

T.C.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FINDIK BAHÇELERİNDEN ELDE EDİLMİŞ AMBROSİA BÖCEKLERİNDE TESPİT EDİLEN
ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN VE BAZI *TRICHODERMA* TÜRLERİNİN ETKİNLİĞİNİN
BELİRLENMESİ

RAHMAN KUSHİYEV

DOKTORA TEZİ

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

FINDIK BAHÇELERİNDEN ELDE EDİLMİŞ AMBROSİA
BÖCEKLERİNDE TESPİT EDİLEN ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN
VE BAZI *TRICHODERMA* TÜRLERİNİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

RAHMAN KUSHİYEV

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

SAMSUN

2019

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

RAHMAN KUSHİYEV tarafından hazırlanan “Fındık Bahçelerinden Elde Edilmiş Ambrosia Böceklerinde Tespit Edilen Entomopatojen Fungusların ve Bazı *Trichoderma* Türlerinin Etkinliğinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması .././2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Celal TUNCER
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan Prof. Dr. Celal TUNCER
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Ümit SERDAR
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. İsmail ERPER
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Göksel ÖZER
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Faruk AKYAZI
Ordu Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım .././2019

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs 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.



... / ... / 2019

Rahman Kushiyeu

ÖZET

Doktora Tezi

FINDIK BAHÇELERİNDE ELDE EDİLMİŞ AMBROSİA BÖCEKLERİNDE TESPİT EDİLEN ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN VE BAZI *TRICHODERMA* TÜRLERİNİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Rahman KUSHİYEV

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Celal TUNCER

Bu çalışmada, fındık bahçelerindeki ambrosia böceklerine karşı entomopatojen fungus ve *Trichoderma* türlerinin etkinliği test edilmiştir. Bu amaçla, 2018-2019 yılları arasında Samsun, Ordu, Giresun, Düzce ve Sakarya illerindeki fındık bahçelerinden toplanan ambrosia böcekleri (*Anisandrus dispar* Fabricius, *Xylosandrus germanus* Blandford ve *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg)'nin ölü erginlerinden entomopatojen fungus izolasyonu yapılmış ve moleküler araçlar kullanılarak tanımlanmıştır. Sonuç olarak, *Beauveria bassiana*, *B. pseudobassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Isaria farinosa*, *Lecanicillium lecanii*, *Purpureocillium lilacinum*, *Clonostachys rosea* ve *Metarhizium anisopliae* türlerine ait 47 adet izolat elde edilmiştir. Bu izolatlar 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonda *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* (seçilen bazı izolatlar) erginlerine karşı test edilmiştir. Özellikle *B. bassiana*, *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *L. lecanii* ve *M. anisopliae*'nin bazı izolatları 7-9 gün içinde böceklerde %100 ölüm meydana getirmiştir. Ayrıca, 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyondaki *B. bassiana* (TR-55-034) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin *A. dispar* ve *X. germanus*'un ergin popülasyonunda etkili bir şekilde horizontal olarak yayıldığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak, *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019) ile muamele edilen fındık dallarına maruz bırakılan *X. germanus* dişileri sırasıyla %50, %50, %20 ve %60 oranında enfekteli yumurtaya sahip olmuştur. İlginç olarak, *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* ve *T. atroviride* ile muamele edilmiş fındık dallarına maruz kalan *X. germanus* dişilerinin galerilerinde simbiyotik fungus gelişmesi ve böcek yumurtası görülmemiştir. Ayrıca, *T. hamatum* uygulanmış dallardaki böcek galerilerinde ise kontrole kıyasla daha seyrek simbiyotik fungus gelişmesi ve daha az yumurta bulunmuştur. Bu sonuçlar, bazı entomopatojenik fungus ve *Trichoderma* türlerinin ambrosia böceklerini kontrol için alternatif bir yöntem olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Aralık 2019, 133 sayfa.

Anahtar kelimeler; Türkiye, Fındık, Ambrosia böcekleri, Biyolojik mücadele, Entomopatojen fungus, *Trichoderma* spp.

ABSTRACT

Doctoral Dissertation

ISOLATION AND EFFICACY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AND SOME *TRICHODERMA* SPECIES AGAINST AMBROSIA BEETLES IN HAZELNUT ORCHARDS

Rahman KUSHIYEV

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Celal TUNCER

In this study, the efficacy of entomopathogenic fungi and *Trichoderma* species against ambrosia beetles in hazelnut orchards were tested. For this purpose, entomopathogenic fungi were isolated from dead adults of ambrosia beetles (*Anisandrus dispar* Fabricius, *Xylosandrus germanus* Blandford and *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg) collected from hazelnut orchards in Samsun, Ordu, Giresun, Düzce and Sakarya provinces between 2018-2019, and identified using molecular tools. As a result, 47 isolates belonging to *Beauveria bassiana*, *B. pseudobassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Isaria farinosa*, *Lecanicillium lecanii*, *Purpureocillium lilacinum*, *Clonostachys rosea* and *Metarhizium anisopliae* species were obtained. The isolates at 1×10^8 spores mL⁻¹ concentration were tested against adults of *A. dispar*, *X. germanus* and *X. saxesenii* (selected some isolates). Especially, some isolates of *B. bassiana*, *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *L. lecanii* and *M. anisopliae* caused 100% death of beetles within 7-9 days. It is also determined that *B. bassiana* (TR-55-034) and *M. anisopliae* (TR-55-019) at 1×10^8 spores mL⁻¹ were effectively spread horizontally on the adult populations of *A. dispar* and *X. germanus*. In addition, *X. germanus* females in the hazelnut branches treated with *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) and *M. anisopliae* (TR-55-019) have 50%, 50%, 20% and 60% infected eggs, respectively. Interestingly, the galleries of *X. germanus* females exposed to branches treated with *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* and *T. atroviride* had no symbiotic fungus growth and eggs. Also, some galleries in the branches treated with *T. hamatum* had very sparse mycelial growth of symbiotic fungus and fewer broods compared to the control. These results indicate that some entomopathogenic fungi and *Trichoderma* species may be used to effectively control ambrosia beetles as an alternative method.

December 2019, 133 pages

Keywords; Turkey, Hazelnut, Ambrosia beetles, Biological control, Entomophogenic fungi, *Trichoderma* spp.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın tez konusu olarak belirlenmesi ve yürütülmesi aşamasında yaptığı katkıların yanı sıra, eğitim hayatım boyunca gösterdiği hoşgörü ve desteği ile yardımlarını esirgemeyen, yetişmemde büyük emeği olan danışmanım Prof. Dr. Celal TUNCER'e teşekkürü bir borç bilirim. Lisans eğitimine adım attığım günden bugüne kadar maddi ve manevi her türlü desteği benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. İzzet AKÇA ve Doç. Dr. İslam SARUHAN'a ve yaptığım tüm çalışmalarda bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren ve her zaman desteğini hissettiğim kıymetli hocam Doç. Dr. İsmail ERPER'e minnettarlığımı belirtirim. Ayrıca, entomopatojen fungusların moleküler tanımlanmasında yaptığı yardımlardan dolayı değerli hocam Doç. Dr. Göksel ÖZER'e ve tezime yaptıkları katkılarından dolayı Prof. Dr. Ümit SERDAR ve Doç. Dr. Faruk AKYAZI hocalarıma çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımda her zaman yanımda olan saygıdeğer arkadaşım Araş. Gör. İsmail Oğuz ÖZDEMİR'e, okul hayatım boyunca yaptıkları yardımlardan dolayı Araş. Gör. Elif Yıldırım, Araş. Gör. Şeyma YİĞİT ve Araş. Gör. Furkan Harun BAŞI'ya, gerek labaratuvar gerekse de arazi çalışmalarımda her türlü desteği benden esirgemeyen arkadaşlarım doktora öğrencisi Yeter KÜÇÜKTOPÇUK'a, yüksek lisans öğrencileri Mehmet YILDIRIM, Çağlar KALKAN ve Şirin AVCI'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Lisans, yüksek lisans ve doktora eğitim hayatım boyunca emeği geçen Bitki Koruma Bölümü hocalarıma çok teşekkür ederim. Ayrıca hayatımın her aşamasında desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmayı destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisine (PYO.ZRT.1904.18.016), yüksek lisans ve doktora eğitim hayatım boyunca 2215 Lisansüstü Burs programı ile burs sağladığı için Türkiye Bilim ve Teknoloji Kurumu'na (TÜBİTAK) teşekkür ederim.

Aralık 2019, Samsun

Rahman KUSHİYEV

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1. Türkiye’deki Fındık Üretimi ve Önemi.....	5
2.2. Fındık Zararlıları	7
2.3. Ambrosia Böcekleri	9
2.3.1. <i>Anisandrus dispar</i>	11
2.3.2. <i>Xylosandrus germanus</i>	15
2.3.3. <i>Xyleborinus saxesenii</i>	17
2.4. Ambrosia Böcekleri ile Mücadele.....	19
2.5. Entomopatojen Funguslar	21
2.5.1. Entomopatojen fungusların enfeksiyonu	24
2.5.2. Entomopatojen fungusların toksinleri	26
2.5.3. Entomopatojen fungusların kullanımı	26
2.5.4. Entomopatojen fungusların avantaj ve dezavantajları	27
2.5.5. Entomopatojen fungusların moleküler karakterizasyonu.....	27
2.6. <i>Trichoderma</i> Türleri.....	28
2.7. Entomopatojen ve <i>Trichoderma</i> Fungusların Ambrosia Böcekleri ile Mücadelede Kullanımı.....	29
2.8. Kaynak Özetleri.....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	37
3.1. Materyal.....	37
3.1.1. Çalışmada kullanılan ambrosia böcekleri.....	37
3.1.2. Çalışmada kullanılan funguslar.....	37
3.2. Yöntem.....	38
3.2.1. Böcek örneklerinin toplanması.....	38
3.2.2. Entomopatojen fungusların izolasyonu ve saklanması	41
3.2.3. Entomopatojen fungusların moleküler karakterizasyonu	43
3.2.3.1. DNA izolasyonu	43
3.2.3.2. PCR çalışması	44
3.2.3.3. Elektroforez ve sekanslama	44
3.2.4. Etkinlik testlerinde kullanılan sağlıklı böceklerin elde edilmesi.....	45
3.2.5. Patojenite testleri.....	45
3.2.5.1. Spor süspansiyonlarının hazırlanması.....	45
3.2.5.2. Sporlarının canlılık testi.....	46
3.2.5.3. Ticari preparatların hazırlanması.....	47
3.2.5.4. Entomopatojen fungusların izolatlarının ve preparatlarının ambrosia böceklerine uygulanması.....	48
3.2.5.5. Entomopatojen fungusların farklı konsantrasyondaki etkisi... ..	49
3.2.5.6. Mikozis oranının belirlenmesi.....	50

3.2.6. Entomopatojen fungusların <i>A. dispar</i> ve <i>X. germanus</i> erginleri arasındaki horizontal yayılımı	50
3.2.7. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakması üzerine etkisi	51
3.2.7.1. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'a karşı etkisinin ikili kültür yöntemi ile belirlenmesi	51
3.2.7.2. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi	53
3.2.8. <i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi	53
3.2.8.1. <i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'a karşı etkisinin ikili kültür yöntemi ile belirlenmesi	53
3.2.8.2. <i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi	55
3.2.9. İstatistik Analizi	56
4. BULGULAR	57
4.1. Fungus İzolatları	57
4.2. İzolatların Moleküler Karakterizasyonu	59
4.3. Patojenite Sonuçları	69
4.3.1. Entomopatojen fungusların <i>A. dispar</i> 'a etkisi	69
4.3.2. Entomopatojen fungusların <i>X. germanus</i> 'a etkisi	80
4.3.3. Entomopatojen fungusların <i>X. saxesenii</i> 'ye etkisi	90
4.3.4. Entomopatojen fungusların farklı konsantrasyonlardaki etkisi	93
4.4. Fungus İzolatlarının <i>A. dispar</i> ve <i>X. germanus</i> Erginleri Arasındaki Horizontal Yayılımı	97
4.5. Entomopatojen Fungusların Simbiyotik Fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un Gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un Yumurta Bırakmasına Etkisi	101
4.5.1. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un besi ortamında gelişmesine etkisi	101
4.5.2. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi	102
4.6. <i>Trichoderma</i> Türlerinin Simbiyotik Fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un Gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un Yumurta Bırakmasına etkisi	105
4.6.1. <i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un besi ortamında gelişmesine etkisi	105
4.6.2. <i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi	106
5. TARTIŞMA	113
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	124
7. KAYNAKLAR	125
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
cm	Santimetre
dk	Dakika
ha	Hektar
L	Litre
LC ₅₀	Popülasyonun %50'sini öldüren konsantrasyon
LT ₅₀	Popülasyonun %50'sini öldüren zaman
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mm ²	Milimetre kare
NaCl	Sodyum klorür
ph	Çözeltinin asitlik, bazlık derecesini ifade eden ölçü birimidir.
sn	Saniye
uv	Ultraviyole

KISALTMALAR

ABD	Amerikan Birleşik Devleti
ARSEF	Entomopatojen fungus koleksiyonu
Bp	Baz çifti
DNA	Deoksiribonükleik asit
EF1- α	Uzama Faktörü 1
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
GYT	<i>Galleria</i> tuzak yöntemi
ITS	İç transkript spacer
NCBI	Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDA	Patates dekstroz agar
SPSS	Sosyal Bilimlerde İstatistik Paketi
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Fındık bahçesinden bir görünüm.....	7
Şekil 2.2.	Ambrosia böceklerinin kuruttuğu fındık ocakları.....	10
Şekil 2.3.	<i>Anisandrus dispar</i> dişisi (a) ve erkeği (b).....	11
Şekil 2.4.	<i>Anisandrus dispar</i> 'ın galerisi ve içindeki erginleri.....	12
Şekil 2.5.	<i>Anisandrus dispar</i> 'ın galerisi içerisindeki simbiyotik fungus gelişimi ve zararlının larvaları.....	13
Şekil 2.6.	<i>Anisandrus dispar</i> 'ın giriş deliği.....	14
Şekil 2.7.	<i>Anisandrus dispar</i> 'ın giriş deliğinden çıkan akıntı.....	14
Şekil 2.8.	<i>Xylosandrus germanus</i> dişisi (a) ve erkeği (b).....	15
Şekil 2.9.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'un giriş delikleri.....	16
Şekil 2.10.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'un giriş deliklerinden çıkan talaşları.....	17
Şekil 2.11.	<i>Xyloborinus saxesenii</i> dişisi.....	18
Şekil 2.12.	<i>Xyleborinus saxesenii</i> 'nin oyuk şeklindeki galerisi.....	19
Şekil 2.13.	Rebell-Rosso tipi kırmızı kanatlı tuzak.....	20
Şekil 2.14.	Fungal enfeksiyon şeması.....	25
Şekil 3.1.	Örneklerin alındığı illerin haritası.....	38
Şekil 3.2.	Ambrosia böcekleri ile enfeksiyonlu fındık dalları.....	39
Şekil 3.3.	<i>Anisandrus dispar</i> 'ın galeri içerisindeki erginleri.....	39
Şekil 3.4.	Doğal fungal enfeksiyondan ölmüş ambrosia böcek erginleri; <i>Xylosandrus germanus</i> dişileri (a ve b), <i>Anisandrus dispar</i> dişisi (c) ve <i>Xyleborinus saxesenii</i> dişisi (d).....	41
Şekil 3.5.	Ölü ambrosia böceklerinden gelişen funguslar.....	42
Şekil 3.6.	Enfeksiyonlu ambrosia böceklerinden gelişen funguslar.....	42
Şekil 3.7.	Entomopatojen fungus kültürleri; TR-55-034 (a) ve TR-55-018 (b) izolatu.....	46
Şekil 3.8.	Fungus sporların kazınması (a) ve süzülerek misel parçalarının uzaklaştırılması (b).....	46
Şekil 3.9.	TR-55-019 izolatının çimlenen sporları.....	47
Şekil 3.10.	Çalışmada kullanılan ticari preparatlar.....	47

Şekil 3.11.	İlaçlama kulesi (Potter sprey tower).....	49
Şekil 3.12.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'dan izole edilen simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un gelişimi.....	52
Şekil 3.13.	<i>Trichoderma asperellum</i> 'un besiyerinde gelişmesi.....	54
Şekil 3.14.	<i>Trichoderma atroviride</i> 'nin besiyerinde gelişmesi.....	54
Şekil 3.15.	<i>Trichoderma</i> denemesinden bir görünüm.....	55
Şekil 4.1.	İzolatlardan elde edilen ITS bölgelerine ait PCR ürünleri, DNA markör: Lambda DNA/HindIII Marker (Thermo Scientific, USA).....	62
Şekil 4.2.	İzolatlara ait neighbor-joining dendrogramı, bootstrap 1000 tekrarlı olarak.....	63
Şekil 4.3.	<i>Beauveria bassiana</i> (TR-55-034)'nın PDA besiyerinde gelişmesi.....	67
Şekil 4.4.	<i>Beauveria pseudobassiana</i> (TR-55-024)'nın PDA besiyerinde gelişmesi.....	67
Şekil 4.5.	<i>Isaria fumosorosea</i> (TR-54-007)'nin PDA besiyerinde gelişmesi.....	68
Şekil 4.6.	<i>Lecanicillium lecanii</i> (TR-55-033)'nin PDA besiyerinde gelişmesi.....	68
Şekil 4.7.	<i>Metarhizium anisopliae</i> (TR-55-019)'nin PDA besiyerinde gelişmesi.....	69
Şekil 4.8.	<i>Purpureocillium lilacinum</i> (TR-52-010)'un PDA besiyerinde gelişmesi.....	69
Şekil 4.9.	<i>Beauveria bassiana</i> izolatları uygulanmış <i>Anisandrus dispar</i> erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).....	71
Şekil 4.10.	TR-55-034 izolatının <i>Anisandrus dispar</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	71
Şekil 4.11.	TR-28-012 izolatının <i>Anisandrus dispar</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	72
Şekil 4.12.	<i>Beauveria pseudobassiana</i> izolatları uygulanmış <i>Anisandrus dispar</i> erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).....	73
Şekil 4.13.	TR-52-001 izolatının <i>Anisandrus dispar</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	74
Şekil 4.14.	<i>Isaria fumosorosea</i> ve <i>I. farinosa</i> izolatları uygulanmış <i>Anisandrus dispar</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	75
Şekil 4.15.	<i>Lecanicillium lecanii</i> izolatları uygulanmış <i>Anisandrus dispar</i> erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).....	76
Şekil 4.16.	<i>Purpureocillium lilacinum</i> izolatları uygulanmış <i>Anisandrus dispar</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	77
Şekil 4.17.	<i>Clonostachys rosea</i> izolatları uygulanmış <i>Anisandrus dispar</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	78
Şekil 4.18.	<i>Metarhizium anisopliae</i> izolatları uygulanmış <i>Anisandrus dispar</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	79
Şekil 4.19.	TR-55-019 izolatının <i>Anisandrus dispar</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	79

Şekil 4.20.	Preparatların uygulanması sonucu <i>Anisandrus dispar</i> erginlerin günlük ölüm oranları.....	80
Şekil 4.21.	<i>Beauveria bassiana</i> izolatları uygulanmış <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).....	81
Şekil 4.22.	TR-55-006 izolatının <i>Xylosandrus germanus</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	82
Şekil 4.23.	<i>Beauveria pseudobassiana</i> izolatları uygulanmış <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	83
Şekil 4.24.	TR-55-024 izolatının <i>Xylosandrus germanus</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	84
Şekil 4.25.	<i>Isaria fumosorosea</i> ve <i>I. farinosa</i> izolatları uygulanmış <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	85
Şekil 4.26.	TR-55-016 izolatının <i>Xylosandrus germanus</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	85
Şekil 4.27.	TR-55-018 izolatının <i>Xylosandrus germanus</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	86
Şekil 4.28.	<i>Lecanicillium lecanii</i> izolatları uygulanmış <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).....	87
Şekil 4.29.	<i>Purpureocillium lilacinum</i> izolatları uygulanmış <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	88
Şekil 4.30.	<i>Clonostachys rosea</i> izolatları uygulanmış <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	88
Şekil 4.31.	<i>Metarhizium anisopliae</i> izolatları uygulanmış <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	89
Şekil 4.32.	Ticari preparatların uygulanması sonucu <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	90
Şekil 4.33.	Entomopatojen fungus izolatları uygulanmış <i>Xyleborinus saxesenii</i> erginlerinin günlük ölüm oranları.....	91
Şekil 4.34.	<i>Isaria fumosorosea</i> (TR-55-002) izolatının <i>Xyleborinus saxesenii</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	92
Şekil 4.35.	<i>Isaria fumosorosea</i> (TR-55-016) izolatının <i>Xyleborinus saxesenii</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	92
Şekil 4.36.	<i>Beauveria pseudobassiana</i> (TR-55-004) izolatının <i>Xyleborinus saxesenii</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	93
Şekil 4.37.	<i>Metarhizium anisopliae</i> (TR-55-019) izolatının <i>Xyleborinus saxesenii</i> ergini üzerindeki gelişmesi.....	93
Şekil 4.38.	TR-55-034 izolatının farklı konsantrasyonlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine karşı günlük ölüm oranları. a; 1×10^4 , b; 1×10^5 , c; 1×10^6 , d; 1×10^7 ve e; 1×10^8 spor mL ⁻¹	95
Şekil 4.39.	TR-55-019 izolatının farklı konsantrasyonlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine karşı günlük ölüm oranları. a; 1×10^4 , b; 1×10^5 , c; 1×10^6 , d; 1×10^7 ve e; 1×10^8 spor mL ⁻¹	95

Şekil 4.40.	TR-55-034 izolatinın farklı konsantrasyonlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerine karşı günlük ölüm oranları. a; 1×10^4 , b; 1×10^5 , c; 1×10^6 , d; 1×10^7 ve e; 1×10^8 spor mL^{-1}	97
Şekil 4.41.	TR-55-019 izolatinın farklı konsantrasyonlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerine karşı günlük ölüm oranları. a; 1×10^4 , b; 1×10^5 , c; 1×10^6 , d; 1×10^7 ve e; 1×10^8 spor mL^{-1}	97
Şekil 4.42.	TR-55-034 izolatu ile %25 bulaştırma oranında uygulanan <i>Anisandrus dispar</i> erginleri.....	99
Şekil 4.43.	TR-55-019 izolatu ile %25 bulaştırma oranında uygulanan <i>Anisandrus dispar</i> erginleri.....	100
Şekil 4.44.	Petri ortamında gelişen simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.) ve TR-55-034 izolatu.....	102
Şekil 4.45.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'un sağlıklı (a) ve TR-55-002 izolatu ile enfekteli yumurtası (b).....	104
Şekil 4.46.	Simbiyotik fungus üzerinde gelişen <i>Trichoderma asperellum</i> (4 gün sonra).....	106
Şekil 4.47.	Simbiyotik fungus üzerinde gelişen <i>Trichoderma asperellum</i> (10 gün sonra).....	106
Şekil 4.48.	Kontrol daldaki <i>Xylosandrus germanus</i> 'un galerisinde gelişen simbiyotik fungus (beyaz tabaka).....	19
Şekil 4.49.	Kontrol daldaki <i>Xylosandrus germanus</i> 'un galerisindeki yumurtaları.....	110
Şekil 4.50.	Kontrol daldaki <i>Xylosandrus germanus</i> 'un galerisindeki larvaları.....	110
Şekil 4.51.	<i>Trichoderma hamatum</i> uygulanmış daldaki <i>Xylosandrus germanus</i> 'un galerisinde çok seyrek gelişen simbiyotik fungus (beyaz tabaka).....	111
Şekil 4.52.	<i>Trichoderma hamatum</i> uygulanmış daldaki <i>Xylosandrus germanus</i> 'un galerisinde çok seyrek gelişen simbiyotik fungus (beyaz tabaka).....	111
Şekil 4.53.	<i>Trichoderma asperellum</i> uygulanmış daldaki <i>Xylosandrus germanus</i> 'un galerisi ve simbiyotik fungus yerine gelişen <i>Trichoderma asperellum</i> (yeşilimsi renkte).....	112
Şekil 4.54.	<i>Trichoderma asperellum</i> uygulanmış daldaki <i>Xylosandrus germanus</i> 'un galerisi ve simbiyotik fungus yerine gelişen <i>Trichoderma asperellum</i> (yeşilimsi renkte).....	112

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Dünya Fındık Üretimi (Kabuklu/Ton).....	6
Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan ambrosia böceklerinin alındığı bölgelerin bilgileri, türleri ve ölü birey sayıları.....	40
Çizelge 3.2.	Preparatların ticari ismi, içerdiği fungus türü, hedef zararlısı ve tavsiye dozu	48
Çizelge 4.1.	Fungus izolatlarının kodu, toplanma tarihi, izole edildiği böcek ve alındığı yer bilgileri.....	58
Çizelge 4.2.	İzolatlardan elde edilen DNA'ların konsantrasyon, kalite ve çalışmalar için gerekli seyreltme verileri.....	60
Çizelge 4.3.	Entomopatojen fungus türleri ve GenBank erişim numaraları.....	65
Çizelge 4.4.	Entomopatojen fungus türlerinin taksonomik bilgileri (Mycobank'tan alınmıştır).....	66
Çizelge 4.5.	Entomopatojen fungus cinslerinin illere göre dağılımı.....	66
Çizelge 4.6.	Entomopatojen fungus cinslerinin konukçulara göre dağılımı.....	67
Çizelge 4.7.	<i>Beauveria bassiana</i> izolatlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	70
Çizelge 4.8.	<i>Beauveria pseudobassiana</i> izolatlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	73
Çizelge 4.9.	<i>Isaria fumosorosea</i> ve <i>I. farinosa</i> izolatlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	75
Çizelge 4.10.	<i>Lecanicillium lecanii</i> izolatlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	76
Çizelge 4.11.	<i>Purpureocillium lilacinum</i> izolatlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	77
Çizelge 4.12.	<i>Clonostachys rosea</i> izolatlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	77
Çizelge 4.13.	<i>Metarhizium anisopliae</i> izolatlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	78
Çizelge 4.14.	<i>Beauveria bassiana</i> izolatlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	81
Çizelge 4.15.	<i>Beauveria pseudobassiana</i> izolatlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	83
Çizelge 4.16.	<i>Isaria fumosorosea</i> ve <i>I. farinosa</i> izolatlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	85

Çizelge 4.17.	<i>Lecanicillium lecanii</i> izolatlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	87
Çizelge 4.18.	<i>Purpureocillium lilacinum</i> izolatlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	88
Çizelge 4.19.	<i>Metarhizium anisopliae</i> izolatlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	89
Çizelge 4.20.	Entomopatojen fungus izolatlarının <i>Xyleborinus saxesenii</i> erginlerine uygulanması sonucu LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	91
Çizelge 4.21.	TR-55-034 izolatının farklı konsantrasyonlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginleri üzerindeki LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	94
Çizelge 4.22.	TR-55-019 izolatının farklı konsantrasyonlarının <i>Anisandrus dispar</i> erginleri üzerindeki LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	94
Çizelge 4.23.	TR-55-034 izolatının farklı konsantrasyonlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginleri üzerindeki LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	96
Çizelge 4.24.	TR-55-019 izolatının farklı konsantrasyonlarının <i>Xylosandrus germanus</i> erginleri üzerindeki LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.....	96
Çizelge 4.25.	Entomopatojen fungusların <i>Anisandrus dispar</i> erginleri arasındaki horizontal yayılımı.....	99
Çizelge 4.26.	Entomopatojen fungusların <i>Xylosandrus germanus</i> erginleri arasındaki horizontal yayılımı.....	101
Çizelge 4.27.	Entomopatojen fungus izolatlarının simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.) üzerindeki antagonistik etki derecesi.....	102
Çizelge 4.28.	Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi.....	104
Çizelge 4.29.	<i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.) üzerindeki antagonistik derecesi.....	105
Çizelge 4.30.	<i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un 6 gün sonra böcek galerisindeki gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi.....	108
Çizelge 4.31.	<i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un 12 gün sonra böcek galerisindeki gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi.....	108
Çizelge 4.32.	<i>Trichoderma</i> türlerinin simbiyotik fungus (<i>Ambrosiella</i> sp.)'un 18 gün sonra böcek galerisindeki gelişmesine ve <i>X. germanus</i> 'un yumurta bırakmasına etkisi.....	109

1. GİRİŞ

Dünya fındık üretiminin yaklaşık %66'sı Türkiye'de gerçekleşmektedir. Türkiye, 728 bin hektar alanda fındık üretimini yapmakta ve yıllık ortalama 515 bin ton fındık üretmektedir. Dünya fındık ihracatının %75'ini gerçekleştiren Türkiye, ihracat geliri ile de ekonomimize önemli katkı sağlamaktadır. Ayrıca, Türkiye'de yaklaşık 500.000 aile geçimini fındık üretimi ile sağlamaktadır (Hekimoğlu ve Altındağ, 2019).

Türkiye, dünyanın en büyük fındık üreticisi olmasına rağmen, dekar verimi ABD, Gürcistan, İtalya ve Azerbaycan gibi üretici ülkelerden daha düşüktür. Birçok tarımsal nedenin yanı sıra, hastalıklar ve zararlılar da fındık verimini etkileyen önemli unsurların başında gelmektedir. Fındık bahçelerinde zararlı birçok böcek bulunmakla birlikte, özellikle yazıcı böcekler (Coleoptera; Curculionidae; Scolytinae) bunlar arasında önemli bir yere sahiptir (Tuncer ve Ecevit, 1997). Fındık bahçelerinde birçok yazıcı böcek türü tespit edilmesine rağmen, sadece 3 tanesinin ekonomik olarak zararlı olduğu belirtilmiştir (Tuncer vd, 2017). Fındık bahçelerinde bulunan yazıcı böcekler ağaçların kabuk dokusunda yaşayan kabuk böcekleri ve odun dokusunda yaşayan ambrosia böcekleri olmak üzere 2 ekolojik gruptan oluşmaktadır (Selmi, 1998). Kabuk böcekleri genellikle ağaçların kabuk dokusunda açtıkları galerilerde yaşamakta ve besince zengin floem ile kabuk içinde beslenmektedir (Harrington, 2005). Bunun aksine, ambrosia böcekleri ise ağaçların odun dokusunda galeriler açmakta ve sadece bu galerilerde yetiştirdikleri simbiyotik funguslar üzerinde beslenmektedir (Harrington, 2005). Fındık bahçelerinde görülen kabuk böcekleri yoğun ve yaygın olarak bulunmamakla birlikte, genellikle ölü bitkilere saldırdıkları için önemli bir zarar oluşturmamaktadır (Tuncer vd, 2017). Bunun aksine, ambrosia böceklerine ait *Anisandrus dispar* Fabricius, *Xylosandrus germanus* Blandford ve *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg türleri fındığın en önemli zararlılarından biri olarak görülmektedir (Tuncer vd, 2017). Bu böcekler, özellikle de taban suyu yüksek ve ormanlık alanlara yakın yerlerdeki bahçelerde fındığın dallarını kurutmak suretiyle ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Tuncer ve Ecevit, 1997).

Ambrosia böcekleri biyolojik dönemlerinin büyük bir kısmını konukçu ağaçların odun dokusu içerisinde geçirmekte ve sadece ergin dönemi yeni konukçulara dağılması sırasında belirli bir süre için odun dokusunu terk ederek dışarı çıkmaktadır

(Rudinsky, 1962). Bu nedenle pratik anlamda mücadele için hedef seçilebilecek tek biyolojik dönem ergin dönemidir. Bu böceklerin fındık bahçelerindeki ergin çıkışları Mart ayı içinde başlayarak Ekim ayı ortalarına kadar devam etmektedir. Bu durum ambrosia böceklerinin mücadelesini oldukça zorlaştırmaktadır. Halen fındık bahçelerindeki ambrosia böceklerinin mücadelesinde kimyasal, kültürel ve biyoteknik yöntemler çok sınırlı oranda kullanılmakta ve bu böceklerin yeni yerlere yayılması ve zararı önlenememektedir. Fındık bahçelerinde ambrosia böceklerine karşı kimyasal mücadele yapılmak istenildiğinde en az 5-6 defa ilaç uygulamasına gerek duyulmakta olup, çoğu üretici bu maliyeti karşılayacak durumda değildir (Tuncer vd, 2016). Diğer taraftan, fındık bahçelerinin çoğu yerde evler ile iç içe olması ve yeraltı sularının içme suyu olarak kullanılmasından dolayı, yoğun ilaç uygulaması çevredeki diğer canlılar ve insan sağlığı açısından ciddi risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, fındık bahçelerinde bulunan bu zararlılara karşı etkili ve çevreye zararsız alternatif mücadele yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Çevre ve insan sağlığı açısından biyolojik mücadele güvenli bir yöntem olup, özellikle de entomopatojen funguslar bu yöntem içerisinde önemli yer tutmaktadır (Zimmerman, 2007). Ayrıca, Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel özellikleri entomopatojen fungusların sıcaklık ve nem istekleri bakımından oldukça elverişlidir.

Entomopatojen funguslar tarımsal zararlı olan birçok böceğin baskı altında tutulmasında önemli rol oynayan etmenlerdir (Roy vd, 2006). Bu fungusların yaklaşık 90 cinse giren 700'den fazla türü bulunmakta olup, zararlı böceklere karşı yaygın olarak kullanılan türlerin çoğu *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* ve *Lecanicillium* cinslerine aittir (Goettel vd, 2005). Halen *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorokin, *Isaria fumosorosea* Wize ve *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams gibi entomopatojen funguslardan üretilen yaklaşık 150 ticari preparat bulunmakta ve bunlar çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Goettel vd, 2005).

