

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOĞU KARADENİZ BÖLGESİ'NDEN ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLARIN
İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE VİRÜLANSLARININ
BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

Ali SEVİM

EYLÜL 2010
TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DOĞU KARADENİZ BÖLGESİ'NDEN ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLARIN
İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE VİRÜLANSLARININ
BELİRLENMESİ**

Ali SEVİM

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“Doktor (Biyoloji)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Enstitüye Verildiği Tarih : 27.08.2010
Tezin Savunma Tarihi : 16.09.2010**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Reşit ÖZKANCA
Jüri Üyesi : Doç. Dr. İsmail DEMİR**

Enstitü Müdürü: Prof. Dr. Salih TERZİOĞLU

Trabzon 2010

ÖNSÖZ

"Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Virülanslarının Belirlenmesi" isimli bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda 'Doktora Tezi' olarak hazırlanmıştır.

Doktora tez konusunu belirleyen, çalışmalarım sırasında karşılaştığım güçlüklerin aşılmasında beni yönlendiren, her türlü desteği ve imkanı sağlayarak değerli bilgilerinden yararlandığım sayın hocam Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın çeşitli aşamalarında desteklerini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Mahmut EROĞLU'na, tezimin her aşamasında ve özellikle arazi çalışmalarında desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. İsmail DEMİR'e, toprak ve böcek örneklerinin toplanmasında yardımcı olan Biyolog Hüseyin YILMAZ'a, Biyolog Emrah Sami SEÇİL'e, Biyolog Cihan GÖKÇEK'e, Biyolog Elif TANYELİ'ye ve tüm KTÜ, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü ve Rize Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü çalışanlarına sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

Aynı zamanda bu çalışmayı yapabilmem için desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen Rize Üniversitesi Rektörü sayın Prof. Dr. Nazmi Turan OKUMUŞOĞLU'na ve değerli Bölüm Başkanım Prof. Dr. Vagif ATAMOV'a da teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, Erasmus-Socrates öğrenci değişim kapsamında 1 yıl süre ile laboratuvarında bulunduğum ve izole ettiğim fungusların moleküler tanımlanmasında desteklerini esirgemeyen Gent Üniversitesi (Belçika)'nden Prof. Dr. Monica HÖFTE'e ve örneklerimin morfolojik tanımlanmasında yardımcı olan Cornell Üniversitesi'nden (Amerika Birleşik Devletleri) Prof. Dr. Richard HUMBER'a teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, manevi desteklerini daima üzerimde hissettiğim, beni yetiştiren ve bugün olduğum yerde olmamda sonnuz katkıları olan Annem, Babam ve kardeşlerime, yoğun çalışma dönemlerimin her anında her konuda yanımda olan eşim Elif SEVİM'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Ali SEVİM
Trabzon 2010

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	VI
SUMMARY.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ.....	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Fındık Üretimi ve Ormanlarımız.....	4
1.2.1. Ülkemizde Fındık Tarımı ve Ülke Ekonomisindeki Yeri.....	4
1.2.2. Fındık Zararlıları ve Ekonomik Önemi.....	5
1.2.3. Doğu Karadeniz Bölgesi Ormanları ve Zararlı Böcekler.....	6
1.3. Mücadelesi Hedeflenen Fındık ve Orman Zararlısı Böcekler.....	7
1.3.1. Adi Mayıs Böceği, <i>Melolontha melolontha</i> (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae)....	7
1.3.2. Dev Soymuk Böceği, <i>Dendroctonus micans</i> (K.) (Coleoptera: Scolytidae).....	8
1.4. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri.....	9
1.4.1. Biyolojik Mücadele.....	10
1.4.1.1. Entomopatojenik Funguslar (EPF).....	11
1.4.1.1.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması.....	11
1.4.1.1.1.1 Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılmasında Kullanılan Özellikler.....	13
1.4.1.1.2. Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri.....	15
1.4.1.1.3. Fungal Enfeksiyon.....	17
1.4.1.1.4. Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri.....	18
1.4.1.1.5. Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği.....	19
1.4.1.1.6. Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı.....	20
1.4.1.1.7. Entomopatojenik Fungusların Avantaj ve Dezavantajları.....	21
1.4.1.1.8. Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı.....	22
1.4.1.1.9. Entomopatojenik Fungusların Geliştirilmesi.....	25

1.4.1.1.9.1. Suş Seçimi	25
1.4.1.1.9.2. Genetik Modifikasyon	26
1.4.1.1.9.3. Formülasyon ve Uygulama Stratejileri	26
1.5. Tezin Amacı	27
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	28
2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar, Enzimler, Antibiyotikler ve Besiyeriler ..	28
2.2. Çalışma Bölgesinin Tanımlanması	28
2.3. Toprak Örneklerinin Toplanması	30
2.4. Entomopatojenik Fungus İzole Edilecek Böcek Örneklerinin Toplanması	31
2.5. Toprak Örneklerinden Entomopatojenik Fungus İzolasyonu.....	31
2.6. Enfekte Larvalardan Entomopatojenik Fungus İzolasyonu.....	32
2.7. Fungusların Depolanması	33
2.8. İzole Edilen Fungusların Tür Tayinleri	33
2.8.1. Morfolojik Tür Tayini	33
2.8.2. Moleküler Karakterizasyon	34
2.8.2.1. DNA İzolasyonu	34
2.8.2.2. rRNA ITS1-5.8S-ITS2 Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması.....	35
2.8.2.3. Uzama Faktörü-1-alfa (EF1- α) Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	35
2.8.2.4. 18S SSU Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması.....	36
2.8.2.5. Fungal İzolatların GenBank Kayıtları	37
2.9. İzole Edilen Fungusların Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi.....	39
2.9.1. Çoğaltılmış Parçacık Uzunluğu Poliformizmi (AFLP)	40
2.9.2. Fungal İzolatların Farklı Sıcaklıklarda Büyümesinin Değerlendirilmesi.....	41
2.9.3. Fungal İzolatların UV Dirençlerinin Belirlenmesi	41
2.10. Patojenite Testleri	42
2.10.1. <i>Tenebrio molitor</i> (Un kurdu)'a Karşı Biyotestler	42
2.10.2. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	43
2.10.3. <i>Melolontha melolontha</i> (Mayıs böceği)'ya Karşı Biyotestler	43
2.10.4. <i>Dendroctonus micans</i> (Dev soymuk böceği)'a Karşı Biyotestler	44
2.10.4.1. <i>Dendroctonus micans</i> (Dev soymuk böceği)'a Karşı Doz Uygulaması.....	46
2.11. Veri Analizi	47
3. BULGULAR	49
3.1. Entomopatojenik Fungus İzolasyonu	49

3.2.	İzolatların Morfolojik Tür Tayinleri.....	52
3.3.	İzolatların Moleküler Karakterizasyonları.....	54
3.4.	Fungus İzolatları Arasındaki Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi.....	67
3.4.1.	<i>B. bassiana</i> İzolatları Arasındaki Genetik Çeşitlilik	67
3.4.2.	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> İzolatları Arasındaki Genetik Çeşitlilik	70
3.4.5.	Fungal İzolatların Coğrafik Lokalite, Habitat Tipi, Patojenite, Farklı Sıcaklık ve UV Muamelesindeki Büyümlerine Göre Değerlendirilmesi	73
3.5.	Patojenite Testleri	74
3.5.1.	<i>Tenebrio molitor</i> (Un kurdu)'a Karşı Patojenite Testleri	74
3.5.2.	<i>Melolontha melolontha</i> 'ya Karşı Patojenite Testleri.....	79
3.5.3.	<i>Dendroctonus micans</i> 'a Karşı Patojenite Testleri	80
3.5.3.1.	<i>Dendroctonus micans</i> 'a Karşı Doz Uygulaması	82
4.	TARTIŞMA.....	84
5.	SONUÇLAR.....	92
6.	ÖNERİLER	94
7.	KAYNAKLAR.....	95
8.	EKLER	107

ÖZGEÇMİŞ

ÖZET

Bu doktora tez çalışmasında, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yayılış gösteren zararlı böceklere karşı etkili ve güvenli biyolojik mücadele etmenleri bulmak için, toplam 301 toprak örneği alındı ve bu örneklerden *Galleria* tuzak yöntemi ile 62 adet entomopatojenik fungus izole edildi. Ayrıca, *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (çam kese böceği) ve *Rhynchites baccus* (L.) (çivi böceği) örneklerinden de birer adet fungus izolasyonu yapıldı. Elde edilen fungal izolatlar morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak ayrıntılı bir şekilde karakterize edildi. Karakterizasyon çalışmaları sonucunda, izolatlar *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium* sp., *Beauveria bassiana*, *Beauveria* cf. *bassiana*, *Isaria fumosorosea* ve *Evlachovaea* sp. olarak tanımlandı. *M. anisopliae* var. *anisopliae* 34 lokaliteden izole edilmiş olup, en fazla tespit edilen fungusdur. Ayrıca, bu bölgeden izole edilen 13 adet *B. bassiana* ve 33 adet *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarının Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi (AFLP) analizi kullanılarak genetik çeşitliliği belirlendi. *B. bassiana* izolatları arasında yüksek düzeyde genetik çeşitlilik belirlendi ve bu çeşitliliğin coğrafik lokalite ile ilişkili olduğu gösterildi ($p < 0,05$). *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasında da yüksek düzeyde genetik çeşitlilik belirlenmesine rağmen, bu çeşitlilik coğrafik lokalite ve habitat tipi ile ilişkilendirilemedi ($p > 0,05$). İzolatların insektisidal aktivite tarama testleri *Tenebrio molitor* (un kudu) larvaları üzerinde yapıldıktan sonra yüksek insektisidal aktiviteye sahip 9 izolatın *Melolontha melolontha* (mayıs böceği) ve *Dendroctonus micans* (dev soymuk böceği) üzerindeki insektisidal aktiviteleri belirlendi. Bu testler sonucunda, *Evlachovaea* sp. KTU-36'nın *M. melolontha* üzerinde 15 gün içerisinde % 86,6 ve *B. cf. bassiana* KTU-53'ün *D. micans*'in hem larva hem de erginlerde 6 gün içerisinde %100'lük ölüme neden olduğu belirlendi. Ayrıca, *B. cf. bassiana* KTU-53 izolatının *D. micans* larvalarına karşı LC_{50} değeri $1,77 \times 10^4$ spor/ml, erginlerine karşı ise $2,65 \times 10^4$ spor/ml olarak hesaplandı.

Anahtar Kelimeler: Entomopatojenik fungus, Fındık zararlıları, Orman zararlıları, Mikrobiyal mücadele

SUMMARY

Isolation and Characterization of Entomopathogenic Fungi from The Eastern Black Sea Region and Determination of Their Virulence

In this study, in order to find more effective and safe biocontrol agents against some pest species which have wide spread in the Eastern Black Sea Region, a total of 301 soil samples were collected and 62 entomopathogenic fungi were isolated by *Galleria* bait method. Separately, two fungi were isolated from *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (the pine processionary moth) and *Rhynchites baccus* (L.) (the leafroller weevil beetle) insect samples. Obtained isolates were characterized by using morphological and molecular techniques in detail. Based on taxonomical studies, the isolates were identified as *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium* sp., *Beauveria bassiana*, *Beauveria* cf. *bassiana*, *Isaria fumosorosea* and *Evlachovaea* sp. *M. anisopliae* var. *anisopliae* was isolated from 34 sites and was the most frequent and abundant fungus recovered. In addition, genetic diversity of 13 *B. bassiana* and 33 *M. anisopliae* var. *anisopliae* strains was determined by using the Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) analysis. A significant genetic diversity was found within *B. bassiana* isolates and this diversity was found to be associated with geographical location ($p < 0,05$). Although there is also a significant genetic diversity within *M. anisopliae* var. *anisopliae* isolates, this diversity is not associated with habitat type and geographical location ($p > 0,05$). After performing of screening test of the isolates against *Tenebrio molitor* (mealworm) larvae, nine isolates that have high insecticidal activity were tested against *Melolontha melolontha* (the common cockchafer) and *Dendroctonus micans* (the European spruce bark beetle). Based on pathogenicity tests, *Evlachovaea* sp. KTU-36 produced the highest insecticidal activity with 86,6% against *M. melolontha* within 15 days and *B. cf. bassiana* KTU-53 caused the 100% mortality against larvae and adults of *D. micans* within 6 days. Separately, LC_{50} value of *B. cf. bassiana* KTU-53 against larvae and adults of *D. micans* was calculated as $1,77 \times 10^4$ and $2,65 \times 10^4$ conidia ml^{-1} , respectively.

Key Words: Entomopathogenic fungi, Hazelnut pests, Forest pests, Microbial Control

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>Melolontha melolontha</i> (Adi mayıs böceği).....	8
Şekil 2. <i>Dendroctonus micans</i> (Dev soymuk böceği)	9
Şekil 3. <i>Entomophthora muscae</i> 'nin <i>Delia radicum</i> konağındaki yaşam döngüsü	16
Şekil 4. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamaklarının gösterimi.....	18
Şekil 5. Örnekleme bölgesi.....	29
Şekil 6. <i>Galleria</i> tuzak yöntemi.....	32
Şekil 7. Fungal örneklerin 'Scotch tape' tekniğiyle mikroskopik incelenmesi	34
Şekil 8. ITS1-5.8S-ITS2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları .	35
Şekil 9. 18S gen bölgesinin ilk 1800 bp'ini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları	37
Şekil 10. <i>Evlachovaea</i> sp. KTU-36 ile enfekte olmuş son evre <i>M. melolontha</i> larvası	44
Şekil 11. <i>D. micans</i> larvalarının patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri ve enfekte olmuş larvalar	45
Şekil 12. <i>D. micans</i> 'ın erginlerinin patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri ve enfekte olmuş ergin böcekler	46
Şekil 13. Bazı entomopatojenik fungusların <i>Galleria mellonella</i> larvalarında meydana getirdikleri enfeksiyon.....	53
Şekil 14. Bazı entomopatojenik fungusların koloni morfolojileri.....	53
Şekil 15. Çeşitli entomopatojenik fungusların mikroskopik yapıları ve sporları	54
Şekil 16. Entomopatojenik fungus izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 bölgesinin PCR ile çoğaltılması.....	55
Şekil 17. <i>Metarhizium</i> izolatları ile Driver vd. (2000)'lerinin çalışmasında kullanılan <i>Metarhizium</i> türlerinin ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N- J ağacı.	58
Şekil 18. Bazı <i>Metarhizium</i> izolatlarının rRNA 18S SSU gen bölgesinin ilk 1800 bp'nin PCR ile çoğaltılması	59
Şekil 19. <i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> ve <i>Metarhizium</i> sp. KTU-9 izolatlarının 18S SSU rRNA dizisine göre GenBank'tan indirilen <i>Metarhizium</i> türleri ile taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	60

Şekil 20.	İzolat KTU-9 ve bazı <i>B. bassiana</i> , <i>B. cf. bassiana</i> izolatlarının EF1- α gen bölgesinin ilk 1200 bp'nin PCR ile çoğaltılması.....	61
Şekil 21.	<i>Metarhizium</i> KTU-9 ile GenBank'tan indirilen <i>Metarhizium</i> türlerinin EF1- α gen bölgesinin ilk 1200 bp'lik dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	61
Şekil 22.	<i>Beauveria</i> izolatları ile Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türlerinin ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	63
Şekil 23.	<i>Beauveria cf. bassiana</i> KTU-55 ve KTU-63 izolatları ile Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türlerinin EF1- α gen bölgesinin ilk 1200 bp'lik dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	64
Şekil 24.	<i>I. fumosorosea</i> ve <i>Evlachovaea</i> sp. izolatları ile Laungsa-Ard vd. (2005)'lerinin çalışmasında kullanılan <i>Isaria</i> ve <i>Paecilomyces</i> türlerinin ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	66
Şekil 25.	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> ve <i>B. bassiana</i> izolatlarına ait AFLP analizi sonucu elde edilen otoradyogram.....	68
Şekil 26.	<i>B. bassiana</i> izolatları arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrogram.....	70
Şekil 27.	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolatları arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrogram.....	73
Şekil 28.	<i>B. bassiana</i> , <i>B. cf. bassiana</i> , <i>Evlachovaea</i> sp. ve <i>I. fumosorosea</i> izolatlarının <i>T. molitor</i> larvalarına karşı patojeniteleri ve kadvralar üzerindeki sporlaşma oranları.....	76
Şekil 29.	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolatlarının <i>T. molitor</i> larvalarına karşı patojeniteleri ve kadvralar üzerindeki sporlaşma oranları.....	78
Şekil 30.	Test böcekleri üzerinde etkili olan fungal izolatların <i>M. melolontha</i> larvaları üzerindeki ölüm ve kadvralar üzerindeki sporlaşma oranları.....	79
Şekil 31.	Test böcekleri üzerinde etkili olan fungal izolatların <i>D. micans</i> üzerindeki patojeniteleri ve mikoz oranları.....	81
Şekil 32.	<i>D. micans</i> larvalarının <i>B. cf. bassiana</i> KTU-53 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları.....	82
Şekil 33.	<i>D. micans</i> erginlerinin <i>B. cf. bassiana</i> KTU-53 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları.....	83

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Fındık üreticisi ülkelerin üretim alanları, üretim miktarları ve verim durumları	5
Tablo 2. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojenik fungusların fungi alemi içerisindeki taksonomik pozisyonları	12
Tablo 3. Entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler	19
Tablo 4. Ticari olarak geliştirilmiş, geliştirilmeye devam edilen ve potansiyel olarak dikkate alınan entomopatojenik funguslar.....	24
Tablo 5. Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel özellikleri ve örnekleme yerleri.....	30
Tablo 6. Fungal izolatların GenBank numaraları	37
Tablo 7. Entomopatojenik fungus izolatlarının morfolojik tür tayinleri ve etiket özellikleri	49
Tablo 8. Entomopatojenik fungusların Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki habitat tipine göre dağılım oranları	52
Tablo 9. <i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> ve <i>Metarhizium</i> sp. izolatlarının rRNA ITS1- 5.8S-ITS2 dizisine göre önerilen tür tayinleri	56
Tablo 10. <i>Beauveria</i> izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri	62
Tablo 11. <i>I. fumosorosea</i> ve <i>Evlachovaea</i> sp. izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri.....	65
Tablo 12. <i>B. bassiana</i> izolatları arasındaki genetik benzerlikler	69
Tablo 13. <i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolatları arasındaki genetik benzerlikler.....	71
Tablo 14. <i>B. cf. bassiana</i> KTU-53 izolatıyla <i>D. micans</i> 'ın larva ve erginlerine karşı kullanılan farklı dozların uygulanması sonucu hesaplanan probit analizinin parametre değerleri	83

SEMBOLLER DİZİNİ

AFLP	: Çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi
APS	: Amonyum persülfat
ARSEF	: USDA-ARS entomopatojenik fungus koleksiyonu
ATP	: Adenozin trifosfat
bp	: Baz çifti
C	: Derece
CBC	: Konzervatif biyolojik mücadele
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTPs	: Deoksinükleozit trifosfat
EF1	: Uzama Faktörü 1
EPF	: Entomopatojenik fungus
FAMD	: Fingerprint analysis with missing data 1.1β
GTY	: <i>Galleria</i> tuzak yöntemi
ha	: Hektar
I:K	: Işık: karanlık
ITS	: İç transkript spacer
KAc	: Potasyum asetat
LC ₅₀	: Popülasyonun %50'sini öldüren konsantrasyon
Mg(Ac) ₂	: Magnezyum asetat
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NaClO	: Sodyum hipoklorit
NCBI	: Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
OD	: Optik yoğunluk
PCR-DGGE	: PCR-Denature gradyan jel elektroforezi
PCR-LP	: PCR-Uzunluk polimorfizmi
PCR-RFLP	: PCR-Restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi
PCR-SSCP	: PCR-Tek sarmal yapısal polimorfizm
PCR-TGGE	: PCR-Isı gradientli jel elektroforezi
PDA	: Patates dekstroz agar
PDAY	: Patates dekstroz agar + maya ekstraktı

PDB	: Patates dekstrozu sıvısı
pH	: Hidrojenin gücü
pol	: Polimeraz
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPD	: Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA
Rep-PCR	: Tekrarlı ekstrasjenik palindromik element-PCR
rRNA	: Ribonükleik asit
SPSS	: Sosyal Bilimlerde İstatistik Paketi
TBE	: Tris-borik asit-etilendiamintetraasetik asit
TEMED	: N,N,N',N'-Tetrametiletildiamin
U	: Unite
UPGMA	: Aritmetik ortalamalı ağırlıksız çift grup yöntemi
UP-PCR	: Evrensel primerli PCR
USA	: Amerika Birleşik Devletleri
USDA-ARS	: Amerika Birleşik Devletleri, Tarım Bölümü, Tarım Araştırma Servisi
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
VIB	: Flandra Biyoteknoloji Enstitüsü
α	: Alfa
γ	: Gama
ΔT	: Delta T
μ	: Mikro
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
18S SSU	: 18S küçük altbirim rRNA

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini olabileceğinden daha aza indirmek ve daha zararsız hale getirmek için başka organizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Mikrobiyal mücadele ise biyolojik mücadele etmenleri olarak bakteri, fungus, protozoa, virüs ve nematod gibi mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel., 1995; Demirbağ, 2008). Entomopatojenik funguslar pek çok zararlı böceğin doğal olarak kontrol altına alınmasında önemli bir etmen olup, bu organizmalar zararlı böcek popülasyonlarında sık sık geniş yayımlı epizootiklere neden olmaktadır. Pek çok entomopatojenik fungus direkt olarak böcek kütikulasından enfeksiyon yapmaktadır ve bu yüzden konak tarafından yenilmelerine gerek yoktur. Bu özellik entomopatojenik fungusları özellikle bitki özsuyla ile beslenen böceklerin mücadelesinde öncü aday konumuna getirmektedir. Günümüzde Dünya çapında entomopatojenik funguslardan oluşan pek çok ticari preparat bulunmaktadır ve bunlar çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005).

Ülkemizde birçok fındık, orman ve tarım zararlısı bulunmakta ve bunlarla mücadele çoğunlukla kimyasal ilaçlar kullanılarak yapılmaktadır. 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 ve Peter, 1984). Oysa, biyolojik mücadele kimyasal mücadelenin getirebileceği birçok problemi ortadan kaldırmaktadır. Gelişmiş ülkelerin hepsinde biyolojik mücadele ön planda tutulmakta ve bu konu üzerindeki çalışmalar daha ileriye götürülmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda geliştirilen biyolojik mücadele etmenleri birçok ülkede ticari olarak üretilmekte ve satışa sunulmaktadır. Bu amaçla, Dünya çapında biyolojik mücadele etmenlerini üreten ve pazarlayan birçok biyoteknolojik kuruluş mevcuttur.

Ülkemizde başta fındık olmak üzere zararlı böceklerle mücadele genellikle kimyasal ilaçların kullanımıyla yapılmaktadır (AliNiazee, 1998; Ecevit, 1988). Oysa, entomopatojenik funguslar Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel özelliklerinden dolayı,

başta fındık zararlıları olmak üzere diğer zararlı böceklerin mücadelesinde iyi bir potansiyele sahiptir. Entomopatojenik funguslar gelişebilmeleri için yüksek nem ve ortalama 25°C sıcaklığa ihtiyaç duymaktadır. Bu durum, Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel özellikleri ile uyumaktadır (Goettel vd., 2005; T.C. Tarım Bakanlığı, 2007). Entomopatojenik funguslar mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Genel olarak, birçok böcek takımı fungal hastalıklara karşı duyarlıdır ve entomopatojenik funguslar zararlı böceklere karşı mikrobiyal mücadele etmeni olarak iyi bir potansiyele sahiptir (Roberts, 1989). Şimdiye kadar, en azından 90 cinse ait 700 entomopatojenik fungus türü tanımlanmış ve bunlardan *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*) ve *Verticillium lecanii* gibi bazı türler ise birçok ülkede pek çok zararlıyla mücadelede ticari olarak üretilerek kullanılmaktadır (Rath, 2000). Örneğin, *B. bassiana* Brezilya'da muz kurduna (*Cosmopolites sordidus*), Çin'de çam tırtılına (*Dendrolimus* spp.), Avrupa'da ise afidlere ve mısır kurduna (*Ostrinia nubilalis*) karşı kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005).

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

Toprak, entomopatojenik funguslar için önemli bir rezerv olup, toprakta bulunan entomopatojenik funguslar biyolojik mücadele açısından büyük önem taşımaktadır. Hypocreales takımına ait *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Paecilomyces* spp. gibi pek çok entomopatojenik fungus, yaşam döngülerinin önemli bir kısmını toprakta geçirmektedir (Keller vd., 1989; Jackson vd., 2000). Tuzak böcekler kullanılarak yapılan pek çok çalışmada *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* ve *Tolyocladium* gibi entomopatojenik fungus cinslerine ait sporların toprakta bulunduğu belirlenmiştir (Klingen vd., 2002; Keller vd., 2003). Oysa, entomopatojenik fungusların çeşitli ekosistemlerdeki varlıkları ve dağılımları hakkında çok az bilgi mevcut olup, bunların böcek popülasyonlarının doğal düzenlemesindeki rolleri tam olarak anlaşılmamıştır (Chandler vd., 1997). Biyolojik mücadele açısından, entomopatojenik fungusların yerel tür çeşitliliği

ve dağılımının bilinmesi, entomopatojenik fungusların yerel popülasyonlarının bir ekosistemde böcek popülasyonlarıyla mücadeleyi sağlamak için kullanılması durumunda önem teşkil etmektedir (Meyling ve Eilenberg, 2006a). Bundan başka, yerel entomopatojenik fungusların izolasyonu doğal olarak meydana gelen fungal biyolojik çeşitliliği anlamada ve zararlı böceklerin mücadelesinde ekosistem içerisindeki potansiyel biyolojik mücadele etkenlerinin hangi yönde kullanılacağına dair (mevcut etkenin korunması veya uygulanması) bilgi sağlamaktadır. Şu anda, fungal biyolojik mücadele etmenleri yeterli nem ve uygun sıcaklığın olmayışı gibi çevresel yetersizliklerden dolayı tutarsızlıklar sergilemektedir (Jackson vd., 2000). Bununla birlikte, yerel izolatlar yabancı izolatlarla karşılaştırıldıklarında zararlı böcekler ile ekolojik uygunluğa sahip olabilmeleri bunların hedef dışı organizmalar üzerindeki olumsuz etkilerini önemli derecede azaltmaktadır (Gulsar vd., 2004; Takatsuka, 2007).

B. bassiana ve *M. anisopliae* doğal toprak florasının üyeleri olarak dünya çaplı bir dağılışa sahiptir (Zimmermann, 1992). Bu türler, birçok böcek türünü enfekte etmelerine rağmen, *B. bassiana* *M. anisopliae*'ye göre daha geniş konak aralığına sahiptir (Zimmermann, 2007a; Zimmermann, 2007b). Ilıman bölgelerde tarım ve orman arazilerinde biyolojik mücadele etmeni olarak *B. bassiana* ve *M. anisopliae*'nin geliştirilmesi üzerine çok çalışma mevcuttur. Buna rağmen, bu organizmaların karasal ekosistemlerdeki ekolojisini aydınlatmaya yönelik araştırmalar son derece kısıtlıdır. Yerel fungal popülasyonların ekolojisini anlamak için ekosistemin farklı bölgelerinden toplanan izolatlar üzerinde çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu izolatlar böcek popülasyonlarını, birbirleri ve çevre ile potansiyel olarak ilişkide bulunabilecek genotipleri temsil etmektedir. Farklı coğrafik bölgelerden toplanan *B. bassiana* popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği belirlemeye yönelik pek çok çalışma olmasına rağmen, *M. anisopliae* üzerine yalnızca bir kaç çalışma yapılmıştır (Meyling ve Eilenberg, 2007).

Şimdiye kadar PCR-Uzunluk polimorfizmi (PCR-LP), PCR-Restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP), PCR-Tek sarmal yapısal polimorfizm (PCR-SSCP), PCR-Denature gradyan jel elektforezi (PCR-DGGE), PCR-Isı gradientli jel elektforezi (PCR-TGGE), dizi analizi, rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), evrensel primerli PCR (UP-PCR), tekrarlı ekstrajenik palindromik element-PCR (Rep-PCR) ve çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) gibi teknikler entomopatojenik funguslar arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla uygulanmıştır. Bu teknikler arasından AFLP yüksek kalitede çözünürlüğünün olması ve tekrarlanabilirliğinin olması bakımından en çok tercih

edilen yöntemdir. Bu teknikle tür altı seviyede bile ayırım yapılabilir (Mueller ve Wolfenbarger, 1999; Enkerli ve Widmer, 2010).

Tüm Dünya’da çeşitli zararlı böceklerden entomopatojenik funguslar izole edilmesine ve bunlara karşı biyolojik mücadele etmeni olarak geliştirilmesine rağmen, ülkemizde bu tip çalışmalar son derece azdır. Özellikle Doğu Karadeniz Bölgesi’ndeki fındık ve orman zararlılarına karşı biyolojik mücadele etmeni tespit etmeye ve geliştirmeye ihtiyaç vardır. Bu nedenle, bu doktora çalışmasında fındık ve orman zararlılarına karşı biyolojik mücadele etmeni bulmaya yönelik bir sürvey çalışması yapılmıştır. Bu anlamda izole edilen türlerin saflaştırılması, tanımlanması ve mikrobiyal mücadelede kullanılma potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, bu bölgeden izole edilen *B. bassiana* ve *M. anisopliae* popülasyonları içerisindeki ekolojik bazı ayrımları belirlemek açısından, bu türler içerisindeki genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu tezde elde edilen veriler çeşitli fındık ve orman zararlılarına karşı biyolojik mücadele etmeni olarak geliştirmede ileride yapılacak olan çalışmalar için öncü niteliğinde olacaktır.

1.2. Fındık Üretimi ve Ormanlarımız

1.2.1. Ülkemizde Fındık Tarımı ve Ülke Ekonomisindeki Yeri

Coğrafik olarak fındık tarımı ülkemizde Karadeniz Bölgesi’nde yoğunlaşmış olup, fındık ağaçları dağ eteklerinde ve yamaçlarda yaygınlık göstermektedir. Son yıllarda ise Samsun, Sakarya ve Bolu’da verimli ve düz arazilerde de yetiştirilmeye başlanmıştır (Tuncer vd., 2001). Ülke çapında ise fındık tarımı daha çok Doğu Karadeniz Bölgesi’nde yoğunlaşmış olup, bu bölgedeki pek çok insanın geçim kaynağını oluşturmaktadır (Özman-Sullivan, 2006).

Türkiye, dünya fındık üretiminde önemli bir paya sahiptir ve % 67,68’lik bir oranla birinci sırada yer almaktadır (Özman-Sullivan, 2006). Toplam olarak ortalama 650 bin hektarlık üretim alanına sahiptir (Kibar Ak vd., 2005). Türkiye’de meyve yetiştiriciliği yapılan toplam alanın % 22’sini de fındık bahçeleri oluşturmaktadır (Özman-Sullivan, 2006). Tablo 1’de Dünya’da fındık üreten ülkeler ve bu ülkeler arasında ülkemizin durumu görülmektedir (T.C. Tarım Bakanlığı, 2007).

Tablo 1. Fındık üreticisi ülkelerin üretim alanları, üretim miktarları ve verim durumları

Ülke	Alan (Hektar)	Oran (%)	Üretim (Ton)	Oran (%)	Verim (Kg/Dekar)
Türkiye	415,358	79,16	286,250	67,68	68,91
İtalya	62,347	11,88	105,920	24,04	169,88
İspanya	34,000	6,47	17,750	4,20	52,20
Amerika	13,000	2,47	13,020	3,08	100,15
Toplam	524,705		422,020		

1.2.2. Fındık Zararlıları ve Ekonomik Önemi

Zararlı böcekler, bütün dünyada fındık üretimini tehdit eden unsurların başında gelmektedir. Zararlı türler ve zarar oranları bölgelere ve yıllara bağlı olarak değişim göstermekle birlikte genel olarak yaklaşık % 20 oranında ürün kaybına neden oldukları kabul edilmektedir. Bu zararlılarla mücadele için her yıl milyonlarca lira harcanmaktadır (URL-1, 2009).

Fındık bahçelerinde bulunan zararlı böceklerin bir kısmı fındık üretiminde ciddi boyutlarda zararlara sebep olurken, bir kısmı ise nadir olarak bulunur ve düşük düzeyde kayıplara yol açar. Zarar derecesine göre, ülkemizde önemli sayılacak fındık zararlıları *Curculio nucum* (Fındık kurdu), *Gypsonema dealbana* (Fındık filiz güvesi), *Palomena prasina* (Fındık yeşil kokarcası), *Xyloborus dispar* (Dalkıran), *Obera linearis* (Uç kurutan), *Phytocoptella avellenae* ve *Cecidophyopsis vermiformis* (Kozalak akarları), *Parthenolecanium corni* (Fındık koşnili), *Parthenolecanium rufulum* (Fındık kahverengi koşnili), *Lepidosaphes ulmi* (Fındık virgül biti), *Melolontha melolontha* (Mayıs böceği), *Anoplus roboris* (Fındık yaprak deleni), *Myzocallis coryli* (Fındık yaprak biti), *Hyphantria cunea* (Amerikan beyaz kelebeği), *Lymantria dispar* (Kır tırtılı), *Mikomyia coryli* (Fındık gal sineği) ve *Agalastica alni* (Kızılağaç böceği) olarak sayılabilir (Tuncer ve Ecevit 1997; AliNiazee, 1998).

Fındık zararlılarıyla mücadele genel olarak kimyasal insektisidler ile yapılmaktadır ve bu insektisidler yalnızca zararlı böceklere değil, aynı zamanda zararsız, hatta faydalı böceklere ve diğer organizmalara da zarar vermektedir (Sezen, 2004; T.C Tarım Bakanlığı, 1992).

Ülkemizde fındık zararlılarına karşı kullanılan kimyasal ilaçlar diazinon, azinphos metil, malathion, triflumuran, omethoate, carbaryl, endosülfan, metiocarb, promecarb, chlorpyrifos, dioxacarb ve carbosülfandır (Sezen, 2004; T.C Tarım Bakanlığı, 1992).

1.2.3. Doğu Karadeniz Bölgesi Ormanları ve Zararlı Böcekler

Bilindiği gibi ormanlar, insanlar ve diğer tüm canlılar için yaşamsal öneme sahiptir. Orman, orman içi mera ve su ekosistemlerinin, odun ve odun dışı ürün ve hizmetler olarak, ölçülen ve ölçülemeyen sayısız fayda ve fonksiyonlara sahiptir. Ekosistem, bitki, toprak ve su kaynakları dengesinin, kırsal alandaki sosyal istikrarın, barajların uzun ömürlü olmasının ve gıda güvenliğinin temel sigortasıdır. Ormancılık faaliyetlerinin son derece önemli dışsal ekonomileri ve ileri bağlantıları vardır (Konukçu, 2001). Bu nedenle, her şeyden önce ormanlarımızın korunması gerekmektedir. Ormanlarımızın sağlığını etkileyen çeşitli faktörler arasında böceklerin en başta geldiği kabul edilmektedir. Zararlı böceklerin ormanlarda yol açmış olduğu tahribat, birden bire ortaya çıkmadığı için kamuoyunda orman yangınları kadar göze çarpmamakta ve önemsenmemektedir. Bu zararlı böceklerin tahribatı, ancak bu zararlıların salgın halinde ortaya çıkmasıyla anlaşılmaktadır. Literatür bilgileri dünya ormanlarına sadece böceklerin yaptığı zarar tutarının, orman yangınlarının yol açtığı zararın en az 5 katı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, zararlı böceklerin ormanlarda meydana getirdiği tahribat dumansız orman yangını olarak ifade edilir.

Ülkemiz ormanlık alanları yaklaşık 21.188.747 hektar kadardır. Bu değer bütün ülke yüzölçümünün % 27,2'sini oluşturmaktadır. Orman alanlarımızın % 42'i normal koru, % 31'si bozuk koru, % 8'i normal baltalık, % 19'u bozuk baltalık fundalık karışımıdır. Ülkemizdeki ormanlık alanları coğrafi bölgelerimize göre Karadeniz Bölgesi ormanları, Batı Anadolu Marmara ve Ege Bölgesi ormanları, Akdeniz Bölgesi ormanları, İç ve Doğu Anadolu Bölgesi ormanları olmak üzere dört grup halinde toplanabilir. Türkiye genelinde Karadeniz ormanları % 24'lik bir değer gösterir ki bu da bütün orman alanlarımızın dörtte birini teşkil etmektedir (Anonim, 2005; T.C Çevre ve Orman Bakanlığı, 2006).

Ülkemiz ormanlarında 50'den fazla zararlı böcek türü yaşamakta ve bunlar çeşitli ölçülerde ve yoğunlukta tahribatlar yapmaktadır. Bu böceklerden en zararlıları kambiyum ve ona yakın dokularda yaşayan kabuk böcekleri (Coleoptera, Scolytidae)'dir (Eroğlu, 1995). Öncelikle zayıf ve yaralı ağaçlara gelerek çoğalan böcekler, diğer sağlıklı ağaçlara da bulaşmakta, kabuktan başlayarak ağacın kabukla odun arasındaki su ve besin iletim demetlerine zarar vererek, böceğin türüne göre değişen zaman süreçlerinde ağaçlarda kurumalara neden olmaktadır (URL-4, 2006).

Doğu Karadeniz ormanlarında zarar yapan kabuk böcekleri *Dendroctonus micans* (Ladin dev kabuk böceği), *Ips sexdentatus* (On iki dişli kabuk böceği) ve *Ips typographus*

(Sekiz dişli kabuk böceği) adındaki böceklerdir. Bugün itibariyle ormanlara zarar veren ve kamuoyunun gündemini işgal eden en önemli zararlı ise *Dendroctonus micans* (dev soymuk böceği)'dir.

D. micans ülkemizde ilk defa 1966 yılında, Ardahan Orman İşletmesi Posof Ormanlarında görülmüştür (Atacay, 1968). Bugün itibariyle bu zararlı Artvin Orman Bölge Müdürlüğünde 170.000 hektarlık, Giresun Orman Bölge Müdürlüğün'de 70.000 hektarlık ve Trabzon Orman Bölge Müdürlüğünde de 43.473 hektarlık ladin ormanına bulaşmıştır. Bu zararlının Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü dahili 194.228 hektar olan Ladin ormanlarının % 22' sine yayılması ve faaliyeti sonucu 1994-2005 yılları arasında meydana getirdiği kuruma zararı 7.537 adet ağaca denk 34.235 m³'tür (URL-4, 2006).

1.3. Mücadelesi Hedeflenen Fındık ve Orman Zararlısı Böcekler

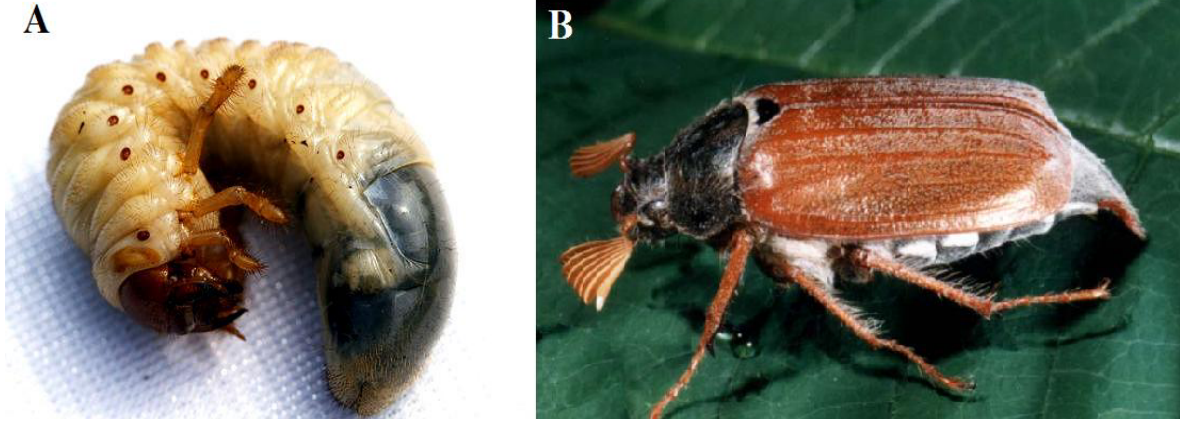
1.3.1. Adi Mayıs Böceği, *Melolontha melolontha* (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae)

Erginler 2,5-3 cm boyunda genellikle kızıl kahverengi görünüştedir. Elitra üzerinde birbirine paralel uzayıp sonunda birleşen çizgi çıkıntılar vardır. Elitra abdomeni tamamen örtmez. Dişilerin anteni küçük, erkeklerin ise büyük ve yelpaze şeklindedir. Yumurta oval, krem rengi ve 2 mm boyundadır. Larvalar karakteristik olarak karın etrafında kıvrık, tombul ve beyazdır. Üç çift bacağı vardır. Vücudun son halkası çok büyümüş ve şişkin bir hal almıştır. Larvanın boyu 4-4,5 cm kadar olur ve halk arasında kadı lokması veya manas diye tanınır (URL-5, 2009) (Şekil 1).

İlkbaharda havaların ısınması ile birlikte genellikle Nisan ve Mayıs aylarında erginlerin önce erkekleri sonra dişileri topraktan çıkar. Güneş battıktan sonra uçarak ağaçlar üzerine konar, yaprak ve çiçeklerle beslenir. Dişiler çiftleştikten sonra yumurtalarını özellikle 2-3 yıl işlenmemiş ve üzeri hafif otlarla kaplı bahçelerde toprağın 15-25 cm derinine 25-30' luk gruplar halinde bırakır. Bir dişi ortalama 60 yumurta bırakır. Çıkan larvalar toplu yaşayıp, ot köklerini kemirirler. Sonbaharda kışı geçirmek için toprağın derinliklerine inerler. Yaşam çemberini 3 yılda tamamlarlar (URL-5, 2009).

Erginler yaprak ve çiçek üzerinde beslenerek zarar yapar. Yoğun olarak buldukları zaman meyve ve orman ağaçları yapraksız kalabilir. Asıl zararı larvalar oluşturur. Larvalar çeşitli orman, süs ve fındık ağaçlarının 1 cm çapına kadar olan köklerini kolayca koparır

ağaçlarda ve fındık ocaklarında kurumalara daha sonrada ana dalların kurumasına neden olur (URL-5, 2009).



Şekil 1. *Melolontha melolontha* (Adi mayıs böceği). A: Larva, B: Ergin

1.3.2. Dev Soymuk Böceği, *Dendroctonus micans* (K.) (Coleoptera: Scolytidae)

Kabuk böceklerinin en irisi olan *D. micans* 5,5-9,0 mm büyüklüktedir. Erginleri silindir şeklinde, koyu kahverengi veya siyahımsıdır. Genç erginlerin üzerinde grimsi sarı renkte uzun seyrek kıllar vardır (Şekil 2). Türkiye'deki varlığı 1966 yılında Posof Ormanlarında görülmesiyle anlaşıldı, sonra 1971 yılında Şavşat Ormanlarında tespit edildi. Zaman içinde Artvin'de 170.000, Giresun'da 70.000 ve Trabzon'da 43.473 hektarlık ladin ormanına yayıldığı belirlendi. *Picea*, *Abies*, *Pinus* cinslerine ait çeşitli türlerde de zarar yaptığı tespit edilen *D. micans*, ülkemizde Doğu Ladini (*Picea orientalis*)'ni tercih etmektedir. Bulaşıklı olduğu alanlardaki 10 cm çaptaki ağaçlar hariç olmak üzere ladinlerin ortalama %35'ine bulaşmış olup, bulaştığı ağaçların soymuk tabakalarını yiyerek kabuğu öldürmekte; kabuğu ölen ağaçlar zarar derecesine göre ya ölmekte veya diğer kabuk böcekleri için tuzak ağacı konumuna gelmektedirler (Eroğlu, 1995). Ayrıca, *D. micans*, çeşitli bitki patojenlerinin orman içerisinde ağaçtan ağaca taşınmasında da önemli bir role sahiptir (Yılmaz, 2004). Bu durum da ladin ormanlarında önemli bir sorundur ve ağaçların bitki patojenleri tarafından enfekte edilmesine neden olmaktadır.

D. micans, diğer kabuk böceği türlerinin çoğundan farklı bir hayat döngüsüne sahiptir. Çiftleşme, ergin böcekler kabuktan çıkmadan önce kabuk altında gerçekleşir.

Zararlı, larval dönemin hemen hemen tamamını kabuk altındaki kuluçka alanlarında toplu halde geçirirler (Grégoire, 1983). Yılın herhangi bir zamanında, üreme döngüsünün tüm basamakları eş zamanlı olarak, aynı anda ve aynı yerde görülebilir (Lempérière, 1994). Yaşam döngüsünün süresi 1 ile 3 yıl arasında değişmektedir. Bu, yumurtaların konulduğu zamana ve sıcaklığa bağlıdır (King ve Fielding, 1989; Lempérière, 1994).



