

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SÜNE (*Eurygaster* spp.)’DEN İZOLE EDİLMİŞ ENTOMOPATOJEN  
FUNGUSLARIN MORFOLOJİK ve MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ  
ve PATOJENİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Esra GÜL

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ANKARA  
2016

Her hakkı saklıdır

## ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

15/4/2016

Esra GÜL

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### SÜNE (*Eurygaster* spp.)’DEN İZOLE EDİLMİŞ ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ VE PATOJENİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Esra GÜL

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fikret DEMİRCİ

Süne (*Eurygaster* spp.) buğday ve arpanın en önemli zararlılarından biridir. Bu çalışmada enfekteli sünelerden entomopatojen funguslar izole edilmiş ve hif ucu alınarak saflaştırılmıştır. Fungusların morfolojik teşhisinde konidi verici hücreler, konidi şekli ve büyüklüğü, koloni rengi gibi özellikler kullanılmıştır. *Fusarium* türlerinin moleküler teşhisinde TEF gen bölgesinin sekansı için efl-ef2 primerleri, diğer fungusların moleküler teşhisinde ise ITS4-ITS5 primerleri kullanılmıştır. Elde edilen 98 izolattan 28’i *Beauveria bassiana*, 18’inin *Isaria farinosa*, 2’sinin *Lecanicillium* spp., 1’inin *Purpureocillium lilacinum*, 2’sinin *Clonostachys rosea* olduğu tespit edilmiştir. 14 izolatın tanımı yapılamamış, geri kalan 33 izolatın ise *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* ve *Mucor* cinslerine ait olduğu belirlenmiştir.

Patojenite denemelerinde 15 izolat değerlendirilmiştir. İnokulasyon tarihinden sonra 6, 9, 12 ve 15. günlerde ölü böcekler sayılmıştır. Süne’de en yaygın ve en virulent fungus türünün *Beauveria bassiana* olduğu belirlenmiştir. En virulent olan *Beauveria bassiana* izolatlarından BB-34 ve AF-4 9.günde, E-5-1/2 ise 12. günde %100 ölüme neden olmuştur. *Isaria farinosa* izolatlarında en virulent olan Ko-Ka-2 numaralı izolat 15. günde %95.3 ölüme neden olmuştur. Di-Ka-11/1 numaralı *Lecanicillium lecanii* izolatı ise 15. günde %86.3 ölüm oluşturmıştır. Ayrıca, mukoz gelişim oranı en yüksek izolat Di-Ka-11/1 *Lecanicillium lecanii* izolatı olmuştur. Bu çalışma Türkiye’de sünedeki entomopatojen fungusların tespiti ve patojenite testleri bakımından en geniş kapsamlı çalışma olmuştur.

**Nisan 2016, 70 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Süne, *Beauveria bassiana*, *Isaria farinosa*, *Lecanicillium* spp., patojenite, mukoz

## ABSTRACT

Master Thesis

### MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI ISOLATED FROM SUNN PESTS (*Eurygaster* spp.) AND DETERMINATION OF THEIR PATHOGENICITY

Esra GÜL

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Fikret DEMİRCİ

Sunn pests is one of the most important pest of wheat and barley. In this study, entomopathogenic fungi were isolated from infected sunn pests and purified by taking hyphal tips. Morphological identification of fungi were performed using characteristic features such as conidiogenous cells, conidial sizes and shape and color of the colonies. Molecular identifications of *Fusarium* spp. isolates were performed using ef-ef2 primers for sequencing TEF region. ITS4-ITS5 primers were used for other fungal isolates. Total 98 isolates were obtained, of this isolates, 28 *Beauveria bassiana*, 18 *Isaria farinosa*, 2 *Lecanicillium* spp., 1 *Purpureocillium lilacinum*, 2 *Clonostachys rosea* were identified. 14 isolates were not identified. Other 33 isolates were in *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* ve *Mucor* genera.

15 isolates were evaluated in pathogenicity tests. Insect cadavers were counted on 6, 9, 12 and 15 days after inoculation. *Beauveria bassiana* was determined as the most common and virulent fungus on sunn pests. The most virulent *Beauveria bassiana* isolates BB-34 and AF-4 caused 100% death on 9<sup>th</sup> day. Another virulent isolate E-5-1/2 caused 100% death on 12<sup>th</sup> day. Ko-Ka-2, the most virulent *Isaria farinosa* isolate, caused 95.3% death on 15<sup>th</sup> day. *Lecanicillium lecanii* isolate Di-Ka-11/1 caused 86.3% death on 15<sup>th</sup> day. Moreover, *Lecanicillium lecani* isolate Di-Ka-11/1 was the highest in terms of the mycosis development. This study is the most comprehensive study related to identification and pathogenity of entomopathogenic fungi infecting sunn pest in Turkey.

**April 2016, 70 pages**

**Key Words:** Sunn pests, *Beauveria bassiana*, *Isaria farinosa*, *Lecanicillium* spp., pathogenicity, mycosis

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma imkanı tanıyan ve yardımcı olan danışman hocam Prof. Dr. Fikret DEMİRCİ'ye (Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) ve tezimi değerlendirerek katkıda bulunan jüri üyelerine teşekkür ederim. Tez sırasında bana her zaman destek olan aileme çok teşekkür ederim. Patojenite denemelerim sırasındaki yardımlarından dolayı staj öğrencilerimiz Mümtaz EROL ve Esra SÜNNETÇİ'ye, tezin istatistik kısmındaki yardımından dolayı Yard. Doç. Dr. Hilal TUNCA hocama (Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı), ayrıca Bitki Koruma Bölümü'ne geldiğimden beri bana her zaman yardımcı olan Prof. Dr. Aziz KARAKAYA hocama (Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) çok teşekkür ederim.

Bu tez 'Türkiye'nin farklı kışlaklarından toplanan enfekteli süne (*Eurygaster* spp.) örneklerinden izole edilmiş entomopatojen fungusların morfolojik ve moleküler yöntemlerle teşhisi' konulu 15L0447005 numaralı yüksek lisans tez projesi olarak Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

ESRA GÜL

Ankara, Nisan 2016

## İÇİNDEKİLER

|                                                                              |      |
|------------------------------------------------------------------------------|------|
| ETİK.....                                                                    | i    |
| ÖZET.....                                                                    | ii   |
| ABSTRACT .....                                                               | iii  |
| ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....                                                       | iv   |
| SİMGELER DİZİNİ .....                                                        | vii  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                        | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                      | x    |
| 1. GİRİŞ .....                                                               | 1    |
| 1.1 Sünenin Zararı .....                                                     | 1    |
| 1.2 Sünenin Coğrafi Dağılımı .....                                           | 2    |
| 1.3 Sünenin Biyolojisi.....                                                  | 3    |
| 1.4 Sünenin Mücadelesi .....                                                 | 7    |
| 1.5 Sünenin Doğal Düşmanları .....                                           | 9    |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ .....                                                     | 10   |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM.....                                                   | 17   |
| 3.1 Entomopatojen Fungusların İzolasyonu, Saflaştırılması ve Saklanması..... | 18   |
| 3.2 Fungusların Morfolojik Teşhisi .....                                     | 19   |
| 3.3 Fungusların Moleküler Teşhisi .....                                      | 20   |
| 3.4 Patojenite Denemeleri.....                                               | 22   |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....                                                 | 24   |
| 4.1 Morfolojik Teşhis .....                                                  | 24   |
| 4.1.1 <i>Beauveria bassiana</i> .....                                        | 26   |
| 4.1.2 <i>Isaria farinosa</i> .....                                           | 27   |
| 4.1.3 <i>Lecanicillium lecanii</i> .....                                     | 27   |
| 4.1.4 <i>Lecanicillium psalliotae</i> .....                                  | 28   |
| 4.1.5 <i>Purpureocillium lilacinum</i> .....                                 | 30   |
| 4.1.6 <i>Clonostachys rosea</i> .....                                        | 31   |
| 4.1.7 <i>Fusarium</i> spp. ....                                              | 32   |
| 4.1.8 Diğer funguslar .....                                                  | 35   |
| 4.2 Moleküler Teşhis .....                                                   | 37   |

|                                                                                                                             |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4.3 Patojenite Sonuçları .....</b>                                                                                       | <b>38</b> |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>                                                                                           | <b>45</b> |
| <b>5.1 Öneriler .....</b>                                                                                                   | <b>52</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                                                                      | <b>53</b> |
| <b>EKLER.....</b>                                                                                                           | <b>59</b> |
| <b>EK 1 İzolatların Morfolojik Özellikleri.....</b>                                                                         | <b>60</b> |
| <b>EK 2 İzolatların Gen Bankasındaki İzolatlarla Benzerlik Oranları .....</b>                                               | <b>63</b> |
| <b>EK 3 Zararlılarda Mücadelede Kullanılan Ticari Ürünler, Üretim Yerleri,<br/>Edilen Hedef Zararlılar ve Ürünler .....</b> | <b>65</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                                                                                        | <b>70</b> |



## SİMGELER DİZİNİ

|       |                     |
|-------|---------------------|
| Bp    | Baz pair            |
| °C    | Santigrat           |
| dsRNA | Double-stranded RNA |
| dNTP  | Deoxynucleotide     |
| NaClO | Sodyum hipoklorit   |
| ng    | Nanogram            |
| µl    | Mikro litre         |
| ml    | Mili litre          |
| dk    | Dakika              |
| sn    | Saniye              |

### **Kısaltmalar**

|      |                                          |
|------|------------------------------------------|
| AFLP | Amplified Fragment Length Polymorphism   |
| CLA  | Carnation Leaf Agar                      |
| DNA  | Deoxyribonucleic acid                    |
| FAO  | Food and Agriculture Organization        |
| ITS  | Internal Transcribed Spacer              |
| MEA  | Malt Extract Agar                        |
| RAPD | Random Amplified Polymorphic DNA         |
| RFLP | Restriction Fragment Length Polymorphism |
| PDA  | Potato Dextrose Agar                     |
| PCR  | Polimeraze Chain Reaction                |
| SNA  | Synthetic Nutrient Agar                  |
| TAE  | Tris Acetate Edta                        |
| TEF  | Translation Elongation Factor            |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1 En önemli üç süne türünün coğrafi dağılımı .....                                                                                                                                                                       | 3  |
| Şekil 1.2 a. Sünenin yeni bırakılmış yumurtaları, b. Yumurtaların üzerindeki siyah dairemsi lekeler, c. Çapa dönemindeki yumurtalar .....                                                                                        | 4  |
| Şekil 1.3 a. Sünenin 1. nimf dönemi, b. 2. nimf dönemi, c. 3. nimf dönemi, d. 5. nimf dönemi.....                                                                                                                                | 5  |
| Şekil 3.1 Enfekteli sünelerin toplandığı bölgeler.....                                                                                                                                                                           | 18 |
| Şekil 4.1 a. <i>Beauveria bassiana</i> 'nın zig zag şeklindeki ana gövdesi, b. Konidi verici hücrelerin şişkin tabanları, c. Konidi verici hücrelerin ve konidilerin yoğun bir şekilde kümelenmesiyle oluşan spor yumakları..... | 26 |
| Şekil 4.2 a. N-41 <i>Isaria farinosa</i> izolatının (MEA) ortamındaki gelişimi, b. Fialit yapısı .....                                                                                                                           | 27 |
| Şekil 4.3 Di-Ka-11/1 <i>Lecanicillium lecanii</i> PDA ortamındaki gelişimi, vertisillat dallanma ve konidileri.....                                                                                                              | 28 |
| Şekil 4.4 KK-8 <i>Lecanicillium psalliotae</i> izolatının PDA ortamındaki gelişimi, vertisillat dallanma ve konidileri, Domsch vd. (1980)'ne göre fungusun vertisillat dallanma ve konidilerinin çizilmiş hali.....              | 29 |
| Şekil 4.5 P-1 <i>Purpureocillium lilacinum</i> 'un PDA ortamındaki gelişimi.....                                                                                                                                                 | 30 |
| Şekil 4.6 P-1 <i>Purpureocillium lilacinum</i> 'un fialit yapısı ve sporları, Samson (1974)'a göre <i>P. lilacinum</i> 'un fialit ve konidilerinin çizilmiş hali .....                                                           | 30 |
| Şekil 4.7 a. N-11 <i>Clonostachys rosea</i> izolatının MEA ortamındaki gelişimi, b. d. Fialit yapısı ve konidilerin kümeler halinde oluşumu, c. PDA ortamında oluşturduğu klamidosporu.....                                      | 31 |
| Şekil 4.8 E-1 <i>Fusarium oxysporum</i> izolatının klamidosporları ve mikrokonidileri ve PDA ortamındaki gelişimi ve CLA ortamındaki makrokonidileri.....                                                                        | 33 |
| Şekil 4.9 E-7/2 <i>Fusarium acuminatum</i> izolatının CLA ortamındaki sporodokyumları, zincir şeklindeki klamidosporu ve makrokonidileri, PDA ortamındaki gelişimi.....                                                          | 34 |
| Şekil 4.10 <i>Penicillium</i> spp. fialit yapısı ve zincir şeklindeki konidileri.....                                                                                                                                            | 35 |
| Şekil 4.11 <i>Aspergillus</i> spp. binoküler altındaki görüntüsü, vesikül ve konidilerinin görüntüsü .....                                                                                                                       | 35 |
| Şekil 4.12 <i>Trichoderma</i> spp. PDA ortamındaki gelişimi ve konidioforun lateral dallanması .....                                                                                                                             | 36 |
| Şekil 4.13 <i>Mucor</i> spp. sporangiofor ve sporangiumu.....                                                                                                                                                                    | 36 |
| Şekil 4.14 ITS bölgelerinde elde edilen yaklaşık 600 bp'lik bantlar ve GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific).....                                                                                                      | 37 |
| Şekil 4.15 TEF bölgelerinde elde edilen yaklaşık 700 bp'lik bantlar ve GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific).....                                                                                                      | 37 |

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.16 6. 9. 12. ve 15. günlerde izolatların sebep olduğu ölüm oranları.....                      | 40 |
| Şekil 4.17 Ölü süne ergini böceklerdeki mukoz gelişimi oranları.....                                  | 41 |
| Şekil 4.18 Esk-4 <i>Beauveria bassiana</i> izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi.....            | 42 |
| Şekil 4.19 Ak-Çe-5 <i>Beauveria bassiana</i> izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi .....         | 42 |
| Şekil 4.20 E-5-1/2 <i>Beauveria bassiana</i> izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi .....         | 43 |
| Şekil 4.21 Ko-Ka-2 <i>Isaria farinosa</i> izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi .....            | 43 |
| Şekil 4.22 N-21/1 <i>Isaria farinosa</i> izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi .....             | 43 |
| Şekil 4.23 P1 <i>Purpureocillium lilacinum</i> izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi.....        | 44 |
| Şekil 4.24 Di-Ka-11/1 <i>Lecanicillium lecanii</i> izolatının<br>süne ergini üzerindeki gelişimi..... | 44 |
| Şekil 4.25 P-3 <i>Fusarium proliferatum</i> izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi .....          | 44 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1 İzolatların elde edildiği yıllar, yerler ve toplam sayı.....                                              | 17 |
| Çizelge 3.2 ITS bölgesi için kullanılan PCR karşımı ve PCR döngüsü .....                                              | 21 |
| Çizelge 3.3 TEF bölgesi için kullanılan PCR karşımı ve PCR döngüsü.....                                               | 21 |
| Çizelge 4.1 İzolatların illere göre dağılımı.....                                                                     | 25 |
| Çizelge 4.2 PDA ortamına aşıl原因 izolatların 4 günlük gelişme hızları.....                                             | 32 |
| Çizelge 4.3 İnkubasyonun 6, 9, 12 ve 15. günlerinde izolatların sebep olduğu ölüm oranları ve stardart sapmaları..... | 40 |



# 1. GİRİŞ

## 1.1 Sünenin Zararı

Süne (*Eurygaster* spp.) buğday ve arpanın en önemli zararlılarından biridir. Süne yıllık olarak yaklaşık 15 milyon ha alanı etkilemektedir (Moore ve Edgington 2006). Lodos (1961), ülkemizde süne istilasının olmadığı yıllarda zararın ortalama %15-20 olduğunu, istila yıllarında ise zararın %90'a kadar çıktığını, bazen de hiç mahsul alınamadığını belirtmiştir.

Süne, sap üzerinde yoğun bir şekilde beslenirse bitkinin zayıf düşmesine ve kurumasına neden olur. Bu durumdaki bitkiler başak oluşturamazlar. Sünenin bu zararına “kurt boğazı” adı verilmektedir. Bitkinin ileri dönemlerinde, süne bitkinin üst kısımlarında beslenmesini sürdürmektedir. Başak sapında ve başak üzerinde beslendiği zaman, başakta tane oluşumu engellenmektedir. Başakların içlerinin boş olduğu görülür ve bu durumdaki bitkiler dışarıdan bakıldığında beyaz renkte görünmektedir. Sünenin bu zararına ise “akbaşak” zararı adı verilmektedir.

Süne buğday ve arpanın dışında çavdar, yulaf, çimenler ve yabani graminelerle de beslenebilir. Süne, bitkinin sap, yaprak ve başakları üzerinde sokucu-emici ağız yapısıyla bitki özsuğunu emerek beslenmektedir. Sünenin salgıladığı enzimler gluteni parçalayarak unun ekmeklik kalitesini azaltır ve genellikle istenmeyen lezzette olmasına neden olur. Ayrıca sünenin olduğu alandan elde edilen samanı çiftlik hayvanlarının yemediği de rapor edilmiştir (Parker vd. 2011).

Ülkemizde süne zararının yoğun olduğu 1982 yılında, Trakya bölgesinde bazı un fabrikalarından gelen unların kalitelerinin düşük olduğu yönünde şikayetler duyulmuştur (Lodos ve Önder 1983). Süneden zarar görmüş tanelerde 1000 dane ağırlığının %78-92 azalabileceği ve tohumun çimlenme oranının da düştüğü belirtilmiştir (Critchley 1998).

## 1.2 Sünenin Coğrafi Dağılımı

Brown tarafından 1963’de yapılan çalışmada *E. integriceps*’in Türkiye, İran, Irak, Suriye, Lübnan, İsrail’de bulunduğu belirtilmiştir. Bu süne türü ayrıca Hırvatistan, Sırbistan, Karadağ, Yunanistan, Bulgaristan, Romanya, Ukrayna, Rusya, Kazakistan, Özbekistan, Kırgızistan, Tacikistan, Afganistan ve Pakistan’da bulunmaktadır (Critchley 1998). Paulian ve Popov tarafından 1980 yılında *E. maura*’nın Batı Asya ve Kuzey Afrika’da, CIE tarafından 1976 yılında *E. austriaca*’nın Güney Avrupa, Kuzey Afrika (Cezayir’den Fas’a kadar), İran, Türkiye ve CIS (Bağımsız Devletler Topluluğu)’de bulunduğu belirtilmiştir (Critchley 1998). *E. maura* Batı ve Kuzey Avrupa’da, *E. integriceps* ise Güney ve Doğu Avrupa’da yaygın olarak bulunmaktadır. *E. integriceps* türü Afrika’da kaydedilmemiştir (Critchley 1998). Şekil 1.1’de üç önemli süne türünün coğrafik dağılımı verilmiştir.

Koçak ve Babaroğlu (2005), Orta Anadolu Bölgesi’ndeki süne kışlaklarında yaptıkları çalışmada 7 adet süne türünü tespit etmişlerdir. Bunlar *E. dilaticollis*, *E. hottentota*, *E. schreiberi*, *E. testudinaria* ve ekonomik olarak zarara neden olan *E. integriceps*, *E. maura*, *E. austriaca* türleridir. *E. dilaticollis* türünü yalnızca Çankırı ilinde bulmuşlardır ve bu tür Orta Anadolu Bölgesi için ilk kayıt olmuştur. Ankara ilinde *E. austriaca* (%0,2) ve *E. maura* (%99,8) türünü tespit etmişlerdir. Orta Anadolu Bölgesi’nde *E. integriceps* türünü ise tespit edememişlerdir. Lodos ve Önder (1983)’de yaptıkları çalışmada Orta Anadolu Bölgesinde *E. integriceps* türüne rastlayamamışlardır. Genel olarak baktığımızda ise, Ege, Marmara, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgesi’nde yaygın olarak *E. integriceps* türü bulunurken İç Anadolu Bölgesi’nde *E. maura* türünün daha yaygın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 En önemli üç süne türünün coğrafi dağılımı  
▲ : *E. maura* ▲ : *E. integriceps* ▲ : *E. austriaca*

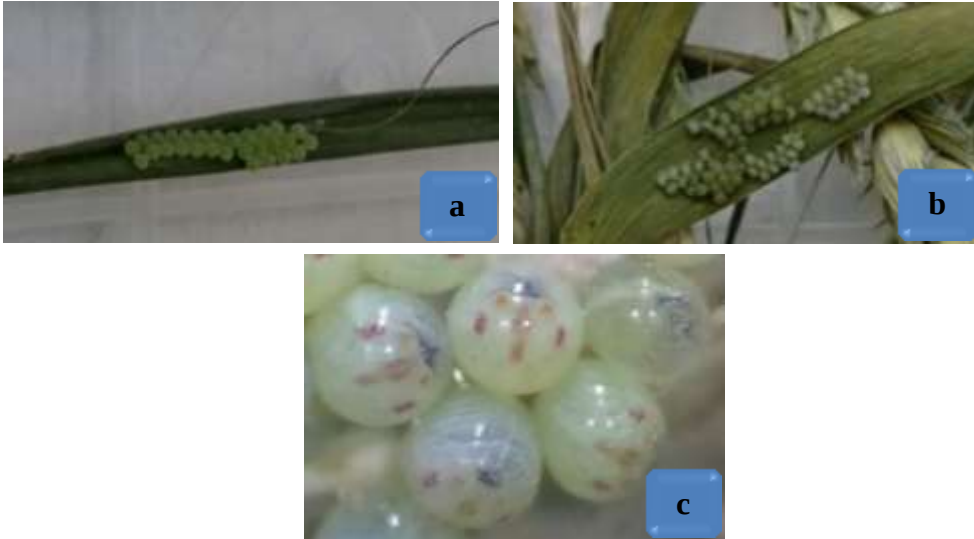
### 1.3 Sünenin Biyolojisi

Süne bahar ve yaz başlangıcında nispeten düşük rakımdaki buğday alanlarında beslenip üremektedir. Yaz sonlarında yazlama alanlarına, daha sonra ise sonbahar ve kış aylarını geçirdiği kışlama alanlarına göç etmektedir. Ülkemizde yüksekliği 1200-2100 metre olan hemen her dağda bu böceğe rastlamak mümkündür (Lodos 1961).

Sünenin göç dahil bütün hayati süreçleri için en uygun koşullar, havanın ılık olması, nem ve rüzgarın ise yüksek olmamasıdır. Nemli, soğuk, bulutlu hava, aşırı rüzgar, popülasyonun gelişimini olumsuz etkilemektedir. Şiddetli yağmurlar yumurta ve nimflerdeki ölüm oranının artmasına neden olmaktadır (Critchley 1998). Süne soğuk, şiddetli rüzgar ve yağışlı havalarda bitkilerin dip kısımlarına ve topraktaki yarıklar arasına gizlenerek faaliyetini durdurmaktadır.

Brown 1962 yılında yaptığı çalışmada, sünenin sadece kurumuş gıdalarla beslenmesi durumunda 9-10 gün içinde ölüm görüldüğünü belirtmiştir (Critchley 1998). Süne bulunduğu tarlada su ihtiyacını karşılayabileceği yabancı bitkiler bulunduğu zaman sertleşmiş buğdaylarda da beslenmektedir. Sünenin bulunduğu yerdeki bütün buğdaylar sertleşmişse, süne civarda bulunan olgunlaşmakta olan buğday alanlarında ve yabancı graminelerle beslenmeye başlamaktadır. Bunun nedeni yüksek sıcaklıklardan dolayı sünenin su kaybetmesidir.

Süne yılda bir döl vermektedir. Bir dişi ortalama 80 adet yumurta bırakmaktadır. Yumurtalarını ikili ya da üçlü sıralar halinde genellikle yaprakların alt yüzeyine bırakmaktadırlar. Dişi bir kerede ortalama 14 adet yumurta bırakmaktadır. Yumurtalar ilk bırakıldığında parlak yeşil renktedir (Şekil 1.2 a). Daha sonra renkte bir miktar koyulaşma, beşinci günden sonra yumurtada siyah dairemsi bir leke gözlenmektedir (Şekil 1.2 b). Bu dönemden 2-3 gün sonra bu leke kaybolarak şekli çapa benzeyen kırmızı renkte bir leke ortaya çıkmaktadır (Lodos 1961). Bundan sonra çapanın altında üçgen şeklinde bir leke belirir (Şekil 1.2 c), yumurtanın rengi de hafif sarıya döner. Bu devreden sonra nimfler yumurtadan çıkmaya başlarlar (Lodos 1961). Sıcaklıklar arttıkça yumurtalar daha kısa sürede açılmaktadır.



