

**HUŞ AFİDİ (*Euceraphis punctipennis* Zetterstedt)'NİN
BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE *Conidiobolus coronatus*
(Constantin) Batko'UN ETKİNLİĞİ VE FUNGUSUN
FARKLI SICAKLIKLARDA GELİŞİMİ**

Aybike HIZARCI

**Yüksek Lisans Tezi
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Prof. Dr. Şaban GÜÇLÜ
2012
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HUŞ AFİDİ (*Euceraphis punctipennis* Zetterstedt)'NİN
BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE *Conidiobolus coronatus*
(Constantin) Batko'UN ETKİNLİĞİ VE FUNGUSUN FARKLI
SICAKLIKLARDA GELİŞİMİ

Aybike HIZARCI

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ERZURUM
2012

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU


HUŞ AFİDİ (*Euceraphis punctipennis*, Zetterstedt)'NİN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE
Conidiobolus coronatus (Constantin) Batko'UN ETKİNLİĞİ VE FUNGUSUN FARKLI
SICAKLIKLARDA GELİŞİMİ

Prof. Dr. Şaban GÜÇLÜ danışmanlığında, Aybike HIZARCI tarafından hazırlanan bu çalışma .17.../..02../2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans. tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu (.../...)~~ ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Şaban GÜÇLÜ -

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Cafer EKEN

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Hasan Yılmaz

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum
Enstitü Müdürü

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek lisans Tezi

HUŞ AFİDİ (*Euceraphis punctipennis* Zetterstedt)'NİN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE *Conidiobolus coronatus* (Constantin) Batko'UN ETKİNLİĞİ VE FUNGUSUN FARKLI SICAKLIKLARDA GELİŞİMİ

Aybike HIZARCI

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Şaban GÜÇLÜ

Bu araştırma entomopatojen fungus *Conidiobolus coronatus*'un farklı spor konsantrasyonlarında huş afidi *Euceraphis punctipennis*'e karşı etkinliğini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada kullanılan *C. coronatus* izolatları Atatürk Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, Mikoloji Laboratuvarı stoklarından alınmıştır. Laboratuvar ve arazide afitlere farklı konidial konsantrasyonlarda (10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml) hazırlanan süspansiyonlar sprey edilmiştir. Her iki çalışmada kontrol grupları oluşturulmuş ve kontrol gruplarına da sdH₂O sprey edilmiştir. Ölen afit sayımı günlük olarak yapılmış, ortalama ölüm süreleri (LT₅₀) belirlenmiştir. Daha sonra ölen afitlerden reizolasyonlar yapılmıştır. Laboratuvar uygulamasında, ortalama ölüm süreleri (LT₅₀) karşılaştırıldığında 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun daha başarılı olduğu gözlenmiştir. Arazi uygulamasında ortalama ölüm süreleri (LT₅₀) karşılaştırıldığında 10^7 konidi/ml'lik ve 10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının daha başarılı olduğu gözlenmiştir. Arazi ve laboratuvar uygulamasının sonuçları %95 güven aralığında yapılan istatistik analizlere göre anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlar, *C. coronatus*'un *E. punctipennis*'in mücadelesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Diğer taraftan, *C. coronatus*'un değişik sıcaklıklardaki (20,0; 22,5; 25,0; 27,5; 30,0; 32,5; 35,0; 37,5 ve 40°C) gelişme hızı incelenmiştir. En iyi fungus gelişiminin 32,5°C olduğu, 35,0-40,0°C sıcaklıklarda ise herhangi bir fungus gelişmesi olmadığı gözlenmiştir.

2012, 43 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Conidiobolus coronatus*, *Euceraphis punctipennis*, huş, afit, entomopatojen fungus.

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTIVENESS OF *Conidiobolus coronatus* (Costantin) Batko,
IN THE CONTROL OF EUROPEAN BIRCH APHID, *Euceraphis punctipennis*
(Zetterstedt) AND GROWTH OF THE FUNGUS AT DIFFERENT TEMPERATURES

Aybike HIZARCI

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection
Supervisor: Prof.Dr. Şaban GÜÇLÜ

This research, at cocentrations different sports of entomopathogen fungus *Conidiobolus coronatus* was carried out to demonstrate effectiveness against *Euceraphis punctipennis*. In this study used *C. coronatus* isolates were taken from laboratory stocks, preserved in the Mycology Laboratory of Department of Plant Protection of Atatürk University. Suspensions were applied on the birch leaves prepared in different concentration. Suspensions prepared in different concentrations (10^6 , 10^7 , 10^8 con/ml) of both the laboratory and the field was applied on the leaves of birch. In both studies, control groups were created and sdH₂O were applied to groups. Counting of dead aphids were made by daily and letal time (LT₅₀) was determined. After, isolations was made from dead aphids. Isolates of *C. coronatus* were obtained from both studies and this fungus was responsible for the deaths of aphids. When comparing lethal times (LT₅₀) of suspensions tested on the aphid in laboratory, with 10^8 con/ml of solution was observed to be more successful. On the other hand in the field application, with 10^6 con/ml and 10^7 con/ml of solution was observed to be more successful. According to the statistical analysis made on the 95% confidence interval, the results of the field and laboratory application was found meaningful. These results showed that *C. coronatus* will be able to be used in the control of *E. punctipennis*.

On the other hand, growth range of the fungus at different temperatures (20.0, 22.5, 25.0, 27.5, 30.0, 32.5, 35.0, 37.5 and 40°C) was investigated. It was observed that the best fungal growth was at 32.5°C, and there was no fungal growth at 35.0 to 40.0°C.

2012, 43 page

Keywords: *Conidiobolus coronatus*, *Euceraphis punctipennis*, birch, aphid, entomopathogen fungus

TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca çalışmaya teşvik eden, çalışmanın yapılabilmesi için her türlü desteği sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Şaban GÜÇLÜ'ye fungus örneklerinin teşhis edilmesinde bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Cafer EKEN'e, teorik konulardaki büyük yardımları için Sayın Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ'ye, çalışmalarım boyunca bilgisine ve teknik yeteneklerine başvurduğum Sayın Arş. Gör. Tuba GENÇ'e ve tebessümleriyle bile beni olumlu kılmış diğer bölüm hocamlarıma da teşekkür ederim.

Ayrıca çalışma boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen arkadaşım Sayın Arş. Gör. Emine ÇORUH'a, Sayın Biyolog Emrullah DORMAN, Sayın Biyolog Süleymen POLAT'a ve aileme şükranlarımı sunarım.

Aybike HIZARCI

Ocak 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	4
2.1. Biyolojik mücadelede kullanılan patojenler	4
2.1.1. Virüsler	4
2.1.2. Bakteriler	4
2.1.3. Protozoonlar	5
2.1.4. Nematodlar	5
2.1.5. Funguslar	5
2.2. Afetlerle mücadelede funguslar	7
2.3. Çalışmada kullanılan türler	11
3. MATERYAL ve METOT	17
3.1. Materyal.....	17
3.2. Metot	17
3.2.1. <i>Conidiobolus coronatus</i> 'un afit <i>Euceraaphis punctipennis</i> üzerinde etkinliğinin belirlenmesi	17
3.2.2. Farklı sıcaklıklarda <i>Conidiobolus coronatus</i> 'un koloni gelişiminin belirlenmesi.....	21
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI	22
4.1. <i>Conidiobolus coronatus</i> 'un afit <i>Euceraaphis punctipennis</i> üzerinde etkinliğinin belirlenmesiyle ilgili sonuçlar	22
4.2. Farklı sıcaklıklarda koloni gelişimi sonuçları	32
5. SONUÇ ve TARTIŞMA.....	36
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	44

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	: Santigrat derece
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
µm	: Mikrometre
Σ	: Toplam
%	: Yüzde

Kısaltmalar

CMA	: Corn meal agar (mısır unlu agar)
LT ₅₀	: Letal time (Deneklerin %50'sinin ölmesi için geçen süre)
PDA	: Potato Dextrose Agar (Patates dekstroz agar)
sdH ₂ O	: steril distile su

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Biyolojik Mücadele ve Entegre Mücadele yöntemleri	2
Şekil 2.1. Afıt <i>Euceraaphis punctipennis</i>	11
Şekil 2.2. <i>Betula pendula</i> (huş).....	12
Şekil 2.3. <i>Conidiobolus coronatus</i> ‘un konidi gelişiminin farklı aşamaları	14
Şekil 3.1. Spor süspansiyonlarının sprey edildiği petriyeler	19
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki spor süspansiyonlarının sprey edildiği afıtlı ağaç dalları.....	20
Şekil 4.1. In vitro denemelerde $10^6, 10^7, 10^8$ konidi/ml’lik spor süspansiyonlarının % ölüm değerleri.....	24
Şekil 4.2. In vitro denemelerde $10^6, 10^7, 10^8$ konidi/ml’lik spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri.....	24
Şekil 4.3. In vivo denemelerde $10^6, 10^7, 10^8$ konidi/ml’lik spor süspansiyonlarının % ölüm değerleri.....	29
Şekil 4.4. In vivo denemelerde $10^6, 10^7, 10^8$ konidi/ml’lik spor solüsyonlarının LT_{50} değerleri.....	29
Şekil 4.5. Reizolasyon petriyeri.....	32
Şekil 4.6. $20^{\circ}C; 22,5^{\circ}C; 25^{\circ}C; 27,5^{\circ}C; 30^{\circ}C; 32,5^{\circ}C$ ’lerde fungusun ortalama zon büyüklüğü.....	34
Şekil 4.7. $20^{\circ}C; 22,5^{\circ}C; 25^{\circ}C; 27,5^{\circ}C; 30^{\circ}C; 32,5^{\circ}C; 35^{\circ}C; 37,5^{\circ}C; 40^{\circ}C$ ’lerde fungusun koloni gelişimi.....	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Varyans analizi tablosu.....	22
Çizelge 4.2. Süspansiyonların ortalama LT ₅₀ değerleri.	23
Çizelge 4.3. In vitro denemelerde 10 ⁶ konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT ₅₀ değerleri.....	25
Çizelge 4.4. In vitro denemelerde 10 ⁷ konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT ₅₀ değerleri.....	25
Çizelge 4.5. In vitro denemelerde 10 ⁸ konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT ₅₀ değerleri.....	25
Çizelge 4.6. In vitro denemelerde 10 ⁶ , 10 ⁷ , 10 ⁸ konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının LT ₅₀ değerleri.....	26
Çizelge 4.7. In vitro denemelerde 10 ⁶ , 10 ⁷ , 10 ⁸ konidi/ml'lik <i>C. coronatus</i> spor süspansiyonlarının afitlere uygulandığında gözlenen %ölüm oranları.	26
Çizelge 4.8. In vitro denemelerde kontrol grubunun afit sayısındaki değişme.	26
Çizelge 4.9. Varyans analizi tablosu.....	27
Çizelge 4.10. Süspansiyonların ortalama LT ₅₀ değerleri.	28
Çizelge 4.11. In vivo denemelerde 10 ⁶ konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT ₅₀ değerleri.....	30
Çizelge 4.12. In vivo denemelerde 10 ⁷ konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT ₅₀ değerleri.....	30
Çizelge 4.13. In vivo denemelerde 10 ⁸ konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT ₅₀ değerleri.....	30
Çizelge 4.14. In vivo denemelerde 10 ⁶ , 10 ⁷ , 10 ⁸ konidi/ml'lik spor solüsyonlarının LT ₅₀ verileri.	31
Çizelge 4.15. In vivo denemelerde 10 ⁶ , 10 ⁷ , 10 ⁸ konidi/ml'lik <i>C. coronatus</i> spor süspansiyonlarının afitlere uygulandığında gözlenen %ölüm oranları. ...	31
Çizelge 4.16. In vivo denemelerde kontrol grubunun afit sayısındaki değişme.	31
Çizelge 4.17. Farklı sıcaklıklarda koloni gelişimlerinin sayısal verileri.	35

1. GİRİŞ

İnsektisitler; problemi çözmesi ve kısa sürede etkili olması nedeniyle, kimyasal mücadeleyi diğer zararlı mücadele tekniklerine göre daha ekonomik yapar; fakat insektisitlere karşı oluşturulan direnç, zararlıların yeniden ortaya çıkışına ve bu maddelerin daha fazla miktarlarda kullanılmalarına sebep olmuştur. Toksik olan bu maddeler kullanıcıya ve çevreye zarar vererek doğal hayatı negatif yönde etkilemiştir. Bu zararların en aza indirgenmesi amacıyla araştırmacılar yeni yöntemler bulmaya çalışmışlardır (Floate *et al.* 2002).

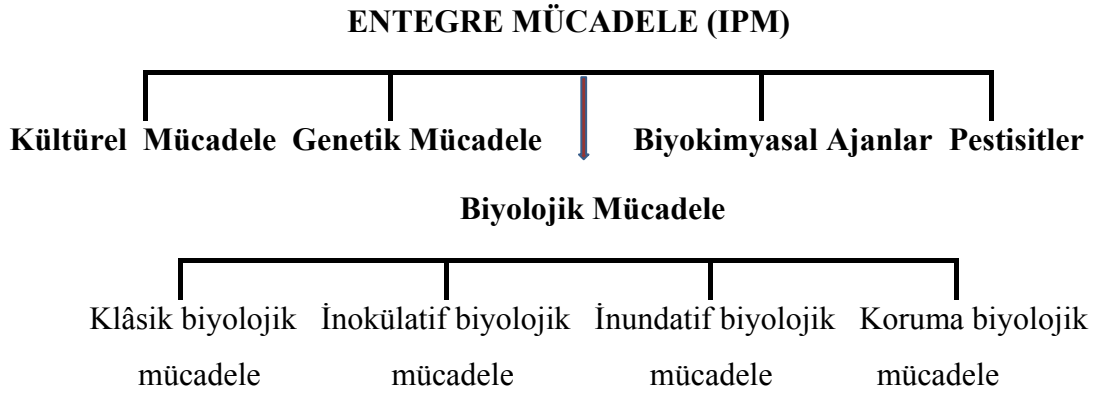
Doğal hayatın korunması, tarımsal faaliyetlerin sürdürülebilir ve yüksek düzeyde verimli olabilmesi için uygulanabilecek çözüm yollarından biri de biyolojik mücadeledir (Van Driesche and Bellows 1996). Biyolojik mücadele tarım ürünleri ve ormanlık alanlardaki bitkilerin zarar görmeleriyle oluşacak ekonomik sorunları engellemekte kullanılan bir yöntemdir (Eilenberg 2006). Bu yöntemde zararlı böceklerin bitkiye verdiği zararları minimuma indirebilmek için bitkiye zarar veren bu böceklerin doğal düşmanları kullanılır. Doğal düşman; hastalık etmenleri, parazitler ya da predatörler olabilir (Yaman ve Demirbağ 1998).

