

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**





KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***MYZUS PERSICAE* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) İLE MÜCADELEDE
KULLANILMAK ÜZERE YENİ BİR MİKOİNSEKTİSİT ÜRETİLMESİ**

Seda BİRYOL

ORCID : 0000 -0003 -0881 - 5004

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"DOKTOR (BİYOLOJİ)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 12 / 05 /2020

Tezin Savunma Tarihi : 18 / 06 /2020

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İsmail DEMİR
ORCID : 0000 -0001 - 6227 - 0039

Trabzon 2020

ÖNSÖZ

"*Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) ile Mücadelede Kullanılmak Üzere Yeni Bir Mikoinsektisit Üretilmesi " isimli bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda 'Doktora Tezi' olarak hazırlanmıştır.

Doktora tez konusunu belirleyen, çalışmalarım sırasında karşılaştığım tüm güçlüklerin üstesinden gelmemi sağlayan, her türlü desteği ve imkânı vaktinde sağlayarak, çok kıymetli bilgilerinden yararlandığım, aynı zamanda gerektiğinde ailemin yokluğunu aratmayan danışmanım Sayın Prof. Dr. İsmail DEMİR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvarda maddi manevi imkanları sağlayan Sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ'a, tez çalışmalarımın çeşitli aşamalarında desteklerini esirgemeyen hocalarım Sayın Prof. Dr. Kazım SEZEN, Sayın Prof. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU'na ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Cihan İNAN'a, tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Hacer MURATOĞLU'na ve tüm mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarına şükranlarımı sunuyorum.

Ayrıca çalışmada kullanılan böcek kültürünün temininde yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pervin ERDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince Biyoloji Bölümü Laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Bilal KUTRUP'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince maddi destek sağlayan Karadeniz Teknik Üniversitesi BAP birimine (FDK-2017-5896) teşekkür ederim.

Son olarak, hayatımın en yorucu yolculuğunda benden destek, anlayış ve sabrını hiçbir zaman esirgemeyen, beni yetiştiren ve bugün olduğum yeri borçlu olduğum ailem ve maddi manevi bana bu yolculukta destek veren sevgili eşim Halil BİRYOL'a ve biricik kızım Mina Derin BİRYOL'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Seda BİRYOL

Trabzon 2020

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “*Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) ile M¼cadelede Kullanılmak Üzere Yeni Bir Mikoinspektisit Üretilmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. İsmail DEMİR’in sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 18/06/2020

Seda BİRİYOL

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	IX
SUMMARY	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER DİZİNİ	XIV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Zararlılarla Mücadele Yöntemleri.....	3
1.2.1. Kültürel, Fiziksel ve Mekanik Mücadele	3
1.2.2. Kimyasal Mücadele.....	4
1.2.3. Entegre Mücadele.....	4
1.2.3.1. Biyolojik Mücadele	5
1.2.3.1.1. Mikrobiyal Mücadele	6
1.2.4. Entomopatojen Funguslar	7
1.2.4.1. Entomopatojen Fungusların Sınıflandırılması	8
1.2.4.2. Fungal Enfeksiyon	10
1.2.4.3. Fungal Enfeksiyonun Başlamasında Etkili Olan Enzimler	11
1.2.4.4. Entomopatojen Fungusları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler	13
1.2.4.5. Entomopatojen Fungusların Dağılımı ve Yayılımı	14
1.3. Entomopatojen Funguslardan Formülasyon Geliştirilmesi.....	14
1.3.1 Formülasyon.....	15
1.3.2. Suş Seçimi	16
1.3.3. Kültürün Devamlılığı	18
1.3.4. Besinler	19
1.3.5. Katı ve Bifazik Fermantasyon.....	20
1.3.6. Sıvı Fermantasyon.....	21

1.3.6.1.	Blastosporlar	22
1.4.	Entomopatojen Fungus Formülasyonlarının Sınıflandırılması	22
1.5.	Ticari Olarak Kullanılan Preparatlar	24
1.6.	<i>Myzus persicae</i> (Sulzer) (Yeşil Şeftali Yaprakbiti, Hemiptera: Aphididae).....	27
1.6.1.	<i>Myzus persicae</i> 'nın Morfolojisi ve Yaşam Döngüsü	28
1.6.2.	<i>Myzus persicae</i> 'nın Coğrafik Yayılışı.....	30
1.6.3.	<i>Myzus persicae</i> 'nın Konukçuları.....	31
1.6.4.	<i>Myzus persicae</i> 'nın Zararı.....	31
1.6.5.	<i>Myzus persicae</i> 'nın Pestisitlere Direnç Geliştirmesi.....	32
1.6.6.	<i>Myzus persicae</i> ile Mücadele	34
1.7.	Çalışmanın Amacı ve Hedefleri	38
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	40
2.1.	<i>Myzus persicae</i> (Hemiptera: Aphididae) 'nin Yetiştirilmesi	40
2.2.	Çalışmada Kullanılan Funguslar	41
2.3.	Fungal İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	43
2.3.1.	Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması	43
2.3.2.	Tarama Testi.....	43
2.3.3.	Doz Denemeleri	44
2.4.	Öldürücü Etkisi Yüksek Dört İzolatın Radyal Büyüme Oranı ve Spor Çimlenmesi Üzerine Sıcaklığın ve UV-B 'nin Etkisinin Belirlenmesi... 45	
2.5.	Fungal izolatların Proteaz ve Kitinaz Enzimlerini Kodlayan Gen İçeriklerinin Araştırılması ve Taksonomik Pozisyonlarının Belirlenmesi	45
2.5.1.	İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu.....	45
2.5.2.	İlgili Gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması.....	46
2.6.	Formülasyonun Geliştirilmesi	47
2.6.1.	Fungal Konidilerin Üretilmesi	47
2.6.1.1.	KTU-51(<i>Metarhizium anisopliae</i>)'in Sıvı Besiyerinde Büyütülmesi	48
2.6.1.2.	<i>Metarhizium anisopliae</i> (KTU-51) İzolatının Katı Substrat Üzerinde Üretilmesi	48
2.6.2.	<i>Beauveria bassiana</i> (KTU-24)'nın Fermentör ile Üretilmesi	49

2.6.2.1.	Basal Tuz Besiyerinin Hazırlanması	49
2.6.2.2.	Fungus Sporlarının Hazırlanması ve İnokulum	50
2.6.2.3.	Fermentörde Üretim ve Spor Hasadı.....	50
2.6.2.4.	Sprey Kurutucu ile Kurutma	51
2.7.	Üretilen Konidiyaların Bitkisel Yağ ile Karıştırılması	52
2.8.	Formülasyonun Etkinliğinin Test Edilmesi	52
2.8.1.	Formülasyonun <i>Myzus persicae</i> Nimfleri Üzerinde Laboratuvar Koşullarında Test Edilmesi	52
2.8.2.	Saksı Denemesi	53
2.9.	Veri Analizi	56
3.	BULGULAR	57
3.1.	Tarama Testi.....	57
3.2.	Doz Denemeleri	59
3.3.	Dört İzolatın Radyal Büyüme Oranı ve Spor Üretimi Üzerine Sıcaklığın ve UV-B'nin Etkisinin Belirlenmesi.....	63
3.3.1.	Sıcaklığın Radyal Büyüme Üzerine Etkisi.....	63
3.3.2.	UV-B'nin Radyal Büyüme Üzerine Etkisi.....	65
3.3.3.	Sıcaklığın Spor Üretimi Üzerine Etkisi.....	68
3.4.4.	UV-B'nin Spor Üretimi Üzerine Etkisi.....	69
3.5.	İzolatların Proteaz ve Kitinaz Enzimlerini Kodlayan Gen İçeriklerinin Araştırılması ve Taksonomik Pozisyonlarının Belirlenmesi.....	72
3.6.	Formülasyonun Geliştirilmesi	78
3.6.1.	Yağ-Bazlı Formülasyonunun Hazırlanması	78
3.6.1.1.	İzolatlardan Konidiyaların Üretilmesi.....	78
3.6.1.2.	KTU-24 (<i>Metarhizium anisopliae</i>) ve KTU-24 (<i>Beauveria bassiana</i>) İzolatlarının Katı Substrat Üzerinde Üretilmesi.....	78
3.6.1.3.	<i>Beauveria bassiana</i> (KTU-24)'nın Fermentörde Üretilmesi	81
3.6.1.4.	Hazırlanan Formülasyonun Sprey Kurutucu ile Kurutulması.....	81
3.6.1.5.	Üretilen Konidiyaların Bitkisel Yağ ile Karıştırılması	82
3.7.	Formülasyonun Etkinliğinin Test Edilmesi	83
3.7.1.	Formülasyonun <i>Myzus persicae</i> Üzerinde Test Edilmesi	83
3.7.2.	Saksı Denemesi	85

4.	TARTIŞMA	90
5.	SONUÇLAR	100
6.	ÖNERİLER	102
7.	KAYNAKLAR	103
8.	EKLER.....	125
ÖZGEÇMİŞ		



Doktora Tezi

ÖZET

MYZUS PERSICAE (HEMIPTERA: APHIDIDAE) İLE MÜCADELEDE
KULLANILMAK ÜZERE YENİ BİR MİKOİNSEKTİSİT ÜRETİLMESİ

Seda BİRYOL

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. İsmail DEMİR
2020, 124 Sayfa, 4 Sayfa Ek

Tarım alanlarında önemli ekonomik kayıplara neden olan *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) (Yeşil şeftali yaprakbiti) ile mücadelede laboratuvar koleksiyonundan seçilen 15 adet entomopatojen fungus (5X *Metarhizium*, 4X *Beauveria*, 2X *Isaria*, 2X *Lecanicillium*) zararlıya karşı test edildi. Doz denemeleri sonunda KTU-24, KTU-51, KTU-1 ve Pa8 suşlarının 1×10^7 spor/mL konsantrasyonda %80'in üzerinde ölüm meydana getirdiği belirlendi. Bu suşların LC₅₀ değerleri sırasıyla $0,21 \times 10^5$, $0,70 \times 10^5$, $0,96 \times 10^5$ ve $0,17 \times 10^5$ spor/mL olarak hesaplandı. Suşların virulansları, gen içerikleri, sıcaklık ve UV-B tolerans özellikleri değerlendirildiğinde KTU-24 (*B. bassiana*) ve KTU-51 (*M. anisopliae*) suşlarının avantajlı olduğu tespit edildi. Bu iki suştan sırasıyla AFİSİDAL-OD BBAS-TR61 ve AFİSİDAL-OD MET-TR61 adlarında, Türkiye'de ilk defa yağ-bazlı yerli mikoinsektisitler geliştirildi. Formülasyonların 10^9 spor/mL konsantrasyonda laboratuvar ve saksı denemelerinde zararlı üzerinde sırasıyla %80 ve %75 ölüm etkisi ürettiği belirlendi. Tezden sağlanan sonuçlar, her iki ürünün de *M. persicae*'nin biyolojik kontrolünde son derece umut verici olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, mikoinsektisit üretimi, fermantasyon, biyolojik mücadele

PhD Thesis

SUMMARY

PRODUCTION OF A NEW MYCOINSECTICIDE FOR USE IN BIOCONTROL WITH
MYZUS PERSICAE (HEMIPTERA: APHIDIDAE)

Seda BİRYOL

Karadeniz Technical University
Institute Of Science and Technology
Biology Department
Advisor: Prof. Dr. İsmail DEMİR
2020, 124 Page, 4 Pages Appendix

Fifteen entomopathogenic fungi (5 X *Metarhizium*, 4 X *Beauveria*, 2 X *Isaria*, 2 X *Lecanicillium*) selected from the laboratory collection were tested on *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) (Green peach aphid), which caused significant economic losses in agricultural areas. Dose-response assay, results showed that KTU-24, KTU-51, KTU-1 and Pa8 strains caused more than 80% death at 1×10^7 conidia / mL concentration. LC_{50} values of these strains were calculated as 0.21×10^5 , 0.70×10^5 , 0.96×10^5 and 0.17×10^5 conidia / mL, respectively. According to the virulence, gene content, temperature and UV-B tolerance characteristics of the strains, KTU-24 (*B. bassiana*) and KTU-51 (*M. anisopliae*) strains were found to be advantageous. Of these two strains, name as AFISIDAL-OD BBAS-TR61 and AFISIDAL-OD MET-TR61, domestic oil-based mycoinsecticide was developed for the first time in Turkey. The formulations were determined to produce 80% and 75% mortality effects on *Myzus persicae* nymphs under laboratory conditions and pot experiment at 10^8 conidia/mL concentrations against, respectively. The results obtained from the thesis show that both products are highly promising in the biological control of *M. persicae*.

Keywords: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, mycoinsecticide production, fermentation, biological control

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Zararlı ile mücadelede önemli olan zarar seviyesi ve ekonomik zarar eşiği grafiği.....	5
Şekil 2. Entomopatojen fungusların etki mekanizması.....	11
Şekil 3. <i>Myzus persicae</i> 'nın morfolojik evreleri	29
Şekil 4. <i>Myzus persicae</i> 'nın yaşam döngüsü.....	30
Şekil 5. <i>Myzus persicae</i> 'nin coğrafi yayılışı	30
Şekil 6. <i>Myzus persicae</i> 'nin farklı konaklardaki zararı.....	32
Şekil 7. <i>Myzus persicae</i> 'nın laboratuvarında yetiştirilmesi.....	40
Şekil 8. Çalışmada kullanılan entomopatojen fungusların PDAY üzerindeki radyal büyüme şekilleri.....	42
Şekil 9. Uygun suşların seçilmesi için gerçekleştirilen tarama testi	44
Şekil 10. Fungal sporların Kraft kağıtlarda kurutulması.....	49
Şekil 11. KTU-24 'ün fermentörde üretilmesi ve saflaştırılması.....	50
Şekil 12. Fermentörde üretilen KTU-24'ün blastosporlarının sprey kurutucuda kurutma..	51
Şekil 13. Geliştirilen formülasyonların laboratuvar koşullarında <i>Myzus persicae</i> nimfleri üzerindeki etkileri	53
Şekil 14. Saksı denemeleri.....	55
Şekil 15. Tarama testi uygulaması.....	57
Şekil 16. İzolatların 1×10^7 spor /mL ⁻¹ konsantrasyonda <i>M. persicae</i> nimfleri üzerindeki patojeniteleri ve kadvraların mikozlanma oranları.....	58
Şekil 17. Entomopatojenik funguslar ile enfekte <i>M. persicae</i> nimflerinin mikoz görüntüleri.....	59
Şekil 18. KTU-24'ün farklı dozlarının <i>Myzus persicae</i> nimfleri üzerindeki etkileri.....	60
Şekil 19. KTU-51'in farklı dozlarının <i>Myzus persicae</i> nimfleri üzerindeki etkileri.....	61
Şekil 20. KTU-1'in farklı dozlarının <i>Myzus persicae</i> nimfleri üzerindeki etkileri.....	62
Şekil 21. Pa8'in farklı dozlarının <i>Myzus persicae</i> nimfleri üzerindeki etkileri	62

Şekil 22. Sıcaklığın radyal büyüme üzerindeki etkisi	64
Şekil 23. UV-B'nin suşlar üzerindeki petri üzerindeki etkisi	65
Şekil 24. Sıcaklığın suşların spor üretimi üzerindeki etkisi	68
Şekil 25. UV-B'nin spor üretimi üzerindeki etkisi	71
Şekil 26. Entomopatojenik fungusların proteaz enzim kodlayan gen bölgeleri.....	72
Şekil 27. Fungal izolatların <i>pr1A</i> gen dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	73
Şekil 28. Fungal izolatların <i>pr1B</i> gen dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	74
Şekil 29. Entomopatojenik fungusların <i>chit</i> gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması	75
Şekil 30. KTU-24'ün <i>bbchit1</i> gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması	75
Şekil 31. Fungal izolatların <i>chit</i> gen dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı	76
Şekil 32. Fungal izolatların <i>bbchit</i> gen dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı	77
Şekil 33. Seçilen fungusların sıvı ortamda üretilmesi.....	78
Şekil 34. Katı substrat olarak pirinç üzerinde fungal büyüme	79
Şekil 35. Katı substrat olarak pirinç üzerinde üretilen <i>M. anisopliae</i> (KTU-51) sporları..	79
Şekil 36. Katı substrat örneklerin ön kurutma aşaması.....	80
Şekil 37. Katı substrat üzerinde üretilen KTU-51 sporlar.....	81
Şekil 38. Sprey kurutucudan geçirilmiş KTU-24 blastosporları	82
Şekil 39. Öldürücü etkisi yüksek iki suştan geliştirilen ürünler.....	82
Şekil 40. Ürünlerin <i>Myzus persicae</i> nimfleri üzerinde laboratuvar uygulaması	83
Şekil 41. Ürünlerin <i>Myzus persicae</i> üzerinde saksı denemeleri.....	86
Şekil 42. Saksı denemesi biber fidelerindeki değişim ve <i>Myzus persicae</i> nimflerinde melanizasyon ve mikoizasyon	87

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Türkiye’de tarımsal ilaç kullanımı.....	2
Tablo 2. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojenik fungusların taksonomik pozisyonları	8
Tablo 3. Yaygın olarak kullanılan bazı ticari formülasyonlar.....	24
Tablo 4. Dünyada rapor edilen ve en yüksek direnç gösteren 12 tür.	34
Tablo 5. Yaprak biti ile mücadelede kullanılan biyolojik ticari preparatlar	37
Tablo 6. Çalışmada kullanılan entomopatojenik fungus suşları.....	41
Tablo 7. Proteaz ve kitinaz genleri çoğaltmak için kullanılan primer sıraları	47
Tablo 8. EPF’lerin <i>Myzus persicae</i> üzerindeki probit analizinin parametre değerleri	60
Tablo 9. Sıcaklığın radyal büyümesi üzerine etkisi	63
Tablo 10. UV-B’ nin izolatların radyal büyüme üzerine etkisi.....	67
Tablo 11. İzolatların spor üretimi üzerine sıcaklığın etkisi.....	69
Tablo 12. UV-B’ nin izolatların spor üretimi üzerine etkisi	70
Tablo 13. <i>Metarhizium</i> izolatlarının <i>pr1A</i> ve <i>Pr1B</i> gen bölgesi içeriklerinin diğer izolatlarla benzerlikleri	73
Tablo 14. İzolatlarının <i>chit</i> gen bölgesi içeriklerinin diğer izolatlarla benzerlikleri.....	75
Tablo 15. İzolatlarının <i>Bbchit</i> gen bölgesi içeriklerinin diğer izolatlarla benzerlikleri	77
Tablo 16. Laboratuvar denemesinin ölüm oranlarının Tek Yönlü Varyans Analiz (ANOVA) Post Hoc Tukey HSD sonuçları	85
Tablo 17. Saksı denemesi ölüm oranlarının Tek Yönlü Varyans Analiz (ANOVA) Post Hoc Tukey HSD sonuçları.	88

SEMBOLLER DİZİNİ

ARSEF	: USDA-ARS entomopatojenik fungus koleksiyonu
bp	: Baz çifti
L	: Litre
°C	: Derece
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EPF	: Entomopatojen fungus
I:K	: Işık: karanlık
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NCBI	: Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
SDA	: Sabouraud dekstroz agar
pol	: Polimeraz
SPSS	: Sosyal Bilimlerde İstatistik Paketi
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
μ	: Mikro
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
FAO	: Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
IPM	: Entegre Mücadele Yöntemi
IRAC	: İsektisit Direnç Komitesi
EPPO	: Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Organizasyonu
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
TOB	: Tarım ve Orman Bakanlığı

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünyada insan nüfusu hızla artmaktadır ve bu artışla birlikte insanların besin ihtiyaçları artmaktadır. Besinlerin yetersiz kalması durumunda ilerde bir açlık probleminin ortaya çıkacağı düşünülmektedir. Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization, FAO)'nın 2017 verileri, 2050 yılında dünya nüfusunun hızla artarak 10 milyar civarına yükseleceğini, tarımsal üretimin bu ihtiyacı karşılamasının güçleşeceğini ve açlık sınırında olan kişi sayısının giderek artacağını bildirmiştir. Yetersiz beslenen insan sayısının 2016 yılında 815 milyona ulaştığı bilinmekte ve ne yazık ki bu sayının artışı hızla devam etmektedir (FAO, 2017).

Dünyadaki sebze ve meyve üretiminde 15 devlet başı çekmektedir. Aralarında ABD, Çin, Rusya, Türkiye, Hindistan, Mısır, İtalya, İran ve İspanya'nın da bulunduğu bu ülkeler sebze ve meyve pazarının %80'ini karşılamaktadır. Üretimin kalan kısmı ise 187 ülke tarafından yapılmaktadır. Türkiye, sebze ve meyve üretiminde dördüncü büyük üretici konumundadır.

Topraklarımızda yetiştirilen ve ekonomik öneme sahip olan 60'ın üzerinde kültür bitkisinin 552 zararlı türün tehdidi altında olduğu bilinmektedir. Birçok sebze ve meyve gibi şeftali üretimi de ülkemiz tarımı ve ekonomisinde önemli bir yere sahiptir ve şeftali birçok bölgemizde yetiştirilmektedir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2018 verilerine göre ülkemizde, şeftali ve nektarin ağaçlarından yaklaşık 789.457 ton ürün elde edilmektedir. Türkiye bu üretim ile dünyada altıncı sırada yer almaktadır. Geniş alanlarda yetiştirilen ve önemli ekonomik değere sahip olan şeftali ağaçlarında, tek başına veya birlikte zarar yapan zararlı böcek türleri önemli ölçüde ürün kayıplarına sebep olmaktadır. Ürün kayıplarına neden olan bu zararlılar ile yapılan mücadelede en yaygın yöntem zirai ilaç (pestisit) kullanımınıdır (T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı, Değerlendirme Raporu, Ankara, 2005).

Geçmiş yıllarda, şeftali ağaçlarında zarar yapan ve beslenmek için başka ağaç ve bitkileri hedef alan bu zararlılar ile mücadelede genellikle kimyasal mücadele yöntemi uygulanmıştır. Bu durum fazla miktarda zirai ilaç kullanımını beraberinde getirmiştir. Fazla miktarda zirai ilaç kullanılması, öncelikle doğal dengeyi bozmuş, meyvelerde ilaç kalıntı

riskinin artmasına ve çevre kirliliğine neden olmuş ve arıların, balıkların, av hayvanlarının ve kuşların yaşamını tehlikeye sokmuştur. Tarım ilaçları ülkemizde bilinçsizce kullanılmaktadır ve kullanılan bu ilaçların en zararlıları ise kimyasal pestisitlerdir (Kligerman vd., 2000; Tort vd., 2004).

Türkiye’de kayıtlı 914 adet bitki koruma ürünü bulunmaktadır (T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2018). Kullanılan bu pestisitler özellikle kanserojenik, immünolojik ve nörotoksiktir ve üreme üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Melvin, 2017). Bu kadar olumsuzluklar bilinmesine rağmen, ülkemizde pestisit kullanımı her geçen gün artmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Türkiye’de tarımsal ilaç kullanımı

Yıl	İnsektisitler	Fungusitler	Herbisitler	Akarisitler	Rodentisitler	Diğer (*)	Toplam (Ton)
2006	7628	19900	6956	902	3	9987	45376
2007	21046	16707	6669	966	51	3277	48716
2008	9251	16707	6177	737	351	5613	38836
2009	9914	17863	5961	1533	78	2302	37651
2010	7176	17396	7452	1040	147	5344	38555
2011	6120	17546	7407	1062	421	6978	39534
2012	7264	18124	7351	859	247	8766	42611
2013	7741	16248	7336	858	129	7128	39440
2014	7586	16674	7794	1513	149	6007	39723
2015	8117	15984	7825	1576	197	5327	39026
2016	10425	20485	10025	2025	259	6835	50054
2017	11436	22006	11759	2452	236	6209	54098
2018	13583	23047	14794	2486	309	5801	60020

(*) Bitki aktivatörü, bitki gelişim düzenleyicisi, böcek cezbedici, fumigant ve nematisitleri kapsamaktadır (URL-1, TÜİK, 2018).

Tüm bu olumsuzluklar neticesinde özellikle tarımsal zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal mücadele dışında farklı yöntemler düşünölmeye başlandı. Bu mücadele yöntemlerinin başında kültürel, fiziksel, mekanik, entegre ve biyolojik mücadele yöntemleri gelmektedir. Bu yöntemlerden biyolojik mücadelenin uygulanmaya başlanmasıyla kimyasal pestisitlerin meydana getirdiği tahribatın en aza indirilmesi düşünölmektedir. Böylelikle hem insan sağlığı hem de doğada oluşabilecek yan etkilerin uzun vadede ortadan kaldırılması ve daha yaşanılabilir ortamların oluşmasına imkan sağlanacağı düşünölmektedir.

1.2. Zararlılarla Mücadele Yöntemleri

1.2.1. Kültürel, Fiziksel ve Mekanik Mücadele

Kültürel mücadelede zararlı için uygun olmayan koşulların yaratılması önemlidir. Bu yöntemde tarlaların, ormanların ve bahçelerin otlardan ve sekonder konaklardan temizlenmesi bazı zararlıların taşınmasını önlemekte, böceklerin yumurta bırakmasını ya da sezon dışındaki beslenmelerini azaltmaktadır. Özellikle tarın alanlarında toprağın işlenmesiyle uyku halindeki (diapoz) zararlılar yüzeye çıkarak, uygun olmayan hava koşulları ve doğal düşmanlara maruz kalarak ölmektedirler (Jain ve Bhargava, 2007). Tarla ve bahçelerde ekimin belli bir sırada yapılması, bir önceki dönemden kalan bitki kalıntılarının temizlenmesi, farklı birkaç tür bitki ekilerek biyolojik çeşitliliğin sağlanması ve ekili alanların çevresine tuzak bitkilerin ekilmesi gibi kültürel yöntemler uygulanarak zararlılarla mücadele mümkün olmaktadır (DeBach ve Rosen, 1991). Mekanik ve fiziksel mücadele, birçok zararlı böceğe karşı kullanılan uzaklaştırma ve yok etme yöntemini içermektedir (Jain ve Bhargava, 2007).

Mekanik mücadele, zararlılarla araç ya da makineler kullanılarak yapılan mücadeledir. Bu mücadele yönteminde genellikle ışık tuzakları, renk tuzakları ve feromon tuzakları kullanılır. Işık tuzaklarında, böcekler ışık kaynağına doğru yönlendirilir ve ışık kaynağının altındaki toplayıcı kısma düşerler. Renk tuzaklarında ise böceklerin duyarlı olduğu sarı renk üstüne yapışkan bir madde sürülür ve tuzağa yönelen böcek yapışkan maddeye yapışır. Feromon tuzaklarında sentetik seks feromonları kullanılarak böcekler bu tuzaklara çekilir (T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Zirai Mücadele Teknik Talimatları, 1995).

Fiziksel mücadele, zararlının yaşadığı ortamın fiziksel özelliklerinin değiştirerek yapılan mücadeledir. Bu mücadele yönteminde; mineral tuzlar, suya daldırılma tekniği ve yüksek sıcaklık kullanılır. Örneğin mineral tuzlarla yapılan fiziksel mücadelede böceğin vücudunda meydana gelen çizikler böceğin su kaybederek ölmesine neden olur (T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Zirai Mücadele Teknik Talimatları, 1995).

1.2.2. Kimyasal Mücadele

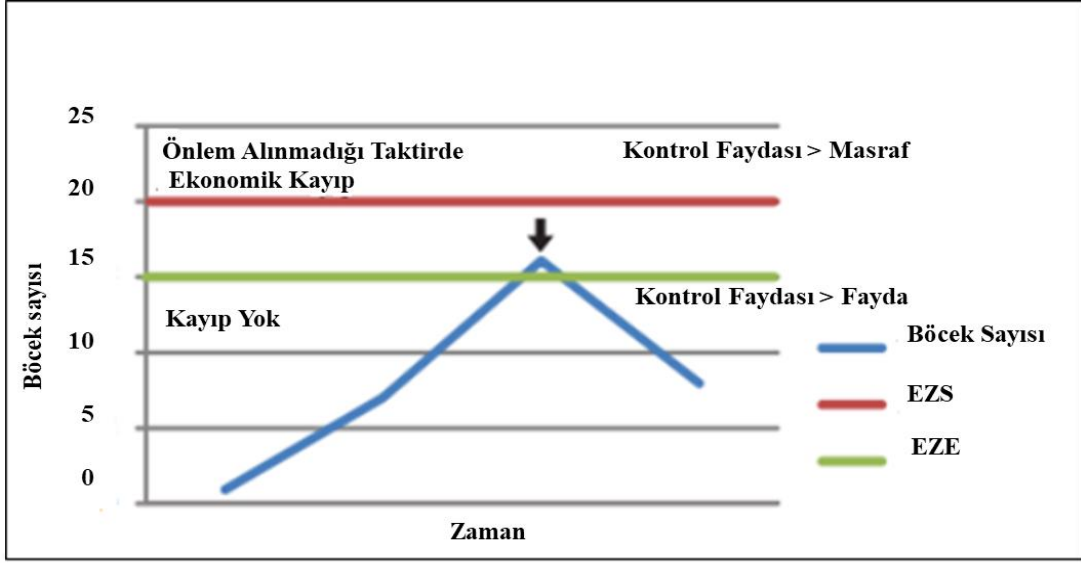
Kimyasal mücadele uygulamaları, 1940'lı yıllarda sentetik pestisitlerin keşfedilmesinden sonra hızla artmış hastalık ve zararlılarla mücadelede tek kurtarıcı olarak görülmüş ve 1950'li yıllara kadar da uzun süreli olumsuz etkileri fark edilememiştir (Uygun vd., 2010). Kimyasalların uzun vadede çevreye yaptıkları olumsuz etkiler geriye dönüşsüz olsa da kimyasal mücadele, kolay uygulanabilmesi ve sonucunun hemen alınabilmesi gibi özellikleri nedeniyle diğerlerine oranla çok daha fazla kullanılan bir yöntem haline gelmiştir.

Örneğin, DDT'nin keşfinden önce 1940'lı yılların başına kadar zararlıların üründe meydana getirdiği kayıp için dünya ortalaması %7 iken, 1980'lerin sonunda bu oran %13'e yükselmiştir (Wilson, 1990). Ürün kaybındaki bu iki katlık oran farkı, ilaç devriminden sonra başlamış ve aynı dönem içinde ilaç kullanımında 12 katlık bir artış meydana geldiği görülmüştür (Poppy, 1997).

Tarımsal zararlılara karşı yapılan kimyasal mücadelenin doğal yaşama karşı olumsuz etkileri bilimsel çalışmalarla tespit edilmiştir. Ürün kayıplarındaki bu artış, zararlılarda ilaçlara karşı dayanıklılığın artması, potansiyel zararlıların ekonomik zararlı durumuna geçmesi ve doğal düşmanların öldürülmesi nedeniyle doğal dengenin bozulmasından kaynaklanmıştır. Bunlara insan ve hayvan sağlığının tehdit edilmesi, gıda maddelerindeki ilaç kalıntıları, çevre kirlenmesi ve yüksek ilaç fiyatları da eklenince, kimyasal mücadeleye alternatif çevre dostu ve daha ucuz mücadele yöntemlerine geçilmesi zorunlu hale gelmiştir.

1.2.3. Entegre Mücadele

Entegre mücadele zararlı organizmaların popülasyon dinamikleri ve çevre ile ilişkilerini dikkate alarak, uygun olan tüm mücadele yöntem ve tekniklerini uyumlu bir şekilde kullanarak, zararlı organizmaların popülasyon yoğunluklarını ekonomik zarar seviyesinin altında tutma biçimidir (TOB, 2018). Zararlı organizma, kültür bitkilerinde zarar yapan böcekleri, akarları, nematodları, fungusları, bakterileri, fitoplazmaları, virüsleri, viroidleri, yabancı otları, kemirgenleri ve kuşları kapsamaktadır. Eğer bu zararlıların zarar seviyesi zarar eşiğinin üzerine çıkarsa, bu seviye zararlı ile mücadeleye karar verildiği yoğunluktur (Şekil 1).



Şekil 1. Zararlı ile mücadelede önemli olan zarar seviyesi ve ekonomik zarar eşığı grafiği (Alston, 2011)

Ülkemizin geniş tarım ürünlerine ve zengin bir ürün yelpazesine sahip olması sebebiyle bu ürünler ile beslenen ve zarar eşığının üstüne çıkarak ürünlerde zarar oluşturan bu zararlılarla en ümit verici, en çevre dostu, en ucuz ve en sürdürülebilir mücadele "Biyolojik Mücadele" dir (Torrado-Leon vd., 2006).

1.2.3.1. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini zarar eşığının altına indirmek ve daha zararsız hale getirmek için başka organizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Doğada böceklerin hastalanmalarına ve ölümlerine neden olan kaynağı virüs, bakteri, protozoa, fungus ve nematod olan birçok mikroorganizma mevcuttur (Demirbağ, 2008). Entomopatojen olarak adlandırılan bu organizmalar, böcek popülasyonlarının dengede tutulmasında tarla, bahçe, sera ve orman zararlılarının mücadelesinde, veterinerlik ve tıbbi alanlarda zararlara yol açan vektör ve zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde kullanılır (Tanada ve Kaya, 1993; Lacey ve Kaya, 2000; Lacey vd., 2001).

1.2.3.1.1. Mikrobiyal Mücadele

Mikrobiyal mücadele ise biyolojik mücadele etmenleri olarak virüs, bakteri, protozoa, fungus ve nematod gibi mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel., 1995; Demirbağ, 2008). Birçok virüsün böceklerin hastalanmasına neden olarak böcek salgınlarını etkiledikleri bilinmektedir. Çiğneyici ağız yapısına sahip böcekler, özellikle yaprak yiyenler, virüs enfeksiyonlarına karşı daha hassastır. Bu durumda yaprak yiyen Lepidoptera tırtıllarıyla, Hymenoptera'nın yalancı tırtılları viral etmenlerden daha fazla zarar görürler (Gencer vd., 2019; Eroğlu vd., 2018; Bayramoğlu vd, 2018; Demir vd., 2014). Virüsler birçok böcek takımıyla ilişkilidir. Bununla birlikte büyük bir kısmı Lepidoptera (%83), Hymenoptera (%10) ve Diptera (%4) takımlarında bulunmaktadır.

Entomopatojen bakterilerden *Bacillus thuringiensis* Berliner günümüzde zararlı böceklerle karşı en fazla kullanılan mikroorganizmadır. Bu alanda birçok araştırmacının çalışmaları mevcuttur (Eski vd., 2015; Çakıcı vd., 2014; Ozgen vd., 2013; Demirci vd., 2013; Danismazoglu vd., 2012; Demir vd., 2012; Sevim vd., 2012). Bu bakteriden üretilen mikrobiyal insektisitlerin çok büyük bir kısmını (%95) *Bacillus thuringiensis* kökenli biyoinspektisitler oluşturmaktadır (Eski vd., 2018; Gaugler, 1997; Georgis, 1997). Birçok alanda kullanılmasına ve üretilmesine rağmen böceğin bakteriyi ağız yoluyla alması ve etki mekanizmasının zaman alması ve etmene karşı direnç geliştirmesi neticesinde, günümüzde entomopatojen funguslar da en çok tercih edilen biyolojik mücadele etmenlerinden biridir.

Protozoonların zararlı böcek popülasyonlarında meydana getirdikleri salgınlar, az rastlanılan bir durum olmasına karşın, neden oldukları bireysel ve küçük gruplar halindeki ölümler, zararlı böcek popülasyonlarının zarar eşiğinin altında tutulması bakımından önemlidir (Maddox, 1987). Entomopatojen protozoonlar genellikle konağa özgüdür. Böceklerde oluşturdukları hastalıklar yavaş ilerler. Virulansları düşüktür ve çoğu kez böceklerde kronik enfeksiyonlar oluştururlar. Virulanslarının düşük olması nedeniyle protozoonların enfekte ettiği böceklerin ölümü bazen haftalar sürebilir (Hoffman ve Frodsham, 1993).

Böceklerde parazit olarak yaşayan ve bazı durumlarda ölümlerine yol açan birçok nematod türü bulunmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda birçok nematod familyasına ait türlerin, böcekler ve diğer omurgasız hayvanlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Poinar, 1990; Kaya ve Stock, 1997; Yılmaz vd., 2009; Erbaş vd., 2014; Gökçe vd., 2013; Gökçe vd., 2015). Steinerematidae ve Heterorhabditidae familyaları günümüzde,

özellikle toprak böceklerinin mikrobiyal mücadelesinde en sık kullanılan gruplardır (Liu vd., 2000; Lacey vd., 2001). Bu nematodlar, *B. thuringiensis*'den sonra, Amerika'da yıllık 2-3 milyon dolarlık pazar satışlarıyla en fazla kullanılan mikrobiyal mücadele etmenleridir (Georgis, 1997).

1.2.4. Entomopatojen Funguslar

Funguslar genellikle, spor üreten, klorofil taşımamaları nedeniyle hazır besinlere ihtiyaç duyan, ipliksi, dallanmış somatik yapıya sahip (hif) ve tipik olarak hücre duvarı bulunduran hem eşeyli hem de eşeysiz olarak çoğalan ökaryotik organizmalardır. Funguslar, fermantasyon yapmaları, ayrıştırıcı olarak besin zincirinde yer alması, tıbbi önemi olan bileşiklerin ve pek çok ticari kimyasal maddenin üretilmesinde kullanılmaları nedeniyle ekolojik, ekonomik ve tıbbi yönden önemli organizmalardır (Alexopoulos vd., 1996).

Entomopatojen funguslar böcek vücuduna saldırır, seri olarak enfeksiyona neden olur ve sonunda onları öldürür. Singkaravanit vd. (2010), entomopatojen fungusu “böceğe saldırarak onu enfekte eden ve öldüren bir grup fungus” olarak tanımlamıştır. Entomopatojen funguslar (EPF), örümcekler, böcekler ve konakçı popülasyonlarının doğal düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Eilenberg vd., 2001). Khachatourians ve Sohail (2008)'e göre, 90 cinsten 700'den fazla entomopatojen fungus türü böceklere karşı patojeniktir. En önemli özelliklerinden biri, hedef zararlıya mekanik olarak zarar vermeleri ve böylece zararlının daha önceden kimyasal veya mikrobiyal kaynaklı insektisitlere karşı geliştirmiş olduğu bağışıklık mekanizmalarıyla kendini koruyamamasını sağlaması ve ölümüne sebep olmasıdır (Charnley ve Collins 2007).

Entomopatojen funguslar, 100 yılı aşkın bir süredir biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılmaktadır (Hall vd., 1982). Tanımlanmış fungus türlerinin toplam sayısının %1'inden azını temsil eden EPF'lerin (McLaughlin vd., 2009), birçok böcek ve araknid türlerinin doğal düşmanları arasında olduğu tartışılmaz bir gerçektir. Bunun sonucunda EPF'ler eklembacaklılarda enfeksiyon yapmakta ve bu nedenle evrimsel yönde savunma önlemlerinin ve virülansla ilgili özelliklerin gelişimine katkıda bulunmaktadır (Pedrini vd., 2015)

1.2.4.1. Entomopatojen Fungusların Sınıflandırılması

Entomopatojenik fungus türlerinin bir çoğu Ascomycota ve Zygomycota bölümleri içerisinde yer almaktadır. Ascomycota içerisinde pek çok tür Hypocreales, Zygomycota ve Entomophthoralean takımlarına aittir (Roy vd., 2006). Bazı önemli entomopatojenik fungusların detaylı sınıflandırılması Tablo 2’de verilmiştir (Roy vd., 2006; Humber, 2008; Sevim, 2015).

Tablo 2. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojen fungusların taksonomik pozisyonları

Şube	Chytridiomycota	Zygomycota	Eski Adı:	Bazal Mantarlar
Şube	Neocallimastigomycota			
Şube	Blastocladiomycota			
Şube	Microsporidia			
Şube	Glomeromycetes			
Alt Şube	Mucormycotina (filum atanmadı)			
Alt Şube	Kickxellomycotina (filum atanmadı)			
	Orders Harpellales, Asellariales			
Alt Şube	Zoopagomycotina (filum atanmadı)			
Alt Şube	Entomophthoromycotina (filum atanmadı)			
Takım	Entomophthoralean			
Familya	Entomophoraceae			
Cins	<i>Furia</i>			
	<i>Massospora</i>			
	<i>Strongwellsea</i>			
	<i>Pandora</i>			
	<i>Tarichium</i>			
	<i>Entomophaga</i>			
	<i>Entomophthora</i>			
	<i>Erynia</i>			
	<i>Eryniopsis</i>			
Familya	Neozygitaceae			
Cins	<i>Neozygites</i>			
	<i>Zoophthora</i>			
Alt Alem	Dikarya			
Şube	Ascomycota			
Alt Şube	Pezizomycotina			
Sınıf	Eurotiomycetes			
Sınıf	Dothideomycetes			
Sınıf	Laboulbeniomycetes			
Sınıf	Lecanoromycetes (likenler)			
Sınıf	Orbiliomycetes			

Tablo 2'nin devamı

Sınıf	Sordariomycetes
Takım	Hypocreales
Familya	Clavicipitaceae
Cins	
	<i>Telemorf</i> <i>Hypocrella</i>
	<i>Metacordyceps</i>
	<i>Regiocrella</i>
	<i>Torrubiella</i>
	<i>Anamorf</i> <i>Aschersonia</i>
	<i>Metarhizium</i>
	<i>Nomuraea</i>
	<i>Paecilomyces-gibi1</i>
	<i>Pochonia</i>
	<i>Rotiferophthora</i>
Familya	Cordycipitaceae
Cins	
	<i>Telemorf</i> <i>Cordyceps s.str.</i>
	<i>Torrubiella</i>
	<i>Anamorf</i> <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	
	<i>Telemorf</i> <i>Ophiocordyceps</i>
	<i>Elaphocordyceps</i>
	<i>Anamorf</i> <i>Haptocillium</i>
	<i>Harposporium</i>
	<i>Hirsutella</i>
	<i>Hymenostilbe</i>
	<i>Paecilomyces gibi1</i>
	<i>Paraisaria</i>
	<i>Sorosporella</i>
	<i>Syngliocladium</i>
	<i>Tolypocladium</i>
	<i>Verticillium gibi2</i>
Şube	Basidiomycota
Alt Şube	Pucciniomycotina
Sınıf	Pucciniomycetes
Takım	Septobasidiales
Alt Takım	Ustialginomycotina
Alt Takım	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.

1.2.4.2. Fungal Enfeksiyon

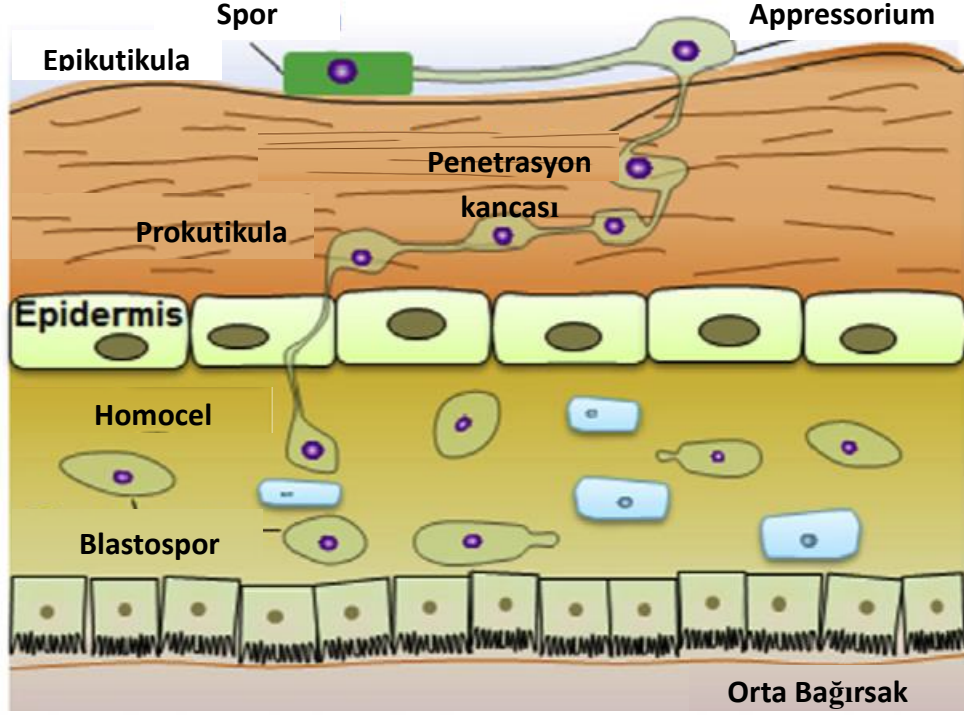
Yaşam döngüleri çoğunlukla konaklarının gelişme safhaları ile eş zamanlı olarak gerçekleşen entomopatojen fungusların hayat döngülerinde birçok benzerlik vardır (Shah ve Pell, 2003; Roy vd., 2006). Entomopatojen funguslar, konaklarını solunum deliklerinden ve integumentin yüzeyinden enfekte edebilme özelliği ile bakteri ve virüslerden farklıdır. Bakteri ve virüsler sadece ağız yoluyla alınmakta ve böcek bağırsağında etkisini göstererek konaklarını enfekte etmektedir. Bakteri ve virüslerin aksine entomopatojen fungusların, böceklerin beslenme yolu ile değil doğrudan konağı enfekte edebileceği bilinmektedir. Bu özellik EPF'lara zararlıların mikrobiyal mücadelesinde önemli avantajlar sağlamaktadır (Lacey ve Goettel, 1995).

Funguslar, hücre duvarındaki engelleri aşarak, enfeksiyonu kısmen fiziksel kısmen de enzimatik olarak gerçekleştirir. Entomopatojenik fungusların yaşam döngülerinde üretilen, eşeysiz olarak üreyen enfektif bir spor, konağın kütikulasına tutunarak giriş yapar (Castrillo vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Girişten sonra spor çimlenerek çimlenme tüpünü oluşturur ve bunu takiben giriş organı olan appressorium oluşumu meydana gelir (Hajek ve Leger, 1994) (Şekil 2).

Giriş safhasında, kütikulayı degrades eden enzimler (proteaz, kitinaz ve lipaz) konağa girişte önemli rol oynamaktadır (Clarkson ve Chamley, 1996). Giriş bölgesinde melanizasyona neden olan aktif sporlar hemosele kadar ilerler (Ferron, 1978). Konağa girişi takiben, hemoselin içerisindeki filamentöz fungus yapıları maya benzeri hifal yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar. Bu yapılar hemosel içerisinde dolaşır ve tomurcuklanma ile çoğalırlar. Daha sonra tekrar filamentöz yapılara geçiş yapılarak fungus iç dokuları ve organları istila eder ve konak savunma sistemini etkisiz hale getirmeye çalışır (Şekil 2).

EPF'lar konağı istila eder ölümüne neden olur (Castrillo vd., 2005). Böceğin ölümünden sonra, EPF'lar kadavradan dışarı doğru sporlaşmaya başlar ve konidiyogenezis kadavranın dış yüzeyinde meydana gelir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Dış yüzeyden başka konaklara bulaşarak konaktan konağa yayılımını sürdürür. Funguslar,

enfeksiyon için uygun olmayan çevresel koşullarda, bu koşullara dayanıklı dinlenme yapılarını (resting spores) oluşturur (Zhao vd., 2016).