Entomopatojen fungusların etkili olabilmeleri için konukçuları ile doğrudan temas halinde olmasına gerek yoktur. Bunların uygulandığı yüzeylere böceğin sonradan temas etmesiyle de bu funguslar konukçularına penetre olup hastalık oluşumuna neden olabilmektedir (Castrillo vd, 2013). Bu sebeple, ambrosia böcekleri gibi saklı yerlerde yaşayan böcekler entomopatojen funguslar için ideal bir hedeftir. Ancak, şu ana kadar ambrosia böceklerine karşı entomopatojen fungusların etkisi

üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır. Önceki çalışmalarda *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosorosea* gibi entomopatojen fungusların *A. dispar*, *X. germanus*, *Xylosandrus crassiusculus* Motschulsky, *Xyloborus glabratus* Eichhoff ve *Trypodendron lineatum* Olivier türlerine karşı oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Prazak, 1991; 1997; Castrillo vd, 2011; 2013; Carrillo vd, 2015; Kushiyeve vd, 2018; Tuncer vd, 2019). Buna ek olarak, bu fungusların sadece uygulandıkları erginlerin ölümüne neden olmadığı, aynı zamanda enfeksiyonlu erginler tarafından galerilere taşındığı ve galeri içerisindeki diğer bireyleri ve bıraktıkları yumurtaları da enfekte edebildiği tespit edilmiştir (Prazak, 1991; 1997; Castrillo vd, 2011; 2013). Özetle, ambrosia böceklerine karşı etkili bir mücadele yönteminin olmaması, entomopatojen fungusların bu böceklere hem doğrudan ve dolaylı etkilerinin olması hem de fındık yetiştiriciliği yapılan bölgelerin iklimsel özelliklerinin fungus gelişimi için oldukça elverişli olması nedeniyle daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Ambrosia böcekleri odun dokusunda galeriler oluşturmakta ve bu galerilere simbiyotik fungus aşılacaktır (Harrington, 2005). Aşılana bu funguslar birkaç gün içerisinde gelişmeye başlamakta ve bunu takiben dişi böcekler yumurtalarını bırakmaktadır (Beaver, 1989). Genellikle çıkan larvalar ve erginlerin her ikisi de sadece galerilerde gelişen bu funguslar üzerinde beslenmektedir (Biedermann, 2007). İlginç olarak, ambrosia böcekleri biyolojileri gereği yumurtalarını sadece galerilerine aşıladıkları simbiyotik fungusun gelişmesinden sonra bırakmaktadır (French ve Roeper, 1972; Weber ve McPherson, 1983a; Weber ve McPherson, 1984; Ranger vd, 2016a). Ambrosia böceklerinde görülen bu özellik etkili ve güvenli bir alternatif mücadele için oldukça önemlidir. Çünkü simbiyotik fungusların gelişmesinin önlenmesiyle, dişilerin yumurta bırakması engellenecek veya bıraksa dahi çıkan larvalar besin yetersizliğinden ölecek ve dolayısıyla popülasyonları oldukça azalacaktır (Castrillo vd, 2013). Bu amaçla kullanılacak en uygun etmenler ise mikoparazitik funguslar olarak bilinen ve birçok bitki patojeni funguslara karşı başarıyla kullanılan *Trichoderma* türleridir. Fakat *Trichoderma* türlerinin simbiyotik funguslara ve böceklerin yumurta bırakmasına etkisi sadece birkaç çalışmada incelenmiştir (Castrillo vd, 2013; 2016). Bu nedenle, *Trichoderma* türlerinin fındık bahçelerinde zararlı ambrosia böceklerine karşı etkisinin incelenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak, etkili ve güvenli bir kontrol sağlamak amacıyla gerek entomopatojen fungusların gerekse de *Trichoderma* türlerinin fındık bahçelerinde zararlı ambrosia böceklerine karşı etkilerinin detaylı bir şekilde araştırılması önemli hale gelmiştir. Bu nedenle, bu çalışmada fındık bahçelerindeki ambrosia böceklerinden entomopatojen fungus türleri izole edilmiştir. Aynı zamanda, daha detaylı çalışmalar yapılarak bu entomopatojen fungusların ambrosia böcekleri üzerindeki etki düzeyleri saptanmıştır. Bunun sonucunda, gelecek dönemde ambrosia böceklerine karşı yapılacak yerli ticari preparatlar için altyapı hazırlanmış olacaktır. Benzer olarak, bu çalışmada yerli *Trichoderma* türleri de ambrosia böceklerine karşı mücadele olanaklarının değerlendirilmesi amacıyla test edilmiştir.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Türkiye'deki Fındık Üretimi ve Önemi

Fındık, Dünya'da özellikle 36-41 kuzey enlemlerinde uygun iklim koşullarında yetiştirilmektedir. Dünya fındık üretiminin büyük bölümü Türkiye'de gerçekleştirilmektedir. Türkiye'nin fındık üretim alanı 728 bin hektardır. Türkiye'den sonra sırasıyla İtalya, İspanya ve ABD başta olmak üzere diğer ülkelerde yaklaşık 200 bin hektar alanda fındık üretimi yapılmaktadır. Son 5 yıllık ortalama veriler dikkate alındığında ülkemiz üretimi 515 bin ton, diğer ülkelerin üretimi ise 288 bin ton civarındadır (Çizelge 2.1). Dünya fındık üretiminin yaklaşık %66'sını gerçekleştiren Türkiye'yi sırasıyla İtalya, Gürcistan ve Azerbaycan takip etmektedir. Ülkemiz ekonomisinde önemli bir yeri olan fındık, ihracat geliri ile de ekonomimize önemli katkı sağlamaktadır. Dünya fındık ihracatının %75'ini gerçekleştiren Türkiye, 2017 yılında 320 bin ton kabuklu fındık ihraç etmiş ve bunun neticesinde 1 milyar 71 milyon 641 bin dolar döviz girdisi elde edilmiştir. Diğer önemli fındık ihracatçısı ülkeler ise İtalya, Gürcistan, ABD, Azerbaycan ve Almanya'dır (Hekimoğlu ve Altındeğer, 2019).

Çizelge 2.1. Dünya Fındık Üretimi (Kabuklu/Ton) (Hekimoğlu ve Altındeğer, 2019)

Ülkeler	Yıllar				
	2014	2015	2016	2017	2018
Türkiye	450.000	646.000	420.000	675.000	515.000
İtalya	80.000	125.000	130.000	90.000	115.000
Gürcistan	38.000	50.000	60.000	80.000	80.000
Azerbaycan	30.000	40.000	50.000	65.000	70.000
ABD	35.000	27.850	39.000	27.000	50.000
İspanya	18.000	22.000	18.000	19.000	16.000
Şili	13.000	12.000	18.000	25.000	25.000
İran	10.000	10.000	10.000	12.000	12.000
Çin	5.000	5.000	5.500	6.000	9.000
Fransa	9.600	9.600	9.600	4.050	4.050
Diğerleri	5.400	5.400	15.400	25.450	26.450

Türkiye’de yaklaşık 500.000 aile işletmesi fındık üretimi ile geçimini sağlamaktadır. Bu yaklaşık olarak 4 milyon insanın, diğer bir deyişle nüfusun yaklaşık olarak %5’inin doğrudan ve dolaylı olarak geçimini fındıktan sağladığı veya fındık üretimi ile ilgili olduğu anlamına gelmektedir. İhracat ile sağlanan gelir yanında nüfusun önemli bir kısmı için istihdam kaynağı olması nedeniyle fındık, Türkiye için stratejik bir ürün konumundadır (Anonim, 2011).

Fındık, Türkiye’de yoğun olarak Karadeniz ve kısmen de Marmara Bölgesi’nde yetiştirilmektedir. Fındık yetiştiriciliğinin ruhsatlı olarak yapıldığı iller Artvin, Rize, Trabzon, Giresun, Gümüşhane, Ordu, Samsun, Sinop, Kastamonu, Bartın, Bolu, Tokat, Zonguldak, Düzce, Sakarya ve Kocaeli’dir. Özellikle de fındık üretiminin %85’i Ordu, Samsun, Giresun, Sakarya ve Düzce illerinde gerçekleştirilmektedir (Anonim, 2018). Fındık üretiminin en fazla yapıldığı il ise Ordu’dur.



Şekil 2.1. Fındık bahçesinden bir görünüm

2.2. Fındık Zararlıları

Dünya’da fındık üretim alanı ve miktarı bakımından en önde gelen ülke olmamıza rağmen birim alandan alınan ürün miktarı diğer fındık üreten ülkelere göre oldukça düşüktür. Ülkemizdeki fındık veriminin düşük olmasının başlıca nedenleri arasında; fındığın çok sayıda zararlısının olması ve bu zararlılar ile mücadelenin tam ve etkili bir şekilde yapılamaması yer almaktadır. Fındık yetiştirilen alanlarda yaklaşık 150’den fazla böcek ve akar türü tespit edilmiş, ancak bunların 10-15 tanesinin fındık üretilen bölgelere ve yıllara göre ekonomik zarar meydana getirdiği bildirilmiştir (Işık vd, 1987; Tuncer ve Ecevit, 1997). Bunlardan başlıcaları; fındık kurdu (*Curculio nucum* L.: Coleoptera, Curculionidae), fındık yeşil kokarcası (*Palomena prasina* L.: Hemiptera, Pentatomidae), Amerikan beyaz kelebeği (*Hyphantria cunea* Drury: Lepidoptera, Erebiidae), kozalak akarı (*Phytoptus avellana* Nalepa; Trombidiformes, Phytoptidae) ve yazıcı böcekler (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae)’dir. Fındığın önemli zararlılarından birisi olan fındık kurdunun zararı bölgelere ve yıllara göre değişmekle beraber fındık üreticilerinden eskiye oranla daha az şikâyet gelmektedir. Ancak doğrudan meyve üzerinde zararlı olması ve ekonomik öneminin yüksek olması nedeniyle fındık kurdu hâlen verimi etkileyen önemli zararlıların başında gelmektedir. Bu nedenle pek çok üretici hemen her yıl erginlere karşı mayıs-haziran aylarında 1-2

ilaçlama yapmaktadır (Tuncer vd, 2018a). Fındıkta hem verimi hem de kaliteyi etkileyen, yaygınlık ve yoğunluğu en yüksek böcek türlerinden birisi olan fındık yeşil kokarcası ülkemizde fındık yetiştirilen alanların tamamında ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Tuncer vd, 2005). Bu zararlı erken dönemde yaptığı zarar ile verimi etkilerken meyve içi gelişimi esnasında yapmış olduğu beslenme ile lekeli iç ve buruşuk iç gibi meyve kalitesini etkileyen zararlara neden olmaktadır. Lekeli iç şeklindeki zarar belirli bir düzeye kadar ayıklanmasına rağmen bazıları dışarıdan belli olmadığı için ihraç edilen üründe şikâyetlere sebep olmaktadır. Bu zararlı, görülen ve tahmin edilenin üzerinde bir kayba neden olmaktadır. Genel olarak üreticilerin çok az bir kısmı bu zararlıya karşı mücadele etmektedir (Tuncer vd, 2018a). Amerikan beyaz kelebeği ise genellikle 4-6 yılda bir salgın oluşturmakta ve yaprakları tüketerek zararlı olmaktadır. Ancak bu türün Batı Karadeniz ve Marmara Bölgesi'nde, özellikle Sakarya ve Düzce illerinde son yıllarda yüksek popülasyon oluşturduğu gözlenmektedir. Sorun olduğu yıl ve yerlerde mekaniksel ve ilaçlı mücadele yapılmaktadır (Tuncer vd, 2018a). Zararı çoğu zaman gözden kaçırılmakla beraber verimi tehdit eden en önemli zararlılardan biri de kozalak akarıdır. Bu zararlı özellikle Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaygın ve yoğun olarak görülmektedir. Bu akarlar tarafından zarar gören gözlerden meyve oluşmamakta ve bazı büyüme anormallikleri görülmektedir. Bu zararlıya karşı zarar gören gözlerin toplanması şeklinde uygulanan mekaniksel mücadele etkili olmakta, ayrıca ilkbaharda nisan sonu mayıs başlarında ilaçlı mücadele yapılmaktadır (Tuncer vd, 2018a).

Diğer taraftan, önemli zararlılardan birisi olan yazıcı böcekler de fındık dal ve ocaklarını kurutmak süretiyle ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Fındık bahçelerinde yazıcı böcek sorununun artışına neden olan birçok faktör bulunmaktadır (Tuncer vd, 2016). Fındık bahçelerinin orman alanları ile yakın olması, polifag olan bu böceklerin neden olduğu sorunu artırmaktadır. Yine, fındık üreticilerinin çoğunun fındık üretimine gerekli özeni göstermemesi sonucu bakımsız bahçeler oluşmakta ve bu bahçelerdeki zayıf düşmüş ağaçlar yazıcı böceklerin başlıca hedefi haline gelmektedir. Benzer olarak, deniz seviyesine yakın alanlarda drenaj ve taban suyu sorunu bitkileri stres altına almakta ve bu bitkiler yazıcı böcekler için uygun konukçu durumuna geçmektedir.

Fındık bahçelerinde bulunan yazıcı böcekler kabuk dokusunda yaşayan kabuk böcekleri ve odun dokusunda yaşayan ambrosia böcekleri olmak üzere iki ekolojik

gruptan oluşmaktadır. Kabuk böcekleri genellikle besince zengin olan floem ile kabuk dokusunda beslenmektedir (Harrington, 2005). Fındık bahçelerinde *Hypoborus ficus* Erichson, *Hypothenemus eruditus* Westwood, *Lymantor coryli* Perris, *Taphrorychus hirtellus* Eichhoff ve *Taphrorychus ramicola* Reitter olmak üzere 5 kabuk böcek türü belirlenmiştir. Bu kabuk böcekleri fındık bahçelerinde çok nadir bulunmakta ve aynı zamanda bulunduğu yerlerde de sadece ölü bitkilere saldırdıklarından dolayı önemli zarar oluşturmamaktadır (Tuncer vd, 2017). Bu nedenle, fındık bahçelerinde asıl zararı ambrosia böcekleri olarak bilinen yazıcı böcek türleri oluşturmaktadır.

2.3. Ambrosia Böcekleri

Kabuk böceklerinin floem dokusunda yaşamasının aksine, ambrosia böcekleri ağaçların odun (ksilem) dokusunda yaşamakta ve “ambrosia” olarak adlandırılan bazı funguslarla simbiyotik ilişki oluşturmaktadır (Harrington, 2005). Ambrosia böceklerinin dişileri ağaçların odun dokusunda simbiyotik fungusların gelişebilmesi için uygun galeriler açmakta ve “mycangia” olarak bilinen özel fungus keselerinde taşıdıkları bu fungusları açtıkları galerilere aşılama yapmaktadır (Batra, 1967). Böcek tarafından aşılama yapılan simbiyotik funguslar birkaç gün içerisinde gelişme göstermekte ve fungusların gelişim göstermeye başladıkları andan itibaren dişi böcekler yumurtalarını galeri içerisine bırakmaya başlamaktadır (Beaver, 1989). Genellikle çıkan larvalar ve erginlerin her ikisi de sadece galerilerde gelişen bu funguslar üzerinde beslenmektedir (Biedermann, 2007). Simbiyotik funguslar, böceklerin beslenebilmesi için bol miktarda misel oluşturmakta ve aminoasitler, vitaminler ve steroidler gibi önemli organik moleküller sağlamaktadır (Beaver, 1989). Ambrosia böcekleri ve onların fungus simbiyotları zorunlu bir ilişki geliştirmiş olup, her ikisi de birbiri olmadan hayatta kalamamaktadır (Beaver, 1989).

Yaklaşık 3400 türe sahip ambrosia böcekleri Dünya'nın birçok bölgesinde bulunmakta olup, orman ve meyve ağaçlarında önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Hulcr ve Dunn, 2011). Bu böceklerin binlercesi bir ağaçta bulunabilmekte ve zamanla çevredeki diğer ağaçlara da yayılarak büyük zararlar oluşturmaktadır. Bununla birlikte, bazı türlerin sıklıkla *Fusarium*, *Ophiostoma*, *Ceratocystiopsis* ve *Ceratocystis* gibi oldukça önemli bitki patojeni fungusların vektörlüğünü yaptığı belirtilmiştir (Castrillo vd, 2011; Pleotz vd, 2013). Ayrıca, ambrosia böceklerinin kendi zararlarının yanında simbiyotik ilişkili olduğu funguslarının da (*Ambrosiella*

spp., *Raffaelea* spp.) ağaçların besin ve su akışını bozarak büyümesini etkilediği ve hatta bazı fungus türlerinin ağaçların kurumasında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Fraedrich vd, 2008; Castrillo vd, 2011).

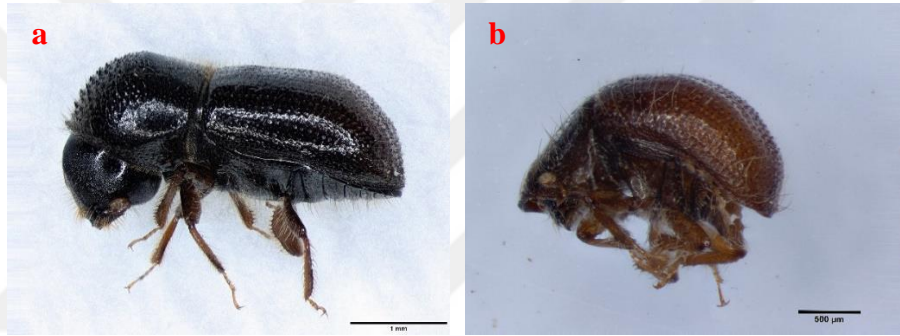
Ambrosia böceklerine ait *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* türleri fındık bahçelerinde yoğun ve yaygın olarak bulunmakta ve fındık ocaklarını kurutarak ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Ak vd, 2005; Tuncer vd, 2017) (Şekil 2.2). Bunlardan, *A. dispar* ve *X. saxesenii* fındık bahçelerinde uzun yıllardan beri önemli zararlılar olarak bilinmektedir (Ak vd, 2005). *X. germanus* ise Türkiye’de ilk defa 2011 yılında tespit edilmiş olup (Ak vd, 2011; Knizek, 2011), kısa süre içerisinde fındık bahçelerinde önemli bir zararlı haline gelmiştir (Şahin ve Özden, 2015; Tuncer vd, 2017).



Şekil 2.2. Ambrosia böceklerinin kuruttuğu fındık ocakları

2.3.1. *Anisandrus dispar*

Anisandrus dispar 1792 yılında Fabricius tarafından tanımlanmış olup, sinonimi olan *Xyleborus dispar*'da isimlendirmede sıkça kullanılmaktadır. Dişi ile erkeği arasında belirgin bir morfolojik fark vardır. Dişi 3.2-3.6 mm uzunluğunda ve vücut erkeklerden daha uzun ve silindriktir (Tuncer vd, 2017). Dişilerde, elytra koyu kahverengimsi, üzerinde uzunlamasına paralel çıkıntılardan oluşan çizgiler mevcuttur. Anten topuzlu ve topuzun uç yarısı ince kıllı, anten topuzu ve antenin birinci halkası erkeğinkinden daha uzundur (Şekil 2.3a). Erkek, 1.8-2.1 mm uzunluğunda dişiden çok daha küçük ve kuvvetle dışbükey bir gövdeye sahiptir. Erkeklerde thorax nispeten küçük ve abdomen kısadır (Şekil 2.3b). Bu türün tanımı, teşhis anahtarı ve fındık bahçelerindeki diğer scolytidlerden ayrımı Tuncer vd (2017)'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

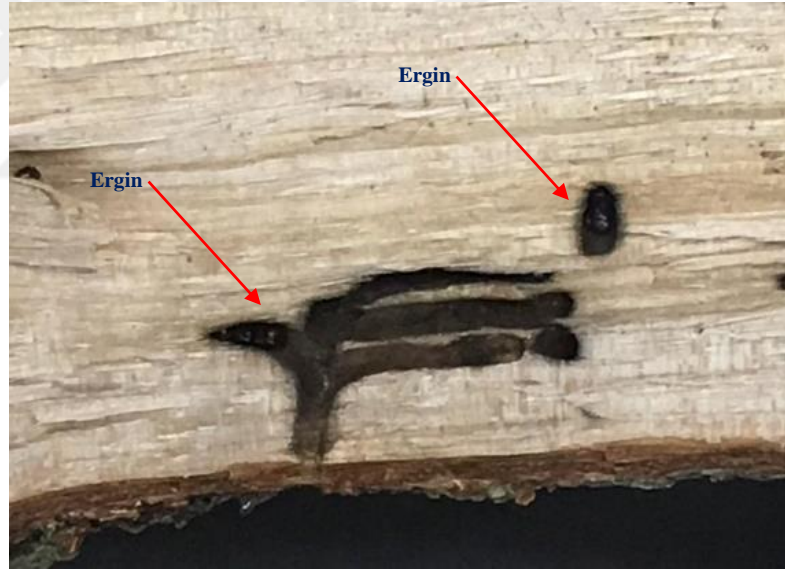


Şekil 2.3. *Anisandrus dispar* dişisi (a) ve erkeği (b)

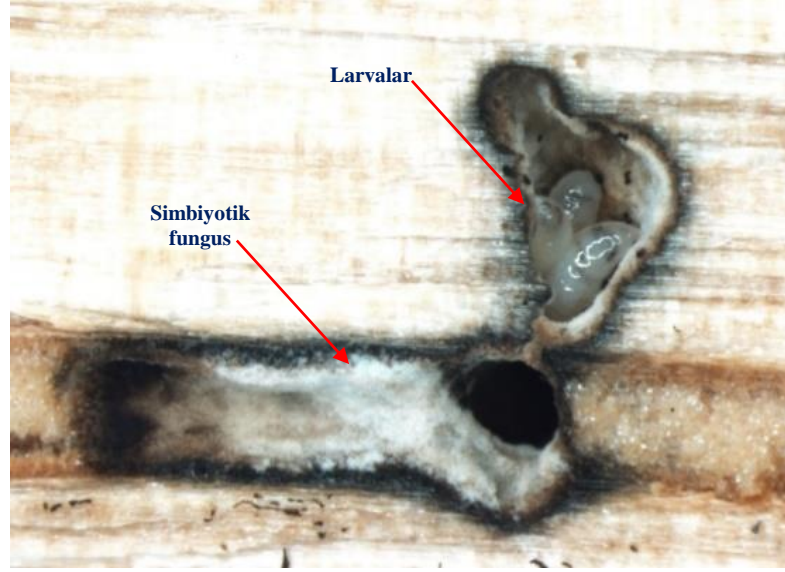
Bu tür, ülkemizde Adana, Ankara, Artvin, Bartın, Bolu, Bursa, Çorum, Denizli, Düzce, Giresun, Gümüşhane, Hatay, İstanbul, Karabük, Kastamonu, Muğla, Niğde, Ordu, Rize, Sakarya, Samsun, Trabzon, Zonguldak illerinde bulunmaktadır (Tuncer vd, 2017). Aynı zamanda, Asya (Ermenistan, Azerbaycan, Çin, Gürcistan), Afrika (Cezayir, Fas, Tunus), Avrupa (Avusturya, Belçika, Bosna-Hersek, Bulgaristan, Hırvatistan, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Fransa, Almanya, İtalya, Rusya) ve Kuzey Amerika (Kanada, ABD) ülkelerinde de yaygınlık göstermektedir (CABI, 2019).

Anisandrus dispar polifag bir türdür (özellikle de elma, kayısı, şeftali, armut, kiraz) ve yılda bir nesil vermektedir (Schvester, 1954). Zararlı kışı galeriler (Şekil 2.4) içinde ergin olarak geçirmekte ve mart ayından itibaren hava sıcaklıkları günlük ortalama 18-20°C'ye ulaştınca bu galerileri terk ederek fındık dallarına saldırılmaktadır. İlkbahar döneminde (mart-nisan-mayıs) meydana gelen çıkışlar sürekli olmamakta, sıcaklığa bağlı olarak ani çıkışlar şeklinde olmaktadır. Yaz dönemindeki çıkışlar

(hazirandan sonraki) ise temmuz başından ağustos ortasına veya eylül ortasına kadar devam etmektedir (Ak vd, 2005). Uçma kabiliyetleri olmayan erkek bireyleri hayatlarının tamamını genellikle galeri içerisinde geçirmektedir. Ancak, erkeklerin bazen ağaçlara saldırabileceği ve diğer galerilerdeki kışlaklardan çıkan dişilerle çiftleşmek için dışarı çıkabileceği belirtilmiştir (Schneider-Orelli, 1913). Işık (1984), galerilerde 10-15'lik gruplar halinde yumurtaların bulunduğunu yumurtlama süresinin doğal koşullarda 55 gün, laboratuvar koşullarında ise 51 gün sürdüğünü belirtmiştir. İlk yumurtaların galerilerde görülmesinden yaklaşık iki hafta sonra ilk larva ve ilk larvanın görülmesinden yaklaşık bir hafta sonra da pupalar görülmüştür. Diğer ambrosia böceklerinde olduğu gibi, *A. dispar*'da mesonotum kısmında yer alan mycangia kesesinde simbiyotik fungusu taşımakta ve bu fungusu ağaçlarda açtıkları galerilere aşılama ve yetiştirmektedir (Batra, 1967). Larvalar odun üzerinde beslenmemekte, sadece galerilerde yetişen simbiyotik fungus türü olan *Ambrosiella hartigii* Batra üzerinde beslenmektedir (Şekil 2.5) (Batra, 1963).



Şekil 2.4. *Anisandrus dispar*'ın galerisi ve içindeki erginleri



Şekil 2.5. *Anisandrus dispar*'ın galerisi içerisindeki simbiyotik fungus gelişimi ve zararlının larvaları

Anisandrus dispar genellikle sekonder bir tür olarak bilinmesine rağmen, bazı durumlarda sağlıklı ağaçlara saldıran primer tür haline gelebilmektedir (Kühnholz vd, 2003). Bu zararlı, fındık bahçelerinde en yaygın ve en yoğun olarak bilinen türdür (Ak, 2016). Erginleri genellikle fındık ocaklarındaki sürgünlerin dip kısmından girerek (Şekil 2.6) galeri açmaya başlamakta ve giriş deliğinden bitki özsuyunun akmasına neden olmaktadır (Şekil 2.7). Fındık bahçelerinde bu akıntılar kolayca görülebilmektedir. İletim demetlerinin zarar görmesi ve özsu akıntısı nedeniyle bitki zayıf düşmekte ve zamanla kurumaktadır. Fındık dışında, bazı yıllarda kivi omcalarını da kurutarak önemli zararlara neden olmaktadır (Ak vd, 2011).



Şekil 2.6. *Anisandrus dispar*'ın giriş deliği



Şekil 2.7. *Anisandrus dispar*'ın giriş deliğinden çıkan akıntı

2.3.2. *Xylosandrus germanus*

Xylosandrus germanus'un dişileri yaklaşık 2.0-2.3 mm boyunda ve 0.95-1.01 mm eninde kahverengi veya siyah renkli silindirik böceklerdir (Tuncer vd, 2017). Pronotumu parlak siyah ve yuvarlaktır. Elytra ise koyu kahverengi, üzeri boyuna paralel nokta şeklinde çukurcuklardan oluşan şeritlidir. Anten topuzlu, anten ve bacaklar açık kahverengidir (Şekil 2.8a) (Ak vd, 2011). *X. germanus*'un erkek bireyleri dişi bireylerine göre daha küçük olup, yaklaşık 1.0-1.8 mm'dir (Şekil 2.8b) (Tuncer vd, 2017). Bu türün tanımı, teşhis anahtarı ve fındık bahçelerindeki diğer scolytidlerden ayrımı Tuncer vd (2017)'de ayrıntılı olarak verilmiştir.



Şekil 2.8. *Xylosandrus germanus* dişisi (a) ve erkeği (b)

Xylosandrus germanus, Doğu Asya kökenli bir tür olup, zamanla birçok ülkeye ve bölgeye yayılmıştır. Bu zararlının, ABD'nin birçok eyaletindeki orman ve meyve ağaçlarının en önemli zararlıları arasında olduğu tespit edilmiştir (Oliver ve Mannion, 2001). Avrupa'da ilk olarak 1951 yılında Almanya'da tespit edilmiş ve zaman içinde Belçika, Fransa, İtalya, Türkiye dahil 20 Avrupa ülkesine yayılmıştır (Galko vd, 2019). Ülkemizde daha önce kivi bahçelerinde tespit edilen (Ak vd, 2011; Knizek, 2011) zararlının surveyler esnasında 2013 yılından beri Düzce, Ordu ve Samsun fındık bahçelerinde yoğun olarak bulunduğu ve zarar yaptığı belirlenmiştir (Şahin ve Özden, 2015; Tuncer vd, 2016).

Xylosandrus germanus geniş bir konukçu yelpazesine sahip olup, 51 familyaya ait 200 türden daha fazla odunsu bitkide zarar oluşturmaktadır (Weber ve McPherson, 1983a). Bu zararlı, konukçu ağaçlarda yaklaşık 1 mm çapında delik açıp (Şekil 2.9) odun dokusuna girerek galeriler oluşturmakta ve bu galerilere mycangia keselerinde taşıdıkları simbiyotik fungusu (*Ambrosiella grosmanniae* C. Mayers, McNew & T.C.

Harr.) bulaştırmaktadır (Mayers vd, 2015). Dişiler genellikle yumurtalarını galerisindeki simbiyotik fungusun gelişmesinden sonra bırakmaktadır (Weber ve McPherson, 1983b). Yumurtadan çıkan larvalar ve erginler sadece bu fungus üzerinde beslenmektedir (Ranger vd, 2016b). Açılan giriş deliklerinin ağız kısmında kürdan kalınlığında ve yaklaşık 1-2 cm boyunda biriken talaşlar bir süre burada kalmaktadır (Şekil 2.10). İlkbaharda açılan deliklerden çoğu zaman bitki özsuyu sızdığı gözlenebilmektedir. *X. germanus*, kışı galeriler içerisinde ergin (genellikle döllenmiş dişi) olarak geçirmekte ve ilkbaharda havaların 18-20°C'ye ulaşmasıyla görülmeye başlamaktadır (Weber ve McPherson 1983b). Bu türün fındık bahçelerinde kış ayları boyunca ergin olarak galerilerde bulunduğu, ergin çıkışlarının ise Mart ayının ortalarında başlayıp, Ekim ayına kadar devam ettiği tespit edilmiştir (Tuncer vd, 2016). Bazı scolytid türlerinde olduğu gibi, *X. germanus*'un da cinsiyet oranı yaklaşık 10 dişi/1 erkektir (Weber ve McPherson 1983b). Erkekleri uçmamakta ve nadir olarak galeri dışına çıkmakta, dolayısıyla asıl zararı dişileri yapmaktadır. Bu zararlının yumurta, larva, pupa dönemlerinin tamamı ve ergin dönemlerinin ise büyük kısmı galeri içerisinde geçmektedir. Bu zararlı, bulunduğu bölgeye ve konukçu bitki türüne göre değişmekle birlikte 1-4 arasında döl vermektedir (Ranger vd, 2016b).



Şekil 2.9. *Xylosandrus germanus*'un giriş delikleri



Şekil 2.10. *Xylosandrus germanus*'un giriş deliklerinden çıkan talaşları (Tuncer vd, 2016)

Xylosandrus germanus, fındık bahçelerinde yaygın ve yoğun olarak bulunmaktadır. Yoğun bulaşmanın görüldüğü bahçelerde zaman içinde bitkide geriye doğru ölüm gözlenmektedir. Zararlı, stres altında kalmış ve zayıflamış ağaçlara saldırabildiği gibi sağlıklı görünüme sahip bitkilere de saldırmaktadır. Bu böceğin saldırdığı her ağaçta ölüm meydana gelmemesine rağmen, ağaçlar büyüme, gelişme ve verim bakımından oldukça olumsuz etkilenmektedir. Ayrıca, kendi zararının yanı sıra konukçu bitkilerin ölümüne neden olabilecek bazı bitki patojeni fungal hastalıkları da (*Ophiostoma*, *Fusarium* vb.) taşıyabildiği bildirilmektedir (Pleotz vd, 2013; Ranger vd, 2016a; Tuncer vd, 2018b).

2.3.3. *Xyleborinus saxesenii*

Xyleborinus saxesenii'nin ergin uzunluğu 2.0-2.4 mm olup, ince, uzun ve silindriktir (Tuncer vd, 2017). Elytra genellikle koyu kahverengi veya siyahtır ve pronotum rengi açık kahverengiden koyu kahverengiye kadar değişebilmektedir (Şekil 2.11). *X. saxesenii*'nin tanımı, teşhis anahtarı ve fındık bahçelerindeki diğer scolytidlerden ayrımı Tuncer vd (2017)'de ayrıntılı olarak verilmiştir.



Şekil 2.11. *Xyloborinus saxesenii* dişisi

Bu tür, dünyadaki ılıman bölgelerde bulunan en yaygın ambrosia böceklerinden biridir. Avrasya'ya özgü olan bu zararlı, son 200 yıl boyunca Afrika, Güney ve Kuzey Amerika bölgelerine yayılmıştır. Diğer ambrosia böcekleri gibi, bu tür de konukçu ağaçların odun dokusunda galeriler oluşturmakta ve bu galerilere simbiyotik fungus aşılama (*Ambrosiella sulfurea* Batra), bu fungusun gelişmesini takiben dişiler yumurta bırakmakta ve çıkan larvalar ile erginler bu fungus üzerinde beslenmektedir. Diğer iki türden farklı olarak, bu türün larvaları simbiyotik fungusun yanı sıra fungusla bulaşık odun dokusunda da beslenmekte ve bu şekilde galerilerini genişleterek kendi alanlarını oluşturmaktadır (Roeper, 1995). Bu beslenme *Xyleborinus* cinsine ait türler için tipiktir ve aynı zamanda bu durum galeride bulunan bireyler arasındaki rekabeti azaltmaktadır (De Fine Licht ve Biedermann, 2012). *X. saxesenii*'nin galerileri düzensizdir ve çoğu diğer *Xyleborini*'de olduğu gibi galeriden ziyade düz oyuklara benzerdir (Şekil 2.12) (Roeper, 1995). Birçok ambrosia böceği gibi, *X. saxesenii* yılda birden fazla nesil vermektedir.



Şekil 2.12. *Xyleborinus saxesenii*'nin oyuk şeklindeki galerisi

Bu tür de bazı bölgelerdeki fındık bahçelerinde yoğunluk oluşturmaktadır (Ak, 2016; Tuncer vd, 2017). Bu zararlı, daha önceki birçok çalışmada *Lymantor coryli* olarak hatalı tarif edilmiş olup, daha sonra Tuncer vd (2017) tarafından detaylı bir şekilde tanımlanmıştır. *X. saxesenii*, fındık bahçelerinde diğer türler ile birlikte bulunmakta ve zarar yapmaktadır. Fındık dallarında giriş deliği, *A. dispar*'da olduğu gibi sürgün diplerinde değil, dallar üzerinde herhangi bir yerde olabilmektedir. Bu tür, giriş deliği çevresine taze ve ince talaş bırakmasıyla çok kolay tanınabilmektedir.

2.4. Ambrosia Böcekleri ile Mücadele

Biyolojik dönemlerinin büyük bir kısmını odun dokusu içerisinde geçirmesi ve sadece ergin döneminde belli bir süre için odun dokusunu terk ederek dışarı çıkması nedeniyle ambrosia böcekleriyle mücadele etmek oldukça zordur (Oliver ve Mannion, 2001). Aynı zamanda, ambrosia böcekleri zararının üreticiler tarafından fark edilmesi ilk başlarda gözden kaçmakta ve fark edildikten sonra ise genellikle mücadele için geç kalınmış olmaktadır. Halen fındık bahçelerinde zarar yapan ambrosia böceklerine karşı kültürel yöntemler, Rebell-Rosso tipi kırmızı kanatlı tuzaklar (Şekil 2.13) ve kimyasal mücadele kullanılmaktadır. Kültürel yöntem olarak bulaşık dal ve ocaklar ile zayıf düşmüş ağaçların kesilmesi önerilmekte olup, bu uygulama bazı üreticiler tarafından kısmen yapılırken, bazı üreticiler ise fındık ağaçlarını kesmeye razı gelmemektedir. Diğer taraftan, bu böceklere karşı kitlesel tuzaklama amacıyla kullanılan Rebell-Rosso tipi kırmızı kanatlı tuzaklar da maliyeti nedeniyle sınırlı sayıda üretici tarafından tercih edilmektedir. Ayrıca, ergin çıkışlarının yoğun olduğu

Mart-Haziran döneminde bölge yoğun yağış almakta, bu durum ise tuzaklarda çekici olarak kullanılan Etanolun sık sık değiştirilmesini gerektirmekte ve böylece işgücü ve kimyasal maliyetini artırmaktadır (Tuncer vd, 2016). Buna ek olarak, bu tuzakların bazı zararsız veya faydalı türleri de çektiği ve ölümüne neden olduğu tespit edilmiştir (Speranza vd, 2009).