Ekosistemleri oluşturan popülasyonların birey sayıları; parazitlerin, predatörlerin, hastalık etmenlerinin aktivitesiyle dengede tutulur. Bu doğanın kendi kendini kontrolü; yani doğal kontroldür. Bu doğal kontrol mekanizmasından hareketle kontrol edilenler zararlılar olursa biyolojik mücadele adını alır. Biyolojik mücadele ajanları olarak kullanılanlar zararlıların doğal düşmanlarıdır (Hajek 2004).

Son yapılan tanıma göre biyolojik mücadele: “Canlı organizmalar kullanılarak zararlı organizmaların daha az sayıda olmalarını ve daha az zarar vermelerini sağlamak”tır (Eilenberg *et al.* 2001). Günümüzde biyolojik mücadele zararlı böcek eliminasyonunda tercih edilen bir yöntemdir. Çevreye zarar vermemesi ve direncin oluşmaması tercih nedenidir (Torrado-Leon *et al.* 2006).

Biyolojik Mücadele Entegre Mücadele (IPM, Integrated Pest Management) içinde yer alır. IPM; kimyasal, genetik ve kültürel mücadele gibi çeşitli yöntemlerin birarada ve uygun koşullarda değerlendirilmesidir. Biyolojik mücadelede çeşitli stratejilerin kombinasyonu (Şekil.1.1) sonucunda yeni bir ekolojik denge yaratılmaktadır (Van Driesche and Bellows 1996).

Entegre Mücadele için yapılan en kapsamlı tanım:"Zararlı türlerin popülasyon dinamikleri ve çevre ile ilişkileri bağlamında bütün uygun teknik ve metotları mümkün olduğu derecede birarada kullanan ve zararlı popülasyonlarını ekonomik zarar seviyesinin altında tutan, bir yönetim sistemi" olarak kabul edilmiştir (Kogan 1998; Bajwa and Kogan 2002; Jaglan and Singh 2007).



Şekil 1.1. Biyolojik Mücadele ve Entegre Mücadele yöntemleri (Eilenberg *et al.* 2001).

Biyolojik Mücadele Yöntemleri; klasik biyolojik mücadele, inokülatif biyolojik mücadele, inundatif biyolojik mücadele, koruma (conservation) biyolojik mücadele başlıkları altında incelenir.

Klâsik biyolojik mücadele: Doğal düşmanı ile ortak evrimleşmiş bir egzotik biyolojik kontrol ajanının, sürekli yerleşimi ve uzun süreli zararlı kontrolü için bilerek ortama verilmesi olarak tanımlanmıştır (Eilenberg *et al.* 2001).

İnokülatif biyolojik mücadele: Canlı bir organizmanın biyolojik kontrol ajanı olarak ortamda çoğalması ve uzun süreli zararlı kontrolü yapması beklentisiyle ortama salınmasıdır; ancak sürekli değildir (Eilenberg *et al.* 2001).

İnundatif biyolojik mücadele: Kısa süre içerisinde zararlıların kontrolü için geliştirilmiştir. Ortama verilmiş biyolojik kontrol ajanlarının yüksek miktarda zararlı popülasyonunu öldürmesi ya da kontrolün sağlanması için zarar seviyesinin düşürülmesini gerektirmektedir. Bu yüzden de hızlı bir kontrol için yüksek miktarda ajanın ortama verilmesi önemlidir (Hajek 2004).

Koruma (conservation) biyolojik mücadele: Çevrenin ya da biyolojik mücadele yöntemlerinin modifiye edilmesiyle zararlıların etkisini azaltmak için, o ortamda var olan özel düşmanların ya da diğer organizmaların çoğaltılması ve korunmasıdır (Eilenberg *et al.* 2001).

Biyolojik mücadelede birbirinden farklı canlı organizmalar kullanılmaktadır. Bunlar: virüsler, bakteriler, funguslar, protozonlar gibi mikrobiyal canlılar ya da nematod ve böcekler gibi omurgasızlar, hatta kuşlar gibi omurgalılar da olabilir. Bu yöntem ilk olarak böcekler, keneler ve yabancı otlarla mücadelede denenmiştir. Uygulama metotları geliştikçe diğer omurgasızlar, bitki patojenleri ve bazı omurgalılar bile hedef organizmalar olarak değerlendirilmiştir (Van Driesche and Bellows 1996; Oğurlu 2000; Demirbağ 2008).

Mikrobiyal kontrol ajanlarını kullanmadaki amaç, zararlı böceklerle başa çıkabilmede etkili, çevreye zararsız ve uzun vadede daha ucuz ekonomik yöntemler sunmasıdır(Kamp and Bidochka 2002).

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Biyolojik mücadelede kullanılan patojenler

2.1.1. Virüsler

Ziraî mücadelede kullanılan mikrobiyal insektisitler arasında önemli yere sahiptirler. Bu da konak spektrumuna sahip olmaları yani doğrudan hedef organizma üzerinde etkili olmalarından kaynaklanır. Böcekleri larva ve pupa döneminde öldürürler ve ağız yoluyla giriş yaparlar. 20'den fazla virüs grubu böcek patojeni olarak bilinir. Bunlar da 13 viral familyaya ayrılmıştır. Özellikle Bakülovirüsler (Baculoviridae) sadece artropodları enfekte ederler. 800'den fazla bakülovirüs, böceklerden izole edilmiştir; yine önemli bir familya olan Entomopoksivirüsler (Entomopoxvirinae): Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Orthoptera ve Hymenoptera takımlarına ait 60 türde tesbit edilmiştir. Canlı kültürlerde üretilmeleri ve spesifik konak seçimleri viral insektisit üretimini sınırlamıştır (Jones 2000; Nalçacıoğlu 2008).

2.1.2. Bakteriler

Böceklerde patojen olan bakteriler daha çok gram pozitif bakterilerdir. *Bacillus* (*Bacillaceae*) ve *Serratia* (*Enterobacteriaceae*) cinslerine ait bakteriler ziraî mücadelede kullanılmaktadır. Günümüzde böceklere karşı en fazla kullanılan mikroorganizmalardır (Navon 2000). Ekzoskeletondaki yaradan ya da bağırsak periferinden giriş yaparlar. Son yıllarda *B. thuringiensis* biyolojik mücadelede diğer bakterilere nazaran daha ümit vericidir. Bu tür Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera türlerine karşı kullanılmaktadır (Cote 2007). Samsun'da yapılan bakteri çalışmasında *Aphis pomi* (Homoptera: Aphididae)'den *Bacillus megaterium* izolasyonu yapılmış ve bir haftada bu bakterinin %92 ile %100 arasında ölüme sebep olduğu tespit edilmiştir (Aksoy and Ozman-Sullivan 2008).

2.1.3. Protozoonlar

Hem omurgalı hem omurgasız hayvanlarda enfeksiyon oluşturabilirler. Geniş ekolojik ilişkiye sahiptirler. Böcek populasyonlarındaki doğal ilişkiler bakımından önemli rol almalarına karşın mikrobiyal insektisit olarak fazla etkili olamamaktadırlar. Günümüzde Amerika'da çekirgeler ve ağustos böceklerine karşı kullanılan kayıtlı protozoon insektisit bulunmaktadır. Böceğe sindirim sisteminden giriş yaparlar (Nalçacıoğlu 2008).

2.1.4. Nematodlar

Böceklerde parazit yaşayan ve ölüme neden olan birçok nematod türü vardır. Tüm nematodlar içinde böceklerin biyolojik mücadeleleri için çalışılan nematodlar *Steinernematidae* ve *Heterorhabditidae* familyalarına aittir. Hareketli olmaları ve konak aramaları diğer mücadele etmenlerinde bulunmayan önemli bir özelliktir (Nalçacıoğlu 2008).

2.1.5. Funguslar

Funguslar potansiyel olarak çok yönlü entomopatojen olup, uygun koşullar sağlandığında böcek populasyonunun doğal kontrolünde başarılı olabilmektedirler (Hansoylu 2003). Zararlı böceklerin kontrolünde sayısız entomopatojenik fungus kullanılmaktadır (Trudel *et al.* 2007). Funguslar, diğer böcek patojenlerine göre farklı bir özelliğe sahiptir. Doğrudan böcek kutikulasından böceğe girerler ve ağız yoluyla girmelerine gerek yoktur (Langewald *et al.* 2003; Shapiro-Ilan *et al.* 2003). Uygun koşullar oluştuğunda funguslar zararlı böceklere karşı mükemmel biyolojik kontrol sağlarlar; ama salgın hastalıklar genelde zararlı populasyon yoğunluğu fazla olduğunda gerçekleşir (Hall and Papierok 1982; Hajek 2004) .

Fungusların biyolojik mücadelede kullanılmalarının birçok avantajı vardır; bazı fungal patojenler çok geniş konak aralığına sahiptir, birçok böcek bir veya daha fazla fungus

tarafından enfekte edilebilir ve özel durumlarda funguslar vazgeçilmez mikrobiyal kontrol ajanları olabilir, funguslar genellikle konaklarının tüm yaşam dönemlerini enfekte ederler ve bu nedenle her fazda kullanılabilirler, kültüvasyonu ve saklama problemleri çözümlenebilir. Biyolojik mücadelede kullanılan funguslar, çoğunlukla omurgalılar için sağlık tehdidi oluşturmaz. Sporlanmayı takiben, konak ölümünü hızlı bir şekilde gerçekleştirdiklerinden uygun koşullarda çok zararlı salgın hastalıklara neden olabilirler. Funguslar genel itibariyle insektisitlerle birlikte kullanılırlar ve bazı durumlarda onlarla birlikte hareket ederler; ancak bu avantajların yanı sıra fungusların dezavantajları da vardır. UV ışınının ve kurumanın fungal sporların üzerinde olumsuz etkileri vardır (Klingen and Haukeland 2006).

Fungusların neden olduğu salgın hastalıklar çevresel faktörlerden etkilenirler (Santaro *et al.* 2008). Bitki hastalıklarının kontrolünde yaygın olarak kullanılan fungusitlere duyarlıdırlar (Demir 2008). Entomopatojen funguslar, diğer patojenlere nazaran daha geniş böcek gruplarını enfekte ederler. Bunlar: Lepidoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Coleoptera ve Diptera takımlarına dâhil, oldukça yaygın böceklerdir. Bu yüzden bazı funguslar dünyanın hemen her tarafına yayılmışlardır. Bunlar: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Verticillium lecanii* adlı oldukça yaygın türlerdir (Deacon 2005). 750'den fazla entomopatojenik fungus türü bulunmaktadır. Bir entomopatojen fungus türü birden fazla zararlıyı enfekte edebilir. Örnek olarak *Beauveria bassiana* ile başarıyla yapılmış sayısız biyolojik mücadele deneyleri bulunmaktadır (Eken *et al.* 2006). Bu türün 200'den fazla böcek türünü enfekte edebildiği bilinmektedir. Ayrıca kışı atlatabilen toprak böceklerine karşı en yaygın ve en etkili fungus olduğu da bildirilmiştir (Hicks *et al.* 2001).

Türkiye'de de *Beauveria bassiana* türüyle ilgili çalışmalar vardır. Erzurum'da birkaç noktadan toplanan 13 akar örneğinden (*Eustigmaeus segnis* ve *Galumna sp.*), *Beauveria bassiana* izole edilerek, akarlarla olan ilişkisi tartışılmıştır (Ayyıldız vd 2003).

Başka bir çalışmada, biyolojik mücadele ajanı olan *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes)'nin ülkemiz topraklarından elde edilen farklı suşlarının ve Danimarka'dan getirilen standart bir suşunun 4'er konsantrasyonu *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları üzerinde denenmiştir (Doğan 2009). Bazı funguslar ise özel konak tiplerine sahiptirler. Örnek olarak *Hirsutella thompsonii* sadece akarlara enfektifdir (Demir 2008).

2.2. Afitlerle mücadelede funguslar

Yaprak bitleri, ılıman iklim bölgelerinde ormancılık, tarım ve bahçecilikte önemli zararlı böcekler arasında yer alırlar. Afitler, bitki özsuyu ile beslenerek sebze ve meyve üretiminde ekonomik kayıplara neden olan önemli zararlılardır. Yoğun populasyon oluşturdukları bitkiler üzerinde ürettikleri yapışkan salgılar ile bitkilerde gelişme geriliği; yapraklarda sararma, kıvrılma gibi sendromlarla verim ve kalitenin azalmasına neden olurlar (Minks and Harrewijn 1988). Bitki özsuyunu emerek beslenirler. Özsü kaybı nedeniyle genç sürgünler ve yapraklar solar, giderek kurumalar olur, meyveler gelişmez. Ayrıca bitki özsuyunu emerken dokuya kendi salgılarını gönderirler. Bu salgıların etkisi nedeniyle yapraklar kıvrılır, değişik renk alır, bazı türlerde ağacın odun bölümünde urlar oluşur. Artıkları şekerli veya balımsı yapıdadır. Bu nedenle yaprak ve sürgünler önce parlaklık kazanır; sonra bu şekerli madde üzerinde fumajin mantarı çoğalarak yapraklarısiyah bir tabakayla örter ve yaprak faaliyetine engel olur. Virus taşımak ve enfekte etmek suretiyle çeşitli bitki hastalıklarının yayılmasına neden olurlar (Anonim 2011).

Afitlerle mücadele, ağırlıklı olarak kimyasal insektisit kullanılarak yapılmaktadır; ancak bu uygulama çevresel sorunlara yol açmıştır. Entomopatojen funguslar afit kontrolü için en uygun adaylar arasında yer alırlar (Latge and Papierok 1988). Sebepse, entomopatojen fungusun ağız yoluyla girişe ihtiyaç duymadan kutikuladan penetrasyonla afit vücuduna girerek afit enfeksiyonunu kolayca gerçekleştirmesidir (Tanada and Kaya 1993).

Entomophthorales (Zygomycota: Zygomycetes), afid popülasyonu içerisinde doğal epizootikliğe sebep olan entomopatojenlerin eşsiz bir grubudur (Feng *et al.* 1990; Wraight *et al.* 1993; Hatting *et al.* 1999; Steinkraus 2006). Tüm dünyada Entomophthorales'in afit enfeksiyonları rapor edilmiştir (Feng *et al.* 1990; Steinkraus *et al.* 1995; Hatting *et al.* 1999; Nielsen *et al.* 2001). Bugüne kadar afitler üzerinde 8 cinse ait entomopatojen fungus türü saptanmıştır. Bunlar: *Conidiobolus*, *Entomophthora*, *Batkoa*, *Pandora*, *Erynia*, *Neozygites*, *Tarichium* ve *Zoophthora*'dır (Bałazy 1993; Keller 1987, 1991). Az olan bu raporlar Güney Amerika'da koleksiyon siteleri ile ele alınmıştır (Aruta *et al.* 1984; Me'ndez Sa' nchez *et al.* 2001, 2002; Lo'pez Lastra and Scorsetti 2006).