Şekil 2. *Dendroctonus micans* (Dev soymuk böceği). A: Larva, B: Ergin

1.4. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri

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

Doğal mücadele: İnsanın herhangi bir yardımı olmadan doğal kuvvetlerle böcek popülasyonlarının kontrol altında tutulmasıdır. Çevre direncinin bir sonucu olarak böceklerin önemli bir kısmı ya çoğalmadan ya da çoğaldıktan sonra ölürlür.

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

Mekanik mücadele: Böcekleri çeşitli yöntemlerle toplamak, pusuya düşürmek, yem tuzakları kurmak, feromonlar kullanmak, tuzak odunları hazırlamak veya gıda değişimi yapmak sureti ile yapılan mücadele şeklidir.

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

Kültürel mücadele: Toprak bakımı, işlenmesi ve gübrenmesi, yabancı ot ve atıkların temizlenmesi ve bitki nöbetleşmesi gibi toprakla ilgili yapılması gereken işleri kapsar.

Kimyasal mücadele: Çeşitli kimyasal maddelerin toz veya sulu halde kullanılması sureti ile yapılan mücadeledir. Ülkemizde çok yaygın olmasına rağmen, çevreye verdiği olumsuz etkilerden dolayı günümüzde, gelişmiş ülkelerde yavaş yavaş bu yöntemden vazgeçilmektedir. Bu mücadele ülkemiz fındık bahçelerinde en çok kullanılan mücadele yöntemidir. Bu mücadele uygulanırken, birçok yan etkileri ortaya çıkmaktadır ve bu yüzden birçok canlı grubu zarar görmektedir.

Biyolojik mücadele: Zararlı böcek popülasyonlarının dolayısıyla böceklerin zararını azaltmak için canlı organizmalardan (mikroorganizmalar, predatörler, parazitoid böcekler, omurgasızlar, omurgalılar, feromonlar, böcek büyüme düzenleyicileri, bitkisel maddeler ve genetik kontroller) faydalanılarak yapılan ekonomik, güvenilir ve başarılı bir mücadele yöntemidir (Demirbağ, 2008).

1.4.1. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini olabileceğinden daha aza indirmek ve daha zararsız hale getirmek için canlı organizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd, 2001). Biyolojik mücadelede ilk kayıtlar, M.S. 900-1200 yılları arasında rapor edilmiştir (Liu, 1939). Geçmiş çok eskilere dayanan biyolojik mücadele de ilk olarak amfibiler, kuşlar ve memeliler kullanılmıştır (Sezen, 2004; Oğurlu, 2000).

Biyolojik mücadelede kullanılan organizmalar büyük bir çeşitlilik göstermektedir. Bunlar, akarlar, örümcekler, diğer çeşitli avcı ve parazitoid böcek türleri, kuşlar, memeliler, kertenkeleler, amfibiler, sürüngenler, balıklar ve patojen organizmalardır (URL-2, 2009).

Mikrobiyal mücadele ise biyolojik mücadele de zararlı böceklere karşı etmen olarak nematod, fungus, virus, bakteri ve protozoa gibi mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel, 1995). Günümüzde bu gruplara dahil birçok

mikroorganizmanın kitle üretimi yapılmakta ve çeşitli zararlılara karşı kullanılmaktadır. Özellikle son zamanlarda entomopatojenik funguslar üzerine yapılan araştırmalar artmakta ve çeşitli biyopreparatlar için ruhsatlar alınmaktadır.

1.4.1.1. Entomopatojenik Funguslar (EPF)

Entomopatojenik funguslar böcek popülasyonlarının düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Beş farklı sınıf içerisinde farklı bir diziliş göstermekte olan entomopatojenik funguslar spesifik böcek türlerini enfekte eden zorunlu patojenler, pek çok böcek türünü enfekte edebilen genel patojenler ve fakültatif patojenler olarak gruplandırılabilir. Fungal epizootikler bazı böcek türlerinde yaygın olmasına rağmen, bazı böcek türlerinde ise nadir görülür (Goettel vd., 2005). Entomopatojenik fungusların mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmakta olduğu bilinmektedir (Hall vd., 1982). Şimdiye kadar tanımlanan 700'ün üzerinde entomopatojenik fungus bilinmekte ve bunlardan bazıları biyolojik mücadele etmeni olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır (Strasser vd., 2000).

1.4.1.1.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması

Fungi alemi içerisinde 700'den fazla entomopatojenik fungus yer almaktadır. Bunlardan pekçoğu Ascomycota ve Zygomycota bölümleri içerisinde bulunmaktadır. Ascomycota içerisinde ise pek çok tür Hypocreales, Zygomycota ve Entomophthoralean takımları içerisinde yer almaktadır (Roy vd., 2006). Entomopatojenik fungusların sistematik pozisyonlarına dayanarak ortaya çıkarılan gruplandırmada entomopatojenik veya entomoparazitik funguslar Blastocladiomycota (*Coelomyces* spp, *Coelomycidium simulii*), Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina (Harpellales ve Asellariales), Eurotiomycetes (Ascosphaera ve diğer cinsler), Laboulbeniomycetes (ektoparazitik ascomycetes), Dothideomycetes (Myriangium), Sordariomycetes (çoğunlukal Hypocreales içerisinde) ve Pucciniomycetes (*Septobasidium* ve akrabaları) grupları içerisinde yer aldığını söylemek mümkündür (Humber, 2008). Bazı önemli entomopatojenik fungusların detaylı sınıflandırılması Tablo 2'de verilmiştir (Humber, 2008; Roy vd., 2006; URL-3, 2009).

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

Filum	Chytridiomycota	Eski adı: Zygomycota	Bazal Funguslar
Filum	Neocallimastigomycota		
Filum	Blastocladiomycota		
Filum	Microsporidia		
Filum	Glomeromycetes		
Alt filum	Mucormycotina (filum atanmadı)		
Alt filum	Kickxellomycotina (filum atanmadı)		
	Orders Harpellales, Asellariales		
Alt filum	Zoopagomycotina (filum atanmadı)		
Alt filum	Entomophthoromycotina (filum atanmadı)		
Takım	Entomophthoralean		
Familya	Entomophoraceae		
Cins	<i>Entomophaga</i>		
	<i>Entomophthora</i>		
	<i>Erynia</i>		
	<i>Eryniopsis</i>		
	<i>Furia</i>		
	<i>Massospora</i>		
	<i>Strongwellsea</i>		
	<i>Pandora</i>		
	<i>Tarichium</i>		
Familya	Neozygitaceae		
Cins	<i>Neozygites</i>		
	<i>Zoophthora</i>		
Alt alem	Dikarya		
Filum	Ascomycota		
Alt filum	Pezizomycotina		
Sınıf	Eurotiomycetes		
Sınıf	Dothideomycetes		
Sınıf	Laboulbeniomycetes		
Sınıf	Lecanoromycetes (likenler)		
Sınıf	Orbiliomycetes		
Sınıf	Sordariomycetes		
Takım	Hypocreales		
Familya	Clavicipitaceae		
Cins			
Telemorf	<i>Hypocrella</i>		
	<i>Metacordyceps</i>		
	<i>Regiocrella</i>		
	<i>Torrubiella</i>		
Anamorf	<i>Aschersonia</i>		
	<i>Metarhizium</i>		
	<i>Nomuraea</i>		
	<i>Paecilomyces-gibil</i>		
	<i>Pochonia</i>		
	<i>Rotiferophthora</i>		

Tablo 2'nin devamı

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

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

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

1.4.1.1.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılmasında Kullanılan Özellikler

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

Morfolojik özellikler: Entomopatojenik fungusların sınıflandırılmasında birçok farklı morfolojik özellikler kullanılmaktadır. Bunlar sırası ile; böcekte meydana gelen enfeksiyon şekli, katı besiyerindeki koloni morfolojisi ve rengi, sporların şekli ve boyutları, hiflerin yapısı, havai ve septalı olup olmadığı, synnema yapısı, sporların tek tek veya zincir şeklinde olup olmaması, sporokarp (fruiting body) yapısı, konidiyogenez hücrelerinin yapısı ve şekli, stroma yapısı, konidiyoforların yapısı, dinlenme yapılarının (resting spores) şekli ve büyüklüğü, sporangiyum yapısı ve şekli, fungusun hymenia oluşturup oluşturumaması, zoospor yapısı ve diğer bazı özellikler entomopatojenik fungusların morfolojik tür tayininde kullanılmaktadır (Humber, 1997).

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

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

Biyolojik mücadele etmenlerinin geliştirilmesinde ilk adım olan tür tayini basamağı güvenilir tanımlama metotları gerektirmektedir. Araştırmacılar entomopatojenik funguslar için daha çok makro ve mikro düzeyde morfolojik karakterleri kullanmaktadır. Özellikle *Beauveria* ve *Metarhizium* türlerinin ayırımında spor şekli ve ölçüsü kullanılmaktadır. Oysa son araştırmalar her iki cinsin kriptik türler ihtiva ettiğini ve bunların morfolojik olarak ayırlamadığını göstermiştir (Meyling, 2008; Rehner ve Buckley, 2005; Bischoff vd., 2009).

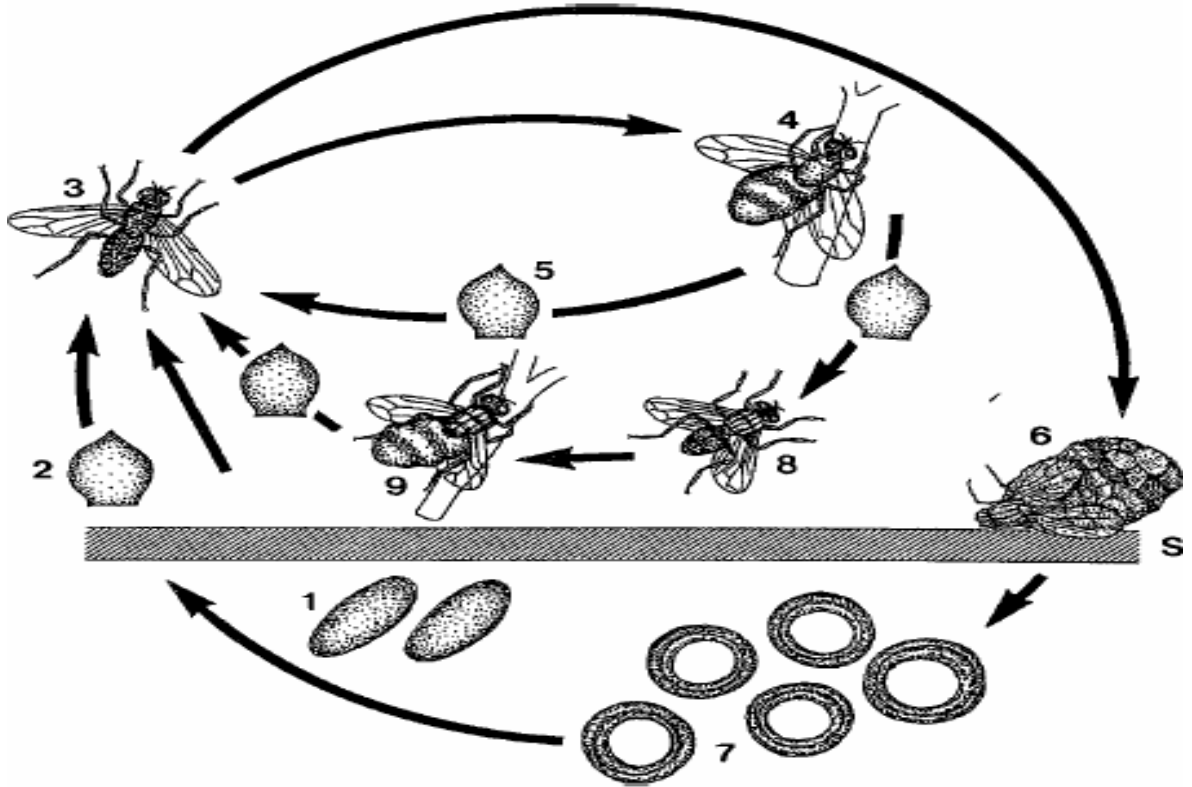
DNA'da yer alan spesifik bölgelerin dizin analizinin yapılması pekçok organizma için filogenetik çalışmalarda kullanılmaktadır. Entomopatojenik funguslar için, son zamanlarda ITS gen bölgesi tür tayinlerinin yapılmasında ve hatta tür içi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Driver vd., 2000; Muro vd., 2003; Meyling,

2008). Aynı şekilde EF1- α ve 18S gen bölgelerinde tür içi korunmuş olduklarından ve tür içinde yüksek oranda çeşitlilik sağladıklarından dolayı entomopatojenik fungusların sınıflandırılmalarında ve tür tayinlerinde kullanılmaktadır (Rehner ve Buckley, 2005; Rehner vd., 2006; Pantou vd., 2003).

1.4.1.1.2. Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri

Entomopatojenik fungusların yaşam döngüleri çoğunlukla konaklarının gelişme safhaları ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir (Shah ve Pell, 2003). Fakat, pek çok entomopatojenik fungus, hayat döngülerinde birçok benzerliğe sahiptir (Roy vd., 2006). Bakteri ve virüslerden farklı olarak, funguslar konaklarını yalnızca bağırsaktan değil, aynı zamanda böceklerin solunum deliklerinden ve integumentin yüzeyinden de enfekte edebilir. Bu özellik entomopatojenik fungusları böceklerin beslenme aktivitelerinden bağımsız olarak doğrudan enfekte edebileceği gerçeğini doğurmaktadır (Ferron, 1978). Bu durum bitkilerin özsuvarısı (başta afidler) veya hayvan kanı ile beslenen böceklerin mikrobiyal mücadelesinde entomopatojenik funguslara önemli avantajlar sağlamaktadır (Lacey ve Goettel, 1995). Entomopatojenik fungusların yaşam döngülerinde ilk olarak fungus enfektif bir spor üretir ve bu spor konağın kütikulasına tutunarak penetre olur. Penetrasyondan sonra spor çimlenerek germ tüpünü oluşturur ve bunu takiben appressorium oluşumu meydana gelir. Bu penetrasyon işlemi sıklıkla integumentin enfeksiyon bölgelerinde melanizasyon reaksiyonuna yol açmaktadır (Ferron, 1978). Melanizasyon sıklıkla geç olur veya yeterli büyüklükte olur. Bu da patojenin yavaş büyümesini veya gücünü durdurmasına yardımcı olur (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, fungus konağın hemoseline ulaşarak konağı istila eder ve konağı toksin üretimi veya çoğalma gibi nedenlerle öldürür. Uygun koşullar altında böceğin ölümünden sonra, fungus konaktan dışarı doğru sporlaşmaya başlar ve bu sporlaşma ya da konidiyogenezis kadavranın dış yüzeyinde meydana gelir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Alternatif olarak, fungus primer konağın olmadığı zamanlarda taksonomik olarak birinci derecede ilişkili bir başka konağı enfekte edebilir. Benzer olarak, alternatif konağın enfeksiyonundan sonra konak ölür ve üretilen sporlar primer ilişkili diğer bireyleri enfekte edebilir. Bunun haricinde, enfeksiyon için uygun olmayan çevresel koşullarda, fungus, bu koşullara dayanıklı dinlenme yapılarını (resting spores) oluşturur. Bu yapı çevrede konak olmadığı zaman uzun bir süre varlığını sürdürebilmektedir. Dinlenme yapılarının kendisi

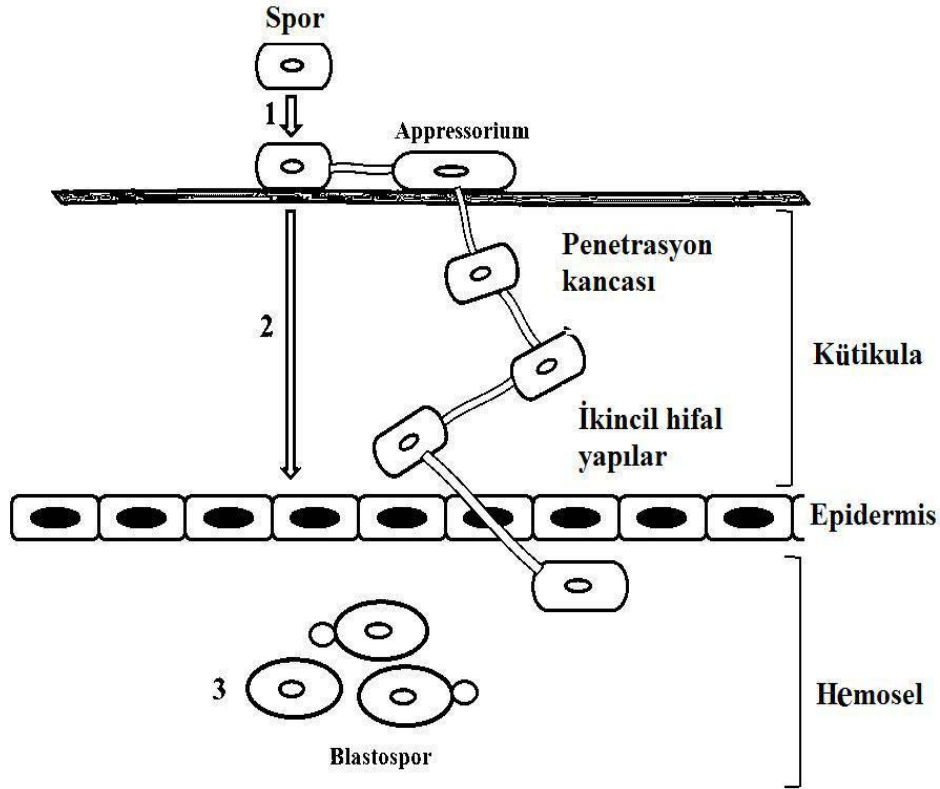
enfektif özelliğe sahip değildir. Fakat, yeniden enfektif spor oluşturabilir. Sporlaşmadan sonra çevreye yayılan sporlar başka konakları enfekte eder. Normal olarak bu yaşam döngüsünün pek çok istisnaları bulunmaktadır. Fakat, önemli olan çevresel faktörlerin fungusun üremesi ve hayatta kalması için son derece önemli olmasıdır. (Goettel vd., 2005). Entomopatojenik fungusların genel hayat döngüsü Şekil 3’de gösterilmektedir.



Şekil 3. *Entomophthore muscae*'nin *Delia radicum* konağındaki yaşam döngüsü. S: Toprak yüzeyi. 1. Konağın kışı geçirme safhası (topraktaki pupa). 2. Enfektif özelliğe sahip eşeysiz konidi fungusun kışın hayatta kalan yapıları tarafından üretilir ve konağın hassas safhasını enfekte etmeye hazırdır. 3. Ergin sinekler (burada konağın hassas safhası) pupadan çıkar ve enfekte olur. 4. İnkübasyon periyodunun ardından konak ölür. *E. muscae*'den ölmüş konak, ağaca yapışır ve konidiler ölmüş konakta üretilir. 5. Bu konidiler yeni hassas konakları enfekte edebilir. 6. Hassas konağın sayısı azaldığı zaman (örnek olarak sonbahar sırasında), bazı enfekte bireyler konağın ölümüne kadar enfektif konidi üretmez. Bunun yerine kışın uzun süre hayatta kalabilecek fungal yapılar üretilir. Bu durumda sinekler toprak yüzeyine düşer ve kalın duvarlı dinlenme sporlar oluşturulur (eşeyli veya eşeysiz). 7. Dinlenme yapıları kışı toprakta geçirir ve gelecek yıl enfektif konidi üretir. 8. Alternatif olarak, fungus taksonomik olarak primer konak ile ilişkili bir başka konağı enfekte edebilir. Bu durumda bir başka sinek enfekte olur. 9. Enfeksiyondan sonra alternatif konak ölür ve bu konakta üretilen konidiler primer konağı yeniden enfekte edebilir (Roy vd., 2006).

1.4.1.1.3. Fungal Enfeksiyon

Entomopatojenik funguslar diğerk böcek patojenlerinden farklı olarak konağın integümentinden enfeksiyon yapabilirler. Bu nedenle, konak tarafından yenilme gerekli değildir ve enfeksiyon çiğneme yapan böcekler ile sınırlı kalmaz (Fuxa, 1987). Genellikle eşeysiz olarak üreyen sporlar enfeksiyondan sorumludur ve enfeksiyondaki başlangıç aşaması pasif veya spesifik olmayan tutunmadır (Castrillo vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu adım böceğin kütikulasına temas için birçok farklı yol içermektedir. Örneğin, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Nomurae rileyi* durumunda, tutunma işlemi sporlarda yer alan iyi organize olmuş fasikül rodletler ve böcek kütikulası arasındaki hidrofobik ilişkinin sonucu olarak meydana gelir. Sucul ortamlarda yaşayan entomopatojenik funguslarda ise tutunma işlemi zoosporların kese oluşturması ile takip edilir (Castrillo vd., 2005). Tutunma işlemini takiben, sporlar konağın çeşitli bariyerlerinin üstesinden gelmek için fungusa yardımcı olan appressorium yapısını oluşturmak için çimlenmeye başlar (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, çemlenmiş spor kütikulanın içerisine penetre olur. Penetrasyon safhasında, proteaz, kitinaz ve lipaz gibi kütikulayı parçalayan bazı enzimler konağa girişte önemli rol oynamaktadır (Clarkson ve Chamley, 1996). Penetrasyonu takiben, hemoselin içerisindeki filamentöz fungus yapıları maya benzeri hifal yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar. Bu yapılar hemolenf içerisinde dolaşırlar ve tomurcuklanma ile çoğalırlar. Daha sonra tekrar filamentöz yapılara geçiş yapılarak fungus iç dokuları ve organları istila eder ve sonunda böcek ölür (Castrillo vd., 2005). Son olarak, fungus ölmüş böcek üzerinde sporlaşır ve yeni oluşmuş sporlar başka bir konağı enfekte edebilir. Uygun koşullar altında, bu durum aynı şekilde devam eder. Fungal enfeksiyon işleminin ayrıntılı şeması Şekil 4’de verilmiştir.



Şekil 4. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamaklarının gösterimi. 1. Böcek kütikulası ve spor arasındaki fiziksel temastan sonra fungusun konağı tanıması spor çimlenmesini ve appressorium oluşumunu başlatır. 2. Penetrasyon kancası ve çeşitli hifal yapılar kütikulayı ve epidermisi geçer. 3. Fungusun hemosele girmesinden sonra blastospor oluşumu başlar ve fungus konağı istila eder

1.4.1.1.4. Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri

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

Tablo 3. Entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler

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

Beauveria spp. beauverisin, bassianin, bassianolide, oosporin, destruksin B gibi *in vivo* ve *in vitro* ortamda pek çok toksik bileşik üretmektedir (Zimmermann 2007a). Ayrıca, destruksinler (28 tip), sitokalsin C ve hidroksifungerin A ve B gibi metabolitler ise *Metarhizium* spp. tarafından üretilmektedir. Şimdiye kadar entomopatojenik fungusların hastalık sırasında herhangi bir toksini üretilip üretmedikleri veya virülans için toksin gerekip gerekmediği belirlenmemiştir. Quesada-Moraga ve Vey (2003) *B. bassiana*'nın çekirgelere karşı patojenik olması için toksin üretimine gerek duymadığını belirtmiştir. Bazı durumlarda, toksin üretiminden şüphelenilmesine rağmen, kesin olarak belirtilmemektedir. *Coelomycidium*, *Coelomyces* cins ve Entomophthoralean ordosuna ait bir kısım funguslar bazı çok zayıf toksinlere sahip olabilir. Fakat, büyük ihtimalle, bu funguslar konaklarını hayati dokuları istila ederek öldürürler (Goettel vd., 2005). İlave olarak, fungal enfeksiyon konak hareketlerinde ateş artması, yüksek yerlere çıkma, aktivitede artış veya azalma, semikimyasallara karşı azalmış cevap ve üreme davranışlarında değişme gibi değişiklikler meydana getirebilir (Roy vd., 2006).

1.4.1.1.5. Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği

Entomopatojenik fungusların özgüllüğü cinsler arasında, bir cins içerisinde ve hatta bir türün suşları arasında bile farklılık gösterebilmektedir (Goettel vd., 2005). Özellikle, Entomophthorales ordosuna dahil fungusların, dar konak aralığına sahip oldukları bilinir (*Zoophthora radicans* istisnadır) ve bunlar, genelde yaprakla beslenen böcekler ve akarlarda göze çarpan epizootiklerle ilişkilidir. Bunun tersine Hyphomycetes funguslar (son sınıflandırmaya göre şu anda Sordariomycetes olarak biliniyor) daha geniş bir konak aralığına sahiptir (*Verticillium lecanii* ve *Hirsutella thompsonii* istisnaları ile birlikte) ve

genelde topraktaki böcek popülasyonlarında epizootik yaparlar (Pell vd., 2001). Her iki grubun da istisnaları bulunmaktadır. Örneğin, Sordariomycetes sınıfına ait iki tane iyi bilinen fungus türü olan *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* geniş konak aralığına sahiptir. Şimdiye kadar *B. bassiana*'nın 707 adet konağa sahip olduğu bildirilmiştir (Zimmermann, 2007a). Bu sayı 521 cins, 149 familya ve 15 ordoyu kapsamaktadır. *B. bassiana* Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Diptera, Hemiptera, Orthoptera, Siphonaptera, Isoptera, Thysanoptera, Mantodea, Neuroptera, Dermaptera, Blattariae, Embioptera takımlarında patojen olarak etki gösterir (Zimmermann, 2007a). *M. anisopliae*'nin konak aralığı *B. bassiana*'dan daha sınırlı olmasına rağmen, bu türün de Symphyla, Orthoptera, Dermaptera, Isoptera, Homoptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Siphonaptera, Lepidoptera, Malacostrata (Amphipoda), Acari, Ephemeroptera, Dermaptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera ve Lepidoptera ordolarına ait böcekleri enfekte ettiği bildirilmiştir (Zimmermann, 2007b). Bu iki tür birçok böcek türünü enfekte etmelerine rağmen, izolatların alan uygulamalarında laboratuvar koşulları ile karşılaştırıldığında daha spesifik olabildikleri görülmektedir. Bu da patojene karşı duyarlılıktan daha çok diğer faktörlerin doğadaki hastalık oluşmasında önemli olduğunu göstermektedir. Bazı durumlarda, fungus sadece zayıflamış ve strese girmiş böcekleri öldürebilir (Goettel vd., 2005).

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

1.4.1.1.6. Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı

Bir patojenin enfektif yapılarının dağılması hastalığın gelişmesinde oldukça önemlidir. Hypocreales ordosuna ait entomopatojenik fungusların enfektif yapıları kadavradan pasif olarak dağılmaktadır. Bu pasif yayılım rüzgar ve yağmur gibi etkenlerle meydana gelmektedir (Meyling ve Eilenberg, 2007). Entomophthoralean fungusların sporları ise hidrostatik basınç altında aktif olarak salınmaktadır. Salınımdan sonra sporların yayılımı rüzgar veya yeni bir enfeksiyon ile devam etmektedir (Shah ve Pell, 2003). Toprak ortamında ise entomopatojenik fungusların aşırı bir şekilde çoğalması ve yayılımı

sınırlıdır. Popülasyonun oluşumu, kadavradan yayılan enfektif sporlar, içerisinde ana kadavrada yer alan kaynakların dönüşümüne dayanmaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2007). Bazı durumlarda, entomopatojenik funguslar canlı haldeki enfekte böcek ile bir başka konağa veya çevreye yayılımlarını gerçekleştirmektedirler. Örneğin, bazı Entomophthoralean fungusların sporları konak hala canlı iken salınmaktadır. *Entomophthora thripidum* ve *Strongwellsea catrans* ile enfekte sinekler ve bazı afid türleri uzun mesafede fungusları taşıyarak göç edebilmektedir (Meyling ve Eilenberg, 2007; Shah ve Pell, 2003). Ayrıca, bazı eklem bacaklılar entomopatojenik türlerin yayılımını da görev yapabilmektedir (Dromph, 2003; Meyling vd., 2006). Bazen, *Cordyceps* spp. gibi entomopatojenik funguslar ve hatta onun anamorfları (örnek olarak *B. bassiana*) büyük bir stroma üretmektedir ve bu stroma bazen 30 cm'ye kadar ulaşabilmekte ve sonunda eşeyli ve eşeysiz sporları üretmektedir. Son olarak, dinlenme yapılarının (resting spores) oluşması pek çok fungusun yayılımı için ana faktör olmaktadır. Konağın sayısı azaldığı ve olumsuz çevre koşulları başladığı zaman, pek çok Entomophthoralean fungus uzun bir zaman toprakta sağ kalabilen mitozdan (azigospor) veya mayozdan (zigospor) oluşan dinlenme yapılarını (resting spores) üretmektedir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu da fungusun yayılımına katkı sağlayan faktörlerden birisidir.

1.4.1.1.7. Entomopatojenik Fungusların Avantaj ve Dezavantajları

Entomopatojenik fungusların mikrobiyal mücadelede bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. İnsektisid olarak fungusların kullanım avantajları şöyle sıralanabilir: (1) Zararlıyla mücadele açısından bazı durumlarda yüksek konak seçiciliğine sahip olmaları: Entomopatojenik funguslar zararlı olmayan parazit ve yararlı böcek popülasyonlarını etkilemeden zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılabilir. (2) Memeliler üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermemeleri, böylece çevre kirliliği gibi insektisid uygulamaları sonucu karşılaşılan zararların azaltılması. (3) İnsektisid direnci gibi problemlerin olmaması ve böylece uzun süreli bir mücadele sağlamaları. (4) Biyoteknolojik araştırmalar ile geliştirilmeye uygun olmaları. (5) Uygulama sonrası çevrede uzun süre kalmaları ve böylece, uzun süreli mücadelesinin sağlamaları (Wan, 2003). Öteyandan, fungusların insektisid olarak kullanımlarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır: (1) Kimyasal insektisidler böcekleri sadece 2-3 saatte öldürürken, entomopatojenik funguslar daha uzun bir süre gerektirmektedir (bazen 10-15 gün). (2)

Uygulamalar yüksek nem, düşük zararlı sayısı ve fungusidlerin kullanılmadığı periyod da olmalıdır. (3) Bazen yüksek seçiciliğinden dolayı ilave mücadele etmenlerinin kullanılması gerekebilir. (4) Üretimleri nispeten pahalıdır ve sporların saklanması için soğuk ortamlar gereklidir. (5) Zararlı popülasyonları üzerine entomopatojenik fungusların etkinliği ve devamlılığı farklı konaklarda farklılık göstermektedir ve böylece, böceğe özgül uygulama tekniklerinin optimizasyonu uzun süreli çalışma ve araştırma gerekmektedir. (6) Bağışıklık sistemi baskılanmış insanlara karşı bazen potansiyel risk oluşturmaları (Wan, 2003).

1.4.1.1.8. Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı

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

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

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

İnokülatif biyolojik mücadele ise biyolojik mücadele etmeni olan canlı bir organizmanın, mücadele bölgesine salınarak uzun bir süre zarfında çoğalması sonucu zararlı böceği kontrol altına almasıdır. Fakat, bu mücadele kalıcı değildir. Bu uygulama stratejisinde salınan organizmanın sayısı önemli değildir. Aksine biyolojik mücadele etmeninin salınan alanda çoğalması önemlidir. Genellikle alana düşük sayıda mücadele etmeni salınır. Bu kısmen de olsa salınan organizmanın kabul edilemez masraflarından kaynaklanmaktadır. Böcek patojenleri inokülatif mücadele için kullanılabilir. Örneğin, *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch (Deuteromycotina: Hyphomycetes) mayıs böceğiyle (*Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae)) mücadele etmek için İsviçre’de kullanılmıştır. Buradaki amaç, salınan fungusun zaman içerisinde çoğalarak uzun süreli bir mücadele elde edilmesiydi (Keller, 1997; Eilenberg vd., 2001). Bununla birlikte, *Entomophaga maimaiga* Amerika’da *Lymantria dispar* popülasyonlarında epizootik başlatmak amacı ile inokülatif olarak kullanılmıştır (Hajek ve Webb, 1999; Goettel vd., 2005).

Üçüncü biyolojik mücadele stratejisi olan inundatif biyolojik mücadele de ise mücadele yalnızca canlı organizmanın kullanılması ile sağlanmaktadır (Eilenberg vd., 2001). Bu uygulama stratejisinde, biyolojik mücadele etmeni kısa dönemli bir mücadele için genellikle büyük miktarlarda salınır ve ikinci bir enfeksiyon beklentisi yoktur (Shah ve Pell, 2003). Sıklıkla biyopestisit, biyolojik pestisit veya mikopestisit olarak bilinen terimler funguslar ile yapılan inundatif biyolojik mücadeleyi tanımlamak için kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005). Hyphomycetes funguslar inundatif biyolojik mücadele açısından büyük bir öneme sahiptir. Çünkü, kitle üretimleri ve formülasyonları nispeten kolaydır ve gelenekesel sprey uygulamalarıyla kolaylıkla uygulanabilmektedirler. Pek çok ticari ürün farklı tarım alanlarında zararlılar ile mücadelede kullanılmaktadır. Bunların bazı örnekleri Tablo 4’de verilmiştir (Shah ve Pell, 2003; Strasser vd., 2000; Cross vd., 1999; Lacey ve Goettel, 1995; Montesinos, 2003; Scholte vd., 2004; Milner, 2000).

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

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

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

Fındık, insektisit kullanımı ve kültürel uygulamaların değişikliğiyle mevcut olan doğal düşmanların korunması sayesinde konzervatif biyolojik mücadeleye iyi bir aday ürün konumundadır (AliNiasee, 1998).

1.4.1.1.9. Entomopatojenik Fungusların Geliştirilmesi

Bilindiği gibi biyolojik mücadele etmenleri çevre ve insanlar üzerinde toksik etkiye sahip kimyasal insektisidlere karşı birer alternatif mücadele yöntemi olarak değerlendirilmektedir. Entomopatojenik funguslar, doğada böcek popülasyonlarının düzenlenmesinde anahtar bir role ve zararlı böceklerin mücadelesinde dikkat çekici bir öneme sahiptirler. Entomopatojenik funguslar viral ve bakteriyal patojeni olmayan özellikle Coleoptera takımına dahil birçok zararlı ve bitki özsuyu ve hayvan kanı ile beslenen zararlılar için vazgeçilmez mücadele etmenleri olmasına rağmen, mikoinsektisidler toplam insektisid pazarının çok az bir kısmını oluşturmaktadır (Fang vd., 2005). Biyopestisidlerde olduğu gibi mikoinsektisidlerin etkinliğini etkileyen pek çok faktör vardır. Bunlar yavaş öldürme hızı, orta düzeyde etkinlik, zayıf depolanabilirlik, uygulama sonrası alanda kalma süresinin az olması ve üretim maliyetleri en önemlileri olarak sayılabilir. Fakat, suş seçimi, genetik mühendisliği, fomülasyon ve uygulama teknikleriyle bu tür problemlerin üstesinden gelinbilir (Goettel vd., 2005).

1.4.1.1.9.1. Suş Seçimi

Entomopatojenik funguslar genellikle genetik olarak heterojen suşlardan oluşmaktadır. Bu suşlar zararlı böceklerle karşı virülans gibi önemli karakteristik özellikler bakımından farklılık göstermektedir. Bu nedenle, zararlıya karşı en virulent suşun seçimi entomopatojenik fungusların etkinliğinin artırılmasında önemli bir rol oynayabilir. Bundan başka, çevresel koşullarda daha fazla devamlılık sağlayan diğer bazı önemli özellikler de suş seçiminde kullanılabilir. Fungal bir biyolojik mücadele etmeninin araştırılmasında yaygın olarak kullanılan ilk adım en patojenik suşun seçimidir (Goettel vd., 2005). Son zamanlarda ise çeşitli biyoteknolojik teknikler kullanarak suş seçimi yapılmaktadır. Fakat, bu teknikler direk genetik manipulasyonu içermemektedir. Örneğin, protoplast füzyonu *Beauveria bassiana*'nın biyolojik mücadele potansiyelini arttırmak için kullanılmıştır. Burada füzyon, *Leptinotarsa decemlineata*'dan izole edilen *B. bassiana* suşu ile insektisidal toksin üreten *B. sulfurescens* arasında yapılmıştır. Sonuç olarak, iki bileşik bakımından oksotrofik olan ve *L. decemlineata* ve *Ostrinia nubilalis*'e karşı yüksek seviyede virulent olan mutant *B. bassiana* meydana getirilmiştir (Cousteaudier vd., 1996; Viaud vd., 1998). Moleküler analizler meydana gelen mutantın iki genotipin karşımı

olduğunu göstermiştir. Suşların bazıları aşırı virulent olurken, bazıları ise ebeveynlerden daha hızlı öldürme yeteneğine sahiptir. Virülans yapılan pasajlardan sonra kalıcı olabilmektedir ve bu teknik ile entomopatojenik fungusların etkinliğinin arttırılabileceği öne sürülmüştür (Viaud vd., 1998).

1.4.1.1.9.2. Genetik Modifikasyon

Çeşitli entomopatojenik funguslar arasında, *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* son zamanlarda en fazla çalışılan fungus türleridir. Oysa, bunların moleküler biyoloji ve genetik manüplasyonu hakkında çok az bilgi mevcuttur. İlave olarak, entomopatojenik fungusların suş ıslah potansiyeli bunların patojenitesinin biyokimyasal ve moleküler temelini tam olarak anlayamamış olması ve üremelerinde eşeyli safhanın olmayışından dolayı sınırlı kalmıştır. Mikroinsektisidlerin geliştirilmesinde ki en büyük engel uygulama sonrası zararlıların ölümü için uzun bir zaman gerektirmesidir. Bu amaçla, mikroinsektisidlerin virülansının arttırılması genetik modifikasyonlarla sağlanabilmektedir (Fang vd., 2005). Bu alandaki çalışmalar diğer mikroorganizmalara göre daha sınırlı olmasına rağmen, çalışma alanı oldukça ilginçtir. En ileri araştırmalar *B. bassiana* ve *M. anisopliae* ile yapılmıştır (Goettel vd., 2005).

Genetik modifikasyonla geliştirilebilecek özellikler şöyle sıralanabilir (Duperchy, 2003): (1) Konağın varlığını belirleyen reseptörlerin, penetrasyonu sağlayan enzimlerin, konak savunma mekanizmasını inaktive eden ürünlerin ve hastalık semptomu için gerekli toksinlerin modifikasyonu ile konağa karşı virülansın arttırılması (öldürme hızı). (2) Konağa adhezyonu sağlayan genlerin, besinlerin kullanılmasından sorumlu genlerin, kütikulyayı tanıyan spesifik tanıma faktörlerinin ve inhibitör bileşiklere karşı direnci sağlayan genlerin modifikasyonu. (3) Kütikulyayı degrade eden enzimlerin arttırılmasıyla inokülüm miktarının azaltılması. (4) Çevresel sınırlamalara karşı tolerans, özellikle sıcaklık ve kuruluğa karşı. (5) Çeşitli fungusidlere karşı dirençten sorumlu genlerin modifikasyonu.

1.4.1.1.9.3. Formülasyon ve Uygulama Stratejileri

Entomopatojenik funguslar hala kısa raf ömrü gibi bazı uygulama zorluklarına sahiptir. Fakat, uygun formülasyonların geliştirilmesiyle bu zorlukların üstesinden

gelinebilir. Uygun formülasyonun kullanılması uzun raf ömrü ve fungal yapıların devamlılığı açısından önemlidir. Formülasyon etmen ile uyumlu olmalı, onun performansını arttırmalı ve ideal olarak normal tarımsal uygulamalar ile birlikte yapılabilmelidir. İlave olarak, formülasyon güvenli, kullanımı kolay ve uygulama, depolama ve dağıtım sırasında etmenin canlılığını muhafaza etmelidir (Boland ve Kuykendall, 1998). Kitle üretimini takiben, granüler ve sprey (sulu ve yağlı) gibi farklı türlerde formülasyonlar kullanılabilir (Leland, 2001).

Entomopatojenik fungusların granüler formülasyonları tuzak gibi formüle edilmiş misellerin veya sporların uygulamasını içermektedir. Bu uygulamada, kuru misellerin alanda sporlaşması gerekmektedir ve bu nedenle kurak iklimlerde kullanılması pek pratik değildir (Leland, 2001).

Sprey şeklinde formülasyonlar ise granüler formülasyonlara göre daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Güneş radyasyonundan mikrobiyal pestisidleri korumak için sıvı formülasyonlar dört ana yaklaşım çerçevesinde kullanılmaktadır. (1) Yağ taşıyıcıları ile yağda çözünebilen güneş kremlerinin kullanılması. (2) Yağ-su karışımı emülsiyonların kullanılması. (3) Su taşıyıcıları ile engelleyicilerin veya askıda kalan emicilerin veya suda çözünenlerin kullanılması. (4) Su taşıyıcıları ile kapsüller içerisinde kullanım (Leland, 2001). Son zamanlarda, LUBILOSA programı ile yağ temelli formülasyonlar başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Lomer vd., 2001).

Entomopatojenik fungusların uygulama stratejileri, bölüm 1.4.1.1.8'de tartışılmıştır.

1.5. Tezin Amacı

Bu doktora çalışmasında, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki fındık ve ladin ormanlarında çeşitli zararlar oluşturan adi mayıs böceği, *Melolontha melolontha* (L.) ve dev soymuk böceği, *Dendroctonus micans* (K.) ile mücadelede kimyasal insektisidlerin kullanımını azaltacak, daha etkin, güvenli, ekonomik ve çevreye duyarlı fungal mikrobiyal mücadele etmenleri bulmak, bulunan fungal izolatların morfolojik ve moleküler karakterizasyonlarını yapmak ve hedef zararlılara karşı insektisidal etkilerini belirlemektir. Bu amaç doğrultusunda, Doğu Karadeniz Bölgesi'nden toplanan toprak ve böcek örneklerinden entomopatojenik fungus izolasyonu, bunların morfolojik ve moleküler teknikler kullanarak karakterizasyonları ve tanımlanan fungal patojenlerin hedef böceklere karşı insektisidal aktivitelerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Doğu Karadeniz Bölgesi'nin fındık ve orman alanlarında çeşitli zararlar oluşturan böceklerle karşı daha etkin ve güvenli biyolojik mücadele etmenleri izole etmek amacıyla, bu bölgeden toplam 301 adet toprak örneği ve 6 adet zararlı böcek türü toplanarak entomopatojenik fungus yönünden araştırıldı. Bunun sonucunda elde edilen fungal örnekler morfolojik ve moleküler yöntemlerle karakterize edildi ve hedef böcekler üzerindeki insektisidal aktiviteleri belirlendi.

2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar, Enzimler, Antibiyotikler ve Besiyeriler

Çalışmada kullanılan önemli kimyasallar, boyalar, enzimler ve antibiyotikler şunlardır: Sodyum hipoklorit (NaClO) (Sigma), ampisilin (Applichem), tetrasiklin (Applichem), streptomisin (Applichem), gliserol (Applichem), aseto-orsein (Sigma), dNTP (Qiagen), *Taq* DNA polimeraz (Qiagen), polinükleotid kinaz (Biolabs), etidyum bromür (Sigma), agaroz (Sigma), *EcoRI* (Biolabs), *MseI* (Biolabs), T4 DNA ligaz (Biolabs), γ -[33]_p-ATP izotopu (Amersham Biosciences Europe), formamid (Qiagen), poliakrilamid (Sigma), dekstroz (Sigma), bisakrilamid (Sigma), Tris-hidroklorik asit (Qiagen), Tween 80 (Applichem), Mg(Ac)₂ (Sigma), KAc (Sigma), TEMED (BioRad), SDS (Merck), Tris (Merck), EDTA (Merck), amonyum persülfat (APS) (BioRad), DTT (USB).

Çalışmada kullanılan besiyeriler şunlardır: PDA (Potates dekstroz agar) (Sigma), maya ekstraktı (Sigma), PDB (Potates dekstroz broth) (Sigma), pepton (Sigma).

Çalışmada kullanılan kitler de şunlardır: DNeasy Plant mini Kit (50) (Qiagen), Nucleospin Plant kit (50 preps) (Nucleospin), QIAquick gel extraction kit (50) (Qiagen), QIAquick PCR purification kit (50) (Qiagen).

2.2. Çalışma Bölgesinin Tanımlanması

Doğu Karadeniz Bölgesi, Türkiye'nin kuzeydoğu kısmında yer almaktadır. Bölgeyi iklimsel özelliklerine göre kıyısal ve karasal olmak üzere iki ana kısma ayırmak mümkündür. Kıyısal kısım Artvin, Rize, Trabzon, Ordu ve Giresun olmak üzere 5 şehirden oluşurken, karasal kısım ise Bayburt ve Gümüşhane olmak üzere iki şehirden oluşmaktadır.

(Şekil 5). Kıyısal ve karasal kısım farklı çevresel ve iklimsel özelliklere sahiptir. Kıyısal bölge genelde yüksek nem, yüksek yağış ve yıllık sıcaklığın düşük olması ile karakterize edilir. Karasal bölge ise güçlü karasal iklimle karakterizedir. Yazlar çok sıcak, kışlar ise çok soğuk ve yıllık yağış oranı düşüktür (Tablo 5) (T.C. Tarım Bakanlığı, 2007).



Şekil 5. Örnekleme bölgesi

Bununla birlikte, fındık tarımı tamamen kıyısal bölgede yoğunlaşmıştır (özellikle Ordu, Giresun ve Trabzon). Karasal bölgede ise iklimsel özelliklerden dolayı hemen hemen hiç fındık arazisi bulunmamaktadır.