Şekil 2. Entomopatojen fungusların etki mekanizması

1.2.4.3. Fungal Enfeksiyonun Başlamasında Etkili Olan Enzimler

Entomopatojen funguslarda virülansın en iyi göstergesi spor boyutu, adhezyon ve germinasyon hızıdır (Altre vd., 1999; Chandler vd., 1993; Lane vd., 1991). Bu özellikler bazı funguslara veya suşlara özgüdür bu nedenle entomopatojen funguslar virülans sınırlıdır. Tüm entomopatojen funguslar, konakçı kütikülün içine girmesine yardımcı olmak için üretilen kütikülayı degrades eden enzimlere (lipazlar, kitinazlar, proteazlar) sahiptir (Butt, 2002). Yüksek derecede patojenik türler, saptanabilir miktarlarda hücre dışı kitinaz, lipaz ve proteaz aktiviteleri gösterir (Samuels vd., 1989). Birçok çalışmada önemli bir virülans belirleyici proteolitik enzimler serin proteaz (Pr1) enzimi, böcek kütikülü tarafından uyarılan subtilisin benzeri bir ekstrasellüler bir enzimdir (Butt, 1998; Wang, 2002). Epikutikülün lipazlar tarafından parçalanmasından sonra böceği istila eden funguslar, protein materyalini bozan büyük miktarlarda Pr1 (serin-proteaz) üretir. Diğer taraftan, amino peptidazlar ve

ekzopeptidazlar tarafından aminoasitlere indirgenmiş proteinlerin daha ileri degradasyonu, entomopatojen funguslara besin sağlamak için yapılmaktadır (Wang vd., 2002). Pr1 ve tripsin benzeri proteaz (Pr2) aktiviteleri *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, *Nomuraea rileyi* ve *Metarhizium flavoviride*'de belirlenmiştir (Wang vd., 2002; Liu vd., 2007) Bu proteazlar, ilk kütikül degradasyon aşamasında salgılanır ve AMPc 'nin aracılık ettiği protein kinaz A'yı (PKA) aktive ederek sinyal transdüksiyon mekanizmasını uyarırlar (Fang vd., 2009). Pr1 proteazın, fungusun hücre dışına tutunmasında kütikül enfeksiyonunu başlattığı, çalışmalarla doğrulanmıştır (Mustafa ve Kaur, 2009). Bu enzimi kodlayan genin *pr1A* ve *pr1B* bölgeleri mevcuttur ve *pr1B* gen bölgesi ve *pr1A* gen bölgesi arasında %54 amino asit benzerliği olduğu ve bu iki gen bölgesini birbirinden ayıran en büyük farkın katalitik etkisi olduğu bilinmektedir (Joshi vd., 1997).

Kitinaz, entomopatojen fungusların patojenitelerini belirleyen faktörlerden biridir (Charnley ve Leger, 1991). Kitinazların bazıları kütikülayı degrade eden enzimlerdir ve böcek kütikülünü hidrolize etmek için proteazlarla sinerjistik olarak etki eder (Leger, 1986). Özellikle *M. anisopliae* ve *Beauveria bassiana* çeşitli işlevlere sahip kitinaz enzimi üretir (Kang vd., 1998; Screen vd., 2001). Ek olarak, Fang vd. (2005), bir kitinaz geninin (*bbchit1*) aşırı ekspresyonunun, yabani tip bir suşu kıyasla *Myzus persicae* Sulzer virülansını arttırdığını kanıtlamıştır.

Kitinazlar, entomopatojen funguslarda germinasyon, hifal büyüme, morfogenez, beslenme ve rekabette proteazlarla iş birliği yapmaktadır. Çeşitli çalışmalarla entomopatojen funguslarda kitinazın en önemli görevleri, i. Fungus hücre duvarında veya besin kaynağı olarak kullanılan eklembacaklıların dış iskeletlerindeki kitinin yıkımı, ii. Funguslarda hif büyümesi, dallanma, otoliz ve rekabet sırasında hücre duvarlarının yeniden modellenmesi, iii. Aynı ekolojik niş içerisinde bulunan diğer funguslardan korunma şeklinde belirlenmiştir (Adams, 2004).

Lipazlar, fungusların endüstriyel uygulamalar için en önemli kaynaklarından. Bunun sebebi, fungal enzimlerin genellikle hücre dışı olarak salgılanması ve fermentasyon ortamından ekstraksiyonu kolaylaştırmasıdır (Pandey vd., 1999). Böcek kütesinin dış tabakası olan epikütikula, hidrofobiktir ve mikrobiyal saldırıya karşı ilk engel olarak işlev görür. Heterojen bir lipid karışımı, uzun zincirli alkenler, esterler ve yağ asitleri, böcek kütikülünün ana bileşenidir. Lipazlar, böcek iç kısmında bulunan lipoproteinlerin, yağların ve balmumlarının ester bağlarının hidrolizinden sorumludurlar (Ali vd., 2009). Lipazlar

kütiküllere önemli ölçüde nüfuz eder ve bütünlüğü parçalayarak degradasyonu başlatır. Epikütikül tabakasının degradasyonu, prokütikülde yer alan proteinli materyali degrades eden fungal proteazının üretimi ile takip edilmektedir. Lipaz yardımı ile sporların epikütikülüne yapışması, kütikül mumsu yüzeyindeki yağ asitlerinin ve alkenlerin bozunmasını başlatan zorunlu bir ön aşamadır (Silva vd., 2010).

1.2.4.4. Entomopatojen Fungusları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler

Entomopatojen canlıları etkileyen biyotik faktörlerin başında konukçu yoğunluğu, sağlığı, yaşı, dağılımı, yaşam periyodu ve konukçu davranışları gelmektedir (Inglis vd., 2001; Klingen ve Haukeland, 2006). Enfekte olmuş konukçular, kötü beslenme ve fiziksel zayıflık gibi durumlardan dolayı diğer patojen saldırılarına karşı daha dirençsiz kalır. Yaşam periyodunun gömlek değiştirme evresinde böcekler, derilerinin ince olması nedeniyle fungal patojenlere karşı oldukça duyarlıdır (Inglis vd., 2001; Klingen ve Haukeland, 2006).

Konukçu popülasyonu içerisinde ölüm oranını etkileyen bulaşıcılık, virulans, toksinlerin üretimi, patojenin yaşam döngüsü, patojen yoğunluğu, dağılımı ve kalıcılığı gibi birçok faktör mevcuttur (Van Driesche ve Bellows, 1996; Inglis vd., 2001). Belirli bir patojen türünün genotipi o patojenin belirli bir konukçuya karşı bulaşıcılığını ve virulanslığını etkiler.

Zararlıının kütikulası savunma sisteminde sadece ilk değil aynı zamanda en büyük bariyerdir (Pekrul ve Gula, 1979). Kütikulanın yapısal özellikleri ve yüzeyinde bulunan enzim inhibitörleri ve antimikrobiyal bileşikler, zayıf patojenlerin kolayca elimine edilmesini sağlar. Kandan kaynaklanan savunma sistemi ise fungusun hastalık oluşturma yeteneğinde az bir etkiye sahiptir (Charnley ve Collins, 2007).

Entomopatojen fungusların patojenitesini etkileyen abiyotik faktörler sıcaklık, nem, kuraklık, ışık, UV, pH ve toprak tipi sayılabilir (Inglis vd., 2001; Klingen ve Haukeland, 2006; Zimmermann, 2007). EPF'lar konukçularının içerisine kütiküle yüzeyinden girmektedir. Ancak, vücut içerisine giriş için uygun sıcaklıkta sporların çimlenmesi ve hif gelişiminin başlaması gerçekleşmektedir (Griffin vd., 2005; Klingen ve Haukeland, 2006; Zimmermann, 2007). Birçok EPF türü, 15 ile 30 °C arasındaki sıcaklıklarda büyüme göstermektedir (Osborne vd., 1990).

Nem ve kuraklık patojenite açısından önemlidir. Yüksek nem hem fungus sporlarının çimlenmesini hem de enfekte olmuş kadavrada spor oluşumunu tetiklemektedir. Yaklaşık

%92-93 bağıl nem fungus sporlarının çimlenmesi için alt sınır teşkil etmektedir (Hall ve Papierok, 1982). Birçok araştırmacı tarafından da gösterildiği gibi zaman ve radyal büyüme arasında doğrusal bir ilişki vardır (Pirt, 1967). Özellikle ılıman iklimlerde *Myzus persicae* 'nın zararını azaltmaya yönelik geliştirilen mikoinsektisitlerde düşük ve yüksek sıcaklığın değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır (Yeo vd., 2003).

EPF'leri etkileyen UV ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Günümüze kadar olan çalışmalarda UV-B (290-330 nm) radyasyonunun funguslar üzerindeki etkisi şaşırtıcı bir şekilde ihmal edilmiştir. Çünkü birçok fungusda morfogenez ve özellikle sporülasyonun UV-B radyasyonuna duyarlı olduğu bilinmektedir (Ensminger, 1993; Vakalounakis ve Christias 1981, 1986a).

Fungus türlerinin, özellikle sıcaklık, yaşam evresi, su mevcudiyeti, üretim ve hasat metodu gibi birçok faktöre cevap olarak doğada kalması geniş ölçüde değişir. Bunlardan, *Beauveria* ve *Metarhizium* cinsine ait suşların sporlarının çoğu sıcaklıkta en uzun süre hayatta kalabildiği ve daha çok bu iki cinse ait türler kullanılarak biyolojik mücadele preparatlarının üretildiği bilinmektedir (Burges, 2012).

1.2.4.5. Entomopatojen Fungusların Dağılımı ve Yayılımı

EPF'larda enfektif yapıların dağılması, Hypocreales takımında sporları kadavradan pasif olarak rüzgâr ve yağmur gibi etkenlerle ve Entomophthoralean takımında ise hidrostatik basınç altında aktif olarak konak hala canlı iken sağlanmaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2007; Shah ve Pell, 2003). Bazı Entomophthoralean funguslara ait sporların yayılması, enfekte sinekler ve bazı afit türleri fungusları taşıyarak farklı yerlere yayılmasını sağlamaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2007; Shah ve Pell, 2003). Bazı eklem bacaklılar entomopatojenik türlerin yayılımında görev yapmaktadır (Dromph, 2003; Meyling vd., 2006). Ayrıca, dinlenme yapılarının oluşması pek çok fungusun yayılımı için ana faktör olmaktadır (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003).

1.3. Entomopatojenik Funguslardan Formülasyon Geliştirilmesi

Entomopatojen funguslar, zararlı böceklerin mücadelesinde dikkat çekici bir öneme sahiptir. Mikoinsektisitler toplam insektisit pazarının çok az bir kısmını oluşturmaktadır

(Fang vd., 2005). Mikoinsektisitlerin üretilmesinde ve etkinliğinin belirlenmesinde dikkat edilmesi gereken maddeler vardır. Bunlar; yavaş etki göstermeleri, raf ömrünün kısa olması, uygulama sonrası alanda canlı kalabilme özelliği ve üretim maliyetleri en önemlileridir.

Bu olumsuz durumun üstesinden, ürün geliştirilmesi düşünülen süşun zararlıının bulunduğu doğal çevreden temin edilmesi, genetik mühendisliği, formülasyon çeşitleri ve uygulama teknikleri sayesinde gelinebilir (Goettel vd., 2005). Günümüzde, dünya çapında entomopatojenik funguslardan oluşan pek çok ticari preparat bulunmaktadır ve bunlar çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005).

1.3.1. Formülasyon

Bir bitki koruma ürünü içerisinde bulunan ve zararlılar üzerinde öldürücü, kaçırıcı çekici etkinliği olan maddelere aktif madde denilmektedir. Aktif maddeler pestisit üreten firmaların laboratuvarlarında oldukça zahmetli ve pahalı Ar-Ge çalışmaları sonucunda ortaya çıkarılmaktadır. Biyolojik olarak etkinliği kanıtlanmış (virüs, bakteri, fungus, nematod, bitki ekstraktı vb.) mikrobiyal etmenlerin, yardımcı maddeler ile yapılan fiziksel karışımına formülasyon adı verilir. Bu formülasyonların, zararlılar üzerinde etkili, ekonomik, insan ve çevre sağlığına en az zarar oluşturması hedeflenmektedir.

Günümüzde mikrobiyal etmenlerden üretilen formülasyonlar, özellikle kimyasal zirai ilaçlara karşı, ekolojik olarak dostça bir alternatif sundukları için, bilim insanları, toplum ve özel şirketler arasında zararlılarla mücadelede anlamlı bir ivme kazanmaktadır. Ayrıca, büyük ölçüde insektisit kullanılması zararlı böcekleri insektisitlere dirençli hale getirmiştir. Bu faydalı mikroorganizmalar arasında EPF'ler, virüs ve bakteri gibi ağız yoluyla alınmasına gerek olmadığı için son zamanlarda daha çok kullanılır hale gelmiştir (Humber, 2008).

Mikoinsektisitler son yirmi yılda farklı formülasyon çeşitlerinin üretilmesi ve zararlılar üzerinde alınan etkili sonuçları nedeniyle büyük popülerlik göstermişlerdir. Faria ve Wraight (2007), %40'ı *Beauveria bassiana* 'dan %39'u *Metarhizium anisopliae* sensu lato 'dan üretilen 110 ticari ürün kaydetmiştir. Ürünlerin geri kalanı *Beauveria brongniartii*, *Isaria fumosorosea*, *Isaria farinosus*, *Lecanicillium longisporum* ve *Lecanicillium muscarium*'u içermektedir. *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). Birçok EPF, suni ortamda kitlesel olarak üretilmekte ve biyolojik mücadelede uygulanabilmektedir (Jaronski, 2010).

Bu üretimde çok uluslu birçok tarımsal kimya şirketi (BASF, Monsanto, DuPont ve Arysta gibi) EPF'ler mikoinsektisit geliştirmektedirler (Ravensberg, 2015). Mikoinsektisit geliştirilmesinde ilk adım, zararlı böcekleri kontrol etmek için en iyi fungus suşunun seçilmesidir.

1.3.2. Suş Seçimi

En uygun suşun seçimi, mikoinsektisit geliştirilmesinde kritik öneme sahiptir (Talwar, 2005). Suş seçim sürecinde, fungus izolatının sadece virülansı değil, aynı zamanda ekonomik olarak üretilebilecek stabil bir propagül oluşturma potansiyeli olup olmamasına göre de değerlendirilmesi gereklidir. Bu nedenle seçimi yapılacak olan izolatların, uygun propagül seçimi, öngörülen kullanımı (havai konidiya, blastospor, mikrosikloretiya ve mikrosikl), virülansının yüksek olması, kuraklık toleransı, termal toleransı, çimlenme ve enfeksiyon hızı, çevresel stabilite, üreme yetenekleri, UV toleransı, uzun süreli kararlılığa (raf ömrü) sahip ve hedef böcek(ler) için tipik olan çevresel ve ekolojik koşullar altında tutarlı etkinlik gösterebilen bir suş olmalıdır (Jackson vd., 2010; Vega vd., 1999; Fernandes vd., 2015). Özellikle suş seçiminde dikkat edilen, EPF'un hangi propagül yapıda daha etkili olduğudur.

Yukarıda belirtilen özellikleri taşıyan *Isaria*, *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Hirsutella*, *Nomuraea* ve *Metarhizium* cinsine ait entomopatojen fungus türleri, sıvı bir kültürde "maya benzeri (blastospor)" şekilde büyüme gösterir. Böcek içinde maya benzeri büyüme göstermesi besin maddelerine daha iyi erişmesine izin verir ve ayrıca bir virülans faktörü olarak kabul edilir. Çünkü blastosporlar, bu sayede böceğin bağışıklık sistemini aldatma yeteneğine sahiptir (Wang ve St Leger, 2006; Humber, 2008; Boomsma vd., 2014; Pendland ve Boucias, 1997).

Blastospor kullanımı, sprey uygulamaları için uygun mikoinsektisitler olarak önerilmektedir (Jackson vd., 1997; Kleespies ve Zimmermann, 1998; Mascarin vd., 2015). Yukarıda verilen cinslere ait suşlardan üretilen blastosporların hızlı bir çimlenme oranına sahip olması (örneğin, *I. fumosorosea* blastosporları için 6 saatte %90 çimlenme ve havai

konidiyalar için 16-24 saat), belirli koşullarda mikoinsektisit olarak bunların kullanılmalarında fayda sağlayan bir özelliktir (Vega vd., 1999). Bu hızlı çimlenme, havai konidiya ile karşılaştırıldığında, uygulamadan sonra zararlı çevresel strese (UV, düşük nem) maruz kalma süresini azaltabilir. Blastosporlar, birçok avantajlı görünen özellikleri dışında havai konidyalara kıyasla, çevresel baskılara karşı daha az toleranslıdır ve daha az raf ömrüne sahiptir. Havai konidiya ve blastosporlar arasındaki bu eşitsizlik, sporların bir böcek tarafından sekonder olarak alındığı durumlarda oldukça önemlidir. Yapılan çalışmalarda *M. anisopliae* ve *Hirsutella thompsonii* blastosporlarının kararlılığı sınırlı kararlılığa ve havai konidyalardan daha düşük virülans etkisine sahip oldukları gösterildi (Adamek, 1963; Winkelhoff ve McCoy, 1984). Bu özellikte olan suşlara ait havai konidiyadan üretilen mikoinsektisit formülasyonların daha etkili olacağı düşünülmektedir.

Başka bir propagül olan mikrosikl konidiya, sıvı ortamda, çimlenen bir havai konidiyum tarafından, hifal büyümeye müdahale etmeden doğrudan üretilir (Anderson ve Smith, 1971). Bu mikrosikl konidiyaların havai konidyalardan ultra-yapısal ve morfolojik farklılıkları vardır. Bu sporlar duvarında bir tabakadan yoksundur ve bazı farklı fiziksel özelliklere sahiptirler (Hegedus vd., 1990). Mikrosikl konidiyaların çimlenme hızı, blastosporlar ve havai konidiyaların arasındadır.

Havai konidyalardan üretilen ve toprak altı zararlıları için en uygun mikoinsektisit çeşidi olan granüler formülasyonlar, sürekliliğini koruyabilen kalıcı bir fungus propagülüdür. Granüler mikoinsektisitlerde kullanılan substratlar, rehidrasyonda konidiyal çimlenmeyi, vejetatif büyümeyi ve sporülasyon veya basitçe konidyanın canlılığını, hedef böceğin granül ile temas etmesi için yeterince uzun süre koruyabilir ve böceğe spor transferini kolaylaştırır. Herhangi bir suşun doğal spor üretimi, belirli fermantasyon koşullarına cevap veren genetik belirleyicilere sahiptir. Hypocrealean EPF'lerin (örneğin, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* ve *Lecanicillium*) çoğalacağı ve havai konidiya oluşturacağı katı bir substrat üzerinde büyüme, bu cinslere ait funguslar için ideal büyüme ortamlarıdır. Fakat aynı türe ait farklı suşlar için azdır. Hatta bazı suşlar pirinçte büyümeye tepkisizdir ve bunun sonucunda da düşük verim elde edilir. *Aschersonia*, *Hirsutella* ve *Nomuraea* cinsleri pirinç taneleri üzerinde yetiştirildiğinde çok düşük spor verimi üreten cinsler arasındadır (Jaronski, 2013). O nedenle, bir mikoinsektisit üretimi için suş seçerken türün soyları arasında da önemli farklılıklar olabileceği göz ardı edilemez bir gerçektir (Jaronski, 2013). Bundan dolayı, virülansı yüksek ve genetik olarak kararlı bir suşun seçilmesi, üretim için çok önemlidir.

Fungus izolasyon çalışmalarından elde edilen veriler, hem yerel tür çeşitliliği hakkında bilgi vermekte hem de yerel izolatların elde edilmesini sağlamaktadır. Bu veriler o bölgede yayılış gösteren zararlı böcek popülasyonlarının kontrol altına alınmasında hem korumacı biyolojik mücadelede hem de kitle halinde salımda kullanılmak üzere faydalı bilgiler sağlamaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2006). Şu an itibariyle, çevreye salınan fungal biyolojik mücadele etmenleri çevresel yeterlilik eksikliği nedeniyle sıklıkla toprakta tutarsızlık sergilemektedir (Jackson vd., 2000). Bunun haricinde, yerel izolatlar hedef böcek ile ekolojik uyumluluğa sahip olabilir ve egzotik (yabancı) izolatlarla karşılaştırıldığı zaman hedef dışı organizmalar üzerinde daha az riskte etkiye sahip olabilir (Gulsar Banu vd., 2004).

Son on yılda *Metarhizium*'dan üretilen mikrosklerotiya, taşıyıcı granül üzerindeki konidiya bir alternatif sunmaktadır (Jackson ve Jaronski, 2009). Bu sklerotiyal formlar kurumaya toleranslıdır ve in situ olarak konidiya üretmek için toprakta sporojenik olarak çimlenme sağlandığında toprakta yaşayan böcekleri enfekte ettiği ve öldürdüğü gösterilmiştir (Jaronski ve Jackson, 2008).

Tüm bu özellikler dikkate alındığında çalışılacak suşun en etkili olanın seçilmesi ve diğer özelliklerinin de belirlenmesi mikoinsektisit geliştirilmesinde hayati önem taşımaktadır.

1.3.3. Kültürün Devamlılığı

Mikoinsektisit geliştirmeden önce en kritik özelliklerden bir tanesi, daha sonraki seri üretim için genetik olarak değişime uğramamış bir kültürdür. Bir entomopatojen fungusun konakçıdan tek spor veya tek koloni izolasyonu esastır. Çünkü doğal olarak enfekte olmuş bir konakçı içinde çeşitli genotiplerin eşzamanlı mevcudiyeti mümkündür (Jaronski, yayınlanmamış veriler). Bunun için birincil bir 'ana kültür'ün mutlaka böcekten izole edilmesi ve izole edilen kültürün uygun koşullarda saklanması gerekir.

Yıllık veya altı ayda bir birincil stokun bir kısmı depodan çıkarılarak agar ortamında yeterli sayıda alt kültür oluşturmak için kullanılmalıdır. Bunun esas sebebi, besiyeri üzerinde birkaç kez (art arda ≥ 10 kez) alt kültürlenme işleminin virülans kaybına yol açmasıdır (Shah vd., 2007). Bir EPF suşun düzenli periyodik alt kültürleri tavsiye edilmez. Çünkü funguslarda genetik değişiklikler meydana gelebilir, tekrarlanan alt kültürler sırasında

virülans veya sporülasyon yeteneğinin kaybolması söz konusu olabilir (Wang vd., 2002, 2005; Ansari ve Butt, 2011).

İdeal olarak stoktan canlandırılan bir kültürden en az dört veya beş in vitro pasaj yapılmalıdır. Genellikle EPF düşük sıcaklıkta depolanmalı (sıvı azot, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) veya kurutma yöntemi (dondurarak kurutma, kuru sporların silis kurutucu ile depolanması) ile muhafaza edilmelidir. Stok kültürleri, küçük agar parçalar halinde keserek, %10 gliserol içinde ve $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanır. Bazı laboratuvarlarda bu uygulamanın ticari bir versiyonu (Microbank, Pro-Lab Diagnostics) kullanılmaktadır. Fungus kültürlerinin korunmasına yönelik metodolojiler Humber (2012) tarafından detaylı bir şekilde literatüre kazandırılmıştır. Bu yüzden bir fungusun korunması için, birden fazla yöntemin uygulanması tavsiye edilir ve kültür depolanması, bir yedek olarak kullanılmak üzere başka bir kurumda veya kültür koleksiyonunda çoğaltılmalıdır.

EPF'nin, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu, toplama tarihi, toplama yeri, böcek konakçı veya substratı ile ilgili diğer detaylar ve her izolat için bir kodun gösterilmesi, fungus stok kültürlerinin korunması için çok önemli bilgilerdir. Orijinal kültürün agar besiyerinde radyal koloniler olarak fotoğrafları, suşta sonraki değişiklikleri tespit etmek için yararlıdır.

Aynı zamanda izole edilen ve saklanan bu izolatların steril bir şekilde korunması diğer önemli basamaklardan biridir. Bu süreçte üretimi yapılan ya da yapılacak olan izolat için gerekli büyüme ortamları ve kullanılan ekipmanların steril edilmesi en önemli hususlardan biridir. Bu tatmin edici bir şekilde yapılmazsa, kirletici maddeler hızlı bir şekilde üretime geçebilir ve gerekli fungusun üretimi gerçekleşmez veya son ürün kabul edilemez şekilde kirlenir. Sterilizasyon, ısı, özel filtreler veya bazı durumlarda gamma radyasyon ile sağlanabilir.

1.3.4. Besinler

Besinler, biyokimyasal reaksiyonların yapı taşları, enerji kaynağı ve yardımcı faktörler sağladıkları için fungusların büyümesini destekleyen kilit unsurlardır. Fungus türüne ve suşuna bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda karbon, azot, oksijen, hidrojen, mineral ve vitaminler gereklidir. Çözünmüş oksijen, genellikle filamentli fungal entomopajenlerin aerobik fermantasyonundaki sınırlayıcı faktördür. Yeterli oksijen tedariki, bu fungusların

başarılı bir şekilde çoğaltılması için temel bir gerekliliktir. Optimum ortam içeriklerinin ve konsantrasyonlarının seçimi, özellikle sıvı fermantasyon için biraz zaman alıcı ve zahmetli olabilir, ancak en kısa fermantasyon süresinde maksimum propagül verimi için uygun beslenme koşullarının tanımlanması son derece önemlidir. Besinler aynı zamanda fungal morfogenezi, propagül oluşumunu, spesifik büyüme hızını ve biyolojik mücadelede kullanım için propagül kalitesini ve uygunluğunu da etkileyebilir (Jackson, 1997). Bu nedenle, beslenme çalışmaları EPF için uygun maliyetli üretim ortamı geliştirmek için büyük önem taşımaktadır.

Fungus büyüme torbalarında (katı-substrat fermantasyonlarında kullanılan) veya sıvı fermantasyonunda (fermentör veya bioreaktörler) yeterli oksijeni sağlamak, fungusların daha hızlı ve daha fazla miktarda büyümesinde etkili olur ve bu sayede ürün veriminin artmasına imkan verir. Oksijen azlığı veya fazlalığı (>%21 O₂, atmosferdeki oksijen), kültürlerin dengeli büyümesini sınırlandırabilen, biyokütle kuru ağırlığını ve hücre canlılığını azaltabilen oksidatif bir strese maruz kalmasından dolayı fungus büyümesine zarar verebilir.

Ürüne dönüştürülmesi planlanan tüm suşlar için, büyüme ortamındaki oksijen miktarı önemlidir. Çünkü EPF suşları oksijen mevcudiyetine eşit şekilde cevap vermediğinden, belirli bir suşun ihtiyacı olan oksijen seviyelerini optimize etmek mikoinsektisit üretimi için önemlidir (Garza-López vd., 2012; Tlecuitl-Beristain vd., 2010).

1.3.5. Katı ve Bifazik Fermentasyon

Havai konidiyaların katı substrat fermantasyon üretimi, hem küçük ve orta ölçekli işletmeler hem de büyük çok uluslu şirketler tarafından mevcut kullanımdaki birincil üretim yöntemidir. Bifazik fermantasyon, katı substrat fazını başlatmak için bir besiyerinde üretilen fungusların kullanımıyla ilgili ikincil bir terimdir, ancak genel işlem aynıdır.

Katı substrat kullanılarak yapılan üretiminin temelleri Bartlett ve Jaronski (1988) tarafından atılmıştır. Fogal vd. (1986), *M. anisopliae* için taşıyıcı ortam olarak katı substrat kullanılmasını basit bir kitle üretim tekniği olarak tarif etmiştir. Jaronski ve Jackson (2012) ve Jaronski (2013)' de daha sonra güncellenmiş küçük ölçekli katı substrat üretimi için protokol detayları yayınlamışlardır. Katı substrat üzerinde *B. bassiana* ve *M. anisopliae* için genel verim 4×10^{12} – 10^{13} spor/ kg seviyesindedir (Bradley vd., 1992, 2002; Lopez-Perez

vd., 2015). Katı substrat kullanılarak üretim yapma yöntemi seçildiğinde düşünülmesi gereken çok sayıda özellik vardır. Bunlar, substrat seçimi, fermantasyon kapları, havalandırma sistemi, başlangıçtaki substrat nem seviyesi, inokulum kaynağı, havalandırmanın derecesi ve şekli ve ek besin maddelerinin eklenmesi gibi fermantasyonu etkileyen oldukça önemli hususlardır (Chen, 2013).

Mikoinsektisit geliştirilmesi planlanan aday suşların küçük ölçekli (100-500 g substrat) değerlendirmeleri gereklidir. Yüzey hacim oranı, partiküller arasındaki boşluğu etkileyen partikül büyüklüğü ve substrat yüzeyi, optimum spor üretimi için göz önünde bulundurulması gereken diğer hususlardır. Pirinç, arpa, çavdar, buğday, sorgum gibi tahıl taneleri veya mısır uygun katı substratlardır. Diğer bir yaklaşım da, uygun bir sıvı ortam ile doygun gözenekli etkinlik göstermeyen bir substratın, tahıl taneleri yerine kullanılmasıdır. Bu tip substratlar arasında en çok tercih edilenler Floor-Dry, Solid-A-Sorb veya Celatom MP diatome granül, EP mineralleri LLC (Reno NV, USA) dır. Bu yaklaşımın avantajları, spor üretimi gerçekleştikten sonra substratın geri dönüşüm kabiliyetinin olmasıdır. Küçük ölçekli üretimin çoğu, entegre havalandırma içeren fungus büyütme torbalarını ya da açık uçları takılı olan otoklavlanabilir plastik torbaları içerir.

Katı substrat kullanarak yapılan üretim döngüsü 7-14 gündür, bundan sonra kültür genellikle 1-4 gün içinde kurutulmalı ve sporlar mekanik yollarla uzaklaştırılmalıdır. Konidiaların <math><7\%</math> nem son noktasına kadar kurutulması, iyi raf ömrü için çok önemlidir (Jaronski ve Jackson,2012; Jaronski, 2013).

1.3.6. Sıvı Fermentasyon

Entomopatojen Hypocreales takımına ait türlerden sıvı fermantasyon ile ürün üretmek uzun zamandır birçok araştırmacı için bir amaç olmuştur. Bu araştırmaların temel amacı, ticari sıvı ürünler kullanarak büyük ölçekli ürünleri daha az sürede üretmektir. Çünkü katı substrat kullanılarak üretim yapmak günler sürerken, sıvı fermantasyonla ürünlerin üretimi saatler sürmektedir. Bu süreçte dış etkenlerin etkileri ve sterilizasyon basamakları daha kolay takip edilmektedir. Sıvı fermentasyon ile üretim, pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyarken katı substrat ile üretim basit gereçlerle yapılabilir. Ancak, burada da fazla iş gücü gerekmektedir.

Sıvı fermantasyon iki kategoride sınıflandırılabilir. Bunlardan batık sıvı fermantasyon, fungusların blastosporlar oluşturmak için sürekli çalkalanan ve havalandırılmış bir sıvı ortam içinde üretilmesi ve diğer mikrosklerotiya (sporülasyonun sıvı besiyerinde çalkalanmadan durgun besiyerinde gerçekleştiği miselyum) ve havai konidiya üretmektir. Batık fermantasyonun son ürünleri blastosporlar, “mikrosikl” konidiya veya mikrosklerotiya (sadece *Metarhizium* ve *Nomuraea*)’dır. Bu yöntemde havai konidiya üretimi mümkün olamamaktadır. *I. fumosorosea* ve *Lecanicilium spp.* batık fermentasyonda rutin olarak üretilmiştir. Çünkü hiçbir cins kendiliğinden katı-substrat fermentasyonuna kolay bir şekilde izin vermemektedir. Üretici firmalar *Beauveria* cinsine ait suşlarda özellikle büyük ölçekli katı üretimden kaçınmıştır. *Beauveria* ve *Metarhizium* ile yapılan başarılı çalışmalarda sıvı fermentasyon ile blastosporların üretiminin ticari çekiciliğini artırmıştır (Mascarin vd., 2015a, b; Kleespies ve Zimmermann, 1992, 1998).

1.3.6.1. Blastosporlar

Beauveria ve *Isaria*’nın kısa mayalanma süreleriyle, yüksek oranda, nispeten saf kuruma toleransı olan blastospor konsantrasyonlarını üretmek için maliyet-etkin yöntemler başarılı bir şekilde kullanıldı (Jackson vd., 1997; Mascarin vd., 2015a). *L. lecanii* (Mycotal ve Vertalec) ve *I. fumosorosea*’nın (PFR97 ve No-Fly) blastospor-bazlı mikroinsektisitleri ticari olarak üretilmektedir (Faria ve Wraight, 2007; Gao ve Liu, 2010). Genelde, yüksek konsantrasyonlarda karbon ve azot kaynakları içeren besin bakımından zengin ortamların, bu vejetatif propagülleri (blastosporlar, hifal cisimler, miselyum ve mikrosklerotiya) daha büyük miktarlarda üretme ihtimali daha yüksektir. *B. bassiana* ve *I. fumosorosea*’nın blastosporları, yüksek konsantrasyonlarda blastosporlar elde etmek için yüksek konsantrasyonlarda glikoza, yüksek havalandırma oranlarına ve uygun bir nitrojen kaynağına sıvı kültürlerde elde edilmiştir.

1.4. Entomopatojen Fungus Formülasyonlarının Sınıflandırılması

Entomopatojen fungus ihtiva eden ticari ürünler, formülasyon şekillerine, fiziksel yapılarına, etkiledikleri zararlı grubu ve biyolojik dönemine, içerdikleri aktif madde cins ve grubuna göre sınıflandırılabilirler.

Formülasyon, etmen ile uyumlu olmalı, onun performansını arttırmalı ve ideal olarak normal tarımsal uygulamalarla birlikte yapılabilirdir. İlave olarak, formülasyon güvenli, kullanımı kolay ve uygulama, depolama ve dağıtım sırasında etmenin canlılığını muhafaza etmelidir (Boland ve Bolis 1998). Kitle üretimini takiben, granüler ve sprey (sulu ve yağlı) gibi farklı türlerde formülasyonlar kullanılabilir (Leland, 2001).

Sıvı kültür ortamında geliştirilen funguslar üretimin ikinci basamağını oluşturan katı kültüre inokulant olarak kullanılır. Sıvı kültürün temel amacı hızlı miselyal büyümeyi teşvik etmektir. Kitle üretiminde sıvı kültür kullanımının avantajları aşağıda özetlenmiştir (Anonymous, 2003). Katı kültüre inoküle edilen başlangıç kültürü yoğun bir şekilde sağlandığı için, oluşması muhtemel mikroorganizma kontaminasyonlarının önüne geçilebilir. Sıvı kültürden gelen ve aktif olarak büyüme gösteren miselyal kitle sayesinde, katı kültürdeki kolonizasyon ve konidiya oluşumu daha hızlıdır ve bu nedenle yöntem ekonomiktir.

Eğer alt kültürlerden gelen kontaminasyon varsa katı kültüre inoküle edilmeden fark edilerek olası kontaminasyonun önüne geçilebilir. İkinci aşama için gerekli olan inokulum materyalinin sıvı oluşu, katı substratın tamamen kaplanmasına ve kolonizasyon için yeterli miktarda homojenliğin sağlanmasına imkan verdiği için avantajlıdır. Bunların yanı sıra sıvı kültür, karbon kaynağı olarak çeşitli şekerlerin ve azot kaynağı olarak bira endüstrisinden gelen atık mayanın kullanımına imkân verdiği için etkili ve ucuz bir yöntemdir. Katı kültür fungusun havai konidilerinin oluşumu için hem besin hem de fiziksel bir destek sağlar.

Sıvı kültürde genelde havai konidiya oluşumu gerçekleşmez. Konidiya oluşumu için doğrudan hava ile temasa ihtiyaç vardır. Bu nedenle katı substratlar maksimum düzeyde hava temasını sağlamalı ve bol konidiya oluşumuna imkân vermelidir. Genelde katı substrat olarak pirinç, mısır, buğday unu gibi hem taşıyıcı hem de besin desteği sağlayan ürünler kullanılır. Özellikle kırık pirinç gerekli yüzey alanını sağlaması ve inkübasyon süresinin sonunda hasat etme işleminin kolay olması nedeniyle kullanıma uygundur (Charnley ve Collins 2007).

Sprey şeklinde formülasyonlar ise granüler formülasyonlara göre daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Güneş radyasyonundan mikrobiyal pestisitleri korumak için sıvı formülasyonlar dört ana yaklaşım çerçevesinde kullanılmaktadır: (1) Yağ taşıyıcıları ile yağda çözünebilen maddelerin kullanılması, (2) Yağ-su karışımı emülsiyonların kullanılması, (3) Su taşıyıcıları ile engelleyicilerin veya askıda kalan emicilerin veya suda çözünenlerin kullanılması ve (4) Su taşıyıcıları ile kapsüller içerisinde kullanılması (Leland,

2001). Son zamanlarda, LUBILOSA programı ile yağ temelli formülasyonlar başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Lomer vd., 2001)

1.5. Ticari Olarak Kullanılan Preparatlar

Entomopatojen fungusların izolasyonunun yanında diğer önemli bir adım zararlı böceklerle karşı uygun formülasyonların kullanılmasının belirlenmesidir. Dünya çapında önemli sayıda mikoinsektisit ve mikoakarisit 1960'lı yıllardan bu yana geliştirildi. *Beauveria bassiana* (%33,9), *Metarhizium anisopliae* (%33,9), *Isaria fumosorosea* (%5,8) ve *B. brongniartii* (%4,1) bazlı ürünler 171 ürün arasında en yaygın olanıdır ve bunlardan bazı ticari formülasyonlar Tablo 3.'de verilmiştir (Faria ve Wraight, 2007).

Tablo 3. Yaygın olarak kullanılan bazı ticari formülasyonlar

Fungus	Ülke	Ürün	Hedef zararlıları
<i>B. bassiana</i>	Çek Cumhuriyeti	Boverol	Coleoptera (Chrysomelidae)
	Çek Cumhuriyeti	Boverosil	Coleoptera (Chrysomelidae) ve depo zararlıları
	Fransa	Ostrinil	Lepidoptera (Crambidae)
	Hawaii	BotaniGard	Coleoptera
		Mycotrol	Coleoptera (Curculionidae,
	İspanya	Trichobass	Scarabaeidae), Lepidoptera (Castniidae, Pieridae), Hemiptera (Aleyrodidae), Thysanoptera (Thripidae) + Acari (Tetranychidae)
	Güney Afrika	Bb Plus	Hemiptera (Aphididae) + Acari (Tetranychidae)
	Hindistan	BioGuard	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae), Lepidoptera (Crambidae)
	Hindistan	Rich Bio-Power	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera: Auchenorrhyncha (Cicadellidae, Delphacidae), Lepidoptera (Plutellidae)
	Hindistan	Racer	Lepidoptera (Noctuidae)
Rusya	Boverin	Hemiptera (Aleyrodidae),	

Tablo 3'ün devamı

	Meksika	Bea-Sin	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Aleyrodidae)
	Meksika ABD	Bio-Fung Balence	Orthoptera Diptera (Muscidae)
	ABD, Meksika, Danimarka, İtalya, İspanya, İsveç, Japonya	BotaniGard 22 WP	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Miridae, Cicadellidae, Fulgoridae, Aleyrodidae, Aphididae, Pseudococcidae, Psyllidae), Thysanoptera (Thripidae)
	ABD, Danimarka, İsveç	Mycotrol ES	Coleoptera (Chrysomelidae, Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Miridae, Cicadellidae, Fulgoridae, Aleyrodidae, Aphididae, Pseudococcidae, Psyllidae), Lepidoptera (Crambidae), Orthoptera (Acrididae, Tettigoniidae), Thysanoptera (Thripidae)
	ABD, Yunanistan, İspanya, İsviçre	Naturalis L	Coleoptera, Diptera Lepidoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Orthoptera, Thysanoptera
	ABD	Organigard	Lepidoptera, Hemiptera, Orthoptera, Thysanoptera
	Kosta Rika, Panama	Beauvedieca	Coleoptera (Curculionidae)
	Kosta Rika	Nativo 2 SC	Coleoptera (Curculionidae)
	Mısır	Bio-flay	Hemiptera
		Biosect	
	Brezilya	Boverial	Isoptera (Rhinotermitidae, Termitidae)
	Kolembiya	Ago Biocontrol	Coleoptera, Diptera, Hemiptera,
		Bassiana 50	Lepidoptera
	Kolembiya, Dominik Cumhuriyeti	Bauveril	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Lepidoptera (Castniidae)
	Kolombiya	Conidia	Coleoptera (Curculionidae)
<i>B.brongniartii</i>	Avusturya, İtalya	MelocontPilz erste	Coleoptera (Scarabaeidae)
	İsviçre	Beauveria brongniartii	Coleoptera (Scarabaeidae)
		Myzel	
	Reunion Adası	Betel	Coleoptera (Scarabaeidae)
	Japonya	Biolisa	Coleoptera (Cerambycidae)
		Kamikiri	

Tablo 3'ün devamı

<i>H.thompsonii</i>	Hindistan	MeteHit	Acari
	Hindistan	MycoHit	Acari (Eriophyidae)
	ABD	Mycar	Acari (Eriophyidae)
<i>I. fumosorosea</i> (<i>P.fumosoroseus</i>)	Avrupa	PreFeRa	Hemiptera (Aleyrodidae)
	Hindistan	Priority	Acari (Eriophyidae, Tetranychidae)
	Meksika	Pae-Sin	Hemiptera (Aleyrodidae)
	Meksika	<i>P.</i> <i>fumosoroseus</i>	Hemiptera (Aleyrodidae)
	ABD, Meksika	PFR-97 20 % WDG	Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae), Thysanoptera (Thripidae) + Acari (Tetranychidae)
	Kolombiya	Ago Biocontrol Paecilomyces 50	Coleoptera + Nematoda
	Venazuela	Bemisin	Hemiptera (Aleyrodidae)
	Hindistan	PaciHit Rich	Hemiptera (Aleyrodidae), Thysanoptera (Thripidae) + Nematoda
	Hindistan	Bio-Catch	Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae, Pseudococcidae)
	Hindistan	Biovert Rich	“Insects” + Nematoda
<i>M. anisopliae</i>	Kolombiya	Ago Biocontrol Verticillium50	Hemiptera, Diptera
	İskandinav Yarımadası	MicroGermin	Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae)
	Almanya, İsviçre	BIO 1020	Coleoptera (Curculionidae)
	İsviçre	Metarhizium Andermatt Granules Biologicalz Insecticide	Coleoptera (Scarabaeidae)
	Meksika	Fitosan-M	Coleoptera (Scarabaeidae), Orthoptera
	Meksika	Meta-Sin	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Cercopidae), Orthoptera
	ABD, Meksika	Bio-Blast	Isoptera (Kalotermitidae, Rhinotermitidae),(Termopsidae)
		Biological Termiticide	
	ABD	Bio-Path	Blattodea (Blattellidae, Blattidae)

Tablo 3'ün devamı

		Cockroach Control Chamber Met 52	Thysanoptera Hemiptera(Aleyrodidae)
ABD			
Guatemala		Salivase	Hemiptera (Cercopidae)
Brazilya		Biocontrol	Hemiptera (Cercopidae)
Brazilya, Panama		Biotech	Hemiptera (Cercopidae)
Brezilya		Metaquino	Hemiptera (Cercopidae)
Kolombiya		Ago Biocontrol Materhizium 50	Coleoptera, Hemiptera, Lepidoptera, Orthoptera
Venezüella		Cobican	Coleoptera (Scarabaeidae), Hemiptera (Cercopidae, Aphididae)
<i>Nomuraea rileyi</i>	Kolombiya	Ago Biocontrol Nomuraea 50	Lepidoptera

EPF'lerin zararlıların biyolojik mücadelesi için yapılan ilk girişim, 1888'de Rusya'da, şimdi *Metarhizium anisopliae* Metschn. olarak bilinen *Cleonus punctiventris* Germar üzerinde tarlalara püskürtülmesiyle gerçekleştirildi (Lord, 2005). Son zamanlarda ABD'deki sera ve sebze yetiştiricileri için *M. anisopliae*'den yeni bir mikoinsektisit geliştirilmiştir (Thomas Ford 2013). Eski SSCB'deki Colorado patates böceğinin mücadelesi için kullanılan *Beauveria bassiana*'dan üretilen mikoinsektisit olan Boverin, 1965'te geliştirildi (Kendrick, 2000). Türkiye'de zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılan entomopatojen fungus preparatları yurtdışı menşeli ürünlerdir ve yerel olarak elde edilen hiçbir fungus izolatu ruhsatlandırılıp ticarileştirilmemiştir. Bu konuda yasal bazı engellerin olmasının yanında entomopatojen fungusların etkinliği ve mikrobiyal insektisit olarak potansiyelinin araştırılmasına yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır.

1.6. *Myzus persicae* (Sulzer) (Yeşil Şeftali Yaprakbiti, Hemiptera: Aphididae)

Asya orjinli olduğu düşünülen ve kozmopolit bir yayılım gösteren, ülkemizde ilk kaydı 1938 yılında Ankara'da Spinaciaoleraceae üzerinden yapılmış olan *Myzus persicae*, sebze

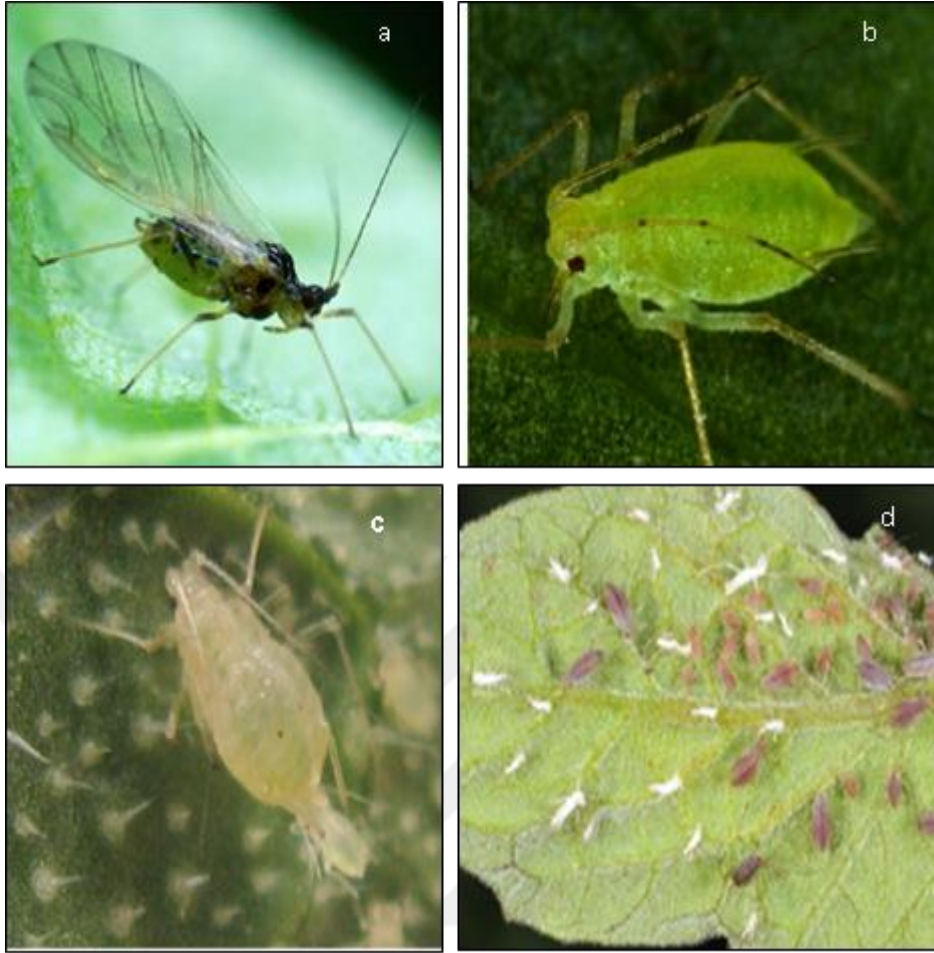
mahsullerinin önemli bir zararlısıdır (Bodenheimer ve Swirski, 1957; Blackman ve Eastop, 2000; Peccoud vd., 2010).