Avrupada yapılan fungus çalışmalarında, *Verticillium lecanii* fungal bir entomopatojen olup afitlerde doğal epizootikliğe neden olan, tropikal ve subtropikal alanlarda ölçekli populasyon oluşturan, seralarda inundatif mikoinsektisit olarak kullanmak için çalışılan ve geliştirilen ilk fungustur. Hollanda'da Koppert Biological Systems tarafından farklı izolatlar ve aktif madde içeren iki ürün üretilmiştir. Bu ürünlerden Vertalec afitlere karşı, Mycotal ise beyazsineklere ve thrips türlerine karşı kullanılmıştır. Bu ürünler Hollanda, Finlandiya, Danimarka, UK ve Norveç'te kayıtlıken; Fransa, İspanya ve Türkiye'de kaydı beklemededir. 1981'de marketlerde yerini bulduğunda krizantem bitkisi üzerinde bulunan afitler için üretilmişti; fakat Vertalec çok sayıda farklı afit türüne karşı etkili olmuştur (Hall 1981; Milner 1997; Burges 2000; Yeo *et al.* 2003).

Avustralya'da artropodlar üzerinde yapılan klâsik biyolojik mücadele çalışmalarında afit parazitoitleri, afitlerin hiperparazitoitleri ve entomopatojen funguslar belirlenmiştir. Afitlerden izole edilen funguslar: *Conidiobolus obscurus*, *C. thromboides*, *Entomophthora planchoniana*, *Pandora neoaphidis*, *Zoophthora phalloides* ve *Z. radicans*'tır (Milner 1978; Milner *et al.* 1980, Sandow 1981; Glare *et al.* 1986; Milner and Holdom 1986; Lawrence and Milner 1996).

Afrika'da 1995 ve 1998 yılları arasında yapılan araştırmada tahıl afitleri üzerinde 8 entomopatojen fungus türü belirlenmiş ve bu türlerin 6'sının Entomophthorales'e ve

2'sinin de Hyphomycetes'e ait olduğu kaydedilmiştir. Entomophthorales: *Pandora neoaphidis*, *Conidiobolus thromboides*, *C. obscurus*, *C. coronatus*, *Entomophthora planchoniana* ve *Neozygites fresenii* türleriyle temsil edilirken; Hyphomycetes ise *Beauveria bassiana* ve *Verticillium lecanii* ile temsil edilmiştir (Hatting *et al.* 1999). İspanya'da 2009 yılında enfekte afitlerden izole edilen *Lecanicillium lecanii*'ye ait 7 izolat ITS (Internal Transcribe Spacer) tarafından karakterize edilmiştir. *L. lecanii* izolatlarından 4'ü farklı afit türleri olan, *Myzus persicae* (Sulzer), *Nasonovia ribisnigri* (Mosley), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) ve *Aphis gossypii* (Glover) nimflerine karşı kullanılmıştır. İzolat 6'nın konidial üretimini en yüksek olduğu ve *Myzus persicae* için en yüksek mortaliteyi (%95) gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca İzolat 6'nın ticari üretim Vertalec (%91,6)'ten daha fazla virulans olduğu da bildirilmiştir (Beatriz *et al.* 2009).

Türkiye'de de afitlerin parazitoitlerini belirlemeye ve biyolojik mücadele çalışmalarına kaynak oluşturmaya yönelik çalışmalar vardır. Bu amaçla, Doğu Akdeniz Bölgesi marul bahçelerinde yapılan çalışmalarda *Nasonovia ribisnigri* en sık rastlanılan yaprak biti olmuştur. Marulda yaprak bitleri üzerinde görülen doğal düşmanlardan Stryphidae (Diptera) familyasından *Metasyrphus corollae* (Fabr.) ve *Sphaerophoria scripta* (L.) önemli avcılardan olduğu; fakat en önemli doğal düşmanın ise bir entomopatojen olan *Fusarium* sp. olduğu anlaşılmıştır (Sangün 2009).

Marmara bölgesinde sera koşullarında yetişen domates, patlıcan ve hıyar bitkilerinde konaklayan böcek populasyonları gözlenmiş, enfekte veya ölü böceklerden fungus izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen her bir izolat, bitki büyütme kabinleri içerisinde yetiştirilen domates, biber, patlıcan ve hıyar bitkileri üzerinde zarar yapmak üzere kültüre alınan afit populasyonu üzerinde test edilmiş ve etkili bulunan izolatlar tanımlanmıştır. Çalışma sonucuna göre test edilen izolatlardan sadece iki tanesinde *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium italicum* tespit edilmiştir. Bu türlerin %80 ve üzeri bir oranda afit (*Myzus persicae*) populasyonu üzerinde ölüme neden olduğu saptanmıştır (Boztaş vd 2008).

Kahramanmaraş'ta buğday tarlalarında görülen yaprak bitlerinin populasyon yoğunluklarının saptanması ve doğal düşmanlarının belirlenmesini amaçlayan çalışmada 4 farklı yaprak biti türü *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum* ve *Metopolophium dirhodum* saptanmış ve bununla birlikte entomopatojen fungusların tarlalarda buğdayın kardeşlenme döneminde, bitkilerde yaprak biti türlerinden sadece *R. padi*'ye rastlandığı zamanlarda yaprak bitlerini infekte ettikleri saptanmıştır. İnfeksiyonun özellikle sapa kalkma döneminde yaprak bitleri üzerinde değişik oranlarda olduğu belirlenmiştir. Yaprak biti populasyon yoğunluklarının tepe noktası oluşturmadığı Merkez ve Çitosan'daki bitkilerde, sapa kalkma dönemindeki infekteli yaprak biti oranları sırası ile %3,2-13,3 ve 1,5-4,1 arasında değiştiği, Kapıçam ve Türkoğlu'nda sapa kalkma döneminde *R. padi*'nin tepe noktası oluşturmasından 1 hafta öncesi ve 1 hafta sonrasındaki infektelenme oranları yüksek düzeylere ulaştığı ve bu değerlerin Kapıçam'da %11,0 ve 28,1; Türkoğlu'nda %7,4 ve 5,3 olarak değiştiği ve entomopatojen fungusların bitkilerin başaklanma ve olgunlaşma döneminde aktivite göstermediği bildirilmiştir. Diğer yandan özellikle *Sitobion avenae*'nin bitkilerde bulunduğu yağışın az olduğu dönemlerde yaprak bitlerinde infektelenme meydana gelmediği de kaydedilmiştir (Bilgin 2006).

2003-2005 yıllarında arazi çalışmaları ile Kahramanmaraş bölgesinde yoğun olarak bulunan zararlı böcek populasyonlarında fungal hastalık etmenleri araştırılmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucunda, yaprak bitlerinde hastalığa neden olan etmenin *Pandora Humber* (Entomophthoraceae) ve *Hypera postica* (Gyll.) (Curculionidae: Coleoptera) larvalarında hastalığa neden olan etmenin ise *Zoophthora* Batko (Entomophthoraceae) cinsine ait olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada *Hypera postica* erginlerinde tespit edilen hastalık etmeninin cinsi *Beauveria* Vuillemin (Hyphomycetes) olarak belirlenmiştir. Toprak örneklerinin birçoğunda *Beauveria* cinsine bir kısmında ise *Peacilomyces* ve *Metarhizium* cinsine bağlı fungusların bulunduğu tespit edilmiştir. İklim verilerinin incelenmesi sonucunda, araştırma bölgesinde, bahar ayları entomopatojen fungusların etkili olabileceği en uygun aylar olarak değerlendirilmiştir (Er ve Mart 2005).

2.3. Çalışmada kullanılan türler

Huş Afidi, *Euceraphis punctipennis* (Zetterstedt 1828): Aphididae (yaprak bitleri) familyasına ait bir türdür. Vücut açık yeşil, baş ve toraks koyu kahverengidir. Vücut uzunluğu 3,5-4 mm olup, büyükçe bir afittir. Antenler 6 segmentten ibaret olup sert kıl gibidir. Abdomenin dorsalinde iki mum borucuğu bulunur. Kauda'da (kuyruk) sayısı 11-16 arasında değişen künt şeklinde kısa kıllar vardır. Eşeyler arasında farklılıklar bulunur. Erkek bireyler daha küçüktür. Kışı yumurta döneminde geçirirler. Yaşam çemberi karışıktır (Stroyan 1977). Şekil 2.1'de afit *Euceraphis punctipennis*'in görüntüleri verilmiştir (Anonim, 2011).



Şekil 2.1. Afit *Euceraphis punctipennis* (Anonim, 2011).

2006 yılı ağustos ayı sonunda, Erzurum Orman Fidanlığı'ndaki zararlı ve faydalı böcek türlerini tesbitinin amaçlandığı çalışmada; henüz seraların içinde bulunan, 1 yaşlı *Betula pendula* (huş) fidanlarında böceğin erginleri tespit edilmiştir. Seralarda mevcut 800.000 adet huş fidanının %75'inin yaprakların genellikle alt yüzeylerinde *E. punctipennis* erginlerinin bulunduğu ve zarar yaptıkları gözlemlenmiştir. Zarar sonucunda, fidanların yapraklarında yer yer sararmalar olduğu, bunun da büyümeyi olumsuz yönde etkilediği görülmüştür (Çüçen 2007). *Euceraphis punctipennis* ile ilgili biyolojik mücadele çalışmasına rastlanmamıştır.

***Betula pendula* (huş):** Huşgiller (Betulaceae) familyasından 30m'ye kadar boylanabilen ağaç veya ağaççık formunda bir huş türüdür. Gövdesi beyaz renkli, dalları yayılarak yetişen ağaçtır. Kabukta yırtılmalar görülür ve ileri yaşlarda karamsı bir renk alır ve sertleşir. Genç dallar ince, uzun ve dolayısıyla sarkıktır. Yaprakları üç köşeli, yürek biçiminde, sivri uçlu, 3-7 cm uzunlukta, 2,5-4 cm genişliktedir. Yaprak sapı 2-3 cm'dir. Kenarları kaba ve katlı dişlidir. Yeni yaprak ve sürgünler elde oğuşturulunca güzel bir koku çıkar. Erkek çiçekler uzunca silindir biçiminde ve sürgün ucunda bulunur. Dişi çiçekler 2-4 cm uzunlukta gene uzunca silindir biçiminde erkek çiçekler gibi başak kuruluşunda toplanmış olup, yan sürgünlerde bulunur. Meyveler yumurta biçiminde ve geniş kanatlıdır. Işık ağacıdır. Yüksek nemden hoşlanır. Zengin ve fakir topraklarda yetişebilir. İlk 5 yılda büyümesi ağırdır, sonra hızlı büyür ve 50 yaşından sonra büyüme durur. Çiçekler mart-mayıs aylarında açar, meyveler aynı yılın haziran-ağustos aylarında olgunlaşır (Anonim 2011).Şekil 2.2'de *Betula pendula* (huş)'nın görüntüleri verilmiştir (Anonim 2011).



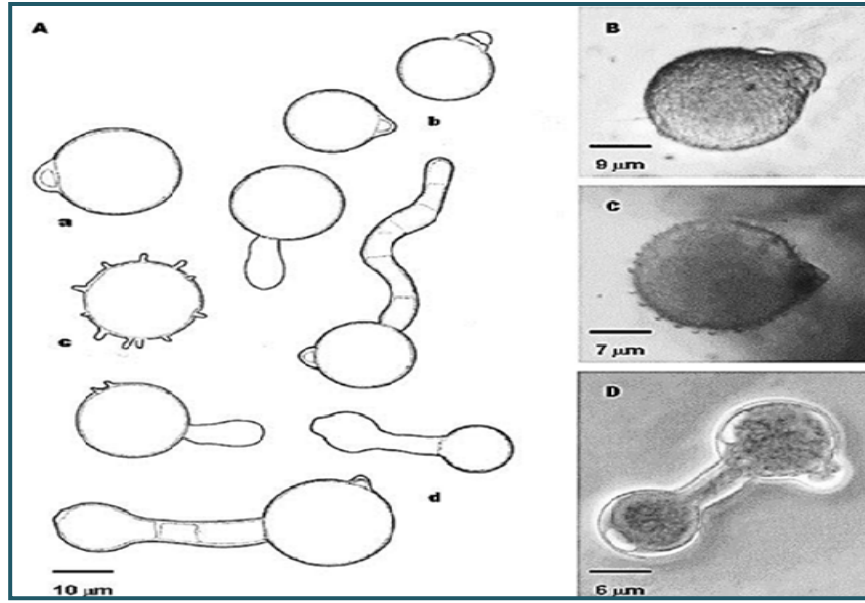
Şekil 2.2. *Betula pendula* (huş) (Anonim 2011).

Erzurum kenti Açık-Yeşil Alanlarında Kullanılan Bitki Materyalinin Değerlendirilmesi çalışmasında kentte 60 bitki türünün kullanıldığı ve bunlardan 13'ünün yaygın türler olduğu tespit edilmiştir. *Betula pendula*, bu 13 türden biridir ve tüm alanlarda yaygın olarak bulunmuştur (Yılmaz ve Irmak 2004).

Yılmaz ve Irmak'ın çalışmasına göre; huş ağacının alanda yaygın olması ve bölgeye adaptif bir ağaç türü olması, hem peyzaj hem de yeşil bir çevre için önemlidir. Çüçen'in çalışması huş ağaçlarının yüksek afit saldırısına uğradığını göstermektedir. Bölge için önemli olan huş ağacının afit saldırılarından korunması için biyolojik mücadele çalışması yapılmalıdır.

Conidiobolus coronatus (Costantin): Fungal sınıflandırmada Entomophthorales takımında yer alan, böcekleri enfekte etme eğiliminde olan entomopatojen bir fungustur (Hoogendijk *et al.* 2006). *Conidiobolus coronatus* ilk kez 1897 yılında Fransa'da Constantin tarafından tanımlanmış ve ilk izolasyonu da Chester Emmons ve Charles Bridges tarafından 1961 yılında Avustralya'da üç atın nazal sisteminden yapılmıştır. Bu da gösteriyor ki *C. coronatus* sadece böceklerde değil memelilerde de enfektiftir. 1965'de Bras ve arkadaşları tarafından büyük timsah adalarından Karayipler'de insandan ilk kez izole edilmiştir (Bras *et al.* 1965).

Conidiobolus coronatus büyüklüğü 6-15 µm arasında olan geniş vejetatif koenositik hiflere sahiptir. Konidioforlar 8-12 µm genişliğinde ve 60-90 µm boyundadır. Konidioforlar 25-45 µm çapında olan birincil konidileri üretirler. İkincil konidiler daha küçük olma eğilimindedir. Sivrileşmiş konidiler de kılsız çıkıntılar (villose) bulunur (Anonim 2011). Şekil 2.3'de A'da konidinin gelişimi şematik olarak, B,C ve D'de ise fotoğrafları gösterilmiştir (Toledo *et al.* 2007).