Tablo 5. Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel özellikleri ve örnekleme yerleri

Lokalite	Toplam yağış (mm)	Ortalama sıcaklıklar (°C)			Kuraklık indeksi*
		Yıllık	En sıcak ay	En soğuk ay	
Artvin	726,2	12,3	40,8	-9,6	61
Rize	2292,9	14,7	34,4	-4,6	77
Trabzon	897,3	15	37	-4	73
Giresun	1264	14,8	36	-3	71
Ordu	1018,5	14,7	37,1	-4	68
Gümüşhane	451,1	9,7	41	-21,6	67
Bayburt	543,7	7	19	-5,5	15,04

*Verilen bir bölgedeki iklimin kuraklık derecesinin sayısal ifadesi

2.3. Toprak Örneklerinin Toplanması

Doğu Karadeniz Bölgesi'nin orman, fındık, çay, yol kenarları, çayırlıklar ve diğer vejetasyonları içeren örnekleme alanlarından toplam 301 adet toprak örneği rastgele olarak alındı. Örnekleme yerlerini gösteren Doğu Karadeniz Bölgesi haritası Şekil 5'de verilmiştir. Toprak örnekleri, toprağın üst kısmı kaldırıldıktan sonra yaklaşık olarak 5-20 cm derinlikten alındı. Bir bölgeden toprak alımı sırasında 5 farklı noktadan örnekleme yapıldı (aralarında en az 5 metre olmasına dikkat edildi) ve alınan topraklar plastik torba içerisinde karıştırıldıktan sonra karışımdan yaklaşık 750 g toprak polietilen torbalara konularak laboratuara getirildi ve mümkün olduğunca kısa sürede entomopatatojenik fungus yönünden incelendi (Ali-Shtayeh vd., 2002). Analiz edilmeyen toprak örnekleri analiz edilene kadar +4°C'de muhafaza edildi. Toprak örneklerinin alımında yer ve vejetasyon kayıtları yapıldı. İnceleme sonucunda pozitif sonuçlar bulunan toprak örneklerinin nem içeriği belirlendi.

Toprak örneklerinin nem oranını hesaplamak için örneklerden 100'er gram alınıp 105 °C'de 24 saat tutulmuş ve tekrar tartılmıştır. Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

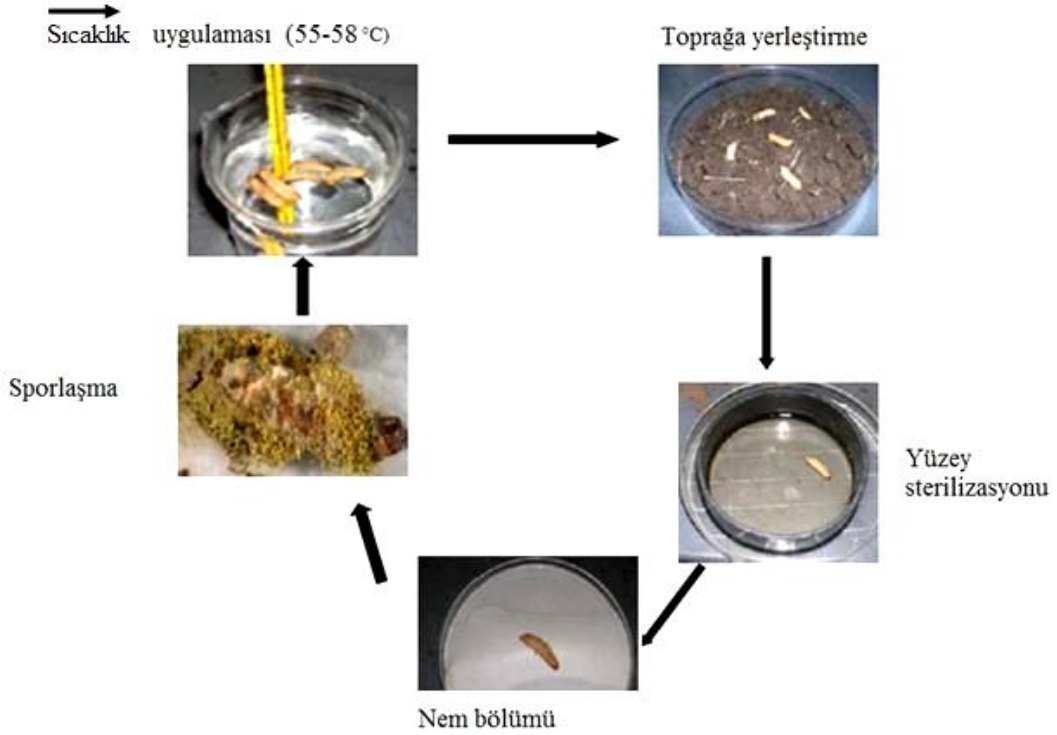
$$\text{Nem Oranı (\%)} = \frac{(\text{Yaş Ağırlık} - \text{Kuru Ağırlık})}{\text{Kuru Ağırlık}} \times 100$$

2.4. Entomopatojenik Fungus İzole Edilecek Böcek Örneklerinin Toplanması

Doğu Karadeniz Bölgesi ormanlarında zararlı olan *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae), *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) (bu zararlı Orta ve Batı Karadeniz’de yayılış göstermektedir), meyve bahçelerinde zararlı olan *Rhynchites baccus* (Coleoptera: Rhynchitidae) ve *Malacosoma americanum* (Lepidoptera: Lasiocampidae) ve son olarak fındık bahçelerinde zararlı olan *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae) örnekleri toplanarak laboratuara getirildi. Bu örnekler, günlük olarak incelemeye tabi tutuldu ve öldüğü tespit edilen böcekler, ölüm nedeninin fungus olup olmadığını anlaşılması için nemli filtre kağıdı içeren steril petri kaplarına alındı ve eksternal fungus büyümesi araştırıldı. Eksternal misel büyümesi görülen böcek örneklerinden fungus izolasyonu yapıldı ve bu izolatların patojen olup olmadığı araştırıldı.

2.5. Toprak Örneklerinden Entomopatojenik Fungus İzolasyonu

Entomopatojenik funguslar toprak örneklerinden *Galleria* tuzak yöntemi (GTY) ile izole edildi. Yaklaşık 3-4. evre mum güvesi (*Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları tuzak yöntemi için kullanıldı. Tuzak yönteminden önce larvaların toprak içerisinde koza örüp pupa olmalarını önlemek için larvalar 56°C sıcaklığındaki suda yaklaşık olarak 15 sn. bekletildi. Her bir toprak örneği 1 litrelik plastik kaplar içerisine yerleştirilerek üzerine 10’ar adet *Galleria* larvası eklendi. Toprak çok fazla kuru ise gerekli nemi sağlamak için steril su ilave edildi. Larvaların toprağın altında kalmasını sağlamak için kapların kapağı kapatıldıktan sonra kaplar ters çevrildi. Daha sonra kaplar oda sıcaklığında (20-25°C) bekletilerek ilk iki hafta sırasında böceklerin toprakla maksimum temasını sağlamak için sıklıkla sallanarak alt üst edildi (Şekil 6). Daha sonra tuzak kapları 5’er gün arayla toplam 15 gün boyunca incelemeye tabi tutuldu (Zimmermann, 1986; Meyling ve Eilenberg, 2006a). İnceleme sonucu öldüğü tespit edilen larvalardan fungus izolasyonu yapıldı.



Şekil 6. *Galleria* tuzak yöntemi

2.6. Enfekte Larvalardan Entomopatojenik Fungus İzolasyonu

Toprak örneklerinin incelenmesi sonucunda ölü bulunan larvalar ve laboratuara getirilen böcek örneklerinden ölü olanlar, ölüm nedenlerinin fungal enfeksiyon olup olmadığının araştırılması için incelemeye tabi tutuldu. Ölü larvalar % 1'lik sodyum hipoklorit solusyonu ile 3 dk. yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra 3 kez distile su ile yıkandı ve içerisinde nemli filtre kağıdı bulunan steril petrilere alınarak, 25°C'de inkübasyona bırakıldı (Ali-Shtayeh vd., 2002). İnkübasyon neticesinde eksternal fungal büyüme görülen örneklerden (misel görülen) funguslar, öze yardımı ile saflaştırıldı (Vanninen vd., 1989). Saflaştırma sırasında ilk besiyeri olarak PDAY (PDA + %1 yeast ekstrakt) kullanıldı. Bakteri kontaminasyonunu engellemek için besiyerine 50 µg/ml ampisilin, 20 µg/ml oranında geniş spektrumlu bir antibiyotik olan tetrasiklin ve 200 µg/ml oranlarında streptomisin ilave edildi (Ihara vd., 2001).

2.7. Fungusların Depolanması

İzole edilen fungusların herbirinin saf kültürleri oluşturuldu. Bunun için funguslardan 1×10^4 spor/ml oranında spor süspansiyonu hazırlandı ve PDAY (Patates dekstroz agar + % 1 maya ekstraktı) besiyerlerine yayma ekimleri yapıldı. Bir günlük inkübasyondan sonra görülen koloniler alınarak saf kültür elde edildi. Tek spordan üreyen fungus örneklerinden saklama işlemi yapıldı. Saklama için funguslar PDA besiyerinde büyütüldükten sonra belirli oranda sporları alındı ve 5:1 oranında gliserol stokları yapıldı. Elde edilen stoklar -80°C 'de muhafaza edildi. Petrillerdeki saf kültürler $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi. Bu kültürlerden 6 ayda bir pasaj yapıldı. Ayrıca, bütün izole edilen fungusların ARSEF (ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Ithaca, New York, USA) kültür koleksiyonuna kayıtları yapıldı.

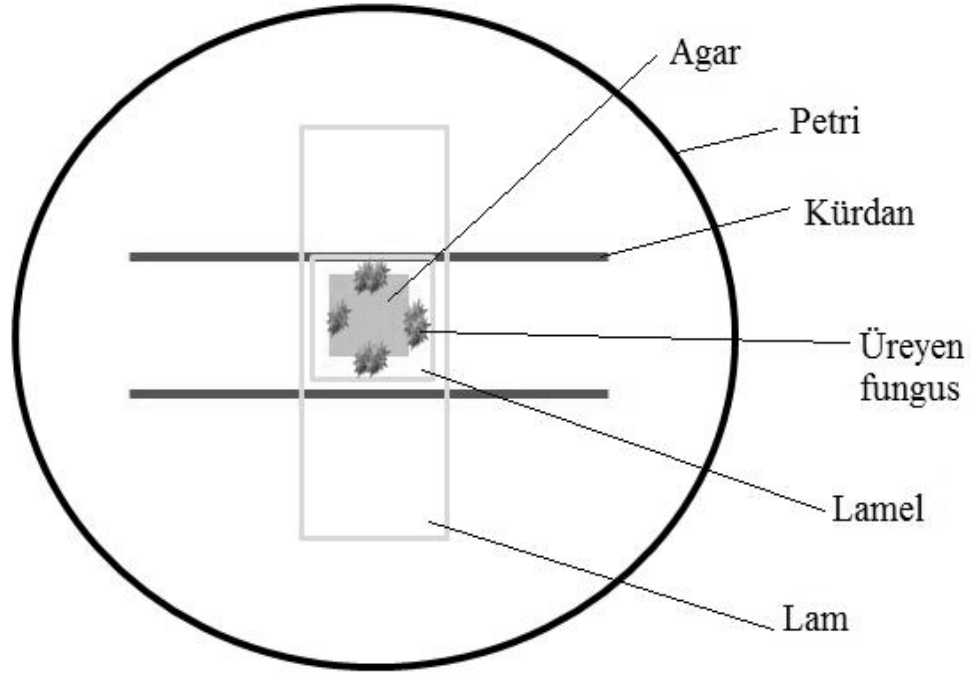
2.8. İzole Edilen Fungusların Tür Tayinleri

2.8.1. Morfolojik Tür Tayini

Fungusların morfolojik tür tayinleri Dr. Richard Humber (USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungi, Ithaca, NY, USA) tarafından yayınlanan "Entomopathogenic Fungal Identification" adlı kaynağa göre yapıldı (Humber, 1997). Tür tayinlerinde ilk önce böceklerde meydana gelen enfeksiyon şekli ve enfeksiyonun gelişim seyri değerlendirildi. Stereomikroskop ile böcek kadavraları üzerinde büyüyen patojenlerin koloni incelemesi yapıldı. Fungusların daha ayrıntılı incelenmeleri için mikroskopik preparatlar 'Scotch tape' ve 'Slide mounts' tekniklerine göre hazırlandı ve aseto-orsein boyası ile boyandı (Şekil 7). Hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendikten sonra hiflerin özelliği, havai olup olmadığı, üreme organlarının gelişme devreleri, konidiyoforların yapısı, varsa çap ve boylarının ölçüleri, sporların ölçüleri ve renkleri incelendi, tür tayininde kullanıldı (Humber, 1997). Tür tayinlerinin doğrulanması Dr. Richard Humber tarafından gerçekleştirildi.

Preparatlar şu şekilde hazırlanmıştır: Cam petri kapları ve kürdanlar steril edildikten sonra, 2 adet kürdan birbirlerine paralel olacak şekilde steril petri kaplarına yerleştirildi. Kürdanlar üzerine steril lamalar konuldu ve bu şekilde düzenek tekrar steril edildi. Daha sonra, kare şeklinde kesilmiş kalın bir agar parçası (en az 0,5 cm kalınlıkta) hazırlanan düzeneğin içerisindeki lamın üzerine yerleştirildi ve agar parçasının dört bir yanına iğne

uçlu öze ile ekimler yapıldı. Ekimden sonra mikroskop lamelleri alkol ile steril edildikten sonra inokülasyonu yapılmış agar parçalarının üzerine hafifçe konuldu. Son olarak örnekler 1 hafta boyunca 25-28 °C’de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda lameller nazikçe kaldırılarak bir damla aseto-orsein boyası içeren lam üzerine kapatıldı ve mikroskopta incelendi (Şekil 7).



Şekil 7. Fungal örneklerin ‘Scotch tape’ tekniğiyle mikroskopik incelenmesi

2.8.2. Moleküler Karakterizasyon

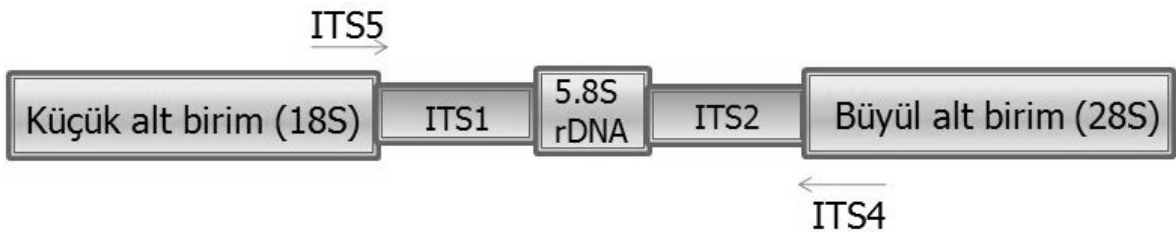
2.8.2.1. DNA İzolasyonu

Funguslardan DNA izolasyonu için kültürler ilk olarak PDAY besiyerine ekildi ve 1 hafta boyunca 28°C’de inkübasyona bırakıldı. Sonra bu kültürlerden koloniler alınarak 50 ml PDB (Potates dekstrozu sıvı) besiyerine inoküle edildi ve 1-2 hafta boyunca 28°C’de ve 250 rpm’de kuru çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı. Büyüyen kültürler steril filtre kağıdıyla süzildikten sonra sıvı azot içerisinde öğütüldü. Daha sonra üretici firmanın önerileri doğrultusunda DNeasy Plant mini Kit (50, QIAGEN) ve NucleoSpin Plant Kit (50, Clontech) kitleri kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen DNA’lar %1’lik

etidyum bromür içeren agaroz jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülendi. Elde edilen DNA örnekleri kullanılmıncaya kadar -20°C’de muhafaza edildi.

2.8.2.2. rRNA ITS1-5.8S-ITS2 Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

18S ve 23S rRNA alt üniteleri arasında kalan ITS1-5.8S-ITS2 bölgelerinin PCR ile çoğaltılması için forward olarak ITS5: 5’- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG - 3’ ve reverse olarak ITS4: 5’TCCTCCGCTTATTGATATCG- 3’ primerleri kullanıldı (Şekil 8) (White vd., 1990). ITS1-5.8S-ITS2 bölgelerinin çoğaltılması için hazırlanan PCR reaksiyon karışımı, 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 içerdi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl’ye tamamlandı. PCR koşulları: 95°C’de 5 dakikalık denatürasyondan sonra 95°C’de 1 dak., 50°C’de 45 sn. ve 72°C’de 2 dak. haline 35 döngü ve son adım olarak 72°C’de 10 dak. olacak şekilde gerçekleştirildi (Muro vd., 2005). PCR reaksiyonu sonucu elde edilen ürünlerden 5’er µl alınarak 0,5 µg/ml etidyum bromür katkılı %1’lik agaroz jelde 90 V’de 45 dakika elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünleri Qiaquick PCR 50 (Qiagen GmbH, Leuten, the Netherlands) kiti ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için VIB Genetic Service Facility (Antwerp, Belçika) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri tür tayinlerini doğrulamak için NCBI GenBank’ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırıldı ve sonra filogenetik analizleri yapıldı.



Şekil 8. ITS1-5.8S-ITS2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları. ITS5 forward ve ITS4 revers primer olarak kullanılmıştır

2.8.2.3. Uzama Faktörü-1-alfa (EF1-α) Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

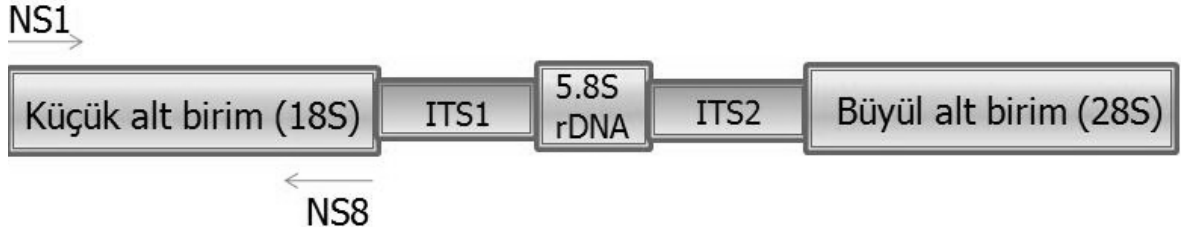
EF1-α gen bölgesinin yaklaşık olarak ilk 1200 bp’lik bölgesinin DNA dizi analizi, ITS gen bölgesine göre tanımlamaları yapılan ve *Beauveria cf. bassiana* olduğu belirlenen

suşların moleküler tanımlamalarını doğrulamak için ve tür tayini yapılamayan *Metarhizium* sp. KTU-9 izolatının tür tayini için yapıldı. Forward olarak EF1T (5'-TGGGTAAGGARGACAAGAC-3') ve reverse olarak 1567R (5'-CHGTRCCRATAACCACCSATCTT-3') primer çifti 1200 bp'lik bölgenin çoğaltılması için kullanıldı (S=G veya C, R=A veya G, H=A, C veya T). PCR koşulları, Rehner ve Buckley (2005) tarafından uygulanan metoda göre yapıldı. PCR reaksiyonu toplam 50 µl hacim olacak şekilde; 5 µl 10X PCR tamponu, 4 µl dNTP karışımı (1.25 mM herbir dNTP'den), 10 pmol her bir primerden, 0.5 µl *Taq* polimeraz ve 5-20 ng genomik DNA olacak şekilde gerçekleştirildi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl'ye tamamlandı. PCR işlemleri 'touchdown PCR prosedürü' kullanılarak yapıldı (Rehner ve Buckley, 2005). Touchdown PCR reaksiyonu 94°C'de 2 dak. denatürasyon ile başlatıldı. İlk amplifikasyon döngüsünde bağlanma sıcaklığı 66°C olarak belirlendi ve herbir döngüde birer derece azaltılarak 9 döngü gerçekleştirildi. Son olarak 36 çoğaltma döngüsü, 94°C'de 30 sn. denatürasyon, 56°C'de 30 sn. bağlanma, 72°C'de 1 dak. sentez ve son olarak 72°C'de 10 dak. inkübasyon olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR reaksiyonundan oluşan ürünlerden 5'er µl alınarak 0.5 µg/ml etidyum bromür katkılı %1'lik agaroz jelde 90 V'de 45 dakika elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünleri Qiaquick PCR 50 (Qiagen GmbH, Leuten, the Netherlands) kiti ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için VIB Genetic Service Facility (Antwerp, Belçika) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri tür tayinlerini doğrulamak için NCBI GenBank'ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırıldı ve filogenetik analizler gerçekleştirildi.

2.8.2.4. 18S SSU Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

18S SSU gen bölgesinin yaklaşık ilk 1800 bp'lik kısmının çoğaltılması için forward olarak NS1 (5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC - 3') ve reverse olarak da NS8 (5'-TCCGCAGGTTACCTACGG-3') primer çiftleri kullanıldı (Şekil 9) (White vd., 1990). 18S SSU gen bölgesinin 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 ddH₂O ile 50 µl olacak şekilde ayarlandı. PCR koşulları; 95°C'de 5 dakikalık denatürasyondan sonra 95°C'de 1 dak., 50°C'de 45 sn., 72°C'de 2 dak. halinde 35 döngü ve son adım olarak 72°C'de 10 dak. olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR reaksiyonundan oluşan ürünlerden 5'er µl alınarak 0.5

$\mu\text{g/ml}$ etidyum bromür katkılı %1'lik agaroz jelde 90 V'de 1 saat elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünleri Qiaquick PCR 50 (Qiagen GmbH, Leusten, the Netherlands) kiti ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için VIB Genetic Service Facility (Antwerp, Belçika) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri tür tayinlerini doğrulamak için NCBI GenBank'ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırıldı ve filogenetik analizler yapıldı.



Şekil 9. 18S gen bölgesinin ilk 1800 bp'ini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları. NS1 forward ve NS8 revers primer olarak kullanılmıştır

2.8.2.5. Fungal İzolatların GenBank Kayıtları

Doğu Karadeniz Bölgesi'nden izole edilen fungal izolatlar için GenBank'tan alınan kayıt numaraları Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Fungal izolatların GenBank numaraları

Sıra no	İzolat	Tür	ITS GenBank numarası	18S GenBank numarası	EF1- α GenBank numarası
1	KTU-2	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177500	—*	—
2	KTU-3	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177502	—	—
3	KTU-4	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177501	—	—
4	KTU-6	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177503	—	—
5	KTU-10	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177490	—	—
6	KTU-12	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177478	—	—
7	KTU-14	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177489	FJ177466	—
8	KTU-15	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177497	—	—

Tablo 6'nın devamı

9	KTU-18	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177495	–	–
10	KTU-19	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177494	FJ177469	–
11	KTU-20	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177496	–	–
12	KTU-21	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177498	FJ177470	–
13	KTU-26	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177485	–	–
14	KTU-27	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177505	–	–
15	KTU-28	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177484	–	–
16	KTU-29	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177487	–	–
17	KTU-30	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177507	–	–
18	KTU-31	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177481	FJ177467	–
19	KTU-32	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177479	–	–
20	KTU-34	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177482	–	–
21	KTU-37	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177504	FJ177472	–
22	KTU-39	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177499	–	–
23	KTU-40	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177483	–	–
24	KTU-41	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177486	–	–
25	KTU-44	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177491	–	–
26	KTU-45	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177493	–	–
27	KTU-46	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177474	–	–
28	KTU-47	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177488	–	–
29	KTU-48	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177492	FJ177468	–
30	KTU-49	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177473	–	–
31	KTU-51	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177506	–	–
32	KTU-54	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177476	–	–
33	KTU-58	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177477	–	–
34	KTU-60	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	FJ177475	FJ177471	–
35	KTU-9	<i>Metarhizium</i> sp.	FJ177480	FJ177465	FJ177455
36	KTU-7	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177442	–	–

Tablo 6'nın devamı

37	KTU-8	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177437	–	–
38	KTU-11	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177436	–	–
39	KTU-17	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177445	–	–
40	KTU-22	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177439	–	–
41	KTU-23	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177438	–	–
42	KTU-24	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177449	–	–
43	KTU-25	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177441	–	–
44	KTU-38	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177440	–	–
45	KTU-50	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177443	–	–
46	KTU-52	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177444	–	–
47	KTU-56	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177446	–	–
48	KTU-57	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177448	–	–
49	KTU-59	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177447	–	–
50	KTU-62	<i>Beauveria bassiana</i>	FJ177450	–	–
51	KTU-53	<i>Beauveria cf. bassiana</i>	FJ177433	–	–
52	KTU-55	<i>Beauveria cf. bassiana</i>	FJ177434	–	FJ177451
53	KTU-61	<i>Beauveria cf. bassiana</i>	FJ177432	–	–
54	KTU-63	<i>Beauveria cf. bassiana</i>	FJ177435	–	FJ177452
55	KTU-64	<i>Beauveria cf. bassiana</i>	FJ177431	–	–
56	KTU-1	<i>Isaria fumosorosea</i>	FJ177462	–	–
57	KTU-5	<i>Isaria fumosorosea</i>	FJ177463	–	–
58	KTU-42	<i>Isaria fumosorosea</i>	FJ177460	–	–
59	KTU-13	<i>Isaria fumosorosea</i>	FJ177461	–	–
60	KTU-16	<i>Isaria fumosorosea</i>	FJ177464	–	–
61	KTU-33	<i>Evlachovaea</i> sp.	FJ177458	–	–
62	KTU-35	<i>Evlachovaea</i> sp.	FJ177457	–	–
63	KTU-36	<i>Evlachovaea</i> sp.	FJ177459	–	–
64	KTU-43	<i>Evlachovaea</i> sp.	FJ177456	–	–

* GenBank numarası yoktur

2.9. İzole Edilen Fungusların Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi

Biyolojik mücadele etmenlerinde genetik çeşitliliğin belirlenmesi, etmen seçimi ve çeşitli epizootik sonuçların etkilerinin değerlendirilmesinde önemlidir. Bu amaç doğrultusunda, bu çalışmada izole edilen 33 adet *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* ve 13 adet *Beauveria bassiana* izolatlarında genetik çeşitliliğin belirlenmesi için AFLP analizi yapılmıştır.

2.9.1. Çoğaltılmış Parçacık Uzunluğu Poliformizmi (AFLP)

AFLP analizi Vos vd. (1995) tarafından uygulanan yöntemde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirildi. Yaklaşık 500 ng DNA 2'şer μl *EcoRI* ($10 \text{ U } \mu\text{l}^{-1}$) ve *MseI* ($10 \text{ U } \mu\text{l}^{-1}$) restriksiyon enzimleri kullanılarak, restriksiyon ligasyon tamponunda (100 mM Tris-asetat (pH 7,5), 100 mM $\text{Mg}(\text{Ac})_2$, 500 mM KAc, 50 mM dithiothreitol) 37°C 'de gece boyu kesildi. Kesim işleminin ardından adaptörler (*EcoRI* ve *MseI*) aynı reaksiyon karışımına 1,5 μl T4 ligaz (1 U spor/ml) enzimi eklendikten sonra 4 saat boyunca 37°C 'de inkübasyona bırakılarak gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı 10 defa seyreltilerek ön çoğaltma basamağında (non-selective amplification) kalıp DNA olarak kullanıldı. Ön çoğaltma basamağında *EcoRI* (5'-GACTGCGTACCAATTCNNN-3') ve *MseI* (5'-GATGAGTCCTGAGTAANNN-3') primer çifti kullanıldı. Ön çoğaltma için reaksiyon karışımı 5 μl 10X PCR tamponu, 2 μl 5 mM dNTP karışımı, 1,5 μl *EcoRI* primer, 1,5 μl *MseI* primer, 0,1 μl *Taq*-DNA polimeraz ve 29,9 μl ddH₂O olacak şekilde ayarlandı. PCR döngü programı ise 94°C 'de 30 sn., 56°C 'de 1 dak. ve 72°C 'de 1 dak. olacak şekilde 20 döngü halinde gerçekleştirildi.

Ön çoğaltma basamağından sonra elde edilen PCR ürünleri 1/10 oranında seyreltilerek seçici çoğaltma (selective amplification) basamağında kalıp DNA olarak kullanıldı. *B. bassiana* izolatları için *EcoRI*-AG ve *MseI*-C seçici primerleri ve *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları için *EcoRI*-AC ve *MseI*-AA seçici primerleri kullanıldı. Forward *EcoRI* seçici primeri radyoaktif γ -[³³P]-ATP izotopu ile T4 polinükleotid kinaz enzimi kullanılarak işaretlendi (Amersham Biosciences Europe, Roosendaal, The Netherlands). Bunun için reaksiyon koşulları; 10 μl *EcoRI* primer, 10 μl γ -[³³P]-ATP, 5 μl 10X PNK tampon, 1 μl T4 polinükleotid kinaz ve 24 μl ddH₂O olacak şekilde ayarlandı. Elde edilen karışım 37°C 'de 30 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı ve elde edilen işaretli *EcoRI* primeri seçici PCR'da kullanıldı. Seçici çoğaltma için gerekli PCR koşulları; 2 μl 10X PCR tamponu, 0,4 μl 5 mM dNTP, 0,5 μl *EcoRI* primer, 0,5 μl *MseI* primer, 0,04 μl *Taq*-polimeraz ve 11,46 μl ddH₂O olacak şekilde ayarlandı. Döngü programı ise ilk olarak 94°C 'de 30 sn., 65°C 'de 30 sn. ve 72°C 'de 1 dak. olacak şekilde bir döngü ve bunun ardından 12 döngü boyunca sentez sıcaklığı herbir döngüde $0,7^\circ\text{C}$ azalacak şekilde ayarlandı. Son olarak 94°C 'de 30 sn., 56°C 'de 30 sn. ve 72°C 'de 1 dak. olacak şekilde 23 döngü halinde PCR programı sonlandırıldı.

Seçici amplifikasyon basamağından sonra reaksiyonu durdurmak için her bir reaksiyon tüpüne eşit hacimde (20 µl) formamid yükleme boyası eklendi. PCR ürünleri jelle yüklemeyen önce 95°C'de 5 dak. boyunca denatüre edildi. Denatüre olan fragmentler 100 V'de 2,5 saat boyunca % 5'lik poliakrilamid jelde, 1X TBE tamponu kullanılarak yürütüldü. Yürütülen fragmentler otoradyografi ile görüntülendi ve sayılan bantlar daha sonraki analizler için kullanıldı.

2.9.2 Fungal İzolatların Farklı Sıcaklıklarda Büyümesinin Değerlendirilmesi

Fungus örnekleri, spor süspansiyonlarının hazırlanması amacıyla PDAY besiyerinde 25°C'de ve 12:12 (I:K) ışık periyodu altında 2 hafta boyunca inkübasyona bırakıldı. Sporlaşan kültürlerle 10 ml % 0,1'lik Tween 80 eklenerek sporlar kazındı ve iki katlı steril tülbent ile süzülerek 50 ml'lik steril plastik tüplere (Falkon) yerleştirildi. Sonra spor konsantrasyonu 1×10^5 spor/ml olacak şekilde Neubauer hemositometresi kullanılarak ayarlandı. Fungus izolatlarının farklı sıcaklıklarda büyümesinin değerlendirilmesi, Bidochka vd. (2001) tarafından uygulanan yöntemle göre belirlendi. Doksan altı kuyucuklu hücre kültür kapları 100 µl PDA besiyeri ile doldurulduktan sonra 3 µl 1×10^5 spor/ml spor süspansiyonlarıyla inoküle edildi. Fungal büyüme 8, 16, 25 ve 37°C'de olmak üzere 4 farklı sıcaklıkta değerlendirildi. Ölçüm sonrası elde edilen verilerin pozitif olarak değerlendirilmesi, Bidochka vd. (2001) tarafından belirlenen kriterler göz önüne alınarak gerçekleştirildi (8°C'de 14 gün inkübasyondan sonra $OD_{630 \text{ nm}} > 0,15$; 16°C'de 5 gün inkübasyondan sonra $OD_{630 \text{ nm}} > 0,50$; 25°C'de 2 gün inkübasyondan sonra $OD_{630 \text{ nm}} > 0,50$; 37°C'de 3 gün inkübasyondan sonra $OD_{630 \text{ nm}} > 0,25$). Bunun sonucunda elde edilen veriler AFLP analizinde elde edilen grupların karşılaştırılması için kullanıldı.

2.9.3 Fungal İzolatların UV Dirençlerinin Belirlenmesi

Fungus izolatlarının ultraviyole (UV) ışığına karşı (306 nm dalga boyu) dirençleri Bidochka vd. (2001) tarafından uygulanan yöntemle göre belirlendi. Spor süspansiyonları ve inokülasyon işlemleri Bölüm 2.9.2'de belirtilen yöntemle göre yapıldı. Farklı olarak, fungal örnekler inokülasyondan sonra 30 ve 60 dak. olmak üzere 2 farklı süre için UV radyasyonuna (306 nm) maruz bırakıldı. Ölçüm sonrası elde edilen verilerin pozitif olarak

değerlendirilmesi, Bidochka vd. (2001) tarafından belirlenen kriterler göz önüne alınarak gerçekleştirildi (25°C’de 2 gün inkübasyondan sonra OD_{630 nm} >0,25).

2.10. Patojenite Testleri

Hem toprak hem de böcek örneklerinden elde edilen bütün fungal izolatların patojenite testleri ilk olarak oldukça duyarlı bir böcek olan *Tenebrio molitor* (un kurdu) üzerinde yapıldı. Bu verilere dayanarak un kurduna karşı yüksek patojeniteye sahip olduğu belirlenen 7’si toprak örneklerinden ve 2’si böcek örneklerinden olmak üzere toplam 9 izolatın (*Beauveria bassiana* KTU-24 ve KTU-57, *B. cf. bassiana* KTU-53 ve KTU-55, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU- 27 ve KTU-60, *Metarhizium* sp. KTU-9, *Israia fumosorosea* KTU-1 ve *Evlachovaea* sp. KTU-36) *Melolontha melolontha* ve *Dendroctonus micans*’a karşı patojenite testleri yapıldı.

2.10.1. *Tenebrio molitor* (Un kurdu)’a Karşı Biyotestler

Biyotestler için 4-5. evre un kurdu larvaları kullanıldı. Larvalar laboratuvar kültürlerinden elde edildi ve biyotestler yapılana kadar oda sıcaklığında plastik kutular içerisinde bayat ekmek ile beslendi. Biyotestler için sağlıklı larvalar seçildi ve bütün izolatlar un kuduna karşı test edildi. İlk olarak larvalara fungal sporların ulaşması için larvaların spor gelişen kültürler üzerine (yaklaşık 4 haftalık kültürler) 1-2 dakika bırakılarak gezinmelerine izin verildi. Fungus içermeyen petrilere ise kontrol grubu olarak kullanıldı (Goettel ve Inglis, 1997). Bunu takiben larvalar yavaş bir şekilde pens ile alınarak nemli filtre kağıdı içeren plastik petrilere konuldu ve 25°C’de 10 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Besin olarak ise bayat ekmek kullanıldı. Bütün deneyler 3 defa tekrar edildi ve her tekrarda toplam 10 larva kullanıldı. İnkübasyon süresi sonunda ölü larvalar sayıldı ve yüzde ölüm değerleri hesaplandı. Yüzde mikoz değerini hesaplamak için ise ölü larvalar %1’lik sodyum hipoklorid çözeltisiyle yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 3 kez steril distile su ile yıkandı ve steril nemli filtre kağıdı içeren petrilere alındı. Fungal büyümenin görüldüğü larvalar sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı.

2.10.2. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

Patojenite testlerinde kullanılan fungal izolatların 1×10^5 spor/ml'lik stok solusyonlarından PDAY besiyeri üzerine 100 µl yayma ekim yapıldı ve 25°C'de 2-3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Büyüme periyodunun sonunda, tek koloniler seçilerek başka bir PDAY besiyerine transfer edildi ve 25°C'de 4 hafta boyunca inkübe edildi. Büyüme periyodunun sonunda, petri üzerine 10 ml steril % 0,1'lik Tween 80 eklendi ve cam baget ile kazınarak sporlar elde edildi. Spor süspansiyonları iki katlı tülbent ile 50 ml'lik steril Falkon tüplerine süzülerek misel ve agar parçalarının uzaklaştırılması sağlandı. Elde edilen süspansiyonlar 5 dak. vortekslenerek homojen hale getirildi. Spor konsantrasyonları Neubauer hemositometresi ile arzu edilen konsantrasyonlara ayarlandı.

Sporların yaşayabilirliği, 100 µl spor süspansiyonun PDAY agar üzerine yayma ekim yapılması ve 24 saatlik bir inkübasyondan sonra çimlenme özelliğinin belirlenmesiyle test edildi. Germ tüpü spor çapından büyük olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edildi. Bunun sonucunda % 95 oranında çimlenen sporlar patojenite testlerinde kullanıldı.

2.10.3. *Melolontha melolontha* (Mayıs böceği)'ya Karşı Biyotestler

Un kurdu üzerinde yüksek ölüm oranına sahip oldukları belirlenen izolatların spor süspansiyonları, son evre *M. melolontha* larvalarının patojenite testlerinde kullanıldı. Larvalar, fındık bahçelerindeki ağaç köklerinden çapa ve balta yardımıyla kazılarak toplandı ve direkt olarak laboratuara getirildi. Larvalar, toplandıktan sonra yaralı ve hastalıklı olanların elenmesi için 3 gün boyunca laboratuarda beslendi ve sağlıklı larvalar seçilerek biyotestlerde kullanıldı. Her bir tekrar için 3 larva kullanıldı. Larvalar 1×10^5 spor/ml konsantrasyondaki spor süspansiyonu içerisine 2-3 sn. batırılarak inoküle edildi. Kontrol grubu ise steril % 0,1'lik steril Tween 80 ile inoküle edildi. İnokülasyondan sonra, bütün larvalar steril kum içeren plastik kutular (25 mm) içerisine konuldu ve 20°C'de 12:12 (I:K) ışık periyodunda 15 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Bütün kutular 15.'inci günde incelenerek ölü bulunan larvalar sayıldı ve yüzde ölüm değerleri hesaplandı. Yüzde mikoz değerini hesaplamak için ise ölü larvalar %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisiyle yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 3 kez steril distile su ile yıkandı ve steril nemli filtre kağıdı içeren petrilere alındı. Sporlaşan larvalar sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı (Şekil 10). Bütün deneyler 3 defa tekrar edildi.

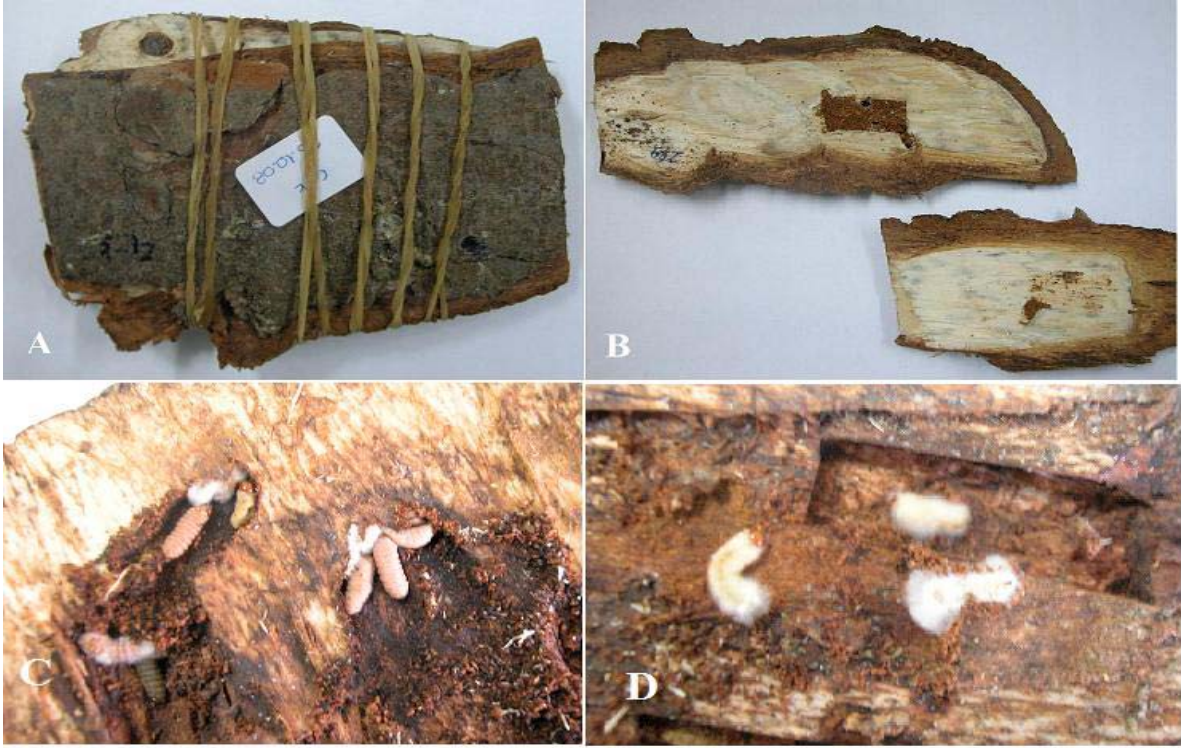


Şekil 10. *Evlachovaea* sp. KTU-36 ile enfekte olmuş son evre *M. melolontha* larvası

2.10.4. *Dendroctonus micans* (Dev soymuk böceği)'a Karşı Biyotestler

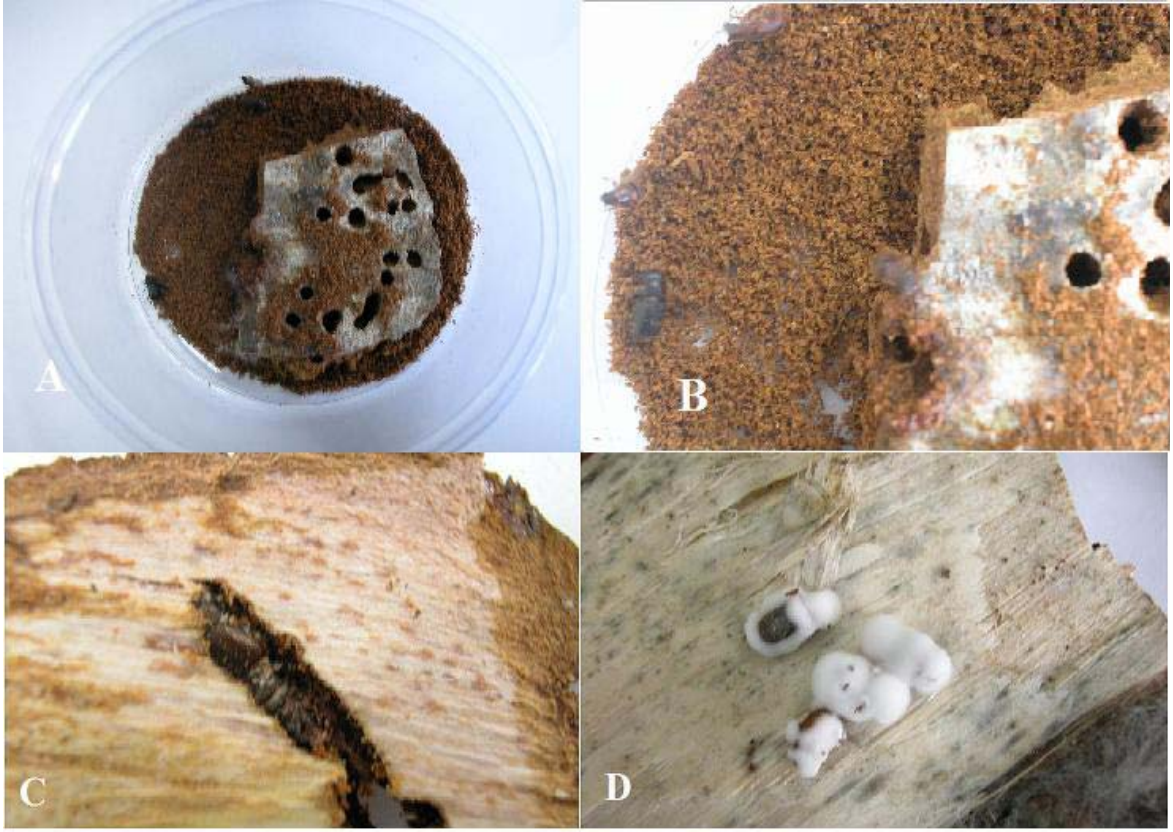
Biyotestlerde kullanılan *D. micans* larvaları ve erginleri Trabzon'un çeşitli orman bölgelerinden toplanarak laboratuara getirildi ve sağlıklı larva ve erginler seçilerek biyotestlerde kullanıldı. Spor süspansiyonları Bölüm 2.10.2.'de belirtilen şekilde hazırlandıktan sonra, konsantrasyon 1×10^6 spor/ml olacak şekilde Neubauer hemositometresi ile ayarlandı.