Şekil 1.2 a. Sünenin yeni bırakılmış yumurtaları, b. Yumurtaların üzerindeki siyah dairemsi lekeler, c. Çapa dönemindeki yumurtalar

Süne birinci ve ikinci nimf dönemlerinde avcılarından kaçmak için zamanlarının çoğunu bitkilerin alt kısımlarında geçirmektedir. Üçüncü nimf dönemi süresince bitkinin üst kısımlarına doğru yayılmaya başlamaktadır, dördüncü ve beşinci nimf döneminde ise zamanlarının çoğunu sap ve başaklar üzerinde geçirmektedir. Hava sıcaklıkları arttığı zaman ise geceleri beslenmelerini sürdürebilirler. Sıcak havalarda çoğu nimf toprak üzerinde ya da yere yakın yapraklardaki korunaklı yerlerde bulunmaktadır (Critchley 1998).

Dördüncü nimf dönemine kadar her gömlek değiştirmede geçen süre 4-7 gündür, gömlek değiştirme süresi sıcaklığa ve gıda miktarına bağlıdır. Beşinci nimf dönemine geçiş için ise 10-11 gün gereklidir. Yumurtadan ergin oluncaya kadar geçen süre minimum 35-37 gün almaktadır (Critchley 1998). Sünenin nimf aşamaları şekil 1.3'te verilmiştir.

Yumurtadan çıkan nimfler 5 gömlek değiştirdikten sonra ergin hale gelmektedir. Süne, hasattan sonra yüksek yaz sıcaklıklarından kaçmak için hububat alanlarını terk ederek yüksek yerlere doğru göç etmektedir. Göç sırasında yol üzerindeki yabani graminelerle beslenmesini sürdürebilir.



Şekil 1.3 a. Sünenin 1. nimf dönemi, b. 2. nimf dönemi, c. 3. nimf dönemi, d. 5. nimf dönemi

Erginler *Artemisia* spp. ve *Astragalus* spp. gibi yabancı otların altında, yere dökülen meşe ağacı yaprakları arasında ve çam ağacı altlarında kışı geçirmektedir. Popov 1979 ve 1985 yıllarında yaptığı çalışmada, kışlama periyodu süresinde süne popülasyonunun yaklaşık %25'inin, çoğunlukla yeterince yağ depolayamadıklarından dolayı öldüğünü belirtmiştir (Miller ve Pike 2002).

Süne erginleri kışlama bölgelerinde yaklaşık 9 ay geçirmektedir. Süne aralık ve ocak aylarında -2.5, -3 °C sıcaklığa dayanabilmektedir. Hava sıcaklıkları 12 °C'in üzerine çıkar çıkmaz, süne ekim alanlarına göç etmektedir (Critchley 1998). Kışlaklardan iniş süresi hava sıcaklıklarına bağlı olarak değişmektedir. Dağlardan ovalara iniş sabah saat 9-11 arasında olmaktadır (Lodos 1961).

Sünenin yeterli gıda alamaması, iklim durumu ve kimyasal uygulamalar popülasyonu etkileyen abiyotik faktörler olarak sayılabilir. Radjabi 1994 yılında, sünenin ölüm oranını etkileyen ana faktörün yeterli besin alamamak olduğunu belirtmiştir (Critchley 1998). Süne gıda kaynağı bolsa ve hava koşulları olumluysa 10 gün içinde yeterli yağ depolayabilmektedir. Radjabi 1994 yılında yaptığı çalışmada, süne yeterli besin kaynağı bulduğu zaman yumurta bırakma süresinin kısalması ile sonuçlanan bir davranış değişikliğinin meydana geldiğini belirtmiştir (Critchley 1998).

Süne kışları soğuk ve az-çok rutubetli, yazları sıcak ve kurak, etrafında kışlamasına imkan sağlayan uzaklıkta ve yeterli yükseklikte dağlar bulunan ve monokültür tarımın (hububat tarımı) yapıldığı yerlerde epidemi yapabilir.

Sünenin epidemi yapmasında, fizyolojisi (süne vücudunda yeterince yağ depo ederse kışı geçirebilir ve normal sayıda yumurta bırakabilir, aksi takdirde yazlama ve kışlama döneminde ölüm meydana gelir), çevre koşulları, doğal düşmanları ve patojenleri etkili olmaktadır.

#### 1.4 Sünenin Mücadelesi

Ülkemizde süne ile mücadelede geçmiş yıllarda, sünenin elle çiftçiler tarafından toplanması, süne toplama makinasının kullanılması ve kışlaklardaki sünelerin kışlayabileceği yerlerin yakılması yoluyla mücadele edilmeye çalışılmıştır. Çiftçiler tarafından çuvallar dolusu toplanan süneler yetkili kişilerce satın alınmıştır. Süneler açılan çukurlarda üzerlerine kireç dökülerek imha edilmiştir.

1960-1970 yılları süresince, FAO tarafından yakın doğu bölgelerinde bölgesel işbirliğini sağlamak için çalışmalar yapılmıştır. Bu kapsamda, süne ile ilgili bilgi birikimini artırmak, ekolojik çalışmalar, biyolojik kontrol üzerine yoğun araştırmalar, bölgesel eğitim kurslarının organize edilmesi amaçlanmıştır. 1960-1970 arasında sulanan alanlar haricinde çoğu ülkede süne ile ilgili çalışmalarda durgun bir dönem olmuş, bölgesel ve uluslararası iş birliği de azalmıştır. 1980'den sonra, kimyasal ilaç kullanımının arttığı Rusya, Afganistan, İran, Irak, Suriye, Türkiye, Bulgaristan ve Romanya'da problem tekrar önem kazanmıştır. Kimyasal ilaçlar bu yıllarda zararlıyla mücadele için kullanılmaya devam etmiştir. Süne ve parazitotitleri hakkındaki bilgi birikimi ve parazitotitlerinin kitle üretiminin yapılabilmesine rağmen, biyolojik kontrol pratik olarak uygulanamamış ve biyolojik kontrolün değeri hafife alınmıştır.

Süne ile mücadelede yeşil akşam ilaçlaması bazı ülkelerde hükümetler tarafından hava yoluyla yapılmıştır. Javahery 1995 yılında, Batı Asya'da süne popülasyonunu azaltmak için yaklaşık olarak 40,000,000\$ yıllık olarak harcadığını belirtmiştir (Parker vd. 2011).

Süne ile mücadelede organik fosforlu insektisitler ve fenitrothione yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Zibae vd. 2009). Fenitrothione *B. bassiana*'nın patojenitesi üzerindeki olumsuz etkisi nedeniyle, süne ile mücadelede *B. bassiana* ile uyumlu bir insektisit değildir (Zibae vd. 2009).

Şimşek 1996 yılında, sünenin ilaçlı mücadelesinde püskürtme şeklindeki uygulamaların, 6-12 nimf/m<sup>2</sup> ya da 2-3 ergin/m<sup>2</sup> zarar eşiği gözlemlendiği zaman buğday alanlarına uygulandığını, spreyci uygulamalarının alanda yumurta parazitleri gözlemlendiği zaman tavsiye edilmediğini belirtmiştir (Miller ve Pike 2002).

Sünenin biyolojisi entomopatojen fungus kullanılarak mücadele etmek için iki önemli seçenek sunmaktadır. Birincisi, ulaşımın nispeten kolay olduğu yerlerdeki yazlama/kışlama bölgeleridir (Parker vd. 2003). Hasattan sonra süne erginleri kışlama bölgelerine doğru uçmaya başlamakta, daha sonra yere dökülen bitki kalıntıları ve çalılar altında bahara kadar dormant halde kalmaktadırlar. Kuzey Suriye’de ağaç başına 1000 kadar yüksek düzeyde süne popülasyonu tespit edilmiştir. Bitki kalıntıları altında nem seviyesinin artması entomopatojen fungusların gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Bu nedenle ağaç ve çalıların etrafına entomopatojen fungus süspansiyonu uygulanarak, sünelerin toplu halde ölebileceği bildirilmektedir (Parker vd. 2003). İkinci yol olarak ise buğday alanlarına geri dönüşlerin başladığı baharın ilk zamanlarında uygulama yapılabileceği önerilmiştir. Süne kışlaklardan toplu halde inerken doğrudan tarlanın ortasına iniş yapabilir. Nitekim Lodos 1952 yılında Diyarbakır’da sünenin neden olduğu zararın tespiti ile ilgili çalışmasında, tarlanın Kuzey-Batısında %3.9, Güney-Batısında ise %2.9 zarar gözlenirken tarlanın ortasındaki zararın %78.9 olduğunu belirtmiştir (Lodos 1961). Bu nedenle entomopatojen fungus süspansiyonu tüm tarlaya uygulanmalıdır.

Süneyle mücadelede dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi ile ilgili de çalışmalar yapılmıştır. Suriye’de yapılan bir çalışmada kışlamış süne erginine karşı vejetatif aşamada bir durum buğdayı ile sekiz ekmeklik buğday çeşidinin dayanıklı olduğu görülmüştür. Kışlamış süne erginine karşı dayanıklı çeşitler geliştirmek için bu dayanıklılık kaynakları kullanılmıştır. İran’da, Najafi-Mirak (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, buğday ve tritikale genotiplerinin *Eurygaster integriceps* Put.’e dayanıklılık durumlarını değerlendirmiştir.

## 1.5 Sünenin Doğal Düşmanları

Ankara ilinde *E. maura* üzerinde yapılan bir çalışmada, Diptera takımının Tachinidae familyasına ait *Elomyia lateralis* Meig., *Ectophasia oblonga* R.O., *Phasia (Alophora) subcoleoprata* L., *Heliozeta helluo* F. ergin parazitoiti türleri tespit edilmiştir (Memişoğlu ve Özer 1994). Bu çalışmada da, Haymana Araştırma Uygulama Çiftliği'nden toplanan sünelerin bir kısmının Tachinidae ile parazitlendiği görülmüştür. Sünelerin saklandığı plastik kaplarda parazitoitin larva ve pupaları gözlenmiştir.

Ülkemizde süneyle mücadelede *Trissolcus semistriatus* yumurta parazitoitinin kitle üretim ve salım çalışmaları yapılmaktadır. Kuşlardan sığırcık, keklik, bildiricın, turaç, serçe, güvercin, leylekler sünenin nimf ve ergin predatörleridir. Hasat sonrasında açık araziye boşaltılan buğday yığınları arasında bol miktarda süne bulunmaktadır. Bu esnada süne ile beslenen kuşlar süne popülasyonunu azaltması bakımından önemlidir. Melan 2005 yılında, *Pardosa monticola*, *Xysticus* sp. gibi bazı örümcek türlerinin süne ile beslendiğini belirtmiştir (İslamoğlu vd. 2011). Ayrıca, kışlak alanlarında *Hexamermis eurygasteri* nematodunun süneyi parazitlediği rapor edilmiştir (Tarla vd. 2011).

Sünede entomopatojen funguslardan *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*'nin etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *Isaria farinosa*, *Lecanicillium lecanii* ve diğer funguslarda süneden izole edilmiştir (Parker vd. 2003). Bu funguslardan *B. bassiana* çok eski yayınlarda bile süne patojen olarak bildirilmiştir. Parker vd. (2003) daha sonraki yıllarda yaptıkları çalışmada süne en yaygın patojen olduğunu belirtmişlerdir. Ülkemizde sünenin yayılışı, zararı ve biyolojisi ile ilgili ayrıntılı çalışmalar Prof. Dr. Niyazi Lodos tarafından yapılmıştır. Lodos 1961 yılında çıkardığı kitabında, kışlak alanlarında *B. bassiana* ile enfekteli sünelere rastladığını bildirmiştir.

Bu çalışma sünedeki entomopatojen fungusların morfolojik, moleküler yöntemlerle teşhisi ve virulans izolatların tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Memişoğlu ve Özer (1994), 1981 ve 1982 yıllarında kışlaklardan toplanan ölü *E. maura* bireylerinde *Beauveria* sp., *Mucor* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* spp., *Alternaria* sp., *Stemphylium* spp. ve *Aspergillus* spp. cinsi fungusları tespit etmişlerdir.

Parker vd. (2002), Kuzey Suriye'deki kışlama bölgelerinde sünenin dağılım profilini belirlemek ve ergin popülasyonu örnekleme planlanmasını geliştirmek amacıyla çalışmalar yapmışlardır.

Parker vd. (2003), 1998-2001 yılları arasında Türkiye, Suriye, İran, Kazakistan, Kırgızistan, Rusya, Özbekistan'dan enfekteli ve canlı süne örnekleri toplamışlardır. Bu böceklerden elde ettikleri izolatların %50'sinden fazlası *B. bassiana* ya da *Beauveria* sp., yaklaşık %25'i ise *I. farinosa* olarak belirlenmiştir. Elde edilen 221 izolatın *Beauveria*, *Isaria*, ve *Verticillium* cinsine ait olduğu ve en yaygın türün *B. bassiana* olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen 221 izolatın 31 tanesi gelişme ve sporulasyon durumunu incelemek için 20, 25, 30 ve 35 °C'de 20 gün geliştirilmiştir. Optimum gelişme ve sporulasyonunun genellikle 25 °C'de olduğu görülmüştür. İzolatların hiçbirisi 35 °C'de gelişmemiştir. *B. bassiana*'nın birkaç ırkının ve bir *M. anisopliae* izolatının iki ticari izolata göre *E. integriceps*'e karşı daha virulans olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar çalışmalarında *P. lilacinum*'un birkaç izolatını, *Fusarium* sp., ve *Hirsutella* sp. cinsi fungusları da tespit etmişlerdir.

Parker vd. (2003), patojenite denemelerini taze bitki ve yere dökülen bitki artıkları ile olmak üzere iki farklı yolla eş zamanlı olarak yapmışlardır. Birincisinde 30-35 cm uzunluğunda her saksıda 20 buğday olacak şekilde deneme kurmuşlardır. Sünenin kaçmasını önlemek için delikli bir silindirik engel saksının üzerine yerleştirilmiştir. Bitkiler üzerine 2 ml suspansiyon püskürtülmüştür. Bitkiler daha sonra 20-25 °C'deki seraya konulmuştur. 5 gün sonra ölü süneler sayılmıştır. Canlı olan böcekler içinde taze buğdayın olduğu plastik kavanozlara yerleştirilmiştir. Böcekler doğal ışık altında 20 °C'deki laboratuvarında tutulmuştur. 10. günde ölü böcekler tekrardan sayılmış ve taze

buğdaylar kavanoza ilave edilmiştir. 15. günde son sayımlar yapılmıştır. İkinci denemede ise *E. integriceps*'in kışladığı bilinen çam altlarından 100 kg bitki artığı toplanmıştır. Daha sonra her plastik kavanoza 15 g konulmuştur. Böceklerin üzerlerine 2 ml konidi süspansiyonu püskürtülmüştür. Kavanozlar doğal ışık altında 20 °C'deki laboratuvarında tutulmuştur. 5. günde ölü böcekler sayılmıştır. Canlı olan böcekler taze bitkilerin olduğu temiz kavanoza yerleştirilmiştir. 10. günde ölü böcekler kavanozdan çıkarılmış ve tekrardan taze bitki ilave edilmiştir. 15. günde son sayımlar yapılmıştır. Bir deney 5 tekerrürlü, tüm deney ise bir ayı aşkın bir sürede 3 kez tekrarlanmıştır. *B. bassiana*, *I. farinosa*, *Verticillium lecanii* ve *M. anisopliae* türlerini patojenite denemelerinde kullanmışlardır. Mycotrol (*B. bassiana* içeren ürün) ve Green Muscle (*M. anisopliae* içeren ürün) standart olarak kullanılmıştır. 15. günde bir *B. bassiana* izolatının ticari izolat Mycotrol'den daha virulent olduğunu görmüşlerdir. En yüksek ölüm oranlarının *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatlarından elde etmişlerdir. Yere dökülen bitki artıkları ile kurdukları denemede taze bitkilerle kurdukları denemeye göre ölüm oranının daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bunun nedenini, bitki artıklarının taze bitkilere göre daha nemli olması ve fungal gelişim için daha uygun bir ortam olmasına bağlamışlardır.

De Muro vd. (2003), Kenya ve diğer 16 farklı ülkeden topraktan ve böceklerden izole edilmiş (1 *Beauveria* sp., 2 *B. brongniartii* ve 47 *B. bassiana*) *Beauveria* spp. izolatlarının genetik çeşitliliğini değerlendirmek için ITS-RFLP, ITS sekansı, AFLP kullanmışlardır. *B. bassiana* izolatlarının hepsi aynı bandı verdiği için ITS-RFLP ile ayırt edilememiştir. Ama, AFLP tekniği izolatlar arasındaki polimorfizmi vermiştir. Ancak, izolatlar ile konukçu ve coğrafik orijin arasında açık bir ilişki görülemedi.

Wang vd. (2004), Güneydoğu Çin'deki Magushan ormanında *Dendrolimus punctatus* (Lepidoptera)'a karşı *B. bassiana*'nın ırklarını kullanmışlar ve biyokontrol girişinin potansiyel çevresel risklerini değerlendirmişlerdir. İki egzotik *B. bassiana* ırkı bir yıldan fazla sürede sürekli olarak su bazlı uygulanmıştır. Mukoz oluşturmuş kadavralardan elde edilen izolatlar saflaştırılarak moleküler markerlarla karakterize edilmişlerdir. Bb17 ırkının %9.1, bb13 ırkının ise %5.2 bulunduğunu tespit etmişlerdir. Yayılan ırklar hedef dışı organizmalar üzerinde de tespit edilmiştir. Deneme alanındaki *B. bassiana*

popülasyonunun genetik çeşitliliğinin zamanla dinamik bir şekilde değiştiğini ve farklı sezonlarda ya da örnekleme periyotları boyunca tek bir genotip ırkın egemen olmadığını bildirmişlerdir. Yerel ırkların da çevrede hakim olduğunu gözlemişlerdir. Karışık enfeksiyon ya da genetik rekombinasyonun doğal koşullar altında ırklar arasında meydana gelebileceğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak *B. bassiana*'nın çevre için ana risk oluşturmadığını ve egzotik ırkların yerel ırkların yerine geçtiği ile ilgili bir kanıtın bulunmadığını belirtmişlerdir.

De Muro vd. (2005), yedi ülkedeki kıtlama bölgelerindeki süne, kımıl ve diğer böceklerden elde edilmiş 110 *Beauveria* izolatının (104 *B. bassiana*, 5 *Beauveria* spp., 1 *B. brongniartii*) moleküler düzeyde genetik çeşitliliğini araştırmak ve karakterize etmek için dört teknik kullanmışlardır. Bunlar, ITS-RFLP, ITS sekansı, ISSR-PCR, ve AFLP'dir. ITS-RFLP ve ITS sekansı ile izolatlar arasında önemli genetik varyasyon belirlenememiştir. ITS-RFLP ve ITS sekansı için, ITS1F ve ITS2 primerlerini kullanmışlardır. Ama ISSR-PCR ve AFLP analizleri, coğrafik orijin ile ilişkili türüçi gruplara ve bazı izolatlar arasında yakın genetik çeşitliliğe işaret etmiştir. Bu çalışma sonucunda, *E. integriceps*'den izole edilmiş *B. bassiana* 'lar arasında açık bir genotipik grup bulunamamıştır. Bu yüzden, kıtlama popülasyonlarının (biyokontrol amacıyla kullanmak için daha uygun olabilecek konukçuya spesifik olanlardan ziyade) genellikle yerli izolatlar tarafından enfekte edildiğini bildirmişlerdir.

Rehner ve Buckley (2005), çeşitli coğrafik bölgelerden, habitatlardan ve böcek konukçularından elde edilmiş 86 *Beauveria* ve *Beauveria* ile yakından ilgili *Cordyceps* izolatlarının ITS ve EF1- $\alpha$  (elongation factor 1-alpha) sekanslarına dayanan analizler yapmışlardır. Çalışmalarında ITS4/ITS5 primerlerini kullanmışlardır. EF1- $\alpha$ 'nın neredeyse tüm kodlayan bölgesini amplife etmişler ve Oligo 6 bilgisayar programını kullanarak laboratuvarlarında tasarlanan bir primer kombinasyonu kullanarak sekanslamışlardır. Elde ettikleri sekansları ayrı ayrı ve kombine ederek değerlendirmişlerdir. İki sekansın birleştirilmesi sonucu oluşan filogenetik ağaçta *B. bassiana* grup A, *Beauveria cf. bassiana* ise C grubunda yer almıştır. Grup A küresel olarak dağılmıştır ve Asya telemorfu *Cordyceps staphylinidaecola* ve onun muhtemel sinonimi *C. bassiana*'yı içermektedir. Grup C'nin içerdiği bütün izolatlar anomorfiktir

ve Avrupa ve Kuzey Amerika orijinlidir. Grup B *B. brongniartii* izolatını içermektedir. Grup D ise *B. caledonica* ve *B. vermiconia* bulunmaktadır. Grup E, Asya'dan *Beauveria* anamorflarını ve bir *Cordyceps* telemorfunu, grup F ise Güney Amerika türü *B. amorphia*'yı içermektedir.

Dalzoto vd. (2006), farklı konukçulardan ve coğrafik bölgelerden *B. bassiana* ırklarının dsRNA varlığını değerlendirmişlerdir. Kültür ortamının cycloheximide ile muamele edilmesinin *B. bassiana*'nın dsRNA içermeyen koloniler elde etmede etkili olduğunu görmüşlerdir. Cycloheximide'nin RNA sentezini engellediği önceki çalışmalarda da görülmüştür (Bottacin vd. 1994, Elias ve Cotty 1996, Melzer ve Bidochka 1998). Araştırmacılar dsRNA içeren fungusun, dsRNA içermeyene göre önemli derecede daha az konidi ürettiğini, dsRNA içermeyen fungusun daha patojen olduğunu tespit etmişlerdir.

Edgington vd. (2007), Parker'ın elde ettiği *Beauveria* izolatlarından birisi (kışlayan popülasyondan elde edilmiş) ile Türkiye ve Suriye'de alan denemeleri yapmışlardır. Buğdaylara yağ tabanlı bir formülasyonu elde taşınabilen ilaçlama makinesi ile püskürtmeleri sonucunda önemsiz düzeyde ölüm oranı gözlemlemişlerdir. Kışlama alanlarından elde edilmiş izolatların süne ile büyük ölçüde rastlantısal bir ilişkiye sahip olduğu belirtilmiştir (De Muro vd. 2005). Bu yüzden sünenin en sağlıklı döneminde süneyle daha yakın bir ilişkinin olabileceği temelinden hareketle yaz popülasyonundan izolatların elde edilmesine karar vermişlerdir. 2003 yılı Haziran ayında yaklaşık 7000 adet ergin süne Suriye ve Türkiye'deki buğday alanlarından elde edilmiştir. *B. bassiana*'nın yedi izolatı bu böcek kadvralarından elde edilmiştir. Nisan 2004'te ilk alan denemesinde yaşam döngülerinin bitiminde ölen süne erginleri üzerinde *B. bassiana*'nın bir etkisi görülememiştir. Ancak, direkt sprey teması yoluyla nimflerde %93.5 ölüm oranı görülmüştür. Bu sonuçtan dolayı, sünenin nimf aşamasının hedef olarak belirlenmesinin yararlı olabileceği önerilmiştir.