Şekil 2.3. *Conidiobolus coronatus* 'un konidi gelişiminin farklı aşamaları (Toledo *et al.* 2007)

* A- a. primer konidi, b. sekonder konidi, c. kılsı çıkıntılı konidi, d. germinasyon B- birincil konidi C- kılsı çıkıntılı konidi (villose) D- primer konididen sekonder konidinin oluşumu

Şekil 2.3'den anlaşılacağı gibi *C. coronatus*'un hayat döngüsünde farklı morfolojik formlar vardır. Konidiler birbirlerinden farklıdır. Konidiler polikaryotiktir ve değişken birçok sayıda küçük çekirdek ve bir büyük çekirdek içerir (Bałazy 1993; Batko 1974).

Yağ asidi salınımını ve etkilerini inceleyen deneyde yağ asitlerini sadece çok çekirdekli tüysüz primer konidilerin ürettiği açıklanmıştır. Bu çalışmada kültürlerde mikrokonidi, sekonder konidi ve kılsı çıkıntılı konidiler (villos) görülmemiştir ve böcek istilası için optimum sıcaklığın 20°C olduğu tespit edilmiştir (Bogus *et al.* 2010). *C. coronatus* kitinaz, lipaz ve proteazlar gibi kutikula bozulmasında görev alan hidrolitik enzimlere sahiptir. Bunlar arasında proteazların mantar virülansında önemli rol oynadıklarına inanılmaktadır (Bania *et al.* 2006). Belirtmek gerekirken omurgalıların *Conidiobolus* enfeksiyonları sıcak iklimlerde görülme eğilimindeyken villos konidinin yüksek sıcaklıklarda ($\leq 35^{\circ}\text{C}$) yayıldığı belirlenmiş ve enfekte insan ve atlardan yapılan izolasyonların orijinal kültürlerinde tespit edilmiştir. *Conidiobolus coronatus*'un villos konidilerinin dinlenme sporlarına eşdeğer olduğu düşünülmektedir (Humber *et al.* 1989; Thammayya 2000).

Conidiobolus coronatus seksüel bir yaşam döngüsünden yoksundur; çünkü heterotalliktir ve zygospor üretmez. Ancak aseksüel yaşam döngüsünde oldukça karışıktır. *Conidiobolus coronatus* patates dekstrozu, sabouraud ve mısır unu agar üzerinde yetişir. Kültürleri yassı bal mumu gibi renksiz, sarımsı beyaz ya da yanık kahverengimsidir. Koloniler hızlı büyürler ve 48 saat içinde 6 cm çapa ulaşabilirler. Petriye bakıldığında, koloni toz tabakası halinde oldukça büyük görünümündedir. *Conidiobolus coronatus* ekzoskeletondan penetrasyonla girer ve 1-2 gün içinde konağı öldürür. Konukçu, ölümü sırasında melanin salınımından dolayı kahverengileşir. *Conidiobolus coronatus* konukçu ölümünden sonra saprofitik özellik gösterir. Ayrıca *Cordyceps*'in aksine, *C. coronatus* konukçu davranışlarını kontrol edemez (Anonim 2011).

Conidiobolus coronatus genellikle, oldukça geniş konak yelpazesi ile fırsatçı bir patojen olarak tanımlanmaktadır (Dromph *et al.* 2001; Freimoser *et al.* 2003). Bu kozmopolit toprak fungusu, muhtemelen toksik metabolitleri salgılaması (Robert and Humber 1981) nedeniyle duyarlı böceklerin hızlı bir şekilde ölümüne neden olur (Prasertphon and Tanada 1969; Bogus and Scheller 2002).

Filistin'de tarım alanlarında entomopatojenik fungusun dağılımı, oluşumu ve karakterizasyonunu belirlemek için yapılan çalışmada 20 tür arasından *C. coronatus*'un toprakta yaygın olduğu ve patojenitesinin diğer türlere oranla daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada *C. coronatus*'un spor üretmesi için gereken optimal sıcaklığın 20°C olduğu, optimal büyüme sıcaklığının ise 30°C olduğu tespit edilirken, seçilen fungus örneklerinin en iyi radyal misel büyümesini CMA (Corn meal agar) ve PDA (Potato Dextrose Agar) ortamında gösterdikleri belirtilmiştir. Sonuç olarak, *C. coronatus*'un tarım uygulamalarında geniş toleransa sahip olduğu, meyve bahçeleri ve sebze alanlarından sıklıkla izole edilmiş olması, misel büyüme oranının daha yüksek olması ve daha yüksek konidial üretim ve konidial germinasyonla karakterize edilmiş olmasıdır. Bu nedenle, *C. coronatus*'un tarımsal alanlarda zararlı kontrolünde inokülatif kullanılabilecek en uygun tür olabileceği belirtilmiştir (Ali-Shtayeh *et al.* 2002).

Conidiobolus coronatus Trabzon'da yapılan çalışmada enfekte bir *Issus* (*Issidae*, *Hemiptera*) turnden ilk defa izole edilmiştir. *C. coronatus*'la ilgi Türkiye'deki ilk rapordur ve bu çalışmada *C. coronatus*'un zararlı kontrolünde kullanılabileceği belirtilmiştir (Eken *et al.* 2011).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma boyunca Atatürk Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, Mikoloji Laboratuvarı stoklarında bulunan ve Trabzon'da enfekte *Issus* (*Issidae*, *Hemiptera*) türünden izole edilmiş *Conidiobolus coronatus* izolatu ile Atatürk Üniversitesi yerleşkesinde bulunan huş ağaçlarındaki (*Betula pendula*), huş afidi *Euceraaphis punctipennis* kullanılmıştır. Ayrıca çalışmada soğutmalı inkübatörler, steril kabin, otoklav, faz-kontrast ışık mikroskobu gibi ekipmanlar ve çeşitli kimyasallar ile laboratuvar cam malzemeleri kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. *Conidiobolus coronatus*'un afid *Euceraaphis punctipennis* üzerinde etkinliğinin belirlenmesi

Spor süspansiyonlarının hazırlanması

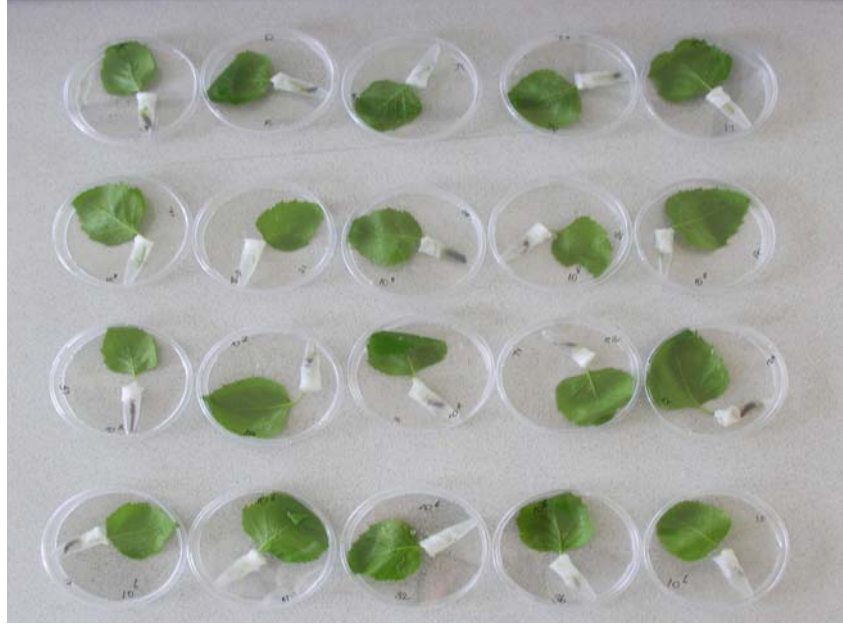
Her bir spor süspansiyonu için kullanılacak sporlar, deney düzeneği hazırlanmadan önce ekimler yapılarak 7 gün boyunca PDA ortamında gelişmiş olan yeni kültürlerden hazırlanmıştır. Besiyeri üzerindeki fungus tabakasına steril su damlatılıp lam yardımıyla kazınarak fungus konidileri içinde steril su bulunan beherlere aktarılmıştır. Ardından konidi süspansiyonu 50 ml hacimli tüplerin içine transfer edilmiş, spor ve misellerin birbirinden ayrılması için 1500 rpm'de 3 dakika karıştırılmıştır (Abebe 2002). Süspansiyondaki konidial konsantrasyon Neubauer lamı kullanılarak faz kontrast mikroskobu altında tespit edilmiştir. Sonucun sulandırma faktörü ile çarpılmasıyla spor sayısı bulunmuştur. Çalışmada kullanılan fungusların farklı spor konsantrasyonları (1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 konidi/ml)'nda olan süspansiyonları hazırlanmıştır. Süspansiyonlara, sporların yaprak yüzeyine tutunmasını kolaylaştırmak amacıyla 1/100 cc Tween 80 damlatılmıştır. Uygulamanın yapılacağı her bir petriye, uç kısmına sprey

aparatu monte edilmiş enjektör yardımıyla 1 ml süspansiyon, kontrol grubuna ise aynı miktarda sdH₂O püskürtülmüştür.

Spor süspansiyonlarının in vitro denemeleri

Atatürk Üniversitesi yerleşkesinde bulunan huş ağaçlarından afitli yapraklar toplanmış ve laboratuvara getirilmiştir. Toplanan dallarda diğer artropodların bulunmamasına dikkat edilmiştir. Laboratuvarda dallardan ayrılan yapraklardaki afitler sayılıp, yaprakların canlılıklarını kaybetmemeleri için, içinde saf su bulunan ependorflara yerleştirilerek, tüplerin ağız kısmı parafin film ile sarılmıştır. Spor süspansiyonlarını spreylemek için her yaprak ayrı bir petriye yerleştirilmiş, her spor süspansiyon için denemeler 5'er petriyle yapılmıştır.

Hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki spor süspansiyonlarından, her spor süspansiyonu için 5 petri olacak şekilde, yapraklara 1 cc olmak üzere spreyle edilmiştir. Ayrıca kontrol grubu olarak hazırlanmış yapraklara ise her bir yaprak için 1 cc olmak üzere sdH₂O spreyle edilmiştir. Spreyleme üzerinden 24 saat geçtikten sonra yapraklardaki ölü afit sayımı günlük olarak yapılmış ve kaydedilmiştir. Sayımlar afit ölümü %100'ü buluncaya kadar yapılmıştır. Bu nedenle sayımlar 5.gün bitmiştir. Şekil.3.1'de farklı konsantrasyonlardaki süspansiyonların spreyle edildiği petriler görülmektedir.



Şekil 3.1. Spor süspansiyonlarının sprey edildiği petriler

Spor süspansiyonlarının in vivo denemeleri

Arazide afit saldırısına uğramış huş ağaçları belirlenmiştir. Her bir yaprakta en az 10 adet *Euceraphis punctipennis*'in sağlıklı bireyleri olacak şekilde yapraklar seçilmiştir. Farklı spor konsantrasyondaki (10^6 , 10^7 ve 10^8 konidi/ml) süspansiyonlar ve kontrol grubu için sdH₂O her bir yaprağa 1ml olacak şekilde, her uygulama için 5 yaprak kullanılmıştır. Her bir spor konsantrasyonu ve kontrol için yapılan spreyleme işlemi birbirinden uzak dallarda yapılmıştır. Spreyleme yapılan yapraklar spançlarla kafeslere alınmış ve afit göçü engellenmeye çalışılmıştır. (Şekil.3.2) Ölümmler günlük olarak kaydedilmiştir. Ölü afitler ependorf tüplerine alınarak reizolasyon yapılmıncaya kadar +4°C'de bekletilmiştir.

In vivo ve in vitro denemelerin istatistik analizleri %95 güven aralığında ve standart hata (S.E.) dikkate alınarak SPSS-17.0 progında yapılmıştır. Varyans analizi ANOVA'da, LT₅₀ ortalamaları arasındaki farklılık analizi Duncan'a göre yapılmıştır. Ayrıca her iki çalışmanın LT₅₀ değerleri yani deneklerin %50'sinin ölmesi için geçen süre hesaplanarak karşılaştırılmıştır (Berón and Diaz 2005).



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki spor süspansiyonlarının sprey edildiği afitli ağaç dalları

Ölü afitlerden fungusun reizolasyonu

Her spor konsantrasyonuna ait kadavra örnekleri alınarak yüzey dezenfeksiyonunun sağlanması için %1'lik sodyum hipoklorit içerisinde 2-3 dakika süreyle bekletilmiştir. Bunu takiben, distile su ile yıkanmıştır (Lezama-Gutierrez *et al.* 2001; Quesada-Moraga *et al.* 2007). Daha sonra afit kadvraları nemli filtre kağıdıyla birlikte steril petri kaplarına aktarılmıştır (De La Rosa *et al.* 2000). Aynı zamanda entomopatojen fungusların nem ihtiyacı nedeniyle petrideki filtre kâğıdına düzenli aralıklarla distile su eklenmiştir (Saharayaj and Namasivayam 2008).

Kadvralar üzerinde funguslar sporlanmaya başlayınca, buradan alınan örnekler özeyle entomopatojen funguslar için hazırladığımız PDA ortamına ekilmiştir. PDA ortamına ekilmiş sporlar $26^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.2. Farklı sıcaklıklarda *Conidiobolus coronatus*'un koloni gelişiminin belirlenmesi

Çalışmada öncelikli olarak laboratuvar stoklarında bulunan *C. coronatus* stok kültürlerinden yeni kültürler elde etmek için steril kabinde steril öze yardımı ile sporlar alınmış ve PDA ortamına ekilmiştir. Daha sonra 24°C 'lik etüvde inkübasyona kaldırılmıştır. 7 günlük inkübasyondan sonra oluşan yeni kültürlerden her sıcaklık için 6 petri olmak üzere PDA ortamına ekimler yapılmış ve önceden (20°C ; $22,5^{\circ}\text{C}$; 25°C ; $27,5^{\circ}\text{C}$; 30°C ; $32,5^{\circ}\text{C}$; 35°C ; $37,5^{\circ}\text{C}$; 40°C)'ye ayarlanmış 9 farklı sıcaklıktaki inkübatöre ekimler fungal gelişim için bırakılmıştır. Ekimler aynı kültür örneğinden 8 mm çapında diskler alınarak ve eş zamanlı olarak yapılmıştır. Fungus petri yüzeyini kaplayıncaya kadar her bir petrideki fungusun zon büyüklüğü kaydedilmiş ve fotoğraflanmıştır. Fungal gelişim (35°C ; $37,5^{\circ}\text{C}$; 40°C hariç) 7 gün süreyle takip edilmiştir; fakat 35°C ; $37,5^{\circ}\text{C}$ ve 40°C 'lerdeki fungal gelişimler 10 günlük bir süreçle izlenerek adaptif bir durumun oluşup oluşmadığı da gözlemlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

4.1. *Conidiobolus coronatus*'un afit *Eucерaphis punctipennis* üzerinde etkinliğinin belirlenmesiyle ilgili sonuçlar

In vitro denemelerin sonuçları

10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor konsantrasyonlarının patojenite etkileri, Anova ile araştırılmış ve sonuçlara göre istatistik açıdan önemli olduğu söylenebilmiştir ($F=4,073$; $p<0,05$), (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Varyans analizi tablosu

	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Frekans	Önemlilik
Uygulama	,562	2	,281	4,073	,045
Hata	,828	12	,069		
Genel	1,390	14			

Çalışmada *Eucерaphis punctipennis* üzerinde denenen tüm farklı konsantrasyonlardaki spor süspansiyonlarının mortaliteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek oranda başarı elde edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizlere göre fungus süspansiyonlarından 1×10^6 ve 1×10^7 konidi/ml konsantrasyon uygulamalarının sonuçları arasında istatistik açıdan önemli fark olmadığı bulunmuştur. Aynı şekilde 1×10^6 ve 1×10^8 konidi/ml'lik süspansiyonların uygulamaları arasında da istatistik açıdan önemli bir fark yoktur. 1×10^7 ve 1×10^8 konidi/ml'lik süspansiyonların uygulamaları arasında istatistik açıdan fark vardır ve önemli bulunmuştur. Bu veriler Çizelge 4.2'de verilmiştir. Sonuç olarak 1×10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun ortalama LT_{50} değerinin 2,040 gün olması bu dozun diğer süspansiyonlardan daha etkili olduğunu göstermektedir.

