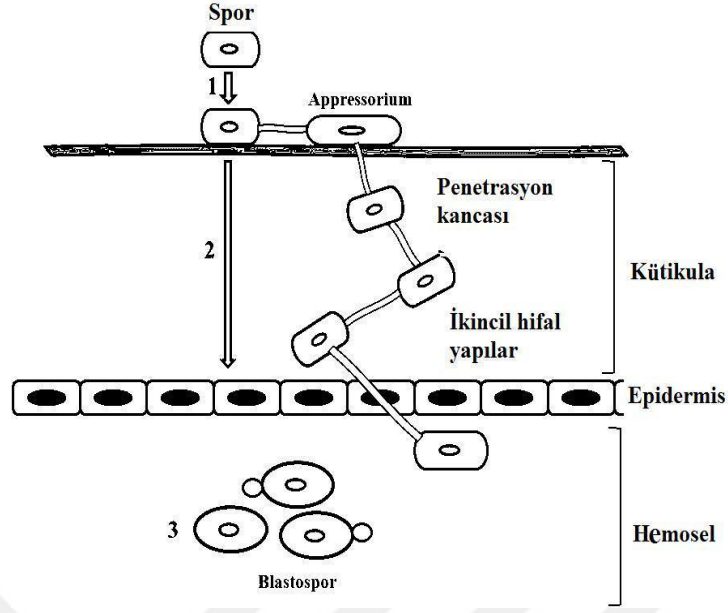
1.4.1.1.3. Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri

Entomopatojenik fungusların yaşam döngüleri çoğunlukla konaklarının gelişme safhaları ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir (Shah ve Pell, 2003). Fakat, pek çok entomopatojenik fungus, hayat döngülerinde birçok benzerliğe sahiptir (Roy vd., 2006). Bakteri ve virüslerden farklı olarak, funguslar konaklarını yalnızca bağırsaktan değil, aynı zamanda böceklerin solunum deliklerinden ve integumentin yüzeyinden de enfekte edebilir. Bu özellik entomopatojenik fungusları böceklerin beslenme aktivitelerinden bağımsız olarak doğrudan enfekte edebileceği gerçeğini doğrulamaktadır (Ferron, 1978). Bu durum bitkilerin özsuvisi (başta afidler) veya hayvan kanı ile beslenen böceklerin mikrobiyal mücadelesinde entomopatojenik funguslara önemli avantajlar sağlamaktadır (Lacey ve Goettel, 1995).

Entomopatojenik fungusların yaşam döngülerinde ilk olarak fungus enfektif bir spor üretir ve bu spor konağın kütikulasına tutunarak penetre olur. Penetrasyondan sonra spor çimlenerek germ tüpünü oluşturur ve bunu takiben appressorium oluşumu meydana gelir. Bu penetrasyon işlemi sıklıkla integumentin enfeksiyon bölgelerinde melanizasyon reaksiyonuna yol açmaktadır (Ferron, 1978). Bu da patojenin yavaş büyümesini veya gücünü durdurmasına yardımcı olur (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, fungus konağın hemoseline ulaşarak konağı istila eder ve toksin üretimi veya çoğalma gibi nedenlerle konağı öldürür. Uygun koşullar altında böceğin ölümünden sonra, fungus konaktan dışarı doğru sporlaşmaya başlar ve bu sporlaşma ya da konidiyogenezis kadavranın dış yüzeyinde meydana gelir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Alternatif olarak, fungus primer konağın olmadığı zamanlarda taksonomik olarak birinci derecede ilişkili bir başka konağı enfekte edebilir. Benzer olarak, alternatif konağın enfeksiyonundan sonra konak ölür ve üretilen sporlar primer ilişkili diğer bireyleri enfekte edebilir. Bunun haricinde, enfeksiyon için uygun olmayan çevresel koşullarda, fungus, bu koşullara dayanıklı dinlenme yapılarını (resting spores) oluşturur. Bu yapı çevrede konak olmadığı zaman uzun bir süre varlığını sürdürebilmektedir. Dinlenme yapılarının kendisi enfektif özelliğe sahip değildir. Fakat, yeniden enfektif spor oluşturabilir. Sporlaşmadan sonra çevreye yayılan sporlar başka konakları enfekte eder. Normal olarak bu yaşam döngüsünün pek çok istisnaları bulunmaktadır. Fakat, önemli olan çevresel faktörlerin fungusun üremesi ve hayatta kalması için son derece önemli olmasıdır. (Goettel vd., 2005).

1.4.1.1.4. Fungal Enfeksiyon

Entomopatojenik funguslar diğer böcek patojenlerinden farklı olarak konağın integümentinden enfeksiyon yapabilir. Bu nedenle, konak tarafından yenilme gerekli değildir ve enfeksiyon çığneme yapan böcekler ile sınırlı kalmaz (Fuxa, 1987). Genellikle eşeysiz olarak üreyen sporlar enfeksiyondan sorumludur ve enfeksiyondaki başlangıç aşaması pasif veya spesifik olmayan tutunmadır (Castrillo vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu adım böceğin kütikulasına temas için birçok farklı yol içermektedir. Örneğin, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Nomurae rileyi* durumunda, tutunma işlemi sporlarda yer alan iyi organize olmuş fasikül rodletler ve böcek kütikulası arasındaki hidrofobik ilişkinin sonucu olarak meydana gelir. Sucul ortamlarda yaşayan entomopatojenik funguslarda ise tutunma işlemi zoosporların kese oluşturması ile takip edilir (Castrillo vd., 2005). Tutunma işlemi takiben, sporlar konağın çeşitli bariyerlerinin üstesinden gelmek için fungusa yardımcı olan appressorium yapısını oluşturmak için çimlenmeye başlar (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, çemlenmiş spor kütikulanı içerisine penetre olur. Penetrasyon safhasında, proteaz, kitinaz ve lipaz gibi kütikulayı parçalayan bazı enzimler konağa girişte önemli rol oynamaktadır (Clarkson ve Chamley, 1996). Bu enzimler sporların böcek kütikulasına penetre olmasına yardım eder. Özellikle proteazlar böcek ile çevre arasındaki fiziksel bariyeri zayıflatarak ya da degrade ederek sporların kütikulaya penetrasyonunda önemli yer tutarlar. Pr1 proteazlar *pr1* genleri tarafından kodlanır ve subtilisin benzeri bir enzimdir (Fang vd., 2009). Bu proteaz genine sahip olan funguslar enfeksiyon işleminde daha etkili olurlar. Penetrasyonu takiben, hemoselin içerisindeki filamentöz fungus yapıları maya benzeri hifal yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar. Bu yapılar hemolenf içerisinde dolaşırlar ve tomurcuklanma ile çoğalırlar. Daha sonra tekrar filamentöz yapılara geçiş yapılarak fungus iç dokuları ve organları istila eder ve sonunda böcek ölür (Castrillo vd., 2005). Son olarak, fungus ölmüş böcek üzerinde sporlaşır ve yeni oluşmuş sporlar başka bir konağı enfekte edebilir. Uygun koşullar altında, bu durum aynı şekilde devam eder. Fungal enfeksiyon işleminin ayrıntılı şeması Şekil 7’de verilmiştir.



Şekil 7. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamaklarının gösterimi. 1. Böcek kütikulası ve spor arasındaki fiziksel temastan sonra fungusun konağı tanıması spor çimlenmesini ve appressorium oluşumunu başlatır. 2. Penetrasyon kancası ve çeşitli hifal yapılar kütikulayı ve epidermisi geçer. 3. Fungusun hemosele girmesinden sonra blastospor oluşumu başlar ve fungus konağı istila eder.

1.4.1.1.5. Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri

Entomopatojenik funguslar, farklı metabolitler üreterek konaklarını birçok farklı şekilde öldürmektedir (Zimmermann, 2007b). Kimyasal olarak farklı toksik metabolitler *Beauveria*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* ve *Verticillium* gibi biyolojik mücadele etmenlerinde tanımlanmıştır. Bu metabolitlerden bazılarının önemli patojenite etmenleri olduğu bilinmektedir (Strasser vd., 2000). Şimdiye kadar birçok araştırmacı *Beauveria* spp. ve *M. anisopliae* tarafından üretilen metabolitler üzerine odaklanmıştır (Zimmermann, 2007a; Zimmermann, 2007b; Strasser vd., 2000). Çünkü, bu iki fungus en önemli mikrobiyal mücadele etmenleridir. Bazı entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler

Fungus	Metabolitler
<i>Beauveria bassiana</i>	Beauverisin, bassianin, bassianolide, beauverolidler, tenellin, oosporein, oksalik asit, bassiakridin
<i>Beauveria brongniartii</i>	Oosporin
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Destruksinler (28 tip), swainsonie, sitokalasin C
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Beauvricin, beauverolidler
<i>Verticillium lecanii</i>	Dipicolonik asit, hidroksikarboksilik asit, siklosporin
<i>Hirsutella thompsonii</i>	Hirsutellin A, hirsutellin B, fomalakton

Beauveria spp. beauverisin, bassianin, bassianolide, oosporin, destruksin B gibi *in vivo* ve *in vitro* ortamda pek çok toksik bileşik üretmektedir (Zimmermann, 2007a). Ayrıca, destruksinler (28 tip), sitokalasin C ve hidroksifungerin A ve B gibi metabolitler ise *Metarhizium* spp. tarafından üretilmektedir. Şimdiye kadar entomopatojenik fungusların hastalık sırasında herhangi bir toksini üretilip üretmedikleri veya virülans için toksin gerekip gerekmediği belirlenmemiştir. Quesada-Moraga ve Vey (2003) *B. bassiana*'nın çekirgelere karşı patojenik olması için toksin üretimine gerek duymadığını belirtmiştir. Bazı durumlarda, toksin üretiminden şüphelenilmesine rağmen, kesin olarak belirtilmemektedir. Farklı genotipe sahip *Beauveria bassiana* türleri farklı konak hücrelerde farklı patojenite etkisi göstermektedir (Jaronski ve Goettel, 1997). Bu sebeple genellikle kabul edilen şudur ki; fungusun spesifik bir suşunun, orijinal konağı üzerinde veya konakla akraba olan türlerde virülansı daha fazladır (Xu, 1998). *Coelomycidium*, *Coelomyces* cins ve Entomophthoralean ordosuna ait bir kısım funguslar bazı çok zayıf toksinlere sahip olabilir. Fakat, büyük ihtimalle, bu funguslar konaklarını hayati dokuları istila ederek öldürürler (Goettel vd., 2005). İlave olarak, fungal enfeksiyon konak hareketlerinde ateş artması, yüksek yerlere çıkma, aktivitede artış veya azalma, semikimyasallara karşı azalmış cevap ve üreme davranışlarında değişme gibi değişiklikler meydana getirebilir (Roy vd., 2006).

1.4.1.1.6. Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği

Entomopatojenik fungusların özgüllüğü cinsler arasında, bir cins içerisinde ve hatta bir türün suşları arasında bile farklılık gösterebilmektedir (Goettel vd., 2005). Özellikle, Entomophthorales ordosuna dahil fungusların, dar konak aralığına sahip oldukları bilinir (*Zoophthora radicans* istisnadır) ve bunlar genelde yaprakla beslenen böcekler ve akarlarda göze çarpan epizootiklerle ilişkilidir. Bunun tersine Hyphomycetes funguslar (son sınıflandırmaya göre şu anda Sordariomycetes olarak biliniyor) daha geniş bir konak aralığına sahiptir (*Verticillium lecanii* ve *Hirsutella thompsoni* istisnaları ile birlikte) ve genelde topraktaki böcek popülasyonlarında epizootik yaparlar (Pell vd., 2001). Her iki grubun da istisnaları bulunmaktadır. Örneğin, Sordariomycetes sınıfına ait iki tane iyi bilinen fungus türü olan *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* geniş konak aralığına sahiptir. Şimdiye kadar *B. bassiana*'nın 707 adet konağa sahip olduğu bildirilmiştir (Zimmermann, 2007a). Bu sayı 521 cins, 149 familya ve 15 ordoyu kapsamaktadır. *B. bassiana* Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Diptera, Hemiptera, Orthoptera, Siphonaptera, Isoptera, Thysanoptera, Mantodea, Neuroptera, Dermaptera, Blattariae, Embioptera takımlarında patojen olarak etki gösterir (Zimmermann, 2007a). *M. anisopliae*'nin konak aralığı *B. bassiana*'dan daha sınırlı olmasına rağmen, bu türün de Symphyla, Orthoptera, Dermaptera, Isoptera, Homoptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Siphonaptera, Lepidoptera, Malacostrata (Amphipoda), Acari, Ephemeroptera, Dermaptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera ve Lepidoptera ordolarına ait böcekleri enfekte ettiği bildirilmiştir (Zimmermann, 2007b). Bu iki tür birçok böcek türünü enfekte etmelerine rağmen, izolatların alan uygulamalarında laboratuvar koşulları ile karşılaştırıldığında daha spesifik olabildikleri görülmektedir. Bu da patojene karşı duyarlılıktan daha çok diğer faktörlerin doğadaki hastalık oluşmasında önemli olduğunu göstermektedir. Bazı durumlarda, fungus sadece zayıflamış ve strese girmiş böcekleri öldürebilir (Goettel vd., 2005).

Pek çok Entomophthorales fungus konağa özgüdür ve hedef dışı organizmalar üzerinde bazı istisnalar hariç herhangi bir etki göstermez. Örneğin, *Entomophthore muscae* Lepidoptera takımına ait bireyleri enfekte ederken, *Zoophthora radicans*'ın Diptera, Coleoptera, Lepidoptera ve Homoptera takımlarına ait 80'in üzerinde konağı enfekte ettiği bildirilmiştir (Hajek vd., 1999; Goettel vd., 2005).

1.4.1.1.7. Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı

Bir patojenin enfektif yapılarının dağılması hastalığın gelişmesinde oldukça önemlidir. Hypocreales ordosuna ait entomopatojenik fungusların enfektif yapıları kadavradan pasif olarak dağılmaktadır. Bu pasif yayılım rüzgar ve yağmur gibi etkenlerle meydana gelmektedir (Meyling ve Eilenberg, 2007). Entomophthoralean fungusların sporları ise hidrostatik basınç altında aktif olarak salınmaktadır. Salınımdan sonra sporların yayılımı rüzgar veya yeni bir enfeksiyon ile devam etmektedir (Shah ve Pell, 2003). Toprak ortamında ise entomopatojenik fungusların aşırı bir şekilde çoğalması ve yayılımı sınırlıdır. Popülasyonun oluşumu, kadavradan yayılan enfektif sporlar, içerisinde ana kadavrada yer alan kaynakların dönüşümüne dayanmaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2007). Bazı durumlarda, entomopatojenik funguslar canlı haldeki enfekte böcek ile bir başka konağa veya çevreye yayılımlarını gerçekleştirmektedirler. Örneğin, bazı Entomophthoralean fungusların sporları konak hala canlı iken salınmaktadır. *Entomophthora thripidum* ve *Strongwellsea catrans* ile enfekte sinekler ve bazı afid türleri uzun mesafede fungusları taşıyarak göç edebilmektedir (Meyling ve Eilenberg, 2007; Shah ve Pell, 2003). Ayrıca, bazı eklem bacaklılar entomopatojenik türlerin yayılımının da görev yapabilmektedir (Dromph, 2003; Meyling vd., 2006). Bazen, *Cordyceps* spp. gibi entomopatojenik funguslar ve hatta onun anamorfları (örnek olarak *B. bassiana*) büyük bir stroma üretmektedir ve bu stroma bazen 30 cm'ye kadar ulaşabilmekte ve sonunda eşeyli ve eşeysiz sporları üretmektedir. Son olarak, dinlenme yapılarının (resting spores) oluşması pek çok fungusun yayılımı için ana faktör olmaktadır. Konağın sayısı azaldığı ve olumsuz çevre koşulları başladığı zaman, pek çok Entomophthoralean fungus uzun bir zaman toprakta sağ kalabilen mitozdan (azigospor) veya mayozdan (zigospor) oluşan dinlenme yapılarını (resting spores) üretmektedir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu da fungusun yayılımına katkı sağlayan faktörlerden birisidir.

1.4.1.1.8. Entomopatojenik Fungusların Avantaj ve Dezavantajları

Entomopatojenik fungusların mikrobiyal mücadelede bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. İnsektisit olarak fungusların kullanım avantajları şöyle sıralanabilir:

1. Zararlıyla mücadele açısından bazı durumlarda yüksek konak seçiciliğine sahip olmaları: Entomopatojenik funguslar zararlı olmayan parazit ve yararlı böcek popülasyonlarını etkilemeden zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılabilir.

2. Memeliler üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermemeleri, böylece çevre kirliliği gibi insektisit uygulamaları sonucu karşılaşılan zararların azaltılması.

3. İnsektisit direnci gibi problemlerin olmaması ve böylece uzun süreli bir mücadele sağlamaları.

4. Biyoteknolojik araştırmalar ile geliştirilmeye uygun olmaları.

5. Funguslar genellikle konaklarının tüm gelişme fazlarını enfekte ederler ve bu nedenle, herhangi bir uygun fazda kullanılabilirler.

6. Uygulama sonrası çevrede uzun süre kalmaları ve böylece, uzun süreli mücadelesinin sağlamaları (Wan, 2003).

Öteyandan, fungusların insektisit olarak kullanımlarının bazı dezavantajları da bulunmakatadır:

1. Kimyasal insektisitler böcekleri sadece 2-3 saatte öldürürken, entomopatojenik funguslar daha uzun bir süre gerektirmektedir (bazen 10-15 gün).

2. Uygulamalar yüksek nem, düşük zararlı sayısı ve fungusitlerin kullanılmadığı periyotda olmalıdır.

3. Bazen yüksek seçiciliğinden dolayı ilave mücadele etmenlerinin kullanılması gerekebilir.

4. Üretimleri nispeten pahalıdır ve sporların saklanması için soğuk ortamlar gereklidir.

5. Zararlı popülasyonları üzerine entomopatojenik fungusların etkinliği ve devamlılığı farklı konaklarda farklılık göstermektedir ve böylece, böceğe özgül uygulama tekniklerinin optimizasyonu uzun süreli çalışma ve araştırma gerekmektedir.

6. Bağışıklık sistemi baskılanmış insanlara karşı bazen potansiyel risk oluşturabilirler (Wan, 2003).

7. UV ışınının ve desikasyonun fungal sporların üzerinde olumsuz etkileri vardır (Klingen vd., 2002).

8. Fungusların neden olduğu epizootikler çevresel faktörlerden (sıcaklık, nem vb.) etkilenir.

9. Bitki hastalıklarının kontrolünde yaygın olarak kullanılan fungusitlere duyarlıdırlar (Demirbağ vd., 2008).

1.4.1.1.9. Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı

Entomopatojenik funguslar, diğer doğal böcek düşmanları ile birlikte başlıca (1) klasik, (2) inokülatif salınım, (3) inundatif salınım ve (4) konzervatif olmak üzere dört geniş biyolojik mücadele stratejisinde kullanılabilirler (Eilenberg vd., 2001; Shah ve Pell, 2003).

Entomopatojenik fungusların klasik biyolojik mücadelede büyük bir kullanım potansiyeli mevcuttur. Fungusların klasik ve inokülatif biyolojik mücadele de kullanımları açısından pek çok tercih nedeni özellikleri vardır. Hızlı bir şekilde epizootiklere neden olabilir, dar konak aralığına sahiptir, çevrede ve böcek popülasyonlarında uzun süre varlıklarını sürdürebilirler (Goettel vd., 2005).

Klasik biyolojik mücadele uzun süreli bir mücadele sağlamak amacıyla, biyolojik mücadele etmeninin doğal olarak bulunmadığı bir yere (genellikle bu organizma konağa göre zaman içerisinde değişikliğe uğramıştır (co-evolved)) isteğe bağlı olarak bırakılmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Bu mücadele stratejisinde, ilgili zararlının mücadelesi zararlının mücadelesinin gerektiği alana doğal olmayan uygun bir biyolojik mücadele etmeninin bırakılmasına bağlıdır. Böylece, klasik biyolojik mücadele ekzotik bir organizmanın salınımını gerektirmektedir (Eilenberg vd., 2001). Klasik biyolojik mücadele programları genelde uzun süre sürdürülebilir ve ekonomik bir mücadele sağlamaktadır (Shah ve Pell, 2003). Entomopatojenik fungusların klasik biyolojik mücadele de kullanımlarına yönelik birçok örnek vermek mümkündür. Amerika'da *Entomophaga maimaiga*'nın *Lymantria dispar*'a ve *Zoophthora radicans*'ın *Therioaphis trifolii*'ye karşı uygulanması bu alanda en güzel örneklerdir (Hajek vd., 1990; Pell vd., 2001; Milner vd., 1982; Shah ve Pell, 2003).

İnokülatif biyolojik mücadele ise biyolojik mücadele etmeni olan canlı bir organizmanın, mücadele bölgesine salınarak uzun bir süre zarfında çoğalması sonucu zararlı böceği kontrol altına almasıdır. Fakat, bu mücadele kalıcı değildir. Bu uygulama stratejisinde salınan organizmanın sayısı önemli değildir. Aksine biyolojik mücadele etmeninin salınan alanda çoğalması önemlidir. Genellikle alana düşük sayıda mücadele etmeni salınır. Bu kısmen de olsa salınan organizmanın kabul edilemez masraflarından kaynaklanmaktadır. Böcek patojenleri inokülatif mücadele için kullanılabilir. Örneğin, *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch (Deuteromycotina: Hyphomycetes) mayıs böceğiyle (*Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) mücadele etmek için İsviçre'de

kullanılmıştır. Buradaki amaç, salınan fungusun zaman içerisinde çoğalarak uzun süreli bir mücadele elde edilmesi idi (Keller, 1997; Eilenberg vd., 2001). Bununla birlikte, *Entomophaga maimaiga* Amerika'da *Lymantria dispar* popülasyonlarında epizootik başlatmak amacı ile inokülatif olarak kullanılmıştır (Hajek ve Webb, 1999; Goettel vd., 2005).

Üçüncü biyolojik mücadele stratejisi olan inundatif biyolojik mücadele de ise mücadele yalnızca canlı organizmanın kullanılması ile sağlanmaktadır (Eilenberg vd., 2001). Bu uygulama stratejisinde, biyolojik mücadele etmeni kısa dönemli bir mücadele için genellikle büyük miktarlarda salınır ve ikinci bir enfeksiyon beklentisi yoktur (Shah ve Pell, 2003). Sıklıkla biyopestisit, biyolojik pestisit veya mikopestisit olarak bilinen terimler funguslar ile yapılan inundatif biyolojik mücadeleyi tanımlamak için kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005). Hyphomycetes funguslar inundatif biyolojik mücadele açısından büyük bir öneme sahiptir. Çünkü kitle üretimleri ve formülasyonları nispeten kolaydır ve geleneksel sprey uygulamalarıyla kolaylıkla uygulanabilmektedirler. Pek çok ticari ürün farklı tarım alanlarında zararlılar ile mücadelede kullanılmaktadır.

Tablo 4. Ticari olarak geliştirilmiş, geliştirilmeye devam edilen ve potansiyel olarak dikkate alınan entomopatojenik funguslar

Fungus	Ürün	Zararlı	Ülke
<i>Beauveria bassiana</i>	Conidia	Kahve kurdu beyaz sinekler, afidler,	Almanya
<i>Beauveria bassiana</i>	Mycotrol WP	Kirpik kanatlılar	Amerika
<i>Beauveria brongniartii</i>	Engerlingspizl Schweizer	Mayıs böceği Mayıs böceği	İsviçre
<i>Beauveria brongniartii</i>	Beauveria Melocont-	Mayıs böceği	İsviçre
<i>Beauveria brongniartii</i>	Pilzgerste		Avusturya
<i>Metarhizium favoviride</i>	Green Muscle	Çekirgeler	İngiltere
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	PFR-97	Beyaz sinek	Amerika
<i>Verticillium lecanii</i>	Vertalec	Afidler ve beyaz sinek	İngiltere
<i>Verticillium lecanii</i>	Mycotal	Afidler ve beyaz sinek	İngiltere
<i>Entomophaga maimaiga</i>	–	Kır tırtılı (<i>L. dispar</i>)	–
<i>Hirsutella thompsonii</i>	–	Akarlar	–
<i>Lagenidium giganteum</i>	Laginex	Sivrisinekler	Amerika
<i>Metarhizium anisopliae</i>	BioBlast	Termitler	Amerika
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Green Muscle	Çekirgeler	G. Afrika

Bunların bazı örnekleri Tablo 4’de verilmiştir (Shah ve Pell, 2003; Strasser vd., 2000; Cross vd., 1999; Lacey ve Goettel, 1995; Montesinos, 2003; Scholte vd., 2004; Milner, 2000).

Konzervatif biyolojik mücadele ise zararlı böceğin etkisini azaltmak için çevresel veya mevcut uygulamalarda değişiklikler yaparak alanda bulunan doğal düşmanın veya diğer organizmaların korunmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Bu stratejide etmen salınımı yoktur fakat tarım sistemleri ve uygulamaları doğal olarak mevcut olan düşmanı korumak veya sayısını arttırmak için modifiye edilir. Bu sayede zararlı böcek popülasyonunun zarar eşiğinin altında tutulması amaçlanmaktadır (Goettel vd., 2005). Bu uygulamada ilk örnek, *Neozygites fresenii*’nin Amerika’da bulunan pamuk tarlalarındaki uygulamasıdır. Çifçiler topladıkları afidelerin %15’inin bu fungusla enfekte olduğunu buldukları zaman mevcut patojeni korumak için herhangi bir insektisit uygulaması yapmadılar. Böylece, hem zamandan hem de paradan tasarruf ederek, çevresel kontaminasyonu azaltarak yararlı böcekleri de korumuş oldular (Shah ve Pell, 2003; Pell vd., 2001).