Şekil 2.13. Rebell-Rosso tipi kırmızı kanatlı tuzak (Tuncer vd, 2016)

Fındık bahçelerinde, ambrosia böceklerinin mücadele için hedef seçilen ergin döneminin çıkışı 7-8 ay gibi uzun bir zaman dilimini kapsamaktadır. Bu yüzden, en az 5-6 ilaçlama gerekmekte olup, çoğu üretici bu maliyeti karşılayacak durumda değildir (Tuncer vd, 2016). Diğer bir sorun ise, fındık bahçelerinin Türkiye’de yaklaşık 728 bin hektarlık bir alanı kapladığı düşünüldüğünde, ülke çapındaki insektisit tüketiminin önemli oranda artacaktır. Bilindiği üzere, kimyasal ilaçlar faydalı canlılar ve çevre için risk oluşturmakta, hedef organizmalarda direnç problemine yol açmakta, besin zinciri yoluyla insanlara ulaşmakta ve insanlarda ciddi sorunlara neden olmaktadır (Eilenberg vd, 2001). Özellikle de fındık bahçelerinin genellikle evlere

yakın yerler olması ve yeraltı sularının içme suyu olarak kullanılmasından dolayı, yoğun olarak uygulanacak kimyasal ilaçlar çevredeki diğer canlılar ve insan sağlığı açısından ciddi risk taşımaktadır (Tuncer vd, 2016). Buna ek olarak, fındık yetiştiriciliği alanlarının büyük bölümünün deniz kenarına yakın olması bu riski daha da arttırmaktadır. Sonuç olarak, Türkiye'nin en önemli ihracat ürünlerinden biri olan fındıkta oldukça büyük kayıplara neden olan ambrosia böcekleri ile mücadele edilmesinin mutlak şart olması ve aynı zamanda mücadele edilirken de çevre ve insan sağlığı için güvenli olması kaçınılmazdır. Oysa çevre ve insan sağlığı için oldukça güvenli olan biyolojik mücadele kimyasal ilaçların yaratabileceği birçok problemi ortadan kaldırmaktadır. Son yıllarda, gelişmiş ülkelerde biyolojik mücadele ön planda tutulmakta ve daha detaylı çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar neticesinde geliştirilen biyolojik mücadele etmenleri birçok ülkede ticari olarak üretilmekte ve tarımsal zararlılara karşı kullanılmaktadır.

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu kontrol altında tutmak amacıyla parazitoit, predatör ve mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd, 2001). Mikrobiyal mücadele ise bakteri, fungus, protozoa, virüs ve nematod gibi mikroorganizmaların kullanılması ile yapılan biyolojik mücadeledir (Eilenberg vd, 2001). Ambrosia böceklerinin hayatlarının büyük çoğunluğunu galeri içerisinde geçirmesinden dolayı parazitoit ve predatör gibi biyolojik mücadele etmenlerinden ziyade entomopatojen olarak bilinen mikroorganizmalar, özellikle de entomopatojen funguslar ön plana çıkmaktadır. Aynı zamanda, entomopatojen funguslar diğer entomopatojenlerin aksine yara veya giriş deliklerine ihtiyaç duymadan direkt olarak böcek kütikulasından giriş yapabildiklerinden dolayı bu böceklerin mücadelesi için oldukça uygun etmenlerdir. Diğer önemli bir avantajı ise, bu funguslar böceklerin enfekteli bireyleri tarafından diğer sağlıklı bireylere veya galerilerine taşınarak diğer biyolojik dönemlerine de etkili olabilmektedir (Castrillo vd, 2013). Buna ek olarak, Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel özellikleri entomopatojen fungusların sıcaklık ve nem istekleri bakımından oldukça elverişlidir.

2.5. Entomopatojen Funguslar

Entomopatojen funguslar birçok zararlı böcek popülasyonunun baskı altında tutulmasında önemli rol oynayan biyolojik mücadele etmenleridir (Roy vd, 2006). Bu fungusların mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmakta

olduğu bilinmektedir. Son yıllarda kimyasal ilaçların insan ve çevreye olan olumsuz etkilerinden dolayı daha da önemli hale gelmiş ve zararlıların mücadelesinde kullanımı giderek yaygınlaşmıştır. Entomopatojen bakteri ve virüslerden farklı olarak, bu funguslar konukçu böceklerin kütikulasından doğrudan girerek enfekte edebilme özelliğine sahiptir. Bu özellik entomopatojen fungusları bakteri ve virüs gibi biyolojik mücadele etmenleri için uygun olmayan bazı böceklerin mücadelesinde öncü aday konumuna getirmektedir (Sevim vd, 2015).

Fungi alemi içerisinde bulunan yaklaşık 90 cinse ait 700'den fazla entomopatojen fungus türü yer almaktadır (Goettel vd, 2005). Zararlı böceklere karşı yaygın olarak kullanılan türlerin çoğu *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* ve *Lecanicillium* cinslerine aittir. Özellikle *M. anisopliae* ve *B. bassiana* en çok bilinen türler olup, önemli bir yere sahiptir (Zimmermann, 2007a; b). Günümüzde Dünya çapında *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosorosea* ve *L. muscarium* gibi türlerden oluşan yaklaşık 150 ticari preparat bulunmakta ve bunlar çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Goettel vd, 2005).

Beauveria bassiana, *Beauveria* cinsinin en yaygın türlerinden biridir. Bu fungus, birçok böcek zararlısının mücadelesinde mikoinsektisit olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Goettel vd, 2005). Dünya genelinde ılıman ve tropik bölgelerde enfekte olmuş böceklerde yaygın olarak bulunmaktadır. *B. bassiana* böceklerde "beyaz muskadin" olarak bilinen bir hastalığa sebep olmaktadır. Şimdiye kadar *B. bassiana*'nın 707 adet farklı konağa sahip olduğu bildirilmiştir (Zimmermann, 2007a). Bu sayı 521 cins, 149 familya ve 15 takımı kapsamaktadır. *B. bassiana* Brezilya'da muz kurduna (*Cosmopolites sordidus*), Çin'de çam tırtılına (*Dendrolimus* spp.), Avrupa'da ise afitlere ve mısır kurduna (*Ostrinia nubilalis*) karşı başarıyla kullanılmaktadır (Goettel vd, 2005). Aynı zamanda, *B. bassiana*'nın bazı bitki patojeni fungusların misel gelişimini engeleyebildiği tespit edilmiştir (Ownley vd, 2008). Bu nedenle, bazı araştırmacılar tarafından endofitik funguslar olarak da adlandırılmaktadır. Bu tür gelişmeye başladıktan itibaren 2-5 gün arasında beyaz renkte olup daha sonra beyaz ya da sarımsı beyaz renk almasıyla tanınmaktadır (Rehner vd, 2011).

Metarhizium cinsindeki türler, geniş bir konukçu yelpazesine sahip olan entomopatojen funguslardır. *Metarhizium* türleri 200'den fazla böcek türünü enfekte edebilme özelliği nedeniyle tarımsal zararlılar ile mücadelede çok önemlidir. *Metarhizium* türleri arasında morfolojik benzerliklerin çok olması nedeniyle

moleküler düzeyde kullanılan teknikler ile tanımlamalara gidilmiştir (Bischoff vd, 2009). *Metarhizium* türleri konukçu böceğin ölümü sonrası oluşan sporları sayesinde kolayca tanınabilmektedir. Çoğalma aşamasında beyaz görünen bu funguslar spor oluşumunda ve olgunlaşma aşamasında beyazdan sarı ve daha sonra yeşil renge dönüşmektedir (Tanada ve Kaya, 1993). Özellikle de bu cins içerisinde bulunan *M. anisopliae* zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde çok yaygın olarak kullanılmakta ve aynı zamanda bu fungustan geliştirilen pek çok ticari preparat bulunmaktadır. *M. anisopliae*'nin konukçu aralığı *B. bassiana*'dan daha sınırlı olmasına rağmen, bu türün de birçok böcek takımına ait böcekleri enfekte ettiği bildirilmiştir (Zimmermann, 2007b).

Lecanicillium spp., daha önceleri *Verticillium lecanii* olarak bilinen Hypocreales takımına ait entomopatojen funguslardır (Zimmermann, 2008). Taksonomik olarak rDNA bölgelerindeki sekans farklılıklarına göre çeşitli türlere ayrılmıştır (Zare ve Gams, 2001). Bu türler *L. muscarium*, *L. lecanii*, *L. longisporum*, *L. attenuatum* ve *L. nodulosum*'dur (Brodeur, 2012). *L. muscarium*, artropodların bilinen etkili bir patojenidir. Bu tür yaprak bitleri, beyazsinekler, thrips ve diğer böceklerden izole edilmiştir (Goettel vd, 2008; Saruhan vd, 2015). *L. lecanii* fungusu genellikle beyaz renkte pamuğumsu gelişme göstermesi ile tanınmaktadır.

Isaria fumosorosea ve *I. farinosa* dünyanın her yerinde yaygın olarak bulunan böcek patojenleridir. *I. fumosorosea*, yaklaşık olarak 30 yıldan beri *Paecilomyces fumosoroseus* olarak bilinmiş ve ardından *Isaria* cinsine transfer edilmiştir (Zimmermann, 2008). Bu funguslar ılıman ve tropik bölgelerde yaygındır ve çok sayıda konukçuya sahiptir. Ana kaynağı böcekler olmasına rağmen topraktan da izole edilebilmektedir (Samson, 1974). *B. bassiana* ile karşılaştırıldığında, *I. farinosa* ve *I. fumosorosea*'nın konukçu aralığı nispeten daha dardır (Zimmermann, 2008). Bu funguslar nispeten hızlı gelişir. İlk başlarda beyaz gelişir daha sonra yün gibi havai miselyumları sarı ya da krem rengine dönmektedir (Samson, 1974).

Purpureocillium lilacinum (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, HywelJones & Samson (Sordariomycetes: Hypocreales) tipik bir toprak kökenli fungustur. Tropikal bölgelerde böcekler üzerinden izole edilmiştir. Dünyanın birçok bölgesinde kaydedilmiş, fakat daha çok sıcak bölgelerde rastlanmaktadır (Domsch vd, 1980). *P. lilacinum*'un nematodlarda önemli bir patojen olduğu ve nematodların biyolojik mücadelesinde başarı ile kullanıldığı bilinmektedir. Bu fungusun bitki zararlısı

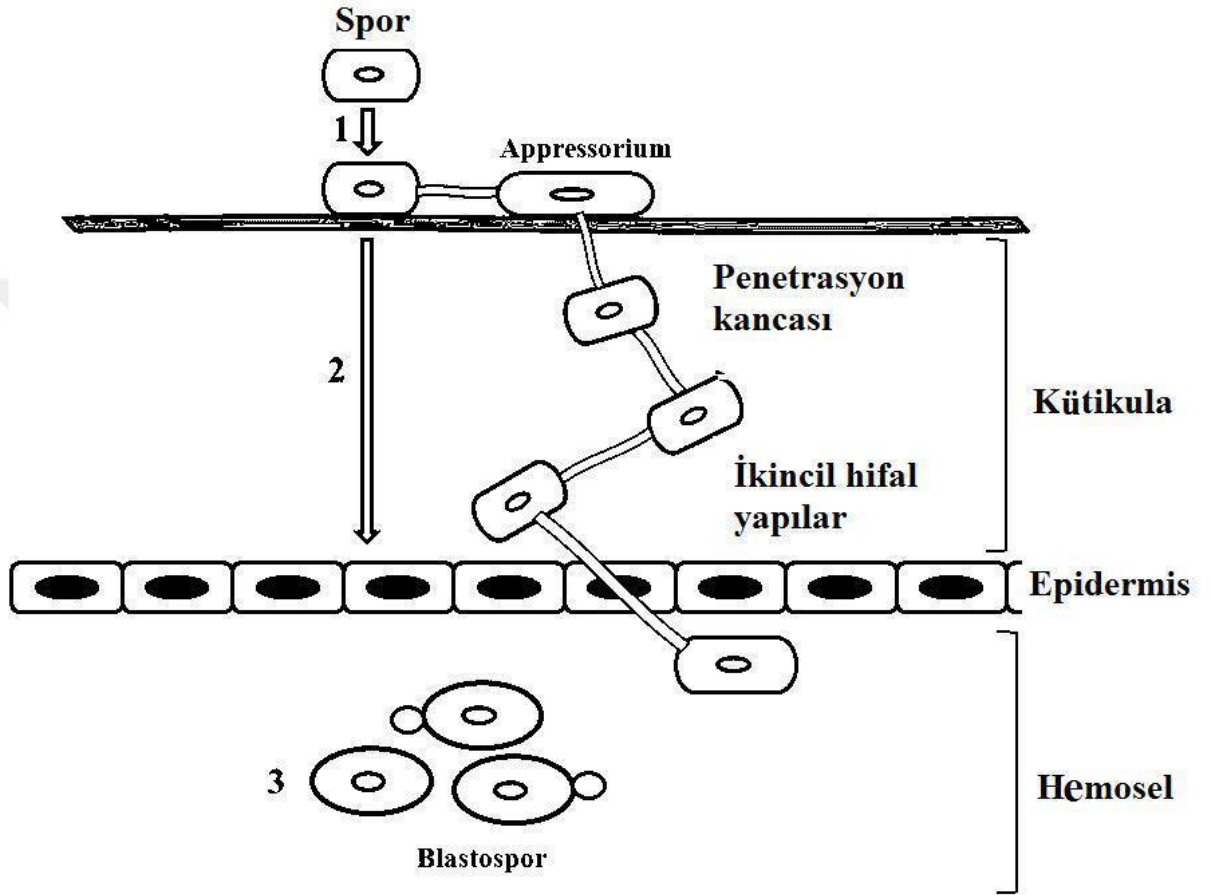
nematodlara karşı ticari olarak satılan preparatları üretilmiştir. Önceden *Paecilomyces lilacinus* olarak bilinen bu fungus taksonomik revizyon ile *P. lilacinum* olarak adlandırılmıştır. *P. lilacinum* türüne ait koloniler gelişmeye başladıklarından itibaren 3-5 gün arasında beyaz renkte olup sporulasyona başlamasıyla birlikte pembe ya da lila renk almaktadır (Luangsa-ard vd, 2011).

Simplicillium cinsine ait fungus türleri topraktan, hastalıklı bitki dokularından ve nematodlardan izole edilmiştir. Bu cins filogenetik olarak *Cordyceps* ile ilişkilidir (Lim vd, 2014). *Simplicillium* cinsi, *S. lanosoniveum*, *S. obclavatum* ve *S. lamellicola* türlerinden oluşmaktadır (Nonaka vd, 2013). Bazı çalışmalar *S. lamellicola*'nın keneleri, Ichinohe kistlerini, *Heterodera glycines* ve *Meloidogyne arenaria*'nın yumurtalarını kontrol etmek için kullanıldığını bildirmiştir (Polar vd, 2005).

2.5.1. Entomopatojen Fungusların Enfeksiyonu

Entomopatojen fungusların yaşam döngüleri çoğunlukla konukçularının gelişme safhaları ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir (Shah ve Pell, 2003). Genellikle eşeysiz olarak üreyen sporlar enfeksiyondan sorumludur ve enfeksiyondaki başlangıç aşaması pasif veya spesifik olmayan tutunmadır (Shah ve Pell, 2003). Tutunma işlemini takiben, sporlar konukçu böceğin kütikulasından geçmek için appressorium yapısını oluşturmak için çimlenmeye başlar (Hajek ve Leger, 1994). Bu çimlenmiş sporlar kütikulanın içerisine penetre olur. Penetrasyon sırasında, proteaz, kitinaz ve lipaz gibi kütikulayı parçalayan bazı enzimler konukçuya girişte önemli rol oynamaktadır (Clarkson ve Chamley, 1996). Penetrasyonu takiben, hemoselin içerisindeki filamentöz fungus yapıları maya benzeri yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar. Bu yapılar hemolenf içerisinde dolaşırlar ve tomurcuklanma ile çoğalırlar. Daha sonra tekrar filamentöz yapılara geçiş yaparak fungus iç dokuları ve organları istila eder. Hemoseldeki besinin azalması ya da fungal metabolitler sonucu oluşan toksin maddelerin artmasıyla böcek ölür. Böceğin ölümünden sonra, funguslar konukçusundan dışarı doğru sporlaşmaya başlar ve bu sporlaşma kadavranın dış yüzeyinde meydana gelir (Shah ve Pell, 2003). Uygun koşullar altında, ölü böcekler üzerinde gelişen bu sporlar etrafa dağılarak başka konukçularını enfekte edebilirler. Ancak, enfeksiyon için uygun olmayan çevresel koşullarda, fungus, bu koşullara dayanıklı dinlenme yapılarını (resting spores) oluşturur. Bu yapı çevrede konak olmadığı zaman uzun bir süre varlığını sürdürebilmektedir. Dinlenme

yapılarının kendisi enfektif özelliğe sahip değildir. Fakat yeniden enfektif spor oluşturabilir. Sporlaşmadan sonra çevreye yayılan sporlar başka konakları enfekte etmektedir. Uygun sıcaklık ve nemin varlığında, enfeksiyon aynı şekilde devam etmektedir. Fungal enfeksiyon işleminin ayrıntılı şeması Şekil 2.14.'de verilmiştir (Sönmez, 2012).



Şekil 2.14. Fungal enfeksiyon şeması (Sönmez, 2012)

Entomopatojen funguslar, konukçu böceklerde hastalık oluşturabilmek için bazı abiyotik ve biyotik koşullara ihtiyaç duymaktadır. Bu koşulların bazıları veya tümünün bir arada bulunması durumunda funguslar konukçu böceklerde hastalık oluşumuna neden olabilmektedir. Bu fungusların hastalık oluşturmada sıcaklık, nem ve ışık gibi abiyotik faktörler çok önemli rol oynamaktadır (Goettel vd, 2005). Bunun yanında fungusun virülensliği, spor yoğunluğu, konukçu böceğin biyolojik dönemi, böceğin fizyolojik durumu, böceğin popülasyon yoğunluğu gibi biyotik faktörler de enfeksiyon için oldukça önemlidir.

2.5.2. Entomopatojen Fungusların Toksinleri

Entomopatojen funguslar farklı metabolitler üreterek zararlı böcekleri farklı şekillerde etkilemekte ve öldürmektedir (Zimmermann, 2007b). Bu toksik metabolitler *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* ve *Lecanicillium* gibi entomopatojen fungus cinslerine giren türlerde tespit edilmiştir (Zimmermann, 2007a; b). Bu metabolitlerden bazılarının önemli patojenite etmenleri olduğu bilinmektedir (Strasser vd, 2000). Şimdiye kadar *B. bassiana*'dan beauverisin, bassianin, bassianolide ve beauverolidler; *M. anisopliae*'den destruksinler, sitokalsin C ve swainsonie; *Isaria* spp.'den beauvricin ve beauverolidler; *Lecanicillium* spp.'den siklosporin gibi toksik metabolitler elde edilmiştir (Zimmermann, 2007a; b).

2.5.3 Entomopatojen Fungusların Kullanımı

Entomopatojen funguslar diğer biyolojik mücadele etmenleri gibi, klasik biyolojik mücadele uygulaması (yeni bir türün ithal edilip salınması), inoculative salım (periyodik ve mevsimsel olarak destekleyici) ve inundative salım (kısa süre içinde yüksek yoğunlukta) gibi değişik biyolojik mücadele stratejileri halinde kullanılmaktadır (Eilenberg vd, 2001). Özellikle de orman zararlılarına karşı yaygın olarak klasik ve inundative biyolojik mücadele stratejileri tercih edilmektedir. Klasik biyolojik mücadele stratejisi uzun vadeli bir kontrol sağlamak amacıyla, entomopatojen fungusların farklı bir ülke veya bölgeden alınıp getirilerek doğal olarak bulunmadığı bir yere bulaştırılmasıdır (Eilenberg vd, 2001; Sevim vd, 2015). Bu strateji genellikle uzun süre sürdürülebilir ve ekonomik bir mücadele sağlamaktadır (Eilenberg vd, 2001). Fakat salımı yapılan entomopatojen fungal etmenin bulunduğu bölgenin iklim ve diğer şartlarına uyum sağlaması gerekmektedir. Bu nedenle, bu etmenlerin biyolojisinin iyi bilinmesi ve bölgedeki durumunun sürekli olarak takip edilmesi oldukça önemlidir. Inoculative salım stratejisinde ise biyolojik mücadele etmeninin, istenilen bölgeye salınarak zaman içinde çoğalması ve zararlı böcekleri baskı altına alması amaçlanmaktadır (Eilenberg vd, 2001). Üçüncüsü olan inundative salım stratejisinde kısa süre içinde ve yüksek etkili bir mücadele hedeflenmekte olup zararlı popülasyonunu düşürmek amacıyla biyolojik mücadele etmeni büyük miktarlarda uygulanmaktadır (Shah ve Pell, 2003). Entomopatojen funguslardan üretilen preparatların kullanılması ile yapılan mücadele, inundative biyolojik mücadele stratejisine örnek olarak gösterilebilir (Goettel vd, 2005).

2.5.4. Entomopatojen Fungusların Avantaj ve Dezavantajları

Entomopatojen fungusların bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu fungusların avantajları; bazı durumlarda yüksek konukçu seçiciliğine sahip olmaları, memeliler üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermemeleri, insektisit direnci gibi problemlerin olmaması ve böylece uzun süreli bir mücadele sağlamaları, biyoteknolojik araştırmalar ile geliştirilmeye uygun olmaları, uygulama sonrası çevrede uzun süre kalmaları ve böylece uzun süreli mücadele sağlamaları şeklinde sıralanabilir (Sevim vd, 2015). Buna karşın, fungusların böceklerle karşı kullanımlarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar; kimyasal insektisitler böcekleri sadece 2-3 saatte öldürürken, entomopatojen fungusların daha uzun bir süre gerektirmesi (bazen 10-15 gün), uygulamaların yüksek nem, düşük zararlı sayısı ve fungusitlerin kullanılmadığı periyotta olması, bazen yüksek seçiciliğinden dolayı ilave mücadele etmenlerinin gerekli olması, üretimlerinin nispeten pahalı olması ve sporların saklanması için soğuk ortamlar gerekmesi, zararlı popülasyonları üzerine entomopatojen fungusların etkinliğinin ve devamlılığının farklı konaklarda farklılık göstermesi ve böylece böceğe özgül uygulama tekniklerinin optimizasyonu için uzun süreli çalışma ve araştırmaların gerekmesi, bağışıklık sistemi baskılanmış insanlara karşı bazen potansiyel risk oluştırmaları ve son olarak bazı fungusların hedef böceği öldürmek için çeşitli toksinleri salgılamaları ve bu toksinlerin diğere canlılar üzerindeki etkilerinin tam olarak bilinmemesi şeklinde sıralanabilir (Sevim vd, 2015).

2.5.5. Entomopatojen Fungusların Moleküler Karakterizasyonu

Entomopatojen fungusların tanımlanması genellikle makro ve mikro düzeyde morfolojik karakterlerine göre yapılmaktadır. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar *Beauveria* ve *Metarhizium* gibi bazı entomopatojen fungus cinslerinin kriptik türler ihtiva ettiğini ve bunların morfolojik olarak ayrılamadığını göstermiştir (Sevim vd, 2015). Mevcut olarak, DNA dizi analizlerinden elde edilen bilgiler ile entomopatojen fungusların tür tayinlerinin yapılması en ileri teknik olarak belirtilmektedir (Sevim vd, 2015). DNA dizi analizinden elde edilen bilgileri GenBank'ta yer alan diğere entomopatojen funguslara ait DNA dizileri ile karşılaştırmak mümkündür. Entomopatojen funguslar için, son zamanlarda internal transcribed spacer (ITS) bölgesine ait sekans verileri tür tayinlerinin yapılmasında ve hatta tür içi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Driver vd, 2000; Muro vd, 2005;

Meyling, 2008). Aynı şekilde EF1- α ve 18S gen bölgeleri de tür içi korunmuş olduklarından ve tür içinde yüksek oranda çeşitlilik sağladıklarından dolayı entomopatojen fungusların sınıflandırılmalarında ve tür tayinlerinde kullanılmaktadır (Pantou vd, 2003; Rehner ve Buckley, 2005; Rehner vd, 2006; Sevim vd, 2015).

2.6. *Trichoderma* Türleri

Trichoderma türleri biyolojik kontrol ajanları arasında en çok çalışılmış funguslardan biridir. *Trichoderma*'lar Ascomycota bölümü, Hypocreales takımı ve Hypocreaeaceae familyasında yer almaktadır. Türler, hızlı gelişen kolonileriyle başlangıçta saydam, şeffaf, daha sonra yeşile dönmesiyle karakterize edilirler. Bu funguslar kültürlerde hızlı gelişir ve bol miktarda spor verme yeteneğindedir (Aydın, 2015). *Trichoderma* türlerinin doğada çok miktarda bulunması, kolayca izole edilebilmesi ve kültürünün yapılabilmesi, pek çok ortamda kolayca gelişebilmesi, çok sayıda patojeni etkileyebilmesi ve antibiyotik üretebilmesi gibi özelliklerinden dolayı biyolojik savaşında öne çıkmaktadır. *Trichoderma* türleri, dünyanın her tarafına geniş bir şekilde yayılmış olup, neredeyse tüm toprak ve doğal habitatlarda bulunmaktadır (Aydın, 2015). Şu ana kadar 90'nın üzerinde tanımlanan *Trichoderma* türü bulunmaktadır (Samuels, 2006). Özellikle de *Trichoderma* türlerinin *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Sclerotinia* gibi bitki patojenlerine karşı iyi bir antagonistik yeteneğe sahip olmalarından dolayı tarımsal açıdan önemi oldukça büyüktür (Aydın, 2015). Antagonistik etki *Trichoderma*'lar tarafından antifungal metabolitlerin üretimi, besin ve yer için yarışma ve mikoparazitlik gibi farklı mekanizmalar tarafından olmaktadır (Kredics vd, 2003). Toprakta hızlı gelişip iyi kolonize olan bu türler, diğer mikroorganizmalarla besin ve yer için rekabet ederek patojenleri baskı altında tutarlar. Aynı zamanda, *Trichoderma* türleri bitkilerin köklerinde kolonize olarak kök uzunluğunu ve gelişimini, ürün miktarını, abiyotik stres faktörlerine dayanıklılığı ve besinlerin alınımını ve kullanımını arttırmaktadır. *Trichoderma*'ların kullanıldığı bitki patojeni funguslar ile biyolojik mücadele üzerine günümüzde çok sayıda çalışma mevcuttur. Aynı zamanda bu funguslardan üretilen çok sayıda ticari preparat bulunmaktadır (Aydın, 2015).

2.7. Entomopatojen Funguslar ve *Trichoderma* Türlerinin Ambrosia Böcekleri ile Mücadelede Kullanımı

Entomopatojen fungusların etkili olabilmeleri için konukçuları ile doğrudan temas halinde olmasına gerek yoktur. Bunların uygulandığı yüzeylere böceğin sonradan temas etmesiyle de bu funguslar konukçularına penetre olup hastalık oluşumuna neden olabilmektedir (Castrillo vd, 2013). Bu nedenle, ambrosia böcekleri gibi hayatlarının çoğunu korunaklı yerlerde geçiren böcekler entomopatojen funguslar için ideal bir hedeftir. Ancak, ambrosia böceklerine karşı entomopatojen fungusların etkinlik çalışmaları hem ülkemizde hem de Dünya’da göz ardı edilmiştir. Yapılan az sayıdaki çalışmada, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosorosea* gibi entomopatojen fungusların *X. germanus*, *X. crassiusculus*, *X. glabratus* ve *T. lineatum* türlerine karşı oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Prazak, 1991; 1997; Castrillo vd, 2011; 2013; Carrillo vd, 2015). Entomopatojen fungusların sadece uygulandıkları erginlerin ölümüne neden olmadığı, aynı zamanda bu erginler tarafından galerilere taşındığı ve galeri içerisindeki diğer bireyleri ve bıraktıkları yumurtaları da enfekte edebildiği belirlenmiştir (Prazak, 1991; 1997; Castrillo vd, 2011; 2013). Türkiye’de yapılan çalışmalarda, fındık bahçelerinde zararlı *A. dispar* ve *X. germanus* erginlerinden entomopatojen fungus izolasyonu yapılmış ve *A. dispar*’dan *L. muscarium*, *X. germanus*’dan ise *L. muscarium*, *P. parvisporus*, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türleri tespit edilmiştir (Tuncer vd, 2018b). Ayrıca, bu böceklere karşı yapılan patojenite çalışmalarında *B. bassiana* ve *M. anisopliae*’nin her iki böceğe karşıda oldukça etkili olduğu belirlenmiştir (Kushiyev vd, 2017; Tuncer vd, 2019). Ancak, fındık bahçelerindeki ambrosia böcekleri üzerindeki entomopatojen fungusların tespiti ve etkinliğinin daha detaylı çalışmalarla belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Özetle, ambrosia böceklerinin etkili bir mücadelesinin olmayışı ve diğer taraftan ise entomopatojen fungusların hem bu böceklere doğrudan ve dolaylı etkileri hem de fındık yetiştiriciliği yapılan bölgelerin iklimsel özelliklerinin oldukça elverişli olması bu çalışmaları zorunlu kılmaktadır.

Son yıllarda, mikoparazitik funguslar olarak bilinen *Trichoderma* türleri de ambrosia böceklerinin mücadelesinde önemli biyolojik etmenler olarak düşünülmektedir. Ambrosia böcekleri biyolojileri gereği yumurtalarını sadece galerilerine bulaştırdıkları simbiyotik fungusun gelişmesinden sonra bırakmaktadır (French ve Roeper, 1972; Weber ve McPherson, 1983a; Weber ve McPherson, 1984;

Ranger vd, 2016a). Ambrosia böceklerinde görülen bu özellik alternatif ve etkili bir mücadele için oldukça önemlidir. Çünkü böcek galerisindeki simbiyotik fungusların gelişmesi baskılanırsa, dişilerin yumurta bırakması önlenecek ve dolayısıyla popülasyonları azalacaktır (Castrillo vd, 2013). Bu amaçla kullanılacak en uygun etmenler ise *Trichoderma* türleridir. Ancak, bu konuda yapılan çalışmalar oldukça yeni ve sınırlıdır. Bazı araştırmacılar *Trichoderma* türleri ve ambrosia böceklerinden izole edilen simbiyotik funguslar arasında negatif bir ilişkinin olduğunu belirtmiştir (Castrillo vd, 2013; 2016). Castrillo vd (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, *Trichoderma harzianum* (T-22)'un *X. crassiusculus* ve *X. germanus* türleri ile ilişkili *Ambrosiella roeperi* ve *A. grosmaniae* simbiyotik funguslarını baskı altına aldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, *T. harzianum* ile muamele edilmiş kayın dallarında bu iki ambrosia böceği tarafından oluşturulan galerilerin oldukça seyrek simbiyotik fungus içerdiği ve çok az yumurta bulunduğu belirlenmiştir.

2.8. Kaynak Özetleri

Entomopatojen fungusların ambrosia böceklerinden izolasyonu ve bunlara karşı etkinliğinin belirlenmesi ile ilgili çalışmaların oldukça sınırlı olması nedeniyle aynı alt familyada (Scolytinae) bulunan kabuk böcekleri ile ilgili çalışmalarda kaynak olarak gösterilmiştir. Ayrıca, *Trichoderma* türlerinin ambrosia böceklerinin galerisinde gelişen simbiyotik fungusa ve böcek yumurtalarına etkisi ile ilgili az sayıdaki çalışmaya da yer verilmiştir.

Prazak (1991; 1997) tarafından yapılan laboratuvar ve alan çalışmaları, ambrosia böceği *Trypodendron lineatum* Olivier'in *B. bassiana*'ya karşı oldukça duyarlı olduğunu ve bu funguslar ile muamele edilmiş ağaçlarda böceklerin daha az nesil verdiğini göstermiştir. Buna ek olarak, bu fungus ile uygulama yapılmış erkek bireylerin fungus sporlarını uygulama yapılmamış dişilere taşıyabildiği ve bunun sonucu olarak da üreme aktivitesinin %20 oranında azalmaya neden olduğu belirtilmiştir.

De La Rosa vd (1997), laboratuvar şartlarında *B. bassiana*'nın 9 izolatının kabuk böceği *Hypothenemus hampei* Ferrari'ye karşı etkisini araştırmıştır. Sonuç olarak, en etkili bulunan Bb-4, Bb-25 ve Bb-26 izolatlarının LC₅₀ değeri sırasıyla 2.2×10^6 , 4.1×10^6 ve 5.9×10^6 spor mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. Ayrıca, bu izolatların LT₅₀ değeri 4.3 ile 7.5 gün arasında değişmiştir. Bu araştırmacılar, etkili bulunan izolatların arazi

çalışmaları ile desteklenmesi gerektiğini ve başarılı olduğu takdirde bu böceğe karşı alternatif mücadele olabileceğini belirtmiştir.

Samuels vd (2002), *B. bassiana*'nın 3 ve *M. anisopliae*'nin 1 izolatının 1×10^7 spor mL^{-1} konsantrasyonunun *H. hampei*'nin dişi erginleri üzerindeki etkisini incelemiştir. *B. bassiana*'nın LPP1, LPP5 ve CG11 izolatlarının uygulamasından 10 gün sonra ergin dişilerde sırasıyla %91, %95 ve %53 oranında ölüme neden olmuş ve LT_{50} değerleri sırasıyla 3.4, 3.9 ve 7.0 gün olarak belirlenmiştir. Ayrıca, *M. anisopliae*'nin CG-46 izolatı aynı günde %46.7 oranında ölüm meydana getirmiş ve bu izolatın LT_{50} değeri ise 9.4 gün olarak tespit edilmiştir.

Kreutz vd (2004), *B. bassiana*'nın ticari preparatının (Boverol) kabuk böceği *Ips typographus* L. erginlerinin arasında horizontal yayılımını incelemiştir. Uygulama yapılmış ve yapılmamış bireylerin 1:1, 1:2, 1:5, 1:10 ve 1:20 oranında uygulanması sonucu 7 gün içinde ergin böceklerde sırasıyla %96, %90, %83, %77 ve %75 ölüm meydana gelmiştir.

Draganova vd (2006), *B. bassiana* ve *P. farinosus* izolatlarının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyondaki etkinliğini kabuk böceği *Ips sexdentatus* Boer. erginlerine karşı test etmiştir. Sonuç olarak, *B. bassiana*'nın 426, 412 ve 422 izolatları *I. sexdentatus* erginleri üzerinde sırasıyla %96.67, %90.67 ve %89.33 oranında yüksek derecede ölüm meydana getirmiştir. Ayrıca, LT_{50} değeri 426 izolatı için 4.32 gün, 412 izolatı için 4.61 gün ve 422 izolatı için ise 4.73 gün olarak belirlenmiştir. Aynı böcek üzerinde *P. farinosus*'un 290 ve 290re izolatları sırasıyla %45 ve %66.67 oranında nispeten daha düşük etki göstermiştir. Bu izolatların LT_{50} değeri 290 izolatı için 17.5 gün ve 290re izolatı için ise 11.7 gün olarak bulunmuştur.

