

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**





**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde**

**Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / /**

**Tezin Savunma Tarihi : / /**

**Tez Danışmanı :**

**Trabzon**

## ÖNSÖZ

‘Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata*, Coleoptera Chrysomelidae)’nin Fungal Patojenlerinin Araştırılması ve Prototip Fungal Mücadele Ürününün Geliştirilmesi’ isimli 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 beni yönlendiren, her türlü desteği ve imkânı sağlayarak değerli bilgilerinden yararlandırım hocam sayın Prof. Dr. İsmail DEMİR’e, laboratuvarında maddi manevi imkanlarını esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ’a, laboratuvar çalışmalarım sırasında göstermiş olduğu ilgiden dolayı Dr. Ardahan ESKİ’ye, Dr. Seda BİRYOL’a, Dr. Dönüş GENÇER’e, arazi çalışmalarımında yardımda bulunan Soner KARABULUT’a ve Gizem KALYONCU’ya ve diğer tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Bilal KUTRUP’a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında FYL-2019-8037 kodlu proje aracılığı ile maddi destek sağlayan KTÜ BAP Birimine ve TÜBİTAK ‘2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı’ Birimine teşekkür ederim.

Son olarak, maddi ve manevi desteklerini daima üzerimde hissettiğim, beni yetiştiren ve bugün olduğum yeri borçlu olduğum fedakâr aileme teşekkürlerimi sunarım.

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata*, Coleoptera Chrysomelidae)’nin Fungal Patojenlerinin Araştırılması ve Prototip Fungal Mücadele Ürününün Geliştirilmesi” 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. 02/07/2021

Kübra YILDIRIM

## 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. Patates Bitkisi .....	2
1.2.1. Patates Bitkisinin Tarihi .....	2
1.2.2. Patatesin Önemi ve Kullanım Alanları .....	3
1.2.3. Patates Üretimi.....	4
1.2.4. Patates Zararlıları.....	4
1.3. Patates Böceği (Coleoptera: Chrysomelidae).....	5
1.3.1. Patates Böceğinin Tarihi.....	5
1.3.2. Hayat Döngüsü .....	6
1.3.3. Diyapoz.....	8
1.3.4. Patates Böceğinin Zararı.....	9
1.3.5. Patates Böceği ile Mücadele Yöntemleri.....	10
1.4. Entomopatojenik Funguslar.....	19
1.4.1. <i>Beauveria bassiana</i> .....	19
1.4.2. Enfeksiyon Döngüsü.....	20
1.5. <i>Beauveria bassiana</i> 'nın Coğrafik Dağılımı ve Konak Aralığı.....	23
1.6. <i>Beauveria bassiana</i> 'nın Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı .....	24
1.7. Çalışmanın Amacı .....	27
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	29
2.1. Böceklerin Toplanması ve Laboratuvara Getirilmesi.....	29
2.2. Fungus İzolasyonu .....	30
2.3. Fungusların Tür Tayinleri.....	30

2.3.1.	Morfolojik Karakterizasyon.....	30
2.3.1.1.	Agar Blok Kültür Yöntemi .....	31
2.3.2.	Moleküler Karakterizasyon .....	31
2.3.2.1.	DNA İzolasyonu .....	31
2.3.2.2.	rRNA ITS1–5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması .....	32
2.3.2.3.	Klonlama ve Sekanslama.....	33
2.3.2.3.1.	Gen Bölgelerinin pGEM-T Easy Vektörüne Ligasyonu .....	33
2.3.2.3.2.	Kompotent Hücre Hazırlanması .....	33
2.3.2.3.3.	Kompotent E. coli JM101'e Transformasyon .....	34
2.3.2.3.4.	Plazmit İzolasyonu, Restriksiyon Endonükleaz (EcoRI) ile Muamele ve Baz Dizilerinin Belirlenmesi .....	34
2.3.3.	Dizi Analizleri .....	35
2.4.	Fungal İzolatların Patojenite Testleri.....	35
2.4.1.	Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	35
2.4.2.	Tarama Testleri .....	36
2.4.3.	Doz Denemeleri .....	37
2.4.4.	Patojenite Analizi.....	37
2.5.	Yağ Formülasyonunun Geliştirilmesi.....	37
2.5.1.	İzolatin Katı Hal Fermentasyonu ile Büyütülmesi .....	37
2.5.2.	Yağ formülasyonunun Hazırlanması .....	38
2.5.3.	Formülasyonun İnsektisidal Aktivite Testleri .....	38
2.5.4.	Formülasyonun <i>Agalastica alni</i> ve <i>Xanthogaleruca luteola</i> Üzerindeki Virulansı .....	39
3.	BULGULAR.....	40
3.1.	Kadavralardan fungus izolasyonu.....	40
3.2.	Fungusların Tür Tayinleri.....	40
3.2.1.	Morfolojik Karakterizasyon.....	40
3.2.2.	Moleküler Karakterizasyon .....	43
3.2.2.1	DNA İzolasyonu .....	43
3.3.	Fungal İzolatların Patojenite Testleri.....	49
3.4.	Fungal İzolatların Doz Deneme Testleri.....	51
3.5.	Virulansı Yüksek Olan İzolatin Ürün Çalışmaları.....	52
3.6.	Formülasyonunun Saksı Denemeleri.....	53
3.7.	Formülasyonun <i>Agalastica alni</i> ve <i>Xanthogaleruca luteola</i> Denemeleri.....	58
4.	TARTIŞMA.....	60

5.	SONUÇLAR.....	66
6.	ÖNERİLER.....	68
7.	KAYNAKLAR .....	69
8.	EKLER .....	103

ÖZGEÇMİŞ



Yüksek Lisans

ÖZET

PATATES BÖCEĞİ (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA*, COLEOPTERA  
CHRYSOMELİDAE)'NİN FUNGAL PATOJENLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE PROTOTİP  
FUNGAL MÜCADELE ÜRÜNÜNÜN GELİŞTİRİLMESİ

Kübra YILDIRIM

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. İsmail DEMİR  
2021, 80 Sayfa, 23 Sayfa Ek

Bu çalışmada, ilk olarak tarım arazilerinde doğal halde ölü olarak bulunan patates böceği kadavralarından 12 adet fungal patojenler izole edildi ve izolatlar Ld 1-12 şekilde numaralandırıldı. Morfolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları, izolatların *Beauveria bassiana* olduğunu ortaya koydu. Tarama testlerinde  $1 \times 10^7$  spor/ml konsantrasyonda LdA 1 larvalar ve erginler üzerinde sırasıyla %80 ve %50 ölüm oranlarıyla en etkili izolat olarak belirlendi. Doz denemelerinde de LdA 1 izolatu  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda larva ve erginlerde yedinci gün sonunda sırasıyla %100 ve %47 ölüm etkisi gösterdi. Doz denemeleri sonucunda, larva ve erginler için  $LC_{50}$  değerleri sırasıyla  $0.2 \times 10^6$  (0.03-1.15) ve  $0.17 \times 10^8$  (0.002-1.411) olarak hesaplandı. Bu izolatın yağ formülasyonu (Crysomelisidal) geliştirildi ve laboratuvar koşullarında saksı denemeleriyle larva ve erginler üzerinde  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda sırasıyla %100 ve %97 mortalite ve her ikisinde de %100 mikozlanma gösterdiği tespit edildi. Ticari ürün Nostalgist ise aynı koşullarda larva ve erginlerde sırasıyla %27 ve %3 mortalite ve %0 mikozlanma gösterdi. Formülasyonun  $LC_{50}$  değeri ise larvalarda  $1.2 \times 10^6$  (0.3-4.8) ve erginlerde de  $0.2 \times 10^7$  (0.06-0.9) olarak hesaplandı.

Ayrıca bu ürünün Crysomeliseida familyasından *Agalastica alni* ve *Xanthogaleruca luteola* üzerinde de etkili olduğu belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Patates böceği, *Beauveria bassiana*, Biyolojik mücadele.



Master Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION OF FUNGAL PATHOGENS OF POTATO BEETLE (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA*, COLEOPTERA CHRYSOMELIDAE) AND DEVELOPMENT OF PROTOTYPE FUNGAL CONTROL PRODUCT

Kübra YILDIRIM

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Biology Graduate Program  
Supervisor: Prof. Dr. İsmail DEMİR  
2021, 80 Pages, 23 Pages Appendix

In this study, firstly, 12 fungal pathogens were isolated from dead potato beetle cadavers on farmland and the isolates were numbered as Ld 1-12. Morphological and molecular characterization studies revealed that the isolates were *Beauveria bassiana*. In screening tests, LdA 1 at  $1 \times 10^7$  spore/ml concentration was determined as the most effective isolate with 80% and 50% mortality rates on larvae and adults, respectively. In the dose trials, LdA 1 isolate showed a 100% and 47% mortality effect at the end of the seventh day in larvae and adults at a concentration of  $1 \times 10^8$  spores/ml. As a result of dose trials,  $LC_{50}$  values for larvae and adults were calculated as  $0.2 \times 10^6$  (0.03-1.15) and  $0.17 \times 10^8$  (0.002-1.411), respectively. The oil formulation (Crysomelicidal) of this isolate was developed and it was determined that in pot experiments under laboratory conditions, it showed 100%, 97% mortality, and 100% mycosis in both larvae and adults at a concentration of  $1 \times 10^8$  spores/ml, respectively. The commercial product Nostalgist showed 27% and 3% mortality and 0% mycosis in larvae and adults, respectively, under the same conditions. The  $LC_{50}$  value of the formulation was calculated as  $1.2 \times 10^6$  (0.3-4.8) in larvae and  $0.2 \times 10^7$  (0.06-0.9) adults.

In addition, it was determined that this product was effective on *Agalastica alni* and *Xanthogaleruca luteola* from the family Chrysomelidae.

**Key Words:** Colorado Potato Beetle, *Beauveria bassiana*, Microbial control.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Patates bitkisi ( <i>Solanum tuberosum</i> ) .....	4
Şekil 2. Patates böceğinin dünyadaki dağılımı .....	6
Şekil 3. Patates böceğinin hayat döngüsü. ....	8
Şekil 4. Patates böceğinin patates bitkisi (A) ve patlıcan bitkisi (B) yaprakları üzerindeki zarar şekli .....	10
Şekil 5. <i>Beauveria</i> cinsinin morfolojik özellikleri. A, mikroskopik görüntüsü B, koloni morfolojisi .....	20
Şekil 6. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamaklarının gösterimi. ....	21
Şekil 7. Mikoatlanmış doğal ölü patates böceği kadavraları. ....	29
Şekil 8. Tarım arazilerinden toplanan patates böcekleri .....	29
Şekil 9. Fungal örneklerin ‘Scotch tape’ tekniğiyle mikroskopik incelenmesi .....	31
Şekil 10. Tüm izolatların larva erginler üzerinde tarama testleri görüntüleri.....	36
Şekil 11. Yağ formülasyonun larva ve erginler üzerinde saksı denemeleri.....	39
Şekil 12. Agar üzerindeki fungal izolatların üstten koloni morfolojileri.....	41
Şekil 13. Fungal izolatlarının spor ve konidiyofor yapıları. ....	42
Şekil 14. Fungal izolatların rRNA ITS1-5.8S-ITS2 bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M: Standart Marker (100 bp DNA ladder).....	43
Şekil 15. Fungal izolatların EF1- $\alpha$ bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M: Standart Marker (100 bp DNA ladder) .....	44
Şekil 16. Fungal izolatların RPB1 bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M: Standart Marker (1 kb DNA ladder). ....	44
Şekil 17. Fungal izolatların Bloc bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M: Standart Marker (1 kb DNA ladder) .....	45
Şekil 18. İzolatlarının ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	47
Şekil 19. İzolatlarının birleştirilmiş olarak EF1- $\alpha$ , RPB1 ve Bloc dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. ....	48
Şekil 20. İzolatların $1 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda larvalar üzerindeki tarama testi sonuçları .....	49
Şekil 21. İzolatların $1 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda erginler üzerindeki tarama testi sonuçları .....	50
Şekil 22. Tarama testlerinde ölen böceklerin mikoatlanma görüntüleri. Larvalar (a) ve erginler (b) üzerindeki mikoatlanmalar.....	50
Şekil 23. LdA 1 izolatının larvalar üzerindeki doz denemesi sonuçları. ....	51

Şekil 24	LdA 1 izolatının erginler üzerindeki doz deneme testleri .....	52
Şekil 25.	Tarama testlerinde ölen böceklerin mikozlanma görüntüleri. Larvalar (a) ve erginler (b) üzerindeki mikozlanmalar.....	52
Şekil 26.	LdA 1 izolatının sıvı besiyeri ve pirinç yüzeyinde büyütülmesi. ....	53
Şekil 27.	LdA 1 izolatından geliştirilen yağ formülasyonlu prototip ürün. ....	53
Şekil 28.	Yağ formülasyonunun larvalar üzerinde doz denemeleri sonuçları. ....	55
Şekil 29.	Yağ formülasyonunun erginler üzerinde doz denemeleri sonuçları. ....	56
Şekil 30.	Yağ formülasyonunun saksı uygulaması ile larvalar üzerindeki 7. gün doz denemesi sonuçları.....	57
Şekil 31.	Yağ formülasyonunun saksı uygulaması ile erginler üzerindeki 7. gün doz denemesi sonuçları.....	57
Şekil 30.	Yağ formülasyonunun saksı denemeleri sonucunda ergin ve larvalar üzerindeki mikozlanma görüntüleri.....	58
Şekil 33.	Yağ formülasyonunun saksı denemeleri sonucunda prepupa görüntüleri. ....	58
Şekil 34.	Formülasyonun <i>Agalastica alni</i> larvaları ve <i>Xanthogaleruca luteola</i> erginleri üzerindeki 7. gün deneme sonuçları.....	59

## TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Yıllık 50.000 tonun üzerinde patates üretimi yapılan illerin durumu. ....	3
Tablo 2. Patates böceğinin doğal düşmanları .....	12
Tablo 3. <i>Beauveria</i> ve <i>Metarhizium</i> türlerinin temel fungal virülans genleri. ....	22
Tablo 4. <i>B. bassiana</i> ve <i>B. brongniartii</i> 'nin yararlı ve hedef olmayan diğer organizmalar üzerindeki etkisi hakkında yapılan çalışmalar. ....	25
Tablo 5. Fungal izolatların rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri.....	46
Tablo 6. Fungal izolatların accession numaraları. ....	47

## SEMBOLLER DİZİNİ

ARSEF : USDA-ARS entomopatojenik fungus koleksiyonu

Bp : Baz çifti

<sup>0</sup>C : Derece

DNA : Deoksiribonükleik asit

EPF : Entomopatojenik fungus

Ha : Hektar

ITS : Ara transkript bölgesi

ml : Mililitre

NCBI : Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

PDAY : Patates dekstroz agar + maya ekstraktı

V : Volt

μ : Mikro

μg : Mikrogram

μl : Mikrolitre

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Dünyadaki tarım alanlarında oldukça önemli ürünler çok çeşitli miktarlarda üretilmektedir. Bunlar, değişik oranlarda, insan ve diğer canlılar için besin kaynakları olarak tüketilmektedir. Ayrıca, bunların üretimlerini yapan üreticilere sağladıkları ekonomik katkılarda oldukça önemlidir. Özellikle bir tarım ülkesi olduğumuzu düşünecek olursak, bu üretimin bizim için ne kadar daha büyük bir öneme sahip olduğu ortaya çıkmaktadır.

Ülkemizde birçok tarım ürününün yetiştiriciliği yapılmaktadır. Temel besin kaynaklarımızdan mısır, buğday, pirinç, çeltik, soya fasulyesi, patates bunların sadece birkaçıdır. Temelde besin kaynağı olarak kullanılmalarının yanı sıra yukarıda belirtilenlere ilave olarak, pamuk ve tütün gibi endüstriyel amaçlı kullanımı olan çok yaygın tarımsal ürünler de üretilmektedir. Farklı sebeplerden dolayı zaman zaman tarımsal üretimin ürün kalitesi düşmekte ve buna bağlı olarak mahsulün hasılat kazancı etkilenmektedir.

Üretimi yapılan bitkilerde veya tahıl ürünlerinde ürün kalitesini ve verimi etkileyen abiyotik ve biyotik faktörler vardır. Abiyotik faktörler arasında yer alan; çevresel, iklimsel ve kültürel etkiler birçok tarım ürününün üretiminde etkili olmaktadır. UV, sıcaklık, nem vb., gibi bu faktörlerin etkileri zaman zaman önemli ürün kayıpları şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bunun yanı sıra, zararlı böcekler biyotik faktörler arasında yer almaktadır.

Zararlı böcekler bitkisel ürün kayıplarında önemli bir yer tutmaktadır. Genel değerlendirmede bitkilerin farklı kısımlarını etkileyen çok sayıda zararlı olduğu anlaşılır. Bunlar, bitkilerin köklerinden başlayarak, yaprak, sürgün, tomurcuk, meyva gibi bütün kısımları üzerinde değişik miktar ve oranlarda zararlar oluşturmaktadır. Bu zarar ve etkinin yeri ve derecesine bağlı olarak, bitki tamamen kuruyabildiği gibi önemli derecelerde yapısal ve ürün kayıplarına da uğrayabilir. Sonuç olarak bundan üreticiler, tüketiciler ve ihracatçılar dolayısıyla, tüm ülke etkilenmektedir.

Önemli gıda maddelerinden birisi olarak tüketilen patates bitkisi, bu abiyotik ve biyotik faktörlerin ürün kalitesini ve mahsul verimini etkilemesinin yanı sıra, zararlı böcekler patates verimi üzerinde önemli derecede verim kayıplarına neden olmaktadır.

## **1.2. Patates Bitkisi**

### **1.2.1. Patates Bitkisinin Tarihi**

Dünyanın hemen her ülkesinde tarımı yapılan patates, insan beslenmesinde buğday ve pirinç gibi temel besin maddelerinden biridir. Türkiye tarımı ve ekonomisinde önemli bir yere sahip olan patates, anavatanı Güney Amerika olan bir kültür bitkisidir (Alisdair vd., 2001). Dünya ülkelerinin %79'unda patates yetiştirilmekte ve üretilen miktar buğday, mısır ve pirinçten sonra 4. sırada yer almaktadır (Onaran ve vd., 2000). Patates üretiminin dünyada en çok yapıldığı ülkeler sırasıyla Çin, Rusya, Hindistan, Ukrayna, ABD ve Almanya olurken, hektara verimin en yüksek olduğu ülkeler sırasıyla ABD, Almanya, Türkiye, Hindistan, Polonya, Çin ve Rusya'dır (Erarslan, 2018).

Colorado'da ilk kez kültüre edilmiş olan patatesin Türkiye'de on dokuzuncu yüzyılın sonlarında ekimi yapılmaya başlanmıştır. Bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de hemen her bölgede yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bölgeler bazında ise ilk olarak Doğu Karadeniz Bölgesi'nde, daha sonrasında da Batı Trakya Bölgesi'nde kültüre alınmıştır. Buralardan da tüm Türkiye'ye yayılmış ve farklı iklimsel koşullarda ekimi yapılmaya başlanmıştır (Berksan, 2002). Türkiye'deki patates üretimi bölgesel olarak Tablo 1'de gösterilmiştir. Tabloya bakıldığında patates üretiminin en yoğun olduğu illerin başında Niğde, Nevşehir, İzmir, Afyon ve Bolu'nun yer aldığı görülmektedir. Bölgelere göre bir değerlendirme yapıldığında ise Türkiye'de patates üretiminin %55.0'i İç Anadolu ve Geçit Bölgesi'nden, %16.0'sı Ege, Akdeniz ve Marmara bölgelerinden, %8.0'i Doğu Anadolu Bölgesi'nden ve %21.0'i de Karadeniz ve Kuzey Geçit Bölgelerinden karşılanmaktadır (Tarımsal Yapı ve Üretim, 2005).

Ülkemizde yetiştirilen patateslerin büyük bir kısmı yemeklik olarak tüketilmekte, çok az bir kısmı ise sanayide değerlendirilmekte ve tohumluk olarak kullanılmaktadır (Arioğlu, 2002). Patates, diğer ürünlerle kıyaslandığında nispeten daha ucuz bir gıda kaynağı olmasına rağmen, tüketiminin ülkemizde yeterince yaygınlaştığını ve çeşitlendiğini söylemek zordur (Arioğlu, 2006).

Tablo 1. Yıllık 50.000 tonun üzerinde patates üretimi yapılan illerin durumu.

İller	Dikim (1000 ha)	Üretim (1000 ha)	Verim (kg/da)	Üretim Payı (%)
Niğde	34.4448	1.293.694	3755.5	24.4
Nevşehir	24.676	911.850	3695.3	17.2
Afyon	9.905	359.498	3629.5	6.8
İzmir	13.263	339.875	2562.6	6.4
Bolu	10.033	281.308	2803.8	5.3
Konya	6.887	169.208	2456.9	3.2
Trabzon	8.520	150.854	1770.6	2.8
Aksaray	4.360	133.041	3051.4	2.5
Ordu	8.908	130.444	1464.3	2.5
Erzurum	5.500	106.055	1928.3	2.0
Tokat	2.940	84.121	2135.1	1.6
Bursa	3.576	74.239	2076.0	1.4
Sivas	4.062	71.011	1748.2	1.3
Samsun	2.435	54.086	2221.2	1.0
Toplam	139.513	4.159.287	2981.3	78.4
Diğerleri	54.930	1.140.716	2561.7	21.6
TÜRKİYE	194443	5.300.000	2725.7	100.0

### 1.2.2. Patatesin Önemi ve Kullanım Alanları

Patates (*Solanum tuberosum L.*), Solanaceae (Patlıcangiller) familyasına ait bir türdür. Patatesin yapısında bol miktarda karbonhidrat, protein, vitamin, mineral ve yağ gibi maddeler bulunduran besin değeri yüksek bir üründür. Bu zengin içeriğiyle patates, temel bir besin kaynağıdır.

Ülkemizde geniş ekim alanına sahip olan patatesin, endüstride de kullanılması ve ihracat imkanının bulunması, ülke ekonomisinde önemli bir yer almasını sağlamıştır. Küresel çapta üretimi yapılan patates birçok farklı amaçla kullanılmaktadır. Yumrularında; nişasta halinde karbonhidrat, protein, vitaminler ve demir gibi önemli besin maddelerini içeren patates, insanlar tarafından doğrudan mutfaklarda tüketildiği gibi, işlenerek değişik şekillerde (cips, parmak patates vs.) de tüketilmektedir. Yüksek oranda nişasta içeren çeşitler, endüstride hammadde (un, nişasta, alkol, vs.) olarak ve bir kısmı da hayvan yemi (ıskartalar) olarak değerlendirilmektedir. Patates nişastasası, salam ve sosis yapımında oldukça yaygın kullanılmaktadır (Arıoğlu, 2002). Gıda maddesi olarak kullanılan patates aynı zamanda endüstriyel nişasta, ilaç ve hatta kağıt sanayisinde tutkal olarak da kullanılmaktadır. Ancak, birçok tarım ürünüde olduğu gibi patates üretiminde de zararlı böcekler nedeniyle üretim kalitesi ve miktarı düşmektedir.



### 1.2.3. Patates Üretimi

Gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerde patates (Şekil 1), temel gıda maddesi olması sebebiyle üretimi bol miktarda yapılmaktadır. Türkiye’de yaklaşık 150 yıllık geçmişi bulunan patatesin ülkedeki üretimi, özellikle 1970’li yıllardan sonra, hızlı bir artış göstermiştir (Arıoğlu, 2006). Patates üretiminde yaşanan bu artışın nedenleri arasında; 1970’li yıllarda “Ülkesel Patates Projesinin” hayata geçirilmesi, 1980’li yıllarda “308 Sayılı Tohumculuk Yasasında” yapılan değişiklikler ve 1984 yılından itibaren de “Para Kredi Kurulu Kararı ile Özel Tohumculuk Sektörünün” teşvik edilmesi gibi faktörler gösterilmektedir (Günel ve vd., 2005). Türkiye, dünyada patates üretiminde kayıtlara geçen 151 ülke arasında üretim bakımından 13. sırada yer almaktadır (Arıoğlu, 2006).



Şekil 1. Patates bitkisi (*Solanum tuberosum*) (URL-1).

### 1.2.4. Patates Zararlıları

Dünya çapında tüketimi yapılan ve gıda kaynakları arasında önemli bir yere sahip olan patates üretimi üzerinde dünyada ve ülkemizde, birçok hastalık ve zararlıları etkili olmaktadır. Vejetatif olarak yumrudan çoğalan patatesin birçok tohum ve toprak kökenli bakteriyel, fungal ve viral etmenlerin yanı sıra nematodlar, böcekler ve yabancı otlar

tarafından yetiştiriciliği tehdit altındadır (Öztürk, 2016). Patateste önemli ölçüde zarar oluşturan 60 kadar hastalık etmeni olup, buna daha az zarar oluşturanlar da dahil edilirse bu sayının 100'ü aşacağı belirtilmektedir (Anonim, 2013).

Bu hastalık ve zararlıların en önemlileri arasında, *Phytophthora infestans* (geç dönem yanıklığı) Avrupa ve ABD'de süregelen bir problem olmaya devam etmektedir (Güney, 2019). *Rhizoctonia sclerotiniae*, küllenme ve yaprak kıvrılma hastalığı oluşturan bir virüstür. Patates hastalıklarını yaygın olarak taşıyan veya bitkilere zarar veren böcekler arasında patates böceği, (*Leptinotarsa decemlineata*), patates güvesi (*Phthorimaea operculella*), patates mildiyösü (*Phytophthora infestans*) yeşil şeftali yaprak biti (*Myzus persicae*), patates yaprak biti (*Macrosiphum euphorbiae*), trips ve akarlar önemli yer tutmaktadır (Güney, 2019).

Patateste ürün kaybına sebep olan etmenlerin başında patates böceği, patates mildiyösü, patates güvesi gelmektedir (Anonim, 2013).

### **1.3. Patates Böceği (Coleoptera: Chrysomelidae)**

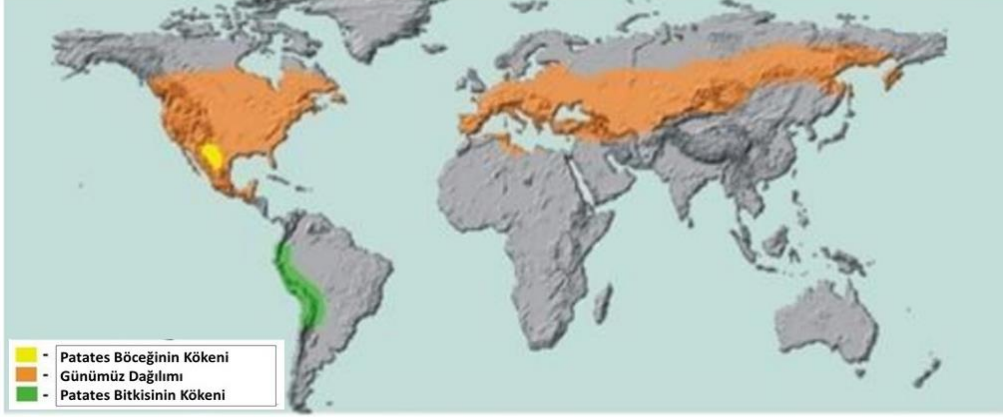
#### **1.3.1. Patates Böceğinin Tarihi**

Patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say 1824 (Coleoptera: Chrysomelidae) ülkemizde, Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya kıtalarında var olan, patatesin ana zararlısı olmasının yanı sıra, domates ve patlıcan gibi diğer bitkilerde de zarar yapan oldukça önemli bir zararlıdır (Karaca ve Uygun, 2015).

Patates böceğinin kökeni Meksika'nın dağlık arazileri patates böceğinin orjinini oluşturmaktadır. Patatesin 1860'larda Amerika'nın Midwest bölgesine geçişi ile 1880'lerde patates böceği Amerika'nın doğu kıyılarına ulaşmıştır (Grapputo vd., 2005). Günümüzde patates böceği tüm Avrupa'da, Asya'nın büyük bir bölümünde, İran'da ve Çin'de görülmektedir. Kuzey Amerika'da yaklaşık olarak 16 milyon km<sup>2</sup> bir alanda görülmektedir ve Avrupa ve Asya da ise yayılmaya devam etmektedir (Weber, 2003) (Şekil 2). Patates zararlısının yayılışını önlemek amacıyla karantina, kimyasal kullanımı vb., gibi tedbirler alınmış olsada Avrupa'ya yayılımının önüne geçilemedi. Avrupa'dan tüm dünyaya yayılarak patates üretimi yapılan tüm ülkelerde önemli bir zarar haline geldi.

İkinci Dünya savaşı boyunca ve soğuk savaş sırasında patates böceğinin hızlı yayılışından dolayı biyolojik silah olarak kullanıldığı düşünüldü fakat Fransa, Almanya ve

İngiltere'nin savaştan önce yaptıkları bazı araştırmalar sonucunda patates böceğinin düşman bitkilerini sabote etmek amacıyla kullanıldığına dair herhangi bir kanıt bulunamadı aksine doğal bir yayılım olduğu saptandı.



Şekil 2. Patates böceğinin dünyadaki dağılımı (URL-2).

Patates böceğinin uzun mesafe uçuşlara sahip olması bu zararlının farklı bölgelere yayılımını kolaylaştırır. Patates bitkisinin yaygın ve her bölgede bulunması nedeniyle de zararlının besine yönelme ihtiyacı bu yayılımı hızlandırarak zararlının tüm dünyadaki patates ekili alanlara ulaşmasını sağladı.

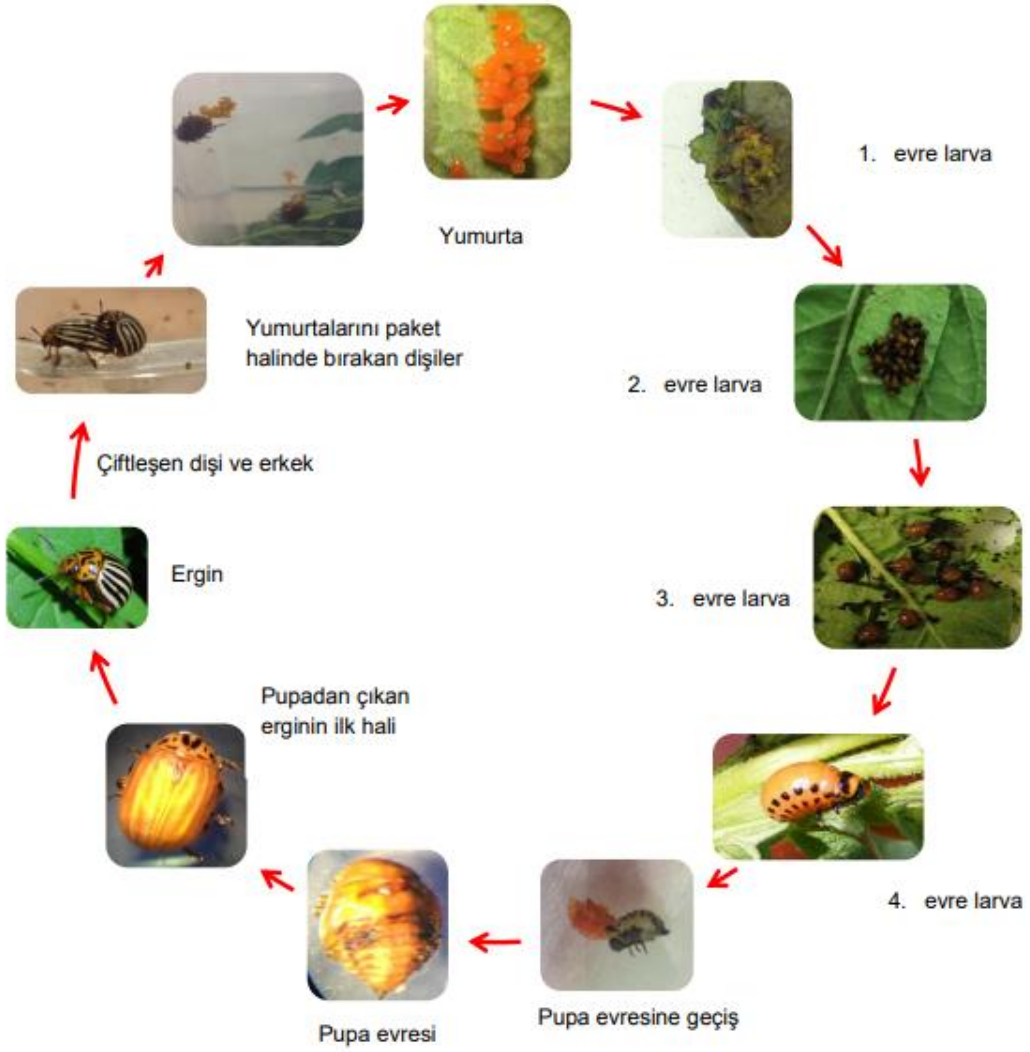
### 1.3.2. Hayat Döngüsü

Kışı toprak altında ergin olarak geçiren patates böcekleri, bahar aylarında iklim koşullarının iyileşmesiyle toprak yüzeyine çıkar. İlkbaharda, kışlama alanlarından ortaya çıkmayı tetikleyen uyarının, sıcaklık ve toprak yüzeyi nem içeriğinin bir kombinasyonu olduğunu gösterilmiştir (Tauber vd., 1994). Kışlık oluşum, erkek ve dişi böcekler arasında eşzamanlı olarak gerçekleşir (Alyokhin ve Ferro, 1999).

Erginler sarı siyah çizgili, çift kanat yapılarına sahip, 10-12 mm boyunda canlılardır. Patates böcekleri bu ilk çıkışlarında yeni nesilleri oluşturmak için çiftleşir ve bu çiftleşmeden sonra dişiler yumurtalarını patates yapraklarının bazal kısmına bırakırlar. Yumurtalar koni biçiminde uzun ve oval şekilde, sarı ya da turuncu renklerde, eni 0,7 mm ve boyu 1,5-2 mm ölçülerindedir. Ortalama 30'lu gruplar halinde yaprağın alt yüzeyine dikey biçimde bırakılmaktadır. Ayrıca, yumurta kümelerini bir arada ve dikey konumda tutmak için ipliksi bir yapı bulunmaktadır. Doğal arazi koşulları altında dişiler toplamda 200-500 yumurta bırakabilmektedir.

Yumurtadan çıkan birinci dönem larvalar yumurta ile aynı renk ve boyuttur. Yumurta kabukları ile beslenen birinci dönem larvalarında beslenme devam ettikçe başın tamamı ve ayakların uç kısımları siyah renk alır. Gövde ise vişne rengine döner. Birinci dönem larvalar yaklaşık 3-10 günde ikinci larva halini alır. Birinci dönem larvalar gömlek değiştirdikten sonra parlak turuncu bir renk alır. Gömlek değiştiren ikinci dönem larvaların baş ve gövde rengi ikinci dönem larvalara göre daha açık ve portakal kabuğu renginde görülür. Üçüncü dönem larvalar kamburumsu bir duruş halini almaya başlar. Gövdenin yan kısmındaki siyah noktalar oldukça belirgin halde olup, ağız parçalarının gelişmiş olduğu görülmüştür. Üçüncü dönem larvaların gelişim süresi ortalama 3-4 gün arasında değişim gösterir. *L. decemlineata*'nın son dönem larvaları iri, kamburumsu bir duruşta, yavaş hareketlere sahiptir. Gövde açık sarı ya da soluk turuncu rengini almıştır. Dokuz segmentli karın bölgesinin yanlarındaki siyah noktalar oldukça belirgin ve çift sıra hali alır. Dördüncü dönem larvalarının boyu 9,5 mm, eni 6,5 mm olarak belirlenmiştir.