1.4.2. *Hypera postica* ile Biyolojik Mücadele

Hypera postica ile biyolojik mücadelede bugüne kadar zararlının parazitoit ve predatörleri, entomopatojenik nematod, bakteri ve funguslar kullanılarak çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. İlk olarak 1900’lü yılların ilk yarısında Chamberlin yonca hortumluböceğinin biyolojik mücadelesinde etkili, larva ve yumurta parazitoiti olan 10 tür teşhis etmiş ve bu parazitoitler tüm dünyada çeşitli bilim adamları tarafından kullanılarak zararlı ile mücadele edilmeye çalışılmıştır (Chamberlin, 1926). *Bathyplectes anurus* (Hymenoptera: Ichneumonidae) kullanılarak yapılan çalışmada yonca hortumluböceği larvalarının %36-92 oranları arasında parazitlendiği tespit edilmiştir. Giles ve Obryck (1997) ise önceki uygulamalardan farklı olarak insektisit kullanımını entomopatojen fungus olan ve yonca alanlarında doğal olarak enfeksiyona neden olan *Zoophthora phytonomi*’nin çıkışının en yoğun olduğu zamana denk getirerek, yonca hortumluböceği larvalarında kontrol grubuna göre %7,5-25,3 daha fazla ölüm oranı elde etmiştir. Entomopatojenik nematodlar kullanılarak yapılan mücadele çalışmalarında ise Shah vd. (2011) *Heterorhabditis indica*, *Steinernema carpocapsae* ve *Steinernema thermophilum* nematodlarını kullanarak zararlı ile mücadele etmeye çalışmışlardır. Ayrıca, Kim vd. (2007) *Steinernema carpocapsae* nematodunu yonca hortumluböceği ile mücadele de kullanmışlardır. Bakteriler ile yapılan biyolojik mücadele çalışmalarında ise zararlı

populasyonun kontrol altına alınmasında *cry* genleri kullanılmıştır. Sharma vd. (2011) Bt proteinlerini (Cry6B) zararlı ile mücadelede kullanmışlardır. Tohidfar vd. (2013) yaptıkları çalışmada ise *Agrobacterium tumefaciens* bakterisini kullanarak yonca bitkisine *cry3a* geni aktarmışlar ve yonca hortumluböceğine karşı %73-90 oranında daha dirençli yonca elde etmişlerdir. Hedlund ve Pass (1968) *Beauveria bassiana* fungusunu yonca hortumluböceğine karşı kullanmışlar ve patojenin böcekteki enfeksiyon aşamalarını araştırmışlardır. Entomopatojenik fungusların kullanıldığı bir diğer çalışmada Mustafa vd. (2014), *Hypera postica* erginleri üzerinde *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* and *Clonostachys rosea* funguslarını denemişler ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Bütün bu yapılan çalışmalar neticesinde zararlının günümüzde de etkisini halen daha etkili bir şekilde devam ettirdiği dikkate alındığında zararlı ile biyolojik mücadelede alternatif yöntem ve patojenlerin araştırılması kaçınılmaz olmuştur.

1.5. Tezin Amacı

Bu çalışmada ülkemizde ve dünyada yonca tarlalarında önemli zararlar meydana getiren yonca hortumluböceği, *Hypera postica* (Gyll.)'nın fungal patojenlerini belirlemek ve bunların zararlının biyolojik mücadelesinde kullanılma potansiyellerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda hedeflerimiz; 1) araziden böcek örneklerinin toplanması, 11) fungal izolatların elde edilmesi, 111) fungal izolatların tanımlanması ve 1V) zararlı üzerinde insektisidal aktivite testlerinin (patojenite testleri) yapılması olarak belirlenmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Böcek Örneklerinin Toplanması ve Laboratuvara Getirilmesi

Adana ve Iğdır illerindeki yonca tarlalarından 2014-2015 yıllarında *Hypera postica* (Yonca hortumluböceği) toplamak için arazi çalışmaları yapıldı. Yonca tarlalarında bulunan ölü erginler dikkatli bir şekilde ependorf tüplere konularak üzerlerine alındıkları bölgenin adı ve tarih not edildi. Canlı olan örnekler ise yeterince hava açıklığı bulunan kutular içerisine konularak laboratuvara getirildi. Sağlıklı ve enfekte olabilecek böcekler ayrıldı. Sağlıklı böceklerin beslenmesine devam edilirken, ölü ve hasta böceklerden fungus izolasyonu yapıldı.

2.2. Böceklerden Fungus İzolasyonu

Araziden ölü bulunmuş ve eksternal fungal yapılar ile sarılmış yonca hortumluböceklerinden direkt fungus izolasyonu yapıldı. Gerek arazi çalışmaları sırasında tespit edilen gerekse laboratuvara transfer sürecinde meydana gelen ölüm durumlarında ölümün fungal bir etmeden kaynaklanıp kaynaklanmadığı araştırıldı. Bunun için ölü yonca hortumluböcekleri (Şekil 8) %1'lik sodyum hipoklorit solüsyonuyla 3 dk. yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra 3 kere distile su ile yıkandı ve nemli filtre kağıdı içeren steril petri kaplarına alınarak, 1-2 hafta 25°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından eksternal fungus büyümesi gözlenen kadavralardan fungus izolasyonu yapıldı (Ali-Shtayeh vd., 2002).



Şekil 8. Doğal fungal enfeksiyondan ölmüş *Hypera postica* erginleri

Gözle görülebilir fungal büyüme gerçekleşen kadavralardan, öze yardımıyla patates dekstroz agar (PDA) besiyeri ihtiva eden petrilere fungus inokülasyonu gerçekleştirildi (Vannien ve Husberg, 1989). İnokülasyon yapılan fungusların saflaştırılması için besiyeri

olarak (%1 yeast ekstrakt ilave edilmiş) Patates Dekstroz Agar (PDA) kullanıldı. İstenmeyen bakteri kontaminasyonunu engellemek için besiyerine 50 µg/ml ampisilin, 20 µg/ml tetrasiklin ve 200 µg/ml streptomisin ilave edildi (Ihara vd., 2001). Parazitik fungusların büyümesini engellemek amacıyla ise 50 µg/ml oranında kloramfenikol kullanıldı.

2.3. Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması

İnkübasyondan sonra besiyeri üzerinde büyüyen funguslar incelenerek farklı koloni morfolojisine sahip olanlar, yuvarlak öze yardımıyla patates dekstroz agar (PDA) ihtiva eden petrilere çizgi ekim yapılarak, 28°C’de 4-6 gün inkübasyona bırakıldı. İlk zamanlarında büyüyen küçük koloniler bistüri yardımıyla agarla birlikte kesilerek PDA ihtiva eden petrilere transfer edildi. Böylece tek spordan oluşan fungusun saf kültürü elde edildi. Saf kültürler numaralandırılarak, sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere 5:1 oranında steril gliserol kullanılarak -80°C’de muhafaza edildi. Petrilerde kalan kültürler ise +4°C’de bekletildi. Elde edilen saf kültürlerin 6 ayda bir pasajlamaları gerçekleştirildi.

2.4. Fungal İzolatların Tür Tayinleri

Fungusların tür tanımlamaları morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak gerçekleştirildi. Morfolojik tür tayini, Dr. Richard Humber’ın “Entomopathogenic Fungal Identification” adlı kaynağından yararlanılarak yapıldı (Humber, 1997). Moleküler tür tayini ise Rehner ve arkadaşlarının 2011 yılındaki revizyonundan yararlanılarak yapıldı.

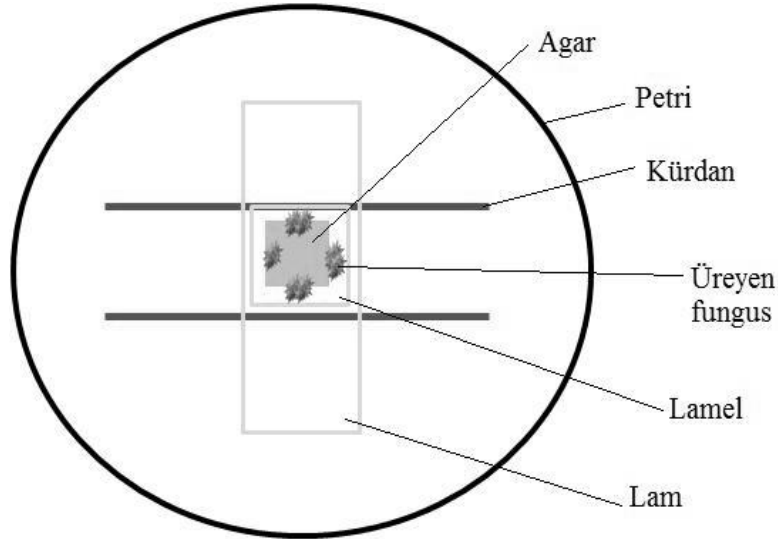
2.4.1. Morfolojik Tür Tayini

İlk olarak izolatların kadavralardaki görüntüleri ve etkileri belirlendi. Bunun için kadavralardaki renk değişimi, sertleşme, mikozlanma varsa misellerin rengi ve sporlaşma durumu steriomikroskopla incelendi. Fungusların misel yapılarının görüntülenmesi için ise agar blok kültürü hazırlandı ve miseller lakto-fenol blue boyası ile boyanarak mikroskopta incelemeleri yapıldı. Hazırlanan preparatların mikroskop altındaki incelemeleri sonucunda misellerin yapıları, spor şekilleri ve renkleri, havai olup olmadıkları, konidyoforların yapıları incelendi ve sporların çap ve boy ölçümleri yapıldı. İzole edilen fungusların tür tayini Dr. Richard Humber (USDA-ARS Collection of

Entomopathogenic Fungi, Ithaca, NY, USA) tarafından yayınlanan “Entomopathogenic Fungal Identification” adlı kaynaktan yararlanılarak yapıldı (Humber, 1997).

2.4.1.1. Agar Blok Kültürü

Agar blok kültürünün hazırlanması için otoklavlanmış PDA besiyeri steril bir petri kutusuna ince bir tabaka (2-3 mm. kalınlıkta) halinde döküldü ve katılaşması beklendi. Agar, steril bir bistüri ile 10x10 mm boyutlarında bloklar halinde kesildi. Bunlar, steril bir pens ile alınarak, steril bir lâmin üzerine yerleştirildi. Bu agar bulunan lâm, steril petri kutusunda bulunan kürdanların (veya cam çubuğun) üzerine yerleştirildi. Agar bloğun kenarlarının orta yerine inokülasyon yapıldı ve lâmel ile kapatıldı (Şekil 9). Gerekli nemin sağlanması için petri kutusunun içine, distile suya veya %20 su + %80 gliserin karışımına batırılmış pamuk konuldu. Petriler kapatıldıktan sonra, 25-27°C'de 5-8 gün inkübasyona bırakıldı (koloniler iyice görülünceye kadar). Bu sürenin sonunda, agar bloğun üzerindeki lâmel bir pens ile kaldırıldı. Temiz lâm üzerine bir damla lakto-fenol blue damlatılarak funguslu yüz alt tarafa gelecek şekilde yerleştirildi. Boyanan preparat mikroskop altında incelendi.



Şekil 9. Fungal örneklerin “Scotch tape” tekniğiyle mikroskopik incelenmesi

Fazla boya solüsyonu akıtıldıktan sonra etrafı oje ile kapatılabilir. Mikroskop çalışmalarında Leica DM 1000, ışık mikroskobu kullanıldı. Funguslanmanın zamanına bağlı olarak kültürlerin konidiafor yapıları, miselleri ve spor şekilleri incelendi. Farklı

cinslere ait fungusların spor çapları ölçüldü. Konidiaforların dallanma şekilleri, sporların büyüklükleri ve şekilleri arasındaki farklar not edildi.

2.4.2. Fungal İzolatların Moleküler Karakterizasyonu

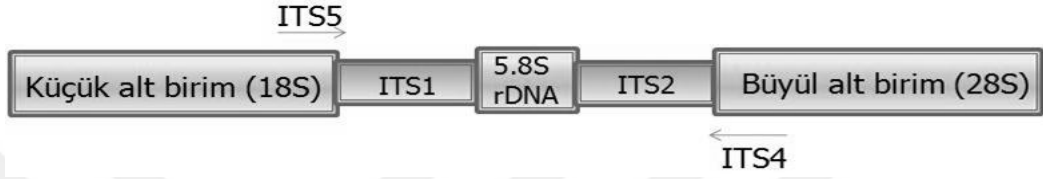
2.4.2.1. DNA İzolasyonu

Fungal izolatlardan DNA izolasyonu yapmak için ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep (50, ZYMO RESEARCH) kiti kullanılarak bu kültürden DNA izolasyonu yapıldı. İzolasyon için öncelikle fungusların PDA besiyerine ekimleri yapıldı ve 28°C’de 1 haftalık süre ile inkübasyona bırakıldı. Büyüyen funguslardan yaklaşık 50 mg ağırlığında doku kesilerek alındı. Doku lizis tüplerine transfer edildikten sonra üzerine 750 µl lizis solüsyonu eklenerek doku parçalayıcı içinde homojenize edildi. Doku parçalayıcıdan alınan tüpler 10.000 rpm’de 1 dk. santrifüj edildi. Pipet yardımıyla süpernetant kısımdan 400 µl alınarak filtrasyon tüplerine aktararak 1 dk. 7.000 rpm’de santrifüj edildi. Filtrenin altında kalan sıvıya 1.200 µl genomik lizis solüsyonu eklendi. Oluşan karışım DNA’nın tutunacağı filtreli tüplere alınarak 10.000 rpm’de 1 dk. santrifüj edildi. Filtre yeni bir tüpe alınarak yıkama işlemi 200 µl ön yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı ve 10.000 rpm’de 1 dk. santrifüj edildi. Tüpün altında kalan sıvı uzaklaştırılarak ikinci kez yıkama yapmak için 500 µl fungal-bakteriyal DNA yıkama solüsyonu eklendi. Tüpler bu haliyle 10.000 rpm’de 1 dk. santrifüj edilerek, DNA’nın saklanacağı ependorf tüplere alındı. Son olarak filtrenin üzerine 50 µl DNA Elution Buffer bırakılarak DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen DNA’lar -20°C’de saklandı.

2.4.2.2. rRNA ITS1-5.8S-ITS2 Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması ve Veri Analizleri

18S ve 28 S rRNA alt üniteleri arasında kalan ITS1-5.8S-ITS2 bölgelerinin (Şekil 10) PCR ile çoğaltılması için ileri olarak ITS5: 5’- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG – 3’ ve geri olarak ITS4: 5’TCCTCCGCTTATTGATATCG- 3’ primerleri kullanıldı (White vd., 1990). PCR reaksiyon karışımı, her bir dNTP’den 200 µM, her bir primerden 50 pmol, 1 unite *Phusion* DNA polimeraz, 10 µl 5X *Phusion* HF Buffer DNA polimeraz reaksiyon tamponu, 50 ng genomik DNA içerdi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl’ye tamamlandı. PCR koşulları 98°C’de 30 sn. denatürasyondan sonra 35 döngü 98°C’de 30 sn., 55°C’de 30 sn.,

72°C’de 30 sn. ve son adım olarak 72°C’de 10 dk. olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR reaksiyonu sonucu elde edilen ürünlerden 5’er µl alınarak 0.5 µg/ml etidyum bromür katkılı % 1’lik agaroz jelde 90 V’de 30 dk. elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünleri Nucleospin Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel) kiti ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için MACROGEN (Hollanda) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri tür tayinlerini doğrulamak için NCBI Genbank’ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırıldı ve daha sonra filogenetik analizleri yapıldı.



Şekil 10. ITS1-5.8S-ITS2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları. Reaksiyonda ITS5 ileri ve ITS4 geri primer olarak kullanılmıştır.

2.4.2.3. Uzama Faktörü-1-alfa (*EF1-α*), *RPB1* ve *Bloc* Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

ITS dizi analizine göre *Beauveria* cinsine dahil olduğu belirlenen izolatın tür tanımlamasının gerçekleştirilebilmesi için *EF1-α*, *RPB1* ve *Bloc* gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı (Rehner vd., 2011). *EF1-α* gen bölgesinin yaklaşık olarak 1150 bp’lik, *RPB1* bölgesinin 800 bp’lik ve *Bloc* gen bölgesinin 1050 bp’lik bölgeleri çoğaltılarak DNA dizi analizi yapıldı ve filogenetik ağaçları çizildi.

EF1-α, *RPB1* ve *Bloc* gen bölgelerini PCR ile çoğaltmak için Tablo 5’de verilen primerler kullanıldı (Rehner vd., 2011; Bischoff vd., 2009). (S=G veya C, R=A veya G, H=A, C veya T).

Tablo 5. *Beauveria* türlerinin moleküler karakterizasyonunda kullanılan gen bölgeleri ve primer sıraları.

Genler	Kullanılan primerler	Uzunluk (bp)
<i>EF1-α</i>	EF1T: 5’-TGGGTAAGGARGACAAGAC-3’ 1567R: 5’-CHGTRCCRATACCACCSATCTT-3’	1150
<i>RPB1</i>	RPB1Af: 5’-GARTGYCCDGGDCAYTTYGG-3’ RPB1C: 5’CCNGCDATNTCRTRTCCATRTRTA-3’	800
<i>Bloc</i>	B5.1F: 5’-CGACCCGGCCAACACTTTGA-3’ B3.1R: 5’-GTCTTCCAGTACCACTACGCC-3’	1050

PCR amplifikasyonları toplam 50 µl hacim olacak şekilde; dNTP'den 200 µM, her bir primerden 50 pmol, 1 unite *Phusion*-DNA-polimeraz, 10 µl 5X *Phusion* HF Buffer DNA polimeraz reaksiyon tamponu, 50 ng genomik DNA içerdi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl'ye tamamlandı. PCR koşulları 98°C'de 30 sn. denatürasyondan sonra 35 döngü 98°C'de 30 sn., (*EF1-α* için 57,5°C, *RPB1* için 58°C, *Bloc* için 58,5°C)'de 30 sn., 72°C'de 30 sn. ve son adım olarak 72°C'de 10 dk. olacak şekilde gerçekleştirildi (Finnzymes). PCR reaksiyonundan oluşan ürünlerden 5'er µl alınarak 0.5 µg/ml etidyum bromür katkılı % 1'lik agaroz jelde 90 V'de 45 dk. elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünlerinin Nucleospin Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel) kiti ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için MACROGEN (Hollanda) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri tür tayinlerini doğrulamak için NCBI Genbank'ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırıldı ve filogenetik analizler gerçekleştirildi.

2.4.2.4. İzolatlarda *pr1* Genlerinin Tespiti

Fungal enfeksiyonun başlangıç noktası sporların böcek kütikulasına penetrasyonudur. Penetrasyonda etkili olan proteazlardan Pr1 proteazların izolatlarda varlığını tespit etmek amacıyla *pr1* genleri izolatlarda tarandı. Bunun için *pr1 B* genleri outer (dış) primerler olan Pr1B1 (5'-TGCCAACATCGGACAAGACA-3') ve Pr1B2 (5'-CATGGACGACCCCGAAAGAG-3') ve inner (iç) primerler olan Pr1B3 (5'-AGCGTTCCTCCGGCAGTTACCATT-3') ve Pr1B4 (5'-CCCGGCGCAAAAATATCAAC-3') kullanılarak Nested-PCR ile çoğaltıldı.

PCR amplifikasyonları toplam 50 µl hacim olacak şekilde; dNTP'den 200 µM, her bir primerden 50 pmol, 1 unite GoTaq Flexi-DNA-polimeraz, 10 µl 5X GoTaq Flexi Buffer DNA polimeraz reaksiyon tamponu, 4 µl MgCl₂, 50 ng genomik DNA içerdi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl'ye tamamlandı. PCR koşulları 95°C'de 2 dk. denatürasyondan sonra 35 döngü 95°C'de 1 dk., (outer için 59°C'de, inner için 60°C)'de 1 dk., 72°C'de 1dk. ve son adım olarak 72°C'de 5 dk. olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR reaksiyonundan oluşan ürünlerden 5'er µl alınarak 0.5 µg/ml etidyum bromür katkılı % 1'lik agaroz jelde 90 V'de 45 dk. elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünlerinin Nucleospin Gel and PCR Clean-up kiti (Macherey-Nagel) ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için MACROGEN (Hollanda) şirketine gönderildi.

2.5. Fungal İzolatların Patojenite Testleri

İzolatlar, her ne kadar böcekten izole edilmiş olsa da bunların entomopatojenik olup olmadıklarını doğrulamak ve virulanslarını belirlemek için patojenite testleri yapıldı.

2.5.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

Patojenite testlerinde kullanılan fungal izolatların 1×10^7 spor/ml'lik stok solüsyonlarından PDAY besiyeriye 100 µl yayma ekim yapıldı ve 25°C'de 2-3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Büyüme periyodunun sonunda, tek koloniler seçilerek başka bir PDAY besiyerine transfer edildi ve 25°C'de 4 hafta boyunca inkübe edildi. Büyüyen fungusların üzerine 10 ml steril %0,01'lik Tween 80 eklendi ve cam baget ile kazınarak sporlar elde edildi. Spor süspansiyonları iki katlı steril tülbent ile 50 ml'lik steril falkon tüplerine süzülerek misel ve agar parçalarının uzaklaştırılması sağlandı. Elde edilen süspansiyonlar 5 dk. vortekslenerek homojen hale getirildi. Spor konsantrasyonları Neubauer hemositometresi ile sayılarak arzu edilen konsantrasyonlara ayarlandı. Sporların yaşayabilirliği, 100 µl spor süspansiyonun PDAY agar üzerine yayma ekim yapılması ve 24 saatlik bir inkübasyondan sonra çimlenme özelliğinin belirlenmesi ile test edildi. Germ tüpü spor çapından büyük olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edildi. Bunun sonucunda %95 oranında çimlenen sporlar patojenite testlerinde kullanıldı.

2.5.2. *Hypera postica*'ya Karşı İnsektisidal Aktivite Tarama Testleri

Biyotestlerde kullanılan *H. postica* larva ve erginleri Amasya ve Iğdır'daki yonca tarlalarından toplanarak laboratuvara getirildi ve sağlıklı larva ve erginler seçilerek biyotestlerde kullanıldı. Spor süspansiyonları Bölüm 2.5.1.'de belirtilen şekilde hazırlandıktan sonra, konsantrasyon 1×10^7 spor/ml olacak şekilde Neubauer hemositometresi ile ayarlandı.

H. postica'nın biyotestleri hem larva hem de ergin böcekler üzerinde gerçekleştirildi. Larvaların ve erginlerin biyotestlerinde, 3'er tekrar ve her bir tekrar için 30'ar böcek kullanıldı. Böceklere her bir izolat için 1 ml spor süspansiyonu püskürtülerek yeterli miktarda sporun böceklere bulaşması sağlandı. Kontrol grubu ise steril %0,1'lik Tween 80 ile muamele edildi. Larvalar ve erginler spor süspansiyonu püskürtüldükten sonra, içerisinde taze yonca sürgünleri bulunan kapların içerisine transfer edildi. Bu şekilde hem

larva hem de erginler için biyotest düzenekleri hazırlandıktan sonra, deney düzenekleri 20°C'de 12:12 (I:K) ışık periyodunda 7 gün boyunca inkübasyona bırakıldı ve 7. gün sonunda ölü larva ve erginler sayıldı ve yüzde ölüm değerleri hesaplandı. Yüzde mikoz değerini hesaplamak için ise ölü bulunan larvalar ve erginler %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisi ile yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 3 kez steril distile su ile yıkandı ve steril nemli filtre kağıdı içeren petrilere alındı. Bunu takiben sporlaşan larva ve erginler sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı. Ayrıca, LT₅₀ değerleri hesaplanarak doz denemesi için kullanılacak olan izolatların seçimi kolaylaştırıldı.

2.5.3. *Hypera postica*'ya Karşı Doz Uygulaması

H. postica'ya karşı doz uygulamasında, larva ve erginlere karşı yüksek patojenik etkiye sahip olduğu belirlenen HpI-4 (*B. pseudobassiana*) ve HpA-5 (*B. bassiana*) izolatları kullanıldı. Bu izolatların larva ve erginlere karşı virulansını belirlemek için izolatların spor konsantrasyonları 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor/ml olarak ayarlandı. Her bir doz için 3'er tekrar ve her tekrar için 30'ar böcek kullanıldı. Larva ve erginler, her bir doz için 1 ml spor süspansiyonu püskürtülerek farklı dozlara maruz bırakıldı. Daha sonra, larva ve erginler içerisinde taze yonca sürgünleri bulunan kaplara konularak inkübasyona bırakıldı. Kontrol grubu ise steril %0,1'lik Tween 80 ile muamele edildi. Bütün deney koşulları tarama testindeki koşullarla aynı tutuldu. İnkübasyondan sonra 14 gün boyunca ölü böcekler kontrol edildi. Uygulama süresi sonunda ölüm değerleri Abbott formülüne göre anlamlandırıldı ve probit analizi ile LC₅₀ değeri hesaplandı. Bütün deneyler 3 defa tekrar edildi.

3. BULGULAR

Hypera postica ile fungal mücadelede yeni etkili bir etmen belirlemeye yönelik olarak yapılan bu çalışmada, zararlıdan 8 entomopatojenik fungus izolasyonu gerçekleştirildi ve bunların saf kültürleri oluşturuldu. İzolatların morfolojik ve moleküler karakterizasyonları yapıldıktan sonra 8 izolatın *Hypera postica* üzerindeki insektisidal etkisi araştırıldı. Yapılan çalışmalarda aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı.

3.1. *Hypera postica*'dan Fungus İzolasyonu

Adana ve Iğdır illerinde yapılan arazi çalışmaları sonucunda, doğada ölü olarak bulunan 50 adet yonca hortumluböceği fungal enfeksiyon yönünden araştırıldı. Bu örnekler, günlük olarak incelemeye tabi tutuldu ve vücut yapıları sertleşmiş ve mikozlanmaya uğramış kadavralardan (Şekil 8) yapılan izolasyon sonucunda 8 adet izolat elde edildi. Adana'dan izole edilen izolatlara HpA-3, HpA-4, HpA-5 kodları, Iğdır'dan izole edilen izolatlara ise HpI-2, HpI-4, HpI-6, HpI-7, HpI-10 kodları verildi.