Batta (2007) yaptığı çalışmada, formüle edilmiş *B. bassiana*'nın laboratuvar ve tarla koşullarında badem kabuğu böceği (*Scolytus amygdali*) erginlerine karşı etkisini test etmiştir. Çalışmada, bu fungusun laboratuvar ve tarla denemelerinde ergin böcekler üzerinde sırasıyla %100 ve %81.2 oranında ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, *B. bassiana*'nın *S. amygdali*'ye karşı hem laboratuvar hem de tarla koşullarında yüksek derecede etkili olduğunu göstermiştir.

Pava-Ripoll vd (2008), *M. anisopliae* Ma549 ve AaIT-Ma549 izolatlarının *H. hampei*'ye karşı yedi farklı konsantrasyondaki (1×10^1 - 1×10^7 spor mL^{-1}) etkisini değerlendirmiştir. Uygulamadan 21 gün sonra her iki izolatın 1×10^4 spor mL^{-1} ve

üzerindeki konsantrasyonları ergin böceklerde %96'nın üzerinde ölüme neden olmuştur. Ayrıca, iki izolat arasında önemli fark olmadığı belirlenmiştir. Buna ek olarak, 1×10^7 spor mL^{-1} konsantrasyondaki Ma549 ve AaIT-Ma549 izolatlarının LT_{50} değeri sırasıyla 3.73 ve 2.98 gün olarak tespit edilmiştir.

Brownbridge vd (2010), Yeni Zelanda'daki çam ağaçlarında zararlı kabuk böceği *Hylastes ater* Paykull'dan *Metarhizium flavoviride* var. *pemphigi* ve *Hirsutella guignardii* türlerini izole etmiştir. Bu türler, kabuk böceklerinden izole edilen ilk kayıt olarak belirlenmiştir.

Draganova vd (2010), orman ağaçlarından toplanan *I. sexdentatus*, *I. typographus* ve *Dryocoetes autographus* Ratz.'dan *B. bassiana*, *B. brongniartii* ve *I. farinosa* türlerini izole etmiştir.

Sevim (2010) Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yayılış gösteren *D. micans* başta olmak üzere zararlı böceklerle karşı etkili ve alternatif biyolojik mücadele etmenlerini belirlemek için yaptığı çalışmada, bazı illerdeki fındık bahçelerinden ve diğer bazı vejetasyonlardan toplam 301 toprak örneği almış ve bu örneklerden Galleria Tuzak Yöntemi (GTY) ile *M. anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium* sp., *B. bassiana*, *B. cf. bassiana*, *I. fumosorosea* ve *Evlachovaea* sp. türlerine ait toplam 62 izolat elde etmiştir. Özellikle de *M. anisopliae* var. *anisopliae* en fazla bulunan fungus olmuştur. Ayrıca, bazı izolatlarının *D. micans*'a karşı oldukça virülens olduğu tespit edilmiştir.

Castrillo vd (2011), *B. bassiana* (Naturalis ve GHA) ve *M. brunneum* (F52)'un ticari preparatlarının *X. germanus*'a karşı virülensliğini ve yumurta üretimine etkisini değerlendirmiştir. Sonuç olarak, *X. germanus* dişilerine uygulanan Naturalis ve F52'nin GHA'ya göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyonda (600 spor/mm^2) uygulanan GHA, Naturalis ve F52 uygulamadan 6 gün sonra sırasıyla %6.7, %60 ve %61.7 oranında ölüme neden olmuştur. Kontrol ile kıyaslandığında, uygulama yapılmış dişilerin hazır besin denemelerinde daha az galeri oluşturduğu ve aynı zamanda daha az yumurta bıraktığı tespit edilmiştir. Ayrıca, böceğin tüm yaşam dönemleri boyunca entomopatojen funguslar tarafından enfekteli olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar, bu fungusların *X. germanus*'un sadece dişi erginlerini öldürmediğini, aynı zamanda diğer biyolojik dönemlerine de bulaşarak böcek popülasyonunu etkileyebildiğini göstermiştir.

Esmer (2011) *D. micans*'ın larva ve erginlerinden 4 farklı cinse ait 12 fungus izolatını elde etmiştir. Elde edilen fungus türleri, *L. muscarium*, *I. farinosa*, *Fusarium* sp., *B. bassiana* ve *Beauveria* sp. olarak tanımlanmıştır. Özellikle de *L. muscarium*, *I. farinosa* ve *Fusarium* sp. *D. micans*'tan ilk kez izole edilmiştir. Ayrıca, bu funguslar 1×10^6 spor mL⁻¹ konsantrasyonda larva ve erginlerine uygulanmıştır. Larvalara karşı en yüksek ölüm ve mikozis oranı %90 olarak 10 gün içinde *B. bassiana* (ARSEF 9271 izolatu)'dan elde edilmiştir. Aynı izolat, erginler üzerinde de %93'lük ölüm ve mikozisa neden olmuştur. Ayrıca, *Beauveria* sp. (ARSEF 9272 izolatu) erginler üzerinde uygulamadan 10 gün sonra %100 ölüm ve %80 mikozis meydana getirmiştir.

Jakuš ve Blaženec (2011), yaptıkları çalışmada, *I. typographus* ile enfeksiyonlu ağaçların bütün gövdesine *B. bassiana* (1×10^7 spor mL⁻¹) ve insektisit (pyretroid etkili maddeli) uygulamıştır. Bu araştırmacılar çalışma sonucunda *I. typographus* bireylerinin %28.75 oranında enfekte edildiğini ve insektisit uygulamasındaki etkinliğine yakın başarı sağlandığını belirtmiştir.

Biedermann vd (2012), *Paecilomyces variotti*'nin *X. saxesenii*'nin larva sayıları ile negatif ilişkili olduğunu ve erginlerin vücutlarında biyofilm oluşturarak zararlı olduğunu belirtmiştir.

Castrillo vd (2013), ambrosia böceği *X. crassiusculus*'un dişi erginlerinin *B. bassiana* (Naturalis ve GHA) ve *M. brunneum* (F52)'un ticari preparatlarına karşı duyarlılığını test etmiştir. Ayrıca, bu funguslar ve *T. harzianum* KRL-AG2 preparatının *X. crassiusculus* dişilerinin galeri oluşturmasına ve yumurta üretimine etkisi de değerlendirilmiştir. Tüm entomopatojen fungusların bu böceğe karşı oldukça virülens olduğu bulunmuştur. En yüksek konsantrasyonda (600 spor/mm²) kullanılan GHA, Naturalis ve F52 uygulamadan 5 gün sonra sırasıyla %76.7, %95.6 ve %78.9 oranında ölüme neden olmuştur. Benzer olarak, bu fungusların en yüksek konsantrasyonu ile muamele edilmiş dallara maruz bırakılan dişilerin hayatta kalma sürelerinin daha az olduğu ve daha az galeri oluşturduğu görülmüştür. Test edilen tüm konsantrasyonda kontrol ile kıyaslandığında uygulama yapılmış dişilerin daha az yumurtaya sahip olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, *T. harzianum*'un KRL-AG2 izolatu ile muamele edilmiş dişilerin daha seyrek veya herhangi bir simbiyotik fungusun gelişmediği galeriler ürettiği ve bu galerilerin çoğunda daha az veya hiç yumurta olmadığı tespit edilmiştir.

Mudrončková vd (2013), *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatlarının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonunun *I. typographus*'un erginlerine karşı etkisini test etmiştir. Çalışma sonucunda, uygulamadan 14 gün sonra *B. bassiana* %99 ve *M. anisopliae* ise %97 oranında oldukça yüksek ölüm meydana getirmiştir. Ayrıca, bu fungusların *I. typographus*'un erginlerinde %90'ın üzerinde mikozisa neden olduğu belirlenmiştir.

Carrillo vd (2015), *X. glabratus*'un *I. fumosorosea* (Ifr 3581 ve PFR) ve *B. bassiana* (GHA)'nın ticari preparatlarına karşı duyarlılığını test etmiştir. Dişi erginleri fungus süspansiyonlarına daldırılmış ve bunların ortalama yaşam süreleri belirlenmiştir. Tüm uygulamalarda böceklerin tamamının öldüğü tespit edilmiştir. Ortalama yaşam sürelerinin 3 günden (*B. bassiana*) 5 güne (*I. fumosorosea* PFR) kadar değiştiği bulunmuştur. Özellikle de *B. bassiana*'nın GHA preparatı böceğin dişilerini oldukça hızlı öldürmüş, daha sonra bunu *I. fumosorosea* Ifr 3581 ve PFR takip etmiştir. Bu araştırmacılar böceklerin fungus süspansiyonuna daldırılması veya uygulanma yapılmış dallara maruz bırakılması arasında ölüm oranında bir farklılığın olmadığını tespit etmiştir.

Kushiyeve (2015) Samsun ilindeki fındık bahçelerinden toplanan *A. dispar* ve *X. germanus*'un enfeksiyonlu bireylerinden entomopatojen fungus izolasyonu yapmıştır. İzole edilen fungus izolatları morfolojik ve moleküler olarak tanımlanmıştır. Sonuç olarak, *A. dispar*'dan *L. muscarium*, *X. germanus*'dan ise *L. muscarium*, *P. parvisporus*, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türleri belirlenmiştir.

Kocaçevik vd (2015), *B. pseudobassiana* (ARSEF 9271) izolatının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonda uygulanması sonucu *D. micans*'ın erginlerinde 6 gün içinde %100 ölüm ve mikozis meydana geldiğini tespit etmiştir. Ayrıca, bu böceklerin %0 (kontrol)'ı, %25'i, %50'si, %75'i ve %100'ü fungusun 1×10^6 spor mL^{-1} konsantrasyonu ile muamele edilerek horizontal yayılımı incelenmiştir. Denemeden 15 gün sonra kontrol hariç tüm uygulamalarda %100 ölüm meydana gelmiştir. Bu araştırmacılar, *B. bassiana*'nın *D. micans*'ın erginleri arasında horizontal olarak oldukça etkili bir şekilde yayıldığını belirtmiştir.

Castrillo vd (2016), *T. harzianum* (T-22)'un *X. crassiusculus* ve *X. germanus* ile ilişkili sırasıyla *Ambrosiella roeperi* ve *A. grosmanii* simbiyotik funguslarına ve böceklerin yumurta bırakmasına etkisini incelemiştir. Petri denemeleri *T. harzianum*'un her iki simbiyotik fungusu baskı altına aldığını göstermiştir. Ayrıca *T.*

harzianum ile muamele edilmiş kayın dallarında bu iki ambrosia böceği tarafından oluşturulan galerilerin oldukça seyrek simbiyotik fungus içerdiği ve çok az yumurta bulunduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, *T. harzianum*'un simbiyotik fungusları baskıladığını ve dolayısıyla böceklerin yumurta bırakmasını azaltarak etkili olduğunu göstermiştir.

Kocaçevik vd (2016), *B. pseudobassiana* (ARSEF 9271) izolatının farklı konsantrasyonunun *I. sexdentatus* ve *I. typographus*'un erginlerine karşı etkisini test etmiştir. Sonuç olarak, 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonu *I. sexdentatus* ve *I. typographus*'un erginlerinde sırasıyla uygulamadan 5 ve 7 gün sonra %100 ölüme neden olmuştur. Ayrıca, tüm uygulamalarda yüksek derecede mikozis elde edilmiştir. Bu izolatın LC_{50} değeri *I. sexdentatus* ve *I. typographus* için sırasıyla 3.94×10^4 spor mL^{-1} ve 1.32×10^5 spor mL^{-1} olarak bulunmuştur. Diğer taraftan, bu böceklerin %0 (kontrol)'i, %25'i, %50'si, %75'i ve %100'ü fungusun 1×10^6 spor mL^{-1} konsantrasyonuna daldırılmış ve bu bireyler uygulama yapılmamış bireyler ile aynı ortama bırakılmıştır. Bu şekilde, *B. pseudobassiana*'nın *I. sexdentatus* ve *I. typographus*'un erginleri arasında horizontal yayılımı incelenmiştir. Kontrol hariç, 15 gün sonra fungusun tüm uygulamalarında %100 ölüm meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu araştırmacılar, *B. pseudobassiana*'nın sadece uygulama yapılmış bireylerde etkili olmadığını aynı zamanda horizontal yayılarak da oldukça etkili olduğunu belirtmiştir.

Kushiyeve vd (2018), *I. fumosorosea* TR-78-3 izolatının *A. dispar* ve *X. germanus*'a karşı laboratuvar şartlarında direkt uygulama ve uygulanmış dallara maruz bırakma olarak iki yöntemle ve iki farklı konsantrasyonda (1×10^6 ve 1×10^8 spor mL^{-1}) etkisini araştırmıştır. Sonuç olarak, 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyondaki LT_{50} ve LT_{90} değerleri *A. dispar* için direkt böceğe uygulamada 4.78 ve 5.94 gün iken, dal uygulamasında bu değerler sırasıyla 4.76 ve 6.49 gün olarak bulunmuştur. Benzer olarak, aynı konsantrasyondaki LT_{50} ve LT_{90} değerleri *X. germanus*'a karşı direkt böceğe uygulamada sırasıyla 4.18 ve 5.62 gün olurken, dal uygulamasında bu değerler sırasıyla 5.11 ve 7.89 gün olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda, 1×10^6 spor mL^{-1} konsantrasyonunun 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonuna göre daha düşük etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır.

Tuncer vd (2019), *M. anisopliae* (TR-106) ve *B. bassiana* (TR-217)'nin *X. germanus*'un dişi erginlerine karşı laboratuvar şartlarında direkt uygulama ve

uygulanmış dallara maruz bırakma olarak iki yöntemle ve iki farklı konsantrasyonla (1×10^6 ve 1×10^8 spor mL^{-1}) etkisini incelemiştir. *M. anisopliae*'nin 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyondaki LT_{50} ve LT_{90} değerleri direkt böceğe uygulamada 4.43 ve 6.01 gün iken, dal uygulamasında bu değerler sırasıyla 3.97 ve 5.68 gün olarak tespit edilmiştir. Aynı konsantrasyonda uygulanan *B. bassiana* LT_{50} ve LT_{90} değerleri direkt böceğe uygulamada sırasıyla 6.03 ve 10.80 gün olurken, dal uygulamasında bu değerler sırasıyla 5.96 ve 11.79 gün olarak bulunmuştur. Ayrıca, 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonun 1×10^6 spor mL^{-1} 'e göre daha yüksek etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan ambrosia böcekleri

Çalışmanın ilk adımı olan entomopatojen fungus izolasyonunda Samsun, Ordu, Giresun, Düzce ve Sakarya illerine ait bazı ilçelerdeki fındık bahçelerinden elde edilen *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii*'nin ölü veya enfeksiyonlu dişi erginleri kullanılmıştır. Patojenite ve diğer biyolojik etkinlik çalışmalarında ise Samsun'un Çarşamba ve Ondokuz Mayıs ilçelerindeki bahçelerden elde edilen sağlıklı dişi erginler kullanılmıştır. Biyolojik testlerde genellikle yoğun ve yaygın bulunmasından dolayı *A. dispar* ve *X. germanus* türleri tercih edilmiştir. Bu iki türe göre daha az görülen *X. saxesenii* ise seçilen bazı izolatın patojenitesinde kullanılmıştır. Ayrıca, entomopatojen fungusların ve *Trichoderma* spp.'nin böcek yumurtasına etkisi belirlenirken, *A. dispar*'ın yumurta bırakması sağlanamadığından dolayı sadece *X. germanus* bireyleri kullanılmıştır. Diğer ambrosia böceklerinde olduğu gibi *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii*'de erkek bireyler dişilere göre daha az oranda bulunmakta ve daha küçük yapıda olmaktadır. Aynı zamanda, erkek bireylerin uçuş kabiliyetleri bulunmamakta ve sadece galeri içerisinde bulunarak dölleme görevini yapmaktadır (Ranger vd, 2016a). Bu nedenle, çalışmalarda genellikle asıl zarara neden olan dişi erginler kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada kullanılan funguslar

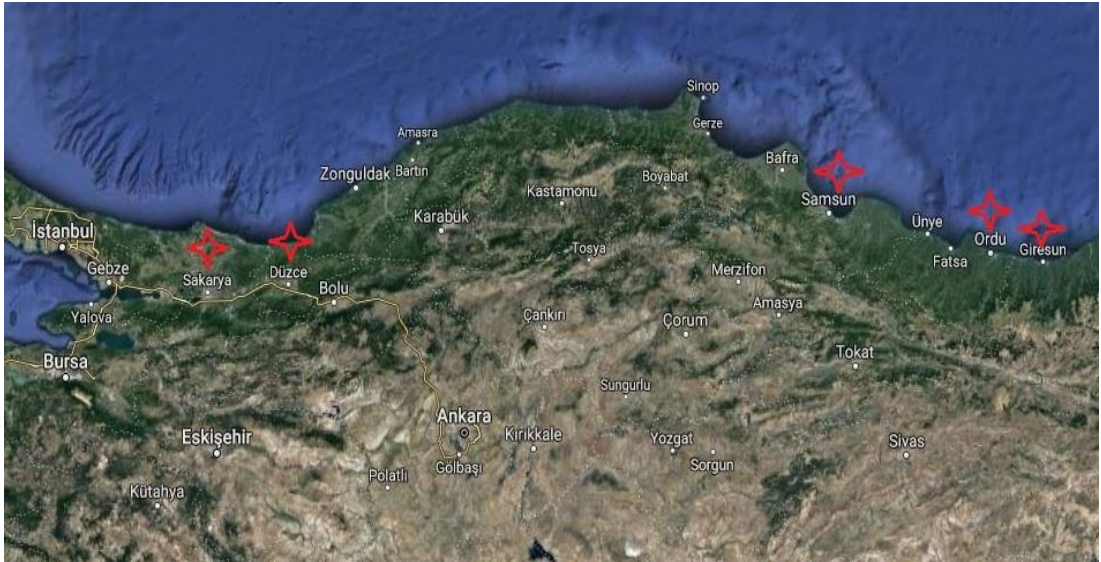
Bu çalışmada kullanılan entomopatojen funguslar Samsun, Ordu, Giresun, Düzce ve Sakarya illerinden toplanan ambrosia böceklerinden izole edilen yerli izolatlardan oluşmaktadır. Bu izolatların önce patojenite testleri ile virülenslik düzeyleri belirlenmiş ve daha sonra yüksek virülense sahip olanlardan bazıları seçilerek diğer çalışmalarda kullanılmıştır. Bu izolatlar kurutma kağıtlarına alınarak steril Ependorf tüplerinde Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ndeki Entomoloji laboratuvarında -20°C'de muhafaza edilmiştir. Diğer taraftan, çalışmada kullanılan *Trichoderma* türleri (*T. harzianum* 11-TTR-2, *T. hamatum* F4, *T. asperellum* T-11-25 ve *T. atroviride* T-4-5) Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'ndeki

fasulye yetiştirilen alanlardan izole edilmiş olup, Bu funguslar Doç. Dr. İsmail ERPER (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)'den temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Böcek örneklerinin toplanması

Bu çalışmada, ambrosia böceklerinden entomopatojen fungusların elde edilmesi amacıyla fındığın yoğun olarak yetiştirildiği Samsun, Ordu, Giresun, Düzce ve Sakarya illeri seçilmiştir (Şekil 3.1). Bu amaçla, 2018-2019 yılları arasında seçilen bu illere ait bazı ilçelerde sörvey yapılarak fındık bahçelerinden ambrosia böcekleri ile enfekteli dallar (yaklaşık 50-100 cm'lik) kesilerek alınmış (Şekil 3.2) ve gerekli bilgileri yazılarak poşet içerisinde Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ndeki, Entomoloji laboratuvarına getirilmiştir. Özellikle de örnekleme sırasında kurumuş ve geçen senelerden kalmış olabileceği tahmin edilen dallar tercih edilmiştir. Çünkü kurumuş veya eski dallarda ölü böceklerin ve dolayısıyla bu ölü böcekler üzerinde ise entomopatojen fungusların bulunma ihtimali yüksek olmaktadır. Örneklerin alındığı bölgelerin bilgileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Örneklerin alındığı illerin haritası



Şekil 3.2. Ambrosia böcekleri ile enfeksiyonlu fındık dalları

Bu dallar laboratuvar ortamında beyaz çarşaf üzerinde çekiç, bağ makası, fırça vs. aletler yardımıyla parçalanmış ve galeri içerisindeki ambrosia böcekleri çıkarılmıştır (Şekil 3.3). Çıkarılan bu böcekler stereomikroskop (Leica EZ4) altında incelenerek türlere ve canlı-ölü durumuna göre gruplara ayrılmıştır (Tuncer vd, 2017). Entomopatojen fungusların izolasyonunda sadece ölü olarak belirlenen bireyler kullanılmıştır. Entomopatojen fungus izolasyonunda kullanılan ambrosia böceklerinin türleri ve sayıları Çizelge 3.1’de verilmiştir. Bu bireyler izolasyon işlemine kadar +4°C’de bekletilmiştir.



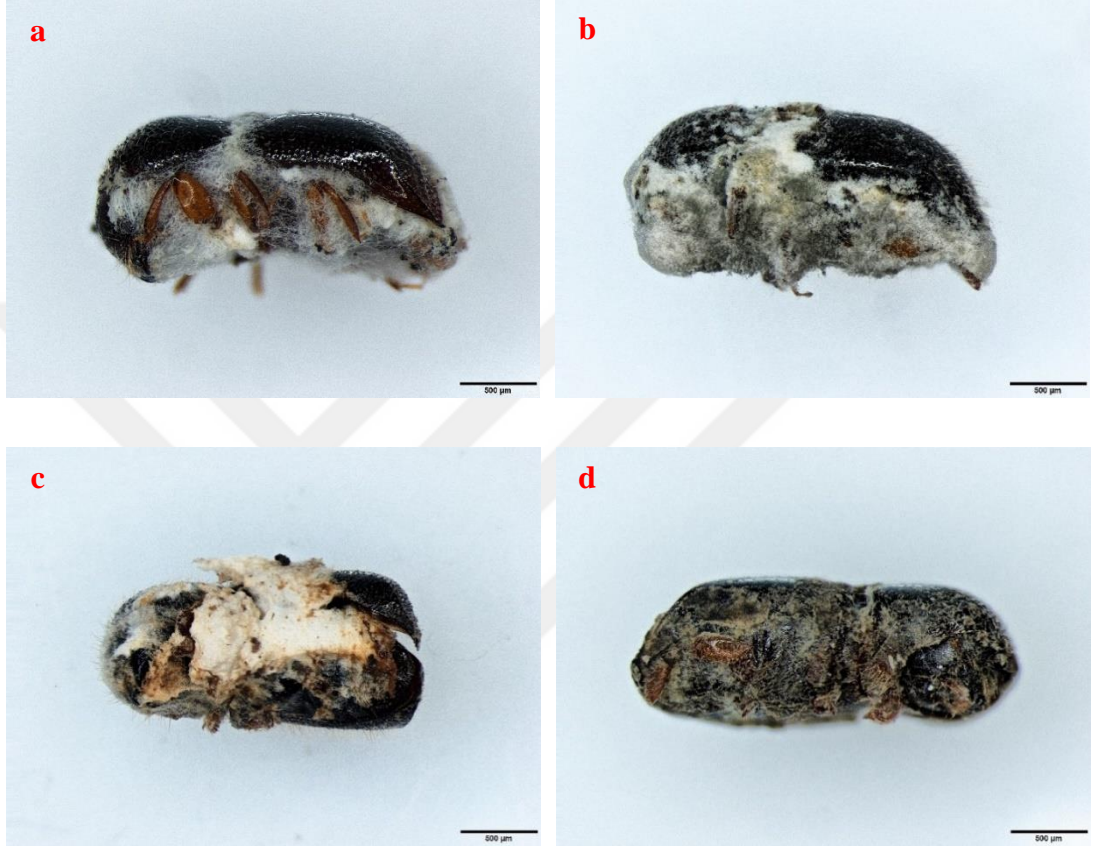
Şekil 3.3. *Anisandrus dispar*’ın galeri içerisindeki erginleri (Kushiyev, 2015)

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan ambrosia böceklerinin alındığı bölgelerin bilgileri, türleri ve ölü birey sayıları

Örnekleme yeri		Tarih	Koordinat	Ambrosia böcek türleri ve sayıları*		
İl	İlçe			<i>A. dispar</i>	<i>X. germanus</i>	<i>X. saxesenii</i>
Samsun	Ondokuz Mayıs	10.01.2018	41.403082° 36.081217°	25	42	0
Samsun	Ondokuz Mayıs	02.05.2018	41.403082° 36.081217°	37	64	9
Samsun	Ondokuz Mayıs	11.05.2018	41.310601° 35.287155°	43	76	36
Samsun	Çarşamba	05.02.2018	41.253808° 36.778537°	72	53	18
Samsun	Çarşamba	18.05.2018	41.253808° 36.778537°	89	85	24
Samsun	Terme	21.01.2018	41.252370° 36.804194°	155	83	27
Samsun	Salıpazarı	19.09.2019	41.108031° 36.766841°	58	0	0
Ordu	Fatsa	26.08.2018	41.020688° 37.565133°	75	69	0
Ordu	Merkez	26.08.2018	41.008882° 37.839350°	36	0	0
Ordu	Ünye	26.08.2018	41.137979° 37.221814°	41	24	0
Ordu	Fatsa	15.06.2019	41.020688° 37.565133°	74	56	38
Ordu	Merkez	15.06.2019	41.008882° 37.839350°	75	53	34
Ordu	Gülyalı	15.06.2019	40.966529° 38.049279°	84	40	0
Ordu	Ünye	15.06.2019	41.137979° 37.221814°	43	38	0
Giresun	Merkez	18.04.2018	40.920319° 38.314589°	34	0	0
Giresun	Buluncak	20.05.2018	40.929893° 38.206744°	47	0	0
Giresun	Piraziz	21.06.2019	40.939669° 38.111374°	58	39	0
Giresun	Merkez	21.06.2019	40.920319° 38.314589°	40	33	23
Giresun	Keşap	21.06.2019	40.895776° 38.503231°	57	38	0
Giresun	Buluncak	21.06.2019	40.929893° 38.206744°	77	66	44
Sakarya	Akyazı	04.08.2018	40.675997° 30.545977°	129	0	0
Sakarya	Hendek	04.08.2018	40.837400° 30.825068°	31	18	0
Sakarya	Hendek	12.06.2019	40.92.8828° 30.652124°	77	62	0
Sakarya	Akyazı	04.06.2019	40.675997° 30.545977°	54	0	0
Düzce	Gülyaka	04.08.2018	40.750602° 31.038707°	81	17	0
Düzce	Cumayeri	04.08.2018	40.900660° 30.920319°	33	37	0
Düzce	Cumayeri	12.06.2019	40.943492° 30.926718°	34	29	0

*Örneklerden elde edilen ambrosia böceklerinin türleri ve ölü birey sayılarını göstermektedir.

Çıkarılan ambrosia böceklerinin stereomikroskop altında incelenmesi sonucu entomopatojen funguslar tarafından doğal olarak ölmüş olabileceğini düşündüğümüz bireyler de gözlenmiş olup, bu bireylerde izolasyon işlemine tabi tutulmuştur. Özellikle de bazı bireyler üzerinde bariz şekilde entomopatojen fungus belirtileri görülmüştür (Şekil 3.4). Bu bireyler izolasyon işlemine kadar +4°C’de bekletilmiştir.

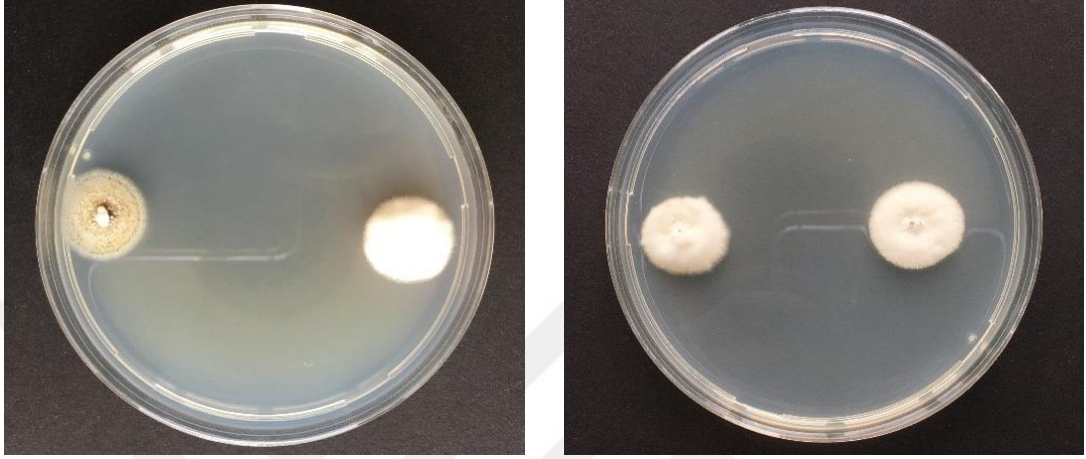


Şekil 3.4. Doğal fungal enfeksiyondan ölmüş ambrosia böcek erginleri; *Xylosandrus germanus* dişileri (a ve b), *Anisandrus dispar* dişisi (c) ve *Xyleborinus saxesenii* dişisi (d)

3.2.2. Entomopatojen fungusların izolasyonu ve saklanması

Entomopatojen fungus izolasyonu çalışmasında ambrosia böceklerinin ölü ve enfeksiyonlu bireyleri kullanılmıştır. Bu böcekler öncelikle %1’lik NaOCl (sodyum hipoklorit) solüsyonuyla 3 dk. yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra, 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Yüzeysel sterilizasyona tabi tutulan böcekler steril kurutma kağıdı üzerine alınmış ve 30 dk. bekletilerek kurumaları sağlanmıştır. Daha sonra ölü bireyler 2’şerli veya 4’erli olarak PDA (Merck Ltd., Darmstadt, Almanya) besi ortamı içeren 9 cm’lik Petri kaplarına (İsolab) aşılanmıştır. Tüm Petri kapları 25°C’de karanlık

ortamda inkübasyona (Binder; KBWF 240, Almanya) bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra besi yeri üzerinde büyüyen funguslar (Şekil 3.5 ve 3.6) incelenerek farklı koloni morfolojisine sahip olanlardan saflaştırmak amacı ile küçük misel parçası alınmış ve PDA ihtive eden Petrilere aşılansarak 4-6 gün boyunca aynı koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.5. Ölü ambrosia böceklerinden gelişen funguslar



Şekil 3.6. Enfeksiyonlu ambrosia böceklerinden gelişen funguslar

Gelişen bu fungusların herbirinin tek spor izolasyonu yapmak amacı ile PDA’da gelişen fungal kültürden 1×10^4 spor mL^{-1} oranında spor süspansiyonu hazırlanmış ve PDA besiyerlerine 100 μL yayılmıştır. Bir günlük inkübasyondan sonra çimlenen sporlar kesilerek taze PDA ortamı içeren besiyerine aşılansmıştır. Tek spordan gelişen bu besiyerlerine steril kurutma kağıtları yerleştirilmiş ve 25°C sıcaklıkta 1-2 hafta gelişmeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kurutma kağıtları steril Ependorf tüplerine alınmış ve etiketlenerek Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü’ndeki Entomoloji laboratuvarında -20°C’de muhafaza edilmiştir.

Ayrıca, Petri kaplarında kalan kültürler sonraki çalışmalarda kullanılmak amacıyla +4°C’de saklanmıştır. Bakteri kontaminasyonunu engellemek için besi yerine 200 µg mL⁻¹ oranlarında streptomisin ilave edilmiştir.

3.2.3. Entomopatojen fungusların moleküler karakterizasyonu

Ambrosia böceklerinden izole edilen entomopatojen fungusların moleküler karakterizasyonu Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümündeki Mikoloji laboratuvarında Doç. Dr. Göksel Özer önderliğinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.1. DNA izolasyonu

Entomopatojen fungus izolatlarının genomik DNA’larının izolasyonu DArT DNA protokolleri (<http://www.diversityarrays.com>) uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle saf izolatlar 10 gün boyunca PDA ortamı içeren Petri kaplarında geliştirilmiştir. Bu sürenin sonunda kültür yüzeylerinden izolatlara ait yaklaşık 100 mg misel/spor dokusu steril bir bisturi yardımı ile hafifçe kazınmış ve 2 mL’lik Ependorf tüpe aktarılmıştır. Bir hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) esaslı olan ve önceden 65°C’ye kadar ısıtılmış olan 750 µl ekstraksiyon–lizis tamponu (125 mM Tris-HCl pH 8.0, 25 mM EDTA pH 8.0, %2 CTAB, 0.8 M NaCl, %2 PVP-40, %0.5 sodium disulfite ve %1 sarcosyl) tüpe eklenerek örnek bir steril çelik ezici yardımı ile homojen hale getirilmiştir. Ardından her 10 dakikada bir hafifçe ters düz edilerek 65°C’ye ayarlı kuru blok ısıtıcıda 1 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda örnek kuru blok ısıtıcıdan alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve tüpe 750 µl kloroform/izoamil alkol (24:1 w/w) eklenmiştir. Bu aşamada 10 dakika süre ile yavaşça ters düz edilen örnek ardından 12000 g’de 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Üst katmandan elde edilen süpernatantlar yeni bir 1.5 mL’lik Ependorf tüpüne aktarılmış ve üzerlerine 0.6 hacim soğuk izopropanol eklenmiştir. 30 saniye süre ile ters düz edilen örnek 10 dakika boyunca +4°C de bekletilmiş ve DNA’yı çökeltmek için 12000 g’de 5 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemde sonra süpernatantlar uzaklaştırılmış ve elde edilen pelletler 2 kez %70’lik soğuk etanolla yıkanarak pellet ve tüp oda sıcaklığında kurutulmuştur. İzolatlara ait DNA’lar 100 µl steril ultra saf su yardımı ile çözülerek, konsantrasyonu DS-11 FX Serisi

Spektrofotometre (Denovix Inc., ABD) ile ölçülmüş ve PCR çalışmaları için ile 50 ng/ μ l'ye ayarlanmıştır.

3.2.3.2. PCR çalışması

İzolatlara ait genomik DNA'ların ITS bölgeleri White vd (1990) tarafından tasarlanan ITS1 (5'-CCG TAG GTG AAC CTG CGG-3') ve ITS4 (5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') primerleri kullanılarak amplifiye edilmiştir.

Polymerase Chain Reaction (PCR) çalışmaları 50 μ l'lik hacimlerde gerçekleştirilmiştir. PCR karışımı, 25-50 ng fungal DNA, 5 μ l 10X tampon solüsyonu, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTPs, 0.4 μ M ITS1 ve ITS4 primerleri, 1.5 ünite Dream *Taq* DNA polimeraz (Thermo Scientific, ABD) ve moleküler çalışmalara uygun saflıkta sudan oluşmaktadır.