Dördüncü dönem larvaları 2-3 gün aktif beslenmenin ardından bir süre toprak yüzeyinde prepupa dönemi geçirdikten sonra toprağın 4-8 cm altına girerek yaklaşık 2. günden sonra pupa dönemine geçer. Gelişim süreçleri 5-8 gün aralığında olan *L. decemlineata* pupaları oval ve turuncumsu renktedir. Pupa döneminden çıkan erginler yapraklar ile beslenip, gelişerek ergin döneme ulaşır. Ergin bireyin gövdesi kubbe şeklinde bombelidir ve kanatları sarı ya da portakal kabuğu tonlarında, her iki kanadında 5'er uzun siyah çizgi bulunan bir yapıya sahiptir ve kanatlar arka kısımlara doğru inceler. Patates böcekleri uygun çevre koşullarına sahip olduğunda dört farklı larval dönem geçirerek hayat döngüsünü sürdürür (Şekil 3). Farklı çevresel koşullarla karşılaştığında diyapoz evresine girer.



Şekil 3. Patates böceğinin hayat döngüsü (Ulusoy, 2016).

### 1.3.3. Diyapoz

Diyapoz, böceklerde gelişme, üreme ve beslenme için elverişli olmayan olumsuz çevre koşullarından kaçınmak için bir hayatta kalma stratejisi olarak gelişmiştir (Marteaux vd., 2018).

Böcekler besin arayışlarına göre doğadaki hareketlerini değiştirir. Yaprakların yeterli olmadığı, ancak sıcaklık ve fotoperiyot, 25°C'de 15 saat içinde hala optimal aralıkta olma durumunda böcekler, yeterli yiyecek bulmak için harekete geçer (Kort, 1990; Hoy vd., 1996). Ancak, sıcaklık düşüp ve fotoperiyot kısaldığında (Massachusetts'te 14 saat) veya

yapraklar yaşlanmaya başladığında, yetişkin patates böcekleri diyapoza geçebilir (Voss vd., 1988).

Kuraklık, besin azlığı, nem içeriği, yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, kritik gün uzunluğu vb., böceklerin diyapoza girmelerine neden olan çevresel koşullardır. Böceklerin çoğunda diyapoz fakültatifdir ve elverişli koşullar mevcut olduğu sürece, böcekler diyapoza girmeden yaşamlarına devam edebilir (Nation, 2016).

Diyapoz temelde üç aşamada ele alınmaktadır; diyapoz öncesi evre, çevre koşullarının değiştiğine dair böceğin uyarıldığı evredir bu dönemde diyapozu indükleyen en önemli etken fotoperiyottur, diyapoz dönemi; böcekteki tüm metabolik aktivitelerin yavaşladığı bir nevi uyku dönemidir, diyapozdan çıkış ise; sıcaklıkların artması ile birlikte böcekteki metabolik aktivitesinin artması evresidir (Denlinger ve Armbruster, 2014).

Kış mevsiminde yetişkin böcek toprağa gömülür. Bazı böcekler yuva yapmaz ve sonunda ölür (Lashomb vd., 1984). Kış mevsiminde ölüm, patates böceği popülasyonları için en büyük ölüm kaynağı olarak öne sürülmüştür (Voss ve Ferro, 1992).

#### 1.3.4. Patates Böceğinin Zararı

Patates bitkisinde verim kayıplarına neden olan birçok hastalık ve zararlı bulunmaktadır. Bu zararlılar arasında patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) önemli bir yer tutmakta olup gerek yüksek sıcaklıklara, gerekse düşük sıcaklıklara toleransı nedeniyle patates yetiştiriciliğinin yapıldığı tüm bölgelerde görülmektedir (Worner, 1988).

Polifag zararlı olan patates böceği, patates, patlıcan, domates, biber ve bazı yabancı otlar dâhil birçok kültür bitkisinde beslenmektedir (Hsiao, 1978; Hare, 1990). Larvalar yaprakların iç kısımlarında bir boşluk oluşturduktan sonra dışa doğru beslenmeye devam ederken, yaprak saplarının özsuğunu da emerek bitkilere ciddi oranda zarar verirler (Şekil 4).

Patates böceklerinin ilk tercih ettikleri konukçu bitkisi patatestir. Tarladaki yiyecek mevcudiyetine bağlı olarak, böcekler ya kısa ya da uzun mesafeli uçuş ya da yürüyüşler gerçekleştirir (Caprio ve Grafius, 1990; Voss ve Ferro, 1990a; Alyokhin ve Ferro, 1999). Buradaki kısa göçler böceklerin besin arayışı ve iklim koşullarının etkisiyle gerçekleşir.

Virüs ve bakteri hastalıklarının (patates kahverengi çürüklüğü, iğ yumru ve patates halkalı çürüklüğü vb.) yayılmasında da etkileri bilinmektedir (Anonymous, 2011). Patates

böceği aynı zamanda bakteriyel halka çürüklüğü hastalığının vektörüdür ve iklim koşulları uygun olduğu takdirde patateslerde yüksek oranda ürün kaybına neden olabilmektedir (Christie vd., 1991).



Şekil 4. Patates böceğinin patates bitkisi (A) (URL-3) ve patlıcan bitkisi (B) (URL-4) yaprakları üzerindeki zarar şekli.

### 1.3.5. Patates Böceği ile Mücadele Yöntemleri

*Leptinotarsa decemlineata*'nın zararını azaltmak amacıyla bugüne kadar çok sayıda araştırma ve uygulama yapılmıştır. Fakat, mücadele kullanılan preparatlara karşı zararlının bir süre sonra direnç kazandığı gözlenmiştir (Gürkan ve Böşgelmez, 1982). Ne yazık ki bu zararlı kontrol etme çabası içinde ilk olarak DDT olmak üzere çok sayıda böcek öldürücü bileşiğe (birçok klorlu hidrokarbonlara, organofosfatlara, karbamatlara ve bazı piretroidlere) karşı direnç geliştirdiği bilinmektedir (Gauthier vd., 1981; Forgash, 1985; Casangrande, 1987; Grafius, 1997). Direnç geliştirdiği kimyasal sayısı gün geçtikçe artmış ve sayı 52'ye ulaşmıştır (Alyokhin vd., 2008). Kimyasal mücadelenin yanı sıra uygulanmış diğer mücadele yöntemleri de böceğin zararlı popülasyonunu kontrol altına almakta etkin olmamıştır.

Zararlı ile mücadelede kültürel önlemler önemli yer almaktadır. Sonbaharda patates hasadıyla birlikte tarlada yumru bırakılmamasına özen gösterilmelidir. İlkbaharda bir önceki yıl ekili olan alanlar dolaşılmalı ve kalan patates bitkileri, üzerindeki böceklerle birlikte yok edilmelidir. Küçük alanlarda larva ve erginleri toplayarak yok etmek, yumurtalarını ezmek oldukça etkilidir.

Yeşil aksam ilaçlamaları da bu zararlı ile mücadelede kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu durum dikkate alınarak birinci döle karşı ilaçlama yapılacaksa, bitkilerde ilk

olgun larvalar (dördüncü dönem) görüldüğünde, ikinci döle karşı ilaçlama yapılması durumunda ise yumurta açılımının tamamlanması beklenmelidir (Atak, 1973). Öte yandan zararlı ile mücadelede hatalı ve bilinçsizce yapılan kimyasal uygulamalar zamanla zararlıda direnç oluşumuna neden olmuş ve zararlının mücadelesi için alternatif yöntemler araştırılmıştır.

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).

Zararlıya karşı uygulanan kültürel ve kimyasal mücadele yöntemlerinin yanı sıra biyolojik mücadele çalışmaları da yapılmıştır. Biyolojik mücadele en basit haliyle 'bitkisel üretimde ekonomik kayıplara yol açan zararlı organizmalarla mücadelede doğada bulunan faydalı organizmaların kullanılması' olarak tarif edilebilir (Birişik, 2018). Biyolojik mücadele ürünlerini üç gruba ayırmak mümkündür. Bunlar; makrobiyaller (predatör ve parazitoidler), mikrobiyaller (entomopatojen veya antogonist fungus, virüs ve bakteriler) ve bitkilerden elde edilen insektisit, fungusit veya repelentleri içeren bitki ekstraktlarıdır (Birişik vd., 2018).

Patates böceğinin doğal düşmanlarının belirlenmesi ve bunların etkinlikleri üzerine Ukrayna'da yapılan bir çalışmada zararlının 378 doğal düşmanının varlığı kanısına varılmıştır (Erarslan, 2018). Aşağıda Tablo 2'de patates böceğine karşı predatör, parazitoid ve diğer doğal düşmanlar gösterilmiştir. Zararlının doğal düşmanlarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda zararlının yumurta ve larva parazitoiti ve predatörleri belirlenmiş ancak bunların arazi koşullarında uygulaması sınırlı kalmıştır (Yabaş vd., 1995; Kedici vd., 1998b).



Tablo 2. Patates böceğinin doğal düşmanları.

Düşman grupları	Düşmanlar	Kaynaklar
Predatörler	<i>Perillus bioculatus</i> , <i>Podicus maculiventris</i> , <i>Lebia grandis</i> , <i>Coleomegilla maculate</i> , <i>Phalangium opilio</i> , <i>Chrysoperla carnea</i> , <i>Chrysoperla rufilabris</i> , <i>Oplonus dichrous</i> ve <i>Coccinella septempunctata</i>	Goldstein vd., 1993; Ferro, 1994
Parazitoidler	<i>Myiopharus aberrans</i> , <i>Myiopharus australis</i> , <i>Myiopharus doryphorae</i> ve <i>Edovum puttleri</i>	Lashomb vd., 1987; Goldstein vd., 1993; Ferro, 1994
Diğerleri	<i>Zicrona coenleia</i> , <i>Anthocoris sibiricus</i> , <i>Nabis pimetatus</i> , <i>Coccinula quatuordecimpustulata</i> , <i>Adonia variegata</i> , <i>Coccinella septempunctata</i> , <i>Propylaea quatuordecimpustulata</i> , <i>Semiadalia imdecimnotata</i> ve <i>Chrysoperla sp.</i>	Anonim, 2008

Patates böceğinin biyolojik mücadelesinde, bitki ekstratları ve bunların uçucu bileşikleri, entomopatojen bakteriler ve bunların metabolitleri, entomopatojen fungus ve mikrobiyal preparatlar kullanılmasına yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Patates böceğine karşı dayanıklı patates çeşitlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar da yapmaktadır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, biyolojik testlemede transgenik Marfona ve Granola bitkileriyle beslenen patates böceği larvalarında %80-85 oranında ölüm görüldüğünü saptamıştır (Yüceer, 2011).

Çeşitli bitki ekstratlarının zararlı larva ve erginleri üzerinde değişik oranlarda etkiler yaptığı tespit edildi. Çam vd. (2012) yaptıkları bir çalışmada, *Hedera helix* L., *Reseda lutea* L., *Humulus lupulus* L., *Sambucus nigra* L., *Chenopodium album* L., *Solanum nigrum* L. ve *Lolium temulentum* L.'nin patates böceğinin farklı dönemlerine karşı kalıntı toksisiteleri ve

mide zehri etkilerini laboratuvar koşullarında test etmiştir. Test edilen tüm ekstraktlar larvalarda mortaliteye neden olduğunu gözlemiştir. *H. lupulus* ekstraktının patates böceği kontrolünde bir potansiyele sahip olduğunu tespit etmiştir. Usanmaz (2013) yaptığı bir çalışmada, *Satureja cilicica* P. H. Davis, *Satureja cuneifolia* Ten, *Satureja hortensis* L., *Satureja spicigera* (C. Koch) Boiss., *Satureja thymbra* L. ve *Satureja montana* L. bitkilerinden elde edilen uçucu yağ ve ekstrelerinin patates böceğinin ergin ve larva dönemleri üzerindeki insektisit etkilerini araştırmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, patates böceğinin mücadelesinde *Satureja* bitki türleri uçucu yağ ve ekstrelerinin geliştirilerek ileride biyoinsektisit olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Kara vd. (2014) yaptıkları bir çalışmada, patates böceği mücadelesinde sentetik pestisitlere alternatif olabilecek bitkisel kökenli preparatların laboratuvar ve tarla koşullarında etkisini belirlemek amacıyla, imidaklopid, azadiraktin, *Bacillus thuringiensis*, adaçayı ve biberiye ekstraktlarını uygulamıştır. Adaçayı ve biberiye ekstraktlarının patates böceği ile mücadelede imidaklopid'e göre etkisi düşük, azadiraktin ve *Bacillus thuringiensis*'in yapmış oldukları etkiye yakın bulmuştur. Alkan (2014) yaptığı bir çalışmada, altı farklı bitkiden (*Acanthus dioscoridis* L., *Achillea millefolium* L., *Bifora radians* M. Bieb., *Heracleum platytaenium* Boiss, *Humulus lupulus* L., *Phlomis tuberosa* (L.) Moench) elde edilen bitki ekstraktlarının etkinliği patates böceği üzerinde denemiştir. Bitki ekstraktlarının kontakt, mide zehiri, yumurta açılımı, yumurta bırakmayı engelleyici ve uzaklaştırıcı, beslenmeyi engelleyicisi ve larval gelişme üzerine olan etkileri araştırmış ve bunlar üzerinde engelleyici etkileri olduğu saptamıştır.

Zararlı üzerinde predatör çalışmaları da yapılmıştır bunlardan bir tanesi Kedici vd. (1998) yaptıkları bir çalışmada, patates böceğinin yumurtalarındaki *Chrysoperla sp.*'nin predatör etkilerini laboratuvar koşullarında araştırmıştır. Bu araştırmada *Chrysoperla* larvalarının hiçbiri, ilk larva aşamasında patates böceği yumurtaları ile beslendiklerinde yetişkin aşamasına ulaşmadığı gözlenmiştir. *Chrysoperla* larvalarının %60'ı, larvaların ilk aşamasında yaprak bitleri (*Hyalopterus pruni* G.) ve ikinci ve üçüncü aşamalarda patates böceği yumurtaları ile beslenmesinden dolayı yetişkinlere ulaşmadığı tespit edilmiştir. *Chrysoperla* larvaları hem yaprak bitlerine hem de böcek yumurtalarına soktuğunda, larvalar böcek yumurtalarını değil yaprak bitlerini tercih ettiğini tespit etmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak, *Chrysoperla*'nın patates böceğinin biyolojik mücadelesi için inondatif veya artırıcı salım için iyi bir aday olmadığı sonucuna varmıştır.

Bazı çalışmalar, çeşitli bakteriler ve bakteriyal metabolitlerin patates böceği larva ve erginleri üzerinde farklı oranlarda etkili olduğunu göstermiştir. Haffani vd. (2001) yaptığı bir çalışmada, *Escherichia coli* ekspresyon sisteminde insektisit proteinleri kodlayan cry3Aa3 ve cry3Ca1 *Bacillus thuringiensis* genlerini ifade etmiştir. Çözünür  $\delta$ -endotoksinlerin yüksek oranda saflaştırılmış preparatları, patates böceğinin üçüncü evre larvaları ile karşılaştırmalı biyotitler yapmak için kullanmıştır. Akut mortalite verileri, Cry3Ca1'in LD<sub>50</sub> değerinin (320.1 ng) Cry3Aa3'ün değerinden (672.9 ng) 2 kat daha toksik olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bu toksinlerin sublethal dozlarının kronik etkilerini, tedavi edilmemiş yaprakların tüketimini ölçerek ve zehirlenmeden sonraki 6 gün boyunca sağ kalımı ve gelişmesini izleyerek karşılaştırmıştır. Önemli bir ek mortalite gözlemlenmemiş ancak Cry3Ca1 ile beslenen hayatta kalan larvaların, Cry3Aa3 ile beslenen larvalardan daha yavaş bir oranda yeşillik tükettiğini ve sindirim epitelinde daha fazla hasar olduğunu görmüştür. Bu çalışma, üçüncü instar larvalarda cry3Ca1'in toksisitesinin ilk değerlendirmesi, cry3Ca1'in bu önemli zararlılarının kontrolü için yararlı olacağını gözlemlenmiştir.

Martin vd. (2007) yaptıkları bir çalışmada, Maryland orman toprağından izole ettiği Gram negatif, menekşe pigmentli bir bakteri olan ve *Chromobacterium violaceum* (PRAA4-1) olarak tanımlanan izolatin patates böceği larvaları ve diğer böcekler için oral olarak toksik olduğunu bulmuştur. Ginxin vd. (2009) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *B. thuringiensis* 3A-HBF şusu tarafından üretilen Cry3Aa7 proteininin patates böceğine karşı toksik bir etki gösterdiğini tespit etmiştir. Araştırmacılar 3A-HBF'nin zararlıya karşı %50 ölümcül konsantrasyonunun 1.15 µg/ml olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada *B. thuringiensis* susunun zararlıya karşı sera ve tarla koşullarında biyolojik etmen olarak kullanılmıştır. Sera uygulamalarında birinci dönem larvalarda %10, ergin böceklerde ise %20 oranında ölüm meydana getirdiğini gözlemlenmiştir. Tarla uygulamalarında ise birinci dönem larvalarda %41.33, ikinci dönem larvalarda %26.66, üçüncü dönem larvalarda %24.66, ergin böceklerde ise %30 ölüm meydana getirdiğini tespit etmiştir.

Güleç (2018) yaptığı bir çalışmada, laboratuvar stoklarında yer alan entomopatojenik nematod (*Steinernema feltiae* ve *Heterorhabditis bacteriophora*)'ların yeşil aksam ve toprak uygulamaları şeklinde sera (saksı) denemelerinin sonucunda patates böceğinin farklı dönemlerine (yeşil aksam uygulamalarında üçüncü larva dönemi ve toprağına yapılan uygulamalarında son dönem larvalara) karşı etkinliğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak elde edilen verilere göre nematodların toprağına yaptığı uygulamalarında en yüksek ölüm oranını

*S. feltiae* (65,23±4,45 ve 77,33±2,59)'da elde etmiştir. Deneme sonuçlarında, kadavra uygulamalarında ölüm oranını %40'ı geçmemiş ve en yüksek ölüm oranını *H. bacteriophora*'da %37,40±8,88 olarak tespit etmiştir. Yeşil aksam uygulamalarında ise ölüm oranını %30'ı geçmemiş ve en yük ölüm oranının ise *H. bacteriophora*'da 29,14±6,09 olarak tespit etmiştir. Muratoğlu vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada, patates böceğinden yeni bir bakteriyal izolat (Ld4) izole etmiş ve bu izolatın zararlı larvaları üzerindeki insektisidal etki testlerini yapmıştır. *Pseudomonas putida* olarak tanımlanan izolatın beş günlük süreçte patates böceği üzerinde %100'lük bir ölüm etkisi göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, Ld4 izolatı patates böceğinin biyolojik mücadelesinde önemli bir biyolojik etmen olabileceğini göstermiştir.

Erarslan (2018) yaptığı bir çalışmada, toplam yedi adet bakteri suşunu (*Bacillus cereus* FD-63, *Bacillus sphaericus* FD-49, *Bacillus subtilis* EK-7, *Bacillus thuringiensis subsp. kurstakii* FDP-41, *Brevibacillus brevis* CP-1, *Pseudomonas chlororaphis* NEM-28 ve *Pseudomonas fluorescens* KŞN-1 straini) ve bir adet fungus izolatının (*Beauveria bassiana* ET-10 izolatı) patates böceğinin ergin ve birinci, ikinci, üçüncü dönem larvalarına karşı biyolojik mücadelede etkinliğini belirlemek için sera ve tarla koşullarında test etmiştir. Sera denemelerinde elde edilen sonuçlara göre *Bacillus thuringiensis* ve *Brevibacillus brevis* suşları birinci dönem larvalarda sırası ile %10 ve %6 oranında ölüm meydana getirdiğini gözlemiştir. İkinci dönem larvalarda *P. fluorescens* KŞN-1 suşları ve *B. bassiana* ET-10 izolatı %10 oranında ölüme sebep olduğunu bulmuştur. Ergin böceklerde ise %80 ölüm oranı ile en etkili suşun *P. fluorescens* KŞN-1 olduğunu belirlenmiştir. Tarla koşullarında elde edilen sonuçlara göre ise *B. thuringiensis subsp. kurstakii* FDP-41, *B. brevis* CP-1 ve *P. fluorescens* KŞN-1 suşlarının birinci dönem larvalarda sırası ile %41,33, %20 ve %11,33 oranında ölüm etkisine sebep olduğunu tespit edilmiştir. Bu bakteri suşlarının ikinci dönem larvalarındaki etkinlikleri sırası ile %20, %26,66 ve %4,66; üçüncü dönem larvalarındaki etkinlikleri ise %10, %24,66 ve %6,66 olarak belirlemiştir. Ergin böceklerde *B. brevis* CP-1 suşunun etkili olmadığı, *B. thuringiensis subsp. kurstakii* FDP-41 ve *P. fluorescens* KŞN-1 suşlarının ise sırası ile %30 ve %4 öldürücü etkiye sahip olduğunu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *B. thuringiensis subsp. kurstakii* FDP-41, *B. brevis* CP-1 ve *P. fluorescens* KŞN-1 suşlarının patates böceği ile biyolojik mücadelede başarılı bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varmıştır.

Zararlı üzerinde çeşitli entomopatojen fungus uygulamaları da gerçekleştirilmiştir. Samsinakova ve Kalalova (1978) yaptıkları bir çalışmada, patates böceğinin farklı dönem

larvalarına *Paecilomyces farinosus*'un etkilerini araştırmıştır. Entomopatojen fungusun  $4.1 \times 10^7$  spor/ml yoğunlukta uygulanan patojenin inkübasyonun yedinci gününde, patates böceğinin sırasıyla birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü larva dönemlerinde %96, %70, %82 ve %87 oranında ölüm oluştuğunu tespit etmiştir. Çalışmanın sonucunda, patates böceğine karşı *P. farinosus*'un *B. bassiana*'ya göre böceğin birinci larva döneminde daha etkili olduğunu bulmuştur. Fargues vd. (1991) patates böceği ile yaptıkları çalışmada, entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* uygulamasının böceklerin yumurta bırakmasına olan etkisini araştırmıştır. Entomopatojen fungus uygulaması sonrası hayatta kalan böcekler  $22^\circ\text{C}$ 'de yetiştirilerek çiftleştirildiklerinde elde edilen yumurta sayısında doz artışına bağlı olarak azalma olduğunu belirtmiştir. Ancak  $25^\circ\text{C}$ 'de yetiştirilen ve çiftleştirilen böceklerden elde edilen yumurtaların sayısında azalma olmadığını ve her iki sıcaklıkta da oluşan yumurtaların kontrol uygulamasında elde edilen yumurtalardan verimlilik bakımından bir farkının olmadığını belirtmiştir. Çalışma sonucunda, entomopatojen fungus *Beauveria bassiana*'nın patates böceğinin yumurta bırakması üzerinde sıcaklığa bağlı bir etkisinin olduğu belirtmiştir.

Wraight ve Ramos (2005) yaptıkları bir çalışmada, patates böceği larvalarına karşı *Beauveria bassiana* entomopatojen fungus izolatını ve *Bacillus thuringiensis* tenebrionis entomopatojen bakterisini tek başına veya birlikte kombinasyon halinde uygulamıştır. Tek uygulamalarda, *B. bassiana* patates böceğinin larvalarında %25 oranında azalma gösterirken, *B. thuringiensis* de %50-85 oranında larva popülasyonunda azalma meydana getirmiştir. Kombinasyon halindeki uygulamalarda larva popülasyonunda %90'ın üzerinde azalma görülmüştür. Demir vd. (2014), patates böceğine karşı 6 yerel entomopatojen fungus izolatının (*B. bassiana*, Mm-1; *B. bassiana*, Gg-1; *Clonostachys sp.*, Gg-3; *Myriodontium keratinophilum*, Gg-11; *B. bassiana*, Dm-5; *M. anisopliae*, E-1) insektisidal etkisini laboratuvar koşullarında incelemişlerdir. Çalışmanın 15'inci günün sonunda, Gg-11 ve E-1 kodlu fungal izolatlar  $1 \times 10^7$  spor/ml ile erginler üzerinde %100 ölüme sebep olduğunu bulmuştur. Çalışma sonuçları, *Myriodontium keratinophilum* (Gg-11) ve *M. anisopliae* (E-1)'nin biyolojik mücadele etmeni olarak geliştirilme ve patates böceği gibi benzeri zararlılara karşı kullanılma potansiyeline sahip olduğunu kanıtlamıştır. Güven vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada, *Beauveria bassiana* şuşlarını (BMAUM 001, BMAUM-002, BMAUM-003, BMAUM-004) farklı kaynaklardan ve bölgelerden gelen patates böceği larvaları ve erginlerine karşı  $10^8$  spor/ml konsantrasyonunda laboratuvar koşullarında püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemlerini değerlendirmiştir. *Beauveria bassiana*, larva

evresinde yapılan her denemede yetişkinlerden daha etkili olduğunu bulmuştur. Püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemleriyle elde edilen larva ölümleri sırasıyla BMAUM-001 için %72.7, %64.5, %67.7; BMAUM-002 için %83.6, %92.9, %90.8; BMAUM-003 için sırasıyla %83.6, %59.7, %79.2 olarak saptanmıştır.

Ulusoy (2016) yaptığı bir çalışmada, *Galleria* tuzak yöntemi ve toprak seyreltme yöntemi kullanılarak Türkiye'nin farklı bölgelerinden 150 toprak örneği toplamış ve 71 adet *Beauveria bassiana* izole etmiştir. Rastgele seçilen beş farklı *B. bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) suşu ile bir adet standart suşun (Danimarka) üç farklı konsantrasyonu ( $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  ve  $1 \times 10^7$  spor/ml) tarım zararlıları olan *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) ve *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) larvaları üzerinde uygulamasını yapmıştır. Uygulamada altı farklı fungus suşunun üç farklı konsantrasyonda *Galleria mellonella*, *Tenebrio molitor* ve patates böceği üzerinde başarılı olduğunu bulunmuştur. Patates böceği için KVL 03129 suşunun daha etkili olduğu görülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda denenilen *B. bassiana* suşlarının ortalama ölüm süreleri karşılaştırıldığında her suşun en yüksek dozunun en etkin olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, *B. bassiana* suşlarının zararlılara karşı mücadelede etkili olduğu bulunmuştur.

Öztürk (2016) yaptığı bir çalışmada, entomopatojen fungus içeren ticari biopestisitlerden Priority® (*Paecilomyces fumosoroseus*), Nibortem® (*Verticillium lecanii*), Nostalgist® (*Beauveria bassiana*), Bio-Magic® (*Metarhizium anisopliae*), Bio-Nematon® (*Paecilomyces sp.*) ve bitkisel ekstakt Nimbedicine EC® (*Azadiractin*)'in ve patates böceğinden izole edilen entomopatojen fungusların patates böceğine karşı etkilerini püskürtme ve yaprak daldırma yöntemleri kullanılarak denemiştir. Kontrol olarak imidacloprid etken maddeli bir insektisit ile saf su içeren solüsyon kullanmıştır. Böcek üzerinden izole edilen funguslar ve ticari biopestisitler ikinci, üçüncü, dördüncü dönem larvalara ve ergin bireylere uygulamıştır. Yerel funguslar  $10^8$  spor/ml, ticari biopestisitler ise önerilen dozlarında uygulamıştır. Entomopatojen funguslar ve biopestisitler iki-üçüncü dönem larvalarda dördüncü dönem ve erginlere göre daha etkili olduğunu tespit etmiştir. Bio-Magic®, Nibortem®, ve Nostalgist® iki-üçüncü dönem larvalarda sırasıyla %96.4, %92.9 ve %82.1 oranında ölüme sebep olduğunu gözlemlemiştir. Aynı biopestisitler erginlerde %20, %36.7 ve %33.3 oranında ölüme sebep olduğunu tespit etmiştir. Bütün yerel fungusların tüm larva denemelerinde %100 ölüm oranı gösterirken ergin denemelerinde %58.6-86.2 oranlarında ölüm meydana getirdiği tespit etmiştir.

Karaman (2019) yaptığı bir çalışmada, birçok bitki zararlısına karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılan ve oldukça iyi sonuçlar alınan *Simplicillium lamellicola*, *Lecanicillium muscarium*, *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* ve *Metarhizium anisopliae* izolatlarını patates böceğinin ikinci, üçüncü, dördüncü dönem larva ve erginleri üzerindeki biyolojik etkinliklerini laboratuvar koşullarında incelemiştir. Entomopatojen funguslara ait spor süspansiyonlar  $1 \times 10^8$  spor/ml olacak şekilde püskürtme yöntemi şeklinde uygulanmıştır. Laboratuvar ve saksı denemelerinde bütün dönemlerde en etkili izolatin *M. anisopliae* olduğunu tespit etmiştir. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan bütün izolatların patates böceğinin bütün biyolojik dönemlerine karşı kabul edilebilirlik seviyesinde etki gösterdiğini kanıtlamıştır.

Kılınç (2020) bir çalışmasında, Tokat ilindeki farklı tarımsal alanlardan alınan toprak örneklerinden izole edilen *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* türlerinden oluşan 14 entomopatojen fungus izolatinın (GOPT-123, GOPT-158, GOPT-228, GOPT-247, GOPT-258, GOPT-259, GOPT-283, GOPT-321, GOPT-331, GOPT-375, GOPT-PB-2, GOPT-DYYLD, GOPT-5-2, GOPT-228-1) patates böceğinin ergin, üçüncü dönem larva ve yumurta dönemlerine karşı etkinliğini araştırmıştır. Laboratuvar çalışmaları sonucunda etkili bulunan GOPT-228 izolatu ile  $1 \times 10^8$  spor/ml dozunda sera çalışmalarını yapmıştır. Yaptıkları sera denemelerinde kullanılan *B. bassiana* izolatinın etkinliğinin in vitro testlerdekinden çok düşük olduğu ve üçüncü dönem larvalarda %40, ergin böceklerde %12 ölüm meydana geldiğini gözlemiştir.

Sarı (2020) yaptığı bir çalışmada, Isparta Merkez patates üretim alanlarından elde edilen entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* BIM-001 izolatinın üç farklı spor konsantrasyonunun ( $1 \times 10^6$  spor/ml,  $1 \times 10^7$  spor/ml,  $1 \times 10^8$  spor/ml), Nostalgist (*Beauveria bassiana* strain Bb-1'nin  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonunun ve Adana Karataş pamuk üretim alanlarından *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)'den elde edilen *Fusarium subglutinans* 12A'nın laboratuvar koşullarında patates böceğinin yumurta, farklı larva dönemleri (1., 2., 3. ve 4. dönem) ve erginleri üzerindeki patojenik etkisini belirlemiştir. Çalışma sonuçlarına göre, larvalardaki en yüksek ölüm değeri yedinci günde *B. bassiana* BIM-001'in  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonunda saptamış ve ölüm yüzde değerleri birinci ve üçüncü larva döneminde %94, ikinci larva döneminde %80 ve dördüncü larva döneminde ise %90 olarak bulmuştur. Nostalgist uygulamasında ise ölüm değerleri birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü dönem larvalar için sırası ile %2, %46, %24 ve %50 olarak tespit etmiştir. Ergin bireylerde ölüm yine yedinci günde, *B. bassiana* BIM-001'in  $1 \times 10^8$  spor/ml

konsantrasyonunda sadece %2 oranında ölüm gerçekleştirdiğini, *B. bassiana* BIM-001'in diğer spor konsantrasyonlarında ve Nostalgist uygulamalarında herhangi bir ölüm saptamamıştır.

Biyopeptisitlerin insan veya diğer canlılar üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye sahip olmaması, bunları çevre dostu haline getirmiştir. Bu pestisitler, düşük konukçu popülasyonlarında bile yaşamlarını sürdürebilir (Öncüer, 1991). Bakteriyal ve viral böcek patojenlerinin aksine, *Beauveria* ve diğer fungus patojenlerinin enfeksiyonu için temasın olası yeterlidir (Ocak vd., 2007). Patates böceği ile mücadele de yapılmış çalışmalar göz önüne alındığında, zararlı ile en etkin mücadele yöntemi biyolojik mücadele ve etkili mikrobiyal ajan entomopatojen funguslardır.

#### 1.4. Entomopatojenik Funguslar

Entomopatojenik fungusların mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmakta olduğu bilinmektedir (Hall vd., 1982). Funguslar böceklerde hastalığa sebep olarak ilk kaydedilen ve zararlı mücadelesinde ilk kullanılan mikroorganizmalardır (Rombach ve Gillespie, 1988). Şimdiye kadar tanımlanan 700'ün üzerinde entomopatojenik fungus bilinmekte ve bunlardan bazıları biyolojik mücadele etmeni olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır (Strasser vd., 2000). 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). Böcek patojeni olan funguslar genellikle Deuteromycota ve Entomophthorales gruplarına dahildir (Hajek, 1997). Kolay tanınmaları nedeniyle zararlılarla mücadelesinde sıkça kullanılırlar. EPF'un biyolojik mücadelede kullanılan en tanınmış cinsleri *Beauveria* ve *Metarhizium*'dur.

##### 1.4.1. *Beauveria bassiana*

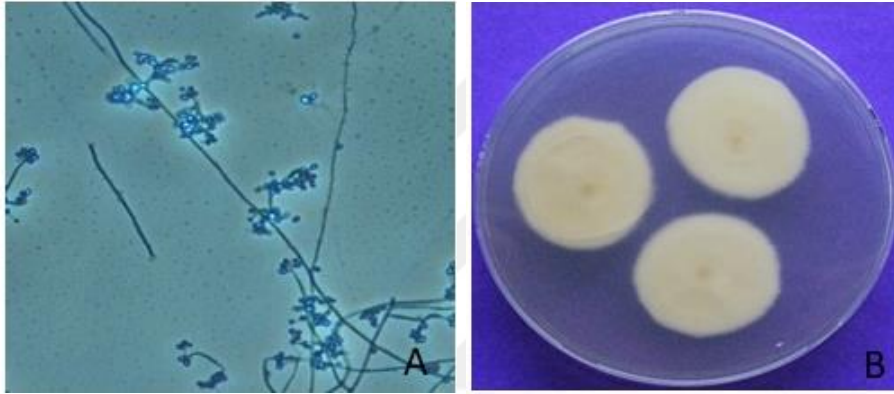
*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. beyaz muskardin hastalığının etken maddesi, ilk olarak 1835 yılında, funusun İpekböceği *Bombyx mori*'ye karşı patojenik olduğunu gösteren Bassi de Lodi tarafından tanımlanmıştır (Tanada and Kaya, 1993). *B. bassiana*, beyaz, pudra



görünümlü hifler böcek kadavrasını kapladığında, ölümden sonra konakçılarda sergilenen karakteristik mikotik evre nedeniyle bir muscardin mantarı olarak kategorize edilir (Şekil 5).