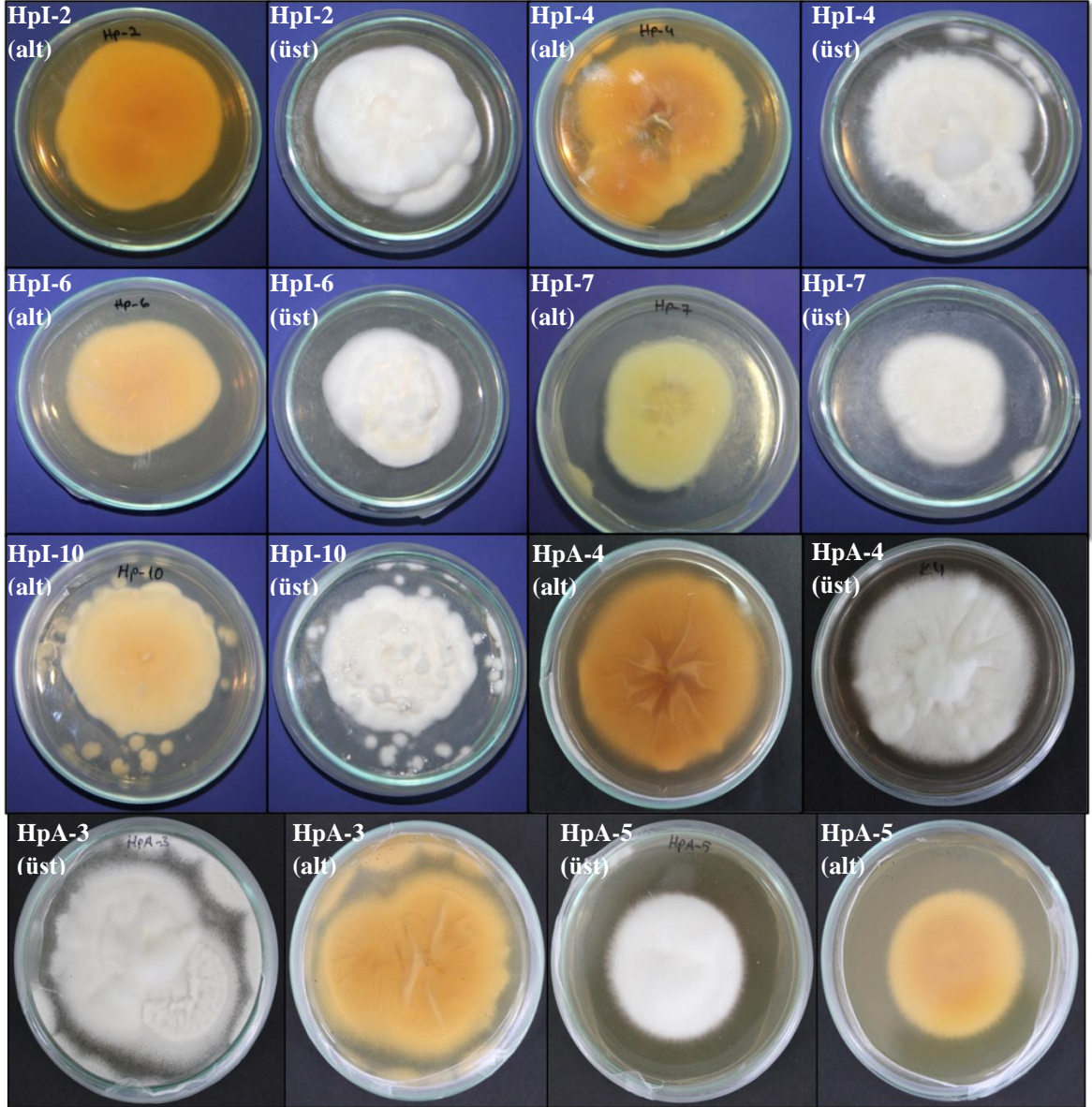
3.2. İzolatların Morfolojik Tür Tayinleri

İzolatların, böceklerde meydana getirdikleri enfeksiyon şekli (Şekil 11), agar besiyeri üzerindeki koloni morfolojileri, mikroskopik olarak 40X ve 100X'lik objektifte incelenen spor, konidyofor gibi yapıları incelendi (Şekil 12-13). Bunun sonucunda elde edilen veriler ile 'Entomopatojenik Fungal İdentifikasyon' isimli teşhis anahtarı (Humber, 1997) kullanılarak morfolojik olarak tür tayinleri yapıldı.



Şekil 11. HpA-5 izolatının larva ve erginde meydana getirdiği enfeksiyon

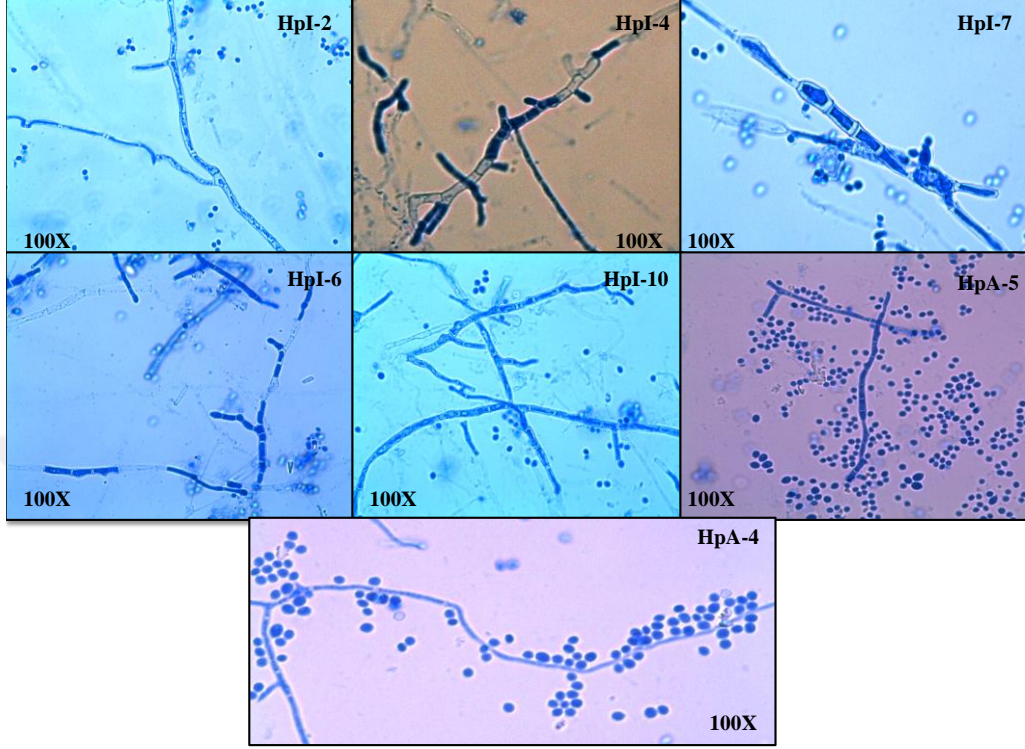
İzolatların kadavra üzerinde meydana getirdiği enfeksiyon şekli, agar üzerinde kolonilerin oluşturduğu kıvrım ve yarıklar, besiyeri rengindeki değişimler ve blok kültür yöntemiyle incelenen misel, spor, konidyofor gibi yapılar incelendiğinde *Hypera postica*'dan izole edilen izolatların hepsinin *Beauveria* cinsine ait oldukları tespit edildi. *Beauveria* cinsine ait funguslar yüzeyi tozsuz, pamuksu görünümde, düzgün yuvarlak koloniler oluşturur. Koloni başlangıçta beyaz, sonraları pembe-ten rengi bir renk alır.



Şekil 12. *Hypera postica*'dan izole edilen fungal izolatların üst ve alt koloni morfolojileri

Agar blok kültür yöntemiyle incelenen izolatların, *Beauveria* cinsine ait funguslar ile uyumlu olarak tam yuvarlak spor şekline sahip olduğu ve septalı misellere sahip olduğu tespit edildi. Bu fungusların konidiyajen hücreleri (konidiya üreten hücreler) globoz ya da

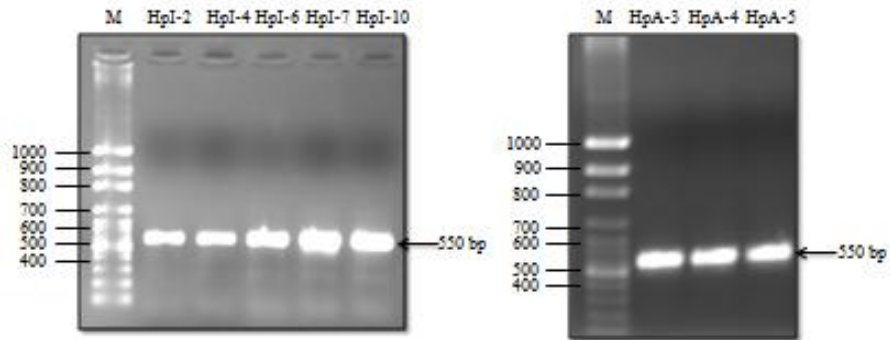
şişe şeklinde ve çoğunlukla zig-zag'lı bir yapı oluşturmalarıyla karakteristiktir. Çok sayıda, ufak, mikrokonidyumlar konidyoforlar çevresinde kümeler oluşturabilir.



Şekil 13. Fungal izolatların misel, spor ve konidyofor yapıları.

3.3. İzolatların Moleküler Karakterizasyonları

Fungal izolatların moleküler karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesi amacıyla *B. bassiana* izolatları için ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesinin yaklaşık olarak 550 bp'lik gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Elde edilen PCR sonuçları Şekil 14'de gösterilmektedir.

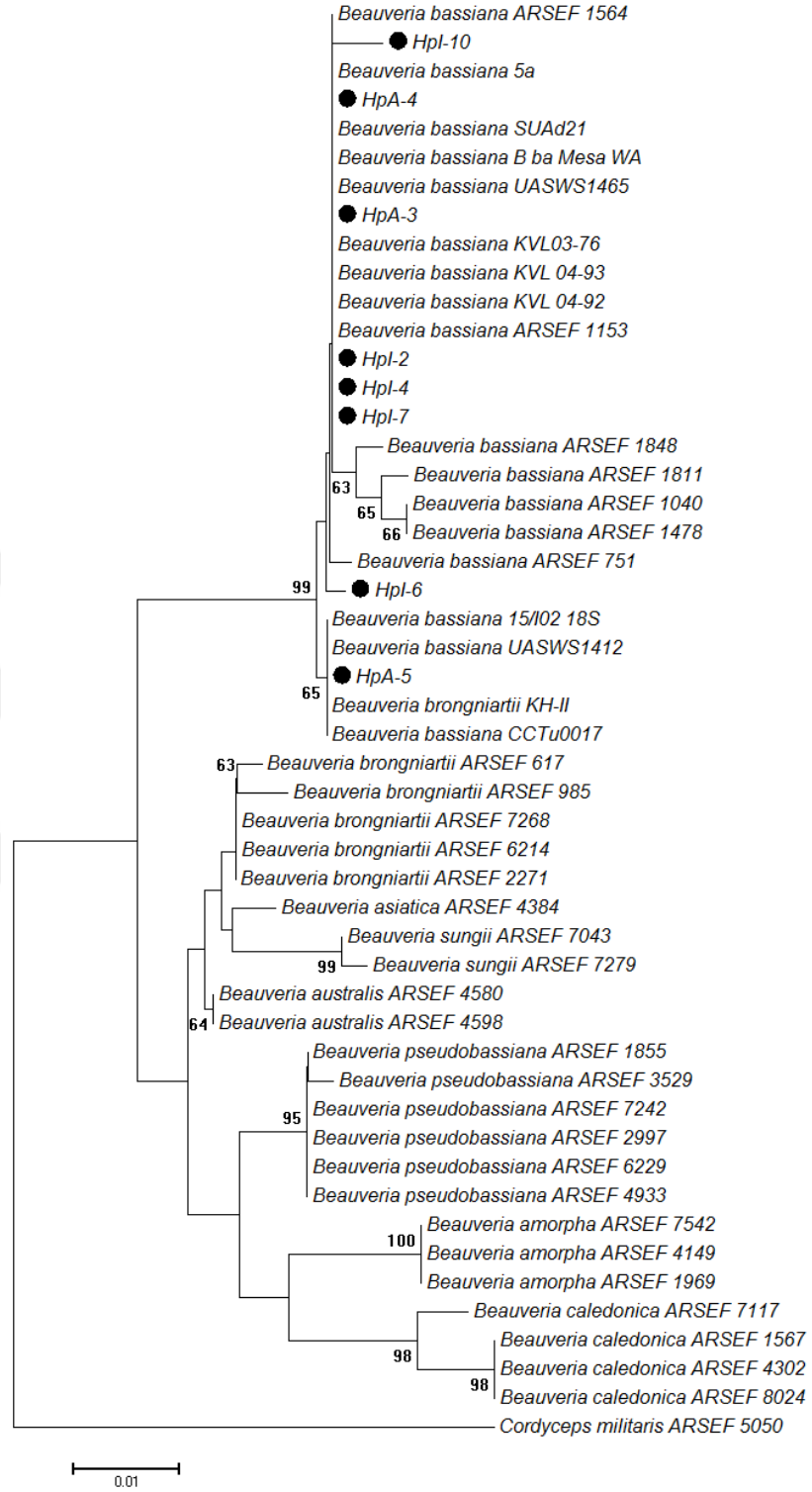


Şekil 14. Fungal izolatların rRNA ITS1-5.8S-ITS2 bölgesinin PCR ile çoğaltılması (M: Marker 100 bp)

Elde edilen ITS DNA dizileri NCBI GenBank'ta blastlanarak izolatların GenBank'ta yer alan diğer entomopatojenik fungus türleri ile yüzde benzerlik oranları belirlendi ve diziler GenBank'a kaydedildi. Morfolojik olarak *Beauveria bassiana* olarak tanımlanan tüm izolatlar *Beauveria* türleri ile karşılaştırıldı ve bu izolatların ITS dizi analizi sonucunda % 99 ile %100 oranları arasında *B. bassiana* ile homoloji gösterdiği belirlendi (Tablo 6). Ayrıca elde edilen izolatların *Beauveria* cinsi içerisindeki taksonomik pozisyonunu göstermek açısından, bu çalışmada elde edilen *Beauveria* izolatları ile Rehner vd. (2011)'leri tarafından yapılan çalışmadaki tüm *Beauveria* izolatlarının karşılaştırılması yapıldı ve filogenetik ağacı çizildi (Şekil 15).

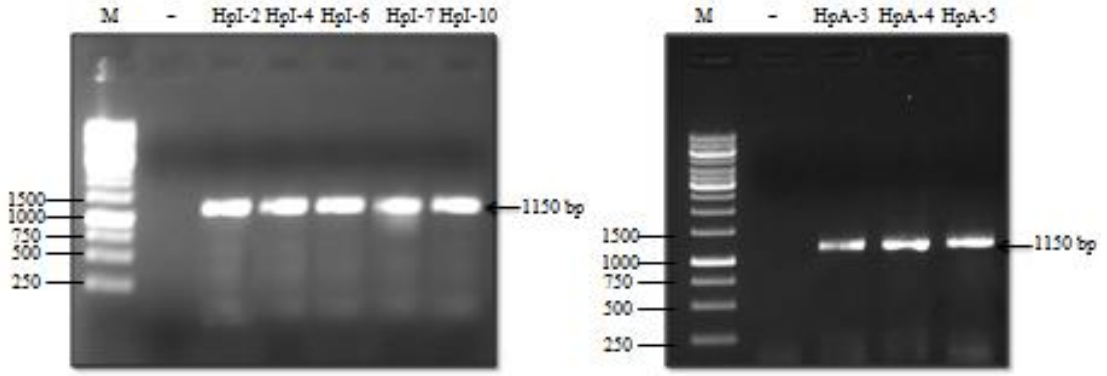
Tablo 6. Fungus izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri

İZOLAT	GenBank No	ITS1-5.8S-ITS2 gen dizisi	ITS1-5.8S-ITS2 gen benzerliği	Accession No
HpI-2	KX136853	<i>Beauveria bassiana</i> izolat 5a <i>Beauveria bassiana</i> izolat B_ba_Mesa WA	% 100 % 100	GQ379913 KT443983
HpI-4	KX136854	<i>Beauveria bassiana</i> izolat UASWS1465 <i>Beauveria bassiana</i> izolat B_ba_Mesa WA	% 99 % 99	KT583219 KT443983
HpI-6	KX136855	<i>Beauveria bassiana</i> suş ART2645 <i>Beauveria bassiana</i> izolat UASWS1448	% 99 % 99	HQ380851 KT583202
HpI-7	KX136856	<i>Beauveria bassiana</i> izolat UASWS1465 <i>Beauveria bassiana</i> suş SUAd21	% 100 % 100	KT583219 KJ489063
HpI-10	KX136857	<i>Beauveria bassiana</i> izolat UASWS1465 <i>Beauveria bassiana</i> izolat UASWS1448	% 99 % 99	KT583219 KT583202
HpA-3	KX136858	<i>Beauveria bassiana</i> izolat UASWS1465 <i>Beauveria bassiana</i> suş SUAd21	% 100 % 100	KT583219 KJ489063
HpA-4	KX136859	<i>Beauveria bassiana</i> izolat B_ba_Mesa WA <i>Beauveria bassiana</i> izolat 5a	% 100 % 100	KT443983 GQ379913
HpA-5	KX136860	<i>Beauveria bassiana</i> suş 15/I02 <i>Beauveria bassiana</i> izolat UASWS1412	% 99 % 99	KU726563 KT583166

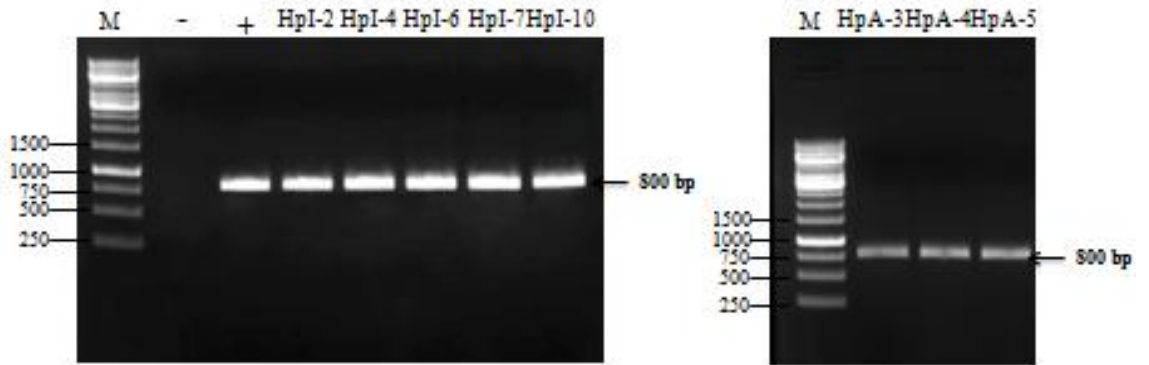


Şekil 15. İzolatların Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan *Beauveria* türleri ile ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %60 ve yukarısı olanlar belirtildi.

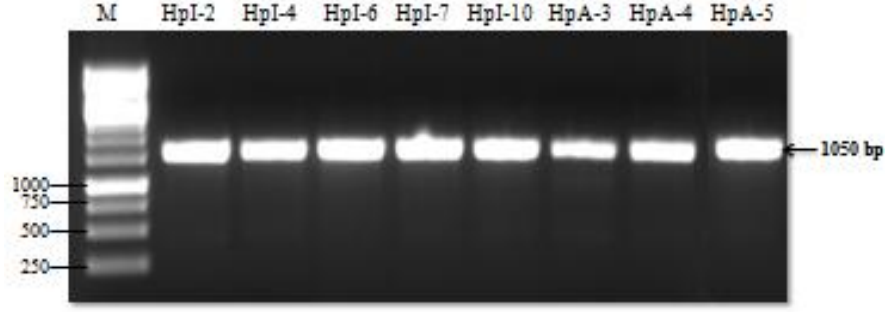
Son yıllarda *Beauveria* cinsinin yeni taksonomik revizyonları yapıldı (Bischoff vd., 2009; Rehner vd., 2011). Bu revizyona göre *Beauveria* cinsinin ayrıntılı tanımlamalarını yapmak amacıyla ITS gen bölgelerinden başka *EF1- α* , *RPB1*, *Bloc* gen bölgelerinin de veri analizi yapılmıştır. *EF1- α* için yaklaşık 1150 bp, *RPB1* 800 bp ve *Bloc* bölgesi içinde 1050 bp'lik gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı. Elde edilen bantlar Şekil 16, 17, 18'de gösterilmektedir.



Şekil 16. İzolatların *EF1- α* bölgesinin PCR ile çoğaltılması (M: Marker 1 kb (-): Negatif kontrol)

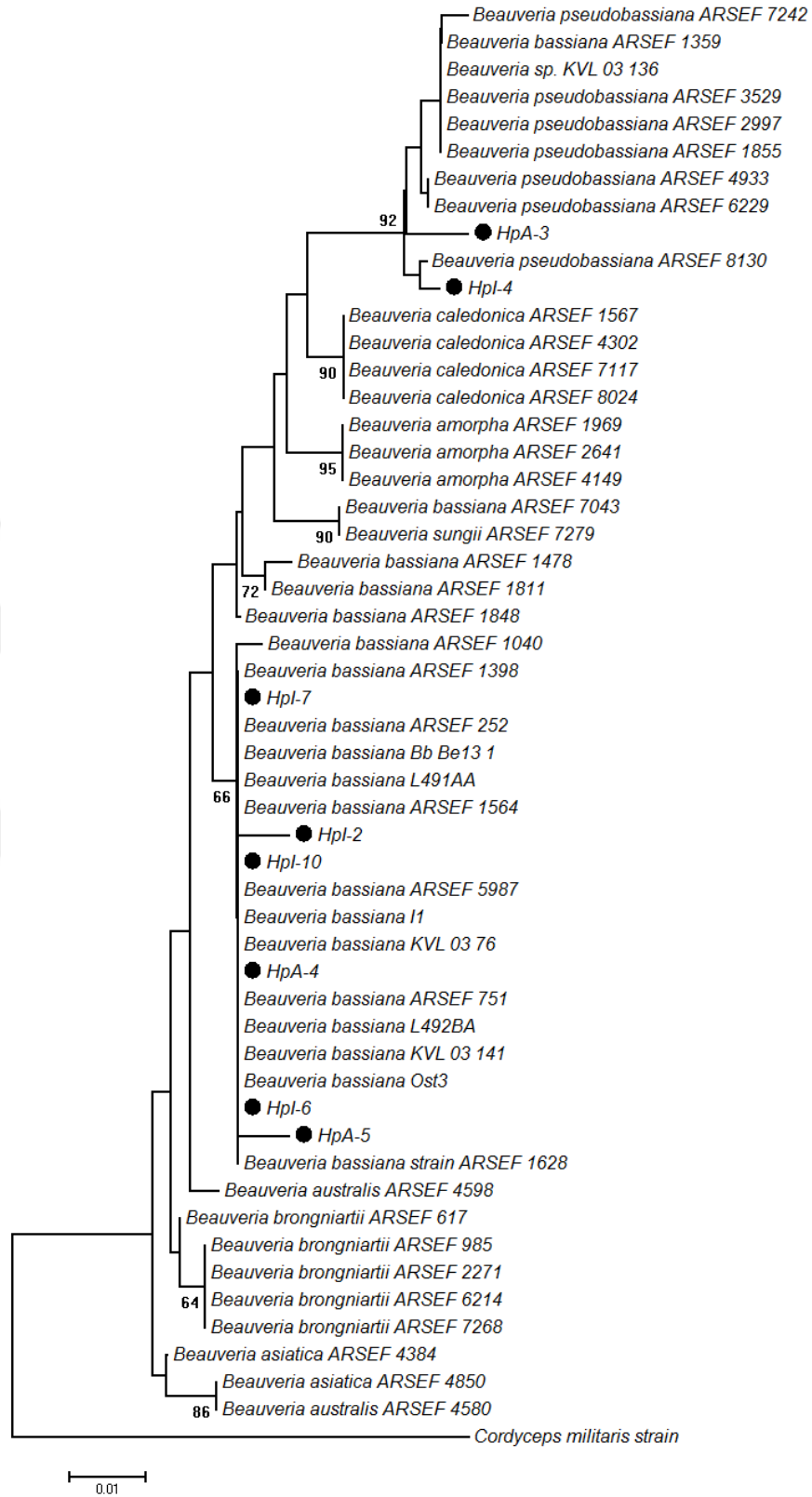


Şekil 17. İzolatların *RPB1* bölgesinin PCR ile çoğaltılması (M: Marker 1 kb, (-): Negatif Kontrol, (+): Pozitif Kontrol)