D. micans'ın biyotestlerinde hem larva hem de ergin böcekler kullanıldı. Larvaların biyotestlerinde, herbir tekrar için 10'ar larva kullanıldı. Larvalar 2-3 saniye için spor süspansiyonuna batırılarak yeterli miktarda sporun larvalara bulaşımı sağlandı. Kontrol grubu ise steril % 0,1'lik Tween 80 ile muamele edildi. Larvalar spor süspansiyonuna batırıldıktan sonra, ortasında kare şeklinde bir çukur oluşturulan yaş ladin kabuğunun (yaklaşık 20 mm uzunluğunda ve 10 mm eninde) içine transfer edildi. Sonra, aynı boyutta diğer bir yaş ladin kabuğu birincisinin üzerine kapatıldı ve bir arada tutunmaları açısından lastik bantla çevrildi (Şekil 11).



Şekil 11. *D. micans* larvalarının patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri ve enfekte olmuş larvalar. A: İçerisinde larvalar bulunan lastik ile sarılmış ladin kabukları. B: Ortasında kare şeklinde çukur açılan ladin kabuğu. C: Enfekte olmuş ve kabuğun içerisine girmiş larvalar. D: *Evlachovaea sp.* ile enfekte olmuş larvalar

Erginlerin biyotestlerinde 10'ar ergin böcek her bir tekrar için kullanıldı. Ergin böcekler de 2-3 sn. için spor süspansiyonuna batırılarak yeteri miktarda sporu almaları sağlandı. Kontrol grubu ise steril % 0,1'lik Tween 80 ile muamele edildi. Muamele edilen böcekler plastik bir kutu içerisine (15 mm) konuldu ve küçük bir parça ladin kabuğu da (10 mm) besin olarak kutunun içine bırakıldı. Bütün deneyler 3 defa tekrar edildi. Bu şekilde hem larva hem de erginler için biyotest düzenekleri hazırlandıktan sonra, deney düzenekleri 20°C'de 12:12 (I:K) ışık periyodunda 15 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İncelemeler 6. ve 15. günlerde yapıldı ve 6. gün sonunda ölü larvalar sayıldı ve yüzde ölüm değerleri hesaplandı (Şekil 12). Yüzde mikoz değerini hesaplamak için ise ölü bulunan larvalar ve erginler %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisi ile yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 3 kez steril distile su ile yıkandı ve steril nemli filtre kağıdı içeren petrilere alındı. Bunu takiben sporlaşan larva ve erginler sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı.



Şekil 12. *D. micans*'ın erginlerinin patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri ve enfekte ergin böcekler. A ve B: İçerisinde ergin böcekler bulunan plastik biyotest kapları. C: Enfekte olmuş ve kabuğun içerisine girmiş erginler. D: *B. bassiana* ile enfekte olmuş ergin böcekler

2.10.4.1. *Dendroctonus micans* (dev soymuk böceği)'a Karşı Doz Uygulaması

D. micans'a karşı doz uygulamasında, larva ve erginlere karşı yüksek patojenik etkiye sahip olduğu belirlenen *B. cf. bassiana* KTU-53 izolatu kullanıldı. Bu izolatin larva ve erginlere karşı virülansını belirlemek için her bir dozun her bir tekrarında 5 böcek farklı konsantrasyonlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakıldı. Spor konsantrasyonları 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor/ml olarak belirlendi. Larva ve erginler spor süspansiyonlarına 2-3 saniye süreyle daldırılarak farklı dozlara maruz bırakıldı. Daha sonra, Bölüm 2.10.4'de anlatıldığı gibi larvalar ladin kabukları arasına, erginlerde plastik kutulara konularak inkübasyona bırakıldı. Bütün deney koşulları tarama testindeki koşullarla aynı tutuldu. İnkübasyondan sonra 8 gün boyunca ölü böcekler kontrol edildi. Sekizinci gün sonunda ölüm değerleri Abbott formülüne göre anlamlandırıldı ve probit analizi ile LC_{50} değeri hesaplandı. Bütün deneyler 3 defa tekrar edildi.

2.11. Veri Analizi

Elde edilen bütün DNA dizileri BioEdit (Hall, 1999, version 7.09) programı ile düzenlendi ve NCBI GenBank'ta blastlanarak GenBank'ta yer alan diğer DNA dizileri ile yüzde benzerlikleri belirlendi. Buradan elde edilen veriler izolatların morfolojik tanımlamalarını doğrulamak için kullanıldı. DNA dizilerinin Cluster analizi aynı şekilde BioEdit programını kullanarak Clustal W programı ile yapıldı ve buradan elde edilen veriler TREECON (Van de Peer ve De Wachter, 1994, version 1.3b) filogenetik programı yardımıyla neighbor-joining (NJ) analizinde kullanıldı. Aligment boşlukları kayıp veri olarak değerlendirildi. Oluşturulan dendrogramların güvenilirliği TREECON programı kullanarak seç-bağla (bootstrap) analizi ile 1000 tekrarlı olacak şekilde test edildi.

AFLP analizi sonucunda belirlenen bantlar görsel olarak sayılarak bantların varlığı ya da yokluğu (1) ve (0) olarak kaydedildi. Bu şekilde ikili matris (binary matrix) oluşturuldu. Bu matrislerden elde edilen veriler FAMD (Fingerprint Analysis with Missing Data 1.1β) (Schlüter ve Harris, 2006) ve TREECON version 1.3b programları kullanarak analiz edildi. Fungus örnekleri arasındaki genetik benzerlikler yansız genetik farklılık (unbiased genetic distances) (Nei ve Li, 1979) ve Jaccard'ın katsayısı (Jaccard's coefficient)'na (Jaccard, 1908) göre hesaplandı. Dendrogramlar UPGMA (Aritmetik ortalamalı Ağırlıksız Çift Grup Yöntemi) metoduna göre TREECON filogenetik programı kullanarak oluşturuldu (Sokal ve Michener, 1958). Elde edilen dendrogramların güvenilirliği TREECON programı kullanılarak seç-bağla (bootstrap) analizi ile 1000 tekrarlı olacak şekilde test edildi.

Biyotestlerden elde edilen veriler Abbott formülü kullanılarak anlamlandırıldı ve aynı zamanda ölü böcekler nem bölümünde bekletilerek yüzde mikoz değerleri hesaplandı (Abbott, 1925). Elde edilen veriler SPSS 15.0 programı kullanılarak analiz edildi. Patojenite verilerinin analizinde varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. İzolatların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında Dunnett'in tek yönlü *t* testi, izolatların birbiri ile karşılaştırılmasında ise LSD çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Doz uygulaması sonucu LC₅₀ değerinin hesaplanması probit analizi ile gerçekleştirildi. Fungal izolatlar arasındaki coğrafik lokalite, habitat, farklı sıcaklıklarda ve UV muamelesinde büyüme gibi faktörler açısından farklılıkların belirlenmesinde ise Ki-kare testi kullanıldı. Ayrıca, *D. micans* larva ve ergin bireylerin fungal enfeksiyona duyarlılıkları bakımından karşılaştırılmasında da

yine Ki-kare testi kullanıldı. Aynı şekilde, doz uygulanmasında farklı dozların karşılaştırılmasında ise yine Ki-kare testi kullanıldı.

3. BULGULAR

Bu çalışma Doğu Karadeniz Bölgesi'nde entomopatojenik fungusların dağılımını belirlemek, tespit edilen fungusların tür tayinlerini yapmak ve hedef böceklerle (*Melolontha melolontha* ve *Dendroctonus micans*) karşı etkin ve güvenli biyolojik mücadele etmenleri bulmak amacıyla yapılan bir sürvey çalışmasıdır.

3.1. Entomopatojenik Fungus İzolasyonu

Planlanan doktora tez çalışmasında, Doğu Karadeniz Bölgesi'nden rastgele olarak farklı vejetasyonlardan (başlıca fındık, çay ve orman arazilerinden) alınan 301 adet toprak örneği ve çeşitli vejetasyonlarda zarar yapan *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae), *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), *Rhynchites baccus* (Coleoptera: Rhynchitidae), *Malacosoma americanum* (Lepidoptera: Lasiocampidae) ve *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae) gibi zararlılar entomopatojenik fungus varlığı yönünden incelendi. Toprak örnekleri laboratuara getirilerek *Galleria* tuzak yöntemi ile entomopatojenik fungus izolasyonu yapıldı. Bunun sonucunda 62 adet toprak örneğinden fungus izolasyonu yapıldı (%20,59). İzolatların lokalite, vejetasyon, izole edildikleri toprağın nem içeriği, spor morfolojileri ve toprak alım tarihleri Tablo 7'de verilmektedir. Ayrıca, *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) ve *Rhynchites baccus* (L.) böcek örneklerinden de birer adet fungus izolasyonu yapıldı.

Tablo7. Entomopatojenik fungus izolatlarının morfolojik tür tayinleri ve etiket özellikleri

İzolat	Tür	Yer		Toprak nemi (%)	Vejetasyon	Spor Morfolojisi (B/E)*	Örnekleme zamanı
		İl	İlçe				
KTU-2	M.a.v.a	Rize	Ardeşen	37,07	Çay	2,45	13.07.2006
KTU-3	M.a.v.a	Rize	Derepazarı	29,66	Çay	2,26	13.07.2006
KTU-4	M.a.v.a	Rize	Derepazarı	38,57	Çay	2,45	13.07.2006
KTU-6	M.a.v.a	Rize	Derepazarı	27,73	Çay	2,75	13.07.2006
KTU-10	M.a.v.a	Ordu	Center	25,54	Fındık	2,18	22.07.2006
KTU-12	M.a.v.a	Ordu	Perşembe	26,38	Fındık	2,61	22.07.2006

Tablo 7'nin devamı

KTU-14	M.a.v.a	Trabzon	Sürmene	31,89	Çam, Kestane	2,19	03.08.2006
KTU-15	M.a.v.a	Artvin	Borçka	14,74	Fındık, ceviz	2,32	16.09.2006
KTU-18	M.a.v.a	Artvin	Murgul	21,3	Çimen	2,61	16.09.2006
KTU-19	M.a.v.a	Artvin	Murgul	15,88	Kızılağaç	2,88	16.09.2006
KTU-20	M.a.v.a	Artvin	Camili	28,58	Mısır	2,3	16.09.2006
KTU-21	M.a.v.a	Artvin	Borçka	32,55	Fındık	2,42	16.09.2006
KTU-26	M.a.v.a	Rize	Kalkandere	12,5	Çimenlik	2,37	13.04.2007
KTU-27	M.a.v.a	Rize	İkizdere	12	Çay	2,3	13.04.2007
KTU-28	M.a.v.a	Rize	İkizdere	14	Kızılağaç	2,46	13.04.2007
KTU-29	M.a.v.a	Rize	Güneysu	14,28	Çay	2,65	13.04.2007
KTU-30	M.a.v.a	Trabzon	Çaykara	16	Çimenlik	2,91	13.04.2007
KTU-31	M.a.v.a	Ordu	Bolaman	21,83	Çimenlik	2,45	22.07.2006
KTU-32	M.a.v.a	Ordu	Bolaman	25,14	Fındık	1,88	22.07.2006
KTU-34	M.a.v.a	Ordu	Fatsa	47,42	Çimenlik	2,56	22.07.2006
KTU-37	M.a.v.a	Giresun	Görele	14	Fındık	2,16	13.03.2007
KTU-39	M.a.v.a	Ordu	Ulubey	23	Fındık	2,23	20.03.2007
KTU-40	M.a.v.a	Trabzon	Akçaabat	9,5	Lahana	2,36	13.04.2007
KTU-41	M.a.v.a	Rize	Kalkandere	17,5	Çay	2,63	13.04.2007
KTU-44	M.a.v.a	Trabzon	Of	17,5	Fındık	2,67	13.04.2007
KTU-45	M.a.v.a	Trabzon	Of	13	Fındık	3,04	13.04.2007
KTU-46	M.a.v.a	Rize	Güneysu	9,43	Çay	2,39	13.04.2007
KTU-47	M.a.v.a	Rize	Güneysu	8,6	Çay	2,89	13.04.2007
KTU-48	M.a.v.a	Trabzon	Of	15	Çay	2,94	13.04.2007
KTU-49	M.a.v.a	Rize	Hemşin	16,2	Çay	2,46	13.04.2007
KTU-51	M.a.v.a	Gümüşhane	Merkez	11,6	Elma	2,45	04.06.2007
KTU-54	M.a.v.a	Bayburt	Çalidere	14,8	Kavak	2,65	07.07.2007
KTU-58	M.a.v.a	Bayburt	Merkez	13,6	Sebze	2,39	07.07.2007
KTU-60	M.a.v.a	Gümüşhane	Merkez	18,9	Sebze	2,79	07.07.2007
KTU-9	M	Ordu	Perşembe	9,12	Kavak	2,84	22.07.2006
KTU-7	B.b	Trabzon	Yomra	28,72	Fındık	3,16±0,15*	17.07.2006
KTU-8	B.b	Ordu	Bolaman	28,06	Çimenlik	2,82±0,2	22.07.2006
KTU-11	B.b	Ordu	Bolaman	17,82	Çimenlik	2,93±0,24	22.07.2006
KTU-17	B.b	Artvin	Borçka	16,63	Fındık	3,28±0,23	16.09.2006
KTU-22	B.b	Artvin	Borçka	17,56	Lahana	3,12±0,29	16.09.2006
KTU-23	B.b	Rize	Hemşin	27,56	Çay	3,18±0,33	16.09.2006
KTU-25	B.b	Ordu	Ünye	15,21	Fındık	2,93±0,18	21.03.2007
KTU-38	B.b	Ordu	Ulubey	23	Fındık	3,26±0,23	20.03.2007
KTU-50	B.b	Gümüşhane	Merkez	12,5	Elma	3,09±0,28	04.06.2007
KTU-52	B.b	Gümüşhane	Merkez	15,9	Sebze	3,3±0,3	04.06.2007
KTU-56	B.b	Gümüşhane	Merkez	8,4	Elma	3,36±0,29	07.07.2007

Tablo 7'nin devamı

KTU-59	B.b	Gümüşhane	Merkez	10,2	Elma	3,39±0,4	07.07.2007
KTU-62	B.b	Bayburt	Merkez	7,1	Kavak	3,8±0,3	07.07.2007
KTU-24	B.b	Samsun	Merkez	–	Çam	3,45±0,25	08.12.2007
KTU-57	B.b	Gümüşhane	Merkez	–	Elma	3,76±0,25	07.07.2007
KTU-53	B.cf.b	Gümüşhane	Merkez	9,5	Çimenlik	3,03±0,39	07.07.2007
KTU-55	B.cf.b	Bayburt	Aşkale	6,4	Meşe	3,14±0,29	07.07.2007
KTU-61	B.cf.b	Gümüşhane	Top geçiti	8,4	Çimen	3,51±0,38	07.07.2007
KTU-63	B.cf.b	Bayburt	Merkez	6,8	Çalı	3,25±0,28	07.07.2007
KTU-64	B.cf.b	Gümüşhane	Top geçiti	7,4	Çimenlik	3,3±0,3	07.07.2007
KTU-1	I.f	Trabzon	Yomra	40,95	Fındık	3,91±0,26	13.07.2006
KTU-5	I.f	Rize	Derepazarı	38,57	Çay	3,64±0,27	13.07.2006
KTU-42	I.f	Rize	İkizdere	12	Çay	3,67±0,27	13.04.2007
KTU-13	I.f	Giresun	Keşap	33,21	Fındık	4,03±0,31	23.07.2006
KTU-16	I.f	Artvin	Muratlı	21,4	Mısır	3,98±0,41	16.09.2006
KTU-33	E. sp	Giresun	Keşap	26,5	Fındık	BY***	23.07.2006
KTU-35	E. sp	Ordu	İkizce	15,3	Meşe, kestane	BY	21.03.2007
KTU-36	E. sp	Ordu	İkizce	10,6	Meşe, kestane	BY	21.03.2007
KTU-43	E. sp	Ordu	Gürgentepe	11,4	Fındık	BY	20.03.2007

M.a.v.a; *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, B.b; *Beauveria bassiana*, B.cf.b; *Beauveria cf. bassiana*, I.f; *Isaria fumosorosea*, E.sp; *Evlachovaea* sp.

* B/E (Boy/En) oranı yalnızca *Metarhizium* sp. türleri için kullanılmıştır.

** Spor uzunluğu, ± standart sapma

*** Bilgi yok

On yedi fungal izolat fındık bahçelerinden, 14 izolat çay bahçelerinden ve 31 izolat diğer vejetasyonlardan (çayırılık, çimen, kavak, kestane, mısır vb.) izole edildi (Tablo 8). Bunun haricinde 2 fungal izolat da böcek örneklerinden elde edildi. Böylece morfolojik tür tayinine göre 4 farklı cinse ve türe ait toplam 64 fungus izolat tanımlandı. *M. anisopliae* var. *anisopliae* en yaygın fungus türü olup toplam izolatların % 53,13'ünü oluşturmaktadır. Bunu sırası ile *B. bassiana* (% 23,43), *B. cf. bassiana* (% 7,8), *Isaria fumosorosea* (% 7,8), *Evlachovaea* sp. (% 6,25) ve *Metarhizium* sp. (% 1,56) izlemektedir. Fungus izolasyonu yapılan toprak örneklerinin nem içeriği % 6,4 ile % 47,42 arasında değişmektedir.

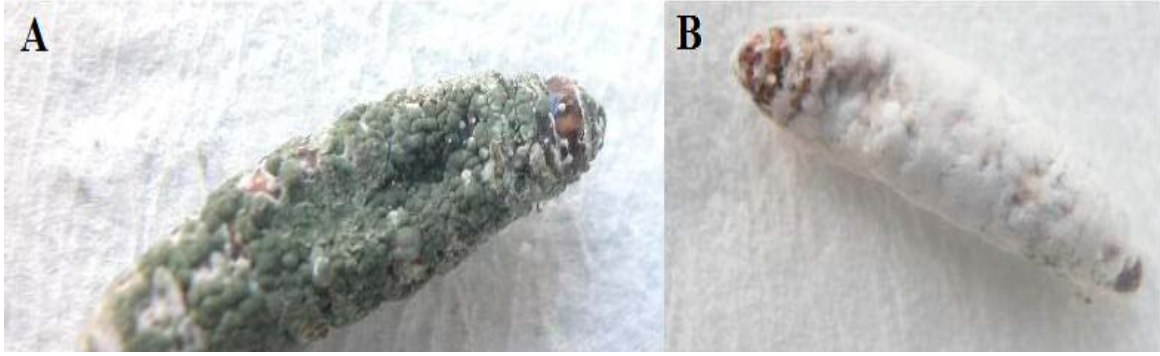
Tablo 8. Entomopatojenik fungusların Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki habitat tipine göre dağılım oranları

Habitat	Toprak örnek sayısı	Habitat tipine göre fungal izolatların dağılım yüzdesi					
		M.a.v.a	B.b	B. cf.b	I.f	E.sp	M.sp
Fındık	88	10	4,5	0	2,3	2,3	0
Çay	36	30,5	2,7	0	5,5	0	0
Orman	64	6,25	1,5	1,5	0	3,1	1,7
Çayır	29	17	6,9	10,3	0	0	0
Sebze	38	7,8	5,3	0	0	0	0
Meyve bahçesi	11	9	27,3	0	0	0	0
Mısır	15	6,6	0	0	6,6	0	0
Diğerleri	20	0	0	5	0	0	0
Toplam izolat sayısı	301	11,3	4,3	1,7	1,7	1,3	0,3

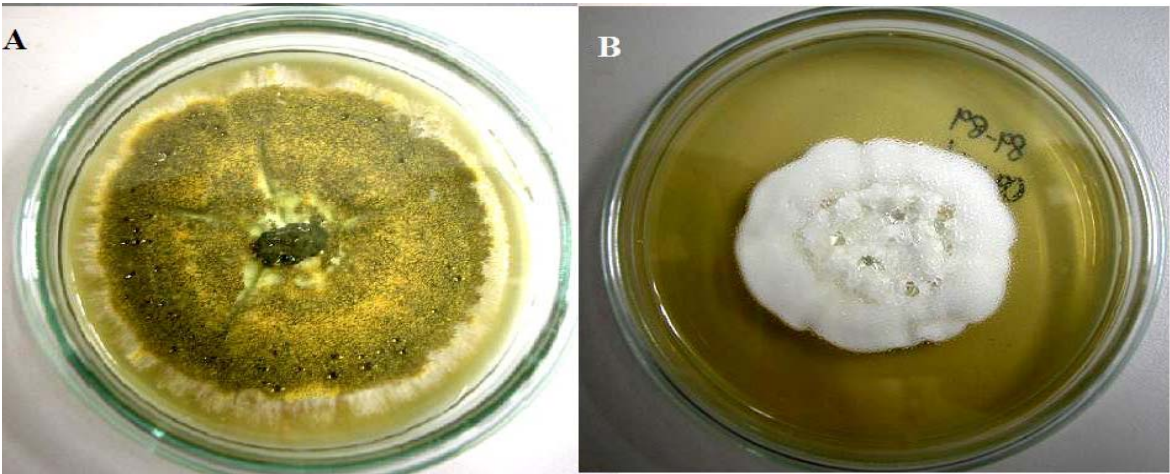
M.a.v.a; *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, B.b; *Beauveria bassiana*, B. cf.b; *Beauveria cf. bassiana*; I.f; *Isaria fumosorosea*; E. sp; *Evlachovaea* sp., M. sp.; *Metarhizium* sp.

3.2. İzolatların Morfolojik Tür Tayinleri

İzole edilen fungal örnekler ilk olarak böceklerde meydana gelen enfeksiyon şekline göre değerlendirildi. Buna göre, enfeksiyon sonucunda böcekleri saran beyaz renkli misel yapının oluşması kabaca *Beauveria* ve *Evlachovaea* enfeksiyonu, yeşil renkli misel oluşumu *Metarhizium* enfeksiyonu ve pembe renkli misel oluşumu ise *Isaria* veya *Paecilomyces* enfeksiyonu olarak değerlendirildi (Şekil 13; 14). Bunun haricinde izolatların agar besiyerinde meydana getirdikleri koloni morfolojileri de aynı şekilde değerlendirildi.

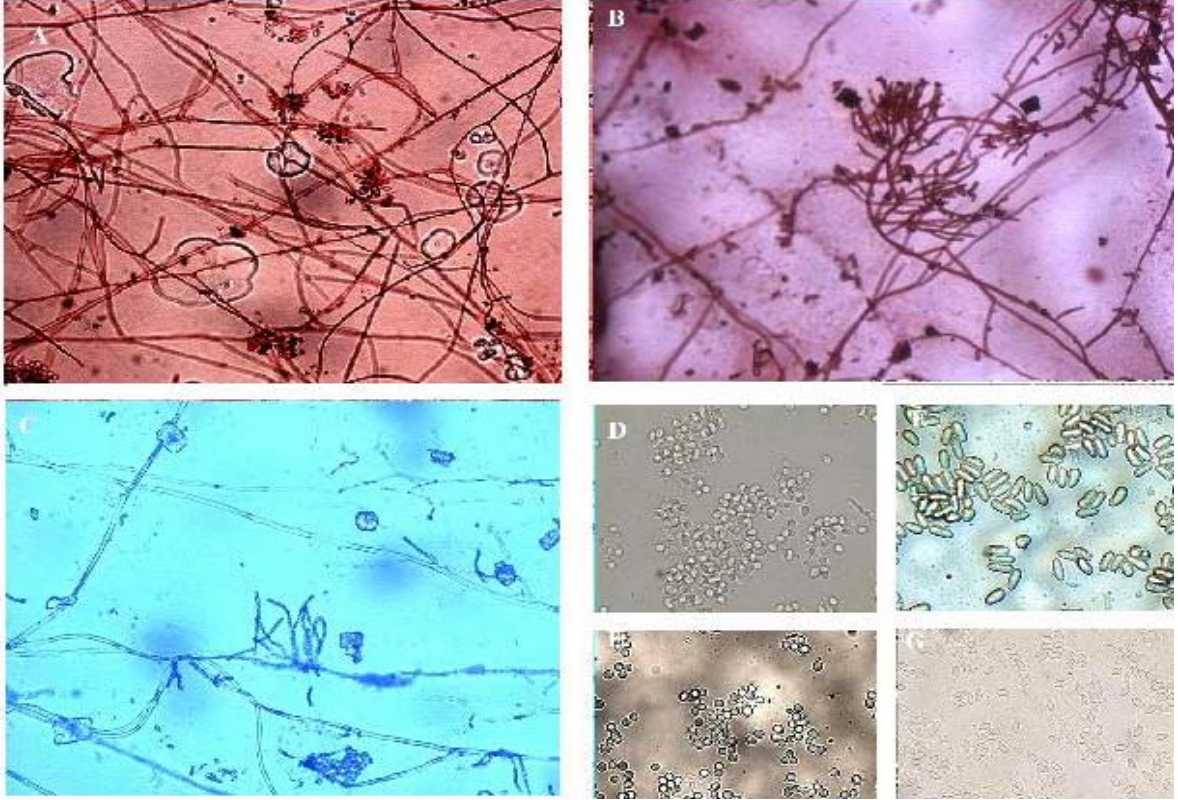


Şekil 13. Bazı entomopatojenik fungusların *Galleria mellonella* larvalarında meydana getirdikleri enfeksiyon. A: *M. anisopliae* var. *anisopliae* enfeksiyonu. B: *B. bassiana* enfeksiyonu



Şekil 14. Bazı entomopatojenik fungusların koloni morfolojileri. A: *M. anisopliae* var. *anisopliae*. B: *B. bassiana*

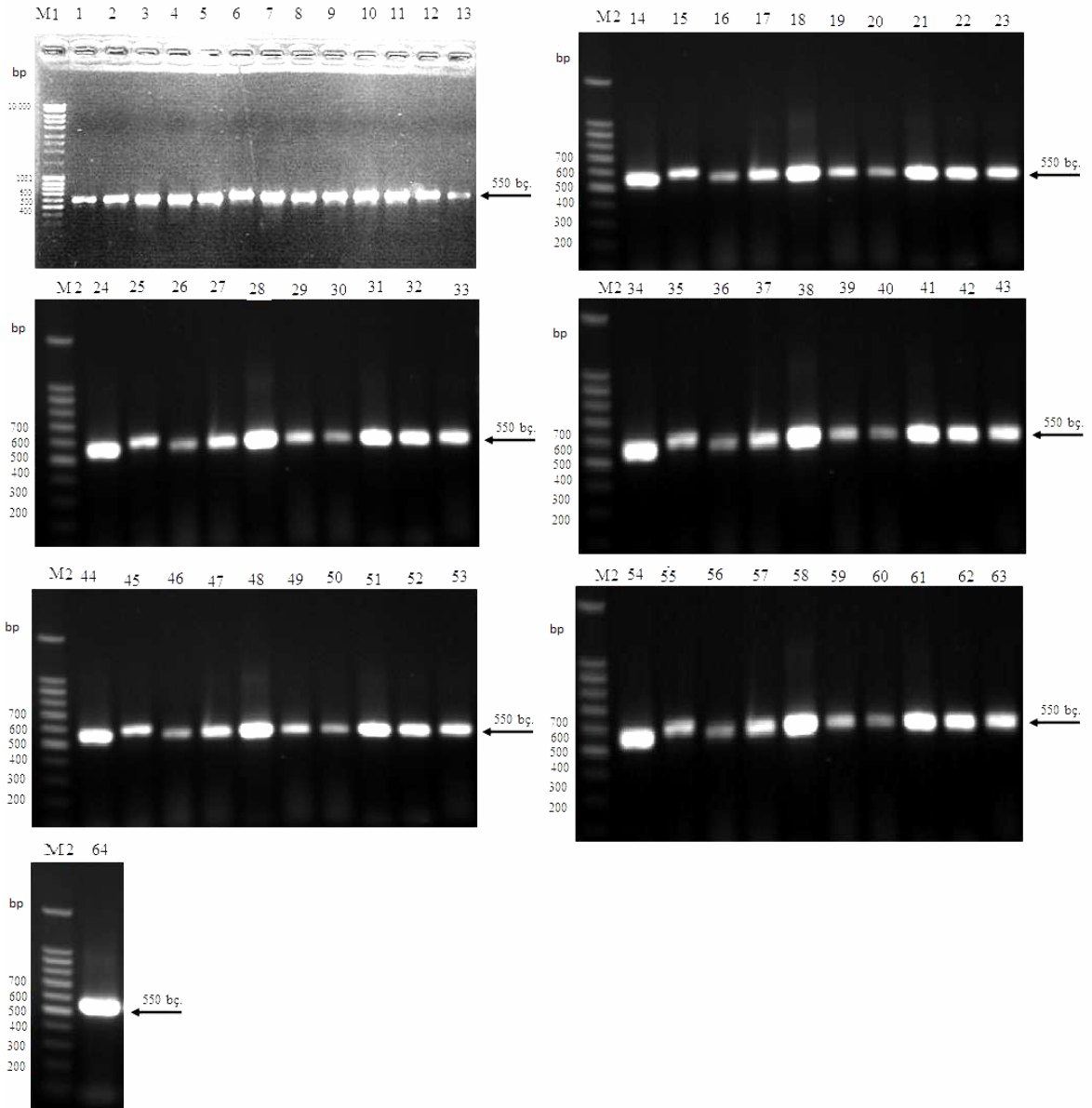
İzolatların mikroskopik yapıları (spor, fiyalid, konidioforlar vb.) ‘Scotch tape’ ve ‘Slide mounts’ tekniklerine göre hazırlanan preparatların 40X’ lik objektifte incelenmesiyle sağlandı (Şekil 15). Bunun sonucunda elde edilen veriler ile ‘Entomopatojenik Fungal Identifikasyon’ isimli teşhis anahtarı (Humber, 1997) kullanılarak morfolojik olarak tür tayinleri yapıldı. İzolatların morfolojik tür tayinlerini doğrulamak açısından bütün örnekler bu konuda uzman bir araştırmacı olan Dr. Richard Humber’a (USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungi, Ithaca, NY, USA) gönderilip, teyit edildi. Fungusların birer örneğinde ARSEF’de stoklandı.



Şekil 15. Çeşitli entomopatojenik fungusların mikroskobik yapıları ve sporları. A: *B. bassiana*'nın konidioforları. B: *M. anisopliae* var. *anisopliae*'nin miselleri ve konidiofor yapıları. C: *I. fumosoroseus*'ün konidioforları. D: *Evlachovaea*'nın sporları. E: *M. anisopliae* var. *anisopliae* sporları. F: *B. bassiana* sporları. G: *I. fumosorosea* sporları

3.3. İzolatların Moleküler Karakterizasyonları

Fungal izolatların moleküler karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesi amacıyla *B. bassiana* izolatları için ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesinin yaklaşık olarak 571 bp'lik, *Metarhizium* izolatları için yaklaşık 495 bp'lik, *Isaria* izolatları için yaklaşık 526 bp'lik ve *Evlachovaea* sp. izolatları için yaklaşık 611 bp'lik gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Elde edilen bantlar Şekil 16'da gösterilmektedir. Daha sonra PCR ürünleri QIAquick kiti ile saflaştırılarak DNA dizi analizi yapıldı.



Şekil 16. Entomopatojenik fungus izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M1: MassRuler™ DNA marker, M2: 100 bp DNA ladder 1: KTU-1, 2: KTU-3, 3: KTU-4, 4: KTU-6, 5: KTU-10, 6: KTU-12, 7: KTU-14, 8: KTU-15, 9: KTU-18, 10: KTU-19, 11: KTU-20, 12: KTU-21, 13: KTU-26, 14: KTU-27, 15: KTU-28, 16: KTU-29, 17: KTU-30, 18: KTU-31, 19: KTU-32, 20: KTU-34, 21: KTU-37, 22: KTU-39, 23: KTU-40, 24: KTU-41, 25: KTU-44, 26: KTU-45, 27: KTU-46, 28: KTU-47, 29: KTU-48, 30: KTU-49, 31: KTU-51, 32: KTU-54, 33: KTU-58, 34: KTU-60, 35: KTU-9, 36: KTU-7, 37: KTU-8, 38: KTU-11, 39: KTU-17, 40: KTU-22, 41: KTU-23, 42: KTU-25, 43: KTU-38, 44: KTU-50, 45: KTU-52, 46: KTU-56, 47: KTU-59, 48: KTU-62, 49: KTU-24, 50: KTU-57, 51: KTU-53, 52: KTU-55, 53: KTU-61, 54: KTU-63, 55: KTU-64, 56: KTU-1, 57: KTU-5, 58: KTU-42, 59: KTU-13, 60: KTU-16, 61: KTU-33, 62: KTU-35, 63: KTU-36, 64: KTU-43

Elde edilen ITS DNA dizileri NCBI GenBank'ta blastlanarak izolatların GenBank'ta yer alan diğer entomopatojenik fungus türleri ile yüzde benzerlik oranları belirlendi. Morfolojik olarak *M. anisopliae* var. *anisopliae* olarak tanımlanan 34 adet ve *Metarhizium* sp. olarak tanımlanan 1 adet izolatın GenBank'daki izolatlarla karşılaştırılması sonucu KTU-9 hariç bütün izolatların % 99 oranında *M. anisopliae*'ye benzediği belirlendi (Tablo 9). *Metarhizium* sp. KTU-9 izolatı morfolojik olarak *M. anisopliae* var. *anisopliae* olarak tanımlanmasına rağmen, bu izolatın *M. anisopliae* var. *anisopliae*'ye % 96 oranında benzediği belirlendi (Tablo 9).

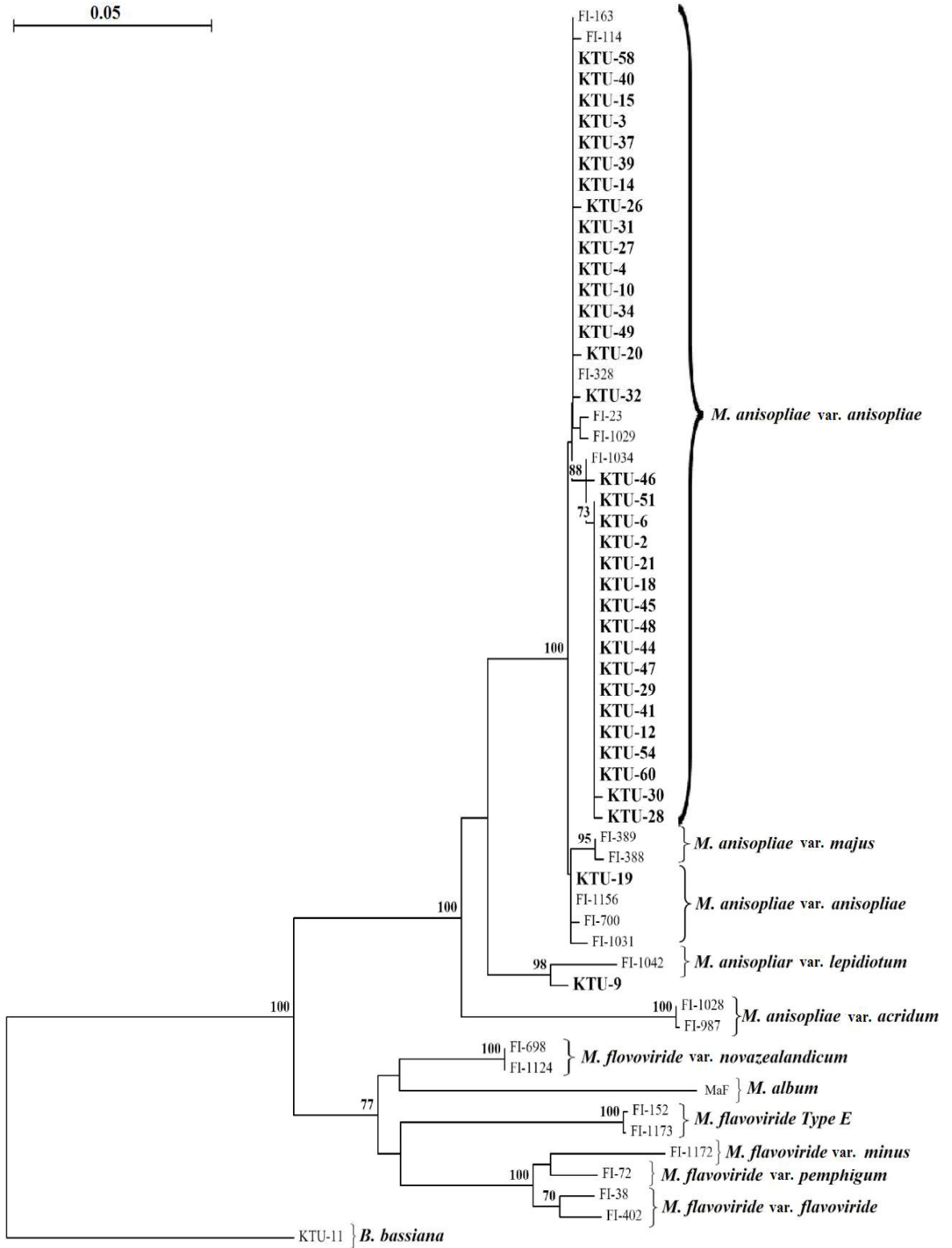
M. anisopliae var. *anisopliae* izolatlarının taksonomik pozisyonlarını daha iyi belirlemek için elde edilen ITS dizileri filogenetik analizlerde kullanıldı. Bunun için Doğu Karadeniz Bölgesi'nden elde edilen izolatlar ile *Metarhizium* genusunun son taksonomik revizyonunun yer aldığı, Driver vd. (2000)'leri tarafından yapılan çalışmadaki *Metarhizium* izolatları karşılaştırıldı (Ek tablo-1). ITS dizisine göre yapılan filogenetik ağaçta morfolojik olarak *M. anisopliae* var. *anisopliae* olarak tanımlanan 35 tane izolatın taksonomik pozisyonları görülmektedir (Şekil 17). Bu filogenetik analize göre KTU-9 hariç diğer bütün izolatlar *M. anisopliae* var. *anisopliae* ile yüksek oranda benzerlik gösterdi. KTU-9 izolatı ise herhangi bir *Metarhizium* türü ile benzerlik göstermedi.

Tablo 9. *M. anisopliae* var. *anisopliae* ve *Metarhizium* sp. izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre önerilen tür tayinleri

İzolat	ITS1-5.8S-ITS2 gen dizisi	ITS1-5.8S-ITS2 gen benzerliği	GenBank Kayıt numaraları
KTU-2	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-3	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-4	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 212	%99	EU307885
KTU-6	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat K5	%99	EU307921
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat I5	%99	EU307920
KTU-10	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 212	%99	EU307885
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
KTU-12	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 181	%99	EU307897
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 112	%99	EU307890
KTU-14	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> suş ARSEF1046	%99	AY646382
KTU-15	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 205	%99	EU307904
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-18	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat GMX25.1-4	%99	EU307918
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 181	%99	EU307897

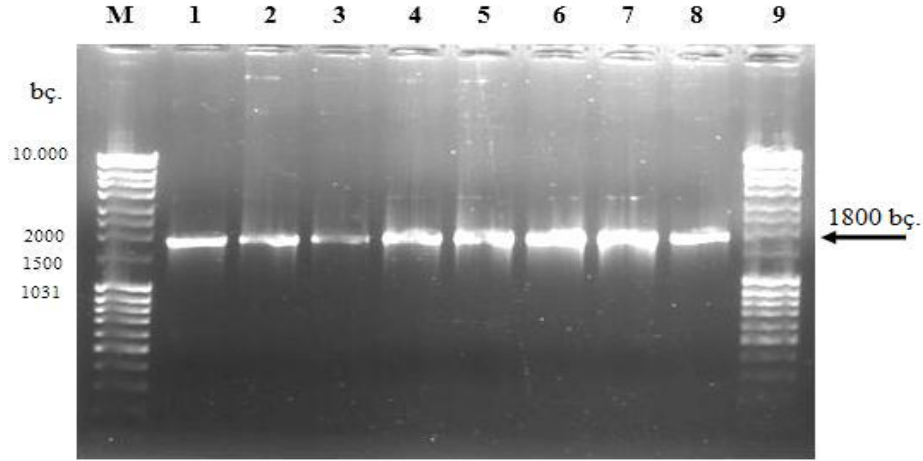
Tablo 9'un devamı

KTU-19	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 211	%99	EU307909
	<i>M. anisopliae</i> suş NHJ5858	%99	AY646369
KTU-20	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-21	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat GBX10	%99	EU307915
KTU-26	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-27	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-28	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat H1	%99	EU307919
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
KTU-29	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-30	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX4	%99	EU307928
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
KTU-31	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-32	<i>M. anisopliae</i> suş NHJ6195	%99	AY646393
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 211	%99	EU307909
KTU-34	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-37	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-39	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-40	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-41	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-44	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-45	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-46	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 186	%99	EU307900
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 149	%99	EU307894
KTU-47	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-48	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-49	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-51	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-54	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-58	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%99	EU307926
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> suş LRC 207	%99	EU307906
KTU-60	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat SMX28.2-2	%99	EU307931
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat P3	%99	EU307924
KTU-9	<i>M. anisopliae</i> suş xsd08103	%96	FJ481014
	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> izolat Q2	%96	EU307926



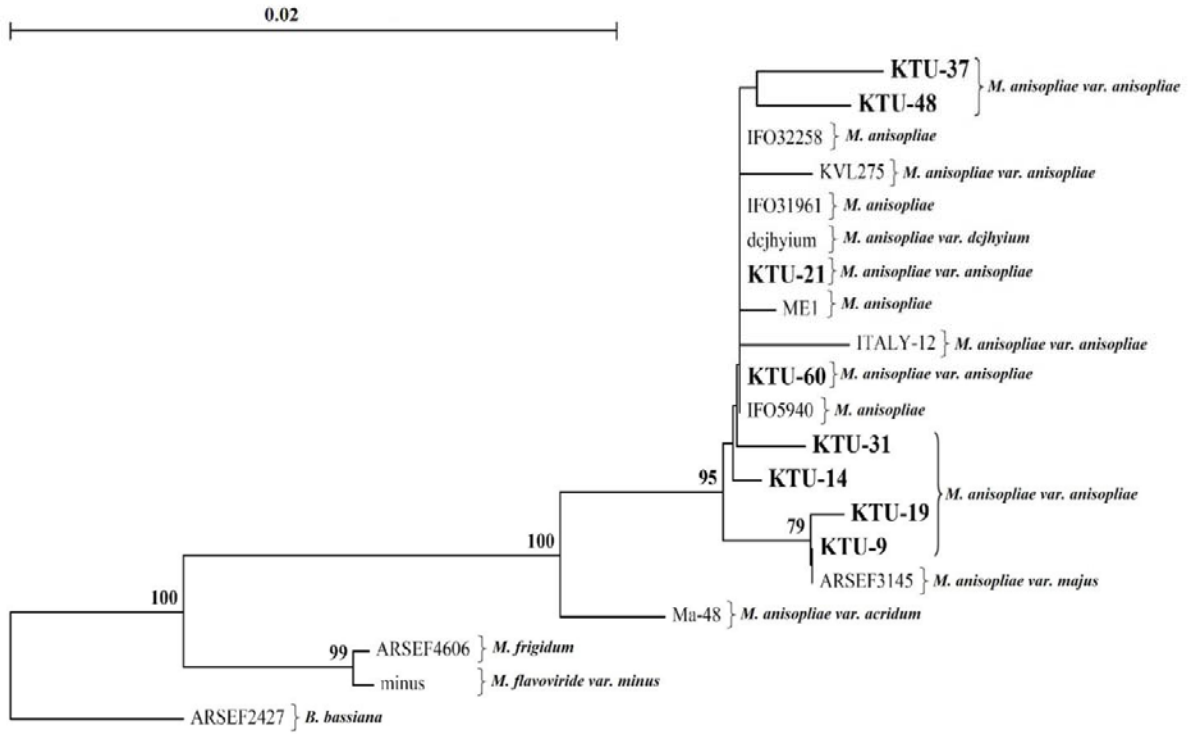
Şekil 17. *Metarhizium* izolatları ile Driver vd. (2000)'lerinin çalışmasında kullanılan *Metarhizium* türlerinin ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. *B. bassiana* KTU-11 dış grup olarak kullanıldı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi

ITS dizisine göre tür tanımlaması yapılamayan KTU-9 izolatının tür tayininin yapılabilmesi amacıyla, ilave olarak 18S SSU rRNA gen bölgesinin yaklaşık ilk 1800 bp'lik bölgesi *Metarhizium* sp. KTU-9, *M. anisopliae* var. *anisopliae* KTU-14, KTU-19, KTU-21, KTU-31, KTU-37, KTU-48 ve KTU-60 izolatları için spesifik primerler kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. Elde edilen bantlar Şekil 18'de gösterilmektedir. Daha sonra PCR ürünleri QIAquick kiti ile saflaştırılarak DNA dizi analizi yapıldı.