*Beauveria* türleri, Mitosporik mantarların yapay sınıfında, Deuteromycetes sınıfında bulunur. *Beauveria* cinsi içinde türler, zig-zag veya denticulata merkezi üzerinde tek başına taşınan conidia ile karakterize edilir (Tanada ve Kaya, 1993; Humber, 1997).

*Beauveria bassiana*, genellikle 3,5 um'den daha büyük çapa sahip olan globose konidia ile diğer *Beauveria* türlerinden ayırt edilebilir (Humber, 1997). *B. bassiana* hifleri 25-28°C'de optimum şekilde büyür ve konidiaların çimlenmesi için % 92 veya daha yüksek bir bağıl nem gerekir.

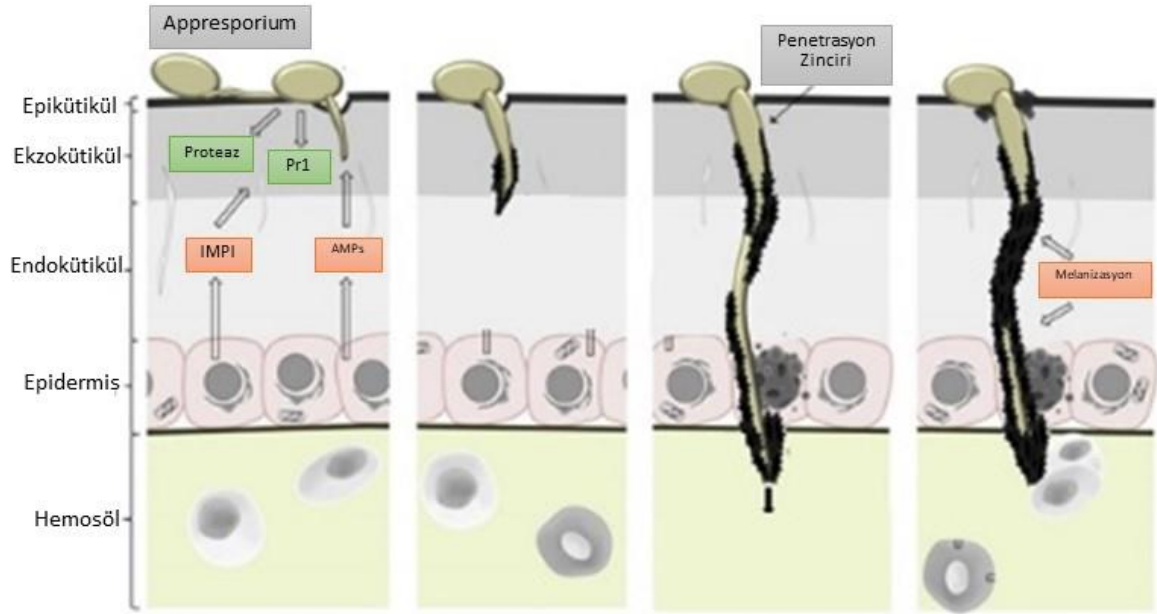


Şekil 5. *Beauveria* cinsinin morfolojik özellikleri. A, mikroskopik görüntüsü B, koloni morfolojisi (fotoğraflar Kübra YILDIRIM tarafından çekilmiştir).

#### 1.4.2. Enfeksiyon Döngüsü

Entomopatojen fungusların enfeksiyon döngüsü konağın integümentine tutunması ile başlar. Funguslar, diğer patojenlerden farklı olarak yenilme veya çiğnenmeye ihtiyaç duymadan enfeksiyonu başlatabilir. Mortalite doza bağlı olduğundan, mümkün olduğunca çok sayıda konidiaların kütiküle yapışması enfeksiyonun başlamasında hayati önem taşımaktadır (Butt ve Goettel, 2000). EPF doğada bir konakla karşılaştığında ilk ve en etkili bariyer olan konağın kütikulası ile karşılaşır. Böcek kütikülü, istilacı mantar sporuna karşı müthiş bir mekanik bariyer sağlar. EPF bu bariyeri aşıp konağı enfekte etmek için birçok mekanizma geliştirmiştir. Aynı zamanda konak canlı da karşı bir savunma sistemine sahiptir. Doğada bu karşılaşma neticesinde EPF için dezavantaj olabilecek birçok farklı durum mevcuttur. Bunlar, UV, sıcaklık, nem, gibi iklim koşullarının yanı sıra konağın bulunduğu

hayat evresi ve diğer çevresel nedenlerdir. EPF konakla bu karşılaşmasında birkaç adımda konağı enfekte eder (Şekil 6).



Şekil 6. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamaklarının gösterimi. 1. Fungusun konağın kütikulaya tutunduktan sonra çimlenerek Appresporium yapısını oluşturması. 2. Penetrasyon kancası ve çeşitli hifal yapıların kütikulayı ve epidermisi geçişi. 3. Fungusun hemosele girişi. 4. Fungusun hemoselde blastospor oluşumu (Butt vd., 2016).

EPF'un hava konidiasının yüzeyi rodlet tabakasından oluşur. Bu tabaka, konidyanın hidrofobik yüzeylere pasif olarak bağlanmasını kolaylaştıran hidrofobik bir yük veren hidrofobin proteinlerinden oluşur (Holder ve Keyhani, 2005). Entomopatojen funguslar pasif ve spesifik olmayan tutunma işlemi gerçekleştirir. Tutunma işlemi takiben, sporer konağın çeşitli bariyerlerinin üstesinden gelmek için fungusa yardımcı olan appressorium yapısını oluşturmak için çimlenmeye başlar (Hajek ve Leger, 1994).

Appressorium yapısı konak bariyerlerinin üstesinden gelir ve kütikula içerisine doğru harekete başlar. EPF konidyanın hücre duvarında çeşitli enzimler bulunur (Schrank ve Vainstein, 2010). Virulent konidia, önceden oluşturulmuş diğer enzimlerle birlikte, konakçı yüzeyindeki fungistatik bileşikleri parçalayabilen ve aynı zamanda çimlenmeyi uyaran besinleri serbest bırakabilen yüksek düzeyde spora bağlı Pr1'e sahiptir (Shah Wang ve Butt, 2005; OrtizUrquiza ve Keyhani, 2013; Santi vd., 2010). Appressorium yapısını geliştiren ve kütikulaya tutunan EPF penetrasyon zincirini oluşturmaya başlar. Penetrasyon

safhasında, proteaz, kitinaz ve lipaz gibi kütikulyayı parçalayan bazı enzimler konağa girişte önemli rol oynamaktadır (Clarkson ve Chamley, 1996). Bazı kütikül parçalayıcı enzimler (Cde'ler) virulans belirleyicileridir (Nunes, Martins, Furlaneto ve Barros, 2010; St. Leger, Joshi ve Roberts, 1998) (Tablo 3). Kütiküler fizikokimyasal sinyaller appressorium farklılaşmasını ve fenotipi etkiler (Butt vd., 2016). Appressoria morfolojileri klavat, küresel veya fincan şeklinde değişir (Butt vd., 2016). Penetrasyonu takiben, hemoselin içerisindeki filamentöz fungus yapıları maya benzeri hifal yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar (Sevim, 2012). Blastosporlar, besin emilimi için geniş bir yüzey alanı-hacim oranı sunar ve besinler tükenene kadar bu formda çoğalır, daha sonra hem in vitro hem de in vivo olarak hiflere dönüşürler (Butt vd., 2016). Ölen konağın yüzeyinde oluşan hifler farklı konakları da enfekte eder.

Tablo 3. *Beauveria* ve *Metarhizium* türlerinin temel fungal virülans genleri (Butt, 2016).

Fonksiyonel Grup	Genler	Tanım
<b>Adhezyon</b>	Mad 1, Mad 2	Adhesin benzeri proteinler
	Hyd 1, Hyd 2, Hyd 3	Hidrofobinler
	SsgA	Hidrofobin benzeri protein
	cwp10	Konidial hidrofobisiti artırma
<b>Kütikül Degredasyonu</b>	Pr1, Pr2, Pr4	Subtilisin, Tripsin ve Sistein proteaz
	chit1, chi2, chi3, chi4, Bbchit1, Bbchit2	Kitinaz
<b>Stress Yönetimi</b>	HSP25, HSP30, HSP70, HSP90b	Şaperonlar
	Hog1, Pmr1	Mitojen ile aktivite edilmiş kinazlar
<b>Hemolimf/immünomodülasyona adaptasyon</b>	Mos1	Osmosensör
	Mcl1	Kollajen benzeri protein
	Mr-npc2a	Sterol bağlayıcı
	dtxS1-dtxS4	Nonribosomal destruxinler biyosentez
<b>Transkripsiyonel faktörleri</b>	MrpacC	Kütikül degredasyonu, kadavrada mikoizlanma, konak immun sisteminden korunma
	MrSkn7	Appresorium oluşumu, hücre duvarı biyosentezi, konak immun sisteminden korunma
	cag8	Hidrofobin sentezi, misel gelişimi, Blastospor oluşumu Konidiaların regülasyonu
	BbMBF1	Oksidatif, ozmotik tolerans, ve ısı stresi, Hifal morfogenez
	MaPKA1	Appressoria'nın farklılaşması Kütikül bozulması besin alımı
<b>Besin asimilasyonu</b>	nrr1	Azot regülatörüne tepki
	Crr1	Karbon regülatörü
	Mest1	Depolanmış lipidlerin hidrolizi
	MPL1	Prelipin-lipid metabolizması
	ATM1	Trehaloz-hidrolize edici enzim
	mrGAT	Triasilgliserol biyosentezi

### 1.5. *Beauveria bassiana*'nın Coğrafik Dağılımı ve Konak Aralığı

*Beauveria bassiana*, dünya çapında genellikle ılıman ve tropikal bölgelerde enfekte böcekler üzerinde bulunur (MacLeod, 1954). *Fungus*, çok çeşitli böceklerde bulunan ve farklı konaklardan izole edilen yaygın bir entomopatojenik mantardır. *B. bassiana*'nın konakçı aralığı ve özgülüğü Goettel vd. (1990) göre, Gastropoda, Acari, Orthoptera, Dermaptera, Isoptera, Blattaria, Thysanoptera, Homoptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Sifonaptera ve Lepidoptera takımlarını içerir. Bununla birlikte, *B. bassiana*'nın çok sayıda eklembacaklıdaki prevalansına rağmen, *B. bassiana* izolatlarının çoğunun sınırlı bir konakçı aralığına sahip olduğu bilinmektedir (Goettel vd., 1990; Vestergaard vd., 2003). Aynı zamanda böcekten veya topraktan izole edilen *B. bassiana*'nın birkaç örneği diğer hedef zararlılarına karşı da oldukça öldürücüdür (Feng ve Johnson, 1990; Ekesi vd., 1998; Cottrell ve Shapiro-Ilan, 2003). Bu nedenle, en virulent olanı seçmek için farklı izolatların virulansını hedef böcek türlerine karşı taramak gerekir (Zimmermann, 2007).

### 1.6. *Beauveria bassiana*'nın Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı

Biyolojik mücadelede entomopatojen funguslar büyük bir kullanım potansiyeline sahiptir. Fungusların klasik ve inokülatif biyolojik mücadele de kullanımları açısından pek çok tercih edilme nedenleri vardır. Bunlar, hızlı bir şekilde epizootiklere neden olabilir, dar konak aralığına sahiptir, çevrede ve böcek popülasyonlarında uzun süre varlıklarını sürdürebilirler (Goettel vd., 2005). Biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılan mikroorganizmalarda ilk ve asıl endişe, hedef olmayan canlıları enfekte etme ihtimalleridir. Diğer bir endişe ise bu etmenlerin uygulandıkları sahada etkinliklerini devam ettirmeleri ve canlı kalabilmeleridir.

Son 100 yılda, *B. bassiana* ve *B. brongniartii* bitkilerde kök ve yaprak zararlılarına karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılmıştır. Geçmiş literatürü özetleyen Zimmerman (2007), *Beauveria bassiana* ve bitki arasındaki ilişkiyi bitkilerin entomopatojen enfeksiyonunu etkilemesi, bitkilerin entomopatojenin kalıcılığını etkileyebilmesi ve *B. bassiana*'nın bitkilerde bir endofit olması gibi üç kategoride özetlemiştir. Bitki türlerinin *B. bassiana*'nın enfektivitesini ve kalıcılığını etkileyebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Ramoska ve Todd, 1985). *Beauveria bassiana*'nın bazı bitkilerin, özellikle mısırın, bir

endofiti olduğu bilinmektedir (Bing ve Lewis, 1992). Her iki fungusta toprakta yaygın olarak bulunur ve geniş bir konukçu dağılımına sahiptir ve genellikle toprakta yaşayan zararlılara karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılırlar. Entomopatojen funguslar hedef dışı organizmaları enfekte etmezler ve doğada bulunan bu canlılar entomopatojen fungus sporlarını toprakta dağıtma ve taşımada önemli bir rol oynarlar. Samsinakakova ve Samsin (1970), Zimmermann ve Bode (1983), Dromph (2001 ve 2003), çalışmalarında entomopatojen mantarların dağılması gösterilmiştir. *B. bassiana* vertikal ve horizontal dağılım göstererek enfeksiyon aşamasında dirençli olduklarını kanıtlamıştır.

Genel olarak, fungusların, fizyolojik konakçı aralığı ile ekolojik konakçı aralığı arasında bir fark vardır (Hajek ve Butler, 2000). Fizyolojik konakçı aralığı, laboratuvarda enfekte olabilecek böcek türlerinin aralığını gösterirken, ekolojik konakçı aralığı, doğada veya saha koşullarında hangi böceklerin enfekte olabileceğini gösterir (Zimmermann, 2007). Laboratuvar koşullarında enfekte olan hedef olmayan böcekler, doğada enfekte olmayabilir (Zimmermann, 2007). Bu konu ayrıca Hajek ve Goettel (2000) ve Jaronski vd. (2003) tarafından ayrıntılı olarak tartışıldı. *B. bassiana* ve *B. brongniartii*'nin yararlı ve diğer hedef olmayan organizmalar üzerindeki etkisi hakkında yapılan çalışmalardan bazıları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. *B. bassiana* ve *B. brongniartii*'nin yararlı ve hedef olmayan diğer organizmalar üzerindeki etkisi hakkında yapılan çalışmalar (Zimmermann, 2007).

Organizmalar	Fungus (Spor/Formülasyon)	(L)/ (A)
<i>Amblyseius cucumeris</i>	<i>B. bassiana</i> (Naturalis-L, BotaniGard WP)	L/A
<i>Aphidius colemani</i> <i>Orius insidiosus</i> <i>Phytoseiulus persimilis</i> <i>Encarsia formosa</i>	<i>B. bassiana</i> (ticari formülasyon, suş JW-1)	L
<i>Apis mellifera</i>	<i>B. bassiana</i>	A
<i>Apis mellifera</i>	<i>B. bassiana</i> (formüle edilmemiş spor)	L
<i>Apis mellifera</i>	<i>B. bassiana</i> (Naturalis-L, Bio-Power)	L
<i>Apis mellifera</i>	<i>B. brongniartii</i>	A
Arthropod ve nematod popülasyonu	<i>B. bassiana</i> (Naturalis-L)	A
<i>Bembidion lampros</i> <i>Agonum dorsale</i>	<i>B. bassiana</i>	A/L
<i>Bombus terrestris</i>	<i>B. bassiana</i>	L/A
<i>Carabidae:</i> <i>Calanthus micropterus</i> <i>C. piceus</i> <i>Carabus violaceus</i> <i>Cychrus caraboides</i> <i>Leistus rufescens</i> <i>Nebria brevicollis,</i> <i>Pterostichus oblongopunctatus,</i> <i>P. niger</i>	<i>B. bassiana</i>	L
<i>Carabidae,</i> <i>Staphylinidae</i>	<i>B. bassiana</i>	A
<i>Cephalonomia tarsalis</i>	<i>B. bassiana</i>	-
<i>Chrysoperla carnea</i>	<i>B. bassiana</i>	L
<i>Coleomegilla maculate</i>	<i>B. bassiana</i> (izolat ARSEF 3113)	L/A
<i>Coleomegilla maculate ve</i> <i>Eriopsis connexa</i>	<i>B. bassiana</i> (izolat ARSEF 731)	L
<i>Coleomegilla maculate lengi</i>	<i>B. bassiana</i> (10 izolat)	L
<i>Diadegma semiclausum</i>	<i>B. bassiana</i>	L
<i>Formica polyctena</i>	<i>B. brongniartii</i>	A
Solucanlar: <i>Lumbricus terrestris ve diğerleri</i>	<i>B. brongniartii</i> (arpa tanelerinin ticari ürünü)	L/A
Solucanlar: <i>Lumbricus terrestris</i>	<i>B. brongniartii</i>	L
Solucanlar: <i>Aporrectodea caliginosa</i>	<i>B. bassiana</i> (Bb64)	L
<i>Lysiphlebus testaceipe</i> <i>Aphidius colmani</i>	<i>B. bassiana</i>	A

Tablo 4'nın devamı

<i>Megachile rotundata</i>	<i>B. bassiana</i> (çekirge kontrolü için suş)	L
<i>Nontarget arthropods</i>	<i>B. brongniartii</i>	A
<i>Nontarget arthropods</i>	<i>B. brongniartii</i>	A
Hedefdışı <i>arthropods</i> (major predatörler, parasitoidler ve polinatörler)	<i>B. bassiana</i> (suş GHA)	A
Hedefdışı arthropodlar	<i>B. bassiana</i> (emülsifiye edilebilir konsantre)	A
Hedefdışı böcek toplulukları	<i>B. bassiana</i> (suş SP 16)	A
<i>Perillus bioculatus</i>	<i>B. bassiana</i> (6 izolat)	L
<i>Pimelia senegalensis</i> <i>Trachyderma hispida</i> <i>Bracon hebetor</i> <i>Apoanagyrus lopezi</i>	<i>B. bassiana</i>	L
<i>Poecilus versicolor</i>	<i>B. brongniartii</i> (MelocontPilzgerste, MelocontWP, and Melocont-WG)	L
Predatör akarlar: <i>O. insidiosus</i> <i>A. colemani</i> <i>Dacnusa sibiria</i> Parasitler: <i>Encarsia formosa</i> <i>Eretmocerus eremicus</i> <i>Aphidoletes aphidimyza</i>	<i>B. bassiana</i> (Botanigard ES)	A
<i>Prorops nasuta</i>	<i>B. bassiana</i> (3 izolat)	L
<i>Serangium parcesetosum</i>	<i>B. bassiana</i>	L

Tablo 4'teki çalışmalar *B. bassiana* ve *B. Brongniartii*'nin geniş bir konak yelpazesine sahip olmasına rağmen, hedef dışı organizmalarda zarar teşkil etmediğini gösterir. Çalışmaların çoğu laboratuvarında ve sadece birkaçı sahada yapılmıştır. İlk kapsamlı çalışmalardan biri, *B. bassiana*'nın arılar ve diğer tozlayıcılar, ipekböcekleri, yırtıcılar ve parasitoidler gibi hedef olmayan omurgasızlar üzerindeki etkilerini listeleyen Goettel vd. (1990) tarafından verilmiştir. Araştırmacılar, *B. bassiana*'nın geniş konakçı yelpazesine rağmen, bugüne kadarki kanıtlarda bu mantarın özellikle izolat seçimi ve mekân ve zamansal (spatio-temporal) faktörler dikkate alındığında, hedef olmayan organizmalar üzerinde minimum etki ile kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.



Entomopatojenik mantarlarının biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılması memeliler üzerindeki olası etkileri insanlar için endişe kaynağıdır. Fakat son zamanlarda, Güney Kore'den *B. bassiana*'nın insan gıdasına eklenmesiyle ilgili bazı makaleler, bu mantarın tamamen yeni bir özelliğini gösterdi aynı zamanda Yoon vd. (2003b), *B. bassiana* synnemata ekstraktlarının, insanlar için yararlı fizyolojik aktiviteler sağlayabilecek antikoagülan ve bağışıklık sistemi modüle edici aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir. Saha araştırmalarından elde edilen veriler, omurgalılar, bal arıları, faydalı böcekler, solucanlar ve bitkiler üzerinde herhangi bir olumsuz etkilerinin olmadığını gösterir (Vestergaard vd., 2003).

Biyolojik mücadele etmelerinden, özellikle mantar türlerinin kullanımı, faydalı, sürdürülebilir ve çevre dostu olan bir stratejiyi temsil eder ve farklı zararlılara karşı etkili olduğu bilinmektedir. Tarım, kent, orman, hayvancılık ve su ortamlarında birçok büyük eklembacaklı zararlılarına karşı farklı formülasyonlarda ticari olarak bulunan en yaygın kullanılan entomopatojenik mantar biyokontrol ajanlarından biri *B. bassiana*'dır (Faria ve Wraight, 2007; Goettel vd., 2010; Keswani vd., 2013; Singh vd., 2014).

Uygun bir zararlıbiyokontrol formülasyonu elde etmek için hazırlama ve uygulama kolaylığı, stabilite, düşük maliyet gibi bazı arzu edilen özellikler incelenmektedir. Buna ek olarak, uygun depolama ve aktivitenin artırılması için stabilize edici ajanlara ihtiyaç vardır. Entomopatojenik mantarlar genellikle formülasyonlarda uygulamayı kolaylaştırmak için konidia formunda kullanılır. Biyolojik mücadelede *B. bassiana*'yı içeren üç ana formülasyon yem / katı (genellikle çay atığı bazlı), kapsülleme ve emülsiyondur (Garcia-Estrada vd., 2016). Formülasyonlar kullanım amacına ve uygulama stratejisine göre seçilir. Katı formülasyonlar, bir substrat yüzeyinde geliştirilir ve toprak altı uygulamalarında kullanılır. Enkapsülasyon formülasyonlar, konidia hücrelerini olumsuz çevresel koşullara karşı daha dayanıklı olması için bazı surfaktantlar kullanılarak hazırlanır. Emülsiyon formülasyonlar, bitkisel yağ bazlı üretilir ve bu formülasyonlar mantarda spor çimlenmesini, vejetatif büyümeyi ve konidia üretimini teşvik eder. Emülsiyonlar, fungal konidia ile konak böcek arasında doğrudan temas olasılığını artırır. Bu bağlamda, *Beauveria bassiana*, farklı formülasyonlar altında biyokontrol etmeni olarak kullanılabilirliğini gösterir.

### 1.7. Çalışmanın Amacı

Patates böceği üzerinde bütün dünyada yapılan tüm çalışmalara rağmen, zararlı hala olumsuz etkisini ve patates üretimi üzerindeki baskısını sürdürmektedir. Farklı kaynaklardan izole edilen fungal patojenlerin zararlı üzerinde test edilmesiyle birlikte, zararlının doğal enfekteli kadavralarından entomopatojen fungus izolasyonunun literatürde eksik olduğu da görülmektedir. Literatürdeki bu eksikliğin de giderilmesiyle zararlıya karşı kullanılacak bir yerel mikoinsektisit geliştirilmesi ve zararlı üzerinde denemelerinin yapılması ivedilik gerektirmektedir.

Bu çalışmanın amacı, patates böceğinin ülkemizdeki fungal patojenlerinin belirlenmesi ve yerel mikoinsektisidinin geliştirilmesidir. Bu bağlamda tezin kapsamı; patates böceği kadavralarından fungal patojenlerin izolasyonu ve karakterizasyonu, fungal izolatların patates böceğindeki virulanslarının belirlenmesi, öldürücü etkisi yüksek olan izolattan mikoinsektisit geliştirilmesi; bu mikoinsektisidin zararlı üzerinde laboratuvar ve saksı testlerinin yapılmasıdır.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Böceklerin Toplanması ve Laboratuvara Getirilmesi

Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*, Coleoptera: Crysomelidea) larva ve erginleri Trabzon ve Ankara illerindeki farklı tarım alanlarında 2018 yılı yaz aylarında toplandı. Ölümler tekli halde tüplere yerleştirilerek laboratuvara getirildi (Şekil 7). Canlı örnekler de yeterince havalandırma deliği bulunan ve besin içeren plastik kutularda laboratuvara ulaştırıldı (Şekil 8). Gerek doğal ortamından ölü olarak bulunan ve gerekse laboratuvara getirildikten sonra günlük incelemeler sonucu funguslu halde bulunan ölü böceklerden fungus izolasyonu yapıldı.



Şekil 7. Mikozlanmış doğal ölü patates böceği kadvraları.



Şekil 8. Tarım arazilerinden toplanan patates böcekleri.

## 2.2. Fungus İzolasyonu

Kadavralar %1'lik sodyum hipoklorit solusyonu ile yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 3 kez distile su ile yıkandı. Yüzey sterilizasyonu yapılan böcekler içerisinde nemli filtre kağıdı bulunan steril petrilere alınarak, 25°C'de inkübasyona bırakıldı (Ali-Shtayeh vd., 2002). İnkübasyon periyodundan sonra, %1 maya ekstraktı (SDAY ortamı, Difco Laboratories, Detroit, MI, ABD) ile Sabouraud Dekstroz Agar içeren besiyeri üzerinde dış misel büyümesi gösteren tüm böceklerden fungus izolasyonu gerçekleştirildi. Besiyerilerde bakteriyel büyümeyi önlemek için 50 µg/ml ampisilin ve 50 µg/ml tetrasiklin eklendi. Besiyeri üzerinde birkaç pasaj yapılarak saf kültürler oluşturuldu. İzolasyonu yapılan yerel kodları verilen izolatların 3:1 oranında gliserol stoklar hazırlandı ve -80°C'de muhafaza edildi.

## 2.3. Fungusların Tür Tayinleri

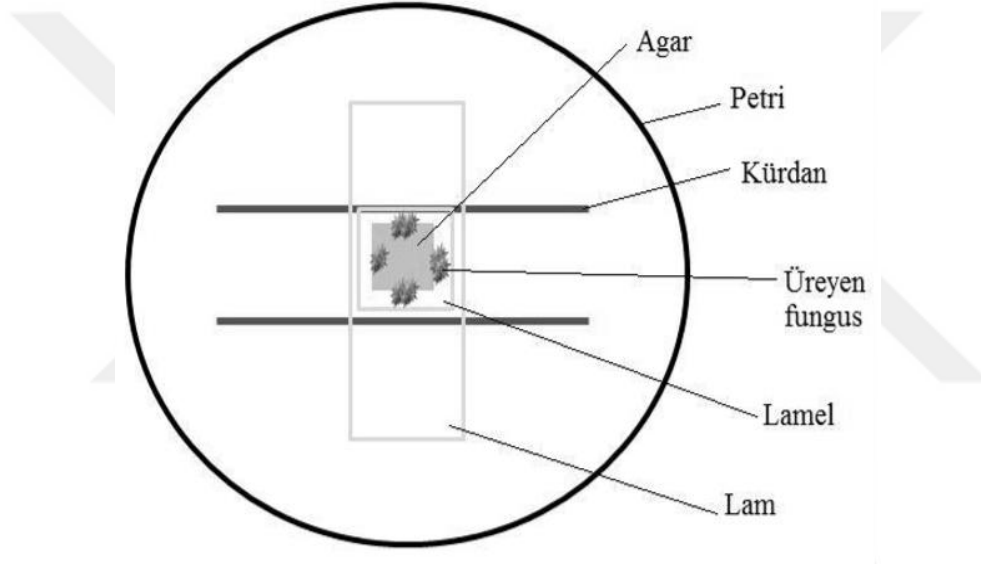
### 2.3.1. Morfolojik Karakterizasyon

İzole edilen fungal suşların identifikasyonlarının yapılabilmesi için ilk önce böceklerde meydana gelen enfeksiyonun şekline ve enfeksiyonun gelişim seyrine dikkat edildi. Steriomikroskop ile böcek kadavraları üzerinde büyüyen patojenlerin semptomatik özellikleri incelendi. Agar blok kültür yöntemi kullanılarak mikroskopik preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendikten sonra çeşitli fungal yapıların incelenmesi yapıldı.

Bu incelemelerde ilk olarak fungusların böcek kadavralarındaki durumları ve kadavraların mevcut şekilleri değerlendirildi. Sonra, petri kaplarında besiyeri üzerinde meydana getirdikleri koloni morfolojileri incelendi ve kayıtları tutuldu. Hiflerin karakteri, koloni ve besiyeri rengi, renk, şekil vb. karakter ve özellikler her izolatta ayrıntılı bir şekilde incelendi ve değerlendirildi. Tür tayini için Dr. Humber tarafından hazırlanan tayin anahtarı ve diğer bazı kaynaklar kullanılarak incelemeler yapıldı. (Humber, 1997)

### 2.3.1.1. Agar Blok Kültür Yöntemi

Bu yöntemin ilk basamağında PDAY hazırlanarak bir petriye döküldü. Daha önceden steril edilmiş petriyer içerisinde bulunan lam, lamel ve kürdanlar kullanılarak bir düzenek hazırlandı. Katı hale gelmiş olan besiyeri steril bistüri ile kare şeklinde kesilerek kürdanlar üzerinde bulunan lam üzerine bırakıldı. Kesilen bu kare besiyerinin her kenarına iğne uçlu öze ile nokta ekim yapıldı ve üzeri lamel ile kapatıldı (Şekil 9). Bu düzeneğin altında bulunan kurutma kağıtları distile su ile nemlendirildi. Hazırlanan kültürler 28°C de 4-8 gün boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonucu besiyerinin üzerinden alınan lameller Lakto fenol Cotton Blue ile boyanarak mikroskop incelemeleri gerçekleştirildi.



Şekil 9. Fungal örneklerin 'Scotch tape' tekniğiyle mikroskopik incelenmesi.

### 2.3.2. Moleküler Karakterizasyon

#### 2.3.2.1. DNA İzolasyonu

Fungal izolatlardan DNA izolasyonu yapmak için ZR Tissue & Insect DNA MiniPrep kiti kullanıldı. DNA ekstraksiyonunda her bir fungus için BashingBead™ Lysis Tube içerisine yaklaşık 50 mg kuru ağırlık alınan fungus ve 750 µl Lizis Solüsyonu eklenerek 15 dakika boyunca homojenizatör ile doku parçalama işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemden sonra

10.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmından 400 µl alınarak filtreli kolonlara aktarıldı ve 7.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Filtrenin altında kalan sıvıya 1.200 µl Genomik Lizis Buffer ilave edilerek 10.000 g'de 1 dakika boyunca DNA'nın tutunabileceği filtrelerden geçirildi. Filtre tüpleri önce 200 µl Pre Wash DNA Buffer ile daha sonra 500 µl g-DNA Wash Buffer ile 10.000 g'de 1 dakika santrifüj edilerek yıkandı. Son olarak filtrasyon tüplerinin üzerine 50 µl DNA Elüsyon Buffer eklenerek DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

### 2.3.2.2. rRNA ITS1–5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

18S ve 23S rRNA alt üniteleri arasında kalan ITS1, 5.8S ve ITS2 bölgelerinin PCR ile çoğaltılması için forward primer olarak ITS5 (5'– GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG–3') ve reverse primer olarak ITS4 (5'– TCCTCCGCTTATTGATATGC–3') primerleri kullanıldı (White vd., 1990). Bunun yanında 18S ve 28S rRNA gen bölgelerinin sekans analizi yapıldı. Bunun için 18S rRNA bölgesini çoğaltmak için NS1 (5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC - 3') ve NS8 (5'- TCCGCAGGTTACCTACGGA -3') primer çifti (White vd., 1990) ve 28S gen bölgesi için forward primer olarak LR0R: 5'-ACCCGCTGAACTTAAGC - 3' ve reverse primer olarak LR7: 5' TACTACCACCAAGATCT-3' kullanıldı (Bunyard vd., 1994). ITS1–5.8S- ITS2 bölgelerinin çoğaltılması için PCR reaksiyonu, her bir dNTP'den 200 µM, her bir primerden 50 pmol, 2,5 unite Taq DNA polimeraz, 5 µl 10X Taq DNA polimeraz reaksiyon tamponu, 50 ng genomik DNA ve son hacim ddH<sub>2</sub>O ile 50 µl'ye tamamlandı. PCR koşulları 95°C'de 5 dakikalık denatürasyondan sonra 95°C 1 dakika, 50°C'de 45 saniye, 72°C'de 2 dakika 35 döngü olarak uygulandı ve son adımda da 72°C'de 10 dakika olacak şekilde gerçekleştirildi. Diğer gen gönleri olan 18S ve 28S bölgelerinin çoğaltılması için PCR reaksiyonu, 100-200 ng DNA, her bir primerden 100 ng, 10 µl ve dNTP'den (2 mM), 3 µl MgCl<sub>2</sub> (nM), 10 µl 10X *Taq* polimeraz reaksiyon buffer, 2,5 unite *Taq* DNA polimeraz ve son hacim ddH<sub>2</sub>O ile 100 µl'ye tamamlandı. Bu genlerden 18S rRNA bölgesi için PCR koşulları, 95°C'de 5 dakika denatürasyondan sonra 94°C'de 1 dakika, 55°C'de 1 dakika, 72°C'de 1 dakika 35 döngü olarak uygulandı ve son adımda da 72°C'de 5 dakika olacak şekilde gerçekleştirildi. Diğer gen olan 28S rRNA bölgesinin amplifikasyonu için PCR koşulları, 96°C'de 2 dakikalık denatürasyondan sonra 96°C'de 1 dakika, 55°C'de 1 dakika, 72°C'de 2 dakika 35 döngü olarak uygulandı ve son adımda da 72°C'de 10 dakika olarak gerçekleştirildi. PCR

reaksiyonlarından sonra oluşan ürünler, 0.5 µg/ml etidyum bromür katkılı %1'lik agaroz jelde 90 V'de 1 saat elektroforez edildi. Jelde oluşan bantlar kesilerek jel ve PCR temizleme kiti (NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up) ile saflaştırıldı. Ependörf tüplere aktarılan her 100 mg jel için 200 µl Binding Buffer (NTI) eklenerek sıcaklığı 55 °C olan ısıtıcı blokta 10 dakika bekletildi. Isıtıcı blokta eriyen jeller filtrelü tüplere aktarıldı ve 11.000g'de 30sn santrifüj edildi. Filtrede tutunan DNA'lar 700 µl yıkama buffer ile 11.000 g'de iki kez yıkandıktan sonra 20 µl elüsyon buffer ile 11.000 g'de 1 dakika santrifüj gerçekleştirilerek DNA eldesi sağlandı.

### 2.3.2.3. Klonlama ve Sekanslama

Temizlenen PCR ürünlerinin klonlama vektörüne ligasyonu gerçekleştirildi ve JM101 kompotent hücresine transforme edildi. Transformasyon sonucu mavi/beyaz koloni seçimine göre beyaz kolonilerden seçilip LB<sup>+amp</sup> besiyerine inoküle edilerek 37°C'de gece boyu inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası plazmid izolasyon kiti ile plazmitler saflaştırıldı ve restriksiyon enzimleriyle kesilerek transformasyonun doğruluğu teyit edildi. İlgili geni içerdiği teyit edilen plazmitler, sekans için MACROGEN (Hollanda) firmasına gönderildi.