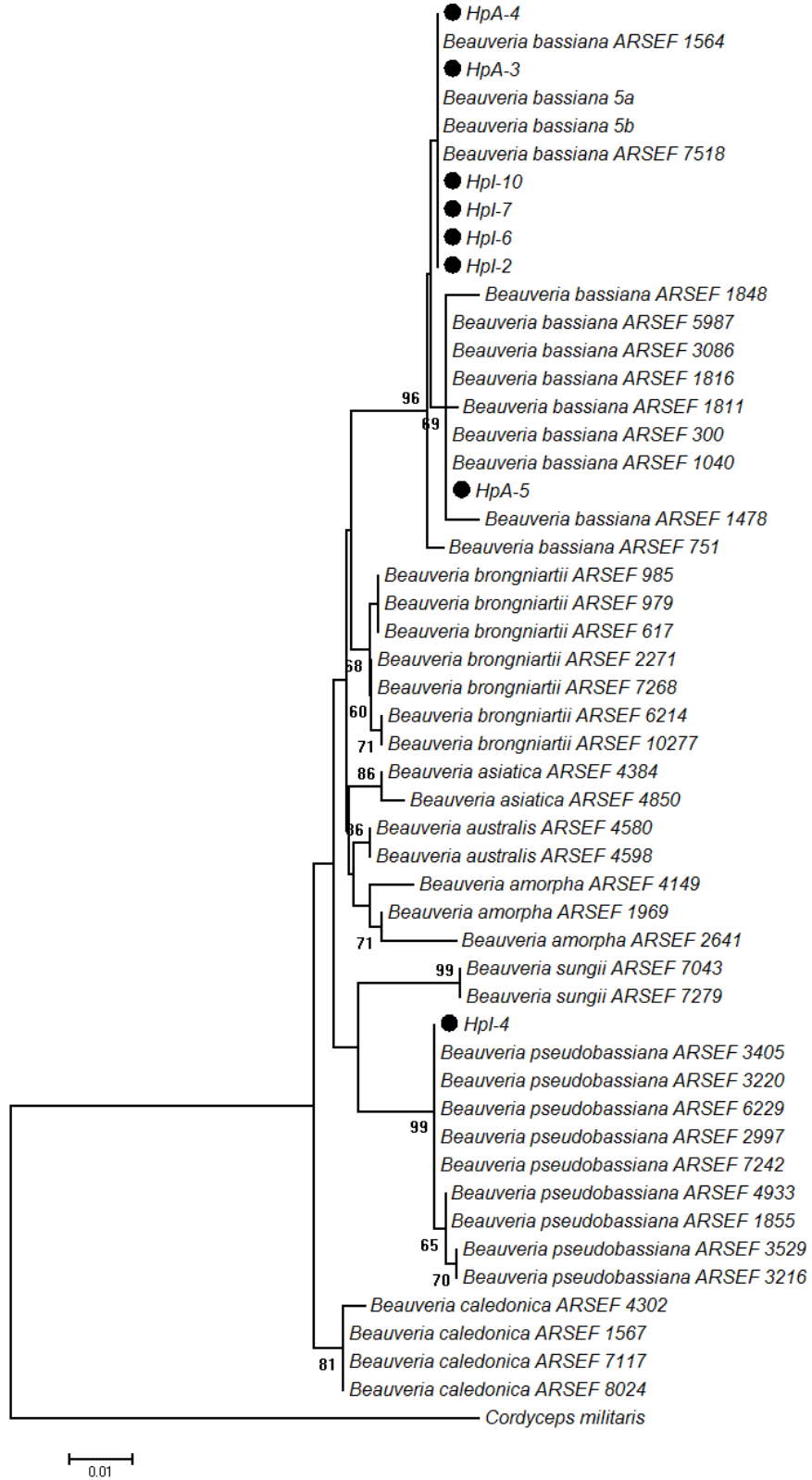


Şekil 18. İzolatların *Bloc* gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması (M: Marker 1kb)

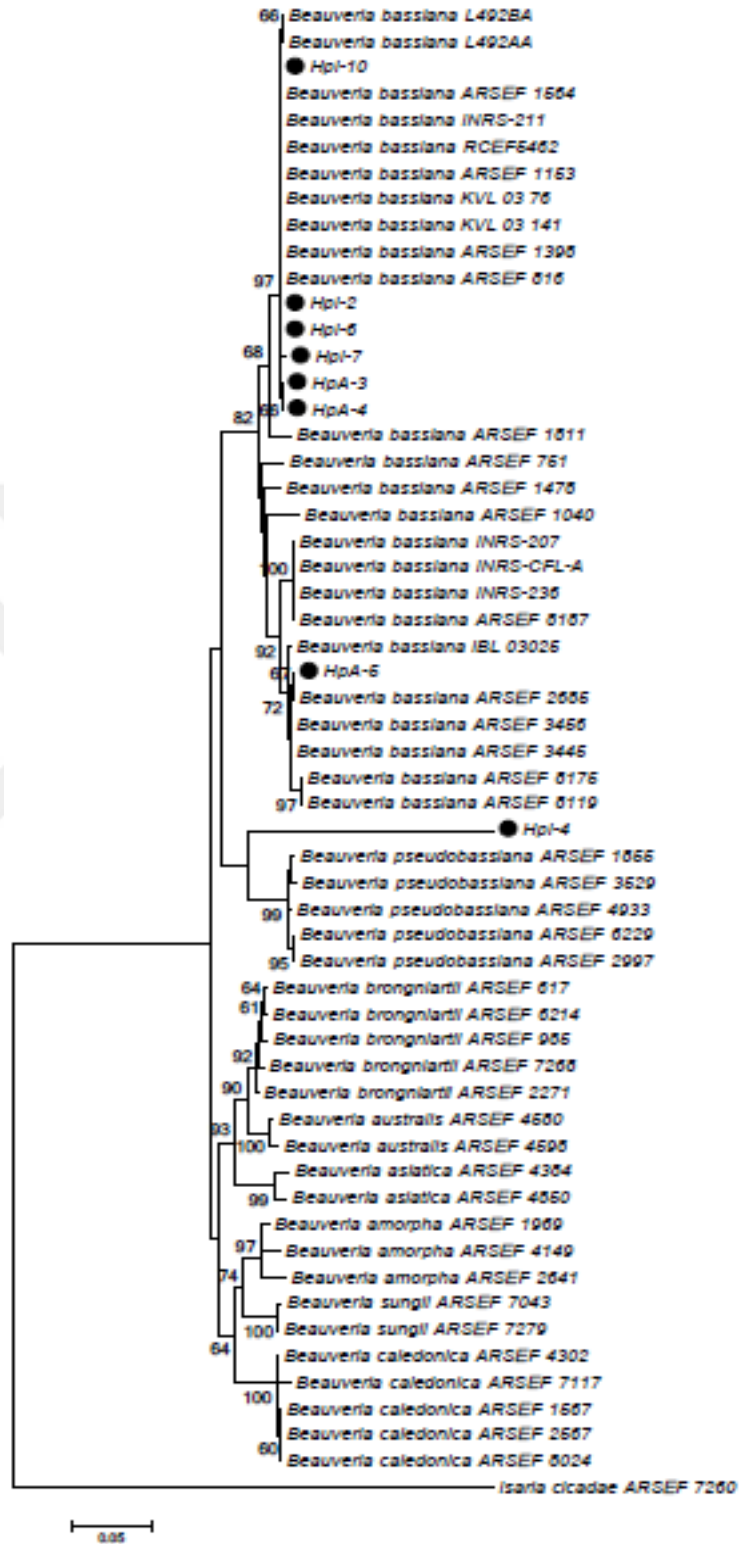
Elde edilen DNA dizileri NCBI GenBank'ta blastlanarak izolatların GenBank'ta yer alan diğer *Beauveria* türleri ile yüzde benzerlik oranları belirlendi. Tüm izolatların son revizyona göre taksonomik pozisyonlarını belirlemek için elde edilen *EF1- α* , *Bloc*, *RPB1* dizileri filogenetik analizlerde kullanıldı. *Beauveria* son taksonomik revizyonunun yer aldığı, Rehner vd. (2011)'leri tarafından yapılan çalışmadaki tüm *Beauveria* cinsleriyle tüm izolatlar karşılaştırıldı. *EF1- α* gen bölgesine göre çizilen ağaçta HpI-4 ve HpA-3 izolatları *B. pseudobassiana* olarak tanımlanırken diğer izolatların hepsi *B. bassiana* olarak tanımlandı. Ancak, *Bloc* ve *RPB1* bölgelerine göre çizilen filogenetik ağaçta HpI-4 izolatu hariç diğer bütün izolatların *B. bassiana* olarak belirlenirken HpI-4 izolatu ise ITS gen bölgesinde belirlenenin aksine *B. pseudobassiana* olarak tanımlandı. Bu nedenle HpI-4 izolatu hariç bütün izolatlar *B. bassiana* olarak tanımlanırken, HpI-4 izolatu *B. pseudobassiana* olarak tanımlandı. *EF1- α* , *Bloc* ve *RPB1* bölgelerine göre çizilen filogenetik ağaçta izolatların taksonomik pozisyonları Şekil 19, 20, 21'de görülmektedir.



Şekil 19. Tüm izolatların Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan *Beauveria* türleri ile *EF1- α* dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %60 ve yukarısı olanlar belirtildi.



Şekil 20. Tüm izolatların Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan *Beauveria* türleri ile *RPB1* dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %60 ve yukarısı olanlar belirtildi.

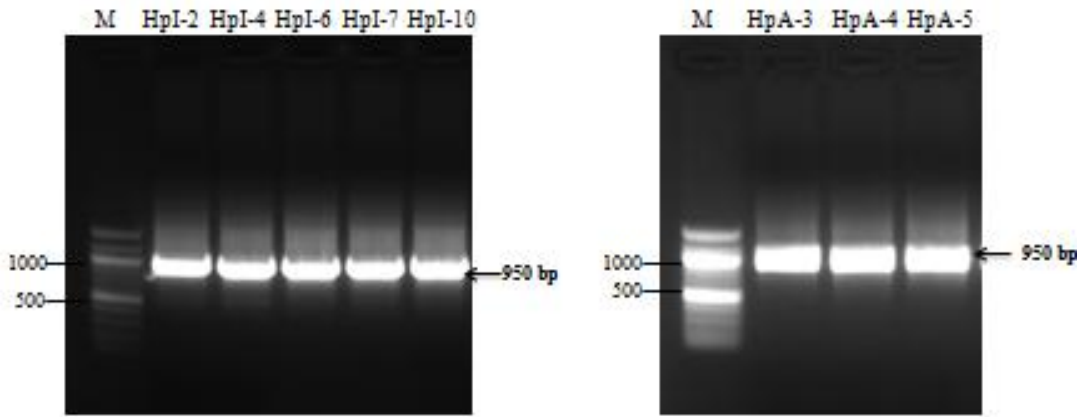


Şekil 21. Tüm izolatların Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan *Beauveria* türleri ile *Bloc* dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %60 ve yukarısı olanlar belirtildi.

EF1- α , *Bloc* ve *RPB1* gen bölgelerinin filogenetik olarak incelenmesiyle birlikte, ITS gen bölgesine göre izolatlar arasında birkaç baz çifti fark varken *EF1- α* gen bölgesine göre ise bu farkın birkaç baz çiftinden oldukça fazla olduğu özellikle HpI-4, HpA-3 ve HpA-5 izolatlarının diğer izolatlardan daha fazla farklılık gösterdiği biyoinformatik programlar kullanılarak belirlenmiştir. Yine biyoinformatik programlar kullanılarak *Bloc* ve *RPB1* gen bölgelerine göre de izolatlar incelenmiş ve bu inceleme sonucunda *RPB1* gen bölgesine göre izolatlar arasındaki fark ITS gen bölgesine göre daha fazla tespit edilmiştir. Özellikle HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının nükleotit dizisi diğer izolatlardan yaklaşık 16 bp daha fazla farklılık gösterirken *Bloc* gen bölgesine göre ise aradaki bu farkın daha da arttığı tespit edilmiştir.

3.3.1. İzolatlarda *pr1* Genlerinin Tespiti

Outer (dış) ve inner (iç) primerler kullanılarak yapılan Nested-PCR sonucunda izolatların hepsinde Pr1 B gen bölgelerinin var olduğu tespit edilmiştir (Şekil 22). Bu sonuçlarla birlikte bütün izolatların Pr1 protezlara sahip olduğu belirlenmiştir. İzolatların Pr1 protezlara sahip olması virulansı artırıcı bir faktör olup, sporların böcek kütikulasına penetrasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda, HpI-4 ve HpA-5 izolatları yüksek ölüm ve mikoz oranına sahip olmanın yanı sıra Pr1 protezlara da sahip olduğu saptanmıştır.



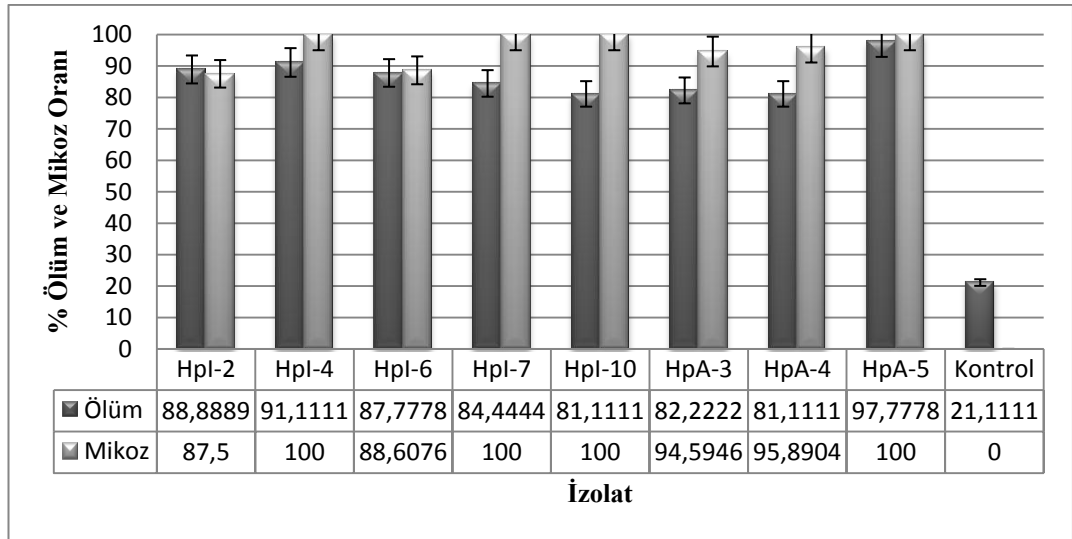
Şekil 22. İzolatların *pr1* genlerinin PCR ile çoğaltılması (M: Marker 100 bp)

3.4. Patojenite Testleri

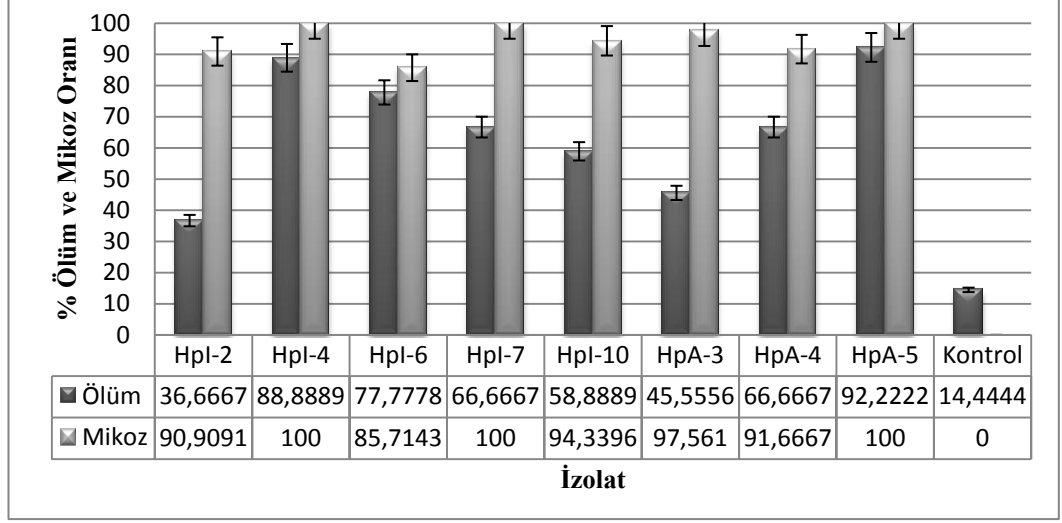
3.4.1. İzolatların *Hypera postica* Üzerindeki İnsektisidal Tarama Testleri

Yüksek patojeniteye sahip fungal izolatların seçimi ve fungal izolatlar arasındaki virulans farklarını belirlemek amacı ile bütün izolatlar *H. postica*'ya karşı test edildi. *H. postica*'ya karşı yapılan patojenite deneyleri hem larva hem de ergin bireyler üzerinde gerçekleştirildi. Fungal izolatların larvalar üzerinde yapılan 7 günlük tarama testi sonucunda izolatların birbirleriyle karşılaştırıldıklarında *H. postica*'ya karşı farklı ölüm oranlarına neden olduğu tespit edildi (Şekil 23). Ölü böcekler üzerinde büyüme ve sporlaşma incelenerek mikozlanma oranları hesaplandı. Larvalar üzerinde yapılan tarama testleri sonucunda tüm izolatlar %80'in üzerinde olan yüksek ölüm değerleri gösterdi. Bütün bu işlemler sonucunda 7. gün sonunda larvalar üzerinde izolatlardan HpI-4 ve HpA-5'in sırasıyla %91 ve %97 oranında ölüm oranına sahip olduğu belirlendi. Mikozlanma açısından ise her ikisi de %100 mikozlanma oranı gösterdi.

Erginler ile yapılan tarama testi sonucunda da izolatlar birbirlerinden farklı ölüm oranları ve mikozlanma değerleri gösterdiler. Larvalarla yapılan tarama testinin aksine bazı izolatlarda daha düşük ölüm oranı belirlendi. Ancak, larvalarla yapılan tarama testiyle doğru orantılı olarak erginlerle yapılan tarama testinde de HpI-4 ve HpA-5 izolatları 7 gün sonunda %88 ve %92 ölüm oranı ve %100 mikozlanma oranı gösterdiler (Şekil 24). Bu sonuçlar doğrultusunda doz testlerinde bu iki izolatın kullanılmasına karar verildi.



Şekil 23. İzolatların *H. postica* larvalarına karşı patojeniteleri ve kadavralar üzerindeki sporlaşma oranları (7 gün sonunda). Ölüm değerleri Abbott formülü (Abbott, 1925) kullanılarak hesaplandı.



Şekil 24. İzolatların *H. postica* erginlerine karşı patojeniteleri ve kadavralar üzerindeki sporlaşma oranları (7 gün sonunda). Ölüm değerleri Abbott formülü (Abbott, 1925) kullanılarak hesaplandı.

Bunlar haricinde SPSS programı ile tüm izolatların hem erginler hem de larvalar üzerindeki LT_{50} (letal time) değerleri hesaplandı ve Tablo 7'deki sonuçlar elde edildi.

Tablo 7. İzolatların LT_{50} (Letal Time) Değerleri (7 günlük deney sürecinde)

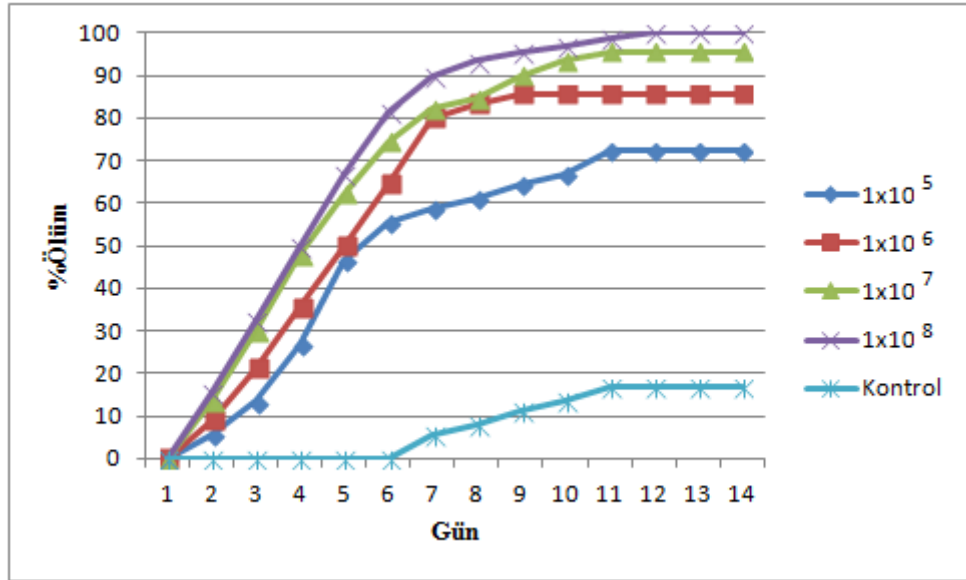
İzolat	Larva (LT_{50})	Ergin (LT_{50})
Hpl-2	4,038	8,590
Hpl-4	3,899	3,92
Hpl-6	4,408	4,571
Hpl-7	4,353	5,174
Hpl-10	4,817	5,915
HpA-3	4,55	7,580
HpA-4	4,228	5,517
HpA-5	3,647	3,679

LT_{50} değerleri Hpl-4 ve HpA-5 izolatlarının larvalarda sırasıyla 3,89'uncu ve 3,64'üncü günde %50 ölüme neden olduğunu gösterirken, erginlerde ise sırasıyla 3,92'nci ve 3,67'nci günde %50 ölüme neden olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar göstermektedir ki Hpl-4 ve HpA-5 izolatları diğer izolatlardan daha kısa sürede ölüme neden olmaktadır. Bu sonuçlar ışığında Hpl-4 ve HpA-5 izolatlarının seçiminin doğruluğu bir kez daha kanıtlanmış oldu.

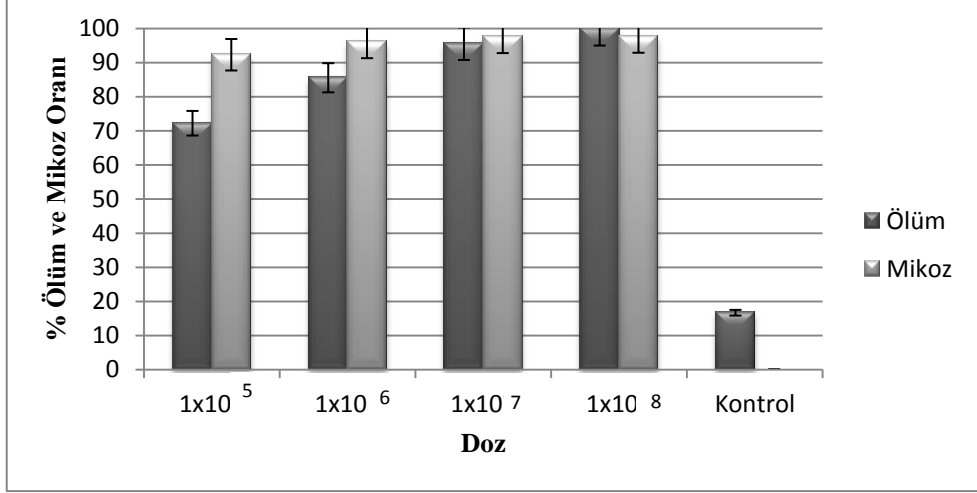
3.4.2. HpI-4 (*B. pseudobassiana*) ve HpA-5 (*B. bassiana*) İzolatlarının Farklı Dozlarının *Hypera postica* Üzerindeki Virülansı

3.4.2.1. *H. postica* Larvaları Üzerindeki Virülans

Yüksek patojenik etkilerinden dolayı HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının *H. postica* larvaları üzerindeki virülansının belirlenmesi için 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 spor/mL konsantrasyonlarının kullanıldığı bu çalışmada elde edilen insektisidal aktivite sonuçları Şekil 25 ve 26'da verilmiştir. Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen bu çalışmada konsantrasyondaki artışa paralel olarak, larvalar üzerindeki öldürücü etkinin de arttığı görülmektedir. HpA-5 izolatının kullanıldığı doz denemesinde en düşük konsantrasyonun (1×10^5 spor/mL) kullanıldığı çalışmada enfeksiyondan 7 gün sonra larvaların %58'inin öldüğü tespit edildi. Larvaların ölüm değeri 1×10^8 spor/ml spor konsantrasyonunun uygulanmasından sonra 14 gün içerisinde %100'e ulaştı. Kontrol grubunda ise ölüm değeri %16 olarak belirlendi. Larvalara karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu (Şekil 25). Probit analizi, LC₅₀ değerini hesaplamak için kullanıldı. Larvalara karşı bu fungusun uygulamadan 7 gün sonra LC₅₀ değeri $1,16 \times 10^4$ spor/ml olarak hesaplandı (Tablo 8).



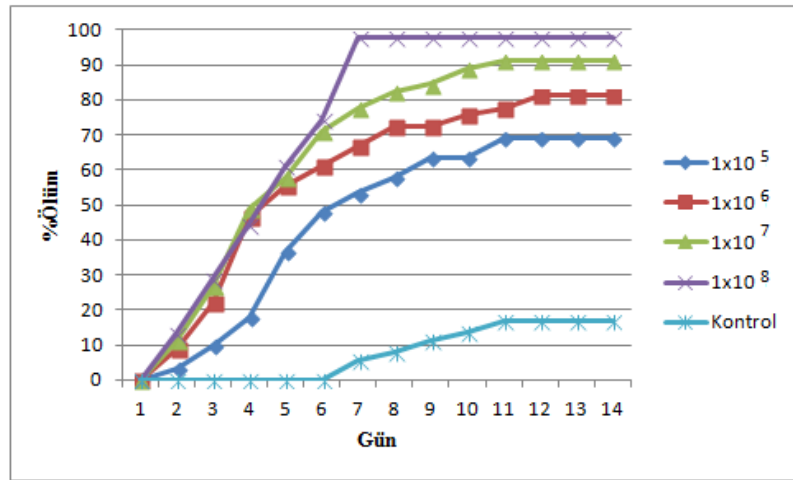
Şekil 25. *H. postica* larvalarının HpA-5 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları



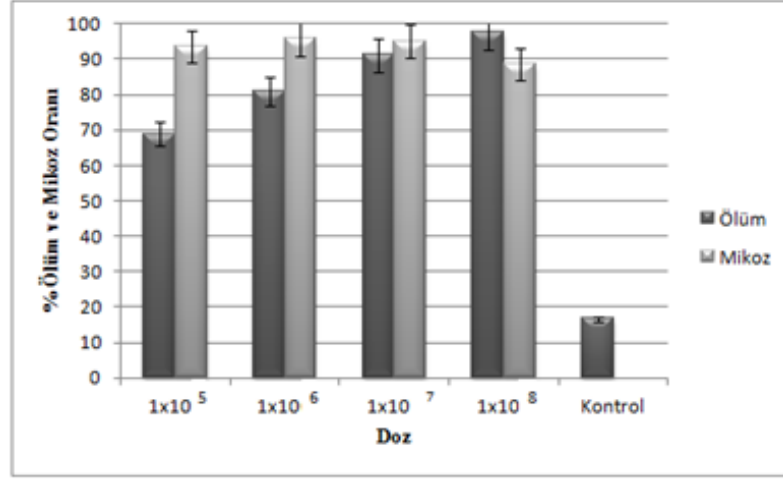
Şekil 26. *H. postica* larvalarının HpA-5 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu 14 gün sonunda elde edilen toplam ölüm ve mikoz oranları

HpI-4 izolatının kullanıldığı doz denemesinde en düşük konsantrasyonun (1×10^5 spor/mL) kullanıldığı çalışmada enfeksiyondan 7 gün sonra larvaların %53'ünün öldüğü tespit edildi. Larvaların ölüm değeri 1×10^8 spor/ml spor konsantrasyonunun uygulanmasından sonra 7 gün içerisinde %98'e ulaştı. Kontrol grubunda ise ölüm değeri %16 olarak belirlendi (Şekil 28).