Yaklaşık 4000 türü bulunan, afit türlerinden biri olan ve yeşil şeftali yaprakbiti olarak da bilinen *Myzus persicae* tüm dünyada ve ülkemizde sebze, tütün, meyve ve süs bitkilerinde önemli ürün kaybına neden olan bir zararlıdır.

Polifag oluşu ile birçok virüsün de etkili bir vektörüdür ve 100'den fazla virüsü kalıcı veya kalıcı olmayan yollarla taşıyabilmektedir (Kennedy vd., 1962). Bu özelliği ile en tehlikeli yaprakbiti türlerinden biridir. Primer konukçu olarak seçtiği *Prunus persicae* ve diğer *Prunus* türleri ile sayısız sekonder konukçusu üzerinde heteroecious holosiklik yaşam göstermektedir. Yaprakbitlerinin biyolojisinin, populasyon değişiminin dolayısıyla zararının, beslendikleri bitkinin çeşidine göre farklılık gösterebildiği bilinmektedir (Karsavuran ve Öncüler, 1992a, b; Karsavuran ve Öncüler, 1993; Goundoudaki vd., 2003).

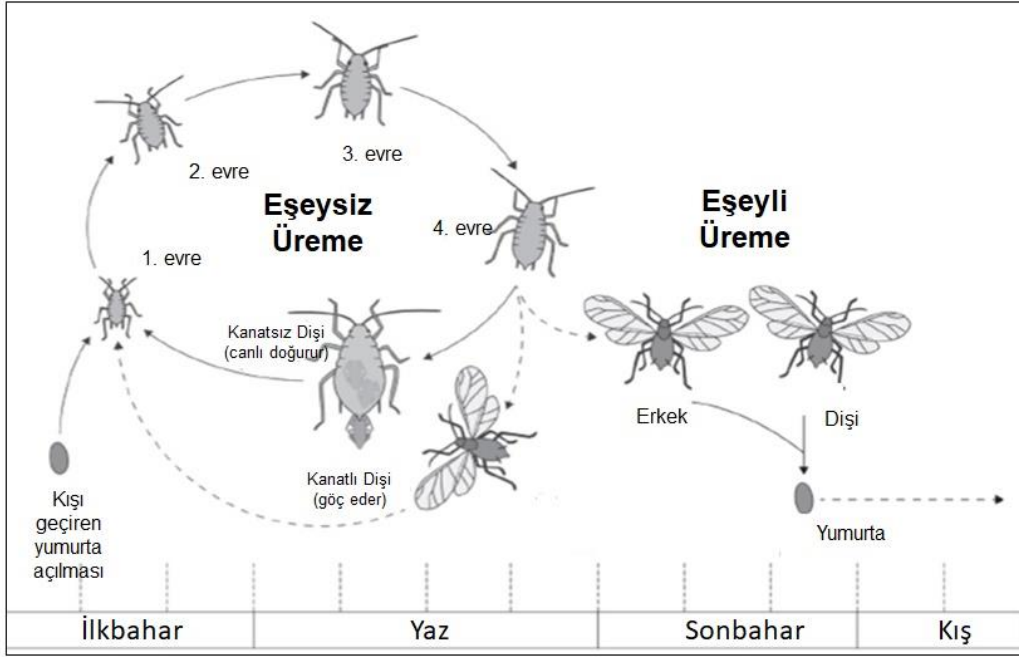
1.6.1. *Myzus persicae*' nın Morfolojisi ve Yaşam Döngüsü

Küçük yapılı (1-10 mm), yumuşak gövdeli, bitki emici böceklerdir. Erginleri 1.8-2.3 mm büyüklüğünde soluk, mat, zeytin yeşili veya sarımsı yeşil renktedir. Nimfleri ise pembemsi, kırmızımsı veya sarımsı yeşil renklindedir. Kanatlı ve kanatsız formları vardır. Kanatlı formları genellikle kanatsız formlardan daha büyük olmaktadır ve abdomenin ortasında siyah nokta bulunmaktadır (Blackman ve Eastop, 2000). Kanatlı yaprak bitleri 'alatae' ve kanatsız yaprak bitleri ise 'apterae' olarak adlandırılmaktadır. Bu böcekler bitki özsuğunu sokup emerek zarar yapar ve beslenmeleri sırasında tatlı-yapışkan bir madde salgırlar. Bu salgıya saprofit mantarların yapışması sonucu fumajine neden olurlar. (Dixon, 1998) (Şekil 3).



Şekil 3. *Myzus persicae*'nin morfolojik evlereleri. a) Ergin kanatlı dişi, b) nimf, c) Canlı doğmuş nimf, d) Genç nimfler ve gelişim dönemlerinde bırakılan nimf gömlekleri.

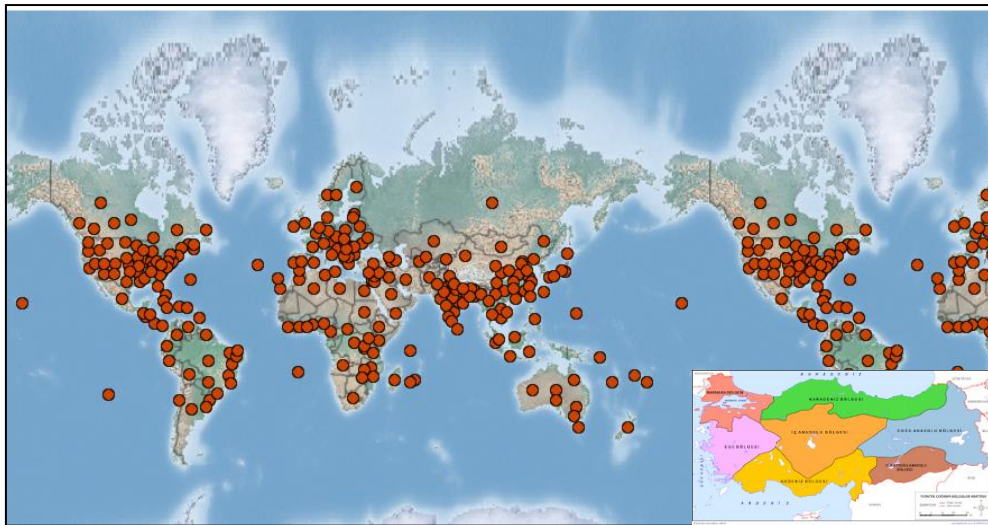
M. persicae'nin yaşam döngüsü, kış mevsiminin soğuk geçmesine göre önemli ölçüde değişmektedir (Van Emden vd., 1969). Çünkü sonbaharda meydana gelen dişiler, yumurtalarını tomurcuk dibine veya çevresine bırakarak kışı geçirirler ve ilkbaharda açılır. Yumurtaların soğuktan zarar görmeleri ile çıkan birey sayısı değişime uğramaktadır. Yeni çıkan bireyler, tomurcukların üzerinde veya çiçeklerin içerisinde beslenirler ve canlı doğurarak çoğalırlar. Daha sonra yapraklara taşınarak, koloniler oluştururlar. Kanatlı bireyler nisan mayıs aylarında çıkarlar. Zararlı popülasyonu mayısta en yüksek düzeye ulaşır. Bundan sonra temmuz ayına kadar yazlık konukçularına geçerler. Sonbaharda, kışlık konukçusu olan şeftali ağaçlarına tekrar geri dönerler. Burada, meydana gelen kanatlı dişiler ve erkek bireyler çiftleşir ve yaşam döngüsü devam eder (Şekil 4) (Capinera, 2001).



Şekil 4. *Myzus persicae*'nin yaşam döngüsü

1.6.2. *Myzus persicae*'nin Coğrafik Yayılışı

M. persicae Asya, Afrika, Kuzey Amerika ve Avrupa kıtalarında olduğu bildirilmiştir. Bu türe yurdumuzun hemen her bölgesinde az ya da çok rastlanır (Şekil 5) (EPPO, 2019).



Şekil 5. *Myzus persicae*'nin coğrafi yayılışı

1.6.3. *Myzus persicae*'nin Konukçuları

Geniş bir yayılıma sahip *M. persicae*, yurdumuzda da çok çeşitli bitkiler üzerinde zararlı olmaktadır. Uygun koşullarda yılın her ayında çoğalmaya devam edebilmektedir (Lodos, 1986). *M. persicae*'nin 34 familyaya bağlı 80'den fazla bitki türünde bulunduğu kayıtlıdır. Çanakçıoğlu (1975), bu türün dünyada konukçusu olduğu 189, Türkiye'de ise 54 bitkinin adını vermektedir. *M. persicae*'nin konukçuları kış, yaz ve esas ara konukçular gibi gruplara ayrılarak incelenmektedir (Anonymous, 2007). Kışlık konukçuları şeftali, badem, erik, kayısı kiraz gibi sert çekirdekli meyve ağaçlarıdır. Yazlık konukçuları ise tütün, şekerpancarı, şerbetçi otu, biber, lahana, ıspanak, karnabahar, patates, domates, pazı, şalgam, turp, patlıcan, fasulye, turunçgiller, Poaceae türleri, çoban çantası, eşek kengeri, saka diken, labada, adi eşek marulu, marul, kanarya otu, düğün çiçeği ve bazı süs bitkileri gibi çok sayıda yabancı ot ve kültür bitkisidir (Anonymous, 2007; Uygun vd., 2013).

1.6.4. *Myzus persicae*'nin Zararı

M. persicae, gelişme sürecinde konukçusu olduğu tüm bitkilerin özsuynunu emerek zarar yapar. Gerek nimf gerekse ergin dönemde, yaprakta beslenmesi nedeniyle zararlının ekonomik önemi daha da artmaktadır. Genellikle uca yakın genç yapraklar üzerinde bulunmaktadır. Ergin ve nimfler bitkilerin yapraklarının alt yüzlerine damarlar boyunca ve özellikle yaprak sapına yakın yerlere yerleşirler ve yoğun koloniler oluştururlar. Fazla zarar gören yaprakların gelişmesi yavaşlar ve uçları aşağı doğru kıvrılır. Bitkinin özsuynunu emerek yaptıkları zarar yanında, beslenmeleri sırasında çıkardıkları tatlımsı maddeler üzerinde saprofit fungusların gelişmesi nedeniyle, fumajine neden olurlar. Bu arada bitkinin fotosentez ve solunumu güçleşir. Yaprakta erken olgunlaşma ve küflenme görülür. Bu arada gelişmesi sırasında değiştirmiş oldukları ve kirli beyaz renkli olan gömlek kalıntıları ile salgılamış oldukları tatlımsı maddeler de yaprakları kirletmektedir (Şekil 6).



Şekil 6. *Myzus persicae*'nin farklı konaklardaki zararı

Ayrıca, bitkilerde hastalık oluşturan çoğu virüsün yaprakbitleri ile taşındığı bilinmektedir. Bu bakımdan en tehlikeli yaprakbiti türlerinden biridir. Primer konukçu olarak seçtiği *Prunus persicae* ve diğer *Prunus* türleri ile sayısız sekonder konukçusu üzerinde heteroecious holosiklik yaşam göstermektedir (Van Emden ve Harrington, 2007). Yurdumuzda da özellikle Tobacco mosaic virus (TMV), Cucumber mosaic virus (CMV) ve Potato virus Y (PVY) virüslerini taşımaktadır. Bu nedenle kültür bitkilerinin birinden diğerine çok değişik tipte virüs hastalıklarını taşımak ve yaymak suretiyle önemli zararlara yol açabilmektedir.

1.6.5. *Myzus persicae*'nin Pestisitlere Direnç Geliştirmesi

Yaygın olarak kullanılan pestisitlerin insan sağlığına ve çevreye verdiği zararların yanında, fazla miktarda ve sıklıkta kullanılması sonucu zararlılarda dayanıklılık sorununun ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Delen vd., 2005). IRAC (İnsektisit Direnç Komitesi), insektisit direncini “bir zararlıya karşı etiket ve prospektüs yönergeleri doğrultusunda

kullanılan bitki koruma ürününün, uygulama sonrasında ortaya çıkan ve tekrar eden başarısızlık durumu ve bu yolla zararlı popülasyonu hassasiyeti üzerindeki nesilden nesile aktarılan değişim” olarak tanımlamaktadır. EPPO (Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Organizasyonu) ise “tarla koşullarında doğal olarak ortaya çıkan, normal koşullarda etkili olan bitki koruma ürünü uygulamasında, hedef popülasyon içindeki bireylerin yaşamlarını sürdürme yeteneklerindeki kalıtsal değişim” şeklinde direnci açıklamaktadır. Araştırmacılar tarafından en çok kabul gören insektisit direnç tanımı ise WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından 1957 yılında “bir türün normal bir popülasyonundaki bireylerin çoğunu öldürdüğü kanıtlanan bir böcek ilacı dozunu, aynı böceğin diğer bir popülasyonunun tolere etme yeteneğinin gelişmesi” olarak açıklanmıştır.

Myzus persicae zararlısı için ilk direnç raporu 1955 yılında bildirilmiştir (Anthon, 1955). Sonrasında organofosfatlar, karbamatlar, piretroidler, siklodienler ve neonikotinoidler içeren diğer pestisitlere de direnç geliştirdi ve bu kadar geniş yelpazede direnç geliştirmesi *M. persicae*'yi dünya çapında en yaygın ve kuvvetli dirençli türlerden biri yapar (www.pesticideresistance.com, Arthropod Pesticide Resistance Database, Michigan State University) (Tablo 4).

Birçok ülkede tarım alanlarında ana zararlılara karşı farklı etki mekanizmalarına sahip insektisitlerin yoğun kullanımları görülmektedir. Özellikle seralarda partenogenetik olarak çoğalan *M. persicae*'de bu yoğun baskı ve seleksiyon sonucunda birçok direnç mekanizmasının geliştiği gözlenmiştir. İnsektisite karşı görülen bu duyarsızlığın ortadan kaldırılması için genellikle daha sık ve yüksek dozlarda ilaçlama yoluna gidilmektedir. Fakat bu durum maliyeti arttırmakla birlikte sürekli tüketilen sebzelerde Maksimum Kalıntı Limitleri (MRL) üzerinde kalıntı oluşmasına neden olmaktadır. Bu durum ilk olarak insan sağlığını tehdit eden bir unsur olarak karşımıza çıkmaktadır. Sonrasında kalıntı nedeniyle ürünün ihracatının zorlaşması, çevre kirliliği ve parazitoid, predatörlerin etkilenmesi gibi pek çok sorun da ortaya çıkmaktadır.

Tablo 4. Dünyada rapor edilen ve en yüksek direnç gösteren 12 böcek türü

Tür	Yaygın Kullanılan İsim	Takım	Bileşik sayısı	Direnç (Rapor Edilen)
<i>Tetranychus urticae</i>	İki noktalı kırmızı örümcek	Acari	93	414
<i>Plutella xylostella</i>	Lahana yaprak güvesi	Lepidoptera	91	576
<i>Myzus persicae</i>	Yeşil Şeftali Yaprak biti	Hemiptera	75	402
<i>Musca domestica</i>	Karasinek	Diptera	58	303
<i>Bemisia tabaci</i>	Tütün Beyazsineği	Hemiptera	54	555
<i>L. decemlineata</i>	Patates Böceği	Coleoptera	54	279
<i>Aphis gossypii</i>	Pamuk Yaprakbiti	Hemiptera	48	231
<i>Panonychus ulmi</i>	Avrupa kırmızı örümceği	Acari	48	197
<i>H. armigera</i>	Yeşil kurt	Lepidoptera	47	692
<i>B. microplus</i>	Güney sığır kenesi	Ixodida	44	167
<i>Blattella germanica</i>	Alman hamam böceği	Blattodea	43	219
<i>Spodoptera litura</i>	Çizgili Yaprakkurdu	Lepidoptera	38	457

1.6.6. *Myzus persicae* ile Mücadele

Yurdumuzda ve dünyada *M. persicae* ile ilgili yapılmış birçok çalışmaya rastlanmıştır. Aphididae türleri üzerinde taksonomik araştırmalar (Özdemir, 2004), bazı kimyasal maddelerin *M. persicae*'ya etkileri (Türkuçar ve Toros, 1991; Keykubat ve Durmuşoğlu, 2005), *M. persicae* popülasyonlarının bazı insektisitlere karşı dayanıklılığı üzerine araştırmalar (Velioglu ve Toros, 2002), bazı tütün çeşitlerinde *M. persicae*'nin adaptasyonu (Goundoudaki vd., 2003; Kaydan vd., 2006; Güneyi ve Karsavuran, 2011), *M. persicae*'nin tütünde neden olduğu ürün kayıplarının belirlenmesi ile ilgili araştırmalar (Karaat vd., 1985), *M. persicae*'nin kışlama durumu, kış konukçuları ve popülasyon değişimleri üzerine araştırmalar (Göksu ve Atak, 1976), tütün dikim alanlarında *M. persicae*'nin kimyasal kontrolü ile ilgili çalışmalar (Deligeorgidis vd., 2007), tütün bitkilerinde *M. persicae*'nin popülasyon dinamiğinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar (Yang vd., 2009) ve zararlının insektisitlere karşı gösterdiği direnç mekanizmalarının incelendiği araştırmalar dikkat çekenler arasındadır (Velioglu ve Toros, 2006).

Farklı yıllarda domates, tütün gibi çeşitli bitkilerde ve şeftali ağaçlarında zararlının popülasyon yoğunluğunu düşürmek ve zararını önlemek için *M. persicae*'ya karşı ilaçlama denemeleri yürütüldüğü görülmüştür. Yapılan çalışmalarda çeşitli etkili maddelere sahip

pestisitlerin biyolojik aktivitelerini *M. persicae* üzerinde ortaya koymaya çalışmışlardır. Denemelerden elde edilen verilere göre pestisitlerin yaprakbiti mücadelesinde kullanılıp kullanılmayacağı konusunda bir sonuca varılmaya çalışılmıştır (Deligeorgidis vd., 2007). Zararlı ile yapılan çalışmalar arasında kültürel mücadele yöntemleri de kullanılmıştır. Bahçe içerisindeki yabancı bitkilerin imha edilmesi, toprağın özenli işlenmesi ve özellikle ana ürünün korunması için bu zararlıya hassas bitkilerin bahçe çevresinde yetiştirilmemesi gibi önlemler alınmaktadır (TOB,2018).

Dünyada ve ülkemizde *M. persicae* yaprakbitinin doğal dengesini sağlayan ve aynı zamanda biyolojik mücadelesinde kullanılan predatörleri (özellikle Coccinellid'ler, Anthocorid'ler, Chrysopid'ler ve Syrphid'ler) ve parazitoitleri (*Aphidius* türleri) bulunmaktadır. Özellikler bu faydalıları zararlının görüldüğü bahçelere doğal olarak bulaştırma ile biyolojik mücadelesinde kullanılmak üzere ve ticari olarak dünyada bu türlerin üretimi yapılmakta ve birçok zararlı afit türlerinin mücadelesinde kullanılmaktadır (Tablo 5). Ancak bu üretimlerin yapılması ve satın alınması biyolojik mücadele yönünden masraflı olmaktadır.

İçerisinde *M. persicae*'nin da bulunduğu bu zararlı afitler için fungal patojen içeren ürünler de dünyada ve ülkemizde kullanılmaktadır (Tablo 5). *M. persicae* ile bu bağlamda birçok fungal izolatin etkisi laboratuvar ortamında, saksı ve alan uygulamalarında çalışılmıştır. Fakat zararlının zarar seviyesi henüz zarar eşiğinin altına düşürülemediği. Bu zamana kadar yapılan çalışmalar *Lecanicillium spp.*, *B. bassiana*, *M. anisopliae* ve *I. fumosorosea* türlerin yaprak biti türlerine karşı aktif olduklarını göstermiştir (Faria ve Wraight, 2007; Khan vd., 2012a).

Yaprak bitlerine karşı çoğu ticari mikoinsektisit, aseksüel formların kolayca in vitro olarak üretilmesi ve sporların formüle edilerek kolayca püskürtülebilmesinden dolayı Hypocreales takımına ait suşlardan üretilmiştir; (Chapple vd., 2000; Hesketh vd., 2008). Bu nedenle, bu türler küçük ölçekli, klasik girişlerde, aşılama büyütmeye (çoğunlukla in vivo olarak üretilen materyal kullanılarak) ve daha yakın zamanda koruma biyo-kontrolünde daha başarılı olmuştur (Shah ve Pell, 2003; Ekesi vd., 2005).

Yaprak bitlerine karşı en yaygın kullanılan ticari ürünler *Lecanicillium spp.* (Vertalec® ve Mycotal®, Koppert Biological Systems, Hollanda), *B. bassiana* (BotaniGard® ve Mycotrol®, Emerald Bio agriculture, ABD; Naturalis®, TroyBio Sciences, ABD), *M. anisopliae* (MET52®)(Novozymes, ABD), *I. fumosorosea* (Preferal®, SePro, ABD) ve *Isaria javanica* (PFR-97®, Certis, ABD; Nofly®, Novozymes, ABD) etiketli *I. fumosorosea* olarak

bilinmektedir. Khan vd. (2012a), *B. bassiana* ve *Beauveria brongniartii*) suşlarının ve formülasyonlarının faydalı ve hedef dışı organizmalar üzerindeki yan etkilerini gözden geçirmiştir. *Lecanicillium longisporum*, *M. persicae* de dahil olmak üzere birçok yaprak biti türüne karşı iyi bir etkinlik göstermiştir (Milner, 1997; Roditakis vd., 2008) ve ilk olarak Vertalec® adlı bir mikoinsektisit olarak geliştirilmiştir. Vertalec® (*L. longisporum*), blastosporlar olarak sıvı fermantasyon yoluyla 10⁹ blastospor / g içeren ıslanabilir bir toz halinde bir besin kaynağı ile formüle edildi (Milner, 1997). Avrupa'da, Vertalec® enfeksiyon için, özellikle de nemin en iyi koşullarının sağlanabildiği seralarda kullanılmakta ve yapılan bir çalışmada yeşil biber seralarında, düşük dozda imidaklopridle birlikte uygulanması sonucu *M. persicae*'ye karşı etkili olarak etkinliğinin de arttığı bildirilmiştir (Roditakis vd., 2008). Bununla birlikte, seralarda dahili sıcaklık ve nem, sıklıkla Vertalec® izolatlarının aktivite aralığının dışında kalmaktadır (Hall ve Papierok, 1982; Yeo vd., 2003). Son zamanlarda *Lecanicillium* cinsine ait izolatların farklı türleri tanımlanmış ve bu suşların aphisidal ve diğer biyosidal özellikleri belirlenmiştir (Goettel vd., 2008). Ticari ürünlerden Mycotal®'ın (*Lecanicillium muscarium*) afit parazitoiti olan *A. colemani*'nin üzerinde etkisi olduğu ancak predatörlerden *H. axyridis* üzerinde etkisi olmadığı bulundu (Aqueel ve Leather, 2013). Aksine, Aiuchi vd. (2012) Vertalec® ve Mycotal® ürünlerinin *A. colemani* kullanımını için uygun olduğunu ve yan etkisi olmadığını bildirdi. *B. bassiana*'dan üretilen ticari formülasyonların hem laboratuvar ortamında üretilen hem de ticari ürün olarak satılan ürünlerinin afitlerin kontrolünde kullanıldığı ve çeşitli yaprak biti türlerine karşı sera ortamlarında etkili olduğu bilinmektedir (Jandricic vd., 2014; Maketon vd., 2013). *Metarhizium spp.*'in potansiyeli, özellikle Orta ve Güney Amerika'da sayısız zararlı böcek üzerinde ticari veya deneysel ürünlerin imalatı ile geniş bir şekilde araştırılmıştır (Faria ve Wraight, 2007). Bununla birlikte, yaprak biti kontrolü için kullanımlarının az sayıdaki raporlarından biri (Faria ve Wraight, 2007), başlangıçta Lepidoptera'ya karşı önerilen MET52® (Jandricic vd., 2014) ile ilgilidir.

Tablo 5. Yaprak biti ile mücadelede kullanılan biyolojik ticari preparatlar. (Wei vd., 2003; Copping, 2004; van Lenteren, 2012a, b; Yano, 2010; Boivin vd., 2012; Reddy, 2016; www.biobest.be/; www.koppert.com/; www.viridaxis.com /; http://biolineapp.com/; www.appliedbionomics.com/.)

Ürün tipi	Tür	Sayı	Tedarikçi Ülkeler
Parazitoid	<i>Aphidius colemani</i>	13	Birleşik Krallık, ABD, Belçika, Kanada, Almanya, Hollanda, Tayland
Parazitoid	<i>Aphidius ervi</i>	7	Birleşik Krallık, ABD, Belçika, Almanya, Hollanda
Parazitoid	<i>Aphidius matricariae</i>	4	ABD, Kanada
Parazitoid	<i>Aphidius gifuensis</i>	1	Çin
Parazitoid	<i>Ephedrus cerasicola</i>	1	Belçika
Parazitoid	<i>Diaeretiella rapae</i>	2	ABD
Parazitoid	<i>Diaeretiella rapae</i>	2	ABD, İtalya
Parazitoid	<i>Praon volucre</i>	1	Belçika
Parazitoid	<i>Aphelinus abdominalis</i>	9	Birleşik Krallık, ABD, Belçika, Almanya, Hollanda
Parazitoid	<i>Aphelinus asychis</i>	?	Asya
Parazitoid	<i>Aphelinus mali</i>	1	ABD
Predatör	<i>Aphidoletes aphidimyza</i>	18	Birleşik Krallık, ABD, Belçika,
Uğurböceği	<i>Adaliabi punctata</i>	2	Birleşik Krallık, Belçika
Uğurböceği	<i>Coleomegilla maculata</i>	3	ABD, Hollanda
Uğurböceği	<i>Harmonia axyridis</i>	5	Birleşik Krallık, ABD, Belçika, Kanada, Finlandiya
Uğurböceği	<i>Hippodamiaconvergens</i>	14	Birleşik Krallık, ABD, Belçika, Almanya, Hollanda
Uğurböceği	<i>Coelophorabi plagiata</i>	1	Çin
Uğurböceği	<i>Propylea japonica</i>	1	Çin
Dantel Kanat	<i>Chrysoperla sinica</i>	1	Çin
Dantel Kanat	<i>Chrysoperla carnea</i>	11	Birleşik Krallık, ABD, Belçika,
Dantel Kanat	<i>Micromus variegatus</i>	1	ABD
Dantel Kanat	<i>Chrysoperlaruf ilabris</i>	6	ABD
Predatör	<i>Anthocoris nemoralis</i>	3	Birleşik Krallık, Belçika, İtalya
Predatör	<i>Deraeocoris brevis</i>	2	Birleşik Krallık, Kanada
Predatör	<i>Geocoris punctipes</i>	3	ABD
Predatör	<i>Orius species</i>	19	İngiltere, ABD, Kanada, Çin, Belçika, Almanya, İtalya, Japonya, Hollanda, Polonya
Fungal patojen	<i>Beauveria bassiana</i>	5	ABD, Kolombiya, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Hindistan İtalya, İsviçre,
Fungal	<i>Isaria fumosorosea</i>	1	ABD
Fungal Patojen	<i>Lecanicillium spp.</i>	9	ABD, Belçika, Hindistan, Meksika, Hollanda

Laboratuvarda, *Lecanicillium spp.*, *B. bassiana*, *M. anisopliae* ve *I. fumosorosea* izolatları tarla bitkilerinde bulunan çeşitli yaprak biti türlerine karşı virülans göstermiştir (Zaki,

1998; Poprawski vd., 1999; Feng vd., 2004; Kim vd., 2007; Saranya vd., 2010). Ancak, açık alanlarda, Mycotrol® ve Mycotrol® O'nun *B. bassiana*'nın GHA izolatını temel aldığı, sadece birkaç ticari ürün önerilmektedir. Tropikal tarla koşullarında mikoinsektisitlerin yaprak bitlerine karşı etkinliği hakkında az yayın vardır. Filho vd. (2011), *M. persicae* üzerindeki *B. bassiana* yağ bazlı süspansiyonları kafes ve tarla koşullarında lahanada üzerinde değerlendirmiştir. Bununla birlikte, *B. bassiana* sporlarının UV radyasyonu ile etkisizleştirildiği bildirilmiştir (Inglis vd., 1995; Fernandes vd., 2007; Huang ve Feng, 2009) ve bu durum güneşli bölgeler için bu tür ürünlerin geliştirilmesinde büyük bir kısıtlama teşkil etmektedir. Yağ formüllü konidial süspansiyonların, güneş ışığına (Alves vd., 1998) ve yağışa (Inglis vd., 2000) daha az duyarlı oldukları ve artropodların hidrofobik kütiküllerinde daha iyi yapışma ve birikme gösterdikleri görülmekte ve sulu formülasyonlara kıyasla etkinliklerde %10-%20 artışa yol açmaktadır (İbrahim vd., 1999). Bununla birlikte, gözlenen hızlı yaprak biti çoğalması, mikoinsektisitlerin yaprak biti kontrolü için tek başına kullanımının hala tatmin edici bir strateji olmadığını ve *B. bassiana*'nın IPM stratejilerinde kullanılması araştırılmasına devam edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Biyolojik mücadelede kullanılacak mikrobiyal mücadele etmenlerinin etkinliğinin yüksek olması, öncelikle uygulama yapılacak ülkenin veya bölgenin doğal koşullarına uyum sağlamış türlerden oluşması gerekmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda, entomopatojen fungusların uygulama yapılacak bölgeden izole edilmiş olması başka ülke veya bölgeden temin edilen diğer entomopatojen fungus türlerine göre daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Beron ve Diaz, 2005).

Bu kadar mücadele edilmesine rağmen bu zararlı etkili bir şekilde tüm dünyada ve ülkemizde zararına devam etmektedir ve herhangi bir biyolojik preparat bu zararlıya karşı ülkemizde üretilmemiştir. Bu yüzden bu zararlı ile mücadelede kullanılmak üzere ticari bir mikoinsektisit üretilmesi zorunluluk haline gelmiştir.

1.7. Çalışmanın Amacı ve Hedefleri

M. persicae bireyleri, yaşam döngülerinin kısa olması, bu kısa döngüde çok sayıda döl vermeleri ve zararlı ile yapılan kimyasal mücadelede direnç kazanması gibi özellikleriyle ekonomik önemi olan bir zararlıdır. *M. persicae* ile ilgili yapılan çalışmalar, daha çok taksonomik araştırmalar, ilaçlama denemeleri, zararlının insektisitlere gösterdiği direnç mekanizmalarının ortaya konması, zararlının meydana getirdiği ürün kayıplarını belirleme

çalışmaları, böceğin bütün çeşitlerine adaptasyonu, böceğin kışlama durumlarının, kış konukçularının, popülasyon değişimlerinin, popülasyon dinamiğinin belirlenmesi ve doğal patojenlerinin araştırılmasıyla ilgilidir. *Myzus persicae*'nin ülkemiz sebze ve meyve alanlarında önemli ekonomik kayıplara neden olması, zararlının popülasyon seviyesinin ekonomik zarar eşiğinin altında tutulması önemli bir konu haline getirir. Bu tez çalışmasının amacı zararlının mücadelesinde kullanılmak üzere yerel entomopatojen funguslardan prototip mikoinsektisit üretilmesidir. Bu amaca ulaşmak için KTÜ Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı fungus kültür koleksiyonundan seçilen ve her biri farklı toprak ve zararlılar üzerinden izole edilen yerel suşların, i. Tarama ve doz denemelerinin yapılması, ii. Abiyotik faktörlerin suşlar üzerindeki etkisinin araştırılması, iii. Kütikülayı degrede eden enzimlerin tespit edilmesi iv. Mikoinsektisit formülasyonun geliştirilmesi ve v. Ürünlerin etkinlik denemeleri hedeflenmektedir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)'nın Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan böcekler, Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü çalışanlarından Dr. Öğr. Üyesi Pervin ERDOĞAN'dan sağlandı. İlk olarak altı numara saksılarda büyütülen biber ve patlıcan fideleri saksılara dikildi. Dikilen fidelerin yapraklama oranı artana ve ortamına uyum sağlayana kadar uygun ortamda muhafaza edildi. *M. persicae* bireyleri plastik saksılar içinde yetiştirilen fidelere aktarılmadan önce saksılar tül kafeslerin içerisine yerleştirildi. Zararlının dış ortama dağılması engellendikten sonra *Myzus persicae* bireyleri kıl fırça yardımı ile fidelerin uç yaprakları üzerine bırakıldı ve iklim odalarında çoğalmaları sağlandı (Şekil 7).



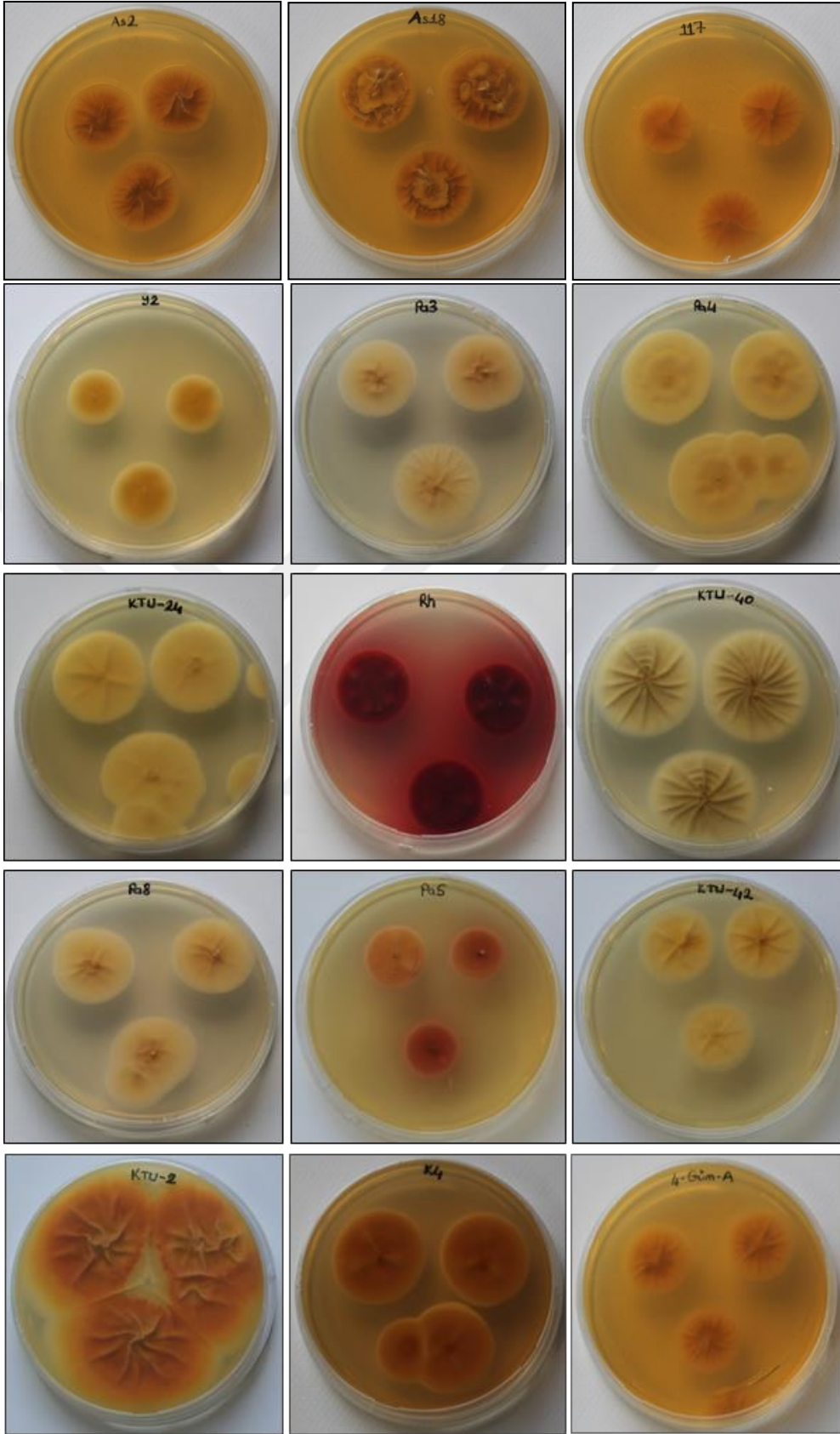
Şekil 7. *Myzus persicae* 'nın laboratuvar ortamında yetiştirilmesi

2.2. Çalışmada Kullanılan Funguslar

Çalışmada kullanılan fungus izolatlar, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan entomopatojen kültür koleksiyonundan temin edildi. İzolatların bazıları Doğu Karadeniz Bölgesinde yaygın olarak bulunan zararlılardan izole edilmiş ve bazıları da aynı bölgeden çeşitli toprak örneklerinde elde edilmiştir. Çalışmada 6 tanesi *Metarhizium*, 5 tanesi *Beauveria*, 2 tanesi *Isaria* ve 2 tanesi *Lecanicillium* cinsine ait olmak üzere 15 fungus kullanıldı (Tablo 6, Şekil 8). Bu cinslere ait fungusların seçilme sebebi bunların ülkemizden izole edilmiş yerel suşlar olması ve izole edildiği zararlılar üzerinde yüksek öldürücü etkiye sahip olmasıdır. Özellikle anamorfik cinsin Ascomycetes türleri olan *Metarhizium*, *Beauveria*, *Isaria* ve *Lecanicillium* üretildiği ve bu zararlı üzerinde kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur (Jandricic vd., 2014).

Tablo 6. Çalışmada kullanılan entomopatojenik fungus suşları

İzolat	Kaynak	Türü	Referans
As-2	<i>Amphimallon solstitialis</i>	<i>M. flavoviride</i>	Basılmamış veri
As-18	<i>Amphimallon solstitialis</i>	<i>M. flavoviride</i>	Basılmamış veri
KTU-2 (Ardeşen)	Toprak	<i>M. brunneum</i>	Sevim vd. 2010b
KTU-21 (117)	Toprak	<i>M. brunneum</i>	Sevim vd. 2010b
KTU-40 (53)	Toprak	<i>M. brunneum</i>	Sevim vd. 2010b
KTU-51 (4GümA)	Toprak	<i>M. brunneum</i>	Sevim vd. 2010b
KTU-42 (68-b)	Toprak	<i>I. fumosorosea</i>	Sevim vd. 2010b
KTU-1 (Y2)	Toprak	<i>I. fumosorosea</i>	Sevim vd. 2010b
KTU-24 (ÇK)	<i>T. pityocampa</i>	<i>B. bassiana</i>	Sevim vd. 2010a
KTU-57 (Rh)	<i>Rhynchites baccus</i>	<i>B. bassiana</i>	Sevim vd. 2010b
K4	<i>Hypera postica</i>	<i>B. bassiana</i>	Yucel vd. 2019
Pa4	<i>Pristiphora abietina</i>	<i>B. bassiana</i>	Basılmamış veri
Pa5	<i>Pristiphora abietina</i>	<i>B. bassiana</i>	Basılmamış veri
Pa3	<i>Pristiphora abietina</i>	<i>L. muscarium</i>	Basılmamış veri
Pa8	<i>Pristiphora abietina</i>	<i>L. muscarium</i>	Basılmamış veri



Şekil 8. Çalışmada kullanılan entomopatojen fungusların PDAY üzerindeki radyal büyüme şekilleri

2.3. Fungal İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

Preparata dönüştürülecek suşun seçimi için 2.2.'de belirtilen entomopatojen izolatlar kullanılarak iklim odalarında yetiştirilen *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) nimfleri üzerinde tarama ve doz testleri yapıldı.

2.3.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

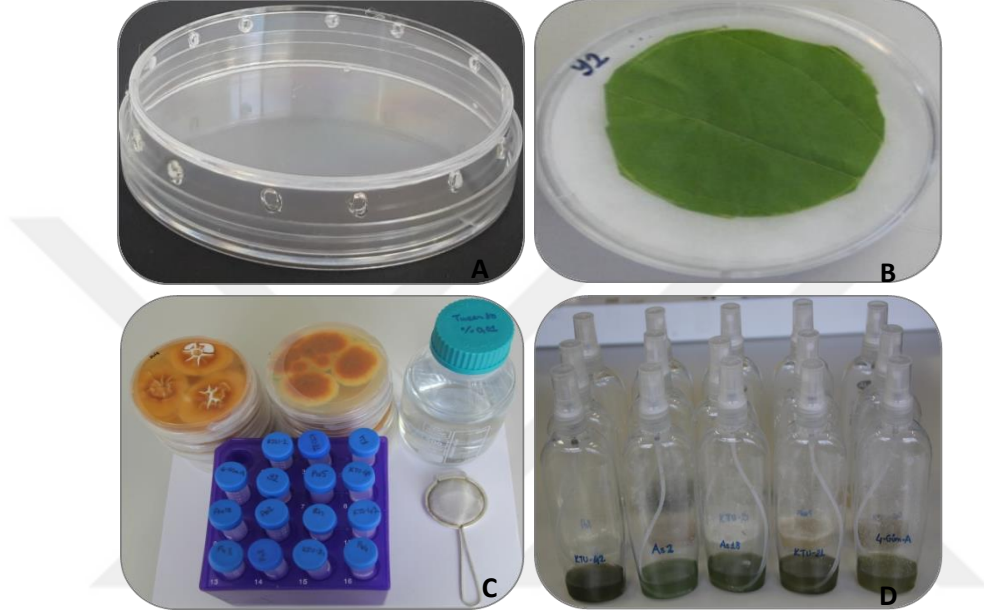
Patojenite testlerinde kullanılacak fungal izolatların 1×10^5 spor/mL'lik stok solüsyonlarından 100 µl PDAY besiyerine yayma ekim yapıldı ve 25 °C'de 2-3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Büyüme sonunda, tek koloniler seçilerek başka bir PDAY besiyerine transfer edildi ve 25 °C'de 4 hafta inkübe edildi. Bu süre sonunda, petri üzerine 10 ml steril % 0,1'lik Tween 80 eklendi funguslar cam baget ile kazındı ve sporlar toplandı. Spor süspansiyonları, iki katlı tülbent ile 50 ml'lik steril tüplere süzülerek misel ve agar parçalarının uzaklaştırılması sağlandı. Elde edilen süspansiyonlar, 5 dk. vorteksenerek homojen hale getirildi. Spor konsantrasyonları, Neubauer hemositometresi ile sayılarak belirlenen konsantrasyonlara ayarlandı (Sevim vd., 2010a). Sporların yaşayabilirliği, 100 µl spor süspansiyonun PDAY agar üzerine yayma ekim yapılması ve 24 saatlik inkübasyondan sonra çimlenme özelliğinin belirlenmesiyle test edildi. Uygulamada çimlenme tüpü spor çapından büyük olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edildi. Bunun sonucunda % 95 oranında çimlenen sporlar patojenite testlerinde kullanıldı (Sevim vd., 2010b).

2.3.2. Tarama Testi

Tarama testi için, 60 mm çapında petri kapları kullanıldı ve yaprak disk deneyi uygulaması yapıldı. Kullanılacak petri üzerinde hava delikleri açıldı ve petrinin tabanı % 1,5 su agar ya da steril pamukla kaplandı. Petri kapları içerisine kesilmiş yaprak (35 mm) ve yaprak üzerinde 50 nimf böcek yerleştirildi (Şekil 9).

Seçilen fungal izolatlardan 1×10^7 spor/mL konsantrasyonda hazırlandı. Spor süspansiyonları püskürtme yöntemi kullanılarak petri kapları içine yerleştirilen *Myzus persicae* nimflerine 1 ml uygulandı. Test petri 25 °C'de, %75 nemde ve 12:12 (I:K) ışık periyodunda 7 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Kontrol grubuna steril % 0,1'lik Tween 80 uygulandı (Şekil 9). Uygulamanın sonunda petri kapları incelendi, ölü böcekler sayıldı ve yüzde

ölüm değerleri Abbott (1925) formülüne göre hesaplandı. Yüzde mikoz değerini hesaplamak amacıyla ölü nimfler %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisiyle yüzey sterilizasyonuna yapıldıktan sonra tabii tutulduktan sonra 3 kez steril distile su ile yıkandı ve steril nemli filtre kağıdı içeren petrilere alındı. Bu işlem, zararlının nimflerinin çok küçük olması sebebiyle minimal çözeltiler kullanılarak gerçekleştirildi. Sporlaşan nimfler sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı. Bütün deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde yapıldı (Şekil 9).



Şekil 9. Uygun suşların seçilmesi için gerçekleştirilen tarama testi. A) Biyotest çalışması için gerekli olan test kapları ve bu kaplar üzerine açılan hava delikleri, B) Biyotest çalışması için gerekli olan test kaplarının böceklerin besleneceği patlıcan bitkisinden kesitlerin ve yaprağın kurumaması için alt tabakaya pamuk kaplanması, C) Uygulama için seçilen funguslardan spor süspansiyonlarının ve D) Sprey uygulaması

2.3.3. Doz Denemeleri

Bundan sonraki çalışmalarda “2.3.2. Tarama testi” basamağındaki uygulamada en yüksek mortaliteye sahip ilk dört izolat KTU-24, KTU-51, KTU-1 ve Pa8 kullanıldı. Bu suşlardan oranları 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ve 1×10^9 spor/mL spor süspansiyonu hazırlandı. İklim odalarında yetiştirilen ve her test kabında 50 adet *Myzus persicae* nimflerine, belirtilen konsantrasyonlardaki süspansiyonlar püskürtme yöntemi ile inoküle edildi. Kontrol grubu için steril %0,1'lik Tween 80 kullanıldı ve 25 °C'de, %60 nem ve 12:12 (I:K) ışık periyodunda 7 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Bütün petri kapları 7. günde incelenerek

ölü bulunan nimfler sayıldı ve yüzde ölüm değerleri Abbott formülü ile hesaplandı. Yüzde mikoz değerini hesaplamak için ise ölüm nimfler %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 nimfler sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı.

2.4. Öldürücü Etkisi Yüksek Dört İzolatın Radyal Büyüme Oranı ve Spor Üretimi Üzerine Sıcaklığın ve UV-B 'nin Etkisinin Belirlenmesi

Entomopatojen fungusların radyal büyüme oranı için gerekli uygun sıcaklığı belirlemek amacıyla funguslar petrillerdeki SDAY besiyerlerine nokta ekim yapıldı ve petrilere karanlıkta 20, 30 ve 37 °C'de 7 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan hemen sonra misellerin çapları ölçülerek sonuçlar mm/gün olarak değerlendirildi. Ayrıca, radyal büyümeye UV-B'nin etkisini belirlemek için fungal izolatlar aynı şekilde SDAY besiyerine nokta ekim yapılarak 306 nm dalga boyundaki UV-B ışığına 30 ve 60 dk. maruz bırakıldı ve misel çapları günlük olarak ölçüldü (Ali-Shtayeh vd., 2002; Bidochka vd., 2001).