#### 2.3.2.3.1. Gen Bölgelerinin pGEM-T Easy Vektörüne Ligasyonu

PCR yöntemi ile çoğaltılan gen bölgeleri (ITS, RPB1, EF1-α, Bloc) pGEM-T Easy Vector System (Promega)'i kullanılarak pGEM-T vektörüne klonlandı. Klonlama için 10 µl 2X Rapid Ligation Buffer, 8 µl Inset DNA, 1 µl pGEM-T Easy Vector ve 1µl T4 DNA Ligase eklenerek bir reaksiyon oluşturuldu ve +4°C'de gece boyunca inkübe edildi. Daha sonraki kullanımlar için de +4°C'de saklandı.

#### 2.3.2.3.2. Kompotent Hücre Hazırlanması

*E.coli* JM101, 3 ml'lik LeuraBertani (LB) besiyerine ekim yapılarak gece boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Büyüyen süşun OD<sub>600</sub> nm dalya boyunda ölçümü yapılarak, 30 ml LB besiyerine OD<sub>600</sub> = 0.1 olacak şekilde aşılama yapıldı ve 37°C'de 1 saat sallayıcı inkübatöre bırakıldı. OD<sub>600</sub> = 0,45-0,50 olduğunda tüm sıvı falkona aktarılarak 4500 rpm'de 5 dakika çöktürüldü. Pellet kısım 10 ml 100 mM'lık soğuk CaCl<sub>2</sub> ile çözdürülerek 30 dakika

buzda bekletildi. Yarım saat sonra 4500 rpm'de 5 dakikada çöktürülen pellet kısım 2 ml, 100 mM'lık soğuk CaCl<sub>2</sub> içerisinde çözdürülerek +4 derecede 2 saat boyunca kullanıma hazır olması için bekletildi.

#### **2.3.2.3.3. Kompetent *E. coli* JM101'e Transformasyon**

Hazırlanan kompetent hücreden 100 µl ve hazırlanmış olan ligasyondan 5 µl alınarak bir ependorf tüp içerisinde birleştirildi. Rekombinant vektörün kompetent hücrelerine transformasyonu için 30 dakika buzda bekletildi. Daha sonra 30 saniye 42°C'de ısıtıcı blokta bekletildikten sonra 37°C'de 1,5-2 saat sallayıcı inkübatöre bırakıldı. İnkübasyon süresinden sonra 6.000 g'de 3 dakika santrifüj edildi ve supernatant kısmının bir miktarı uzaklaştırıldı, pellet, pipetör yardımıyla kalan kısım içerisinde çözüldü. Oluşan homojen sıvı LB<sup>+amp</sup> agar besiyerine 40 µl X-Gal (40 mg/ml), 40 µl IPTG (24 mg/ml) ve transform olmuş hücre yayma ekim yapıldı. Petriler gece boyunca 37°C'de inkübe edildi. Oluşan mavi beyaz koloniler yardımı ile klonların seçimi gerçekleştirildi.

#### **2.3.2.3.4. Plazmit İzolasyonu, Restriksiyon Endonükleaz (*EcoRI*) ile Muamele ve Baz Dizilerinin Belirlenmesi**

Transformasyon sonucu mavi beyaz kolonilerden yararlanılarak her gen için bir beyaz koloni seçilerek LB<sup>+amp</sup> sıvı besiyerine ekim yapılarak gece boyunca 37°C'de inkübe edildi. Atılan gece kültürü ependorflara aktararak 10.000 g'de 5 dakika çöktürüldükten sonra plazmit izolasyonu kiti (Fermantas-GeneJET Plasmid MiniPrep Kit) kullanıldı. Süpernatant kısmı uzaklaştırılarak pellet üzerine 250 µl Cell Resuspension solüsyonu eklendi ve vortex yardımıyla pellet homojen hale getirildi. Çözüldükten sonra bu sıvı üzerine 250 µl hücre lizis solüsyonu eklendi ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra üzerine 10 µl alkalın proteaz eklenerek tekrar 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Üzerine 350 µl nötralizasyon solüsyonu eklenerek 15 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant filtreli tüplere alındı ve 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Filtrede tutunan plazmitler 500 µl yıkama buffer ile 14.000 rpm'de iki kez yıkandıktan sonra 50 µl elüsyon buffer ile 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj gerçekleştirilerek plazmit eldesi sağlandı. Plazmit izolasyonu tamamlandıktan sonra *EcoRI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile muamele edildi. Reaksiyon, 5 µl DNA, 0,5 µl *EcoRI* (promega), 2 µl enzime ait 10× reaksiyon tamponu ve 12,5 µl H<sub>2</sub>O olacak şekilde 20 µl'lik hacimlerde reaksiyonlar hazırlandı ve



37°C'de 3 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 3 µl yürütme boyası ilave edildi ve enzimin inaktive olması için ısıtıcı blokta 65°C'de 5 dakika bekletildi. Ardından %1 lik agaroz jel hazırlanarak elektroforez yapıldı ve klonlanan genler belirlendi. Klonların içerdiği DNA parçalarının baz dizilimlerinin belirlenmesi için Plazmid DNA konsantrasyonları OD<sub>600</sub>'da belirlendikten sonra DNA'lardan 50 µl'lik hacim içinde 100 ng/µl konsantrasyonlarında hazırlandıktan sonra MacroGen Firmasına (Hollanda) DNA bazlarının otomatik analiz edilmesi için gönderildi.

### **2.3.3. Dizi Analizleri**

Gen sekanslarından elde edilen veriler Bioedit programı ile düzenlendi ve hizalanmaları yapıldı. Bunun sonunda elde edilen sekanslar NCBI GenBank'ta yer alan sekanslar ile blast yapılarak izolatların tür tayinleri doğrulandı. Son olarak sekans bilgileri GenBank'tan elde edilen temsilci sekanslar ile karşılaştırılarak MEGA filogenetik programı kullanılarak karşılaştırılmaları yapıldı.

## **2.4. Fungal İzolatların Patojenite Testleri**

İzolatların entomopatojen olup olmadıklarını doğrulamak için patojenite testleri yapıldı ve virulansları belirlendi.

### **2.4.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması**

Daha önceden stoklanmış tüm izolatlar 50 µl olacak şekilde SDA besiyerlerine yayma ekim yapılarak 3-4 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Büyüyen izolatlar yuvarlak uçlu öze ile yoğun çizgiler halinde ekilerek 25°C'de 7 gün boyunca sporlaşmaları için inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonundan sporlaşan kültürlerle %0,1 oranında 10 ml Tween 80 ilave edilerek ve baget ile kazınarak sporların süspansiyona geçmesi sağlandı. Elde edilen süspansiyon filtre kağıdıyla süzülerek misellerin ve agar parçacıklarının uzaklaştırılması sağlandı. Bunun sonunda elde edilen süspansiyon Neubauer hemositometresi ile sayılarak istenilen konsantrasyona ayarlandı.

### 2.4.2. Tarama Testleri

Bioassay çalışmalarında kullanılacak olan böcekler, araziden toplanarak çalışmanın yapılacağı zamana kadar uygun ortamlarda beslendi. Testler sağlıklı olduğu belirlenen larva ve erginler üzerinde yapıldı. Daha önceden hazırlanan süspansiyonlar son konsantrasyonu  $1 \times 10^7$  spor/ml olacak şekilde sağlıklı 10'ar adet (üç tekrarlı) patates böceği larva ve erginlerine (ayrı ayrı) püskürtme yöntemiyle tarama testleri kuruldu (Şekil 10). Larva ve erginler 250 ml'lik plastik kaplarda muhafaza edildi. Uygulama 25-28°C olacak şekilde laboratuvar koşullarında 7 gün bekletildi. Her test grubu için bir kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubuna ise steril %0,1 Tween 80 içeren steril su uygulandı. Tüm deney gruplarında patates bahçelerinden toplanmış taze patates yaprakları besin olarak kullanıldı. Günlük kontrollerle böceklerin fungal bir enfeksiyon sonucunda ölüp, ölmedikleri araştırıldı. Ölüm böcekler 3 dakika %1'lik sodyum hipoklorit solusyonu ile yüzey dezenfeksiyonunun ardından 3 defa steril su ile yıkanarak içerisinde nemli filtre kağıdı bulunan steril petrilere aktarıldı ve 28°C'lik etüvde inkübasyona bırakıldı. Yüzde ölüm ve mikozlanma değerleri hesaplandı. Fungal büyümenin tespit edildiği böceklerden Koch postulatları gereği tekrar entomopatojen fungus izolasyonları yapıldı. Bu işlem üç kere daha tekrarlandı (Ali-Shtayeh vd., 2002; Lacey, 1997).



Şekil 10. Tüm izolatların larva erginler üzerinde tarama testleri görüntüleri.

### 2.4.3 Doz Denemeleri

Doz denemesi çalışmaları için  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  ve  $1 \times 10^9$  spor/ml olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda spor süspansiyonları hazırlandı. Süspansiyonlar yukarıda belirtilen aynı püskürtme metodu uygulanarak denemeler aynı koşullarda yürütüldü. Her bir test için 10'ar adet patates böceği larva ve ergini kullanıldı. Kontrol grubuna ise %0,1 Tween 80 içeren steril su uygulandı. Böceklerin ölüp ölmedikleri günlük kontrol edilerek ölü böcekler kutulardan çıkarıldı ve yukarıdaki işlemleri takiben nem çemberine alındı. Deneyler üçer tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve 7 gün sonunda ölüm oranları Abbott formülüne göre hesaplandı (Abbott, 1925).

### 2.4.4. Patojenite Analizi

Patojenite testlerinden elde edilen veriler LC<sub>50</sub> Calculator programı ile analiz edildi. İzolatların öldürücü etkilerinin birbirleri ile karşılaştırılmasında test edilen izolatların LC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı.

## 2.5. Yağ Formülasyonunun Geliştirilmesi

Katı hal fermentasyonu kullanılarak hif ve sporlar şeklinde gelişen funguslar ile blastospor üreten sıvı besiyerinde büyüyen sporların eldesi sağlandı. Bu iki büyüme şeklinin eldesindeki spolar hasat edilerek yağ formülasyonları gerçekleştirilerek spor üretimi ve virulansları karşılaştırıldı.

### 2.5.1. İzolatın Katı Hal Fermentasyonu ile Büyütülmesi

Formülasyon için seçilen izolat, kırık pirinç kullanılarak büyütüldü. Pirinçler suda iyice yıkandıktan sonra üzerine su eklenerek 30 dakika suda bekletildi. Süzülerek suyu uzaklaştırılan pirinçler fırın torbalarına 200 g olacak şekilde paylaştırıldı. Hazırlanan pirinçler otoklavda steril edildi. Otoklav sonrası oda sıcaklığına soğutulan pirinçler üzerine  $10^7$  spor/ml fungus süspansiyonu inoküle edilerek %70 nem ve 28°C'de 21 gün inkübe edildi. İnkübasyon sürecinde poşet içerisindeki pirinçler 4-5 günlük sürelerde alt-üst edildi. İnkübasyon sonucu etrafı fungal sporelerle sarı pirinçler steril behere alınarak üzerine 500

ml %0,1'lik tween80 eklendi ve 30 dakika boyunca 28°C'de sallanarak sporların pirinçten ayrılması sağlandı. Süspansiyon süzülerek pirinçten uzaklaştırıldı ve elde edilen süzüntü santrifüj (5000 rpm'de 5 dakika) yardımıyla çöktürülerek funguslar elde edildi. Elde edilen funguslar formülasyonda kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

### **2.5.2. Yağ formülasyonunun Hazırlanması**

Elde edilen funguslar koruyucu olarak %1 yağ, non-iyonik surfaktan olarak %1 triton X-100, köpük önleyici olarak %0,5 silikon ve stabilizer olarak %1 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> içeren karışıma eklenerek su ve yağ fazı homojen hale gelene kadar manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen yağ formülasyonunun spor sayısı spor/ml olarak belirlendi.

### **2.5.3. Formülasyonun İnsektisidal Aktivite Testleri**

Üretilen prototip fungusun insektisidal aktivitesi hem larva hem de erginler üzerinde saksı denemeleri şeklinde laboratuvarında gerçekleştirildi. Biyoassay çalışmaları için 1x10<sup>4</sup>, 1x10<sup>5</sup>, 1x10<sup>6</sup>, 1x10<sup>7</sup> ve 1x10<sup>8</sup> spor/ml olmak üzere 5 farklı konsantrasyonlu spor süspansiyonları hazırlandı. Saksı denemelerinde yaklaşık 10 cm boyunda köklü patlıcan fideleri uygulamadan 30 gün önce sıfır (No:0) numaralı saksılara dikildi ve dört yapraklı hale gelenler denemede kullanıldı. Fungal sporlar püskürtme yöntemiyle uygulandı. Ergin ve larvalar ayrı ayrı ve 10'lu gruplar halinde kullanıldı. Böceklerin saksılardaki fidelere aktarılmasından sonra kaçmalarını önlemek üzere deney düzeneği uygun boydaki tül ile kapladı. Deneme karakterleri, geliştirilen mikroinsektisit, pozitif kontrol (Nostalgist), boş ürün ve steril su olarak uygulandı. Uygulaması yapılan tüm saksılar 25-28°C'de oda koşullarında gerçekleştirildi. Böceklerin ölüp ölmedikleri günlük kontrol edildi. Ölümünün funguslardan kaynaklanıp kaynaklanmadığı araştırıldı. Ölü böcekler nemli filtre kâğıdı bulunan steril petrilere aktarıldı. Deneyler üçer tekrarlı olarak gerçekleştirdi (Şekil 11) ve 7 gün sonunda ölüm oranları Abbott formülüne göre hesaplandı (Abbott, 1925)



Şekil 11. Yağ formülasyonunun larva ve erginler üzerinde saksı denemeleri.

#### 2.5.4. Formülasyonun *Agalastica alni* ve *Xanthogaleruca luteola* Üzerindeki Virulansı

Geliştirilen yağ formülasyonunun Chrysomelidae familyasına ait kızılağaç yaprak böceği (*Agalastica alni*) ve kara ağaç böceği (*Xanthogaleruca luteola*) zararlılarına karşı biyotestleri gerçekleştirildi. Formülasyon  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda kızılağaç yaprak böceklerinin larva bireyleri ve kara ağaç böceklerinin ergin bireyleri üzerine denemeleri gerçekleştirildi. Yukarıda belirtilen aynı püskürtme metodu uygulanarak denemeler aynı koşullarda yürütüldü. Deneyler 3'er tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve 7. günün sonunda ölüm oranları Abbott formülüne göre hesaplandı (Abbott, 1925).

### **3.BULGULAR**

#### **3.1. Kadavralardan fungus izolasyonu**

Bu çalışmada, Ankara ve Trabzon'dan toplanan patates böceği populasyonlarında 20 adet doğal ölüm tespit edildi. Bunların 18 tanesi tarla koşullarından sağlandı. Laboratuvarda beslenme sürecinde de 2 tane ölü böcek elde edildi. Kadavralardan toplam 12 adet fungal izolat (6 tanesi Ankara'dan sağlanan kadavralardan ve diğer 6 da Trabzon'dan toplanan kadavralardan) elde edildi, saf kültürleri oluşturuldu. İzolatlar LdA 1, LdA 2, LdA 3, LdA 4, LdA 5, LdA 6, LdT 7, LdT 8, LdT 9, LdT 10, LdT 11, LdT 12 şeklinde yerel kodlarla numaralandırıldı ve -80°C stokları hazırlandı.

#### **3.2. Fungusların Tür Tayinleri**

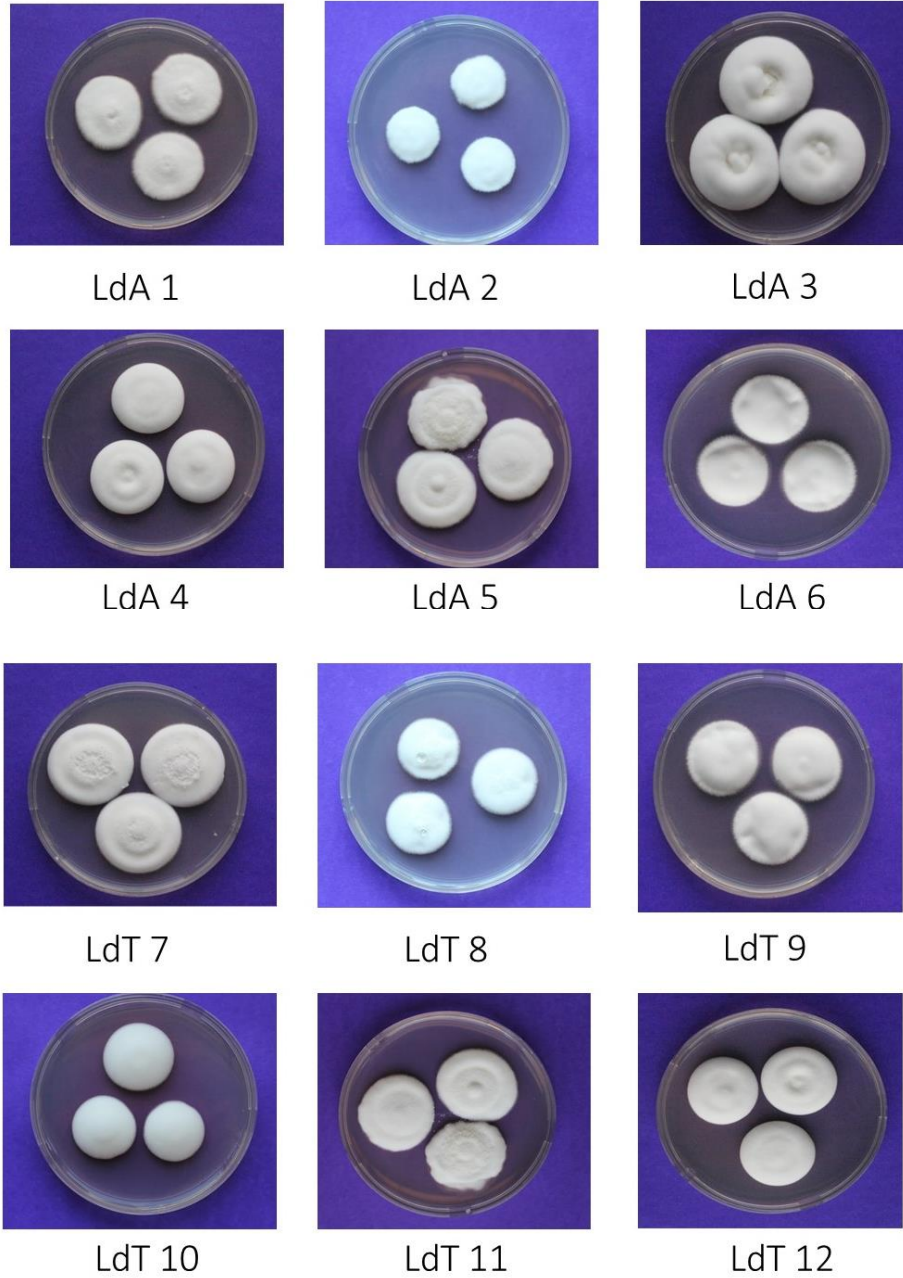
##### **3.2.1. Morfolojik Karakterizasyon**

İzole edilen fungal suşların identifikasyonlarının yapılabilmesi için ilk önce böceklerde meydana gelen enfeksiyonun şekline ve enfeksiyonun gelişim seyrine dikkat edildi. Buna ilave olarak izolatların agar besiyerinde meydana getirdikleri koloni morfolojileri de incelendi. İzolatların mikroskopik yapıları agar blok kültürü yöntemi kullanılarak hazırlanan preparatlar 40X'lik objektifte gözlemlendi.

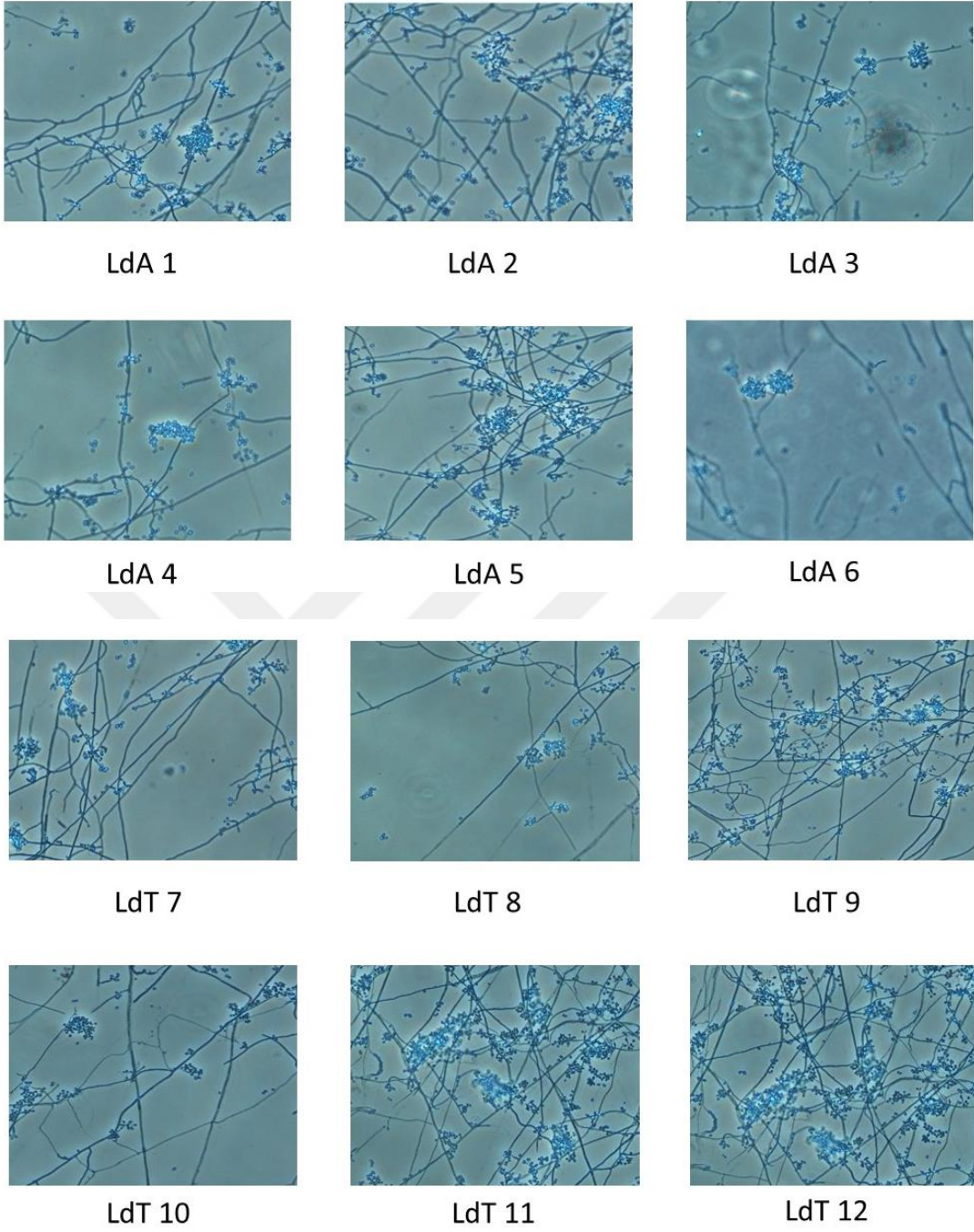
Ölü patates böceği örneklerinin tamamında vücut bütünlüğünün korunduğu ve sertleştiği, bazılarının segmentlerinden fungal misel uzaması olduğu gözlemlendi. Kadavraların bazılarının kısmen ve bazılarının da tamamen mikozyanmış olduğu tespit edildi. Ölülerin baş, göğüs ve karın kısımlarına ait segmentlerinden beyaz renkli fungal yapıların uzadıkları ve dışa taşınmaları belirlendi.

İzolatlar agar yüzeyinde tozsu ve pamuksu olarak iki farklı büyüme şekli gösterdi. Funguslar katı besiyeride beyaz koloni rengi ürettikleri gözlemlendi. Agarın alt yüzeyinde ilk olarak beyaz renkte olan görüntünün, daha sonra sarımsı veya pembemsi renklere değiştiği tespit edildi. Yine alt yüzeyde, özellikle nokta ekimlerde koloni merkezinden dışa doğru halkasal yapıların oluştuğu görüldü (Şekil 12). Agar blok kültür yöntemi kullanılarak fungusların mikroskopik incelemelerinde fungusların spor şekillerinin tam yuvarlak olduğu

tespit edildi. Fungusların mikroskobik incelemelerinde ise konidiyajen hücreleri (konidiya üreten hücreler) çoğunlukla zig-zag'lı bir yapı oluşturdukları küresel veya globaz hücrelerden meydana geldikleri gözlemlendi. Konidyumlar, konidiyoforlar çevresinde kar topları veya pamuk topları gibi kümeler halinde büyüme gösterdikleri tespit edildi (Şekil 13).



Şekil 12. Agar üzerindeki fungal izolatların üstten koloni morfolojileri.



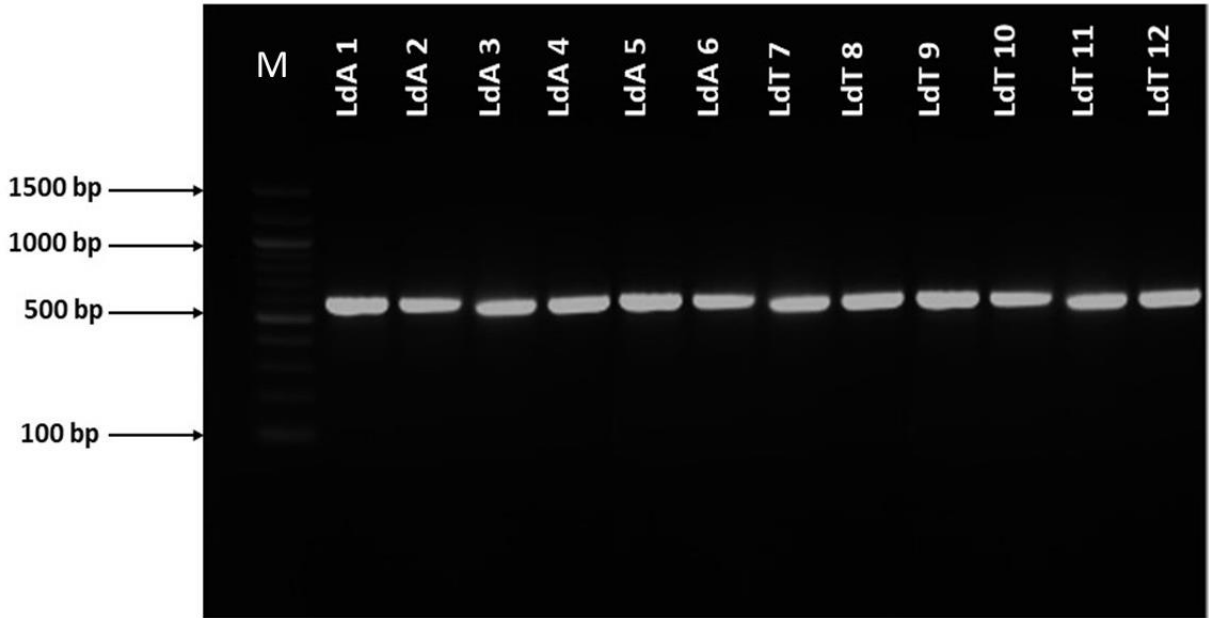
Şekil 13. Fungal izolatlarının spor ve konidiyofor yapıları.



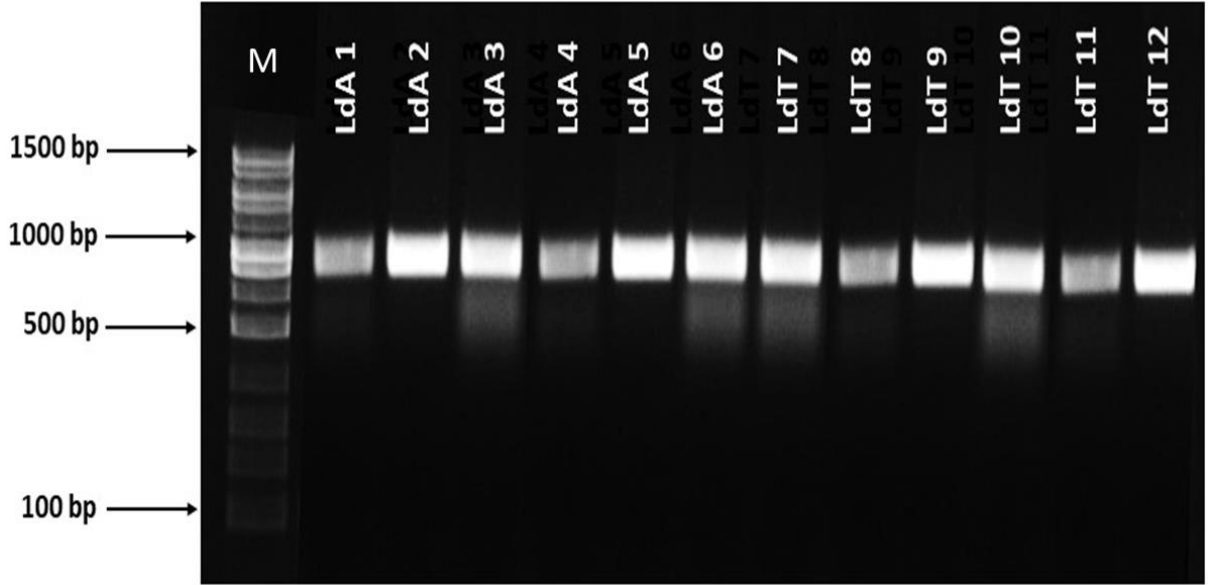
### 3.2.2. Moleküler Karakterizasyon

#### 3.2.2.1. DNA İzolasyonu

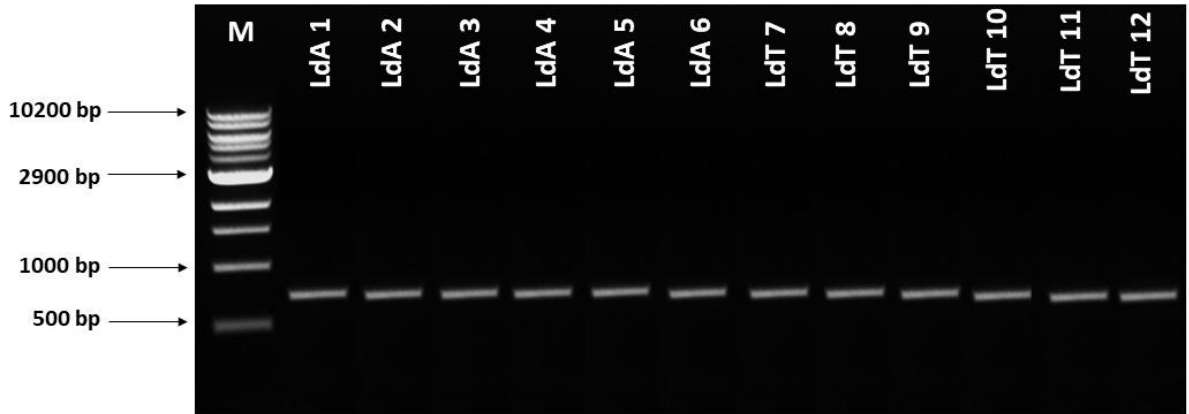
Moleküler karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesi amacıyla ilk olarak izolatların yaklaşık 600 bp'lik ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı (Şekil 14). Elde edilen bu veriler doğrultusunda, daha ayrıntılı tanımlamalarını yapmak amacıyla EF1- $\alpha$ , RPB1 ve Bloc bölgelerinin PCR ile çoğaltılması sonucunda sırasıyla yaklaşık 1150 bp (Şekil 15), 800 bp (Şekil 16) ve 1500 bp'lik (Şekil 17) gen bölgeleri çoğaltıldı.



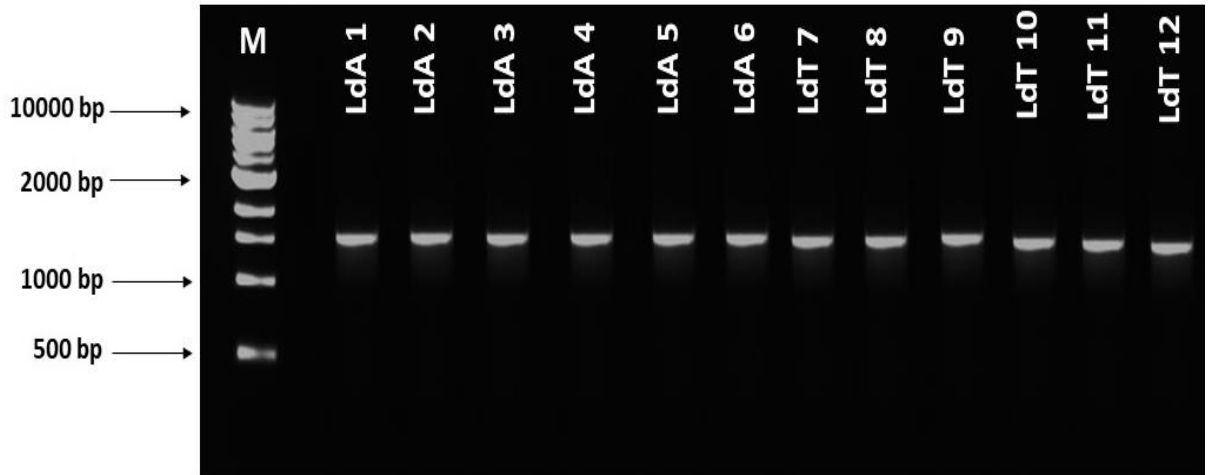
Şekil 14. Fungal izolatların rRNA ITS1-5.8S-ITS2 bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M: Standart Marker (100 bp DNA ladder).



Şekil 15. Fungal izolatların EF1- $\alpha$  bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M: Standart Marker (100 bp DNA ladder).



Şekil 16. Fungal izolatların RPB1 bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M: Standart Marker (1 kb DNA ladder).



Şekil 17. Fungal izolatların Bloc bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M: Standart Marker (1 kb DNA ladder).