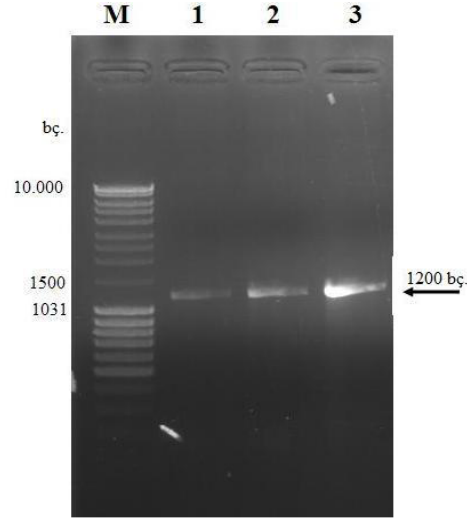
Şekil 18. Bazı *Metarhizium* izolatlarının rRNA 18S SSU gen bölgesinin ilk 1800 bp'nin PCR ile çoğaltılması. M: MassRuler™ DNA marker, 1: KTU-9. 2: KTU-21. 3: KTU-60. 4: KTU-37. 5: KTU-14. 6: KTU-31. 7: KTU-19. 8: KTU-48

Elde edilen DNA dizileri GenBank'ta yer alan diğer *Metarhizium* türleri ile karşılaştırıldı. Bunun sonucunda KTU-9 izolatu *M. anisopliae* ile %98 oranında benzerlik gösterdiği tespit edildi. Ayrıca, 18S SSU rRNA gen dizileri GenBank'tan indirilen *Metarhizium* türlerine ait diğer 18S gen dizileri ile karşılaştırılarak, KTU-9 izolatının *Metarhizium* genusu içerisindeki filogenetik ilişkisi belirlendi (Şekil 19). Yapılan bu filogenetik analize göre, KTU-9 izolatının *M. anisopliae* var. *majus*'a önemli ölçüde benzer olduğu belirlendi.

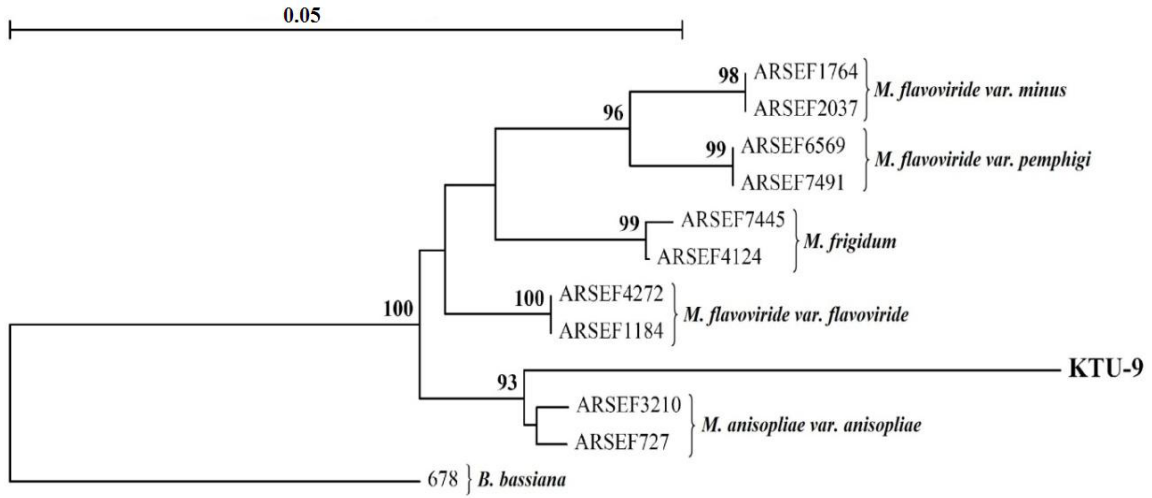


Şekil 19. *M. anisopliae* var. *anisopliae* ve *Metarhizium* sp. KTU-9 izolatlarının 18S SSU rRNA dizisine göre GenBank'tan indirilen *Metarhizium* türleri ile taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. *B. bassiana* ARSEF2427 dış grup olarak kullanıldı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi

Driver vd. (2000), *Metarhizium* ile ilgili yaptıkları moleküler revizyonda *M. frigidum*'u çalışmalarına dahil etmemişlerdir. Bu nedenle, ITS dizisine göre tür tayini yapılamayan, 18S SSU gen dizilerine göre ise *M. anisopliae* var. *majus*'a benzer olduğu tespit edilen izolat KTU-9'un daha ayrıntılı karakterizasyonunu yapmak ve *M. frigidum* ile karşılaştırmak için Bischoof vd. (2006)'nin çalışmalarında kullandıkları ve *M. frigidum*'u da içeren *Metarhizium* izolatları ile KTU-9 izolatı karşılaştırıldı. Bunun için EF1- α gen bölgesinin yaklaşık ilk 1200 bp'lik bölgesi dejenerat primerler kullanılarak PCR ile çoğaltıldı (Şekil 20). Elde edilen PCR bantlarına DNA dizi analizi yapıldı ve GenBank'ta blastlanması sonucu KTU-9 izolatının *M. anisopliae* var. *lepidotae* ile % 97 oranında benzer olduğu bulundu. Bischoff vd. (2006)'lerinin çalışmasında kullanılan *Metarhizium* türleri ile filogenetik analizleri sonucunda ise KTU-9 hiç bir *Metarhizium* türü ile benzerlik göstermediği belirlendi (Şekil 21).



Şekil 20. İzolat KTU-9 ve bazı *B. bassiana*, *B. cf. bassiana* izolatlarının EF1- α gen bölgesinin ilk 1200 bp'nin PCR ile çoğaltılması. M: MassRuler™ DNA marker, 1: KTU-9, 2: KTU-63, 3: KTU-55



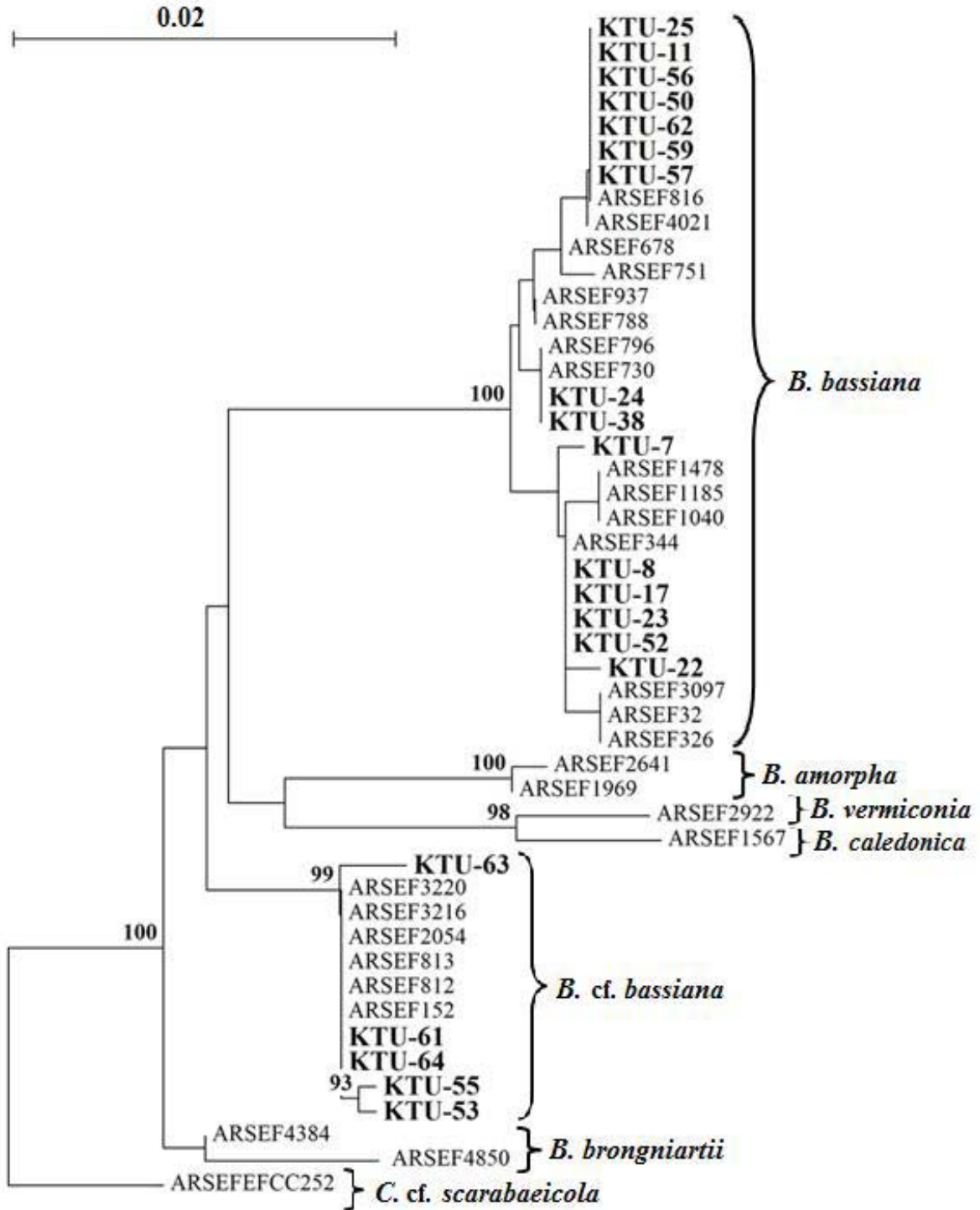
Şekil 21. *Metarhizium* KTU-9 ile GenBank'tan indirilen *Metarhizium* türlerinin EF1- α gen bölgesinin ilk 1200 bp'lik dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. *B. bassiana* 678 dış grup olarak kullanılmıştır. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtilmektedir

Morfolojik bakımdan *B. bassiana* olarak tanımlanan 20 adet izolatin morfolojik karakterizasyonlarını doğrulamak açısından bu izolatların ITS bölgesinin DNA dizi analizi yapıldı ve NCBI GenBank'ta blastlanarak GenBank'ta yer alan diğer *Beauveria* türleri ile karşılaştırılarak tür tayinleri doğrulandı. Buna göre, bütün izolatların %99 oranında *B. bassiana* ile homoloji gösterdiği belirlendi (Tablo 10). İlave olarak elde edilen izolatların

Beauveria cinsi içerisindeki taksonomik pozisyonunu göstermek açısından, bu çalışmada elde edilen *Beauveria* izolatları ile Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmalarında kullanılan *Beauveria* türlerinin karşılaştırılması yapıldı (Ek tablo-1). ITS dizisine göre yapılan N-J ağacında 15 izolat *B. bassiana* ile benzerlik göstermesine rağmen, 5 izolat Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmalarında tanımladıkları ve Clade C olarak isimlendirdikleri *B. cf. bassiana* izolatları ile benzerlik gösterildi (Şekil 22).

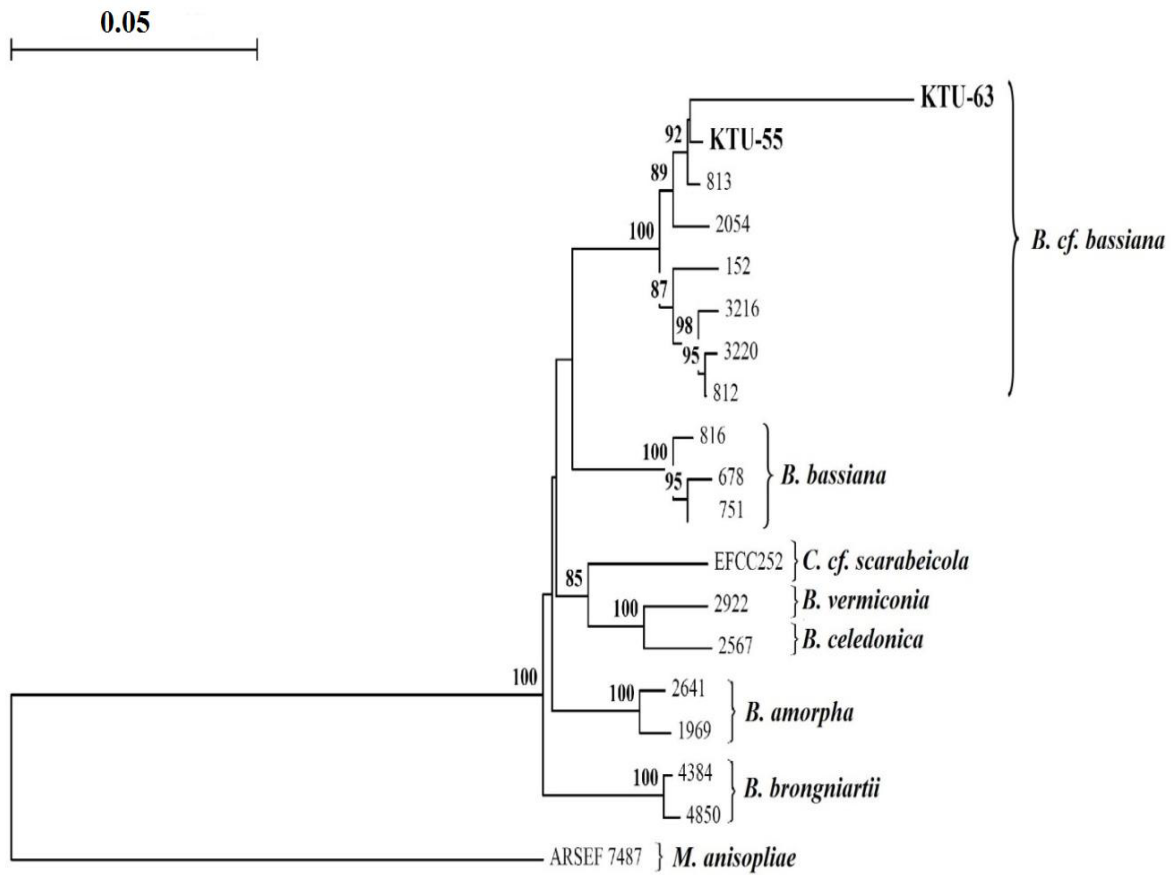
Tablo 10. *Beauveria* izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri

İzolat	ITS1-5.8S-ITS2 gen dizisi	ITS1-5.8S-ITS2 gen benzerliği	GenBank Kayıt numaraları
KTU-7	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 681	%99	AY532038
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 344	%99	AY532023
KTU-8	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 681	%99	AY532038
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 344	%99	AY532023
KTU-11	<i>Beauveria bassiana</i> izolat DAOM210087	%99	EU334678
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat 816	%99	AY532053
KTU-17	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 681	%99	AY532038
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 344	%99	AY532023
KTU-22	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 681	%99	AY532038
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 344	%99	AY532023
KTU-23	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 681	%99	AY532038
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 344	%99	AY532023
KTU-25	<i>Beauveria bassiana</i> isolate DAOM210087	%99	EU334678
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 816	%99	AY532053
KTU-38	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 843	%99	AY532055
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 842	%99	AY532054
KTU-50	<i>Beauveria bassiana</i> izolat DAOM210087	%99	EU334678
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat 816	%99	AY532053
KTU-52	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 681	%99	AY532038
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 344	%99	AY532023
KTU-56	<i>Beauveria bassiana</i> izolat DAOM210087	%99	EU334678
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat 816	%99	AY532053
KTU-59	<i>Beauveria bassiana</i> izolat DAOM210087	%99	EU334678
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat 816	%99	AY532053
KTU-62	<i>Beauveria bassiana</i> izolat DAOM210087	%99	EU334678
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat 816	%99	AY532053
KTU-24	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 843	%99	AY532055
	<i>Beauveria bassiana</i> isolate 842	%99	AY532054
KTU-57	<i>Beauveria bassiana</i> izolat DAOM210087	%99	EU334678
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat 816	%99	AY532053
KTU-53	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W6A	%99	GQ354268
	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W4A	%99	GQ354267
KTU-55	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W6A	%99	GQ354268
	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W4A	%99	GQ354267
KTU-61	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W6A	%99	GQ354268
	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W4A	%99	GQ354267
KTU-63	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W6A	%99	GQ354268
	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W4A	%99	GQ354267
KTU-64	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W6A	%99	GQ354268
	<i>Beauveria</i> sp. JS-2009a izolat W4A	%99	GQ354267



Şekil 22. *Beauveria* izolatları ile Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmasında kullanılan *Beauveria* türlerinin ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. *M. anisopliae* KTU-49 dış grup olarak kullanıldı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi

B. cf. bassiana izolatlarının taksonomik pozisyonlarından dolayı, bu izolatların daha detaylı karakterizasyonu için KTU-55 ve KTU-63 izolatlarının EF1- α gen bölgesinin ilk 1200 bp'lik kısmına DNA dizi analizi yapıldı. Elde edilen DNA dizileri Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmasında kullanılan diğer *Beauveria* türleriyle karşılaştırılmada kullanıldı (Ek tablo-1). Elde edilen N-J ağacına göre KTU-55 izolatı *B. cf. bassiana* ile yüksek oranda benzerlik göstermektedir. KTU-63 izolatı *B. cf. bassiana* izolatından biraz farklılık göstermesine rağmen, Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmalarında kullandıkları *B. cf. bassiana* izolatları ile tanımlı oldukları görülmektedir (Şekil 23).

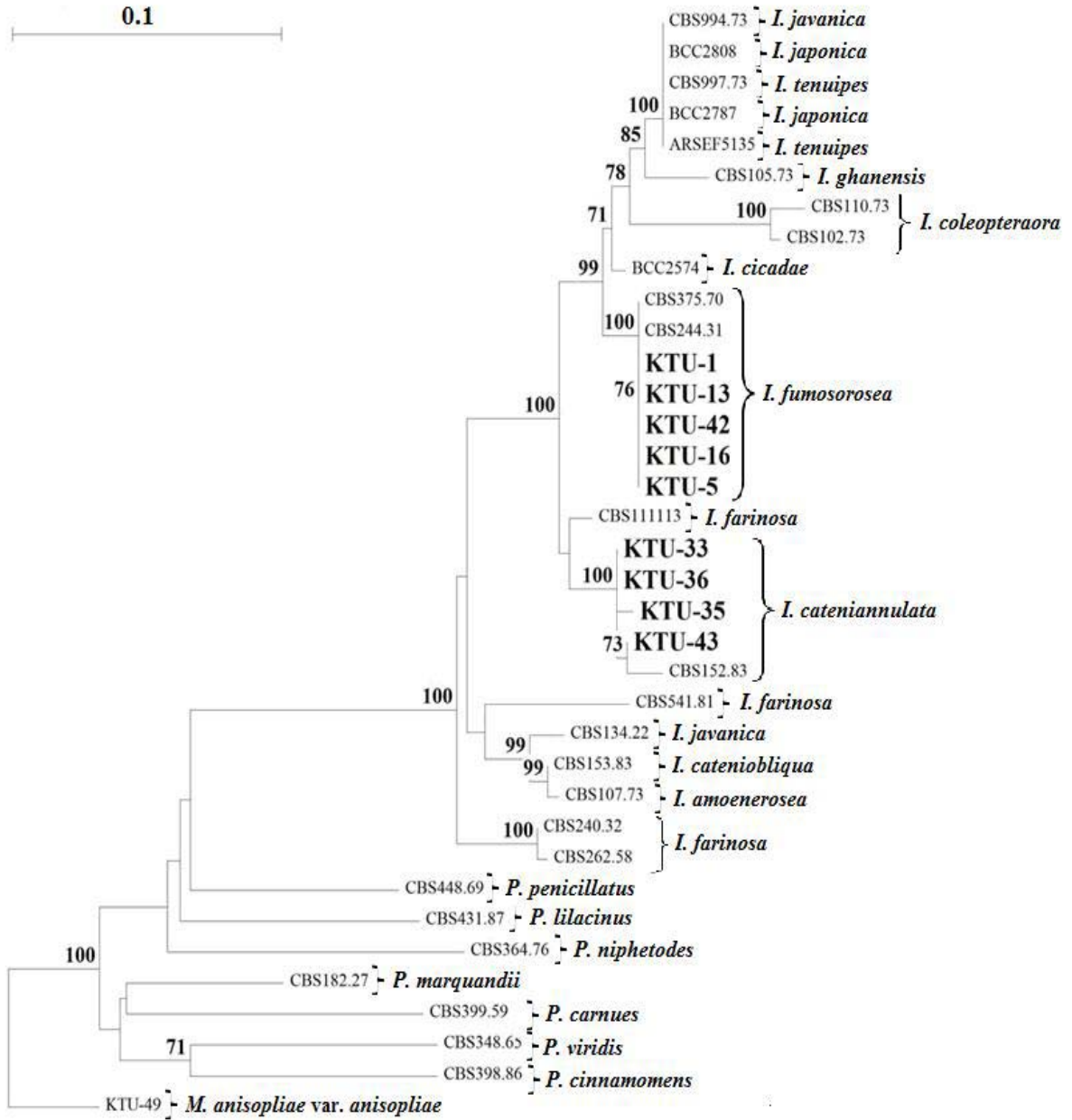


Şekil 23. *Beauveria cf. bassiana* KTU-55 ve KTU-63 izolatları ile Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmasında kullanılan *Beauveria* türlerinin EF1- α gen bölgesinin ilk 1200 bp'lik dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. *M. anisopliae* ARSEF7487 dış grup olarak kullanıldı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi

Morfolojik tür tayinlerine göre 5 izolat *Isaria fumosorosea* olarak tanımlandı. Bu izolatların morfolojik tür tayinlerini doğrulamak için izolatların ITS bölgesine DNA dizi analizi yapıldı ve NCBI GenBank'ta blastlanarak GenBank'ta yer alan diğer *Isaria* türleri ile karşılaştırıldı ve tür tayinleri doğrulandı. Buna göre bütün *I. fumosorosea* izolatlarının %99 *P. fumosoroseus* ile homoloji gösterdiği belirlendi (Tablo 11). Bu izolatların *Isaria* ve *Paecilomyces* genusu içerisindeki taksonomik pozisyonunu göstermek açısından, bu çalışmada elde edilen *I. fumosorosea* izolatları ile Laungsa-Ard vd. (2005)'lerinin çalışmasında kullanılan *Isaria* ve *Paecilomyces* türlerinin karşılaştırılması yapıldı. Elde edilen N-J ağacına göre bütün *Isaria* izolatlarının *I. fumosorosea* ile yüksek oranda benzer olduğu bulundu (Şekil 24).

Tablo 11. *I. fumosorosea* ve *Evlachovaea* sp. izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri

İzolat	ITS1-5.8S-ITS2 gen dizisi	ITS1-5.8S-ITS2 gen benzerliği	GenBank Kayıt numaraları
KTU-1	<i>Isaria fumosorosea</i>	%100	AB250413
	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	%100	AB233338
KTU-5	<i>Isaria fumosorosea</i>	%99	AB250413
	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	%99	AB233338
KTU-42	<i>Isaria fumosorosea</i>	%99	AB250413
	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	%99	AB233338
KTU-13	<i>Isaria fumosorosea</i>	%99	AB250413
	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	%99	AB233338
KTU-16	<i>Isaria fumosorosea</i>	%99	AB250413
	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	%99	AB233338
KTU-33	<i>Paecilomyces</i> sp. BCMU IJ26	%99	AB084138
	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	%99	AB263742
KTU-35	<i>Paecilomyces</i> sp. BCMU IJ26	%98	AB084138
	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	%98	AB263742
KTU-36	<i>Paecilomyces</i> sp. BCMU IJ26	%98	AB084138
	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	%98	AB263742
KTU-43	<i>Paecilomyces</i> sp. BCMU IJ26	%99	AB084138
	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	%99	AB263742



Şekil 24. *I. fumosorosea* ve *Evlachovaea* sp. izolatları ile Laungsa-Ard vd. (2005)'lerinin çalışmasında kullanılan *Isaria* ve *Paecilomyces* türlerinin ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. *M. anisopliae* KTU-49 dış grup olarak kullanıldı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi

Son olarak, morfolojik özelliklere göre 4 izolat *Evlachovaea* sp. olarak tanımlandı. Morfolojik olarak bu izolatların tür tayinleri yapılamadı. Bundan dolayı bu izolatların tür tayinlerini yapabilmek ve morfolojik tür tayinlerini doğrulamak açısından ITS bölgesinin DNA dizi analizi yapıldı. Elde edilen DNA dizileri NCBI GenBank'ta blastlandığı zaman üç izolatın (KTU-43, KTU-33, KTU-36) % 99, bir izolatın ise (KTU-35) % 98 oranında

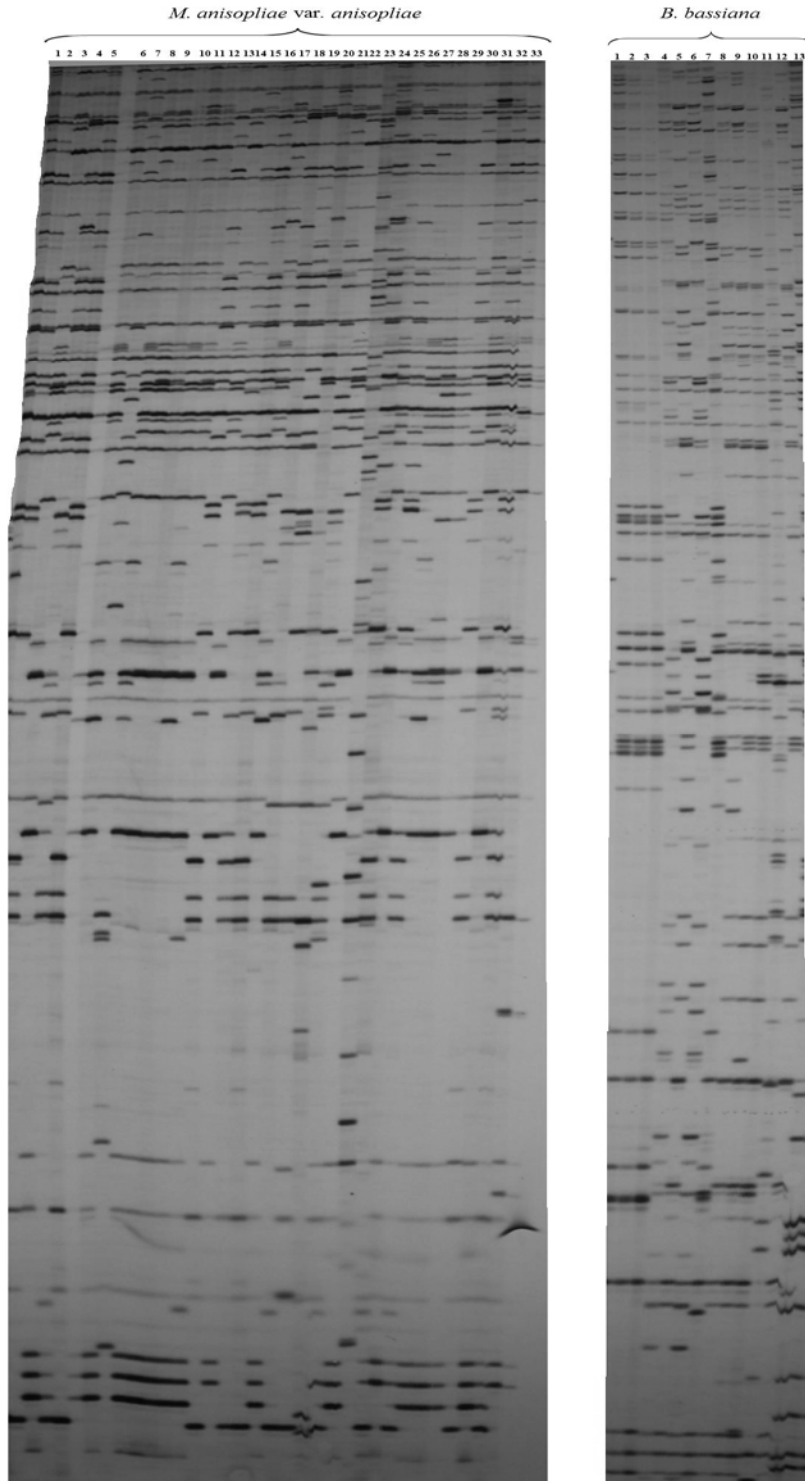
Paecilomyces sp. ile homoloji gösterdiği belirlendi (Tablo 11). Bu doğrultuda, izole edilen *Evlachovaea* sp. türlerinin *Isaria* cinsi içerisindeki taksonomik pozisyonunun belirlenmesi açısından Laungsa-Ard vd. (2005)'lerinin çalışmasında kullanılan *Isaria* ve *Paecilomyces* türleri ile karşılaştırılması yapıldı. Elde edilen N-J ağacına göre bütün *Evlachovaea* sp. izolatlarının *I. cateinnulata* ile benzer bulunduğu belirlendi (Şekil 24).

3.4. Fungus İzolatları Arasındaki Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi

Doğu Karadeniz Bölgesi'nden elde edilen *M. anisopliae* var. *anisopliae* ve *B. bassiana* izolatları arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek için AFLP analizi yapıldı.

3.4.1. *B. bassiana* İzolatları Arasındaki Genetik Çeşitlilik

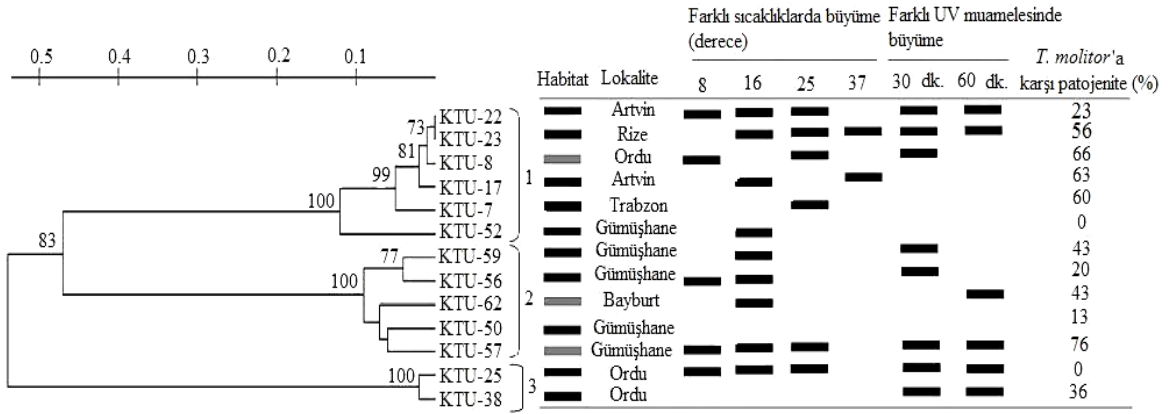
AFLP analizi, *B. bassiana* türleri arasında yüksek oranda genetik çeşitlilik olduğunu ortaya koydu. AFLP analizinde, *B. bassiana* izolatları için 1 primer kombinasyonu (*EcoRI*-*AG* / *MseI*-*C*) kullanıldı ve toplam olarak 163 fragment elde edildi (Şekil 25). Bu fragmentlerin 97 tanesi polimorfik olup, % 59,5 oranında polimorfizm ile sonuçlandı (Tablo 12). *B. bassiana* popülasyonları arasındaki DNA polimorfizminin düzeyini belirlemek için farklı AFLP fragmentlerinin varlığına ya da yokluğuna göre benzerlik değerleri hesaplandı. Jaccard'ın benzerlik katsayısına göre, benzerlik değerleri %98 ile %27 arasında değişmektedir (Tablo 12). En yüksek benzerlik KTU-22, KTU-8 ve KTU-23 ile KTU-8 arasında bulundu. En düşük benzerlik ise KTU-38 ile KTU-57 izolatları arasında bulundu. AFLP fragmentlerinden elde edilen grup analizine göre, *B. bassiana* izolatları 3 farklı gruba ayrıldı (Şekil 26). İlk grup 6 izolattan oluşmakta olup, KTU-8 hariç hepsi Doğu Karadeniz Bölgesi'nin kıyı kesimlerinden ve tarım yapılan alanlarından izole edildi. İkinci grup ise 5 izolattan oluşmakta olup, bölgenin iç kesimlerinden ve tarım yapılan veya yapılmayan alanlardan izole edildi. Üçüncü grup ise diğer iki gruptan çok farklı bulundu. Bu grup iki izolattan oluşmakta olup, bunlar bölgenin kıyı kesiminden ve tarım yapılan alandan izole edildi.



Şekil 25. *M. anisopliae* var. *anisopliae* ve *B. bassiana* izolatlarına ait AFLP analizi sonucu elde edilen otoradyogram

Tablo 12. *B. bassiana* izolatları arasındaki genetik benzerlikler

İzolatlar	KTU-7	KTU-8	KTU-17	KTU-22	KTU-23	KTU-25	KTU-59	KTU-38	KTU-52	KTU-56	KTU-50	KTU-62	KTU-57
KTU-7	-												
KTU-8	91	-											
KTU-17	89	95	-										
KTU-22	92	98	97	-									
KTU-23	92	98	97	100	-								
KTU-25	31	32	30	30	30	-							
KTU-59	35	37	37	35	36	33	-						
KTU-38	30	31	30	30	30	97	32	-					
KTU-52	77	78	78	80	80	32	39	31	-				
KTU-56	33	36	34	34	35	30	94	29	38	-			
KTU-50	39	40	40	38	39	31	85	30	40	87	-		
KTU-62	36	37	35	35	36	28	83	28	38	90	86	-	
KTU-57	38	36	37	36	36	28	79	27	38	81	88	88	-



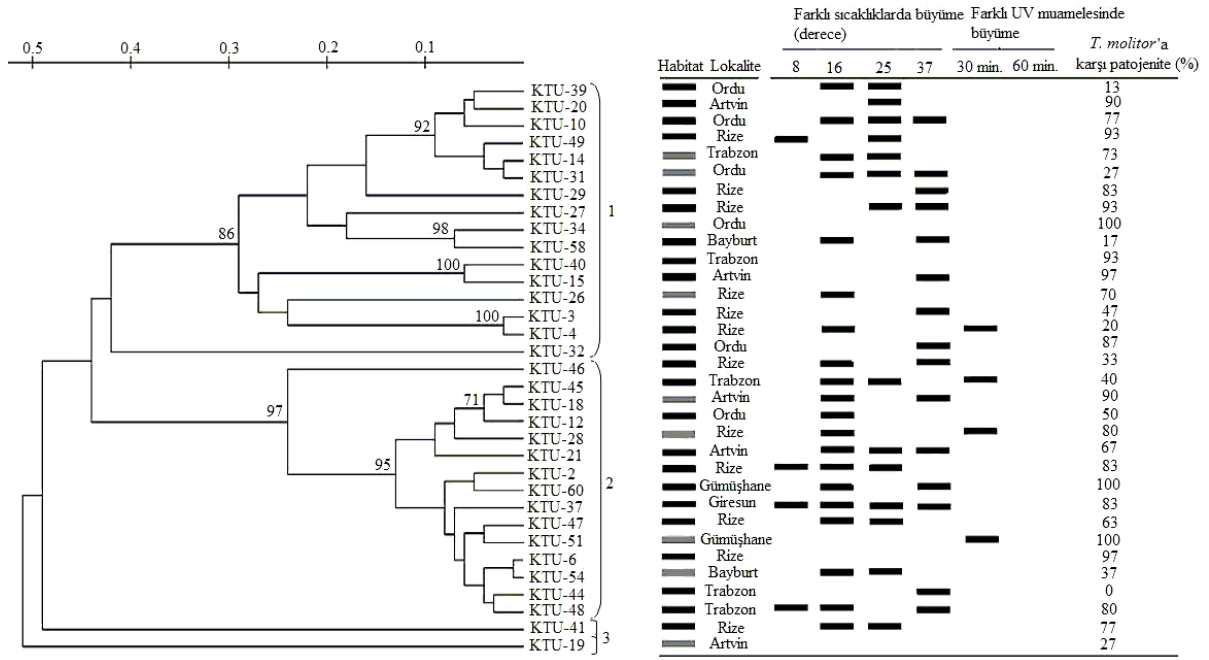
Şekil 26. *B. bassiana* izolatları arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrogram. Dendrogram AFLP analizi verileri kullanılarak UPGMA metodu ile yapılandırıldı. Seç-bağla (bootstrap) analizi grupların güvenilirliğini belirlemek açısından 1000 tekrarlı olarak yapıldı. Dendrogramın üzerindeki bar farklılık derecesini göstermektedir. Seç-bağla değerinin sadece %70 ve üzeri olanlar belirtildi. Siyah barlar tarım habitatlarını, gri bar ise tarım yapılmayan habitatları göstermektedir. Sıcaklık ve UV değerleri için siyah bar büyümeyi göstermektedir

3.4.2. *M. anisopliae* var. *anisopliae* İzolatları Arasındaki Genetik Çeşitlilik

Aynı şekilde, *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları için AFLP analizinde 1 primer kombinasyonu (*EcoRI*-AC / *MseI*-AA) kullanıldı. Bunun sonucunda toplam 115 band elde edildi ve bunlardan 91 tanesi polimorfizm gösterdi. Polimorfizm oranı % 79,1 olarak hesaplandı (Şekil 25). Jaccard'ın benzerlik katsayısına göre benzerlik değerleri %96 ile %23 arasında değişmektedir. En yüksek benzerlik KTU-3-KTU-4, KTU-18-KTU-12, KTU-14-KTU-31 ve KTU-18 ile KTU-45 arasında, en düşük benzerlik ise KTU-32 ve KTU-41 arasında belirlendi (Tablo 13). AFLP fragmentlerinden elde edilen grup analizine göre, *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları 3 gruba ayrıldı (Şekil 27). Birinci grup 16 izolattan oluşmakta olup, farklı bölge ve habitatlardan izole edildi. İkinci grup ise 15 izolattan oluşmakta olup, aynı şekilde farklı bölge ve habitatlardan izole edildi. Üçüncü grup ise sadece iki izolattan oluşmaktadır (Şekil 27).

Tablo 13. *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasındaki genetik benzerlikler

İzolatlar	K T U- 3	K T U- 10	K T U- 39	K T U- 44	K T U- 40	K T U- 20	K T U- 45	K T U- 32	K T U- 18	K T U- 41	K T U- 6	K T U- 28	K T U- 47	K T U- 14	K T U- 37	K T U- 29	K T U- 31	K T U- 21	K T U- 15	K T U- 4	K T U- 19	K T U- 26	K T U- 48	K T U- 34	K T U- 54	K T U- 58	K T U- 12	K T U- 2	K T U- 60	K T U- 49	K T U- 51	K T U- 27	K T U- 46							
KTU-3	-																																							
KTU-10	65	-																																						
KTU-39	64	90	-																																					
KTU-44	35	39	39	-																																				
KTU-40	60	62	64	34	-																																			
KTU-20	62	90	91	40	62	-																																		
KTU-45	34	40	36	80	33	39	-																																	
KTU-32	42	42	42	35	36	43	34	-																																
KTU-18	33	39	37	84	32	38	96	36	-																															
KTU-41	28	33	33	40	30	33	41	23	42	-																														
KTU-6	35	39	42	95	34	43	80	38	84	40	-																													
KTU-28	34	36	34	76	29	34	88	37	87	36	76	-																												
KTU-47	35	39	39	90	34	40	77	38	80	39	90	81	-																											
KTU-14	61	86	91	37	61	87	34	45	35	31	39	32	37	-																										
KTU-37	37	39	39	89	33	40	73	37	77	39	87	73	83	36	-																									
KTU-29	57	72	74	44	53	69	40	45	42	34	42	40	44	74	43	-																								
KTU-31	58	82	87	39	58	83	36	45	37	29	42	34	39	96	39	71	-																							
KTU-21	35	39	37	80	34	38	87	36	87	45	80	80	80	35	73	39	35	-																						
KTU-15	61	60	61	31	90	59	32	37	30	25	32	27	32	61	30	52	61	33	-																					
KTU-4	96	61	59	32	56	57	31	41	30	25	32	31	32	51	33	56	56	32	59	-																				
KTU-19	43	42	40	27	37	40	27	27	28	25	27	29	32	38	26	44	38	35	39	38	-																			
KTU-26	62	50	51	40	53	47	43	40	42	31	40	39	42	54	40	49	54	45	58	62	42	-																		
KTU-48	34	38	39	95	34	39	76	35	80	37	90	72	85	36	89	44	39	75	31	32	26	40	-																	



Şekil 27. *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrogram. Dendrogram AFLP verileri kullanarak UPGMA metodu ile yapıldı. Bootstrap analizi grupların güvenilirliğini belirlemek açısından 1000 tekrarlı olarak yapıldı. Dendrogramın üzerindeki bar farklılık derecesini göstermektedir. Bootstrap değeri sadece %70 ve üzeri olanlar belirtildi. Siyah barlar tarım habitatlarını, gri bar ise tarım yapılmayan habitatları göstermektedir. Sıcaklık ve UV değerleri için siyah bar pozitif büyümeyi göstermektedir

3.4.5. Fungal İzolatların Coğrafik Lokalite, Habitat Tipi, Patojenite, Farklı Sıcaklık ve UV Muamelesindeki Büyümlerine Göre Değerlendirilmesi

AFLP analizi kullanılarak elde edilen grupların tanımlanmasından sonra, fungal izolatların coğrafik lokalite, habitat tipine, farklı sıcaklıklarda ve UV muamelesinde büyümlerine göre Ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı. *B. bassiana* izolatları açısından habitat tipine göre gruplar arasında bir ilişki belirlenememesine rağmen ($\chi^2=4,409$, $df=2$, $p>0,05$), coğrafik lokalite açısından gruplar arasında bir ilişki tespit edildi. Grup 1 ve 3 Doğu Karadeniz Bölgesi'nin kıyısız kesimiyle ilişkili iken, grup 2'nin bölgenin iç kesimiyle ilişkili olduğu bulundu ($\chi^2=9,647$, $df=2$, $p<0,05$). Farklı sıcaklıklarda büyüme açısından *B. bassiana* izolatları arasında herhangi bir ilişki belirlenemedi (8°C ($\chi^2=1,107$, $df=2$, $p>0,05$), 16°C ($\chi^2=0,638$, $df=2$, $p>0,05$), 25°C ($\chi^2=2,404$, $df=2$, $p>0,05$), 37°C ($\chi^2=2,758$, $df=2$, $p>0,05$)). Aynı şekilde farklı UV muamelesinde büyüme açısından da herhangi bir ilişki tespit edilemedi (30 dak. ($\chi^2=2,136$, $df=2$, $p>0,05$) ve 60 dak. ($\chi^2=2,297$, $df=2$, $p>0,05$)).

M. anisopliae var. *anisopliae* izolatları için, grup 1 ve 2 arasında hem habitat tipi ($\chi^2=0,11$, $df=1$, $p>0,05$) hem de coğrafik lokalite ($\chi^2=1,302$, $df=1$, $p>0,05$) bakımından bir ilişki belirlenemedi. 8 ($\chi^2=1,302$, $df=1$, $p>0,05$), 25 ($\chi^2=0,45$, $df=2$, $p>0,05$) ve 37°C'de ($\chi^2=0,034$, $df=1$, $p>0,05$) büyüme açısından *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasında herhangi bir farklılık belirlenememesine rağmen, 16°C'de grup 2'de yer alan izolatlar grup 1'de yer alan izolatlara göre daha iyi büyüdüleri tespit edildi ($\chi^2=4,288$, $df=1$, $p<0,05$). Farklı UV muamelesinde büyümede ise (30 dak. ($\chi^2=1,302$, $df=1$, $p>0,05$)) ve 60 dak.) yine izolatlar arasında herhangi bir farklılık belirlenmedi.

B. bassiana izolatlarının un kurduna karşı virülans değerleri %0 ve %76 arasında değişmektedir. AFLP analizi sonucu elde edilen *B. bassiana* izolatları arasında oluşan gruplarda un kurduna karşı belirlenen patojenite değerleri bakımından bir ilişki belirlenemedi ($\chi^2=21,667$, $df=20$, $p>0,05$). *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarının un kurduna karşı patojenite değerleri %0 ile %100 arasında değişmektedir. Aynı şekilde, AFLP analizi sonucu elde edilen *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasında oluşan gruplarda un kurduna karşı belirlenen patojenite değerleri bakımından bir ilişki belirlenemedi ($\chi^2=21,657$, $df=21$, $p>0,05$).