Spor üretimi üzerindeki sıcaklık etkisini belirlemek için fungusların tüpteki eğik SDAY besiyerlerine ekimleri yapıldı ve 20, 30 ve 37 °C'de 14 gün boyunca karanlıkta inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda tüplere 10 ml %0,1'lik Tween 80 içeren steril su ilave edildikten sonra steril bir cam çubukla karıştırılıp, vortekslenerek sporların suya geçmesi sağlandı. Sporlar suya geçtikten sonra oluşan süspansiyon filtre kâğıdı ile süzüldü. Daha sonra son konsantrasyon Neubauer hemositometresi yardımıyla hesaplandı. Aynı şekilde fungusların spor üretimi üzerine UV-B'nin etkisini belirlemek için fungal izolatlar SDAY besiyerlerine (slant) ekimleri yapıldı ve 306 nm dalga boyundaki UV ışığına 30 ve 60 dk. maruz bırakılarak spor konsantrasyonu belirlendi ve yukarıda belirtilen şekilde spor konsantrasyonu hesaplandı (Ali-Shtayeh vd., 2002).

2.5. Fungal izolatların Proteaz ve Kitinaz Enzimlerini Kodlayan Gen İçeriklerinin Araştırılması ve Taksonomik Pozisyonlarının Belirlenmesi

2.5.1. İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu

Öldürücü etkisi yüksek olan funguslardan DNA izolasyonu yapmak için ZR Tissue & Insect DNA MiniPrep kiti kullanıldı (Zymo Research, Irvine, CA, USA). İzolasyon için öncelikle funguslar PDA besiyerine ekildi ve 28 °C'de iki haftalık süre ile inkübasyona

birakıldı. Büyüyen funguslardan yaklaşık 50 mg ağırlığında doku alındı. Doku lizis tüplerine transfer edildikten sonra üzerine 750 µl lizis solüsyonu eklendi ve doku parçalayıcı içinde homojenize edildi. Doku parçalayıcıdan alınan tüpler 10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. Süpernetanttan 400 µl alınarak filtrasyon tüplerine aktarıldı ve 1 dk. 7.000 rpm'de santrifüj edildi. Filtrenin altında kalan sıvıya 1.200 µl genomik lizis solüsyonu eklendi. Karışım DNA'nın tutunacağı filtrelili tüplere alınarak 10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. Filtre yeni bir tüpe alınarak 200 µl ön yıkama solüsyonu ile yıkandı ve 10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. Tüpün altında kalan sıvı uzaklaştırılarak ikinci kez yıkama yapmak için 500 µl fungal-bakteriyal DNA yıkama solüsyonu eklendi. Tüpler 10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. DNA'nın muhafaza edileceği mikrosantrifürüj tüplere alınan filtreler üzerine 50 µl DNA Elution Buffer ilave edilerek DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen DNA'lar -20 °C'de kullanılıncaya kadar muhafaza edildi.

2.5.2. İlgili Gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması

Bu tez çalışmasında tarama testi ile belirlenen ve öldürücü etkisi yüksek olan dört EPF suşunda, virulansı artırıcı etkiye sahip olduğu literatürde ispatlanan bir proteaz olan *prl* geni *Metarhizium* cinsi KTU-51 izolatı için, *chit* geni farklı cinsleri kapsayan dejenerat bir primer kullanılarak yüksek insektisidal etki gösteren dört izolat için ve *Beauveria bassiana* izolatlarına özgü *Bbchit1* taraması KTU-24 için yapıldı. İlgili gen bölgelerin çoğaltılması için Tablo 7'de yer alan primerler kullanıldı (Leal vd., 1997; Wang vd., 2002). PCR yöntemi kullanılarak istenilen gen bölgeleri çoğaltıldı. Özellikle *prl* geni için nested PCR yöntemi kullanılarak bu spesifik bölgeler çoğaltıldı. Bu yöntemde farklı primer takımlarıyla ikinci bir çoğaltma oluşumu sağlandı. İlk amplifikasyonda elde edilen ürün ikinci PCR için kalıp olarak kullanıldı.

Bu genlerinin çoğaltılması için gereken PCR reaksiyon karışımı, 200 µM, dNTP, 50 pmol primer, 2,5 ünite *Taq* DNA polimeraz, 5 µl 10X *Taq* DNA polimeraz reaksiyon tamponu ve 50 ng genomik DNA içerecek şekilde hazırlandı ve son hacim ddH₂O ile 50 µl'ye tamamlandı. PCR koşulları: 95 °C'de 5 dk. denatürasyondan sonra 95 °C'de 1 dk., 55 °C'de 30 sn. ve 72 °C'de 2 dk. halinde 35 döngü ve son adım olarak 72°C'de 10 dk. olacak şekilde gerçekleştirildi (Muro vd., 2005). PCR ürünlerinden 5'er µl alınarak 0,5 µg/ml etidyum bromür katkılı %1'lik agaroz jelde 90 V'de 25 dk. elektroforezde yürütüldü. PCR ürünleri Qiaquick PCR 50 (Qiagen GmbH, Leusten, the Netherlands) kiti ile saflaştırıldı ve

saflaştırılan PCR ürünleri DNA dizi analizi için Macrogen (Hollanda) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri gen bölgelerini doğrulamak için NCBI GenBank'ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırılarak genin fungusdaki varlığı doğrulandı. Elde edilen sıralar GenBank'taki sıralarla filogenetik analizlere tabi tutuldu.

Tablo 7. Proteaz ve kitinaz genlerini çoğaltmak için kullanılan primer sıraları

PROTEAZ	Primerler Dizileri	Bağlanma Sıcaklığı T _m (°C)
<i>pr1</i> gen bölgesi		
<i>pr1A</i>	Dış primer; METPR1 5'CACTCTTCTCCCAGCCGTTTC '3 METPR4 5'GTAGCTCAACTTCTGCACTC '3 İç primer; METPR2 5'AGGTAGGCAGCCAGACCGGC '3 METPR5 5'TGCCACTATTGGCCGGCGCG '3	55
<i>pr1B</i>	Dış primer; Pr1B1 5'TGCCAACATCGGACAAGACA '3 Pr1B2 5'CATGGACGACCCCGAAAGAG '3 İç primer; Pr1B3 5'AGCGTTCCCGGCAGTTACCATT '3 Pr1B4 5'CCCGGCGCAAAAATATCAAC '3	55
KİTİNAZ		
<i>chit</i>	Chit U 5'GCCGTCTACTTCACCAAYTGG '3 Chit D 5'CCAGCATAGTCGTAGGCCAT '3	57
<i>bbchit</i>	F 5' TTTCTTCAAACCAGCCTCGCGCT '3 R 5' AATGTCCAATCTTGGAGCCGTCC '3	58

2.6. Formülasyonun Geliştirilmesi

Tarama testleri ve doz denemeleri sonucunda en yüksek öldürücü etkiye sahip, sıcaklık ve UV-B uygulamalarında toleransı yüksek olan, kütikulayı degrede eden enzim bölgelerinin varlığı belirlenen ve hızlı ölüme sebep olan iki izolattan (KTU-24 ve KTU-51) yağ- bazlı prototip fungus formülasyonu üretildi.

2.6.1. Fungal Konidilerin Üretilmesi

Bu kısımda, önce suşların bifazik kültür sistemine göre substrat üzerinde kuru formülasyonlarının üretilmesi planlamıştı. KTU-51 (*Metarhizium anisopliae*) suşunun katı substrat üzerinde üretimi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesine rağmen, KTU-24 (*Beauveria bassiana*) suşunun biyolojik özelliklerinden dolayı bu substrat üzerinde üretilmesinde

beklenen ve olması gereken verim sağlanamadı. Bu nedenle spor üretimlerinde KTU-51 için katı substrat ve KTU-24 için de sıvı faz (fermentör yöntemleri) kullanıldı. Katı substrat kullanılarak üretimi yapılan sistem konidilerin öncelikle sıvı besiyeri ortamında büyütüldükten sonra, oluşan inokülantın (misel veya hifler), katı substrat üzerine transfer edilmesi esasına dayanmaktadır (Seema vd., 2013). Sıvı fazlı (fermentör) üretim ise Mascarin vd., (2016) metoduna göre gerçekleştirildi.

2.6.1.1. KTU-51 (*Metarhizium anisopliae*)'in Sıvı Besiyerinde Büyütülmesi

KTU-51 (*Metarhizium anisopliae*) izolatı 1×10^5 spor/mL'lik stok solüsyonlarından PDAY besiyerine 100 µl yayma ekim yapıldı ve 25 ± 2 °C'de 2-3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Büyüme sonunda, tek koloniler seçilerek Sabouraud dekstroz agar (1/4 SDA, %1 dekstroz, %0,25 mikolojik pepton, %2 agar ve %0,5 yeast ekstrakt, w/v) besiyerine transfer edildi ve 25 °C'de 4 hafta inkübe edildi. Bu süre sonunda, petri üzerine 10 ml steril %0,1'lik Tween 80 eklendi ve cam baget ile kazınarak sporlar elde edildi. Spor süspansiyonu Neubauer hemositometresiyle konsantrasyon $2,9 \times 10^6$ spor/mL'ye ayarlandı.

Spor süspansiyonu, hazırlanan besiyerine (1 litre için; 30 gr glukoz veya sukroz, 20 gr maya ekstratı, 4 gr potasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), 25 gr kazein hidrolizat, 10 mg gentamisin ve pH 5,6) 1:10 oranda inoküle edildi. Karışım 500 ml'lik erlen içinde 150 ml olacak şekilde ayarlandı ve 150 rpm'de 28 °C'de 4 gün boyunca inkübe edildi (Seema vd., 2013).

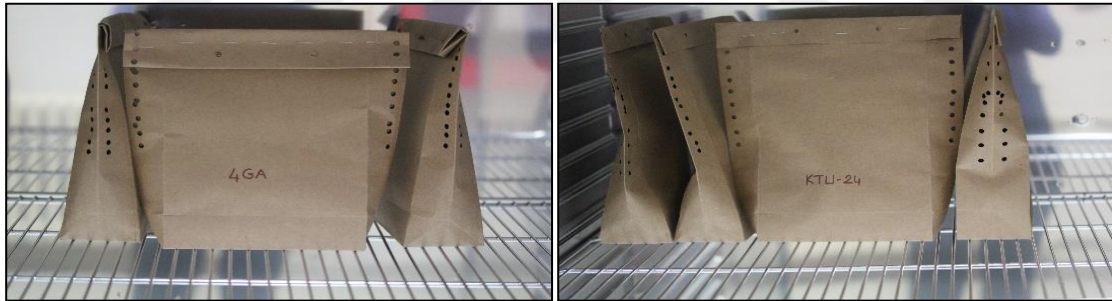
2.6.1.2. *Metarhizium anisopliae* (KTU-51) İzolatının Katı Substrat Üzerinde Üretilmesi

Metarhizium anisopliae (KTU-51)'nin daha fazla spor elde etmek için katı substrat olarak pirinç seçildi. Uygulama için 1 kg pirinç kullanıldı. Pirinçler soğuk saf su ile üç kere içerisindeki kalıntı maddeler, tortular ve en önemlisi nişastasının uzaklaştırılması için yıkandı ve derin bir kap içerisinde 30 dk. bekletilerek su tutma kabiliyetleri artırıldı. Fazla suyu süzülen pirinçler, 1 kg için 300 ml saf steril su ve 20 ml ayçiçek yağı kullanılarak suyu çekene kadar ön pişirme işlemine tabii tutuldu. Büyütme işleminin yapılacağı fungus büyütme torbalarında hava delikleri açıldı ve açılan delikler pamuk ile kapatıldı.

Hazırlanan büyütme poşetlerine yarı pişmiş pirinçler her bir poşette 150 gr olacak şekilde dağıtıldı, 121 °C'de 1.1 atm basınçta özellikle 40 dk. otoklav edildi ve soğutulmaya

birakıldı (Seema vd., 2013). **2.6.1.1.**'de anlatıldığı gibi hazırlanan sıvı kültürden blastosporları almak ve besiyerini uzaklaştırmak için santrifüj ile çöktürme ve 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Toplanan sporlar steril saf suda çözüldü ve içerisinde 1×10^7 - 5×10^8 spor/mL konsantrasyon olacak şekilde ayarlandı. Bu spor süspansiyonlarından içerisinde 150 gr pirinç bulunan mantar büyütme poşetlerine 5 ml inokülasyon yapıldı. İnokülasyon sonrasında poşetlere masaj yapılarak fungus sporlarının tüm substrat ile teması gerçekleştirildi. Büyümesi için sıcaklığı 25-30 °C olan etüvlerde yaklaşık 20 gün bekletildi. İnkübasyon sırasında fungus sporlarının iyi gelişebilmesi için, fungus büyütme poşetlerine 5 gün arayla masaj yapılarak fungusun homojen olarak dağılması sağlandı. İnkübasyon sonrasında fungus poşetleri açıldı, fungus sporları Kraft kağıtlara aktarıldı ve kağıtlar on gün ön kurutmaya bırakıldı (Şekil 10).

Kurutma sonrasında bir elek (45 μm mesh⁻¹) kullanılarak sporlar pirinçlerden ayrıldı. Eleme işleminden sonra toplanan sporlar vakumlu bir desikatör yardımıyla nem oranı %5'den daha az olana kadar kurutuldu. Gram başına düşen fungus miktarını belirlemek için, kurutulmuş örnekten 1gr alındı, steril suda çözüldü, sayım yapıldı ve gram başına düşen fungus miktarı hesaplandı. Kurutulmuş aerial konidialar yağ formülasyonlarında kullanılmak üzere 50 ml'lik cam şişelerde +4 °C düşük nem kapasiteli buzdolabında saklandı.



Şekil 10. Fungal sporların Kraft kağıtlarda kurutulması

2.6.2. *Beauveria bassiana* (KTU-24)'nın Fermentör ile Üretilmesi

2.6.2.1. Bazal Tuz Besiyerinin Hazırlanması

Sıvı bir ortamda blastosporların üretilmesi için bazal tuz besiyeri kullanıldı. Bir litre besiyeri için; 80 gr glukoz, 25 gr hidrolize kazein, 2 gr KH_2PO_4 , 0,4 gr $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,3 gr $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 37 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 50 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 16 mg $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 14 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 500 mg tiamin, riboflavin, pantotenat, niasin, piridoksamın, tiyotik asit, 50 mg folik asit, biotin ve B12 vitamini eklendi. Glukoz oranı %20 w/v olarak ayarlandı ve ayrı şekilde

otoklav edilerek eklendi. Besiyerinin pH'sı 5,8 olarak ayarlandı ve 121 °C 20 dk. otoklav edildi (Mascarin vd., 2016).

2.6.2.2. Fungus Sporlarının Hazırlanması ve İnokulum

Kullanılacak fungal izolat 1×10^5 spor/mL'lik stok solüsyonlarından PDAY besiyerine 100 µl yayma ekim yapıldı ve 25 °C'de 2-3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Büyüme sonunda, tek koloniler seçilerek başka bir PDAY besiyerine transfer edildi ve 25 °C'de 4 hafta inkübe edildi. Bu periyot sonunda, petri üzerine 10 ml steril % 0,1'lik Tween 80 eklenecek ve cam baget ile kazınarak sporlar elde edildi. Konsantrasyon 1×10^6 spor/mL ayarlandı ve 250 ml'lik erlenlerde 150 ml 2.6.2.1.'de hazırlanan başlangıç kültürü kullanılarak 25°C'de 3 gün 350 rpm'de inkübasyona bırakıldı (Mascarin vd.,2016).

2.6.2.3. Fermentörde Üretim ve Spor Hasadı

Blastospor üretimi küçük ölçekli üretim olarak Sartorius marka fermentörle gerçekleştirildi. Başlangıç kültürde üretilen blastosporlardan 5×10^6 spor/mL konsantrasyonda spor süspansiyonu hazırlandı ve 1 litre için 10 ml spor süspansiyonu fermentör besiyerine inoküle edildi (5 L bioreactor, Biostat A, Sartorius). Fermentör koşulları 25 °C' de 350 rpm, pH'sı 5.3 olarak ayarlandı (Mascarin vd., 2016).



Şekil 11. KTU-24'ün fermentörde üretilmesi ve saflaştırılması

Beş gün sonrasında elde edilen blastosporlar bir elek yardımıyla süzüldü ve hifal yapılar uzaklaştırıldı. Kalan besiyerindeki blastosporların toplanması için 10.000 g'de 10 dk. santrifüj edildi. Sonrasında steril saf su ile kalan besiyerinin uzaklaştırılması için üç kez yıkama işlemi yapıldı. Elde edilen blastosporlar steril suda çözüldü. Minimum konsantrasyon 2×10^{10} spor/ml olarak ayarlandı (Şekil 11).

2.6.2.4 Sprey Kurutucuyla Kurutma

Temizlenen blastosporlar yağsız süt tozunda (skim milk powder) çözüldü ve final konsantrasyon 2×10^{11} spor/mL olarak ayarlandı. Litre başına 200 gr olacak şekilde ayarlanarak kurutma koşulları, LabPlant SD-Basic cihazı kullanılarak; iç sıcaklık, 95 ± 2 °C, dış sıcaklık, 48 ± 2 °C, geri beslenme oranı, 20 ml dak.⁻¹, 5.7-5.9 bar hava basıncı 100-300 ml geri beslenme hacmi olarak belirlendi. Elde edilen sporların nem oranları belirlendi. Nem oranı %5'ten daha az olana kadar kurutuldu. Elde edilen sporlar kullanılmak üzere $+4$ °C 'de buzdolabında saklandı (Şekil 12).



Şekil 12. Fermentörde üretilen KTU-24'ün blastosporlarının sprej kurutucuda kurutma

2.7. Üretilen Konidiyaların Bitkisel Yağ ile Karıştırılması

Mikoinsektisit üretiminde, üretilen ürünün fiziksel ve biyolojik özelliklerinin standartlara uyması önemli bir konudur. Ticari olarak üretilen ve kullanılan diğer yağ formülasyonları ile benzer içerikli olması, ürünün doğada kalıcılığını ve raf ömrünü artırıcı, biyolojik ve fiziksel özelliklerini artırılmasını destekleyen maliyeti en aza indiren yardımcı kimyasal maddelerin kullanılmasıyla bu tez kapsamında iki adet farklı cinse ait EPF'dan formülasyon üretildi. Öncelikle seçilen her iki izolat yukarıda belirtildiği gibi toz halinde 10-30 gr arasında (10^{11} spor /g) spor elde edildi. Sonrasında 3 g naftalin sülfanik asit, 0,1 g askorbik asit, 50 ml bitkisel yağ, 10 ml emülsifiye madde lesitin, 1ml Silvet-L-77 ve 10 gr toz fungus ile 100 ml'e steril su ile tamamlandı. Cam şişede homojenizatör ile 50 rpm'de $<10^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dk. karıştırıldı. Sonrasında 1 g sodyum alignat eklenerek 30 dk. karıştırıldıktan sonra pH değerini belirlemek için karışımdan 1 ml alınarak 100 ml steril suda çözüldü ve pH değeri ayarlandı. Stok formülasyon kültürü içerisindeki spor karışımı, sıvı süspansiyon içerisinde %10 olacak şekilde tasarlandı. Stok formülasyon, %50 yağ formülasyonu olarak hazırlandı. Uygulama konsantrasyonu sporlar sayılarak 1×10^9 spor/mL konsantrasyonda kullanılmak üzere ayarlandı. Biyotest çalışmalarında, 1 ml %5 yağ içeren 1×10^8 spor/mL konsantrasyonda uygulama yapıldı. Geliştirilen formülasyonlar AFİSİDAL-OD BBASTR61 ve AFİSİDAL-OD METTR61 olarak isimlendirildi.

2.8. Formülasyonun Etkinliğinin Test Edilmesi

Bu aşama çalışmalardan elde ettiğimiz ürünler BBASTR61 ve METTR61'in zararlılar üzerindeki etkinliğini belirlemek amacıyla gerçekleştirildi. Testler, laboratuvar deneyleri için iklim dolaplarında yetiştirilen nimfler üzerinde yapıldı. Saksı denemesi uygun iklim odalarında gerçekleştirildi. Biyotest çalışmalarında 1 ml %5 yağ içeren 1×10^8 spor/mL konsantrasyonda uygulama yapıldı.

2.8.1. Formülasyonun *Myzus persicae* Nimfleri Üzerinde Laboratuvar Koşullarında Test Edilmesi

Uygulama öncesinde, stok olan formülasyondan (1×10^9 spor/mL) 1 ml solüsyon alınarak 10 ml steril suda çözülmüş ve uygulama konsantrasyonu 1×10^8 spor/mL

konsantrasyonda ayarlanmıştı. Uygulama yapılacak *M. persicae* nimfleri, kıl fırçalarla alınarak binoküler mikroskop yardımıyla sayıldı ve uygulama için hazırlanan petri kaplarına bırakıldı. Uygulama için hazırlanan petri kapları (60 mm) içerisine yaprakların kurumasını engeleyen ve gerekli nem ortamının oluşmasını sağlayan %1,5 su agar ve agar üzerine böceklerin beslenmesi için kesilmiş turp, biber veya patlıcan yaprağı (50 mm) koyuldu. Binokülerde sayılan nimfler bu yapraklar üzerine dikkatli bir şekilde bırakıldı. Uygulamada, üçlü tekrar halinde 50 adet nimf kullanıldı. Uygulama için her bir test kabına 0,1ml spor süspansiyonu uygulandı; 25 °C’de, %60 nem ve 12:12 (I:K) ışık periyodunda 7 gün boyunca inkübasyona bırakıldı (Şekil 13). Deney sonunda bütün test kapları incelenerek ölü bulunan nimfler sayıldı ve yüzde ölüm değerleri hesaplandı. Yüzde mikoz değerini hesaplamak için ise ölü nimfler %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 nimfler sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı.



Şekil 13. Geliştirilen formülasyonların laboratuvar koşullarında *Myzus persicae* nimfleri üzerindeki etkileri

2.8.2. Saksı Denemesi

Çalışmamız için örnek konak bitki olarak biber fideleri seçildi. Denemeler öncesi seçilen sağlıklı fideler, 30 cm çapındaki saksılara dikildi ve uygulama için 5 tekrarlı olacak şekilde düzenekler kuruldu. Toplam 30 adet saksıya dikilen fideleri ortama adaptasyon sağlanması ve uygulama öncesi en az yedi yaprak büyümesinin gözlenmesi için bekletildi. Gerekli büyüme gözleendiğinde, *M. persicae* nimfleri saksılara salınarak burada da yaprak başına on adet nimf düşecek şekilde çoğalmaları beklendi. Hazırlanan formülasyon ve pozitif

kontrol için seçilen ticari formülasyonlardan 1×10^8 spor / mL süspansiyonları hazırlandı ve uygulama püskürtme yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 14).

Deney grupları; i. Geliştirilen formülasyonlar: BBASTR61 ve METTR61 ii. Pozitif Kontrol (Ticari Ürünler): MET52-*M.anisopliae*) (Nostalgist BL- *B. bassiana*) iii. Boş Formülasyon ve iv. Kontrol (Sadece Tween 80 (%0,05) şeklinde oluşturuldu.

Her gruptaki biber fidesine, 1 ml solüsyon püskürtme yöntemi ile uygulandı. Kontrol grubuna ise su püskürtüldü. Uygulama, 15 gün takip edildi, ölen böcekler kaydedildi ve mikozlanma için nem çemberine tabi tutuldu. Sonuçlara Abbott formülü (1925) uygulandı ve geliştirilen mikoinsektisit yüzde etkisi bulundu. Deneyin sonucunda, formülasyonlar ve ticari ürünler istatistiksel olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldı.





2.9. Veri Analizi

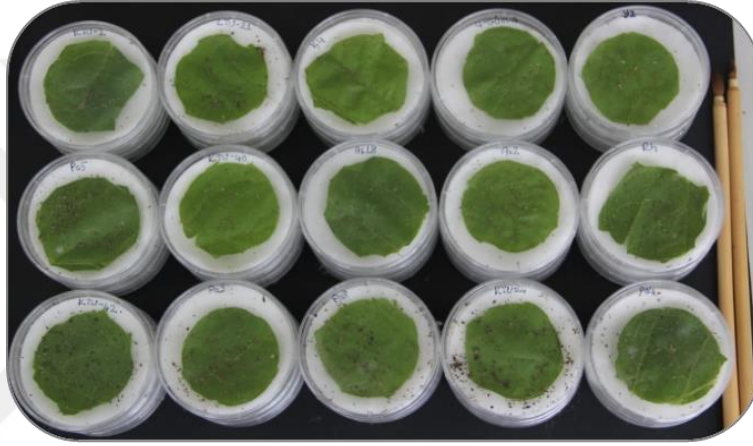
Elde edilen bütün DNA dizileri, BioEdit (Hall, 1999, version 7.09) programı ile düzenlendi ve NCBI GenBank'ta blastlanarak GenBank'ta yer alan diğer DNA dizileri ile yüzde benzerlikleri belirlendi. DNA dizilerinin Cluster analizi aynı şekilde BioEdit programını kullanarak Clustal W programı ile yapıldı ve buradan elde edilen veriler MEGA5 filogenetik programı (Tamura vd., 2011) yardımıyla neighbour-joining (NJ) analizinde kullanıldı. Aligment boşlukları kayıp veri olarak değerlendirildi. Oluşturulan dendrogramların güvenilirliği MEGA5 programı kullanarak seç-bağla (bootstrap) analizi ile 1000 tekrarlı olacak şekilde test edildi.

Biyotestlerden elde edilen veriler Abbott formülü kullanılarak anlamlandırıldı ve aynı zamanda nem bölümünde bekletilen ölü böcekler sayesinde yüzde mikoz değerleri hesaplandı (Abbott, 1925). Elde edilen veriler SPSS 21.0 programı kullanılarak analiz edildi. Patojenite verilerinin analizinde varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. İzolatların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında tek yönlü varsayans analizi testi ve izolatların birbiri ile karşılaştırılmasında ise HSD çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Doz uygulaması sonucu LC₅₀ değerinin hesaplanması, SPSS 21.0 programı sayesinde probit analizi ile gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan grafikler GraphPad Prism 5.0 programı kullanılarak oluşturuldu.

3. BULGULAR

3.1. Tarama Testi

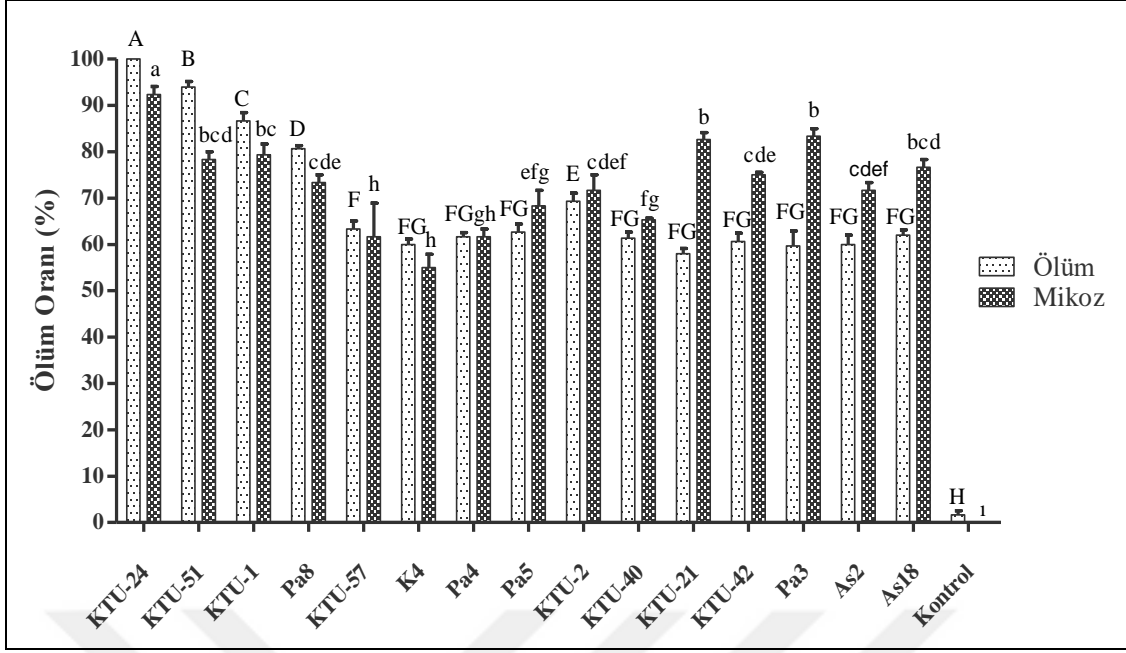
Fungus izolatların 1×10^7 spor /mL konsantrasyonda *M. persicae* üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için yapılan tarama testi sonucunda bütün izolatların zararlı üzerinde etkili olduğu belirlendi. Tarama testi için püskürtme yöntemi uygulandı ve inkübasyona bırakıldı (Şekil 15).



Şekil 15. Tarama testi uygulaması

Uygulama sonrasında ölüm oranlarının %58 – 100 arasında değiştiği gözlemlendi (Şekil 16). Uygulama yapılan *M. persicae* nimflerinde enfeksiyondan iki gün sonra ölümler meydana geldi. En yüksek ölüm oranına (%100), KTU-24 (*Beauveria bassiana*) izolatı 5. günde ulaşırken, KTU-51 (*M. anisopliae*), KTU-1 (*Isaria fumosorosea*) ve Pa8 (*Lecanicillium muscarium*) izolatlarında %80'in üzerinde ölüm ve mikoz oranı gözlemlendi (Şekil 16, 17). Ölü böcekler üzerindeki büyüme ve sporlaşma oranlarının karşılaştırılmasında da bütün izolatların kontrol grubundan farklı olduğu ve aralarında değişik mikozlanma seviyeleri gösterdikleri tespit edildi ($p < 0,05$).

Şekil 16'da görüldüğü üzere uygulama sonrasında ölüm oranları, KTU-24 (*B. bassiana*) izolatı için %100, KTU-51 (*M. anisopliae*) için %94, KTU-1 (*I. fumosorosea*) için %86,66 ve Pa8 (*L. muscarium*) için %80,66 olarak belirlendi. Mikoz oranları bu izolatlar için sırasıyla, %92,33, %78,33, %79,33 ve %73,33 olarak belirlendi.



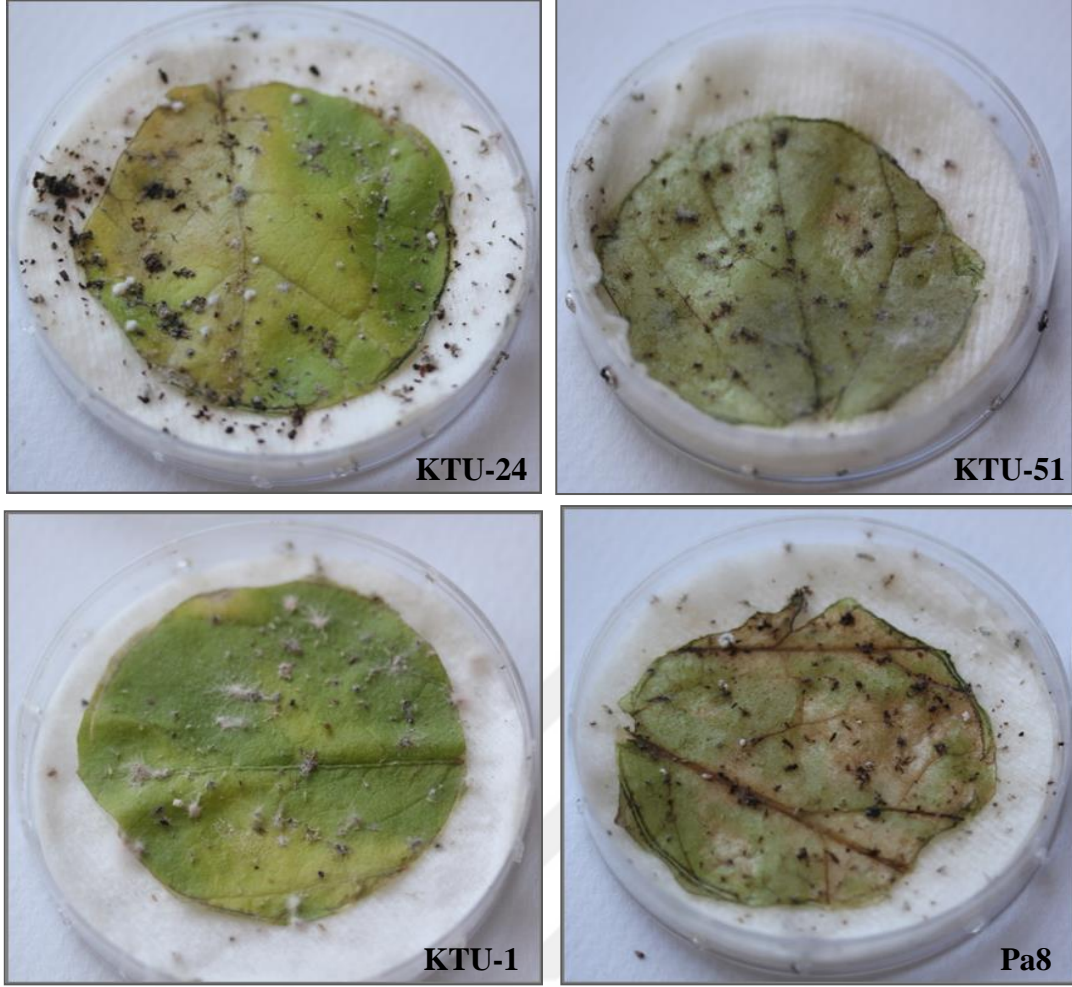
Şekil 16. İzolatların 1×10^7 spor /mL konsantrasyonda *M. persicae* nimfleri üzerindeki patojeniteleri ve kadavraların mikozlanma oranları. Ölüm değerleri Abbott formülü (Abbott, 1925) kullanılarak hesaplandı. Farklı büyük ve küçük harfler, LSD çoklu karşılaştırma testine göre izolatlar arasında sırasıyla mortalite ve mikoz arasında istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($P < 0.05$). Çubuklar ise standart sapmayı göstermektedir.

M. persicae nimflerine karşı test edilen fungal izolatların patojenite değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, izolatların kontrol grubundan farklı ölüm değerlerine sahip oldukları belirlendi ($F = 155,07$, $df=15$, $p < 0,05$). İzolatların birbirleriyle karşılaştırılmasında ise bütün izolatların farklı ölüm değerlerine sahip oldukları tespit edildi ($F=155,07$, $df=15$, $p < 0,05$).

M. persicae nimfleri üzerinde özellikle *B. bassiana* izolatlarının diğer cinslere ait izolatlara göre daha etkili olduğu belirlendi. Mikozlanmaya bırakılan kontrol grubunda mikozlanma gözlenmedi ve böylece ölümlerin doğal yolla olduğu belirlendi.

Deney sonucunda, yüksek insektisidal etki gösteren dört izolatın (KTU-24 (*B. bassiana*), KTU-51 (*M. anisopliae*), KTU-1 (*I. fumosorosea*) ve Pa8 (*L. muscarium*)) hepsinin farklı cinslere ait olması ve etkili sonuçlar göstermesi, tez çalışması yürütülmesi için bu dört izolattan birinden mikoinsektisit üretilmesinde umut verici oldu.

Yüksek insektisidal etki gösteren izolatlardan etkili dozun belirlenmesi için doz denemeleri yapıldı.



Şekil 17. Entomopatojenik funguslar ile enfekte *M. persicae* nimflerinin mikoz görüntüleri

3.2. Doz Denemeleri

Tarama testi ile 15 adet entomopatojen fungusun en yüksek insektisidal etki gösterdiği belirlenen KTU-24, KTU-51, KTU-1 ve Pa8 suşları doz denemelerinde kullanıldı. Doz denemeleri için spor süspansiyonları her bir izolat için 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ve 1×10^9 spor/mL konsantrasyonda uygulandı ve deney sonucunda ölüm oranları Abbott formülüne göre hesaplandı. Doz denemelerinde uygulama konsantrasyonları arttıkça ölüm oranlarının da bu artışla paralel olarak arttığı gözlemlendi. Dört izolattan KTU-24'ün en etkili izolat olduğu belirlendi. İzolatların ölüm oranlarının %72 ile %100 arasında değiştiği tespit edildi. İzolatların uygulamadan yedi gün sonra zararlı nimfleri üzerindeki LC_{50} değeri KTU-24, KTU-51, KTU-1 ve Pa8 için sırasıyla $0,21 \times 10^5$ spor/mL, $0,70 \times 10^5$ spor/mL, $0,96 \times 10^5$ spor/mL ve $0,17 \times 10^6$ spor/mL olarak hesaplandı (Tablo 8).

Tablo 8. EPF'lerin *Myzus persicae* üzerindeki probit analizinin parametre değerleri

İzolat	LC ₅₀ (CI) ^a	Intercept	(Slope ± SE) ^b	X ²	Df
KTU-24	0,21×10 ⁵ (0,20-0,554)	-1,532	1,25±0,68	2,062	3
KTU-51	0,70×10 ⁵ (0,104-0,268)	-0,900	0,92±0,042	0,732	3
KTU-1	0,96×10 ⁵ (0,11-0,275)	-0,961	0,97±0,042	0,670	3
Pa8	0,17×10 ⁵ (0,084-0,244)	-0,861	0,86±0,041	0,357	3

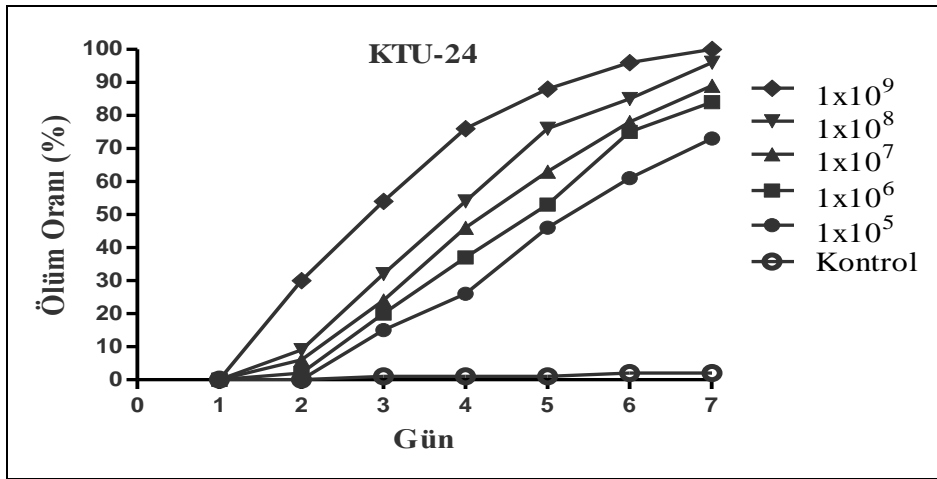
Slope: Eğim, SE: Standart hata, Df: Serbestlik derecesi, X²: Ki-kare.

Aynı kolonda yer alan farklı küçük harfler önemli farklılıkları göstermektedir (P <0,05)

^a Güven aralığı %95 önem seviyesinde

^b *M. persicae* nimflerinin uygulama yapılan izolatlara karşı tepkisinin eğimi

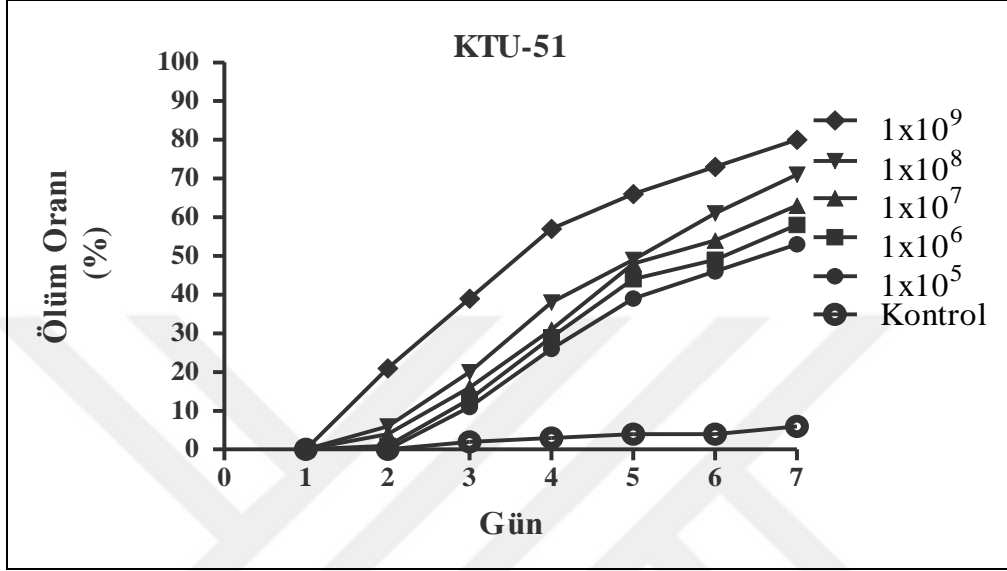
KTU-24 (*Beauveria bassiana*) izolatının 1×10^9 spor/mL spor konsantrasyonda *M. persicae* nimfleri üzerinde %100 mortalite gösterdiği diğer dozların (1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 spor/mL) ölüm oranları ise sırasıyla %96, %89, %84 ve %73 olarak belirlendi. Kontrol grubunda ölüm oranı %2 olarak belirlendi. Nimflere karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu tespit edildi (p<0,05) (Şekil 18). Uygulanan doz miktarı arttıkça mortalitenin arttığı 10^5 'de %73'den 10^9 'da %100'e ulaştığı belirlendi.



Şekil 18. KTU-24'ün farklı dozlarının *M. persicae* nimfleri üzerindeki etkileri

KTU-51 (*M. anisopliae*)'in, 1×10^9 spor/mL konsantrasyonda *M. persicae* nimflerine karşı %83 ölüm değeri ürettiği gözlemlendi. Diğer konsantrasyonlarda (1×10^8 ,

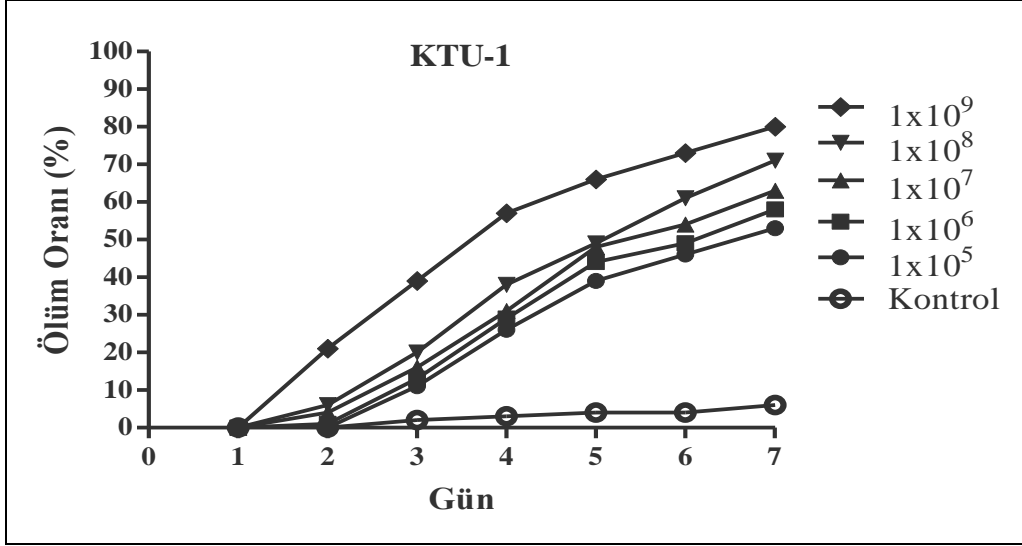
1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 spor/mL) ölüm oranı sırasıyla %79, %68, %63 ve %52 olarak belirlendi. Kontrol grubunda ölüm değeri %6 olarak belirlendi. Nimflere karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 19).



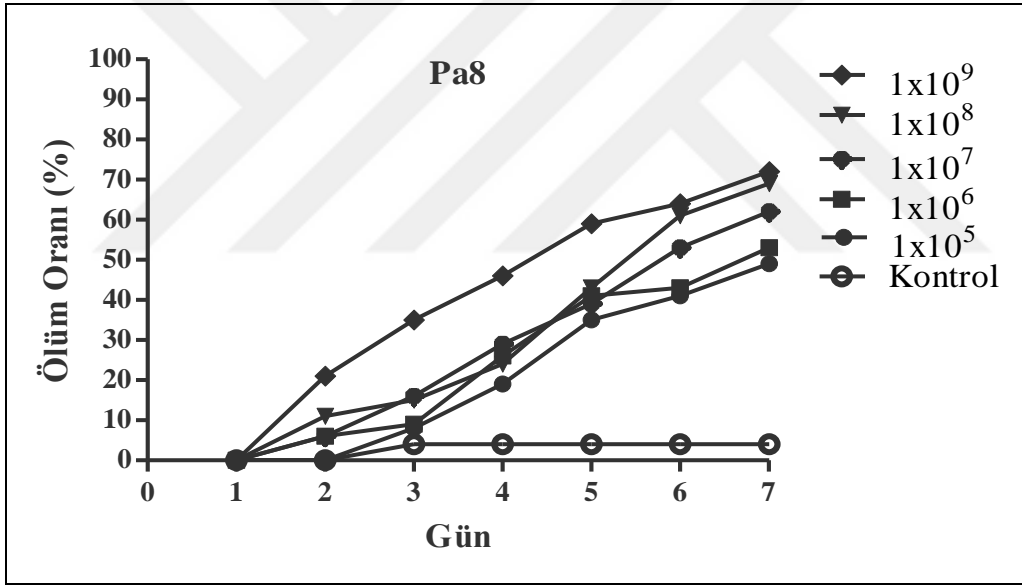
Şekil 19. KTU-51'in farklı dozlarının *M. persicae* nimfleri üzerindeki etkileri

KTU-1 (*I. fumosorosea*)'in 1×10^9 spor/mL spor konsantrasyonda *M. persicae* nimflerine karşı uygulanması sonunda %78 ölüm oranı gözlemlendi. Diğer konsantrasyonlarda (1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 spor/mL) sırasıyla %74, %62, %58 ve %51 olarak belirlendi. Kontrol grubunda ölüm değeri %8 olarak belirlendi. Larvalara karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 20).

Pa8 (*L. muscarium*)'in 1×10^9 spor/mL konsantrasyonda *Myzus persicae* nimfleri üzerindeki uygulanması sonunda %72 ölüm oranı belirlendi. Diğer konsantrasyonlarda (1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 spor/mL) sırasıyla %69, %62, %53 ve %49 olarak belirlendi. Kontrol grubunda %8 mortalite belirlendi. Nimflere karşı uygulanan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 21).



Şekil 20. KTU-1 'in farklı dozlarının *M. persicae* nimfleri üzerindeki etkileri



Şekil 21. Pa8'in farklı dozlarının *M. persicae* nimfleri üzerindeki etkileri

Yapılan farklı dozların uygulanması deneyinde özellikle **KTU-24** ve **KTU-51** izahatlar diğer suşlara göre daha yüksek ölüm oranı gösterdiği belirlendi.

3.3. Dört İzolatın Radyal Büyüme Oranı ve Spor Üretimi Üzerine Sıcaklığın ve UV-B'nin Etkisinin Belirlenmesi

3.3.1. Sıcaklığın Radyal Büyüme Üzerine Etkisi

Farklı sıcaklıklar altında suşların radyal büyüme kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıklar gözlemlendi ($F(3,44) = 82,289, p < 0.05$). Farklı sıcaklıklardaki inkübasyon sonrasında, 37 °C uygulamasında kullanılan izolatların hiçbirinde büyüme gözlemlenmedi ($p < 0,05$) (Tablo 9, Şekil 22).