Larvalara karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu (Şekil 27). Probit analizi, LC_{50} değerini hesaplamak için kullanıldı. Larvalara karşı bu fungusun uygulamadan 7 gün sonra LC_{50} değeri $10,7 \times 10^4$ spor/ml olarak hesaplandı (Tablo 8).



Şekil 27. *H. postica* larvalarının HpI-4 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları



Şekil 28. *H. postica* larvalarının HpI-4 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu 14 gün sonunda elde edilen toplam ölüm ve mikoz oranları

Tablo 8. HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının *H. postica* larvalarına karşı kullanılan farklı dozların uygulanması sonucu hesaplanan probit analizinin parametre değerleri (7. Gün)

izolat	LC ₅₀	Eğim±SE	df	X ²
HpI-4 (larva)	10,7x10 ⁴ (ND)	13±0,074	2	6,299
HpA-5 (larva)	1,16x10 ⁴ (0,5-17,1)	8,6±0,07	2	2,241

Doz denemelerinde sağlanan ölüm oranlarının uygulama yapılan entomopatojenik funguslardan olup olmadığının belirlenmesi için böcek kadavraları mikozlanmaya tabi tutuldu. Doz denemelerinde ölen böcekler nemli filtre kağıdı içeren petri kaplarında ayrı ayrı toplandı ve 28°C’de inkübasyona bırakıldı. Testlerin kontrolü esnasında da zaman zaman ölü larvaların mikozlanmaya başladığı gözlemlendi (Şekil 29). Mikozlanan larvalar sayıldı ve izolatların mikozlanma yüzdeleri hesaplandı. 1x10⁸ spor/ml konsantrasyonda izolatlardan HpI-4 %88 ve HpA-5 %97 mikozlanma oranı gösterdiler.

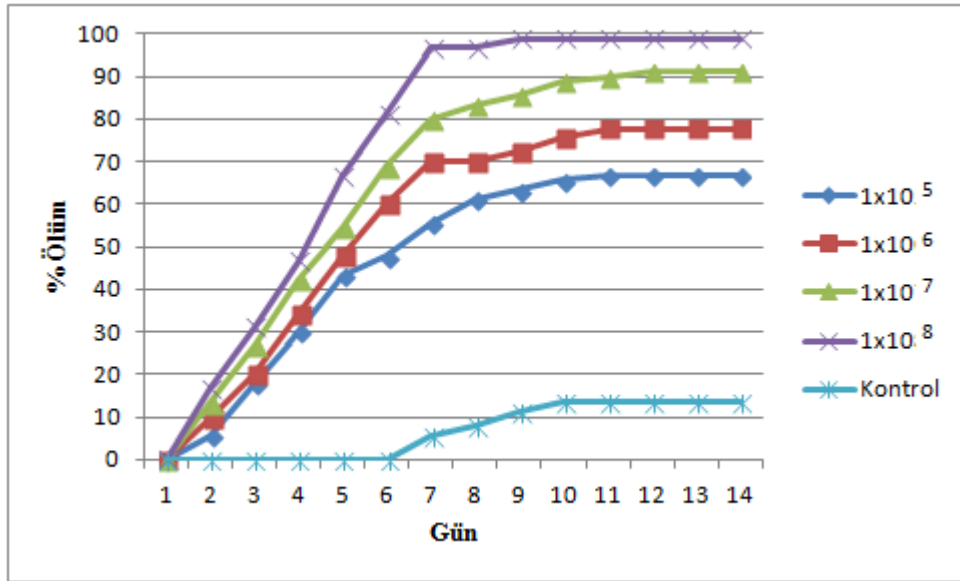


Şekil 29. Biyotest sırasında enfekte olan *H. postica* larvaları

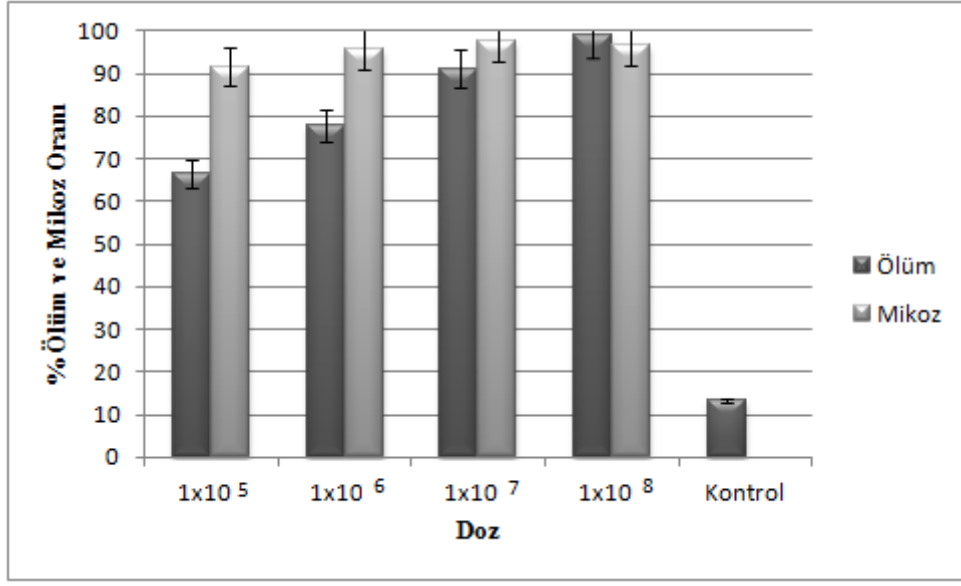
3.4.2.2. *H. postica* Erginleri Üzerindeki Virulans

HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının *Hypera postica* erginleri üzerindeki virulansının belirlenmesi için de aynı larvalar üzerinde uygulanan 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 spor/mL konsantrasyonları kullanıldı ve bu çalışmada elde edilen insektisidal aktivite sonuçları Şekil 30 ve 31’de verilmiştir. Çalışmada konsantrasyondaki artışa ve larvalar üzerindeki öldürücü etkiye paralel olarak tüm dozlarda ölüm oranının arttığı görülmektedir.

HpA-5 izolatının kullanıldığı doz denemesinde en düşük konsantrasyonun (1×10^5 spor/mL) kullanıldığı çalışmada enfeksiyondan 7 gün sonra erginlerin %55’inin, 14 gün sonunda %66’sının öldüğü tespit edildi. Erginlerin ölüm değeri 1×10^8 spor/ml spor konsantrasyonunun uygulanmasından sonra 7 gün içerisinde %96’ya, 14 gün içerisinde %98’e ulaştı. Kontrol grubunda ise ölüm değeri %13 olarak belirlendi. Mikozyanma oranı ise 1×10^8 spor/ml konsantrasyonda %96 olarak hesaplandı. Erginlere karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu (Şekil 30-31). Probit analizi, LC_{50} değerini hesaplamak için kullanıldı. Erginlere karşı bu fungusun uygulamadan 7 gün sonra LC_{50} değeri 7×10^4 spor/ml olarak hesaplandı (Tablo 9).

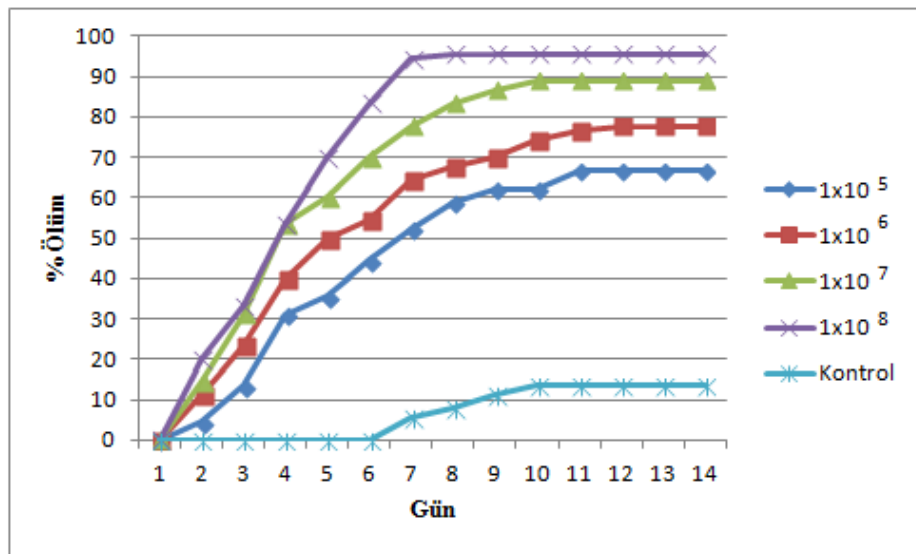


Şekil 30. *H.postica* erginlerinin HpA-5 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları

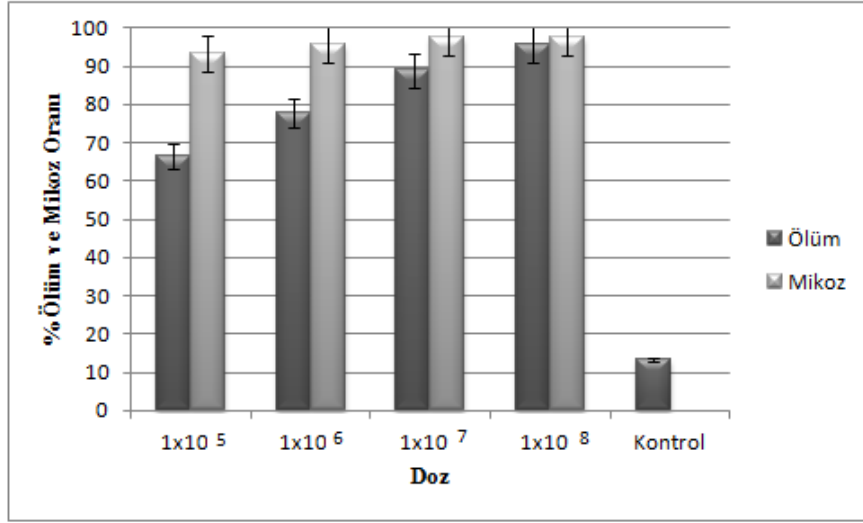


Şekil 31. *H.postica* erginlerinin HpA-5 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen ölüm ve mikoz oranları.

HpI-4 izolatının kullanıldığı doz denemesinde en düşük konsantrasyonla (1×10^5 spor/mL) yapılan çalışmada enfeksiyondan 7 gün sonra erginlerin %52'sinin, 14 gün sonunda %66'sının öldüğü tespit edildi. Erginlerin ölüm değeri 1×10^8 spor/ml spor konsantrasyonunun uygulanmasından sonra 7 gün içerisinde %94'e, 15 gün içerisinde %95'e ulaştı (Şekil 32). Kontrol grubunda ise ölüm değeri %13 olarak belirlendi. Mikoza oranları ise tüm konsantrasyonlarda %90'ın üzerinde hesaplandı (Şekil 33).



Şekil 32. *H.postica* erginlerinin HpI-4 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları



Şekil 33. *H.postica* erginlerinin HpI-4 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu 14 gün sonunda elde edilen toplam ölüm ve mikoz oranları.

Erginlere karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu (Şekil 32). Probit analizi, LC₅₀ değerini hesaplamak için kullanıldı. Erginlere karşı bu fungusun uygulamadan 7 gün sonra LC₅₀ değeri 11,2x10⁴ spor/ml olarak hesaplandı (Tablo 9).

Tablo 9. HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının *H. postica*'nın erginlerine karşı kullanılan farklı dozlarının uygulanması sonucu hesaplanan probit analizinin parametre değerleri (7. Gün)

İzolat	LC ₅₀	Eğim±SE	df	χ ²
Hpl-4 (ergin)	11,2x10 ⁴ (2,7-27,7)	12,6±0,071	2	2,597
HpA-5 (ergin)	7x10 ⁴ (1,46-18,2)	12±0,074	2	3,498

Doz denemelerinde sağlanan ölüm oranlarının fungusun olup olmadığının belirlenmesi için böcek kadavraları mikozlanmaya tabi tutuldu. Uygulama sonunda, tüm dozlarda mikozlanma oranının %90'ın üzerinde olduğu tespit edildi (Şekil 34).



Şekil 34. Doz denemelerinde erginlerde gerçekleşen ölümlerin mikozlanması

4. TARTIŞMA

Gün geçtikçe ülkemizde devlet tarafından verilen teşvik edici destekler sayesinde tarım ve hayvancılık giderek önemini arttırmaktadır. Geçmişten bu yana tarım ve hayvancılıkta meydana gelen verim kayıpları çiftçilerin en büyük sorunlarından birini oluşturmaktadır. Hayvansal üretimde istenilen verimin elde edilebilmesi için kaliteli kaba yemlere ihtiyaç olduğu bilinmektedir. Ülkemizde bu kaba yem ihtiyacını çayır mera alanları ve yetiştirilen yem bitkileri karşılamaktadır. Dünya’da en çok yetiştirilen yem bitkilerinden biri olan yonca, geniş adaptasyon yeteneğine sahip olup (Erişen, 2005), yurdumuzda da en fazla ekim alanına sahip yem bitkilerindedir. Yonca, içerdiği yüksek protein ve vitamin oranı nedeniyle hayvanlardaki verimin artmasında etkilidir. Ancak, tüm dünyada yoncalarda sorun olan hastalık ve zararlıların var olduğu bilinmektedir. Bu zararlılar arasında en fazla zarara böcekler neden olmaktadır. Bu böcekler arasında *Hypera*, *Acyrtosiphon*, *Therioaphis*, *Sitona*, *Lygus*, *Phytodecta*, *Bruchaphagus* cinslerine bağlı türler sayılabilir. Bu türler her bölgede zararlı olmamakla beraber yonca hortumluböceği tüm dünyada önemli bir zararlıdır. Yurdumuzda da bu böceğin zararı nedeni ile bazı bölgelerde yonca tarımı azalmış veya tümünden yapılamaz hale gelmiştir (Anonim, 2007). Yonca hortumluböceğinin larva ve ergininin yonca üzerinde yapmış olduğu zarar dikkat çekicidir. Özellikle larvaların yapmış olduğu zarar erginlerden daha fazladır. Ülkemizde ve dünyada bu böceğin zararının en aza indirilmesi için çeşitli yöntemler denenmiştir. Bunların başında kültürel ve kimyasal mücadele yöntemleri gelmektedir. Yonca hortumluböceği ile kimyasal mücadelede zararlıların mücadelesinde uygulanacak ilaçlamalara yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Örneğin, Cothran vd. (1967), ilk ürün yoncada, yonca hortumluböceği mücadelesi için 25 deneysel ve ruhsatlı insektisit, belirli kombinasyonlar ile değişik dozlarda arazi şartlarında test etmişlerdir. Ancak kullandıkları insektisitlerden sadece bir tanesinin etkili olduğunu belirlemişlerdir. Yine, Wilson ve Armbrust (1968), 1967 yılında ruhsatlı ve deneme amaçlı olarak çeşitli insektisitlerin karışımlarının, ilk biçim yoncada yonca hortumluböceğine karşı etkisini belirlemek amacıyla laboratuvar ve tarla denemeleri yapmışlardır. Ancak istenilen sonuçları elde edememişlerdir. Kimyasal mücadelenin tek başına etkisizliğinin anlaşılması ile birlikte zararlı ile mücadelede farklı uygulamalar aranmıştır. Giles ve Obryck (1997), önceki uygulamalardan farklı olarak yonca hortumluböceği larvalarına karşı yonca alanlarında

insektisit ve biçim uygulamalarını, *Zoophthora phytonomi* (entomopatojen fungus)'nin tahmin edilen ilk çıkışının en yoğun olduğu zamana denk getirerek, larvaların ölüm oranlarını en yüksek düzeye çıkarmak için *Z. phytonomi*'nin enfeksiyonu boyunca değişik dozlarda Lorsban-4 E (Chlorpyrifos) ve Pounce 3.2 EC (Permethrin) uygulamışlardır. Ölüm oranı (insektisit ve *Z. phytonomi*'nin birleştirilmiş etkisi ile) Lorsban ve Pounce uygulanan grupta kontrole göre sırasıyla % 7,5–25,3 daha yüksek bulunmuştur. Çalışmada, *Z. phytonomi* epidemisi ile birleştirilen insektisit uygulamalarının zararlının mücadelesi için kullanılan insektisit oranlarını azalttığı bildirilmiştir. Bu uygulama entomopatojenik fungusların zararlı ile mücadelede başarılı olabileceğinin ilk kanıtlarından biridir.

Kimyasal mücadelenin yonca hortumluböceği ile mücadelede yetersiz kalması ve sebep olduğu ciddi problemler nedeniyle yeni mücadele yöntemi arayışına girilmiştir. Bu hususta biyolojik mücadele kimyasal mücadelenin meydana getirdiği birçok problemi ortadan kaldırması ve uzun vadede kalıcı bir çözüm olması nedeniyle vazgeçilmez bir mücadele yöntemidir. Yonca hortumluböceği ile biyolojik mücadelede, ilk olarak Chamberlin (1926), Kuzey Amerika'da yonca hortumluböceğine karşı biyolojik mücadelede etkili olan, larva ve yumurta parazitoiti olmak üzere toplam 10 tür teşhis etmiştir. Bunlar arasında en önemlileri, Hymenoptera takımından *Bathyplectes curculionis* (Thoms.), *Bathyplectes anurus* (Thoms.) (Ichneumonidae), *Dibrachoides druso* (Wlkr.) (Pteromalidae), *Microctonus aethiopoidea* (Wees) (Braconidae) ve *Tetrastichus incertus* (Ratz) (Eulophidae)'dir. Kuhar vd., (2000), Virjinya'da önemli zararlı konumunda olan yonca hortumluböceği larvalarının, *Bathyplectes anurus* (Hymenoptera: Ichneumonidae) tarafından %36-92 oranları arasında parazitlenebildiğini tespit etmiştir. *Hypera postica* (Gyllenhal)'nın bu parazitoit ve predatörleri Avrupa'da iyice araştırılmış ve bunlardan birçoğu biyolojik mücadelede kullanılmak amacıyla ABD tarafından ithal edilmiştir.

Ülkemizde de yonca hortumluböceğinin bazı doğal düşmanları tespit edilmiştir. Önemli larva parazitoitleri, *Bathyplectes* sp. nr. *corvina* Ths., *Hoplectis maculator* F. (Hymenoptera: Eulophidae)'dir. Bunlar içerisinde en etkili olanı *Bathyplectes* sp.'dir. Ayrıca, *Beauveria* sp. fungusu larva ve erginlerde hastalıklara neden olmaktadır (Anonim, 2007).

Zararlı böceklerle mücadelede biyolojik mücadelenin bir kolu olan mikrobiyal etmenlerin kullanımı, 1800'lü yıllarda funguslarla başlamıştır. Dünyada böceklerden izole edilen virüs, bakteri, fungus, nematod ve protozoonları kapsayan çeşitli

preparatlar zararlıların mikrobiyal mücadelesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Boucias ve Pendland, 1998; Demirbağ vd., 2008). *H. postica* ile mikrobiyal mücadelede bugüne kadar sayılı çalışmalar yapılmıştır. Kim vd. (2007) *Steinernema carpocapsae* nematodunu yonca hortumluböceği ile mücadelede kullanmışlardır. Shah vd. (2011) ise *Heterorhabditis indica*, *Steinernema carpocapsae* ve *Steinernema thermophilium* nematodlarını kullanarak zararlı popülasyonunu kontrol altına almaya çalışmışlardır. Ayrıca, Sharma vd. (2011) Bt proteinlerini (Cry6B) zararlı ile mücadelede kullanmışlardır. Ancak istenilen sonuçlar tam olarak elde edilememiştir. Genel olarak, birçok böcek takımı fungal hastalıklara karşı duyarlıdır ve entomopatojenik funguslar, zararlı böceklere karşı mikrobiyal mücadele etmeni olarak iyi bir potansiyele sahiptir (Roberts, 1989).

Günümüze kadar gerek ülkemizde gerekse bütün dünyada çeşitli tarım ve orman zararlılarından çok sayıda entomopatojen organizma izole edilmiş ve bunların çeşitli zararlılar üzerinde öldürücü etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmalar arasında ülkemizin önemli tarım ve orman zararlılarından olan *T. pityocampa* (Schiff.), *Gryllotalpa gryllotalpa* L. ve *Dendroctonus micans* (Kug.)'tan entomopatojenik fungus izolasyonu önemli bir yer tutmaktadır (Sevim vd., 2010b; Sönmez vd., 2016; Tanyeli vd., 2010). Elde edilen doğal ve yerel izolatlar morfolojik ve moleküler olarak tanımlandıktan sonra ülkemiz açısından son derece önemli olan çeşitli tarım ve orman zararlıları üzerinde test edilmiştir ve yüksek virulansa sahip fungal izolatların elde edildiği belirlenmiştir. Kocaçevik vd. (2016)'lerinin yapmış olduğu çalışmada *Dendroctonus micans*'tan izole edilen fungal izolat orman zararlıları olan *Ips sexdentatus* (Boerner) ve *Ips typographus* (Linnaeus) üzerinde denenmiş ve oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır.

Bütün bu hususlar doğrultusunda, bu çalışmada yonca hortumluböceğine karşı şu ana kadar yapılan kimyasal ve biyolojik mücadele yöntemlerinin yeterli olmaması nedeniyle zararlı ile mücadelede daha etkili, güvenli, ekonomik ve kimyasal insektisitlerin kullanımını azaltacak bir yöntem ve etmen geliştirmek amaçlanmıştır. Bu bağlamda, entomopatojenik fungusların yukarıda belirtilen avantajları, önceden yapılan çalışmalardaki tarım ve orman zararlıları ile biyolojik mücadeledeki etkisi ve *Hypera postica*'nın *Beauveria* cinsi funguslara karşı hassasiyeti dikkate alınarak etkili bir fungal mücadele etmeni tespit etmek amacıyla tez çalışmalarına başlanmıştır.

Bu kapsamda Adana ve Iğdır illerinden *H.postica*'ya karşı etkili bir mikrobiyal mücadele etmeni bulabilmek için ergin yonca hortumluböcekleri toplanarak, ölü böceklerden entomopatojenik fungus izolasyonu yapıldı. Elde edilen fungal izolatların

morfolojik ve moleküler karakterizasyonları yapıldı ve izolatların tür tayinleri tamamlanarak, mikrobiyal mücadelede kullanılma potansiyelleri araştırıldı. Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucunda *Beauveria* cinsine ait toplam 8 adet fungus elde edildi. Ülkemizde bu güne kadar *H. postica*'dan entomopatojenik fungus izolasyonu yapıldığına dair bir kayda ulaşılamamakla beraber, yapılan bu çalışma ile yonca hortumluböceğinden izole edilen izolatlardan 7 tanesinin *Beauveria bassiana* (HpI-2, HpI-6, HpI-7, HpI-10, HpA-3, HpA-4, HpA-5), 1 tanesinin *Beauveria pseudobassiana* (HpI-4) olduğu belirlendi. Bu izolatlar ülkemizde ve dünyada bu çalışma ile *H. postica*'dan ilk kez izole edilmişlerdir.

Elde edilen fungusların tür tayinlerinin kesinliğinden emin olmak için ITS gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı ve filogenetik ağaçları çizildi. Bu analiz sonucunda tüm izolatların *B. bassiana* oldukları tespit edildi. Tüm izolatlar *Beauveria* cinsinin son taksonomik düzenlenmesinin yer aldığı, Rehner vd. (2011)'leri tarafından yapılan çalışmadaki tüm *Beauveria* izolatları ile karşılaştırıldı. Rehner vd. (2011)'nin son revizyonu gereğince, *Beauveria* cinsinin bu tez kapsamında ITS gen bölgelerinden başka *EF1- α* , *RPB1* ve *Bloc* gen bölgelerinin de veri analizi yapıldı. *EF1- α* gen bölgesine göre çizilen filogenetik ağaçta HpI-4 ve HpA-3 izolatları *B. pseudobassiana* olarak belirlendi. Ancak *RPB1* ve *Bloc* bölgelerine göre çizilen filogenetik ağaçlarda HpI-4 izolatu ITS gen bölgesi analizinden farklı olarak *B. pseudobassiana* olarak belirlendi. Diğer izolatlar ise ITS gen bölgesi ile uyumlu olarak *B. bassiana* olarak tanımlandı. Karakterizasyondaki bu değişimler, ITS gen bölgesindeki birkaç baz çifti olan farklılıkların *EF1- α* , *RPB1* ve *Bloc* gen bölgelerinde giderek artması ve daha doğru sekans bilgilerinin elde edilmesine bağlanabilir.