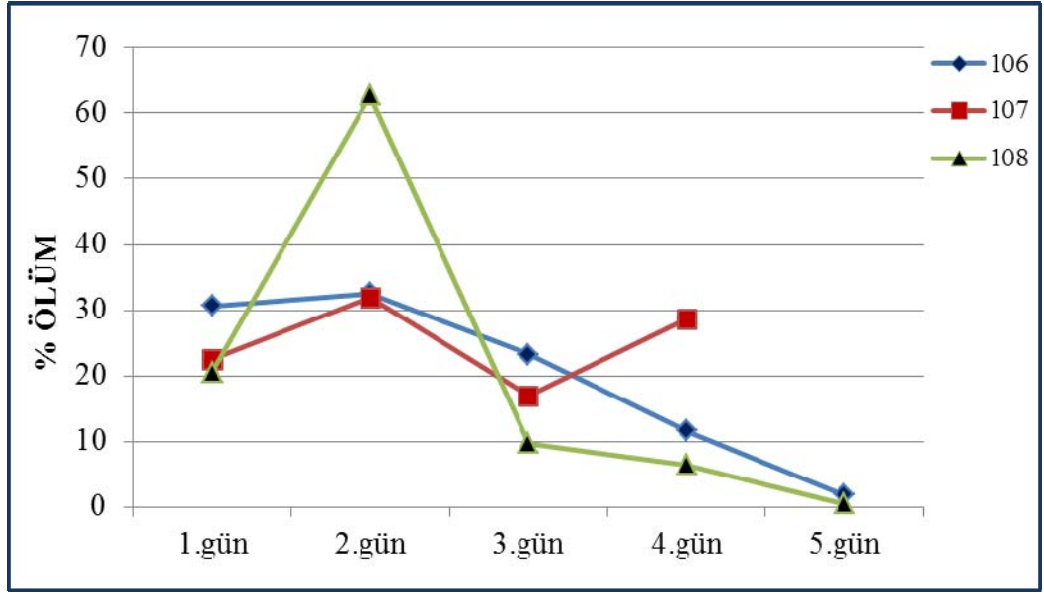
Çizelge 4.2. Süspansiyonların ortalama LT_{50} değerleri.

Konsantrasyon	(LT_{50}) ortalama gün	Standart sapma
10^6 konidi/ml	2,270 ab*	,204
10^7 konidi/ml	2,514 a	,197
10^8 konidi/ml	2,040 b	,356
Genel	2,274	,315

* Aynı harfle işaretli ortalamalar arasında fark önemsizdir ($p < 0.05$).

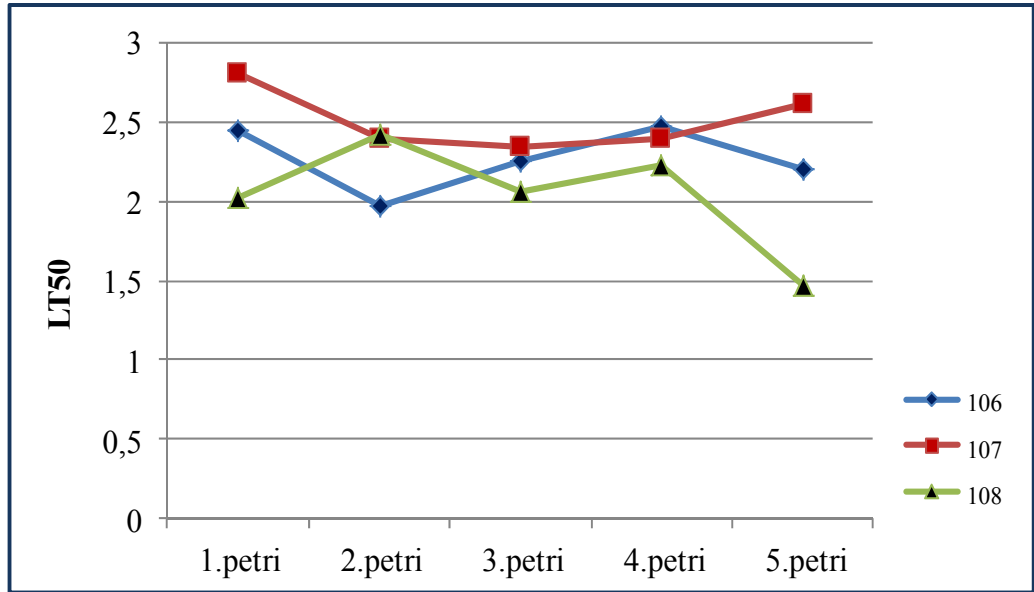
10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri karşılaştırma grafiği Şekil 4.2.'de ve % ölüm karşılaştırma grafikleri ise Şekil 4.1.'de verilmiştir. Çizelge 4.7.'de 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik *C. coronatus* spor süspansiyonlarının in vitro denemelerde gözlenen % ölüm oranları sayısal verilerle verilmiştir. In vitro denemede 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonu ikinci gün % 62,70'lik ölüme neden olmuştur. 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun etkisi 2.günden sonra giderek düşmüştür. Aynı şekilde 10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun da etkisi 2.günden itibaren düşmüştür. Bunlara karşın 10^7 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun etkisi petrillerdeki afit ölüm oranı %100'ü buluncaya kadar hemen hemen aynı kalmıştır ve afit ölümü 4.gün %100'e ulaşmıştır. Diğer süspansiyonlarda ise afit ölümü 5.gün %100'e ulaşmıştır. Kontrol grubunda ise sadece 6 afit ölümü olmuştur. Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.6.'da in vitro denemelerde elde edilen 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri verilmiştir. Çizelge 4.3, 4.4, ve 4.5, de spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri ve günlük afit ölümleri sayısal olarak verilmiştir.



Şekil 4.1. In vitro denemelerde $10^6, 10^7, 10^8$ konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının % ölüm değerleri.

*Grafikte 106= 10^6 , 107= 10^7 , 108= 10^8 'i ifade eder.



Şekil 4.2. In vitro denemelerde $10^6, 10^7, 10^8$ konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri.

*Grafikte 106= 10^6 , 107= 10^7 , 108= 10^8 'i ifade eder.

Çizelge 4.3. In vitro denemelerde 10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} değerleri.

10^6 konidi/ml	Başlangıçtaki \sum a.s	Ölen afit sayısı					LT_{50}
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	
1.petri	11	5	1	2	1	2	2,45gün
2.petri	61	28	13	16	2	2	1,97gün
3.petri	32	11	11	1	9	0	2,25gün
4.petri	45	6	20	11	8	0	2,47gün
5.petri	66	16	25	20	5	0	2,21gün
\sum birey		66	70	50	25	4	

Çizelge 4.4. In vitro denemelerde 10^7 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} değerleri.

10^7 konidi/ml	Başlangıçtaki \sum a.s	Ölen afit sayısı					LT_{50}
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	
1.petri	43	4	18	3	18	0	2,81gün
2.petri	48	7	22	12	7	0	2,40gün
3.petri	35	14	5	6	10	0	2,34gün
4.petri	45	13	14	5	13	0	2,40gün
5.petri	42	10	9	10	13	0	2,62gün
\sum birey		48	68	36	61	0	

Çizelge 4.5.In vitro denemelerde 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} değerleri.

10^8 konidi/ml	Başlangıçtaki \sum a.s	Ölen afit sayısı					LT_{50}
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	
1.petri	50	10	33	4	2	1	2,02gün
2.petri	36	3	19	10	4	0	2,42gün
3.petri	50	8	35	3	4	0	2,06gün
4.petri	26	4	25	0	1	0	2,23gün
5.petri	19	13	4	1	1	0	1,47gün
\sum birey		38	116	18	12	1	

* a.s;afit sayısı

Çizelge 4.6. In vitro denemelerde 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri.

Konidi süspansiyonları	LT_{50}				
	1.petri	2.petri	3.petri	4.petri	5.petri
10^6 konidi/ml	2,45	1,97	2,25	2,47	2,21
10^7 konidi/ml	2,81	2,40	2,34	2,40	2,62
10^8 konidi/ml	2,02	2,42	2,06	2,23	1,47

Çizelge 4.7. In vitro denemelerde 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik *C. coronatus* spor süspansiyonlarının afitlere uygulandığında gözlenen %ölüm oranları.

Spor süspansiyonları	% ölüm					\sum % ölüm	Toplam birey sayısı
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün		
10^6 konidi/ml	30,69	32,56	23,26	11,63	1,86	100%	215
10^7 konidi/ml	22,53	31,92	16,92	28,63	0	100%	213
10^8 konidi/ml	20,54	62,7	9,73	6,49	0,54	100%	185

Çizelge 4.8. In vitro denemelerde kontrol grubunun afit sayısındaki değişme.

Kontrol grubu	Başlangıçta afit sayısı	Ölen afit sayısı					Son gün afit sayısı
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	
1.petri	18	0	1	0	0	0	17
2.petri	12	0	0	0	0	1	11
3.petri	17	1	0	0	0	0	16
4.petri	11	0	1	0	1	0	9
5.petri	9	0	0	0	1	0	8

In vivo denemelerin sonuçları

10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor konsantrasyonlarının patojenite etkileri, Anova ile araştırılmış ve sonuçlara göre istatistik açıdan çok önemli olduğu söylenebilmiştir. ($F=8,335$; $p<0,01$), (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Varyans analizi tablosu.

	Kareler toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Frekans	Önemlilik
Uygulama	,810	2	,405	8,335	,005
Hata	,583	12	,049		
Genel	1,393	14			

Çalışmada *Eucерaphis punctipennis* üzerinde denenen tüm farklı konsantrasyonlardaki spor süspansiyonlarının mortaliteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek oranda başarı elde edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizlere göre fungus süspansiyonlarından 1×10^6 ve 1×10^7 konidi/ml konsantrasyon uygulamalarının sonuçları arasında istatistik açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. 1×10^6 ve 1×10^8 konidi/ml'lik süspansiyonların uygulamaları arasında istatistik açıdan fark bulunmuştur. 1×10^7 ve 1×10^8 konidi/ml'lik süspansiyonların uygulamaları arasında da fark bulunmuştur ve önemlidir. Bu verilere göre etkinlik açısından 1×10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun ortalama LT_{50} değeri 2,296 gün ve 1×10^7 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun ortalama LT_{50} değeri 2,148 gün'dür ve birbirlerine çok yakındır. Bu süspansiyonlar 1×10^8 konidi/ml'lik süspansiyondan daha etkili olmuşlardır. Süspansiyonların ortalama LT_{50} değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

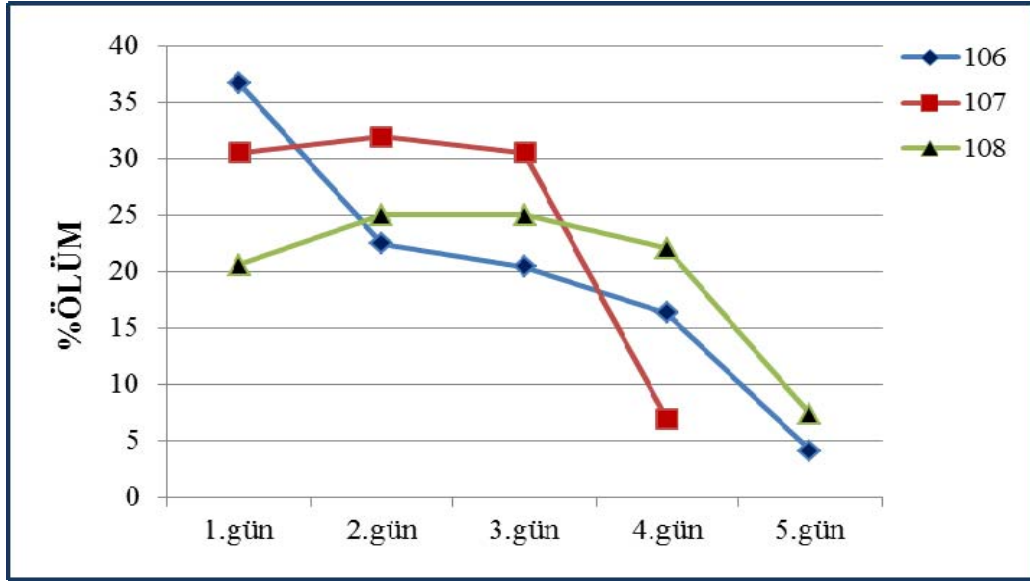
Çizelge 4.10.Süspansiyonların ortalama LT_{50} değerleri.