3.5. Patojenite Testleri

3.5.1. *Tenebrio molitor* (Un kurdu)'a Karşı Patojenite Testleri

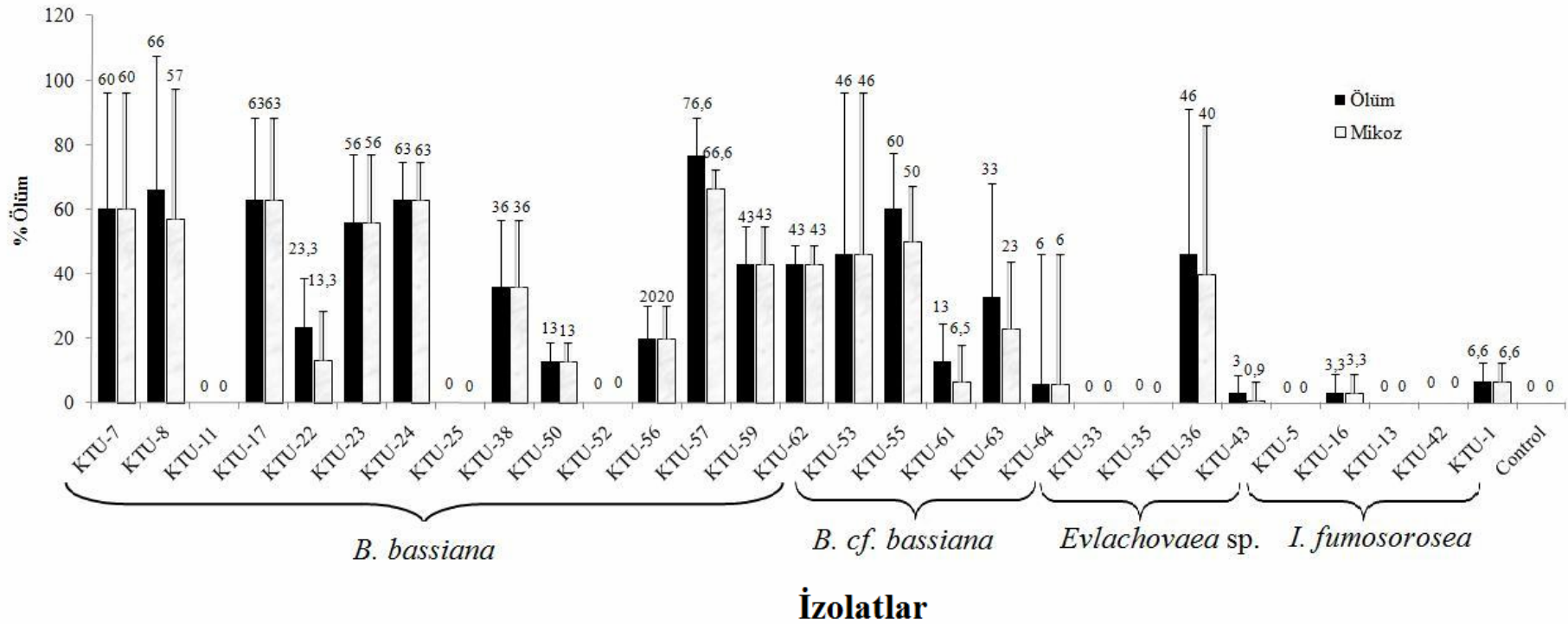
Yüksek patojeniteye sahip fungal izolatların seçimi ve fungal izolatlar arasındaki patojenite bakımından farkı belirlemek amacı ile bütün fungal izolatlar *T. molitor*'a karşı test edildi. *T. molitor*'a karşı test edilen fungal izolatların patojenite değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmasında, bütün izolatların kontrol grubundan farklı ölüm değerlerine sahip oldukları belirlendi ($F=8,09$, $df=64$, $p<0,05$). İzolatların birbirleriyle karşılaştırılmasında ise bütün izolatların farklı ölüm değerlerine sahip oldukları tespit edildi ($F=7,84$, $df=63$, $p<0,05$). İzolatların birbirleriyle karşılaştırılması sonucunda *B. bassiana*, *B. cf. bassiana*, *Evlachovaea* sp., *I. fumosorosea* ve *Metarhizium* sp. izolatları birbirlerinden ayrı olarak değerlendirildi. Yüksek patojeniteye sahip izolatların seçiminde her cinsten en az bir izolat olacak şekilde seçim yapılmaya çalışıldı. *B. bassiana* izolatları arasında, KTU-7, KTU-8, KTU-17, KTU-23, KTU-24, KTU-38, KTU-57, KTU-59 ve KTU-62 izolatlarının istatistiksel olarak diğer *B. bassiana* izolatlarından daha yüksek ölüm

oranına sahip olduğu belirlendi ($F=6$, $df=14$, $p<0,05$). Mikozy oranı bakımından ise *B. bassiana* izolatlarının kontrol grubu ile karşılaştırılmasında bütün izolatların kontrol grubundan farklı olduğu belirlendi ($F=6,44$, $df=15$, $p<0,05$). İzolatların birbirleri ile karşılaştırılmasında ise bütün izolatların farklı mikozy oranlarına sahip oldukları ortaya kondu ($F=5,72$, $df=14$, $p<0,05$). En yüksek mikozy değerleri KTU-7, KTU-8, KTU-17, KTU-23, KTU-24, KTU-38, KTU-57, KTU-59 ve KTU-62 izolatlarından elde edildi ($F=5,72$, $df=14$, $p<0,05$) (Şekil 28).

B. cf. bassiana izolatlarının ölüm oranları bakımından birbirleriyle karşılaştırılması sonucunda bütün izolatların istatistiksel olarak birbirleri ile aynı ölüm oranlarına sahip olduğu belirlendi ($F=1,01$, $df=4$, $p>0,05$). Mikozy oranı bakımından ise yine bütün izolatlar istatistiksel olarak birbirleri ile aynı mikozy oranına sahip olduğu tespit edildi ($F=1,42$, $df=4$, $p>0,05$) (Şekil 28).

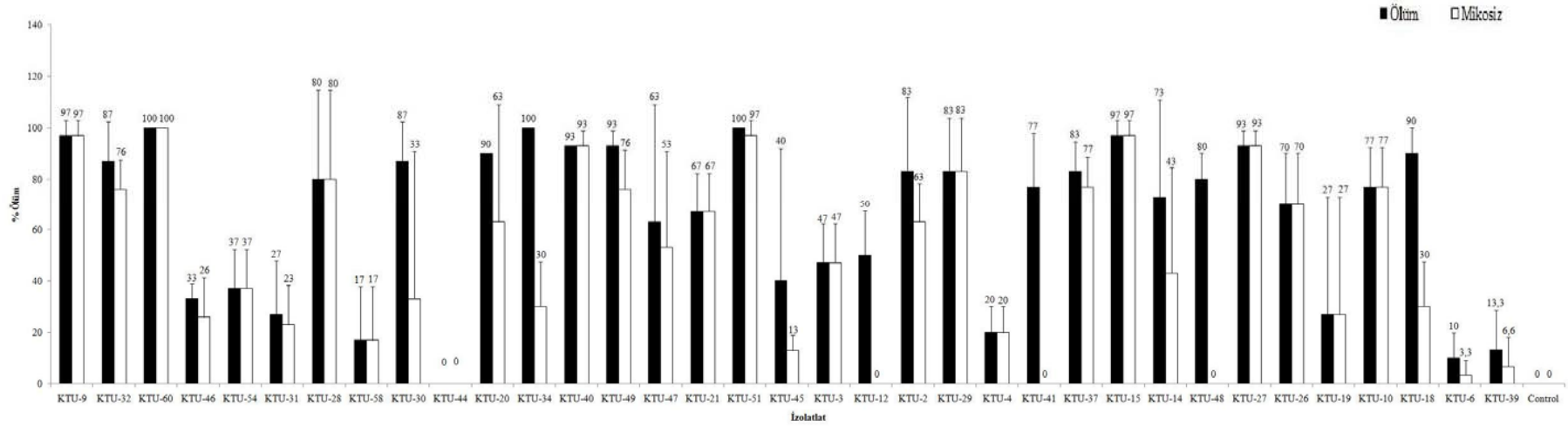
Evlachovaea sp. izolatlarının ölüm oranı bakımından birbirleriyle karşılaştırılması sonucunda, bütün izolatların birbirleriyle aynı oranda ölüm değerlerine sahip olduğu belirlendi ($F=3,02$, $df=3$, $p>0,05$). Mikozy oranı bakımından ise izolatlar istatistiksel olarak birbirleri ile aynı ölüm oranına neden oldukları bulundu ($F=2,14$, $df=3$, $p>0,05$) (Şekil 28).

I. fumosorosea izolatlarının birbirleriyle karşılaştırılmasında da bütün izolatların aynı oranda ölüm değerlerine neden olduğu tespit edildi ($F=2,00$, $df=4$, $p>0,05$). Mikozy oranı bakımından ise yine izolatlar aynı oranda mikozy gösterdi ($F=2,00$, $df=4$, $p>0,05$) (Şekil 28).



Şekil 28. *B. bassiana*, *B. cf. bassiana*, *Evlachovaea* sp. ve *I. fumosorosea* izolatlarının *T. molitor* larvalarına karşı patojeniteleri ve kadavralar üzerindeki sporlaşma oranları. Ölüm değerleri Abbott formülü (Abbott, 1925) kullanılarak hesaplandı. Barlar standart sapmayı göstermektedir

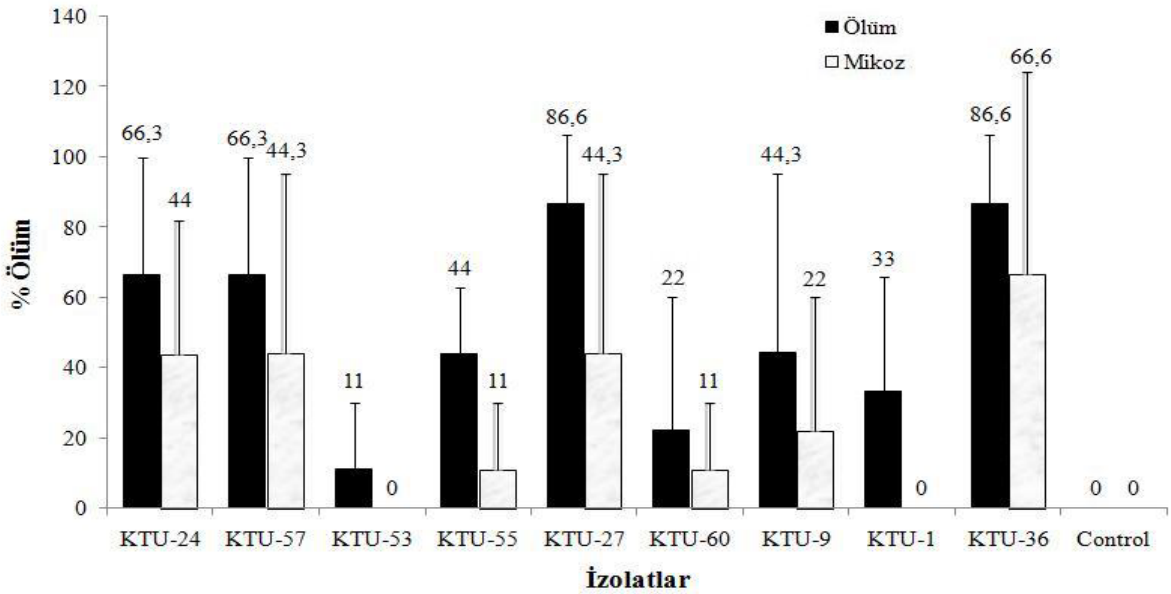
M. anisopliae var. *anisopliae* izolatlarının un kurduna karşı yapılan patojenite testleri sonucunda bütün izolatların kontrol grubundan farklı ölüm değerlerine neden oldukları belirlendi ($F=7,43$, $df=35$, $p<0,05$). İzolatların birbirleriyle karşılaştırılmasın da farklı ölüm oranlarının ortaya çıktığı tespit edildi ($F=6,59$, $df=34$, $p<0,05$). En yüksek ölüm etkisi KTU-9, KTU-32, KTU-60, KTU-28, KTU-30, KTU-20, KTU-34, KTU-40, KTU-44, KTU-47, KTU-21, KTU-51, KTU-2, KTU-29, KTU-41, KTU-37, KTU-15, KTU-14, KTU-48, KTU-27, KTU-26, KTU-10 ve KTU-18 kodlu izolatlardan elde edildi ($F=6,77$, $df=35$, $p<0,05$) (Şekil 29).



Şekil 29. *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarının *T. molitor* larvalarına karşı patojeniteleri ve kadavrular üzerindeki sporlaşma oranları. Ölüm değerleri Abbott formülü (Abbott, 1925) kullanılarak anlaşıldı. Barlar standart sapmayı göstermektedir

3.5.2. *Melolontha melolontha*'ya Karşı Patojenite Testleri

M. melolontha'ya karşı test edilen dokuz fungal izolatin uygulamadan sonra 15 gün içerisindeki ölüm oranlarının KTU-27 ve KTU-36 nolu izolatlardan hariç kontrol grubu ile aynı değerlere sahip oldukları belirlendi ($F=3,56$, $df=9$, $p<0,05$). İzolatların birbirleriyle karşılaştırılmasında ise 15 gün içerisinde istatistiksel olarak farklı ölüm oranlarına neden oldukları tespit edildi ($F=2,61$, $df=8$, $p<0,05$). En yüksek ölüm oranları % 86,6 olmak üzere *M. anisopliae* var. *anisopliae* KTU-27 ve *Evlachovaea* sp. KTU-36 izolatlarından elde edildi ($p<0,05$). Ölü böcekler üzerindeki büyüme ve sporlaşma oranlarının karşılaştırılmasında ise *B. bassiana* KTU-24, *B. bassiana* KTU-57, *M. anisopliae* var. *anisopliae* KTU-27 ve *Evlachovaea* sp. KTU-36 izolatları kontrol grubundan farklı mikoz oranlarına neden oldu ($F= 5,11$, $df= 9$, $p<0,05$). İzolatların birbirleriyle karşılaştırılmasında ise yine izolatların farklı mikoz değerlerine sahip oldukları belirlendi ($F= 4,5$, $df=8$, $p<0,05$). En yüksek mikoz oranı *Evlachovaea* sp. izolat KTU-36'da gözlemlendi (Şekil 30).

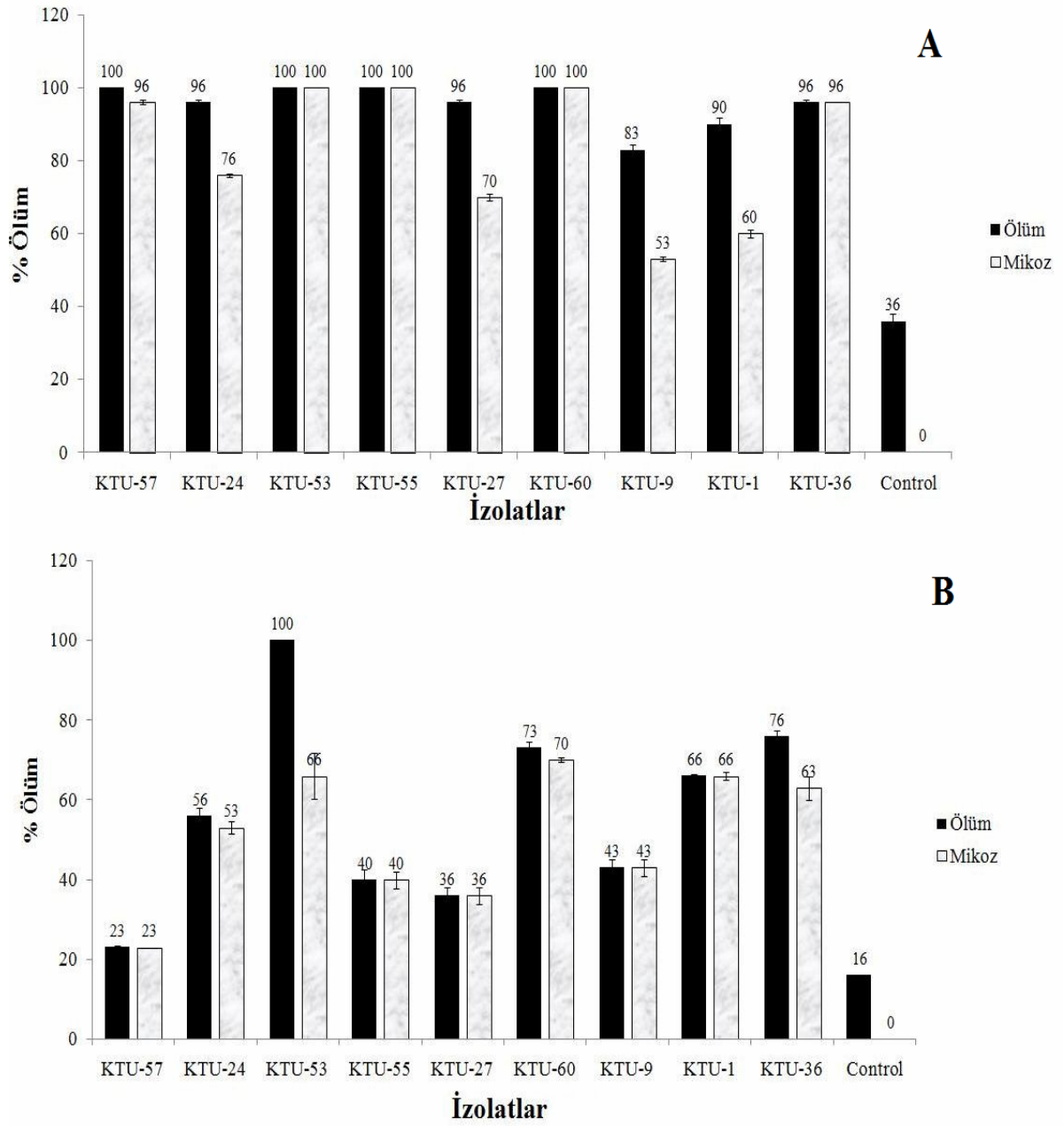


Şekil 30. Test böcekleri üzerinde etkili olan fungal izolatların *M. melolontha* larvaları üzerindeki ölüm ve kadavralar üzerindeki sporlaşma oranları. Ölüm değerleri Abbott formülü (Abbott, 1925) kullanılarak hesaplandı. Sutunların üzerindeki sayılar patojenite değerlerini, barlar ise standart sapmayı göstermektedir

3.5.3. *Dendroctonus micans*'a Karşı Patojenite Testleri

D. micans'a karşı yapılan patojenite deneyleri hem larva hem de ergin bireyler üzerinde gerçekleştirildi. Fungal izolatların hem larva hem de erginler üzerinde farklı ölüm oranlarına neden oldukları tespit edildi (Şekil 31). Larvalar için, izolatlar istatistiksel olarak aynı ölüm oranına sebep oldu ($F= 1,39$, $df= 8$, $p>0,05$) fakat, bütün izolatlar kontrol grubundan farklı bulundu ($F=10,69$, $df=9$, $p<0,05$). *B. bassiana* KTU-57, *B. cf. bassiana* KTU-53 ve KTU-55, *M. anisopliae* KTU-60 altı gün içerisinde %100'lük ölüm oranı ile en yüksek ölüm etkisine sahip olduğu belirlendi. Mikoz açısından ise bütün izolatlar farklı mikoz oranları gösterdi ($F= 33,19$, $df=8$, $p<0,05$) fakat, hepsinin kontrol grubundan yüksek değere sahip olduğu belirlendi ($F= 103,46$, $df= 9$, $p<0,05$). *B. cf. bassiana* KTU-53 ve KTU-55, *M. anisopliae* KTU-60 ve *Evlachovaea* sp. KTU-36 ölüm değerleriyle aynı oranda mikozlanmaya sebep oldu (Şekil 31).

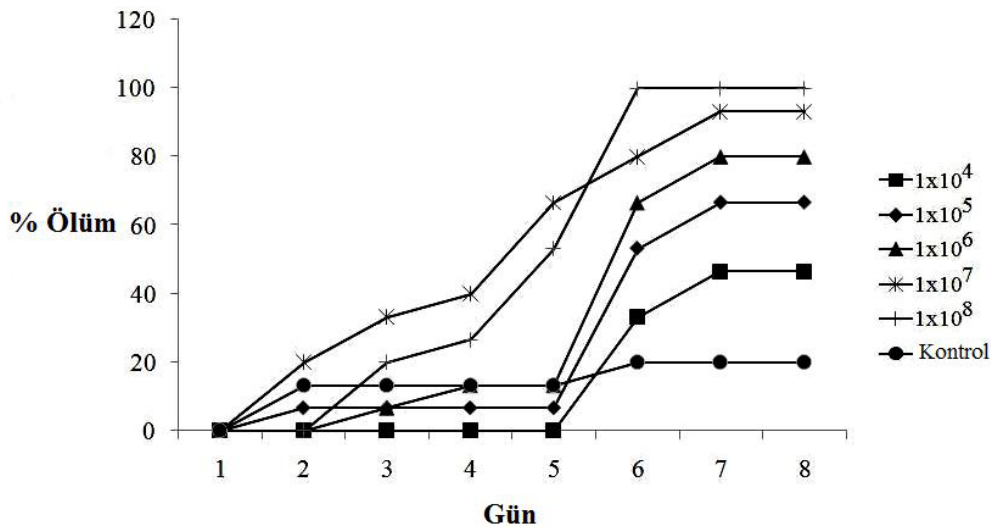
Erginler için, izolatların farklı ölüm oranlarına neden oldukları tespit edildi ($F= 6,15$, $df= 8$, $p<0,05$). *B. bassiana* KTU-53, *M. anisopliae* KTU-60, *I. fumosorosea* KTU-1 ve *Evlachovaea* sp. KTU-36 biyotestlerde kullanılan diğer izolatlardan farklı ölüm oranlarına neden oldukları tespit edildi ($p<0,05$) (Şekil 34). *B. bassiana* KTU-24, *B. cf. bassiana* KTU-55, *M. anisopliae* KTU-27, *Metarhizium* sp. KTU-9 ve *B. bassiana* KTU-57 izolatlarının istatistiksel olarak daha az virulent oldukları tespit edildi ($p<0,05$) (Şekil 34). Bu izolatların mikoz bakımından ise istatistiksel olarak birbirleriyle aynı değere sahip oldukları bulundu fakat, hepsinin kontrol grubundan farklı olduğu belirlendi ($F= 2,73$, $df= 9$, $p<0,05$) (Şekil 31). χ^2 testi larvaların erginlere göre daha hassas olduklarını ortaya koydu ($p<0,05$).



Şekil 31. Test böcekleri üzerinde etkili olan fungal izolatların *D. micans* üzerindeki patojeniteleri ve mikoz oranları. A: İnokülasyondan sonra 6 gün içerisindeki *D. micans* larvalarının ölüm oranı ve mikoz değerleri. B: İnokülasyondan sonraki 6 gün içerisindeki *D. micans* erginlerinin ölüm oranı ve mikoz değerleri. Ölüm değerleri Abbott formülü kullanarak hesaplandı. Sutunların üzerindeki sayılar patojenite değerlerini barlar ise standart sapmayı göstermektedir

3.5.3.1. *Dendroctonus micans*'a Karşı Doz Uygulaması

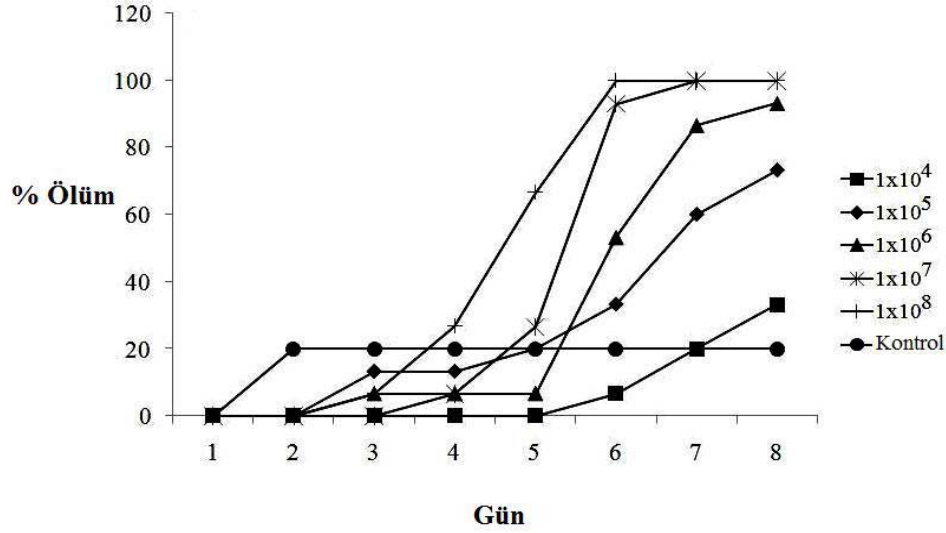
B. cf. bassiana KTU-53, yüksek patojenik etkisinden dolayı, *D. micans*'ın larva ve erginlerine karşı farklı konsantrasyonların uygulanması için seçildi. Farklı konsantrasyonların uygulanmasında, larvaların ölüm değeri 1×10^8 spor/ml spor konsantrasyonunun uygulanmasından sonra 6 gün içerisinde %100'e ulaştı. Kontrol grubunda ise ölüm değeri %20 olarak belirlendi. Larvalara karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 32). Probit analizi, LC_{50} değerini hesaplamak için kullanıldı (Tablo 14). Larvalara karşı bu fungusun uygulamadan sekiz gün sonra LC_{50} değeri $1,77 \times 10^4$ spor/ml olarak hesaplandı (Tablo 14).



Şekil 32. *D. micans* larvalarının *B. cf. bassiana* KTU-53 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları

D. micans'ın erginlerine *B. cf. bassiana* KTU-53 izolatının farklı konsantrasyonlardaki spor süspansiyonlarının uygulanması sonucu, erginlerin ölüm değeri 1×10^8 spor/ml spor konsantrasyonunun uygulanması sonrası 6 gün içerisinde %100'e ulaştı. Kontrol grubunda ise ölüm değeri %20 olarak belirlendi (Şekil 33). Erginlere uygulanan dozlar arasında ölüm değeri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklar

bulundu ($p<0,05$). Erginlere karşı LC_{50} değeri $2,65 \times 10^4$ spor/ml olarak hesaplandı (Tablo 14).



Şekil 33. *D. micans* erginlerinin *B. cf. bassiana* KTU-53 izolatının farklı dozlardaki spor süspansiyonlarına maruz bırakılması sonucu elde edilen kümülatif ölüm oranları

Tablo 14. *B. cf. bassiana* KTU-53 izolatıyla *D. micans*'ın larva ve erginlerine karşı kullanılan farklı dozların uygulanması sonucu hesaplanan probit analizinin parametre değerleri

Biyotest	Kesme noktası	Eğim ($\pm SS$) ^a	LC_{50} (%95 güven aralığı)	χ^2 ^b	Serbestlik Derecesi
Larva	-2,388	0,562 \pm 0,268	1,77 \times 10 ⁴ (0-2,18 \times 10 ⁵)	0,155	3
Ergin	-4,502	1,018 \pm 0,461	2,65 \times 10 ⁴ (5,39-1,73 \times 10 ⁵)	0,044	3

^a *D. micans*'ın larva ve erginlerinin *B. cf. bassiana* KTU-53 izolatına karşı tepkisinin eğimi

^b Probit modelinde Pearson'un Ki-kare uyum iyiliği testi

4. TARTIŞMA

Bu çalışma, Türkiye'nin yoğun olarak fındık tarımı yapılan ve orman bakımından zengin olan Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki entomopatojenik fungusların izolasyonu, identifikasyonu, çeşitliliği ve bölgeden elde edilen çeşitli izolatların önemli fındık zararlısı *Melolontha melolontha* ve orman zararlısı *Dendroctonus micans*'a karşı patojeniteleri hakkında bulgular içermektedir. Ayrıca, bu tez çalışmasında bölgeden elde edilen *B. bassiana* ve *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarının coğrafik lokalite ve habitat ilişkisi bakımından genetik çeşitliliği hakkında da genel bulgu ve bilgi içermektedir.

Tez kapsamında 2006-2007 yılları arasında bölgenin farklı habitatlarından toplam 301 toprak örneği alındı. Bunun haricinde aynı yıllar arasında, aynı bölgeden yaygın olan çeşitli zararlı böcekler toplandı. Alınan toprak ve böcek örneklerinden entomopatojenik fungus izolasyonları yapıldı. Elde edilen fungal izolatların tür tayinleri, karakterizasyonları ve mikrobiyal mücadelede kullanılma potansiyelleri araştırıldı.

M. anisopliae var. *anisopliae* toprak örneklerinde en yaygın tür olarak belirlenirken, bunu sırasıyla *B. bassiana*, *B. cf. bassiana*, *I. fumosorosea* ve *Evlachovaea* sp. izlemektedir. Böcek örneklerinden ise *Thaumetopoea pityocampa* ve *Rhynchites baccus*'dan birer adet *B. bassiana* izolasyonu yapıldı. Bu sonuçlara dayanarak entomopatojenik fungusların bu bölgede yaygın olarak bulunabileceğini söylemek mümkündür (%20.59). Ayrıca, bu çalışmada belirlenen türlerin sıklığı ve dağılımı daha önce *Galleria* tuzak yöntemi kullanarak gerçekleştirilen çalışmalardaki oranlar ve çeşitlilik ile benzerlik göstermektedir (Keller vd., 2003; Chandler vd., 1997; Meyling ve Eilenberg, 2006).

Bu çalışmada, *M. anisopliae* var. *anisopliae*, *B. bassiana* ve *Evlachovaea* sp. hem tarım yapılan hem de tarım yapılmayan topraklardan izole edildi. Bunun tersine, *B. cf. bassiana* sadece tarım yapılmayan habitatlardan izole edilirken, *I. fumosorosea* ise sadece tarım yapılan alanlardan izole edildi. Keller vd. (2003)'de *M. anisopliae*'nin çayırılık ve sürülebilir tarım alanlarında yaygın olarak bulunduğunu bildirmektedir. Benzer olarak, *M. anisopliae*'nin Finlandiya'da da hem doğal hem de tarımsal alanlarda yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir (Vanninen, 1995). Oysa aynı çalışmada, *I. fumosorosea*, bizim sonuçlarımıza ters olarak, sadece doğal alanlardan izole edilmiş ve asla yoğun bir şekilde tarım yapılan alanlardan izole edilmemiştir (Vanninen, 1995). Meyling ve Eilenberg

(2006), *I. fumosorosea*'nın ekilmiş çalılıklardan oluşan topraklarda yaygın olduğunu göstermelerine rağmen, *B. bassiana*'nın tarım alanlarında yaygın olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada, *M. anisopliae* tarım arazilerinde nadir olarak belirlemiştir. Meyling vd. (2005), Danimarka'da sadece *B. bassiana*'nın belirli bir grubunun tarım yapılan alanlarda bulunduğunu, diğer bir kaç grubun ise bu tarım arazilerine bitişik ekili çalılıklarda var olduğunu tespit etmişlerdir. Yukarıda verilen bu örneklerin hepsi entomopatojenik fungusların farklı türlerinin varlığı ve dağılımının farklı toprak örneklerine ve lokalitelere göre farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Toprakta bulunan bu doğal oluşlardaki farklılık ise konzervatif biyolojik mücadelede kullanılan stratejilere karşı meydan okumaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2007). Bu tez çalışmasında, *M. anisopliae* var. *anisopliae*'nin fındık arazilerinde yaygın olarak bulunduğu ve bu nedenle de bu türün konzervatif biyolojik mücadeleyle ilgili olarak iyi bir biyolojik mücadele etmeni olduğu gösterilmiştir. AliNiasee (1998)'de fındık zararlılarının mevcut olan doğal düşmanlarının korunması, kültürel uygulamaların ve insektisit kullanımının manipülasyonu ile konzervatif biyolojik mücadele için iyi bir aday ürün olduğunu belirtmiştir.

Bidochka vd. (2002), *B. bassiana*'nın bir genetik grubunun tarımsal alanlarla, iki grubun orman habitatları ile ve son grubun ise Kanada artrikleri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, farklı sıcaklıklarda büyüme ve UV direnci gibi belirli ilişkilerin *B. bassiana* grupları arasında bulunabileceği de belirtilmiştir. Bidochka vd. (2001) *B. bassiana* popülasyonlarında bulunan aynı ilişkinin Kanada'da *M. anisopliae* popülasyonunda da bulunduğunu göstermiştir. Bu iki çalışmada belirtilen bulguların önceden yapılan çalışmalar ile de uyumlu olduğu görülmektedir (Meyling vd., 2005; Keller vd., 2003; Meyling ve Eilenberg, 2006). Bu çalışmalara dayanarak, bir habitatdaki abiyotik koşulların bu habitat içerisinde yaşamını sürdürebilecek *M. anisopliae* ve *B. bassiana*'nın genetik gruplarını seçebileceğini söylemek mümkündür. Böylece, bu tez çalışmasında, *M. anisopliae* ve *B. bassiana* entomopatojenik funguslarının fındık bahçelerinde bulunabileceği gösterilmiştir. Yukarıda verilen literatür bilgisine dayanarak, bu çalışmada izole edilen *M. anisopliae* ve *B. bassiana* izolatlarının fındık ekili alanlarda yaşamlarını devam ettirebileceği ve bu izolatların çeşitli fındık zararlılarına karşı konzervatif biyolojik mücadelede stratejisi altında kullanılabileceğini gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasında, *M. anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium* sp., *B. bassiana*, *B. cf. bassiana* ve *Evlachovaea* sp.'yi içeren farklı türlerdeki entomopatojenik funguslar toprak örneklerinden izole edildi. Çalışma bölgesindeki orman alanlarında tür çeşitliliğinin

nispeten tarım alanlarına göre daha yüksek olduğu belirlendi. Brownbridge vd. (1993), farklı türlere ait entomopatojenik fungusları Vermont Ormanlarının toprak örneklerinden izole etmiş ve bu izolatlar arasında *M. anisopliae*'nin en yaygın tür olduğunu ortaya koymuşlardır. Brownbridge vd. (1993)'nin belirtilen çalışmalarında ve aynı zamanda bu tez çalışmasında, orman toprağının entomopatojenik funguslar için doğal bir rezervuar olabileceği ve izole edilen fungal türlerin bazı orman zararlılarına karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki orman alanlarından elde edilen entomopatojenik fungusların bu bölgelerdeki belirli çevresel koşullara adapte olabilecekleri ve bu izolatların bu bölgedeki orman zararlılarına karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabilecekleri muhtemeldir. Sevim vd. (2010) Doğu Karadeniz Bölgesi'nden izole edilen entomopatojenik fungusların *D. micans*'a karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceğini göstermiştir.

Bu çalışmada, *Metarhizium* ve *Beauveria* türlerinin fındık bahçelerinde bulunabileceği gösterildi. Paparatti ve Speranza (2005) ticari olarak satılan *B. bassiana* preparatını biyolojik mücadele etmeni olarak alan uygulamasıyla *Curculio nucum* (fındık kurdu)'a karşı test etmişlerdir. Yapılan çalışmada Paparatti ve Speranza (2005) fungus ile muamele edilen kafeslerde larva ölümünde %35 oranında artış gözlemişlerdir. *B. bassiana* aynı zamanda benzer hayat döngüsüne sahip bir başka önemli zararlı olan *Curculio elephas* (kestane kurdu) üzerinde de aynı oranda ölüme neden olmuştur (Paparatti ve Speranza, 1999). Her iki çalışma bu zararlıların yaşam döngüsünde toprak fazının önemli bir yeri olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalara dayanarak, bu tez çalışmasında izole edilen *Beauveria* türlerinin, *C. nucum*, *Xyleborus dispar* ve *Palomena prasina* gibi kışı toprakta geçiren önemli fındık zararlılarına karşı kullanılabileceği söylenebilir. Şimdiye kadar herhangi bir *Metarhizium* türünün fındık zararlılarıyla mücadele etmek için kullanıldığı bilinmemektedir. Oysa, *Metarhizium anisopliae* pekçok zararlı böcek türüne karşı potansiyel bir mücadele etmeni olup, yaşam döngüsünde toprağın önemli yeri olan bazı zararlıların mücadelesinde kullanılmaktadır (Zimmermann, 1993; Bustillo vd., 1999). Bu bilgilere dayanarak, bu tez çalışmasında izole edilen *B. bassiana* ve *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarının bundan sonraki çalışmalarda önemli bir fındık zararlısı olan *C. nucum*'a karşı test edilmelerini gündeme getirmiştir.

Bu çalışmada, *Metarhizium* KTU-9 suşu tür seviyesinde tanımlanamamıştır. Morfolojik özelliklere göre bu izolat *M. anisopliae* var. *anisopliae* olarak tanımlanmasına

rağmen, moleküler veriler bu izolatin tanımlanmamış yeni bir *Metarhizium* türü olabileceğini göstermektedir.

İlave olarak bu çalışmada, farklı lokalite ve habitatlardan (findık, meşe ve kestane) morfolojik özelliklerine göre *Evlachovaea* sp. olarak tanımlanan 4 izolat elde edildi. Oysa bu izolatalar, ITS gen dizisine göre *Paecilomyces* sp. ile % 98-99 oranında benzerlik gösterdi. Ayrıca, bütün *Evlachovaea* sp. izolatlarının Luangsa-Ard vd. (2005)'nin çalışmasındaki *Isaria* ve *Paecilomyces* türleriyle yapılan filogenetik analizi sonucunda *Isaria cateniannulata* (*Paecilomyces cateniannulatus*) ile çok bezer oldukları tespit edildi. Bu benzerliğin nedeni, *I. cateniannulata*'nın konidiyogenezis tipine göre *Evlachovaea* sp. olarak gösterilebileceğidir. *Evlachovaea*'nın *Isaria*'dan ayrı bir cins olarak ele alınabileceği ise hala net değildir. Bunun için ayrıntılı bir sitematik çalışması gerekmektedir. Bununla birlikte, bu tip bir konidiyogenezisin Hypocreales ordosunda yer alan pek çok familya üyelerinde de bulunabileceği işaret edilmektedir. Ayrıca, GenBank'ta *Evlachovaea*'ya ait herhangi bir DNA dizisi mevcut olmayıp, bu cinsin Ascomycota içerisindeki resmi pozisyonu belirlenmemiştir. *Evlachovaea* sp. cinsi tek türü olan *E. kintrischia* ile birlikte ilk olarak Rusya'da tanımlandı (Borisov ve Tarasov, 1999). Daha sonra bu cins Brezilya'da *Triatoma sordida* kadavraları üzerinde bulundu (Luz vd., 2003). Torres vd. (2005) *Cordyceps spagazzinii* olarak adlandırdıkları ve *Evlachovaea* sp.'yi anamorf olarak refere ettikleri bir türü karakterize etmişlerdir. Bu cins şimdiye kadar, Türkiye'de ne toprak örneklerinden ne de herhangi bir böcek örneğinden izole edilmemiştir ve bu tez çalışmasıyla Türkiye için yeni kayıt olarak literatüre geçmiştir.

Bu çalışmada izole edilen *B. bassiana* ve *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarının genetik çeşitliliğinin belirlenmesi açısından AFLP (Çoğaltılmış Parçacık Uzunluğu Poliformizmi) analizi yapıldı.

AFLP analizini kullanarak elde edilen verilere göre *B. bassiana* izolatları arasında yüksek oranda genetik çeşitliliğin olduğunu söylemek mümkündür. Burada elde edilen bu genetik çeşitlilik daha önceden AFLP, RAPD, RFLP, ISSR-PCR, DNA dizi analizi, UP-PCR ve izoenzim analizi gibi aynı veya benzer tekniklerle yapılan birçok çalışma tarafından desteklenmektedir (Rehner ve Buckley, 2003; Rehner vd., 2006; Muro vd., 2005; Muro vd., 2003; Hegedus ve Khachatourians, 1996; Gaitan vd., 2002; Fernandes vd., 2009; Meyling vd., 2009).

Bu tez çalışmasında, *B. bassiana* izolatları arasındaki genetik çeşitliliğin coğrafik lokaliteyle ilişkili olduğu tespit edildi. AFLP analizinden elde edilen dendrograma göre, 1.

ve 3. grupta yer alan izolatlar ana olarak Doğu Karadeniz Bölgesi'nin kıyı şehirlerinden (Artvin, Rize, Trabzon, Giresun ve Ordu) izole edilmesine rağmen, 2. grupta yer alan izolatlar bölgenin iç kısmında yer alan şehirlerden (Bayburt ve Gümüşhane) izole edildi. Bu bölgenin sahil ve iç kısımdaki şehirlerin farklı çevresel karakterlerini dikkate alarak, bu bölgeden elde edilen *B. bassiana* izolatlarının belirli iklimsel koşullara adapte olduğu dikkat çekmektedir. Ayrıca, bu bölgedeki fındık alanlarının dağılımını dikkate alarak (fındık ekim alanları genelde kıyı kesimde yoğunlaşmaktadır), kıyı kesimde gruplaşan *B. bassiana* izolatlarının fındık zararlılarına karşı kullanımda tercih edilmesi gerektiği düşünülebilir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Bidochka vd. (2002)'nin elde ettiği sonuçlar ile uyumluluk göstermektedir. Yukarıda da belirtildiği gibi Bidochka vd. (2002), Kanada'dan izole ettikleri *B. bassiana* izolatları arasında habitat tipi ve çeşitli sıcaklık değişimleri bakımından farklı gruplar tespit ettiler. Bir grup *B. bassiana*'nın tarım yapılan habitatlarla ilişkili olduğunu, iki grubun orman habitatlarıyla ilişkili olduğunu ve diğer son grubun ise Kanada'nın artrik bölgesi ile ilişkili olduğunu belirlediler. Ayrıca, bu gruplar arasında sıcaklık ve UV dirençlilikleri bakımından da bir ilişki ortaya konulmuştur. Fakat, bu tez çalışmasında, *B. bassiana* izolatları arasında sıcaklık, UV dirençlilikleri ve *T. molitor*'a karşı patojenitede herhangi bir ilişki belirlenemedi. Oysa, *B. bassiana* popülasyonları arasında konak türü açısından belirli gruplaşmaları gösteren pek çok çalışma mevcuttur (Maurer vd., 1997; Takatsuka, 2007; Urtz ve Rice, 1997).

B. bassiana izolatlarının genetik çeşitliliğini belirlemeye yönelik pek çok çalışma mevcut olmasına rağmen, *M. anisopliae* izolatları arasında sadece bir kaç çalışma bulunmaktadır (Inglis vd., 2008; Velásquez vd., 2007; Fungaro vd., 1996; Enkerli vd., 2005; Fegan vd., 1993). Bu tez çalışmasında, *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasında yüksek oranda genetik çeşitlilik belirlenmesine rağmen, bu çeşitlilik ne habitat tipi ile ne de coğrafik lokalite ile ilişkili olmadığı tespit edildi. AFLP verilerinden elde edilen dendrogramda 1. ve 2. grup içerisinde alt gruplar oluşmasına rağmen, bu gruplaşma yine herhangi bir ilişkiyi göstermeyip rastgele olarak meydana gelmiştir. Aynı şekilde, *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasında sıcaklık, UV direnci ve *T. molitor*'a karşı patojenitede de bir ilişki belirlenemedi. Oysa, *M. anisopliae* var. *anisopliae* popülasyonları içerisinde konak türü bakımından ilişki olduğunu gösteren bir kaç çalışma bulunmaktadır (Fungaro vd., 1996; Fegan vd., 1993). Bidochka vd. (2001) Kanada'dan elde ettikleri *M. anisopliae* popülasyonları arasında belirli ilişkiler olduğunu ortaya koymuşlardır. Bidochka vd. (2001) çalışmalarında *M. anisopliae* izolatları arasında iki grup belirlediler ve birinci

grubun tarım habitatlarıyla ilişkili olduğunu ve diğer grubun ise orman habitatları ile ilişkili olduğunu belirlediler. İlave olarak, orman alanlarından elde edilen izolatların düşük sıcaklıklarda (8°C) büyüme gösterdikleri, tarım alanlarından elde edilen grubun ise yüksek sıcaklıklarda (37°C) büyüme gösterdikleri belirlendi. Bu sonuçlar bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar ile uyumsuzluk göstermektedir. Diğer taraftan, Inglis vd. (2008) Güneybatı Britanya Colombiya (Kanada) bölgesinden elde ettikleri 63 adet *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarının genetik çeşitliliğini belirlediler ve *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasında düşük düzeyde genetik çeşitlilik olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışma Bidochka vd. (2001)'nin çalışması ile uyumsuzluk göstermektedir.

İzole edilen 9 fungusun *M. melolontha* ve *D. micans*'a karşı insektisidal aktiviteleri de belirlendi. *M. melolontha*'ya karşı biyotest sonuçlarına göre, bütün izolatlar belirli oranda bu zararlıya karşı aktivite göstermiştir. Ölüm oranı iki izolat için 15 gün içerisinde % 86,6'ya ulaştı. Patojenite testine dayanarak, *M. anisopliae* var. *anisopliae* KTU-27 ve *Evlachovaea* sp. KTU-36 *M. melolontha*'ya karşı iyi aktivite gösterdikleri ortaya çıktı. Ayrıca, kadavra üzerindeki sporlaşması fungusun arazide yayılımı ve üremesi açısından önemli olduğu için değerlendirmeye alındı. Bu yüksek aktivite gösteren izolatların her ikisi de farklı oranlarda kadvralar üzerinde sporlaşma gösterdi. *B. brongniartii* fungusunun bazı suşları Avrupa'daki meyve bahçeleri ve çayırıklarda *M. melolontha* larvalarına karşı mikrobiyal mücadele etmeni olarak başarılı bir şekilde geliştirilip kullanılmaktadır (Dolci vd., 2006). İlave olarak bu çalışmada, *Evlachovaea* sp. ve *M. anisopliae*'nin de bu zararlıya karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceği gösterildi. Bu izolatlar özellikle fındık bahçelerinde *M. melolontha*'ya karşı kullanılabilirler.