PCR amplifikasyonu, bir T100 termal cycluser (BioRad, Hercules, CA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Başlangıç denatürasyonu için 95°C'de 3 dakikaya ayarlanan program bunu takiben 35 döngü 95°C'de 45 saniye, annealing (bağlanma) sıcaklığı olan 54°C'de 45 saniye, uzama sıcaklığı olan 72°C'de 1 dakika ve final uzama sıcaklığı olan 72°C'de 5 dakikaya ayarlanmıştır.

3.2.3.3. Elektroforez ve sekanslama

PCR ürünlerinden alınan 10 μ l hacim, 1x Tris-acetate-EDTA (TAE) tampon solüsyonunda %1.2'lik agaroz jel içerisine yüklenerek 100 volt'da 90 dakika elektroforetik ayırma işlemine tabi tutulmuştur. Bu süre sonunda agaroz jel 30 dakika boyunca ethidium bromide içeren solüsyonda bekletilmiş ve G:BOX F3 jel görüntüleme sistemi (Syngene, Cambridge, UK) yardımı ile UV ışık altında jelin fotoğrafı çekilmiştir.

Elektroforez sonucu temiz ve beklenen bant büyüklüklerine sahip olan ürünlerin kalan kısmı ABI Prism® 3730xi cihazı ile sekans bilgilerinin elde edilmesi için ticari bir şirkete (Macrogen, Seoul, Güney Kore) gönderilmiştir. Sekanslama işlemi çift yönlü olarak her iki primer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ham sekans verileri MEGA7 genetik analizi programı (Kumar vd, 2016) kullanılarak işlenmiş ve NCBI GenBank'ta bulunan diğer sekanslarla benzerliklerini karşılaştırmak için

BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) analizine tabi tutularak olası tür tanımlamaları gerçekleştirilmiştir.

Sekanslar MEGA7 programında çoklu dizilim hizalama yöntemi olan ClustalW ile hizalanmıştır. İzolatların sekansları ve GenBank veri tabanından elde edilen *B. bassiana* türüne ait dört ve *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *L. lecanii*, *P. lilacinum*, *C. rosea* ve *M. anisopliae* türlerine ait üçer referans izolat analizlere ilave edilmiştir. Filogenetik analizler, ITS bölgesinin sekans verilerine dayandırılarak MEGA7 yazılımında Tamura ve Nei (1993) modeli ile neighbor-joining metodu (Saitou ve Nei, 1987) kullanılarak 1000 tekrarlı bootstrap testi ile gerçekleştirilmiştir.

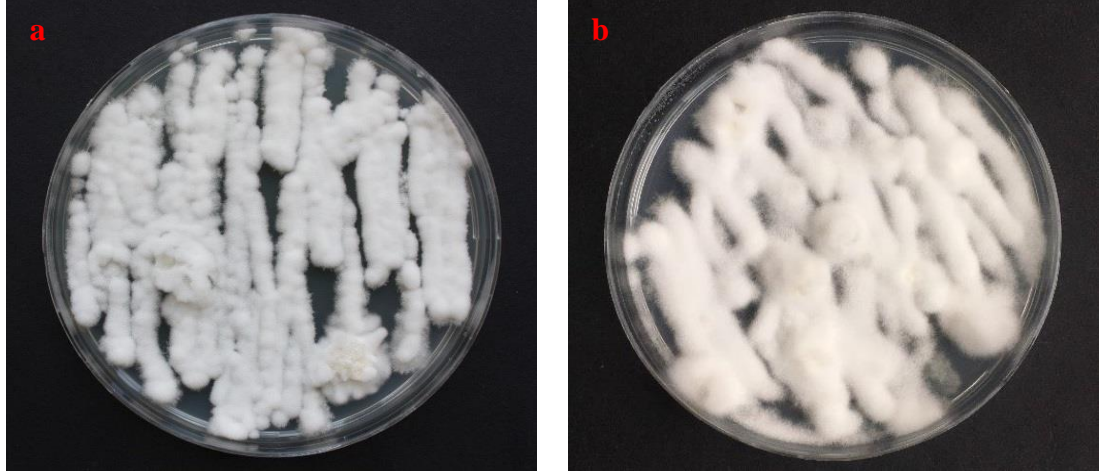
3.2.4. Etkinlik testlerinde kullanılan sağlıklı böceklerin elde edilmesi

Tüm biyolojik etkinlik çalışmalarında kullanılan *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii*'nin dişi erginleri, Samsun'un Ondokuz Mayıs ilçesindeki Kayagüney köyü ve Çarşamba ilçesinde bulunan farklı fındık bahçelerinden alınan dal örneklerinden elde edilmiştir. Bu zararlılar ile enfekteli dallar kesilerek alınmış ve laboratuvar ortamında (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü) bağ makası, çekiç ve benzeri aletler kullanılarak içerisindeki böcekler çıkarılmıştır. Çıkarılan böcekler stereomikroskop altında incelenmiş ve denemede kullanılmak üzere ambrosia böceklerinin herhangi bir hastalık belirtisi olmayan ve normal boyutta olan canlı ve sağlıklı dişi bireyleri seçilmiştir.

3.2.5. Patojenite testleri

3.2.5.1. Spor süspansiyonlarının hazırlanması

Ambrosia böceklerinden elde edilen tüm izolatlar PDA besi yerine ekilmiş ve 25°C'de karanlık ortamda 2-3 hafta boyunca gelişmesi sağlanmıştır (Şekil 3.7). Gelişen fungusların üzerine %0.1'lik Tween 80 ihtiva eden 10 mL steril saf su eklenmiş ve cam baget ile kazınarak sporlar elde edilmiştir (Şekil 3.8a). Spor süspansiyonları iki katlı tülbent ile 50 mL'lik steril cam erlenlere süzülerek misel ve agar parçaları uzaklaştırılmış (Şekil 3.8b) ve elde edilen süspansiyonlar 5 dk. vorteksenerek homojen hale getirilmiştir. Spor konsantrasyonları Neubauer hemositometresi ile sayılarak istenilen konsantrasyonlara ayarlanmıştır. Denemede tüm izolatların 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonu kullanılmıştır.



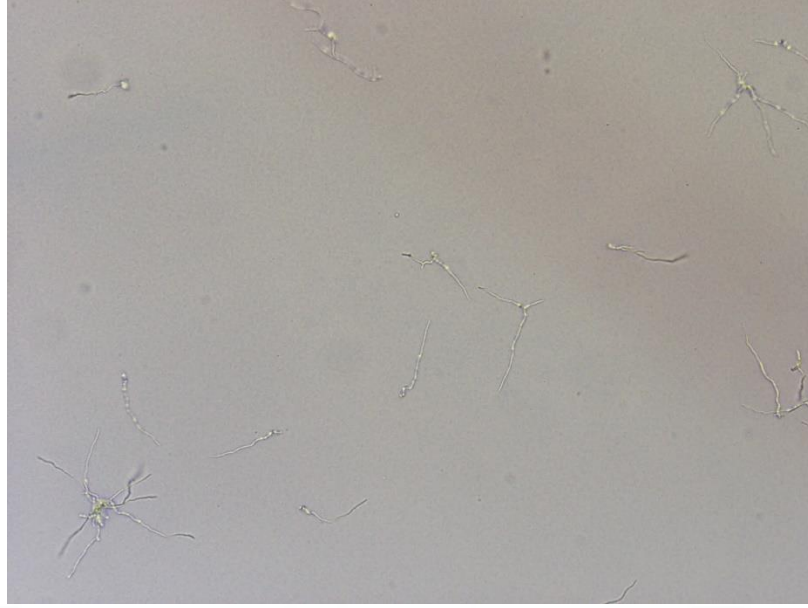
Şekil 3.7. Entomopatojen fungus kültürleri; TR-55-034 (a) ve TR-55-018 (b) izolatı



Şekil 3.8. Fungus sporlarının kazınması (a) ve süzülerek misel parçalarının uzaklaştırılması (b)

3.2.5.2. Sporların canlılık testi

Sporların canlılığını test etmek amacıyla 1×10^4 spor mL^{-1} konsantrasyonundan alınan 100 μL spor süspansiyonu içerisinde PDA besi yeri bulunan 6 cm'lik Petri kaplarına yayılmış ve 25°C 'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan 24 saat sonra her Petri kabından 200 spor incelenerek canlılık oranı belirlenmiştir (Erper vd, 2016). Çim tüpü spor çapından büyük olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.9). Bunun sonucunda %95'in üzerinde çimlenen sporlara sahip süspansiyonlar patojenite testlerinde kullanılmıştır (Kushiyev vd, 2018).



Şekil 3.9. TR-55-019 izolatının çimlenen sporları

3.2.5.3. Ticari preparatların hazırlanması

Ambrosia böceklerinden elde edilen yerli izolatların etkinliğinin kıyaslanması amacıyla Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ndeki Entomoloji laboratuvarından temin edilen entomopatojen fungus kökenli ticari preparatlar da test edilmiştir (Şekil 3.10). Bu preparatların her birinden 2.5 mL süspansiyon alınarak 1 L su ile seyreltilmiş ve 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyona ayarlanmıştır. Bu preparatların ticari ismi, içerdiği fungus türü, hedef zararlısı ve tavsiye dozu Çizelge 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.10. Çalışmada kullanılan ticari preparatlar

Çizelge 3.2. Preparatların ticari ismi, içerdiği fungus türü, hedef zararlısı ve tavsiye dozu

Ticari ismi	Fungus türü	Hedef Zararlısı	Tavsiye Dozu 100 L ⁻¹
Nibortem	<i>Verticillium lecani</i> strain V1-1	Beyazsinekler	250 mL
Nostalgist	<i>Beauveria bassiana</i> strain Bb-1	Yeşil kurt	250 mL
Priority	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> strain PFs-1	Kırmızı örümcek	250 mL
Bio-Magic	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Yaprakbitleri	250 mL

3.2.5.4. Entomopatojen fungusların izolatlarının ve biopreparatlarının ambrosia böceklerine uygulanması

Patojenite çalışmalarında kullanılan dişi erginler (mikroskopik inceleme sonucu herhangi bir semptom göstermeyen) %70'lik etil alkolde 10 sn. tutularak yüzeysel dezenfeksiyondan geçirilmiş ve ardından steril saf su ile temizlenerek kurutma kâğıtları üzerinde 30 dk. bekletilmiştir. Denemede kullanılacak fındık dalları da otoklavda 121°C'de 1 saat iki gün art arda steril edilmiştir. Aynı zamanda Petri kaplarının altı steril kurutma kağıdı ile kaplanmıştır. Daha sonra tüm izolatlardan hazırlanan 1×10^8 spor mL⁻¹ süspansiyondan 2 mL alınmış ve Potter sprej tower (Burkard, Rickmansworth, Hertz UK) adı verilen ilaçlama kulesi (Şekil 3.11) yardımıyla Petri kaplarında bulunan 5'er adet dişi ergin üzerine püskürtülmüştür. Ayrıca, ticari preparatlardan hazırlanan süspansiyonlar da aynı yöntemle uygulanmıştır. İlaçlama kulesi her bir uygulamadan sonra %70'lik etil alkolle dezenfekte edilmiş ve steril saf su ile yıkanmıştır. Kontrol Petri kaplarına ise aynı yöntemle sadece %0.01 Tween 80 ihtiva eden steril saf su püskürtülmüş ve tüm Petri kaplarına 1'er adet steril fındık dal parçacığı (yaklaşık 4 cm uzunluğunda ve 1.5 cm çapında) bırakılmıştır. Daha sonra tüm Petri kaplarının kenarları streç film ile kapatılmış ve 25±1°C sıcaklık ve %70 nemli ortamda 9 gün boyunca inkübe (Binder; KBWF 240, Almanya) edilmiştir. Denemeler 5 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Ölüm oranları birbirini takip eden 9 gün süreyle tespit edilmiş, her güne ait gözlemlerin birbirinden bağımsızlığını sağlamak için (Robertson vd, 2007) deneme her gün için aynı sayıda ve farklı bireyler kullanılarak (n=25 böcek/gün/izolat/konsantrasyon) tekrar edilmiş, her sayım gününde ilgili güne ait böcekler üzerinden ölüm oranları belirlendikten sonra o güne ait böcekler denemeden uzaklaştırılmıştır. Aynı işlem kontrol grupları için de tekrar edilmiştir.



Şekil 3.11. İlaçlama kulesi (Potter sprey tower)

3.2.5.5. Entomopatojen fungusların farklı konsantrasyonlardaki etkisi

Fungus izolatlarının farklı konsantrasyonlarının *A. dispar* ve *X. germanus* erginlerine karşı etkilerinin belirlenmesi için patojenite çalışmalarında yüksek derecede virülens olduğu görülen *B. bassiana* (TR-55-034) ve *M. anisopliae* (TR-55-019) izolatları kullanılmıştır. Bu izolatların 5 farklı konsantrasyonu (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor mL^{-1}) *A. dispar* ve *X. germanus*'un dişi erginlerine karşı uygulanmıştır. Denemede kullanılan yöntem, tekerrür ve böcek sayısı, saklandığı koşullar ve sayım günleri Bölüm 3.2.5.4'de belirtildiği gibidir.

3.2.5.6. Mikozis oranının belirlenmesi

Patojenite çalışmalarından elde edilen ölü bireyler %1'lik sodyum hipokloritte 3 dk. bekletilerek yüzeysel sterilizasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra 3 defa steril saf su içerisinden geçirilerek sporülasyonun oluşması için nemli ortamda 1 hafta boyunca inkübe edilmiş ve inkübasyondan sonra böcek üzerindeki fungal yapılar incelenerek mikozis oranları belirlenmiştir (Kocaçevik vd, 2016).

3.2.6. Entomopatojen fungusların *A. dispar* ve *X. germanus* erginleri arasındaki horizontal yayılımı

Bu çalışmada belirli sayıda spor bulaştırılmış *A. dispar* ve *X. germanus* erginlerinin, bu sporları popülasyondaki enfekte edilmemiş diğer bireylere yayıp yayamayacağını veya bu yayılımın etkisinin ne olacağını belirlemek amaçlanmıştır. Denemede kullanılan erginlerin %0 (kontrol), %25, %50, %75 ve %100 bulaştırma oranlarını sağlamak amacıyla her uygulama için 5'er tekerrür ve her tekerrür için 20'şer birey kullanılmıştır. Böceklerin bulaştırılma oranları aşağıdaki gibidir:

- %0: 20 böcek: Spor bulaştırılmamış 20 böcek (kontrol)
- %25: 20 böcek: Spor bulaştırılmış 5, bulaştırılmamış 15 böcek
- %50: 20 böcek: Spor bulaştırılmış 10, bulaştırılmamış 10 böcek
- %75: 20 böcek: Spor bulaştırılmış 15, bulaştırılmamış 5 böcek
- %100: 20 böcek: Spor bulaştırılmış 20 böcek

Bu denemede, yüksek patojeniteye sahip *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019) izolatları kullanılmıştır. Bu izolatlardan 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyona sahip 100 mL'lik spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Daha sonra, her oran için belirtilen sayıda *A. dispar* ve *X. germanus* ergini 200 mL'lik cam baher içerisinde bulunan spor süspansiyonuna 2-3 sn boyunca daldırılarak inokulumun bulaşması sağlanmış ve steril kurutma kağıtları üzerinde 10 dk. kurumaya bırakılmıştır. Aynı sayıdaki kontrol böcekler ise sadece %0.01 Tween 80 ihtiva eden steril saf su içine daldırılmıştır. Daha sonra uygulama yapılmış ve yapılmamış erginlerden yukarıda belirtilen oranda her kutuya 20 adet bırakılmış ve aynı zamanda içerisine 1'er adet steril fındık dal parçası (yaklaşık 8 cm) konulmuştur. Denemeler 5 tekerrürlü olarak yapılmıştır (n=100 ergin/gün/uygulama). Bu kültürler $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık ve %70 nemli içeren inkübatör

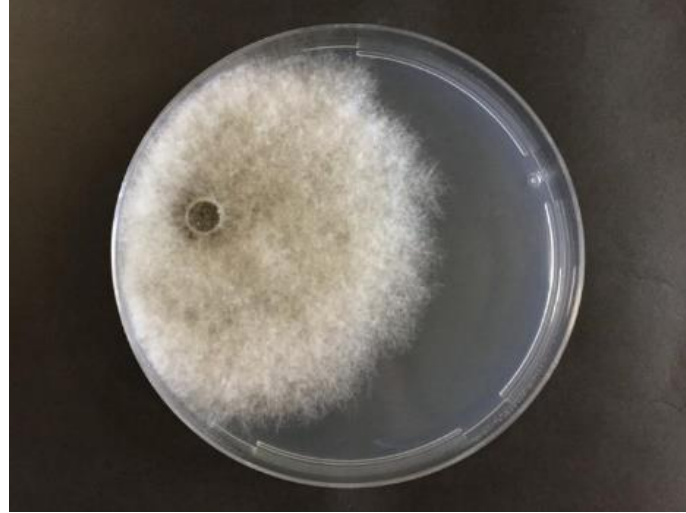
(Binder; KBWF 240, Almanya)'de gelişmeye bırakılmıştır. Her bir gözlem günü için farklı bireyler kullanılmıştır. Bu şekilde, entomopatojen fungusların bulaşık bireyler tarafından diğer bireylere bulaşarak gösterdiği etkinliği belirlenmiştir (Kocaçevik vd, 2016). Ayrıca, bu çalışmadan elde edilen ölü bireylerin Bölüm 3.2.5.6'de belirtildiği gibi mikozis oranları belirlenmiştir.

3.2.7. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un gelişmesine ve *X. germanus*'un yumurta bırakması üzerine etkisi

Bu çalışmada, entomopatojen fungusların *X. germanus* ile ilişkili simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un gelişmesine ve bu böceğin yumurta bırakmasına olan etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda, *A. dispar* üzerinde de test edilmiş, ancak bu böceğin yumurta bırakması sağlanamadığından dolayı sadece *X. germanus* üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus üzerindeki etkisi ikili kültür ve dal yöntemleri ile test edilmiştir.

3.2.7.1. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'a karşı etkisinin ikili kültür yöntemi ile belirlenmesi

Entomopatojen fungusların *X. germanus* ile ilişkili simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'a karşı antogonistik etkileri Petri denemelerinde ikili kültür yöntemiyle test edilmiştir. Çalışmada kullanılan simbiyotik fungus Samsun'un Çarşamba ilçesinden toplanan *X. germanus*'un mycangium kesesinden izole edilmiştir. *X. germanus*'un dışı ergini 1 mL PBS (phosphate buffered saline)+%0.1 Tween 80 (15 sn.) ve %40 etil alkol (5 sn.) ile yüzeysel olarak dezenfekte edilmiş ve steril kurutma kağıtları üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra bu böcek 6 cm'lik Petri kabındaki PDA besi yerine ekilmiş ve 25±1°C sıcaklık ve %70'lik nem ortamında (Binder; KBWF 240, Almanya) gelişmeye bırakılmıştır. Günlük olarak takip edilerek Petri kabında gelişen simbiyotik fungus saflaştırılmış (Şekil 3.12) ve morfolojik özelliklerine göre *Ambrosiella* sp. olarak tanımlanmıştır (Batra, 1967; Kushiyeve, 2015; Tuncer vd, 2018b).



Şekil 3.12. *Xylosandrus germanus*'dan izole edilen simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un gelişimi

Entomopatojen fungus izolatları ve izole edilen simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.) PDA besiyeri üzerine ekilmiş ve 25°C'de karanlık ortamda 1 hafta boyunca gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen entomopatojen ve simbiyotik fungustan mantar delici alet yardımıyla alınan 5 mm'lik diskler 9 cm'lik Petri kaplarına karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Kontrol Petri kaplarına ise sadece tek taraflı olarak simbiyotik fungus yerleştirilmiştir. Petriler 25°C'de inkübasyona bırakıldıktan 10 gün sonra incelenmiş ve Bell vd (1982) tarafından geliştirilen 1-5 skalası modifiye edilerek antagonizmin derecesi belirlenmiştir. Antagonizmin derecesini belirleyen 1-5 skalası:

1= Entomopatojen fungus tamamen simbiyotik fungusun üzerinde gelişmekte ve besiyerini tamamen kaplamaktadır.

2= Entomopatojen fungus ortam yüzeyinin üçte ikisini kaplamaktadır.

3= Entomopatojen ve simbiyotik fungusun her ikisi de hemen hemen ortam yüzeyinin yarısını kaplamakta ve hiçbirine baskın olamamaktadır.

4= Simbiyotik fungus ortamın üçte ikisini kaplamakta ve entomopatojen fungusun baskısına dayanmaktadır.

5= Simbiyotik fungus tamamen entomopatojen fungusun üstünde gelişmekte ve yüzeyi kaplamaktadır.

Bu skalaya göre eğer sonuç ≤ 2 olursa entomopatojen fungus simbiyotik fungusu karşı yüksek oranda antagonistik özellik göstermekte, ≥ 3 olursa antagonistik özellik yüksek olmamaktadır (Bell vd, 1982).

3.2.7.2. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)’un böcek galerisindeki gelişmesine ve *X. germanus*’un yumurta bırakmasına etkisi

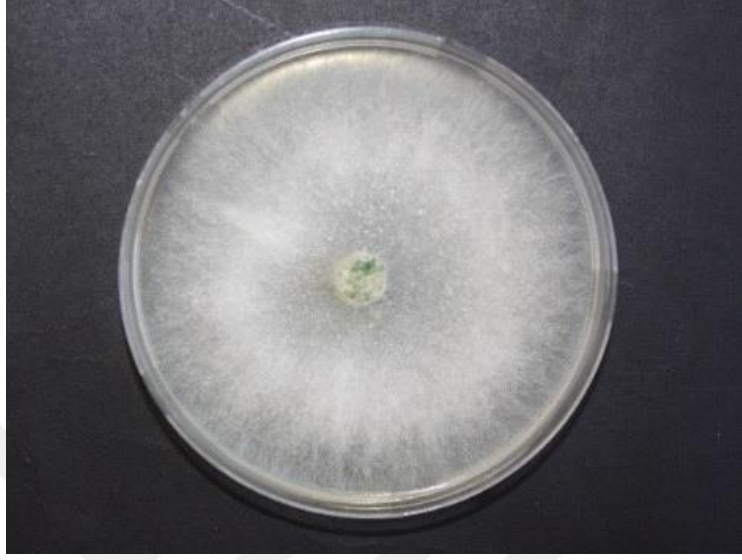
Bu çalışmada, yüksek patojeniteye sahip *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019) izolatlarının farklı spor konsantrasyonlarının (1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor mL^{-1}) fındık dalına uygulanması sonucu *X. germanus*’un galerisindeki simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)’un gelişmesine ve böceğin yumurta bırakmasına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, entomopatojen funguslardan hazırlanan spor süspansiyonlarına 10 cm’lik steril fındık dalları 2-3 saniye daldırılmış ve steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur. Kontrol dallar ise sadece %0.01 Tween 80 ihtiva eden steril saf su içine daldırılmıştır. Kuruyan bu dallar plastik kaplara (11×11×9 cm) alınmış ve içerisine 10’ar adet dişi ergin bırakılmıştır. Daha sonra bu kültürler $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık ve %70 nemli ortamda inkübe edilmiştir. Denemeler 5 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Denemeden 10 gün sonra sayımlar yapılarak, dişi erginlerin canlı sayısı, açtıkları galeri sayısı, simbiyotik fungus içeren galeri sayısı ve bıraktığı yumurta sayısı belirlenmiştir (Castrillo vd, 2016). Ayrıca, yumurtaların stereomikroskop ile incelenmesi ve re-izolasyon işlemine tabi tutulması sonucu enfeksiyon oranları bulunmuştur.

3.2.8. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)’un gelişmesine ve *X. germanus*’un yumurta bırakmasına etkisi

3.2.8.1. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)’a karşı etkisinin ikili kültür yöntemi ile belirlenmesi

Trichoderma harzianum (11-TTR-2), *T. hamatum* (F4), *T. asperellum* (T-11-25) ve *T. atroviride* (T-4-5)’nin *X. germanus* ile ilişkili simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)’a karşı antogonistik etkileri Petri denemelerinde ikili kültür yöntemiyle test edilmiştir. Bu amaçla, *Trichoderma* türleri ve simbiyotik fungus PDA besi yerine ekilmiş ve 25°C ’de karanlık ortamda 1 hafta boyunca gelişmeleri sağlanmıştır. Gelişen *Trichoderma* türleri (Şekil 3.13 ve 3.14) ve simbiyotik fungustan mantar delici yardımıyla alınan 5 mm’lik diskler 9 cm’lik Petri kaplarına karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Kontrol Petri kaplarına ise sadece tek taraflı olarak simbiyotik fungus yerleştirilmiştir. Petriker 25°C ’de inkübasyona bırakıldıktan 10 gün sonra incelenerek

miseller arasındaki interaksiyona göre 1-5 skalası kullanılarak antagonizmin derecesi belirlenmiştir (Bell vd, 1982). Bu skala, Bölüm 3.2.7.1’de detaylı bir şekilde açıklanmıştır.



Şekil. 3.13. *Trichoderma asperellum*'un besiyerinde gelişmesi



Şekil. 3.14. *Trichoderma atroviride*'nin besiyerinde gelişmesi

3.2.8.2. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve *X. germanus*'un yumurta bırakmasına etkisi

Trichoderma izolatları önce PDA besi yerine aşılınmış ve 25°C'de bir hafta süreyle geliştirilmiştir. Gelişen her fungustan 1×10^6 ve 1×10^8 spor mL^{-1} içeren 100 mL'lik süspansiyon hazırlanmıştır. Yaklaşık 10 cm uzunluğunda ve 1-2 cm çapındaki steril fındık dal parçaları hazırlanmış bu süspansiyonlara 10 saniye boyunca daldırılmış ve steril kurutma kağıtlarına alınarak 30 dk. boyunca bekletilerek kuruması sağlanmıştır. Kontrol dallar ise sadece %0.01'lik Tween 80 ihtiva eden steril saf su içine daldırılmıştır. Uygulama yapılmış ve kontrol dallar altı steril kurutma kağıt ile kaplı plastik kutular (15 cm'lik) içerisine alınmış ve her kutuya 10 adet dişi böcek bırakılmıştır (Şekil 3.15). Daha sonra kutular $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ve %70 nemli ortamda inkübe edilmiş ve farklı günlerde (6, 12 ve 18) sayımı yapılmıştır. Sayım günleri *X. germanus*'un biyolojisi gereği muhtemel yumurta bırakması, larvaların çıkması ve pupaya dönüşmesi dikkate alınarak yapılmıştır. Her bir gözlem günü için farklı bireyler kullanılmış ve o güne ait böcekler sayıldıktan sonra denemeden uzaklaştırılmıştır. Denemeler 4 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Denemede böceklerin canlı sayısı, galeri sayısı, simbiyotik funguslu galeri sayısı, galeride bulunan yumurta, larva ve pupa sayısı belirlenmiştir (Castrillo vd, 2016).



Şekil 3.15. *Trichoderma* denemesinden bir görünüm

3.2.9. İstatistiki Analiz

Yukarıda bahsedilen biyolojik testler sonucu elde edilen verilerin SPSS istatistik programı ile varyans analizi yapılmış ve ortalamalar Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır ($P < 0.05$). Horizontal yayılımı denemesinin verilerinde kontrol böceklerin ölüm oranları %5'i geçtiği için Abbott formülüne göre düzeltilmiştir (Abbott, 1925). Ayrıca, patojenite çalışmalarında kullanılan entomopatojen fungusların LT_{50} ve LT_{90} değerleri Probit analizi ile Log-probit metodu ile belirlenmiştir (POLO-PLUS ver. 2.0).



4. BULGULAR

4.1. Fungus İzolatları

Bu çalışmada, 2018-2019 yılları arasında Samsun, Ordu, Giresun, Düzce ve Sakarya illerinin bazı ilçelerindeki fındık bahçelerinden ambrosia böcekleri (*A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii*)'nin erginleri toplanmış ve bu erginler üzerindeki entomopatojen fungus türleri incelenmiştir. Bu bireylerden yapılan izolasyonlar sonucunda 15'i Samsun, 10'u Giresun, 9'u Ordu, 8'i Sakarya ve 5'i ise Düzce illerinden olmak üzere toplam 47 adet fungal izolat elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Aynı zamanda, 23 izolatın *A. dispar*'dan, 19 izolatın *X. germanus*'tan ve 5 izolatın ise *X. saxesenii*'den elde edildiği belirlenmiştir. Bu izolatların kodu, toplanma tarihi, izole edildiği böcek ve alındığı yer bilgileri Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Fungus izolatlarının kodu, toplanma tarihi, izole edildiği böcek ve alındığı yer bilgileri

No	Izolat kodu	Toplama tarihi	İzole edildiği böcek	Alındığı yer
1	TR-55-034	02.05.2018	<i>X. germanus</i>	Ondokuz Mayıs/Samsun
2	TR-55-006	21.01.2018	<i>A. dispar</i>	Terme/Samsun
3	TR-52-002	26.08.2018	<i>A. dispar</i>	Fatsa/Ordu
4	TR-52-003	26.08.2018	<i>A. dispar</i>	Ünye/Ordu
5	TR-52-004	26.08.2018	<i>X. germanus</i>	Fatsa/Ordu
6	TR-54-002	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Akyazı/Sakarya
7	TR-54-004	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Akyazı/Sakarya
8	TR-28-012	21.06.2019	<i>X. germanus</i>	Piraziz/Giresun
9	TR-28-003	21.06.2019	<i>X. germanus</i>	Merkez/Giresun
10	TR-28-004	21.06.2019	<i>X. saxesenii</i>	Merkez/Giresun
11	TR-52-009	15.06.2019	<i>X. germanus</i>	Ünye/Ordu
12	TR-55-001	05.02.2018	<i>X. germanus</i>	Çarşamba/Samsun
13	TR-55-003	05.02.2018	<i>A. dispar</i>	Çarşamba/Samsun
14	TR-55-004	11.05.2018	<i>X. saxesenii</i>	Ondokuz Mayıs/Samsun
15	TR-55-024	02.05.2018	<i>X. germanus</i>	Ondokuz Mayıs/Samsun
16	TR-55-030	21.01.2018	<i>X. germanus</i>	Terme/ Samsun
17	TR-52-001	26.08.2018	<i>X. germanus</i>	Fatsa/ Ordu
18	TR-28-001	18.04.2018	<i>A. dispar</i>	Merkez/Giresun
19	TR-28-002	20.05.2018	<i>A. dispar</i>	Buluncak/Giresun
20	TR-55-002	11.05.2018	<i>X. germanus</i>	Ondokuz Mayıs/ Samsun
21	TR-55-015	18.05.2018	<i>A. dispar</i>	Çarşamba/Samsun
22	TR-55-016	21.01.2018	<i>X. germanus</i>	Terme/ Samsun
23	TR-55-018	21.01.2018	<i>X. saxesenii</i>	Terme/ Samsun
24	TR-28-010	21.06.2019	<i>A. dispar</i>	Piraziz/ Giresun
25	TR-54-007	04.06.2019	<i>A. dispar</i>	Hendek/ Sakarya
26	TR-52-014	15.06.2019	<i>A. dispar</i>	Ünye/ Ordu
27	TR-55-020	21.01.2018	<i>A. dispar</i>	Terme/ Samsun
28	TR-55-033	18.05.2018	<i>X. saxesenii</i>	Çarşamba/ Samsun
29	TR-54-001	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Akyazı/ Sakarya
30	TR-81-001	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Gülyaka
31	TR-81-002	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Cumayeri/Düzce
32	TR-81-003	04.08.2018	<i>X. germanus</i>	Cumayeri/Düzce
33	TR-81-004	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Gülyaka/Düzce
34	TR-81-005	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Gülyaka/Düzce
35	TR-54-003	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Hendek/Sakarya
36	TR-54-008	04.06.2019	<i>X. germanus</i>	Hendek/Sakarya
37	TR-52-006	15.06.2019	<i>X. germanus</i>	Merkez/Ordu
38	TR-28-007	21.06.2019	<i>X. germanus</i>	Bulancak/Giresun
39	TR-28-008	21.06.2019	<i>X. saxesenii</i>	Bulancak/Giresun
40	TR-52-007	15.06.2019	<i>X. germanus</i>	Ünye/Ordu
41	TR-52-010	15.06.2019	<i>A. dispar</i>	Gülyalı/Giresun
42	TR-28-005	21.06.2019	<i>A. dispar</i>	Keşap/Giresun
43	TR-55-010	02.05.2018	<i>X. germanus</i>	Ondokuz Mayıs/Samsun
44	TR-28-006	21.06.2019	<i>A. dispar</i>	Bulancak/Giresun
45	TR-55-019	10.01.2018	<i>X. germanus</i>	Ondokuz Mayıs/Samsun
46	TR-54-005	04.08.2018	<i>A. dispar</i>	Hendek/Sakarya
47	TR-54-006	04.06.2019	<i>X. germanus</i>	Hendek/Sakarya

4.2. İzolatların Moleküler Karakterizasyonu

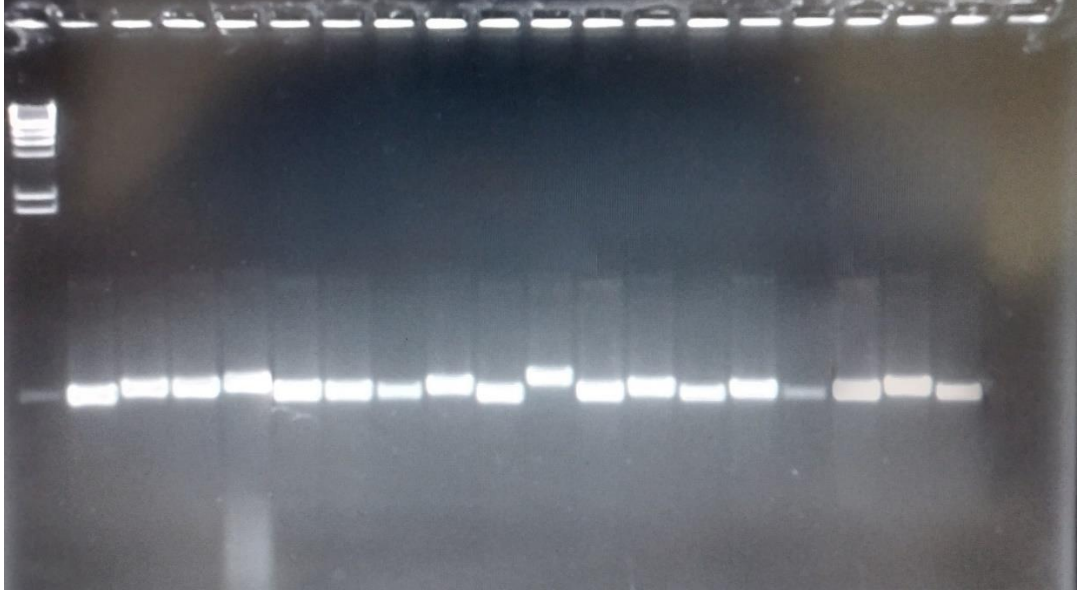
İzolatların genomik DNA'ları DArT protokolüne uygun olarak izole edilmiştir. Elde edilmiş olan DNA'ların konsantrasyonu ve kalitesi DS-11 FX serisi spektrofotometre ile ölçülmüş ve PCR çalışmaları için uygun olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).