Kouvelis vd. (2008), mitokondriyal bölgelere dayanan moleküler araçlarla, *B. bassiana* izolatlarının kışlama konukçuları ile karşılaştırıldığında, yaz konukçuları ile daha yakından bir ilişkisinin olup olmadığını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda sünenin yaz popülasyonu ile açık bir ilişki gözlenmemiştir. Geleneksel ITS1-5.8S-ITS2

bölgeleri ve iki mitokondriyal genlerarası bölgeler için nad3-atp9 ve atp6-rns primerlerini kullanmışlardır. Bütün amplife edilen ürünler sekanslanmıştır. İzolatlar üç farklı gruba ayrılmıştır. Grupların ikisinde coğrafik ilişki görülürken, konukçuları ile açık bir ilişki görülmemiştir. Mitokondriyal genlerarası bölgelerin çekirdeki ITS1-5.8S-ITS2 bölgelerinden daha bilgi verici olduğu belirlenmiştir. Bütün Suriye izolatları (iki yaz izolatı hariç) ve Türkiye’den bir yaz izolatı A grubuna girmiştir. Rusya (4 izolat), Kazakistan (1 izolat) ve Kırgızistan (1 izolat) iyi desteklenmiş bir grup oluşturmuştur. Bu B grubunda Suriye (2 yaz izolatı) ve İran (1 izolat) da yer almıştır. İran, Özbekistan ve Türkiye’den üç izolat C grubunu oluşturmuştur ve açık bir coğrafik ilişki görülmemiştir. Çeşitli ekosistemlere maruz kalmanın yansıması olan coğrafik orijin, izolatların başarısında önemli olabilir. Kışlama bölgelerinden elde edilen izolatlar yazlama bölgelerindeki böcekler tarafından taşınmış geç yaz enfeksiyonları olabilir. Bu çalışma ile kışlama bölgelerinden elde edilen izolatlar ile süne arasında tesadüfi bir ilişkinin (fungal enfeksiyon için, hem böceklerin durumu hem de çevre koşulları bakımından daha uygun koşulların olması nedeniyle) olduğu reddedilmiştir. Böylece, kışlama bölgelerinden elde edilen izolatların da biyolojik mücadelede kullanılabileceği fikrini de desteklemişlerdir. Filogenetik ağaçların kombine edilmesi *B. bassiana* izolatları arasındaki ilişkiyi daha net bir şekilde vermektedir. mt nad3-atp9 ve rns-atp6 genler arası bölgeler, grupları tanımlamak için değerli bilgiler vermiştir. Grup A 425-436, grup B 397-400 ve grup C 385-386 ürün vermiştir. Bu yüzden bu gruplar agaroz elektroforezi kullanarak kolay ve hızlı bir şekilde ayrılabilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, mt genler arası bölgelerin bu entomopatojen fungusların türler arası tanımlanması için araçların geliştirilmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Vega vd. (2008), çeşitli kahve dokularından *Acremonium*, *B. bassiana*, *Cladosporium* spp., *Clonostachys rosea*, *Paecilomyces* spp. endofitik funguslarını izole etmişlerdir. Patojenite denemelerinde *B. bassiana* ve *C. rosea* funguslarını kahvede zarar yapan Scolytinae alt familyasındaki yazıcı böceklerle karşı denemişlerdir. Böcekleri  $1 \times 10^7$ ’lik konidi süspansiyonunda 2 dk bekleterek inokule etmişlerdir. İnokulasyondan 21 gün sonra *B. bassiana*’nın %100, *C. rosea*’nın ise %82.5 ölüme neden olduğunu belirtmişlerdir.

Sevim vd. (2010), Doğu Karadeniz Bölgesindeki fındık yetiştirilen alanlarındaki topraktan (*Galleria* tuzaklama metodu ile) entomopatojen fungusları izole etmişlerdir ve *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae)'ya karşı bu bölgelerden seçilmiş yedi izolatin etkinliğini belirlemişlerdir. İzolatların moleküler karakterizasyonunda ITS bölgesi, 18S (SSU rDNA)'in kısmi sekansı ve EF1- $\alpha$  genlerini kullanmışlardır. ITS bölgesi ITS4/ITS5 primerlerini kullanmışlardır. EF1- $\alpha$  genlerini, seçilen *Beauveria cf. bassiana* ırkları için EF1T ve 1567R primerlerini kullanmışlardır. 18S (SSU rDNA)'in kısmi sekansını NS1 ve NS8 primerlerini kullanarak *Metarhizium* ırkları için amplife etmişlerdir. *B. bassiana* izolatlarını moleküler olarak tanımlamak için 571 bp ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesini sekanslamışlardır. 2 adet *Beauveria cf. bassiana* ırkları için daha önceki çalışmalarla karşılaştırmak ve daha ileri tanımlama için EF1- $\alpha$ 'nın kısmi sekansını da kullanmışlardır.

Rehner vd. (2011), çoğunlukla ARSEF (Usda-Ars Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures) kültür koleksiyonundan temin ettikleri *Beauveria* ırklarının tür çeşitliliğinin analiz edilmesinde, *Beauveria* için filogenetik bir marker olarak geliştirdikleri Bloc bölgesini kullanmışlardır. TEF, RPB1 ve RPB2 gen bölgelerini de kullanarak *Beauveria*'nın filogenetik yapısını belirlemişlerdir. Filogenetik analiz çalışmalarıyla 6 yeni tür tanımlamışlardır (*B. asiatica*, *B. australis*, *B. kipukae*, *B. pseudobassiana*, *B. sungii* ve *B. varroae*).

Johney vd. (2012), Kanada'da *Agrilus planipennis*'den elde ettikleri *I. farinosa* ve *Purpureocillium lilacinum*'un moleküler teşhisinde ITS1-5.8S-ITS2 ribosomal DNA geni ve kısmi  $\beta$ -tubulin genini sekanslamışlardır. Filogenetik analiz sonucunda *Isaria* ve *Purpureocillium*'un iki farklı cins olduğu görülmüştür (Luangsa-Ard vd. 2005), (Johney vd. 2012).

Sedighi vd. (2013), *Metarhizium anisopliae* var. *major* fungusunu *Eurygaster integriceps*'in ergin ve beşinci nimf dönemine karşı denemişlerdir.  $1 \times 10^4$  ile  $1 \times 10^8$  arasında değişen beş konsantrasyon kullanmışlardır. Deneyi 4 tekerrürlü olarak tasarlamışlardır. Her tekerrürde 10 böcek kullanılmış, ergin böceklerle 4 ml, nimflere ise 3 ml spor süspansiyonu püskürtülmüştür. Nimfler erginlerle aynı koşullarda

tutulmuşlardır. Böcekler 25°C’de, 75±5% RH ve 16:8 L:D koşullarda inkube edilmiştir. Ölü böcekler %50’lik NaClO 2 dakika bekletilmiş, %70 lik etanolde bir kez durulanmış ve üç kez steril distile sudan geçirilerek nemli hücreye almışlardır. Sonuç olarak sünenin diyapoz erginlerinin yaz erginlerine göre enfeksiyona daha hassas olduğunu, nimf aşamasının da erginlere göre daha hassas olduğunu bulmuşlardır. Nimf aşamasının hassas olmasının nedeninin kutikula tabakasının kalınlığı ile alakalı olabileceğini, diyapoz aşamasının hassas olmasının nedeninin ise besin eksikliği ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir.

Muştu vd. (2014), *Eurygaster integriceps* Puton ve *Eurygaster austriaca* (Schrk.)’nın ergin dönemlerine karşı *I. farinosa* (Holm.) ve *B. bassiana* (Balsamo) entomopatojen funguslarını denemişlerdir. Ergin süneleri kışlama bölgelerinden toplamışlardır. 27±1°C, %95 r.h. ve 16L:8D olan laboratuvar koşullarında, 1×10<sup>6</sup> ve 1×10<sup>8</sup> konsantrasyonlarda denemelerini kurmuşlardır. Ölü böcekleri 6, 9 ve 12. günlerde saymışlardır. *B. bassiana*’nın her iki türe karşı daha etkili olduğunu bulmuşlardır.

Sevim vd. (2014), *B. bassiana*’nın moleküler karakterizasyonunda ITS1-5.8S-ITS2 ve EF1-α gen bölgesinin kısmı sekansını kullanmışlardır. ITS4, ITS5 primerlerini ve EF1-α gen bölgesi için EF1T ve 1567R primerlerini (Rehner ve Buckley 2005) kullanmışlardır.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Enfekteli süne örnekleri Ankara, Aksaray, Eskişehir, Karaman, Kırıkkale, Nevşehir, Yozgat, Afyon, Diyarbakır ve Edirne illerindeki kışlaklardan elde edilmiştir (Şekil 3.1). 3 adet *Fusarium* ve 1 adet *Purpureocillium* izolatu Ankara-Polatlıdan toplanan böceklerle kurulan patojenite denemeleri sırasında nemli hücredeki böceklerden izole edilmiştir. En fazla izolat İç Anadolu Bölgesi'nden elde edilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 İzolatların elde edildiği yıllar, yerler ve toplam sayı

| Enfekteli<br>Sünelerin<br>Toplandığı<br>Bölgeler | Enfekteli<br>Sünelerin<br>Toplandığı<br>İller | Enfekteli<br>Sünelerin<br>Toplandığı<br>İlçeler | İllere<br>Göre<br>İzolat<br>Sayısı | Bölgelere<br>Göre İzolat<br>Sayısı |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| İç Anadolu                                       | Ankara                                        | Bala, Gölbaşı                                   | 19                                 | 71                                 |
|                                                  | Aksaray                                       | Merkez,<br>Ortaköy                              | 7                                  |                                    |
|                                                  | Eskişehir                                     | Sivrihisar                                      | 7                                  |                                    |
|                                                  | Kırıkkale                                     | Keskin                                          | 4                                  |                                    |
|                                                  | Karaman                                       | Karaman                                         | 14                                 |                                    |
|                                                  | Nevşehir                                      | Avanos,<br>Acıgöl,<br>Hacıbektaş,<br>Gülşehir   | 18                                 |                                    |
|                                                  | Yozgat                                        | Boğazlıyan,<br>Sarıkaya                         | 2                                  |                                    |
| Ege                                              | Afyon                                         | Emirdağ                                         | 3                                  | 3                                  |
| Güneydoğu<br>Anadolu                             | Diyarbakır                                    | -                                               | 15                                 | 15                                 |
| Marmara                                          | Edirne                                        | Enez,<br>Uzunköprü,<br>Merkez                   | 9                                  | 9                                  |
| Toplam İzolat Sayısı                             |                                               |                                                 | 98                                 |                                    |



Şekil 3.1 Enfekteli sünelerin toplandığı bölgeler

### 3.1 Entomopatojen Fungusların İzolasyonu, Saflaştırılması ve Saklanması

Ankara, Aksaray, Karaman, Diyarbakır, 2 adet Eskişehir izolatu 2014 yılında bu çalışma sırasında izole edilmiştir. Kırıkkale, Nevşehir, Yozgat, Afyon, Edirne ve diğer Eskişehir izolatları daha önce izole edilmiş ve eğik agarlarda muhafaza edilmiş olan eski kültürlerdir. Bu çalışmada bütün izolatlar saflaştırılmıştır.

Enfekteli süne örnekleri binoküler altında incelenmiştir. Böcek dış yüzeyinde veya steril bistüri ile kesilen böcek parçalarında fungal yapılar gözlenmiştir. Bu fungal yapılardan steril iğne yardımıyla alınarak PDA ortamına aktarılmıştır. Gelişen kolonilerin kenarından kesilen agar parçası tekrardan PDA ortamına aktarılmıştır. Fungusları saflaştırmak için su agarı kullanılmıştır. Tüplerin içerisine bir miktar su konularak steril edilmiştir. Daha sonra fungustan steril özeyle bir miktar alınarak steril su içerisine konularak homojen bir karışım olması için bir miktar çalkalandı ve öze yardımıyla su agarına çizim yapıldı. Oda koşullarında 1 gün inkube edilen petriler binoküler altında incelenmiştir. Tek sporun çimlendiği ve aktif miselin geliştiği gözlenen yerlerden hif ucu steril iğneyle kesilerek PDA ortamına aktarılmıştır. Saflaştırma sonucu petride

gelişen koloniden iki paralel halinde eğik agarlara aktarılmıştır. Ayrıca morfolojik olarak teşhisleri yapılan izolatların spor süspansiyonu %10'luk gliserinde -80 °C'de cryo tüpler içerisinde saklanmıştır.

### 3.2 Fungusların Morfolojik Teşhisi

Fungusların morfolojik teşhislerinde MEA ve SNA (*Fusarium* türleri için) ortamları kullanılmıştır. *Fusarium* kültürlerinin MEA ortamında (UV ışık altında) yaklaşık 1 ay sonra spor vermeye başladığı görülmüştür. Bu yüzden *Fusarium* cinsi fungusların spor ölçümlerini yapmak için SNA ortamında geliştirilmesine karar verilmiştir. *Fusarium* türleri için havuç agar ve CLA ortamı da kullanılmıştır. Funguslar besi yerine aşılandıktan sonra 10 gün yakın ultra viole ışık altında geliştirilmiştir. Bol miktarda spor oluşturan izolatlarda, konidi verici yapıların gözlenmesi için fazla konidilerin uzaklaştırılması amacıyla alkol kullanılmıştır. Besiyerinden steril iğneyle alınan bir miktar fungal yapı lamın üzerindeki bir damla alkolün üzerine bırakılmıştır. Kenar kısımlarda toplanan sporlar steril kurutma kağıdı ile uzaklaştırıldıktan sonra bir damla asit fuksin laktofenol boyası damlatılarak preparatlar hazırlanmıştır. Her izolat için 4 adet daimi preparat yapılmıştır. Daha sonra daimi preparat kullanılarak 100X büyütmede sporların en boy ölçümü yapılmıştır. Her izolat için 25 adet spor ölçülmüştür.

Asit fuksin-laktofenol hazırlanırken; 5 gr kristal fenol, 5 gr laktik asit, 10 ml gliserol, 5 ml saf su ve 0,05 gr asit fuksin kullanılmıştır.

*Fusarium*'ların eşeyli yapılarını oluşturup oluşturmayacağına bakmak için havuç agar hazırlanmıştır. Havuç agarın hazırlanmasında, 200 gr rendelenmiş havuç 500 ml su ve 10 gr su agarı kullanılmıştır. Havuç agar ortamına aşılanan *Fusarium* izolatları yakın UV ışık altında inkube edilmiştir.

CLA *Fusarium* spp.'ları tanımlamada kullanılabilecek ortamlar arasındadır. CLA ortamını hazırlanmasında küçük parçalara bölünmüş karanfil yaprakları (yaşlı ve genç

yapraklar) ve su agarı kullanılmıştır. CLA ortamına aşıl原因an izolatlar yakın UV ışık altında inkube edilmiştir.

*Fusarium*'ların gelişme hızlarını bulmak amacıyla her izolat 3 PDA ortamına aşıl原因mıştır ve inkubasyona bırakılmıştır. Aktarılan parçalar eşit büyüklükte olacak şekilde aşıl原因ma iğnesiyle kesilmiştir. 4 gün sonra 3 petrinin en-boy ölçümünün ortalaması alınarak gelişme hızı bulunmuştur.

Fungusların morfolojik teşhisleri Samson (1974), Domsch vd. (1980), Leslie ve Summerell (2006), Humber (2012)'e göre yapılmıştır.

### 3.3 Fungusların Moleküler Teşhisi

DNA izolasyonu DNeasy<sup>®</sup> plat mini kiti (Qiagen) kullanılarak yapılmıştır. DNA'nın yoğunluğunu belirlemek ve saflığını değerlendirmek için nanodrop ile ölçüm yapılmıştır. DNA yoğunluğu en fazla 322 ng/μl elde edilmiştir. PCR da genellikle 50-100 ng/μl DNA konsantrasyonu kullanılmıştır. Ancak yoğunluğu çok düşük olan izolatlarda en az 20 ng/μl olacak şekilde DNA yoğunluğu hesaplanmıştır.

Çalışmada *Beauveria* spp., *Isaria* spp. ve diğer izolatlar için ITS bölgesinin, *Fusarium* spp. için ise TEF gen bölgesinin sekans analizi ile moleküler teşhisleri yapılmıştır. Bu amaçla ITS4-ITS5 ve EF1-EF2 primerleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primerlerin baz dizilişi aşağıda verilmiştir.

|                                   |                      |
|-----------------------------------|----------------------|
| ITS 4 TCCTCCGCTTATTGATATGC        | (White et al, 1990)  |
| ITS 5 GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG      | (White et al, 1990)  |
| EF1 ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC      | (O'Donnell vd.1998)  |
| EF2 GGA(G/A)GTACCAGT(G/C)ATCATGTT | (O'Donnell vd. 1998) |

PCR reaksiyonları ise çizelge 3.2 - 3.3'e göre gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2 ITS bölgesi için kullanılan PCR karışımı ve PCR döngüsü

| PCR karışımı              |          | PCR döngüsü |       |          |
|---------------------------|----------|-------------|-------|----------|
| 10× PCR buffer            | 5 µl     | 95 °C       | 2 dk  | 35 döngü |
| Taq polymerase (5 U)      | 0.25 µl  | 95 °C       | 30 sn |          |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM) | 1.5 µl   | 56 °C       | 30 sn |          |
| Primer (ITS 4) (10 µM)    | 1 µl     | 72 °C       | 45 sn |          |
| Primer (ITS 5) (10 µM)    | 1 µl     | 72 °C       | 10 dk |          |
| dNTP (10 mM)              | 0.5 µl   | 15 °C       | ∞     |          |
| DNA                       | 1 µl     |             |       |          |
| Su                        | 39.75 µl |             |       |          |
| TOPLAM                    | 50 µl    |             |       |          |

Çizelge 3.3 TEF bölgesi için kullanılan PCR karışımı ve PCR döngüsü

| PCR karışımı              |         | PCR döngüsü |       |          |
|---------------------------|---------|-------------|-------|----------|
| 10× PCR buffer            | 5 µl    | 95 °C       | 2 dk  | 35 döngü |
| Taq polymerase (5 U)      | 0.3 µl  | 95 °C       | 45 sn |          |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM) | 3 µl    | 53 °C *     | 45 sn |          |
| Primer (ef-1) (10 µM)     | 2 µl    | 72 °C       | 1 dk  |          |
| Primer (ef-2) (10 µM)     | 2 µl    | 72 °C       | 10 dk |          |
| dNTP (10 mM)              | 1 µl    | 15 °C       | ∞     |          |
| DNA                       | 1 µl    |             |       |          |
| Su                        | 35.7 µl |             |       |          |
| TOPLAM                    | 50 µl   |             |       |          |

\* Bağlanma sıcaklığı Geiser vd. (2004)'e göre ayarlanmıştır.

Çalışmada Thermo Scientific GeneRuler 100 bp DNA Ladder kullanılmıştır. Jelin hazırlanmasında ve elektroforezde 1X TAE buffer kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri (10-4.5µl ürün) %1.2'lik agaroz jelde 100 V elektrik akımında 50 dk koşturulmuştur. Negatif kontrol olarak su kullanılmıştır. Elektroforezden sonra jel etidyum bromür çözeltisi içerisinde (200 ml su + 10 µl etidyum bromür) 20 dk bekletildikten sonra UV ışık altında görüntülenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Bant elde ettiğimiz izolatlar sekansa gönderilmiştir.

2 adet *Fusarium* izolatu Ef-1, Ef-2 primerleriyle bant elde edilemediği için ITS primerleri ile sekansa gönderilmiştir. Diğer 8 *Fusarium* izolatu TEF bölgeleri için sekansa gönderilmiştir.

PCR ürünlerinin sekansı Atlas Biyoteknoloji firmasından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Çift yönlü sekans sonuçları NCBI Blastta sorgulanmıştır. Morfolojik ve moleküler teşhislerin uyumlu olup olmadığı kontrol edilmiştir.

### 3.4 Patojenite Denemeleri

Patojenite denemelerinde 5 *B. bassiana*, 4 *I. farinosa*, 1 *Penicillium* sp., 1 *L. lecanii*, 1 *P. lilacinum*, 1 *Trichoderma* sp., 2 *Fusarium* spp. izolatu kullanılmıştır.

Patojenite denemeleri için Haziran-2015’de Ankara Üniversitesi Haymana Araştırma Uygulama Çiftliği’ndeki buğday tarlasından süne toplamaya gidilmiştir. Bu dönemde, buğday tarlasında çapa dönemine ulaşmış süne yumurtalarına rastlanmıştır. Süneler üzerinde havalandırma deliklerinin olduğu plastik bidonlar içerisinde, taze buğday ile beslenerek ergin elde edilmeye çalışılmıştır. Süneler labaratuvar koşullarında bol miktarda yumurta bırakmış, yumurtadan çıkan nimflerin gömlek değiştirdiği gözlenmiştir. Ancak ergin bireyler elde edilememiştir.

Temmuz ayı sonunda Polatlı Tigem’den hasattan hemen sonra, buğday yığınları arasından ergin süneler toplanmıştır. Laboratuvara getirilen böcekler 22-25°C’deki iklim odalarında kenarlarında havalandırma delikleri olan plastik bidonlara yerleştirilmiştir. Süneleri beslemek için steril edilmiş toprağa buğday ekilmiştir. Süneler günlük kontrol edilerek yeterli miktarda buğday bidonlar içerisine bırakılmıştır. Her ilde en yaygın olan cinsler patojenite denemeleri için tercih edilmiştir. Patojenite denemeleri için seçilen izolatlar PDA ortamına aşılانmıştır. Denemelerde 10-14 günlük fungus kültürleri kullanılmıştır. Gelişen fungus kültürlerinin üzerine 10-15 ml steril distile su ilave edilerek, steril bistüri ile sporlar kazınmıştır ve iki katlı steril tülbentten geçirilerek beherlere süzölmüştür. Spor süspansiyonuna bir damla tween 20 ilave edilmiştir. Spor

yoğunluğu thoma lamı yardımıyla  $1 \times 10^7$  spor/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak planlanmıştır. Her tekerrürde 10 böcek kullanılmıştır. Deneme için sıcaklık ayarı iklim odası vasıtasıyla 25°C'ye ayarlanmıştır. Denemede nem ayarının  $\%80 \pm 5$  olduğu iki ayrı kabin kullanılmıştır. Böcekler 8L:16D koşullarda tutulmuşlardır. Denemelerde kullanılacak böcekler 9-13 cm ölçülerindeki üzerinde havalandırma delikleri olan plastik kaplar içerisine yerleştirilmiştir. Hazırlanan spor süspansiyonu her kaba 1 ml olacak şekilde püskürtülmüştür. Kontrollere ise aynı miktarda  $\%0.02$  tween 20 içeren su püskürtülmüştür. Sünelerin beslenmesi için kaplar içerisine bir miktar taze buğday yerleştirilmiştir. İnokulum verildikten sonra 6, 9, 12. ve 15. günlerde her kap içerisindeki tamamen ölmüş olan böcekler ayıklanmıştır. Ölü böcekler  $\%1$ 'lik NaClO çözeltisinde 2 dk tutulduktan sonra steril distile sudan geçirilerek steril kurutma kağıtları arasında kurutularak nemli hücreye yerleştirilmiştir. Nemli hücredeki böcekler tek tek incelenerek inokule edilen fungusun gelişip gelişmediği kontrol edilmiştir. Böylece, ölü böceklerdeki mukoz gelişim oranı bulunmuştur.

Ankara-Bala kışlama bölgelerinden toplanan sünelerle Aralık ayında tekrardan deneme kurulmuştur. Yeterli böcek olmadığı için her tekerrürde 7 böcek kullanılarak E-1 ve P-3 *Fusarium* spp. izolatları denenmiştir.