Seçilen dokuz izolat *D. micans*'ın larva ve erginlerini farklı düzeylerde enfekte etmişlerdir. Ölüm değerleri test edilen izolata ve böceğin gelişim safhasına göre farklılık göstermiştir. Ölüm değerleri bazı izolatlar için 6 gün içerisinde %100'lük bir değere ulaştı. *B. bassiana* KTU-24 erginlere karşı *B. bassiana* KTU-57'den daha yüksek bir ölüm oranına neden oldu. Fakat, her iki izolat larvalara karşı aynı oranda ölüm değerine sebep olmuşlardır. KTU-24'ün KTU-57'den daha yüksek ölüm oranına neden olmasının nedeni, izolat KTU-24'ün başka önemli bir orman zararlısı olan *T. pityocampa*'dan izole edilmiş olması olabilir. Diğer taraftan, *B. bassiana*'nın pek çok kabuk böceğini enfekte edebildiği ve çeşitli orman zararlılarının (özellikle ladin kabuk böcekleri) mücadelesinde iyi bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir (Jankevica, 2004; Kreutz vd., 2004; Draganova, 2006; Batta, 2007). *B. cf. bassiana* KTU-53 hem larvalara hem de erginlere karşı en

yüksek ölüm değerini (%100) oluştururken, *B. cf. bassiana* KTU-55 erginlere karşı %40, larvalara karşı %100 ölüm değeri oluşturdu. Daha önceden *B. cf. bassiana*'nın Karadeniz Bölgesi'nde *T. pityocampa*'ya karşı yüksek ölüm değerine neden olduğu tespit edildi (Sevim vd., 2010). Bu sonuçlar, *B. cf. bassiana* izolatlarının bu bölgedeki orman zararlılarına karşı daha patojenik olabileceğini gösterebilir. Fakat, bununla ilgili detaylı araştırmalar gerekmektedir.

B. bassiana'nın kabuk böceklerine karşı enfektivitesini belirlemeye yönelik pek çok çalışma olmasın rağmen, *M. anisopliae* ile ilgili çalışmalar (özellikle ladin kabuk böceklerine karşı) oldukça kısıtlıdır. Sadece *M. anisopliae*'nin *Ips typographus*'un patojeni olduğunu gösteren bir çalışma bulunmaktadır (Keller vd., 2004). Oysa, *M. anisopliae*'nin pek çok önemli zararlıya karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olduğu pek çok çalışmayla gösterilmiştir (Ihara vd., 2003; Liu ve Bauer, 2006; Marannino vd, 2006). Bu çalışmada, *M. anisopliae* KTU-60'ın *D. micans* ile mücadelede iyi bir etmen olabileceği gösterilmiştir.

I. fumosorosea dünya çapında pek çok zararlının mücadelesinde kullanımına rağmen, ladin kabuk böcekleriyle ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır (Meyer vd., 2008; Zimmermann, 2008). Bu tez çalışması ise *I. fumosorosea*'nın *D. micans*'a karşı kısmen iyi bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Yukarıda belirtildiği gibi *Evlachovaea* sp. Türkiye için yeni kayıt olarak ilk kez bu çalışmada belirlendi. Bu yeni cins hakkında fazla ayrıntılı bilgi bulunmamasına rağmen, bu çalışmada *D. micans*'a karşı % 96'lık larval ölüm oranıyla iyi bir insektisidal aktivite göstermiştir ve bunun bu fungus ile ilgili yeni çalışmaları beraberinde getirmesi mühtemeldir.

D. micans larvalarının fungal enfeksiyona karşı erginlerden daha hassas oldukları belirlendi ($p < 0,05$). Bir böceğin yaşam döngüsündeki bütün gelişim safhaları Hypocrealeen funguslara karşı eşit olarak hassas değildir (Inglis vd., 2001). Bazı durumlarda, erginler larvalardan daha hassas olabilir. Örneğin, *Delia antiqua* (Meigen) (Diptera: Muscidae: Anthomyiidae) erginleri bazı Hypocrealeen funguslara karşı larvalardan daha hassastır (Davidson ve Chandler, 2005). Bunun tersine, sivrisinek larvaları *Culicinomyces clavisporus*'a karşı erginlere göre daha hassastır (Panter ve Russell, 1984). Bu sonuçlar, belirli bir gelişme safhasının funguslara daha hassas veya daha dirençli olduğunu belirten genel bir kural olmadığını göstermektedir (Goettel vd., 2005).

Sonuç olarak bu çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki toprak ve böcek örneklerinden toplam 64 adet entomopatojenik fungus izole edildi ve izole edilen funguslar ayrıntılı bir şekilde karakterize edildi. Ayrıca, bu izolatların bu bölgede yayılış gösteren *M. melolontha* ve *D. micans*'a karşı etkinlikleri belirlendi. Bunun sonucunda, *Metarhizium* ve *Beauveria* türlerinin bu bölgedeki fındık ve orman arazilerinde yaygın olarak bulunduğu, dolayısıyla bu izolatların bu bölgede yayılış gösteren bazı zararlı böceklere karşı konzervatif ve inokülatif biyolojik mücadele stratejileri altında kullanılabilceği bu çalışmayla gösterildi. Bunun haricinde, bu bölgeden elde edilen *B. bassiana* ve *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarında yüksek düzeyde genetik çeşitliliğin bulunduğu belirlendi. Buna dayanarak, *B. bassiana* izolatlarının bu bölgedeki belirli iklim koşullarına adapte olduğu ve burada sunulan bilgilerin gelecek izolat seçim programlarında yararlı olabileceği tespit edildi. Ayrıca *Evlachovaea* sp. KTU-36'nın *M. melolontha*'ya ve *B. cf. bassiana* KTU-53'ünde *D. micans*'a karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceği belirlendi.

5. SONUÇLAR

Doktora tezi olarak hazırlanan "Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Entomopatojenik Funfusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Virülanslarının Belirlenmesi" isimli bu çalışmada şu sonuçlar elde edildi.

1. Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki 301 toprak ve 2 böcek örneğinden toplam 64 adet entomopatojenik fungus izolasyonu yapıldı.

2. Entomopatojenik fungusların Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaygın olarak buldukları gösterildi. Toprak örneklerinde bu değer % 20,59'a tekabül etmektedir.

3. İzole edilen fungusların morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak tür tayinleri yapıldı ve izolatların *M. anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium* sp., *Beauveria bassiana*, *Beauveria* cf. *bassiana*, *Isaria fumosorosea* and *Evlachovaea* sp. oldukları belirlendi.

4. *M. anisopliae* var. *anisopliae*'nin en fazla izole edilen ve yaygın olarak bulunan (% 53,13) fungus olduğu belirlendi.

5. *Evlachovaea* sp. Türkiye'de ilk kez tespit edilerek yeni kayıt olarak belirlendi.

6. *Metarhizium* sp. KTU-9 izolatının yeni bir *Metarhizium* türü olabileceği düşünülmektedir fakat, bu tez çalışmasında tür tayinine yönelik çalışmalar henüz sonuçlandırılmadı.

7. İzole edilen funguslardan 13 adet *B. bassiana* ve 33 adet *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatlarının genetik çeşitliliği belirlendi.

8. *B. bassiana* izolatları arasında yüksek düzeyde genetik çeşitlilik belirlendi ve bu genetik çeşitliliğin coğrafik lokalite ile ilişkili fakat, habitat tipiyle ilişkili olmadığı tespit edildi.

9. *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasında da yüksek düzeyde genetik çeşitlilik belirlendi fakat, bu genetik çeşitliliğin ne coğrafik lokalite ne de habitat tipiyle ilişkili olmadığı belirlendi.

10. *T. molitor*'a karşı yüksek aktivite gösteren 9 izolatın *M. melolontha* ve *D. micans*'a karşı insektisidal aktiviteleri belirlendi. Patojenite testlerine göre, *Evlachovaea* sp. KTU-36'nın *M. melolontha*'ya ve *B. cf. bassiana* KTU-57'nin de *D. micans*'a karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceği tespit edildi.

11. Entomopatojenik fungusların bu bölgede yayılışını gösteren bu çalışma Türkiye ve bu bölge için ilk defa gerçekleştirildi.

12. Bu sonuçlar ile entomopatojenik fungusların bu bölgede yayılış gösteren *M. melolontha* ve *D. micans*'a karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılacakları ortaya konmuştur.

6. ÖNERİLER

Ülkemizde zararlı böcekler ile mücadele bazı istisnalar dışında tamamen kimyasal ilaçlar kullanılarak yapılmaktadır. Oysa kullanılan bu 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. Son yıllarda araştırmalarına ağırlık verilen biyolojik mücadele ile kimyasal mücadelenin yol açabileceği birçok olumsuz etkiler ortadan kaldırılabilmektedir. Gelişmiş ülkelerin hepsinde biyolojik mücadele ön planda tutulmakta ve bu konu üzerindeki çalışmalar daha ileriye götürülmektedir. Kimyasalların mücadele materyali olarak kullanılmamaları Avrupa Birliğinin önemli gündem maddeleri arasında yer almaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda geliştirilen birçok biyolojik mücadele etmeni (özellikle mikrobiyal mücadele etmenleri) birçok ülkede ticari olarak satılmaktadır.

Bu çalışmayla ülkemiz için entomopatojenik funguslar açısından detaylı bir survey çalışması yapılmış olup, elde edilen fungusların çeşitli zararlı böceklerle karşı öldürücü etkilerine bakılmıştır. Çalışma kapsamında yüksek düzeyde öldürücü etkisi bulunan fungus türlerinin amaç böceklerle karşı daha ayrıntılı çalışmalarının yapılması kaçınılmazdır. Özellikle Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel koşulları dikkate alındığında bu çalışmada elde edilen fungusların ticari olarak geliştirilmesine yönelik çalışmaların yapılması zorunlu bir husus haline gelmiştir. Bu amaç doğrultusunda, bu fungusların kitle üretimlerinin yapılması, böceğin doğal ortamında alan uygulamalarının yapılması ve ticari preparat haline getirilmesi planlanan çalışmalar arasında yer almaktadır. Böylece, zararlı böcekler ile yapılan kimyasal mücadelenin olumsuz etkileri ortadan kalkacak ve ülke ekonomisine önemli ölçüde katkıda bulunulacaktır.

Bu çalışmada tür seviyesinde tanımlanamayan *Metarhizium* sp. KTU-9 izolatının bundan sonraki tanımlama çalışmalarında önem arz etmektedir. Bunun için, son zamanlarda yayınlanan ve *Metarhizium* cinsinin revizyonunu içeren araştırma makalesinin kullanılması ile bu izolatın yeni bir tür olup olmadığının araştırılması büyük önem arz etmektedir.

Bu çalışma, bu alanda yapılan bir temel araştırma olması nedeniyle konu üzerinde çalışacak diğer araştırmacılara örnek bir çalışma olacaktır. Bu tezde yer alan bilgiler ile daha yüksek aktiviteye sahip yeni entomopatojenik fungus türlerinin tespitinin yapılması mümkün olacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W., S., 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide, J. Econ. Entomol., 18, 265-267.
- Acatay, A., 1968. A New Pest of Spruce Trees in Turkey, *Dendroctonus micans* Kug, İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, 18, 18-36.
- AliNiazee, M., T., 1998. Ecology and Management of Hazelnut Pests, Annu. Rev. Entomol., 43, 395-419.
- Ali-Shtayeh, M., S., Abdel-Basit, M. ve Jamous, R., 2002. Distribution, Occurrence and Characterization of Entomopathogenic Fungi in Agricultural Soil in the Palestinian Area, Mycopathologia, 156, 235-244.
- Anonim, 2005. Türkiye'nin Doğal Bitki Örtüsü ve Hayvan Toplulukları, Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim yayınları, Unite 5.
- Batta, Y., A., 2007. Biocontrol of Almond Bark Beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes), J. Appl. Microbiol., 103, 1406-1414.
- Bidochka, M., J., Kamp, A., M., Lavender, T., M., Dekoning, J. ve De Croos, J., N., A., 2001. Habitat Association in Two Genetic Groups of the Insect- Pathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*: Uncovering Cryptic Species? Appl. Environ. Microbiol., 67, 1335-1342.
- Bidochka, M., J., Menzies, F., V. ve Kamp, A., M., 2002. Genetic Groups of the Insect-Pathogenic Fungus *Beauveria bassiana* are Associated with Habitat and Thermal Growth Preferences, Arch. Microbiol., 178, 531-537.
- Bischoff, J., F., Rehner, S., A. ve Humber, R., A., 2006. *Metarhizium frigidum* sp. nov.: a Cryptic Species of *M. anisopliae* and a Member of the *M. flavoviride* Complex, Mycologia, 98, 737-745.
- Bischoof, J., F., Rehner, S., A., Humber, R., A., 2009. A Multilocus Phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* Lineage, Mycologia, 101, 512-530.
- Boland, G., J. ve Kuykendall, L., D., 1998. Plant-Microbe Interactions and Biological Control. In: Formulation Microorganisms for Biological Control of Weeds, Green, S., Steward-Wade, S., M., Boland, G., J., Teshler, M., P. ve Liu, S., H. (Ed.), CRC press, New York, 249-287.

- Borisov, B., A. ve Tarasov, K., L., 1999. Notes on Biodiversity of Causal Agents of Invertebrate Mycosis in Adjara (Southwestern Georgia). I. *Evlachovaea kintrischica* gen et sp. nov. (Hyphomycetes) from Kintrishi Reservation, Micologiya Fitopatologiya, 33, 248-256 (in Russian).
- Brownbridge, M., Humber, R., A., Parker, B., L. ve Skinner, M., 1993. Fungal Entomopathogens Recovered from Vermont Forest Soils, Mycologia, 85, 358-361.
- Bustillo, A., E., Bernal, M., G., Benavides, P. ve Chaves, B., 1999. Dynamics of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Infecting *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) Populations Emerging from Fallen Coffee Berries, Florida Entomol., 82, 491-498.
- Castrillo, L., A., Roberts, D., W. ve Vandenberg, J., D., 2005. The Fungal Past, Present, and Future: Germination, Ramification, and Reproduction, J. Invertebr. Pathol., 89, 46-56.
- Chandler, D., Hay, D. ve Reid, A., P., 1997. Sampling and Occurrence of Entomopathogenic Fungi and Nematodes in UK Soils, Appl. Soil Ecol., 5 (1997) 133-141.
- Clarkson, J., M. ve Chamley, A., K., 1996. New Insights into the Mechanisms of Fungal Pathogenesis in Insects, Trends Microbiol., 4, 5.
- Couteaudier, Y., Viaud, M. ve Riba, G., 1996. Genetic Nature, Stability, and Improved Virulence of Hybrids from Protoplast Fusion in *Beauveria*, Microb. Ecol., 32, 1-10.
- Cross, J., V., Solomon, M., G., Chandler, D., Jarret, P., Richardson, P., N., Winstanley, D., Balton, H., Huber, J., Keller, B., Langenruch, G., A. ve Zimmermann, G., 1999. Biocontrol of Pests of Apples and Pears in Northern and Central Europe: 1. Microbial Agents and Nematodes, Biocont. Sci. Technol., 9, 125-149.
- Davidson, G. ve Chandler, D., 2005. Laboratory Evaluation of Entomopathogenic Fungi against Larvae and Adults of Onion Maggot (Diptera: Anthomyiidae), J. Econ. Entomol., 98, 1848-1855.
- Demirbağ, Z., 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- Dolci, P., Guglielmo, F., Secchi, F. ve Ozino, O., I., 2006. Persistence and Efficacy of *Beauveria brongniartii* Strains Applied as Biocontrol Agents against *Melolontha melolontha* in the Valley of Aosta (northwest Italy), J. Appl. Microbiol., 100, 063-1072.

- Draganova, S., Takov, D. ve Doychev, D., 2006. Bioassay with Isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown & Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae), Plant Sci., 44, 24-28.
- Driver, F., Milner, R., J. ve Trueman, J., W., H., 2000. A Taxonomic Revision of *Metarhizium* Based on a Phylogenetic Analysis of rDNA Sequence Data, Mycol. Res., 104, 134-150.
- Dromph, K., 2003. Collembolans as vectors of Entomopathogenic Fungi, Pedobiologia, 47, 245-256.
- Duperchy, E., 2003. Identification of Up-Regulated Genes of the Hyphomycete, *Beauveria bassiana* during the Infection of *Leptinotarsa decemlineata*, PhD thesis, Roberto-Carola University of Heidelberg, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Heidelberg, Germany.
- 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.
- Enkerli, J., Kölliker, R., Keller, S. ve Widmer, F., 2005. Isolation and characterization of microsatellite markers from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*, Mol. Ecol. Notes, 5, 384-386.
- Enkerli, J. ve Widmer, F., 2010. Molecular Ecology of Fungal Entomopathogens: Molecular Genetic Tools and Their Applications in Population and Fate Studies, Biocontrol, 55, 17-37.
- Eroğlu, M., 1995. *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera, Scolytidae)'ın Popülasyon Dinamiğine Etki Eden Faktörler Üzerine Araştırmalar, I. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Ekim, Trabzon, Bildiriler Kitabı: 148-159.
- Fang, W., Leng, B., Xiao, Y., Jin, K., Ma, J., Fan, Y., Feng, J., Yang, X., Zhang, Y. ve Pei, Y., 2005. Cloning of *Beauveria bassiana* Chitinase Gene *Bbchit1* and its Application to Improve Fungal Strain Virulence, Appl. Environ. Microbiol., 71, 363-370.
- Fegan, M., Manners, J., M., Maclean, D., J., Irwin, J., A., Samuels, K., D., Holdom, D., G. ve Li, D., P., 1993. Random Amplified Polymorphic DNA Markers Reveal a High Degree of Genetic Diversity in the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, J. Gen. Microbiol., 139, 2075-81.
- Fernandes, K., K., Moraes, A., M., L., Pacheco, R., S., Rangel, D., E., N., Miller, M., P., Bittencourt, V., R., E., B. ve Roberts, D., W., 2009. Genetic Diversity Among Brazilian Isolates of *Beauveria bassiana*: Comparisons with non-Brazilian Isolates and Other *Beauveria* Species, J. Appl. Microbiol., 107, 760-774.

- Ferron P., 1978. Biological Control of Insects by Entomogenous Fungi, Annu. Rev. Entomol., 23, 409-42.
- Fungaro, M., H., P., Vieira, M., L., C., Pizzirani-Kleiner, A., A. ve Azevedo, J., L., 1996. Diversity Among Soil and Insect Isolates of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* Detected by RAPD, Lett. Appl. Microbiol., 22, 389-392.
- Fuxa, J., R., 1987. Ecological Considerations for the Use of Entomopathogens in IPM, Annu. Rev. Entomol., 32, 225-51.
- Gaitan, A., Valderrama, A., M., Saldarriaga, G., Velez, P. ve Bustillo, A., 2002. Genetic Variability of *Beauveria bassiana* Associated with the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* and Other Insects, Mycol. Res., 106, 1307-1314.
- Goettel, M., S. ve Inglis, G., D., 1997. Fungi: Hyphomycetes. In: Manual of Techniques in Insect pathology, Lacey, L., A. (Ed.), Academic Press, Amsterdam, 213-249.
- Goettel, M., S., Eilenberg, J. ve Glare, T., 2005. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations. In: Comprehensive Molecular Insect Science, Gilbert, L., I., Iatrou, K. ve Gill, S., S. (Ed.), Amsterdam, 361-405.
- Gregoire, J., C., 1983. Host Colonization Strategies in *Dendroctonus*: Larval Gregariousness or Mass Attack by Adults, The Role of the Host in the Population Dynamics of Forest Insects, Canadian Forestry Service and USDA Forest Service, Victoria, British Columbia, 147-154.
- Gulsar Banu, J., Subahasan, K. ve Iyer, R., 2004. Occurrence and Distribution of Entomopathogenic Nematodes in White Grub Endemic Areas of Kerala, J. Plant Crops, 32, 333-334.
- Hajek, A., E., Humber, R., A., Elkinton, J., S., May, B., Walsh, S., R., A. ve Silver, J., C., 1990. Allozyme and Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses Confirm *Entomophaga maimaiga* Responsible for 1989 Epizootics in North American Gypsy Moth Populations, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 6979-6982.
- 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. ve Webb, R., E., 1999. Inoculative Augmentation of the Fungal Entomopathogen *Entomophaga maimaiga* as a Homeowner Tactic to Control Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae), Biol. Cont., 14, 11-18.
- Hall, R., A. ve Papierok, B., 1982. Fungi as Biological Control Agents of Arthropods of Agricultural and Medical Importance, Parasitology, 84, 205-240.
- Hall, T., A., 1999. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT, Nucleic Acids Symp., 41, 95-98.

- Hegedus, D., D. ve Khachatourians, G., G., 1996. Identification and Differentiation of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Using Polymerase Chain Reaction and Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis, J. Invertebr. Pathol., 67, 289-299.
- Humber, R., A., 1997. Entomopathogenic Fungal Identification. In: Manual of Techniques in Insect Pathology, Lacey, L., A. (Ed.), San Diego, 153-185.
- Humber, R., A., 2008. Evaluation of Entomopathogenity in Fungi, J. Invertebr. Pathol., 98, 262-266.
- Ihara, F., Yaginuma, K., Kobayashi, N., Mishiro, K. ve Sato, T., 2001. Screening of Entomopathogenic Fungi against the Brown-Winged Green Bug, *Plautia stali* Scott (Hemiptera: Pentatomidae), Appl. Entomol. Zool., 36, 4, 495-500.
- Ihara, F., Toyama, M. ve Sato, T., 2003. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* to the Chestnut Weevil Larvae under Laboratory and Field Conditions, Appl. Entomol. Zool., 38, 461-465.
- Inglis, G., D., Goettel, M., S., Butt, T., M. ve Strasser, H., 2001. Use of Hyphomycetous Fungi for Managing Insects Pests. In: Fungi as Biocontrol Agents, Butt, T., M., Jackson, C., ve Magan, N. (Ed.), Oxon: CABI Publishing, 23-69.
- Inglis, G., D., Duke, G., M., Goettel, M., S. ve Kabaluk, J., T., 2008. Genetic Diversity of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* in Southwestern British Columbia, J. Invertebr. Pathol., 98, 101-113.
- Jaccard, P., 1908. Nouvelles Recherches Sur la Distribution Florale, Société Vaudoise des Sciences Naturelles Bulletin, 44, 223-270.
- Jackson, T., A., Alves, S., B. ve Pereira, R., M., 2000. Success in Biological Control of Soil-Dwelling Insects by Pathogens and Nematodes. In: Biological Control: Measures of success, Gurr, G., Wratten, S. (Ed.), London, 271-296.
- Jankevica, L., 2004. Ecological Associations between Entomopathogenic Fungi and Pest Insects Recorded in Litvania, Latv. Entomol., 41, 60-65.
- Keller, S. ve Zimmerman, G., 1989. Mycopathogens of Soil Insects, In: Insect-Fungus Interactions, Wilding, N., Collins, N., M., Hammond, P., M. ve Webber, J., F. (Ed.), London, 239-270.
- Keller, S., Schweizer, C., Keller, E. ve Brenner, H., 1997. Control of White Grubs (*Melolontha melolontha* L.) by Treating Adults with the Fungus *Beauveria brongniartii*, Biocont. Sci. Technol., 7, 105-116.
- Keller, S., Kessler, P. ve Schweizer, C., 2003. Distribution of Insect Pathogenic Fungi in Switzerland with Special Reference to *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*, Biol. Cont., 48, 307-319.

- Keller, S., Epper, C. ve Wermelinger, B., 2004. *Metarhizium anisopliae* as a New Pathogen of the Spruce Bark Beetle *Ips typographus*, Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft, 77, 121-123.
- Kibar Ak, K., Uysal, M. ve Tuncer C., 2005. Bark Beetle (Coleoptera: Scolytidae) Species which are Harmful in Hazelnut Orchards, their Short Biology and Densities in Giresun, Ordu and Samsun Provinces of Turkey, J. Fac. Agric., OMU, 20, 37-44.
- King, C., J. ve Fielding, N., J., 1989. *Dendroctonus micans* in Britain – its Biology and Control, Forestry Comm. Bull., 85, 11.
- Klingen, I., Eilenberg, J. ve Meadow, R., 2002. Impact of Farming Systems, Field Margins and Bait Insect on the Findings of Insect Pathogenic Fungi in Soil, Agric. Ecosys. Environ., 91, 191-198.
- Konukçu, M., 2001. Ormanlar ve Ormancılığımız, D.P.T., Yayın No: 2630, Ankara.
- Kreutz, J., Vaupel, O. ve Zimmermann, G., 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the Spruce Bark Beetle, *Ips typographus* L., in the Laboratory under Various Conditions, J. Appl. Entomol., 128, 384-389.
- Lacey, L., A. ve Goettel, M., S., 1995. Current Developments in Microbial Control of Insect Pests And Prospects for The Early 21st Century, Entomophaga, 40, 3-27.
- Leland, J., E., 2001. Environmental-Stress Tolerant Formulations of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* for Control of African Desert Locust (*Schistocerca gregaria*), PhD thesis, Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia.
- Lempérière, G., 1994. Ecology of the Great European Spruce Bark Beetle *Dendroctonus micans* (Kug.), Ecologie, 25, 31-38.
- Liu, G., 1939. Some Extracts from the History of Entomology in China, Psyche, 46, 23-28.
- Liu, H. ve Bauer, L., 2006. Susceptibility of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, J. Econ. Entomol., 99, 1096-1103.
- Lomer, C., J., Bateman, R., P., Johnson, D., L., Langewald, J. ve Thomas, M., 2001. Biological Control of Locusts and Grasshoppers, Annu. Rev. Entomol., 46, 667-702.
- Luangsa-Ard, J., J., Hywel-Jones, N., L., Manoch, L. ve Samson, R., A., 2005. On the Relationships of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* Species, Mycol. Res., 109, 581-589.
- Luz, C., Rocha, L., F., N. ve Humber, R., A., 2003. Record of *Evlachovaea* sp on *Triatoma sordida* in the State of Goia's, Brazil, and its Activity against *Triatoma infestans*, J. Med. Entomol., 40, 451-454.

- Marannino, P., Santiago-Alvarez, C., De Lillo, E. ve Quesada-Moraga, E., 2006. A New Bioassay Method Reveals Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against Early Stages of *Capnodis tenebrionis* (Coleoptera; Buprestidae), J. Invertebr. Pathol., 93, 210-213.
- Maurer, P., Couteaudier, Y., Girard, P., A., Bridge, P., D. ve Riba, G., 1997. Genetic Diversity of *Beauveria bassiana* and Relatedness to Host Insect Range, Mycol. Res., 10, 159-164.
- Meyer, J., M., Hoy, M., A. ve Boucias, D., G., 2008. Isolation and Characterization of an *Isaria fumosorosea* Isolate Infecting the Asian Citrus Psyllid in Florida, J. Invertebr. Pathol., 99, 96-102.
- Meyling, N., V., Rehner, S., A., Lübeck, M., Buckley, E., P. ve Eilenberg, J., 2005. Multiple Genetic Lineages Coexist Sympatrically within a Local Population of *Beauveria bassiana* s.l, Proceedings of the 38th annual meeting of the society for invertebrate pathology, August, Anchorage, AK, USA, p 61.
- Meyling, N., V. ve Eilenberg, J., 2006. Occurrence and Distribution of Soil Borne Entomopathogenic Fungi within a Single Organic Agroecosystem, Agric. Ecosys. Environ., 113, 336-341.
- Meyling, N., V., Pell, J., K. ve Eilenberg, J., 2006. Dispersal of *Beauveria bassiana* by the activity of nettle insects, J. Invertebr. Pathol., 93, 121-126.
- Meyling, N., V. ve Eilenberg, J., 2007. Ecology of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Temperate Agroecosystems: Potential for Conservation Biological Control, Biol. Cont., 43, 145-155.
- Meyling, N., V., 2008. PCR-Based Characterisation of Entomopathogenic Fungi for Ecological Studies, Vegqure, Copenhagen, 14 S.
- Meyling, N., V., Lübeck, M., Buckley, E., P., Eilenberg, J. ve Rehner, S., A., 2009. Community composition, host range and genetic structure of the fungal entomopathogen *Beauveria* in adjoining agricultural and seminatural habitats, Mol. Ecol., 18, 1282-1293.
- Milner, R., J., Soper, R., S. ve Lutton, G., G., 1982. Field Release of an Israeli Strain of the Fungus *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko for Biological Control of *Therioaphis trifolii* (Monell) f. *maculata*, J. Aust. Entomol. Soc., 21, 113-118.
- Milner, R., J., 2000. Current Status of *Metarhizium* as a Mycoinsecticide in Australia, Biocont. News Info., 21, 47-50.
- Montesinos, E., 2003. Development, Registration and Commercialization of Microbial Pesticides for Plant Protection, Int. Microbiol., 6, 245-252.

- Mueller, U., G. ve Wolfenbarger L., L., 1999. AFLP Genotyping and Fingerprinting, Trends Ecol. Evol., 14, 389-394.
- Muro, M., A., Mehta, S. ve Moore, D., 2003. The Use of Amplified Fragment Length Polymorphism for Molecular Analysis of *Beauveria bassiana* Isolates from Kenya and Other Countries, and Their Correlation with Host and Geographical Origin, FEMS Microbiol. Lett., 229, 249-257.
- Muro, M., A., Elliott, S., Moore, D., Parker, B., L., Skinner, M., Reid, W. ve Boussini, M., E., 2005. Molecular Characterization of *Beauveria bassiana* Isolates Obtained from Overwintering Sites of Sunn Pests (*Eurygaster* and *Aelia* species), Mycol. Res., 109, 294-306.
- Nei, M. ve Li, W., H., 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Term of Restriction Endonucleases, Proc. Natl. Acad. Sci., 76, 5269-5273.
- Oğurlu, İ., 2000. Biyolojik Mücadele, Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, Isparta.
- Özman-Sullivan, S., K., 2006. Harmful Mites and Their Economic Importance in Hazelnut Orchards, J. Fac. Agric., OMU, 21, 261-264.
- Panter, C., ve Russell, R., C., 1984. Rapid Kill of Mosquito Larvae by High Concentrations of *Culicinomyces clavisporus* Conidia, Mosquito News, 44, 242-244.
- Pantou, M., P., Mavridou, A., Typas, M., A., 2003. IGS Sequence Variation, Group-I Introns and the Complete Nuclear Ribosomal DNA of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium*: Excellent Tools for Isolate Detection and Phylogenetic Analysis, Fung. Genet. Biol., 38, 159-174.
- Paparatti, B. ve Speranza, S., 1999. Biological Control of Chestnut Weevil (*Curculio elephans* Gyll.; Coleoptera, Curculionidae) with the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Deuteromycotina, Hyphomycetes), Acta Horticulture, II. International symposium on chestnut, Bordeaux, 494, 459-464.
- Paparatti, B. ve Speranza, S., 2005. Biological Control of Hazelnut Weevil (*Curculio nucum* L., Coleoptera, Curculionidae) Using the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Deuteromycotina, Hyphomycetes). Acta Horticulture, VIth International symposium on hazelnut, Tarragona-Reus, 686, 407-412.
- Pell, J., K., Eilenberg, J., Hajek, A., E. ve Steinkraus, D., C., 2001. Biology, Ecology and Pest Management Potential of Entomophthorales. In: Fungi as Biocontrol Agents, Butt, T., M., Jackson, J. ve Magan, N. (Ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK, 390-10.
- Peter, G., 1984. Plant Pests and Their Control, Fenemore, London.

- Quesada-Moraga, E. ve Vey, A., 2003. Intra-specific Variation in Virulence and In Vitro Production of Macromolecular Toxins Active Against Locust among *Beauveria bassiana* Strains and Effects of In Vivo and In Vitro Passage on These Factors, Biocont. Sci. Technol., 13, 323-340.
- Rath, A., C., 2000. The Use of Entomopathogenic Fungi for Control of Termites, Biocont. Sci. Technol., 10, 563- 581.
- Rehner, S., A. ve Buckley, E., P., 2003. Isolation and Characterization of Microsatellite Loci from the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales), Mol. Ecol. Notes, 3, 409-411.
- Rehner, S., A. ve Buckley, E., 2005. A *Beauveria* Phylogeny Inferred from Nuclear ITS and EF1- α Sequences: Evidence for Cryptic Diversification and Links to *Cordyceps* Teleomorphs, Mycologia, 97, 84-98.
- Rehner, S., A., Posada, F., Buckley, E., P., Infante, F., Castillo, A. ve Vega, F., E., 2006. Phylogenetic Origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. Pathogens of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*, J. Invertebr. Pathol., 93, 11-21.
- Roberts, D., W., 1989. Word Picture of Biological Control of Insects by Fungi, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 84, 89-100.
- Roy, H., E., Steinkraus, D., C., Eilenberg, J., Hajek, A., E. ve Pell, J., K., 2006. Bizarre Interactions and Endgames: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts, Annu. Rev. Entomol., 51, 331-57.
- Schlüter, P., M., ve Harris, S., A., 2006. Analysis of Multilocus Fingerprinting Data Sets Containing Missing Data, Mol. Ecol. Notes, 6, 569-572.
- Scholte, E., J., Knol, B., G., J., Samson, R., A. ve Takken, W., 2004. Entomopathogenic Fungi for Mosquito Control, J. Insect Sci., 4, 19.
- Sevim, A., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2010. Molecular Characterization and Virulence of *Beauveria* spp. from the Pine Processionary Moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), Mycopathologia, 170, 269-277.
- Sevim, A., Demir, I., Tanyeli, E., ve Demirbag, Z., 2010. Screening of Entomopathogenic Fungi against the European Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), Biocont. Sci. Technol., 20, 3-11.
- Sezen, K., 2004. Coleoptera Takımına Ait Bazı Fındık Zararlılarında Virüs Tespiti ve Biyolojik Mücadelede Kullanım Potansiyeli, 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.

- Sokal, R., R. ve Michener, C., D., 1958. A Statistical Method for Evaluating Systematic Relationships, Univ. Kansas Sci. Bull., 38, 1409-1438.
- 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.
- Takatsuka, J., 2007. Characterization of *Beauveria bassiana* Isolates from Japan Using Intersimple-Sequence Repeat-Anchored Polymerase Chain Reaction (ISSR-PCR) Amplification, Appl. Entomol. Zool., 42, 563-571.
- T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı, 2006. Orman Varlığımız, Orman Genel Müdürlüğü, Ankara, 160 S.
- T.C. Tarım Bakanlığı, 1992. Struggle with Hazelnut Pests and Diseases, Ankara.
- T.C. Tarım Bakanlığı, 2007. Strategy Development Presidency, East Black Sea Regional Agriculture Infinitive Plan, Ankara, 35.
- Torres, M., S., White, J., F. ve Bischoff, J., F., 2005. *Cordyceps spgazzinii* sp. nov., a new Species of the *C. militaris* group, Mycotaxon, 94, 253-263.
- Tuncer, C. ve Ecevit, O., 1997. Current Status of Hazelnut Pests in Turkey. ISHS Acta Horticulturae, IVth International Symposium on Hazelnut, 445.
- Tuncer, C., Akça, I. ve Saruhan, I., 2001. Integrated Pest Management in Turkish Hazelnut Orchards, ISHS Acta Horticulturae, Vth International Congress on Hazelnut, 556.
- URL-1, <http://www.findikci.net/turkce.html> Fındık Zararlıları, 23 Ocak 2009.
- URL-2, <http://www.sauforum.com/ekoloji-ders-notlari-biyolojik-mucadele-1781.html> Biyolojik Mücadele, 24 Şubat 2009.
- URL-3, <http://www.sipweb.org/fungi/humber.pdf> Recent Phylogenetically Based Reclassifications of Fungal Pathogens of Invertebrates, 24 Şubat 2009.
- URL-4, http://obmtrabzon.gov.tr/?page=koseyazilari&d_id=1, 30 Temmuz 2006.
- URL-5, <http://findikci.net/mbocegi.htm>, Mayıs Böceği, 21 Haziran 2009.
- Urtz, B., E. ve Rice, W., C., 1997. RAPD- PCR characterization of *Beauveria bassiana* isolates from the rice water weevil *Lissorhoptrus oryzophilus*, Lett. Appl. Microbiol., 25, 405-409.
- Van de Peer, Y. ve De Wachter, R., 1994. TREECON for Windows: a Software Package for the Construction and Drawing of Evolutionary Trees for the Microsoft Windows Environment, Comput. Appl. Biosci., 10, 569-570.

- Vanninen, I. ve Husberg, G., B., 1989. Occurrence of Entomopathogenic Fungi and Entomoparasitic Nematodes in Cultivated Soils in Finland, Entomologica Fennica, 53, 65-71.
- Vanninen, I., 1995. Distribution and Occurrence of Four Entomopathogenic Fungi in Finland: Effect of Geographical Location, Habitat Type and Soil Type, Mycol. Res., 100, 93-101.
- Velásquez, V., B., Cárcamo, M., P., Meriño, C., R., Iglesias, A., F. ve Durán, J., F., 2007. Intraspecific Differentiation of Chilean Isolates of the Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* as Revealed by RAPD, SSR and ITS Markers, Gen. Mol. Biol., 30, 89-99.
- Viaud, M., Couteaudier, Y. ve Riba, G., 1998. Molecular Analysis of Hypervirulent Somatic Hybrids of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria sulfurescens*, Appl. Environ. Microbiol., 64, 88-93.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Vandele, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. ve Zabeau, M., 1995. AFLP: New Technique for DNA Fingerprinting, Nucleic Acids Res., 23, 4407-4414.
- Wan, H., 2003. Molecular Biology of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: Insect-Cuticle Degrading Enzymes and Development of a New Selection Marker for Fungal Transformation, PhD thesis, Combined Faculties for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto-Carola University of Heidelberg, Germany.
- White, T., J., Bruns, T., Lee, S. ve Taylor, J., 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: PCR protocols: a Guide to Methods and Applications, Innis, M., A., Gelfand, D., H., Sninsky, J., J., White, T., J. (Ed.), San Diego, 315-322.
- Yılmaz, H., 2004. *Dendroctonus minacs*'ın Bakteriyal Florası ve Mikrobiyal Mücadele Etmenlerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Zimmermann, G., 1986. The "Galleria Bait Method" for Detection of Entomopathogenic Fungi in Soil, Zeitschrift Angewandte Entomologie, 102, 213-215.
- Zimmermann, G., 1992. Pflanzenschutz-Nachr, Bayer, 45, 113-128.
- Zimmermann, G., 1993. The entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* and its Potential as a Biocontrol Agent, Pestic. Sci., 37, 375-379.
- Zimmermann, G., 2007a. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, Biocont. Sci. Technol., 17, 553-596.
- Zimmermann, G., 2007b. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*, Biocont. Sci. Technol., 17, 879-920.

Zimmermann, G., 2008. The Entomopathogenic Fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* Species Complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): Biology, Ecology and Use in Biological Control, Biocont. Sci. Technol., 18, 865-901.

8. EKLER

Ek tablo-1. Filogenetik analizlerde kullanılan entomopatojenik fungus türlerine ait GenBank numaraları

Tür	İzolat	Ülke	Konak	Clade ^a	GenBank numarası		
					ITS	EF1- α	18S rDNA
<i>Beauveria bassiana</i>	ARSEF 751	Viyetnam	Coleoptera: Chrysomelidae	A	AY532045	AY531954	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 678	Çin	Homoptera: Cicadellidae	A	AY532037	AY531946	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 788	Brezilya	Coleoptera: Chrysomelidae	A	AY532047	AY531956	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 730	Brezilya	Hymenoptera: Vespidae	A	AY532043	AY531952	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 796	Kolombiya	Dermoptera	A	AY532050	AY531959	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 937	Brezilya	Coleoptera: Chrysomelidae	A	AY532056	AY531965	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 816	Fransa	Coleoptera: Curculionidae	A	AY532053	AY531962	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 4021	Danimarka	Coleoptera: Curculionidae	A	AY532024	AY531933	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 344	ABD	Coleoptera: Chrysomelidae	A	AY532023	AY531932	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 1185	Fransa	Coleoptera: Curculionidae	A	AY531977	AY531886	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 326	Avustralya	Lepidoptera: Pyralidae	A	AY532021	AY531929	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 3097	–	NA	A	AY532016	AY531925	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 1478	Brezilya	Hemiptera: Pentatomidae	A	AY531981	AY531890	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 32	ABD	Orthoptera: Acrididae	A	AY532017	AY531930	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 1040	Japonya	Lepidoptera: Bombycidae	A	AY531972	AY531881	–
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 2427	–	–	–	–	–	AF280633
<i>B. amorpha</i>	ARSEF 1969	Peru	Coleoptera: Curculionidae	F	AY531998	AY531907	–
<i>B. amorpha</i>	ARSEF 2641	Brezilya	Hymenoptera: Formicidae	F	AY532008	AY531917	–

Ek tablo-1'in devamı

<i>B. brongniarti</i>	ARSEF 4850	Kore	Coleoptera: Cerambycidae	B	AY532028	AY531937	–
<i>B. brongniarti</i>	ARSEF 4384	Çin	Coleoptera: Scarabidae	B	AY532026	AY531935	–
<i>B. celedonica</i>	ARSEF 1567	İsviçre	Coleoptera: Scolytidae	D	AY531986	AY531894	–
<i>B. cf. bassiana</i>	ARSEF 152	Bağımsız Devletler Topluluğu	Hymenoptera: Pamphiliidae	C	AY531983	AY531892	–
<i>B. cf. bassiana</i>	ARSEF 812	Fransa	Hemiptera: Tingidae	C	AY532051	AY531960	–
<i>B. cf. bassiana</i>	ARSEF 813	Fransa	Coleoptera: Curculionidae	C	AY532052	AY531961	–
<i>B. cf. bassiana</i>	ARSEF 2054	ABD	Lepidoptera: Lymantriidae	C	AY532002	AY531911	–
<i>B. cf. bassiana</i>	ARSEF 3216	ABD	Thysanoptera: Thripidae	C	AY532019	AY531927	–
<i>B. cf. bassiana</i>	ARSEF 3220	Portegiz	Lepidoptera: Tortricidae	C	AY532020	AY531928	–
<i>B. vermicania</i>	ARSEF 2922	Şili	Soil	D	AY532012	AY531920	–
<i>Cordyceps cf. scarabaeicola</i>	EFCC 252	Güney Kore	NA	E	AY532057	AY531966	–
<i>Isaria amoenerosea</i>	CBS 107.73	–	Coleopteran pupa	–	AY624168	–	–
<i>I. cateniannulata</i>	CBS 152.83	–	Coleopteran adult	–	AY624172	–	–
<i>I. cateniobliqua</i>	CBS 153.83	–	Adoxophyes privatana	–	AY624173	–	–
<i>I. cicadae</i>	BCC 2574	Tayland	Cicada nymph	–	AY624175	–	–
<i>I. coleopterora</i>	CBS 102.73	Fransa	Lampyridae	–	AY624176	–	–
<i>I. coleopterora</i>	CBS 110.73	Gana	Coleopteran larva	–	AY624177	–	–
<i>I. farinosa</i>	CBS 111113	Danimarka	NA	–	AY624181	–	–
<i>I. farinosa</i>	CBS 541.81	Galapagos adası	Small spider	–	AY624180	–	–
<i>I. farinosa</i>	CBS 262.58	İngiltere	Garden soil	–	AY624179	–	–
<i>I. farinosa</i>	CBS 240.32	Hollanda	Lepidopteran pupa	–	AY624178	–	–
<i>I. fumosorosea</i>	CBS 244.31	İrlanda	Butter	–	AY624182	–	–
<i>I. fumosorosea</i>	CBS 375.70	Japonya	Food	–	AY624183	–	–

Ek tablo-1'in devamı

<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	23	Meksika	<i>Anolamia albofasciata</i> (Hemiptera)	–	AF137055	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	1156	Avustralya	Immunocompromised patient	–	AF135216	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	163	Avustralya	<i>Kaloterme</i> sp. (Isoptera) lab. infection	–	AF136375	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	ITALY-12	–	–	–	–	–	AF487276
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	KVL 275	–	–	–	–	–	AF487274
<i>M. anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	Ma-48	–	–	–	–	–	AF487275
<i>M. anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	987	Nijerya	<i>Ornithacris cavroisi</i> (Orthoptera)	–	AF137062	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	1028	Tanzanya	<i>Zonocerus elegans</i> (Orthoptera)	–	AF137064	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>lepidiotum</i>	1042	Avustralya	<i>Dermolepida albohirtum</i> (Coleoptera)	–	AF137066	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>dcjhyium</i>	NA	–	–	–	–	–	DQ288247
<i>M. anisopliae</i> var. <i>majus</i>	388	Filipinler	<i>Oryctes rhinoceros</i> (Coleoptera)	–	AF137060	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>majus</i>	389	Endonezya	<i>O. rhinoceros</i>	–	AF137061	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>majus</i>	ARSEF 3145	–	–	–	–	–	AF339579
<i>M. flavoviridae</i>	1173	Brezilya	Homoptera	–	AF139854	–	–
<i>M. flavoviridae</i>	152	Avustralya	<i>Lepidiota consobrina</i> (Coleoptera)	–	AF139855	–	–