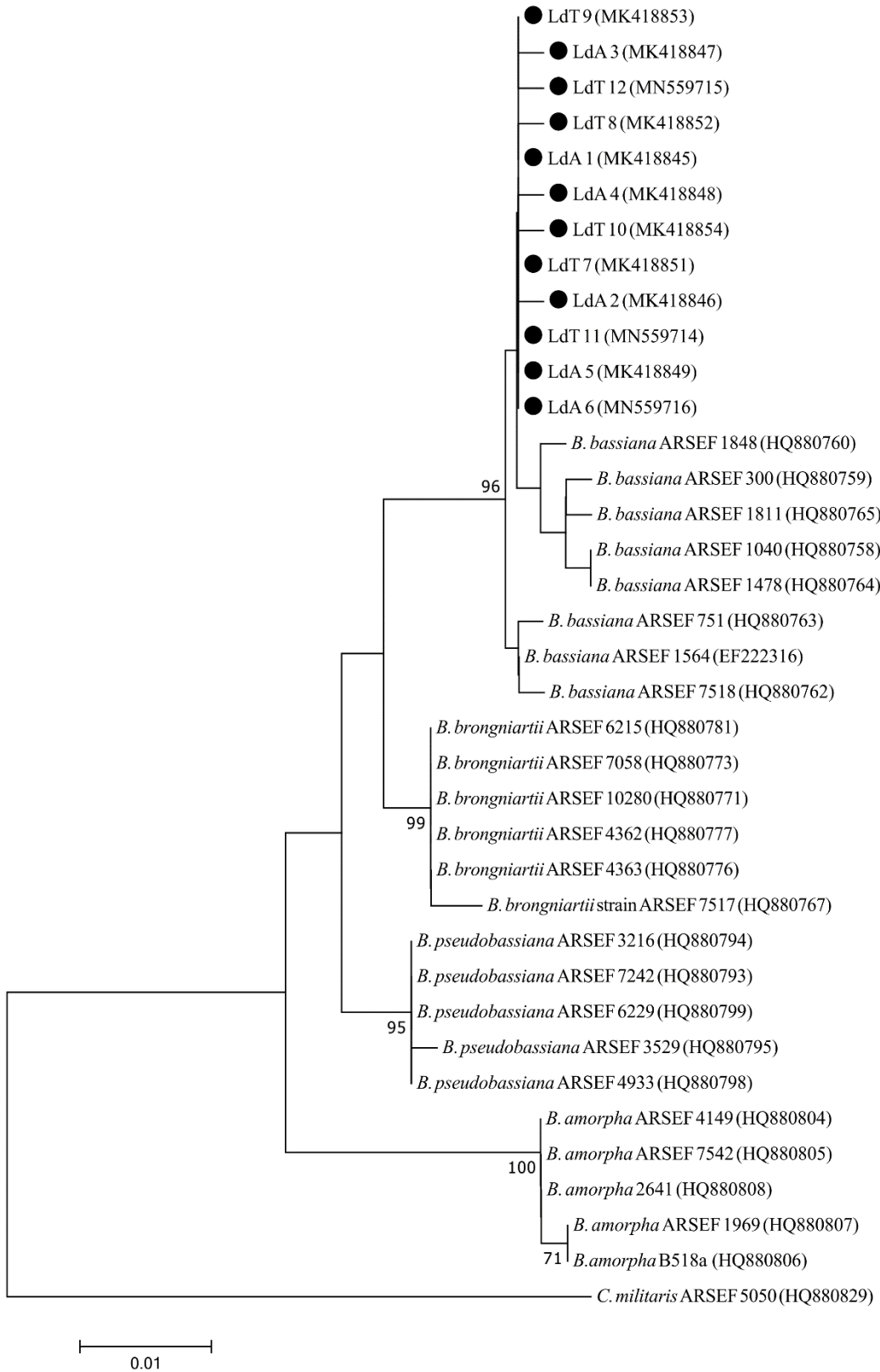
Morfolojik karakterizasyon çalışmaları ve ITS gen bölgesi analiz çalışmalarına göre *B. bassiana* olduğu belirlenen 12 izolat için EF1- $\alpha$ , RPB1 ve Bloc gen bölgelerinin NCBI GenBank'ta blastlanmaları sonucunda izolatların GenBank'ta yer alan diğer entomopatojenik fungus türleri ile yüzde benzerlik oranları belirlendi. Morfolojik olarak *B. bassiana* olarak tanımlanan türler ITS analizi sonucunda %99 oranında *B. bassiana* ile homoloji gösterdiği belirlendi (Tablo 4) ve tüm izolatlar için her gen bölgesine NCBI'dan accession numarası alındı (Tablo 5). Ayrıca, bu suşların kendi aralarındaki akrabalık derecelerini incelemek amacıyla ITS (Şekil 18) ve birleştirilmiş olarak EF1- $\alpha$ , RPB1 ve Bloc (Şekil 19) gen bölgeleri için tüm izolatların filogenetik ağaçları çizildi. İzolatların birbirlerine yakın suşlar olduğu çizilen filogenetik ağaçlarda gözlemlendi.

Tablo 5. Fungal izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri.

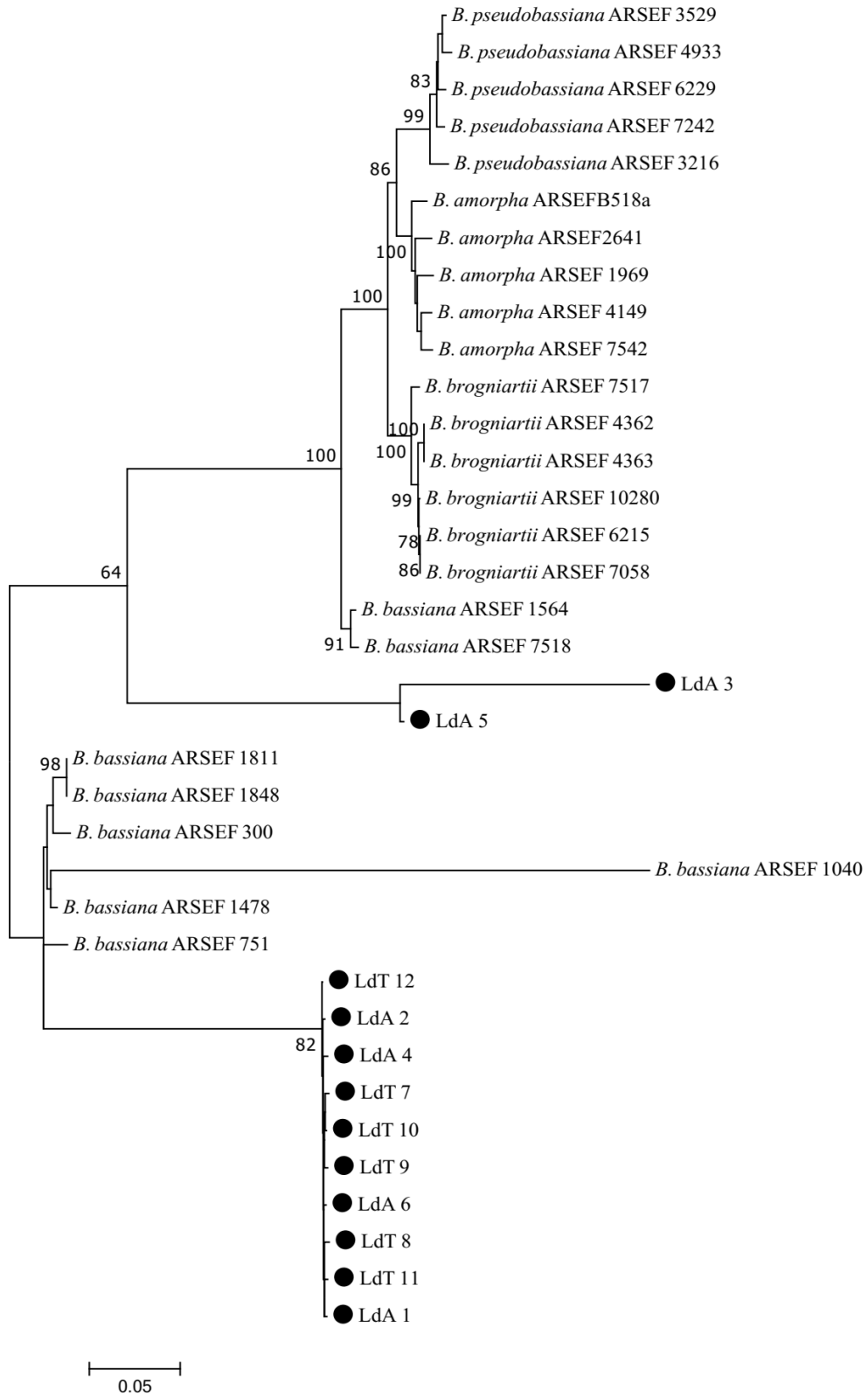
İzolatlar	Türler	ITS Benzerliği	Accession No
LdA 1	<i>B. bassiana</i> IMI 382765	%100	AJ560684
LdA 2	<i>B. bassiana</i> DAOM216540	%99.66	EU334679
LdA 3	<i>B. bassiana</i> bbR1f	%99.66	MG670098
LdA 4	<i>B. bassiana</i> HZBB160701	%99.66	MH521027
LdA5	<i>B. bassiana</i> IMI341545	%99.83	AJ560689
LdA 6	<i>B. bassiana</i> IMI 382764	%99.83	AJ560683
LdA 7	<i>B. bassiana</i> B-bug	%100	MK862359
LdT 8	<i>B. bassiana</i> VKBb03	%99.83	MG548313
LdT 9	<i>B. bassiana</i> 5A	%100	KX255641
LdT 10	<i>B. bassiana</i> TSJBB	%99.83	KF937310
LdT 11	<i>B. bassiana</i> PAL-B01	%100	JN713137
LdT 12	<i>B. bassiana</i> ARSEF 8187	%99.83	HQ444271

Tablo 6. Fungus izolatlarının accession numaraları.

İzolatlar	Tür	Gen Bölgesi	Accession No
LdA 1	<i>Beauveria bassiana</i>	ITS	MK418845
		EF1- $\alpha$	MK550627
		RPB1	MW976769
		Bloc	MN249402
LdA 2		ITS	MK418846
		EF1- $\alpha$	MK550628
		RPB1	MW976770
		Bloc	MN249403
LdA 3		ITS	MK418847
		EF1- $\alpha$	MK550629
		RPB1	MW976771
		Bloc	MN249404
LdA 4	ITS	MK418848	
	EF1- $\alpha$	MK550630	
	RPB1	MW976772	
	Bloc	MN249405	
LdA 5	ITS	MK418849	
	EF1- $\alpha$	MK550631	
	RPB1	MW976773	
	Bloc	MN249406	
LdA 6	ITS	MN559716	
	EF1- $\alpha$	MW976777	
	RPB1	MW976774	
	Bloc	MT434344	
LdT 7	ITS	MK418851	
	EF1- $\alpha$	MK550623	
	RPB1	MW959781	
	Bloc	MN249398	
LdT 8	ITS	MK418852	
	EF1- $\alpha$	MK550624	
	RPB1	MW976766	
	Bloc	MN249399	
LdT 9	ITS	MK418853	
	EF1- $\alpha$	MK550625	
	RPB1	MW976767	
	Bloc	MN249400	
LdT 10	ITS	MK418854	
	EF1- $\alpha$	MK550626	
	RPB1	MW976768	
	Bloc	MN249401	
LdT 11	ITS	MN559714	
	EF1- $\alpha$	MW976778	
	RPB1	MW976775	
	Bloc	MT434345	
LdT 12	ITS	MN559715	
	EF1- $\alpha$	MW976779	
	RPB1	MW976776	
	Bloc	MT434346	



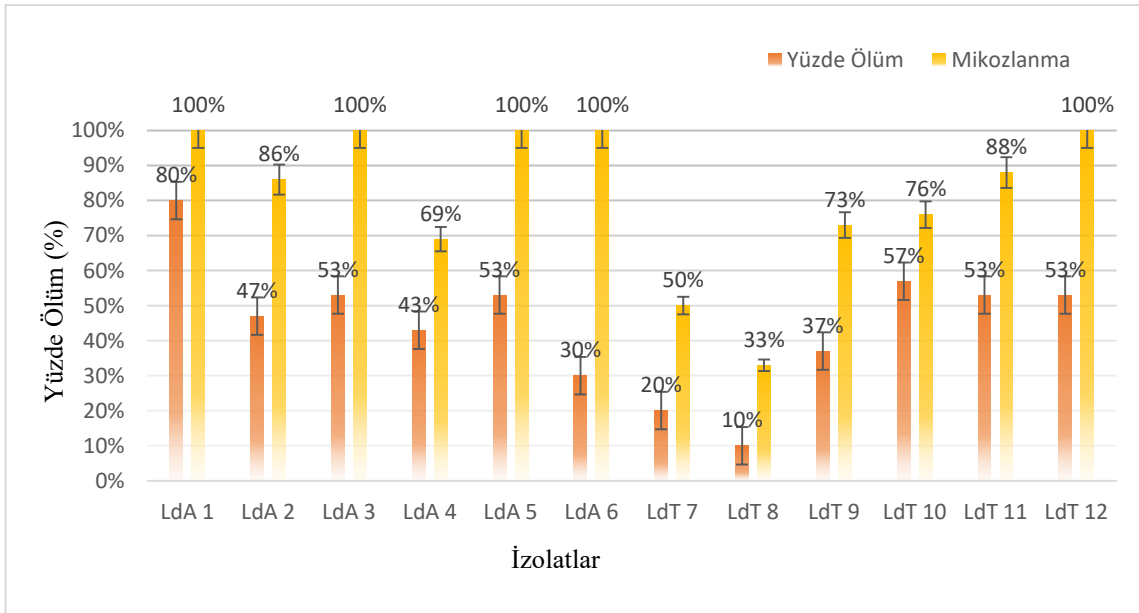
Şekil 18. İzolatlarının ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.



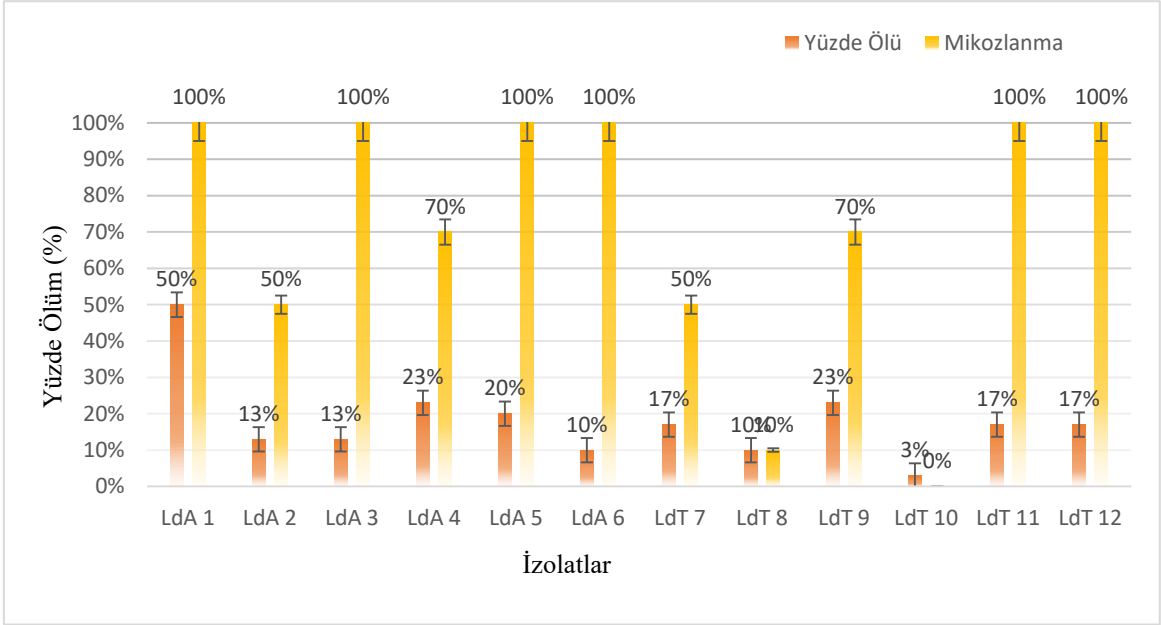
Şekil 19. İzolatlarının birleştirilmiş olarak EF1- $\alpha$ , RPB1 ve Bloc dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.

### 3.3. Fungal İzolatların Patojenite Testleri

Fungal izolatlar arasındaki virulans farklarını belirlemek amacıyla, patates böceği larva ve erginleri üzerine yapılan tarama testlerinde virulansı yüksek olan izolatın larvalarda %80 erginlerde %50 mortalite ile LdA 1 olduğu belirlendi (Şekil 20). LdA 1 izolatının mikozlanma yüzdesinin ise larva ve erginlerde %100 olduğu gözlemlendi (Şekil 21). Kontrol gruplarında herhangi bir ölüme rastlanmadığı gibi bütün izolatların birbirleri arasında farklı ölüm değerlerine sahip oldukları belirlendi.

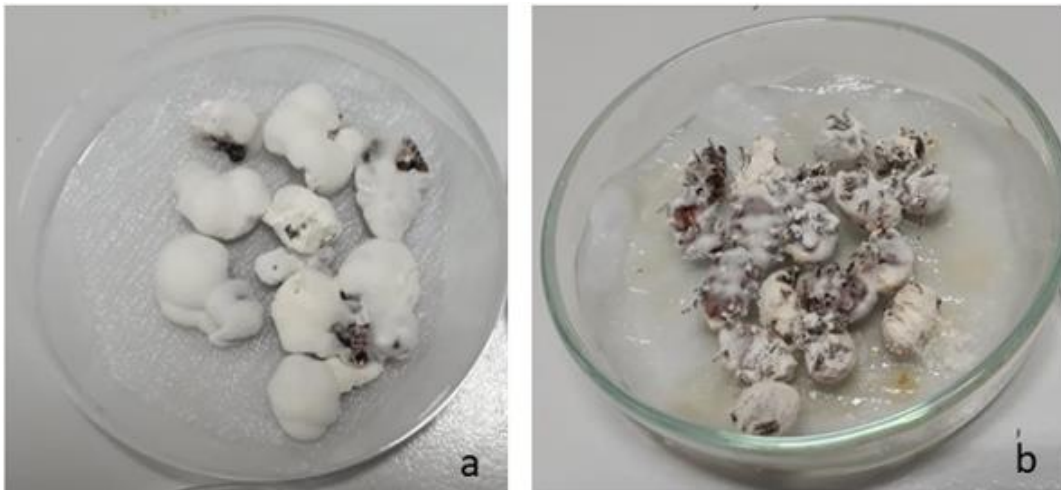


Şekil 20. İzolatların  $1 \times 10^7$  spor/ml konsantrasyonda larvalar üzerindeki tarama testi sonuçları.



Şekil 21. İzolatların  $1 \times 10^7$  spor/ml konsantrasyonda erginler üzerindeki tarama testi sonuçları.

Larva ve ergin kadavralarında melanizasyon gözlemlendi ve mikozlanma 3. günde görülmeye başlandı. Ölü böcekler üzerindeki büyüme ve sporlaşma oranlarının karşılaştırılmasında da bütün izolatların kontrol grubundan farklı olduğu ve aralarında değişik mikozlanma seviyeleri gösterdikleri gözlemlenerek larva ve erginlerdeki mikozlanmalar görüntüledi (Şekil 22).

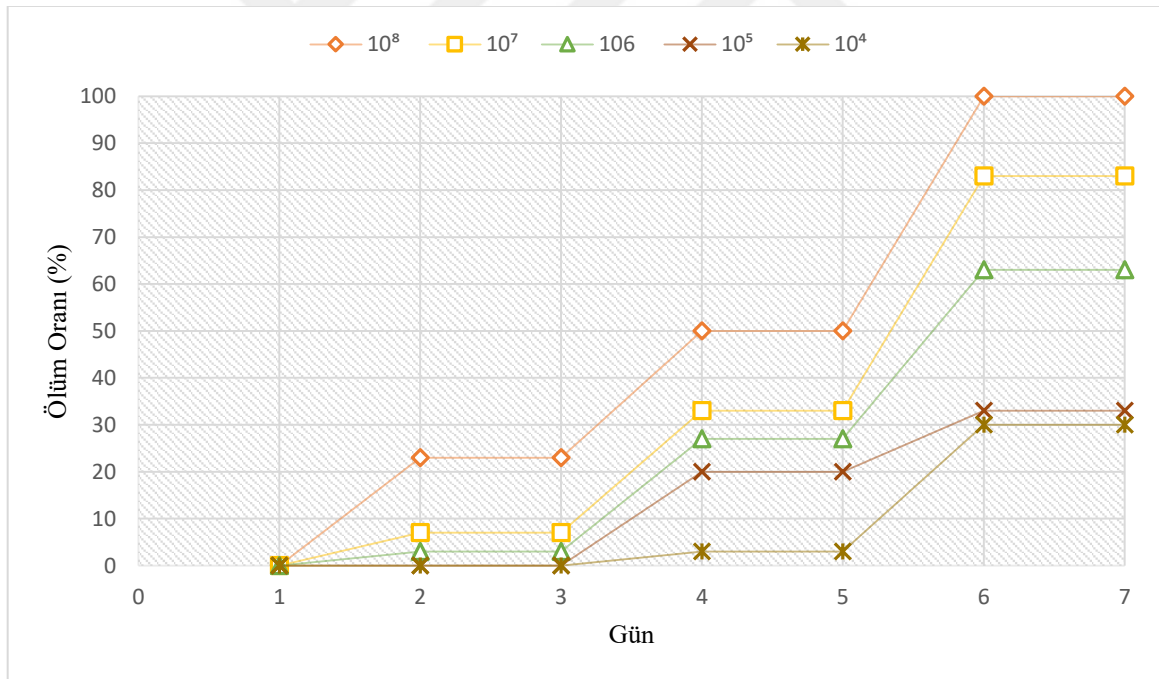


Şekil 22. Tarama testlerinde ölen böceklerin mikozlanma görüntüleri. Larvalar (a) ve erginler (b) üzerindeki mikozlanmalar.

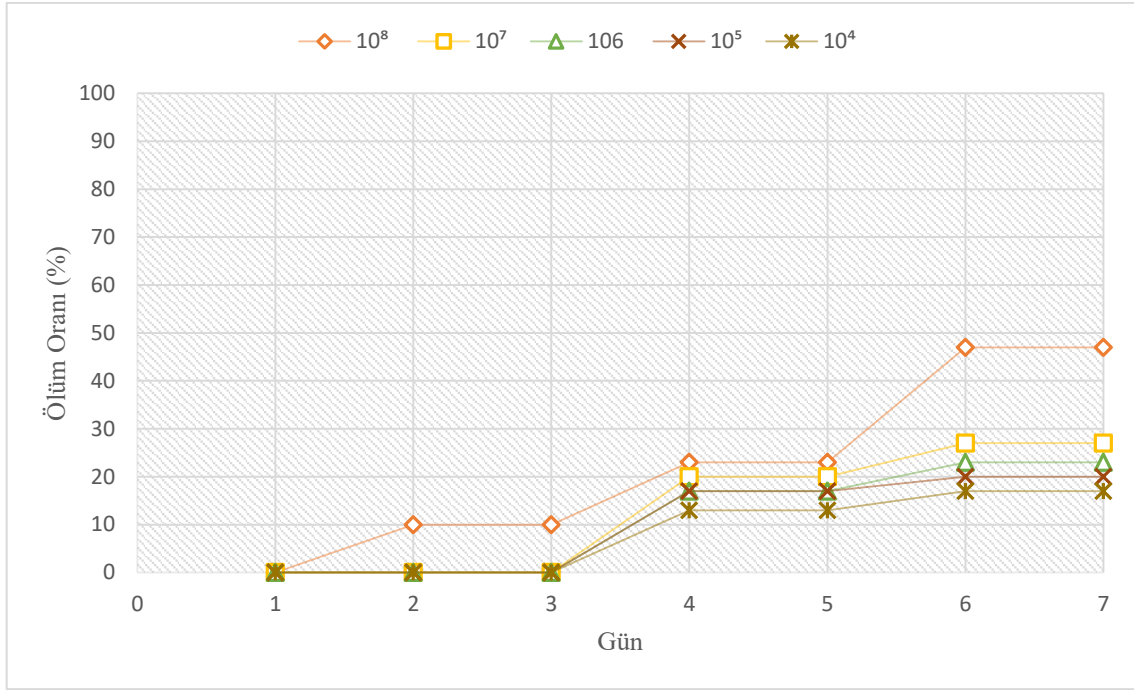


### 3.4. Fungal İzolatların Doz Deneme Testleri

Yapılan tarama testleri sonucunda larva ve erginlerde patojenitesi en yüksek izolat olarak belirlenen LdA 1'in beş farklı dozunun ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  spor/ml) zararlı üzerinde denemeleri gerçekleştirildi. Uygulanan dozlarda en hızlı ölüm larva (Şekil 23) ve erginler (Şekil 24) için  $1 \times 10^8$  spor/ml'lik konsantrasyon ile sağlandığı tespit edildi. LdA 1 izolatının 7. gün sonunda larvalarda  $LC_{50}$ :  $0.2 \times 10^6$  (0.03-1.15), slope: 0.525, SE: 0.377,  $x^2$ : 0,701 ve df: 3; erginlerde ise  $LC_{50}$ :  $0.17 \times 10^8$  (0.002-1.411), slope: 0.199, SE: 0.975,  $x^2$ : 0,912 ve df: 3 olarak hesaplandı. Uygulama sonunda her konsantrasyonda ölen larvaların tamamının, erginlerin ise bir kısmının mikozlandığı ve bir kısmının melenizasyon gösterip mikozlanmadığı ve mikozlanma göstermeyen ölümlerde de parazitlenme olduğu tespit edildi (Şekil 25). Yedinci gün sayımlarında  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonunun larvalarda %100, erginlerde %47 oranında ölüm etkisi gösterdiği tespit edildi.



Şekil 23. LdA 1 izolatının larvalar üzerindeki doz denemesi sonuçları.



Şekil 24. Lda 1 izolatının erginler üzerindeki doz deneme testleri.



Şekil 25. Doz denemeleri sonucunda ölen larvalar (a) ve erginlerin (b) mikoz ve melanizasyon görüntüleri.

### 3.5. Virulansı Yüksek Olan İzolatın Ürün Çalışmaları

İnsektisidal aktivite testleri sonucunda virulansı yüksek olarak belirlenen Lda 1 izolatının katı hal fermentasyonu gerçekleştirilerek patates böceğine karşı prototip fungal mücadele ürünü olarak geliştirildi. Fungus izolat 50 ml'lik antibiyotik içeren sıvı besiyerinde 25°C'de 4 gün boyunca sallayıcıda büyütüldü. Büyüyen izolat daha önceden otoklavda steril edilmiş olan 200 gr pirinç üzerine inoküle edildi (Şekil 26). Pirinçler 25°C'de %85 nem

koşullarına sahip olan etüvde 25 gün boyunca inkübe edildi. Pirinç yüzeyinde büyüyen sporlar steril %1'lik Tween 80 ile hasat edilerek hemositometre yardımıyla sayımı yapıldı ve son konsatrasyonu  $1 \times 10^8$  spor/ml olacak şekilde ayarlandı. LdA 1 izolatının prototip fungal mücadele ürünü olan yağ formülasyonu geliştirildi ve ürün Chrysomelisidal olarak adlandırıldı (Şekil 27). Bu formülasyon %10 canlı spor, bitkisel %1 yağ ve %89 diğer bileşenler içerir.



Şekil 26. LdA 1 izolatının sıvı besiyeri ve pirinç yüzeyinde büyütülmesi.



Şekil 27. LdA 1 izolatından geliştirilen yağ formülasyonlu prototip ürün.

### 3.6. Formülasyonunun Saksı Denemeleri

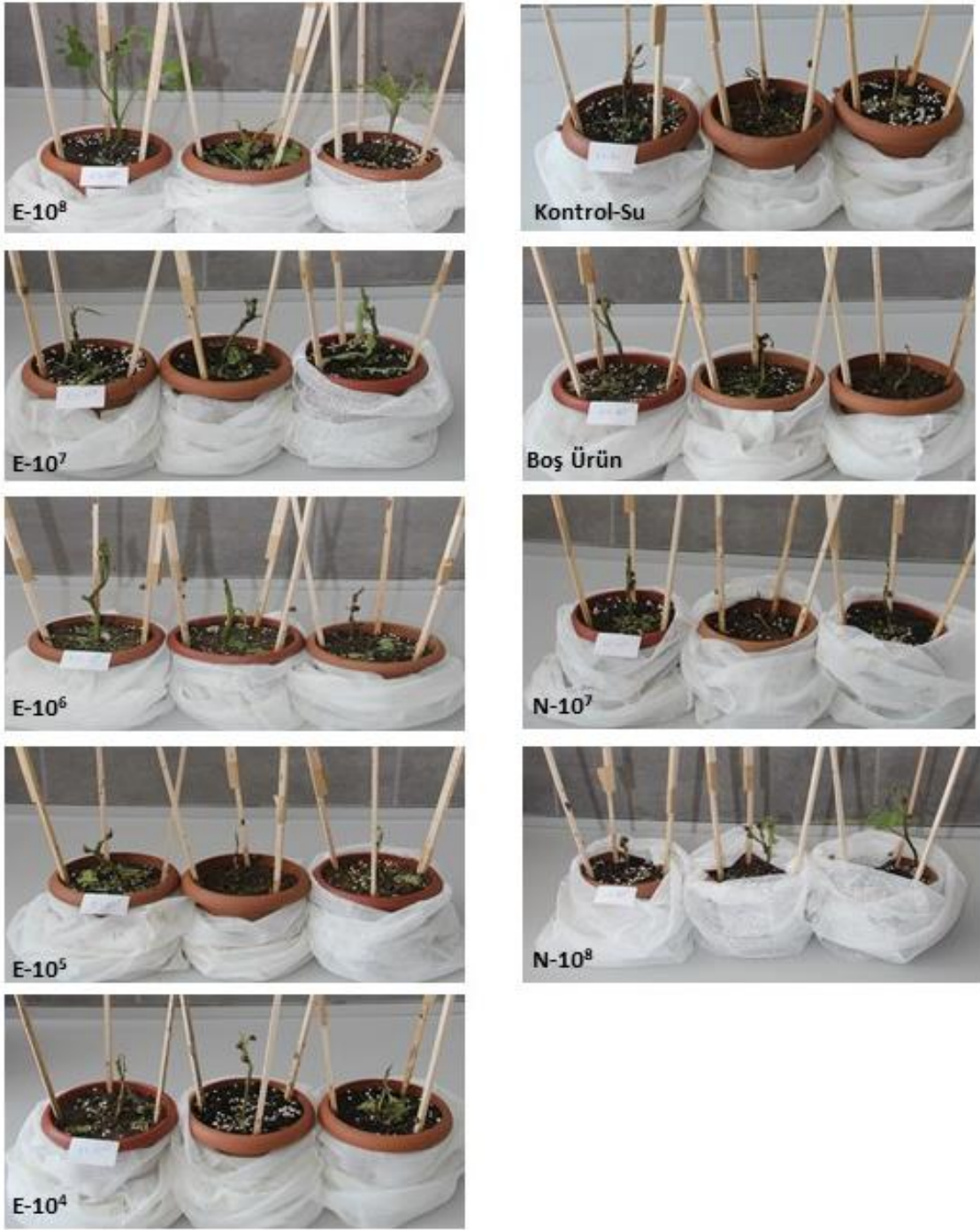
LdA 1 izolatından üretilen yağ formülasyonu (Chrysomelisidal) larva ve erginler üzerinde beş farklı dozda denenmesi ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  spor/ml) saksılara dikili olan patlıcan fideleri üzerinde laboratuvar koşullarında gerçekleştirildi. Kullanılan dozlarda en hızlı ölüm larva ve erginler için  $1 \times 10^8$  spor/ml'lik konsantrasyon ile sağlandığı tespit edildi. Yüksek doz uygulamalarında larva ve erginlerin bitkinin tamamını bitiremediği

gözlemlenirken düşük doz uygulamalarında bitkinin yaprak kısmını yemesinin yanısıra bitki saplarında özsuyunu emerek bitkinin sapını dahi yediği gözlemlendi (Şekil 28, 29). Saksı denemelerinin yüksek doz uygulamalarında bazı larvalar prepupaya geçişte öldüğü gözlemlendi (Şekil 33). Düşük dozlarda ölen larvalarda ise mikozlanma ile birlikte parazitoit çıkışı ve bakteri enfeksiyonu gözlemlendi. Kontrol gruplarında larva ve erginlerin bitkinin tamamını bitirdiği gözlemlendi.

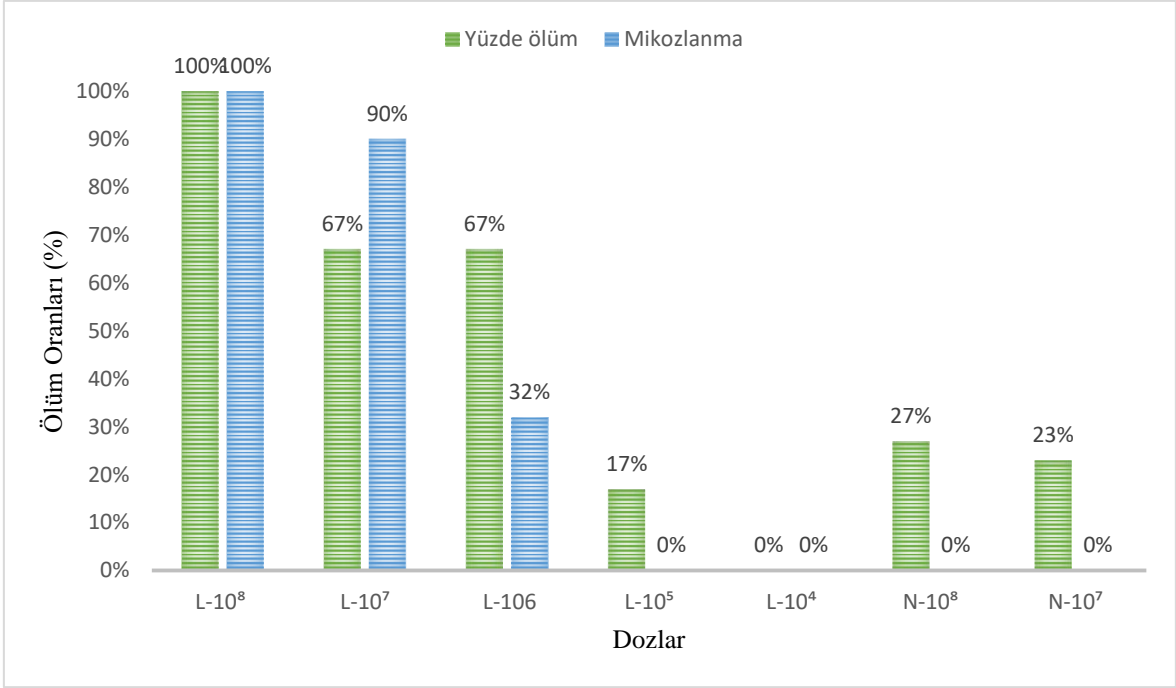
Uygulama sonunda her konsantrasyonda ölen larvaların ve erginlerin tamamının mikozlandığı ve melanizasyon gösterdiği tespit edildi (Şekil 32). Yedinci gün sayımlarında  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyon larvalarda (Şekil 30) %100 ve erginlerde (Şekil 31) %97 oranında ölüm gösterdi. Pozitif kontrollerde larvalar üzerinde Nostalgist'in  $10^8$  ve  $10^7$  spor/ml konsantrasyonlarda sırasıyla %27, %23 ve erginler üzerinde %3, %0 oranında mortalite gösterdi. Nostalgist uygulaması sonrası ölmeyen larvaların kontrollere göre daha geç pupa evresine geçiş yaptığı tespit edildi. Yağ formülasyonunun 7. gün sonunda larvalarda  $LC_{50}$ :  $1.2 \times 10^6$  (0.3-4.8), slope: 0.71, SE:0.294,  $x^2$ : 0.541 ve df: 3 erginlerde ise  $LC_{50}$ :  $0.2 \times 10^7$  (0.06-0.9), slope: 0.7, SE: 0.3,  $x^2$ : 0.059 ve df: 3 olarak hesaplandı.