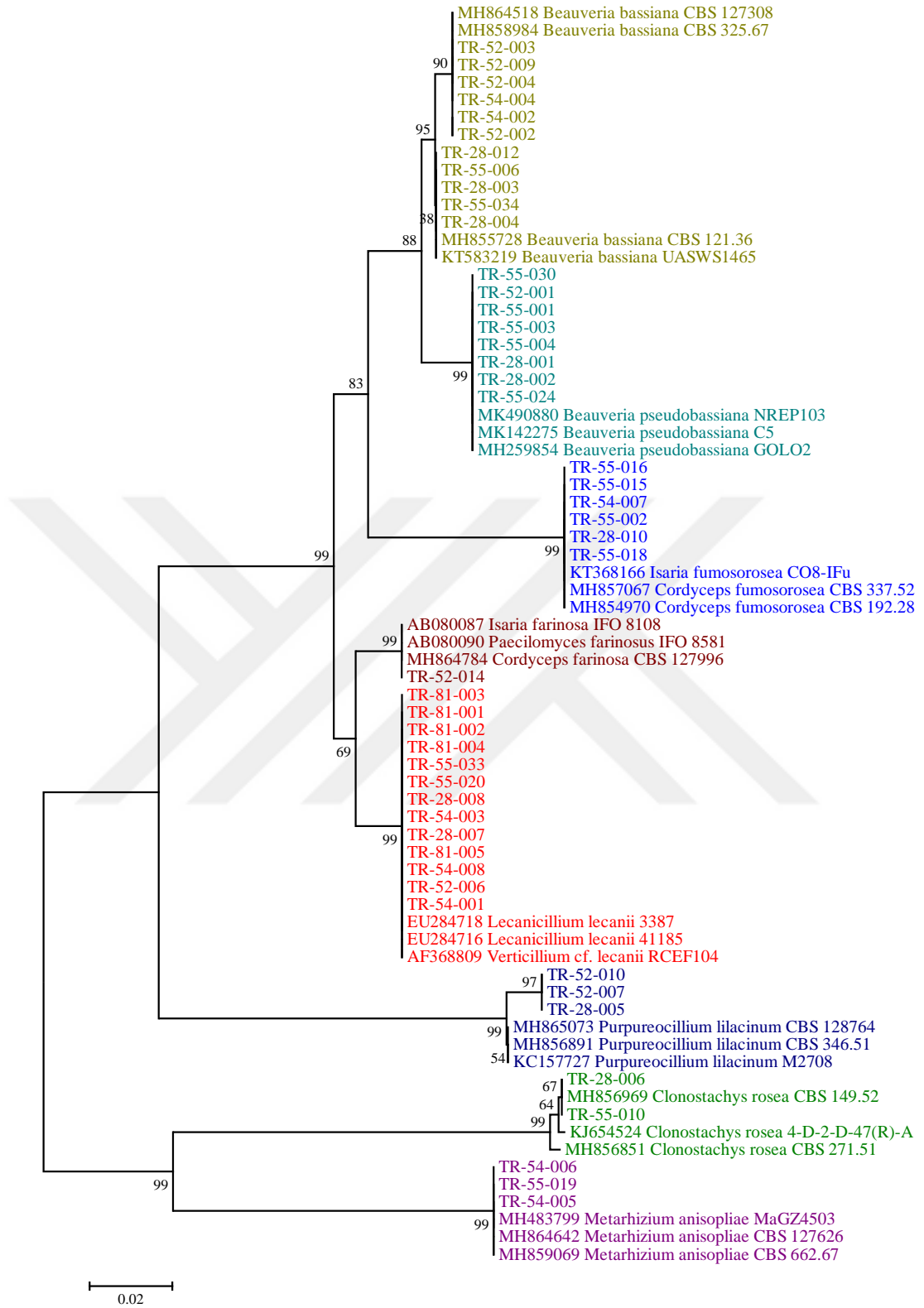
Çizelge 4.2. İzolatlardan elde edilen DNA'ların konsantrasyon, kalite ve çalışmalar için gerekli seyreltme verileri

No	İzolat	DNA konsantrasyonu (ng/μl)	260/280 oranı	100 mL (50ng/μL) için stoktan alınan miktar	100 mL (50ng/μL) için su miktarı
1	TR-54-002	1277.69	2.08	3.91	96.09
2	TR-28-012	1226.36	2.08	4.08	95.92
3	TR-52-002	1773.66	2.13	2.82	97.18
4	TR-55-006	657.93	2.09	7.60	92.40
5	TR-54-004	502.39	2.17	9.95	90.05
6	TR-52-004	579.32	2.16	8.63	91.37
7	TR-52-009	660.88	2.17	7.57	92.43
8	TR-28-003	958.89	2.11	5.21	94.79
9	TR-52-003	762.80	2.14	6.55	93.45
10	TR-55-034	766.60	2.10	6.52	93.48
11	TR-28-004	311.11	2.07	16.07	83.93
12	TR-55-030	603.98	2.08	8.28	91.72
13	TR-52-001	209.15	2.07	23.91	76.09
14	TR-55-001	1835.13	2.14	2.72	97.28
15	TR-55-003	1046.10	2.09	4.78	95.22
16	TR-55-004	1002.03	2.11	4.99	95.01
17	TR-28-001	772.89	2.14	6.47	93.53
18	TR-28-002	426.31	2.11	11.73	88.27
19	TR-55-024	478.25	2.38	10.45	89.55
20	TR-55-016	426.31	2.16	11.73	88.27
21	TR-55-015	859.45	2.15	5.82	94.18
22	TR-54-007	120.08	2.18	41.64	58.36
23	TR-55-002	161.00	2.14	31.06	68.94
24	TR-28-010	318.13	2.15	15.72	84.28
25	TR-55-018	277.88	2.13	17.99	82.01
26	TR-52-014	683.31	2.14	7.32	92.68
27	TR-81-003	357.46	2.11	13.99	86.01
28	TR-81-001	91.90	2.30	54.40	45.60
29	TR-81-002	442.51	2.13	11.30	88.70
30	TR-81-004	390.82	2.10	12.79	87.21
31	TR-55-033	196.42	2.08	25.46	74.54
32	TR-55-020	163.77	2.05	30.53	69.47
33	TR-28-008	1092.15	2.16	4.58	95.42
34	TR-54-003	801.67	2.11	6.24	93.76
35	TR-28-007	515.67	2.13	9.70	90.30
36	TR-81-005	874.29	2.16	5.72	94.28
37	TR-54-008	598.06	2.13	8.36	91.64
38	TR-52-006	1325.20	2.07	3.77	96.23
39	TR-54-001	392.66	2.13	12.73	87.27
40	TR-28-005	1136.12	2.19	4.40	95.60
41	TR-52-010	566.46	2.11	8.83	91.17
42	TR-52-007	1381.53	2.05	3.62	96.38
43	TR-55-010	588.48	2.13	8.50	91.50
44	TR-28-006	1405.82	2.07	3.56	96.44
45	TR-54-006	4502.00	2.13	1.11	98.89
46	TR-55-019	713.61	2.15	7.01	92.99
47	TR-54-005	688.04	2.14	7.27	92.73

Entomopatojen türlere ait izolatların ITS bölgeleri ITS1 ve ITS4 primerleri ile başarılı bir şekilde amplifiye edilmiş ve PCR ürünleri jel elektroforezde görüntülenmiştir (Şekil 4.1). Ürünün doğrulanmasını takiben ticari firmaya sekans verisinin elde edilmesi için gönderilmiştir. Firmadan gelen sekans verileri MEGA7 programında işlenerek NCBI BLASTn analizi yardımıyla GenBank veri tabanındaki türler ile kıyaslanmış ve her bir tür kendi türlere ait sekanslarla %100 olarak eşleştiği tespit edilmiş ve tür düzeyindeki teşhisleri böylelikle doğrulanmıştır. Sekans verilerinin işlenmesinden sonra elde edilen sekans büyüklükleri sırasıyla *B. bassiana* için 520 bp, *B. pseudobassiana* 531 bp, *I. fumosorosea* 545 bp, *I. farinosa* için 539 bp, *L. lecanii* 550 bp, *P. lilacinum* 548 bp, *C. rosea* 524 bp ve *M. anisopliae* 511 bp olarak tespit edilmiştir. İzolatlara ait ITS sekansları NCBI-BankIt aracı ile GenBank veri tabanına eklenmiştir. İzolatlara ait NCBI-GenBank tarafından sağlanan erişim numaraları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çalışmada kullanılan izolatların her bir türüne ait üçer referans sekans (*B. bassiana* için dört) NCBI GenBank veri tabanından elde edilerek analizlere eklenmiştir. Tüm sekanslar ClustalW programı kullanılarak alignment analizi gerçekleştirilmiş ve MEGA7 programı kullanılarak filogenetik ağacı çizilmiştir. Neighbor-joining dendrogramı Tamura ve Nei (1993) modeli kullanılarak 1000 bootstrap tekrarı ile çizilmiştir. Morfolojik olarak tanımlaması yapılmış olan türlere ait izolatlar oluşan filogenetik ağaçta referans izolatlar ile aynı gruplarda yer aldığı görülmüştür (Şekil 4.2). Böylelikle ITS bölgesinin izolatların tür teşhisinin doğrulanmasında oldukça yararlı bilgiler sağladığı anlaşılmıştır.



Şekil 4.1. İzolatlardan elde edilen ITS bölgelerine ait PCR ürünleri, DNA markör: Lambda DNA/HindIII Marker (Thermo Scientific, ABD)



Şekil 4.2. İzolatlara ait neighbor-joining dendrogramı, bootstrap 1000 tekrarlı olarak

Bu izolatların moleküler karakterizasyonu sonucu toplam 6 farklı cinse ait 8 entomopatojen fungus türünün varlığı doğrulanmıştır (Çizelge 4.3). Bu izolatların 19'u *Beauveria*, 7'si *Isaria*, 13'ü *Lecanicillium*, 3'i *Purpureocillium*, 2'si *Clonostachys* ve 3'ü *Metarhizium* cinsine girmektedir. Elde edilen türler ise; *Beauveria bassiana*, *Beauveria pseudobassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Isaria farinosa*, *Lecanicillium lecanii*, *Purpureocillium lilacinum*, *Clonostachys rosea* ve *Metarhizium anisopliae*'dir (Şekil 4.3-4.8). Özellikle de 13 izolat ile *L. lecanii* en çok bulunan tür olarak tespit edilmiştir. Bu türü 11 izolat ile *B. bassiana* ve 8 izolat ile *B. pseudobassiana* türleri takip etmiştir. Bu türlerin taksonomik sınıflandırılması Çizelge 4.4'de verilmiştir.



Çizelge 4.3. Entomopatojen fungus türleri ve GenBank erişim numaraları

No	İzolot kodu	Fungus türü	GenBank erişim numaraları
1	TR-55-034	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588117
2	TR-55-006	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588118
3	TR-52-002	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588119
4	TR-52-003	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588120
5	TR-52-004	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588121
6	TR-54-002	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588122
7	TR-54-004	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588123
8	TR-28-012	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588124
9	TR-28-003	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588125
10	TR-28-004	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588126
11	TR-52-009	<i>Beauveria bassiana</i>	MN588127
12	TR-55-001	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	MN588109
13	TR-55-003	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	MN588110
14	TR-55-004	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	MN588111
15	TR-55-024	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	MN588112
16	TR-55-030	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	MN588113
17	TR-52-001	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	MN588114
18	TR-28-001	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	MN588115
19	TR-28-002	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	MN588116
20	TR-55-002	<i>Isaria fumosorosea</i>	MN588098
21	TR-55-015	<i>Isaria fumosorosea</i>	MN588099
22	TR-55-016	<i>Isaria fumosorosea</i>	MN588100
23	TR-55-018	<i>Isaria fumosorosea</i>	MN588101
24	TR-28-010	<i>Isaria fumosorosea</i>	MN588102
25	TR-54-007	<i>Isaria fumosorosea</i>	MN588103
26	TR-52-014	<i>Isaria farinosa</i>	MN588141
27	TR-55-020	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588128
28	TR-55-033	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588129
29	TR-54-001	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588130
30	TR-81-001	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588131
31	TR-81-002	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588132
32	TR-81-003	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588133
33	TR-81-004	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588134
34	TR-81-005	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588135
35	TR-54-003	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588136
36	TR-54-008	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588137
37	TR-52-006	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588138
38	TR-28-007	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588139
39	TR-28-008	<i>Lecanicillium lecanii</i>	MN588140
40	TR-52-007	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	MN588104
41	TR-52-010	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	MN588105
42	TR-28-005	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	MN588106
43	TR-55-010	<i>Clonostachys rosea</i>	MN588107
44	TR-28-006	<i>Clonostachys rosea</i>	MN588108
45	TR-55-019	<i>Metarhizium anisopliae</i>	MN588142
46	TR-54-005	<i>Metarhizium anisopliae</i>	MN588143
47	TR-54-006	<i>Metarhizium anisopliae</i>	MN588144

Çizelge 4.4. Entomopatojen fungus türlerinin taksonomik bilgileri (Mycobank'tan alınmıştır)

No	Fungus türleri	Taksonomik sınıflandırılması*
1	<i>Beauveria bassiana</i>	Cordycipitaceae, <i>Beauveria</i>
2	<i>Beauveria pseudobassiana</i>	Cordycipitaceae, <i>Beauveria</i>
3	<i>Isaria fumosorosea</i>	Cordycipitaceae, <i>Isaria</i>
4	<i>Isaria farinosa</i>	Cordycipitaceae, <i>Isaria</i>
5	<i>Lecanicillium lecanii</i>	Cordycipitaceae, <i>Lecanicillium</i>
6	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Ophiocordycipitaceae, <i>Purpureocillium</i>
7	<i>Clonostachys rosea</i>	Bionectriaceae, <i>Clonostachys</i>
8	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Clavicipitaceae, <i>Metarhizium</i>

*Fungi, Dikarya, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreomycetidae, Hypocreales

Bu entomopatojen fungus izolatlarının illere göre dağılımına bakıldığında 15 izolatın Samsun, 10 izolatın Giresun, 9 izolatın Ordu, 8 izolatın Sakarya ve 5 izolatın ise Düzce ilinden elde edildiği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Özellikle de *Beauveria* ve *Isaria* cinsine ait izolatların Samsun'dan alınan örneklerde yoğun olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada *Lecanicillium* izolatları örneklenen tüm illerden elde edilmiştir. Diğer taraftan *Purpureocillium*, *Clonostachys* ve *Metarhizium* izolatları sadece 2'şer ilden alınan örneklerde tespit edilmiştir. Ayrıca, Düzce ilindeki ambrosia böceklerinde sadece *Lecanicillium* cinsine ait izolatlar bulunmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Entomopatojen fungus cinslerinin illere göre dağılımı

Fungus türleri	Entomopatojen fungus cinslerinin illere göre dağılımı				
	Samsun	Ordu	Giresun	Düzce	Sakarya
<i>Lecanicillium</i>	2	1	2	5	3
<i>Beauveria</i>	7	5	5	-	2
<i>Isaria</i>	4	1	1	-	1
<i>Purpureocillium</i>	-	2	1	-	-
<i>Clonostachys</i>	1	-	1	-	-
<i>Metarhizium</i>	1	-	-	-	2

Bu izolatların kaynağına bakıldığında 23 izolatın *A. dispar*'dan, 19 izolatın *X. germanus*'tan ve 5 izolatın ise *X. saxesenii*'den elde edildiği belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Özellikle de *Baeuveria*, *Isaria* ve *Lecanicillium* cinsine giren izolatlar her üç böcekte izole edilmiştir. Diğer taraftan, *Purpureocillium*, *Clonostachys* ve *Metarhizium* cinsine giren türler ise sadece *A. dispar* ve *X. germanus*'tan elde edilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Entomopatojen fungus cinslerinin konukçulara göre dağılımı

Fungus cinsleri	Entomopatojen fungus cinslerinin konukçulara göre dağılımı		
	<i>A. dispar</i>	<i>X. germanus</i>	<i>X. saxesenii</i>
<i>Lecanicillium</i>	7	4	2
<i>Beauveria</i>	8	9	2
<i>Isaria</i>	4	2	1
<i>Purpureocillium</i>	2	1	-
<i>Clonostachys</i>	1	1	-
<i>Metarhizium</i>	1	2	-



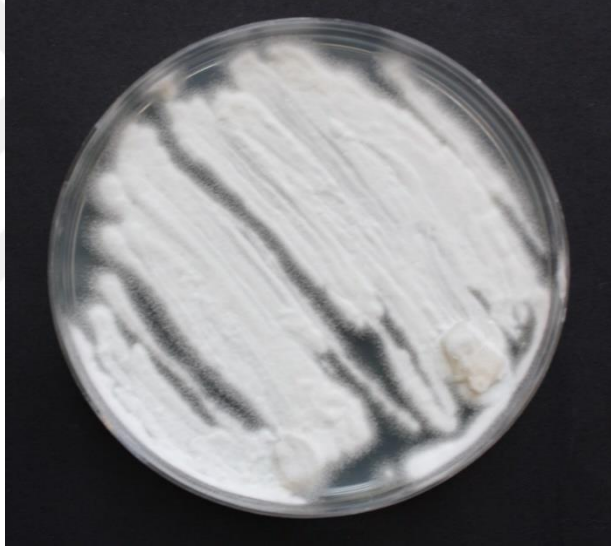
Şekil 4.3. *Beauveria bassiana* (TR-55-034)'nın PDA besiyerinde gelişmesi



Şekil 4.4. *Beauveria pseudobassiana* (TR-55-024)'nın PDA besiyerinde gelişmesi



Şekil 4.5. *Isaria fumosorosea* (TR-54-007)'nin PDA besiyerinde gelişmesi



Şekil 4.6. *Lecanicillium lecanii* (TR-55-033)'nin PDA besiyerinde gelişmesi



Şekil 4.7. *Metarhizium anisopliae* (TR-55-019)'nin PDA besiyerinde gelişmesi



Şekil 4.8. *Purpureocillium lilacinum* (TR-52-010)'un PDA besiyerinde gelişmesi

4.3. Patojenite Sonuçları

4.3.1. Entomopatojen fungusların *A. dispar*'a etkisi

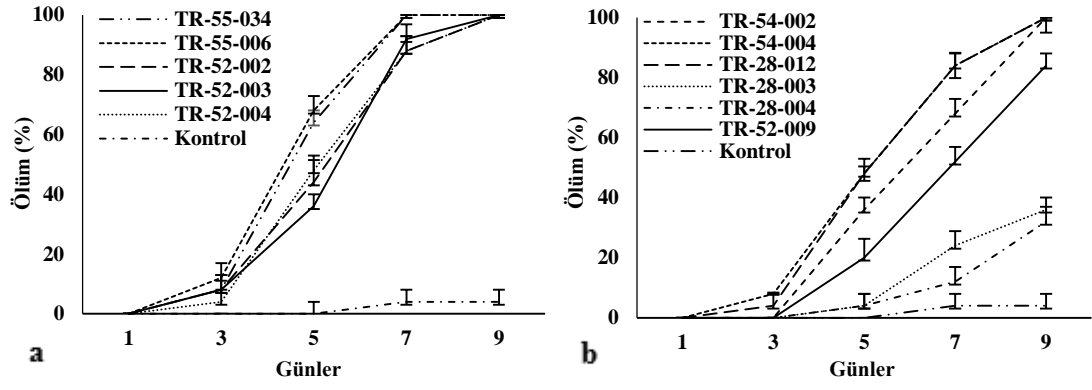
Ambrosia böceklerinden izole edilen *B. bassiana* izolatları 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonda *A. dispar* erginlerine uygulanarak patojeniteleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu izolatların LT_{50} ve LT_{90} değerlerinin izolatlara göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.7). LT_{50} değeri izolatlara bağlı olarak 4.12 ile 11.77 gün arasında değişmiştir. Özellikle de en düşük LT_{50} değeri TR-55-006 izolatında

görülmüş ve bu izolat diğerlerinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Aynı şekilde, LT_{90} değerleri de izolatlarla bağlı olarak 5.96 ile 22.67 gün arasında değişmiştir. *B. bassiana* izolatlarının ilk üç gün içerisinde *A. dispar* erginlerinde önemli derecede ölüm meydana getirmediği, genellikle ölümlerin 5. günde oldukça artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.9 a ve b). Uygulamadan 9 gün sonra 8 izolatın % 100 ölüme ve mikozisa (Şekil 4.10 ve 4.11) neden olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, *B. bassiana* izolatlarının *A. dispar*'a karşı oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Buna rağmen, 2 izolatın ölüm oranı %50'inin altında kalmış olup, diğer izolatlardan istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Kontrol uygulamalarında ise %4 oranında ölüm görülmüştür (Şekil 4.9 a ve b).

Çizelge 4.7. *Beauveria bassiana* izolatlarının *Anisandrus dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT_{50} ve LT_{90} değerleri (gün)

İzolatlar	LT_{50} (%95 güven aralığı)	LT_{90} (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-034	4.84(4.46-5.21)b*	7.24(6.60-8.27)ab*	7.33±0.89	0.31
TR-55-006	4.12(3.78-4.44)a	5.96(5.45-6.76)a	7.97±0.98	0.94
TR-52-002	4.95(4.58-5.30)bc	7.14(6.54-8.08)ab	8.06±0.99	0.40
TR-52-003	5.09(4.72-5.45)bc	7.32(6.71-8.31)ab	8.10±0.99	0.50
TR-52-004	5.11(4.75-5.46)bc	7.18(6.62-8.07)ab	8.68±1.07	0.41
TR-54-002	5.69(5.29-6.09)c	8.22(7.51-9.42)bc	8.01±1.03	0.35
TR-54-004	5.18(4.82-5.53)bc	7.27(6.70-8.18)ab	8.70±1.08	0.49
TR-28-012	5.34(4.98-5.71)bc	7.58(6.96-8.58)b	8.45±1.05	0.55
TR-28-003	9.70(8.64-12.77)e	14.87(11.73-28.48)cd	6.91±1.69	0.20
TR-28-004	11.77(9.52-21.82)e	22.67(14.87-86.04)d	4.51±1.22	0.49
TR-52-009	6.67(6.19-7.24)d	10.26(9.07-12.60)c	6.85±0.99	0.28

*Aynı sütundaki LT_{50} ve LT_{90} değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır



Şekil 4.9. *Beauveria bassiana* izolatları uygulanmış *Anisandrus dispar* erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).



Şekil 4.10. TR-55-034 izolatının *Anisandrus dispar* ergini üzerindeki gelişmesi



Şekil 4.11. TR-28-012 izolatının *Anisandrus dispar* ergini üzerindeki gelişmesi

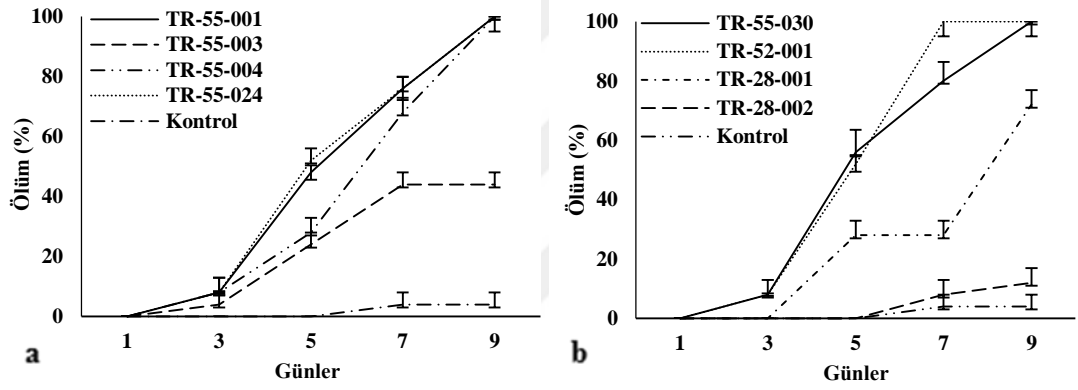
Beauveria cinsine ait *B. pseudobassiana* izolatlarının *A. dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT_{50} ve LT_{90} değerlerinin izolatlara göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.8). Özellikle de en düşük LT_{50} değeri 4.56 gün ile TR-52-001 izolatında görülürken, en yüksek LT_{50} değeri ise 7.54 gün ile TR-55-003 izolatında görülmüştür. Diğer taraftan, ölüm oranlarının oldukça düşük olmasından dolayı TR-28-002 izolatının LT_{50} ve LT_{90} değerleri belirlenememiştir. *B. bassiana*'da olduğu gibi, *B. pseudobassiana* izolatları da *A. dispar* erginlerinde ilk günlerde düşük ve 5. günden başlayarak ise artan ölüm oranlarına neden olmuştur (Şekil 4.12 a ve b). Uygulamadan 9 gün sonra, 5 izolatın %100 ve 1 izolatın ise %72 oranında yüksek derecede ölüm meydana getirdiği bulunurken, sadece 2 izolatın %50'nin altında ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, izolatlara göre değişmekle birlikte %20-100 arasında mikozis tespit edilmiştir (Şekil 4.13). Bu sonuçlar, *B. pseudobassiana* izolatlarının (bazıları hariç) genel olarak *A. dispar*'a karşı oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.8. *Beauveria pseudobassiana* izolatlarının *Anisandrus dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-001	4.91(4.51-5.30)ab*	7.54(6.84-8.70)ab*	6.87±0.85	0.34
TR-55-003	7.54(6.71-8.93)c	15.24(11.89-24.51)c	4.20±0.71	0.32
TR-55-004	5.63(5.20-6.07)b	8.71(7.83-10.22)bc	6.76±0.85	0.43
TR-55-024	5.17(4.75-5.57)ab	7.91(7.17-9.12)b	6.93±0.85	0.41
TR-55-030	4.91(4.49-5.31)ab	7.76(7.00-9.02)ab	6.43±0.79	0.38
TR-52-001	4.56(4.24-4.88)a	6.28(5.79-7.05)a	9.25±1.18	0.30
TR-28-001	6.71(6.12-7.49)c	11.86(10.00-15.97)c	5.19±0.79	0.19
TR-28-002	-**	-**	-	-

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

** Ölüm değerlerinin oldukça düşük olmasından dolayı LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri hesaplanamamıştır.



Şekil 4.12. *Beauveria pseudobassiana* izolatları uygulanmış *Anisandrus dispar* erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).



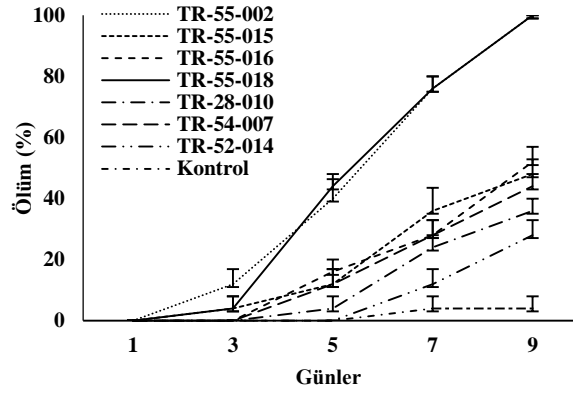
Şekil 4.13. TR-52-001 izolatının *Anisandrus dispar* ergini üzerindeki gelişmesi

Aynı konsantrasyonda uygulanan *I. fumosorosea* ve *I. farinosa* izolatlarının *A. dispar* üzerindeki LT_{50} ve LT_{90} değerlerine bakıldığında en düşük TR-55-002 ve TR-55-018'de görüldüğü ve bu izolatların diğerlerinden istatistiki olarak farklı olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.9). Bu izolatların LT_{50} değerleri 5.12 ile 10.55 gün ve LT_{90} değerleri ise 7.84 ile 18.38 gün arasında değişmiştir. Bu izolatların uygulandığı erginlerde ilk 5 gün içerisinde ölümlerin oldukça düşük olduğu ve sonraki günlerde ise artmaya başladığı görülmüştür (Şekil 14). Uygulamadan 9 gün sonra bu izolatlardan sadece 2'sinin %100 ölüme neden olduğu ve geri kalanının ise %52'nin altında ölüm meydana getirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, bu izolatların %30 ile %100 arasında mikozisa neden olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.9. *Isaria fumosorosea* ve *I. farinosa* izolatlarının *Anisandrus dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-002	5.19(4.77-5.62)a*	8.21(7.37-9.61)a*	6.45±0.80	0.46
TR-55-015	8.86(7.68-11.42)b	18.38(13.47-35.79)b	4.04±0.78	0.40
TR-55-016	8.70(7.78-10.61)b	15.08(11.89-25.31)b	5.36±1.06	0.21
TR-55-018	5.12(4.71-5.52)a	7.84(7.10-9.05)a	6.94±0.86	0.32
TR-28-010	9.98(8.70-13.83)b	16.71(12.57-36.04)b	5.73±1.38	0.24
TR-54-007	9.23(8.14-11.84)b	16.26(12.44-30.41)b	5.21±1.10	0.24
TR-52-014	10.55(9.17-16.73)b	15.78(11.98-43.13)b	7.32±2.17	0.27

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.



Şekil 4.14. *Isaria fumosorosea* ve *I. farinosa* izolatları uygulanmış *Anisandrus dispar* erginlerinin günlük ölüm oranları

LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine bakıldığında *L. lecanii* izolatları arasında önemli derecede farklılıklar bulunmuştur (P<0.05) (Çizelge 4.10). Ayrıca, LT₅₀ değerleri 4.72 ile 11.31 gün, LT₉₀ değerleri ise 7.05 ile 22.52 gün arasında değişiklik göstermiştir. Özellikle de TR-81-004, TR-54-003, TR-28-008 ve TR-28-007 izolatlarının LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri düşük bulunmuş olup, diğer izolatlardan istatistiki olarak farklılık göstermiştir (P<0.05). Ayrıca, ölüm oranlarının oldukça düşük olmasından dolayı, bu değerler TR-81-003 izolatında belirlenememiştir. Diğer taraftan, bu izolatların uygulandığı erginlerde ilk 3 gün içinde önemli derecede ölüm meydana gelmediği, ölümlerin genellikle 5. ve sonraki günlerde arttığı bulunmuştur (Şekil 4.15 a ve b). Uygulamadan 9 gün sonra TR-81-004, TR-54-003, TR-28-007 ve TR-28-008 izolatlarının %100 ve diğerlerinin ise %16-56 arasında ölüme neden olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak, bazı izolatların mikozisa neden olmadığı görülürken, bazıları ise %100 mikozisa neden olmuştur. Bu sonuçlar, *L. lecanii*'nin *A. dispar*

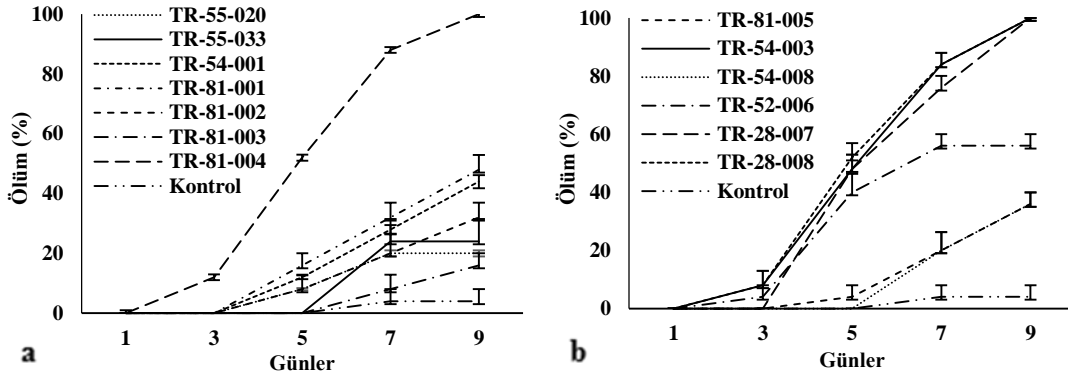
erginleri üzerindeki etkinliğinin izolatlara göre oldukça değişiklik gösterdiğini belirtmektedir.

Çizelge 4.10. *Lecanicillium lecanii* izolatlarının *Anisandrus dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-020	10.43(8.79-15.58)c*	20.12(14.08-51.41)b*	4.50±1.05	0.33
TR-55-033	9.57(8.54-12.41)c	14.88(11.75-27.85)b	6.68±1.59	0.25
TR-54-001	9.92(8.41-14.04)c	20.13(14.17-47.11)b	4.17±0.91	0.30
TR-81-001	8.82(7.73-11.19)c	17.15(12.88-31.92)b	4.44±0.87	0.23
TR-81-002	11.31(9.24-19.25)c	22.52(14.93-74.26)b	4.28±1.09	0.43
TR-81-003	**	**	-	-
TR-81-004	4.72(4.34-5.09)a	7.10(6.46-8.11)a	7.25±0.88	0.32
TR-81-005	9.84(8.67-13.25)c	15.77(12.16-31.74)b	6.25±1.51	0.31
TR-54-003	4.83(4.46-5.19)a	7.05(6.46-7.99)a	7.81±0.96	0.30
TR-54-008	9.72(8.68-12.80)c	14.64(11.62-28.04)b	7.20±1.79	0.24
TR-52-006	6.31(5.70-7.07)b	11.97(11.97-16.37)b	4.60±0.69	0.30
TR-28-007	5.17(4.80-5.54)a	7.43(6.82-8.43)a	8.15±1.03	0.32
TR-28-008	4.91(4.53-5.27)a	7.18(6.56-8.15)a	7.77±0.95	0.31

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

** Ölüm değerlerinin oldukça düşük olmasından dolayı LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri hesaplanamamıştır.



Şekil 4.15. *Lecanicillium lecanii* izolatları uygulanmış *Anisandrus dispar* erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).

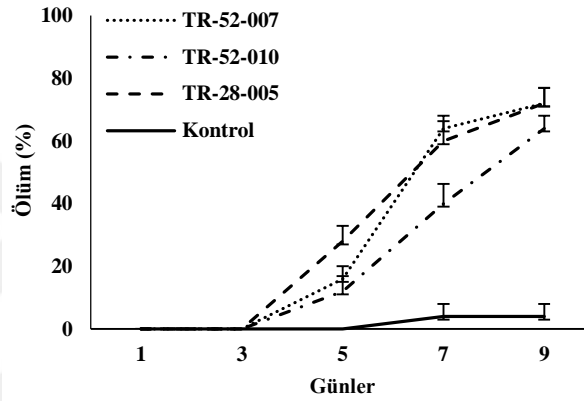
Patojenite çalışmasında *A. dispar* erginlerine karşı uygulanan *P. lilacinum* izolatlarının LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri sırasıyla 6.68-7.67 gün ve 10.69-12.32 gün arasında bulunmuştur (Çizelge 4.11). Bu izolatların LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine göre aralarında istatistiki olarak önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir (P>0.05). Ayrıca, bu izolatların uygulandığı erginlerde 5. günden başlayarak ölüm oranında artış meydana geldiği ve 9. günde izolatlara göre değişmekle birlikte %64-72 oranına

ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.16). Buna ek olarak, bu izolatlar %55-100 arasında mikozis meydana getirmiştir.