Tablo 9. Sıcaklığın radyal büyümesi üzerine etkisi

Sıcaklık (°C)	İzolat (mm± SD)			
	KTU-24	KTU-51	KTU-1	Pa8
20	*15,4 ± **0,20 ^e	20,0 ± 1,0 ^d	19,44 ± 0,50 ^d	23,88 ± 1,01 ^c
28 (Kontrol)	24,77 ± 2,80 ^b	18,55 ± 1,89 ^{de}	27,11 ± 2,45 ^a	26,88 ± 1,01 ^a
30	13,7 ± 0,20 ^f	10,44 ± 2,56 ^h	26 ± 2,00 ^{abc}	16,44 ± 0,50 ^{de}
37	0 ± 0 ⁱ	0 ± 0 ⁱ	0 ± 0 ⁱ	0 ± 0 ⁱ
LSD p<0,05		1,170		

* 3 tekrarlı deneyde maksimum büyüme çapı

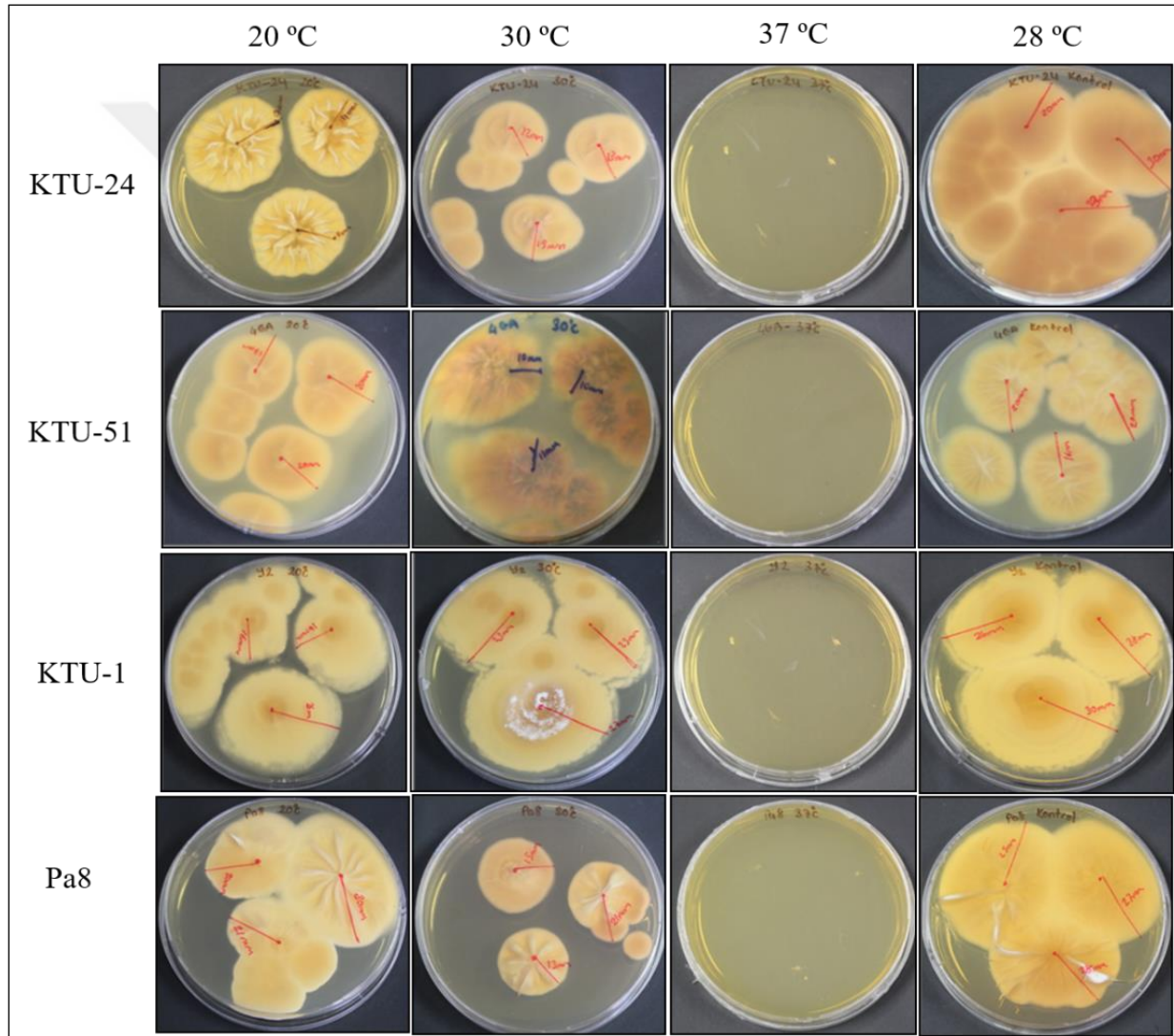
** Farklı sıcaklıklarda standart sapma değerlerini vermektedir.

Fisher's Least Significant Difference (LSD) test, $\alpha = 0.05$ göre yapılmıştır. Harfler uygulamalar arasındaki farklılıkları ortaya koymaktadır.

En düşük sıcaklık olan 20 °C'de suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında, KTU-51 izolatının diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi radyal büyüme gösteren suş olduğu ve kontrol grubu ile anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p < 0,05$). Pa8 izolatının 20 °C'de kontrol grubuna göre kıyaslandığında büyüme yüzdesi %88 olarak belirlendi. KTU-1 izolatının 30 °C'de kontrol grubu ile kıyaslandığında diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi radyal büyüme gösteren suş olduğu ve kontrol grubu ile anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p < 0,05$). Deney yapılan bu üç farklı sıcaklıkta özellikle KTU-1 izolatu sıcaklık arttıkça radyal büyüme oranı artarken diğer izolatların radyal büyümesinde azalma belirlendi ($p < 0,05$) (Tablo 9).

KTU-24 izolatın kontrol grubu ile kıyaslandığında, 20 °C'de %37 oranında radyal büyümesinde azalma olduğu belirlendi. 30 °C'de %44 oranında radyal büyümesinde azalma olduğu belirlendi. KTU-24 izolatının düşük sıcaklığa daha toleranslı olduğu fakat sıcaklık

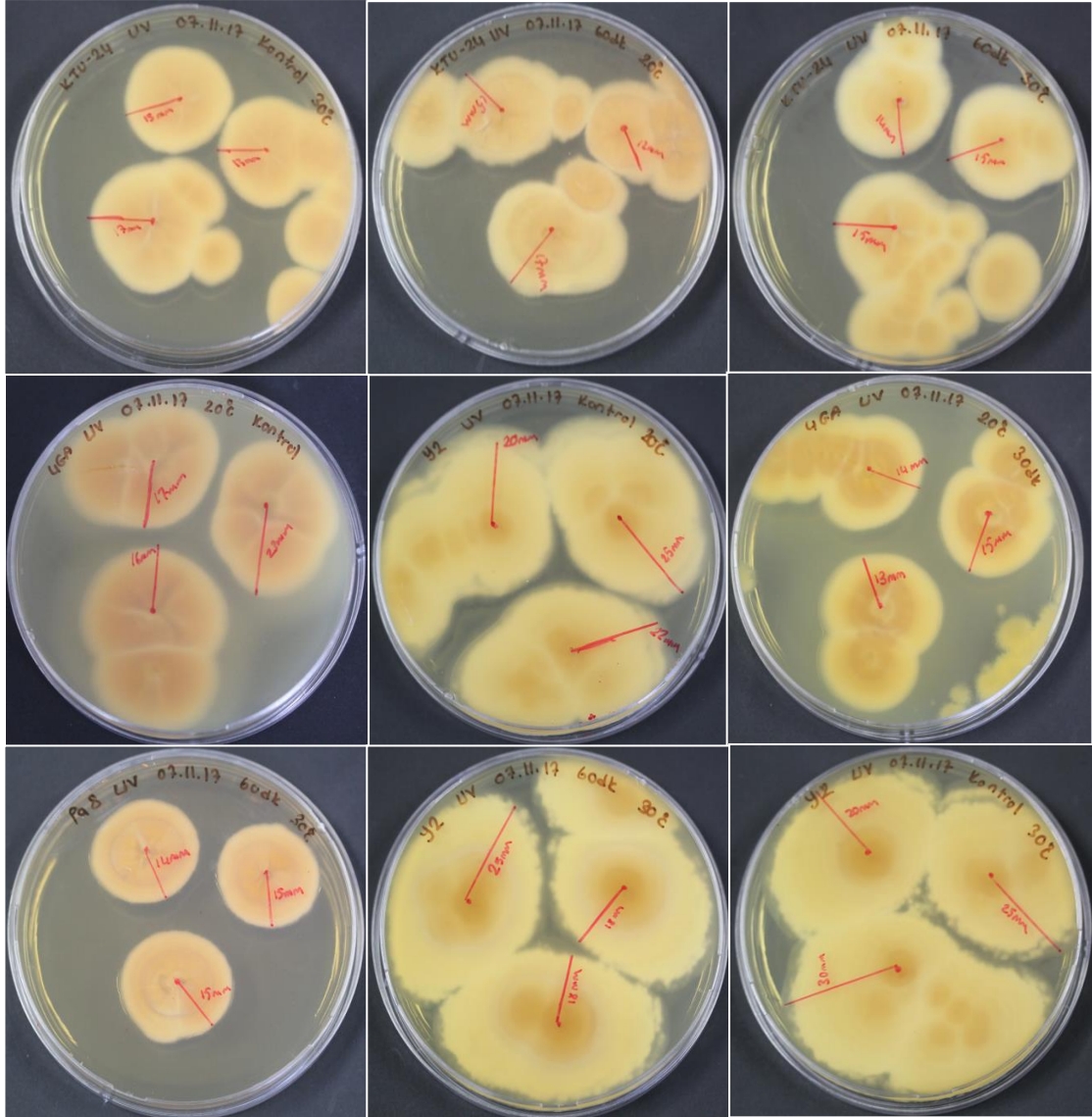
artıkça radyal büyüme oranının daha azaldığı belirlendi. KTU-51 izolatının kontrol grubu ile kıyaslandığında, radyal büyüme oranın kontrol grubundan %7 daha fazla olduğu fakat büyüme etkisinin %44 azaldığı belirlendi. Sıcaklık azalmasına toleranslı olduğu, fakat sıcaklık artışında radyal büyüme oranının etkilendiği belirlendi. Pa8 izolatı kontrol grubu ile kıyaslandığında 20 °C’de radyal büyüme oranının %12 ve 30 °C’de %39 azaldığı belirlendi. KTU-1 izolatının kontrol grubu ile kıyaslandığında 20 °C’de %32 ve 30 °C’de %13 radyal büyümesinin azaldığı belirlendi. Diğer üç izolat olan KTU-51, KTU-24 ve Pa8 izolatları ile kıyaslandığında, radyal büyüme oranın sıcaklık yükselmesinden daha az etkilendiği belirlendi.



Şekil 22. Sıcaklığın radyal büyüme üzerindeki etkisi

3.3.2. UV-B'nin Radyal Büyüme Üzerine Etkisi

Özellikle radyal büyüme oranına UV-B etkisini belirlemek için yapılan deneyde misel çapları günlük olarak ölçüldü (Şekil 23). Deney 14. günde sonlandırıldı. Sonuçlar linear regresyon testi ile SPSS 21. istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Farklı sıcaklıklar altında UV-B'nin etkisine 30 dk. ve 60 dk. süre maruz bırakılan suşların tüm sıcaklıklarda büyüme gösterdiği belirlendi ($F=138,345$, $df=15$, $p<0,05$, Tablo 10). Önceki deneyde 37 °C'de büyüme gözlenmediğinden bu deneyde bu gruba yer verilmedi.



Şekil 23. UV-B'nin suşlar üzerindeki petri üzerindeki etkisi

UV-B'nin 30 dk.'lık etkisinde 20 °C'de KTU-1 ve KTU-24 izolatinın diğer iki suşa gore radyal büyümesinde UV-B'nin etkisinin daha az olduğu ve 30 °C'de özellikle KTU-1 izolatinın kontrol grubuna çok yakın sonuç vermesi ve bu sıcaklıkta en iyi büyüme göstermesinden dolayı UV-B'nin etkisine karşı tolerans gösterdiği belirlendi ($p<0,05$). UV-B'nin 60 dk.'lık etkisinde 20 °C'de KTU-24 ve Pa8 izolatu, 30 °C'de şuşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-1 ve KTU-24 izolatinın diğer suşlara kıyasla daha dayanıklı olduğu ve anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 10).



Tablo 10. UV-B'nin izolatların radyal büyüme üzerine etkisi (mm ± SD)

İzolat	30' UV-B					
	20 °C	Kontrol***	Kontrol (UV) 28 °C***	Kontrol (28 °C)	30 °C	Kontrol***
KTU-24	*15,98±**0,040 ^d	16,43±0,030 ^{dc}	14,21 ±0,050 ^E	16,91 ±0,060 ^{DC}	15,06 ±0,060 ^w	15,49 ±0,090 ^{wz}
KTU-51	14,33±0,500 ^e	15,37±0,120 ^d	15,76±0,060 ^D	16,16±0,060 ^{DC}	8,830 ±0,030 ⁿ	11,78 ±0,020 ^m
KTU-1	23,50 ±0,10 ^b	24,01 ±0,010 ^d	23,66 ±0,040 ^B	24,58 ±0,020 ^A	24,98 ±0,020 ^x	24,65 ±0,10 ^y
Pa8	16,83 ±0,080 ^{dc}	17,01 ±0,10 ^c	17,91 ±0,020 ^{DC}	18,08 ±0,080 ^C	15,33 ±0,020 ^{wz}	18,06 ±0,060 ^z
60' UV-B						
	20 °C	Kontrol***	Kontrol (UV) 28 °C) ***	Kontrol (28 °C)	30 °C	Kontrol***
KTU-24	*14,83±**0,30 ^{dc}	15,92±0,020 ^{bc}	13,45 ±0,050 ^E	16,91 ±0,060 ^{CD}	14,83±0,030 ^{wz}	15,32±0,040 ^{wz}
KTU-51	13,83±0,30 ^d	15,11±0,110 ^c	14,34±0,040 ^{DE}	16,16±0,060 ^D	8,390±0,090 ⁿ	10,212±0,020 ^m
KTU-1	18,50 ±0,50 ^b	23,18 ±0,080 ^a	22,86 ±0,060 ^B	24,58 ±0,080 ^A	20,16 ±0,084 ^y	23,86 ±0,010 ^x
Pa8	16,50 ±0,50 ^{bc}	17,79 ±0,090 ^b	17,66 ±0,060 ^{CD}	18,08 ±0,080 ^C	14,66 ±0,060 ^w	17,06 ±0,060 ^z
	LSD p<0.05		0,303			

*3 tekrarlı deneyde maksimum büyüme çapı

** Farklı sıcaklıklarda gözlenen farklılıkları ifade etmektedir (P < 0.05).

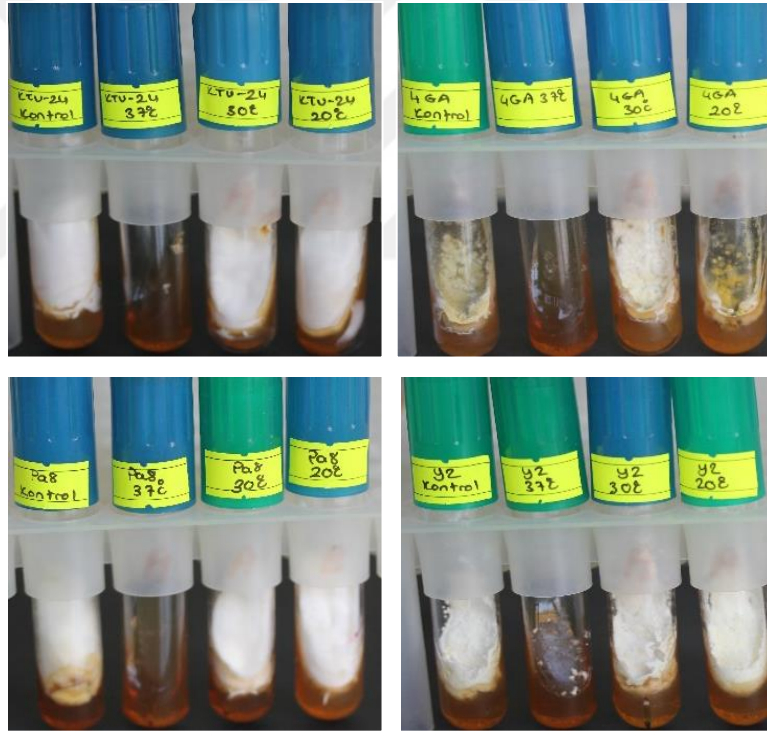
*** Uygulandığı sıcaklıkta UV-B(°) uygulaması yapılmamıştır.

Fisher's Least Significant Difference (LSD) test, $\alpha = 0.05$ göre yapılmıştır. Harfler uygulamalar arasındaki farklılıkları ortaya koymaktadır.

3.3.3. Sıcaklığın Spor Üretimi Üzerine Etkisi

Fungusların spor üretimi üzerindeki sıcaklık etkisini belirlemek için yapılan deney sonrasında tüplerdeki sporlar süspansiyon haline getirilerek konsantrasyonları Neubauer hemositometresi ile sayılarak hesaplandı. Sonuçlar linear regresyon testi ile SPSS 21. istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Farklı sıcaklıklar altında suşların farklı spor çimlenmesi ve spor üretimi kontrol grubu ile kıyaslandığında, anlamlı farklılıklar olduğu belirlendi ($F=19,268$ $df= 3$, $P<0.05$).

İnkübasyon sonrasında 37°C 'de izolatların hiçbirinde büyüme gözlenmedi ($p<0,05$) (Tablo 11, Şekil 24). En düşük sıcaklık olan 20°C 'de suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-51 izolatının diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi spor çimlenme oranı gösteren suş olduğu ve anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p<0,05$).



Şekil 24. Sıcaklığın suşların spor üretimi üzerindeki etkisi

KTU-1 izolatı 30°C 'de ve kontrol grubu ile kıyaslandığında, diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi çimlenme oranı gösteren suş olduğu ve anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Tablo 11. İzolatların spor üretimi üzerine sıcaklığın etkisi

Sıcaklık °C	İzolat (spor/mL x 10 ⁸ ± SD)			
	KTU-24	KTU-51	KTU-1	Pa8
20	13,4 ± [*] 0,608 ^{bc}	14,58±0,520 ^{bc}	2,12±0,040 ^g	12,16±0,080 ^{bcd}
28 (Kontrol)	23,33 ±1,52 ^a	15,20±3,33 ^b	4,40±0,050 ^e	13,98±0,200 ^c
30	2,84 ±0,271 ^{gf}	11,42±0,092 ^d	3,41±0,100 ^f	4,09 ±0,030 ^{ef}
37	0 ±0 ^h	0 ±0 ^h	0 ±0 ^h	0 ±0 ^h
LSD P<0.05		4,04		

*3 tekrarlı deneyde maksimum büyüme çapı

**Farklı sıcaklıklarda standart sapma değerlerini vermektedir.

Fisher's Least Significant Difference (LSD) test, $\alpha = 0.05$ göre yapılmıştır. Harfler uygulamalar arasındaki farklılıkları ortaya koymaktadır.

3.3.4. UV-B'nin Spor Üretimi Üzerine Etkisi

Fungusların spor üretimi üzerindeki UV-B'nin etkisini belirlemek için fungusların UV-B ışığına 30 ve 60 dk. maruz bırakıldı ve inkübasyon sonucunda spor süspansiyonları Neubauer hemositometresi ile sayılarak hesaplandı (Şekil 25).

Farklı sıcaklıklar altında UV-B'nin etkisinin 30 dk. ve 60 dk. süre maruz bırakılan suşların hepsinde UV-B'nin etkisi görüldü ($F=214,254$, $df=15$, $p<0,05$) (Tablo 12). UV-B'nin 30 dk.'lık etkisinde 20 °C'de suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-51 ve KTU-24 izolatının spor üretme oranının diğer suşlara kıyasla daha fazla olduğu ve anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p<0,05$).

UV-B'nin 30 dk.'lık etkisi 30 °C'de suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-1 ve Pa8 çimlenme oranının izolatının diğer suşlara kıyasla daha yüksek olduğu ve anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p<0,05$). UV-B'nin 60 dk.'lık etkisinde 20 °C'de suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında, KTU-51 ve KTU-24 izolatının diğer suşlara kıyasla daha dayanıklı olduğu ve anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p<0,05$).

UV-B'nin 60 dk.'lık etkisi 30 °C'de suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında, KTU-51 ve KTU-1 izolatının diğer suşlara kıyasla daha dayanıklı olduğu ve anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi.

Tablo 12. UV-B'nin izolatların spor üretimi üzerine etkisi

İzolot	30' UV-B (Spor/mL x 10 ⁸ ± SD)					
	20 °C	Kontrol (20 °C) ***	28 °C UV-B	Kontrol (28°C) ***	30 °C	Kontrol (30°C) ***
KTU-24	34,95±1,000 ^b	38,70±0,160 ^a	36,21 ±0205 ^B	42,83 ±0,638 ^A	2,57 ±0,010 ^{zw}	15,57 ±0,300 ^x
KTU-51	15,75±0,100 ^{dc}	16,08±0,080 ^{dc}	12,13±0,880 ^E	16,13±0,130 ^D	1,56 ±0,230 ^w	9,17 ±0,120 ^y
KTU-1	2,85 ±1,000 ^e	3,66 ±0,660 ^e	4,25 ±0,250 ^F	4,58 ±0,330 ^F	3,23 ±0,230 ^{zw}	4,18 ±0,180 ^z
Pa8	13,45 ±0,070 ^d	16,21 ±0,100 ^c	16,27 ±0,130 ^{DC}	18,15 ±0,150 ^C	4,1 ±0,050 ^{zw}	4,25 ±0,100 ^z
60' UV-B (Spor/mL x 10 ⁸ ± SD)						
	20 °C	Kontrol (20 °C) ***	28 °C UV-B	Kontrol (28°C) ***	30 °C	Kontrol (30°C) ***
KTU-24	26,33±0,330 ^b	31,44±0,044 ^a	36,33 ±0,330 ^B	42,83 ±0,215 ^A	20,07±0,070 ^y	28,07±1,070 ^x
KTU-51	14,55±0,400 ^{dc}	15,53±0,300 ^c	11,45±0,450 ^E	16,13±0,130 ^D	10,27±0,270 ^w	14,27±0,270 ^z
KTU-1	2,60 ±0,100 ^e	2,85 ±0,850 ^e	4,33 ±0,300 ^F	4,58 ±0,580 ^F	3,27 ±0,270 ⁿ	4,46±0,130 ^m
Pa8	10,84 ±0,110 ^d	12,84 ±0,170 ^{dc}	17,32±1,110 ^{DC}	18,15 ±1,28 ^C	4,01 ±0,010 ^{mn}	4,36 ±0,110 ^{mn}
LSD	P<0,05			0,324		

*3 tekrarlı deneyde maksimum büyüme çapı

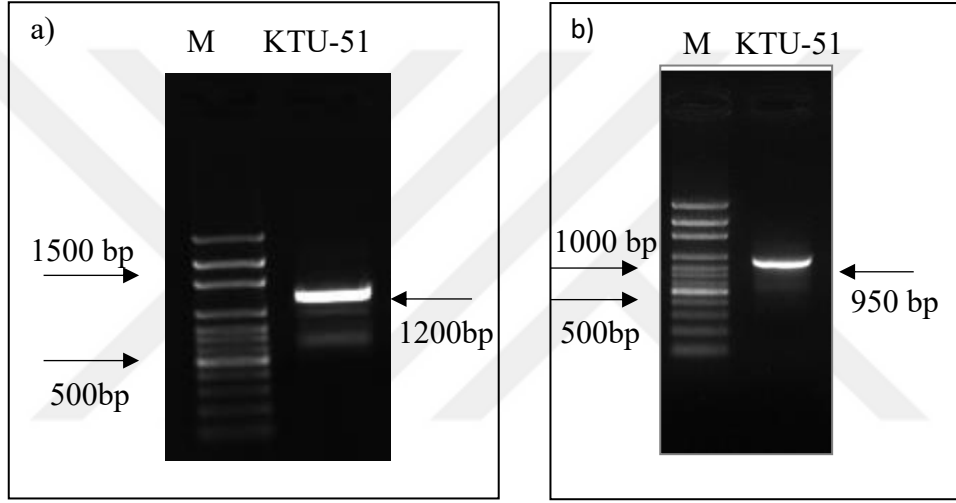
** Farklı sıcaklıklarda gözlenen farklılıkları ifade etmektedir (P < 0.05).

*** Uygulandığı sıcaklıkta UV-B() uygulaması yapılmamıştır.

Fisher's Least Significant Difference (LSD) test, α = 0.05 göre yapılmıştır. Harfler uygulamalar arasındaki farklılıkları ortaya koymaktadır.

3.5. İzolatların Proteaz ve Kitinaz Enzimlerini Kodlayan Gen İçeriklerinin Araştırılması ve Taksonomik Pozisyonlarının Belirlenmesi

İnsektisidal etkisi yüksek ve *Metarhizium* cinsine ait KTU-51 izolatının *pr1A* ve *pr1B* proteaz genine ait gen bölgesi nested PCR yöntemiyle çoğaltıldı. İki farklı çoğaltma reaksiyonu sonucunda elde edilen bantlar Şekil 26'de gösterilmektedir. Yaklaşık 1200 bp uzunluğundaki *pr1A* ve 950 bp uzunluğundaki *pr1B* gen bölgesinin PCR ürünleri, daha sonra QIA quick kiti ile saflaştırılarak DNA dizi analizi yapıldı.



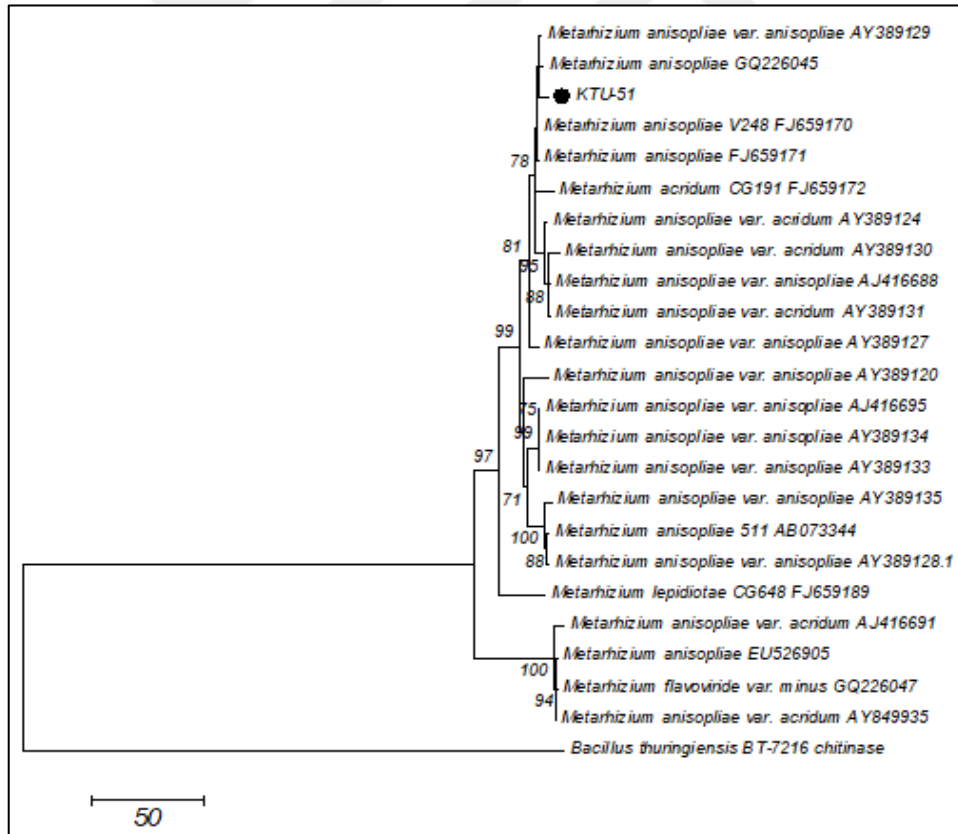
Şekil 26. Entomopatojenik fungusların proteaz enzim kodlayan gen bölgeleri. a) *pr1A* gen bölgesinin PCR ürünü b) *pr1B* gen bölgesinin PCR ürünü M: 100 bp DNA ladder

Elde edilen *pr1A* ve *pr1B* gen bölgesi dizileri NCBI GenBank'ta blastlanarak izolatların GenBank'ta yer alan diğer entomopatojenik fungus türleri ile yüzde benzerlik oranları belirlendi. Yüksek öldürücü etkiye KTU-51 *Metarhizium brunneum* suşunun GenBank'daki izolatlarla karşılaştırılması sonucu *pr1A* ve *pr1B* gen bölgesini içerdiği tespit edildi (Tablo 13). Bu iki gen bölgesine ait dizilerin filogenetik ağaçları çizildi. Filogenetik analizler için dış grup olarak *Bacillus thuringiensis* bakterisinin kitinaz gen sırası kullanıldı.

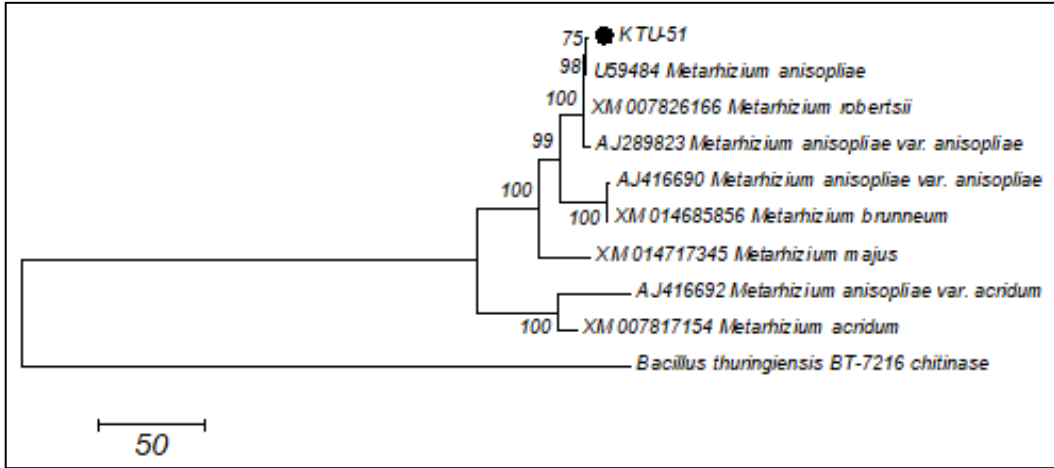
Tablo 13. *Metarhizium* izolatlarının *prlA* ve *PrlB* gen bölgesi içeriklerinin diğer izolatlarla benzerlikleri

İzolat	<i>prlA</i> gen dizisi	<i>prlA</i> gen benzerliği	Erişim No
	<i>M. anisopliae</i>	96	AB073326.1
KTU-51	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	99	AY389129.1
	<i>prlB</i> gen dizisi	<i>prlB</i> gen benzerliği	
KTU-51	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	96	AJ416690.1
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	97	U59484.1

Gen bölgesi *prlA* için NCBI’da tarama yapıldığında ortaya çıkan filogenetik ağaç da KTU-51 izolatının *M. anisopliae* var. *anisopliae* (AY389129) suşuna yakın akrabalık gösterdi (Şekil 27). NCBI (National Center for Biotechnology Information) sisteminden *prlA* gen bölgesi için erişim numarası (Accession Number) alındı ve KTU-51 izolatı için MK801101 olarak belirlendi.



Şekil 27. Fungal izolatların *prlA* gen dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi.

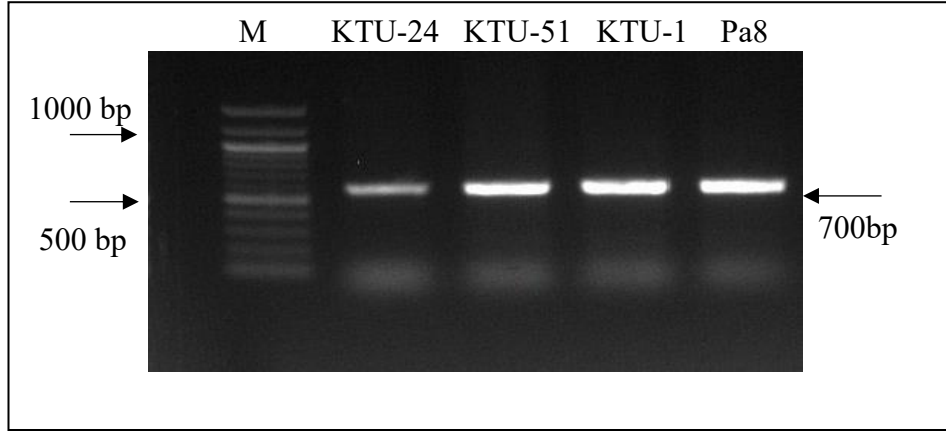


Şekil 28. Fungal izolatların *pr1B* gen dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi.

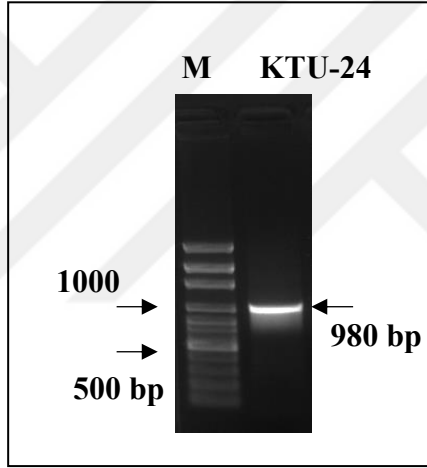
Gen bölgesi *pr1B* için NCBI’da tarama yapıldığında ortaya çıkan filogenetik ağaç KTU-51 izolatının *M. anisopliae* (U59484) suşuna yakın akrabalık gösterdi (Şekil 28). NCBI sisteminden *pr1B* gen bölgesi için erişim numaraları alındı. KTU-51 MN520317 olarak belirlendi.

Bu çalışmada kullanılan ve tarama sonucunda yüksek insektisidal etki gösteren dört izolat için Zhu vd. (2008)’de yaptığı çalışmada, birçok EPF’ler için ortak olarak tasarlanan dejenerat primerler kullanılarak kitinaz enziminin varlığı tespit edildi ve filogenetik analizi gerçekleştirildi. Aynı zamanda *Beauveria* cinsine ait *Beauveria bassiana* KTU-24 izolatı için de *bbchit1* geni için ilgili primerler kullanılarak ilgili bölgenin tespiti yapıldı. Tarama testinde öldürücü etkisi belirlenen fungusların hepsi için PCR yöntemi ile yaklaşık 690 bp’lik *chit* geni ve 980 bp lik *bbchit1* geni sadece *Beauveria bassiana* KTU-24 izolatı için gen bölgesi çoğaltıldı (Şekil 29, Şekil 30).

PCR ürünleri daha sonra QIA quick kiti ile saflaştırılarak DNA dizi analizi yapıldı. NCBI GenBank’ta *chit* gen bölgelerine ait bölgeler blastlanarak izolatların GenBank’ta yer alan diğer entomopatojenik fungus türleri ile yüzde benzerlik oranları belirlendi. Yüksek öldürücü etkiye sahip bu entomopatojen suşların GenBank’daki izolatlarla karşılaştırılması sonucu bütün izolatların *chit* gen bölgesini içerdiği tespit edildi (Tablo 14).



Şekil 29. Entomopatojenik fungusların *chit* gen bölgesinin PCR ürünü. M: 100 bp DNA ladder

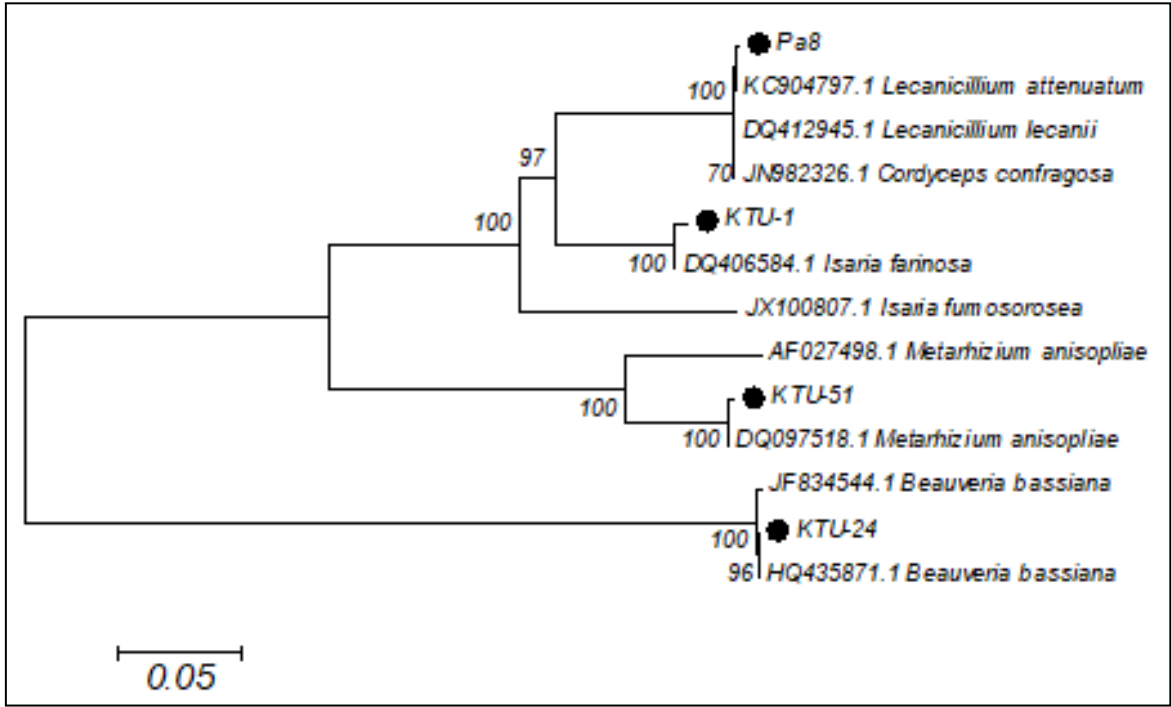


Şekil 30. KTU-24'ün *bbchit1* gen bölgesinin PCR ürünü. M: 100 bp DNA ladder

Tablo 14. İzolatlarının *chit* gen bölgesi içeriklerinin diğer izolatlarla benzerlikleri

İzolat	<i>Chit</i> gen dizisi	<i>chit</i> gen benzerliği	Erişim No
KTU-51	<i>Metarhizium anisopliae</i>	99	DQ097518
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	99	AJ243014
KTU-1	<i>Isaria farinosa</i>	99	DQ406584
	<i>Isaria fumosorosea</i>	95	JX100807
KTU-24	<i>Beauveria bassiana</i>	99	HQ435871
	<i>Beauveria bassiana</i>	99	JF834544
Pa8	<i>Lecanicillium attenuatum</i>	96	KC904797
	<i>Lecanicillium lecani</i>	95	DQ412945

Oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde, KTU-24 izolatın HQ435871 *Beauveria bassiana*, KTU-51 izolatının DQ097518 *Metarhizium anisopliae*, KTU-1 izolatının DQ406584 *Isaria farinosa* ve Pa8 izolatının KC904797 *L. attenuatum* suşu ile yakın akraba olduğu görülmektedir (Şekil 31).



Şekil 31. Fungal izolatların *chit* gen dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç- bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi.

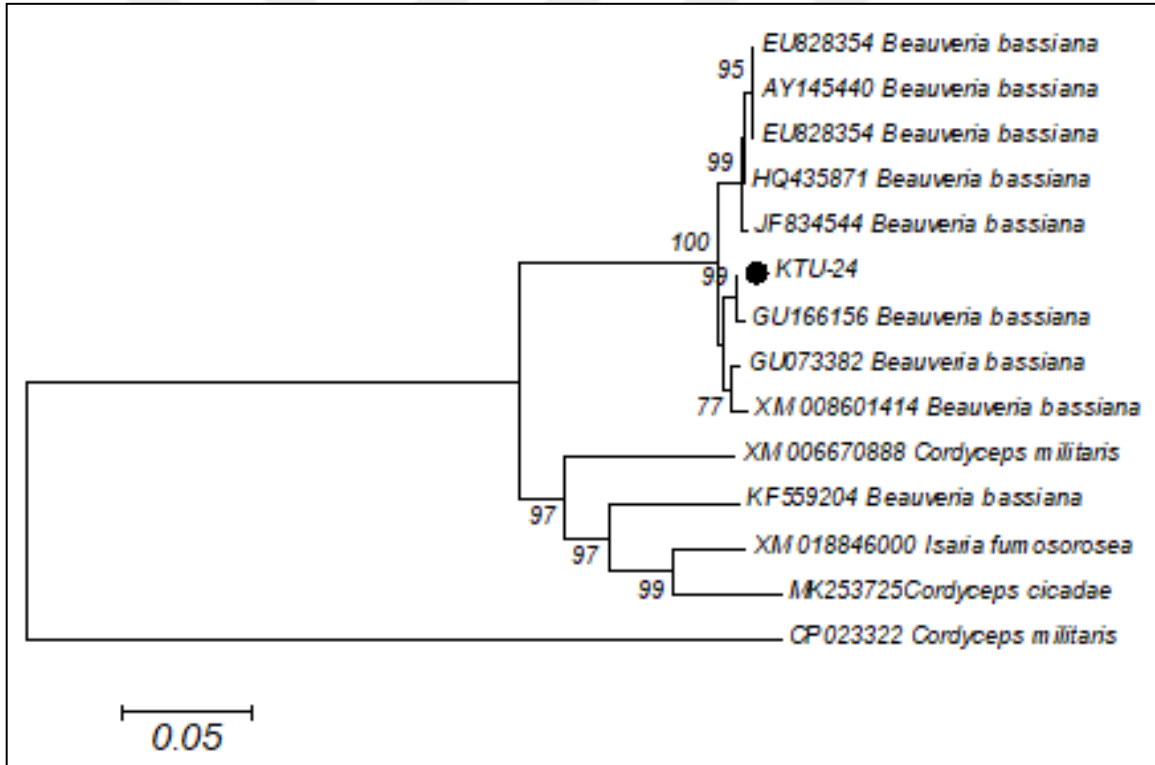
KTU-24, KTU-51, KTU-1, KTU-51 ve Pa8 izolatları için NCBI sisteminden *chit* gen bölgesi erişim numaraları sırasıyla MN515049, MN515048, MN515050 ve MN515051 olarak verildi.

KTU-24 izolatında PCR ile belirlenen *bbchit1* gen bölgesine ait diziler NCBI GenBank'ta *bbchit1* gen bölgelerine ait bölgeler ile blastlanarak izolatların GenBank'ta yer alan diğer entomopatojenik fungus türleri ile yüzde benzerlik oranları belirlendi ve GenBank'daki izolatlarla karşılaştırılması sonucu KTU-24'ün *bbchit* gen bölgesini içerdiği tespit edildi (Tablo 15).

Tablo 15. İzolatlarının *bbchit* gen bölgesi içeriklerinin diğer izolatlarla benzerlikleri

İzolat	<i>bbchit</i> gen dizisi	<i>bbchit</i> gen benzerliği	Erişim No
KTU-24	<i>Beauveria bassiana</i>	98	GU166156
	<i>Beauveria bassiana</i>	98	GU073382

bbchit gen bölgesi için ortaya çıkan filogenetik ağaç incelendiğinde KTU-24 izolatın *Beauveria bassiana* GU166156 izolatı ile yakın akraba olduğu görülmektedir (Şekil 32). NCBI sisteminden *bbchit* gen bölgesi için erişim numarası MN685353 olarak verildi.



Şekil 32. Fungal izolatların *bbchit* gen dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç bağla (bootstrap) değerlerinin %70 ve yukarısı olanlar belirtildi.

3.6. Formülasyonun Geliştirilmesi

3.6.1. Yağ-bazlı Formülasyonunun Hazırlanması

Gerek doz denemeleri ve gerekse fiziksel koşullara dayanıklılık özellikleri değerlendirildiğinde KTU-24 ve KTU-51 izolatlarının ürün geliştirilmesi noktasında avantajlı olduğu belirlendi.

3.6.1.1. İzolatlardan Konidiaların Üretilmesi

Kullanılacak fungal izolat ‘2.6.1.1’ anlatıldığı gibi uygun besiyerinde ve uygun büyütme şartlarında büyütüldü ve katı substrat için gerekli olan sporlar sıvı besiyerinde elde edildi (Şekil 33).



Şekil 33. Seçilen fungusların sıvı ortamda üretilmesi

3.6.1.2. KTU-51 (*Metarhizium anisopliae*) ve KTU-24 (*Beauveria bassiana*) İzolatlarının Katı Substratta Üretilmesi

Pirinç üzerine transfer edilecek biyomas hazırlandı ve büyütme torbalarına aktarıldı. Bu işlem sonrasında kilogram başına 150 ml içerisinde 1×10^7 - 5×10^8 spor/mL konsantrasyon olacak şekilde inoküle edilerek 28 °C 20-30 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sırasında fungus sporlarının iyi gelişebilmesi için fungus büyütme poşetleri 5 gün arayla masaj yapılarak homojen olarak dağılması sağlandı (Şekil 34).



Şekil 34. Katı substrat olarak pirinç üzerinde fungal büyüme

Bu büyüme aşamasında masaj yapılmayan torbalarda pirinçlerin birbirine yapıştığı ve büyümenin yeterince verimli olmadığı gözlemlendi. Büyüme sonucu oluşan konidyalardan spor hasadı yapılması için ön bir kurutma işlemine tabi tutuldu. Kurutma işlemi öncesi büyütme gerçekleştirilen poşetler steril kabin içerisinde açıldı ve örneklerden numune alındı (Şekil 35).



Şekil 35. Katı substrat olarak pirinç üzerinde üretilen *M. anisopliae* (KTU-51) sporları

Bu örneklerin alınmasında KTU-24 izolatinın pirinç yüzeyinde büyüdüğü fakat 'un gibi 'spor oluşturan bir suş olmadığı için pirinçten ayrıldı. Bu olumsuzluğun ön kurutma işlemi ile aşılabileceği düşünüldü ve kurutmaya bırakıldı. Kurutma işlemi için steril kabinde açılan funguslar özellikle Kraft kese kağıtlarında havalandırma delikleri açılarak kurutma işlemine tabi tutuldu (Şekil 36).



Şekil 36. Katı substrat örneklerin ön kurutma aşaması

Kurutma işlemi 28 °C'de 10-15 gün inkübasyona bırakılarak yapıldı. Bu işlem sırasında Kraft kağıtlarından 5 günlük aralıklarla örnekler alınarak kuru ve yaş ağırlık hesaplaması yapıldı ve nem değerleri hesaplandı. Örneklerin alınması kontaminasyon riskini en aza indirmek için steril kabin içerisinde yapıldı. Ön kurutma işleminden sonra fungus sporlarının toplanabilmesi için uygun gözenek özelliklerine sahip elekler yardımı ile fungus sporları elendi. Bu eleme sırasında özellikle KTU-24 suşunda farklı koşullarda birkaç kez bu işlem uygulansa bile istenilen verim alınamadığı için bu izolatin fermentörde üretimine geçildi.

KTU-51 izolatinı yüksek verim elde edildi. KTU-51 izolatinı eleme sonucu toplanan fungus sporları vakumlu desikatör yardımıyla nem oranı %5 olacak şekilde kurutma işlemine tabi tutuldu. Kurutma işleminden sonra sporların seri seyreltiklerinden seçici besiyerine ekim yapıldı ve koloni oluşturan birim (CFU) değeri gram başına düşen aktif spor 2×10^{11} olacak şekilde hesaplandı. Elde edilen toz formu, kullanılmak üzere 100 ml'lik cam şişeler içerisinde +4 °C'de düşük nem kapasiteli buzdolabında saklandı (Şekil 37).