Konsantrasyon	(LT_{50}) ortalama gün	Standart sapma
10^6 konidi/ml	2,296 b**	,219
10^7 konidi/ml	2,148 b	,176
10^8 konidi/ml	2,698 a	,259
Genel	2,381	,315

** Aynı harfle işaretli ortalamalar arasında fark önemsizdir ($p < 0.01$).

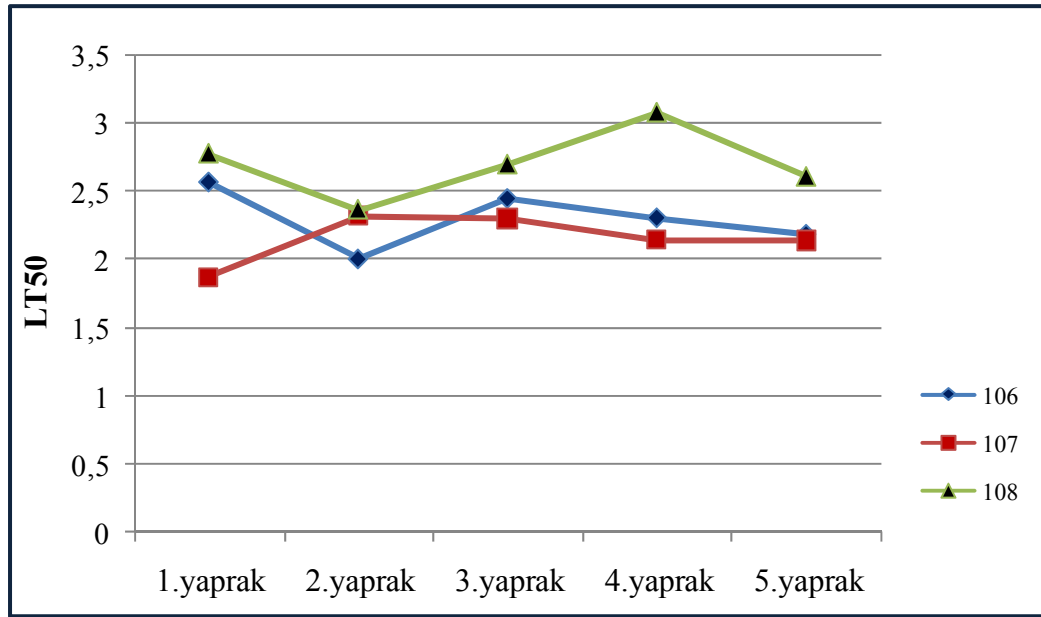
10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri karşılaştırma grafiği Şekil 4.3.'de ve % ölüm karşılaştırma grafikleri ise Şekil 4.4.'de verilmiştir. Çizelge 4.15.'de $10^6, 10^7, 10^8$ konidi/ml'lik *C. coronatus* spor süspansiyonlarının in vivo denemelerde gözlenen % ölüm oranları sayısal verilerle verilmiştir. In vivo denemede 10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonu ilk gün % 36,73'lük ölüme neden olmuştur. Bu oran daha sonra düşüş göstermiştir. 10^7 konidi/ml'lik spor süspansiyonu ise 2.gün itibariyle diğer süspansiyonlardan daha etkili olmuştur ve etkisini sürdürmüştür. 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun etkisi düşük olmuştur. 10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonu ve 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun spreylendiği yapraklardaki afit ölümleri 5.gün %100'e ulaşmışken, 10^7 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun spreylendiği yapraklarda afit ölümleri 4.gün %100'e ulaşmıştır. Kontrol grubunda ise sadece 3 afit ölümü olmuştur. Çizelge 4.16.'da verilmiştir.

Çizelge 4.14.'de in vivo denemelerde elde edilen 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri verilmiştir. Çizelge 4.11, 4.12 ve 4.13'te spor süspansiyonlarının LT_{50} değerleri ve günlük afit ölümleri sayısal olarak verilmiştir.



Şekil 4.3. In vivo denemelerde 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının %ölüm değerleri.

*Grafikte 106= 10^6 , 107= 10^7 , 108= 10^8 'i ifade eder.



Şekil 4.4. In vivo denemelerde 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor solüsyonlarının LT_{50} değerleri.

*Grafikte 106= 10^6 , 107= 10^7 , 108= 10^8 'i ifade eder.

Çizelge 4.11. In vivo denemelerde 10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} değerleri.

10^6 konidi/ml	Başlangıçtaki \sum a.s	Ölen afit sayısı					LT_{50}
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	
1.yaprak	9	3	2	1	2	1	2,56gün
2.yaprak	10	4	3	2	1	0	2,00 gün
3.yaprak	9	3	1	3	2	0	2,44 gün
4.yaprak	10	4	2	2	1	1	2,30 gün
5.yaprak	11	4	3	2	2	0	2,18 gün
\sum birey		18	11	10	8	2	

Çizelge 4.12. In vivo denemelerde 10^7 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} değerleri.

10^7 konidi/ml	Başlangıçtaki \sum a.s	Ölen afit sayısı					LT_{50}
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	
1.yaprak	15	6	5	4	0	0	1,87 gün
2.yaprak	13	4	3	4	2	0	2,31 gün
3.yaprak	14	3	5	5	1	0	2,29 gün
4.yaprak	14	4	4	6	0	0	2,14 gün
5.yaprak	16	5	6	3	2	0	2,13 gün
\sum birey		22	23	22	5	0	

Çizelge 4.13. In vivo denemelerde 10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} değerleri.

10^8 kon/ml	Başlangıçtaki \sum a.s	Ölen afit sayısı					LT_{50}
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	
1.yaprak	13	2	3	4	4	0	2,77gün
2.yaprak	11	4	2	2	3	0	2,36gün
3.yaprak	16	3	5	3	4	1	2,69gün
4.yaprak	13	2	3	3	2	3	3,07gün
5.yaprak	15	3	4	5	2	1	2,60gün
\sum birey		14	17	17	15	5	

* a.s,afit sayısı

Çizelge 4.14. In vivo denemelerde 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik spor solüsyonlarının LT_{50} verileri.

Konidi süspansiyonları	LT_{50}				
	1.yaprak	2.yaprak	3.yaprak	4.yaprak	5.yaprak
10^6 konidi/ml	2,56	2,00	2,44	2,30	2,18
10^7 konidi/ml	1,87	2,31	2,29	2,14	2,13
10^8 konidi/ml	2,77	2,36	2,69	3,07	2,60

Çizelge 4.15. In vivo denemelerde 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik *C. coronatus* spor süspansiyonlarının afitlere uygulandığında gözlenen %ölüm oranları.

Spor süspansiyonları	% ölüm					Σ % ölüm	Toplam birey sayısı
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün		
10^6 konidi/ml	36,73	22,45	20,41	16,33	4,08	100%	49
10^7 konidi/ml	30,56	31,94	30,56	6,94	0	100%	72
10^8 konidi/ml	20,59	25	25	22,06	7,35	100%	68

Çizelge 4.16. In vivo denemelerde kontrol grubunun afit sayısındaki değişme.

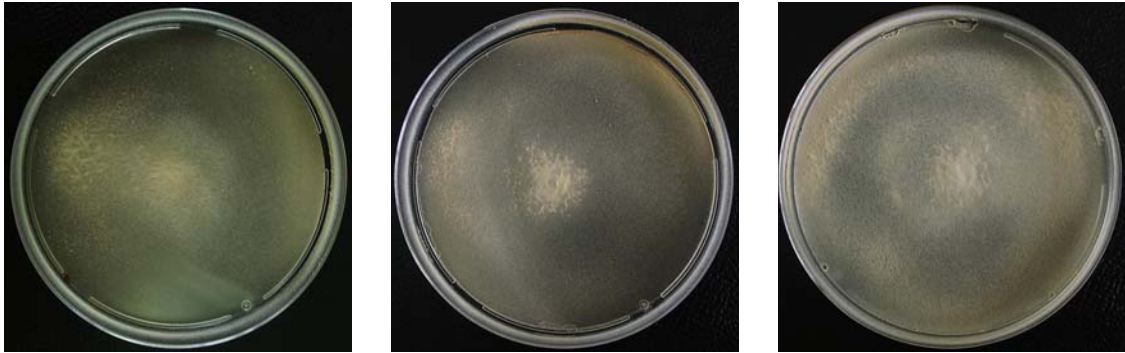
Kontrol grubu	Başlangıçta afit sayısı	Ölen afit sayısı					Son gün afit sayısı
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	
1.yaprak	11	1	0	0	0	0	10
2.yaprak	9	0	0	0	0	1	8
3.yaprak	14	1	0	0	0	0	13
4.yaprak	11	0	0	0	0	0	11
5.yaprak	16	0	0	0	0	0	16

Reizolasyon sonuçları

7 günlük inkübasyondan sonra toprak bakterilerinden ve saprofitik funguslardan arınmış entomopatojen fungus olan *Conidiobolus coronatus* kültürleri elde edilmiştir. Petride pudramsı bir kolonileşme göstermiş ve hızlı gelişmiştir. Preparasyonunda koenositik hiflere sahip konidioforlar görülmüştür. Yine kadavralarda renk değişimi yani melaninleşme de *C. coronatus*'un afiti enfekte ettiğini göstermiştir. Her iki çalışmanın afit kadavralarından yapılan reizolasyonlarda elde edilen fungus *Conidiobolus coronatus*'tur. Afet ölümlerinden *C. coronatus* sorumlu tutulmuştur.

Tür teşhisinde Prof. Dr. Cafer Eken'den yardım alınmıştır.

Şekil 3.3'te her bir spor konsantrasyonundan alınan kadavralardan reizolasyonla elde edilen fungus kültürleri gösterilmiştir.



(1×10^6 konidi/ml)

(1×10^7 konidi/ml)

(1×10^8 konidi/ml)

Şekil 4.5. Reizolasyon petrileri

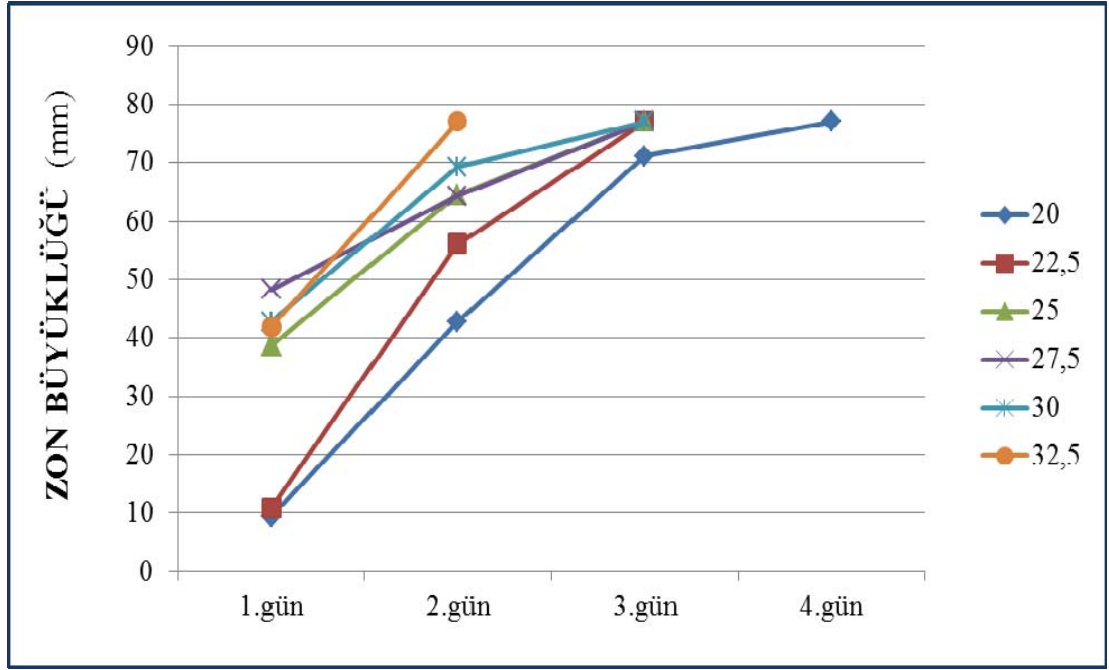
4.2. Farklı sıcaklıklarda koloni gelişimi sonuçları

Aynı ve genç fungus kültür örneğinden eş zamanlı olarak PDA ortamına yapılan ekimler 20°C ; $22,5^\circ\text{C}$; 25°C ; $27,5^\circ\text{C}$; 30°C ; $32,5^\circ\text{C}$; 35°C ; $37,5^\circ\text{C}$; 40°C 'lerdeki 9 farklı

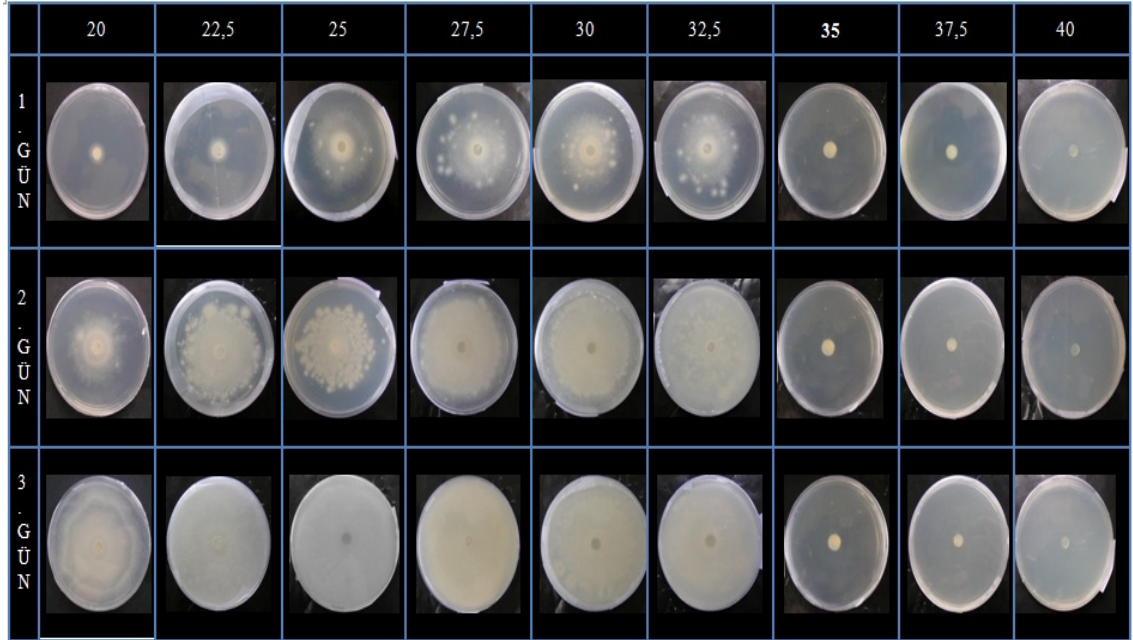
sıcaklıktaki inkübatöre her sıcaklık için 6 tane petri kültürasyona bırakılmış ve günlük zon büyüklüğü kaydedilmiştir.

20°C; 22,5°C; 25°C; 27,5°C; 30°C; 32,5°C'lerde fungusun petriyi kaplamasından dolayı zon büyümesi 4 gün takip edilmişken 35°C; 37,5°C; 40°C'lerdeki petrilere koloni gelişimi olmadığından adaptif bir durum olasılığına karşı 10 gün boyunca takip edilmiştir ve bu üç sıcaklık için çalışma tekrar edilmiştir. Gelişimin olduğu 20°C; 22,5°C; 25°C; 27,5°C; 30°C; 32,5°C sıcaklıklara ait koloni çaplarının ortalamaları alınarak fungusun hangi sıcaklıkta daha iyi bir gelişim gösterdiği belirlenmiştir.