Çizelge 4.11. *Purpureocillium lilacinum* izolatlarının *Anisandrus dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-52-007	6.80(6.29-7.42)a*	10.69(9.36-13.38)a*	6.52±0.96	0.26
TR-52-010	7.67(7.05-8.62)a	12.32(10.42-16.87)a	6.23±1.05	0.26
TR-28-005	6.68(6.13-7.37)a	11.21(9.63-14.54)a	5.70±0.85	0.24

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.



Şekil 4.16. *Purpureocillium lilacinum* izolatları uygulanmış *Anisandrus dispar* erginlerinin günlük ölüm oranları

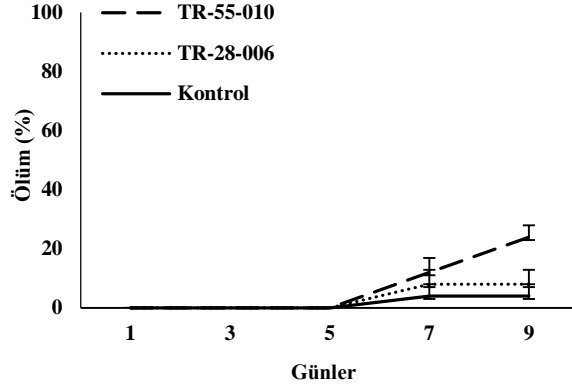
Bu çalışmada kullanılan *C. rosea*'nın TR-55-010 izolatının LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri yüksek olarak bulunurken, TR-28-006 izolatının bu değerleri ise hesaplanamamıştır (Çizelge 4.12). Ayrıca, bu izolatların 7. güne kadar ölüm meydana getirmediği ve deneme sonunda da oldukça düşük etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.17). Bunun yanı sıra, TR-55-010 izolatı %20 oranında mikozisa neden olurken, TR-28-006 izolatında ise mikozis görülmemiştir.

Çizelge 4.12. *Clonostachys rosea* izolatlarının *Anisandrus dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-010	11.66(9.58-24.66)a*	19.43(13.32-92.87)a*	5.77±1.82	0.26
TR-28-006	..**	..**	-	-

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

** Ölüm değerlerinin oldukça düşük olmasından dolayı LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri hesaplanamamıştır.



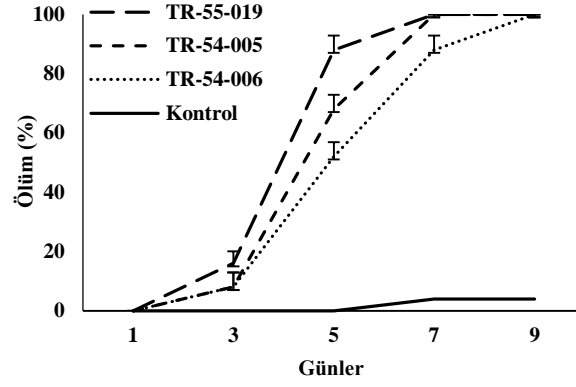
Şekil 4.17. *Clonostachys rosea* izolatları uygulanmış *Anisandrus dispar* erginlerinin günlük ölüm oranları

Çalışmada kullanılan *M. anisopliae* izolatlarının LT_{50} ve LT_{90} değerleri oldukça düşük bulunmuştur (Çizelge 4.13). Özellikle de TR-55-019 izolatının LT_{50} değeri diğer iki izolattan istatistiki olarak farklılık göstermiştir ($P < 0.05$). Bu izolatların uygulandığı erginlerde 3. günden başlayarak artan bir ölüm meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.18). Ayrıca, uygulamadan 9 gün sonra, tüm izolatların %100 ölüme ve mikozisa (Şekil 4.19) neden olduğu ve aralarında istatistiki olarak anlamlı bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$).

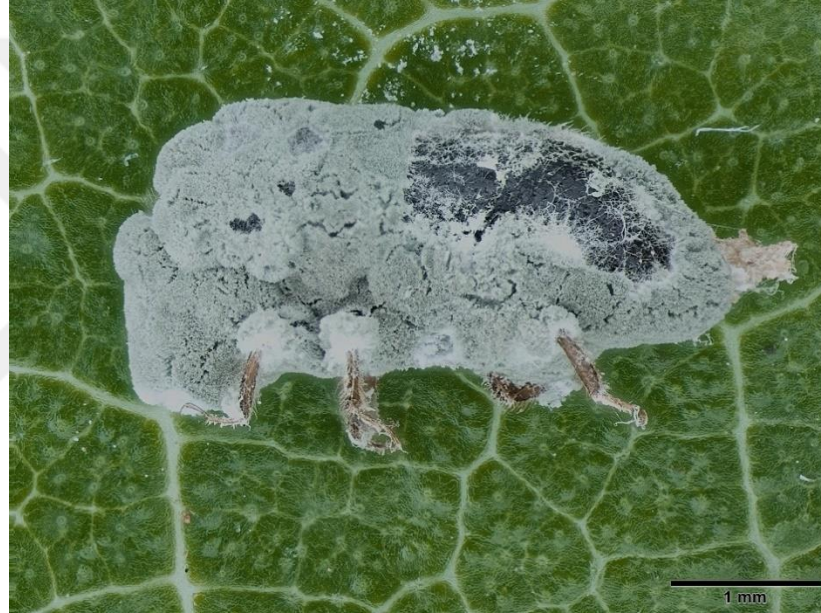
Çizelge 4.13. *Metarhizium anisopliae* izolatlarının *Anisandrus dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT_{50} ve LT_{90} değerleri (gün)

İzolatlar	LT_{50} (%95 güven aralığı)	LT_{90} (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-019	3.63(3.33-3.92)a*	5.02(4.60-5.71)a*	9.11±1.24	0.60
TR-54-005	4.28(3.96-4.58)b	5.88(5.42-6.61)ab	9.28±1.23	0.28
TR-54-006	4.79(4.41-5.15)b	7.04(6.44-8.01)b	7.65±0.94	0.32

*Aynı sütundaki LT_{50} ve LT_{90} değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

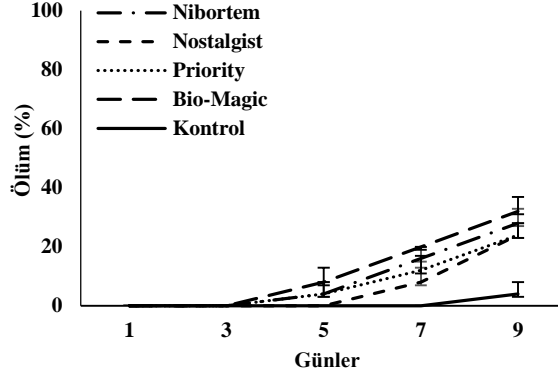


Şekil 4.18. *Metarhizium anisopliae* izolatları uygulanmış *Anisandrus dispar* erginlerinin günlük ölüm oranları



Şekil 4.19. TR-55-019 izolatının *Anisandrus dispar* ergini üzerindeki gelişmesi

Entomopatojen fungus izolatlarının etkinliğinin kıyaslanması amacıyla ticari preparatlarda *A. dispar* erginlerine karşı test edilmiştir. Sonuç olarak, uygulamadan 9 gün sonra *V. lecanii*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* ve *M. anisopliae* türlerine ait bu preparatlar sırasıyla %28, %24, %24 ve %32 oranında ölüm meydana getirmiştir (Şekil 4.20). Bu sonuçlar, ticari preparatların entomopatojen fungus izolatlarına göre oldukça düşük etkiye sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.20. Preparatların uygulanması sonucu *Anisandrus dispar* erginlerin günlük ölüm oranları

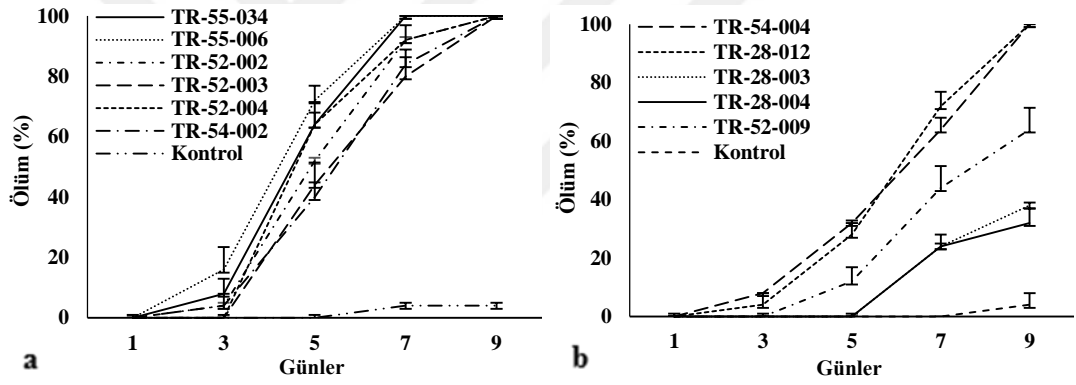
4.3.2. Entomopatojen fungusların *X. germanus*'a etkisi

Bu çalışmada, *X. germanus* erginlerine uygulanan *B. bassiana* izolatlarının LT_{50} ve LT_{90} değerleri izolatlara bağlı olarak önemli derecede değişiklik göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.14). Bu izolatların LT_{50} değerinin 3.97-11.10 gün ve LT_{90} değerinin ise 5.65-22.04 gün arasında değiştiği tespit edilmiştir. Özellikle de en düşük LT_{50} ve LT_{90} değerleri TR-55-006 izolatında belirlenmiştir. *B. bassiana* izolatları (bazıları hariç) ile muamele edilmiş *X. germanus* erginlerinde 5. günden başlayarak ciddi şekilde artan ölüm oranları görülmüştür (Şekil 4.21 a ve b). Bunun sonucunda uygulamadan 9 gün sonra 8 izolatın %100 ölüm ve %92-100 arasında mikozis meydana getirdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.22). Buna karşın, sadece 2 izolatın etkinliğinin %40'dan düşük olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, genel olarak *B. bassiana* izolatlarının *X. germanus* erginleri üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Kontrol uygulamalarında ise %4 oranında ölüm görülmüştür (Şekil 4.21 a ve b).

Çizelge 4.14. *Beauveria bassiana* izolatlarının *Xylosandrus germanus* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-034	4.40(4.09-4.70)ab*	5.90(5.46-6.61)a*	10.05±1.34	0.28
TR-55-006	3.97(3.65-4.28)a	5.65(5.17-6.42)a	8.35±1.05	0.96
TR-52-002	4.96(4.61-5.29)b	6.86(6.33-7.68)ab	9.12±1.15	0.41
TR-52-003	5.45(5.08-5.81)bc	7.58(6.99-8.51)b	8.98±1.14	0.35
TR-52-004	4.89(4.56-5.19)b	6.42(5.98-7.11)ab	10.84±1.46	0.40
TR-54-002	5.18(4.83-5.53)bc	7.19(6.64-8.07)b	9.02±1.12	0.48
TR-54-004	5.57(5.12-6.03)bc	8.86(7.91-10.54)bc	6.34±0.81	0.49
TR-28-012	5.78(5.38-6.19)c	8.40(7.66-9.65)b	7.91±1.00	0.29
TR-28-003	9.75(8.66-12.96)e	15.04(11.80-29.55)c	6.80±1.68	0.22
TR-28-004	11.10(9.14-18.33)e	22.04(14.77-68.61)c	4.30±1.07	0.38
TR-52-009	7.62(7.04-8.46)d	11.78(10.12-15.65)c	6.78±1.14	0.24

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.



Şekil 4.21. *Beauveria bassiana* izolatları uygulanmış *Xylosandrus germanus* erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b).



Şekil 4.22. TR-55-006 izolatının *Xylosandrus germanus* ergini üzerindeki gelişmesi

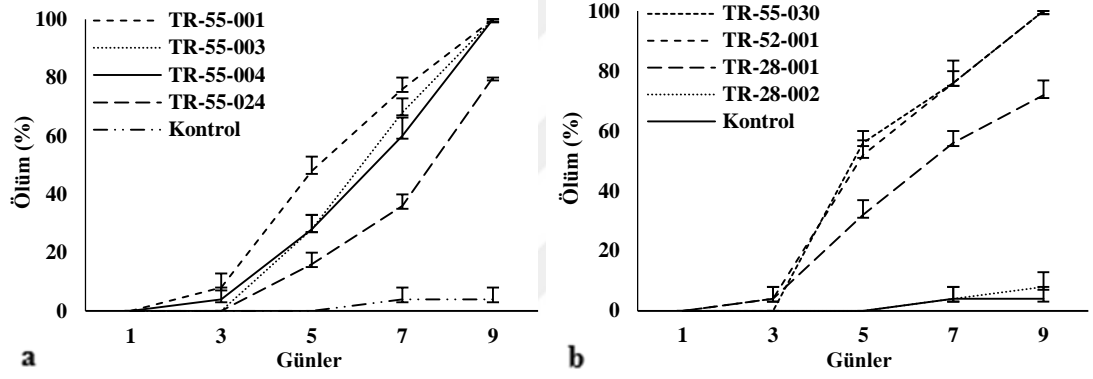
Aynı böcek türüne uygulanan *B. pseudobassiana* izolatlarının LT_{50} değeri 5.16 ile 7.28 gün ve LT_{90} değeri ise 7.86 ile 12.91 gün arasında bulunmuştur (Çizelge 4.15). Ancak, TR-28-002 izolatının ölüm oranlarının düşük bulunmasından dolayı LT_{50} ve LT_{90} değerleri tespit edilememiştir. Diğer taraftan, bu izolatların uygulamadan 5 gün sonra *X. germanus* erginlerinde ciddi ölüme neden olmaya başladığı ve 9 gün sonra ise TR-28-002 izolatı hariç tüm uygulamaların %72-100 oranında ölüm meydana getirdiği bulunmuştur (Şekil 4.23 a ve b). Aynı zamanda, bu izolatlar tarafından ölen erginlerde %85-100 oranında mikozis belirlenmiştir (Şekil 4.24). Ancak, ilginç olarak TR-28-002 izolatı aynı günde sadece %8 oranında ölüme neden olmuştur. Bu sonuçlar, *B. pseudobassiana* izolatlarının *X. germanus* erginlerine karşı yüksek derecede virülens olduğunu ve etkinliğin izolatlara göre oldukça değiştiğini göstermektedir.

Çizelge 4.15. *Beauveria pseudobassiana* izolatlarının *Xylosandrus germanus* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-001	5.16(4.72-5.62)a*	8.50(7.57-10.08)a*	5.92±0.72	0.85
TR-55-003	5.88(5.52-6.25)ab	8.02(7.41-9.01)a	9.54±1.24	0.32
TR-55-004	6.03(5.59-6.49)ab	9.10(8.18-10.72)ab	7.16±0.94	0.61
TR-55-024	7.28(6.81-7.89)b	10.49(9.34-12.86)b	8.09±1.26	0.16
TR-55-030	5.40(4.99-5.78)a	7.86(7.19-8.95)a	7.84±0.10	0.30
TR-52-001	5.35(4.93-5.75)a	8.07(7.32-9.29)a	7.18±0.90	0.36
TR-28-001	6.72(6.06-7.62)b	12.91(10.57-18.37)b	4.52±0.70	0.32
TR-28-002	-**	-**	6.41±3.46	0.33

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

** Ölüm değerlerinin oldukça düşük olmasından dolayı LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri hesaplanamamıştır.



Şekil 4.23. *Beauveria pseudobassiana* izolatları uygulanmış *Xylosandrus germanus* erginlerinin günlük ölüm oranları



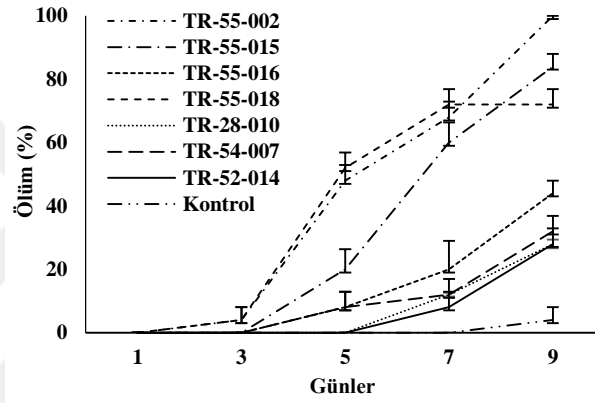
Şekil 4.24. TR-55-024 izolatının *Xylosandrus germanus* ergini üzerindeki gelişmesi

Isaria türlerinin *X. germanus* erginlerine test edilmesi sonucu LT_{50} ve LT_{90} değerleri izolatlara bağlı olarak farklılık göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.16). En düşük LT_{50} değeri TR-55-018 ve TR-55-002 izolatlarında görülmüş ve bunlar diğer izolatlardan istatistiki olarak ayrılmıştır ($P < 0.05$). Bu izolatların uygulandığı erginlerde 5. güne kadar ölümlerin daha yavaş olduğu veya hiç olmadığı, daha sonraki günlerde ise ölümlerin hızlı bir şekilde artmaya başladığı bulunmuştur (Şekil 4.25). Uygulamadan 9 gün sonra TR-55-002, TR-55-015 ve TR-55-018 izolatları sırasıyla %100, %84 ve %72 oranında ölüme ve %90'nın üzerinde mikozisa neden olmuştur (Şekil 4.26 ve 4.27). Buna karşın, diğer izolatların etkinliğinin %50'inin altında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.16. *Isaria fumosorosea* ve *I. farinosa* izolatlarının *Xylosandrus germanus* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-002	5.36(4.93-5.78)a*	8.33(7.50-9.73)a*	6.68±0.85	0.34
TR-55-015	6.53(6.03-7.13)b	10.44(9.15-13.01)ab	6.28±0.90	0.46
TR-55-016	9.53(8.35-12.50)c	16.73(16.73-32.34)b	5.24±1.13	0.50
TR-55-018	5.07(4.60-5.54)a	8.73(7.71-10.53)a	5.43±0.70	0.35
TR-28-010	10.61(9.14-16.73)c	16.62(12.38-45.31)b	6.57±1.86	0.24
TR-54-007	11.44(9.36-20.41)c	21.65(14.46-77.41)b	4.63±1.25	0.33
TR-52-014	11.15(9.41-20.51)c	17.59(12.67-63.76)b	6.47±1.99	0.29

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.



Şekil 4.25. *Isaria fumosorosea* ve *I. farinosa* izolatları uygulanmış *Xylosandrus germanus* erginlerinin günlük ölüm oranları



Şekil 4.26. TR-55-016 izolatının *Xylosandrus germanus* ergini üzerindeki gelişmesi



Şekil 4.27. TR-55-018 izolatatının *Xylosandrus germanus* ergini üzerindeki gelişmesi

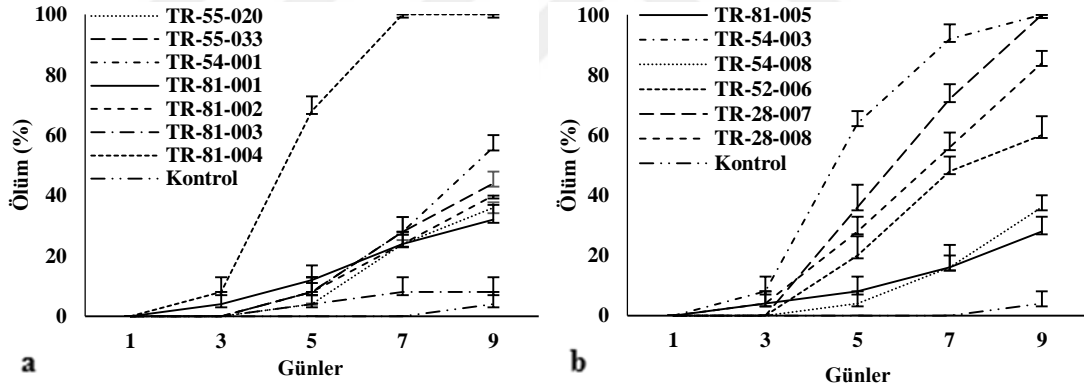
Çalışmada kullanılan *L. lecanii* izolatatlarının *X. germanus* erginleri üzerindeki LT_{50} değeri 4.43 ile 14.22 gün ve LT_{90} değeri ise 6.06 ile 37.70 gün arasında değişmiştir (Çizelge 4.17). Özellikle de en düşük LT_{50} değeri TR-81-004 ve TR-54-003 izolatatlarında belirlenmiş olup, bu izolatatlar diğerlerinden istatistiki olarak anlamlı derecede farklılık göstermiştir ($P < 0.05$). Diğer taraftan, kontrol grubu hariç diğer tüm fungus uygulamalarında 5. günde ölümlerin görüldüğü ve artarak devam ettiği tespit edilmiştir (Şekil 4.28 a ve b). Uygulamadan 9 gün sonra TR-81-004, TR-54-003 ve TR-28-007 izolatatları %100 ölüme ve mikozisa neden olurken, TR-81-003 izolatatının ise sadece %8 ölüme ve %0 mikozisa neden olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, *L. lecanii*'nin *X. germanus* erginleri üzerindeki etkinliğinin izolatatlarına bağlı olarak oldukça farklılık gösterdiğini söyleyebiliriz.

Çizelge 4.17. *Lecanicillium lecanii* izolatlarının *Xylosandrus germanus* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-020	-**	-**	-	-
TR-55-033	9.58(8.31-12.84)d*	17.75(13.13-36.51)c*	4.78±1.03	0.26
TR-54-001	8.58(7.76-10.19)cd	14.08(11.43-21.90)c	5.96±1.14	0.39
TR-81-001	11.96(9.33-22.47)d	30.02(17.79-128.76)c	3.21±0.79	0.42
TR-81-002	9.86(8.51-13.54)d	18.01(13.23-38.58)c	4.90±1.09	0.32
TR-81-003	-	-	3.00±1.44	0.54
TR-81-004	4.43(4.11-4.74)a	6.06(5.59-6.79)a	9.43±1.23	0.25
TR-81-005	14.22(10.33-38.24)d	37.70(19.83-316.12)c	3.03±0.84	0.55
TR-54-003	4.62(4.26-4.96)a	6.68(6.13-7.56)ab	7.99±0.99	0.32
TR-54-008	10.11(8.83-14.20)d	16.30(12.37-35.54)c	6.18±1.54	0.60
TR-52-006	7.60(6.89-8.75)c	13.55(11.05-19.97)c	5.11±0.87	0.29
TR-28-007	5.56(5.17-5.96)b	8.10(7.40-9.28)b	7.84±1.00	0.37
TR-28-008	6.33(5.82-6.92)bc	10.40(9.08-12.98)bc	5.95±0.83	0.34

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

** Ölüm değerlerinin oldukça düşük olmasından dolayı LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri hesaplanamamıştır.



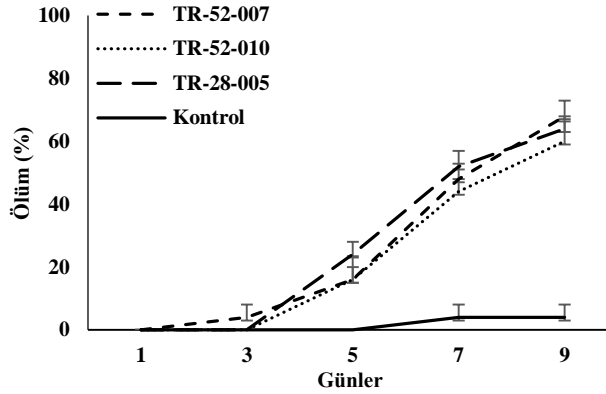
Şekil 4.28. *Lecanicillium lecanii* izolatları uygulanmış *Xylosandrus germanus* erginlerinin günlük ölüm oranları (a ve b)

LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri bakımından *X. germanus*'a uygulanan *P. lilacinum* izolatları arasında istatistiki olarak farklılık görülmemiştir ($P>0.05$) (Çizelge 4.18). TR-52-007, TR-52-010 ve TR-28-005 izolatlarının LT₅₀ değeri sırasıyla 7.29, 7.72 ve 7.19 gün olarak bulunmuştur. Ayrıca, bu izolatların uygulamadan 9 gün sonra sırasıyla %68, %60 ve %64 oranında ölüme ve sırasıyla %95, %50 ve %65 oranında mikozisa neden olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.29).

Çizelge 4.18. *Purpureocillium lilacinum* izolatlarının *Xylosandrus germanus* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

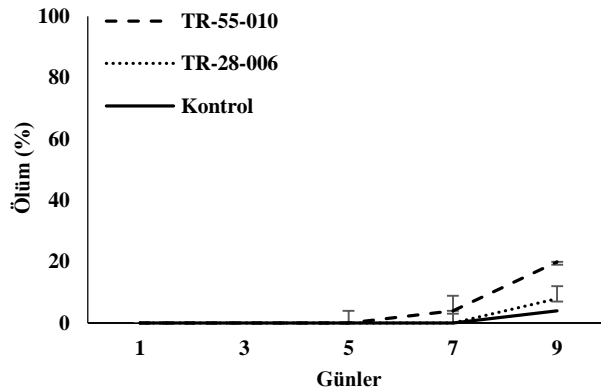
İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-52-007	7.29(6.63-8.26) ^a *	12.81(10.63-17.95) ^a *	5.24±0.83	0.46
TR-52-010	7.72(7.00-8.90) ^a	13.57(11.08-20.05) ^a	5.22±0.90	0.24
TR-28-005	7.19(6.55-8.12) ^a	12.63(10.51-17.66) ^a	5.24±0.84	0.23

*Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.



Şekil 4.29. *Purpureocillium lilacinum* izolatları uygulanmış *Xylosandrus germanus* erginlerinin günlük ölüm oranları

Bu çalışmada kullanılan *C. rosea*'nın TR-55-010 ve TR-28-006 izolatlarının *X. germanus* erginlerine uygulanması sonucu oldukça düşük ölüm meydana gelmiş ve bu nedenle LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri belirlenememiştir. Ayrıca, uygulamadan 9 gün sonra TR-55-010 ve TR-28-006 izolatları sırasıyla %20 ve %8 oranında ölüm meydana getirmiştir (Şekil 4.30). Bu sonuçlar, *C. rosea*'nın *X. germanus*'a karşı etkisiz veya oldukça az etkili olduğunu göstermektedir.



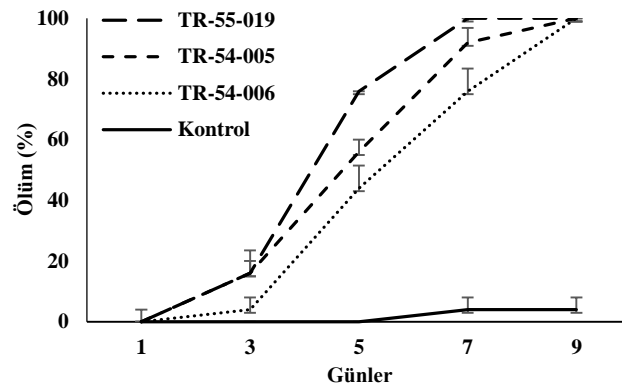
Şekil 4.30. *Clonostachys rosea* izolatları uygulanmış *Xylosandrus germanus* erginlerinin günlük ölüm oranları

Entomopatojen fungus *M. anisopliae* izolatlarının LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri *A. dispar*'da olduğu gibi *X. germanus* erginleri üzerinde de oldukça düşük bulunmuştur (Çizelge 4.19). Özellikle de TR-55-019 izolatının LT₉₀ değeri 5.40 gün olarak belirlenmiş ve diğer izolatlardan istatistiki olarak farklılık göstermiştir (P<0.05). Bu izolatların uygulandığı erginlerde 3. günden başlayarak ölümlerin başladığı ve giderek arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.31). Aynı zamanda, uygulamadan 9 gün sonra tüm izolatların %100 ölüme ve mikozisa neden olduğu ve aralarında bir farklılığın olmadığı bulunmuştur (P>0.05).

Çizelge 4.19. *Metarhizium anisopliae* izolatlarının *Xylosandrus germanus* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

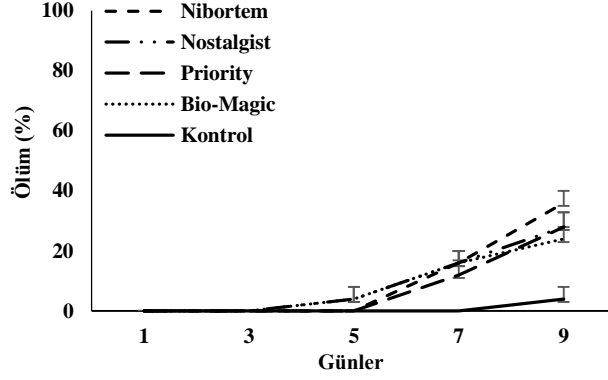
İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-019	4.01(3.71-4.29)a*	5.40(4.97-6.10)a*	9.90±1.38	0.16
TR-54-005	4.47(4.10-4.84)ab	6.81(6.19-7.80)b	7.02±0.85	0.44
TR-54-006	5.19(4.77-5.61)b	8.08(7.29-9.41)b	6.66±0.83	0.43

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.



Şekil 4.31. *Metarhizium anisopliae* izolatları uygulanmış *Xylosandrus germanus* erginlerinin günlük ölüm oranları

Entomopatojen fungus izolatlarının etkinliğinin kıyaslanması amacıyla ticari preparatlarda *X. germanus* erginlerine karşı denenmiştir. Uygulamadan 9 gün sonra *V. lecanii*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* ve *M. anisopliae* türlerine ait bu preparatlar sırasıyla %36, %28, %28 ve %24 oranında ölüm meydana getirmiştir (Şekil 4.32). Bu sonuçlar, ticari preparatlarının entomopatojen fungus izolatlarına göre oldukça düşük etkiye sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.32. Ticari preparatların uygulanması sonucu *Xylosandrus germanus* erginlerinin günlük ölüm oranları

4.3.3. Entomopatojen fungusların *X. saxesenii*'ye etkisi

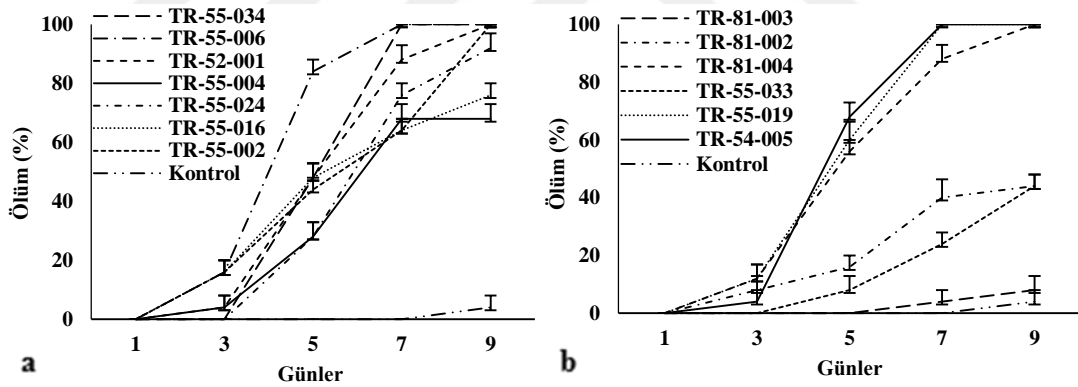
Farklı entomopatojen fungus türlerine ait bazı izolatların *X. saxesenii* erginlerine uygulanması sonucu LT_{50} ve LT_{90} değerlerinin bazı izolatları hariç oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.20). Ancak, bu değerlerin izolatlara göre istatistiki olarak farklılık gösterdiği bulunmuştur ($P < 0.05$). Aynı zamanda, ölüm değerlerinin oldukça düşük olmasından dolayı *L. lecanii*'nin TR-81-003 izolatının LT_{50} ve LT_{90} değerleri belirlenememiştir. Günlük ölüm değerlerine bakıldığında, bu izolatların (bazıları hariç) 5. günde yüksek derecede ölüme neden olduğu ve bu ölümlerin daha sonraki günlerde artmaya devam ettiği görülmüştür (Şekil 4.33 a ve b). Bunun sonucunda uygulamadan 9 gün sonra *B. bassiana*'nın TR-55-006 ve TR-55-034, *B. pseudobassiana*'nın TR-52-001, *I. fumosorosea*'nın TR-55-002, *L. lecanii*'nin TR-81-004 ve *M. anisopliae*'nin TR-55-019 ve TR-54-005 izolatları %100 ölüme ve %85-100 arasında mikozisa neden olmuştur (Şekil 4.34-4.37). Buna karşın, *L. lecanii* TR-81-003 izolatının aynı günde sadece %8 oranında ölüme neden olduğu ve oldukça etkisiz olduğu bulunmuştur. Diğer izolatların ise %44-92 arasında ölüm meydana getirdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.20. Entomopatojen fungus izolatlarının *Xyleborinus saxesenii* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

İzolatlar	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
TR-55-034	5.08(4.74-5.40)bc*	6.80(6.31-7.57)a*	10.13±1.32	0.45
TR-55-006	3.71(3.38-4.03)a	5.57(5.06-6.37)a	7.26±0.88	0.50
TR-52-001	4.90(4.55-4.80)b	6.01(5.57-6.71)a	8.49±1.06	0.32
TR-55-004	5.79(5.38-6.24)c	8.74(7.89-10.22)b	7.18±0.92	0.49
TR-55-024	5.89(5.48-6.30)c	8.53(7.78-9.78)b	7.98±1.04	0.35
TR-55-016	5.53(4.92-6.23)c	11.72(9.64-16.21)bc	3.92±0.55	0.21
TR-55-002	5.32(4.82-5.84)c	9.50(8.26-11.81)b	5.09±0.67	0.30
TR-81-003	-**	-**	4.31±2.22	0.45
TR-81-002	9.13(7.56-12.90)d	25.26(16.43-64.39)c	2.90±0.57	0.44
TR-81-004	4.57(4.19-4.94)bc	6.93(6.31-7.93)ab	7.08±0.86	0.31
TR-55-033	9.59(8.37-12.72)d	17.07(12.83-33.85)c	5.12±1.11	0.38
TR-55-019	4.28(3.93-4.60)ab	6.12(5.61-6.92)a	8.24±1.04	0.27
TR-54-005	4.50(4.18-4.80)b	6.01(5.57-6.71)a	10.17±1.36	0.24

* Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

** Ölüm değerlerinin oldukça düşük olmasından dolayı LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri hesaplanamamıştır.



Şekil 4.33. Entomopatojen fungus izolatları uygulanmış *Xyleborinus saxesenii* erginlerinin günlük ölüm oranları



Şekil 4.34. *Isaria fumosorosea* (TR-55-002) izolatının *Xyleborinus saxesenii* ergini üzerindeki gelişmesi



Şekil 4.35. *Isaria fumosorosea* (TR-55-016) izolatının *Xyleborinus saxesenii* ergini üzerindeki gelişmesi



Şekil 4.36. *Beauveria pseudobassiana* (TR-55-004) izolatının *Xyleborinus saxesenii* ergini üzerindeki gelişmesi



Şekil 4.37. *Metarhizium anisopliae* (TR-55-019) izolatının *Xyleborinus saxesenii* ergini üzerindeki gelişmesi

4.3.4. Fungus Fungusların Farklı Konsantrasyonlardaki Etkisi

Yüksek patojenite gösteren *B. bassiana* (TR-55-034) ve *M. anisopliae* (TR-55-019) izolatları seçilerek *A. dispar* ve *X. germanus* erginlerine karşı farklı konsantrasyonda (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor mL^{-1}) test edilmiştir.