Şekil 37. Katı substrat üzerinde üretilen KTU-51 sporlar

3.6.1.3. *Beauveria bassiana* (KTU-24)'nın Fermentörde Üretilmesi

KTU-24 izolatının sıvı bir ortamda blastosporları öncelikli olarak başlangıç kültüründe üretildi ve üretilen blastosporlar 5×10^6 spor/ml'lik spor süspansiyonu fermentör besiyerine inoküle edildi. İnkübasyon sonrasında elde edilen blastosporlar steril suda çözüldü. Minimum konsantrasyon 2×10^{10} spor/ml olarak ayarlandı. Kurutma işlemi yapmadan önce sporların morfolojik bir değişikliğe uğrayıp uğramadığını anlamak için blastosporlar mikroskopta incelendi ve spordan PDAY besiyerine ekim yapıldı. Ekim sonrasında aktif yapıların oluşması ile sporlar kurutma işlemine tabii tutuldu.

3.6.1.4. Hazırlanan Formülasyonların Sprey Kurutucu ile Kurutulması

Üretilen blastosporlar kurutma öncesi fermentörden toplandı ve besiyeri kalıntıları uzaklaştırıldı. Sporların süt tozunda (Skim Milk Powder, Sigma) çözülmesi blastosporların sprej kurutucudan geçerken virülans kaybının en aza indirgenmesi sağlandı. Kurutma sonrası elde edilen sporların koloni oluşturan birim (colony forming units, CFU) değerinin belirlenmesi için elde edilen kuru spordan 1 gr alınıp seri seyreltikleri hazırlandı, bunlardan seçici besiyerine ekim yapıldı ve koloni sayımı yapıldı. Spor konsantrasyonu gram başına düşen aktif blastospor, 2×10^{11} olacak şekilde ayarlandı ve yağ formülasyonunda kullanılacak aktif spor miktarı belirlendi. Elde edilen sporlar kullanılmak üzere -20 °C de saklandı (Şekil 38).



Şekil 38. Sprey kurutucudan geçirilmiş KTU-24 blastosporları.

3.6.1.5. Üretilen Konidiyaların Bitkisel Yağ ile Karıştırılması

Yukarıda verildiği gibi her iki izolattan toz halinde sporlar elde edildi. Bu izolatlardan ‘‘2.7.’’ basamağında anlatıldığı gibi %5 yağ içeren formülasyonlar oluşturuldu. Geliştirilen formülasyonlar, KTU-24 izolatu için AFİSİDAL-OD BBASTR61 ve KTU-51 izolatu için AFİSİDAL-OD METTR61 olarak isimlendirildi (Şekil 39).



Şekil 39. Öldürücü etkisi yüksek iki suştan geliştirilen ürünler

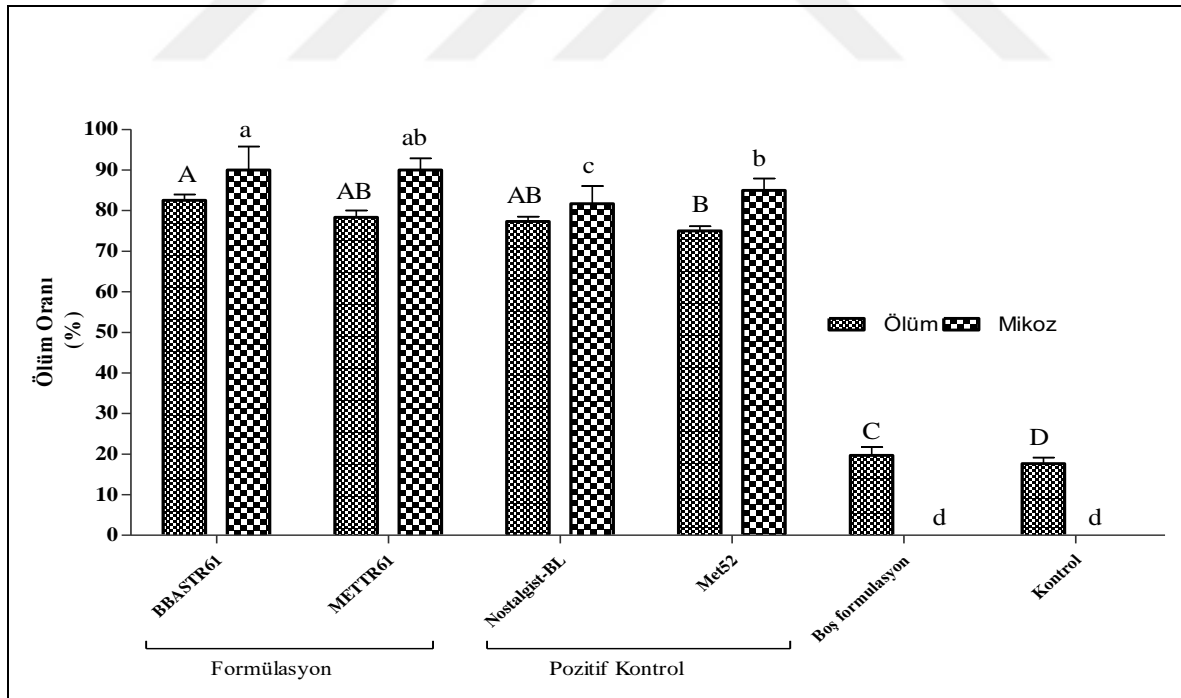
Ürünlerin içerikleri stok formülasyon içeriğinde %10 aktif spor olacak şekilde oluşturuldu. Ürünlerin son hacmi 2×10^{10} CFU / mL olarak belirlendi.

3.7. Formülasyonun Etkinliğinin Test Edilmesi

Bu deney, bu sayfaya kadar getirdiğimiz çalışmalardan elde ettiğimiz ürünün zararlılar üzerindeki etkinliğini belirlemek amacıyla gerçekleştirildi.

3.7.1. Formülasyonların *Myzus persicae* Üzerinde Test Edilmesi

Formülasyonun stok solüsyonundan 1×10^9 CFU/mL uygulama solüsyonu hazırlamak için 1 ml alındı ve 10 ml saf suda çözüldü. Son konsantrasyon 1×10^8 CFU/mL olarak belirlendi ve *M. persicae* nimflerine uygulandı. Uygulama sonrasında ölü bulunan nimfler sayıldı ve yüzde ölüm değerleri hesaplandı (Şekil 40).



Şekil 40. Ürünlerin *M. persicae* nimfleri üzerinde laboratuvar uygulaması

Yapılan çalışmada geliştirilen formülasyonlar, ticari ürünler, boş formülasyonlar ve kontrol grubu karşılaştırıldı ve aralarında anlamlı farklılıklar ortaya koyuldu ($p < 0.05$).

Uygulama sonucunda KTU-24 (*B. bassiana*)'den üretilen BBASTR61 ürününün, KTU-51(*M. anisopliae*)'den üretilen METTR61 ürününden daha etkili olduğu ama mortalite oranlarının yakın olduğu belirlendi. İstenilen canlılığa sahip spor karışımlarından üretilen her iki mikoinsektisit zararlı üzerinde test edilmesi sonucunda Abbott formülüne (1925) göre BBASTR61 için %82,50 ve METTR61 için %78,33 oranlarında mortalite belirlendi. Kontrol gruplarında ticari ürün Nostalgist-BL için %77,33, Met52 için %75 ve Boş formülasyon %19,66 ve Kontrol %17,66 mortalite belirlendi (Şekil 40).

Tüm durumlar, Tek Yönlü Varyans Analiz (ANOVA)'da Post Hoc Tukey HSD testinde karşılaştırıldı ve gruplar arasındaki anlamlı farklar ortaya koyuldu ($F(5, 12) = 413,097$, $p < .05$) (Tablo 16). Tablo 16'da her grubun karşılaştırmaları yapılmış ve bu karşılaştırılan grupların ortalamaları arasındaki farklar (Mean Difference) sayısal olarak verilmiştir. Bu sayısal değerlerin yanında bir yıldız (*) işaretinin bulunması bu grupların ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. Tablo incelendiğinde, kontrol grubuna göre BBASTR61 ($M = -64,833$, $SD = 2,50$), METTR61 ($M = -60,666$, $SD = 2,88$) ve Nostalgist-BL ($M = -59,666$, $SD = 2,08$), Met52 ($M = -57,333$, $SD = 2,00$) özellikle anlamlı farklılıklar olduğu görülmektedir. BBASTR61 formülasyonu diğer gruplarla karşılaştırıldığında, özellikle kontrol grubu ($M = -64,833$, $SD = 2,50$), boş formülasyon $M = 62,833$, $SD = 3,51$) ve ticari ürün Met52 ($M = 7,50$, $SD = 2,00$) arasında anlamlı farklılıklar ortaya koyuldu. METTR61 formülasyonu diğer gruplarla karşılaştırıldığında boş formülasyon ($M = -58,666$, $SD = 3,51$) ve kontrol ($M = 60,666$, $SD = 2,51$) grubu arasında anlamlı farklar ortaya koyuldu.

Tablo 16. Laboratuvar denemesinin ölüm oranlarının Tek Yönlü Varyans Analiz (ANOVA) Post Hoc Tukey HSD sonuçları (SE=2.149)

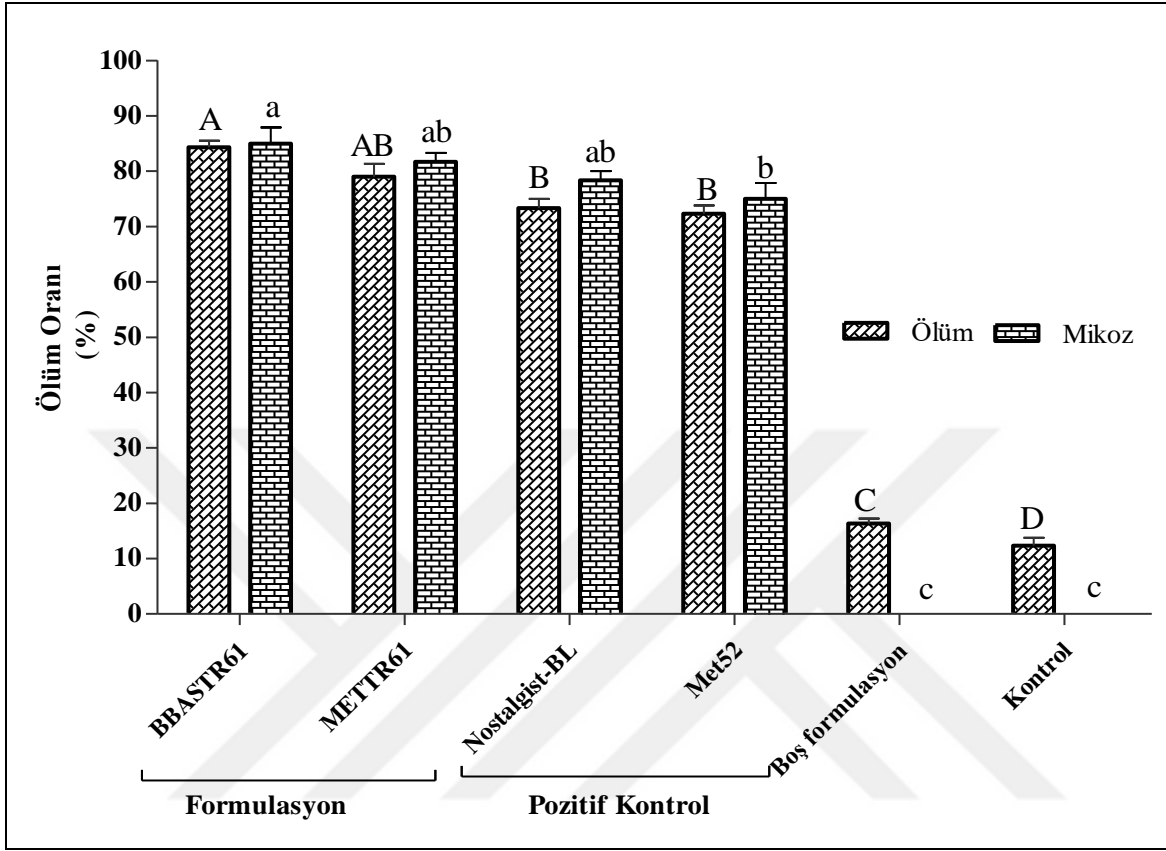
Ölüm Oranı (%)		Mean Difference	Sig.	95% Confidence Interval		
				Alt sınır	Üst Sınır	
Kontrol	17,66	BBASTR61	-64,83333*	,000	-72,0533	-57,6133
		METTR61	-60,66667*	,000	-67,8867	-53,4467
		Nostalgist-BL	-59,66667*	,000	-66,8867	-52,4467
		Met52	-57,33333*	,000	-64,5533	-50,1133
		Boş formülasyon	-2,00000	,931	-9,2200	5,2200
BBASTR61	82,50	Kontrol	64,83333*	,000	57,6133	72,0533
		METTR61	4,16667	,426	-3,0533	11,3867
		Nostalgist-BL	5,16667	,229	-2,0533	12,3867
		Met52	7,50000*	,040	,2800	14,7200
		Boş formülasyon	62,83333*	,000	55,6133	70,0533
METTR61	78,33	Kontrol	60,66667*	,000	53,4467	67,8867
		BBASTR61	-4,16667	,426	-11,3867	3,0533
		Nostalgist-BL	1,00000	,997	-6,2200	8,2200
		Met52	3,33333	,642	-3,8867	10,5533
		Boş formülasyon	58,66667*	,000	51,4467	65,8867
Nostalgist-BL	77,33	Kontrol	59,66667*	,000	52,4467	66,8867
		BBASTR61	-5,16667	,229	-12,3867	2,0533
		METTR61	-1,00000	,997	-8,2200	6,2200
		Met52	2,33333	,878	-4,8867	9,5533
		Boş formülasyon	57,66667*	,000	50,4467	64,8867
Met52	75,00	Kontrol	57,33333*	,000	50,1133	64,5533
		BBASTR61	-7,50000*	,040	-14,7200	-,2800
		METTR61	-3,33333	,642	-10,5533	3,8867
		Nostalgist-BL	-2,33333	,878	-9,5533	4,8867
		Boş formülasyon	55,33333*	,000	48,1133	62,5533
Boş formülasyon	19,66	Kontrol	2,00000	,931	-5,2200	9,2200
		BBASTR61	-62,83333*	,000	-70,0533	-55,6133
		METTR61	-58,66667*	,000	-65,8867	-51,4467
		Nostalgist-BL	-57,66667*	,000	-64,8867	-50,4467
		Met52	-55,33333*	,000	-62,5533	-48,1133

*Aralarında anlamlı farklar olduğunu simgeler $p < 0.05$

3.7.2. Saksı denemesi

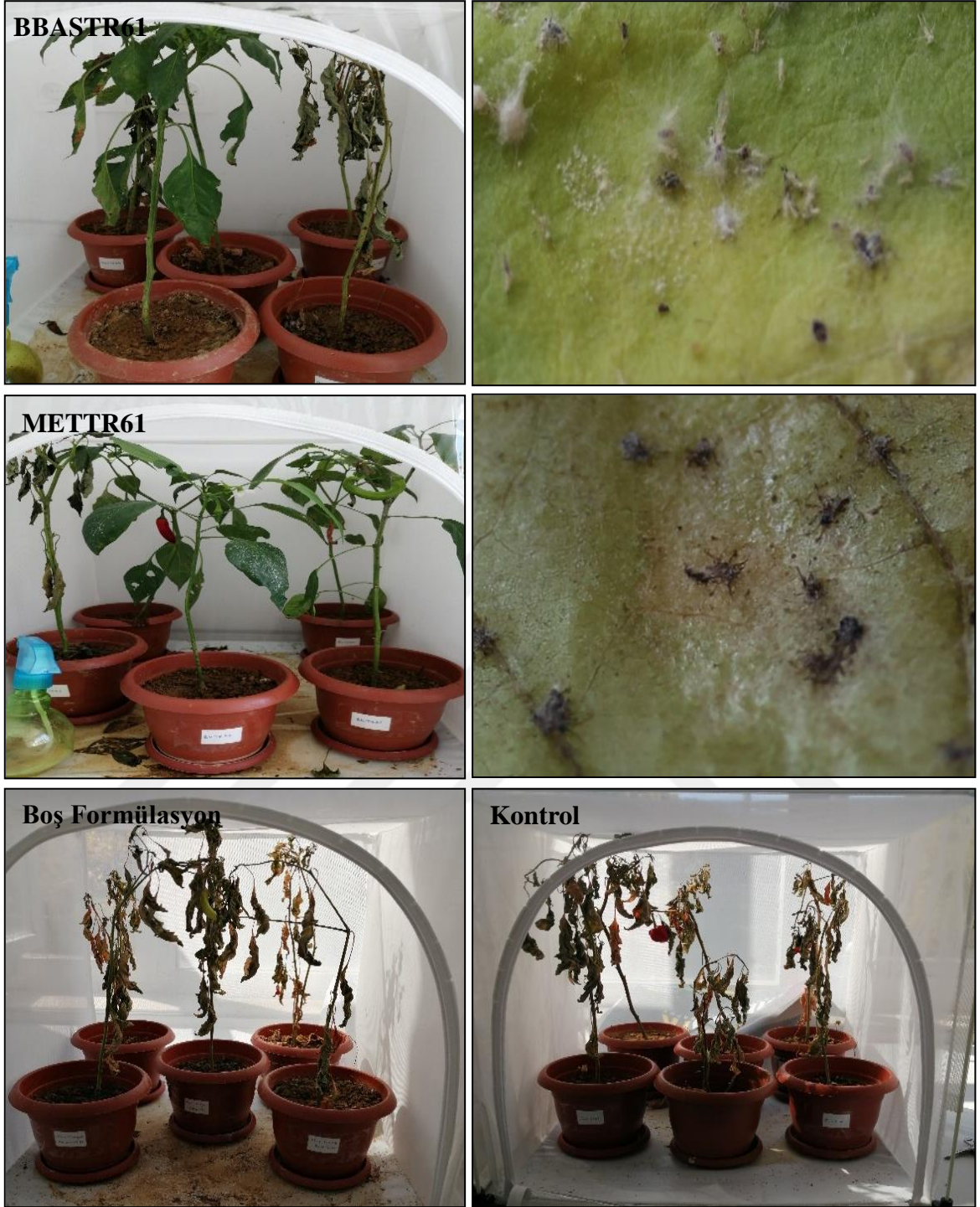
Çalışma için örnek konak bitki olarak biber fideleri seçildi. Saksılarda gerekli büyüme sağlandıktan sonra *M. persicae* nimfleri saksılara salınarak yaprak başına on adet nimf düşecek şekilde çoğalmaları beklendi. Bölüm 3.6.'da hazırlanan formülasyon ve pozitif kontrol için seçilen ticari formülasyonlardan 1×10^8 spor / mL süspansiyonları hazırlandı ve uygulama püskürtme yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

Uygulama sonrasında, zararlının nimfleri üzerinde BBASTR61, METTR61, Nostalgist-BL, Met52, Boş formülasyon ve kontrol grubu %65 üzerinde mortalite gösterdi (Şekil 41).



Şekil 41. Ürünlerin *M. persicae* üzerinde saksı denemeleri

Yapılan saksı denemesinde üretilen formülasyonlar ticari ürün ile karşılaştırıldı ve anlamlı farklılıklar ortaya koyuldu ($p < 0.05$). Üretilen ürünler ile yapılan denemede, *M. persicae* üzerinde etkili ürünün *B. bassiana*'dan üretilen BBASTR61 ürünü olduğu belirlendi (Şekil 42). Geliştirilen ürünler için ölüm oranı Abbott formülüne göre BBASTR61 için %84,33, METTR61 için %79 olarak belirlendi. Nostalgist-BL için %73,33, Met52 için %72,33, Boş Formülasyon için %16,33 ve Kontrol için %12,33 olarak belirlendi (Şekil 41).



Şekil 42. Saksı denemesi biber fidelerindeki değişim ve *M. persicae* nimflerinde melanizasyon ve mikozlanma

Tablo 17. Saksı denemesi ölüm oranlarının Tek Yönlü Varyans Analiz (ANOVA) Post Hoc Tukey HSD sonuçları (SE=2.20)

	Ölüm Oranı (%)		Mean Difference	Sig.	95% Confidence Interval	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Kontrol	12,33	BBASTR61	-72,00000*	,000	-79,3987	-64,6013
		METTR61	-66,66667*	,000	-74,0653	-59,2680
		Nostalgist-BL	-61,00000*	,000	-68,3987	-53,6013
		Met52	-60,00000*	,000	-67,3987	-52,6013
		Boş formülasyon	-4,00000	,491	-11,3987	3,3987
BBASTR61	84,33	Kontrol	72,00000*	,000	64,6013	79,3987
		METTR61	5,33333	,223	-2,0653	12,7320
		Nostalgist-BL	11,00000*	,003	3,6013	18,3987
		Met52	12,00000*	,002	4,6013	19,3987
		Boş formülasyon	68,00000*	,000	60,6013	75,3987
METTR61	79	Kontrol	66,66667*	,000	59,2680	74,0653
		BBASTR61	-5,33333	,223	-12,7320	2,0653
		Nostalgist-BL	5,66667	,178	-1,7320	13,0653
		Met52	6,66667	,087	-,7320	14,0653
		Boş formülasyon	62,66667*	,000	55,2680	70,0653
Nostalgist-BL	73,33	Kontrol	61,00000*	,000	53,6013	68,3987
		BBASTR61	-11,00000*	,003	-18,3987	-3,6013
		METTR61	-5,66667	,178	-13,0653	1,7320
		Met52	1,00000	,997	-6,3987	8,3987
		Boş formülasyon	57,00000*	,000	49,6013	64,3987
Met52	72,33	Kontrol	60,00000*	,000	52,6013	67,3987
		BBASTR61	-12,00000*	,002	-19,3987	-4,6013
		METTR61	-6,66667	,087	-14,0653	,7320
		Nostalgist-BL	-1,00000	,997	-8,3987	6,3987
		Boş formülasyon	56,00000*	,000	48,6013	63,3987
Boş formülasyon	16,33	Kontrol	4,00000	,491	-3,3987	11,3987
		BBASTR61	-68,00000*	,000	-75,3987	-60,6013
		METTR61	-62,66667*	,000	-70,0653	-55,2680
		Nostalgist-BL	-57,00000*	,000	-64,3987	-49,6013
		Met52	-56,00000*	,000	-63,3987	-48,6013

*Aralarında anlamlı farklar olduğunu simgeler $p < 0.05$

Tüm durumlar, Tek Yönlü Varyans Analiz (ANOVA)'da Post Hoc Tukey HSD testinde karşılaştırıldı ve gruplar arasında anlamlı farklar ortaya koyuldu ($F(5, 12) = 443,440$, $p < 0.05$). Tablo 17 incelendiğinde, kontrol grubuna göre ve BBASTR61 ($M = -72,00$, $SD = 2,08$), METTR61 ($M = -66,666$, $SD = 4,00$), Nostalgist-BL ($M = -61,00$, $SD = 2,88$), Met52 ($M = -60,00$,

SD=2,51) özellikle anlamlı farklılıklar olduğu ortaya koyuldu. BBASTR61 formülasyonu diğer gruplarla karşılaştırıldığında özellikle kontrol grubu (M=72,00, SD=2,51), Boş formülasyon M=68,00, SD=4,00) ve Met52 M=12,00, SD=2,51) arasında anlamlı farklılıklar ortaya koyuldu. METTR61 formülasyonu diğer gruplarla karşılaştırıldığında Boş formülasyon (M=62,66 SD=4,00) ve kontrol (M=66,666, SD=2,51) grubu arasında anlamlı farklar ortaya koyuldu (Tablo 17).



4. TARTIŞMA

Biyolojik mücadelede kullanılacak mikrobiyal etmenleri etkinliğinin yüksek olması, etmenin ilgili bölgenin koşullarına uyum sağlamasıyla alakalıdır. Yapılan çalışmalarda, entomopatojen fungusların izole edildikleri bölgede uygulanmalarının başka ülke ve bölgelerden temin edilen entomopatojen fungus türlerine göre daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Beron ve Diaz, 2005). Ülkemizde tarımsal arazilerde entomopatojen fungus çeşitliliği ve bunların zararlılar üzerine etkinliklerinin araştırılması ile ilgili bazı çalışmalar bulunmaktadır (Cırbın vd., 2017; Kocacevik vd., 2015, 2016; Güven vd., 2015, Er, 2013; Sevim vd., 2013, 2010a, 2010b). Ancak ülkemizde, entomopatojen fungusların zararlı böcek popülasyonlarında neden olduğu hastalıkların araştırılmasında, zararlılar üzerindeki etkilerinin artırılmasında ve zararlıların mücadelesinde mikrobiyal insektisit olarak kullanılmasında çok az gelişme sağlanmıştır. Mikrobiyal mücadele etmenleri ile yapılan çalışmalar genellikle doğa koşullarında bulunan bu fungusların tespit edilmesi ile başlayıp, çoğaltılması ve uygulanması ile devam etmektedir (Er, 2013).

Bu tez çalışmasında yerel olarak ülkemizden farklı toprak ve zararlı böceklerden izole edilmiş entomopatojen fungus kültürümüzden 15 adet etkili izolat kullanıldı ve *M. persicae* nimfleri üzerinde etkinliği belirlendi. Bu 15 adet izolattan 4 adet farklı cinse ait EPF'nin diğer izolatlarla göre bu zararlı üzerinde daha etkili olduğu belirlendi. Bu izolatlardan özellikle KTU-24 (*Beauveria bassiana*), KTU-51 (*Metarhizium anisopliae*), KTU-1 (*Isaria fumosorosea*) ve Pa8 (*Lecanicillium muscarium*) izolatları 1×10^7 spor/mL konsantrasyonda *Myzus persicae* üzerinde beşinci günde sırasıyla %100, %94, %86,66 ve %73,33 ölüm oranı gösterdi. Özellikle tarama testleri sonucunda bu 4 izolat için yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde, KTU-24 (*Beauveria bassiana*) izolatu *Thaumetopea pityocampa*'dan (Sevim vd., 2010a), KTU-51 (*Metarhizium anisopliae*) ve KTU-1 (*Isaria fumosorosea*) izolatu topraktan (Sevim vd., 2010a; Sevim vd., 2010b) ve Pa8 (*Lecanicillium muscarium*) izolatu *Pristiphora abietina*'dan izole edildi (Biryol vd., İncelemede 2020). KTU-24 izolatu *T. pityocampa*, *Agelastica alni*, *Tenebrio molitor*, *Plagiodera versicolora*, *Corythucha ciliata*, *Dendroctonus micans*, *Corythucha arcuata*, *Leptinotarsa decemlineata* zararlıları üzerinde yapılan tarama testlerinde %90'nın üzerinde öldürücü etki gösterdi. KTU-51 izolatu *Agelastica alni*, *Tenebrio molitor*, *Plagiodera versicolora*, *Corythucha ciliata* zararlıları üzerinde %85 üzerinde insektisidal aktivite gösterdiği ve KTU-1 izolatu *Agelastica alni*, *Tenebrio molitor*, *Plagiodera versicolora*,

Corythucha ciliata, *Dendroctonus micans*, *Corythucha arcuata* zararlıları üzerinde %70 üzerinde öldürücü etki gösterdi. Pa8 izolatu *Pristiphora abietina* üzerinde izole edilen *B. bassiana* izolatlarından sonra farklı bir cins olarak en yüksek öldürücü etkiyi gösterdi. Tüm bu bilgiler doğrultusunda, entomopatojen fungusların virülansı suşa bağlı olarak değişmekte ve zararlıyla mücadelede etkili suşu seçmek için ön tarama testi yapılarak en etkili suşun seçilmesi önemlidir (Feng ve Johnson, 1990; Ekese vd., 1998; Cottrell ve Shapiro-Ilan, 2003; Zimmermann, 2007). Ayrıca, tarama testinde %81-%96 (Bugeme vd., 2009) ya da %85-%100 (Wekesa vd., 2005) çimlenme oranına sahip fungus sporları kullanıldı. Tarama testleri sonrasında ölümlerin fungus suşlarından kaynaklandığı belirlendi (mikoizlanma çemberi) ve litaretürü destekler sonuçlar elde edildi.

Diğer araştırmacıların yaptığı çalışmalarda özellikle farklı dozlarda ya da tek doz uygulamalarında farklı bölgelerden ve farklı kaynaklardan izole edilen birçok EPF'un farklı ölüm değerleri gösterdiği belirlenmiştir. Bunlardan Erkılıç vd. (1999), Adana, Mersin ve Hatay'da yaprakbitleri üzerinde yaptığı çalışmada 20 fungal izolat elde etmiş ve bunların yaprakbitleri üzerinde yapılan biyotestlerinde olumlu sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur. Todorova vd. (2000), farklı böcek ve toprak kaynaklarından izole edilen *B. bassiana*'nın 10 izolatının *M. persicae* üzerindeki etkisini test ettikleri laboratuvar denemeleri sonucunda üç izolatın etkisinin %100 olduğu belirlenmiştir. Vu vd. (2007)'in yaptığı çalışmada *B. bassiana*'nın 10 izolatının *M. persicae*'ye etkilerinin yaklaşık %40 ila 100 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Down vd. (2009)'nin entomopatojen funguslardan *Lecanicillium lecanii*, *Paecilomyces farinosus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Cordyceps scarabaeicola* ve *Nomuraea rileyi*'nin 12 izolatını denedikleri laboratuvar çalışmalarında, *L. lecanii*'nin 41185'nolu izolatının *M. persicae*'ye etkilerinin beşinci günde %100'e ulaştığını belirlemiştir. Khan ve Khalil (1990)'nin yaptığı çalışmada, *Lecanicillium longisporum* izolatının *M. persicae* üzerinde %56 oranında etkili olduğunu ve *B. bassiana* ve *V. lecanii*'nin üçer izolatını denedikleri çalışmalarda bunların etkilerinin %60,17 ile 88,36 arasında olduğunu bildirmiştir. Bizim yaptığımız bu tez çalışması, yapılan diğer çalışmalar ile coğrafi ya da suş orijinindeki değişikliklere bağlı olarak EPF'lerin virülansının değişiklik gösterdiği kanıtlanmıştır (Hajek, 1997). Bu tez çalışmasında farklı bölgelerde izole edilen fungusların *M. persicae*'ye üzerindeki etkileri çok yüksek olmakla birlikte entegre mücadele çalışmalarında destekleyici etmenler olarak kullanılabilceği söylenebilir.

Tez çalışmasında tarama testi uygulaması sonrası insektisal etkisi yüksek olan dört izolatın farklı doz uygulamaları (1×10^5 - 10^9 spor/mL) zararlı üzerinde denendi ve 1×10^9 spor

/mL konsantrasyonda KTU-24 %100, KTU-51 %83, KTU-1 %78 ve Pa8 %72 mortalite gösterdi. Diğer dozlar da etkili sonuçlar gösterdi. Bu tür deneylerde hedef canlının üzerinde farklı konsantrasyonların denenmesindeki amaç virulansta oluşabilecek küçük değişiklikleri gözlemleyebilmek ve uygulanabilecek dozu belirlemektir (Luz vd., 2004; Rosa vd., 2002; Klingen vd., 2002; Hicks vd., 2001; Brownbridge vd.,2001;). Jandricis vd. (2014) yaptığı çalışmada, *M. persicae* üzerinde denenilen *Beauveria* izolatlar <%62, *Metarhizium* izolatları <%47% ve *Isaria izolatları* <%24 mortaliteye $1-2 \times 10^8$ spor /mL konsantrasyonda ulaştığı belirlendi. Khan ve Khalil (1990), entomopatojen fungus *Verticillium lecanii*'nin 3 farklı dozunun (10^7 , 10^5 ve 10^4 spor/mL) *Myzus persicae* üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada, entomopatojenin her üç dozunun da etkili olduğunu ve bu etkinin her doz için istatistikî olarak kontrolden farklı olduğunu belirlemiştir. Yaptığımız doz belirleme deneylerinde özellikle en düşük doz olan 1×10^5 spor /mL konsantrasyonda bile KTU-24 izolatında deney sonunda %73 mortalite gösterdi. Yapılan diğer çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda uygulanan dozun düşük olmasına rağmen, %70 üzerinde etki göstermesi bu suşun virülansının yüksek olduğunu kanıtlamıştır.

Entomopatojen funguslar ile biyolojik mücadelenin gerçekleştirilmesi, uygun sıcaklık, çevresel faktörler ve nem koşullarına bağlıdır. Nem, sıcaklık ve çevresel faktörler genellikle EPF'nin çimlenme, enfeksiyon ve konidiogenez potansiyelini etkileyen önemli bir abiyotik faktördür (McCoy, 1990). Bu sebeple entomopatojenik fungusların radyal büyüme oranı için gerekli optimum sıcaklığı belirlemek amacıyla fungusların 20, 30 ve 37 °C'de radyal büyüme özellikleri belirlendi. *M. anisopliae* KTU-51 izolatının 20 °C'de en iyi büyüme gösterdiği belirlendi. Dimbi vd. (2004) yaptığı çalışmada *M. anisopliae* suşları için optimum sıcaklık aralığı 24 ile 30 °C arasında olduğu belirlenmesine rağmen bizim çalışmamızda KTU-51 izolatının düşük sıcaklığa tolerans gösterdiği belirlendi. Rangel vd. (2010) çalışmaları çalışmada *Metarhizium* izolatının, 35 °C'de iyi çimlenme gösterdiğini, ancak misel büyümesinin, 36 °C'de, 28 °C'deki büyümeyle kıyasla çok yavaş olduğunu; ayrıca, farklı izolatların 96 saat boyunca 37 °C 'ye (Santos, 1978) veya 8 saat boyunca 45 °C 'ye (Fernandes vd., 2010) maruz kalmasının, konidial çimlenmeyi tamamen inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Tezde, 30 °C 'de *L. muscarium* Pa8 izolatı en iyi radyal büyüme gösterdi ve 37 °C'de hiçbir izolat büyüme göstermedi. Birçok entomopatojen fungus türü, 15 ile 30 °C arasındaki sıcaklıklarda büyür ve sporlaşır (Osborne vd., 1990a). Fakat izolatların izole edildikleri bölge sıcaklıklarına adaptasyon sağladığı bilinmektedir. Genel olarak, yapay ortamlardaki optimum büyüme ve çimlenme oranları funguslarda yaklaşık 25 °C arasında değişmiştir ve 30 °C'nin

üzerinde çimlenme ve büyüme hızlı bir şekilde düşmekte veya bozulmaktadır (Hall, 1981; Fransen, 1987).

Diğer bir izolatomuz KTU-24 izolatu *Beauveria bassiana* için sıcaklık kontrol grubuna yaklaştıkça radyal büyümenin daha çok arttığı belirlenmiştir. *B. bassiana* 8 °C- 35 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilir olması bu çalışmamızı doğrular niteliktedir (Fargues vd., 1997). Fernandes vd. (2008)'e göre *B. bassiana* izolatlarının coğrafik kaynağı ile soğuk toleransı arasında bağlantının vardır fakat bu bağlantı sıcaklık toleransında görülmediği bildirmiştir. Isı toleransının bilinmesi entomopatojen fungusun biyolojik mücadelede etkili kullanımı için gereklidir. Entomopatojenik fungusun sıcaklık aralığı bilindiğinde hedef zararlı, uygulama bölgesi ya da endüstriyel boyutta üretim koşullarının seçiminde yararlı olabilir (Fernandes vd., 2008; Bugeme vd., 2009). Bugeme vd. (2008)'nin *B. bassiana* ve *M. anisopliae* ile yaptığı deneylerde, 25 °C ve 30 °C'de gerçekleşen günlük çap artışının 20 °C ve 35 °C'den daha iyi olduğunu belirterek benzer sonuçlar ortaya koymuştur. Misel gelişimi ile orantılı olmamakla birlikte, birim alandaki spor üretimi de sıcaklıkla değişim gösterir. Bu değişim Kryukov vd. (2010) tarafından, farklı izolatların oluşturduğu farklı koloni karakteristikleri ile açıklanmıştır. Yazarlar pamuksu koloni yüzeyine sahip olan izolatların, unlu koloni yüzeyine sahip olanlara göre daha virulent, fakat daha az spor verimine sahip olduğunu, söz konusu daha çok spor üretimi olduğunda ise, unlu görünümde olanların tercih edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Sıcaklığın spor üretimi üzerine etkisi deneyinde KTU-51 *M. anisopliae* izolatının diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi spor üretim oranı gösterdiği ve 30 °C'de KTU-1 *L. muscarium* izolatının diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en yüksek spor üretme oranı gösteren suş olduğu belirlendi. *Metarhizium* türleri ve izolatlarının, ısı toleransı büyük ölçüde değişebilir. Örneğin, ısı işlem görmüş konidiya, çoğunlukla fungus türlerine, izolatlara ve ısıya maruz kalma sürelerine bağlı olarak, önemli ölçüde gecikmiş çimlenmeye ve dolayısıyla spor üretimine maruz kalabilir (Rangel vd., 2005; Fernandes vd., 2010; Keyser vd., 2014). Büyüme için gereken optimum sıcaklık, çoğu zaman enfeksiyon için gereken optimum sıcaklık ile çakışmaktadır. Fungus çimlenmesi ve büyümesinin geciktirilmesine rağmen, konakçı böceğin gelişme hızı da aynı şekilde etkilenebilir.

Farklı sıcaklıklar altında UV-B'nin radyal ve spor üretimi üzerine etkisinin (30 dk., 60 dk.) belirlenmesi deneylerinde, 30 dk.'lık etkisinde 20 °C'de KTU-1 ve KTU-24 izolatının radyal büyüme ve spor üretimi üzerinde UV-B'nin etkisinin daha az olduğu ve KTU-1 izolatının UV-B'nin etkisine karşı tolerans gösterdiği belirlendi. UV-B'nin 60 dk.'lık etkisinde 20 °C'de KTU-24 ve Pa8 izolatu, 30 °C'de KTU-1 ve KTU-24 izolatının diğer suşlara kıyasla

daha dayanıklı olduğu belirlendi. *B. bassiana*'nın UV-B'ye karşı farklı toleranslara sahip olduğunu ve yanıtlarının maruz kalma süresinden etkilendiğini göstermiştir (Fargues vd., 1997; Fernandes vd., 2008). Sıcaklık, nem, solar radyasyon ve spor konsantrasyonunun patojenite üzerine etkileri konusunda yapılan çalışmalar bu olumlu ilişkiyi desteklemektedir (Shi vd., 2008; Cherry vd., 2005; Bugeme vd., 2009). Özellikle toprak üstü zarar yapan zararlılarda, yapraklara püskürtülen entomopatojen funguslar güneş ışığı, yağmur, nem, yaprak yüzeyi kimyası ve filoloplan mikrobiyota gibi olumsuz çevresel faktörlere duyarlıdır (Wraight vd. 2001; Steinkraus, 2006).

Funguslarda meydana gelen morfolojik değişiklikler, renk değişimi ve büyüme formunun yanı sıra sporülasyonun azalmasını da içerir. Entomopatojen fungusların spor verimliliğinde veya virülansında meydana gelecek olan değişimler, özellikle biyolojik mücadele etmenlerini üreten firmalar için oldukça büyük sorun teşkil etmektedir. Ticari ürünün spor verimliliğini ve virülansını kaybetmesi ürünün piyasadaki satışını olumsuz etkileyecektir (Butt vd., 2006). Virülensde zayıflama entomopatojenlerin tüm önemli taksonlarında gözlenmiştir. Her izolatın virülensindeki azalma oranı farklılık göstermektedir. Bazı izolatlar, tek veya üç kere (Nagaich, 1973) alt kültüre alındıktan sonra değişim gösterirken bazıları ise 10-12 defa alt kültüre alındıktan sonra virülansında belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir (Morrow vd., 1989; Hajek vd., 1990). Bunun tersine birçok çalışmada birçok alt kültüre alınan izolatların virülensinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir (Hall, 1980; Brownbridge vd., 2001). Özellikle bu çalışmada insektisidal aktivitesi yüksek suşlardan prototip ürün geliştirilirken bu pasajlama sayılarına dikkat edilmiştir ve suşun virülansının azalmaması için laboratuvar kültürü olan *Galleria mellonella* üzerinden yeniden izolasyon yapılarak virülans tazelenmiştir. Virülansı tazelenen suşların stokları -80 °C'de saklanmış ve kullanılacağı zaman izolatlardan pasajlama yapılarak bu virülans kaybının önüne geçilmiştir.

Diğer bir önemli özellikte EPF'lerin böceğe giriş mekanizmasıdır. Fiziksel ve enzimatik mekanizmalar sporların kütikulaya nüfuz etmesine yardımcı olur (Inglis vd., 2001). Entomopatojen fungus sporları, konağın kütikül yüzeyini değiştiren ve sporların penetrasyondan önce bağlanmasına yardımcı olan proteazlar, esterazlar, lipazlar ve kitinazlar gibi parçalayıcı enzimlere sahiptir (Khan vd., 2012). Yapılan tez çalışmalarında özellikle insektisidal aktivitesi yüksek olan suşlarda proteaz ve kitinaz enzimlerini kodlayan genler PCR yöntemi ile belirlendi.

Entomopatojen funguslar tarafında üretilen kitinazlar morfogenezi, büyümesi ve özellikle de biyolojik mücadelede virülanslık katma özelliği ile önemlidir (Gooday vd., 1992;

Charnley ve Collins, 2007). Kitin yapısında olan kütikula böcek üzerinde fungusun aşması gereken ilk bariyerdir (Pekrul ve Gula, 1979). Bu sebeple kitinaz geni özellikle virülansı yüksek olan suşlarda araştırılması gereken bölgelerdir. Bu enzimlerin üretmiş olduğu Beauverisin, Beauverolides, Bassianolide (*B. bassiana*, *V. lecanii*, *Paecilomyces spp.*) ve Destruksin A, B, C, D, E, F (*M. anisopliae*) gibi çeşitli mikotoksinler böceğe giriş sırasında üretilir ve böceğin ölümüne sebep olur (Tanada vd., 1993).

Yukarda bahsedilen tüm özelliklerin en iyisini gösteren *Beauveria bassiana* (KTU-24) ve *Metarhizium anisopliae* (KTU-51) izolatlarından yağ bazlı mikoinsektisit bu tez çalışmasında Türkiye’de ilk kez geliştirildi. Bu iki formülasyon farklı yöntemler kullanılarak; *Beauveria bassiana* (KTU-24) fermentörde ve *Metarhizium anisopliae* (KTU-51) suşu katı substrat üzerinde büyütüldü. Elde edilen sporlar her iki izolat için de yağ bazlı formülasyonlara dönüştürüldü. Bu çalışmada mikoinsektisit geliştirilmesinin en büyük sebeplerinden biri de entomopatojen fungusların tarımsal ürünlerde toksik kalıntı bırakmamaları, yararlı böceklere ve hedef dışı canlılara zararlı olmamalarından dolayı mikrobiyal insektisit olarak kullanılmalarında tercih edilen en önemli özellikleri olmasıdır (Zimmermann, 2007a,b). Ayrıca çevreye, insanlara ve hayvanlara karşı oldukça güvenlidir. Entomopatojen funguslar zararlı böcek popülasyon ile entegre mücadelesinde doğal düşmanlara zarar vermediği için entegre mücadele kapsamında oldukça önemli potansiyele sahiptirler (Inglis vd., 2001). Ancak entomopatojen funguslar kimyasal insektisitler kadar kısa sürede etkili olmadıkları için kimyasal mücadelenin tamamen yerini almaları şu anda uzak bir ihtimal olmasına rağmen uzun vadede kimyasal kullanımı azaltabilmesi yönünden çevre dostu bir uygulama olacaktır. Bundan dolayı mikrobiyal insektisit olarak seçilecek fungusların pestisit toleransları yüksek olmalı ve ürün yetiştirme sisteminde canlı kalabilmelidir. Ülkemizde kullanılan ve üretilen hiçbir yerli mikoinsektisit ürün bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında bu açığı gidermek için yerel kaynaklı izolatlardan bu formülasyonların üretimi gerçekleştirildi. EPF türlerinde dünyada en az 12 türe dayalı 171’den fazla ürün geliştirildiği (Faria vd., 2007; Hu vd., 2016) ve türler arasında *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium spp.*, (sinonim *Verticillium lecanii*), *Hirsutella thompsonii*, *Cladosporium oxysporium* ve *Isaria fumosorosea* (önceden *Paecilomyces fumosoroseus*) olduğu bilinmektedir. Bu mikoinsektisitlerin çoğu Amerika, Avrupa ve Asya’da üretilmektedir (Faria ve Wraight, 2007). Ticari olarak üretilen bu mikoinsektisitlerden bazıları sera bitkilerinde yaprakbitlerine ve diğer floem ile beslenme yapan zararlılara karşı kullanılmaktadır. Kuzey Amerika’da *BotaniGard* olarak kayıtlı *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin suşu GHA; *B. bassiana* JW-1 (ATCC 74040)

suşundan *Naturalis-L*, *Isaria javanica* (Friederichs ve Bally), Samson ve Hywel-Jones Apopka 97 (ATCC 20874) suşundan *PFR-97* ve *Preferal* (önceden *Paecilomyces fumosoroseus* / *Isaria fumosorosea*; Cabanillas vd., 2013), *Isaria javanica* sensu lato suşu FE 9901 (*Paecilomyces fumosoroseus* olarak etiketlenmiştir)'dan *NoFly™* ve *Metarhizium brunneum* Petch suşundan *Met52* geliştirilmiş ve kullanılmaktadır. *Lecanicillium spp.* (ör. *Vertalec*) şu anda ABD'de kayıtlı değildir, ancak Avrupa'da onaylanmıştır (Jandricis vd., 2014). Bu ürünlerin aktif maddeleri olan fungusların birçoğunun afitlerden izole edilmemesine rağmen bu zararlı üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Bu tez kapsamında mikoinsektisit geliştirilen suşlarda *Myzus persicae*'den izole edilmemesine rağmen, yapılan laboratuvar denemelerinde KTU-24 (*Beauveria bassiana*)'den üretilen Afisidal-Bbas ürünü yüksek mortalite göstermiştir. Bunun en büyük nedenleri yerel bir izolat olması, virülansının yüksek olması ve farklı konaklarda da etkili mortalite göstermesi özellikleri şeklinde sıralanabilir.

Öztürk vd. (2015), patates böceğine bu böcekten izole edilen dört izolat (üç izolat *Beauveria bassiana* ve bir izolat *Paecilomyces lilacinus*) ile, ticari olarak satılan *Priority®* (*Paecilomyces fumosoroseus*), *Nibortem®* (*Verticillium lecanii*), *Nostalgist®* (*Beauveria bassiana*), *Bio-Magic®* (*Metarhizium anisopliae*), *Bio-Nematon®* (*Paecilomyces lilacinus*) ve bitki ekstraktı *Nimbedicine EC® 9* (Azadiractin)'in 1×10^8 spor /mL konsantrasyonda *Leptinotarsa decemlineata*'ya etkilerini laboratuvar koşullarında denemişlerdir. *Bio-Magic®*, *Nibortem®* ve *Nostalgist®* sırasıyla %96,4, %92,9 ve %82,1 oranında ölüme neden olurken çalışmada elde edilen 4 izolat ile pozitif karşılaştırma ilacı Imidakloprid %100 oranında etkili olmuştur. Diğer ekstraktlar; *Priority®* (*Paecilomyces fumosoroseus*), *BioNematon®* (*Paecilomyces lilacinus*) ve bitki ekstraktı *Nimbedicine EC®* (Azadiractin)'in etkisi sırasıyla %67,9, %60,7 ve %57,1 oranında olmuşlardır. Bu tez çalışmasında özellikle *Beauveria bassiana* KTU-24 izolatından geliştirilen Afisidal-Bbas izolatının laboratuvar koşullarında ve saksı uygulamasında %80'nin üzerinde mortalite göstermesi ve çalışmada kullanılan ticari ürünlerin %70-80 arasında mortalite göstermesi geliştirilen ürünün *M. persicae* üzerinde kullanılabilme potansiyelini güçlü bir şekilde ortaya koymaktadır.