Hesaplamalar sonucunda fungusun sıcaklık arttıkça gelişiminin daha hızlı olduğu belirlenmiştir. 20°C'de fungusun petrinin tamamını 4.gün kaplamışken 22,5°C; 25°C; 27,5°C; 30°C'lerdeki funguslar 3.gün petriyi kaplamıştır. 32,5°C'de ise fungus 2.gün petriyi kaplamıştır. Bu verilere göre *Conidiobolus coronatus* en iyi fungal gelişimi 32,5°C'de göstermiştir. Fakat 35°C'deki fungus kesit alanında kalmış ve koloni gelişmemiştir. 37,5°C'deki fungusun kesit alanından içe doğru küçülme gösterdiği, 40°C'deki fungusun da kesit alanından içe doğru 3.güne kadar küçülme gösterdiği ve sonrasında kesit alanında olmadığı gözlemlenmiştir. Farklı sıcaklıklarda fungusun koloni gelişimi sayısal verilerle Çizelge 4.17'de verilmiştir. 35°C, 37,5°C ve 40°C çalışması tekrar edilmiş ve tekrar çalışmasında da aynı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca 35°C, 37,5°C ve 40°C'lerdeki petrilere 25°C'ye geri bırakılmış 37,5°C ve 40°C'lerden alınan petrilere gelişiminin olmadığı buna karşın 35°C'den alınan petride çok azda olsa gelişimin olduğu gözlemlenmiştir. Şekil 4.6'da ortalama zon büyüklükleri karşılaştırılmıştır. Şekil 4.7'de kolonilerin görünüşleri verilmiştir.



Şekil 4.6. 20°C; 22,5°C; 25°C; 27,5°C; 30°C; 32,5°C'lerde fungusun ortalama zon büyüklüğü.



Şekil 4.7. 20°C; 22,5°C; 25°C; 27,5°C; 30°C; 32,5°C; 35°C; 37,5°C; 40°C'lerde fungusun koloni gelişimi.

Çizelge 4.17. Farklı sıcaklıklarda koloni gelişimlerinin sayısal verileri.

Sıcaklık	Koloni çapı (mm)			
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
20°C				
1.petri	12	42	62	77
2.petri	9	47	72	77
3.petri	11	42	62	77
4.petri	7	37	77	77
5.petri	11	42	77	77
6.petri	7	47	77	77
Ortalama	9,5	42,83	71,16	77

Sıcaklık	Koloni çapı (mm)			
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
22.5°C				
1.petri	10	52	77	77
2.petri	12	62	77	77
3.petri	10	52	77	77
4.petri	10	52	77	77
5.petri	12	57	77	77
6.petri	12	62	77	77
Ortalama	11	56,16	77	77

Sıcaklık	Koloni çapı (mm)			
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
25°C				
1.petri	42	67	77	77
2.petri	32	57	77	77
3.petri	42	62	77	77
4.petri	32	62	77	77
5.petri	42	72	77	77
6.petri	42	67	77	77
Ortalama	38,66	64,5	77	77

Sıcaklık	Koloni çapı (mm)			
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
27.5°C				
1.petri	47	77	77	77
2.petri	52	67	77	77
3.petri	50	57	77	77
4.petri	42	66	77	77
5.petri	52	62	77	77
6.petri	47	57	77	77
Ortalama	48,33	64,33	77	77

Sıcaklık	Koloni çapı (mm)			
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
30°C				
1.petri	42	62	77	77
2.petri	42	66	77	77
3.petri	42	77	77	77
4.petri	47	67	77	77
5.petri	47	72	77	77
6.petri	37	72	77	77
Ortalama	42,83	69,33	77	77

Sıcaklık	Koloni çapı (mm)			
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
32.5°C				
1.petri	47	77	77	77
2.petri	47	77	77	77
3.petri	37	77	77	77
4.petri	42	77	77	77
5.petri	37	77	77	77
6.petri	42	77	77	77
Ortalama	42	77	77	77

* 35°C, 37,5°C ve 40°C'lerde koloni gelişimi olmamıştır.

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Çalışmamızda *Conidiobolus coronatus*'un afit *Euceraaphis punctipennis* üzerinde etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, laboratuvar ve arazide uygulamalar yapılmıştır.

In vitro denemelerde yapılan spreylemede 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik üç farklı konsantrasyonda spor süspansiyonları kullanılmıştır. In vitro denemelerde spor süspansiyonlarından 1×10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} ortalaması 2,040 gün olması diğer iki spor süspansiyonuna göre daha etkili doz olduğunu göstermektedir. In vivo denemelerde yapılan spreylemede de 10^6 , 10^7 , 10^8 konidi/ml'lik üç farklı konsantrasyonda spor süspansiyonları kullanılmıştır. Etkinlik açısından 1×10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} ortalaması 2,296 gün ve 1×10^7 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun LT_{50} ortalaması 2,148 gün'dür. Bu iki spor süspansiyonunun patojeniteleri arasında istatistiksel açıdan fark yoktur ve 1×10^8 konidi/ml'lik spor süspansiyonunun patojenitesinden daha güçlü bulunmuştur.

In vitro denemelerde 1×10^8 konidi/ml'lik spor solüsyonunun daha etkili olması in vivo denemelerde 1×10^7 konidi/ml'lik ve 1×10^6 konidi/ml'lik spor süspansiyonlarının daha etkili olması ortam farklılığından kaynaklanabilir. In vivo denemelerde düşük konsantrasyonlardaki süspansiyonlarının başarılı olması ekonomik anlamda avantaj sağlar. Laboratuvar koşullarında sabit sıcaklık ve yeterli nem varken, arazide bu koşullar değişkendir. Bu etmenlerin entomopatojen fungusların patojenitesi üzerinde duruma göre olumlu ya da olumsuz etkileri vardır. Çevresel etmenler içerisinde bağıl nem, UV ışınları, sıcaklık ve besin mevcudiyeti başarılı bir mikoinsektisidin performansını etkiler (Chelico *et al.* 2006).

Stok kültürden aldığımız *C. coronatus* izolatının geldiği bölgenin ekolojik şartları uygulama bölgesinden farklı olabilir. Farklı bir bölgeye ait kontrol ajanının yeni bir ortamda virülansı değişebilir; kendi alanında başarılı bir ajan başka bir yerde başarısız

olabilir (Hansoylu 2003). Buna karşın bizim çalışmamızda *C. coronatus* hem in vitro hemde in vivo denemelerde %100 mortalite göstermiştir.

Ek olarak, in vitro denemenin genel LT₅₀ ortalaması 2,274 gün ve in vivo denemenin genel LT₅₀ ortalamasının 2,381 gün olması *C. coronatus*'un *Euceraaphis punctipennis*'in kontrolünde oldukça başarılı olduğunu göstermiştir. İstatistiksel olarak sonuçlar anlamlı ve önemlidir. Çalışmalarda kontrol gruplarında ölüm oldukça azdır. İn vitro denemelerde %8,9, in vivo denemelerde %5'tir. İn vitro denemelerde afitin doğal ortamından uzaklaştırılmış olması, in vivo denemelerde ise doğal ortamdaki değişkenlere ve hastalık etmenlerine açık olması kontrol gruplarındaki ölümlerin nedenleri olabilir.

Laboratuvar çalışmalarında *Conidiobolus coronatus*'un koloni gelişimi için 32,5°C'nin en uygun sıcaklık olduğu gözlenmiştir. 35°C, 37,5°C ve 40°C'lerde *C. coronatus* gelişme göstermemiştir. Callaghan ve Hopkins'in 2009'da yaptığı çalışmada *C. coronatus* ve bir kaç türün 35°C'deki hayatta kalma sürelerinin 1 günden küçük olduğu bildirilmiştir. Bu sonuç çalışma sonucumuzu desteklemektedir.

Çalışmanın sonuçlarına göre park ve behçelerde huş ağaçlarındaki afit saldırılarını önlemek için *Conidiobolus coronatus* kullanılabilir. Denemelerde gözlenen mortalite oranlarının yüksek oluşu ve kısa sürede afit ölümlerinin gerçekleşmesi afit kontrolünde *C. coronatus*'un uygun bir kontrol ajanı olabileceğini göstermiştir; fakat *C. coronatus*'un hangi çevresel koşullardan etkilendiğinin araştırılması uygulama zamanı için önemlidir. Çünkü *C. coronatus*'un özellikle bağıl nem değişimlerine karşı yüksek hassasiyet gösterdiği rapor edilmiştir; primer konidinin 0.gün germinasyonu %96'lık bağıl nemde %24'ken, %97,5'lik bağıl nemde %10,7'dir (Callaghan and Hopkins 2009). *C. coronatus* diğer böcek türleri üzerinde de denenmelidir.

KAYNAKLAR

- Abebe, H., 2002, Potential of entomopathogenic fungi for the control of *Macrotermes subhyalinus* (Isoptera: Termitidae), Ph.D. thesis, AddisAbaba University, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ethiopia, 161p.
- Aruta, C., Carrillo R. and Montealegre J., 1984. Determinación para Chile del Orden Entomophthorales (Zygomycetes). Agro. Sur. 12: 36–42.
- Ali-Shtayeh, M.S., Abdel-Basit, B.M. and Jamous, R.M., 2002. *Mycopathologia* 156: 235–244
- Aksoy, H.M. and Ozman-Sullivan, S.K., 2008. Isolation of *Bacillus megaterium* from *Aphis pomi* (homoptera: aphididae) and assessment of its pathogenicity, Journal of Plant Pathology, (3), 449-452.
- Anonim, 2011 (http://mushroomobserver.org/name/show_name_description/1856).
- Anonim, 2011 (<http://tr.wikipedia.org/kuşafidi>)
- Anonim, 2011 (<http://www.uniprot.org/taxonomy/3505>)
- Anonim, 2011 (<http://aramel.free.fr/INSECTES10-4'.shtml>)
- Anonim, 2011 (http://www.cirrusimage.com/Trees/European_white_birch_3.jpg)
- Anonim, 2011 (<http://www.samsuntarim.gov.tr/teknikbilgiler/liftletler/btkserisi/f>)
- Ayyıldız, N., Doğan, S., Ocak, İ., Hasenekoğlu, İ., 2007. Akarlardan izole edilmiş entomopatojen bir fungus türü : *Beauveria bassiana*. *Çankaya İni. Fen edebiyat fak. Fen edebiyat sciences sayı: 7*.
- Bałaży, S., 1993. Entomophthorales. Flora of Poland (Flora Polska) Fungi (Mycota). Krakow, Polish Acad. Sci. N. Szafer Inst. Botany 24: 1–356.
- Bajwa, W.I. and Kogan, M., 2002. Compendium of IPM Definitions, IPPC Publication 998.
- Bania, J., Samborski, J., Bogus, M. and Polanowski, A., 2006. *Arch Insect Biochem Biophysiol*, 62: 186-196.
- Batko, A., 1974. Phylogenesis and taxonomic structure of the Entomophthoraceae. In: Nowin'ski, C. (Ed.), *Ewolucja Biologiczna: Szkice Teoretyczne i Metodologiczne*. Polska Akademia Nauk, Instytut Filozofii i Socjologii, Warszawa, Ossolineum, pp. 209–305.
- Beatriz, M.D, Oggerin, M., Lastra, C.C., Rubio, V., Fereres, A., 2009. Characterization and virulence of *Lecanicillium lecanii* against different aphids species. *BioControl* 54:825-835.
- Berón C.M., Diaz B.M., 2005. Pathogenicity of hyphomycetous fungi against *Cyclocephala signaticollis*. - *BioControl*, 50: 143-150.
- Bilgin, M.G., 2006. Kahramanmaraş ilinde buğday tarlalarında görülen yaprak bitlerinin populasyon yoğunluklarının saptanması ve doğal düşmanları. Yüksek lisans tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Bogus, M.I. and Scheller, K., 2002. Extraction of an insecticidal protein fraction from the pathogenic fungus *Conidiobolus coronatus*. *Acta Parasitologica* 47, 66–72.
- Bogus M.I., Czygier, M., Golebiowski, M., Ke'dra, E., Kucin'ska J., Mazgajska J., Samborski, J., Wieloch, W., Włoka, E., 2010. *Experimental Parasitology* 125 (2010), 400–408

- Boztaş, G., Yazıcı M.M., Hasenekoğlu, İ., Şahin, F., 2008. İki Entomopatojen Fungus İzolatının *Myzus persicae*'ye Etkileri: Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 15-18 Temmuz 2009, Van .syf: 350.
- Bras, G., Gordon, C.C., Emmons, C.W., Prendegast, K.M. and Sugar, M.A., 1965. Case of phycomycosis observed in Jamaica; infection with *Entomophthora Coronata*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14:141-145.
- Burges, H.D., 2000. Techniques for testing microbials for control of arthropod pests in greenhouses. In: Lacey LA, Kaya HK (eds) *Field manual of techniques in invertebrate pathology: application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests*. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, pp 505–526.
- Callaghan, A.A. and Hopkins, I.J., 2009 . Survival of *Conidiobolus* spp. And *Basidiobolus ranarum* in relation to relative humidity and temperature. *Fungal ecology* 3 (2010)148-159
- Chelico, L., Haughian, J.L. and Khachatourians, G.G., 2006. Nucleotide excision repair and photoreactivation in the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Beauveria nivea*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* and *Verticillium lecanii*, *J. of Appl. Microbiol.*, (100), 964-972.
- Cote, J.C., 2007. How Early Discoveries about *Bacillus thuringiensis* Prejudiced Subsequent Research and Use. *Biological Control A Global Perspective Case Studies from Around the World*. Vincent, C., Goettel, M.S., and Lazarovits, G. (eds), CABI, Wallingford UK, pp. 169-178.
- Çüçen, M.G., 2007. Erzurum orman fidanlığındaki zararlı ve faydalı böcek türleri. Yüksek Lisans Tezi. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enst. Orman Mühendisliği. Artvin. Türkiye
- De La Rosa, W., Segura H.R., Barrera, J.F., Williams, T., 2000. Laboratory evaluation of the impact of entomopathogenic fungi on *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae), a parasitoid of Coffee Berry Borer, *Environ. Entomol.*, (29), 126-131.
- Deacon, J.W., 2005. *Fungal Biology*, Blackwell Publishing, Oxford UK, 4th edition, 371pp.
- Demir, İ., 2008. Funguslar ve biyolojik mücadele. Entomopatojenler ve biyolojik mücadele. Demirbağ, Z. (ed.), Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon, Türkiye ss.175-244.
- Demirbağ, Z., 2008. Biyolojik mücadeleye genel bakış. Entomopatojenler ve biyolojik mücadele. Demirbağ, Z. (ed.), Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon. Türkiye ss.1-50,
- Doğan, Y., 2009. Türkiye topraklarından elde edilen entomopatojen fungusların biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılması. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Ent., Ankara, Türkiye.
- Dromph, K.M., Eilenberg, J., Esbjerg, P., 2001. Natural occurrence of entomophthoralean fungi pathogenic to collembolans. *Journal of Invertebrate Pathology* 78, 226–231.
- Eilenberg, J., Hajek, A. and Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control, *BioControl*, (46): 387–400.
- Eilenberg, J., 2006. Concepts and visions of biological control. *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. Eilenberg, J., and Hokkanen, H.M.T. (eds.), Springer, Netherlands. pp. 1-11.