B. bassiana iyi bilinen bir böcek patojenidir ve mikrobiyal mücadele etmeni olarak dünya çapında birçok böcek türünde hastalık ve ölümler gerçekleştirmektedir (Lacey vd., 2001; Goettel vd., 2005; Zimmermann, 2007). *B. bassiana* yüzeyi tozsu olan pamuksu görünümde koloniler oluşturur. Koloni başlangıçta beyaz, sonraları pembe-ten rengi bir renk alır. Mikroskopik incelemede tabanı şişkin konidyojenöz hücrelerin simpodiyal bir uzama ile zikzak oluşturmaları karakteristiktir. Çok sayıda, ufak, globoz mikrokonidyumlar konidyoforlar çevresinde kümeler oluşturabilir (Gürcan vd., 2006, Tucker vd., 2004, Koneman vd., 1992). *B. bassiana* beyazsinek, ekinbiti ve yaprakbiti gibi çok sayıda zararlı böceğe karşı arazide ve laboratuarda mikrobiyal mücadele etmeni olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında *B. bassiana* hedef olmayan organizmalara da zarar vermemektedir (Sáenz-

de-Cabezón Irigaray vd., 2003). *B. bassiana* böceklerde “beyaz muskadin” olarak bilinen bir hastalığa sebep olmaktadır. Bu fungusun sporları böceklerin üst deri tabakası ile temasa geçtiği zaman çimlenirler ve doğrudan üst derisinden konakçılarının vücutlarının içine doğru büyürler. Fungus toksin üreterek ve böceğin gıdalarını kurutarak vücudunda hızla çoğalır. Fungus; konakçısını öldürdüğü zaman, böceğin dış iskeletinin arasından böceği beyaz bir küf tabakası ile kaplayarak dışarıya doğru büyür. Bu ince tüylü küf çevreye salıverilen milyonlarca yeni infektif sporlar üretir. *B. bassiana* günümüzde böceklere karşı konidiyal spreyler olarak uygulanmaktadır. Paparatti ve Speranza (2005) yaptıkları bir çalışmada ticari olarak satılan *B. bassiana* preparatını biyolojik mücadele etmeni olarak alan uygulamasıyla *Curculio nucum* (findık kurdu)’a karşı test ettiler. Yapılan bu çalışmada fungus ile muamele edilen kafeslerde larva ölümünde %35 oranında artış gözlemlendi. *B. bassiana* aynı zamanda benzer hayat döngüsüne sahip bir başka önemli zararlı olan *Curculio elephas* (Kestane kurdu) üzerinde de aynı oranda ölüme neden olmuştur (Paparatti ve Speranza, 1999). Fındık ve kestane kurdunun *Hypera postica* gibi hortumlu böcekler olması ve bu zararlılar üzerinde *B. bassiana*’nın etkili olduğunun saptanması bizim çalışmamızın başarılı olabileceğinin de en önemli göstergelerinden biridir. *B. bassiana* ile başarıyla yapılmış sayısız biyolojik mücadele deneyleri bulunmaktadır (Eken vd., 2006). Sevim vd. (2013)’lerinin yapmış olduğu çalışmada *Corythucha ciliata* (Çınar dantel böceği)’tan izole edilen *B. bassiana* zararlı üzerinde denenmiş ve %86 oranında öldürücü etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Yine, ladin ormanlarında zararlı olan dev soymuk böceğinden (*Dendroctonus micans*) izole edilen *B. bassiana* zararlıya karşı denenmiş ve %100 oranında öldürücü etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Tanyeli vd., 2010).

B. pseudobassiana ile ilgili de çalışmalar bulunmaktadır. Kocaçevik vd. (2016)’lerinin yapmış olduğu çalışmada *Dendroctonus micans*’tan izole edilen *B. pseudobassiana* izolatları *Ips sexdentatus* (Boerner) ve *Ips typographus* (Linnaeus) üzerinde denenmiş ve her iki zararlı üzerinde de %100 ölüm oranı saptanmıştır. Bu çalışmalar *Beauveria* cinsinin böcek takımları üzerindeki etkisini net bir şekilde göstermektedir.

Beauveria cinsi funguslara karşı *H. postica*’nın hassasiyeti bilinmektedir. Ancak bunun zararlı üzerindeki insektisidal aktivitelerine yönelik detaylı bir çalışma yapılmamıştır. İlk olarak Hedlund ve Pass (1968) *Beauveria bassiana*’nın *Hypera postica*’yı enfeksiyonunu çalışmıştır. Ancak, bu çalışma daha çok fungal enfeksiyonun

böcek dokusundaki ilerleyişi ve nasıl bir yol izlediği ile ilgili bir çalışmadır. Yine Mustafa vd., (2014) *H. postica* erginleri üzerinde *B. bassiana*'nın da içinde olduğu çeşitli entomopatojenik fungusları denemiş ve başarılı sonuçlar elde etmiştir. Ancak yapılan bu çalışmada kullanılan fungal etmenler böceğin kendisinden izole edilmemiş ve sadece erginler üzerinde deneme yapılmıştır.

Bu nedenle, yonca hortumluböceğinden izole edilen *Beauveria* cinsi izolatların zararlı üzerindeki insektisidal aktivitesi detaylı olarak ilk kez bu çalışmayla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 8 izolatin *H. postica* üzerindeki insektisidal aktivitesini belirlemek amacıyla tüm izolatlar kullanılarak hem larva hem de erginler üzerinde insektisidal tarama testi yapılmıştır. Bu biyotest sonucunda larvalardaki ölüm oranı 7 gün sonucunda izolatlar arasında farklılık göstermiştir. Larvalar ile yapılan tarama testinde en yüksek ölüm oranı HpI-4 (%91) ve HpA-5 (%97) izolatlarında gözlemlendi. Ayrıca bütün izolatların LT_{50} değerleri hesaplandı ve bu değerler sonucunda sırasıyla HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının 3,89. ve 3,64. günde %50 ölüme neden oldukları belirlendi. Tüm izolatlar kullanılarak erginler ile yapılan tarama testinde de en yüksek ölüm oranı yine HpI-4 (%88) ve HpA-5 (%92) izolatlarında gözlemlendi. Ancak erginlerde hesaplanan LT_{50} larvalara göre daha yüksek bulundu. Sırasıyla, HpI-4 ve HpA-5 izolatları için bu değerler 3,92. ve 3,67. gün olarak hesaplandı. Bu değerler bize erginlerin larvalara göre daha uzun sürede öldüğünü göstermektedir. Diğer izolatlarında ölüm oranları ve LT_{50} değerleri hesaplanmış ve bu izolatlarında *H.postica* ergin ve larvaları üzerinde etkili oldukları tespit edilmiştir. Ancak bu değerler içerisinde HpI-2 izolatının larva ve erginler üzerindeki ölüm oranı arasındaki fark dikkat çekmiştir. İzolatin, larvalar üzerindeki ölüm oranı %88 olarak tespit edilmişken, erginler üzerindeki ölüm oranı ise %36 olarak tespit edilmiştir. Bu durum böceğin erginlerinin bu fungusu karşı duyarlı olmamasına bağlanabilir. HpI-6, HpI-7, HpI-10, HpA-3 ve HpA-4 izolatlarının da larva üzerindeki ölüm oranı, erginler üzerindeki ölüm oranlarından daha yüksek bulunmuştur. Bu veriler neticesinde larvaların erginlere göre daha duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Bir böceğin yaşam döngüsündeki bütün gelişim safhaları Hypocrealen funguslara karşı eşit olarak hassas değildir (Inglis vd., 2001). Bazı durumlarda, erginler larvalardan daha hassas olabilir. Örneğin, *Delia antiqua* (Meigen) (Diptera: Muscidae: Anthomyiidae) erginleri bazı Hypocrealen funguslara karşı larvalardan daha hassastır (Davidson ve Chandler, 2005). Bunun tersine, sivrisinek larvaları *Culicinomyces clavisporus*'a karşı erginlere göre daha hassastır (Panter ve Russell, 1984). Bu sonuçlar, belirli bir gelişme safhasının funguslara daha hassas veya daha dirençli

olduğunu belirten genel bir kural olmadığını göstermektedir (Goettel vd., 2005). Aynı zamanda tez kapsamında yapılan çalışmayla, *Beauveria* türlerinin kendi içerisindeki patojenite oranlarının da farklılık gösterebileceği belirlenmiştir.

Tarama testiyle insektisidal etkisi en yüksek bulunan HpI-4 (*B. pseudobassiana*) ve HpA-5 (*B. bassiana*) izolatlarının farklı dozları *H. postica* larva ve erginleri üzerinde denenmiştir. Bu çalışma için iki izolatın da 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 spor/ml olmak üzere farklı dozları hazırlanmıştır ve püskürtme yöntemi ile larva ve erginler bu dozlarla muamele edilmişlerdir. Bu biyotest sonucunda larvalar üzerinde 14 gün içerisinde HpA-5 izolatu %100 ölüm oranı ve %97 mikozlanma gösterirken, HpI-4 izolatu ise %97 ölüm oranı ve %95 mikozlanma oranı göstermiştir. HpI-4 izolatu erginler üzerinde 14 gün içerisinde %95 ölüm oranı ve %97 mikozlanma gösterirken, HpA-5 izolatu ise 14 gün içerisinde %98 ölüm oranı ve %96 mikozlanma oranı göstermiştir. Bu sonuçlar Sevim vd. (2010b)'nin çam ormanlarında zararlı olan *T. pityocampa* (Schiff.) üzerinde bu böcekten izole edilen *B. bassiana* izolatu ile yaptığı ve %100 oranında ölüm ve mikozlanma ile sonuçlanan çalışma, Tanyeli vd. (2010)'nin ladin ormanı zararlısı *Dendroctonus micans* üzerinde bu böcekten izole ettikleri *B. bassiana* ile yaptıkları, %100 ölüm ve %80 mikozlanma ile sonuçlanan çalışma ve Çam vd. (2002)'nin *B. bassiana* fungusunu papates böceğine (*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)) karşı test ettikleri ve larvalar üzerinde %80 ölüm oranı elde ettikleri çalışmalar ile uyum göstermektedir.

Aynı zamanda izolatların hepsinin Pr1 proteazlara sahip olduğu belirlendi. Pr1 proteazların sporların böcek kütikulasına penetrasyonundaki etkisi dikkate alındığında, izolatların hepsinin genel olarak yüksek ölüm oranı göstermesinde bu proteazların rolü olduğu söylenebilir. Wang vd. (2002)'nin yaptığı çalışmada *pr1* genlerinin ölüm oranları üzerindeki pozitif etkisi açıkça belirtilmektedir. Bu çalışmada *pr1* geni olmayan (mutant) izolatların %20 daha az ölüme neden olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada, Adana ve Iğdır illerinden toplanan ergin *H. postica* böceklerinden toplam 8 adet entomopatojenik fungus izole edildi ve izole edilen funguslar ayrıntılı bir şekilde karakterize edildi. Ayrıca bu izolatların izole edildikleri *H. postica* ergin ve larvalarına karşı insektisidal etkileri belirlendi. Larva ve erginler üzerindeki ölüm ve mikoz oranları incelendiğinde, en etkili izolatların HpI-4 (*Beauveria pseudobassiana*) ve HpA-5 (*Beauveria bassiana*) izolatları olduğu tespit edildi. Bunun sonucunda, bu izolatların *H. postica*'ya karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceği belirlendi.

5. SONUÇLAR

“*Hypera postica* (Yonca hortumluböceği)’nin fungal patojenlerinin belirlenmesi ve fungal mücadele etmeninin araştırılması” başlıklı bu tez çalışmasında aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1. Adana ve Iğdır illerinden toplanan ölü ergin yonca hortumluböceklerinden 8 adet entomopatojenik fungus izole edildi.
2. Ülkemizde ve dünyada ilk kez *H. postica*’dan entomopatojenik fungus izolasyonu yapıldı.
3. İzole edilen fungusların morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak tür tayinleri yapıldı ve izolatların 7 tanesinin *Beauveria bassiana* (HpI-2, HpI-6, HpI-7, HpI-10, HpA-3, HpA-4, HpA-5) ve 1 tanesinin *Beauveria pseudobassiana* (HpI-4) olduğu belirlendi.
4. Moleküler karakterizasyon yöntemleri kullanılarak Rehner vd., (2011)’nin yapmış olduğu *Beauveria* cinslerine ait fungusların son revizyonuna uygun olarak *ITS* gen bölgelerinden başka *EF1-α*, *RPB1* ve *Bloc* gen bölgeleri de tanımlanarak filogenetik analizleri yapıldı.
5. *ITS* gen bölgesine göre çizilen filogenetik ağaçta HpI-4 izolatu *B. bassiana* olarak belirlenirken *EF1-α*, *Bloc* ve *RPB1* dizilerine göre çizilen filogenetik ağaçta *B. pseudobassiana* olarak tanımlandı.
6. *H. postica* larvaları ve erginleri üzerinde ilk kez detaylı olarak entomopatojenik fungus insektisidal aktivite testleri yapıldı.
7. Tüm izolatlar kullanılarak yonca hortumluböceği larva ve erginleri üzerinde 1×10^7 konsantrasyon kullanılarak yapılan 7 günlük insektisidal aktivite tarama testi sonucunda HpI-4 (%91) ve HpA-5 (%97) izolatları en fazla ölüm oranına sahip olduğu belirlendi.
8. İzolatların LT_{50} değerleri tarama testi sonuçlarına göre hesaplandı ve HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının larvalarda sırasıyla 3,89. ve 3,64. günde %50 ölüme sebep oldukları bulundu. Erginlerde ise, sırasıyla 3,92. ve 3,67. günde %50 ölüme sebep oldukları belirlendi.
9. HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının farklı dozları ile *H. postica* larva ve erginleri üzerinde patojenite testleri yapıldı. Larvalarda ve erginlerde her iki izolat içinde

10. en hızlı ve yüksek ölüm 1×10^8 spor/ml'lik konsantrasyonda sağlandı. Larvalarda, HpI-4 izolatu %97 ölüm oranı ve yaklaşık %90 mikozlanma oranı gösterirken, HpA-5 izolatu ise %100 ölüm ve %97 mikozlanma oranı gösterdi. Erginlerde ise, HpI-4 izolatu %95 ölüm ve %97 mikozlanma oranı gösterirken, HpA-5 izolatu %98 ölüm ve %96 mikozlanma oranı gösterdi.
11. İzolatların hepsinde Pr1 B gen bölgesi tespit edildi. Bu sonuçla izolatların Pr1 protezlara sahip olduğu belirlendi.
12. Bu sonuçlar ile yonca tarlalarında yayılış gösteren ve ciddi verim kaybı ve zararlara neden olan *H. postica* (yonca hortumluböceği)'ya karşı bu entomopatojenik fungusların etkili bir biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabilecekleri tespit edildi.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada *Hypera postica* (Yonca hortumluböceği)'dan entomopatojenik fungus izolasyonu yapıldı ve izole edilen fungusların morfolojik ve moleküler karakterizasyonları yapılarak tanımlanmaları gerçekleştirildi. Ayrıca, bu fungusların *H. postica*'ya karşı insektisidal aktiviteleri belirlenerek, öldürücü etkisi yüksek olan izolatların doz denemeleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın yaygın etkisini arttırmak amacıyla, bundan sonraki çalışmalarda aşağıdaki hususlar dikkate alınabilir:

1. İzolatların öldürücü etkileri üzerine sıcaklık, UV ve pH gibi fiziksel faktörlerin etkileri araştırılabilir.
2. İsektisidal aktivite testi sonucunda *H. postica* larva ve erginleri üzerinde yüksek öldürücü etkisi belirlenen HpI-4 ve HpA-5 izolatlarının zararlı üzerindeki virulansını arttırıcı çalışmalar yapılabilir.
3. Yüksek öldürücü etkisi belirlenen izolatların diğer yonca zararlıları üzerindeki insektisidal aktivite testleri yapılarak daha kapsamlı bir çalışma yapılabilir.
4. Yüksek insektisidal aktiviteye sahip izolatların alan uygulamaları yapılabilir.
5. Bu çalışmada elde edilen fungusların ticari preparat olarak geliştirilmesine yönelik çalışmalar başlatılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W., S., 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide, Journal of Economic Entomology, 18, 265-267.
- Açıkgöz, E. 2001. Yem bitkileri, III. Baskı, U.Ü. Güçlendirme Vakfı yay. No: 182, Bursa, 584 s.
- Ali-Shtayeh, M., S., Abdel-Basit, M. ve Jamous, R., 2002. Distribution, Occurrence and Characterization of Entomopathogenic Fungi in Agricultural Soil in the Palestinian Area, Mycopathologia, 156, 235-244.
- Anonim, 1999. Çayır Mera Amenajmanı ve Islahı. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Ankara, 314.
- Anonim, 2007a. Türkiye İstatistik Kurumu www.tuik.gov.tr, 22.11.2007.
- Anonim, 2007b. Yonca Hortumluböceği Biyolojisi, Zarar Sekli ve Mücadelesi. www.kkgm.gov.tr/birim/bitkikoruma/teknik_talimat. Ankara, 22.10.2007.
- Anonymus, 1995. Zirai Mücadele Teknik Talimatı. 1995. Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, 2.
- Bischoff, J. F., Rehner, S. A. ve Humber, R. A., 2009. A Multilocus Phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* Lineage, Mycologia, 101, 4, 512-530
- Boucias, D. G. ve Pendland, J. C., 1998. Principles of Insect Pathology, Kluvar Academic Publisher, London.
- Castrillo, L. A., Roberts. D. W. ve Vandenberg, J., D., 2005. The Fungal Past, Present, and Future: Germination, Ramification, and Reproduction, Journal of Invertebrate Pathology, 89, 46-56.
- Chamberlin, 1926. Biological Control of Alfalfa Weevil in North America. Integrated Pest Manangement Rewievs, 3, 225–242.
- Charnley, A. K., Cobb, B. ve Clarskson, J. M., 1997. Toward the Improvement of Fungal Insecticides, In “Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?” (Evans, H. F., Chair), Proc. Br. Crop. Prot. Council Symp., 68, 115-126.
- Clarkson, J., M. ve Chamley, A., K., 1996. New Insights into the Mechanisms of Fungal Pathogenesis in Insects, Trends in Microbiology, 4, 5.

- Cothran, W. R., Armbrust, E. J., Horn, D. J. ve Gyrisco, G. G., 1967. Field Evaluation of Experimental and Recommended Insecticides for Control of the Alfalfa Weevil in New York, Journal of Economic Entomology, 60,4,1151-1154.
- Cross, J., V., Solomon, M., G., Chandler, D., Jarret, P., Richardson, P., N., Winstanley, D., Balton, H., Huber, J., Keller, B., Langenruch, G., A. ve Zimmermann, G., 1999. Biocontrol of Pests of Apples and Pears in Northern and Central Europe: 1. Microbial Agents and Nematodes, Biocontrol Science and Technology, 9, 125-149.
- Çam, H., Gökçe, A., Yanar, Y. ve Kadioğlu, İ., 2002. Entomopatojen Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.'nin Patates Böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say., Üzerindeki Etkisi. Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Atatürk Üniversitesi, 89, 359-364.
- Çanakçıoğlu, H., 1998. Orman Entomolojisi. İ.Ü. Yayınları, No: 4155, 404s.
- Danışmazoğlu, M., Demir, I., Sevim A., Demirbağ, Z. ve Nalçacıoğlu, R., 2012. An Investigation on the Bacterial Flora of *Agriotes lineatus* (Coleoptera: Elateridae) and Pathogenicity of the Flora Members, Crop Protection, 40: 1-7.
- Davidson, G. ve Chandler, D., 2005. Laboratory Evaluation of Entomopathogenic Fungi Against Larvae and Adults of *Onion Maggot* (Diptera: Anthomyiidae), Journal of Economic Entomology, 98, 1848-1855.
- DeBach, P., 1974. Biological Control by Naturel Enemies. Cambridge University Prass, Cambridge, UK
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A., 2005. Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları, Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi, Ocak 2005, Ankara, Bildiriler Kitabı,758-778
- Demir, I., Sezen, K. ve Demirbag, Z., 2002. The First Study on Bacterial Flora and Biological Control Agent of *Anoplus roboris* (Sufr., Coleoptera), Journal of Microbiology, 40, 2, 104-108.
- Demir, I., Eryuzlu, E. ve Demirbag, Z., 2012a. A Study on the Characterization and Pathogenicity of Bacteria from *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae). Turkish Journal of Biology, 36, 459-468.
- Demir, I., Secil, E.S., Demirbag, Z. ve Sevim A., 2012b. Molecular Characterization and Virulence of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* from *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). Turkish Entomology Bult., 2,1, 23-30.
- Demir, I., Kocacevik, S., Sonmez, E., Demirbag, Z. ve Sevim, A., 2013. Virulance of Entomopathogenic Fungi Against *Plagioder a versicolora* (Laicharting, 1781) (Coleoptera: Chrysomelidae). African Journal of Agricultural Research, 8, 2016-2021.

- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K. ve Ertürk, Ö., 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Trabzon.
- Demirci, M., Sevim, E., Demir, I. ve Sevim, A., 2013. Culturable Bacterial Microbiota of *Plagioder a versicolora* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) and Virulence of the Isolated Strain. Folia Microbiologica, 58: 201-210.
- Driver, F., Milner, R., J. ve Trueman, J., W., H., 2000. A Taxonomic Revision of *Metarhizium* Based on a Phylogenetic Analysis of rDNA Sequence Data, Mycological Research, 104, 134-150.
- Dromph, K., 2003. Collembolans as Vectors of Entomopathogenic Fungi, Pedobiologia, 47, 245-256.
- Ecevit, O., 1988. Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, 27, Samsun.
- Ecevit, O., 2007. Genel ve Tarla Zararlıları, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, 225-227, Samsun.
- Eilenberg, J., Hajek, A. ve Lomer, C., 2001. Suggestions for Unifying the Terminology in Biological Control, Biocontrol, 46, 387-400.
- Eken, C., Tozlu, G., Dane, E., Çoruh, S. ve Demirci, E., 2006. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) to Larvae of the Small Poplar Longhorn Beetle, *Saperda populnea* (Coleoptera: Cerambycidae), Mycopathologia, 162, 69-71.
- Erişen, S., 2005. Yonca (*Medicago sativa* L.)'da Somatik Embriyogenesis Aracılığıyla Bitki Rejenerasyonu. Tarım Bilimleri Dergisi, 11, 3, 311-315.
- Eski, A., Özkan-Çakıcı, F., Güllü, M., Muratoğlu, H., Demirbağ, Z. ve Demir, I. (2015). Identification and Pathogenicity of Bacteria from Mediterranean Corn Borer, *Sesamia nonagrioides* Lefebvre, (Lepidoptera: Noctuidae), Turkish Journal of Biology, 39: 31-48.
- Fang, W., Feng, J., Fan, Y., Zhang, Y., Bidochka MJ., St. Leger. and Pei, Y., 2009. Expressing a Fusion Protein with Protease and Chitinase Activities Increases the Virulence of the Insect Pathogen *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology, 102, 155-159.
- Faria, M. R. D. ve Wraight, S. P., 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A Comprehensive List with Worldwide Coverage and International Classification of Formulation Types. Biological Control 43, 237-256.
- Ferron P., 1978. Biological Control of Insects by Entomogenous Fungi, Annual Review of Entomology, 23, 409-42.
- Giles, K. L. ve Obryck, J. J., 1997. Reduced Insecticide Rates and Strip-harvesting Effects on Alfalfa Weevil (Coleoptera: Curculionidae) Larval Populations and Prevalence of

- Zoophthora phytonomi* (Entomophthorales: Entomophthoraceae), Journal of Economic Entomology, 90, 4, 933–944.
- Goettel, M. S. ve Inglis, G. D., 1997. Fungi: Hyphomycetes. In: Manual of Techniques in Insect Pathology, Lacey, L., A. (Ed.), Academic Press, Amsterdam, 213-249.
- Goettel, M. S., Eilenberg, J. ve Glare, T., 2005. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations. In: Comprehensive Molecular Insect Science, Gilbert, L., I., Iatrou, K. ve Gill, S., S. (Ed.), Amsterdam, 361-405.
- Gökçe, C., Sevim, A., Demirbag, Z. ve Demir, I., 2010. Isolation, Characterization and Pathogenicity of Bacteria from *Rhynchites bacchus* (Coleoptera: Rhynchitidae). Biocontrol Science and Technology, 20, 9, 973-982.
- Gürcan, S., Tuğrul, H. M., Yörük, Y., Özer, B., Tatman-Otkun, M. ve Otkun, M., 2006. First Case Report of Empyema Caused by *Beauveria bassiana*. Mycoses, 49, 246-248.
- Hajek, A. E., 1997. Ecology of Terrestrial Fungal Entomopathogens, In “Advanced in Microbial Ecology” (Jones, J. H., Ed.), 15, 193-249, Plenum Press, New York.
- Hajek, A. E. ve Leger, R. J., 1994. Interactions Between Fungal Pathogens and Insect Hosts, Annual Review of Entomology, 39, 293-322.
- Hajek, A., E. ve Webb, R., E., 1999. Inoculative Augmentation of the Fungal Entomopathogen *Entomophaga maimaiga* as a Homeowner Tactic to Control Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae), Biological Control, 14, 11-18.
- Hall, R. A. ve Papierok, B., 1982. Fungi as Biological Control Agents of Arthropods of Agricultural and Medical Importance, Parasitology, 84, 205-240.
- Hedlund, R.C. ve Pass, B.C., 1968. Infection of the alfalfa weevil, *Hypera postica*, by the fungus *Beauveria bassiana*, Journal of Invertebrate Pathology, 11, 25-34.
- Hodek, I., Helmut F. ve Van E., 2012. Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae) (Google eBook). John Wiley & Sons. Retrieved 11 Jan 2014.
- Humber, R., A., 1997. Entomopathogenic Fungal Identification. In: Manual of Techniques in Insect Pathology, Lacey, L., A. (Ed.), San Diego, 153-185.
- Humber, R., A., 2008. Evaluation of Entomopathogenity in Fungi, Journal of Invertebrate Pathology, 98, 262-266.
- Ihara, F., Yaginuma, K., Kobayashi, N., Mishiro, K. ve Sato, T., 2001. Screening of Entomopathogenic Fungi against the Brown-Winged Green Bug, *Plautia stali* Scott (Hemiptera: Pentatomidae), Applied Entomology and Zoology, 36, 4, 495-500.
- Inglis, G., D., Goettel, M., S., Butt, T., M. ve Strasser, H., 2001. Use of Hyphomycetous Fungi for Managing Insects Pests. In: Fungi as Biocontrol Agents, Butt, T., M., Jackson, C., ve Magan, N. (Ed.), Oxon: CABI Publishing, 23-69.