El-Salam vd. (2012)'nin arazi koşullarında bakla tarlasında yürüttükleri çalışmalarda, her ürün için 1×10^8 CFUs/mL konsantrasyonda *Bio-Catch* (*Verticillium lecanii*), *Bio-Magic* (*Metarhizium anisopliae*), *Bio-Power* (*Beauveria bassiana*), *Priority* (*Paecilomyces fumosoroseus*) ve *Nimbecidine*'in börülce yaprakbiti (*Aphis craccivora*)'ne etkisini incelemişlerdir. *BioMagic* %61,6 (*Metarhizium anisopliae*) ve *Bio-Power* (*Beauveria bassiana*) ise %45,5 oranında bir etki göstermişlerdir. Bu tez çalışması sonucunda geliştirilen

ürünlerin bir başka afit türü olan *Myzus persicae* üzerinde çok etkili olması ve El-Salam vd. (2012) yaptığı arazi koşullarındaki çalışmada ticari ürünlerin mortalitelerin düşük olması bu alanda bu zararlının mücadelesinde yeni ve etkili ürünlere ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir. Mohammed ve Hatcher (2016)'in üçüncü evre *M. persicae* nimfleri üzerinde yaptığı çalışmada, *Mycotal*® (1×10^{10} spor/ mL) konsantrasyon denendiğinde tedavinin dokuzuncu gününde laboratuvar koşullarında %100 mortaliteye neden olduğunu belirledi (Fargues vd., 2003). Yaptığımız çalışmada uygulanan ürünümüz Afisidal-Bbas saksı denemesinde 1×10^9 spor/ mL konsantrasyonda %80'nin üzerinde mortalite yedi günde elde edildi.

Bu tez çalışmasında geliştirilen bir diğer ürün Afisidal-Met (*Metarhizium anisopliae*) ürünü katı substrat kullanılarak üretilmiştir. Substrat olarak ya da taşıyıcı olarak kullanılan pirinç, maya ekstraktı, mısır maserasyon sıvısı ya da melas gibi karbon ve azot kaynakları ile spor verimi de artırılabilir (Talwar, 2005). Bu nedenle, bu yöntemde özellikle spor veriminin yüksek olması ve bu türe ait suşların katı substratta üretilmesinde az problemle karşılaşılmasından dolayı tercih edildi. Kitle üretimini takibinde, granüler ve sprey (sulu ve yağlı) gibi farklı türlerde formülasyonlar kullanılabilir (Leland, 2001). Yaptığımız çalışmada kitle üretiminden sonra yağ bazlı formülasyon geliştirildi. 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). Bu sebeple katı substratta üretilen KTU-51 izolatu sporları toplanarak yağ bazlı formülasyonu geliştirildi.

Zararlı böceklerin mücadelesinde, öldürme etkisi ve çevresel olumsuz etkilere karşı korunmayı içeren yağ bazlı formülasyonların avantajları geniş bir şekilde bildirilmiştir (Hedimbi vd., 2008; Inyang vd., 2000; Lopes vd., 2011; Malsam vd., 2002; Moore vd., 1993; Oliveira vd., 2018). Yağ bazlı spor solüsyonun hazırlanmasındaki asıl amaç; sporları su yüzeyinde tutmaktır. Fungus sporları hidrofobik özellik gösterir ve polar yüzeylere zayıf bir şekilde bağlanır. Su polar bir moleküldür ve hidrofobik özellikteki sporlar suyla direkt temas ettiklerinde kümeleşip çöker. Bu nedenle bitkisel ya da sentetik yağlarla spor solüsyonlarının uygulanması, çökmeyi azaltmaktadır. Sporların yağ bazlı uygulanması özellikle düşük nemin olduğu ortamlarda böcek kütikülü üzerindeki nemi korumaya yarar. Böylece sporların gelişimi için gerekli nem sağlanmış olur. Bu uygulama aynı zamanda sporların hayatta kalma süresini uzatır ve zararlı üzerine yapışmayı artırır (Jenkins vd., 1996). Yağ bazlı uygulamalar, yüksek sıcaklıklarda UV'ye karşı spor canlılığını korumaya yardımcı olur (Moore vd., 1993; Stathers vd., 1993). Ayrıca, böceğin enfekte olması aşamasında kütikül yapısına etki eder ve daha kolay

penetrasyona neden olur (Bateman vd.,1993; Polar vd., 2005). Birçok araştırmacı da yaptıkları çalışmalarda sentetik ya da bitkisel yağları kullanarak yağ bazlı solüsyonlar uygulamıştır. Inglis (1997)'in çekirgeler üzerinde yapmış olduğu çalışmada, yağ bazlı *B. bassiana* konidialarının UV-B radyasyonuna, su bazlı konidialardan daha uzun süre dayandığını, buna ek olarak yağ formülasyonlu konidiaların daha yüksek sıcaklığa ve güneş ışığına dayandığını gözlemlemiştir. Batta vd. (2002), *M. anisopliae* sporlarını, hindistan cevizi ve soya fasulyesi yağlarının karışımıyla beyaz sinekler (Hemiptera: Aleyrodidae) üzerinde uygulamıştır. Yapılan bir başka çalışmada süne böceği *Eurygaster integriceps*'e (Hemiptera: Scutelleridae) karşı *B. bassiana*'nın yağ bazlı solüsyonu uygulanmıştır. Çalışmada sporların böcek kütikülüne daha iyi yapıştığı görülmüştür (Kirubakarana vd., 2014). Bukhari 2011 yılında anofel larvalarıyla yaptığı çalışmada *B. bassiana* ve *M. anisopliae* sporlarını yağ bazlı (sentetik ve bitkisel) ve Tween 80 bazlı olarak uygulamış ve yağ bazlı sporların daha etkili olduğunu bulmuştur (Bukhari vd., 2011). Ayrıca, *Metarhizium anisopliae* bazlı içerisine yağ asidi tuzları, polihidrik alkoller ve emülgatör maddeleri içeren yağ bazlı süspansiyonu, ineklerde keneyi kontrol etmek için kullanıldı (Maor vd., 2008, 2010). Tüm bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda diğer formülasyon çeşitlerinin aksine yağ formülasyonların *Myzus persicae* üzerinde daha etkili olacağı düşünüldü ve bu geliştirilen iki adet yağ bazlı formül *Myzus persicae* üzerinde denenmiş ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

Ayrıca 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 çözünebilir maddelerin 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). LUBILOSA programı ile yağ temelli formülasyonlar başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Lomer vd., 2001). Spor çimlenmesi için alt bağıl nem limiti %92–93 arasında olup atmosferdeki mikroklimanın fungusların performansını büyük oranda belirlediği düşünülmektedir. Yüksek nem gereksiniminin önündeki engel, formülasyon ve uygulama stratejilerinin iyileştirilmesiyle aşılabilmektedir. Bu uygulama tekniklerinden yağ içeren mikoinsektitler dikkat çekmektedir (Ravensberg vd., 1990; Hall ve Papierok, 1982; Bateman vd., 1993).

Lopes ve Faria (2019)'nın hazırladığı yağ formülasyonu *H. hampei* erginleri üzerinde 2×10^7 spor /ml⁻¹ konsantrasyonda altı gün sonra saf spor süspansiyonuna oranla kıyaslandığında %20 daha yüksek mortalite gösterdi. Test edilen formülasyonların (WG ve OD) sporları

depolama sırasındaki yüksek sıcaklıkların olumsuz etkilerinden korumuş daha uzun hayatta kalma göstermiştir. Bu muhtemelen yağ formülasyonundaki sporların yağ damlacıklarına 'dolması' nedeniyle sporların daha etkin yapışması ve böceğin hidrofobik yüzeyindeki hızlı çimlenmeden kaynaklanmaktadır (Holder vd.,2007; Holder ve Keyhani, 2005).

Yağ formülasyonun laboratuvar koşullarında *Spodoptera litura*'ya (Vimala Devi ve Prasad, 1996) ve alan denemelerinde *Helicoverpa armigera*'ya (Vimala Devi ve Hari, 2009b) karşı yapılan biyotest çalışmalarında ölüm oranını artırdığı bildirildi. Konvansiyonel olarak suda hazırlanan konidiya süspansiyonu ile karşılaştırıldığında, yağ bazlı formülasyonlar, konidiyanın konakçı eklembacaklıların hidrofobik kütikül üzerine yayılmasını ve yapışmasını kolaylaştırır (David-Henriet vd., 1998). Ek olarak, yağın çevre koşullarında veya soğukta tutulan konidiyanın ömrünü uzattığı bilinmektedir (Prior vd., 1988).

Entomopatojen fungusların yağda formüle edilmesinin olumlu etkileri, kakao bitlerine karşı fungus kaynaklı mortalitenin artması (Prior vd., 1988), triatom böceklerine karşı yaptığı farklı bitki yağlarının çimlenme üzerine etkisinin fazla olduğu ve kokularından dolayı böcekleri çekici özellik gösterdiği (Luz ve Batagin, 2005), çekirgeler üzerinde yaptığı denemelerde yağ formülasyonlarının çevresel faktörlere dayanıklılığı artırdığı çimlenme için gerekli olan nemin korunmasında etkili olduğu (Lomer vd., 2001) ve beyaz sinekler üzerinde *Metarhizium anisopliae*'ın virulans etkisini artırdığı (Malsam vd., 2002) gibi birçok zararlının kontrolünde olumlu etkiler elde etmiştir.

Tropikal ülkelerde mikosektisitlerin tarla koşullarında uygulanması büyük bir zorluktur. Güney Afrika'daki yaprak biti *Diuraphis noxia*'nın (Kurdjumov) üzerinde yapılan biyotestlerde ortalama sayısında azalma ve saha denemelerinde %80 mortaliteye ulaşılmıştır (Hatting vd. 2004). Brezilya'da, *Aphis sp.* nimfleri üzerinde yapılan alan denemelerinde, *B. bassiana* ya da *M. anisopliae*'nin püskürtülmesinin ardından %60 mortalite rapor edildiği bildirilmiştir (Medeiros vd., 2007).

Bu çalışmada, KTU-24 (*B. bassiana*) ve KTU-51 (*M. anisopliae*) izolatlarının zararlı üzerinde yapılan tarama testleri ve doz denemelerinde etkili, abiyotik faktörlere daha dayanıklı olan yerel iki izolatının fermentasyon ve katı substrat üzerinde sporları üretilerek bu sporlardan yağ formülasyonları gerçekleştirildi. Elde edilen ürünler *Myzus persicae* üzerinde denendi ve etkili sonuçlar alınması ile birçok konakçı üzerinde zarar yapan ve insektisitlere karşı direnç gösteren, zararı giderek artan bu zararlı ile mücadelede kullanılabilecek ülkemize ait çevre dostu ve güvenilir bir mikrobiyal mücadele preparatı geliştirilmesi yolunda yeni adımlar atılmış oldu.

5. SONUÇLAR

Çalışma sonucunda *Myzus persicae* (Yeşil şeftali yaprakbiti)'ya karşı kullanılmak üzere farklı yöntemle farklı cinslere ait iki adet yağ bazlı prototip mikoinsektisit üretildi.

1. Entomopatojenik fungus kültürümüzden 15 adet etkili izolatın *Myzus persicae* nimfleri üzerinde etkinliği belirlendi. Bu izolatlar, zararlı üzerinde %58-%100 oranında ölüm üretti. Bu izolatlardan KTU-24 (*Beauveria bassiana*), KTU-51 (*Metarhizium anisopliae*), KTU-1 (*Isaria fumosorosea*) ve Pa8 (*Lecanicillium muscarium*) 1×10^7 spor/mL konsantrasyonda beşinci günde *Myzus persicae* üzerinde sırasıyla %100, %94, %86,66 ve %73,33 ölüm oranı gösterdi.
2. Tarama testi uygulaması sonrası insektisal etkisi yüksek olan dört izolat 10^5 - 10^9 spor/mL 'da zararlı üzerinde denendi ve 1×10^9 spor /mL konsantrasyonda KTU-24 %100, KTU-51 %83, KTU-1 %78 ve Pa8 %72 mortalite gösterdi.
3. Yapılan doz denemelerinde KTU-24, KTU-51, KTU-1 ve Pa8'in LC₅₀ değerleri sırasıyla $0,21 \times 10^5$, $0,70 \times 10^5$, $0,96 \times 10^5$ ve $0,17 \times 10^5$ spor /mL olarak belirlendi.
4. En düşük sıcaklık olan 20 °C'de suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-51 izolatının diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi radyal büyüme gösteren suş olduğu belirlendi.
5. Pa8 izolatının 20 °C'de kontrol grubuna göre kıyaslandığında büyüme yüzdesi %88 olarak belirlendi. 30 °C'de ise suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-1 izolatının diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi radyal büyüme gösteren suş olduğu ve anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Deney yapılan bu üç farklı sıcaklıkta özellikle KTU-1 izolatı sıcaklık arttıkça radyal büyüme oranı artarken diğer izolatların radyal büyümesinde azalma belirlendi.
6. En düşük sıcaklık olan 20 °C'de suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-51 izolatının diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi spor üretimi gösteren suş olduğu, 30 °C'de ise suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-1 izolatının diğer suşlara kıyasla bu sıcaklıkta en iyi spor üretimi gösteren suş olduğu belirlendi.
7. UV-B'nin 30 dk.'lık etkisinde 20 °C'de KTU-1 ve KTU-24 izolatının diğer iki suşa göre düşük radyal büyümesinde UV-B'nin etkisinin daha az olduğu ve 30 °C'de özellikle KTU-1 izolatının kontrol grubuna çok yakın sonuç vermesi ve bu sıcaklıkta en iyi büyüme göstermesi UV-B'nin etkisine karşı tolerans gösterdiği belirlendi.

8. UV-B'nin 30 dk.'lık etkisinde 20 °C'de şuşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında spor üretim oranı KTU-51 ve KTU-24 izolatının diğer şuşlara kıyasla daha dayanıklı olduğunu ve UV-B'nin 30 dk.'lık etkisinde 30 °C'de şuşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında spor üretim oranı KTU-1 ve Pa8 izolatının diğer şuşlara kıyasla daha dayanıklı olduğunu gösterdi.
9. UV-B'nin 60 dk. 'lık etkisinde 20 °C'de şuşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-51 ve KTU-24 izolatının diğer şuşlara kıyasla daha dayanıklı olduğu, UV-B'nin 60 dk. 'lık etkisinde 30 °C'de şuşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında KTU-51 ve KTU-1 izolatının diğer şuşlara kıyasla daha dayanıklı olduğu belirlendi.
10. İnsektisidal etkisi yüksek ve çevresel faktörlere toleransı olan KTU-24 (*Beauveria bassiana*) ve KTU-51 (*Metarhizium anisopliae*) şuşlarından ülkemizde ilk kez sırasıyla Afisidal-Bbas ve Afisidal-Met adlı mikoinsektisit geliştirildi. Ürün konsantrasyonu toplam hacimde %10 aktif madde (fungus) olacak şekilde tasarlandı.
11. Üretilen formülasyonların *Myzus persicae* üzerinde, laboratuvar ve saksı denemeleri yapıldı. Formülasyonlar laboratuvar koşullarında, 10⁹ spor/mL konsantrasyonda zararlı üzerinde %80 üzerinde mortalite gösterdi.
12. Saksı denemelerinde 10⁹ spor/mL konsantrasyonda uygulanan ürün zararlı üzerinde %75'in üzerinde mortalite sağlandı.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Myzus persicae* ile mücadelede kullanılabilir bir prototip mikopestisit ilk defa geliştirilmiş oldu. Çalışmadan elde edilen sonuçlar neticesinde gelecek çalışmalara yönelik olarak aşağıdaki hususlar önerilmiştir.

1. Geliştirilen mikopestisitlerin toksikoloji testleri yapılacaktır.
2. Formülasyon arazi koşullarında *Myzus persicae* üzerinde test edilecektir.
3. Formülasyon *Myzus persicae* ile aynı ortamı paylaşan diğer zararlılar üzerinde test edilecektir.
4. Formülasyon *Myzus persicae*'nin doğal düşmanları üzerindeki etkinliği belirlenecektir.



7. KAYNAKLAR

- Abbott, W., S., A., 1925. Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide, J. Econ. Entomol., 18, 265-267.
- Adamek, L., 1963. Submersed cultivation of the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.), Folia Microbiol, 10, 255–257.
- Adams, D., J., 2004. Fungal cell wall chitinases and glucanases, Microbiology, 150, 2030-2034.
- Aiuchi, D., Saito, Y., Tone, J., Kanazawa, M., Tani, M. ve Koike, M., 2012. The effect of entomopathogenic *Lecanicillium spp.* (Hypocreales: Cordycipitaceae) on the aphid parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae), Applied Entomology and Zoology, 47,4, 351-357.
- Alexopoulos, C., J., Mims, C., W. ve Blackwell, M., 1996. Introductory mycology No. Ed. 4. John Wiley and Sons.
- Ali-Shtayeh, M., S., Salameh, A., A., Abu-Ghdeib, S., I., Jamous, R., M. ve Khraim, H., 2002. Prevalence of tinea capitis as well as of asymptomatic carriers in school children in Nablus area (Palestine) Häufigkeitv on *Tinea capitisunda* symptomatis chen Trägernbei Schulkindern in der Nablus-Region (Palästina), Mycoses, 45,5-6, 188-194.
- Ali, S., Huang, Z. ve Ren, S., X., 2009. Production and extraction of extracellular lipase from the entomopathogenic fungus *Isaria fumosoroseus* (Cordycipitaceae; Hypocreales). Biocontrol Science and Technology, 19,1, 81-89.
- AlstonG.,2011.Generalconceptofbiologicalcontrol,<https://digitalcommons.esu.edu/cgi/viewcontent.cgi?Erişim+tarihi:15.01.2018>
- Altre, J., A., Vandenberg, J., D. ve Cantone, F., A., Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondbackmoth, *Plutella xylostella*: correllation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle, Journal of Invertebrate Pathology,73, 332–338.
- Alves, R., T., Bateman, R., P., Prior, C. ve Leather, S., R., 1998. Effects of simulated solar radiation on conidial germination of *Metarhizium anisopliae* in different formulations, Crop Protection, 17, 675–679.
- Anderson, J., G. ve Smith, J.,E., 1971. The production of conidiophores and conidia by newly germinated conidia of *Aspergillus niger*, J. Gen. Microbiol, 69, 185–197.
- Anonymous, 2007. Efficacy evaluation of plant protection products: design and analysis of efficacy evaluation trials, EPPO Bull., 37, 1,152,3, 11–24.
- Anonymous, 2003. Efficacy evaluation of plant protection products: minimum effective dose, EPPO Bull., 1, 225,1,107–108.

- Ansari, M., A. ve Butt M., T., 2011. Effects of successive subculturing on stability, virulence, conidial yield, germination and shelf-life of entomopathogenic fungi, Journal of Applied Microbiology, 110,6, 1460-1469.
- Anthon, E., W., 1955. Evidence for green peach aphid resistance to organo-phosphorous insecticides, Journal of Economic Entomology, 48,1, 56-57.
- Aqueel, M., A. ve Leather, S., R., 2013. Virulence of *Verticillium lecanii* (Z.) against cereal aphids; doestiming of infection affect the performance of parasitoids and predators?, Pest Management Science, 69,4, 493-498.
- Bartlett, M., C., Jaronski, S., T., 1988. Mass production of entomogenous fungi for biological control of insects. In: Burge, M.N. Ed., *Fungi in Biological Control Systems*. Manchester University Press, Manchester, UK, 61–85.
- Bateman, R., P., Carey, M., Moore, D. ve Prior, C., 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities, Annals of Applied Biology, 122, 145–152.
- Batta, Y., A., 2002. Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes), Crop Protection, 22, 415–422.
- Berón, C., M. ve Diaz, B., M., 2005. Pathogenicity of hyphomycetous fungi against *Cyclocephalas ignaticollis*, BioControl, 5,1, 143-150.
- 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.
- Blackman, R.L. ve Eastop, V.F., 2000. *Aphids on the world's crops: an identification and information guide*, Ed 2, John Wiley ve Sons Ltd.
- Bodenheimer, F., S. ve Swirski, E., 1957. *The Aphidoidea of the Middle East*. Jerusalem, pp 378.
- Bogo, M., R., Rota, C., A., Pinto, H., Ocampos, Jr., M., Correa, C., T., Einstein H.M. ve Schrank. A., A., 1998. Chitinase encoding gene (*chit1* gene) from the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*: isolation and characterization of genomic and full-length cDNA, Curr. Microbiol, 37, 221–225.
- Boivin, G., Hance, T. ve Brodeur, J., 2012. Aphid parasitoids in biological control, Canadian Journal of Plant Science, 92, 1–12.
- Boomsma, J., J., Jensen, A., B., Meyling, N., V., ve Eilenberg, J., 2014. Evolutionary interaction networks of insect pathogenic fungi. Annual Review of Entomology, 59, 467-485.

- Bradley, C., A., Black, W., E., Kearns, R. ve Wood, P., 1992. Role of production technology in mycoinsecticide development. In: Leatham, G.E. Ed., *Frontiers in Industrial Microbiology*. Chapman and Hall, New York, 160–173.
- Bradley, C., A., Wood, P., P., Black, W., E., Kearns, R., D. ve Britton, J., 2002. Solid Culture Substrate Including Barley. U.S. Patent Application 2002/0006650 A1.
- Brownbridge, M., Costa, S. ve Jaronski, S., T., 2001. Effects of in vitro passage of *Beauveria bassiana* on virulence of *Bemisia argentifolii*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 77, 280- 283.
- Bugeme, D., Maniania, N., Knapp, M. ve Boga, H., 2008. Effect of temperature on virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to *Tetranychus evansi*. *Experimental and Applied Acarology*, 46, 275-285.
- Bugeme, D., M., Knapp, M., Boga, H., I., Wanjoya, A., K. ve Maniania, N., K., 2009. Influence of temperature and virulence of fungal isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Mycopathologia*, 167, 221-227.
- Bukhari, T., Takken, W., Koenraadt, J., M., C., 2011. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae, *Parasites & Vectors* ,4, 23.
- Burges, H., D., 2012. Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Springer Science and Business Media.
- Butt, T., M., 2000. Use of entomogenous fungi for the control of insectpests In: Mycota, Eds. Esser, K. and Bennett, J., W., Springer, Berlin, 111–134.
- Butt, T., M., Segers, R., J., Leal, S., C., M. ve Kerry, B., R., 1998. Variation in the subtilisins of fungal pathogens of insects and nematodes In: *Molecular Variability of Fungal Pathogens*, Couteaudier, B., P. ve Clarkson, J., Eds., CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 149–169.
- Butt, T., M., Wang, C., Shah, F., A. ve Hall, R., 2006. Degeneration of entomogenous fungi. In: *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*, Springer Netherlands, 213-226.
- Cabanillas, H., E., de Leon, J., H., Humber, R., A., Murray, K., D. ve Jones, W., A., 2013. *Isaria poprawskii* sp. nov. (Hypocreales: Cordycipitaceae), a new entomopathogenic fungus from Texas affecting sweet potato whitefly, *Mycoscience*, 54,2, 158-169.
- Capinera, J., 2001. Handbook of vegetable pests. Elsevier.
- 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., Heale, J., B. ve Gillespie, A., T., 1993. Germination of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* on scales of the glass house whitefly *Trialeurodes vaporariorum*, Biocontrol Science and Technology, 3, 161–164.
- Chapple, C., R., 2000. Muscarinic receptor antagonists in the treatment of overactive bladder, BJU International, 85, S3, 33-46.
- Charnley, A., K. ve Collins, S., A., 2007. Entomopathogenic fungi and their role in pest control, *The Mycota IV: Environmental and Microbial Relationships* (2nd edition), Eds: Kubicek, C.P. and Druzhinina, I. S., Springer-Verlag, Berlin, 159-187.
- Charnley, A., K. ve Leger, R., J., St., 1991. The role of cuticle-degrading enzymes in fungal pathogenesis in insects. In: *The fungal spore and disease initiation in plants and animals*, Springer US, 267-286.
- Chen, H., 2013. *Modern Solid State Fermentation Theory and Practice*. Springer Verlag Dordrecht, The Netherlands, 324.
- Cherry, A., J., Abalob, P. ve Hella, K., 2005. A laboratory assessment of the potential of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) to control *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea, Journal of Stored Product Research, 41, 295-309.
- Çırabın, İ., Güven, Ö. ve Karaca, İ., 2017. Effects of entomopathogenic fungi on *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep: Noctuidae) larvae, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 34, 3, 159-165.
- Çırabın, İ., Güven, Ö. ve Karaca, İ., 2017. Effects of entomopathogenic fungi on *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep: Noctuidae) larvae. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 34,3, 159-165.
- Clarkson, J., M. ve Chamley, A., K., 1996. New Insights into the Mechanisms of Fungal Pathogenesis in Insects, Trends Microbiol, 4, 197-203.
- Copping, L., G., 2004. *The Manual of Biocontrol Agents*. British Crop Protection Council, Alton, UK, 702.
- Cottrell, T., E. ve Shapiro-Ilan DI., 2003. Susceptibility of native and an exotic lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) to *Beauveria bassiana*, Journal of Invertebrate Pathology, 84, 137-144.
- Çakıcı, F., Ö., Sevim, A., Demirbağ, Z. ve Demir, I., 2014. Investigating internal bacteria of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and some *Bacillus* strains as biocontrol agents, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38, 99-110.
- Çanakçıoğlu, H., 1975. *The Aphidoidea of Turkey* (No. 189), İstanbul Üniversitesi, Orman Fakültesi.

- Danısmazoglu, M., Demir, I., Sevim, A., Demirbag, Z. ve Nalcacıoglu, R., 2012. Highly pathogenic bacteria for the control of *Agriotes* sp. (Coleoptera: Elateridae), Crop Protection, 40, 1-7.
- David-Henriet, A., I., Pye, B., J. ve Butt, T., M., 1998. Formulation and application of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for the control of crucifer pests in Europe. IOBC WPRS BULLETIN, 21, 89-90.
- De La Rosa, W., Lopez, F., L. ve Liedo, P., 2002. *Beauveria bassiana* as a pathogen of the mexican fruitfly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions, Journal of Economic Entomology, 95,1, 36-43.
- DeBach, P. ve Rosen, D., 1991. Biological control by natural enemies. Cambridge University Press, Cambridge, 440.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A., 2005. Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği, 6, 3-7.
- Deligeorgidis, P., N., Ipsilandis, C., G., Kaltsoudas, G., Sidiropoulos, G., Deligeorgidis, N., P., Vaiopoulou, M. ve Vardiabasis, A., 2007. Chemical control of *Thrips tabaci*, *Epitrixhirti pennis* and *Myzus persicae* in tobacco fields in Northern Greece, Journal of Entomology, 4,6, 463-468.
- Demir, I., Eryüzlü, E. ve Demirbağ, Z., 2012. A study on the characterization and pathogenicity of bacteria from *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae), Turkish Journal of Biology, 36, 4, 459-468.
- Demir, I., Nalçacıoğlu, R., Gholizad, L., M. ve Demirbağ, Z., 2014. A highly effective nucleopolyhedrovirus against *Malacosoma* spp. (Lepidoptera: Lasiocampidae) from Turkey: isolation, characterization, phylogeny, and virulence, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38, 4, 462-470.
- Demir, İ., 2004. *Hyphantria cunea* nükleopolihedrovirus’ünün *Spodoptera frugiperda* ve *Lymantria dispar* hücre kültürlerinde replikasyonunun karşılaştırılması, Doktora tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Demirbağ, Z., 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- Demirci, M., Sevim, E., Demir, İ. ve Sevim, A., 2013. Culturable bacterial microbiota of *Plagioderma versicolora* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) and virulence of the isolated strains, Folia microbiologica, 58, 3, 201-210.
- Dimbi, S., Maniana, N., K., Luz, S., A., Mueke, J., M., 2004. Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of African tephritid fruitflies, Biocontrol, 49, 83-94.
- Dixon, A.F.G., 1998. Aphid Ecology, Chapman and Hall, London.

- Down, R., E., Cuthbertson, A., G., Mathers, J., J. ve Walters, K., F., 2009. Dissemination of the Entomopathogenic Fungi, *Lecanicillium longisporum* and *L. muscarium*, by The Predatory Bug, *Oriuslae vigatus*, To Provide Concurrent Control of *Myzus persicae*, *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci*, Biological Control, 50,2, 172-178.
- Dromph, K., M., 2003. Collembolans as vectors of entomopathogenic fungi. Pedobiologia, 47,3, 245-256.
- Eilenberg, J., Hajek, A. ve Lomer, C., 2001. Suggestions for Unifying the Terminology in Biological Control, Biocontrol, 46, 387-400.
- Ekesi, S., Maniania, N., K., Onu, I. ve Löhr, B., 1998. Pathogenicity of entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) to the legume flower thrips, *Megalurothrips jostedti* (Trybom) (Thys., Thripidae), Journal of Applied Entomology, 122, 629-634.
- Ekesi, S., Maniania, N., K., Mohamed, S., A. ve Lux, S., A., 2005. Effect of soil application of different formulations of *Metarhizium anisopliae* on African tephritid fruitflies and their associate dendoparasitoids. Biological Control, 35,1, 83-91.
- El-Salam, A., A., Salem, S., A. ve El-Kholy, M., Y., 2012. Efficiency of Nimbecidine and certain entomopathogenic fungi formulations against bean aphids, *Aphis craccivora* in broad bean field, Archives of Phytopathology and Plant Protection, 45,19, 2272-2277.
- Ensminger, P., A., 1993. Control of development in plants and fungi by far-UV radiation. Physiol. Plant, 88, 501-508.
- Er, M., K., 2013. Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş antepfıstığı bahçelerinde bulunan entomopatojen fungusların tespiti. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 4,2, 155-163.
- Erbaş, Z., Gökçe, C., Hazir, S., Demirbağ, Z. ve Demir, I., 2014. Isolation and identification of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) from the Eastern Black Sea region and their biocontrol potential against *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38, 2, 187-197.
- Erkilic, A. ve Canihos, Y., 1999. Determination of the effect of fosetylal against citrus gummosis disease caused by *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 23,4, 419-424.
- Eski, A., Çakıcı, F., Ö., Güllü, M., Muratoğlu, H., Demirbağ, Z. ve Demir, I., 2015. Identification and pathogenicity of bacteria in the Mediterranean cornborer *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae), Turkish Journal of Biology, 39, 1, 31-48.
- Fang, W., Leng, B., Xiao, Y., Jin, K., Ma, Jc, 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.
- Fargues, J., Vidal, C., Smits, N., Rougier, M., Boulard, T., Mermier, M. ve Ridray, G., 1997. Climatic factors on entomopathogenic hyphomycetes infection of *Trialeurodes*

- vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) in Mediterranean glasshouse tomato, Biol. Control, 28, 320-33.
- Faria, M., R. ve Wraight, S., P., 2006. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types, Biol. Control. 43, 237-56.
- Feng, M., G. ve Johnson J.B., 1990. Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homop.: Aphididae), Environmental Entomology, 19, 785-790.
- Feng, M., G., Chen, C. ve Chen, B., 2004. Wide dispersal of aphid-pathogenic Entomophthorales among aphids relies upon migratoryalates, Environmental Microbiology, 6, 510–516.
- Fang, W., J. Feng, Y., Fan, Y., Zhang, M., J. Bidochka, R., J., St. Leger, Y., 2009. Pei Expressing a fusion protein with protease and chitinase activities increases the virulence of the insect pathogen *Beauveria bassiana*, J. Invertebr. Pathol., 102, 156-160.
- Fernandes, B., D., Mota, A., Teixeira, J., A. ve Vicente, A.A., 2015. Continuous cultivation of photosynthetic microorganisms: approaches, applications and future trends, Biotechnology Advances, 33, 6, 1228-1245.
- Fernandes, E., K., K., Keyser, C., A., Chong, J., P., Rangel, D., E., N., Miller, M., P. ve Roberts, D., W., 2010. Characterization of *Metarhizium* species and varieties based on Molecular analysis, heat tolerance and cold activity, J. Appl. Microbiol, 108, 115–128.
- Fernandes, E., K., K., Rangel, D., E., N., Moraes, A., M., L., Bittencourt, V., R., E., P. ve Roberts, D., W., 2007. Variability in tolerance to UV-B radiation among *Beauveria* spp. Isolates, Journal of invertebrate pathology, 96, 237-243.
- Fernandes, E., K., K., Rangel, D., E., N., Moraes, A., M., L., Bittencourt, V., R., E., P. ve Roberts, D., W., 2008. Cold activity of *Beauveria* and *Metarhizium*, and thermo tolerance of *Beauveria*. Journal of invertebrate pathology, 98, 69-78.
- Ferron, P., 1978. Biological Control of Insects by Entomogenous Fungi, Annu. Rev. Entomol, 23, 409-42.
- Filho, M., M., Oliveira, S., O., D., de Liz, R., S. ve Faria, M. 2011. Cage and field assessments of *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticides for *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) control in cabbage, Neotropical Entomology, 40, 470–476.
- Fogal, W., H., 1986. Applying *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to soil for control of the spruce conemaggot *Lasiomma anthracina* (Czerny), Roques, A, 07-01.
- Fransen, J., J., Winkelman, K. ve vanLenteren, J., C., 1987. The Different Mortality at Various Life Stages of the Greenhouse Whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hymenoptera: Aleyrodidae), by Infection with the Fungus *Aschersonia aleyrodis* (Deuteromycotina: Coelomycetes). Journal of invertebrate pathology, 50, 158–165.

- Gao, L. ve Liu, X., 2010. Sporulation of several biocontrol fungi as affected by carbon and nitrogen sources in a two-stage cultivation system. The Journal of Microbiology, 48,6, 767-770.
- Garza-López, P., M., Konigsberg, M., Gómez-Quiroz, L., H. ve Loera, O., 2012. Physiological and antioxidant response by *Beauveria bassiana* Bals (Vuill.) to different oxygen concentrations, World J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 28, 353–359.
- Gaugler, R., 1997. Alternative Paradigms for Commercializing Biopesticides, Phytoparasitica, 25, 179-182.
- Georgis, R., 1997. Commercial prospects of microbial insecticides in agriculture, BCPC Symposium Proceedings, 68, 243-252.
- Gillespie, J., P., Bateman, R. ve Charnley, A., K., 1998. Role of Cuticle-Degrading Proteases in the Virulence of *Metarhizium spp.* for the Desert Locust, *Schistocerca gregaria*. Journal of Invertebrate Pathology, 71, 2, 128-137.
- Goettel, M., S., Eilenberg, J. ve Glare, T., 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations, In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS, editors. Comprehensive molecular insect science. Vol. 6. Control. Amsterdam: Elsevier, 361- 405.
- Goettel, M., S., Koike, M., Kim, J., J., Aiuchi, D., Shinya, R., ve Brodeur, J., 2008. Potential of *Lecanicillium spp.* for management of insects, nematodes and plant diseases. Journal of invertebrate pathology, 98,3, 256-261.
- Gokce, C., Yilmaz, H., Erbas, Z., Demirbag, Z. ve Demir, I., 2013. First record of *Steinernema kraussei* (Rhabditida: Steinernematidae) from Turkey and its virulence against *Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae), Journal of nematology, 45, 4, 253.
- Goksu, M., E. ve Atak, E., D., 1976. Adapazarı sarıkız patateslerinde şeftali yaprak biti (*Myzodes persicae* Sulzer) ve patates yaprak biti (*Macrosiphum euphorbiae* Thomas)'nin kışlama durumu, kış konukçuları ve populasyon değişimleri üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni.
- Gooday, G., W., Zhu, W., Y. ve O'Donnell, R., W., 1992. What are the roles of chitinases in the growing fungus?, FEMS Microbiol. Lett., 100, 387-392.
- Goundoudaki, S., Tsitsipis, J., A., Margaritopoulos, J., T., Zarpas K., D. ve Divanidis, S., 2003. Performance of the Tobacco Aphid *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) on oriental and virginia tobacco varieties. Agricultural and Forest Entomology, 5,4, 285-291.
- Gökçe, C., Erbaş, Z., Yılmaz, H., Demirbağ, Z. ve Demir, I., 2015. A new entomopathogenic nematode species from Turkey, *Steinernema websteri* (Rhabditida: Steinernematidae), and its virulence, Turkish Journal of Biology, 39, 1, 167-174.
- Griffin, C., Boemare, N., E. ve Lewis, E., E. 2005. Biology and behaviour. Nematodes as biocontrol agents, 47-64.

- Güneyi, P. ve Karsavuran, Y. 2011. Bazı Tütün Çeşitlerinin *Myzus persicae* (Sulz.) (Hom.: Aphididae)'nin Biyolojisine Etkileri Üzerinde Araştırmalar, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 48,3, 241-247.
- Güven, Ö., Çayır, D., Baydar, R. ve Karaca, İ., 2015. Entomopatojen Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vull. İzolatlarının Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)) Üzerindeki Etkisi, Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 6, 2, 105-114.
- Hajek, A., E., 1997. Ecology of Terrestrial Fungal Entomopathogens, In “Advanced in Microbial Ecology”, Jones, J. H., Ed., 15, 193-249, Plenum Press, New York.
- Hajek, A., E., 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 Entomophagomaimaiga Responsible for 1989 Epizootics in North American GypsyMoth Populations, Proc. Nati. Acad Sci, 87, 6979-6982.
- Hajek, A., E. ve St Leger, R., J., 1994. Interactions Between Fungal Pathogens and Insects Hosts, Annu. Rev. Entomol, 39, 293-322.
- Hall, R.A., 1980. Effect of repeated subculturing on agar and passaging through an insect host on pathogenicity, morphology, and growth rate of *Verticillium lecanii*, Journal of invertebrate pathology, 36, 216–222.
- Hall, R., A. ve Papierok, B., 1982. Fungi as Biological Control Agents of Arthropods of Agricultural and Medical Importance, Parasitology, 84, 205–240.
- Hall, R., A., 1981. The Fungus *Verticillium lecanii* as a Microbial Insecticide against Aphids and Scales, In Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970–1980; Burges, H. D., Ed.; Academic Press: London, UK, pp 483–498.
- 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.
- Hatting, J., L., Wraight S., P. ve Miller, R., M., 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) for control of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) on resistant wheat under field conditions, Biocontrol Sci Technol, 14, 459-473.
- Hedimbi, M., Kaaya, G., P., Singh, S., Chimwamurombe, P., M., Gindi, G., Glazer, I. ve Samish, M., 2008. Protection of *Metarhizium anisopliae* conidia from ultra-violet radiation and their pathogenicity to *Rhipicephalus evertsi* ticks. Experimental Applied Acarology, 46, 149–156.
- Hegedus, D., D., Bidochka, M., J. ve Khachatourians, G., G., 1990. *Beauveria bassiana* submerged conidia production in a defined medium containing chitin, two hexosaminesor glucose, Appl. Microbiol. Biotechnol., 33, 641–647.
- Hicks, B., J., Watt, A., D. ve Cosens, D., 2001. The potential of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as a biological control agent against to pinebeautymoth,

- Panolis flammea* (Lepidoptera: Noctuidae), Forest Ecology and Management, 149, 275–281.
- Hoffman, M., P. ve Frodsham, A., C., 1993. Naturel Enemies of Vegetable Insect Pests, Cooperative Extension, Cornell University, Ithaca.
- Holder, D., J., Kirkland, B., H., Lewis, M., W. ve Keyhani, N., O., 2007. Surface characteristics of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana*, Microbiology, 153, 3448–3457.
- Holder, D., J. ve Keyhani, N., O. 2005. Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to substrata, Applied and Environmental Microbiology, 71, 5260–5266.
- Huang, B., B. ve Feng, M., G., 2009. Comparative tolerances of various *Beauveria bassiana* isolates to UV-B irradiation with a description of a modeling method to assess lethal dose, Mycopathologia, 168, 145–152.
- Humber, R., A., 2008. Evolution of entomopathogenicity in fungi, Journal of invertebrate pathology, 98,3, 262-266.
- Humber, R., A., 2012. Identification of entomopathogenic fungi. Manual of techniques in invertebrate pathology, 2, 151-187.
- Ibrahim, L., Butt, T., M., Beckett, A. ve Clark, S., J., 1999. The germination of oil-formulated conidia of the insect pathogen, *Metarhizium anisopliae*, Mycological Research, 103, 901–907.
- Inglis, D., G., Goettel, M., S. ve Johnson, D., L., 2000. Influence of rain and conidial formulation on persistence of *Beauveria bassiana* on potato leaves and Colorado potato beetle larvae, Biological Control, 18, 55–64.
- Inglis, D., G., Goettel, M., S. ve Johnson, D., L., 1995. Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, Biological Control, 5, 581–590.
- Inglis, G., D., Goette, M., S., Butt, T., M. ve Strasser, H., 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt, T. M., Jackson, C. ve Magan, N. (eds.) Fungi as biocontrol agents, CABI, 32-69.
- Inglis, G., D., Johnson, D., L. ve Goettel, M., S., 1997. Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symptodulosporae) of grasshoppers under field Conditions, Environmental Entomology, 26, 400–409.
- Inyang, E., N., McCartney, H., A., Oyejola, B., Ibrahim, L., Pye, B. J., Archer, S.A. ve Butt, T., M., 2000. Effect of formulation, application and rain on the persistence of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* on oilseed rape, Mycological Research, 104, 653–661.

- Jackson, M., A., Dunlap, C., A. ve Jaronski, S., T., 2010. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol, BioControl, 55,1, 129-145.
- Jackson, M., A. ve Jaronski, S., T., 2009. Production of microsclerotia of the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and their use as a biocontrol agent for soil-inhabiting insects, Mycol. Res., 113, 842–850.
- Jackson, M., A., Mcguire, M., R., Lacey, L., A. ve Wraight, S., P., 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*, Mycological Research, 101,1, 35-41.
- 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.
- Jain, P., C. ve Bhargava, M., C., 2007. Entomology: novel approaches. New India Publishing.
- Jandricic, S., E., Filotas, M., Sanderson, J., P. ve Wraight, S., P., 2014. Pathogenicity of conidia-based preparations of entomopathogenic fungi against the greenhouse pest aphids *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, and *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae), Journal of Invertebrate Pathology, 118, 34-46.
- Jaronski, S., T. ve Jackson, M., A., 2008. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* microsclerotial granules, Biocontrol Sci. Technol. 18, 8, 849–863.
- Jaronski, S., T. ve Jackson, M., A., 2012. Mass production of entomopathogenic Hypocreales. In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of Techniques in Invertebrate Pathology, second ed. Academic Press, San Diego, 255–284.
- Jaronski, S., T., 2013. Mass production of entomopathogenic fungi: state of the art. In: Morales-Ramos, J.A., Rojas, M.G., Shapiro-Ilan, D.J. (Eds.), Mass Production of Beneficial Organisms. Elsevier Inc., Amsterdam, 357–415.
- Jenkins, N., E. ve Thomas, M., B., 1996. Effect of formulation and application method on the efficacy of aerial and submerged conidia of *Metarhizium flavoviride* for locust and grasshopper control, Pest Sci. 46, 299–306.
- Joshi, L., St. Leger, R., J. ve Roberts, D., W., 1997. Isolation of a cDNA encoding a novel subtilisin-like protease (Pr1B) from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* using differential display-RT-PCR, Gene, 197,1–8.
- Kang, S., C., Park, S. ve Lee, D., G., 1998. Isolation and characterization of a chitinase cDNA from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, FEMS. Microbiol. Lett., 165, 267–271.
- Karaat, Ş. ve Göven, M., A., 1985. Güneydoğu Anadolu Bölgesi pamuk alanlarında yeni bir zararlı *Pharaonus varicolorus* Burm, (Coleoptera, Scarabaeidae, Rutelinae), Türk. Entomol. Derg-Tu, 9, 1, 45-52.

- Karsavuran, Y. ve Öncüer, C., 1992a. Bazı sanayi domatesi çeşitlerinde beslenen *Macrosiphum euphorbiae* (Thom.) (Homoptera, Aphididae)'nin üreme gücü üzerinde araştırmalar. Türkiye II. Entomoloji Kongresi (28-31 Ocak 1992, Adana) Bildirileri, Entomoloji Derneği Yayınları, 5, 37, 41, 747.
- Karsavuran, Y. ve Öncüer, C., 1992b. Bazı sanayi domatesi çeşitlerinde beslenen *Macrosiphum euphorbiae* (Thom.) (Homoptera, Aphididae) nimflerinin gelişmesi üzerinde araştırmalar, Türk. Entomol. Derg., 16, 3,155-161.
- Kaya, H., K. ve Stock, S., P., 1997. Techniques in insect nematology, Manual of techniques in insect pathology, 1, 281-324.
- Kaydan, M., B., Kilincer, N., Uygun, N., Japoshvilli, G. ve Gaimari, S., 2006. Parasitoids and predators of pseudococcidae (Hemiptera: Coccoidea) in Ankara, Turkey. Phytoparasitica, 34, 4, 331-337.
- Kennedy, J., S., Day, M., F. ve Eastop, V., F., 1962. A conspectus of aphids as vectors of plant viruses, A conspectus of aphids as vectors of plant viruses, 3, 114.
- Keykubat, E. ve Durmusoglu, E., 2005. Evaluation on the Variation in Efficacy Differences of me-too Registered Products of Methamidophos on *Myzus persicae* (Sulzer) (Hom.: Aphididae) under Laboratory Conditions, Ziraat Fakültesi Dergisi, 42,2, 65.
- Keyser, C., A., Fernandes, É., K., K., Rangel, D., E., N. ve Roberts, D., W., 2014. Heat-induced post-stress growth delay: A biological trait of many *Metarhizium* isolates reducing biocontrol efficacy?, J. Invertebr. Pathol., 120, 67-73.
- Khan, M. ve Khalil, S., K., 1990. Biological Control of Aphid With an Entomopathogenic Fungus, Pakistan Journal of Agricultural Research, 11,3,174-177.
- Khan, S., Guo, L., Maimaiti, Y., Mijit, M. ve Qiu, D., 2012. Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent, Molecular Plant Breeding, 3, 63-79.
- Kirubakarana, S., A., Sathish-Narayanan, S., Revathia, K., Chandrasekarana, R. ve Senthil-Nathana, S., 2014. Effect of oil-formulated *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the rice leafhopper *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae), Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47, 8, 977-992.
- Kleespies, R., G. ve Zimmermann, G., 1998. Effect of additives on the production, viability and virulence of blastospores of *Metarhizium anisopliae*, Biocontrol Science and Technology, 8, 2, 207-214.
- Kleespies, R., G. ve Zimmermann, G., 1992. Production of blastospores by three strains of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin in submerged culture, Biocontrol Sci. Technol., 2, 127-135.
- Kligerman, A., D., Doerr C., L., Tennant A., H. ve Peng, B., 2000. Genotoxicity studies of three triazine herbicides: in vivo studies using the alkaline single cell gel (SCG) assay. Mutation Research, 471, 107.