Patojenite sonuçlarının değerlendirilmesinde her tekerrür ve kontrol için yüzde ölüm oranı belirlenmiştir. Abbott formülü her tekerrüre uygulanarak ölüm oranları düzeltilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde minitab 17 istatistik programı kullanılmıştır. 6. 9. 12. 15 günlere bütün izotlar için ayrı ayrı tek yönlü varyans analizi ve Fisher testi uygulanmıştır. İzolatlar arasındaki farklılıklar büyük harflerle verilmiştir.

$$A = \left[ \frac{T-K}{100-K} \right] \times 100$$

A=Abbott'un düzeltilmiş ölüm oranı (%)

T= Tekerrürdeki ölüm oranı (%)

K= Kontroldeki ölüm oranı (%)

## 4. ARAşTIRMA BULGULARI

### 4.1 Morfolojik Teşhis

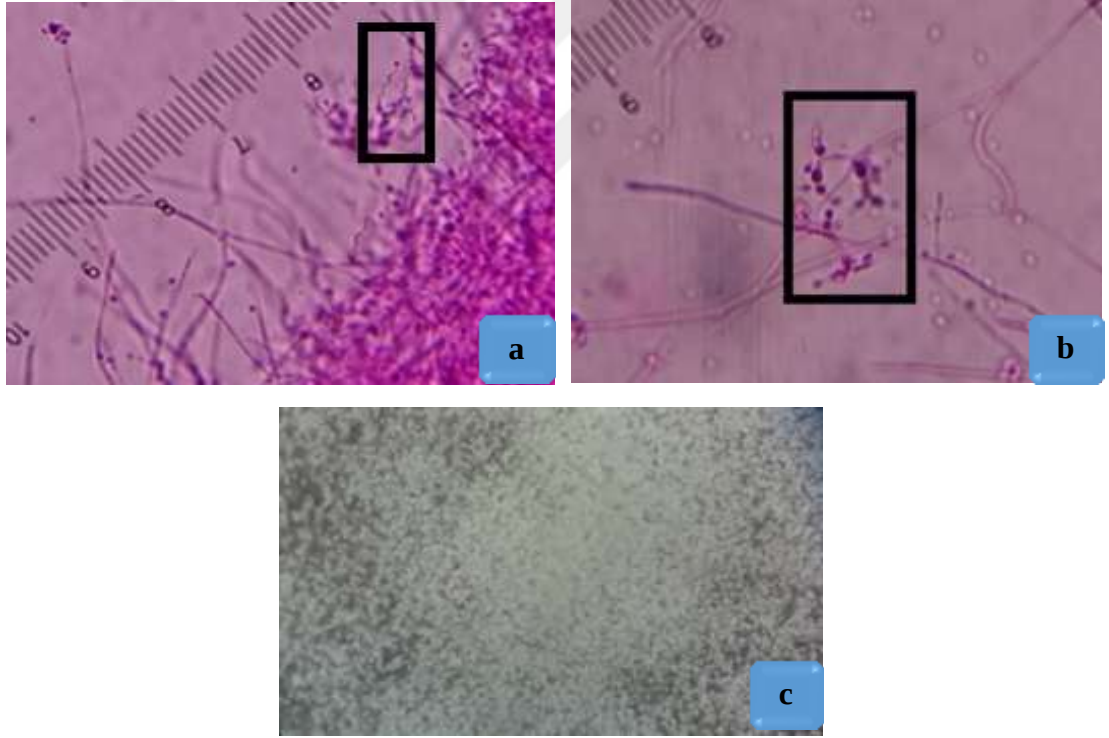
Elde edilen 98 izolattan, 28 *B. bassiana*, 18 *I. farinosa*, 2 *Lecanicillium* spp., 1 *P. lilacinum*, 2 *C. rosea*, 18 *Fusarium* spp., 10 *Penicillium* spp., 1 *Trichoderma* sp., 1 *Aspergillus* sp., ve 3 *Mucor* spp., olarak tanımlanmıştır. Ayrıca spor vermeyen ve teşhisi yapılamayan 14 adet izolat bulunmaktadır. İzolatların illere göre dağılımı Çizelge 4.1’de verilmiştir. Ankara ilinden *Isaria* izolatı elde edilememiştir. Ankara izolatlarının %53’ünün *Beauveria* spp., Nevşehir izolatlarının %56’sının *Isaria* spp. olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1 İzolatların illere göre dağılımı

| İl         | İzolatlar                |                       |                         |                            |                              |                      |                                     |                            |                            |                               |
|------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------|-------------------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
|            | <i>Beauveria</i><br>spp. | <i>Isaria</i><br>spp. | <i>Fusarium</i><br>spp. | <i>Penicillium</i><br>spp. | <i>Lecanicillium</i><br>spp. | <i>Mucor</i><br>spp. | <i>Clonostachys</i><br><i>rosea</i> | <i>Aspergillus</i><br>spp. | <i>Trichoderma</i><br>spp. | <i>Purpurecillium</i><br>spp. |
| Ankara     | 8                        | -                     | 5                       | -                          | -                            | -                    | -                                   | -                          | 1                          | 1                             |
| Afyon      | 3                        | -                     | -                       | -                          | -                            | -                    | -                                   | -                          | -                          | -                             |
| Aksaray    | 3                        | -                     | -                       | -                          | -                            | 2                    | -                                   | -                          | -                          | -                             |
| Diyarbakır | 1                        | 5                     | 8                       | -                          | 1                            | -                    | -                                   | -                          | -                          | -                             |
| Edirne     | 2                        | -                     | 4                       | -                          | -                            | -                    | -                                   | 1                          | -                          | -                             |
| Eskişehir  | 4                        | 1                     | -                       | 1                          | -                            | -                    | -                                   | -                          | -                          | -                             |
| Karaman    | 2                        | 1                     | 1                       | 6                          | 1                            | 1                    | -                                   | -                          | -                          | -                             |
| Kırıkkale  | 1                        | 1                     | -                       | -                          | -                            | -                    | -                                   | -                          | -                          | -                             |
| Nevşehir   | 4                        | 10                    | -                       | 2                          | -                            | -                    | 2                                   | -                          | -                          | -                             |
| Yozgat     | -                        | -                     | -                       | 1                          | -                            | -                    | -                                   | -                          | -                          | -                             |
| Toplam     | 28                       | 18                    | 18                      | 10                         | 2                            | 3                    | 2                                   | 1                          | 1                          | 1                             |

#### 4.1.1 *Beauveria bassiana*

Konidi verici hücreler genellikle kümeler halinde oluşmaktadır. Konidi verici hücrelerin tabanları şişkindir (Şekil 4.1.b) ve bunun üzerinde zigzag şeklinde ana gövde oluşmaktadır (Şekil 4.1.a). Zigzag şeklindeki ana gövdenin her bir çıkıntısında bir konidi oluşmaktadır. Konidi verici hücreler ve konidiler yoğun bir şekilde bir araya gelerek tipik yoğun spor küreciklerini oluşturmaktadır (Şekil 4.1.c). *B. bassiana*'nın konidileri küreseldir ve septasızdır. Konidi büyüklüğü 1.5-3.5  $\mu\text{m}$  dir. Klamidospor oluşturmamaktadır. Ortama renk veren pembemsi ya da kırmızı pigment oluşumu nadiren gözlenmektedir (Rehner vd. 2011). *B. bassiana* izolatlarının konidi büyüklükleri ve morfolojik özellikleri EK 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

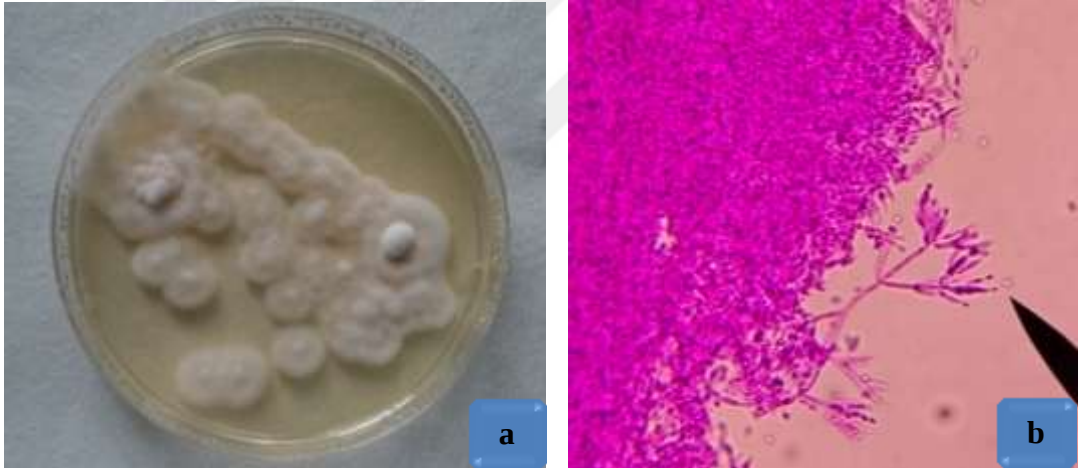


Şekil 4.1 a. *Beauveria bassiana*'nın zigzag şeklindeki ana gövdesi, b. Konidi verici hücrelerin şişkin tabanları, c. Konidi verici hücrelerin ve konidilerin yoğun bir şekilde kümelenmesiyle oluşan spor yumakları

#### 4.1.2 *Isaria farinosa*

*B. bassiana* ile karşılaştırıldığında, *I. farinosa* ve *I. fumosorosea*'nın konukçu aralığı nispeten daha dardır (Zimmermann 2008).

*I. farinosa* küçük elips ya da iğ şeklindeki konidileri ve sarı-beyaz kolonileri ile diğer türlerden ayırt edilebilir. Nispeten hızlı gelişir. İlk başlarda beyaz gelişir daha sonra yün gibi havai miselyumları sarı ya da krem rengine dönmektedir (Şekil 4.2.a). Bazen sarımsı renkte sinnema oluşturur. Fialitleri şişe şeklinde konidileri şeffaftır (Şekil 4.2 b). Konidileri zincir şeklinde oluşmaktadır. Konidi büyüklüğü  $2-3 \times 1-1.8 \mu\text{m}$ 'dir (Samson 1974). *Isaria* izolatlarının konidi büyüklükleri ve morfolojik özellikleri EK 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir.



Şekil 4.2 a. N-41 *Isaria farinosa* izolatının (MEA) ortamındaki gelişimi, b. Fialit yapısı

#### 4.1.3 *Lecanicillium lecanii*

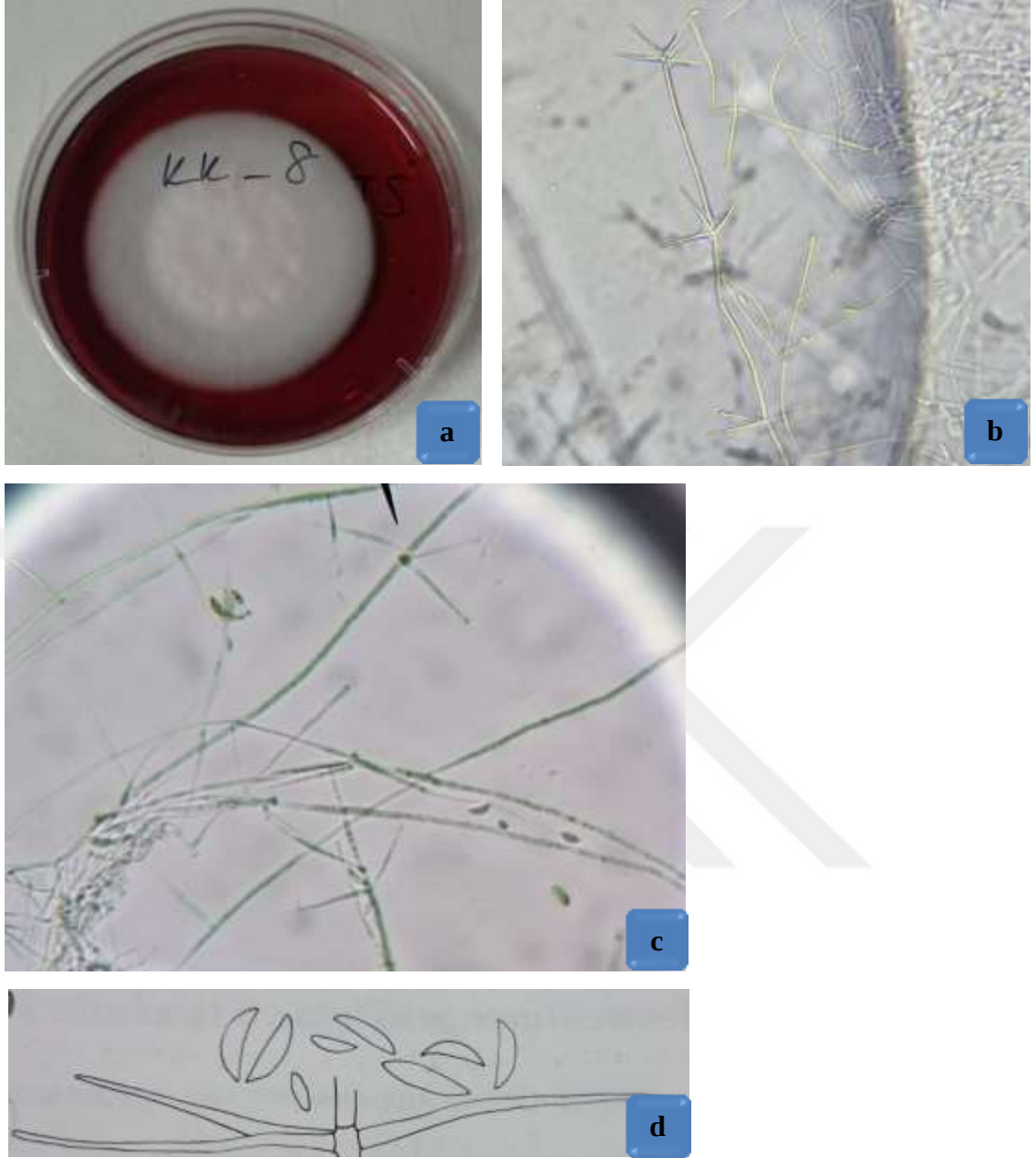
Fungus PDA ve MEA ortamında beyaz renkte pamuğumsu gelişmektedir (Şekil 4.3.a). Silindirik, septasız konidilerinin kümeler halinde olduğu gözlenmiştir. Klamidospor oluşturmamaktadır. Vertisillat dallanma teşhis edilmesinde kullanılmıştır (Şekil 4.3 b, c). Konidi verici hücreleri genellikle tabandan uca doğru incelmektedir. Konidi büyüklüğü  $2.5-7 \times 1-2 \mu\text{m}$  ölçülmüştür.



Şekil 4.3 a. Di-Ka-11/1 *Lecanicillium lecanii* PDA ortamındaki gelişimi, b, c. Vertisillat dallanma ve konidileri

#### 4.1.4 *Lecanicillium psalliotae*

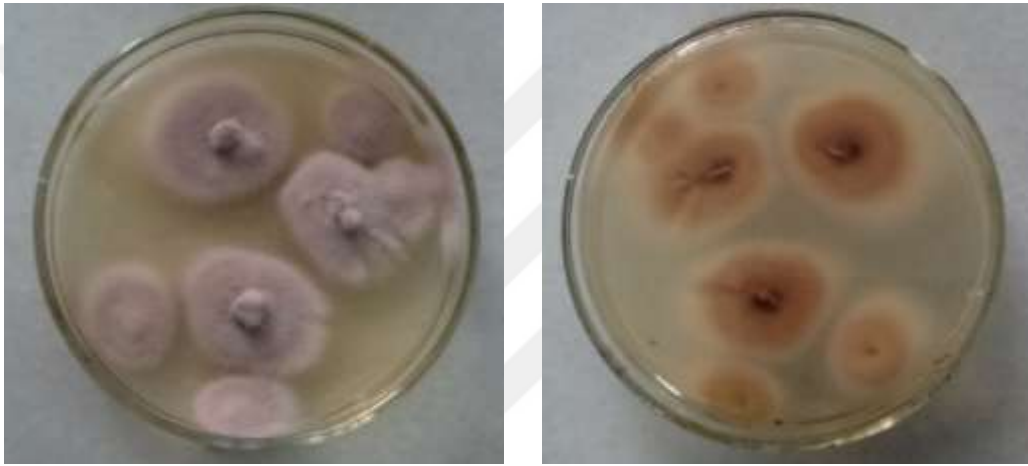
Bu fungus beyaz pamuğumsu gelişmektedir. Fungus PDA ve MEA ortamında kırmızımsı renkte pigment salgılamaktadır. Ancak PDA ortamında pigment oluşumu daha belirgindir (Şekil 4.4.a). Klamidospor oluşturmamaktadır. Vertisillat dallanma teşhis edilmesini sağlamıştır (Şekil 4.4.b,c). Bu fungusun konidileri orak şeklindedir (Şekil 4.4.c, d). Fungus daha küçük olan ikincil konidiler de oluşturabilmektedir. Konidi büyüklüğü  $2-7 \times 1-2 \mu\text{m}$  ölçülmüştür.



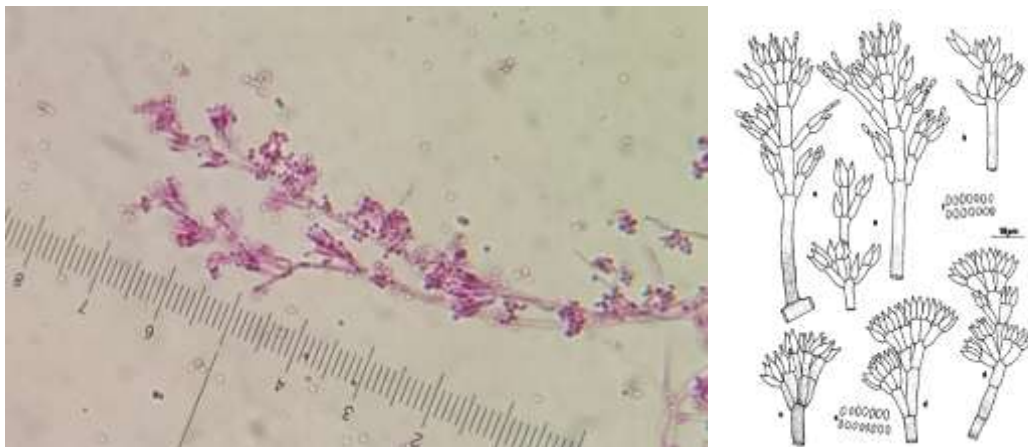
Şekil 4.4 a. KK-8 *Lecanicillium psalliotae* izolatının PDA ortamındaki gelişimi, b, c. Vertisillat dallanma ve konidileri, d. Domsch vd. (1980)'ne göre fungusun vertisillat dallanma ve konidilerinin çizilmiş hali

#### 4.1.5 *Purpureocillium lilacinum*

Önceden *Paecilomyces lilacinus* olarak bilinen bu fungus son taksonomik revizyon ile *Purpureocillium lilacinum* olarak adlandırılmıştır. Klamidospor oluşturmamaktadır. Konidileri fialitlerin ucunda zincir şeklinde oluşmaktadır (Şekil 4.6). Konidileri elips ya da iğ şeklinde olup, konidi büyüklüğü  $2-3 \times 1.5-2.5 \mu\text{m}$  ölçülmüştür. Nadiren 2 mm uzunluğuna kadar gevşek sinnema oluşturmaktadır (Samson 1974). Ancak sinnema yapısına rastlanmamıştır. Fungusun kolonileri lila rengindedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 P-1 *Purpureocillium lilacinum* 'un PDA ortamındaki gelişimi

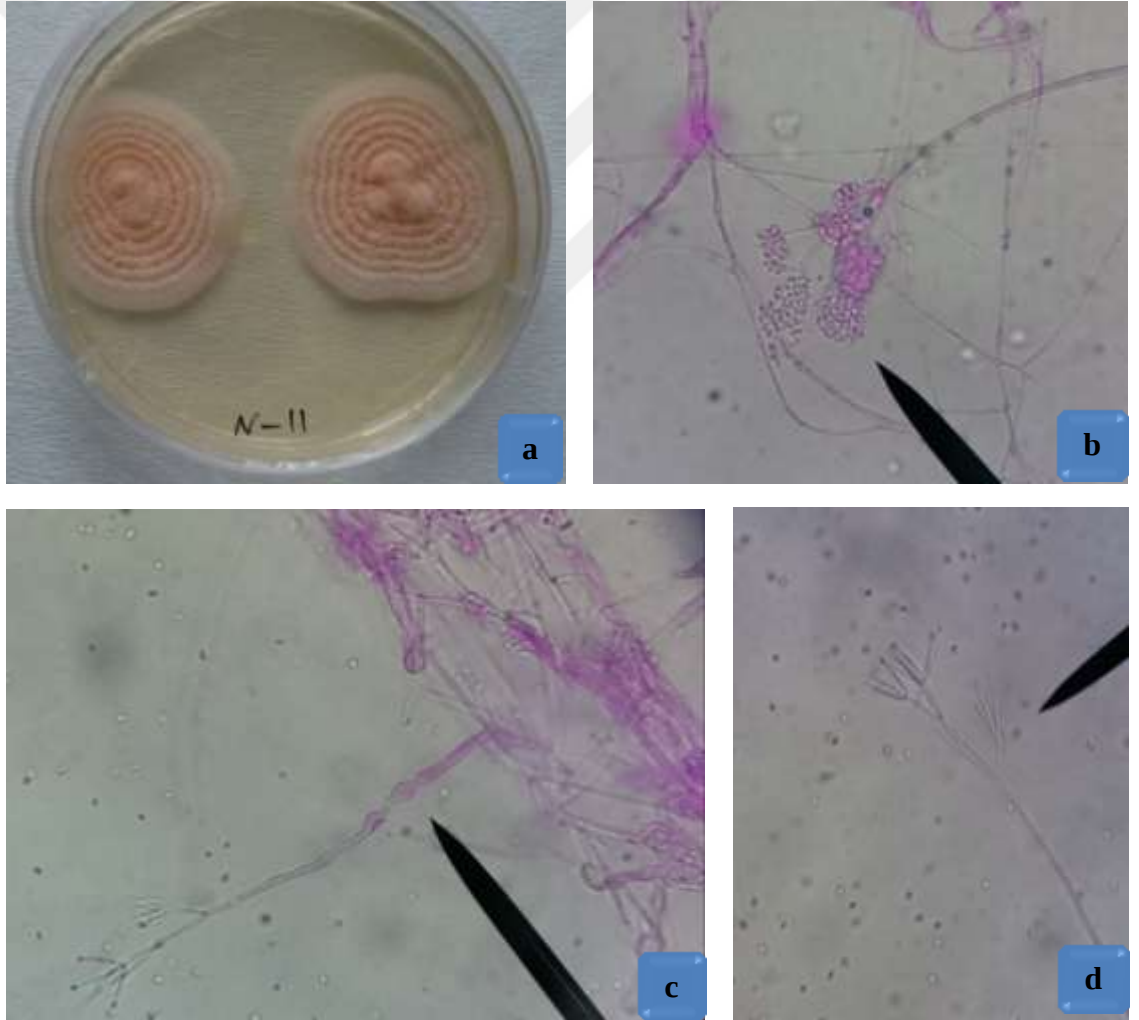


Şekil 4.6 P-1 *Purpureocillium lilacinum* 'un fialit yapısı ve sporları, Samson (1974)'a göre *P. lilacinum* 'un fialit ve konidilerinin çizilmiş hali

#### 4.1.6 *Clonostachys rosea*

##### Eşeyli dönemi: *Bionectria ochroleuca*

MEA ortamında turuncu renkte konsantrik daireler halinde (Şekil 4.7 a), PDA ortamında beyaz renkte gelişmektedir. Fialitleri ince ve uzundur (Şekil 4.7 d). Konidileri fialitlerin ucunda kümeler halinde oluşmaktadır (Şekil 4.7 b). Klamidospor oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7 c). Konidi büyüklüğü 2.7-5.5  $\mu\text{m}$  ölçülmüştür.



Şekil 4.7 a. N-11 *Clonostachys rosea* izolatının MEA ortamındaki gelişimi, b, d. Fialit yapısı ve konidilerin kümeler halindeki oluşumu, c. PDA ortamında oluşturduğu klamidospor

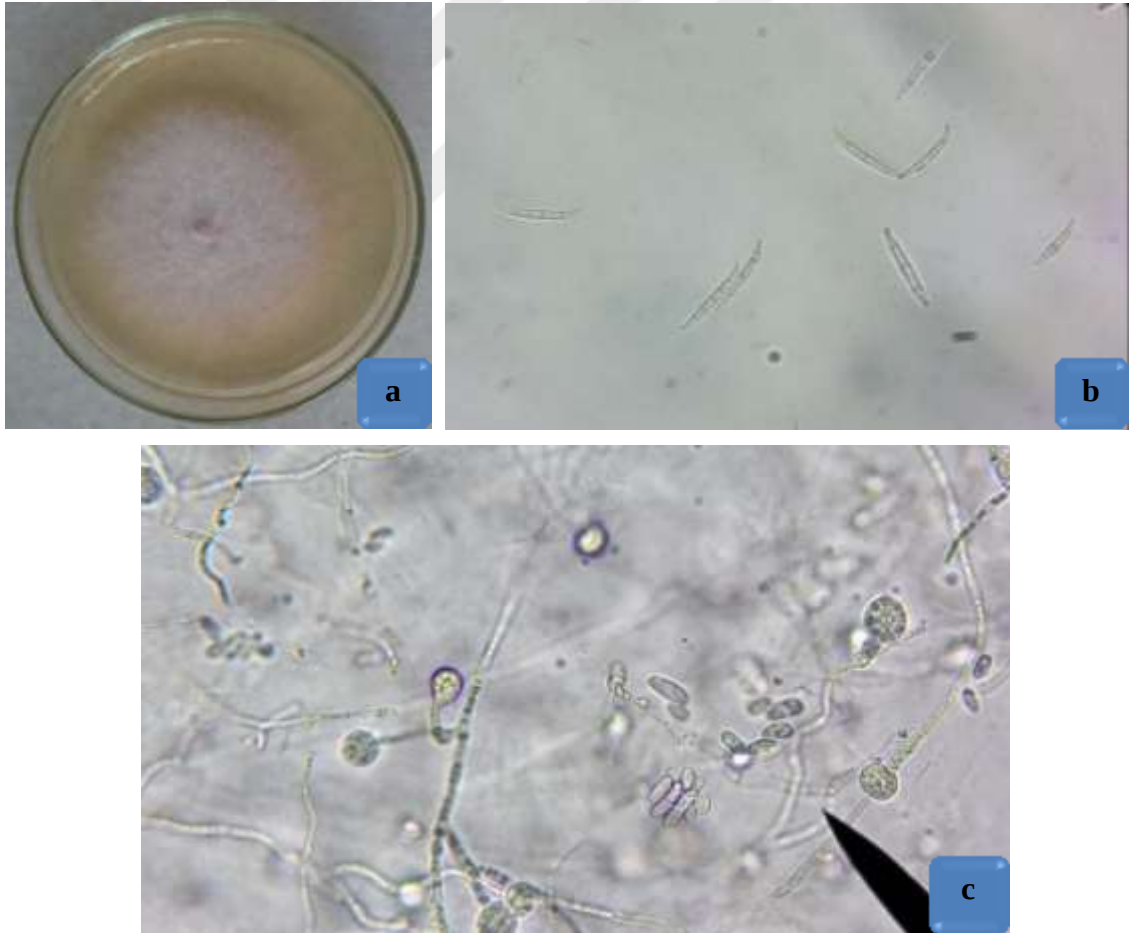
#### 4.1.7 *Fusarium* spp.