- Ince, I. A., Kati, H., Yılmaz, H., Demir, I. ve Demirbağ, Z., 2008. Isolation and Identification of Bacteria from *Thaumetopoea pityocampa* Den. and Schiff. (Lep., Thaumetopoeidae) and Determination of Their Biocontrol Potential. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24, 3005-3015.
- Keller, S., Schweizer, C., Keller, E. ve Brenner, H., 1997. Control of White Grubs (*Melolontha melolontha* L.) by Treating Adults with the Fungus *Beauveria brongniartii*, Biocontrol Science and Technology, 7, 105-116.
- Kim, H., Han, G., Park, C., Choo, H. ve Park, C., 2007. Susceptibility of the Alfalfa Weevil, *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae) to Korean Entomopathogenic Nematodes in Laboratory Assays., Korean Journal of Applied Entomology, 46, 147-151.
- Klingen, I., Eilenberg, J. ve Meadow, R., 2002. Impact of Farming Systems, Field Margins and Bait Insect on the Findings of Insect Pathogenic Fungi in Soil, Agriculture Ecosystems and Environment, 91, 191-198.
- Klingen, I., Meadow, R., and Aandal, T., 2002, Mortality of *Delia floralis*, *Galleria mellonella* and *Mamestra brassicae* with Insect Pathogenic Hyphomycetous Fungi, Journal of Applied Entomology, 126, 231-237.
- Kocaçevik, S., Sevim, A., Eroğlu, M., Demirbağ, Z. ve Demir, I., 2015. Molecular Characterization, Virulence and Horizontal Transmission of *Beauveria pseudobassiana* from *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Applied Entomology, 139, 381-389.
- Kocaçevik, S., Sevim, A., Eroğlu, M., Demirbağ, Z. ve Demir, İ., 2016. Virulence and Horizontal Transmission of *Beauveria pseudobassiana* S.A. Rehner & Humber in *Ips sexdentatus* and *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae), Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 40.
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P.C. ve Winn, W.C., 1992. Mycology. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Company, 791-861.
- Lacey, L. A., Frutos, R., Kaya, H. K. ve Vail, P., 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future, Biological Control, 21, 230-248.
- Lacey, L. A. ve Goettel, M. S., 1995. Current Developments in Microbial Control of Insect Pests And Prospects for The Early 21st Century, Entomophaga, 40, 3-27.
- Lesins, K. ve Gillies, C. B., 1972. Taxonomy and Cytogenetics of Medicago. Alfalfa Science and Technology, 15, 391-412.
- Liu, J., Pionar, G. O. ve Berry, R. E., 2000. Control of Insect Pests with Entomopathogenic Nematodes: The Impact of Molecular Biology and Phylogenetic Reconstruction, Annual Review of Entomology, 45, 287-306.

- Liu, H., Skinner, M., Parker, B. L., ve Brownbridge, M., 2002. "Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina : Hyphomycetes), and Other Entomopathogenic Fungi against *Lygus lineolaris* (Hemiptera : Miridae)", Journal of Economic Entomology 95, 4, 675–681
- Meyling, N., V., Pell, J., K. ve Eilenberg, J., 2006. Dispersal of *Beauveria bassiana* by the Activity of Nettle Insects, Journal Invertebrate Pathology, 93, 121-126.
- Meyling, N., V. ve Eilenberg, J., 2007. Ecology of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Temperate Agroecosystems: Potential for Conservation Biological Control, Biological Control, 43, 145-155.
- Meyling, N., V., 2008. PCR-Based Characterisation of Entomopathogenic Fungi for Ecological Studies, Vegqure, Copenhagen, 14.
- Miller, R. J. ve Prior, C., 1994. Susceptibility of Ausrtalian Plague Locust, *Chortoicetes terminifera* and Wingless Grasshopper, *Phaulacridium vittatum*, to the Fungi *Metarhizium spp.*, Biological Control, 4, 132-137.
- Miller, R. J., 1997. Prospects for Biopesticides for Aphid Control, Entomophaga, 42, 227-239.
- Milner, R., J., Soper, R., S. ve Lutton, G., G., 1982. Field Release of an Israeli Strain of the Fungus *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko for Biological Control of *Therioaphis trifolii* (Monell) f. *maculata*, Journal of Australian Entomological Society, 21, 113-118.
- Milner, R., J., 2000. Current Status of *Metarhizium* as a Mycoinsecticide in Australia, Biocontrol, News Info., 21, 47-50.
- Montesinos, E., 2003. Development, Registration and Commercialization of Microbial Pesticides for Plant Protection, International Microbiology, 6, 245-252.
- Muro, M., A., Mehta, S. ve Moore, D., 2003. The Use of Amplified Fragment Length Polymorphism for Molecular Analysis of *Beauveria bassiana* Isolates from Kenya and Other Countries, and Their Correlation with Host and Geographical Origin, FEMS Microbiology Letters, 229, 249-257.
- Mustafa, R.A., Abdullah, S.K. ve Lazgeen, H.A., 2014. Comparative Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Clonostachys rosea*, *Metarhizium anisopliae*, and *Lecanicillium lecanii* to Adult, Alfalfa weevil *Hypera postica* Gyllenhal (Coleoptera:Curculionidae), 3rd International Conference on Applied Life Sciences (ICALS2014).
- Özbek, H. ve Hayat, R., 2003. Tahıl, Sebze, Yem ve Endüstri Bitki Zararlıları, Erzurum.
- Özkan-Çakıcı, F., Özgen I. Bolu, H., Erbas, Z., Yılmaz, H., Demirbağ, Z. ve Demir, I., 2015. Highly Effective Bacterial Agents against *Cimbex quadrimaculatus* (Hymenoptera:

- Cimbicidae: Isolation of Bacteria and Their Insecticidal Activities, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 31: 59-67.
- Özşahin, E., Sezen, K., Demir, I. ve Demirbağ, Z., 2014. Bacterial Isolates from *Palomena prasina* Include Potential Microbial Control Agents, Biocontrol Science and Technology, 24:1039-1051.
- Panter, C., ve Russell, R., C., 1984. Rapid Kill of Mosquito Larvae by High Concentrations of *Culicinomyces clavispurus* Conidia, Mosquito News, 44, 242-244.
- Pantou, M., P., Mavridou, A. ve Typas, M., A., 2003. IGS Sequence Variation, Group-I Introns and the Complete Nuclear Ribosomal DNA of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium*: Excellent Tools for Isolate Detection and Phylogenetic Analysis, Fungal Genetics and Biology, 38, 159-174.
- Paparatti, B. ve Speranza, S., 1999. Biological Control of Chestnut Weevil (*Curculio elephans* Gyll.; Coleoptera, Curculionidae) with the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Deuteromycotina, Hyphomycetes), Acta Horticulture, II. International symposium on chestnut, Bordeaux, 494, 459-464.
- Paparatti, B. ve Speranza, S., 2005. Biological Control of Hazelnut Weevil (*Curculio nucum* L., Coleoptera, Curculionidae) Using the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Deuteromycotina, Hyphomycetes). Acta Horticulture, VIth International symposium on hazelnut, Tarragona-Reus, 686, 407-412.
- Pell, J., K., Eilenberg, J., Hajek, A., E. ve Steinkraus, D., C., 2001. Biology, Ecology and Pest Management Potential of Entomophthorales. In: *Fungi as Biocontrol Agents*, Butt, T., M., Jackson, J. ve Magan, N. (Ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK, 390-10.
- Peter, G., 1984. *Plant Pests and Their Control*, Fenemore, London.
- Poos, F.W. and Bissel, T.L., 1953. The Alfalfa Weevil in Maryland. Journal of Economic Entomology, 56, 533-4.
- Rath, A., C., 2000. The Use of Entomopathogenic Fungi for Control of Termites, Biocontrol Science and Technology, 10, 563- 581.
- Rehner, S. A. ve Buckley, E., 2005. A *Beauveria* Phylogeny Inferred from Nuclear ITS and EF1- α Sequences: Evidence for Cryptic Diversification and Links to *Cordyceps* Teleomorphs, Mycologia, 97, 84-98.
- Rehner, S., A., Posada, F., Buckley, E., P., Infante, F., Castillo, A. ve Vega, F., E., 2006. Phylogenetic Origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. Pathogens of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*, Journal of Invertebrate Pathology, 93, 11-21.

- Rehner, S. A., Minnis, A. M., Sung, G. H., Luangsa-ard, J.J., Devotto, L. ve Humber, R.A., 2011. Phylogeny and Systematics of the Anamorphic, Entomopathogenic Genus *Beauveria*, Mycologia, 103,5, 1055-1073.
- Roberts, D., W., 1989. Word Picture of Biological Control of Insects by Fungi, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 84, 89-100.
- Roy, H. E., Steinkraus, D. C., Eilenberg, J., Hajek, A. E. ve Pell, J. K., 2006. Bizarre Interactions and Endgames: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts, Annual Review of Entomology, 51, 331-57.
- Quesada-Moraga, E. ve Vey, A., 2003. Intra-specific Variation in Virulence and In Vitro Production of Macromolecular Toxins Active Against Locust among *Beauveria bassiana* Strains and Effects of In Vivo and In Vitro Passage on These Factors, Biocontrol Science and Technology, 13, 323-340.
- Saenz-De-Cabezón Irigaray, F.J., Marco-Mancebon, V. ve Perez-Moreno, I., 2003. The Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* and its Compatibility With Triflumuron: Effects on the Twospotted Spider Mite *Tetranychus urticae*, Biological Control, 26, 168–173.
- Scholte, E., J., Knol, B., G., J., Samson, R., A. ve Takken, W., 2004. Entomopathogenic Fungi for Mosquito Control, Journal of Insect Science, 4, 19.
- Seçil, E.S., Sevim, A., Demirbag, Z. ve Demir, I., 2012. Isolation, Characterization and Virulence of Bacteria from *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Biologia, 67, 4, 767-776.
- Sevim, A., 2010. Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Virulanslarının Belirlenmesi, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Sevim, A., Demir, I., Tanyeli, E. ve Demirbag, Z., 2010a. Screening of Entomopathogenic Fungi against the European Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), Biocontrol Science and Technology, 20, 3-11.
- Sevim, A., Demir, I. ve Demirbag, Z., 2010b. Molecular Characterization and Virulence of *Beauveria* spp. from the Pine Processionary Moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). Mycopathologia, 170, 269-277.
- Sevim, A., Demirbag, Z. ve Demir, I., 2010c. A New Study on the Bacteria of *Agrotis segetum* Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae) and Their Insecticidal Activities. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 34, 333-342.
- Sevim, A., Demir, I., Höfte, M., Humber, R.A. ve Demirbag, Z., 2010d. Isolation and Characterization of Entomopathogenic Fungi from Hazelnut-growing Region of Turkey. BioControl, 55, 279-297.

- Sevim, A., Demir, I., Sönmez, E., Kocaçevik, S. ve Demirbağ, Z., 2013. Evaluation of Entomopathogenic Fungi against the Sycamore Lace Bug, *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae), Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37, 595-603.
- Sezen, K., Demir, I. ve Demirbag, Z. (2004). Studies of the Bacterial Flora as a Biological Control Agent of the *Agelastica alni* L. (Coleoptera: Chrysomelidae), Biologia, Bratislava, 59, 3, 327-331.
- Sezen, K., Demir, I. ve Demirbag, Z. (2007). Identification and Pathogenicity of Entomopathogenic Bacteria from Common Cockcfer, *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae), New Zealand Journal of Crop Horticultural Science, 35, 79-85.
- Shah, P. A. ve Pell, J. K., 2003. Entomopathogenic Fungi as Biological Control Agents, Applied Microbiology and Biotechnology, 61, 413-423.
- Shah, N.K., Azmi, M.I. ve Tyagi, P.K., 2011. Pathogenicity of Rhabditid Nematodes (Nematoda: Heterorhabditidae and Steinernematidae) to the Grubs of Alfalfa Weevil, *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae), Range Management and Agroforestry, 32, 64-67.
- Sharma, A., Kumar, S. ve Bhatnagar, R.K., 2011. *Bacillus thuringiensis* Protein Cry6B is Toxic to Larvae of *Hypera postica*, Current Microbiology, 62,597-605.
- Soya, H., Avcioğlu, R. ve Geren, H. 1997. Yem Bitkileri. Hasad Yayıncılık, 223, İstanbul
- Sönmez, E., Sevim, A., Demirbağ, Z. ve Demir, İ., 2016. Isolation, Characterization and Virulence of Entomopathogenic Fungi from *Gryllotalpa gryllotalpa* (Orthoptera: Gryllotalpidae), Applied Entomology and Zoology, 51, 213-223.
- St. Leger, R.J. 1990. The Integument as a Barrier to Microbial Infections, *In* A. Retnakaran and K. Binnington (eds.), The physiology of insect epidermis. Inkata Press Pty, Ltd, North Clayton, Victoria, Australia., 284-306.
- Strasser, H., Vey, A. ve Tariq, M. B., 2000. Are There any Risks in Using Entomopathogenic Fungi for Pest Control, with Particular Reference to the Bioactive Metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species, Biocontrol Science and Technology, 10, 717-735.
- Tamer, A.1998. Ankara ilinde Korungalarda Zarar Yapan *Bembecia scopigera* (Scopoli) (Lepidoptera: sesiidae)nin Biyo-ökolojisi ve Mücadelesi Üzerinde Araştırmalar. Doğa-tr. Journal of Agriculture and Forestry 14, 149-180.
- Tanyeli, E., Sevim, A., Demirbağ, Z., Eroğlu, M. ve Demir, İ., 2010. Isolation and Virulence of Entomopathogenic Fungi against the Great Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Scolytidae), Biocontrol Science and Technology, 20, 695-701.

- Tohidfar, M., Zare, N., Jouzani, G.S. ve Eftekhari, S.M., 2012. *Agrobacterium*-mediated Transformation of Alfalfa (*Medicago sativa*) Using a Synthetic *cry3a* Gene to Enhance Resistance against Alfalfa Weevil, Plant Cell Tissue and Organ Culture, 11240-012-0262-2.
- Tucker, D. L., Beresford, C. H., Sigler, L. ve Rogers K., 2004. Disseminated *Beauveria bassiana* Infection in a Patient with Acute Lymphoblastic Leukemia. Journal of Clinical Microbiology, 42, 5412-5414.
- URL-1, <https://www.ag.ndsu.edu/archive/entomology/ndsucpr/Years/2007/july>, 26 Temmuz 2007
- URL-2, https://en.wikipedia.org/wiki/Subcoccinella_vigintiquatuorpunctata, 25 Ağustos 2015
- URL-3, http://www.agroatlas.ru/en/content/pests/Bruchophagus_roddei/, 19 Eylül 2009
- URL-4, <http://www.insectimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5365593>, 12 Şubat 2008
- URL-5, <http://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5365593>, 11 Aralık 2012
- Van den Bosch, R., Messenger, P.S. ve Gutierrez, A.P., 1982. An Introduction to Biological Control. Plenum Press, New York.
- Vanninen, I. ve Husberg, G. B., 1989. Occurrence of Entomopathogenic Fungi and Entomoparasitic Nematodes in Cultivated Soils in Finland, Entomologica Fennica, 53, 65-71.
- Wan, H., 2003. Molecular Biology of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: Insect-Cuticle Degrading Enzymes and Development of a New Selection Marker for Fungal Transformation, PhD thesis, Combined Faculties for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto-Carola University of Heidelberg, Germany.
- Wang, C., Typas M.A. ve Butt, T.M., 2002. Detection and Characterisation of *pr1* Virulent Gene Deficiencies in the Insect Pathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*, FEMS Microbiology Letters, 251-255.
- Wehrle, L.P., 1939. A New Insect Introduction. Bulletin of the Brooklyn Entomological Society, 34, 170.
- Wilson, C. M. ve Armbrust, E. J., 1968. Chemical Control of the Alfalfa Weevil in Illinois and Indiana. II. The Importance of Spray Volume in Aerial Application, Journal of Economic Entomology, 61, 5, 1201-1203.
- Wilson, M. J. ve Gaugler, R., 2000. Terrestrial Mollusca Pests, In “Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests” (Lacey, L. A. ve Kaya, H. K., Eds.), 787-804, Kluwer Academic, Dordrecht.

Zimmermann, G., 2007a. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, Biocontrol Science and Technology, 17, 553-596.

Zimmermann, G., 2007b. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*, Biocontrol Science and Technology, 17, 879-920.



8. EKLER

Ek 1. *Beauveria bassiana* HpI-2'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

CCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCCGGACGC
GGACTGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTATTCCAGCATCTTC
TGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCT
CTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAAT
TGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCA
TTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCCCCTTGGG
GAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGC
GGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCGGAACCCCGA
CGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTT

Ek 2. *Beauveria pseudobassiana* HpI-4'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

CAACCCTTTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCC
GGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTATTCCAG
CATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAA
CGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC
GCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCC
CCTTGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATG
GAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCGGA
ACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCA

Ek 3. *Beauveria bassiana* HpI-6'nın ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

ACCTTTCTGGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCAGCCGGACG
CGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTATTCCAGCATCT
TCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGAT
CTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGA
ATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAG
CATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCCCCTTG
GGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTG
GCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCGGAACCCC
GACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTT

Ek 4. *Beauveria bassiana* HpI-7'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

CTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCCCGGACGCGGA
 CTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTATTCCAGCATCTTCTG
 AATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCT
 TGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
 CAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATT
 CTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCCCCTTGGGGA
 GGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGG
 CCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCCGGAACCCCGACG
 CGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGA

Ek 5. *Beauveria bassiana* HpI-10'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

ACTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCTCAGCCCCGGACGCGGACTGGACCA
 GCGGCTCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCC
 GCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTG
 GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATC
 CAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATTCTGGCGG
 GCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACTCCCCTTGGGGAGGTTCGGCG
 TTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGC
 GCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCCGGAACCCCGACGCGGCCACGC
 CGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGAC

Ek 6. *Beauveria bassiana* HpA-3'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCCCGGACGCGG
 ACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTATTCCAGCATCTTCT
 GAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCT
 CTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAAT
 TGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCA
 TTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCCCCTTGGG
 GAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGC
 GGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCCGGAACCCCGA
 CGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGACCTCGAATCAGGTA
 GGACTACCCGCTGAACTTAAGCATAT

Ek 7. *Beauveria bassiana* HpA-4'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

CCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCCCGGACG
 CGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTATTCCAGCATCT
 TCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGAT
 CTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGA

ATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAG
 CATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCCCCTTG
 GGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTG
 GCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCGGAACCCC
 GACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGACCTCGAATCAGG
 TAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCA

Ek 8. *Beauveria bassiana* HpA-5'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TAACCCTTCTGTGAACCTACCTTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCCCG
 GACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTTGTATTCCAGC
 ATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAACG
 GATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATG
 TGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG
 CAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCCCC
 TGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGA
 GTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCGGAAC
 CCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGACCTCGAATC
 AGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAA

Ek 9. *Beauveria bassiana* HpI-2'nin 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

GACCTCGACGAGCAATACATACTGACCAGCAGACAGCCACGTTCGATTCCGGCA
 AGTCTACCACCGTAAGTTTTTTTCAACGGTCGAGTTGGCTTTTGAGCTCTCGAA
 CCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGCTAACTCATCTAC
 ACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTG
 AGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTTCTACTGTCAAATGGA
 CCTTGATCGCTTGCTGCGCAAATTTTTTTTCGTCGTATCGCGCTGGCCACCAGC
 ACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTATCAATTCAGT
 GGGGCCAGTGAGAATACCCCGCCACCTTGTGCGCAAGCTTTCCCTCATCTATTA
 GGTCGAAGCAGCAGAAGAAGAAATATCGCGTGCACTCAGCCAACAGATCGCT
 AACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATG
 CCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGAT
 ATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCAAGTCACCGTCATTGATGCT
 CCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGAT
 TGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCC
 AAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTACCCTCGGTGTCAA
 GCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAAGCCC
 GGTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGGAAGGTTGGCTA
 CAACCCCAAGGCTGTTGCTTTTCGTCCCCATCTCCGGTTTCAACGGCGACAACA
 TGCTTGAGCCCTCCACCAACTGC

Ek 10. *Beauveria pseudobassiana* HpI-4'ün 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

CCCAGCACTCACTACCCCTCCTGGCTGCGGCAAAAATTTTCAGAGTGCCTTATC
 ATTTCAAGTGGGGCCAGAGAGAATACCCCGCCACCTTTGTGCGCAAGCTTTCCCT
 CATGCCTTGGGTCTGAAGCAGCAGCAGAAGAAATATCGCGTGCCTTGGCCAAC
 AGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCCT
 CAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCA
 CCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCAGGTCACCGTCA
 TTGATGCTCCCGGTACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCC
 AGGCCGATTGTGCTATTCTCATCATCGCCGCTGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTG
 GTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCTTTCACCCTCG
 GTGTCAAGCAGCTCATCGTCGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCC
 GAGGCTCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAACCTTCATCAAGAAGGT
 CGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCCCTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGCGA
 CAACATGCTGGAGCCCTCCACCAACTGCTCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAAG
 GAGACCAAGGCTGGCAAGTCTAAAGAATAGACCCTCCTCGAGGCCATCGACG
 CCATTGAGGCCCCC

Ek 11. *Beauveria bassiana* HpI-6'nın 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

CAATACATACTGACCAGCAGACAGCCACGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCG
 TAAGTTTTTTTCAACGGTCGAGTTGGCTTTTGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTC
 CGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGCTAACTCATCTACACAGACTGGTCA
 CTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTGAGAAGTTCGAGA
 AGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCTACTGTCAAATGGACCTTGATCGCTTG
 CTGCGCAAATTTTTTTTCGTGCTATCGCGCTGGCCACCAGCACTCACTACCCCT
 CCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTATCAATTCAGTGGGGCCAGTGAG
 AATACCCCGCCACCTTGTGCGCAAGCTTTCCCTCATCTATTAGGTCTGAAGCAGC
 AGAAGAAGAAATATCGCGTGCCTCAGCCAACAGATCGCTAACCTACCGTCTA
 CAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTCTTGA
 CAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCTCTCTGGA
 AGTTCGAGACTCCCAAGTACCAAGTCACCGTCATTGATGCTCCCGGTACCGT
 GATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGCGCTATTCTC
 ATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCA
 GACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCATTGT
 TGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCCCGTTACCAGGAA
 ATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAGGTTGGCTACAACCCCAAGGC
 TGTTGCTTTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGCGACAACATGCTTGAGCCCTC
 CACCAACTGCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAAGGAGACTAAAGCTGGCAAG
 TCTACTGGGAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACGCCATTG

Ek 12. *Beauveria bassiana* HpI-7'nin 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

ACGGTCGAGTTGGGTTTTGAGCTCTCCAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTA
 CCTGAGAGCAAAGAGCTAACTCATCTACACAGACTGGTCACTTGATCTACCAG
 TGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTGAGAAGTTTCGAGAAGGTAAGCATAGT
 ATCCAACCTCTTTTCTACTGTCAAATGGACCTTGATAGCTTGCTGCGCAAATTTT
 TTTTCGTCGTATCGCGCTGGCCACCAGCACTACTACCCCTCCTCGCTGCGGCA
 AAAATTTTCAGTGCCTTATCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAATACCCCGCCAC
 CTTGTCGCAAGCTTTCCCCTCATCTATTAGGTTCGAAGCAGCAGAAGAAGAAAT
 ATCGCGTGCCTCAGCCAACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCT
 GAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGC
 CGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTC
 CCAAGTACCAAGTCACCGTCATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGA
 ACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCG
 GTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCAC
 GCTCTGCTCGCCTTCACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAG
 ATGGACACCACCAAGTGGGTCCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAG
 ACTTCCAGCTTCATCAAGAAGGTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTCGTC
 CCCATCTCCGTTTCAACGGCGACAACATGCTTGAG

Ek 13. *Beauveria bassiana* HpI-10'un 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

TCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGCTAACTCATCTACACAGACT
 GGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTGAGAAGTT
 CGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTCTTTTCTACTGTCAAATGGACCTTGATC
 GCTTGCTGCGCAAATTTTTTTTCGTCGTATCGCGCTGGCCACCAGCACTACTA
 CCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTATCAATTCAGTGGGGCCAG
 TGAGAATACCCCGCCACCTTGTGCGCAAGCTTTCCCCTCATCTATTAGGTTCGAAG
 CAGCAGAAGAAGAAATATCGCGTGCCTCAGCCAACAGATCGCTAACCTACC
 GTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTT
 CTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCTCT
 CTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCAAGTCACCGTCATTGATGCTCCCGGTC
 ACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGCGCTA
 TTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATG
 GCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTCACCCTCGGTGTCAAGCAGCTC
 ATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCCCGTTACCA
 GGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAGGTTGGCTACAACCCCA
 AGGCTGTTGCTTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGCGACAACATGCTTGAGC
 CCTCCACCAACTGCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAAGGAGACTAAGGCTGGC
 AAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGAC

Ek 14. *Beauveria bassiana* HpA-3'ün 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