- Klingen, I. ve Haukeland, S., 2006. The soil as a reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes, In: An ecological and societal approach to biological control, Springer, Dordrecht, 145-211.
- Klingen, I., Meadow, R. ve Aandal, T., 2002. Mortality of *Delia floralis*, *Galleria mellonella* and *Mamestra brassicae* with insect pathogenic hyphomycetous fungi, Journal of Applied Entomology, 126, 231-237.
- Kocacevik, S., Sevim, A., Eroglu, M., Demirbag, Z. ve Demir, I., 2015. Molecular characterization, virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* from *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera: Curculionidae), J. Appl. Entomol., 139, 381-389.
- Kocacevik, S., Sevim, A., Eroglu, M., Demirbag, Z. ve Demir, I., 2016. Virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* S.A. Rehner & Humber on *Ips sexdentatus* and *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae), Turk. J. Agric. For., 40, 241-248.
- Kryukov, V., Y., Yaroslavtseva, O., N., Levchenko, M., V., Lednyov, G., R. ve Glupov, V., V., 2010. Phenotypic Variability of Environmental Isolates of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. Microbiology, 79, 2, 265-269.
- Kumar, M., Kumar, M. ve Prasad, H., 1995. Cytotoxic effects of two herbicides on meiosis, Maize Genetics Cooperation Newsletter, 69, 25.
- 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.
- Lacey, L., A. ve Kaya, H., K., 2000. Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evolution of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests, Kluwer Academic, Dordrecht.
- Lacey, L., A., Frutos, R., Kaya, H., K. ve Vail, P., 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?, Biol. Control, 21, 230-248.
- Lane, B., S., Trinci, A., P., J. ve Gillespie, A., T., 1991. Influence of cultural conditions on virulence of conidia and blastospores of *B. bassiana* to the green leaf hopper.
- Leal, S., C., M., Bertioli, D., J., Butt, T., M., Carder, J., H., Burrows, P., R. ve Peberdy, J., F., 1997. Amplification and restriction endonuclease digestion of the *Pr1* gene for the detection and characterization of *Metarhizium* strains, Mycol. Res, 101, 257-265.
- Leger, R., J., S., Charnley, A., K. ve Cooper, R., M., 1986. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: synthesis in culture on cuticle, J. Invertebr. Pathol., 48, 85-95.
- Leger, St., R., J., Joshi, L., Bidochka, M., J., Rizzo, N., W. ve Roberts, D., W., 1996. Characterization and ultrastructural localization of chitinases from *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride*, and *Beauveria bassiana* during fungal invasion of host (*Manduca sexta*) cuticle, Appl. Environ. Microbiol., 62, 907-912.

- Leland, J., E., 2001. Environmental-StressTolerant Formulations of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* for Control of African Desert Locust (*Schistocerca gregaria*), Doktora Tezi, Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State.
- Liu, J., Poinar Jr, G., O. ve Berry, R., E., 2000. Control of insectpests with entomopathogenic nematodes: the impact of molecular biology and phylogenetic reconstruction, Annual review of entomology, 45, 287-306.
- Liu, S., Q., Meng, Z., H., Yang, J., K Fu, Y., K. ve Zhang K., Q., 2007. Characterizing structural features of cuticle-degrading proteases form fungi by molecular modeling BMC, Struct. Biol., 7, 33.
- Lodos, N., 1986. Türkiye Entomolojisi II. Genel Uygulamalı ve Fuanistik. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Lomer, C., J., Bateman, R., P., Johnson, D., L., Langenwald, J. ve Thomas, M., 2001. Biological control of locusts and grasshoppers, Annu. Rev. Entomol., 46, 667–702.
- Lopes, L., A. ve Faria, M., B., 2019. Educação Ambiental Como Ferramenta Para A Conservação Da Mata Atlântica Da Zona Da Mata De Minas Gerais. Pensar Acadêmico, 10,1, 14-17.
- Lopes, R., B., Pauli, G., Mascarin, G., M. ve Faria, F., 2011. Protection of entomopathogenic conidia against chemical fungicides afforded by an oil-based formulation, Biocontrol Science and Technology, 21, 125–137.
- Lopez-Perez, M., Rodriguez-Gomez, D. ve Loera, O., 2015. Production of conidia of *Beauveria bassiana* in solid-state culture: current status and future perspectives, Crit. Rev. Biotechnol., 35, 334–341.
- Luz, C., Rocha, L., F., N. ve Nery, G., V., 2004. Detection of Entomopathogenic Fungi in Peridomestic Triatomine-Infested Areas in Central Brazil and Fungal Activity Against *Triatominae festans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae), Neotropical Entomology, 33,6, 783-791.
- Maddox, J., V., 1987. Protozoan Diseases, In: Epizootiology of Insect Diseasesi, Fuxa, J., R. ve Tanada, Y., Eds., Wiley, New York, 417-452.
- Maketon, M., Amnuaykanjanasin, A., ve Kaysorngup, A., 2014. A rapid knockdown effect of *Penicillium citrinum* for control of the mosquito *Culexquinque fasciatus* in Thailand, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 30,2, 727-736.
- Malsam, O., Kilian, M., Oerke, E.C. ve Dehne, H.W., 2002. Oils for increased efficacy of *Metarhizium anisopliae* to control whiteflies, Biocontrol Science and Technology, 12, 337–348.
- Maor, P., Pipko, G. ve Kleifeld, O., 2010. Formulations of entomopathogenic fungi for insect control.US Patent, US20100112060A1.

- Maor, P., Pipko, G. ve Kleifeld, O., 2008. Formulations of entomopathogenic fungi for insect control. WO Patent, WO2008062413A2.
- Mascarin, G., M., Jackson, M., A., Kobori, N., N., Behle, R., W. ve Delalibera Jr., I., 2015a. Liquid culture fermentation for rapid production of desiccation tolerant blastospores of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* strains, J. Invertebr. Pathol., 127, 11–20.
- Mascarin, G., M., Jackson, M., A., Kobori, N., N., Behle, R., W., Dunlap, C., A. ve Júnior, Í., D., 2015. Glucose concentration alters dissolved oxygen levels in liquid cultures of *Beauveria bassiana* and affects formation and bioefficacy of blastospores, Applied microbiology and biotechnology, 99,16, 6653-6665.
- Mascarin, G., M., Jackson, M., A., Kobori, N., N., Behle, R., W., Dunlap, C., A. ve Delalibera, Jr., I., 2015b. Glucose concentration alters dissolved oxygen levels in liquid cultures of *Beauveria bassiana* and affects formation and bioefficacy of blastospores, Appl. Microbiol. Biotechnol., 99, 6653–6665.
- McCoy, C., W., 1990. Entomogenous Fungi as Microbial Pesticides, In: New Directions in Biological Control, Alternatives for Suppressing Agricultural Pests and Diseases, New Series, UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, UCLA Colloquium: Frisco, CO, USA, 112, 139–159.
- McLaughlin, D., J., Hibbett, D., S., Lutzoni, F., Spatafora, J., W. ve Vilgalys, R., 2009. The search for the fungal tree of life, Trends Microbiol., 17, 488–497.
- Medeiros, M., B., Alves, S., B., Lopes, R., B., Barbosa, A., S., Garcia, M., O. ve Berzaghi, L., M., 2007. Associação de biofertilizante líquido e fungo-sentoma patogênico no controle do pulgão *Aphis sp.* em aceroleira (*Malpighia glabra* L.), Rev. Bras. Agroecol., 2, 821-824.
- Melvin, L. ve Myers, S., 2017. Health Problems and Disease Patterns in Agriculture, ILO Encyclopedia of Occupational Health and Safety, Fourth Edition.
- Meyling, N., V. ve Eilenberg, J., 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control Biological Control, 43,2, 145-155.
- 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.
- Milner, R., J., 1997. Prospects for biopesticides for aphid control, Entomophaga, 42, 227- 239.
- Mohammed, A., A. ve Hatcher, P., E., 2016. Effect of temperature, relative humidity and aphid developmental stage on the efficacy of the mycoinsecticide Mycotal® against *Myzus persicae*, Biocontrol Science and Technology, 26,10, 1379-1400.
- Moore, D., Bridge, P., D., Higgins, P., M., Bateman, R., P. ve Prior, C., 1993. Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by

- vegetable and mineral oils and chemical sunscreens, Annals of Applied Biology, 122, 605–616.
- Moore, D. ve Prior, C., 1993. The potential of mycoinsecticides, Biocontrol News Inform., 14, 31–40.
- Morrow, B., J., Boucias, D., G. ve Heath, M., A., 1989. Loss of virulence in an isolate of an entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi* after serial in vitro passage, J. Econ. Entomol., 82, 404–407.
- 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.
- Nagaich, B., B., 1973. *Verticillium* species pathogenic on aphids. Indian Pathol., 26, 163-165.
- Oliveira, D., G., P., Lopes, R., B., Rezende, J., M. ve Delalibera, Jr., I., 2018. Increased tolerance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* conidia to high temperature provided by oil-based formulations, Journal of Invertebrate Pathology, 151,151–157.
- Osborne, L., S., Hoemler, K. ve Gerling, D., 1990a. Prospects for Biological Control of *Bemisia tabaci*, Bull. IOBC WPRS, 13, 153–160.
- Ozgen, A., Sezen, K., Demir, I., Demirbag, Z. ve Nalcacioglu, R., 2013. Molecular characterization of chitinase genes from a local isolate of *Serratia marcescens* and their contribution to the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains, Current microbiology, 67, 4, 499-504.
- Öncüer, C., 1995. Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova- İzmir, 259, 117-125.
- Öztürk, H., E., Güven, Ö. ve Karaca, I., 2015. Effects Of Some Bioinsecticides and Entomopathogenic Fungi on Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* L.), Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 80,2, 205-211.
- Pandey, S., Benjamin, C., R., Soccol, P., Nigam, N., Krieger, V. ve T., Soccol, 1999. The realm of microbial lipases in biotechnology. Biotechnol. Appl. Biochem., 119- 131.
- Peccoud, J., Simon, J., C., vonDohlen, C., Coeurd'acier, A., Plantegenest, M., Vanlerberghe-Masutti, F. ve Jousselin, E., 2010. Evolutionary history of aphid-plant associations and their role in aphid diversification, Comptes Rendus Biologies, 333,6,7, 4,74-487.
- Pedrini, N., Ortiz-Urquiza, A., Huarte-Bonnet, C., Fan, Y., Juárez, M. P. ve Keyhani, N., O., 2015. Tenebrionid secretions and a fungal benzoquinone oxidoreductase form competing components of an armsrace between a host and pathogen, Proceedings of the National Academy of Sciences, 112,28, E3651-E3660.

- Pekrul, S. ve Gula, E., A., 1979. Mode of infection of the cornear worm (*Heliothis zea*) by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy, Journal of Invertebrates Pathology, 34, 228-247.
- Pendland, J., C. ve Boucias, D., G., 1967. In vitro growth of the entomopathogenic hyphomycete *Nomuraea rileyi*, Mycologia, 89,1, 66-71.
- Pirt, S., J., 1967. A kinetic study of the mode of growth of surface colonies of bacteria and fungi, J Gen Microbiol, 47, 181–197.
- Poinar, G., O., 1990. Taxonomy and Biology of *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*, In: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, Gaugler, R. ve Kaya, H., K., Eds. CRC Press, Boca Raton, FL, 23-61.
- Polar, P., Kairo, M., T., K., Petrkin, D., Moore, D., Pegram, R. ve John, S., 2005. Assessment of fungal isolates for development of a myco-acaricide for cattle tick control, Vector-Borne Zoonot., 5, 276–284.
- Poprawski, T., J., Parker, P., E. ve Tsai, J., H., 1999. Laboratory and field evaluation of hyphomycete insect pathogenic fungi for control of Brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae), Environmental Entomology, 28, 315–321.
- Prior, C., Jollands, P. ve Le Patourel, G., 1988. Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae), J. Invertebr. Pathol., 52, 66–72.
- Rabe-Hesketh, S. ve Skrondal, A., 2008. Multilevel and longitudinal modeling using Stata, STATA press.
- Rangel, D., E., N. ve Braga, G., U., L., Anderson, A., J., Roberts, D., W., 2005. Variability in conidial thermo tolerance of *Metarhizium anisopliae* isolates from different geographic origins, J. Invertebr. Pathol., 88, 116–125.
- Rangel, D., E., N. ve Fernandes, É., K., K., Dettenmaier, S., J., Roberts, D., W., 2010. Thermo tolerance of germlings and mycelium of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium spp.* and mycelial recovery after heat stress, J. Basic Microbiol, 50, 344–350.
- Rath, A., C., 2000. The Use of Entomopathogenic Fungi for Control of Termites, Biocont. Sci. Technol., 10, 563- 581.
- Ravensberg, W., J., 2015. Commercialisation of microbes: present situation and future prospects. In Principles of plant-microbe interactions, Springer, Cham, 309-317.
- Ravensberg, W., J., Malais, M., van der Schaaf, D., A., 1990. Application of *Verticillium lecanii* in Tomatoes and Cucumber to Control Whitefly and Thrips, Bull. IOBC WPRS, 13, 5, 173–178.
- Reddy, P., P., 2016. Sustainable Crop Protection Under Protected Cultivation, Springer, Singapore, pp 434.

- Roditakis, E., Couzin, I., D., Franks, N., R. ve Charnley, A., K., 2008. Effects of *Lecanicillium longisporum* infection on the behaviour of the green peach aphid *Myzus persicae*, Journal of Insect Physiology, 54, 1, 128-136.
- Roy, H., E., Steinkraus, D., C., Eilenberg, J., Hajek, A., E. ve Pell, J., K., 2006. Bizarre interactions and end games: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. Annu. Rev. Entomol., 51, 331-357.
- Samuels, K., D., Z., Heale, J., B. ve Llewellyn, M., 1989. Characteristics relating to the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* toward *Niaparva talugens*, J Invertebr Pathol., 53, 25–31.
- Santos, A., L., L., 1978. Influência de alguns fatores no crescimento, germinação e produção de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. 148f. Dissertation (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Saranya, S., Ushakumari, R., Jacob, S. ve Philip, B., M., 2010. Efficacy of different entomopathogenic fungi against cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Koch), Journal of Biopesticides, 138, 138–142.
- Screen, S., E., Hu, G. ve Leger, R., J., St., 2001. Transformants of *Metarhizium anisopliae* sf. *anisopliae* over expressing chitinase from *Metarhizium anisopliae* sf. *acridum* show early induction of native chitinase but are not altered in pathogenicity to *Manduca sexta*, J. Invertebr. Pathol., 78, 260–266.
- Seema, Y., Neeraj, T. ve Krishan, K., 2013. Mass production of entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* using rice as a substrate by diphasic liquid-solid fermentation technique, International Journal of Advanced Biological Research, 3, 331-335.
- Sevim, A., Demir, I. ve Demirbag, Z., 2010a. Molecular characterization and virulence of *Beauveria* spp. from the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), Mycopathologia, 170, 269–277.
- Sevim, A., Demir, I., Sonmez, E., Kocacevik, S. ve Demirbag, Z., 2013. Evaluation of entomopathogenic fungi against the Sycamore lace bug, *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae), Turk. J. Agric. For., 37, 595-603.
- Sevim, A., Demir, I., Tanyeli, E. ve Demirbag, Z., 2010b. Screening of entomopathogenic fungi against the European Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), Biocontrol Sci. Techn., 20, 1, 3-11.
- Sevim, A., 2010c. Doğu Karadeniz Bölgesi’nden Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Virulanslarının Belirlenmesi, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Sevim, A., 2015. Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri ve Türkiye’de Zararlı Böceklerin Mücadelesinde Kullanılma Potansiyelleri, Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 8, 1, 115-147.

- Sevim, A., Gökçe, C., Erbaş, Z. ve Özkan, F., 2012. Bacteria from *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and their biocontrol potential, Journal of Basic Microbiology, 52, 6, 695-704.
- Sevim, A., Sevim, E., Demir, I. ve Demirbag, Z., 2014. *Rhynchites bacchus* L. (Coleoptera: Rhynchitidae)'den izole edilen *Beauveria bassiana*'nın moleküler karakterizasyonu ve patolojisi, Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3, 2, 33-47.
- Shah, F., A., Allen, N., Wright, C., J. ve Butt, T., M., 2007. Repeated in-vitro subculturing alters spore surface properties and virulence of *Metarhizium anisopliae*, FEMS Microbiol Lett, 276, 60-66.
- Shah, P., A. ve Pell, J., K., 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. Applied Microbiology and Biotechnology, 61, 5, 6, 413-423.
- Shi, W., B. ve Feng, M., G., 2004. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system, Biological Control, 30, 165-173.
- Shi, W., B., Feng, M., G. ve Liu, S., S., 2008. Sprays of emulsifiable *Beauveria bassiana* formulation are ovicidal towards *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at various regimes of temperature and humidity, Exp. Appl. Acarol., 46, 247-257.
- Silva W., O., B., L., Santi, A. ve Scharank, M., H., 2010. Vainstein, *Metarhizium anisopliae* lipolytic activity plays a pivotal role in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infection, Fungal Biol., 144, 10-15.
- Singkaravanit, S., Kinoshita, H., Ihara, F. ve Nihira, T., 2010. Cloning and functional analysis of the secondgeranyl diphosphatesynthase gene influencing helvolicacid biosynthesis in *Metarhizium anisopliae*, Appl. Microbiol. Biotechnol, 87,3, 1077-1088.
- Stathers, T., E., Moore, D. ve Prior, C., 1993. The effect of different temperatures on the stability of *Metarhizium flavoviridae* conidia stored in vegetable and mineral oils, Journal of Invertebrate Pathology, 62, 111-115.
- T.C Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Zirai Mücadele Teknik Talimatları, 1995. Ankara, Cilt 1.
- T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı, 2005. İş Teftiş Kurulu Başkanlığı, Zirai Mücadele İlaçları Üretimi Yapılan İşyerlerinde İş Sağlığı ve Güvenliği Proje Denetimi Değerlendirme Raporu, Ankara.
- T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2018. BKÜ Veri Tabanı Programı. <https://bku.tarim.gov.tr/BKURuhsat/Index>.
- Talwar, B., H., 2005. Isolation and characterization of entomopathogenic fungi and their effectiveness. Ph.D. Thesis, In Agricultural Entomology, Department of Agricultural Microbiology, Dharwad.

- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. ve Kumar, S., 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods, Molecular Biology and Evolution, 28, 10, 2731-2739.
- Tlecuil-Beristain, S., Viniegra-Gonzalez, G., Diaz-Godinez, G. ve Loera, O., 2010. Medium selection and effect of higher oxygen concentration pulses on *Metarhizium anisopliae* var. *lepidiotum* conidial production and quality, Mycopathologia 169, 387–394.
- TOB, 2018. <https://www.tarimorman.gov.tr/05/09/2018>
- Todorova, S., I., Coderre, D. ve Côté, J., C., 2000. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* isolates toward *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) and their predator *Coleomegilla maculata lengi* (Coleoptera: Coccinellidae), Phytoprotection, 8,1, 15-22.
- Tort, N., Öztürk, İ. ve Tosun, N., 2004. Metalaxyl uygulamasının domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.)'in anatomik yapısı üzerine etkisi, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 41,2, 111-122.
- Türkuçar, A., S. ve Toros, S., 1991. Krizantem yetiştiriciliğinde kullanılan büyümeyi düzenleyici kimyasal maddelerden Daminozide1(Alar 85)'in *Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera, Aphididae)'ye bazı etkileri.
- URL-1, TÜİK, 2018, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001, 05/02/2020
- Vakalounakis, D., J. ve Christias, C., 1986a. Light quality, temperature and sporogenesis in *Alternaria cichorii*, Trans. Br. Mycol. Soc., 86, 247–254.
- Vakalounakis, D., J., ve Christias, C., 1981. Sporulation in *Alternaria cichorii* is controlled by a blue and near ultra violet reversible photo reaction, Can. J. Bot., 59, 626–628.
- Van Driesche, R., G. ve Bellows, T., S., 1996. Biological Control. Chapman and Hill, New York.
- Van Emden, H. F., ve Harrington, R., 2007. Aphids as crop pests. CAB International.
- Van Emden, H.F. ve Bashford, M.A.,1969. A comparison of the reproduction of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* in relation to soluble nitrogen concentration and leaf age (leaf position) in the Brusselssprout plant, Entomologia experimentalis et applicata, 12,3, 51-364.
- Van Iersel M. ve Bugbee B., 1996. Effects of benzimidazole fungicides on bedding plants, J. Am. Soc. Hortic. Science, 121, 1095-1102.
- Van Lenteren, J.C., 2012a. IOBC Internet Book of Biological Control, v. 6, January 2008 (online). Available at: http://www.iobcglobal.org/download/IOBC_InternetBookBiCoVersion6Spring2012.pdf (erişim tarihi: 15 Ocak 2017).

- Vega, F., E., Jackson, M., A. ve McGuire, M., R., 1999. Germination of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* on the cuticle of the silver leaf whitefly, *Bemisia argentifolii*, Mycopathologia, 147, 33–35.
- Velioğlu, A., S. ve Toros, S., 2002. Değişik Bölgelerden Toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) (Hom.: Aphididae) Populasyonlarının Bazı İnsektisitlere Karşı Dayanıklılık Düzeylerinin Araştırılması, Bitki Koruma Bülteni, 42, 1, 4, 67-79.
- Vimala Devi, P., S., ve Hari, P., P., 2009b. Identification of a virulent isolate of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, its mass multiplication and formulation for development into a mycoinsecticide for management of *Helicoverpa armigera* (Hübner), Journal of Biological Control, 23, 137–144.
- Vimala Devi, P., S. ve Prasad, Y., G., 1996. Compatibility of oils and antifedants of plant origin with the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*, Journal of Invertebrate Pathology, 68, 91–93.
- Vu, V., H., Hong, S., I. ve Kim, K., 2007. Selection of Entomopathogenic Fungi for Aphid Control, Journal of Bioscience and Bioengineering, 104,6, 498–505.
- Wang, C., Butt, T., A. ve St Leger, R., 2005. Colony sectorization of *Metarhizium anisopliae* is a sign of ageing, Microbiology, 151, 3223–3236.
- Wang, C., Types, M., A. ve Butt, T., M., 2002. Detection and characterisation of *Pr1* virulent gene deficiencies in the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*, FEMS Microbiol Lett, 213, 251–255.
- Wang, C., ve Leger, R., J., S., 2006. A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune responses. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103,17, 6647-6652.
- Wang, M., Typas, A. ve Butt, T., M. 2002. Detection and characterization of *pr1* virulent gene deficiencies in the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. FEMS Microbiol. Lett., 213, 251-255.
- Wei, J., N., Li, T., Kuang, R., Wang, Y., Yin, T., vd., 2003. Mass rearing of *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Aphidiidae) for biological control of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae), Biocontrol Science and Technology, 13, 87–97.
- Weiser, J., 1969. An Atlas of Insect Diseases, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.
- Wekesa, V., W., Maniania, N., K., Knapp, M. ve Boga, H.I., 2005. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to the tobacco spider mite *Tetranychus evansi*, Exp. Appl. Acarol., 36, 41-50.
- Winkelhoff, A., J., V. ve McCoy, C., W., 1984. Conidiation of *Hirsutella thompsonii* var. *synnematos* in submerged culture, J. Invertebr. Pathol, 41, 59–68.

- Wraight, S., P., Jackson, M., A. ve De Kock, S., L., 2001. Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. In: Butt, T., M., Jackson, C., Magan, N., (eds) *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*, CABI Publishing, Wallingford, 253–288.
- Yang, S., Yang, S., Y., Zhang, C., P., Wei, J., N. ve Kuang, R., P., 2009. Population dynamics of *Myzus persicae* on tobacco in Yunnan Province, China, before and after augmentative releases of *Aphidius gifuensis*, *Biocontrol Science and Technology*, 19,2, 219-228.
- Yano, E., 2010. Ecological considerations for biological control of aphids in protected culture, *Population Ecology*, 48, 333–339.
- Yeo, H., Pell, J., K., Alderson, P., G., Clark, S., J. ve Pye, B., J., 2003. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species, *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 59,2, 156-165.
- Yilmaz, H., Waeyenberge, L., Demir, İ., Moens, M. ve Demirbağ, Z., 2009. A new entomopathogenic nematode species for Turkey, *Heterorhabditis megidis* Poinar, Jackson ve Klein 1987 (Rhabditida: Heterorhabditidae), *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33, 4, 385-391.
- Zaki, F., N., 1998. Efficiency of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals), against *Aphis crassivora* Koch and *Bemesia tabaci*, Gennadius, *Journal of Applied Entomology*, 122, 397–399.
- Zhao, H., Lovett, B. ve Fang, W., 2016. Genetically engineering entomopathogenic fungi, In *Advances in genetics*, Academic Press, 94,137-163.
- Zimmermann, G., 2007a. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, *Biocontrol Science and Technology*, 17, 553-596.
- Zimmermann, G., 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, *Biocontrol Science and Technology*, 17, 6, 553-596.
- Zimmermann, G., 2007b. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*, *Biocontrol Science and Technology*, 17, 879-920.

8. EKLER

8.1. Elde Edilen İzolatların Proteaz ve Kitinaz Gen Sıraları

PR1 bölgesi

>KTU-51

GAGCCAGCTCCTCTCTTCACTCCTCAGGCTGAGAGCATCATTGCCGACAAGTAT
ATTGTCAAGTTCAAGGAGCATCATCGCCGAAGAAGTATATTGTCAAGTTCAAG
GATGATATTGCTCGTATCGCTACCGATGAGACGGTCAGCGCTCTTACCTCCAAA
GCCGAGTTCGTTTACGAGCACGCCTTCCATGGGTTTGCAGGCTCCCTCACCAAG
GAGGAGCTGAAGATGCTTCGTGAGCACCCCGGTGTAAGTACCCCTCCCACTT
ACCTAGGTAGTCAAGGGAGACATGTAGGTGTTTGTGCTGACCCGCTGCCCA
TAGGTTCGATTTCAATTGAGAAGGACGCCGTGATGCGTATCAGCGGCATCACTGA
GCAGAGCGGTGCTCCCTGGGGTCTTGGGCGCATCTCACACCCGCCAGAAGGGAA
GCACCACCTATCGCTACGATGATAGTGCCGGTGAGGGTACTTGCGTATATATC
ATTGACACTGGTATTGAGGCCTCCACCCCGTAAGTTGTGCCGCCAAAACCTCC
ATAGTGCGGAGTAGGAAATTTACCAATATCATCCAGGATTTTGGGGGTCGCGC
CACTTTTCTTAAGAGCTTCATCAGCGGTCAAACAGTGATGGCCACGGCCATG
GGACTCACTGCGCTGGTACCATTGGTAGCAAAGCTACGGTGTGCCCCAAAAG
GCTAAGCTCTATGGTGTCAAGGTTCTTGACAACCAGGGCAGTGGTTCCTACTCC
GGTATCATCAGTGGCATGGACTACGTTGCACAGGACTCCAAGACCCGCGGCTG
CCCTAAAGGCGCCATTGCTTCCATGAGCCTGGGAGGTGGCTACTCGGCGTCCG
TCAACCAAGGTGCTGCTGCTTGGTTCAATTCTGGTGTCTTCCTTGCCGTCGCCG
CTGGCAACGATAACCGGGATGCCCAGAACACCTCTCCCGCTTCCGAGCCTTCT
GCCTGCACTGTTGGTGCCACTGATTCAAATGACAACCGATCTTCCTTCTCCAAC
TACGGCAAAGTTGTCGATATTTTCGCTCCTGGTACCGGTGTTCTTTCCACCTGG
ATTGGTGGCAGCACTGTAAGTATTGTACCTACCTCGATAAGCTTAGAGACAGG
CTTTTGCTTCAGAACCAGCTTCTAACAAGGTTTGAACACCTTCTTCGGACCTTA
CCGTCTTCCTCCAT

Chit bölgesi

>KTU-1

GAAAAGCTCCAACACTAGCAGCAATCCGCCTCTTGACTCAGAAGGTTAAATCA
ACTGTTCGTGTTCCCTTTTCTCTCCGCCTCGGCTACAATGTTGAGTCTCCTCAAGA
AATCGATGGCCTTGGCTGTGGCCTTGCAGGCAGTCACCGCTTTGGCTACGCCA
ATCTCCAACGAAGTTGATATTGAGAAGCGTGGTACTGGCTTCGCAAATGCTGT
TACTTCACCAACTGGGGCATCTACGGCCGTGGTTCAGCCGGCGGACCTTCC
AGCCTCGGAGATCTCGCATGTGCTCTATTCTTTGATGAACCTTCGTTTCAGATGG
CACCATCTTTTCTGGCGATACCTATGCGGACTACGAGAAGCATTACCCCGGTG
ACTCTTGGAACGATGTCGGCAACAATGCTTACGGATGCGTCAAGCAGCTTTAT
CTTCTCAAAAAGCAAACCGCAACATGAAAGTGATGCTGTCGATTGGTGGATG

GACCTGGTCTACCAATTTTCCCGCAGCCGCCAGCTCCGCTTCTAGCCGAAAGA
 CTTTTGCTCAGTCTACCGTCGGCTTCATGAAGGATTGGGGATTGACGGTATCG
 ATATCGATTGGGAGTACCCTGCCGATGCCACACAGGCGGCAAACATGATTCTC
 CTGCTCCAGGCCGTCCGCGATGAGCTCGACTCATATGCCTCGCAGTACGCCAA
 AGGCCACCACTTCTTGCTTTCCATTGCAGCTCTTGCTGGACCTGACAACACTACAA
 CAAGCTGAAGCTCGCTGAGCTTGAAAGGTTCTTGATTATGTCAACCTGATGG
 CCTACGATTTTGCCGGATCCTGGAGCAACTTCACTGGTCACGACGCTAATTTGT
 ACGCCAACTCACAGAACCCCAACTCAACTCCGTTCAACACGAATGATGCAGTT
 CAAGCGTACATCAACGGAGGTGTCCCCGCCAACAAGATTGTCCTTGGTATGCC
 AATCTACGGTCGGTCTTTCCAGAAGACTGAAGGCATCGGCAAGCCATACTAG
 GTATCGGCTCCGGTAGCTGGGAGAATGGTGTCTGGGACTACAAAGCTCTTCCC
 AAGTCTGGCGCTACTGTCAAGTGCAGACTACTGCCAAGGGCTGCTATAGCTA
 CGATGCAAGCACCCAGGAGCTCATCTCAAACGATACTCCAGCTATTATCAGCA
 CCTTTGTTAGCTGGCTTAAGGGCAAGGGACTCGGTGGTAGCATGTTCTGGGAG
 GCTTCCGCTGACAAGAAGGGCTCCGATTCCCTCATCAGCACAAAGCCGCCAAGG
 TCTTGGTAGCCTAGACAGCGCGCAGAACTACCTCGACTACCCCAACTCAAAGT
 ACGACAACATCAAGAACGGCATGAAATAAGTATTCAGATGCGCGGTGGTTTGA
 CTTTTATATTGGATTACCATGTCTGTCCATATCATGCTGCGCCGCCTATATT
 CGAGGCTTTCATACTTTACTGTACATATTATTGATGCCATGGGCATGCACATA
 GTCAATTGATTGAAAGTTTTTATTCTA

>KTU-24

ATGGCTCCTTTTCTTCAAACCAGCCTCGCGCTCCTTTCATTGTTGGCTTCCACCA
 TGGTCAGCGCCTCGCCCTTGGCGCCGCGAGCCGACACCTGCGCAACCAAGGGC
 CGGCCGGCCGGCAAAGTGCTCCAGGGCTACTGGGAGAACTGGGACGGTGCCA
 AGAACGGGGTGCACCCTCCGTTTGGCTGGACGCCCATCCAAAACCCCGACATT
 CGCAAGCACGGCTACAACGTCATCAATGCTGCCTTTCCATCATCCAGCCTGA
 CGGCACCGCGCTCTGGGAGGACGGCATGGACACGGGCGTCAAGGTGGCGAGC
 CCGGCCGACATGTGCGAGGCCAAGGCAGCAGGTGCCACCATCTTGATGTCGAT
 TGGCGGTGCTACTGCGGCCATTGACCTGAGCTCGTCGGCTGTGGCTGACAAGT
 TTGTCTCGACCATTGTGCCGATTCTGAAAAGTACAACCTTTGACGGCATTGATA
 TCGACATTGAATCCGGCCTCACAGGCAGCGGAAACATAAACACCCTGTCCACC
 TCGCAGACCAACCTGATTAGAATCATTGACGGCGTTCTCGCGCAGATGCCCGC
 CAACTTTGGCTTGACCATGGCGCCAGAGACTGCCTACGTTACCGGTGGGACTA
 TTACGTACGGATCAATCTGGGGCTCTTACCTCCCCATTATCAAAAAGTACCTGG
 ACAATGGTCGTCTCTGGTGGCTCAACATGCAGTACTACAATGGCGAAATGTAC
 GGCTGCTCCGGCGACTCGCACAAAGGCCGGTACTGTCTGAAGGATTCAATTGCTCA
 GACCGACTGCCTGAACAAGGGACTTAGTATTAGGGCGTGACAATCACGATTC
 CCTATGACAAGCAAGTGCTGGCCTTCTGCCCAGCCTGGGGCTGGCGGCGGT
 CACATGTCCCCGTCCAACGTGGCGCAAGTTCTCTCCCACTACAAGGGCGCTTTG
 AAGGGATTGATGACTTGGTCTCTGAACTGGGACGGCTCCAAGAATTGGACATT
 TGGCGACAATGTCAAGGGGACAAAGGGGACTGCGTAATAA

>KTU-51

ATGCCATCGTTATTTGCTCAGTCACTGGCAATCATCGCCACTCTGCAGGCCACT
 CTCGGTCTTGCCACTCCTGTATCAGCCCCTGGTACTGTCATCGGAAAACGTGCC
 GGTGGTTACGTCAACGCCGTCTACTTACCAATTGGTAATTTCTTCCCGGTTCA
 TCCTGTAGCTATCTTTACCCATCCGTCATTTATTCCACTGAGCAGTCACGCATG

CTTATGGCCGGATGCTAACCAGTAGACAGGGGAATATACGGTTCGAAACTATCA
 GCCAGCCGACCTTCCCCTTCTCAGATATCCCATGTTCTGTACTCGTTCTTGAA
 CCTTTCGGCTAACGGCACCGTGTAAGTGCAAACCTTAATAAAAATGTAGACATTC
 TAATTCGTCTTGAGATCAGGCTGGCTGACCCCCTGCAGTTACTCAGGAGATAC
 AAGGGCTGATATAGACAAGCACTACCCAAATGACTGTAACCTTCTCCGATGTAG
 GGGCTAATAATCCATGCTCACGTGGCTTGATAATGAATTGTATGGCTAATTTTG
 AAGTTCAAAGCTTGAATGATGTCGGTAACAATGTCTATGGCTGTGCCAAGC
 AATTATTTCTCCTCAACAAAGCGAACCGTAAGATGAAGACGATGCTGTCTATT
 GGGGGGTGGACGTGGTCAACGAACTTCCCAGCTGCGGCCTCGACAGCAGCCAC
 TCGAAGCAACTTTGCTAAATCAGCGGTCCTATTATGAAAGACTGGGGCTTTG
 ATGGTATTGACGTTGATTGGGAATATCCTGCCGACGATACTCAGGCCACAAAC
 ATGGTTCTTCTTCTTCAAGCCGTTCCGGATGAGCTCGACGCATACGCCGCAAAG
 TTTGCGCCTGGCTACCATTTTCAGCTATCGATTGCCGCTCCGGCTGGCGCTACC
 AACTATAATAAGTTGCACCTTGCCGACCTCGGAAAGGTGTTGGATTATATCAA
 TTTGATGGCCTATGACTTTTCCGGAACATGGAGCAACTCCAGCGCTCATAACGC
 AAATCTTTACGCCAATCCGAGCAACCTTAATGCCACACCATTCAACACGGATG
 ATGCTGTCAATGACTATATCAAAGGCGGTGTTCCGGCCAGCAAGATCGTTCTT
 GGCATGCCAATTTATGGAAAATCATTCCAGAAGACCAATGGAATTGGAAAGCC
 ATTTTCCGGGTATTGGTGACGGCAGCTGGGAGAATGGGGTCTGGGACTACAAGG
 TTCTTCCCAAAGCCGGCGCGAGGGTCATATATGATGACGTGGCAAAGGGTTAC
 TTCTGCTACGATAACCGCACCCCAAGAACTTATTTCTATGATACCCAGATATT
 ACCAAGGAGAAGGTCACCTACCTCAAGAGCAAGGGATTGGGAGGCAGCATGT
 TTTGGGAGGCATCTGCTGACCGCAAAGGCCCTGACTCACTTATTGGTACTAGTA
 GCAACAAACTTGGAGGACCGGACGCCACTGAGAATTTACTCAACTACCCTGAC
 TCCAAATATGACAATATGAGGAAACAGATGGCTTAATTCTTGCTAGCTTTTAGC
 TCATAAGCTGGCTCAGCACCGGAAGCAATTTCTAAGGTCAGT

>Pa8

ACATGGGGATCCACAGCAACTCGCCGATCAGAGACTAGAAACAGTCCTCCTTT
 TGATTCAGAAGGTCCCCTGAAACGTCGTGCTTCTTTTCTGTTCCGTTGACTA
 CAATGTTGAGCCTACTCAAAAAATCGATGGCTGTAGCCGTGGCCTTGACGGCG
 GTCACGGCTCTGGCTACGCCAATCTCCAACGAGGTTGGCATTGAGAAGCGCGG
 TAGTGGCTTCGCAAATGCTGTTTACTTCACCAACTGGGGCATCTACGGCCGTAA
 CTTCCAGCCCGCAGACCTTCCAGCTTCGGAGATCACCCATGTGCTCTATTCTTT
 CATGAACATCCGCTCAGATGGCACCATCTTTTCTGGCGATACCTATGCGGACTA
 CGAGAAGCACTACCCTGGTGACTCCTGGAATGATGTGGGAAATAATGCTTACG
 GATGCGTTAAGCAGCTTTATTTGCTCAAGAAGCAAACCGCAACTTGAAAGTT
 ATGCTGTCGATTGGTGGAAAGGACCTGGTCCACCAACTTTCCCGCTGCTGCCAGC
 TCTGCTACCAGCCGAAAGACTTTCGCTCAATCTGCCGTTGGTTTCATGAAGGAT
 TGGGGATTTCGATGGTATCGACATCGATTGGGAGTACCCTGCGGATGCTACGCA
 GGCTCAGAACATGGTCCTCTTGCTCCAGGCCGTCCGCGACGAGCTCGACTCTT
 ATGCCTCGCAGTATGCCAAAGGCCACCATTTCTGCTTTTCTATTGCCGCCCCCG
 CTGGACCTGACAACACTACAACAAGCTGAAGCTCGCCGATCTTGGAAGGTTCTT
 GACTACGTAAACCTGATGGCCTACGACTTTGCCGGCTCGTGGAGTAACTTCACC
 GGCCACGACGCCAACATGTACGCCAGCAAGGACAATGCTAATGCAACTCCTTT
 TAATACAAATGATGCTGTTTACGGCGTACATCAAAGGAGGTGTCCCTGCCAGCA
 AAATTGTCCTGGGTATGCCCATCTACGGTCGGTCTTTTCGAGAAGACTGAGGGA
 ATTGGCAAGCCATAACAACGGTATCGGCTCTGGCAGCTGGGAGAACGGTGTATG
 GGATTACAAAGCTCTTCCCAAGTCTGGGGCCACCGTCAAGTGCGACAACGCTG

TTGTGGGCTGCTATAGCTACGATGCGAGCACTCAGGAGCTCATTTCTTTTCGACA
 CTCCAGCTGTTATCAACACCAAGGTTAGCTGGCTTAAGGGCCAGGGACTCGGT
 GGAAGCATGTTTTGGGAGGCTTCCGCTGATAAGAAGGGCGCCGATTCCCTCAT
 CAGCACAAGCCACCAAGGTCTTGGTAGCCTGGACAGCGCTCAGAAGTGCCTTG
 ACTACCCCAACTCAAAGTATGACAACATCAAGAATGGCGTGAAATAGGCACTC
 AGATATGTTCTGGCTTGATCATTGGCATTGGATCCGTCTTGCCCTGTACATATT
 ACGCTGCACTGCCCACACTCAAGCTTGACAAGACTTTCCATACTTTTATTGTAC
 ATATTATAGATGTCACGATCATGTACATAGTCAATTGACTTCACTTTCT

bbhit bölgesi

>KTU-24

ATGGCTCCTTTTCTTCAAACCAGCCTCGCGCTCCTTCTTTGTGTGCTTCCACCA
 TGGTCAGCGCCTCGCCCTTGGCGCCGCGAGCCGACACCTGCGCAACCAAGGGC
 CGGCCGGCCGGCAAAGTGCTCCAGGGCTACTGGGAGAACTGGGACGGTGCCA
 AGAACGGGGTGCACCCTCCGTTTGGCTGGACGCCCATCCAAAACCCCGACATT
 CGCAAGCACGGCTACAACGTCATCAATGCTGCCTTTCCCATCATCCAGCCTGA
 CGGCACCGCGCTCTGGGAGGACGGCATGGACACGGGCGTCAAGGTGGCGAGC
 CCGGCCGACATGTGCGAGGCCAAGGCAGCGGGTGCCACCATCTTGATGTCGAT
 TGGCGGTGCTACTGCGGCCATTGACCTGAGCTCGTCGGCTGTGGCTGACAAGT
 TTGTCTCGACCATTGTGCCGATTCTGAAAAGTACAACCTTTGACGGCATTGATA
 TCGACATTGAATCCGGCCTCACAGGCAGCGGAAACATAAACACCTTGTCCACC
 TCGCAGACCAACCTGATTAGAATCATTGATGGCGTTCTCGCGCAGATGCCCGC
 CAACTTTGGCTTGACCATGGCGCCAGAGACTGCCTACGTTACCGGTGGGACGA
 TTACGTACGGGTCAATCTGGGGCTCCTACCTCCCCATCATCAAAAAGTACCTCG
 ACAACGGTCGTCTCTGGTGGCTCAACATGCAGTACTACAATGGCGAAATGTAC
 GGCTGCTCCGGCGACTCGCACAAGGCCGGTACTGTCTGAAGGGTTCGTTGCTCA
 GACCGACTGCCTGAACAAGGGACTTAGCATTAGGGCGTGACAATCACGATTC
 CCTATGACAAGCAAGTGCCTGGCCTTCTGCCAGCCTGGGGCTGGCGGCGGC
 CACATGTCCCGTCCAACGTGGCGCAAGTTCTCTCCCACTACAAGGGCGCTTTG
 AAGGGATTGATGACTTGGTCTCTGAACTGGGACGGCTCCAAGAATTGGACATT
 TGGCGACAATGTCAAGGGGACTTTGGGGACTGCGTAATAAAA

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Ankara’da doğdu. İlköğretimi Halil Naci Mihçioğlu İlköğretim okulunda bitirdi ve liseyi Ankara Lisesi’nde tamamladı. 2005-2006 Eğitim–Öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize-Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimine başladı. 2009 yılında bu bölümden Biyolog ünvanıyla mezun oldu. 2010 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2012 yılında yüksek lisansını tamamladı. Bir buçuk yıl özel sektörde çalıştı. 2014 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Doktora öğrenimine başladı. Evli ve bir çocuk sahibidir. İyi derecede İngilizce bilmektedir. Uluslararası taranan dergilerde yayınlanmış 6 adet makalesi mevcuttur.

Makaleler

1. **Biryol Seda**, Efe Davut, Eski Ardahan, Demirbağ Zihni, Demir İsmail, Isolation, characterization and insecticidal activity of entomopathogenic fungi from *Amphimallon solstitiale* Linnaeus,1758 (Coleoptera: Scarabaeidae) in Turkey. *Turkish Journal of Entomology* vol.44 (3), pp.374-385, 2020w.
2. **Kocaçevik S.**, Sevim A., Eroğlu M., Demirbağ Z., Demir İ., "Virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* SA Rehner & Humber in *Ips sexdentatus* and *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae)", *TURKISH JOURNAL OF AGRICULTURE AND FORESTRY*, vol.40, pp.241-248, 2016.
3. **Kocacevik S.**, Sevim A., Eroglu M., Demirbag Z., Demir İ., "Molecular characterization, virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* from *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera: Curculionidae)", *JOURNAL OF APPLIED ENTOMOLOGY*, vol.139, pp.381-389, 2015.
4. Demir İ., **Kocaçevik S.**, Sönmez E., Demirbağ Z., Sevim A., "Virulence Of Entomopathogenic Fungi Against *Plagioderia versicolora* (Laicharting, 1781) (Coleoptera: Chrysomelidae)", *AFRICAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH*, vol.8, pp.2016-2021, 2012.
5. Sonmez E., **Kocaçevik S.**, Sevim A., Demirbağ Z., Demir İ., "Efficacy of Entomopathogenic Fungi against the Alder Leaf Beetle *Agelastica alni* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae)", *ACTA ZOOLOGICA BULGARICA*, vol.69, pp.575-581, 2017
6. Sevim A., Demir İ., Sönmez E., **Kocaçevik S.**, Demirbağ Z., "Evaluation Of Entomopathogenic Fungi Against The Sycamore Lace Bug, *Corythucha viliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae)", *TURKISH JOURNAL OF AGRICULTURE AND FORESTRY*, vol.37, pp.595-603, 2013.

Görev Aldığı Projeler:

Devam Eden Projeler:

1. *Orosanga japonica* (Hemiptera: Ricaniidae)'nın Çayda Kalite Parametreleri Üzerine Etkisinin Araştırılması RTEÜ BAP, Çay İhtisas Projesi-1123 (2020-2022) (Araştırmacı)
2. *Pristiphora abietina* (Hymenoptera: Tenthredinidae) ve *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae) ile Mücadelede Kullanılmak Üzere Prototip Mikroinsektisit Geliştirilmesi. Orman Genel Müdürlüğü Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü / 2020-2023 (Araştırmacı)

Tamamlan Projeler:

3. *Ricania simulans* (Hemiptera: Ricaniidae) ile Mücadelede Prototip Mikroinsektisit Üretilmesi, Kalkınma Bakanlığı (DPT), TAGEM-17/AR-GE/06.
4. *Ricania simulans* (Hemiptera Ricaniidae) ile Mücadelede Prototip Mikroinsektisit Üretilmesi, FBA-2017-7014 BAP, Diğer, 2017.
5. *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) ile Mücadelede Kullanılmak Üzere Yeni Bir Mikroinsektisit Üretilmesi, FDK-2017-5896 BAP Doktora, 2015, Devam ediyor.
6. *Pristiphora abietina* Christ. (Ladin küçük yaprak arısı, Hym.: Tenthredinidae)'nın Fungal Mücadele Etmenlerinin Araştırılması Proje Numarası: 03.4413/2015-2018, Orman Genel Müdürlüğü.
7. *Metarhizium anisopliae*'dan *Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae)'ya Karşı Mikrobiyal Pestisit Geliştirilmesi, Diğer, BAP,2017.
8. *Dendroctonus micans*'tan Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Mikrobiyal Mücadele Potansiyellerinin Araştırılması, TÜBİTAK 1001 Projesi, 110O165, 2013.
9. Chilo Iridescent Virüs'e Ait En Erken Genlerin Transkripsiyonunu Başlatan Protein (Ler)in Tespiti TÜBİTAK 1002 Projesi, 214Z172, 2015. (Araştırmacı-Bursiyer)