*Fusarium* spp. 'ların CLA ortamında eşeyli yapısını oluşturduğu bilinmektedir. Ayrıca, CLA ortamında oluşan sporların şekli ve büyüklükleri PDA gibi besince zengin ortamlara göre daha uniform olmaktadır. CLA ortamında eşeyli yapılara rastlanmamıştır, aşıl原因an izolatların büyük kısmının sporodokyum oluşturduğu gözlenmiştir. CLA ortamında sporodokyumlarda bol miktarda konidilerin olduğu görülmüştür. *Fusarium* izolatlarının heterothallik olmaları nedeniyle havuç agar ve CLA ortamında peritesyum oluşturmadığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.2 PDA ortamına aşıl原因an *Fusarium* izolatlarının 4 günlük gelişme hızları

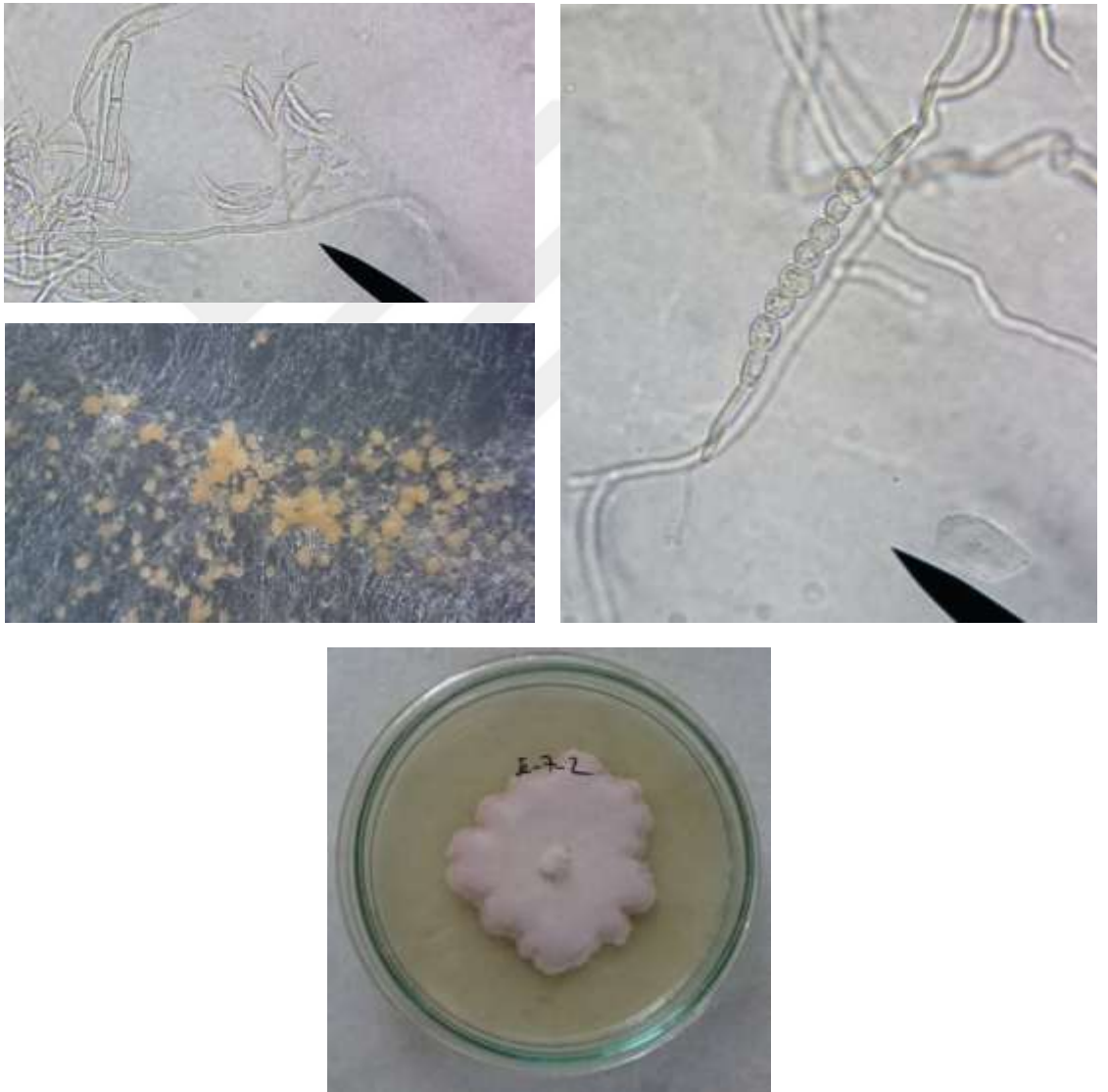
| İzolat     | Gelişim hızı (mm) |
|------------|-------------------|
| Di-Ka-4    | 35-39             |
| E-1        | 34-36             |
| Di-Ka-2    | 33-36             |
| Di-Ka-1/2  | 33-35             |
| KK-5       | 32-35             |
| Di-Ka-8    | 31-34             |
| P3         | 32-33             |
| BB-37      | 31-32             |
| E-7/2      | 29-34             |
| Di-Ka-11/2 | 28-31             |
| P4         | 28-31             |
| Di-Ka-1/1  | 20-27             |
| Di-Ka-13   | 21-25             |
| E-5/2      | 20-25             |
| E-3/2      | 17-23             |
| P2         | 20-22             |
| BB-35      | 12-16             |

*Fusarium oxysporum* mikrokonidileri genellikle septasızdır oval, elips ya da böbrek şeklindedir. Kısa monofialitler üzerindeki yalancı başçıklarda bol miktarda mikrokonidi oluşturur (Şekil 4.8.c). Klamidospor genellikle bol miktarda tek ya da çiftler halinde oluşabilir. Klamidosporlar hiflerin uç kısımlarında ya da hif arasında oluşabilmektedir (Şekil 4.8.c). Klamidosporun yüzeyi pürüzsüzdür. Makrokonidileri düz ya da uç kısmı hafif eğimli, 3-6 bölmelidir. PDA ortamında beyazdan açık mora kadar değişen renkte misel oluşturur (Şekil 4.8.a). Ancak bazı izolatlar pigment oluşturmaz (Leslie ve Summerell 2006). CLA ortamında sporodokyumlarda bol miktarda makrokonidi oluşturmaktadır (Şekil 4.8.b). SNA ortamında daha çok 4 bölmeli makrokonidi gözlenirken, mikrokonidilerinin bölmeli-bölmersiz olduğu gözlenmiştir. *Fusarium oxysporum* izolatlarının 4 günlük gelişme hızları çizelge 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.8 a-c. E-1 *Fusarium oxysporum* izolatının PDA ortamındaki gelişimi, klamidosporları ve mikrokonidileri, b. CLA ortamındaki makrokonidileri

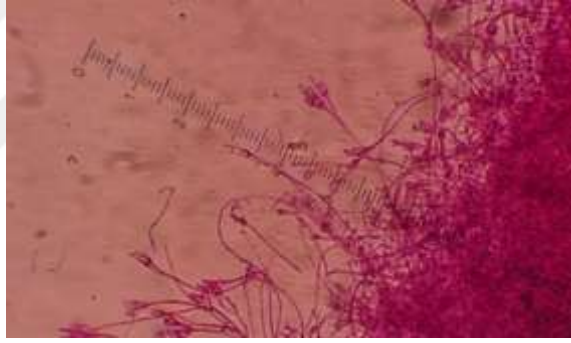
*Fusarium acuminatum* mikrokonidileri bölmesiz ya da 1 septalı olabilir. Klamidosporlarının zincir ve kümeler halinde olduğu gözlenmiştir. Bu tür yavaş gelişen bir fungustur. Bu tür fungusların PDA ortamında 4 günlük gelişme hızı çizelge 4.2’de verilmiştir. Miselleri yün gibi gül ya da şarap rengindedir (Şekil 4.9). CLA ortamında sporodokyumları turuncu renkte oluşmuştur. Makrokonidileri eğimli genellikle 5 septalıdır. Sporodokyumlarda bol miktarda makrokonidi oluşturmaktadır. Mikrokonidileri iğ ya da böbrek şeklindedir.



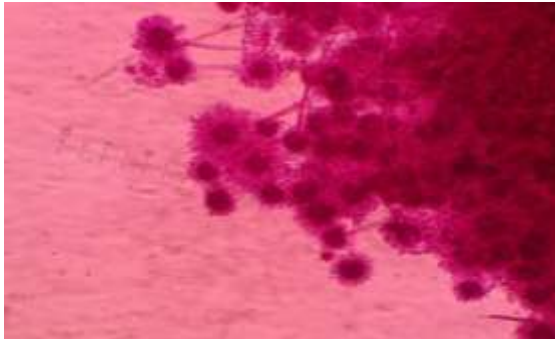
Şekil 4.9 E-7/2 *Fusarium acuminatum* izolatının CLA ortamındaki sporodokyumları, zincir şeklindeki klamidosporu ve makrokonidileri, PDA ortamındaki gelişimi

#### 4.1.8 Diğer funguslar

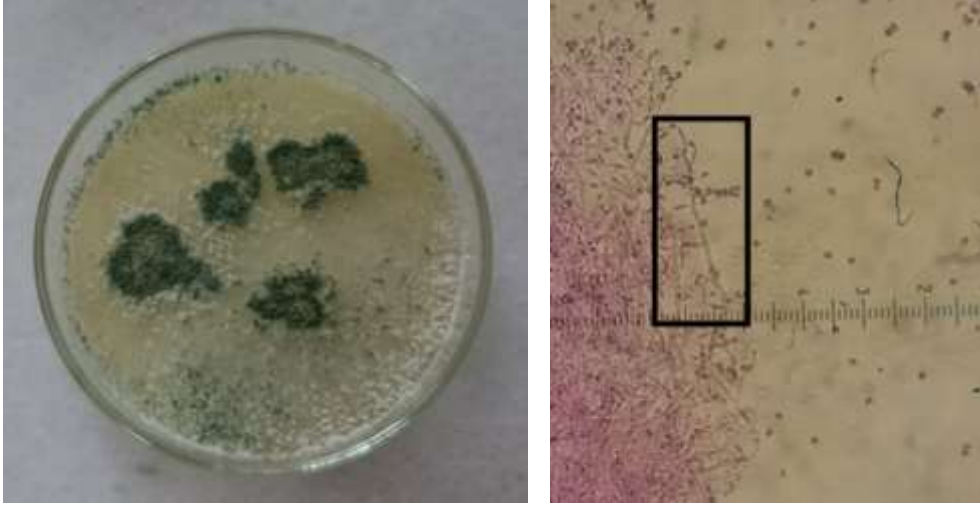
Bu çalışmada *Penicillium* spp., *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., ve *Mucor* spp. cins düzeyinde teşhis edilmiştir. *Penicillium* spp., yeşil renkte gelişmesi ve fialit yapısı (Şekil 4.10) teşhis edilmesini sağlamıştır. *Aspergillus* sp., vesikül yapısı binoküler ve ı ışık mikroskobunda teşhis edilmesini sağlamıştır (Şekil 4.11). Konidi büyüklüğü 2-3×2-2.5 µm ölçülmüştür. *Trichoderma* sp., petrideki gelişimi ve konidioforun lateral dallanması teşhis edilmesinde kullanılmıştır (Şekil 4.12). Konidi büyüklüğü 2.1-3.1 µm ölçülmüştür. *Mucor* spp., petrideki havai gelişimi, sporangiofor ve sporangium yapısı (Şekil 4.13), rizoid yapısının olmaması teşhis edilmesinde kullanılmıştır. Fungus ilk başlarda beyaz renkte gelişmekte daha sonra kahverenginde sporangiumları oluşmaktadır.



Şekil 4.10 *Penicillium* spp. fialit yapısı ve zincir şeklindeki konidileri



Şekil 4.11 *Aspergillus* spp. binoküler altındaki görüntüsü, vesikül ve konidilerinin görüntüsü



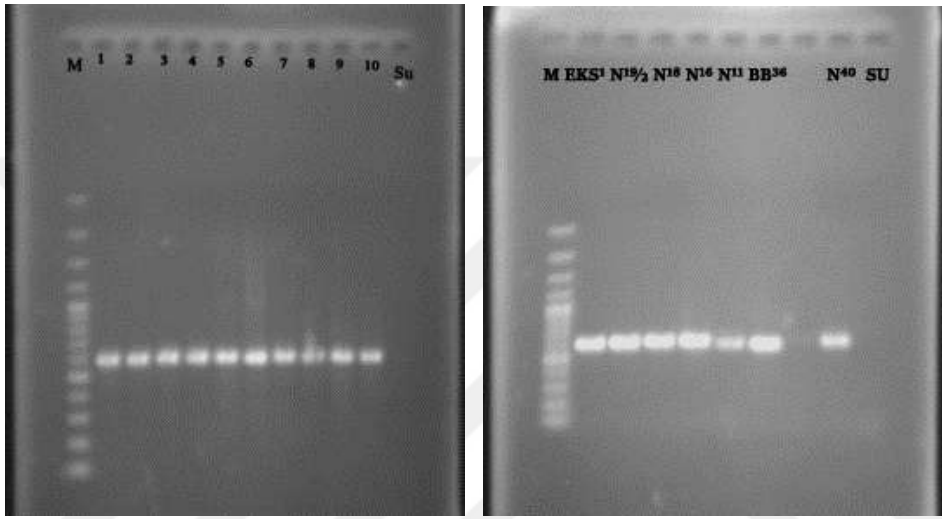
Şekil 4.12 *Trichoderma* sp. PDA ortamındaki gelişimi ve konidioforun lateral dallanması



Şekil 4.13 *Mucor* spp. sporangiofor ve sporangiumu

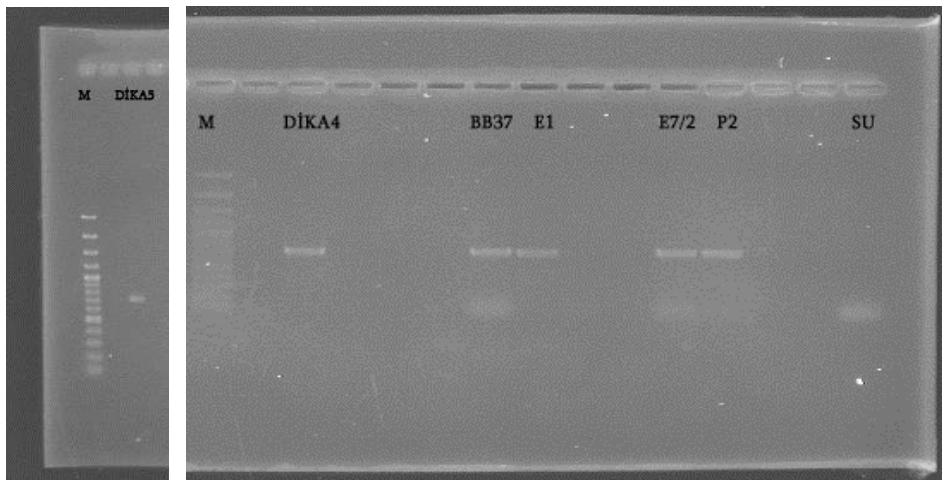
## 4.2 Moleküler Teşhis

*Beauveria*, *Isaria*, *Verticillium*, *Clonostachys* izolatlarının moleküler teşhisinde ITS4-ITS5 primerleri ile yaklaşık 600 bp (Şekil 4.14), *Fusarium* türlerinin moleküler teşhisinde Efl-Ef2 primerleri ile yaklaşık 700 bp'lik (Şekil 4.15) bantlar elde edilmiştir.



Şekil 4.14 ITS bölgelerinde elde edilen yaklaşık 600 bp'lik bantlar ve GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific)

1.Ak-Or-7, 2.Göl-O-2, 3.E-5/1, 4.BB-41, 5.KK-6, 6.Di-Ka-3, 7.E-5-1/2, 8.Ank-O-38, 9.Esk-2, 10.N-39



Şekil 4.15 TEF bölgelerinde elde edilen yaklaşık 700 bp'lik bantlar ve GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific)

Sekans sonuçlarına göre 28 *Beauveria* izolatu, NCBI da kayıtlı olan *B. bassiana* izolatlarıyla benzerlik göstermiştir. 16 *Isaria* izolatının ise *I. farinosa* olduğu anlaşılmıştır. Di-Ka-7, N-42/2 *I. farinosa*; P-1 *P. lilacinum* ve Di-Ka-11/1 *L. lecanii* izolatlarının moleküler teşhisi yapılamamıştır. Nevşehirden elde edilen iki izolatın *C. rosea*, KK-8 izolatının ise *Lecanicillium psalliotae* olduğu olduğu tespit edilmiştir. ITS bölgesi ile 49 fungus moleküler olarak tanımlanmıştır. 10 adet *Fusarium* izolatu moleküler olarak teşhis edilmiştir. Fungusların ITS bölgesine göre %100-99, TEF bölgesine göre ise %99-98 benzerlik gösterdiği bulunmuştur (Ek 2).

#### 4.3 Patojenite Sonuçları

Süne erginleri ile seçilen bazı entomopatojen izolatların patojenite testi sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir. İnkubasyonun 6. gününde BB-34 numaralı *B.bassiana* izolatının uygulandığı böceklerde ölüm oranı %70.3 bulunmuştur. Aynı patojenin AF-4 izolatında ise %55.3 olarak belirlenmiştir. Bu iki patojenin neden olduğu ölüm oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. P-1 numaralı *P.lilacinum* izolatu %32.7, Di-Ka-11/1 *L. lecanii* izolatu ise %21.3 oranında ölüm oluşturmıştır. Yine Esk-4 numaralı *B.bassiana* izolatu da %18 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bu üç izolatın oluşturduğu ölüm oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Ancak BB-34, AF-4 izolatlarından ise önemli derecede düşük ölümüne neden olduğu kaydedilmiştir. Ak-Çe-5, E-5-1/2 numaralı *B.bassiana* izolatları ile Kır-1 numaralı *I. farinosa* izolatu ise önemli oranda bir ölümüne neden olmamıştır. Ko-Ka-2, N-21/1 ve EKS-1 numaralı izolatlarda ölüm oranı %0 bulunmuştur.

İnkubasyonun 9.gününden itibaren BB-34, AF-4 numaralı *B.bassiana* izolatları süne bireylerinin tamamen ölümüne neden olmuştur. Bu dönemde E-5-1/2 numaralı *B.bassiana* izolatu %83.3 ölüm oluşturmıştır. Bu üç izolatın ölüm oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bu sürede Di-Ka-11/1 *L. lecanii* izolatu %46.7, P-1 numaralı *P.lilacinum* izolatu %38.3, Kır-1 numaralı *I.farinosa* izolatu ve Ak-Çe-5 numaralı *B.bassiana* izolatu %30, Ko-Ka-2 numaralı *I. farinosa* izolatu %26.3 ve Esk-4 numaralı *B.bassiana* izolatu %22 oranında ölüm oluşturmıştır. Bu izolatların

ölüm oranları arasındaki fark önemli bulunmamıştır. *I.farinosa*'nın N-21/1 ve EKS-1 numaralı izolatlarında ise ölüm oranının en düşük olduğu görülmüştür.

İnkubasyonun 12.gününde BB-34, AF-4 numaralı *B.bassiana* izolatlarına ilaveten E-5-1/2 numaralı *B.bassiana* izolatu da sünelerin tamamen ölmesine neden olmuştur. Bu üç izolatu diğeri izolatları göre en yüksek etkiye sahip oldukları görülmektedir (Şekil 4.16). Bunları takiben Ak-Çe-5 numaralı *B.bassiana* izolatu %55.7, Esk-4 *B.bassiana* izolatu %46.7, Di-Ka-11/1 numaralı *L. lecanii* izolatu izolatu %64.7, P-1 numaralı *P.lilacinum* izolatu %46.7, Ko-Ka-2 numaralı ve Kır-1 numaralı *I.farinosa* izolatları sırasıyla %55.7 ve %42.3 oranında ölüme sebep olmuşturlardır. Bu izolatların neden olduğu ölüm oranları arasında fark önemsiz bulunmuştur. N-21/1 *I.farinosa* izolatu %24.3 oranında ölüm oluşturmuş olsada, EKS-1 numaralı *I.farinosa* izolatu ile birlikte etkinliğı en düşük olan izolatlar olduğu görülmüştür.

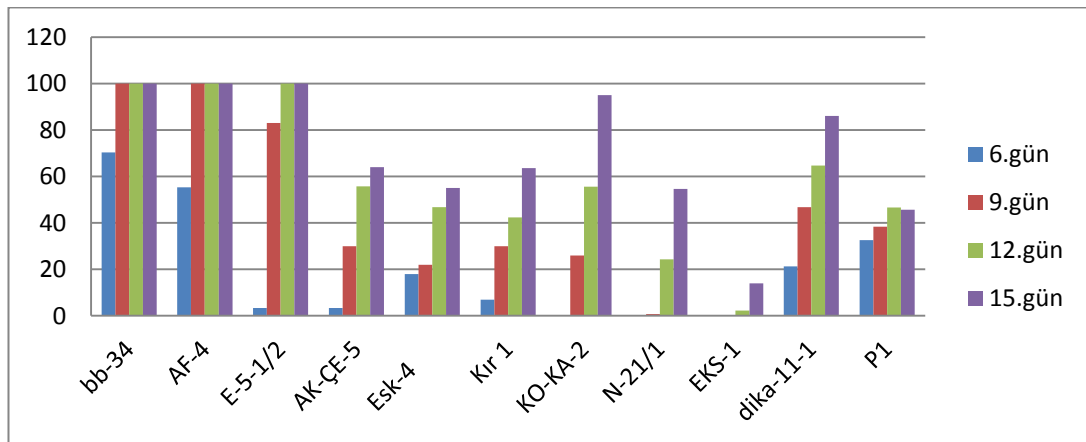
İnkubasyonun 15.gününde Ko-Ka-2 numaralı *I.farinosa* izolatu %95.3 oranında ve Di-Ka-11/1 *L. lecanii* izolatu izolatu ise %86.3 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bu iki izolatu 15.günde BB-34, AF-4 ve E-5-1/2 numaralı *B.bassiana* izolatlarının etkinliğıne ulaşabildikleri kaydedilmiştir. Bu tarihte Ak-Çe-5 numaralı *B.bassiana* izolatu %64, Kır-1 numaralı *I.farinosa* izolatu ise %63.7 ölüm oluşturmuştur. Ancak bu ölüm oranları yukarıda belirtilen izolatların ölüm oranlarından düşük bulunmuştur. Diğeri izolatlardan Esk-4 numaralı *B.bassiana* izolatu %55, N-21/1 *I.farinosa* izolatu %54.7, P-1 numaralı *P.lilacinum* izolatu %45.7 ölüme neden olmuştur.

Çizelge 4.3'teki patojenite sonuçlarında istatistiğı yapılan 11 izolatu verilmiştir. Bu izolatlar dışında denemede kullanılan 1 *Penicillium* sp. ve 1 *Trichoderma* sp. izolatu 15. günde %0 ölüme neden olmuşturlardır. E-1 ve P-3 *Fusarium* spp. izolatlarının patojenite sonuçlarının da düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca *Fusarium* izolatları ile kurulan deneme diğeri izolatları göre daha geç bir tarihte ve kışlama alanından toplanan böceklerle kurulmuştur. Bu nedenlerle çalışmalarda kullanılan bu 4 izolatu çizelgeye dahil edilmemiştir. Ancak *Fusarium* izolatlarının ölü böceklerdeki mukoz gelişim oranının oldukça yüksek olması nedeniyle şekil 4.17'de bu izolatları da yer verilmiştir.