GCAATAATACTGACTACCAGACAGCCACGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACTG
 TAAGTCTCTTTCAACGGTCGAGTGGCTCTTAAGCTCTCGAGCCAACAATCTTAC
 CCCGCTCGCCGGTGTGTGCGAGCGCAAGCAGCTAACTCATATATACAGACTGG
 TCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTGAGAAGTTTCG
 AGAAGGTAAGCATATTATCCAATTTTTCTACTGTCAAATGGACCTTGATCGCTT
 GCTTCACAACCTTTTCTTTCCGTCGTATCGCGCTGGCCCCAGCACTCACTACCC
 CTCCTGGCTGCGGCAAAAATTTTCAGAGTGCCTTATCATTTTCAGTGGGGCCAGA
 GAGAATACCCCGCCACCTTTGTGCGCAAGCTTTCCCCTCATGCCTTGGGTGGAAG
 CAGCAGCAGAAGAAATATCGCGTGCCTTGGCCAACAGATCGCTAACCTACCG
 TCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTTC
 TTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCTCTC
 TGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCAGGTCACCGTCATTGATGCTCCCGGTCA
 CCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGTGCTAT
 TCTCATCATCGCCGCTGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGG
 CCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCTTTCACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCAT
 CGTCGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCTCGTTACCAGG
 AAATCATCAAGGAGACTTCCAACCTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACCCCAA
 GGCTGTTGCCTTCTTCCCCATCTTCTGGTTTCAACGGCGTACAACATGGCTTGG
 AGCCCTTCCACCAACTGCCCCCTGGGGCCAAGGGGTTGGGGATAATGGAGACC
 TATGGTTTGGCAAAGTCCTACTGGGCAATGACCCTCTCCTGAAGTCTACCTTGC
 TCC

Ek 15. *Beauveria bassiana* HpA-4'ün 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

GAGCAATACATACTGACCAGCAGACAGCCACGTCGATTCCGGCAAGTCTACCA
 CCGTAAGTTTTTTTCAACGGTCGAGTGGCTTTTGAGCTCTCGAACCAGCAATC
 TTCCGCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGCTAACTCATCTACACAGACTGG
 TCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTGAGAAGTTTCG
 AGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCTACTGTCAAATGGACCTTGATCGC
 TTGCTGCGCAAATTTTTTTTCGTCGTATCGCGCTGGCCACCAGCACTCACTACC
 CCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTATCAATTCAGTGGGGCCAGTG
 AGAATACCCCGCCACCTTGTGCGCAAGCTTTCCCCTCATCTATTAGGTGCAAGCA
 GCAGAAGAAGAAATATCGCGTGCCTCAGCCAACAGATCGCTAACCTACCGTC
 TACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTTCCT
 GACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCTCTCTG
 GAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCAAGTCACCGTCATTGATGCTCCCGGTACC
 GTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGCGCTATTC
 TCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGC
 CAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCATT
 GTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCCCGTTACCAGGA
 AATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAGGTTGGCTACAACCCCAAAG
 CTGTTGCTTTCGTCGCCATCTCCGGTTTCAACGGCGACAACATGCTTGAGCCCT
 CCACCAACTGCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAAGGAGACTAAGGCTGGCAA
 GTCTACTGGCAAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACGCCATTGAGCCC

Ek 16. *Beauveria bassiana* HpA-5'in 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

TTGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAG
 CTAACCTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACA
 AGCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCTA
 CTGTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGC
 TGGCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTT
 ATCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCC
 CCTCATCTATTAGGTCGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCC
 AACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTC
 CTTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTA
 TCACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCG
 TCATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTT
 CCCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCTAGG
 CTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTACC
 CTCGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTG
 GTCCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGA
 AGGGTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTTCGTCCCCATCTCCGGTTTCAACG
 GCGACAACATGCTTGGAGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGA
 GAAGGAGACTAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAACC

Ek 17. *Beauveria bassiana* HpI-2'nin 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

AGGTTTTGGAGATTGTCTGCCACAACCTGCAGCAAAGTGTTGGCCGATGAAGTT
 GGTCTTCCCTTTACTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATT
 ATCAGAGCGATCCCGAATTCGTACAGCTATTCATACTCGCGATCCGAACTTC
 GATTCAAGCGCGTTTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATGA
 GGAGCGGCAAGACAAGAATAAAGACGAAGAGTTTCGCTCCAGGTGTCAAGAAC
 GTCGTTCTCGAAGGACATGGCGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGACA
 GGCCGCGCTGCAACTCAAAGCTGCCTTCGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCCA
 AGAGGAAAGAGACGGTTAATATCAGCGCCGAGATGGCGCATGGTATCCTTCGC
 CGCATCTCTGAGCGCGATCTGCACAACATTGGTCTTAACTCAGACTATGCTCGT
 CCCGAGTGGATGATCATCACTGTCTGCCTGTACCCCTCCTCCCGTGCGTCCT
 AGTATTTCCATGGATGGTACTGGTACTGGCACGAGAAACGAGGATGATCTGAC
 CTACAAGCTTGGTGACATTATCCGCGCCAACGGTAATGTCAAGCAGGCCATTC
 GTGAAGGATCACCGCAACACATCGCGCGTGATTTTGAGGAGCTGCTGCAGTAC
 CATGTTGCCACCTACATGGACA

Ek 18. *Beauveria pseudobassiana* HpI-4'ün 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

AAGTTTTGGAGATTGTCTGCCACAACCTGCAGCAAAGTGTTGGCCGATGAAGTT
 GGTCTTCCCTTTACTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATT
 TTCAGAGCGATCCCGAATTCGTACAGCTATTCACACTCGCGATCCGAACTC

CGATTCAAGCGCGTTTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATG
 AGGAGCGGCAGGACAAGAATAAAGACGAAGAGTTCGCTCCAGGTGTCAAGAA
 CGTCGTCCTTGAAGGACACGGTGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGAC
 AGGCCGCGCTGCAACTCAAAGCTGCTTTTGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCC
 AAGAGGAAAGAGACGGTTAATATCAGCGCCGAGATGGCGCATGGTATCCTTCG
 CCGCATCTCCGAGCGCGATCTGCACAACATTGGCCTTAACTCGGATTATGCTCG
 TCCCGAGTGGATGATCATCACTGTTCTGCCTGTACCCCTCCACCCGTGCGTCC
 TAGTATTTCCATGGATGGTACTGGTACTGGCACGAGAAATGAGGATGATTTGA
 CCTACAAGCTTGGCGACATTATCCGCGCCAATGGTAATGTCAAGCAGGCCATT
 CGCGAAGGATCACCGCAACACATCGCGCGTGATTTTGAGGAGCTGCTGCAATA
 CCATGTTGCCACCTACATGGACAAC

Ek 19. *Beauveria bassiana* HpI-6'nin 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

GGTTTTGGAGATTGTCTGCCACAACCTGCAGCAAAGTGTTGGCCGATGAAGTTG
 GTCTTCCCTTTACTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATTA
 TCAGAGCGATCCCGAATTCGTCACAGCTATTCATACTCGCGATCCGAAACTTCG
 ATCAAGCGCGTTTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATGAG
 GAGCGGCAAGACAAGAATAAAGACGAAGAGTTCGCTCCAGGTGTCAAGAACG
 TCGTTCTCGAAGGACATGGCGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGACAG
 GCCGCGCTGCAACTCAAAGCTGCCTTCGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCCAA
 GAGGAAAGAGACGGTTAATATCAGCGCCGAGATGGCGCATGGTATCCTTCGCC
 GCATCTCTGAGCGCGATCTGCACAACATTGGTCTTAACTCAGACTATGCTCGTC
 CCGAGTGGATGATCATCACTGTCCTGCCTGTACCCCTCCTCCCGTGCCTCCTA
 GTATTTCCATGGATGGTACTGGTACTGGCACGAGAAACGAGGATGATCTGACC
 TACAAGCTTGGTGACATTATCCGCGCCAACGGTAATGTCAAGCAGGCCATTCG
 TGAAGGATCACCGCAACACATCGCGCGTGATTTTGAGGAGCTGCTGCAGTACC
 ATGTTGCCACCTACATGGACAACGC

Ek 20. *Beauveria bassiana* HpI-7'nin 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

GGTTTTGGAGATTGTCTGCCACAACCTGCAGCAAAGTGTTGGCCGATGAAGTTG
 GTCTTCCCTTTACTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATTA
 TCAGAGCGATCCCGAATTCGTCACAGCTATTCATACTCGCGATCCGAAACTTCG
 ATCAAGCGCGTTTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATGAG
 GAGCGGCAAGACAAGAATAAAGACGAAGAGTTCGCTCCAGGTGTCAAGAACG
 TCGTTCTCGAAGGACATGGCGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGACAG
 GCCGCGCTGCAACTCAAAGCTGCCTTCGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCCAA
 GAGGAAAGAGACGGTTAATATCAGCGCCGAGATGGCGCATGGTATCCTTCGCC
 GCATCTCTGAGCGCGATCTGCACAACATTGGTCTTAACTCAGACTATGCTCGTC
 CCGAGTGGATGATCATCACTGTCCTGCCTGTACCCCTCCTCCCGTGCCTCCTA
 GTATTTCCATGGATGGTACTGGTACTGGCACGAGAAACGAGGATGATCTGACC
 TACAAGCTTGGTGACATTATCCGCGCCAACGGTAATGTCAAGCAGGCCATTCG
 TGAAGGATCACCGCAACACATCGCGCGTGATTTTGAGGAGCTGCTGCAGTACC
 ATGTTGCCACCTACATGGACAACAC

Ek 21. *Beauveria bassiana* HpI-10'un 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

AGGTTTTGGAGATTGTCTGCCACAACACTGCAGCAAAGTGTTGGCCGATGAAGTT
 GGTCTTCCCTTTACTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATT
 ATCAGAGCGATCCCGAATTCGTACAGCTATTCATACTCGCGATCCGAAACTTC
 GATTCAAGCGCGTTTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATGA
 GGAGCGGCAAGACAAGAATAAAGACGAAGAGTTTCGCTCCAGGTGTCAAGAAC
 GTCGTTCTCGAAGGACATGGCAGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGACA
 GGCCGCGCTGCAACTCAAAGCTGCCTTCGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCCA
 AGAGGAAAGAGACGGTTAATATCAGCGCCGAGATGGCGCATGGTATCCTTCGC
 CGCATCTCTGAGCGCGATCTGCACAACATTGGTCTTAACTCAGACTATGCTCGT
 CCCGAGTGGATGATCATACTGTCCTGCCTGTACCCCTCCTCCCGTGCCTCCT
 AGTATTTCCATGGATGGTACTGGTACTGGCACGAGAAACGAGGATGATCTGAC
 CTACAAGCTTGGTGACA

Ek 22. *Beauveria bassiana* HpA-3'ün 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

GATTGTCTGCCACAACACTGCAGCAAAGTGTTGGCCGATGAAGTTGGTCTTCCCTT
 TACTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATTATCAGAGCGAT
 CCCGAATTCGTACAGCTATTCATACTCGCGATCCGAAACTTCGATTCAAGCGC
 GTTTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATGAGGAGCGGCAAG
 ACAAGAATAAAGACGAAGAGTTTCGCTCCAGGTGTCAAGAACGTCGTTCTCGAA
 GGACATGGCAGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGACAGGCCGCGCTGC
 AACTCAAAGCTGCCTTCGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCCAAGAGGAAAGA
 GACGGTTAATATCAGCGCCGAGATGGCGCATGGTATCCTTCGCCGCATCTCTG
 AGCGCGATCTGCCAACATTGGTCTTAACTCAGACTATGCTCGTCCCGAGTGGAT
 GATCATACTGTCCTGCCTGTACCCCTCCTCCCGTGCCTCCTAGTATTTCCAT
 GGAGGACTGGTACTGGCACGAGAAACGAGGATGATCTGACCTACAAGCTTGG
 TGACATTATCCGCGCCAACGGTAATGTCAAGCAGGCCATTC

Ek 23. *Beauveria bassiana* HpA-4'ün 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TTGTCTGCCACAACACTGCAGCAAAGTGTTGGCCGATGAAGTTGGTCTTCCCTTTA
 CTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATTATCAGAGCGATCC
 CGAATTCGTACAGCTATTCATACTCGCGATCCGAAACTTCGATTCAAGCGCGT
 TTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATGAGGAGCGGCAAGAC
 AAGAATAAAGACGAAGAGTTTCGCTCCAGGTGTCAAGAACGTCGTTCTCGAAGG
 ACATGGCAGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGACAGGCCGCGCTGCAA
 CTCAAAGCTGCCTTCGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCCAAGAGGAAAGAGAC
 GGTTAATATCAGCGCCGAGATGGCGCATGGTATCCTTCGCCGCATCTCTGAGC
 GCGATCTGCACAACATTGGTCTTAACTCAGACTATGCTCGTCCCGAGTGGATG
 ATCATACTGTCCTGCCTGTACCCCTCCTCCCGTGCCTCCTAGTATTTCCATG
 GATGGTACTGGTACTGGCACGAGAAACGAGGATGATCTGACCTACAAGCTTGG
 TGACATTATCCGCGCCAACGGTAATGTCAAGCAGGCCATTC

Ek 24. *Beauveria bassiana* HpA-5'in 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

GATTGTCTGCCACAACACTGCAGCAAAGTGTTGGCCGATGAAGTTGGTCTTCCCTT
TACTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATTATCAGAGCGAT
CCCGAATTCGTCACAGCTATTCATACTCGCGATCCGAAACTCCGATTCAAGCG
CGTTTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATGAGGAGCGGCAA
GACAAGAATAAAGACGAAGAGTTCGCTCCAGGTGTCAAGAACGTCGTTCTCGA
AGGACATGGCGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGACAGGCCGCGCTG
CAACTCAAAGCTGCCTTCGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCCAAGAGGAAAGA
GACGGTTAATATCAGCGCCGAGATGGCGCATGGTATCCTTCGCCGCATCTCTG
AGCGCGATCTGCACAATATTGGTCTTAACTCAGACTATGCTCGTCCCGAGTGG
ATGATCATCACTGTCCTGCCTGTACCCCTCCTCCCGTGCGTCCTAGTATTTCC
ATGGATGGTACTGGTACTGGCACGAGAAACGAGGATGATCTGACCTACAAGCT
TGGTGACATTATCCGCGCCAACGGTAATGTCAAGCAGGCCATT

Ek 25. *Beauveria bassiana* HpI-2'nin 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

CATGGATCATTTTGAAGTCAGCTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACGCATCGC
ACGCCACGGCCATGTCTACATCTGCCCAGCACTCTTGCCACGTCTGGCATGC
CCGCTTTCGCGTATACGACGTCGATCCCGACACATTTGCCATTGTTCGATGCCG
TTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCCGAGTATCAAAAATCCGGGCCTACA
TGGCAGAAATACTACTCTGCCAAAGAGTCTTATGGCTCACTGCTTTCTCCGCC
ATCGCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCACTTTAGC
TTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGACGAATACGTGTCTCGCAAGAGCCGGG
GGTGGATCAAGAAAAGTTGCCGGGGAGACTGCAAGGAGGAGGAAATCTGCCA
GCTGCGTGCCGGTCGCAGCCAGAGCAACTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGA
CCTTTGTCAAAAGGGACAATGGCTTGGAGCGACCGAAGCGTGCGCGCTGCGAC
AATTCAGTCATGCCCAGATATGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTG
GAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCTAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGA
GCAGCAAGATCGCTCTGTTCATAAAAGGGCATCACCTTCGCCCAACTCAACAG
ACACTGGTGCGGAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGC
GGTACAGCGGCCTTGCCACAGGCACCAACGCGCCAAAGTCATCGGCATTTAC
ATTGCAGTGTCCATCCGCACTTTCCATCGTCTTTGTACTCGCTCTCACTCTAGT

Ek 26. *Beauveria pseudobassiana* HpI-4'ün 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

CGACGTTTCCCTAAAAGGAACAGTTGCTTTGAAGCGTCCGAAGCGTGCGCGTT
GCGACAATTCAGTCATGCCCGATATGCTGGGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGAT
CTGCTCGAAGATCTTCAGGCGAGGTTTATTGCAAGCGGCGCAAGGATCAAGCC
TTGGAAGCAGGAAGGTCTCTTTGTTTCGCAAGAGGGCATCACTTTCGCCCAACT
CAAAGACGCTGATGCGGAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAG
TGGAAGCGGTACAGCGGCCTTGCCACAGAAACCAATGCGCCAAAGTCATCA
GCATTTACATTGCAGTGTCCAGCCGCAATCTCCATTGTCTCTGCACTGGCACTT
ACACTAGTCTTCCACTAAGAGAGCAACGCTCACAGGTCAGAAAGGTGACAGTT
GGATTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGATATTATTAATGTATTCA
TGGAATTTACTAAAGCCGGGAACCAATTTACAGGGAAGGCGGGTATAAATT

TGCACTTCCTGGAGCCAACCACCTCTTGGAGTAGGTCTGATTGAAGCCCGAGT
 AGCGACCCACGCTAGGAGGCCAAATCGCCACAGCGGTACCCAGTTGCTCTCG
 TTCTTTCCAGAGTAAGAATGAGTTCTTTGCCCTCGGTAAAGAATGAGTGGTCA
 ATCCAGTTCTTGGTGTAGGGCTTGCCGTCAAGTGTCGCACTCTGAATATAAATG
 TTCTTGTAGGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGTATCTTGGCCGTCTTCCCCGTG
 ACGGGGTGCTTGTATGGTCACGCTGGGGAAGAAGGGCGGCGTGATGAGGTAGA
 CGTCTTGTCCGGGATTGGGGAAGAGACCCATCATGCTAAAGGCGACAAAGGA
 GCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTTCCGGGAAGACCGGGAGGGGTCTGGCTGGA
 A

Ek 27. *Beauveria bassiana* HpI-6'nin 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

ATGGATCATTTTGAAGTCAGCTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCA
 CGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCAGCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCC
 CGCTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCCGACACATTTGCCATTGTCGATGCCGT
 TACCTACATTGCCGACATGACCGATCCCGAGTATCAAAAATCCGGGCCTACAT
 GGCAGAAATACTACTCTGCCAAAGAGTCCTATGGCTCACTGCTTTCTCCGCCCA
 TCGCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCACTTTAGCTT
 TTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGACGAATACGTGTCTCGCAAGAGCCGGGGG
 TGGATCAAGAAAAGTTGCCGGGGAGACTGCAAGGAGGAGGAAATCTGCCAGC
 TGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAACTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACC
 TTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGGAGCGACCGAAGCGTGCGCGCTGCGACAA
 TTCAGTCATGCCGATATGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGA
 GGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCTAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAGC
 AGCAAGATCGCTCTGTTCAAAAAGGGCATCACCTTCGCCCAACTCAACAGAC
 ACTGGTTCGGAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCG
 GTACAGCGGCCTTGCCACAGGCACCAACGCGCCAAAGTCATCGGCATTTACA
 TTGCAGTGTCCATCCGCACTTTCCATCGTCTTTGTACTCGCTCTCACTCTAGTA

Ek 28. *Beauveria bassiana* HpI-7'nin 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

GAGGTACGCGGTCTCGACACCATTTCGCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACAT
 GGATCATTTTGAAGTCAGCTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACG
 CCACGGCCATGTCCTACATCTGCCAGCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCG
 CTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCCGACACATTTGCCATTGTCGATGCCGTTA
 CCTACATTGCCGACATGACCGATCCCGAGTATCAAAAATCCGGGCCTACATGG
 CAGAAATACTACTCTGCCAAAGAGTCCTATGGCTCACTGCTTTCTCCGCCATC
 GCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCACTTTAGCTTTT
 GAAAGCAACGCCACGCTGTTTGACGAATACGTGTCTCGCAAGAGCCGGGGGTG
 GATCAAGAAAAGTTGCCGGGGAGACTGCAAGGAGGAGGAAATCTGCCAGCTG
 CGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAACTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTT
 TGTCAAAGGGACAATGGCTTGGAGCGACCGAAGCGTGCGCGCTGCGACAATT
 CATTTCATGCCGATATGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGCATG
 ATCTTCATGCGAGATACATTGCTAGAGGCGCAAGGATCACCCCTTGTCGCCATC

TGGATCGTCTTGTTACTTAAAAGGTATTCTCATTTTGGCTTTTTCAACGGAGTATC
TCACTTAATCGCGCTAAACCCACATTACGCCTTTCTCACATATTATACTCTGG
ACCTTATAACCCTTTTGGACGATTCCCTTCGCAATTATGTTTCGTTTATTAGAGC
AATTTTTGT

Ek 29. *Beauveria bassiana* HpI-10'un 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

ACATGGATCATTTCGAAGTCAGCTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACGCATCG
CACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCAGCACTCTTGCCACGTCTGGCATG
CCCGCTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCCGACACATTTGCCATTGTGATGCC
GTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCCGAGTATCAAAAATCCGGGCCTAC
ATGGCAGAAATACTACTCTGCCAAAGAGTCCTATGGCTCACTGCTTTCTCCGCC
CATCGCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCACTTTAG
CTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGACGAATACGTGTCTCGCAAGAGCCGG
GGGTGGATCAAGAAAAGTTGCCGGGGAGACTGCAAGGAGGAGGAAATCTGCC
AGCTGCGTGCCGGTCGCAGCCAGAGCAACTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCG
ACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGGAGCGACCGAAGCGTGCGCGCTGCGA
CAATTCAGTCATGCCCCGATATGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCT
GGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCTAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGA
AGCAGCAAGATCGCTCTGTTCAAAAAGGGCATCACCTTCGCCCAACTCAACA
GACACTGGTGCAGGAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAA
GCGGTACAGCGGCCTTGCCACAGGCACCAACGCGCCAAAGTCATCGGCATTT
ACATTGCAGTGTCCATCCGCACTTTCCATCGTCTTTGTACTCGCTCTCACTCTAG
TA

Ek 30. *Beauveria bassiana* HpA-3'ün 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

CACATGGATCATTTCGAAGTCAGCTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACGCATC
GCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCAGCACTCTTGCCACGTCTGGCAT
GCCCGCTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCCGACACATTTGCCATTGTGATGC
CGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCGGAGTATCAAAAATCCGGGCCTA
CATGGCAGAAATACTACTCTGCCAAAGAGTCCTATGGCTCACTGCTTTCTCCGC
CCATCGCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCACTTTA
GCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGACGAATACGTGTCTCGCAAGAGCCG
GGGTGGATCAAGAAAAGTTGCCGGGGAGACTGCAAGGAGGAGGAAATCTGC
CAGCTGCGTGCCGGTCGCAGCCAGAGCAACTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGC
GACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGGAGCGACCGAAGCGTGCGCGCTGCG
ACAATTCAGTCATGCCCCGATATGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGC
TGGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCTAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTG
AAGCAGCAAGATCGCTCTGTTCAAAAAGGGCATCACCTTCGCCCAACTCAAC
AGACTGGTGCAGGAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCA
AGCGGTACAGCGGCCTTGCCACAGGCACCAACGCGCCAAAGTCATCGGCATT
TACATTGCAGTGTCCATCCGCACTTTCCATCGTCTTTGTACTCGCTCTCACTCTA
GTACT

Ek 31. *Beauveria bassiana* HpA-4'ün 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

GCACATGGATCATTTTCGAAGTCAGCTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACGCAT
 CGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCAGCACTCTTGCCCACGTCTGGCA
 TGCCCGCTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCCGACACATTTGCCATTGTTCGATG
 CCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCGGAGTATCAAAAATCCGGGCCT
 ACATGGCAGAAATACTACTCTGCCAAAGAGTCCTATGGCTCACTGCTTTCTCCG
 CCCATCGCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCACTTT
 AGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGACGAATACGTGTCTCGCAAGAGCC
 GGGGGTGGATCAAGAAAAGTTGCCGGGGAGACTGCAAGGAGGAGGAAATCTG
 CCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAACTGCCACAAGATTAAGCCCGGTG
 CGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGGAGCGACCGAAGCGTGCGCGCTGC
 GACAATTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGATCT
 GCTGGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCTAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTT
 GGAAGCAGCAAGATCGCTCTGTTTCATAAAAGGGGCATCACCTTCGCCCAACTCA
 ACAGACACTGGTGCGBAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGC
 AAGCGGTACAGCGGCCTTGCCCACAGGCACCAACGCGCCAAAGTCATCGGCAT
 TTACATTGCAGTGTCCATCCGCACTTTCCATCGTCTTTGTACTCGCTCTCACTCT
 A

Ek 32. *Beauveria bassiana* HpA-5'in 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

CACGCACATGGATCATTTTCGAAGTCAGCTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACG
 CATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCAGCACTCTTGCCCACGTCTG
 GCATGCCCGCTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCCGACACCTTTGCCATTCTCG
 ATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCCGAGTATCAGAAATCCGGG
 CCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGTCCTACGGCTCACTACTCTC
 TCCGCCATTGCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCA
 CTTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGACGAATACGTGTTCGCGCAAGA
 GCCGGGGGTGGATCAAAAAAAGTTGCCAGGGAGACTGCAAGAAGGAGGAAAT
 CTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAACTGCCACAGGATTAAGCCCG
 GTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGGAACGACCGAAGCGTGCGCGT
 TGCGACAACCTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGA
 TCTGCTGGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCGAGCGGCGCAATAATCAAGC
 CTTGGAAGCAGCAAGATGTCTCTGTTTCATAAAGAGGGCATCAGTTTCGCCAAC
 TCAACAGACACTGGTGCGBAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAG
 TGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCCACAGAAACCAACGCGCCAAAGTCATTGG
 CATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCATCGTCTTTGTACTGGCTCTCAC
 TCTTGTCCTCCACTGATAGAGTA

ÖZGEÇMİŞ

06.08.1991 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlköğretimi Bahçelievler Yenibosna İlköğretim Okulu'nda, liseyi Bahçelievler Necip Fazıl Kısakürek Lisesi'nde tamamladı. 2009 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2014 yılında bölüm ve fakülte birinciliği ile mezun oldu. Aynı yıl KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. İyi derecede İngilizce ve orta derecede Korece bilmektedir.