- Eken, C., Tozlu, G., Dane, E., Çoruh, S. ve Demirci, E., 2006. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) to larvae of the small poplar longhorn beetle, *Saperda populnea* (Coleoptera:Cerambycidae), Mycopathologia,(162): 69-71.
- Eken, C., Güçlü, Ş., Ak, K., 2011. First report of *Conidiobolus coronatus* in Turkey. Mycotaxon, Volume 115, pp. 121–124
- Emmons, C.W. and Bridges, C.H., 1961. Entomophthora cornata, the Etiologic Agent of a phycomycosis of horses. Mycologia (53): 307-312.
- Er, M.K. ve Mart, C., 2005. Kahramanmaraş İlinde Belirlenen Bazı Entomopatojen Funguslar ve ilin Entomopatojen Fungus Kullanımı Bakımından Değerlendirmesi. KSÜ Doğa Bil. Derg., 12(2), 2009 ,syf:52.
- Feng, M.G., Johnson J.B. and Kish, L.P., 1990. Survey of entomopathogenic fungi of irrigated grain crops in Southwestern Idaho. Environ. Entomol, (19): 1534–1542.
- Floate, K.D., Bérubé, J., Boiteau, G., Dosedall, L.M., Van Frankenhuyzen, K., Gillespie, D.R., Moyer, J., Philip, H.G., and Shamoun, S., 2002, Pesticides and biological control. Biological Control Programmes in Canada. Mason, P.G., and Huber, J.T. (eds), CABI, Oxford. pp. 4-14.
- Freimoser, F.M., Screen, S., Hu, G., St.Leger, R., 2003. EST analysis of genes expressed by the zygomycete pathogen Conidiobolus coronatus during growth on insect cuticle. Microbiology 149, 1893–1900.
- Glare, T.R., Milner, R.J. and Chilvers, G.A., 1986. Influence of temperature on the mortality of *Myzus persicae* (Sulzer) due to the fungal pathogen *Zoophthora phalloides* Batko. Journal of the Australian Entomological Society, (25), 63–64.
- Hall, R.A., 1981. The fungus Verticillium lecanii as a microbial insecticide against aphids and scales. In: Burges HD (ed) Microbial control of pests and plant diseases 1970–1980. Academic Press, London, pp 483–498.
- Hall, R.A. and Papierok, B., 1982. Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. Parasitology. Anderson, R.M., and Canning, E.U., (eds.), Cambridge University, Great Britain, (84), pp. 205-240.
- Hajek, A.E., 2004. Natural Enemies: An Introduction to Biological Control, New York, 338p.
- Hansoylu, R.B., 2003. Türkiye Topraklarından Elde Edilen Entomopatojen Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Suşlarının Biyolojik Kontrol Ajanı Olarak Kullanılması. Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Hatting, J.L., Humber, R.A., Poprawski, T.J. and Miller, R.M., 1999. A survey of fungal pathogens from South Africa with special reference to cereal aphids. Biol. Control, (16): 1–12.
- Hicks, B.J., Watt, A.D., Cosens, D., 2001. The potential of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as a biological control agent against to pine beauty moth, *Panolis flammea* (Lepidoptera: Noctuidae). Forest Ecology and Management, (149), 275-281.
- Hoogendijk, C.F., Pretorius, E., Marx, J., Heerden, W.E.P.V., Imhof, A. and Schneemann, M., 2006. Ultrastructural pathol, (30): 51-58.
- Humber, R.A., Brown, C.C., Kornegay, R.W., 1989. Equine zygomycosis caused by *Conidiobolus lamprauges*. Journal of Clinical Microbiology, (27), 573–576.

- Jaglan, R.S. and Singh, R., 2007. History of integrated pest management. *Entomology: Novel Approaches*, Jain, P.C. and Bhargava, M.C. (eds), New India Publishing, New Delhi, pp. 1-18.
- Jones, K.A., 2000. Bioassays of entomopathogenic viruses. *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. Navon, A., and Ascher, K.R.S. (eds.), CABI, New York. pp. 95-140.
- Kamp, A.M. and Bidochka, M.J., 2002. Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars, *Letters in Applied Microbiology*, (35), 74–77.
- Keller, S., 1987. Arthropod - pathogenic Entomophthorales of Switzerland. I. *Conidiobolu*, *Entomophaga* and *Entomophthora*. *Sydowia Ann. Mycol.* 40: 122-167
- Keller, S., 1991. Arthropod-pathogenic Entomophthorales of Switzerland II. *Erynia Eryniopsis*, *Neozygites*, *Zoophthora*, and *Tarichium*. *Sydowia* (43): 39–122.
- Klingen, I. and Haukeland, S., 2006. The soil as a reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes. *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. Eilenberg, J., and Hokkanen, H.M.T. (eds.), Springer, Netherlands. pp. 145-212.
- Kogan, M., 1998. Integrated Pest Management: Historical perspectives and contemporary developments, *Annu. Rev. Entomol.* (43):243–70.
- Langewald, J., Mitchell, J.D., Maniania, N.K. and Kooyman, C., 2003. Microbial Control of Termites in Africa. *Biological control in IPM systems in Africa*. Neuenschwander, P., Borgemeister, C., and Langewald, J. (eds), CABI, Wallingford UK, 227-242 pp.
- Latge, J.P. and Papierok, B., 1988. Aphid pathogens. In: A.K. Minks and P. Harrewijn (eds), *Aphids: Their biology, natural enemies and control*. Elsevier, Amsterdam.
- Lawrence, J.F. and Milner, R.J., 1996. Associations between arthropods and fungi. *Fungi of Australia*, 1B, 137–183.
- Lezama-Gutierrez, R., Hamm, J.J., Molina-Ochoa, J., Lopez-Edwards, M., Pescador-Rubio, A., Gonzalez-Ramirez, M. and Styer, E.L., 2001. Occurrence of entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Mexican states of Michoacan, Colima, Jalisco and Tamaulipa, *Florida Entomologist*, 84(1) pp. 23-30.
- Lo'pez Lastra, C.C. and Scorsetti, A.C., 2006. Hongos Entomophthorales patógenos de insectos de la República Argentina. *Int. J. Trop. Biol.* 54 (2): 311–315.
- Me'ndez Sa'nchez, S.E., Freitas, A.L., Almeida, C.S., Silva, G.B. and Lima, L.S., 2001. Levantamiento preliminar de hongos Entomophthorales (Zygomycotina; Zygomycetes), agentes de control natural de insectos al sur de Bahía, Brasil. *Agrotropica* 14: 77–80.
- Me'ndez Sa'nchez, S.E., Humber, R.A., Roberts, D.W., Freitas A.L., Lima, L.S., Silva, G.B., Almeida, C.S. and Nunes, E.F., 2002. Prospección de hongos Entomophthorales para el control natural de insectos en Bahía, Brasil. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)* 6: 20–30
- Milner, R.J., 1978. The effects of disease on populations of lucerne aphids. *Proceedings of the Lucerne Aphid Workshop*, Tamworth. New South Wales Department of Agriculture, 105–108.
- Milner, R.J., Teakle, R.E., Lutton, G.G. and Dare, F.M., 1980. Pathogens of the blue-green aphid *Acyrtosiphon kondoi* Shinji and other aphids in Australia. *Australian Journal of Botany*, 28, 601–619.

- Milner, R.J. and Holdom, D.G., 1986. First record of *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Batko, a fungal pathogen of aphids in Australia. *Journal of the Australian Entomological Society*, 25, 85–86.
- Milner, R.J., 1997. Prospects for biopesticides for aphid control. *Entomophaga*, (42): 227- 239.
- Minks, A.K. and Harrewijn. P., 1988. Aphid pathogens. In: A.K. Minks and P. Harrewijn (eds), *Aphids: their biology, natural enemies and control*. Elsevier, Amsterdam.
- Nalçacıoğlu, R., 2008. Virüsler ve biyolojik mücadele. *Entomopatojenler ve biyolojik mücadele*. Demirbağ, Z. (ed.), Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon. ss. 51-108.
- Nalçacıoğlu, R., 2008. Protozoonlar ve biyolojik mücadele. *Entomopatojenler ve biyolojik mücadele*. Demirbağ, Z. (ed.), Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon. Ss.316-317
- Nalçacıoğlu, R., 2008. Nematodlar ve biyolojik mücadele. *Entomopatojenler ve biyolojik mücadele*. Demirbağ, Z. (ed.), Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon. ss. 278-279.
- Navon, A., 2000. Bioassays of *Bacillus thuringiensis* products used against agricultural pests. *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. Navon, A., and Ascher, K.R.S. (eds.), CABI, New York. pp.1-24.
- Nielsen, C., Eilenberg, J., Harding, S., Oddsdottir, E. and Halldórsson, G., 2001. Geographical distribution and host range of Entomophthorales infecting the green spruce aphid *Elatobium abietinum* Walker in Iceland. *J. Invertebr. Pathol.* (78): 72–80.
- Oğurlu, G., 2000. *Biyolojik Mücadele*. SDÜ Basımevi, Isparta, 438s, Türkiye.
- Prasertphon, S., Tanada, Y., 1969. Mycotoxins of entomophthoraceous fungi. *Hilgardia* (39), 581–600.
- Roberts, D.W. and Humber, R.A., 1981. Entomogenous fungi. In *Biology of Conidial Fungi*, pp. 201–236. London: Academic Press.
- Quesada-Moraga, E., Navas-Cortes, J.A., Maranhao, E.A.A., Ortiz-Urquiza, A., Santiago Alvarez, C., 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils, *Mycological Research*, 111, 947-966.
- Sangün, O., 2009. Doğu akdeniz bölgesi marul ekim alanlarında zararlı olan aphididae (hemiptera) türleri ve bunların mücadelesine yönelik araştırmalar. Yüksek lisans tezi, Çukurova üniversitesi fen bilimleri enstitüsü, Adana, Türkiye
- Saharayaj, K. and Namasivayam S.K.R., 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products, *African Journal of Biotechnology*, 7(12), pp. 1907-1910.
- Sandow, J.D., 1981. Can parasites and resistant plants control exotic lucerne aphids? *Journal of Agriculture, Western Australia*, 22, 65–67.
- Santaro, P.H., Neves, P.M.O.J., Alexandre, P.M., Sartori, D., Alves, L.F.A., Fungaro, M.H.P., 2008. Selection of *Beauveria bassiana* isolates to control *Alphitobius diaperinus*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 97, 83-90.
- Shapiro-Ilan, D.I., Gardner, W.A., Fuxa, J.R., Wood, B.W., Nguyen, K.B., Adams, B.J., Humber, R.A. and Hall, M.J., 2003. Survey of Entomopathogenic Nematodes and Fungi Endemic to Pecan Orchards of the Southeastern United States and Their Virulence to the Pecan Weevil (Coleoptera: Curculionidae), *Environ. Entomol.*, 32(1): 187-195.

- Stroyan, H.L.G., 1977. Homoptera Aphidoidea Chaitophoridae & Callaphididae. Handbooks for the: identification of British insects, 2 (4a): VIII+ 130 pp.
- Steinkraus, D.C., Hollingsworth, R.G. and Slaymaker, P.H., 1995. Prevalence of *Neozygites fresenii* (Entomophthorales: Neozygitaceae) on cotton aphids (Homoptera:Aphididae) in Arkansas cotton. *Environ. Entomol.* 24: 465–474.
- Steinkraus, D.C., 2006. Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids. *J.Invertebr Pathol* 92:125-131
- Thammayya, A., 2000. Zygomycosis due to *Conidiobolus coronatus* in West Bengal. *The Indian Journal of Chest Diseases & Allied Sciences* 42, 305–309.
- Tanada, Y. and Kaya, H.K., 1993. *Insect Pathology*. Academic Press, San Diego.666 pp.
- Toledo A.V, Remes Lenicov A. M. M., López Lastra, C.C., 2007 . Primer registro de *Conidiobolus coronatus* (Zygomycetes: Entomophthorales) en crías experimentales de dos especiesplaga del maíz: *Delphacodes kuscheli* y *D. haywardi* (Hemiptera: Delphacidae) en la Argentina, *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42 (3-4): 169 - 174.
- Torrado-Leon, E., Montoya-Lerma, J. and Valencia-Pizo, E., 2006. Sublethaleffects of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina:Hyphomycetes) on the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Hemiptera:Aleyrodidae) under laboratory conditions, *Mycopathologia*, 162: 411-419.
- Trudel, R., Lavallee R., Guertin, C., Cote, C., Todorova, S.I., Alfaro, R. and Kope, H., 2007. Potential of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes:Moniliales) for controlling the white pine weevil, *Pissodes strobi* (Col.,Curculionidae). *J. Appl. Entomol.*, 131(2), 90-97.
- Van Driesche, R.G., Bellows Jr., T.S., 1996. *Biological Control*. An International Thomson Publishing, New York, 447p.
- Yaman, M. ve Demirbağ Z., 1998. Biyolojik ajanların insektisidal etkilerini belirleme yöntemleri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 8, 11-14.
- Yeo, H., Pell J.K., Alderson P.G., Clark S.J, Pye B.J., 2003. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species. *Pest Manage Sci* 59:156–165.
- Yılmaz H. ve Irmak M.A., 2004. Erzurum Kenti Açık-Yeşil Alanlarında Kullanılan Bitki Materyalinin Değerlendirilmesi. *Ekoloji* 52, 9-16
- Wraight, S.P., Poprawski, T.J., Meyer W.L. and Peairs, F.B., 1993. Natural enemies of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) and associated cereal aphid species in spring-planted wheat and barley in Colorado. *Environ. Entomol.* 22: 1383–1391.

ÖZGEÇMİŞ

Aybike Hızarcı 15 Haziran 1978'de Erzurumda doğdu. İlk ve orta öğretimini Erzurumda bitirdi. 1996-2000 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü okudu ve 2000 yılında mezun oldu. 2000-2006 yılları arasında Biyoloji öğretmenliği ve eğitim danışmanlığı yaptı. 2007 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde yüksek lisans hakkı kazandı.. 2006 yılından beri Aziziye Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında çalışmakta ve eğitim danışmanlığına devam etmektedir.