Çizelge 4.3 İnkubasyonun 6, 9, 12 ve 15. günlerinde izolatların sebep olduğu ölüm oranları ve stardart sapmaları

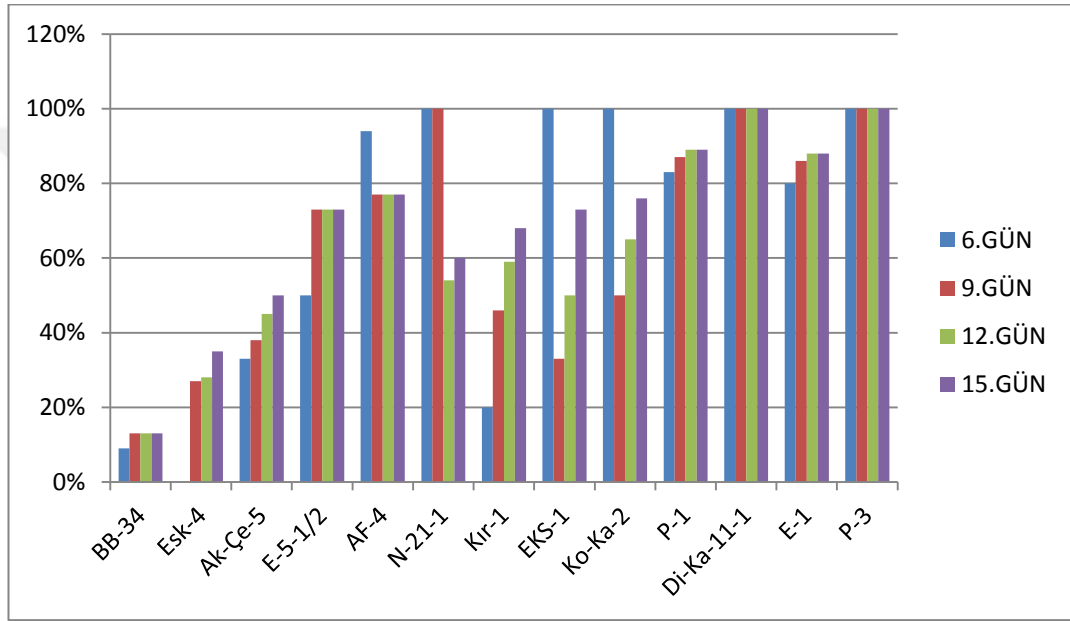
| Fungus Türü                      | İzolat     | 6.gün             | 9.gün             | 12.gün            | 15.gün            |
|----------------------------------|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <i>Beauveria bassiana</i>        | BB-34      | 70.3 ± 13.3<br>A  | 100 ± 0<br>A      | 100 ± 0<br>A      | 100 ± 0<br>A      |
|                                  | AF-4       | 55.3 ± 19.6<br>A  | 100 ± 0<br>A      | 100 ± 0<br>A      | 100 ± 0<br>A      |
|                                  | E-5-1/2    | 3.3 ± 5.8<br>CD   | 83.3 ± 14.4<br>A  | 100 ± 0<br>A      | 100 ± 0<br>A      |
|                                  | Ak-Çe-5    | 3.3 ± 5.8<br>CD   | 30 ± 25.9<br>B    | 55.7 ± 28 B       | 64 ± 31.2<br>BC   |
|                                  | Esk-4      | 18 ± 16.7<br>BCD  | 22 ± 6.9<br>BC    | 46.7 ± 26.5<br>BC | 55 ± 15.6<br>C    |
| <i>Isaria farinosa</i>           | Kır 1      | 7 ± 12.1<br>CD    | 30 ± 25.9<br>B    | 42.3 ± 33.2<br>BC | 63.7 ± 8.1<br>BC  |
|                                  | Ko-Ka-2    | 0 ± 0<br>D        | 26.3 ± 21.4<br>BC | 55.7 ± 15 B       | 95.3 ± 8.1<br>A   |
|                                  | N-21/1     | 0 ± 0<br>D        | 0.7 ± 0.6<br>C    | 24.3 ± 15<br>CD   | 54.7 ± 7.5<br>C   |
|                                  | EKS-1      | 0 ± 0<br>D        | 0 ± 0<br>C        | 2.3 ± 4.04<br>D   | 14.3 ± 8.1<br>D   |
| <i>Lecanicillium lecani</i>      | Dİ-Ka-11/1 | 21.3 ± 11.5<br>BC | 46.7 ± 30.7<br>B  | 64.7 ± 20.4<br>B  | 86.3 ± 23.7<br>AB |
| <i>Purpureocillium lilacinum</i> | P1         | 32.7 ± 11.5<br>B  | 38.3 ± 12.5<br>B  | 46.7 ± 13.5<br>BC | 45.7 ± 13.5<br>C  |

\* 6, 9, 12 ve 15. günlerdeki ölüm oranları ayrı ayrı değerlendirilmiştir, her bir sütunda aynı harfleri alan ölüm oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ).



Şekil 4.16 6. 9. 12. ve 15. günlerde izolatların sebep olduğu ölüm oranları

Di-Ka-11/1 *L. lecanii* izolatında ölen böceklerin hepsinde mukoz gelişimi gözlenmiştir. Süne de virulans olan izolatlar arasında mukoz gelişim oranı en yüksek izolat olmuştur. Ölen böceklerin hepsinde mukoz gelişimi görülen diğer izolat P-3 *Fusarium* izolatı olmuştur. Ancak bu izolatın virulansının düşük olduğu bulunmuştur. 15.günde *B. bassiana* izolatları arasında en yüksek mukoz gelişimi AF-4 izolatında, en düşük mukoz gelişimi ise BB-34 izolatında görülmüştür. P-1 *P. lilacinum* izolatının da mukoz gelişim oranının oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 Ölü böceklerdeki mukoz gelişimi oranları

*B. bassiana*'nın ölü böcekler üzerinde kümeler halinde oluşan konidileri (Şekil 4.18), *I. farinosa*'nın fialit yapısı (Şekil 4.22), *P. lilacinum*'un böcek üzerinde pembemsi renkte gelişimi ve fialit yapısı (Şekil 4.23), *L. lecanii*'nin vertisillat dallanması (Şekil 4.24) binoküler altında teşhis edilmesinde kullanılmıştır. Ak-Çe-5 *B. bassiana* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi şekil 4.19'da, E-5-1/2 *B. bassiana* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi şekil 4.20'de, Ko-Ka-2 *I. farinosa* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi şekil 4.21'de, P-3 *Fusarium proliferatum* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi şekil 4.25'de verilmiştir.



Şekil 4.18 Esk-4 *Beauveria bassiana* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi



Şekil 4.19 Ak-Çe-5 *Beauveria bassiana* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi



Şekil 4.20 E-5-1/2 *Beauveria bassiana* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi



Şekil 4.21 Ko-Ka-2 *Isaria farinosa* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi



Şekil 4.22 N-21/1 *Isaria farinosa* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi



Şekil  
4.23  
P1

*Purpureocillium lilacinum* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi



Şekil 4.24 Di-Ka-11/1 *Lecanicillium lecanii* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi



Şekil 4.25 P-3 *Fusarium proliferatum* izolatının süne ergini üzerindeki gelişimi

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde entomopatojen fungusların en az 90 cinsi ve 700'den fazla türünün olduğu bilinmektedir. Taksonomide moleküler karşılaştırmaların kullanılmaya başlamasıyla birlikte, fungus taksonomisinde değişiklikler olmuştur ve hala değişim halindedir. Fungus taksonomisinin en karmaşık yönlerinden biri sadece aseksüel aşaması bilinen fungusların bulunmasıdır. Böyle fungusların çoğu Deuteromycota içinde Hyphomycetes sınıfına yerleştirilmiştir. Bu durum birçok fungusun hem seksüel hem de aseksüel aşamanın birbiriyle bağlantı olmadan isimlendirilmesine neden olmuştur. Moleküler tanımlama araçlarıyla birlikte birçok anamorf ve telemorf aşamaları arasındaki bağlantı olasıdır ya da sadece anamorf aşamasına bakılarak teşhisi yapılmış bir türün telemorf cinsi önemli derecede tahmin edilebilmektedir (Goettel vd. 2010). Örneğin; 5.8S rRNA genleri ve tüm ITS bölgesinin sekansı *Cordyceps bassiana*'nın *B. bassiana*'nın telemorfu olduğunu göstermiştir (Huang vd. 2002).

Günümüzde morfolojik çalışmaların yanında moleküler teşhis çalışmalarına da ihtiyaç duyulmaktadır. *Beauveria*'daki tür teşhisi morfolojik bilgi eksikliğinden dolayı taksonomik olarak zordur (Rehner ve Buckley 2005). Bu durum, bu cins içindeki tür çeşitliliğini değerlendirmeyi engellemektedir.

Rehner ve Buckley (2005)'in çalışmaları tek bölgeye dayanan sekansların yanıltıcı olabileceğini göstermiştir. Çoklu gen sekansı yaklaşımını kullanarak *Beauveria* türlerinin taksonomik pozisyonunu açıklığa kavuşturmuştur.

*Beauveria*'da yeni türler çoğunlukla genotipik veriye göre tanımlanmaktadır. Örneğin, *Beauveria brongniartii* ve *Beauveria caledonica* morfolojik olarak çok benzemektedir. İkisi de silindirik konidi oluşturmaktadır. Moleküler çalışmalar ile (ITS ve TEF bölgeleri kullanılarak) iki farklı tür olduğu tespit edilmiştir (Glare ve Inwood 1998, Rehner ve Buckley 2005, Glare 2007). *B. bassiana*'yı morfolojik olarak *B. australis* (sadece Avustralya'da bilinmektedir, çekirgelerden ve topraktan izole edilmiştir), *B. kipukae* (Hawai'de Homoptera'dan izole edilmiştir. Hawai'ye özgü bir tür olup

olmadığı bilinmemektedir), *B. pseudobassiana* ve *B. varroae* (bal arılarında ektoparazit olan *Varroa destructor*'dan izole edilmiştir)'den morfolojik olarak ayırt etmek zordur (Rehner vd. 2011).

Double-stranded RNA (dsRNA) virüsleri birçok fungus türünde tanımlanmıştır. Çoğu durumda, bu enfeksiyonlar latenttir ve konukçu fenotipini etkilemez (Buck 1998). dsRNA virüsleri *M. anisopliae* (Leal vd. 1994, Bogo vd. 1996, Melzer ve Bidochka 1998), *B. bassiana* (Melzer ve Bidochka 1998) ve *Isaria fumosorosea* (Azevedo vd. 2000) gibi entomopatojen funguslarda tanımlanmıştır. *M. anisopliae*'deki dsRNA enfeksiyonu fungal gelişim, konidi üretimi ve böcekler üzerindeki virulanslığın değişmesi ile ilişkilendirilmiştir (Melzer ve Bidochka 1998). Biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan entomopatojen funguslardaki dsRNA'nın varlığı fungusun virulansını olumsuz bir şekilde etkileyebilir.

Endofit terimi konukçuda herhangi açık bir belirtiyeye neden olmaksızın bitki dokuları içinde bulunan fungus ya da bakterileri tanımlamak için kullanılmıştır (Wilson 1995). Fungal endofitler herbivor böceklerle, bitki paraziti nematotlara ve bitki patojenlerine karşı koruma sağlarlar (Vega vd. 2008). *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *L. lecanii*, *Cladosporium* ve *I. farinosa* entomopatojenleri endofitik olarak rapor edilmiştir (Vega vd. 2008).

Bazı durumlarda entomopatojen fungusların sadece özel durumlarda bazı türleri öldürdüğü görülmüştür. Örneğin, *M. anisopliae*'nin doğal olarak sineklere patojen olduğu nadiren kaydedilmişken laboratuvar koşullarında birçok ırkın sinek larvalarına oldukça patojen olduğu görülmüştür (Daoust ve Roberts 1982). Buradan doğada hastalığın meydana gelmesinde diğer faktörlerin daha etkili olduğu anlaşılmaktadır. Böceklerin davranışsal kaçınması doğadaki dayanıklılığa neden olabilmektedir (Goettel vd. 2010).

Entomopatojen fungusların kullanımı ile ilgili bazı endişeler bulunmaktadır. Öncelikle bütün funguslar potansiyel olarak alerjeniktir. Ancak *B. bassiana*'nın 35 °C'de gelişmediği rapor edilmiştir. İnsan vücudu 37°C olduğu için bu koşullarda insanı

enfekte edemeyeceği düşünülmektedir. Entomopatojen fungusların birçoğu omurgalılara kanserojenik ya da toksik olan bir dizi metabolit üretmektedir (Strasser vd. 2000). Ancak omurgalılarda herhangi bir zararın meydana gelmesi için bu metabolitlerin önemli düzeylerine maruz kalmaları gerekmektedir. Bu nedenlerle entomopatojen fungusların kullanımının güvenli olduğu söylenebilir ancak yine de tedbirli olmak gerekmektedir.

Parazitoidler, predatörler ve mikrobiyal kontrol ajanları, zararlı ve hastalıkların yönetiminde kullanılabilecek çok cazip alternatiflerdir. Süneyle mücadelede insektisitlerin etkinliğinin zamanla azalması, böceklerin insektisitlere karşı direnç geliştirmesi, bazı insektisitlerin subletal dozlarının böceklerin üreme aktivitelerini uyarak popülasyonda artışa neden olması, insektisitlerin sünenin parazitoid ve predatörleri üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle entomopatojen fungusların insektisitlere alternatif olarak geliştirilebileceği düşünülmüştür. Ayrıca böcek popülasyonlarında entomopatojen funguslara dayanıklılık gelişimi nadiren belgelenmiştir (Goettel vd. 2010). Dayanıklılık gelişimi ile ilgili yapılan bir çalışmada, bezelye afidinin (*Acyrtosiphon pisum*) *Pandora neoaphidis* patojenine dayanıklılık geliştirdiği ancak dayanıklı afitlerin de bu patojen tarafından enfekte edildiği rapor edilmiştir (Milner 1982).

*Beauveria* entomopatojen funguslar arasında en fazla çalışılmış funguslardan biridir. Günümüzde *Beauveria*'nın dünya çapında birçok mikoinsektisit formülasyonu ticari olarak üretilmektedir. *L. lecanii*, başlıca afitler, beyazsinekler ve thripsleri kontrol etmek için ticari olarak pazarlanmaktadır. *P. lilacinum*, fungusunun özellikle nematotlara karşı geliştirilmiş ticari ürünleri bulunmaktadır (EK-3).

Entomopatojen funguslarla ilgili araştırmalar bol miktarda aseksüel spor üreten *Metarhizium*, *Beauveria*, *Isaria* cinsi funguslar üzerine yoğunlaşmıştır (Sandhu vd. 2012). Bu fungusların konukçu aralığı geniştir. Ancak, bazı grupların konukçuya spesifik olduğu da görülmüştür. *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* ile yapılan çalışmalarda bu fungusun yalnızca çekirgelere karşı etkili olduğu rapor edilmiştir (Lomer vd. 2001).

Belirli bir böcek türünden elde edilen bir izolatın genellikle konukçuya adapte olduğu varsayılır. Ancak, strese girmiş olan bir böcek fırsatçı bir patojen tarafından da öldürülebilir. Kışlama süresince, böcekler entomopatojen ve diğer fırsatçı fungusların enfeksiyonuna maruz kalmaktadır (Kubatova ve Dvorak 2005).

Entomopatojen fungusların biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilmesi için öncelikle böceğe karşı etkili virulent izolatların tespit edilmesi gerekmektedir. Daha sonra ise hedef zararlıya spesifik etki gösteren ırk seçilmelidir (Sandhu vd. 2012).

Fungal biyolojik kontrol ajanlarının çevreye uyum sağlayamadıklarından dolayı genellikle toprakta kalamadıkları görülmüştür (Jackson vd. 2000). Bu yüzden yerel izolatların kullanılması hem zararlı türler ile ekolojik uyumluluğa hem de yerel olmayan izolatlarla karşılaştırıldığı zaman hedef dışı organizmalar üzerindeki etkisinin daha az olmasını sağlayacaktır (Gulsar Banu vd. 2004).

Patojenite denemelerinde 15.günde KK-3 *Penicillium* ve Çel-b-10 *Trichoderma* izolatları %0 ölüm oranları ile kontrollerdeki ölüm oranına göre daha düşük ölüme neden olmuşlardır. Bu fungusların böceklerle karşı etkisiz kalmasının yanı sıra, entomopatojen funguslara antagonistik etki göstermeleri de olasıdır. Patojenite denemeleri için toplanan böcekler üzerinde entomopatojen funguslar bulunabilir. Nitekim denemeler sırasında daha önce izole edilememiş olan *Purpureocillium* izolatı kontroldeki böceklerden izole edilmiştir. Denemelerde kullanılan bu fungus 15. günde %45 ölüme neden olmuştur.

Bu çalışma sonucuna göre sürede en yaygın entomopatojen fungusun *B. bassiana* (%29) olduğu görülmüştür. *B. bassiana* izolatlarından BB-34 ve AF-4 9.günde, E-5-1/2 ise 12. günde %100 ölüme sebep olarak en etkili izolatlar olmuşlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda da süneye karşı en etkili entomopatojen fungusun *B. bassiana* olduğu tespit edilmiştir (Parker vd. 2003). Denemede kullanılan diğer *Beauveria* izolatlarından Esk-4 ve Ak-Çe-5 ise 15.günde %66.7 ve %73 ölüme sebep olmuşlardır. *I. farinosa*, *L. lecanii* ve *P. lilacinum* izolatlarının bu izolatlarla göre etkinliklerinin düşük olduğu görülmüştür. En etkili *I. farinosa* ve *L. lecanii* izolatı 15. gündeki ölüm

oranlarıyla bu izolatların ölüm oranlarına ulaşabilmişlerdir. *B. bassiana* ve *I. farinosa* izolatlarının da kendi aralarındaki patojenite değerlerinin oldukça farklılık gösterdiği görülmüştür. Bu nedenle laboratuvar koşullarındaki patojenite denemeleri virulent fungusların tespit edilmesinde oldukça önemlidir. En etkili *Beauveria* izolatları arasında olan BB-34'de mukoz gelişim oranının düşük olduğu görülmüştür. Nemli hücredeki böcekler üzerinde bakteri gelişimi gözlenmiştir. Bu izolatlardaki mukoz gelişimini bakterilerin engellediği düşünülmektedir.

*I. farinosa* izolatlarından en etkili olanı 15. gündeki %95.3'lik ölüm oranı ile Ko-Ka-2 izolatı olmuştur. Parker vd. (2003), sürede *I. farinosa*'nın *B. bassiana*'dan sonra 2. en yaygın tür olduğunu belirtmiştir, ancak bazen bölgesel olarak *I. farinosa*'nın daha yaygın olabileceğini de belirtmiştir. Parker vd. (2003) çalışmalarında bir adet *I. farinosa* izolatı ile diğer fungusları kullanmışlar. *I. farinosa*'nın *B. bassiana*'ya göre daha az patojen olduğu belirtilmiştir. Ancak çalışmada farklı konukçular, coğrafik bölgelerden elde edilen izolatlarla daha geniş kapsamlı bir deneme kurulması gerektiğini de belirtmiştir. Nitekim bu çalışmada Ko-Ka-2 *Isaria* izolatının bazı *Beauveria* izolatlarına göre daha patojen olduğu görülmüştür.

Di-Ka-11/1 numaralı *L. lecanii* izolatı 15.gündeki %86'lık ölüm oranı ile etkili izolatlar arasında yer almıştır. Ayrıca bu izolat en yüksek mukoz oranına da sahiptir. Parker vd. (2003) patojenite denemelerinde 1 adet *Lecanicillium lecani* izolatı kullanmıştır. Patojenite sonuçlarına göre, *B. bassiana*'ya göre patojenitesinin düşük olduğunu belirtmiştir. Ancak bu çalışmada, bazı *Beauveria* izolatlarından daha virulent olduğu görülmüştür. Fungus ırklarının virulanslık bakımından farklılıklar gösterdikleri bilinmektedir. Bu çalışmada kullandığımız bazı *Beauveria* izolatlarının virulansının düşük olduğunu söyleyebiliriz.

*P. lilacinum* izolatı morfolojik olarak teşhis edilmiş moleküler olarak teşhisi yapılamamıştır. ITS'e ilaveten  $\beta$ -tubulin gen bölgesi kullanılarak teşhisinin yapılabileceği düşünülmektedir. Parker vd. (2003), sürede bu fungusun birkaç izolatını elde ettiğini belirtmiştir. Ancak sürede patojenite çalışmalarında bu fungus daha önce kullanılmamıştır. Patojenite çalışmamızda ölü böceklerdeki mukoz oranının %89

olduğu belirlenmiştir. Bu oran patojenite denemesinde kullanılan bazı *Beauveria* ve *Isaria* izolatlarına göre daha yüksektir (Şekil 4.17).

Parker vd. (2003), *M. anisopliae*'nin *E. integriceps*'e etkili olduğunu belirtmişler, buğday ve kışlama alanlarında biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabileceğini önermişlerdir. Ancak *M. anisopliae*'yi süneden izole edememişlerdir. Bu çalışmada da *M. anisopliae* süneden izole edilememiştir. Bu fungus toprakta, doğal koşullarda diğer patojenlerle rekabet edemediğinden dolayı böcekten izole edilemediği düşünülmektedir.

Parker vd. (2003) sünede *Fusarium* cinsi fungusları tespit etmişlerdir. Ancak bu fungusların tür tespitini ve patojenite çalışmalarını yapmamışlardır. Bazı *Fusarium* türlerinin böceklerde patojen olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin; *Fusarium verticillioides* mısır koçanı ve vejetatif dokularını enfekte ettiği rapor edilmiş en yaygın fungustur. *Tropidacris collaris* çekirge türü Arjantin'in kuzey bölgelerinde yaygın bir zararlı haline gelmiş ve bu zararlıyı kontrol etmek için tek yol olarak kimyasal insektisitler önerildiği belirtilmiştir. Pelizza vd. (2011), *F. verticillioides*'i bu çekirgeden izole etmişlerdir. Laboratuvar koşullarındaki patojenite denemelerinde, inokulasyondan 10 gün sonra çekirgelerde %58 ölüme neden olduğu görülmüştür. Bu çalışmaları *F. verticillioides*'in çekirgelerde ölüme neden olduğunu gösteren ilk kayıt olmuştur. Ayrıca *F. oxysporum*'un da bazı böceklerle patojen olabileceği rapor edilmiştir (Varma ve Tandan 1996). Bu çalışmada *Fusarium*'lar patojenite çalışmaları sırasında nemli hücredeki böceklerden izole edilmiştir. Patojen olabilecekleri düşünülerek denemede kullanılmışlardır. Patojenite denemelerinde virulanslerinin düşük olduğu görülmüştür. Teşhisi yapılan *Fusarium* izolatlarının ekim alanlarında bulunan bitkileri enfekte eden türler olduğu görülmüştür. Bitkilerin köklerini enfekte ederek toprakta bulunabilirler veya bazı türleri endofitik olarak bitki içerisinde bulunabilir. Süneler güneşten veya olumsuz hava koşullarından kaçmak için topraktaki korunaklı yerlerde bulunurlar. Toprakla temas ettikleri durumda *Fusarium* sporları böceğin üzerine yapışabilir veya süneler endofitik olan *Fusarium*'ları beslenme yoluyla vücutları içerisine alabilirler. Bu fungusların buğday alanlarından sünelerin üzerinde kışlak alanlarına taşınması olasıdır. Kışlama ya da yazlama aşamasında hassas bireylerde bu fungusların saprofit olarak gelişme ihtimali vardır.

*Lecanicillium psalliotae* Hindistan'da tripsde (*Sciothrips cardamomi* Ramk.) (Thysanoptera: Thripidae) patojen olarak bildirilmiştir (Senthil Kumar vd. 2015). Parker vd. (2003) çalışmasında fungusların farklı sıcaklıklardaki gelişim oranının ve ürettikleri konidi miktarının tespit edilmesi ile ilgili değerlendirmesine *Lecanicillium psalliotae* fungusunu da dahil etmiştir. Ancak sürede patojenite çalışması yapmamışlar ve bu fungus ile ilgili çalışmalarında ayrıntılı bir bilgi vermemişlerdir.

*C. rosea* (teleomorph: *Bionectria ochroleuca*) ılıman, tropikal, yarı arktik ve çöl bölgelerinde bulunmaktadır. Bu fungus çayır, orman, fundalık, tatlı su ve kıyı topraklarda (Sutton vd. 1997) rapor edilmiştir. Bu fungus sıklıkla *Heterodera* spp., *Globodera* spp. ve topraktaki diğer nematot kistleri ile, *Sclerotinia sclerotium* (Lib.) de Bary, *Phymatotrichum omnivorum* Duggar, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Botrytis* spp., ve *Verticillium* spp. sklerotileriyle, diğer toprak fungusları ve bitki materyalleriyle ilişkilendirilmiştir (Sutton vd.1997). Arjantinde Toledo vd. (2006), *Oncometopia tucumana* ve *Sonesimia grossa* (Hemiptera: Cicadellidae) böceklerinde entomopatojen olarak bu fungusu ilk kez rapor etmişlerdir. Vega vd. (2008), yazıcı böceklerde bu fungusun patojen olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, bu çalışmada yeterli süne ergini temin edilemediği için, bu fungusun patojenite çalışmaları yapılamamıştır.