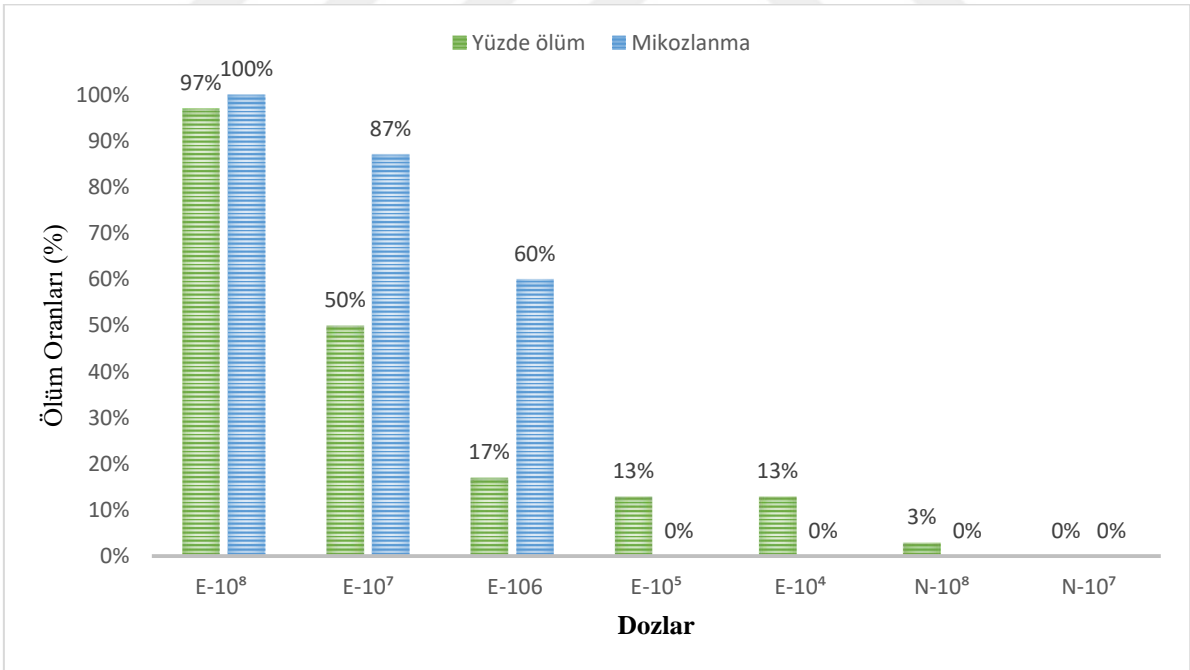
Şekil 28. Yağ formülasyonunun larvalar üzerinde doz denemeleri sonuçları.



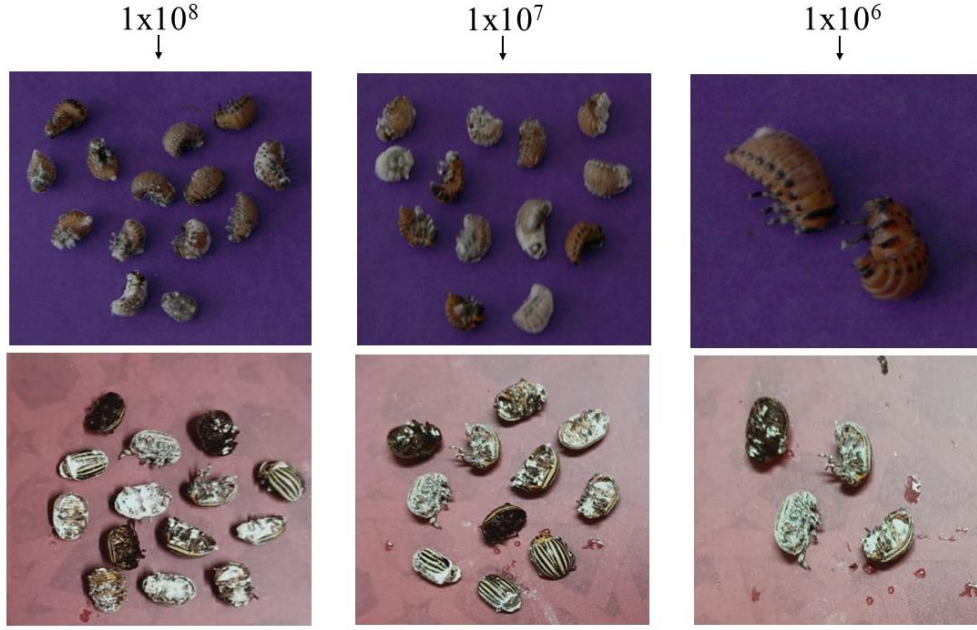
Şekil 29. Yağ formülasyonunun erginler üzerinde doz denemeleri sonuçları.



Şekil 30. Yağ formülasyonunun saksı uygulaması ile larvalar üzerindeki 7. gün doz denemesi sonuçları.



Şekil 31. Yağ formülasyonunun saksı uygulaması ile erginler üzerindeki 7. gün doz denemesi sonuçları.



Şekil 32. Yağ formülasyonunun saksı denemeleri sonucunda ergin ve larvalar üzerindeki mikozlanma görüntüleri.

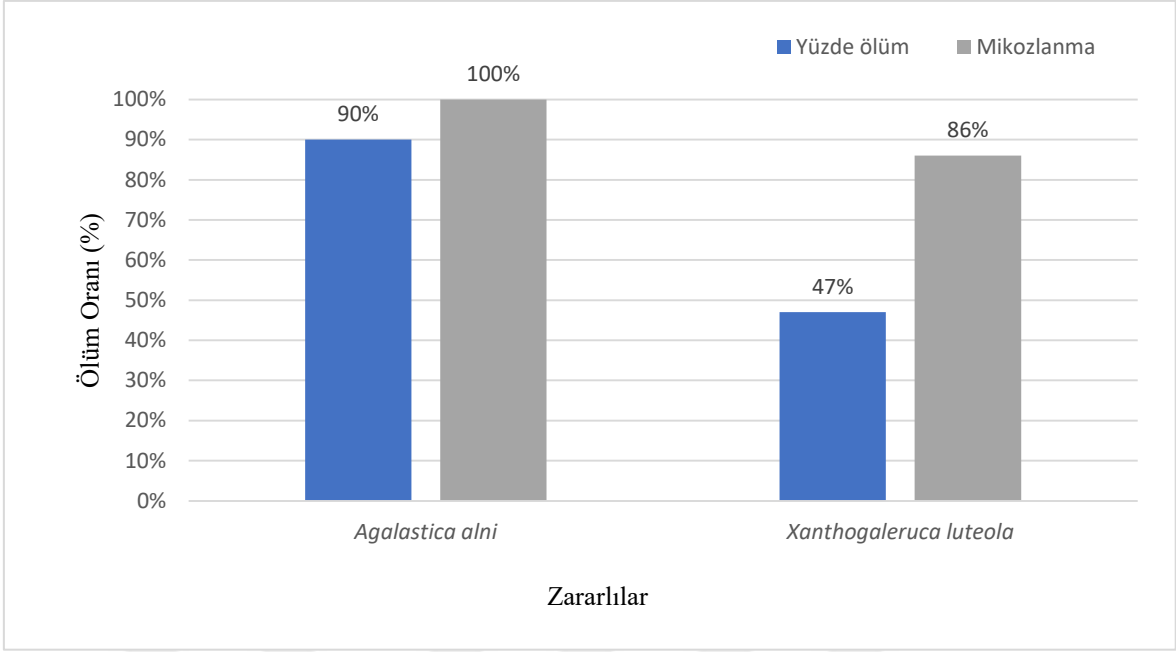


Şekil 33. Yağ formülasyonunun saksı denemeleri sonucunda prepupa görüntüleri.

### 3.7. Formülasyonun *Agalastica alni* ve *Xanthogaleruca luteola* Denemeleri

Formülasyonu Chrysomelidae familyasından kıızılağaç yaprak böceği (*Agalastica alni*) larvaları üzerinde  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda %90 mortalite, %100 mikozlanma ve kara ağaç böceği (*Xanthogaleruca luteola*) erginleri üzerinde  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda %47 mortalite ve %86 mikozlanma gösterdiği tespit edildi.





Şekil 34. Formülasyonun *Agalastica alni* larvaları ve *Xanthogaleruca luteola* erginleri üzerindeki 7. gün deneme sonuçları.

#### 4. TARTIŞMA

Ülkemizde ve dünyada patates bitkisi, tarım alanlarında kültüre edilen ve gerek beslenmede ve gerekse de sanayilerde kullanılan önemli bir bitkidir. Patates bitkisi üzerinde pek çok zararlı organizma etkinlik göstermektedir. Bunlar arasında en önemlilerden birisi patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*, Col: Crysomelidae)'dir. Patates böceği gibi önemli zararlıların biyolojik mücadelesine yönelik ülkemizde ve dünyada çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Kurşuncu şahin ve Karaca, 2019).

Bu çalışmada, tarım arazilerinde doğal halde ölü olarak bulunan patates böceğinden fungus izolasyonları yapıldı ve bu izolatların, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu gerçekleştirildi. Patates böceğinden 12 *Beauveria bassiana* suşu elde edildi. Bu suşların tarama testleri gerçekleştirilerek patojenitesi en yüksek olan LdA 1 yerel kodlu suşun olduğu tespit edildi. Bu suşun doz denemeleri gerçekleştirilerek yağ formülasyonu geliştirildi ve laboratuvar koşullarında saksı denemeleri yapıldı. Formülasyonun kıızılağaç yaprak böceği (*Agalastica alni*) ve kara ağaç böceği (*Xanthogaleruca luteola*) zararlıları üzerinde biyotestleri kuruldu. Çalışmada gerçekleştirilen tüm biyotestlerde püskürtme yöntemi kullanıldı. Çünkü püskürtme yöntemi bir preparatın doğal koşullarda uygulanması sürecinde kullanım kolaylığı ve etkinliğine sahiptir. Ayrıca, zararlı üzerine püskürtme yapılması sporların böcek kütikülasına etkili biçimde yapışmasını ve çimlenmesini sağladığından dolayı ölüm oranını artırmaktadır (Öztürk, 2016).

Ülkemizde patates böceğinden entomopatojen bir fungusun izolasyonu ve etkinlik denemeleri ilk kez Çam vd. (2002) tarafından yapılmış olup, izole edilen *B. bassiana* zararlının ergin ve larva dönemlerinde test edilmiştir. Fungusun, zararlının erginleri üzerinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında da fungus izolatlarının tarama testlerinde larvaların erginlerden daha yüksek mortalite göstererek larvalarda daha etkili olduğu tespit edildi.

Güven vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada, *Beauveria bassiana* suşlarını patates böceği larvaları ve erginlerine karşı  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda püskürtme yöntemiyle uygulamış, elde edilen larva ölümleri sırasıyla BMAUM-001 için %72,7, BMAUM-002 için %83,6, BMAUM-003 için %83,6 olarak saptamıştır. Erginlerde BMAUM-002 izolatında bir erginde ölüm gözlemlenmiştir. Bu tez çalışmasında kullanılan *Beauveria bassiana* suşları  $1 \times 10^7$  spor/ml patates böceği üzerinde en yüksek mortalite gösteren LdA 1 izolatı larva ve

erginlerde sırasıyla %80 ve %50, en düşük mortalite gösteren izolatlar larvalarda LdT 8 % 10, erginlerde LdT 10 %3 olarak tespit edildi. Bu çalışmada  $1 \times 10^7$  spor/ml konsantrasyon kullanılmasına rağmen Güven vd. (2015) yaptıkları bir çalışmaya göre daha etkili bir suş olduğunu gösterdi.

Todorova vd. (2000) 10 farklı *B. bassiana* izolatını *L. decemlineata*, *Myzus persicae* ve avcıları olan *Coleomegilla maculata lengi*' ye denemiştir. 6 izolat üç böcek türüne de oldukça yüksek etki göstermiştir. Fakat 4 izolat zararlı iki böcek türüne yüksek patojenite gösterirken avcıya düşük patojenite gösterdiğini tespit etmiştir. Sekizinci günde ergin bireylerde; *B. bassiana*'nın 353, 46, 210087, 252, 21007, 49 izolatları için sırası ile %100, %93.3, %90, %90, %86.7, %66.7 ve %56.7 mortalite gösterdiğini tespit etmiştir. Bu tez çalışmasında ise 12 farklı *Beauveria bassiana* izolatı  $1 \times 10^7$  spor/ml konsantrasyonda patates böceğine uygulandı. Tarama testlerinde patates böceğine karşı kullanılan 12 suşun larvalarda 6 suşun virulansı, erginlerde ise 4 suşun virülansı %50 ve %50'den daha fazla mortalite gösterdiği tespit edildi. Demir vd. (2014), patates böceğine karşı 6 yerel entomopatojen fungus izolatının (*B. bassiana*, *Clonostachys sp.*, *Myriodontium keratinophilum*, *B. bassiana*, *M. anisopliae*) insektisidal etkisini laboratuvar koşullarında incelemiştir. Çalışmanın 15'inci günü sonunda Gg-11 ve E-1 kodlu fungal izolatlar  $1 \times 10^7$  spor/ml ile erginler üzerinde %100 ölüme sebep olmuş ve fungal izolatların  $1 \times 10^7$  spor/ml ile erginler üzerinde farklı mortalite oranlarına sahip olduğunu tespit etmiştir. Karaman (2019) yaptığı bir çalışmada, *Beauveria bassiana*, *Simplicillium lamellicola*, *Isaria fumosorosea*, *Lecanicillium muscarium* ve *Metarhizium anisopliae*'nin  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyondaki süspansiyonlarını püskürtme yöntemi ile patates böceğinin ikinci, üçüncü, dördüncü dönem larvaları ve erginlerine uygulamış. *B. bassiana* suşunun laboratuvar koşullarında yedinci günde tüm larva dönemlerinde %100, ergin dönemde ise %90 etki göstermiş. *B. bassiana* ile yaptığı saksı çalışmalarında ikinci larva döneminde %100 etki göstermiş olup, bunu üçüncü ve dördüncü larva ve ergin dönemleri sırasıyla %69.28, %53.4, %26.6 mortalite gösterdiğini bildirmiştir. Bu tez çalışmasında ise, LdA 1 kodlu izolatın laboratuvar koşullarında  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda larva ve erginlerde sırasıyla %100 ve %47 mortalite gösterdiği tespit edildi. Yapılan çalışmalar entomopatojen fungusların farklı tür ve izolatlarının farklı konukçularda farklı virülans gösterebileceğini ortaya koymuştur (Öztürk, 2016). Bu tez çalışmasında patates böceğine karşı uygulanan *Beauveria* cinsine ait farklı suşların erginler ve larvalar üzerinde farklı virülans oranlarına sahip oldukları belirlendi. Literatürde yapılan

diğer çalışmalar göz önünde bulundurularak türler arası farklı fungusların yanı sıra suşlar arası farklı funguslarda virulans değerlerinin de farklı oranlarda olduğu tespit edildi.

Bu tez çalışmasında tarama testlerinde larva ve erginlerde en yüksek virulansa sahip olan LdA 1 kodlu izolatın doz denemelerinde en yüksek suşun en hızlı öldürücü etkiye sahip olduğu belirlendi. Tarama testleri sonucunda  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda yedinci günün sonunda larvalar üzerinde %100 erginler üzerinde %47 mortalite gösterdiği belirlendi. Buna benzer bir çalışmada, (Ulusoy, 2016) *Galleria* tuzak yöntemi ile 71 adet *Beauveria bassiana* izole etmiştir. Rastgele seçilen beş farklı *B. bassiana* suşu ile bir adet standart suşun (Danimarka) üç farklı konsantrasyonu ( $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  ve  $1 \times 10^7$  spor/ml) patates böceği larvaları üzerine püskürtme, larva daldırma ve yaprak daldırma şeklinde uygulamalarını yapmıştır. Farklı konsantrasyonlarda denenen *B. bassiana* suşlarının ortalama ölüm süreleri karşılaştırıldığında her suşun en yüksek dozunun en etkin olduğu tespit edilmiştir ve 8. günde başarı %50 ölüm oranı ile sınırlı kalmıştır. Bu tez çalışmasında patates böceğine karşı  $1 \times 10^7$  spor/ml konsantrasyonda larva erginlerde sırasıyla %83 ve %27 mortalitenin gözlemlenmesi LdA 1 kodlu *Beauveria bassiana* suşunun patates böceğinin larvalarına karşı yukarıdaki çalışmaya kıyasla daha etkili olduğu tespit edildi. Bu farklılığın sebebi kullanılan patates böceği popülasyonu veya LdA 1 suşunun zararlı üzzerinde daha etkili bir virulansa sahip olması olabilir.

Todorova ve arkadaşları (2000) yaptıkları bir çalışmada, farklı *B. bassiana* izolatları uygulamasında 8. günün sonunda patates böceğine karşı %80' nin üstünde ölüm oranı gerçekleştiğini gözlemlemiştir. Bu çalışmada da LdA 1 suşunun larva ve erginler üzerindeki doz denemelerinde ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  ve  $1 \times 10^8$  spor/ml) kullanılan konsantrasyonlar arasında en yüksek dozun etkili öldürücü etkiye sahip olduğu gözlemlendi. Doz denemelerinde yedinci günün sonunda larva erginlerde sırasıyla  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda %100 ve %47,  $1 \times 10^7$  spor/ml'de %83 ve %27,  $1 \times 10^6$  spor/ml'de %63 ve %23,  $1 \times 10^5$  spor/ml'de %33 ve %20,  $1 \times 10^4$  spor/ml'de %30 ve %17 olarak gözlemlendi. Bu çalışmada LdA 1 suşunun yapılmış diğer çalışmalara göre daha etkili bir kontrol ajanı olduğu tespit edildi.

Bu tez çalışmasında, patates böceklerinde karşı denenen LdA 1 suşunun beş farklı doz ( $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^4$ ) denemelerinde mortalitenin doz artışı ile pararle olduğu gözlemlendi. Yüksek dozlardaki uygulamalarda böceğin larva ve erginlerinde daha yüksek öldürücü etkile sahip olduğu ve daha kısa sürede zararlıyı öldürdüğü tespit edildi. Düşük dozlardaki uygulamalarda ise mortalite göstermeyen canlıların beslenmesinde azalma olduğu

belirlendi. Yapılan birkaç çalışmada da doz değerlerinin farklılığı gözlemlenerek bu çalışma ile benzer sonuçlara varılmış. Akbarian vd. (2012) de *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatlarının patates böceği larvaları üzerinde etkisini araştırmış konsantrasyon artışına bağlı olarak ölüm oranlarının arttığını, %78'e varan oranda ölüm meydana geldiğini ve *B. bassiana* izolatlarının *M. anisopliae* izolatlarına oranla daha yüksek öldürücü etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Asodalopour vd. (2011) *B. bassiana* izolatlarının da yer aldığı 7 farklı entomopatojen fungus türüne ait izolatlarla yaptıkları çalışmada patates böceği larvalarında doz artışına bağlı olarak ölüm oranlarının arttığını izolatların virulanslıklarının farklılık gösterdiğini ve en yüksek etkinin *B. bassiana* izolatlarından elde edildiğini rapor etmiştir.

Öztürk (2016) yaptığı bir çalışmada, entomopatojen fungus içeren farklı ticari biopestisit ve patates böceğinden izole edilen entomopatojen fungusların patates böceğine karşı etkilerini farklı yöntemler kullanılarak denemiştir. Yedinci günün sonunda  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda uygulanan funguslar ikinci, üçüncü ve dördüncü dönem larvalarda %100'e varan ölümler gözlemlemiştir. Ergin denemelerinde zararlı üzerinde %58.6-86.2 oranlarında ölüm meydana getirdiğini tespit etmiştir. Bio-Magic®, Nibortem®, ve Nostalgist® üçüncü dönem larvalarda sırasıyla %96.4, %92.9 ve %82.1 oranında ölüme sebep olduğunu gözlemlemiştir. Aynı biyopestisitler erginlerde ise sırasıyla %20, %36.7 ve %33.3 oranında ölüme sebep olduğunu tespit etmiştir. Sarı (2020) yaptığı bir çalışmada, patates böceğine karşı entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* BIM-001 izolatı ve Nostalgist denemiştir. Larvalardaki en yüksek ölüm yüzdesini yedinci günde *B. bassiana* BIM-001'in  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonunda saptamış ve üçüncü larva döneminde %94,2, Nostalgist uygulamasında ise %46 olarak tespit etmiştir. Erginlerde %2 oranında ölüm gerçekleştirmiş olup Nostalgist uygulamalarında ölüm saptamamıştır. Erkılıç ve Uygun (1993), Sovyetler Birliği'nde *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. konidilerinden elde edilmiş Boverin® isimli ticari preparatı düşük dozlarda insektisitlerle karıştırarak patates böceğine karşı yaptıkları çalışmada mücadele de başarının arttığını tespit etmiştir.

Bu tez çalışmasında patates böceğinden ülkemizden izole ettiğimiz 12 fungal suştan LdA 1 tarama testleri sonucunda en etkili izolat olarak bulundu. Bu izolat  $1 \times 10^7$  spor/ml konsantrasyonda yedinci gün sonunda larva ve erginler üzerinde sırasıyla %80 ve %50 ölüm değerleri meydana getirdi. Bu değerler yukarıda verilen referanslarla karşılaştırıldığında literatürdeki değerlerle benzer olduğu görüldü. Doz denemelerinde ise aynı izolat larvalar üzerinde  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda yedinci günde %100 ölüm ve mikoz değeri meydana getirdiği tespit edildi. Aynı konsantrasyon ve sürede erginler üzerinde ise %47

ölüm meydana getirirken bu ölümlerde %100 mikozlanma gerçekleştirdiği gözlemlendi. Bütün bunlar yerel izolatın patates böceği üzerinde literatürdekilerden daha etkili olduğunu gösterdi. Ayrıca, yerel izolatların ekolojik koşullara uyum sağlaması açısından üstünlüğe sahip olmaları, bu izolatları zararlılarla mücadelede avantajlı kıldığını gösterdi. Bu nedenle çalışmamızda izole ettiğimiz LdA 1 kodlu *Beauveria bassiana* izolatından zararlının biyolojik mücadelesinde kullanılmak üzere yerel bir mikoinsektisit geliştirilmesine karar verildi. Çalışmalar sonucunda yağ bazlı bir mikoinsektisit olan Chrysomelidal adı verdiğimiz yerel bir formülasyon geliştirildi.

Ürünün saksı üzerindeki doz denemelerinde  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonunda 3. dönem larva ve erginlerde sırasıyla %100 ve %97;  $1 \times 10^7$  spor/ml'de %67 ve %50;  $1 \times 10^6$  spor/ml'de %67 ve %17;  $1 \times 10^5$  spor/ml %17 ve %13;  $1 \times 10^4$  spor/ml %0 ve %13 ölüm değerleri tespit edildi. Pozitif kontrol olarak kullanılan Nostalgist ticari ürününde 3. dönem larvalarda ve erginlerde  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda sırasıyla %27 ve %3;  $1 \times 10^7$  spor/ml'de %23 ve %0 mortalite gösterdi. Geliştirilen yağ formülasyonunun patates böceği üzerinde en az ticari biyopestisitler kadar etkili olduğu tespit edildi. Yağ fomülasyonunun larvalar üzerinde erginlere kıyasla daha etkili olduğu tespit edildi. Formülasyonun düşük dozlarında zararlının pupaya geçişinde ölümlerin gerçekleştiği gözlemlendi. Nostalgist ticari ürününde ise hayatta kalan larvaların pupaya geçiş döneminin geciktiği gözlemlendi. Watt ve Lebrun (1984) toprağa *B. bassiana* uygulamasının patates böceğinin birinci ve ikinci nesil pupalarına sırası ile %74 ve %77 oranında etkili olduğunu ve pupadan ergin çıkışını azalttığını bildirmiştir.

Bu çalışmada yapılan uygulamalarda larvalardaki ölüm oranlarının erginlere kıyasla daha fazla olduğu gözlemlendi. Bunun sebebi ise, böceğin deri değiştirmesi esnasında biriken kutikular mumlar ve sonrasında böcek yaşamının intermolt dönemi, mikroorganizmaların büyümesini ve penetrasyonunu engelleyen kimyasal bileşenler içermesidir (David, 1967). Larva kutikulasında ise kimyasal bileşenler olgunlaşmayla farklılaşır ve kutikulanın sertleşmesine bir yandan da mikrobiyal enfeksiyonlara karşı iç savunma mekanizmalarının yükselmesine sebep olmaktadır (Boman, 1981). Patates böceğinden izole edilen 12 farklı suş olan *B. bassiana*'nın larva ve erginlerde mortaliteye ve mikozlanmaya sebep olduğu gözlemlendi. Yapılan bir çalışma sonucunda entomopatojen fungus *B. bassiana* patates böceğinin erken dönemindeki larvalarına karşı virulent olduğu tespit edilmiştir (Wraight ve Ramos, 2002). Benzer başka bir çalışmada ise *B. bassiana*'nın

uygulandığı son dönem larvalardaki ölüm oranı böcek kutikulasının sertleşmesi sebebiyle düşük olduğu tespit edilmiştir (Charnley, 2003).

Yapılan biyotestler sonucunda nem çemberine alınan larval kadavralarda mikozlanmanın görüldüğü fakat erginlerde mikozlanmanın yanısıra parazitlenme veya melanizasyon meydana geldiği tespit edildi. Melanizasyonun ilk belirtileri, böceklerin vücut sıvılarında mantar hiflerinin varlığı ile eşzamanlı olarak ortaya çıkmasıdır (Vertyporokh, 2019). Melanizasyon gösteren kadavralar entomopatojen mantarların böceğin yağ dokusunu istila ederken böceğin savunmaya verdiği bir yanıt olarak gelişir. Bu tez çalışmasındaki biyotestler sonucunda mikozlanma ve melanizasyon gösteren kadavraların fungus nedeniyle öldükleri tespit edildi. Yalnızca melanizasyon gösteren kadavralarda renk değişimi ve kadavra yüzeyinden çıkamayan fungus sporlarının varlığı tespit edildi.

Böceklerin farklı parazitoidlerinin etkisi altında patojen enfeksiyonuna duyarlılığının arttığını (Dos Santos vd., 2006; Dillon vd., 2008; Mbatave Shapiro-Ilan, 2010; Kryukov vd., 2018; Miranda Fuentes vd., 2020) veya tersi şekilde parazitoidler fungus vektörü olarak kullanıldığında parazitoid-patojen arasında antogonistik ilişkiler ortaya çıkabileceğini (Oreste vd., 2015) göstermiştir. Bu tez çalışmasında da ölen böcek kadavralarında parazitlenmenin başlamış olması Entomopatojen fungus enfeksiyonu sonrasında tetiklendiği ve ortaya çıktığı tespit edildi.

Geliştirilen yağ formülasyonu Chrysomelidae familyasına ait kızılâğaç yaprak böceği ve kara ağaç böceği zararlıları üzerinde biyotestleri kuruldu. Kızılâğaç yaprak böceği larvaları üzerinde %90 mortalite, %100 mikozlanma ve karaağaç yaprak böceği erginleri üzerinde %47 mortalite ve %86 mikozlanma gösterdiği tespit edildi. Geliştirilen bu formülasyonun Chrysomelidae familyasına ait diğer zararlılarda da etkili olması bu formülasyonun konak aralığını belirleyerek bu familyada kullanılabilirlik ve etkili olma potansiyelini gösterdi.

## 7. SONUÇLAR

1. Tarım alanlarından toplanan ve laboratuvarında doğal olarak ölü bulunan patates böceğinden 12 farklı izolat elde edildi.
2. Elde edilen 12 izolatın morfolojik ve moleküler karakterizasyonları yapıldı. Morfolojik çalışmalar sonucunda *Beauveria* cinsine ait olduğu tespit edilen izolatların bu tez kapsamında ITS gen bölgelerinden başka EF1- $\alpha$ , RPB1 ve Bloc gen bölgeleri veri analizi yapıldı.
3. ITS, EF1- $\alpha$ , RPB1 ve Bloc gen bölgeleri PCR analizleri sonucunda pGEM<sup>t</sup> vektörüne klonlanarak sekanslaması yapıldı. Moleküler çalışmalar sonucunda izolatların *Beauveria bassiana*'ya ait suşlar olduğu tespit edildi.
4. Tüm izolatların patates böceği larva ve erginleri üzerinde  $1 \times 10^7$  spor/ml olacak şekilde püskürtme yöntemiyle tarama testleri yapıldı. Bu uygulama sonunda patojenitesi en yüksek suşun LdA 1 olduğu tespit edildi. Bu suşun larvalar ve erginler üzerinde sırasıyla %80 ve %50 mortalite ve %100 mikozlanma gösterdiği belirlendi.
5. LdA 1 suşunun beş farklı ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  spor/ml) dozunun zararlı üzerindeki öldürücü etkileri belirlendi. Uygulama sonunda  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonun larva ve erginlerde sırasıyla %100, %47 mortalite gösterdiği; ölen larvaların tamamının erginlerin ise bir kısmının parazitlendiği tespit edildi.
6. Doz denemeleri sonucunda LdA 1 suşunun larvalarda  $LC_{50}; 0.2 \times 10^6$  (0.03-1.15), slope;0.525, SE;0.377,  $x^2; 0,701$  ve df;3; erginlerde  $LC_{50}; 0.17 \times 10^8$  (0.002-1.411), slope;0.199, SE;0.975,  $x^2; 0,912$  ve df;3 değerlerini ürettiği hesaplandı.
7. LdA 1 suşunun katı hal fermentasyonu ile yağ formülasyonu geliştirilerek laboratuvar koşullarında saksılar üzerinde beş farklı ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ) doz denemeleri yapıldı. Yağ formülasyonu Chrysomelidial olarak adlandırıldı.
8. Doz denemelerinde pozitif kontrol olarak Nostalgist ve kontrol olarakta boş ürün ve su kullanıldı. Yağ formülasyonunun  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda larva ve erginlerde sırasıyla %100, %97 mortalite ve her ikisinde de %100 mikozlanma gösterdiği tespit edildi.
9. Pozitif kontrol olarak kullanılan Nostalgist'in ise  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda larva ve erginlerde sırasıyla %27 ve %3 mortalite gösterdiği ve bu ölümlerde mikozlanma olmadığı fakat melenizasyon meydana geldiği gözlemlendi.



10. Yağ formülasyonunun doz denemeleri sonucunda larvalarda  $LC_{50}; 1.2 \times 10^6$  (0.3-4.8), slope;0.71, SE;0.294,  $x^2; 0.541$  ve df;3; erginlerde  $LC_{50}; 0.2 \times 10^7$  (0.06-0.9), slope;0.7, SE;0.3,  $x^2; 0.059$  ve df;3 değerleri ürettiği hesaplandı.
11. Formülasyonun Chrysomelidae familyasından kızılağaç yaprak böceği (*Agalastica alni*) larvaları üzerinde  $1 \times 10^8$  spor/ml konsantrasyonda %90 mortalite, %100 mikozlanma ve kara ağaç böceği (*Xanthogaleruca luteola*) erginleri üzerinde %47 mortalite ve %86 mikozlanma gösterdiği tespit edildi.

## 8. ÖNERİLER

Bu tez ile patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*, Col: Chrysomelidae)'nden 12 farklı *Beauveria bassiana* suşunu izolasyonu gerçekleştirildi ve bunların zararlıya karşı en etkili öldürücü etkiye sahip olan belirlendi. Belirlenen izolatın yağ formülasyonu geliştirildi. Çalışmanın yaygın etkisinin artırılması için bundan sonraki çalışmalarda aşağıdaki hususlar dikkate alınabilir.

1. Chrysomelidial'in ruhsatlandırmaya yönelik çalışmalarının yapılması.
2. Chrysomelidial'in orta ve büyük ölçekte üretimine yönelik çalışmaların yapılması.
3. Chrysomelidial'in tarım alanlarında kullanımına yönelik girişimlerde bulunması.
4. Chrysomelidial'in memeli üzerindeki toksisite çalışmaları yapılması.

## 7. KAYNAKLAR

- Abbott, W., S., 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide, *J. Econ, Entomol*, 18, 265-267.
- Akbarian, J., Ghosta, Y., Shayesteh, N., ve Safavi, S. A. 2012. Pathogenicity of Some Isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on 2nd and 4th Larval Instars of Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say)(Col.: Chrysomelidae), Under Laboratory Conditions, *Afr J Microbiol Res*, 6, 6407-6413.
- Alisdair. B., Ayyoubi, Z. ve Jawdat, D., 2001. The Effect of Gamma Irradiation on Potato microtuber Production in Vitro, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 61,183-187.
- Alkan, M., 2014. Bazı Bitki Ekstraktlarının Patates Böceği (*L. decemlineata* Say) (Coleoptera, Chrysomelidae)] Üzerine Kontakt ve Davranışsal Etkileri, Doktora Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Alyokhin, A. ve D.F. Ferro., 1999. Reproduction and Dispersal of Summer-Generation Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae), *Environ, Entomol*, 28, 3, 425-430.
- Alyokhin, A., Baker, M., Mota-Sanchez, D., Dively, Ç., ve Grafius, E., 2008. Colorado Potato Beetle Resistance to Insecticides, *American Journal of Potato Research*, 395–413.
- Anonim, 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları (Cilt 3), Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara, Pb:332.
- Anonim, 2011. Patates Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yayını, Ankara.
- Anonim, 2013. Patates Zararlı Organizmaları Sempozyumu. (<http://www.zmmae.gov.tr>.)
- Anonymous., 2011. Patates Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yayını, Ankara.
- Arıoğlu, H.H., 2002. Nişasta ve Şeker Bitkileri Ders Kitabı, Genel Yayın No:188, Ders Kitapları Yayın No: A-57, Adana, 234 s.
- Arıoğlu H., Çalican M.E. ve Onaran H., 2006. Türkiye’de Patates Üretimi, Sorunları ve Çözüm Önerileri, IV. Ulusal Patates Kongresi, Patates Araştırma Enstitüsü, Eylül, Niğde, Bildiriler Kitabı: 1-10.