Ek tablo-1'in devamı

<i>M. flavoviridae</i> var. <i>flavoviridae</i>	402	Fransa	<i>Otiorhynchus sulcatus</i>	–	AF138268	–	–
<i>M. flavoviridae</i> var. <i>flavoviridae</i>	38	Avustralya	<i>Adoryphorus couloni</i> (Coleoptera)	–	AF138270	–	–
<i>I. ghanensis</i>	CBS 105.73	–	Lepidopteran pupa	–	AY624185	–	–
<i>I. japonica</i>	BCC 2808	Japonya	Lepidopteran larva	–	AY624199	–	–
<i>I. japonica</i>	BCC 2787	Japonya	Lepidopteran larva	–	AY624200	–	–
<i>I. javanica</i>	CBS 134.22	Endonezya	<i>Stephanoderis hampei</i>	–	AY624186	–	–
<i>I. javanica</i>	CBS 994.73	–	Coleopteran pupa	–	AY624187	–	–
<i>I. tenuipes</i>	ARSEF 5135	–	Lepidopteran pupa	–	AY624196	–	–
<i>I. tenuipes</i>	CBS 997.73	Hollanda	Lepidopteran larva	–	AY624195	–	–
<i>Metarhizium album</i>	MaF	Filipinler	<i>Nephotettix virescens</i> (Homoptera)	–	AF137067	–	–
<i>M. anisopliae</i>	ME1	–	–	–	–	–	AF218207
<i>M. anisopliae</i>	IFO 32258	–	–	–	–	–	AB099510
<i>M. anisopliae</i>	IFO5940	–	–	–	–	–	AB027337
<i>M. anisopliae</i>	IFO 31961	–	–	–	–	–	AB099941
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	1029	Eritre	<i>Schistocerca gregaria</i> (Orthoptera)	–	AF135210	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	328	Avustralya	<i>Inopus rubriceps</i>	–	AF137057	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	114	Avustralya	<i>Antitrogus parvulus</i> (Coleoptera)	–	AF137054	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	1031	Umman	<i>Teleogryllus</i> sp. (Orthoptera)	–	AF135211	–	–

Ek tablo-1'in devamı

<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	1034	Tayland	<i>Patanga succincta</i> (Orthoptera)	–	AF135212	–	–
<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	700	Yeni Zellanda	<i>Costelytra zealandica</i> (Coleoptera)	–	AF137056	–	–
<i>M. flavoviridae</i> var. <i>novazealandicum</i>	1124	Avustralya	Soil	–	AF139852	–	–
<i>M. flavoviridae</i> var. <i>novazealandicum</i>	698	Yeni Zellanda	Lepidoptera	–	AF139851	–	–
<i>M. flavoviridae</i> var. <i>minus</i>	1172	Filipinler	<i>Nilaparvate lugens</i>	–	AF138272	–	–
<i>M. flavoviride</i> var. <i>minus</i>	NA	–	–	–	–	–	AF280632
<i>M. flavoviridae</i> var. <i>pemphigum</i>	72	Britanya	<i>Pemphigus treherni</i> (Homoptera)	–	AF139850	–	–
<i>M. frigidum</i>	ARSEF 4606	–	–	–	–	–	AF339578
<i>Paecilomyces carneus</i>	CBS 399.59	-	Forest soil	–	AY624170	–	–
<i>P. cinnamomeus</i>	CBS 398.86	-	Living leaf of <i>S. jambus</i>	–	AY624174	–	–
<i>P. lilacinus</i>	CBS 431.87	Filipinler	Egg mass of <i>Meloidogyne</i>	–	AY624188	–	–
<i>P. marquandii</i>	CBS 182.27	-	Soil	–	AY624193	–	–
<i>P. niphetodes</i>	CBS 364.76	-	Soil on a rock	–	AY624192	–	–
<i>P. penicillatus</i>	CBS 448.69	-	Rotting mushroom	–	AY624194	–	–
<i>P. viridis</i>	CBS 348.65	Madagaskar	<i>Chameleo lateralis</i>	–	AY624197	–	–

a Clades isimleri sadece *B. bassiana* ve *B. cf. bassiana* izolatları için kullanılmıştır (Rehner ve Buckley, 2005)

– yok

Ek 2. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-2'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177500)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTA
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 3. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-3'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177502)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 4. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-4'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177501)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 5. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-6'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177503)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GGCGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 6. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-10'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesi Baz Sırası (GenBank No: FJ177490)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTA
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 7. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-12'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177478)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 8. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-14'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177489)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GGCGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 9. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-15'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177497)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GGCGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 10. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-18'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177495)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 11. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-19'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177494)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATC
 GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTG
 AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGC
 CTGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGAT
 CGGCGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTGATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 12. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-20'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177496)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTATGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGA
 TGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
 CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTG
 TTCGAGCGTCATTACGCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTTGGGGATCGG
 CGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCCGT
 GGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGTCC
 ACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACTA
 CCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 13. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-21'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177498)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTTGGGGATC
 GGCGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 14. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-26'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177485)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCGACTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 15. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-27'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177502)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 16. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-28'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177484)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 17. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-29'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177487)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 18. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-30'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177507)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGAGA
 ACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 19. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-31'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177481)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 20. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-32'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177479)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCTAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTGG
 TTAATAAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATC
 GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTG
 AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGC
 CTGTTGAGCGTCATTACGCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTTGGGGAT
 CGGCGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 21. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-34'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177482)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAATAAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTGAGCGTCATTACGCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTTGGGGATC
 GGCGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 22. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-37'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177504)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 23. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-39'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177499)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 24. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-40'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177483)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 25. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-41'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177486)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GGCGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 26. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-44'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177491)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 27. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-45'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177493)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 28. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-46'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177474)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATC
 GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTG
 AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGC
 CTGTTGAGCGTCATTACGCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTTGGGGAT
 CGGCGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCG
 CCGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGTGCCCGGCGCG
 GTCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGG
 ACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 29. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-47'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177488)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTGAGCGTCATTACGCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTTGGGGATC
 GGCGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 30. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-48'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177492)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 31. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-49'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177473)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GGCGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 32. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-51'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177506)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 33. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-54'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177476)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 34. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-58'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177477)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCACAGCCGTCCCTTAAATTAATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

Ek 35. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-60'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177475)

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAATTATACCTTTAATTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATAAGTATCTTCTGAGTG
 GTTAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCTGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGGCTGGTTTTCCAGCGCAGCCGTCCCTCAAATCAATTGGCGGTCTCGC
 CGTGGCCCTCCTCTGCGCAGTAGTAAACACTCGCAACAGGAGCCCGGCGCGG
 TCCACTGCCGTAAAACCCCCCAACTTTTTATAGTGACCTCGAATCAGGTAGGAC
 TACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 36. *Metarhizium* sp. KTU-9'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177480)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
 CCAACTCCCAACCCCTGTGAACATACTGTAACCTGTTGCTTCGGCGGGACTTC
 GCGCCCGCCGGGGACCCAAACCTTCTGAATTTTTTAATGAGTATCTTCTGAGTG
 GTAAAAAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
 ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTCAGTATTCTGGCGGGCATGCC
 TGTTTCGAGCGTCATTACGCCCCTCAAGTCCCCCGTGGACTTGGTGTGGGGATC
 GCGGAGCGCTGTCTTCTCAGCACGCCGTCCCCCAAATTTATTGGCGGTCTCGCC
 GTGGCCATCCTCTGCGCAGTAGTAAAACACTCGCAACGGGAGCCCGGTGAGGT
 CCACTGCCGTAAAACCCCAACTTTTTACAGTGACCTCGAATCAGGTAGGACT
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 37. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-14'ün 18S SSU Gen Bölgesinin
Baz Sırası (GenBank No: FJ177466)**

GTCTAAGTATAGCATTATACAGCGAACTGCGAATGGGCTCATTATATAAGT
 TATCGTTTTATTTTCGATAGTACCTTACTACTTAGGATAACCGTGGTAATTCTAGA
 GCTAATACATGCTAAAAATCCCGACTTCGGAAGGGATGTATTTATTAGATACA
 AAACCAATGCCCTCGGGGCTCTCTGGTGATTCATGATAACTCGTCGAATCGC
 ACGGCCTTGCGCCGGCGATGGTTCATTCAAATTTCTTCCCTATCAACTTTTCGAT
 GTTTGGGTAGTGGCCAAACATGGTGGCAACGGGTAACGGAGGGTTAGGGCTCG
 ACCCCGGAGAAGGAGCCTGAGAAACGGCTACTACATCCAAGGAAGGCAGCAG
 GCGCGCAAATTACCAATCCCGATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATACTGAT
 ACAGGGCTCTTTTGGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTAAC
 GAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTC
 CAATAGCGTATATTAAGTTGTTGTGGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATCTTGGG
 CCTGGCTGGCCGGTCCGCTCACCGCGTGTACTGGTCCGGCCGGGTCTTTCACT
 CTGCGGAACCATGCCCCTCAGTGGGTGTGGCGGGGAAGCAGGACTTTTACT
 TTGAAAAAATTAGAGTGCTCTAAGCAGGCCAATGCTCGAATACATTAGCATGG
 AATAATAAAATAGGACGCGCGGTTCTATTTTGTGGTTTCTAGGACCGCCGTAA
 TGATGAATAGGGACAGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATT

CTTGATCTACTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTCA
 TTAATCACGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTC
 TTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATTTAGTTGACTCGT
 TCGGCACCTTACGASAAATCAAAGTGCTTGGCTCAGGGGGAGTATGGTCGCAA
 GGCTGAAACTTAAGAAATGACGGATGGCACCACCAGGGGTGGAGCCTGCGGC
 TTAATTTGACTCAACACGGGGAACTCACCAGGTCCAGACACAATGAGGATTG
 ACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTA
 GTTGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGCGATAACGAACGAGACCTAACCTG
 CTAAATAGTCAGTATTGCTATGGCAGTACGCGGGCTTCTTAGAGGGACTATCG
 GCTCAAGCCGATGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATG
 TTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGACGGAGCCAGCGAGTAATTCCTTGGCC
 GGAAGGCCCGGGTAATCTTGTTAACTCCGTCGTGCTGGGGATAGAGCATTGC
 AATTATTGCTCTTCAACGAGGAATCCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGCGT
 TGATTACGTCCCTGCCCTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATG
 GCTCAGTGAGGCGTCCGGACTGGCCCAGGGAGGTGGGCAACTACCACCCAGG
 GCCGAAAGCTCTCCAAACTCGGTCATTAGAGAAGAAAAGTCG

Ek 38. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-9'un 18S SSU Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177469)

GTCTAGTATAGCATTTATACAGCGAAACTGCGAATGGCTCATTATATAAGTTAT
 CGTTTATTTGATAGTACCTTACTACTTGGATAACCGTGGTAATTCTAGAGCTAA
 TACATGCTAAAAATCCCGACTTCGGAAGGGATGTATTTATTAGATACAAAACC
 AATGCCCTCGGGGCTCTCTGGTGATTTCATGATAACTCGTCGAATCGCACGGCC
 TTGCGCCGGCGATGGTTCATTCAAATTTCTTCCCTATCAACTTTCGATGTTTGG
 GTAGTGGCCAAACATGGTGGCAACGGGTAACGGAGGGTTAGGGCTCGACCCC
 GGAGAAGGAGCCTGAGAAACGGCTACTACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCG
 CAAATTACCAATCCCGATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATACTGATACAGG
 GCTCTTTTGGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACGAGGA
 ACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATA
 GCGTATATTAAGTTGTTGTGGTTAAAAGCTCGTAGTTGAATCTTGGGCCTGG
 CTGGCCGGTCCGCCTACCGCGTGTACTGGTCCGGCCGGGTCTTTCCTCTGCG
 GAACCACATGCCCTTCAGTGGGTGTGGCGGGGAAGCAGGACGTTTACTTTGAA

AAAATTAGAGTGCTCTAAGCAGGCCAATGCTCGGATACATTAGCATGGAATAA
TAAAATAGGACGCGCGGTTCTATTTTGTGGTTTCTAGGACCGCCGTAATGATG
AATAGGGACAGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATTCTTGG
ATCTACTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTTCATTAAT
CAGGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAAC
CATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATTTAGTTGACTCGTTCGGC
ACCTTACGAGAAATCAAAGTGTAGGGCTCCAGGGGGATTTAGGTGGCAGGGC
GGAAACTTAAGAAAATTGAGGGAGGGCCACCACCAGGGGGCGGACCTTGCGGT
TTAATTTGACTCACCCCGGGGAACTCCCCAGGTCCAGACGACAATGAGGATT
GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGCGATAACGAACGAGACCTTAACCT
GCTAAATAGTCAGTATTGCTATGGCAGTACGCGGGCTTCTTAGAGGGACTATC
GGCTCAAGCCGATGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGAT
GTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGACGGAGCCAGCGAGTAATTCCTTGGC
CGGAAGGCCCGGGTAATCTTGTTAACTCCGTCGTGCTGGGGATAGAGCATTG
CAATTATTGCTCTTCAACGAGGAATCCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGC
GTTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAA
TGGCTCAGTGAGGCGTCCGGACTGGCCCAGGGAGGTGGGCAACTACCACCCAG
GGCCGGAAAGCTCTCCAAACTCGGTCATTAGAGAAGTAAGTCG

Ek 39. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-21'in 18S SSU Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177470)

GTCAAGTAAAGCATTTTACAGCGAAACTGCGAATGGCTCATTATATAAGTTAT
CGTTTATTTGATAGTACCTTACTACTTGGATAACCGTGGTAATTCTAGAGCTAA
TACACGCTAAAAATCCCGACTTCGGAAGGGATGTATTTATTAGATACAAAACC
AACGCCCCCTCGGGGCTCTCTGGTGATTCATGATAACTCGTCGAATCGCACGGC
CTTGCGCCGGCGATGGTTCATTCAAATTTCTTCCCTATCAACTTTCGATGTTTGG
GTAGTGGCCAAACATGGTGGCAACGGGTAACGGAGGGTTAGGGCTCGACCCC
GGAGAAGGAGCCTGAGAAACGGCTACTACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCG
CAAATTACCCAATCCCGATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATACTGATACAGG
GCTCTTTTGGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACGAGGA
ACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATA

GCGTATATTAAGTTGTTGTGGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATCTTGGGCCTGG
 CTGGCCGGTCCGCCTCACCGCGTGTACTGGTCCGGCCGGGTCTTTCACTCTGCG
 GAACCACATGCCCTTCAGTGGGTGTGGCGGGGAAGCAGGACTTTTACTTTGAA
 AAAATTAGAGTGCTCTAAGCAGGCCAATGCTCGAATACATTAGCATGGAATAA
 TAAAATAGGACGCGCGGTTCTATTTTGTGGTTTCTAGGACCGCCGTAATGATG
 AATAGGGACAGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATTCTTGG
 ATCTACTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTCATTAAT
 CAGGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAAC
 CATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATTTAGTTGACTCGTTCGGC
 ACCTTACGAGAAATCAAAGTGCTTGGGCTCAGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTG
 AACTTAAAGAAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGGGTGGAGCCTGCGGCTT
 AATTTGACTCAACACGGGGAACTCACCAGGTCCAGACACAATGAGGATTGAC
 AGATTGAGAGCTCTTCTTGATTTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGT
 TGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGCGATAACGAACGAGACCTAACCTGCT
 AAATAGTCAGTATTGCTATGGCAGTACGCAGGCTTCTTAGAGGGACTATCGGC
 TCAAGCCGATGGAAGTTTGGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTT
 CTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGACGGAGCCAGCGAGTAATTCCTTGGCCGG
 AAGGCCCGGGTAATCTTGTTAACTCCGTCGTGCTGGGGATAGAGCATTGCAA
 TTATTGCTCTTCAACGAGGAATCCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGCGTTG
 ATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGC
 TCAGTGAGGCGTCCGGACTGGCCCAGGGAGGTGGGCAACTACCACCCAGGGC
 CGGAAAGCTCTCCAAACTCGGTCATTAGAGAAGTAAGTCG

Ek 40. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-31'in 18S SSU Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177467)

GTCTAAGTATAGCATTATACAGCGAAACTGCGAATGGCTCATTATATAAGTT
 ATCGTTTATTTGATAGTACCTTACTACTTGGATAACCGTGGTAATTCTAGAGCT
 AATACATGCTAAAAATCCCGACTTCGGAAGGGATGTATTTATTAGATACAAAA
 CCAATGCCCTCGGGGCTCTCTGGTGATTCATGATAACTCGTCGAATCGCACGG
 CCTTGCGCCGGCGATGGTTCATTCAAATTTCTTCCCTATCAACTTTCGATGTTTG
 GGTAGTGGCCAAACATGGTGGCAACGGGTAACGGAGGGTTAGGGCTCGACCC
 CGGAGAAGGAGCCTGAGAAACGGCTACTACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCCG

GCAAATTACCCAATCCCGATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATACTGATACAG
 GGCTCTTTTGGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACGAGG
 AACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAAT
 AGCGTATATTAAGTTGTTGTGGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATCTTGGGCCTG
 GCTGGCCGGTCCGCCTCACCGCGTGTACTGGTCCGGCCGGGTCTTTCCTCTGC
 GGAACCACATGCCCTTCAGTGGGTGTGGCGGGGAAGCAGGACTTTTACTTTGA
 AAAAATTAGAGTGCTCTAAGCAGGCCAATGCTCGAATACATTAGCATGGAATA
 ATAAAATAGGACGCGCGGTTCTATTTTGTGGTTTCTAGGACCGCCGTAATGAT
 GAATAGGGACAGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATTCTTG
 GATCTACTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTTGTCAAGGATGTTTTATTAA
 TCAGGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAA
 CCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATTTAGTTGACTCGTTCGG
 CACCTTACGAGAAATCAAAGTGCTAGGCTCAGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTG
 AA ACTTAAAGAAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGGGTGGAGCCTGCGGCTT
 AATTTGACTCAACACGGGGAACTCACCAGGTCCAGACACAATGAGGATTGAC
 AGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGT
 TGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGCGATAACGAACGAGACCTTAACCTGCT
 AAATAGTCAGTATTGCTATGGCAGTACGCAGGCTTCTTAGAGGGACTATCGGC
 TCAAGCCGATGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTT
 CTGGGCCGCACGCGCGCTACTGACGGAGCCAGCGAGTAATTCCTTGGCCGG
 AAGGCCCGGGTAATCTTGTTAACTCCGTCGTGCTGGGGATAGAGCATTGCAA
 TTATTGCTCTTCAACGAGGAATCCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGC GTTG
 ATTACGTCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGC
 TCAGTGAGGCGTCCGGACTGGCCCAGGGAGGTGGGCAACTACCACCCAGGGC
 CGGAAAGCTCTCCAACTCGGTCATTAGAGAAGAAATTTCG

Ek 41. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-37'nin 18S SSU Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177472)

GTCTAGTATAGCATTTATACAGCGAACTGCGAATGGCTCATTATATAAGTTAT
 CGTTTATTTTCATAGTACCTTACTACTTGGATAACCGTGGTAATTCTAGAGCTAA
 TACATGCTAAAAATCCCGACTTCGGAAGGGATGTATTTATTAGATACAAAACC
 AATGCCCTCGGGGCTCTCTGGTGATTCATGATAACTCGTCGAATCGCACGGCC

TTGCGCCGGCGATGGTTCATTCAAATTTCTTCCCTATCAACTTTCGATGTTTGG
GTAGTGGCCAAACATGGTGGCAACGGGTAACGGAGGGTTAGGGCTCGACCCC
GGAGAAGGAGCCTGAGAAACGGCTACTACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCG
CAAATTACCCAATCCCGATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATACTGATACAGG
GCTCTTTTGGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACGAGGA
ACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATA
GCGTATATTAAGTTGTTGTGGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATCTTGGGCCTGG
CTGGCCGGTCCGCCTCACCGCGTGTACTGGTCCGGCCGGGTCTTTCACTCTGCG
GAACCACATGCCCTTCAGTGGGTGTGGCGGGGAAGCAGGACTTTTACTTTGAA
AAAATTAGAGTGCTCTAAGCAGGCCAATGCTCGAATACATTAGCATGGAATAA
TAAAATAGGACGCGCGGTTCTATTTTGTGGTTTCTAGGACCGCCGTAATGATG
AATAGGGACAGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATTCTTGG
ATCTACTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTCATTAA
CAGGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCATATACCGTCGTAGTCTTAAC
CATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATTTAGTTGACTCGTTCGGC
ACCTTACGAGAATCAAAGTGCTTGGGCTCCAGGGGGAGTATGGTTCGCAAGGC
TGAAACTTAAAGAAATTGACGGAAGGGCACACCAGGGGTGGAGCCTGCGGC
TTAATTTGACTCAACACGGGGAACTCACCAGGTCCAGACACAATGAGGATTG
ACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTA
GTTGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGAGATAACGAACGAGACCTTAACCT
GCTAAATAGTCAGTATTGCTATGGCAGTACGCGGGCTTCTTAGAGGGACTATC
GGCTCAAGCCGATGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGAT
GTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGACGGAGCCAGCGAGTAATTCCTTGGC
CGGAAGGCCCGGGTAATCTTGTTAAACTCCGTCGTGCTGGGGATAGAGCATTG
CAATTATTGCTCTTCAACGAGGAATCCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGC
GTTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAA
TGGCTCAGTGAGGCGTCCGGACTGGCCCAGGGAGGTGGGCAACTACCACCCAG
GGCCGGAAAGCTCTCCAAACTCGGTCATTAGAGAAGAAAAGTCG

Ek 42. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-48'in 18S SSU Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177468)

GTCTAAGTAAAGCATTTTTACAGCGAAACTGCGAATGGGCTCATTATATAAGT
TATCGTTTATTTTCGATAGTACCTTACTACTTGGATAACCGTGGTAATTCTAGAG
CTAATACATGCTAAAAATCCCGACTTCGGAAGGGATGTATTTATTAGATACAA
AACCAATGCCCTCGGGGCTCTCTGGTGATTCATGATAACTCGTCGAATCGCAC
GGCCTTGCGCCGGCGATGGTTCATTCAAATTTCTTCCCTATCAACTTTCGATGT
TTGGGTAGTGGCCAAACATGGTGGCAACGGGTAAACGGAGGGTTAGGGCTCGA
CCCCGGAGAAGGAGCCTGAGAAACGGCTACTACATCCAAGGAAGGCAGCAGG
CGCGCAAATTACCCAATCCCGATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATACTGATA
CAGGGCTCTTTTGGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACG
AGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCC
AATAGCGTATATTAAAGTTGTTGTGGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATCTTGGGC
CTGGCTGGCCGGTCCGCCTCACCGCGTGTACTGGTCCGGCCGGGTCTTTCACTC
TGCGGAACCACATGCCCTTCAGTGGGTGTGGCGGGGAAGCAGGACTTTTACTT
TGAAAAAATTAGAGTGCTCTAAGCAGGCCAATGCTCGAATACATTAGCATGGA
ATAATAAAATAGGACGCGCGGTTCTATTTTGTGGTTTCTAGGACCGCCGTAAT
GATGAATAGGGACAGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATTC
TTGGATCTACTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTGCGCAGGATGTTTTATT
AATCAGAACGAAAGTAGGGGATCGAAGACGATCAAATACCGTCGTAGTCTTA
ACCATAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATTTATTTGACTCGTCGGC
AACTTACGAAGAAATCAAAGTGCTTGGGCTCCAGGCGGAGTATGGTCGCAAGG
CTGAAACTTAAAGAAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGGGTGGAGCCTGCGG
CTTAATTTGATTCAACACGGGGAAACTCACCAGGTCCAGACACAATGAGGATT
GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGCGATAACGAASGAGACCTTAACCT
GCTAAATAGTCAGTATTGCTATGGCAGTACGCAGGCTTCTTAGAGGGACTATC
GGCTCAAGCCGATGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGAT
GTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGACGGAGCCAGCGAGTAATTCCTTGGC
CGGAAGGCCCGGGTAATCTTGTTAAAGTCCGTCGTGCTGGGGATAGAGCATTG
CAATTATTGCTCTTCAACGAGGAATCCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGC
GTTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAA

TGGCTCAGTGAGGCGTCCGGACTGGCCCAGGGAGGTGGGCAACTACCACCCAG
GGCCGGAAAGCTCTCCAAACTCGGTCATTAGAGAAGTAAGTCA

Ek 43. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* KTU-60'ın 18S SSU Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177471)

GTCTAGTATAGCATTATACAGCGAAACTGCGAATGGCTCATTATATAAGTTATC
GTTTATTTGATAGTACCTTACTACTTGGATAACCGTGGTAATTCTAGAGCTAAT
ACATGCTAAAAATCCCGACTTCGGAAGGGATGTATTTATTAGATACAAAACCA
ATGCCCTCGGGGCTCTCTGGTGATTCATGATAACTCGTCGAATCGCACGGCCT
TGCGCCGGCGATGGTTCATTCAAATTTCTTCCCTATCAACTTTCGATGTTTGGG
TAGTGGCCAAACATGGTGGCAACGGGTAACGGAGGGTTAGGGCTCGACCCCG
GAGAAGGAGCCTGAGAAACGGCTACTACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGC
AAATTACCAATCCCGATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATACTGATACAGGG
CTCTTTTGGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACGAGGAA
CAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAG
CGTATATTAAGTTGTTGTGGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATCTTGGGCCTGGC
TGGCCGGTCCGCCTCACCGCGTGTACTGGTCCGGCCGGGTCTTTCACTCTGCGG
AACCACATGCCCTTCAGTGGGTGTGGCGGGGAAGCAGGACTTTTACTTTGAAA
AAATTAGAGTGCTCTAAGCAGGCCAATGCTCGAATACATTAGCATGGAATAAT
AAAATAGGACGCGCGGYTCTATTTTGTGGTTTCTAGGACCGCCGTAATGATG
AATAGGGACAGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATTCTTGG
ATCTACTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTCATTAAT
CAGGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAAC
CATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATTTAGTTGACTCGTTCGGC
ACCTTACGAGAAATCAAAGTGCTTGGGCTCCAGGGRGAGTATGGTMGCAAGG
CTGAAACTTAAAGAAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGGGTGGAGCCTGCGG
CTTAATTTGACTCAACACGGGGAAACTCACCAGGTCCAGACACAATGAGGATT
GACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGCGATAACGAACGAGACCTTAACCT
GCTAAATAGTCAGTATTGCTATGGCAGTACGCAGGCTTCTTAGAGGGACTATC
GGCTCAAGCCGATGGAAGTTTGGAGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGAT
GTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGACGGAGCCAGCGAGTAATTCCTTGGC

CGGAAGGCCCGGGTAATCTTGTTAAACTCCGTCGTGCTGGGGATAGAGCATTG
 CAATTATTGCTCTTCAACGAGGAATCCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGC
 GTTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAA
 TGGCTCAGTGAGGCGTCCGGACTGGCCCAGGGAGGTGGGCAACTACCACCCAG
 GGCCGGAAAGCTCTCCAAACTCGGTCATTAGAGAAGAAAATCG

Ek 44. *Metarhizium* sp. KTU-9'un 18S SSU Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177465)

GTCAAGTAAAGCATTTTACGGCGAAACTGCGAATGGCTCATTATATAAGTTAT
 CGTCTATTTGATAGTACCTTACTACTTGGATAACCGTGGTAATTCTAGAGCTAA
 TACACGCTAAAAATCCCGACTTCGGAAGGGACGTATTTATTAGATACAAAACC
 AACGCCCCCGGGGCTCTCTGGTGATTCATGATAACTCGTCGAATCGCACGGC
 CTTGCGCCGGCGATGGTTCATTCAAATTTCTTCCCTATCAACTTTCGATGTTTGG
 GTAGTGGCCAAACATGGTGGCAACGGGTAACGGAGGGTTAGGGCTCGACCCC
 GGAGAAGGAGCCTGAGAAACGGCTACTACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCG
 CAAATTACCCAATCCCGATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATACTGATACAGG
 GCTCTTTTGGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACGAGGA
 ACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATA
 GCGTATATTAAGTTGTTGTGGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATCTTGGGCCTGG
 CTGGCCGGTCCGCCTCACCGCGTGTACTGGTCCGGCCGGGTCTTTCCTCTGCG
 GAACCACATGCCCTTCAGTGGGTGTGGCGGGGAAGCAGGACGTTTACTTTGAA
 AAAATTAGAGTGCTCTAAGCAGGCCAATGCTCGGATACATTAGCATGGAATAA
 TAAAATAGGACGCGCGGTTCTATTTTGTGGTTTCTAGGACCGCCGTAATGATG
 AATAGGGACAGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATTCTTGG
 ATCTACTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTCATTAAT
 CAGGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAAC
 CATAAACTATGCCGACTAGGATCGGACGATGTTATTTAGTTGACTCGTTCGGCA
 CCTTACGAGAAAATCAAAGTGGCTTGGGCTCCCCGGGGAGAATGGGCCCAAG
 GCTGAAACTTAAAAAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGGGTGGAGCCTGCG
 GCTTAATTTGACTCAACACGGGGAAACTCACCAGGTCCAGACACAATGAGGAT
 TGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCT
 TAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGCGATAACGAACGAGACCTTAACC

TGCTAAATAGTCAGTATTGCTATGGCAGTATGCGGGCTTCTTAGAGGGACTATC
 GGCTCAAGCCGATGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGAT
 GTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGACGGAGCCAGCGAGTAATTCCTTGGC
 CGGAAGGCCCGGGTAATCTTGTTAAACTCCGTCGTGCTGGGGATAGAGCATTG
 CAATTATTGCTCTTCAACGAGGAATCCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGC
 GTTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAA
 TGGCTCAGTGAGGCGTCCGGACTGGCCCRGGGAGGTGGGCAACTACCACCCAG
 GGCCGGAAAGCTCTCCAAACTCGGTCATTAGAGGAAGTAAAAG

Ek 45. *Metarhizium* sp. KTU-9'un 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası (GenBank No: FJ177455)

TATCGTAAGTCGCCTGGCCTCCATTTTGAATCCTTGTAGAAGTTGTTATACTGA
 CTTGCTTGTCTAGGGGTATGTTTCGGAGCCTACACTCTTCGCCGTCTCGAGTT
 TGTGATAACTAACTGGTCGTCACAGCCACGTCGACTCCGGCAAGTCTACCACC
 ACTGGTCACTTGATCTACCAGTGCGGTGGTATCGACAAGCGTACCATTGAGAA
 GTTCGAGAAGGTAAGCCAAATCCTCCGCGATTAATGATCTGCTGCTATGGTGT
 GGCGATCAACATTATTGGGTTTCCCGCTGCCTGTCGGCCATTACCCCTCACTGT
 GACACGAAAATTTTCGCGGGGCCTTATCTTGGACTTTGGTGGGGCACCACACC
 CCGCCAGCTGTCGAGGGTGTCTCTGTGTGTCTCTGGCTGTTGAAATCACAATAT
 TATCGTTGCTTTCAAAAGAAAAACATGAAACTAATTTGGATCGCTGCATAGG
 AAGCCGCCGAAGTTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCATGGGTTCTTGACAAG
 CTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTT
 CGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTCGACTTGCGCAAACCTG
 ACCGCATACTGTTCTCCCGACTTGAATGCTAATGCCCCCTCTCACAGACGCTCC
 CGGTCACCGTGACTTTATCAAGAACATGATCACTGGTACTTCCCAGGCTGACTG
 CGCTATTCTCATTATCGCTGCCGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAA
 GGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTACACCCTGGGTGTCAAGC
 AGCTCATTGTCGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCCCGT
 TATCAGGAAATCATCAAGGAGACTTCCAACCTCATCAAGAAGGTCGGCTACAC
 CCCAAGACCGTCGCCTTCGTCCCATCTCCGGTTTCCACGGTGACAACATGCTT
 CAGGCCTCCACCAACTGCCCTGGTACGAGGGTTGGGAGAAGGAGACCAAGG

CTGGCAAGTCCACCGGCAAGACCCTTCTGAGGCCATGACGCCATGACCCCCCA
AGCGTCCCACCGACCAACCCTTCGTGTCTCTCCCTAGCCG

**Ek 46. *Beauveria bassiana* KTU-7'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177442)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCTAACCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTTTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCCTGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGCAGTAATACAGCTCGCAC
CGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 47. *Beauveria bassiana* KTU-8'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177437)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCTAACCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTTTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCCTTGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGCAGTAATACAGCTCGCAC
CGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 48. *Beauveria bassiana* KTU-11'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177436)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCCAACCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
ACCTCCCCTTGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTG
AAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCA
CCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAACACCCAACTTCTGAACGTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 49. *Beauveria bassiana* KTU-17'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177445)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCTAACCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCTTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCCTTGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGCAGTAATACAGCTCGCAC
CGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAACACCCAACTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 50. *Beauveria bassiana* KTU-22'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177439)**

ATCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTTTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGAATCAAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCCTTGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGCAGTAATACAGCTCGCAC
CGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 51. *Beauveria bassiana* KTU-23'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177438)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTTTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATGAATCAAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCCTTGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGCAGTAATACAGCTCGCAC
CGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 52. *Beauveria bassiana* KTU-24'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177449)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTTTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCCTGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCAC
CGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 53. *Beauveria bassiana* KTU-25'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177441)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCCAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
ACCTCCCCTTGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTG
AAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCA
CCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 54. *Beauveria bassiana* KTU-38'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177440)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTTTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCCTGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCAC
CGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 55. *Beauveria bassiana* KTU-50 ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177443)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCCAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
ACCTCCCCTTGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTG
AAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCA
CCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 56. *Beauveria bassiana* KTU-52'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177444)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCTAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTTTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCCTTGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGCAGTAATACAGCTCGCKC
CGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 57. *Beauveria bassiana* KTU-56'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177446)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCCAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
ACCTCCCCTTGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTG
AAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCA
CCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 58. *Beauveria bassiana* KTU-57'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177448)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCCAACCCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
ACCTCCCCTTGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTG
AAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCA
CCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 59. *Beauveria bassiana* KTU-59'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177448)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCCAACCCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
ACCTCCCCTTGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTG
AAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCA
CCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 60. *Beauveria bassiana* KTU-62'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177450)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCCAACCCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAACCTCCTGTA
TTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
ACCTCCCCTTGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTG
AAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCA
CCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 61. *Beauveria cf. bassiana* KTU-53'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177433)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCAAACCCTTATGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCATCAAACCTTTGTAT
TATCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATAAATTAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCTTTGGGGAAGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAAACCAACTCGCTC
CGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 62. *Beauveria cf. bassiana* KTU-55'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177434)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCAAACCCTTATGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCGCCGGGGACCATCAAACCTTTGTAT
TATCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATAAATTAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCTTTGGGGAAGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAAACCAACTCGCCC
CGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 63. *Beauveria cf. bassiana* KTU-61'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177432)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCAAACCCTTATGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCGCCGGGGACCATCAAACCTTTGTAT
TATCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATAAATTAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCTTTGGGGAAGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCTCTGCGTAGTAAACCAACTCGCAC
CGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 64. *Beauveria cf. bassiana* KTU-63'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177435)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCAAACCCTTATGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCGCCGGGGACCATCAAACCTTTGTAT
TATCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATAAATTAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCTTTGGGGAAGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCCTCTGCGTAGTAAACCAACTCGCAC
AGGGACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 65. *Beauveria cf. bassiana* KTU-64'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177431)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTT
CAACTCCCAAACCCTTATGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCC
CAGCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCGCCGGGGACCATCAAACCTTTGTAT
TATCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAACAAATAAATTAACCTTTC
AACAAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGA
CCTCCCTTTGGGGAAGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGA
AATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCAGCCTCTGCGTAGTAAACCAACTCGCAC
CGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTGACCTC
GAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

**Ek 66. *Beauveria cf. bassiana* KTU-55'in 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177451)**

TCTTTTTTAAAGGTCGAGTGGCTTTTGAGCTCTCGAGCCAACAATCTTACCCCG
 CCTCGCCGGTGTGCCGAGCGCAAGCAGCTAACTCATATATACAGACTGGTCAC
 TTGATCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTGAGAAGTTTCGAGAA
 GGTAAGCATATTATCCAACCTTTTTCTACTGTCAAATGGGCCTTGATCGCTTGC
 TTCGCAACATTTTTTTCCGTCGTATCGCGCTGGCCCCAGCACTCACTACCCCTC
 CTGGCTGCGGCAAAAATTTTCAGAGTGCCTTATCATTTCAGTGGGGCCAGTGA
 GAATACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCCCCTCATGCCTTGAGTCGAAGCAG
 CAGAAGAAGAAATCTCGCGTGCCTGGGCCAACAGATCGCTAACCTACCGTCT
 ACAGGAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTTCTTG
 ACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCTCTCTGG
 AAGTTCGAGACTCCCAAGTACCAGGTCACCGTCATTGATGCTCCCGGTCACCG
 TGATTTTCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGTGCTATTCT
 CATCATCGCCGCTGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCC
 AGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCTTTCACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCATCG
 TCGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCTCGTTACCAGGAA
 ATCATCAAGGAGACTTCCAACCTTCATCAAGAAGGTCGGTTACACCCCAAGGCT
 GTTGCTTTCGTCCCCATCTCGGTTTCACGGCGACAACATGCTGGAGCCCTCCAC
 CAACTGCCCCTGGTACAAGGGTTGGGAGAATGAGACCAAGGCTGGCAAGTCC
 ACTGGCAAGACCCTCCTCGAGGCCATCGACGCCATTGAGGCCCCCAAGCGTCC
 CACCGACAAGCC

**Ek 67. *Beauveria cf. bassiana* KTU-63'ün 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177452)**

TGATATAGGACCAGTGACTTATGAGCTCTCCAGCCAACATTCTTACCCAGCCTC
 GGCGGTGTAGTGAGTGCAAGCAGCTAACTCATATATACAGACTGGTCACTTGA
 TCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTGAGAAGTTTCGAGAAGGTA
 AGCATATTATCCAACCTTTTTCTACTGTAAAATGGGCCTTGATCGCTTGCTTCG
 CAACATTTTTTTCCGTCGTATCGCGCTGGCCCCAGCACTCACTACCCCTCCTGG
 CTGCGGCAAAAATTTTCAGAGTGCCTTATCATTTCAGTGGGGCCAGTGAGAAT
 ACCCCGCCACCTTGTCGCAAGCTTTCCCCTCATGCCTTGAGTCGAAGCAGCAGA

AGAAGAAATCTCGCGTGCCTGGGCAACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAG
 GAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAA
 GCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGT
 TCGAGACTCCCAAGTACCAGGTCACCGTCATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATT
 TCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGTGCTATTCTCATCA
 TCGCCGCTGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACC
 CGTGAGCACGCTCTGCTCGCTTTCACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCATCGTCGCC
 ATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCTCGTTACCAGGAAATCAT
 CAAGGAGACTTCCAACCTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACCCCAAGGCTGTTG
 CTTTCGTCCCATCTCCGGTTTCAACGGCGACAACATGCTGGAGCCCTACTCCG
 ACAGGCCCTGGGACAAGGGGATGGGTAAGGAGGCCAAGAGGGCAAGTCCCGG
 GCAAGACCACCGCGAGGCCATCGACACCATGTCACCTGCAAGCGCCCGCCGTC
 GAACC

**Ek 68. *Isaria fumosorosea* KTU-1'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
 (GenBank No: FJ177462)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TCACAACCTCCCAACCCTCCTGTGAACCTACCCATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCTCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGACCACGCAACCCTGCATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 ACACAAACGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATG
 AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCA
 TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTT
 CGAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCCGGGACGTTCGGCCTTGGGGACCGG
 CAGCACCCCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTG
 CGAAGTACTACAGCTCGCACCGGAAACCCGACGCGGCCCGCCGTGAAACCCC
 CAACTCTGAACGTTGACCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCA
 TATCA

**Ek 69. *Isaria fumosorosea* KTU-5'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177463)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TCACAAC TCCCAACCCTCCTGTGAACCTACCCATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCTCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGACCACGCAACCCTGCATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 ACACAAACGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATG
 AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCA
 TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTT
 CGAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCCGGGACGTTCGGCCTTGGGGACCGG
 CAGCACCCCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCGACCTCTG
 CGAAGTACTACAGCTCGCACCGGAAACCCGACGCGGCCCCCGCCGTGAAACCC
 CAACTCTGAACGTGACCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCAT
 ATCA

**Ek 70. *Isaria fumosorosea* KTU-42'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177460)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TCACAAC TCCCAACCCTCCTGTGAACCTACCCATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCTCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGACCACGCAACCCTGCATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 ACACAAACGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATG
 AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCA
 TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTT
 CGAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCCGGGACGTTCGGCCTTGGGGACCGG
 CAGCACCCCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGGCGACCTCTG
 CGAAGTACTACAGCTCGCACCGGAAACCCGACGCGGCCCCCGCCGTGAAACCC
 CAACTCTGAACGTGACCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCAT
 ATCA

**Ek 71. *Isaria fumosorosea* KTU-13'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177461)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TCACAAC TCCCAACCCTCCTGTGAACCTACCCATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCTCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGACCACGCAACCCTGCATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 ACACAAACGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATG
 AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCA
 TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTT
 CGAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCCGGGACGTTCGGCCTTGGGGACCGG
 CAGCACCCCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTG
 CGAAGTACTACAGCTCGCACCGGAAACCCGACGCGGCCCCCGCCGTGAAACCC
 CAACTCTGAACGTGACCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCAT
 ATCA

**Ek 72. *Isaria fumosorosea* KTU-16'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177464)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TCACAAC TCCCAACCCTCCTGTGAACCTACCCATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCTCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGACCACGCAACCCTGCATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 ACACAAACGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATG
 AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCA
 TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTT
 CGAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCCGGGACGTTCGGCCTTGGGGACCGG
 CAGCACCCCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTG
 CGAAGTACTACAGCTCGCACCGGAAACCCGACGCGGCCCCCGCCGTGAAACCC
 CAACTCTGAACGTGACCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCAT
 ATCA

**Ek 73. *Evlcahovaea* sp. KTU-33'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177458)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TTACAACCTCCCAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCCCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGGCCCCACAACCCTGTATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 AACAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGA
 AGAACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTTAGTGAATCAT
 CGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTC
 GAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCTGGGGACGTTCGGCCTTGGGGACCGG
 CAGCACACCGCCGGCCCTGAAATCGAGTGGCGGGCCCGTCCGCGGGCGACCTCTG
 CGCAGTACTCCAGCTCGCACCGGGACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACC
 CAACTCTGAACGTGACCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCAT
 ATCA

**Ek 74. *Evlcahovaea* sp. KTU-35'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177457)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TTACAACCTCCCAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCCCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGGCCCCACAACCCTGTATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 AACAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGA
 AGAACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTTAGTGAATCAT
 CGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTC
 GAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCTGGGGACGTTCGGCCTTGGGGACCGG
 CAGCACACCGCCGGCCCTGAAATCGAGTGGCGGGCCCGTCCGCGGGCGACCTCTG
 CGCAGTACTCCAGCTCTCACAGGACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCC
 AACTCTGAACGTGACCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATA
 TCA

**Ek 75. *Evlcahovaea* sp. KTU-36'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177459)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TTACAACCTCCCAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCCCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGGCCCCACAACCCTGTATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 AACAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGA
 AGAACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTTAGTGAATCAT
 CGAATCTTTGAACGCACATTGCMCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTT
 CGAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCTGGGGACGTCGGCCTTGGGGACCG
 GCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATCGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCT
 GCGCAGTACTCCAGCTCGCACCGGGACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACAC
 CCAACTCTGAACGTGACCTCGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCAT
 ATCA

**Ek 76. *Evlcahovaea* sp. KTU-43'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası
(GenBank No: FJ177456)**

GTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTTT
 TTACAACCTCCCAACCCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGC
 CCCAGCGTCCGGACGGCCCCGCGCCGGCCCGCGACCTGGACCCAGGCGGCCGC
 CGGAGGCCCTACAACCCTGTATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
 AACAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGA
 AGAACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTTAGTGAATCAT
 CGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTC
 GAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCTGGGGACGTCGGCCTTGGGGACCGG
 CAGCACACCGCCGGCCCTGAAATCGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTG
 CGCAGTACTCCAGCTCGCACCGGGAACCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACC
 CAACTCTGAACGTGACCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCAT
 ATCA

ÖZGEÇMİŞ

Ali SEVİM, 1982 yılında Sivas'ın Yıldızeli ilçesinde doğdu. İlk ve Orta öğrenimini Kırşehir'de tamamladı. 1998 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Rize Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 2002 yılında birincilik derecesi ile mezun oldu. Aynı yıl KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2005 yılında 'Trabzon'daki Derelerin Fekal Koliform Kirliliği ve Koliform Bakterilerin Antibiyotik Direnç Profillerinin Araştırılması' adlı tez ile Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında Doktora eğitimine başladı. Doktora eğitimi sırasında, Avrupa Birliği ERASMUS Öğrenci Değişim Programı kapsamında 1 yıl süre ile Belçika'nın Gent Üniversitesi, Faculty of Science, Department of Crop Protection, Laboratory of Phytopathology'de bulundu. 09.15.2009 – 08.15.2010 tarihleri arasında YÖK tarafından doktora eğitiminin tez döneminde olan öğrencilere verilen Yurtdışı Doktora Araştırma Bursu'nu alarak bu burs kapsamında 1 yıl süre ile ABD'nin Cornell University, Faculty of Science and Agriculture, Department of Plant Pathology bölümünde bulundu. Rize Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesinde 2002 tarihinden beri araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. İyi derecede İngilizce bilmektedir. Evlidir.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ SCI KAPSAMINDAKİ DERGİLERDE YAYINLANMIŞ MAKALELER:

Sevim, A., Demir, I., Höfte, M., Humber, R.A. ve Demirbağ, Z., 2010. Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey, Biocontrol, 55, 279-97.

Sevim, A., Demir, I., Tanyeli, E., and Demirbag, Z., 2010. Screening of Entomopathogenic Fungi against the European Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), Biocont. Sci. Technol., 20, 3-11.