*Penicillium* izolatlarının farklı türlere ait oldukları düşünülmektedir. Saprofit oldukları düşünüldüğü için tür teşhisleri yapılmamıştır. *Trichoderma*, *Mucor* ve *Aspergillus* izolatları da cins düzeyinde teşhis edilmiştir.

Ölüm oranı verilerinin değerlendirilmesinde böceğin mukozdan dolayı mı yoksa diğer nedenlerden dolayı mı öldüğünü anlamak önemlidir. Nemli hücreye alınan böcekler üzerinde mukoz oluşumu inokule edilen fungus nedeniyle öldüğünün bir göstergesidir. Kadavralardaki mukoz oranının yüksek olması fungus aktivitesinin de yüksek olduğunun bir göstergesi olmasına rağmen, mukoz oluşumu olmayan böcekler de fungus tarafından öldürülmüş olabilir. Fungus saprofit mikroorganizmalarla rekabet halinde olduğundan dolayı mukoz oluşturmama ihtimali vardır. Bu nedenle mukoz oranı patojenite sonuçlarının değerlendirilmesinde ana kriter değildir. Ancak mukoz

gelişim oranlarının belirlenmesi sonraki çalışmalarda izolatların seçiminde yol gösterici olacaktır.

## 5.1 Öneriler

İzolatlar arasında *B. cf. bassiana* olup olmadığını belirlemek için EF1- $\alpha$  gen bölgesinin sekansına ihtiyaç duyulmaktadır. İzolatlar arasındaki genetik çeşitliliği araştırmak için RFLP gibi teknikler kullanılabilir.

Özellikle *I. farinosa* izolatlarının dsRNA içerip içermediği araştırılabilir. Eğer içeren izolatlar varsa bu durumun entomopatojenin virulansı üzerine etkisinin de ortaya konulması gerekmektedir.

Elde edilen izolatlardan ticari preparatlarının geliştirilebilmesi için, doğa koşullarına daha yakın şartlarda patojenite denemelerine ve alan denemelerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Virulent ırkların sünenin doğal düşmanlarına karşı da test edilmesi gerekmektedir. Elde edilen izolatların diğer zararlılara karşı da kullanılma durumu değerlendirilmelidir.

## KAYNAKLAR

- Anonymous. 1996. Web Sitesi: <http://www.fao.org/docrep/v9976e/v9976e04.htm>. Erişim Tarihi: 26. 01. 2016.
- Anonymous. 2016. Web Sitesi: <https://www5.agr.gc.ca/MPDD-CPM/search-recherche.do?lang=eng>. Erişim Tarihi: 4. 4. 2016.
- Azevedo, A. C. S., Sosa-Go'mez, D. R., Faria, M. R and Fungaro, M. H. P. 2000. Effects of double-stranded RNA on virulence of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against the silverleaf whitefly, *Bemisia tabaci* strain B (Homoptera: Aleyrodidae). Genetics and Molecular Biology, 23(1), 61-63.
- Bogo, M. R., Queiroz, M. V., Silva, D. M., Gimenez, M. P, Azevedo, J. L and Schrank, A. 1996. Double-stranded RNA and isometric viruslike particles in the entomopathogenic *Metarhizium anisopliae*. Mycological Research 100(12), 1468-1472.
- Bottacin, A. M., Levesque, C. A and Punja, Z. K. 1994. Characterization of dsRNA in *Chalara elegans* and Effects on Growth and Virulence. Molecular Plant Pathology, 84(3), 303-312.
- Critchley, B. R. 1998. Literature review of sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera, Scutelleridae). Crop Protection, 17(4), 271-287.
- Dalzoto, P. R., Ghenke-blanco, C., Kava-cordeiro, V., Ribeiro, J. Z., Kitajima, E. W and Azevedo, J. L. 2006. Horizontal transfer and hypovirulence associated with double-stranded RNA in *Beauveria bassiana*. Mycological research, 110, 1475-1481.
- Daoust, R. A and Roberts, D. W. 1982. Virulence of natural and insect-passaged strains of *Metarhizium anisopliae* to mosquito larvae. Journal of Invertebrate Pathology, 40(1), 107-117.
- De Muro, M. A., Mehta, S and Moore, D. 2003. The use of amplified fragment length polymorphism for molecular analysis of *Beauveria bassiana* isolates from Kenya and other countries, and their correlation with host and geographical origin. FEMS Microbiology Letters, 229, 249-257.
- De Muro, M. A., Elliott, S., Moore, D., Parker, B. L., Skinner, M., Reid, W and El Bouhssini, M. 2005. Molecular characterisation of *Beauveria bassiana* isolates obtained from overwintering sites of Sunn Pests (*Eurygaster* and *Aelia* species). Mycological Research, 109(3), 294-306.
- Domsch, K. H., Gams, W and Anderson, T. H. 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press, 860, London.

- Edgington, S., Moore, D., El Bouhssini, M and Sayyadi, Z. 2007. *Beauveria bassiana* for the control of Sunn Pest (*Eurygaster integriceps*) (Hemiptera: Scutelleridae) and aspects of the insect's daily activity relevant to a mycoinsecticide. *Biocontrol Science and Technology*, 17(1), 63-79.
- Elias, K. S and Cotty, P. T. 1996. Incidence and stability of infection by double-stranded RNA genetic elements in *Aspergillus* section *flavi* and effects on aflatoxigenicity. *Canadian Journal of Botany*, 74(5), 716-725.
- Geiser, D. M., Jiménez-Gasco, M. M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T. J., Zhang, N., Kulda, G. A and O'Donnell, K. 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*, 110, 473–479.
- Glare, T. R. and Inwood, A. J. 1998. Morphological and genetic characterisation of *Beauveria* spp. from New Zealand. *Mycological Research*, 102, 250-256.
- Glare, T. R., Reay, S. D., Nelson, T. L and Moore, R. 2008. *Beauveria caledonica* is a naturally occurring pathogen of forest beetles. *Mycological Research*, 112, 352-360.
- Goettel, M. S., Eilenberg, J and Glare, T. 2010. Entomopathogenic Fungi and their Role in Regulation of Insect Populations, In: *Insect Control*. Gilbert, L. I ve Gill, S. S. (eds), Elsevier, 387-419.
- Gulsar Banu, J., Subaharan, K and Iyer, R. 2004. Occurrence and distribution of entomopathogenic nematodes in white grub endemic areas of Kerala. *Journal of Plantation Crops*. 32, 333-334.
- Huang, B., Li, C. R., Li, Z. G., Fan, M. Z and Li, Z. Z. 2002. Molecular identification of the teleomorph of *Beauveria bassiana*. *Mycotaxon*, 81, 229-236.
- Humber, R. A. 2012. Identification of entomopathogenic fungi, In: *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Lacey, L. A. (eds), Elsevier, 151-187.
- İslamoğlu, M., Kornoşor, S ve Tarla, Ş. 2011. Türkiye’de Süne, *Eurygaster* spp. (Hemiptera: Scutelleridae) mücadelesindeki gelişmeler (1928 – 2010). *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 2(1), 63-78.
- Jackson, T.A., Alves, S. B and Pereira, R.M. 2000. Success in biological control of soil-dwelling insects by pathogens and nematodes, In: “Biological Control: Measures of success.” Gurr, G ve Wratten, S. (eds), Kluwer Academic Press, 271-296, London.
- Johny, S., Kyei-Poku, G., Gauthier, D and Frankenhuyzen, K. 2012. Isolation and characterisation of *Isaria farinosa* and *Purpureocillium lilacinum* associated with emerald ash borer, *Agrilus planipennis* in Canada. *Biocontrol Science and Technology*, 22(6), 723-732.

- Koçak, E ve Babaroğlu, N. 2005. Orta Anadolu Bölgesi kışlaklarındaki *Eurygaster* (Heteroptera: Scutelleridae) türleri. Türkiye Entomoloji Dergisi, 29(4), 301-307.
- Kouvelis, V. N., Ghikas, D. V., Edgington, S., Typas, M. A and Moore, D. 2008. Molecular characterization of isolates of *Beauveria bassiana* obtained from overwintering and summer populations of Sunn Pest (*Eurygaster integriceps*). Letters in Applied Microbiology, 46, 414-420.
- Kubátová, A and Dvořák, L. 2005. Entomopathogenic fungi associated with insect hibernating in underground shelters. Czech Mycology, 57(3-4), 221-237.
- Leal, S. C. M., Bertoli, D. J., Ball, B. V and Butt, T. M. 1994. Presence of doublestranded RNA and virus-like particles in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Biocontrol Science and Technology, 4(1), 89-94.
- Leslie, J. F and Summerell, B. A. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, 387, USA.
- Lodos, N. 1961. Türkiye, Irak, İran ve Suriye’de süne (*Eurygaster integriceps* put.) problemi üzerinde incelemeler (Yayılışı, Zararları, Biyolojisi, Parazitleri ve Savaşı). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 51, Türkiye.
- Lodos, N ve Önder, F. 1983. Süne (*Eurygaster integriceps* Put. )'nin Türkiye’de yayılışı üzerimde düşünceler. Bitki Koruma Bülteni, 23(2), 53-60.
- Lomer, C. J., Bateman, R. P., Johnson, D. L., Langewald, J and Thomas, M. 2001. Biological Control of Locusts and Grasshoppers. Annual Review of Entomology, 46, 667-702.
- Luangsa-ard, J. J., Hywel-jones, N. L., Manoch, L and Samson, R. A. 2005. On the relationships of Paecilomyces sect. Isarioidea species. Mycological Research, 109 (5), 581-589.
- Melzer, M. J and Bidochka, M. J. 1998. Diversity of double-stranded RNA viruses within populations of entomopathogenic fungi and potential implications for fungal growth and virulence. Mycologia, 90(4), 586-594.
- Memişoğlu, H ve Özer, M. 1994. Ankara ilinde Avrupa sünesi (*Eurygaster maura* L., Hemiptera: Scutelleridae)'nin doğal düşmanları ve etkinlikleri. Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi, 25-28 Ocak, Ege Üniversitesi, Bildiri Kitabı, 175-186, İzmir.
- Milner, R. J. 1982. On The Occurrence of Pea Aphids, *Acyrtosiphon pisum*, Resistant to Isolates of The Fungal Pathogen *Erynia neoaphidis*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 32(1), 23-27.
- Miller, R. H and Pike, K. S. 2002. Insects in wheat-based systems. FAO Corporate Document Repository. Web Sitesi:

<http://www.fao.org/docrep/006/y4011e/y4011e0q.htm>. Erişim Tarihi: 26. 01. 2016.

- Moore, D and Edgington, S. 2006. The sunn pest-a grain of hope for its control. *Outlooks on Pest Management* 17(3), 135-137.
- Muştu, M., Demirci, F ve Koçak, E. 2014. Mortality of *Isaria farinosa* and *Beauveria bassiana* on sunn pests *Eurygaster integriceps* and *Eurygaster austriaca*. *Phytoparasitica*, 42, 93-97.
- Najafi-Mirak, T. 2012. Evaluation of resistance to Sunn pest (*Eurygaster integriceps* Put.) in wheat and triticale genotypes. *Crop Breeding Journal*, 2(1), 43-48.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E and Nirenberg, H. I. 1998. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90(3), 465-493.
- Parker, B. L., Costa, S. D., Skinner, M and El Bouhssini, M. 2002. Sampling Sunn Pest (*Eurygaster integriceps* Puton) in Overwintering Sites in Northern Syria. *Turk J Agric For*, 26 (3) 109-117.
- Parker, B. L., Skinner, M., Costa, S. D., Gouli, S., Reid, W and El Bouhssini, M. 2003. Entomopathogenic fungi of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae): collection and characterization for development. *Biological Control*, 27, 260-272.
- Parker, B. L., Amir-Maafi, M., Skinner, M., Kim, J. S and El Bouhssini, M. 2011. Distribution of Sunn Pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae), in overwintering sites. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14, 83-88.
- Pelizza, S. A., Stenglein, S. A., Cabello, M. N., Dinolfo, M. I and Lange, C. E. 2011. First record of *Fusarium verticillioides* as an entomopathogenic fungus of grasshoppers. *Journal of Insect Science*, 11 (70), 1-8.
- Rehner, S. A and Buckley, E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- $\alpha$  sequences:evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, 97(1), 84-98.
- Rehner, S. A., Minnis, A. M., Sung, G., Luangsa-ard, J. J., Devotto, L and Humber, R. A. 2011. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia*, 103(5), 1055-1073.
- Samson, R. A. 1974. Paecilomyces and some allied Hyphomycetes. *Studies in Mycology*, 6, 1-119.
- Sandhu, S. S., Sharma, A. K., Beniwal, V., Goel, G., Batra, P., Kumar, A., Jaglan, S., Sharma, A. K and Malhotra, S. 2012. Myco-Biocontrol of Insect Pests: Factors Involved, Mechanism, and Regulation. *Journal of Pathogens*, 1-10.

- Sedighi, N., Abbasipour, H., Askary, H., Gorjan, A. S and Karimi, J. 2013. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *major* on different stages of the sunn pest, *Eurygaster integriceps*. Journal of Insect Science, 13 (150), 1-9.
- Senthil Kumar, C. M., Jacob, T. K., Devasahayam, S., D'Silva, S and Krishna Kumar, N. K. 2015. Isolation and characterization of a *Lecanicillium psalliotae* isolate infecting cardamom thrips (*Sciothrips cardamomi*) in India. BioControl, 60 (3), 363-373.
- Sevim, A., Demir, I., Höfte, M., Humber, R, A ve Demirbag, Z. 2010. Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey. BioControl, 55, 279-297.
- Sevim, A., Sevim, E., Demir, İ ve Demirbağ, Z. 2014. *Rhynchites bacchus* L. (Coleoptera: Rhynchitidae)'dan İzole Edilen *Beauveria bassiana*'nın Moleküler Karakterizasyonu ve Patojenitesi. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(2), 33-47.
- Strasser, H., Vey, A and Butt, T. M. 2000. Are There any Risks in Using Entomopathogenic Fungi for Pest Control, with Particular Reference to the Bioactive Metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species?. Biocontrol Science and Technology, 10, 717-735.
- Sutton, J. C., Li, D.W., Peng, G., Yu, H., Zhang, P and Valdebenito-Sanhueza, R. M. 1997. *Gliocladium roseum* a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. Plant Disease, 81(4), 316-328.
- Tarla, G., Poinar, G ve Tarla, Ş. 2011. *Hexamermis eurygasteri* (Mermithidae: Nematoda) parasitizing the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) in Turkey. Systematic Parasitology, 79(3), 195-200.
- Toledo, A.V., Virla, E., Humber, R.A., Paradell, S.L and López Lastra, C.C. 2006. First record of *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) as an entomopathogenic fungus of *Oncometopia tucumana* and *Sonesimia grossa* (Hemiptera: Cicadellidae) in Argentina. Journal of Invertebrate Pathology, 92, 7-10.
- Varma, A and Tandan, B. K. 1996. Pathogenicity of three entomogenous fungi against insect pests of sugarcane. Journal of Biological Control, 10(1/2), 87-91.
- Vega, F. E., Posada, F., Aime, M. C., Pava-Ripoll, M., Infante, F and Rehner, S. A. 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. Biological Control, 46, 72-82.
- Wang, C., Fan, M., Li, Z and Butt, T. M. 2004. Molecular monitoring and evaluation of the application of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* in southeast China. Journal of Applied Microbiology, 96, 861-870.

- White, T. J., Bruns, T., Lee, S and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, In: PCR Protocols: a guide to methods and applications. Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J ve White, T. J. (eds), Academic Press, 315–322, New York.
- Wilson, D. 1995. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos* 73(2), 274-276.
- Zibae, A., Bandani, A. R and Tork, M. 2009. Effect of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, and its secondary metabolite on detoxifying enzyme activities and acetylcholinesterase (AChE) of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutellaridae). *Biocontrol Science and Technology*, 19 (5), 485-498.
- Zimmermann, G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology*, 18(9), 865-901.

## **EKLER**

|                                                                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>EK 1 İzolatların Morfolojik Özellikleri.....</b>                                                                                | <b>60</b> |
| <b>EK 2 İzolatların Gen Bankasındaki İzolatlarla Benzerlik Oranları.....</b>                                                       | <b>63</b> |
| <b>EK 3 Zararlılarda Mücadelede Kullanılan Ticari Ürünler, Üretim Yerleri,<br/>Tavsiye Edilen Hedef Zararlılar ve Ürünler.....</b> | <b>65</b> |

## EK 1 İzolatların Morfolojik Özellikleri

| Sıra no | İzolat no | Fungus                    | Konidilerin büyüklüğü (boy-en, min-max) (µm) | Ortamdaki gelişimi                                                                                                   |
|---------|-----------|---------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1       | AF-1      | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-3×1-1.8                                  | Beyaz, pamuğumsu yavaş gelişim                                                                                       |
| 2       | AF-3      | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2×1-1.5                                  | Beyaz, sadece aşılana yerde yavaş gelişim.                                                                           |
| 3       | AF-4      | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.2-2.5×1-2                                  | Beyaz pamuğumsu, daha sonra sarımsı bir renk oluşumu                                                                 |
| 4       | Ak-Or-4   | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.5×1-2                                  | Beyaz gelişim                                                                                                        |
| 5       | Ak-Çe-5   | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.5×1-2                                  | Beyaz sönük yavaş gelişim                                                                                            |
| 6       | Ak-Or-7   | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.5×1-2                                  | Beyaz sönük hızlı gelişim                                                                                            |
| 7       | Ank-O-38  | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.1×1.5-2                                | Kremsi-beyaz, pamuğumsu gelişim                                                                                      |
| 8       | Ank-O-40  | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.8-2.1×1-2                                  | Beyaz pamuğumsu gelişim                                                                                              |
| 9       | BB-34     | <i>Beauveria bassiana</i> | 2-3×1-2                                      | Beyaz, MEA -belirgin pigment oluşumu, kolonileri petriye dağılmıştır                                                 |
| 10      | BB-39     | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.1×1-2                                  | Beyaz, pamuğumsu MEA -belirgin pigment oluşumu                                                                       |
| 11      | BB-41     | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-3×1-2                                    | Beyaz pamuğumsu petride sadece aşılana noktada yavaş gelişmiştir                                                     |
| 12      | BB-42     | <i>Beauveria bassiana</i> | 2-3×1-2.2                                    | Beyaz pamuğumsu gelişim                                                                                              |
| 13      | Göl-O-1   | <i>Beauveria bassiana</i> | 1-2.1×1-2                                    | Beyaz pamuğumsu daha sonra sarımsı kolonileri petriye dağılmıştır                                                    |
| 14      | Göl-O-2   | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.5×1-1.9                                | Beyaz, pamuğumsu, sadece aşılana noktada gelişim                                                                     |
| 15      | Di-Ka-3   | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-3×1-2                                    | Beyaz, MEA - belirgin pigment oluşumu, kolonileri petriye dağılmıştır                                                |
| 16      | E-5-1/2   | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.5×1-2                                  | Beyaz pamuğumsu MEA - belirgin pigment oluşumu                                                                       |
| 17      | E-5/1     | <i>Beauveria bassiana</i> | 1-2×1-2                                      | Beyaz, pamuğumsu MEA - belirgin pigment oluşumu, PDA - pembe renk oluşumu                                            |
| 18      | Esk-10    | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-3.5×1-2.2                                | Beyaz pamuğumsu hızlı gelişim, daha sonra sarımsı bir renk oluşumu, MEA - kırmızı belirgin, PDA - pembe renk oluşumu |
| 19      | Esk-2     | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.2-3×1-2.5                                  | Kremsi renkte tüm petriyi kaplamıştır, hızlı gelişim                                                                 |
| 20      | Esk-3     | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.5×1-2.1                                | Kremsi-beyaz, sönük, hızlı gelişim                                                                                   |
| 21      | Esk-4     | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-2.5×1-2                                  | Kremsi renkte tüm petriyi kaplamıştır, hızlı gelişim                                                                 |
| 22      | KK-2      | <i>Beauveria bassiana</i> | 1.5-3×1-2                                    | Beyaz, sönük hızlı gelişim                                                                                           |

|    |          |                                  |               |                                                                                                                                         |
|----|----------|----------------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 23 | KK-6     | <i>Beauveria bassiana</i>        | 2-3×1.5-2     | Kremsi hızlı sönük gelişim. Kolonileri tüm petriye dağılmıştır                                                                          |
| 24 | N-24     | <i>Beauveria bassiana</i>        | 2-2.5×1-2     | Beyaz daha sonra sarımsı renkte pamuğumsu gelişim                                                                                       |
| 25 | N-28/2   | <i>Beauveria bassiana</i>        | 1-2.5×1-2     | Beyaz pamuğumsu hızlı gelişim, daha sonra kolonide sarımsı renk oluşumu, MEA - kırmızı renkte pigment oluşumu, PDA - pembe renk oluşumu |
| 26 | N-37     | <i>Beauveria bassiana</i>        | 1.5-2.5×1-2   | Beyaz pamuğumsu yavaş gelişim                                                                                                           |
| 27 | N-39     | <i>Beauveria bassiana</i>        | 1.5-2.1×1-2   | Beyaz pamuğumsu yavaş gelişim.                                                                                                          |
| 28 | Kır-5    | <i>Beauveria bassiana</i>        | 1.5-2.5×1-2   | Beyaz sönük gelişim                                                                                                                     |
| 29 | N-11     | <i>Clonostachys rosea</i>        | 4-9×2-4.5     | MEA-Turuncu konsatrik daireler halinde, PDA- beyazımsı gelişim                                                                          |
| 30 | N-25     | <i>Clonostachys rosea</i>        | 4-7×1.5-3     | MEA-Turuncu konsatrik daireler halinde, PDA beyazımsı gelişim                                                                           |
| 31 | Dİ-Ka-6  | <i>Isaria farinosa</i>           | 2-3×1-1.5     | Beyaz pamuğumsu hızlı gelişim kolonileri petriye dağılmıştır                                                                            |
| 32 | Di-Ka-7  | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-3×1-2     | Beyaz sönük kolonileri petriye dağılmıştır                                                                                              |
| 33 | Di-Ka-9  | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-2×1-1.5   | Beyaz, sönük, hızlı gelişim. Kolonileri tüm petriyi kaplamıştır                                                                         |
| 34 | Di-Ka-10 | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.1-2.5×1-2   | Beyaz sönük gelişmiştir. Kolonileri petriye dağılmıştır, hızlı gelişim                                                                  |
| 35 | Di-Ka-12 | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-2.5×1-2   | Beyaz, sönük, hızlı gelişim. Kolonileri tüm petriyi kaplamıştır                                                                         |
| 36 | Kır-1    | <i>Isaria farinosa</i>           | 1-2.5×1-2     | Beyaz pamuğumsu hızlı gelişim                                                                                                           |
| 37 | Ko-Ka-2  | <i>Isaria farinosa</i>           | 1-3×1-2       | Beyaz pamuğumsu hızlı gelişim, kolonileri tüm petriyi kaplamıştır                                                                       |
| 38 | ESK-1    | <i>Isaria farinosa</i>           | 2-2.5×1-2     | Kremsi-beyaz sönük hızlı gelişim. Kolonileri tüm petriye dağılmıştır.                                                                   |
| 39 | N-16     | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-2.5×1-2   | Beyaz, pamuğumsu hızlı gelişim                                                                                                          |
| 40 | N-18     | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.2-2.5×1-2   | Beyaz sönük hızlı gelişim                                                                                                               |
| 41 | N-19/2   | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-3×1-2     | Beyaz sönük hızlı gelişim Kolonileri tüm petriye dağılmıştır                                                                            |
| 42 | N-20     | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-2.2×1-1.5 | Beyaz, pamuğumsu gelişim                                                                                                                |
| 43 | N-21/1   | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-3×1-2     | Beyaz sönük gelişim                                                                                                                     |
| 44 | N-28/1   | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-2.5×1-2   | Beyaz hızlı gelişim. Kolonileri petriye dağılmıştır                                                                                     |
| 45 | N-40     | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-3×1-2     | Beyaz sönük hızlı gelişim. Kolonileri tüm petriyi kaplamıştır                                                                           |
| 46 | N-41     | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-3×1-2     | Beyaz, pamuğumsu hızlı gelişim                                                                                                          |
| 47 | N-42/1   | <i>Isaria farinosa</i>           | 1.5-2.5×1-2   | Beyaz sönük gelişmiştir fungus üzerinde beyaz renkte akıntı                                                                             |
| 48 | N-42/2   | <i>Isaria farinosa</i>           | 1-2×1-2       | Beyaz sönük kolonilerin üzerinde beyaz renkte akıntı                                                                                    |
| 49 | P-1      | <i>Purpureocillium lilacinum</i> | 2-3×1.5-2.5   | Lila renginde gelişim                                                                                                                   |

|    |            |                                 |                            |                                        |
|----|------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------------------|
| 50 | Di-Ka-11/1 | <i>Lecanicillium lecanii</i>    | 2.5-7×1-2                  | Beyaz,sönük yavaş gelişim              |
| 51 | KK-8       | <i>Lecanicillium psalliotae</i> | 2-7×1-2                    | Beyaz gelişim, kırmızı pigment oluşumu |
| 52 | P-2        | <i>Fusarium proliferatum</i>    | Mikrokonidi<br>3-8×1-2     | Pembemsi-beyaz renkte gelişim          |
| 53 | P-3        | <i>Fusarium proliferatum</i>    | Mikrokonidi<br>4-8×1-2     | Pembemsi-beyaz renkte gelişim          |
| 54 | P-4        | <i>Fusarium proliferatum</i>    | Mikrokonidi<br>4-9×1.5-2.5 | Pembemsi-beyaz renkte gelişim          |
| 55 | BB-37      | <i>Fusarium oxysporum</i>       | Mikrokonidi<br>4-8×1-2.5   |                                        |
| 56 | E-1        | <i>Fusarium oxysporum</i>       | Makrokonidi<br>30-42×2,5-3 |                                        |
| 57 | Di-Ka-1/2  | <i>Fusarium acuminatum</i>      | Makrokonidi<br>21-48×2-3   |                                        |
| 58 | Di-Ka-2    | <i>Fusarium acuminatum</i>      | Makrokonidi<br>21-39×2.5-4 |                                        |
| 59 | E-7/2      | <i>Fusarium acuminatum</i>      | Makrokonidi<br>20-45×2-4   |                                        |
| 60 | Di-Ka-4    | <i>Fusarium torulosum</i>       | Makrokonidi<br>24-44×2-4   |                                        |
| 61 | KK-5       | <i>Fusarium torulosum</i>       | Makrokonidi<br>22-37×2.5-4 |                                        |