- Asadalapour, M., Zafari, D. ve Zare, R. 2011. Hyphomycetous Fungi Isolated From Insects and Their Pathogenic Effect on Colorado Beetle in Hamedan Province, Journal of Plant Protection Agriculture Science and Technology, 24, 465-470.
- Atak, U., 1973. Trakya Bölgesinde Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata* (Say))'nin Morfolojisi, Bio-Ekolojisi ve Savaş Metotları Üzerinde Araştırmalar, T.C Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, 6-63.
- Berksan, Ö.F., 2002. Patates Tarımı Kâr Tarım, Ankara.
- Bing LA. ve Lewis LC., 1992. Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in Corn: the Influence of The Plant Growth Stage and *Ostrinia nubilalis* (Hubner), Biocontrol Science and Technology, 2, 39-47.
- Birişik, N., 2018. Teoriden Pratiğe Biyolojik Mücadele ve Gelecek Stratejisi, İçinde Teoriden Pratiğe Biyolojik Mücadele, Nevzat, Cilt:2, Matsa Basımevi, Ankara.
- Boman, H.G., 1981. Insect Responses to Microbial Infections. In: Microbial Control of Pests and Plant Diseases, 1970-1980, Burges HD (ed.) Academic Press, London, 769-784.
- Bunyard, B.A., Nicholson, M.S. ve Royse, D.J., 1994. A Systematic Assessment of *Morchella* Using RFLP Analysis of the 28S Ribosomal RNA Gene, Mycologia, 86, 767-772.
- Butt, T. M., ve Goettel, M., 2000. Bioassays of Entomogenous Fungi. In A. Navon, ve K. R. S. Ascher (Eds.), Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes, 141-195. Wallingford, Oxon, U.K: CAB International.
- Butt TM., Coates CJ., Dubovskiy IM. ve Ratcliffe NA., 2016. Entomopathogenic Fungi: New Insights Into Hostpathogen Iinteractions, Adv. Genet., 94, 307- 364.
- Caprio, M.A. ve E.J. Grafius, 1990. Effects of Light, Temperature, and Feeding Status on Flight Initiation in Postdiapause Colorado Potato Beetles (Coleoptera: Chrysomelidae), Environ, Entomol., 19, 281-285.
- Casagrande, R.A., 1987. The Colorado Potato Beetle: 125 Years of Mismanagement. Bull., Entomol. Soc. Am., 33, 142-150.
- Charnley, A.K., 2003. Fungal Pathogens of Insects: Cuticle Degrading Enzymes and Toxins, Adv. Bot., Res. 40, 241-321.
- Christie, R.D., Sumalde, A.C., Schutz, J.T. ve Gudmestad, N.C., 1991. Insect Transmission of the Bacterial Ring Rot Pathogen, American Potato Journal, 68, 363- 372.
- Clarkson, J., M. ve Chamley, A., K., 1996. New Insights Into the Mechanisms of Fungal Pathogenesis in Insects, Trends Microbiol., 4, 5.

- Cottrell TE. ve Shapiro-Ilan DI., 2003. Susceptibility of Native and An Eotic Lady Beetle (Coleoptera: Coccinellidae) to *Beauveria bassiana*, Journal of Invertebrate Pathology, 84, 137-144.
- Çam, H., Gökçe, A., Yanar, Y. ve Kadioğlu, Ğ., 2002. Entomopatojen Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.'nin Patates Böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say Üzerindeki Etkisi, Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Eylül, Erzurum, Bildiriler Kitabı: 359-364.
- Çam, H., Gökçe, A., Kadioğlu, İ., Yanar, Y., Demirtaş, İ., Gören, N. ve Whalon M.E., 2012. Bitki Ekstraktlarının Patates Böceği [*L. decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidea)]'nin Farklı Dönemleri Üzerine Mide Zehiri ve Rezidüyel Toksikite Etkileri, Türkiye Entomoloji Dergisi, 36, 2, 249-254.
- David, W. A. L., 1967. The Physiology of the Insect Integument in Relation to the Invasion of Pathogens. In: Insects and Physiology, J. W. L. Bearnent and J. E. Trehere, Eds., 17-35. Oliver and Boyd, London.
- deKort, C.A.D., 1990. Thirty-Five Years of Diapause Research with the Colorado Potato Beetle, Entomologia Experimentalis et Applicata, 56, 1- 13.
- Demir, İ., Eski, A., Erbaş, Z., Sönmez, E. ve Demirbağ, Z., 2014. Bazı Entomopatojenlerin Laboratuvar Ortamında *Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)'ya Karşı Değerlendirilmesi, V. Bitki Koruma Kongresi, Antalya, Bildiriler Kitabı: 356.
- Denlinger, D. L., ve Armbruster, P. A., (2014). Mosquito Diapause, Annual Review of Entomology, 73-93.
- Dillon, A. B., Moore, C., P., Downes, M. J. ve Griffin, C.T., 2008. Evict or infect? Managing Populations of the Large Pine Weevil, *Hylobius abietis*, Using a Bottom-Up and Top-Down Approach, Forest Ecology and Management, 255, 7, 2634-2642.
- Dos Santos Jr, H.J.G., Marques, E. J., Barros, R. ve Gondim Jr, M.G., 2006. Interaction of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. And the Parasitoid *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov)(Hymenoptera: Eulophidae) with Larvae of Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepdoptera: Pulitellidae), Neotropical Entomology, 35, 2,241-245.
- Dromph KM., 2001. Dispersal of Entomopathogenic Hyphomycete Fungi by Collembolans., Soil Biology and Biochemistry, 33, 2047-2051.
- Dromph KM., 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, Samsun.

- Eilenberg, J., Hajek, A. ve Lomer, C., 2001. Suggestions for Unifying the Terminology in Biological Control, Biocontrol, 46, 387-400.
- Ekesi S, Maniania NK, Onu I. ve Lohr B., 1998. Pathogenicity of Entomopathogenic Fungi (Hyphomycetes) to the Legume Flower Thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) (Thys., Thripidae), Journal of Applied Entomology, 122, 629-634.
- Erarslan, Gökhan., 2018. Bazı Entomopatojen Bakteri ve Fungusların Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say)' nin Biyolojik Mücadelesinde Kullanılma Potansiyellerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Erkılıç, L. ve Uygun, N., 1993. Entomopatojen Fungusların Biyolojik Mücadelede Kullanılma Olanakları, Türk. Ento. Derg., 17, 2, 117-128.
- Faria MR. ve Wraight SP., 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A Comprehensive List With Worldwide Coverage and International Classification of Formulation Types, Biol Control, 43, 237-256.
- Fargues, J., Delmas, J. C., Auge, J. ve Lebrun, R. A., 1991. Fecundity and Egg Fertility in the Adult Colorado Beetle (*L. decemlineata*) Surviving Larval Infection by the Fungus *Beauveria bassiana*., Entomologia Experimentalis et Applicata, 10, 1570- 7458.
- Feng MG. ve Johnson JB., 1990. Relative Virulence of Six Isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homop.: Aphididae), Environmental Entomology, 19, 85-790.
- Ferro, D. N., 1994. Biological Control of the Colorado Potato Beetle Advances in Potato Pests, Biology and Management, APS Press, 357-375.
- Forgash, A.J., 1985. Insecticide Resistance in the Colorado Potato Beetle. In "Proceedings of the Symposium on the Colorado Potato Beetle," 1 8th Int. Congr. Entomol. (D.N.Fen-o and R.H.Voss, Eds.), 33-52, Res. Bull. 704, Amherst, Mass. Agric. Exp. Stn.
- García-Estrada, C., Cat, E. ve Santamarta, I., 2016. *Beauveria bassiana* as Biocontrol Agent: Formulation and Commercialization for Pest Management, In Agriculturally Important Microorganisms; Singh, H.B., Sarma, B.K., Keswani, C., Eds., Springer: Singapore, 81-96.
- Gauthier, N.L., R.N. Hofmaster. ve M. Semel., 1981. History of Colorado Potato Beetle Control. In "Advances in Potato Pest Management, " (J.H. Lashomb and R.A. Casagrande, Eds.), 13-33.
- Ginxin, Y., Fuping, S., Changlong, S., Liu, J., Chunqin, L., Dafang, H., Shuliang, F. ve Zhang, J., 2009. An engineered *B. thuringiensis* Strain with Insecticidal Activity Against Scarabaeidae (*Anomala corpulenta*) and Chrysomelidae (*L. decemlineata* and *Colaphellus bowringi*), Biotechnology Letters, 31, 5, 697-703.

- Goettel MS, Poprawski TJ, Vandenberg JD, Li Z. ve Roberts DW., 1990. Safety to Nontarget Invertebrates of Fungal Biocontrol Agents, In: Laird M, Lacey L, Davidson EW, Editors. Safety of Microbial Insecticides, 209-231.
- 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.
- Goettel MS, Eilenberg J. ve Glare T., 2010. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations, In: Gilbert LI, Gill SS (eds) Insect Control: Biological and Synthetic Agents, Academic, Amsterdam, 387–432.
- Goldstein, J. A. H., Heimpel, G. E., Bechmann, H.E. ve Mason, C. E., 1993. Arthropod Natural Enemies of the Colorado Potato Beetle, Crop Protection, 12, 5, 325-329.
- Grafius, E., 1997. Economic Impact of Insecticide Resistance in the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on the Michigan Potato Industry, J. Econ, Entomol, 90, 1, 144-1151.
- Grapputo, A., Boman, S., Lindström, L., Lyytinen, A. ve Mappes, J., 2005. “The Voyage of An Invasive Species Across Continents: Genetic Diversity of North American and European Colorado Potato Beetle Populations, Molecular Ecology, 14, 4207-4219.
- Güleç, N., 2018. Patates Böceği [*Leptinotarsa Decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)] Mücadelesinde Bazı Entomopatojen Nematodların Kullanım Olanakları, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Günel, E., Çalışkan, M.E., Tortopoğlu, A.İ., Kuşman, N., Tuğrul, K.M., Yılmaz, A., Dede, Ö. ve Öztürk, M., 2005. Nişasta ve Şeker Bitkileri Üretimi, Türkiye Ziraat Mühendisliği VI, Teknik Kongresi Bildirileri, Ankara, 431-457.
- Güney, Gözde., 2019. Patates Böceği, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae)’da Lipit Metabolizmasında Yer Alan Majör Proteinlerin Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Gürkan, B., ve Böşgelmez, A., 1982. Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say)'nin Populasyon Dinamiği, Bitki Koruma Bülteni, 119-136.
- Güven, Ö., Çayır, D., Baydar, R. ve Karaca, İ., 2015. Entomopatojen Fungus *B. bassiana* (Bals.) Vull. İzolatlarının Patates Böceği [*L. decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)] Üzerindeki Etkisi, Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 6, 2, 105-114.
- Haffani, Y., Cloutier, C., ve Belzile, F., 2001. *Bacillus thuringiensis* cry3Ca1 Protein is Toxic to the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), Biotechnology Progress, 17, 2, 211-216.

- Hajek, A., E. ve St Leger, R., J., 1994. Interactions Between Fungal Pathogens and Insect Hosts, Annu. Rev., Entomol., 39, 293-322.
- Hajek, A. E., 1997. Ecology of Terrestrial Fungal Entomopathogens, In "Advanced in Microbial Ecology" (Jones, J. H., Ed.), Plenum Press, 15, New York, 193-249.
- Hajek AE. ve Butler L., 2000. Predicting the Host Range of Entomopathogenic Fungi, In: Follett PA, Duan JJ, Editors, Nontarget Effects of Biological Control, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 263-276.
- Hajek AE. ve Goettel MS., 2000. Guidelines for Evaluating Effects of Entomopathogens on Nontarget Organisms, In: Lacey LA, Kaya HK, editors, Manual of Field Techniques in Insect Pathology, 847-868.
- Hall, R. A. ve Papierok, B., 1982. Fungi as Biological Control Agents of Arthropods of Agricultural and Medical Importance, Parasitology, 84, 205-240.
- Hare, J. D., 1990. Ecology and Management of the Colorado Potato Beetle, Annual Review of Entomology, 35, 81-100.
- Holder, D. J. ve Keyhani, N. O., 2005. Adhesion of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to Substrata, Applied and Environmental Microbiology, 71, 5260-5266.
- Hoy, C.W., J.A. Wyman, T.T. Vaughn, D.A. East. ve P. Kaufman., 1996. Food, Ground Cover, and Colorado Potato Beetle (Coleoptera:Chrysomelidae) Dispersal in Late Summer, J. Econ. Entomol., 89, 963-969.
- Hsiao, T. H., 1978. Host-Plant Adaptations Among Geographic Populations of the Colorado Potato Beetle, Entomologia Experimentalis et Applicata, 24, 237-247.
- Humber, R.A., 1997. Fungi: Identification. In "Manual of Techniques in Insect Pathology" (L. Lacey, Ed.), Academic Press, 153-187. Boston.
- Jaronski, ST, Goettel MS. ve Lomer CJ., 2003. Regulatory Requirements for Ecotoxicological Assessments of Microbial Insecticides - How Relevant Are They? In: Hokkanen HMT & Hajek AE, Editors, Environmental Impacts of Microbial Insecticides, 237-260.
- Kara, N., Salman, S. ve Baydar, H., 2014. Adaçayı (*Savia officinalis* L.) ve Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) Ekstraktlarının Patates Böceği (*L. decemlineata* Say.) ile Mücadelede Kullanımı, Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 1, 2, 248-254.
- Karaca, İ., ve Uygun, Z., 2015. Tokat İli Patates ve Patlıcan Üretimi Yapılan Alanlarda Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824)) (Coleoptera: Chrysomelidae)'nin Yayılışı, Doğal Düşmanları ve Popülasyon Değişimi, Journal of Natural and Applied Science, 19, 2, 184-189.
- Karaman, S., Y., 2019. Bazı Entomopatojen Fungusların Patates Böceği [*Leptinotarsa*



*Decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)] Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

- Kedici, R., Melan, K. ve Kodan, M., 1998. Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say)'nin Doğal Düşmanlarının Tespiti ve *Chrysoperla sp.*'nin Zararlıının Biyolojik Mücadelesinde Kullanılma İmkanlarının Aaştırılması, Bitki Koruma Bülteni, 38, 13–22.
- Keswani C, Singh SP. ve Singh HB., 2013. *Beauveria bassiana*: Status, Mode of Action, Applications and Safety Issues, Biotech Today, 3, 16–20.
- Kılınç, M., 2020. Bazı Entomopatojen Fungus İzolatlarının İn-Vivo ve İn-Vitro Şartlarda Patates Böceği'ne [*Leptinotarsa Decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)] İnspektörsel Etkisinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Kryujov, V., Y., Kryuko, N., A., Tyurin, M., V., Yaroslavtseva, O., N. ve Glupov, V., V. 2018. Passive Vectoring of Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Among the Wax Moth *Galeria melonella* Larvae by the Ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* Females, Insect Science, 25, 4, 643-654.
- Kurşuncu şahin, G. ve Karaca, Ğ., 2019. Bazı Biyoinsektisitlerin *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae)'ye Etkileri, Journal of Natural and Applied Sciences, 23, 2.
- Lacey, L.A., 1997. Manual of Techniques in Insect Pathology, San Diego: Academic Press, 153-185.
- Lashomb, J.H., Y.S. Ng, G. Ghidui. ve E. Green., 1984. Description of Spring Emergence by the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decernlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) in New Jersey, Environ, Entomol, 13, 907-9 10.
- Lashomb, J.Y.S.N.G., Jasson, R.K. ve Bullock, R., 1987. *Edovum puttleri* (Hym.:Euliphidae) An Egg Parasitoid of Colorado Potato Beetle (Col.:Chrysomelidae), Development and Parasitism on Eggplant, Journal of Economic Entomology, 80, 65-68.
- MacLeod D.M. 1954. Investigations on the Genera *Beauveria* Vuill. and *Tritirachium* Limber, Canadian Journal of Botany, 32:818-890.
- Marteaux, L. E., Stenia, T. ve Kostal, V., 2018. Insect Fat Body Cell Morphology and Response to Cold Stress is, Journal of Experimental Biology, 1-38.
- Martin, P.A.W., Rindal,D.G., Blackburn,M. ve Buyer, J., 2007. Chromobacterium Subsuagesp. Nov., A Betaproteobacterium Toxic to Colorado Potato Betle and Other Insect Pests, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57, 993-999.
- Mbata, G.N. ve Shapiro-Ilan, S.I., 2010. Compatibility of *Heteorhabditis indica* (Rhabditidae): Heterorhabditidae) and *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera:

Braconidae) for Biological Control of *Plodia interpunctella* (Lepitoptera: Pyralidae), Biological Control, 54, 2, 75-82.

- Mirande-Fuentes, P., Quesada-Moraga, E., Aldebis, H., K. ve Yousef-Naef, M., 2020. Compability between the endoparasitoid *Hyposoter didymator* and the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium brunneum*: A Laboratory Simulation for the Simultaneous Use to Control *Spodoptera littoralis*, Pest Management Science, 76, 3, 1060-1070.
- Muratoğlu, H., Demirbağ, Z. ve Sezen, K., 2011. An Entomopathogenic Bacterium, *P. putida*, from *L. decemlineata*, Türkish Journal of Biology, 35, 275-282.
- Nation, J. L., 2016. Intermediary Metabolism. J. L. Nation, Insect Physiology and Biochemistry Gainesville: CRC Press, 223-249,
- Nunes, A. R. F., Martins, J. N., Furlaneto, M. C., ve Barros, N. M. D., 2010. Production of Cuticle-Degrading Proteases by *Nomuraea rileyi* and Its Virulence Against *Anticarsia gemmatalis*, Ciencia Rural, 40, 9, 1853-1859.
- Ocak, İ., Dođan, S., Ayyıldız, N. ve Hasenekođlu, İ., 2007. Akarlardan İzole Edilmiş Entomopatojen Bir Fungus Türü: *B. bassiana* (Balsamo), Journal of Arts and Sciences, 7, 125-132.
- Onaran, H., Ünlenen, A. ve Dođan, A., 2000. Patates Tarımı Sorunları ve Çözüm Yolları, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Niğde Patates Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, 93.
- Oreste, M., Beser, N., Bubici, G. ve Tarasco, E., 2015. Effect of *Beauveria bassiana* Strains on the *Ceratitis capitata* – *Psytalia concolorsystem*, Bull Insectol, 68, 2, 235-272.
- Ortiz-Urquiza, A., ve Keyhani, N. O., 2013. Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi Versus the Insect Cuticle, Insects, 4, 357-374.
- Öncüer, C., 1991. Türkiye Bitki Zararlısı Böceklerinin Parazit ve Predatör Katalođu. İzmir, Turkey: Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Öztürk, H., 2016. Bazı Biyoinsektisit ve Entomopatojen Fungusların *LeptInotarsa decemlineata* (say, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae)'ya Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Peter, G., 1984. Plant Pests and Their Control, Fenemore, London.
- Ramoska WA. ve Todd T., 1985. Variation in Efficacy and Viability of *Beauveria bassiana* in the *Chinch bug* (Hem., Lygaeidae) as A Result of Feeding Activity on Selected Host Plants, Environmental Entomology, 14, 146-148.
- Rombach, M. C. ve Gilespe, A. T., 1988. Entomogenous Hyphomycetes for Insect and Mite Control on Greenhouse Crops, Biocontrol News and Information, 9, 7- 18.

- Santi, L., da Silva, W. O. B., Berger, M., Guimaraes, J. A., Schrank, A. ve Vainstein M. H. 2010. Conidial Surface Proteins of *Metarhizium anisopliae*: Source of Activities Related with Toxic Effects, Host Penetration and Pathogenesis, Toxicon, 55, 4, 874-880.
- Samsinakova A. ve Samsinak K., 1970. Mites as Vector of the Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, Zeitschrift fur Parasitenkunde, 34, 351355.
- Samsinakova, A. ve Kalalova, S., 1978. The Fungus *Paecilomyces farinosus* Br. et Smith (Deuteromycetes), A study on Conditions of Its Use for the Control of the Colorado beetle, Zeitschrift fur Angewandte Entomologie, 87, 68-75.
- Sarı, H., M., 2020. Bazı Entomopatojen Fungus İzolatlarının *Leptinotarsa Decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)'A Etkisi Üzerinde Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Fen Fakültesi, Isparta.
- Schrank, A. ve Vainstein, M. H., 2010. *Metarhizium anisopliae* Enzymes and Toxins, Toxican, 56, 7, 1267-1274.
- Sevim, A., 2012. Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Virülansların Belirlenmesi, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Shah, P., A. ve Pell, J., K., 2003. Entomopathogenic Fungi as Biological Control Agents, Appl. Microbiol, Biotechnol., 61, 413-423.
- Shah, F. A., Wang, C. S. ve Butt, T. M., 2005. Nutrition Influences Growth and Virulence of the Insect-patojenic fungus *Metarhizium anisopliae*, FEMS Microbiology Letters, 251, 2, 259-266.
- Ali-Shtayeh, M. S., Mara'I, A.-B. B.M. ve Jamous, R.M., 2002. Distribution, Occurrence and Characterization of Entomopathogenic Fungi in Agricultural Soil in the Palestinian Area, Mycopathologia, 156, 235-244.
- Singh HB, Keswani C, Ray S, Yadav SK, Singh SP, Singh S. ve Sarma BK., 2014. *Beauveria bassiana*: Biocontrol Beyond Lepidopteran Pests, In: Sree KS, Varma A (eds) Biocontrol of Lepidopteran Pests: Use of Soil Microbes and Their Metabolites, Springer-Switzerland, pp 219–235.
- 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?, Biocont. Sci. Technol, 10, 717-735.
- St. Leger, R. J., Joshi, L. ve Roberts, D., 1998. Ambient pH is A Majör Determinant in the Expression of Cuticle -Degrading Enzymes and Hydrophobin by *Metarhizium anisopliae*, Applied and Environmental microbiology. 62, 2, 709-713.
- Tanada, Y. ve H.K. Kaya., 1993. "Insect Pathology." Academic Press, New York.

- Tarımsal Yapı ve Üretim, 2005. DİE Yayınları, Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası, Ankara, 533.
- Tauber, M.J., C.A. Tauber. ve J.P. Nyrop., 1994. Soil Moisture and Postdormancy Emergence of Colorado Potato Beetles (Coleoptera: Chrysomelidae): Descriptive Model and Field Emergence Patterns, *Environ, Entomol.* 23, 1485-1496.
- Todorova S., I., Codere D. ve Cote, J., C., 2000. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* Isolates Toward *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) and Their Predator *Coleomegilla maculata lengi* (Coleoptera: Coccinellidae), *Phytoprotection*, 81, 1, 15-22.
- Ulusoy, M., 2016. Entomopatojen Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill Sporlarının Bazı Zararlı Böcekler Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- URL-1 <http://www.agacler.net/forum/sebzeler/16092.htm> (02.06.2021).
- URL-2 <http://eol.org> (02.06.2021).
- URL-3 [https://tr.wikipedia.org/wiki/Patates\\_b%C3%B6ce%C4%9Fi](https://tr.wikipedia.org/wiki/Patates_b%C3%B6ce%C4%9Fi)(02.06.2021).
- URL-4 <https://www.gelisimtv.com.tr/haber/sirada-patates-bocegi-kabusu-var-h1795.html> (02.06.2021).
- Usanmaz, A., 2013. Satureja Türlerinin Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Patates Böceği (*L. decemlineata* Say) (Coleoptera, Chrysomelidae)]'nin Mücadelesinde Kullanım İmkanlarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Vestergaard S, Cherry A, Keller S. ve Goettel M., 2003. Safety of Hyphomycete Fungi as Microbial Control agents, In: Hokkanen HMT, Hajek AE, Editors, Environmental Impacts of Microbial Insecticides, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 35-62.
- Vertyporokh, L., Hulas-Stasiak, M. ve Wojda, I., 2019. Host-Pathogen Interaction After Infection of *Galleria mellonella* with the Filamentous Fungus *Beauveria bassiana*, *Insect Sci*, 27, 1079–1089.
- Voss, R.H. ve D. N., Ferro. 1990a. Phenology of Flight and Walking by the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) Adults in Western Massachusetts, *Environ, Entomol*, 19, 1 117- 122.
- Voss, R.H. ve D. N. Ferro., 1992. Population Dynamics of the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in Western Massachusetts, *Amer, Potato J.*, 69, 473-482.
- Voss, R.H., D.N. Ferro. ve J.A. Logan., 1988. Role of Reproductive Diapause in the Population Dynamics of the Colorado Potato Beetle, *Environ, Entomol*, 17, 863- 871.

- Watt, B. A. and Le Brun, R. A. 1984. Soil Effects of *Beauveria bassiana* on Pupal Populations of the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae), Environ. Entomol, 13, 15-18.
- Weber, D., 2003. Colorado Beetle: Pest on the Move, Pesticide Outlook, 14, 256–259.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. ve Taylor, J.W., 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics, In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds, Innis, M.A., 315-322.
- Wraight, S.P. ve Ramos, M., E., 2002. Application Parameters Affecting Field Efficacy of *Beauveria bassiana* Foliar Treatments Against Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata*, Biological Control, 23, 2, 164-178.
- Wraight, S.P. ve Ramos, M.E., 2005. Synergistic Interaction Between *Beauveria bassiana*- and *Bacillus thuringiensis tenebrionis*-Based Biopesticides Applied Against Field Populations of Colorado Potato Beetle Larvae, Journal of Invertebrate Pathology, 90, 3, 139-150.
- Worner, S.P., 1988. Ecoclimatic Assessment of Potential Establishment of Exotic Pests, Journal of Economic Entomology, 81, 4, 973-983.
- Yabaş, C., Ulubilir, A. ve Canhilal, R., 1995. Patates Böceği [*L. decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae)]'nin Biyolojik Mücadelesi Üzerinde Bazı Araştırmalar, Bitki Koruma Bülteni, 35, 3-4.
- Yoon CS, Bae SH, Song HH, Park HS. ve Lee C., 2003a. Effect of Synnemata of *Beauveria bassiana* on the Properties of Noodle and the Baking Qualities of Bread, Institute of Food Technologists, Annual Meeting, Chicago, Abstract 60D-16.
- Yüceer, Ü. S., 2011. Patates Böceği (*L. decemlineata* Say.)'ne Dayanıklı Bitkiler Elde Etmek Amacıyla Patates (*Solanum tuberosum* L.)'in Genetik Transformasyonu, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova.
- Zimmermann, G. ve Bode E., 1983. Untersuchungen zur Verbreitung Des Insektenpathogenen Pilzes *Metarhizium anisopliae* (Fungi imperfecti, Moniliales) Durch Bodenarthropoden, Pedobiologia, 25, 65-71.
- Zimmermann, G., 2007. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, Biocontrol Science and Technology, 17, 6, 553-596.

## 8. EKLER

### Ek.1 LdA 1'in 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
ACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGC  
GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
AAACTCTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGAA  
TCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTG  
AACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCAT  
TTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACAC  
CGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAA  
TACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAACAAACACCCAATTCT  
GAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT  
AAGCGGAGGA

### Ek.2 LdA 2'nin 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası

TGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCAT  
TACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGG  
CGGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCT  
CAAACCTTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGA  
ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG  
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTT  
GAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATACTGTTTCGAGCGTCA  
TTTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACA  
CCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTA  
ATACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAACAAACACCCAATTCT  
TGAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA  
TAAGCGGAGGA

### Ek.3 LdA 3'ün 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
ACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGC  
GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
AAACTCTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGAA  
TCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTG  
AACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCAT  
TTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACAC  
CGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAA  
TACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAACAAACACCCAATTCT  
GAACGTTGACCTCGAGTCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT  
AAGCGGAGGAA

**Ek.4 LdA 4'ün 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
 CCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCG  
 GACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCA  
 AACTCTTGCATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAAT  
 CAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG  
 AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGA  
 ACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTT  
 CAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCG  
 CCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATA  
 CAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAACACCCAACCTTCTGA  
 ACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA  
 GCGGAGGA

**Ek.5 LdA 5'in 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCAT  
 TACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGG  
 CGGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCT  
 CAAACTCTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGA  
 ATCAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG  
 CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTT  
 GAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCA  
 TTTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACA  
 CCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTA  
 ATACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAACACCCAACCTTC  
 TGAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA  
 TAAGCGGAGGA

**Ek.6 LdA 6'nın 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
 ACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGC  
 GGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTC  
 AACTCTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAA  
 TCAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
 GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTG  
 AACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCAT  
 TTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACAC  
 CGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAA  
 TACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAACACCCAACCTTCT  
 GAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT  
 AAGCGGAGGA

**Ek.7 LdT 7'nin 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
 ACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGC  
 GGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTC  
 AAACCTTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGAA  
 TCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
 GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTG  
 AACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCAT  
 TTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACAC  
 CGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAA  
 TACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCT  
 GAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT  
 AAGCGGAGGA

**Ek.8 LdT 8'in 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
 ACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGC  
 GGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTC  
 AAACCTTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGAA  
 TCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
 GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTG  
 AACGCACCTTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCAT  
 TTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACAC  
 CGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAA  
 TACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCT  
 GAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT  
 AAGCGGAGGA

**Ek.9 LdT 9'un 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
 ACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGC  
 GGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTC  
 AAACCTTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGAA  
 TCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
 GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTG  
 AACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCAT  
 TTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACAC  
 CGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAA  
 TACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCT  
 GAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT  
 AAGCGGAGGA

**Ek.10 LdT 10'un 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
 ACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGC  
 GGATTTCGCCCGAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTC  
 AAACCTTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGAA



TCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
 GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTG  
 AACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCAT  
 TTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTCTGGCGTTGGGGACCGGCAGCACAC  
 CGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAA  
 TACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAATTCT  
 GAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT  
 AAGCGGAGGA

**Ek.11 LdT 11'in 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
 CCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCG  
 GACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCA  
 AACTCTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAATGAAT  
 CAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG  
 AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGA  
 ACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTT  
 CAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTCTGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCG  
 CCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATA  
 CAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAATTCTGA  
 ACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA  
 GCGGAGGA

**Ek.12 LdT 12'nin 1, 5.8S ITS Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT  
 ACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGC  
 GGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTC  
 AAACCTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAATGAA  
 TCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
 GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAATGAATCATCGAATCTTTG  
 AACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCAT  
 TTCAACCCTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTCTGGCGTTGGGGACCGGCAGCACAC  
 CGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAA  
 TACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAATTCT  
 GAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT  
 AAGCGGAGGA

**Ek.13 LdA 1'in 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCGGCAATGTCGTTGTCCATGTAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTC  
 AAAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTCGACAT  
 TACCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTGAGATCATCCTCGTTTC  
 TCGTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGG  
 GGGTACAGGCAGGACGGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGT  
 TAAGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGCGAAGGATAACCATGC  
 GCCATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCTCTTGGGACCTCTTCCGAA  
 GTAACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTG

CATATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGC  
 GAACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTC  
 TTCTTGCATACGGCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATG  
 AATAGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCA  
 AGCTCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTT  
 TGCTGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAAC  
 CAGGGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCAAAGTGCCCCGGACAC  
 T

**Ek.14 LdA 2'nin 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCGGCGATATCGTTGTCCATGTAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTC  
 AAAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATT  
 ACCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCT  
 CGTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGG  
 GGTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTT  
 AAGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGCGAAGGATACCATGCG  
 CCATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAG  
 TAACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGC  
 ATATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCG  
 AACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTCTT  
 CTTGCATACGGCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAA  
 TAGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAG  
 CTCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTG  
 CTGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCA  
 GGGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCAAAGTGCCCAGGAC

**Ek.15 LdA 3'ün 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCGGCGATACGTTGTCCATGTAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTCA  
 AAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATTA  
 CCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCTC  
 GTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGGG  
 GTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTTA  
 AGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGCGAAGGATAACCATGCGC  
 CATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAGT  
 AACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGCA  
 TATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCGA  
 ACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTCTTC  
 TTGCATACGGCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAAT  
 AGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAGC  
 TCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTGC  
 TGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCA  
 GGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCGAAGTGCCCCGGACAC

**Ek.16 LdA 4'ün 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCGGCGATCTCGTTGTCCATGTAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTC  
 AAAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATT

ACCGTTGGCGTGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCT  
 CGTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGG  
 GGTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTT  
 AAGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGCGAAGGATACCATGCG  
 CCATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCCCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAG  
 TAACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGC  
 ATATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCG  
 AACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTCTT  
 CTTGCATACGGCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAA  
 TAGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAG  
 CTCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTG  
 CTGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCA  
 GGGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCAAAATGCCCCGGACATTC  
 AAT

#### **Ek.17 LdA 5'in 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GAGTGTCCGGGTCATTTTGGCCATATAGAGCTGGCGAAACCTGTCTATCACCT  
 GGTTTCATCAAGAAAGTGAAAAAGGTTTTGGAGATTGTCTGCCACAACCTGCAG  
 CAAAGTGTTGGCCGATGAAGTTGGTCTTCCCTTTACTCCATGAAGCTTTGGAGC  
 TTGCTGGATGCTAACGTGCATTATCAGAGCGATCCCGAATTCGTCACAGCTATT  
 CATACTCGCGATCCGAAACTCCGATTCAAGCGCGTTTGGGCCGTATGCAAGAA  
 GAAGCGCAAATGCGAGAATGAGGAGCGGCAAGACAAGAATAAAGACGAAGA  
 GTTCGCTCCAGGTGTCAAGAACGTGTTCTCGAAGGACATGGCGGATGTGGCA  
 ATATGCAGCCGCAGGTGAGACAGGCCGCGCTGCAACTCAAAGCTGCCTTCGAG  
 GTTACTTCGGAAGAGGGTCCCAAGAGGAAAGAGACGGTTAATATCAGCGCCG  
 AGATGGCGCATGGTATCCTTCGCCGCATCTCTGAGCGCGATCTGCACAATATTG  
 GTCTTAACTCAGACTATGCTCGTCCCGAGTGGATGATCACTGTCTGCTGCTG  
 TACCCCTCCTCCCGTGCCTAGTATTTCCATGGATGGTACTGGTACTGGCA  
 CGAGAAACGAGGATGATCTGACCTACAAGCTTGGTGACATTATCCGCGCCAAC  
 GGTAATGTCAAGCAGGCCATTTCGTGAAGGATCACCGCAACACATCGCGCGTGA  
 TTTTGAGGAGCTGCTGCAGTACCATGTTGCCACCTACATGGACAACGAAATTG  
 CCGG

#### **Ek.18 LdA 6'nın 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCTGCGATGTCGTTGTCCATGTAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTCA  
 AAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATTA  
 CCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCTC  
 GTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGGG  
 GTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTTA  
 AGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTTAGAGATGCGGCGAAGGATAACCATGCGC  
 CATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCCCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAGT  
 AACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGCA  
 TATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCGA  
 ACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTCTTC  
 TTGCATACGGCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAAT  
 AGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAGC  
 TCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTGC

TGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCAG  
GGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCGAAATGCCCCGGACACTC

**Ek.19 LdT 7'nin 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCAGCAATTTTCGTTGTCCATATAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTCA  
AAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATTA  
CCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCTC  
GTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGGG  
GTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTTA  
AGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGGCAAGGATAACCATGCGC  
CATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCCCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAGT  
AACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGCA  
TATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCGA  
ACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTTGCGCTTCTTC  
TTGCATACGGCCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAAT  
AGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAGC  
TCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTGC  
TGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCAG  
GGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCAAAATGTCCTGGACACTC

**Ek.20 LdT 8'in 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCAGCAATCTCGTTGTCCATGTAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTC  
AAAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATT  
ACCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCT  
CGTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGG  
GGTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTT  
AAGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGGCAAGGATAACCATGCG  
CCATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCCCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAG  
TAACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGC  
ATATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCG  
AACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTTGCGCTTCTT  
CTTGCATACGGCCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAA  
TAGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAG  
CTCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTG  
CTGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCA  
GGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCAAAATGCCCCGGACACTC

**Ek.21 LdT 9'un 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCGGCGATGTCGTTGTCCATATAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTC  
AAAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATT  
ACCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCT  
CGTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGG  
GGTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTT  
AAGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGGCAAGGATAACCATGCG  
CCATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCCCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAG  
TAACCTCGAAGGCAACTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGC

ATATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCG  
 AACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTCTT  
 CTTGCATACGGCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAA  
 TAGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTAATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAG  
 CTCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTG  
 CTGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCA  
 GGGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCGAAATGCCCCGGACATTC

**Ek.22 LdT 10'un 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCCGCGATTTGTTGTCCATATAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTCA  
 AAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATTA  
 CCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCTC  
 GTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGGG  
 GTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTTA  
 AGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGCGAAGGATAACATGCGC  
 CATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAGT  
 AACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGCA  
 TATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCGA  
 ACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTCTTC  
 TTGCATACGGCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAAT  
 AGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAGC  
 TCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTGC  
 TGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCA  
 GGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCAAAATGCCCCGGACACT

**Ek.23 LdA 11'in 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCCGCAATGTCATTGTCCATATAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTC  
 AAAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATT  
 ACCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCT  
 CGTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGG  
 GGTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTT  
 AAGACCAATATTGTGCAGATCGCTCTCAGAGATGCGGCGAAGGATAACATGCG  
 CCATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCTCTTGGGACCCTCTTCCGGAG  
 TAACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGC  
 ATATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCG  
 AACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTCTT  
 CTTGCATACGGCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAA  
 TAGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAG  
 CTCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTG  
 CTGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCA  
 GGGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCGAAATGCCCCGGACAC

**Ek.24 LdA 12'nin 18S Rpb1 Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CCCGCTATATCGTTGTCCATGTAGGTGGCAACATGGTACTGCAGCAGCTCCTCA  
 AAATCACGCGCGATGTGTTGCGGTGATCCTTCACGAATGGCCTGCTTGACATTA  
 CCGTTGGCGCGGATAATGTCACCAAGCTTGTAGGTCAGATCATCCTCGTTTCTC

GTGCCAGTACCAGTACCATCCATGGAAATACTAGGACGCACGGGAGGAGGGG  
 GTACAGGCAGGACAGTGATGATCATCCACTCGGGACGAGCATAGTCTGAGTTA  
 AGACCAATATTGTGCAGATCGCGCTCAGAGATGCGGCGAAGGATACCATGCGC  
 CATCTCGGCGCTGATATTAACCGTCTCTTTCCTCTTGGGACCCTCTTCCGAAGT  
 AACCTCGAAGGCAGCTTTGAGTTGCAGCGCGGCCTGTCTCACCTGCGGCTGCA  
 TATTGCCACATCCGCCATGTCCTTCGAGAACGACGTTCTTGACACCTGGAGCGA  
 ACTCTTCGTCTTTATTCTTGTCTTGCCGCTCCTCATTCTCGCATTGCGCTTCTTC  
 TTGCATACGGCCCAAACGCGCTTGAATCGGAGTTTCGGATCGCGAGTATGAAT  
 AGCTGTGACGAATTCGGGATCGCTCTGATAATGCACGTTAGCATCCAGCAAGC  
 TCCAAAGCTTCATGGAGTAAAGGGAAGACCAACTTCATCGGCCAACACTTTGC  
 TGCAGTTGTGGCAGACAATCTCCAAAACCTTTTTCACTTTCTTGATGAAACCAG  
 GGTGATAGACAGGTTTCGCCAGCTCTATATGGCCAAAGTGACCCGGACACTC

**Ek.25 LdA 1'in 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCGTTTAA  
 CGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGCCA  
 CGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTCAACGGTTCGAGTGGCTTT  
 TGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGC  
 TAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAA  
 GCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCTACT  
 GTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGCT  
 GGCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTA  
 TCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCCC  
 CCCATCTATTAGGTTCGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCCA  
 ACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTC  
 TTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTAT  
 CACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCGT  
 CATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTCCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTC  
 CCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGC  
 TGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTCACCC  
 CGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGT  
 CCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAG  
 GTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGC  
 GACAACATGCTTGAGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAA  
 GGAGACTAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACG  
 CCATTGAGCCCCCAAGCGTCCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCC

**Ek.26 LdA 2'nin 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCGTTTAA  
 CGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGCCA  
 CGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTCAACGGTTCGAGTGGCTTT  
 TGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGC  
 TAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAA  
 GCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCTACT  
 GTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGCTG  
 GCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTAT  
 CAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCCCC

TCATCTATTAGGTCGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCCAA  
 CAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCT  
 TCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATC  
 ACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCGTC  
 ATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCC  
 CAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTGCTGGTGAGTTCGAGGGCT  
 GGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTCACCCT  
 CGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGT  
 CCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAG  
 GTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGC  
 GACAACATGCTTGAGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAA  
 GGAGACTAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACG  
 CCATTGAGCCCCCAAGCGTCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCCAGG  
 ATGTTTACAAGATCGGTGGTATCGGCACTG

#### **Ek.27 LdA 3'ün 18S EF1- $\alpha$ Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CAGTGCCGATACCACCGATCTTGTAACATCCTGGAGGGGAGGACGGAGAGG  
 CTTGTGCGTAGGACGCTTGGGGGGCTCAATGGCGTCGATGGCCTCGAGAAGGG  
 TCTTGCCAGTAGACTTGCCAGCCTTAGTCTCCTTCTCCCAACCCTTGTACCAGG  
 GACAGTTGCTGGAGGGCTCAAGCATGTTGTCGCCGTTGAAACCGGAGATGGGG  
 ACGAAAGCAACAGCCTTGGGGTGTAGCCAACCTTCTTGATGAAGCTGGAAGT  
 CTCCTTGATGATTTCTGGTAACGGGCCTCGGACCACTTGGTGGTGTCCATCTT  
 GTTGATGGCAACAATGAGCTGCTTGACACCGAGGGTGAAGGCGAGCAGAGCG  
 TGCTCACGGGTCTGGCCATCCTTGGAGATACCAGCCTCGAACTCACCAGTACC  
 GCGGCGATGATGAGAATAGCGCAATCGGCCTGGGAAGTACCAGTAATCATGT  
 TCTTGATGAAATCACGGTGACCGGGAGCATCAATGACGGTGGCGTGGTACTTG  
 GGAGTCTCGAACTTCCAGAGAGCGATATCAATGGTGATACCACGCTCACGCTC  
 GGCCTTGAGCTTGTCAGAACCAGGCATACTTGAAGGAACCCTTGCCGAGTT  
 CAGCGGCTTCTGTAGACGGTAGGTTAGCGATCTGTTGGCTGAGTGCACGCGA  
 TATCTCTTCTTGCTGCTTCGACCTAATAGATGAGGGGAAAGCTTGCAGCAAG  
 GTGGCGGGGTACTCTCACTGGCCCCACTGAATTGATAAAGGCACTGAAAATTTT  
 TGCCGCAGCGAGGAGGGGTAGTGAGTGCTGGTGGCCAGCGCGATACGACGAA  
 AAAAAAATTGCGCAGCAAGCGATCAAGGTCCATTTGACAGTAGAAAAGAGTT  
 GGATACTATGCTTACCTTCTCGAACTTCTCAATGGTACGCTTGTCATAACCACC  
 GCACTGGTAGATCAAGTGACCAGTCTGTATACATGAGTTAGCTCTTTGCTCTCA  
 GGTACCGGCGAGGCGGAAGATTGCTGGTTCGAGAGCTCAAAGCCACTCGACC  
 GTTGAAAAAATTACGGTGGTAGACTTGCCGGAATCGACGTGGCTGTCTGGTG  
 GTCAGTATTTATTGCTCGTCGAGGTCGAAGGCGTTCAGCGTTAAACGCACCCG  
 ATAACGACGACGTTGATGTGAGTCTTGTCTCCTTACCC

#### **Ek.28 LdA 4'ün 18S EF1- $\alpha$ Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCCTTAA  
 CGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGCCA  
 CGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTCAACGGTTCGAGTGGCTTT  
 TGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGC  
 TAGCTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAA  
 GCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCTACT

GTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGCT  
 GGCCACCAGCACTACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTA  
 TCAATTCAGTGGGGCCAATGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAGGCTTTCCC  
 CTCATCTATTAGGTCTGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCCA  
 ACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTC  
 TCCAAGTATGCCTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTAT  
 CACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCGT  
 CATTGATGCTCCCGTACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTC  
 CCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGC  
 TGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTACCCT  
 CGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGT  
 CCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAG  
 GTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGC  
 GACAACGTGCTTGAGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAA  
 GGAGACTAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACG  
 CCATTGAGCCCCCAAGCGTCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCCAGG  
 ATGTTTACAAGATGGGTGGT

**Ek.29 LdA 5'in 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CTTGTAACATCCTGGAGGGGAAGACGGAGAGGCTTGTCGGTAGGACGCTTGG  
 GGGGCTCAATGGCGTCGATGGCCTCGAGAAGGGTCTTGCCAGTAGACTTGCCA  
 GCCTTAGTCTCCTTCTCCAACCCTTGTACCAGGGACAGTTGCTGGAGGGCTCA  
 AGCATGTTGTCGCCGTTGAAACCGGAGATGGGGACGAAAGCAACAGCCTTGG  
 GGTGTTAGCCAACCTTCTTGATGAAGCTGGAAGTCTCCTTGATGATTTCCCTGGT  
 AACGGGCCTCGGACCCTTGGTGGTGTCCATCTTGTGATGGCAACAATGAGC  
 TGCTTGACACCGAGGGTGAAGGCGAGCAGAGCGTGCTCACGGGTCTGGCCATC  
 CTTGGAGATAACCAGCCTCGAACTCACCAGTACCGGCGGCGATAATGAGAATAG  
 CGCAATCGGCCTGGGAAGTACCAGTAATCATGTTCTTGATGAAATCACGGTGA  
 CCGGGAGCATCAATGACGGTGACGTGGTACTTGGGAGTCTCGAACTTCCAGAG  
 AGCGATATCAATGGTGATACCACGCTCACGCTCGGCCTTGAGCTTGTCAGAA  
 CCCAGGCATACTTGAAGGAACCCTTGCCGAGTTCAGCGGCTTCTGTAGACGG  
 TAGGTTAGCGATCTGTTGGCTGAGTGCACGCGATATCTCTTCTTCTGCTGCTTC  
 GACCTAATAGATGAGGGGAAAGCTTGCAGACAAGGTGGCGGGGACTCTCACTG  
 GCCCCACTGAATTGATAAGGCACTGAAAATTTTTGCCGCAGCGAGGAGGGGTA  
 GTGAGTGCTGGTGGCCAGCGGATACGACGAAAAAAAATTGCGCAGCAAGC  
 GATCAAGGTCCATTTGACAGTAGAAAAGAGTTGGATACTATGCTTACCTTCTC  
 GAACTTCTCAATGGTACGCTTGTCATAACCACCGCACTGGTAGATCAAGTGAC  
 CAGTCTGTATACATGAGTTAGCTCTTTGCTCTCAGGTACCGGCGAGGCGGAAG  
 ATGCTGGTTCGAGAGCTCAAAAGCCACTCGACCGTTGAAAAAATTACGGTG  
 GTAGACTTGCCGGAATCGACGTGGCTGTCTGGTGGTCAGTATTTATTGCTCGTC  
 GAGGTCGAAGGCGTTCGGCGTTAAACGCACCCGATAACGACGACGTTGATGTG  
 AGTCTTGTCTCCTTAC

**Ek.30 LdA 6'nın 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TATGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCGTTT  
 AACGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGC  
 CACGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTTCAACGGTCGAGTGGC



TTTTGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAG  
 AGCTAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGA  
 CAAGCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTTC  
 TACTGTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGC  
 GCTGGCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCC  
 TTATCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTC  
 CCCTCATCTATTAGGTCGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCACTCAGC  
 CAACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTT  
 CCTTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGT  
 ATCACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCGCC  
 GTCATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACT  
 TCCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAG  
 GCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTAC  
 CCTCGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGT  
 GGTCCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAG  
 AAGGTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTCGTCCCCATCTCCGGTTTCAAC  
 GCGACAACATGCTTGAGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGA  
 GAAGGAGACCAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCG  
 ACGCCATTGAGCCCCCAAGCGTCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCC  
 AGGATGTTTACAAGATCGGTGGTATCGGCACAGT

**Ek.31 LdT 7'nin 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGCCGTCGTTATCGGGTGC GTTTAA  
 CGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGCCA  
 CGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTCAACGGTTCGAGTGGCTTT  
 TGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGC  
 TAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAA  
 GCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCTACT  
 GTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGCT  
 GGCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCCTTA  
 TCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCCC  
 CTCATCTATTAGGTCGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCACTCAGCCA  
 ACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCC  
 TTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTAT  
 CACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCGT  
 CATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTC  
 CCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGC  
 TGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTACCCT  
 CGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAGCAAGATGGACACCACCAAGTGGT  
 CCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAG  
 GTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTCGTCCCCATCTCCGGTTTCAACGGC  
 GACAACATGCTTGAGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAA  
 GGAGACTAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACG  
 CCATTGAGCCCCCAAGCGTCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCCAGG  
 ATGTTTACAAGATCGGTGGTATCGGCACGG

**Ek.32 LdT 8'in 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCGTTTAA  
 CGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGCCA  
 CGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTCAACGGTTCGAGTGGCTTT  
 TGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGC  
 TAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCCGGTGGTATTGACAA  
 GCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTCTTTTCTACT  
 GTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGC  
 TGGCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTT  
 ATCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCC  
 CCTCATCTATTAGGTCGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCC  
 AACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTC  
 CTTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTA  
 TCACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACCCCAAGTACCACGTCACC  
 GTCATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACT  
 TCCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAG  
 GCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTCAC  
 CCTCGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGT  
 GGTCCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAG  
 AAGGTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTAGCTTTCGTCCCCATCTCCGGTTTCAAC  
 GCGGACAACATGCTTGAGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGA  
 GAAGGAGACTAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCG  
 ACGCCATTGAGCCCCCAAGCGTCCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCC  
 AGGATGTTTACAAGATGGGTGGT

### **Ek.33 LdT 9'un 18S EF1- $\alpha$ Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCGTTTAA  
 CGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGCCA  
 CGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTCAACGGTTCGAGTGGCTTT  
 TGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCATAGAGC  
 TAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCCGGTGGTATTGACAA  
 GCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTCTTTTCTACT  
 GTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGCT  
 GGCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTA  
 TCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCCC  
 CTCATCTATTAGGTCGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCCA  
 ACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTC  
 TTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTAT  
 CACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCGT  
 CATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTC  
 CCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGC  
 TGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTCACCCT  
 CGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGT  
 CCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAG  
 GTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTCGTCCCCATCTCCGGTTTCAACGGC  
 GACAACATGCTTGAGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGGGAA  
 GGAGACTAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACG  
 CCATTGAGCCCCCAAGCGTCCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCCAGG  
 ATGTTTACAAGATGGGTGGTATCGGCACGG

**Ek.34 LdT 10'un 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCGTTTAA  
 CGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGCCA  
 CGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTTCAACGGTTCGAGTGGCTTT  
 TGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGC  
 TAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAA  
 GCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCTACT  
 GTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGCT  
 GGCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTA  
 TCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCCC  
 CTCATCTATTAGGTTCGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCCA  
 ACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTC  
 TTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGGGCGTGAGCGTGGTAT  
 CACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCGT  
 CATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTC  
 CCAGGCCGATTGCGCTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGC  
 TGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTCACCC  
 CGGTGTCAAGCAGCTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGT  
 CCGAGGCCCGTTACCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAG  
 GTTGGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCTTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGC  
 GACAACATGCTTGAGCCCTCCAGCAACTGTCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAA  
 GGAGACTAAGGCTGGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACG  
 CCATTGAGCCCCCAAGCGTCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCCAGG  
 ATGTTTACAAGATCGGTGGT

**Ek.35 LdT 11'in 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TATGGGTAAGGAGGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCGTTT  
 AACGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGC  
 CACGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTTCAACGGTTCGAGTGGCT  
 TTTGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGA  
 GCTAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGAC  
 AAGCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTTTTTCT  
 ACTGTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGC  
 GCTGGCCACCAGCACTCACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATATTAGGTC  
 GAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCCAACAGATCGCTAACCC  
 TACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTG  
 GGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCG  
 CTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCGTCATTGATGCTCCCG  
 GTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGCG  
 CTATTCTCATCATCGCCGCCGGTACTGGTGAGCTCGAGGCTGGTATCTCCAAGG  
 ATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTACCCCTCGGTGTCAAGCAG  
 CTCATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCCCGTTA  
 CCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAGGTTGGCTACAACC  
 CCAAGGCTGTTGCTTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGCGACAACATGCTTG

AGCCCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAAGGAGACTAAGGCT  
GGCAAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACGCCATTGAGCCCC  
CAAGCGTCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCCAGGATGTTTACAAGAT  
GGTGGTATCGGCACAGTAGACC

**Ek.36 LdT 12'nin 18S EF1- $\alpha$  Gen Bölgesinin Baz Sırası**

TTGGTAAGGAAGACAAGACTCACATCAACGTCGTCGTTATCGGGTGCGTTTAA  
CGCTGAACGCCTTCGACCTCGACGAGCAATAAATACTGACCACCAGACAGCCA  
CGTCGATTCCGGCAAGTCTACCACCGTAAGTTTTTTCAACGGTCGAGTGGCTTT  
TGAGCTCTCGAACCAGCAATCTTCCGCCTCGCCGGTACCTGAGAGCAAAGAGC  
TAACTCATGTATACAGACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCCGGTGGTATTGACAA  
GCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTAAGCATAGTATCCAACCTCTTTTCTACT  
GTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTGCGCAATTTTTTTTTTCGTCGTATCGCGCT  
GGCCACCAGCACTACTACCCCTCCTCGCTGCGGCAAAAATTTTCAGTGCCTTA  
TCAATTCAGTGGGGCCAGTGAGAGTACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCCC  
CTCATCTATTAGGTGGAAGCAGCAGAAGAAGAGATATCGCGTGCCTCAGCCA  
ACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTC  
TTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTAT  
CACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACCACGTCACCGT  
CATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATTACCAAGGATG  
GCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTTCACCCTCGGTGTCAAGCAGCTC  
ATTGTTGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCCCGTTACCA  
GGAAATCATCAAGGAGACTTCCAGCTTCATCAAGAAGGTTGGCTACAACCCCA  
AGGCTGTTGCTTTCGTCCCCATCTCCGGTTTCAACGGCGACAACATGCTTGAGC  
CCTCCAGCAACTGTCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAAGGAGACTAAGGCTGGC  
AAGTCTACTGGCAAGACCCTTCTCGAGGCCATCGACGCCATTGAGCCCCCAA  
GCGTCTACCGACAAGCCTCTCCGTCTTCCCCTCCAGGATGTTTACAAGATCGG  
TGGTATCGGTACAG

**Ek.37 LdA 1'in 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTACTIONCGACCACCATT  
GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTGGAAGTCAGCTACTCG  
ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
GCACTCTTGCCCACGTCTGGCATGCCCCGCTTTCGCGGTATACGACGTCGATCCC  
GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
GCTTTCTGGCACAATGTCACCTTTTGCTTTTGAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
GAATACGTGTGCGCAAGAGCCGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
ACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAA  
CTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
AACGACCGAAGCGTGCAGGTTGCGACAACCTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGC  
CTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGCGAGATTTCATTGC  
GAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTCATAAGA  
GGGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCAGGAATGCGTGGAGCGC  
GGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCCACAGAAAC  
CAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCAT

CGTCTTTGTA CTGGCTCTCACTCTTGTCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAG  
 GTCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGA  
 TGGTATCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTAC  
 AAAGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGTA  
 GGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCCACCG  
 CGGTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCT  
 CGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGC  
 GTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGA  
 ATCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAAAAA  
 GGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCCTCA  
 TGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGG  
 CCCGGAGGGGTCTGGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGG  
 CGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGA

**Ek.38 Lda 2'nin 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACAAGATTGTCCAGCGGTA CTGACCACCATTC  
 GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTCGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCCACGTCTGGCATGCCCCTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACCTTTGCTTTTGAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
 ACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAA  
 CTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
 AACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACA ACTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGC  
 CTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGGCAGATTTCATTGC  
 GAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTCATAAGA  
 GGGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCGTGGAGCGC  
 GGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCAGTACCGCGGCCCTTGCCCACAGAAAC  
 CAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCAT  
 CGTCTTTGTA CTGGCTCTCACTCTTGTCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAG  
 GTCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGA  
 TGGTACCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTAC  
 AAAGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGTA  
 GGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCCACCG  
 CGGTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCT  
 CGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGC  
 GTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGA  
 ATCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAAAAA  
 GGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCA  
 TGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGG  
 CCCGGAGGGGTCTGGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGG  
 CGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGAC

**Ek.39 Lda 3'ün 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTACTIONCGACCACCATTTC  
 GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTTCGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCCTTTCCGCGTATAACGACGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACTTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
 ACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGCAGCCAGAGCAA  
 CTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
 AACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACAACCTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGC  
 CTGCTCGCTCCCAGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGGCGAGATTCATTGC  
 GAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTATAAGA  
 GGGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCGTGGAGCGC  
 GGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCACAGAAAC  
 CAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCAT  
 CGTCTTTGTACTGGCTCTCACTCTTGCTCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAG  
 GTCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGA  
 TGGTATCAAATGTATTTATGGAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTAC  
 AAAGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGTA  
 GGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCACCG  
 CGGTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCT  
 CGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCCTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGC  
 GTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGA  
 ATCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAAAAA  
 GGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCA  
 TGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGG  
 CCCGGAGGGGTGCGCTGAAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGG  
 CGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGACA

#### **Ek.40 LdA 4'ün 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTACTIONCGACCACCATTTC  
 GCGGCTTGTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTTCGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCCTTTCCGCGTATAACGATGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACTTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
 ACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGCAGCCAGAGCAA  
 CTGCCACAAGGTTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
 AACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACAACCTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGC  
 CTGCTCGCTCCCAGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGGCGAGATTCATTGC  
 GAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTATAAGA  
 GGGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCGTGGAGCGC  
 GGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCACAGAAAC

CAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCAT  
 CGTCTTTGTACTGGCTCTCACTCTTGTCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAG  
 GTCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGA  
 TGATATCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTAC  
 AAAGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGTA  
 GGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCCACCG  
 CGGTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCT  
 CGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGC  
 GTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGA  
 ACCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAAAAA  
 GGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCA  
 TGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGG  
 CCCGGAGGGGTCCGGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGG  
 CGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGA

#### **Ek.41 Lda 5'in 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTACTIONCGACCACCATTC  
 GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTCGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCCTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACCTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
 ACCGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAA  
 CTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
 AACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACAACCTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGC  
 CTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGC  
 GAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAAGCAGCAACATGTCTCTGTTCATAAGA  
 GGGCATCAGTTTCGCCAACTCAACAGACACTGGTGGCGGAATGCGTGGAGCGC  
 GGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCCACAGAAAC  
 CAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCAT  
 CGTCTTTGTACTGGCTCTCACTCTTGTCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAG  
 GTCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGA  
 TGGTATCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTAC  
 AAAGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGTA  
 GGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCCACCG  
 CGGTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCT  
 CGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGC  
 GTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGA  
 ATCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAAAAA  
 GGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCA  
 TGCTGAAAGTGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGG  
 CCCGGAGGGGTCCGGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGG  
 CGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGA

**Ek.42 LdA 6'nin 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTA CTGACCACCATT  
 GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTTCGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACCACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCCACGTCTGGCATGCCCCTTTCCGCGTATAACGACGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACTTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
 ACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAA  
 CTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
 AACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACA ACTCAGTCGTGCCGATATGCTGCGC  
 CTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGGCGAGATTCATTGC  
 GAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAGCAGCAACATGTCTCTGTTCATAAGA  
 GGGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCGTGGAGCGC  
 GGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCCACAGAAAC  
 CAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCAT  
 CGTCTTTGTACTGGCTCTCACTCTTGCTCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAG  
 GTCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGA  
 TGATATCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTAC  
 AAAGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCCCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGTA  
 GGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGAGGGCAAATCGCCCACCG  
 CGGTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCT  
 CGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGC  
 GTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGA  
 ATCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAAAAA  
 GGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCA  
 TGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGG  
 CCCGGAGGGGTGCGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGG  
 CGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGACAAGACTGGA

**Ek.43 LdT 7'nin 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTA CTGACCACCATT  
 GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTTCGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCCACGTCTGGCATGCCCCTTTCCGCGTATAACGACGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACTTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAGA  
 CTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAAC  
 TGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
 ACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACA ACTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGCC



TGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCG  
 AGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTCATAAGAG  
 GGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCGTGGAGCGCG  
 GCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGTCACAGAAACC  
 AACCGGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAATCGCACTTTCCATC  
 GTCTTTGTACTGGCTCTCACTCTTGTCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAGG  
 TCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGAT  
 GGTATCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACATATTTACAA  
 AGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCCTGGAGCCGACCACCTCTTGAAGAAGT  
 AGGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCCACC  
 GCGGTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCC  
 TCGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGC  
 GTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGA  
 ATCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAAAAA  
 GGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCA  
 TGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGG  
 CCCGGAGGGGTCCGGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGG  
 CGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGA

**Ek.44 LdT 8'in 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTACTIONCGACCACCATT  
 GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTGGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCCGCTTTCGCGGTATACGACGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATCCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GGGTATCAGAAATCCGGGCCGACAAGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCCCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACTTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
 ACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACCCAGAGCAA  
 CTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
 AACGACCGAAGCGTGCGGTTGCGACAACCTCAGTCATGCCCGATATGCTGCGC  
 CTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGC  
 GAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTCATAAGA  
 GGGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCGTGGAGCGC  
 GGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCACAGAAAC  
 CAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCAT  
 CGTCTTTGTACTGGCTCTCACTCTTGTCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAG  
 GTCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGA  
 TGGTATCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTAC  
 AAAGCCGGGCGAATATAGCTGTGCACTTCCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGT  
 AGGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCCACC  
 GCGGTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCC  
 TCGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGC  
 GTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGA  
 ATCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAGAAA  
 GGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCA  
 TGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGG

CCCGGAGGGGTCGGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGG  
CGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGAC

**Ek.45 LdT 9'un 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTACTIONCGACCACCATT  
GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTGGAAGTCAGCTACTCGG  
ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
GCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCGCTTTCCGCGTATACGACGTGATCCC  
GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
GAGTATCAGAAATCCGGGCTGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGTC  
CTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGG  
CTTTCTGGCACAATGTCACCTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGACG  
AATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAGA  
CTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTCGCAGCCAGAGCAAC  
TGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGGA  
ACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACAACCAGTCATGCCCGATATGCTGCGCCT  
GCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCGA  
GCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTCATAAGAGG  
GCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCGTGAGCGCGG  
CTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCACAGAAACCA  
ACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCATCG  
TCTTTGTACTIONGGCTCTCACTCTTGTCTCCACTGATAGGGTAATACTCACAGGT  
CAAATAGTTGACAGTTAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGATG  
GTATCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTACAA  
AGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCTTGAGCCGACCACCTCTTGAGTAGG  
TCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCACCGCG  
GTCCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCTCG  
GTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGCGTC  
GCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGAATC  
TTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGGGAAAAAGGG  
CGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCATGC  
TGAAAGCGACAAAGGAGCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGGCC  
CGGAGGGGTGCGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGGCG  
GAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGA

**Ek.46 LdT 10'un 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

GAATTCGATTCGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTACTIONCG  
ACCACCATTGCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTGGAAGTC  
AGCTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTA  
CATCTGCCCAGCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCGCTTTCCGCGTATACGA  
CGTCGATCCCGACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACAT  
GACCGATCCCGAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCG  
CCAAGGAGTCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGCCGAGGCCGAG  
CTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCACCTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACG  
CTGTTTGACGAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTG  
CCAGGGAGACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTCGCAGC  
CAGAGCAACTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAA

TGGCTTGGAACGACCGAAGCGTGC GCGTGTGCGACA ACTCAGTCATGCCCGATA  
 TGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGCGAGA  
 TTCATTGCGAGCGGCGCAAGGATCAAGCCTTGGAAGCAGCAACATGTCTCTGT  
 TCATAAGAGGGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCG  
 TGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCC  
 ACAGAAACCAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGC  
 ACTTTCCATCGTCTTTGTACTGGCTCTCACTCTTGTCCCTCCACTGATAGAGTAAT  
 ACTCACAGGTCAAATAGTTGACAGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTA  
 TAAGTAGATGGTATCAAATGTATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACC  
 ATATTTACAAAGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCCTGGAGCCGACCACCTC  
 TTGGAGTAGGCCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGAGGCAAATC  
 GCCACCGCGGTCCCCAGTACTCTCATTCTTCCCCAGCGTGAGAACGAGTTC  
 CTTGCCCTCGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCCTTGTGTAGGGCTTGCC  
 GTTGAGCGTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGAC  
 GTTGCGAATCTTGGCCGTCTTCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTCACGCTGGG  
 GAAAAAGGGCGGCGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTGGGAAAGAGA  
 CCCATCATGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCC  
 GGAAGGCCCGGAGGGGTGCGGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTG  
 CGCTTGGCGGAGAGGGCAGGACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGA

#### **Ek.47 LdT 11'in 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCAACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTA CTGACCACCATTC  
 GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTT CGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCGCTTTCGCGGTATACGACGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACTTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGCTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
 ACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAA  
 CTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTG  
 AACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACGATATGCTGCGCCTGCTCGCTTCCCGA  
 CAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGGCGAGATTCATTGCGAGCGGCGCAAGGAT  
 CAAGCCTTGGAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTATAAGAGGGCATCAGTTTCGC  
 CCAACTCAACAGACACTGGTGC GGAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCG  
 GGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCACAGAAACCAACGCGCCAAAGT  
 CATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCATCGTCTTTGTACTGG  
 CTCTCACTCTTGTCCCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAGGTCAAATAGTTGAC  
 AGTTAAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGATGGTATCAAATGTA  
 TTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTACAAAGCCGGCGAATA  
 TAGCTGTGCACTTCCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGTAGGTCTGATTAAGCC  
 CGAGTAGCGACCCAGGCTTGAGGCAAATCGCCACCGCGGTCCCCAGTTAC  
 TCTCATTCTTCCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCTCGGTAAAGAATGAGT  
 GGTCAATCCAGTTCCTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGCGTCGCGCTCTGGATAT  
 AAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGAATCTTGGCCGTCTTTC  
 CGGTGACGGGGTGCTTGACGGTACGCTGGGGAAAAAGGGCGGCGTGATGAG  
 GTAGACGTCTTGCCCCGGGTGGGAAAGAGACCCATCATGCTGAAAGCGACAA

AGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGGCCCGGAGGGGTCGG  
 CTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGGCGGAGAGGGCAGGA  
 CGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGAC

**Ek.48 LdT 12'nin 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası**

CGACCCGGCCA ACTACTTTGACCAGATTGTCCAGCGGTA CTCTCGACCACCATTC  
 GCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCACATGGACCATTTTCGAAGTCAGCTACTCGG  
 ACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCACGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCCA  
 GCACTCTTGCCACGTCTGGCATGCCCGCTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCC  
 GACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTACCTACATTGCCGACATGACCGATCCC  
 GAGTATCAGAAATCCGGGCCGACATGGAAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGT  
 CCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATTGCGGGCCGAGGCCGAGCTCACACCG  
 GCTTTCTGGCACAATGTCACTTTTGCTTTTGAAAGCAACGCCACGCTGTTTGAC  
 GAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTGGATAAAAAAAGTTGCCAGGGAG  
 ACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTGCGTGCCGGTTCGACGCCAGAGCAA  
 CTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTTGTCAAAGGGACAATGGCTTGG  
 AACGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACA ACTCAGGCTGCGCCTGCTCGCCTCCC  
 GACAGGATCTGCTGGAGGATCTTCAGGCGAGATTCATTGCGAGCGGGCGCAAGG  
 ATCAAGCCTTGGAAGCAGCAACATGTCTCTGTTTCATAAGAGGGCATCAGTTTC  
 GCCCAACTCAACAGACACTGGTGCGGAATGCGTGAGCGCGGGCTCGGCCACTT  
 CGGGGAGTGCAAGCGGTACCGCGGCCTTGCCACAGAAACCAACGCGCCAAA  
 GTCATTGGCATTACATTGCAGTGTCCAACCGCACTTTCCATCGCCTTTGTA CT  
 GGCTCTCACTCTTGTCCTCCACTGATAGAGTAATACTCACAGGTCAAATAGTTG  
 ACAGTTAACTCACACAGAAAGAGAAGCTTGTATAAGTAGATGGTATCAAATG  
 TATTTATGAAATAATTACCAAAGCCGGAAAACCATATTTACAAAGCCGGCGAA  
 TATAGCTGTGCACTTCCTGGAGCCGACCACCTCTTGGAGTAGGTCTGATTAAAG  
 CCCGAGTAGCGACCCAGGCTTGGAGGCAAATCGCCCACCGCGGTCCCCCAGTT  
 ACTCTCATTCTTCCCCAGCGTGAGAACGAGTTCCTTGCCCTCGGTAAAGAATGA  
 GTGGTCAATCCAGTTCTTTGTGTAGGGCTTGCCGTTGAGCGTCGCGCTCTGGAT  
 ATAAATATTCTTGTACGCGGCGTCAAAGTTGACGTTGCGAATCTTGGCCGTCTT  
 TCCGGTGACGGGGTGCTTGACGGTACGCTGGGGAAAAGGGCGGCGTGATG  
 AGGTAGACGTCTTGCCCCGGGTTGGGAAAGAGACCCATCATGCTGAAAGCGAC  
 AAAGGAGCCCATGGCGCCGCTGTCGTCGTTGCCGGGAAGGCCCGGAGGGGTC  
 GGCTGGAAGAAGCGCGGAATGTAAAAGTGGCTGCGCTTGGCGGAGAGGGCAG  
 GACGGCCGGCGTAGTGGTACTGGAAGA

## ÖZGEMİŐ

İlkokul ve Ortaokulunu Yomra Merkez İlköğretim Okulu'nda, liseyi Fatih Lisesi'nde tamamladı. 2012-2017 Eğitim-Öğretim yıllarında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimini bitirdi. Mezun olduktan sonra Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. İyi derecede İngilizce bilmektedir.