## EK 2 İzolatların Gen Bankasındaki İzolatlarla Benzerlik Oranları

| Sıra no | İzolat no | Türü                         | Gen bankası numarası | ITS sekans benzerliği |
|---------|-----------|------------------------------|----------------------|-----------------------|
| 1       | AF-1      | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753398.1           | %100                  |
| 2       | AF-3      | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %100                  |
| 3       | AF-4      | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %100                  |
| 4       | Ak-Or-4   | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %100                  |
| 5       | Ak-Çe-5   | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %100                  |
| 6       | Ak-Or-7   | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753398.1           | %100                  |
| 7       | Ank-O-38  | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753398.1           | %99                   |
| 8       | Ank-O-40  | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %99                   |
| 9       | BB-34     | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %100                  |
| 10      | BB-39     | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %100                  |
| 11      | BB-41     | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %99                   |
| 12      | BB-42     | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753398.1           | %100                  |
| 13      | Göl-O-1   | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %100                  |
| 14      | Göl-O-2   | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753398.1           | %100                  |
| 15      | Di-Ka-3   | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %100                  |
| 16      | E-5/1     | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %99                   |
| 17      | E-5-1/2   | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753398.1           | %99                   |
| 18      | Esk-2     | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %99                   |
| 19      | Esk-3     | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %100                  |
| 20      | Esk-4     | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %99                   |
| 21      | Esk-10    | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %99                   |
| 22      | KK-2      | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %100                  |
| 23      | KK-6      | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %99                   |
| 24      | N-24      | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %100                  |
| 25      | N-28/2    | <i>Beauveria bassiana</i>    | KC753394.1           | %100                  |
| 26      | N-37      | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %100                  |
| 27      | N-39      | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %100                  |
| 28      | KIR-5     | <i>Beauveria bassiana</i>    | EU334678.1           | %99                   |
| 29      | N-11      | <i>Bionectria ochroleuca</i> | AF106532.1           | %99                   |
| 30      | N-25      | <i>Bionectria ochroleuca</i> | AF106532.1           | %100                  |
| 31      | Di-Ka-6   | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %100                  |
| 32      | Di-Ka-9   | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %99                   |
| 33      | Di-Ka-10  | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %100                  |
| 34      | Di-Ka-12  | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %100                  |
| 35      | Kır-1     | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %100                  |
| 36      | Ko-Ka-2   | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %100                  |
| 37      | EKS-1     | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %100                  |
| 38      | N-16      | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %100                  |
| 39      | N-18      | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %99                   |
| 40      | N-19/2    | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %99                   |
| 41      | N-20      | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %99                   |
| 42      | N-21/1    | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %99                   |
| 43      | N-28/1    | <i>Isaria farinosa</i>       | HQ115724.1           | %100                  |

|                |                  |                                 |                             |                              |
|----------------|------------------|---------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 44             | N-40             | <i>Isaria farinosa</i>          | HQ115724.1                  | %99                          |
| 45             | N-41             | <i>Isaria farinosa</i>          | HQ115724.1                  | %99                          |
| 46             | N-42/1           | <i>Isaria farinosa</i>          | HQ115724.1                  | %100                         |
| 47             | KK-8             | <i>Lecanicillium psalliotae</i> | AB360367.1                  | %99                          |
| 48             | P-3              | <i>Fusarium proliferatum</i>    | KP132230.1                  | %99                          |
| 49             | P-4              | <i>Fusarium proliferatum</i>    | KP132230.1                  | %99                          |
| <b>Sıra no</b> | <b>İzolat no</b> | <b>Türü</b>                     | <b>Gen bankası numarası</b> | <b>TEF sekans benzerliği</b> |
| 1              | BB-37            | <i>Fusarium oxysporum</i>       | KF574859.1                  | %99                          |
| 2              | Di-Ka-1/2        | <i>Fusarium acuminatum</i>      | KP868658.1                  | %99                          |
| 3              | Di-Ka-2          | <i>Fusarium acuminatum</i>      | JX534499.1                  | %99                          |
| 4              | Di-Ka-4          | <i>Fusarium torulosum</i>       | JX534440.1                  | %99                          |
| 5              | E-1              | <i>Fusarium oxysporum</i>       | KJ920414.1                  | %98                          |
| 6              | E-7/2            | <i>Fusarium acuminatum</i>      | KC175292.1                  | %99                          |
| 7              | KK-5             | <i>Fusarium torulosum</i>       | JX534388.1                  | %99                          |
| 8              | P-2              | <i>Fusarium proliferatum</i>    | KM462980.1                  | %98                          |

**EK 3 Zararlılarda Mücadelede Kullanılan Ticari Ürünler, Üretim Yerleri, Tavsiye Edilen Hedef Zararlılar ve Ürünler**

| ÜRÜN ADI                                      | ÜRETİCİ                                                                                               | FUNGUS                                     | Mahsul                                                                           | HEDEF ZARARLI                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pae-Sin®                                      | (Agrobionsa), Meksika                                                                                 | <i>Isaria fumosorosea</i>                  |                                                                                  | <i>Bemisia argentifolii</i>                                                                                                                                          |
| Bangsiri WP                                   | Dongbu HiTek Co., Ltd. Kore                                                                           | <i>Isaria fumosorosea</i> Apopka strain 97 | Salatalık, Çilek, Domates                                                        | <i>Tetranychus urticae</i> , <i>Trialeurodes vaporariorum</i>                                                                                                        |
| Multiplex Mycomite®                           | (UPASI) Çay araştırma kurumu ve Multiplex Biotech Pvt. Ltd Hindistan                                  | <i>Isaria fumosorosea</i>                  | Çay                                                                              | <i>Oligonychus coffeae</i>                                                                                                                                           |
| PFR-97 20% WDG®                               | Certis, Amerika                                                                                       | <i>Isaria fumosorosea</i>                  | Süs Bitkileri (Fidanlık Ve Seralarda)                                            | Hemiptera (beyazsinekler, afitler), Trips, Akarlar, Turunçgil psyllidi                                                                                               |
| PreFeRal®WG                                   | Biobest Biological Systems, Lüksemburg, Belçika, Finlandiya, Hollanda, Fransa, Norveç, Polonya, İsveç | <i>Isaria fumosorosea</i> Apopka strain 97 | Domates, Salatalık                                                               | <i>Trialeurodes vaporariorum</i>                                                                                                                                     |
| Pae-Sin® WP                                   | (Agrobionsa), Meksika                                                                                 | <i>Isaria fumosorosea</i>                  |                                                                                  | <i>Bemisia tabaci</i>                                                                                                                                                |
| PreFeRal®WG                                   |                                                                                                       | <i>Isaria fumosorosea</i>                  | Domates, Biber, Güller, Salatalık, Turşuluk Salatalık                            | <i>Trialeurodes vaporariorum</i> , <i>Bemisia tabaci</i>                                                                                                             |
| Futureco Nofly WP                             | Futureco Bioscience S.L. Belçika                                                                      | <i>Isaria fumosorosea</i> strain FE 9901   | Kavun, Süs Bitkileri, Biber, Yumuşak ve Sert Çekirdekli Meyveler, Kabak, Domates | Beyaz sinek, Afit, Kın kanatlı böcekler, Tırtıl, Diptera, Potato weevil, Trips                                                                                       |
| NoFly WP                                      | Natural Industries Amerika, Kanada                                                                    | <i>Isaria fumosorosea</i> strain FE 9901   | Süs Bitkileri (Seralar ve Fidanlıklar)                                           | Afit, Unlu bitler, Trips, Beyaz sinek                                                                                                                                |
| Seremoni SC                                   | Dongbu HiTek Co., Ltd. Kore                                                                           | <i>Beauveria bassiana</i>                  | Çilek, Domates                                                                   | <i>Trialeurodes vaporariorum</i> , <i>Tetranychus urticae</i>                                                                                                        |
| Mycotrol 22 WP, ES (Emulsifiabl e suspension) | Emerald Bioagriculture Corp. Meksika, Amerika                                                         | <i>Beauveria bassiana</i> strain GHA       | Fasulye, Kiraz, Krizantem, Su Kabağı, Üzüm, Zeytin, Bezelye, Biber, Kabak.       | Afitler, Cicadellidae ve Plant hopper, Virginia creeper, Unlu bitler, Plant bugs, Heteroptera, Psyllidae, Trips, Curculionoidea, Beyaz sinekler, Çekirge, Danaburnu, |

|                                                                 |                                                                                                                  |                                               |                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                 |                                                                                                                  |                                               |                                                                                                                                                                                               | <i>Anabrus simplex</i>                                                                                                                                                               |
| Mycotrol-O ES (Emulsifiable suspension)                         | Emerald Bioagriculture Corp. Amerika                                                                             | <i>Beauveria bassiana</i> strain GHA          | Fasulye, Kiraz, Mısır, Su Kabağı, Üzüm, Kanola, Bezelye, Biber, Kabak                                                                                                                         | Afitler, Lepidoptera : Coleoptera, Cicadellidae ve Plant hopper, Unlu bitler, Orthoptera, Plant bugs, Heteroptera, Psyllidae, Scarabaeidae, Tripsler, Curculionoidea, Beyaz sinekler |
| Beaublast SC                                                    | Millennium Microbes Ltd. New Zealand                                                                             | <i>Beauveria bassiana</i> strain K4B3         | Hardal, Biber, Havuç, Salatalık, Kabakgiller, Üzüm, Kivi, Marul, Soğan, Patates, Tamarillo, Domates                                                                                           | Afit, Psylla, Thysanoptera, Beyaz sinek                                                                                                                                              |
| Beaugenic WP                                                    | Millennium Microbes Ltd. New Zealand                                                                             | <i>Beauveria bassiana</i> strain K4B1         | Kırmızı Biber (Seralarda ve Alanda), Salatalık (Seralarda), Süs Bitkileri (Seralarda, Alanda), Domates (Seralarda), Hardal, Kiraz, Marul, Soğan, Patates, Bal Kabağı, Kabak, Çilek, Tamarillo | Afit, Trips, Beyaz sinek                                                                                                                                                             |
| Bio-Power                                                       | T. Stanes & Company, Hindistan                                                                                   | <i>Beauveria bassiana</i>                     |                                                                                                                                                                                               | Borers, Cutworms, Root grubs, Cicadellidae, Beyaz sinekler, Afitler, Tripsler, Unlu bitler                                                                                           |
| Bea-Sin <sup>®</sup>                                            | (Agrobionsa), Meksika                                                                                            | <i>Beauveria bassiana</i>                     |                                                                                                                                                                                               | <i>Bemisia argentifolii</i>                                                                                                                                                          |
| Bea-Sin <sup>®</sup> WP                                         | (Agrobionsa), Meksika                                                                                            | <i>Beauveria bassiana</i>                     |                                                                                                                                                                                               | <i>Bemisia tabaci</i>                                                                                                                                                                |
| Ostrinil                                                        | Fransa                                                                                                           | <i>Beauveria bassiana</i>                     |                                                                                                                                                                                               | <i>Paysandisia archon</i>                                                                                                                                                            |
| BotaniGard <sup>®</sup> SC, 22 WP, ES (Emulsifiable suspension) | Laverlam International, Amerika, İspanya, Yunanistan, İtalya, Kanada, Meksika, Almanya, İsviçre, Avusturya, Kore | <i>Beauveria bassiana</i> strain GHA          | Tavsiye Edilen Ürün Aralığı Geniştir.                                                                                                                                                         | Beyaz sinekler, Tripsler, Afitler, Psyllidae, Unlu bitler), Scarabaeidae, Plant bugs ve Curculionoidea                                                                               |
| Naturalis OP, SC, LC                                            | Troy Biosciences Inc. Kore, Meksika, Amerika, İngiltere, Avusturya, İtalya, İsviçre, İspanya, Yunanistan         | <i>Beauveria bassiana</i> (Strain ATCC 74040) | Tavsiye Edilen Ürün Aralığı Geniştir.                                                                                                                                                         | Tavsiye edilen konukçu aralığı geniştir.                                                                                                                                             |

|                          |                                              |                                                             |                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Becan Suspension         | Newbiotechnic, S.A. İspanya                  | <i>Beauveria bassiana</i>                                   |                                                                                                                                                                                   | Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Lepidoptera, Orthoptera                                                                                                                                                                                                                                               |
| Beaupro                  | Andermatt Biocontrol AG İsviçre              | <i>Beauveria brongniartii</i>                               | Arpa, Bögürtlen, Yaban Mersini, Mısır, Hayvan Yemi, Yulaf, Çavdar, Çilek, Triticale, Buğday                                                                                       | Haziran böceği, Mayıs böceği                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Bio-Magic                | T. Stanes & Company, Hindistan               | <i>Metarhizium anisopliae</i>                               |                                                                                                                                                                                   | Yaprak zararlıları, Root grubs, Borers, Cutworms, Termitler, <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> .                                                                                                                                                                                                       |
| Meta-sin <sup>®</sup> WP | (Agrobionsa), Meksika                        | <i>Metarhizium anisopliae</i>                               |                                                                                                                                                                                   | <i>Anthonomus eugenii</i>                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| BIO 1020 WG, Granular    | Novozymes Biologicals Inc. Belçika, Hollanda | <i>Metarhizium anisopliae</i>                               | Siyah Frenk Üzümlü, Bögürtlen, Yaban Mersini, Çiçekçilik, <i>Ribes Uva-Crispa</i> , Üzüm, Çok Yıllık Bitkiler, Pot Plants, Ahududu, Kırmızı Kuş Üzümlü, Çilek, Beyaz Frenk Üzümlü | <i>Otiorhynchus sulcatus</i> ,                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Bio-Cane Granules        | Becker Underwood Pvt. Ltd. Avustralya        | <i>Metarhizium anisopliae</i> isolate FI-1045               | Şeker Kamışı                                                                                                                                                                      | <i>Dermolepida albohirtum</i>                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Destruxin WP             | Biotropic, Meksika                           | <i>Metarhizium anisopliae</i>                               | Avocado, Dut, Kırmızı Biber, Turunçgil, Kahve, Çiçekler, Üzüm, Palmiye, Çayır, Patates, Ahududu, Pirinç, Çilek, Şeker Kamışı, Domates                                             | Eutheola, Tagosodes, Hydrangea; Phytoloema hermanni, Graphognathus; Aenolamia, Ancognatha, Armyworm, Avocado parakeet, Kın kanatlı böcekler, Grapevine phylloxera, Grub, <i>Otiorhynchus</i> , Papaya parakeet, Perkinsiella, Phyllophaga, Spittlebug, <i>Spodoptera frugiperda</i> , Strawberry worm |
| Green Guard SC, ULV      | Becker Underwood Pvt. Ltd. Avustralya        | <i>Metarhizium anisopliae</i> subsp. acridum isolate FI-985 | Tarımsal Alanlar, Yem Bitkileri, Ekim Yapılmayan Alanlar, Otlak                                                                                                                   | <i>Chortoicetes terminifera</i> , <i>Locusta migratoria</i> , <i>Phaulacridium vittatum</i> ,                                                                                                                                                                                                         |

|                          |                                                                             |                                                 |                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |                                                                             |                                                 |                                                                                                                                                                                                | <i>Locust</i>                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Met52 Granular           | Novozymes Biologicals Inc. Kanada, İrlanda, Amerika                         | <i>Metarhizium anisopliae</i> strain F52        | Orman, Süs Bitkileri, Geniş Gölge Sağlayan Ağaçlar, Fideler, Çalı                                                                                                                              | <i>Otiiorhynchus sulcatus</i>                                                                                                                                                                                                                                      |
| Tick Ex Granular, EC     | Novozymes Biologicals Inc. Amerika                                          | <i>Metarhizium anisopliae</i> strain F52 spores | İç mekanlar, Çimenler                                                                                                                                                                          | Kene                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Bio-Nematon              | T. Stanes & Company, Hindistan                                              | <i>Purpureocillium lilacinum</i>                |                                                                                                                                                                                                | Kök ur nematodları, nematodes, Kist nematodları, Yara nematodları                                                                                                                                                                                                  |
| Lila-sin <sup>®</sup> WP | Agrobionsa, Meksika                                                         | <i>Purpureocillium lilacinum</i>                |                                                                                                                                                                                                | <i>Meloidogyne incognita</i>                                                                                                                                                                                                                                       |
| BioAct WP, WG            | Prophyta Biologischer Pflanzenschutz GmbH İtalya, Meksika, Amerika, Türkiye | <i>Purpureocillium lilacinum</i> strain P 251   | Muz, Kara Biber, Turunçgil, Kahve, Pamuk, Baklagiller, Bamya, Süs Bitkileri, Papaya, Yer Fıstığı, Ananas, Patates, Rami Bitkisi, Çilek, Şeker Kamışı, Çay, Tütün, Domates, Sebzeler            | <i>Radopholus similis</i> , <i>Tylenchulus semipenetrans</i> , <i>Heterodera</i> spp., <i>Globodera rostochiensis</i> , <i>Rotylenchulus reniformis</i> , <i>Pratylenchus</i> spp., <i>Meloidogyne</i> spp., <i>Helicotylenchus</i> spp., <i>Belonolaimus</i> spp. |
| Myconema WG, WP          | Prophyta Biologischer Pflanzenschutz GmbH Meksika                           | <i>Purpureocillium lilacinum</i> strain P 253   | Biber, Muz, Turunçgil, Kahve, Pamuk, Baklagiller, Bamya, Süs Bitkileri, Papaya, Yer Fıstığı, Ananas, Patates, <i>Boehmeria Nivea</i> , Çilek, Şeker Kamışı, Çay, Tütün, Domates, Sebzeler      | <i>Belonolaimus</i> , <i>Criconebella</i> , <i>Globodera</i> , <i>Helicotylenchus</i> , <i>Heterodera</i> , <i>Meloidogyne</i> , <i>Nacobbus</i> , <i>Pratylenchus</i> , <i>Rotylenchulus</i> , <i>Rotylenchus</i> , <i>Tylenchulus</i>                            |
| MeloCon WG               | Prophyta Biologischer Pflanzenschutz GmbH Amerika                           | <i>Purpureocillium lilacinum</i> strain P 251   | Muz, Kara Biber, Turunçgil, Kahve, Pamuk, Baklagiller, Bamya, Süs Bitkileri, Papaya, Yer Fıstığı, Ananas, Patates, <i>Boehmeria nivea</i> , Çilek, Şeker Kamışı, Çay, Tütün, Domates, Sebzeler | <i>Radopholus similis</i> , <i>Globodera</i> spp., <i>Heterodera</i> spp., <i>Nacobbus</i> spp., <i>Rotylenchulus reniformis</i> , <i>Pratylenchus</i> spp., <i>Meloidogyne</i> spp., <i>Helicotylenchus</i> spp., <i>Belonolaimus</i> spp.                        |
| NemOut WP                | Prophyta Biologischer Pflanzenschutz GmbH Amerika                           | <i>Purpureocillium lilacinum</i> strain P 252   | Muz, Kara Biber, Turunçgil, Kahve, Pamuk, Baklagiller, Bamya, Süs Bitkileri, Papaya, Yer Fıstığı, Ananas,                                                                                      | <i>Radopholus similis</i> , <i>Globodera</i> spp., <i>Heterodera</i> spp., <i>Nacobbus</i> spp., <i>Rotylenchulus reniformis</i> ,                                                                                                                                 |

|                                    |                                                                                                    |                                                                   |                                                                                                             |                                                                                                          |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                    |                                                                                                    |                                                                   | Patates, <i>Boehmeria nivea</i> , Çilek, Şeker Kamışı, Çay, Tütün, Domates, Sebzeler                        | <i>Pratylenchus</i> spp., <i>Meloidogyne</i> spp., <i>Helicotylenchus</i> spp., <i>Belonolaimus</i> spp. |
| Bio-Catch                          | T. Stanes & Company, Hindistan                                                                     | <i>Lecanicillium lecanii</i>                                      |                                                                                                             | Afitler, yaprak bitleri, beyaz sinekler, yaprak zararlıları ve unlu bitler                               |
| Verti-sin®                         | (Agrobionsa), Meksika                                                                              | <i>Lecanicillium lecanii</i>                                      |                                                                                                             | <i>Myzus persicae</i>                                                                                    |
| Mycotol WP                         | Koppert, Hollanda Danimarka, Yunanistan, Avusturya, İngiltere, Finlandiya, İsveç, İtalya, İspanya. | <i>Lecanicillium lecanii</i>                                      | Bakla, Salatalık, Patlıcan, Taze Fasulye, Marul, Süs Bitkisi Üretimi, Biber, Çalı Fasulyesi, Domates, Kabak | Beyaz sinek ve trips larvaları                                                                           |
| Microgerm in Plus WP               | Omya (Schweiz) AG İsviçre                                                                          | <i>Lecanicillium lecanii</i>                                      | Salatalık, Domates                                                                                          | Afit, akar, Trips, beyaz sinek                                                                           |
| Vertalec WP (Sold as Serenade Max) | Koppert İsviçre, İngiltere, Finlandiya                                                             | <i>Lecanicillium lecanii</i>                                      | Patlıcan, Bakla, Salatalık, Taze Fasulye, Marul, Süs Bitkileri Üretimi, Biber, Çalı Fasulyesi, Domates      | Afitler ( <i>Chrysanthemum aphid</i> ve <i>Macrosiphoniella sanborni</i> hariç)                          |
| Vertiblast WP                      | Millennium Microbes Ltd. Yeni Zelanda                                                              | <i>Lecanicillium lecanii</i>                                      | Hardal, Biber, Vişne, Salatalık, Marul, Soğan, Patates, Bal Kabağı, Kabak, Çilek, Tamarillo, Domates        | Afit, Patates psyllidi                                                                                   |
| TRI-SİN® CE                        | (Agrobionsa), Meksika                                                                              | <i>I. fumoserosus</i> , <i>M. anisopliae</i> , <i>B. bassiana</i> |                                                                                                             | <i>Bactericera cockerelli</i>                                                                            |
| TRI-SİN® WP                        | (Agrobionsa), Meksika                                                                              | <i>I. fumoserosus</i> , <i>M. anisopliae</i> , <i>B. bassiana</i> |                                                                                                             | <i>Bactericera cockerelli</i>                                                                            |

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Esra GÜL

Doğum Yeri : Eskişehir

Doğum Tarihi : 25.08.1989

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu

Lise : Adana Erkek Lisesi (2006)

Lisans : Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2011)

Yüksek Lisans : Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma  
Anabilim Dalı (2013-2014 Güz Dönemi)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim  
Dalı (Şubat 2014-Mayıs 2016)

### Çalıştığı Kurumlar

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2012 – 2013)

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2014- )

### Sunum

**Morphological Characterization of Fungal Pathogens Isolated From The Sunn  
Pests (*Eurygaster* spp.) In Turkey** (11. 9. 2015). 5. Uluslararası Katılımlı  
Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele Kongresi'nde sözlü sunum