Bu izolatların *A. dispar* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerinin konsantrasyonun artmasına paralel olarak düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.21 ve 4.22). TR-55-034 ve TR-55-019 izolatlarının LT₅₀ değeri en düşük konsantrasyonda (1×10⁴ spor mL⁻¹) sırasıyla 8.44 ve 9.30 gün, en yüksek konsantrasyonda (1×10⁸ spor mL⁻¹) ise sırasıyla 4.48 ve 3.63 gün olarak bulunmuştur. Ayrıca, bazı istisnalar dışında, her iki izolatın konsantrasyonları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur (P<0.05).

Çizelge 4.21. TR-55-034 izolatının farklı konsantrasyonlarının *Anisandrus dispar* erginleri üzerindeki LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

Konsantrasyon (spor mL ⁻¹)	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
1×10 ⁴	8.44(7.62-10.01)c*	14.25(11.49-22.33)c*	5.63±1.06	0.29
1×10 ⁵	7.51(6.93-8.36)c	11.84(10.14-15.74)c	6.50±1.07	0.25
1×10 ⁶	5.47(5.04-5.90)b	8.46(7.62-9.90)b	6.75±0.84	0.41
1×10 ⁷	4.99(4.56-5.43)ab	8.14(7.28-9.57)b	6.04±0.72	0.88
1×10 ⁸	4.48(4.15-4.79)a	6.19(5.71-6.96)a	9.12±1.16	0.32

*Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

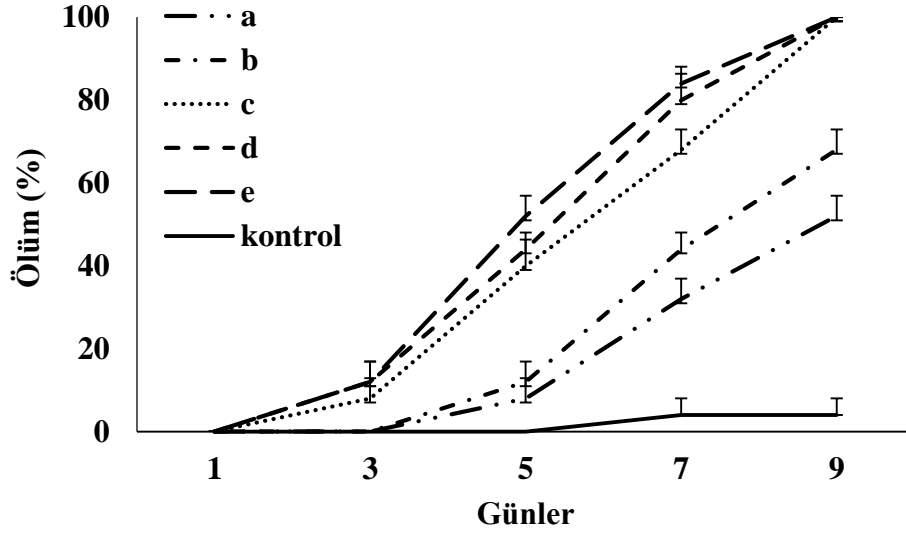
Çizelge 4.22. TR-55-019 izolatının farklı konsantrasyonlarının *Anisandrus dispar* erginleri üzerindeki LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri (gün)

Konsantrasyon (spor mL ⁻¹)	LT ₅₀ (%95 güven aralığı)	LT ₉₀ (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
1×10 ⁴	9.30(8.23-11.90)c*	15.90(12.28-29.30)c*	5.51±1.18	0.24
1×10 ⁵	6.39(5.80-7.13)b	11.71(9.85-15.70)bc	4.87±0.71	0.33
1×10 ⁶	5.62(5.18-6.08)b	8.81(7.89-10.40)b	6.58±0.84	0.54
1×10 ⁷	4.04(3.70-4.37)a	5.94(5.41-6.74)a	7.69±0.94	0.66
1×10 ⁸	3.63(3.33-3.92)a	5.02(4.60-5.71)a	9.11±1.24	0.60

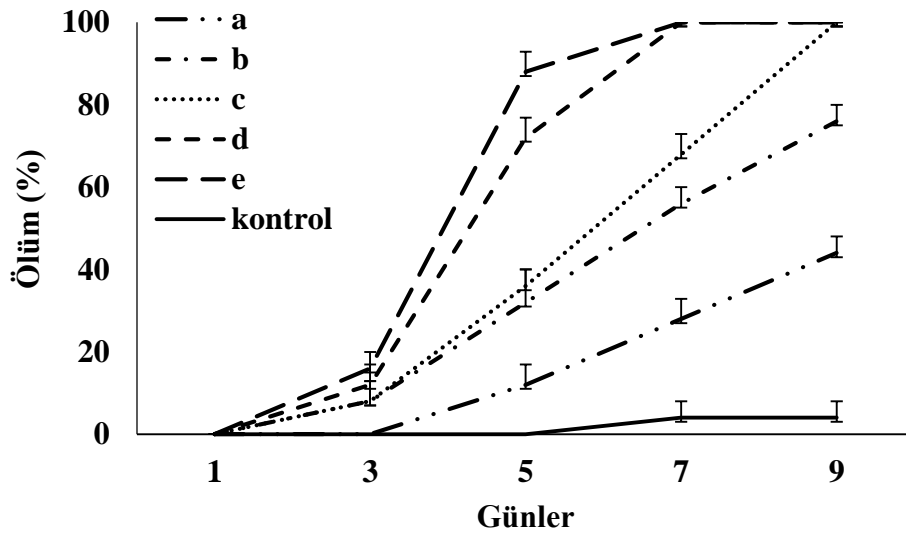
*Aynı sütundaki LT₅₀ ve LT₉₀ değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

Bu izolatların *A. dispar* erginleri üzerindeki günlük ölüm oranlarına bakıldığında, genellikle ilk 1. ve 3. günlerde ölümlerin hiç yok veya daha az olduğu ve daha sonraki günlerde ölümlerin artmaya başladığı tespit edilmiştir (Şekil 4.38 ve 4.39). Özellikle de TR-55-019 izolatının 1×10⁷ ve 1×10⁸ spor mL⁻¹ konsantrasyonlarının 7 gün sonra %100 ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Uygulamadan 9 gün sonra, her iki izolatın en yüksek 3 konsantrasyonunda (1×10⁶, 1×10⁷ ve 1×10⁸ spor mL⁻¹) %100 ölüm meydana gelmiştir. Ayrıca, TR-55-034 izolatın 1×10⁴ ve 1×10⁵ spor mL⁻¹ konsantrasyonları uygulamadan 9 gün sonra sırasıyla %52 ve %68, TR-55-019 izolatın aynı konsantrasyonları ise sırasıyla %44 ve %76 oranında

ölüme neden olmuştur. Buna ek olarak, tüm uygulamalarda %100'e yakın mikozis belirlenmiştir. Kontrol uygulamasında ise 9 gün sonra %4 oranında ölüm meydana gelmiştir (Şekil 4.38 ve 4.39).



Şekil 4.38. TR-55-034 izolatının farklı konsantrasyonlarının *Anisandrus dispar* erginlerine karşı günlük ölüm oranları. a; 1×10^4 , b; 1×10^5 , c; 1×10^6 , d; 1×10^7 ve e; 1×10^8 spor mL^{-1}



Şekil 4.39. TR-55-019 izolatının farklı konsantrasyonlarının *Anisandrus dispar* erginlerine karşı günlük ölüm oranları. a; 1×10^4 , b; 1×10^5 , c; 1×10^6 , d; 1×10^7 ve e; 1×10^8 spor mL^{-1}

Benzer olarak, *X. germanus* erginlerine karşı uygulanan TR-55-034 ve TR-55-019 izolatlarının LT_{50} ve LT_{90} değerleri konsantrasyonun artmasıyla orantılı olarak düşmüştür (Çizelge 4.23 ve 4.24). TR-55-034 izolatın LT_{50} değeri konsantrasyonlara

göre 4.40 ile 12.80 gün arasında değişirken, bu değer TR-55-019 izolatında ise 4.01 ile 8.56 gün arasında değişmiştir. Ayrıca, bazı istisnalar dışında, her iki izolatın konsantrasyonları arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.23. TR-55-034 izolatının farklı konsantrasyonlarının *Xylosandrus germanus* erginleri üzerindeki LT_{50} ve LT_{90} değerleri (gün)

Konsantrasyon (spor mL ⁻¹)	LT_{50} (%95 güven aralığı)	LT_{90} (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
1×10^4	12.80(9.81-28.31)c*	29.57(17.27-167.35)c*	3.52±0.96	0.34
1×10^5	8.45(7.29-10.86)c	19.24(13.84-38.09)c	3.59±0.67	0.35
1×10^6	5.74(5.33-6.17)b	8.53(7.74-9.88)b	7.46±0.95	0.45
1×10^7	4.85(4.41-5.29)a	7.60(6.80-8.96)b	6.56±0.77	1.13
1×10^8	4.40(4.09-4.70)a	5.90(5.46-6.61)a	10.05±1.34	0.28

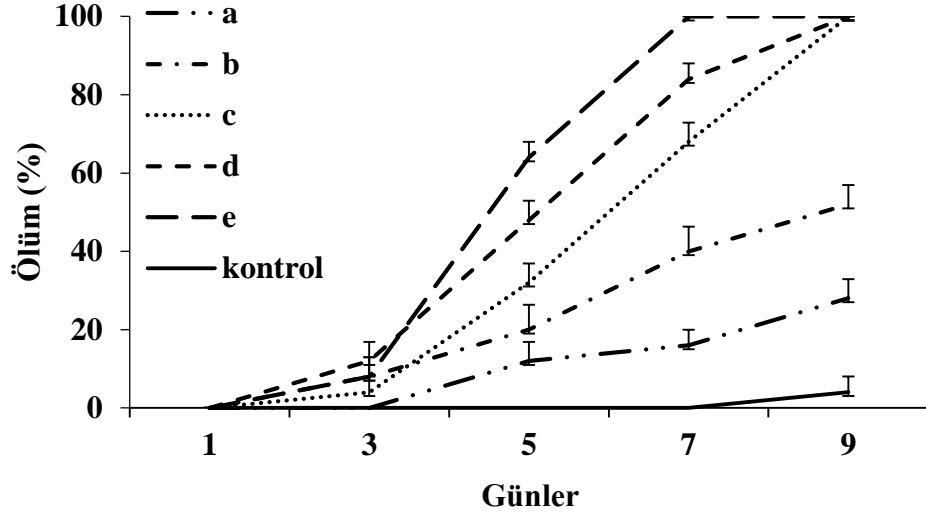
*Aynı sütundaki LT_{50} ve LT_{90} değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

Çizelge 4.24. TR-55-019 izolatının farklı konsantrasyonlarının *Xylosandrus germanus* erginleri üzerindeki LT_{50} ve LT_{90} değerleri (gün)

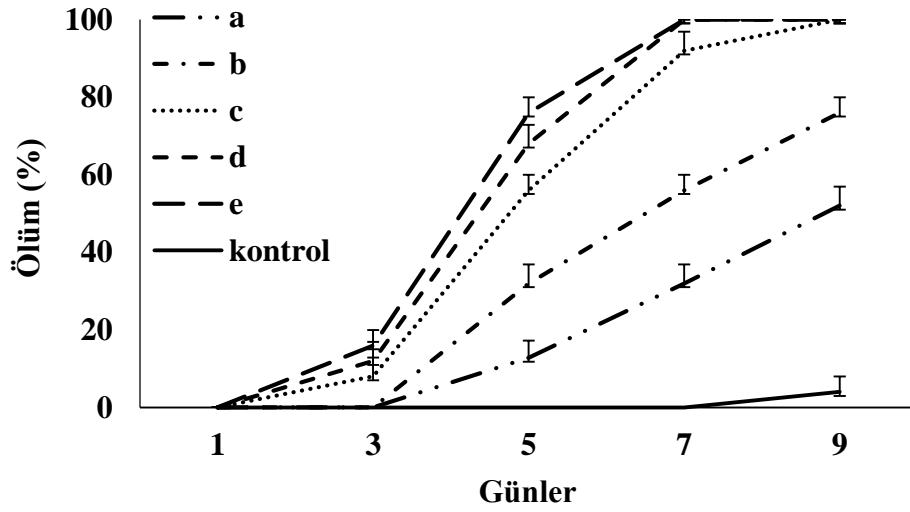
Konsantrasyon (spor mL ⁻¹)	LT_{50} (%95 güven aralığı)	LT_{90} (%95 güven aralığı)	Eğim±S.h	Heterojenite
1×10^4	8.56(7.60-10.50)d*	15.81(12.24-27.20)c*	4.81±0.92	0.28
1×10^5	6.34(5.77-7.03)c	11.37(9.64-15.04)c	5.05±0.74	0.28
1×10^6	4.66(4.30-5.00)b	6.69(6.14-7.56)b	8.13±1.01	0.29
1×10^7	4.32(3.98-4.64)ab	6.15(5.64-6.95)ab	8.36±1.06	0.30
1×10^8	4.01(3.71-4.29)a	5.40(4.97-6.09)a	9.90±1.38	0.16

*Aynı sütundaki LT_{50} ve LT_{90} değerlerine verilen farklı harfler güven aralıklarına göre farklıdır.

TR-55-034 ve TR-55-019 izolatlarının *X. germanus* erginlerine uygulanması sonucu tüm uygulamalarda 1 gün sonra ölüm görülmezken, 3 gün sonra bazı uygulamalarda daha düşük oranda ölüm meydana gelmiştir (Şekil 4.40 ve 4.41). Ancak, uygulamadan 5 gün ve daha sonraki günlerde ölüm oranlarında oldukça hızlı artış görülmüş olup, 9 gün sonra her iki izolatın en yüksek 3 konsantrasyonunda (1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor mL⁻¹) %100 ölüm meydana gelmiştir. Buna ek olarak, TR-55-034 izolatın 1×10^4 spor mL⁻¹ konsantrasyonu hariç (%28), diğer uygulamalarda da %50'nin üzerinde ölüm tespit edilmiştir. Aynı zamanda, tüm fungus uygulamalarında %100'e yakın mikozis belirlenmiştir. Kontrol uygulamasında ise, *A. dispar*'da olduğu gibi %4 oranında ölüm görülmüştür (Şekil 4.40 ve 4.41).



Şekil 4.40. TR-55-034 izolatının farklı konsantrasyonlarının *Xylosandrus germanus* erginlerine karşı günlük ölüm oranları. a; 1×10^4 , b; 1×10^5 , c; 1×10^6 , d; 1×10^7 ve e; 1×10^8 spor mL⁻¹



Şekil 4.41. TR-55-019 izolatının farklı konsantrasyonlarının *Xylosandrus germanus* erginlerine karşı günlük ölüm oranları. a; 1×10^4 , b; 1×10^5 , c; 1×10^6 , d; 1×10^7 ve e; 1×10^8 spor mL⁻¹

4.4. Fungus İzolatlarının *A. dispar* ve *X. germanus* Erginleri Arasındaki Horizontal Yayılımı

Bu çalışmada, *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019) izolatlarının *A. dispar* ve *X. germanus* erginleri arasındaki horizontal yayılma etkisi %25, %50, %75 ve %100 bulaştırma oranları

uygulanarak belirlenmiştir. Bu izolatların her iki böceğe karşı etkili olduğu patojenite çalışmasında belirlenmiş olup, bulaştırılan böceklerin ölmesi beklenen bir sonuçtur. Örneğin; %25, %50, %75 ve %100 oranında bulaştırılan erginlerde sırasıyla %25, %50, %75 ve %100 oranında ölüm meydana gelmesi doğaldır. Ancak, belirtilen oranın daha üstünde ölümün gerçekleşmesi ve ölü bireylerde fungal gelişmenin görülmesi, bu fungusların böceğin ergin bireyleri arasında horizontal yayılarak etkili olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, uygulamadan 5 gün sonra tüm fungus uygulamalarının *A. dispar* erginlerinde ölüm meydana getirdiği ve bu ölümlerin artarak devam ettiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.25). Ancak, erginlerde görülen bu ölümlerin fungus türlerine ve bulaştırılma oranlarına göre önemli derecede farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). Aynı zamanda, bulaştırılma oranlarının artmasına paralel olarak ölüm oranlarının da arttığı görülmüştür. Özellikle de TR-55-019 ve TR-55-034 izolatları ile %100 oranında bulaştırılan erginlerde uygulamadan 5 gün sonra sırasıyla %100 ve %86 oranında oldukça yüksek derecede ölüm saptanmıştır. Diğer taraftan, tüm fungusların %100 bulaştırılma oranında uygulanması sonucu 10 gün içinde erginlerin tamamının öldüğü belirlenmiştir. Aynı günde, TR-55-019 ve TR-55-034 izolatları ile %75 oranında bulaştırılan *A. dispar* erginlerinde de %100 ölüm meydana gelmiştir. Ayrıca, TR-55-019 ve TR-55-034 izolatlarının uygulamadan 15 gün sonra en düşük bulaştırılma oranlarında (%25) bile sırasıyla %87 ve %79 oranında oldukça yüksek ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Ancak, aynı günde TR-55-002 ve TR-81-004 izolatlarının uygulandığı erginlerde bulaştırılma oranına yakın veya biraz daha fazla ölüm görülmüştür. Ayrıca, tüm fungus uygulamalarında %95-100 arasında mikozis belirlenmiştir (Şekil 4.42 ve 4.43) (Çizelge 4.25). Çalışmanın sonuçları, *A. dispar* erginleri arasında TR-55-002 ve TR-81-004 izolatlarının yayılarak çok fazla etkili olmadığını, bunun aksine TR-55-034 ve TR-55-019 izolatlarının ise *A. dispar* erginleri arasında önemli derecede yayılarak etkili olduğunu göstermiştir. Herhangi bir fungal bulaştırmanın yapılmadığı kontrol grubundaki *A. dispar* erginlerinde ise uygulamadan 15 gün sonra %9 oranında ölüm meydana gelmiştir (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. Entomopatojen fungusların *Anisandrus dispar* erginleri arasındaki horizontal yayılımı

İzolatlar	Bulaştırma oranı	Günler (%Ölüm+Standart hata)			Mikozis (%)
		5	10	15	
TR-55-034 <i>B. bassiana</i>	%25	22.00 ^a ±1.22 ^b g ^c	65.00±1.58d	79.00±1.87d	100
	%50	39.00±1.87ef	91.00±1.87b	100.00±0.00a	100
	%75	59.00±2.92cd	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
	%100	86.00±1.87b	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
TR-55-002 <i>I. fumosorosea</i>	%25	15.00±2.04h	26.25±1.25g	40.00±2.04f	95
	%50	30.00±2.04fg	52.50±1.44e	65.00±2.04e	95
	%75	37.50±1.44ef	73.75±1.25c	85.00±2.04cd	100
	%100	55.00±2.04d	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
TR-81-004 <i>L. lecanii</i>	%25	13.00±1.22h	25.00±1.58g	41.00±1.87f	95
	%50	26.00±1.87g	45.00±2.24f	66.00±1.87e	95
	%75	31.00±1.87fg	64.00±1.87d	88.00±1.22bc	100
	%100	57.00±2.00d	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
TR-55-019 <i>M. anisopliae</i>	%25	45.00±2.74e	67.00±1.22d	87.00±1.22c	100
	%50	67.00±1.22c	85.00±1.58b	94.00±1.00ab	100
	%75	92.00±1.22ab	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
	%100	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
Kontrol	%0	0.00±0.00ı	2.00±1.22h	9.00±1.87g	0

^aHer bir uygulamanın tekrürlerinin ortalamasını temsil etmektedir.

^bHer bir uygulamanın tekrürlerinin ortalamasının standart hatasını temsil etmektedir.

^cAynı sütunda farklı harflere sahip ortalamalar TUKEY'e göre P<0.05 önem seviyesinde farklıdır.



Şekil 4.42. TR-55-034 izolatu ile %25 bulaştırma oranında uygulanan *Anisandrus dispar* erginleri



Şekil 4.43. TR-55-019 izolatu ile %25 bulaştırma oranında uygulanan *Anisandrus dispar* erginleri

Anisandrus dispar sonuçlarına benzer olarak, uygulamadan 5 gün sonra tüm fungus uygulamalarının *X. germanus* erginlerinde de ölüm meydana getirdiği ve bu ölümlerin artarak devam ettiği saptanmıştır (Çizelge 4.26). Genel olarak, fungusların bulaştırılma oranlarının artmasıyla erginlerin ölüm oranlarında da artış meydana geldiği bulunmuştur. Aynı şekilde, ölüm oranlarının fungusun türüne ve bulaştırılma oranlarına göre önemli derecede farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($P < 0.05$). *A. dispar*'da olduğu gibi, bu fungusların %100 bulaştırılma oranında uygulanması sonucu 10 gün içinde erginlerin tamamının öldüğü belirlenmiştir. Aynı günde, TR-55-034 izolatinin %75 bulaştırma oranında uygulandığı erginlerde de %100 ölüm meydana gelmiştir. Ayrıca, uygulamadan 15 gün sonra TR-55-034 izolatu ile %25, %50 ve %75 oranında muamele edilen erginlerde sırasıyla %90, %100 ve %100 ölüm görülürken, TR-55-019 izolatu ile aynı oranlarda muamele edilen erginlerde ise sırasıyla %60, %81 ve %100 gibi oldukça yüksek ölüm belirlenmiştir. Ancak, aynı günde TR-55-002 ve TR-81-004 izolatlarının uygulandığı erginlerde bulaştırılma oranına yakın veya biraz daha fazla ölüm görülmüştür. Ayrıca, tüm fungus uygulamalarında %95-100 arasında mikozis tespit edilmiştir (Çizelge 4.26). Sonuç olarak, *A. dispar* denemesinde olduğu gibi TR-55-002 ve TR-81-004 izolatlarının *X. germanus* erginleri arasında da horizontal yayılarak çok fazla etkili olmadığı, bunun aksine TR-55-034 ve TR-55-019 izolatlarının ise önemli derecede horizontal yayılarak etkili olduğu saptanmıştır.

Kontrol erginlerde ise uygulamadan 15 gün sonra sadece %8.75 oranında ölüm meydana gelmiştir (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. Entomopatojen fungusların *Xylosandrus germanus* erginleri arasındaki horizontal yayılımı

İzolatlar	Bulaştırma oranı	Günler (%Ölüm+Standart hata)			Mikozis (%)
		5	10	15	
TR-55-034 <i>B. bassiana</i>	%25	13.75 ^a ±1.25 ^{bj} c	78.75±2.39b	90.00±0.00b	95
	%50	27.50±4.33gh	92.5±1.44a	100.00±0.00a	95
	%75	53.75±2.39bc	100.00±0.00a.	100.00±0.00a	100
	%100	81.25±3.14a	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
TR-55-002 <i>I. fumosorosea</i>	%25	11.25±1.25j	21.25±1.25e	31.25±2.39e	95
	%50	20.00±2.04hij	45.00±2.04d	60.00±2.04d	95
	%75	31.25±2.39fgh	63.75±2.39c	80.00±2.04c	95
	%100	41.25±1.25def	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
TR-81-004 <i>L. lecanii</i>	%25	15.00±2.04j	26.25±1.25e	32.50±1.44e	95
	%50	21.25±2.39hij	42.50±1.44d	60.00±2.04d	95
	%75	35.00±2.04efg	61.25±2.39c	82.5±1.44c	100
	%100	51.25±2.39bcd	100.00±0.00a	100±0.00a	100
TR-55-019 <i>M. anisopliae</i>	%25	18.75±2.39ij	42.5±3.23d	60.00±2.04d	95
	%50	45.00±3.54cde	63.75±2.39c	81.25±1.25c	95
	%75	62.50±2.50b	76.25±1.25b	100.00±0.00a	95
	%100	87.50±2.50a	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100
Kontrol	%0	0.00±0.00k	6.25±1.25f	8.75±2.39f	0

^aHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasını temsil etmektedir.

^bHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasının standart hatasını temsil etmektedir.

^cAynı sütunda farklı harflere sahip ortalamalar TUKEY'e göre P<0.05 önem seviyesinde farklıdır.

4.5. Entomopatojen Fungusların Simbiyotik Fungus (*Ambrosiella* sp.)'un Gelişmesine ve *X. germanus*'un Yumurta Bırakmasına Etkisi

4.5.1. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un besi ortamında gelişmesine etkisi

Entomopatojen funguslar, *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin *X. germanus*'tan izole edilen simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.) üzerindeki antogonistik derecesi Petri kaplarında ikili kültür yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu fungusların simbiyotik fungus üzerindeki antogonistik derecesi 1-5 skalasına göre 4 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.27). Bu skalaya göre entomopatojen fungusların simbiyotik fungusun gelişmesi

üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı görülmektedir (Şekil 4.44). Aynı zamanda, entomopatojen fungusların etkisi bakımından türler arasında önemli derece de fark olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

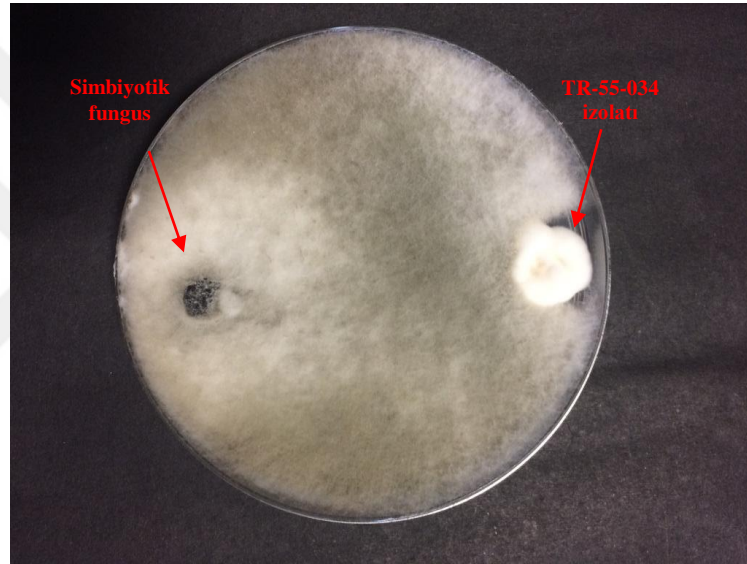
Çizelge 4.27. Entomopatojen fungus izolatlarının simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.) üzerindeki antogonistik etki derecesi

Fungus izolatları	Antogonistik derecesi
TR-55-034	4.00 ^a ±0.00 ^b a ^c
TR-55-002	4.00±0.00a
TR-81-004	4.00±0.00a
TR-55-019	4.00±0.00a

^aHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasını temsil etmektedir.

^bHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasının standart hatasını temsil etmektedir.

^cAynı satırdaki farklı harflere sahip ortalamalar TUKEY'e göre $P<0.05$ önem seviyesinde farklıdır.



Şekil 4.44. Petri ortamında gelişen simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.) ve TR-55-034 izolatu

4.5.2. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve *X. germanus*'un yumurta bırakmasına etkisi

Bu çalışmada, *X. germanus* dişilerinin yüksek patojeniteye sahip *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019) izolatlarının farklı konsantrasyonları (1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor mL^{-1}) ile muamele edilen dallara maruz bırakılması sonucu galerilerindeki simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un gelişme durumu ve dolayısıyla bıraktıkları yumurtaları incelenmiştir. Ayrıca, aynı denemede bu fungusların *X. germanus* erginlerinin canlılığına ve galeri açmasına etkisi de gözlenmiştir. Sonuç olarak, beklenildiği gibi

tüm entomopatojen fungus uygulamaları kontrol ile kıyaslandığında böceklerin canlılık oranını önemli derecede azaltmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.28). Ayrıca, fungusların konsantrasyonunun artmasına paralel olarak böceklerin canlılık oranının azaldığı tespit edilmiştir. Benzer olarak, tüm entomopatojen fungus uygulamalarının kontrol ile kıyaslandığında *X. germanus*'un galeri açmasında da etkili olduğu bulunmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 4.28). Genel olarak, böceğin galeri açmasına etkisi bakımından fungus türleri ve konsantrasyonları arasında farklılık bulunmazken ($P>0.05$), TR-55-034 izolatının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonu diğer uygulamalardan farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Diğer taraftan, bu entomopatojen fungusların böcek galerisindeki simbiyotik fungusun gelişmesini etkilemediği tespit edilmiştir ($P>0.05$) (Çizelge 4.28). Ayrıca canlı böcek başına düşen yumurta sayısında istatistiki olarak farklılık önemli derecede görülmezken ($P<0.05$), TR-55-034 izolatının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonu diğer tüm uygulamalara göre istatistik olarak farklılık göstermiştir. Sonuç olarak, böceklerin kontrol ile kıyaslandığında daha az yumurta bırakmasının böceklerin üremesini azaltmasından ziyade böceklerin ölümüne neden olması ve dolayısıyla daha az bireyin yumurta bırakmasından kaynaklanmış olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda, TR-55-034 izolatının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonda uygulanması sonucu *X. germanus* dişilerinin üremesinde azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak, stereomikroskop altında incelenmesi ve re-izolasyon işlemi sonucu TR-55-034, TR-55-002, TR-81-004 ve TR-55-019 izolatları ile muamele edilmiş dallardaki böcek yumurtalarının sırasıyla yaklaşık %50, %50, %20 ve %60 oranında enfeksiyonlu olduğu bulunmuştur. Mikroskop altında kontrol dişilerin yumurtaları şeffaf olarak görülürken (Şekil 4.45a), fungus uygulanmış dişilerin bazı yumurtaları siyah görünüm almıştır (Şekil 4.45b). Aynı zamanda, re-izolasyon işlemine tabi tutulan bu yumurtaların bazılarında denemede uygulanan entomopatojen funguslar izole edilmiştir.

Çizelge 4.28. Entomopatojen fungusların simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve *X. germanus*'un yumurta bırakmasına etkisi

İzolatlar ve Konsantrasyonlar	Canlı (%Ort.±S.h)	Galeri (%Ort.±S.h)	Funguslu galeri ^a (%Ort.±S.h)	Yumurta sayısı ^b (Ort±S.h)	
TR-55-034 <i>B. bassiana</i>	1×10 ⁴	42.50 ^c ±2.50 ^d cd ^e	45.00±2.89bc	100.00±0.00a	5.44±0.39ab
	1×10 ⁶	25.00±2.89e	42.50±2.50bc	100.00±0.00a	4.98±0.73ab
	1×10 ⁸	7.50±2.50f	27.50±4.79c	93.75±6.25a	3.5±1.19b
TR-55-002 <i>I. fumosorosea</i>	1×10 ⁴	52.50±2.50bc	37.50±4.79bc	90.00±10.00a	5.47±0.70ab
	1×10 ⁶	32.50±4.79de	30.00±7.07bc	100.00±0.00a	5.21±0.56ab
	1×10 ⁸	22.50±4.79ef	30.00±7.07bc	100.00±0.00a	4.04±0.34ab
TR-81-004 <i>L. lecanii</i>	1×10 ⁴	67.50±4.79b	52.50±4.79ab	100.00±0.00a	5.65±0.15ab
	1×10 ⁶	45.00±2.89cd	42.50±2.50bc	77.50±8.29a	5.03±0.34ab
	1×10 ⁸	32.50±4.79de	35.00±5.00bc	93.75±6.25a	4.65±0.21ab
TR-55-019 <i>M. anisopliae</i>	1×10 ⁴	42.50±2.50cd	50.00±4.08bc	100.00±0.00a	5.91±0.31ab
	1×10 ⁶	25.00±2.89e	37.50±4.79bc	100.00±0.00a	5.37±0.36ab
	1×10 ⁸	7.50±2.50f	32.50±4.79bc	81.25±11.97a	4.75±0.75ab
Kontrol		95.00±2.89a	75.00±2.89a	100.00±0.00a	6.58±0.25a

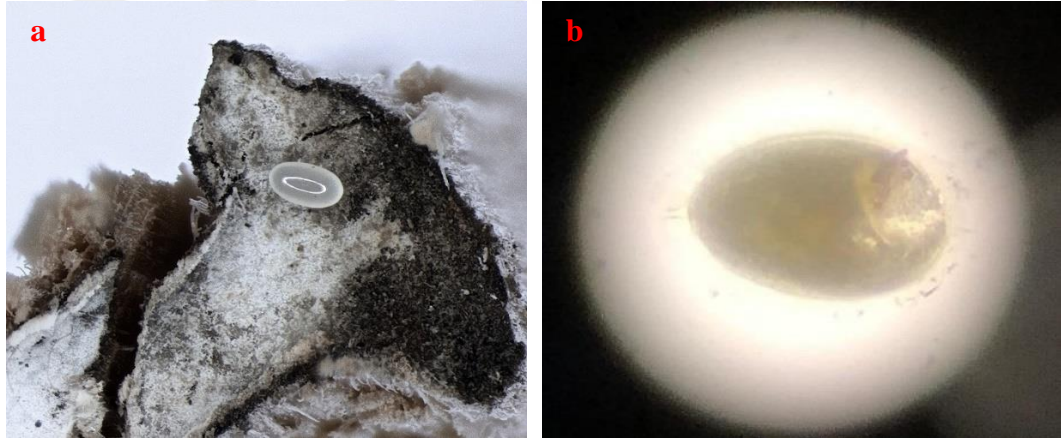
^aSimbiyotik fungus içeren galeriyi ifade etmektedir.

^bCanlı böcek başına düşen yumurta sayısı

^cHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasını temsil etmektedir.

^dHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasının standart hatasını temsil etmektedir.

^eAynı sütunda farklı harflere sahip ortalamalar TUKEY'e göre P<0.05 önem seviyesinde farklıdır.



Şekil 4.45. *Xylosandrus germanus*'un sağlıklı (a) ve TR-55-002 izolatı ile enfekteli yumurtası (b)

4.6. *Trichoderma* Türlerinin Simbiyotik Fungus (*Ambrosiella* sp.)'un Gelişmesine ve *X. germanus*'un Yumurta Bırakmasına Etkisi

4.6.1. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un besi ortamında gelişmesine etkisi

Trichoderma harzianum 11-TTR-2, *T. hamatum* F4, *T. asperellum* T-11-25 ve *T. atroviride* T-4-5 izolatların *X. germanus*'tan izole edilen simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.) üzerindeki antogonistik derecesi Petri kaplarında ikili kültür metodu ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, her iki fungusun ilk 3 gün boyunca normal olarak geliştiği ve daha sonraki günlerde ise *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus üzerinde gelişmeye başladığı tespit edilmiştir (Şekil 4.46 ve 4.47). Uygulamadan 10 gün sonra, 1-5 arası skalaya göre *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungusun gelişmesini yüksek derecede baskıladığı bulunmuştur (Çizelge 4.29). Ayrıca, *Trichoderma* izolatlarının bu fungus üzerindeki etkinliğinin türlere göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). Özellikle de *T. asperellum* en etkili tür olarak bulunurken, bu türü *T. atroviride* ve diğerleri takip etmiştir.

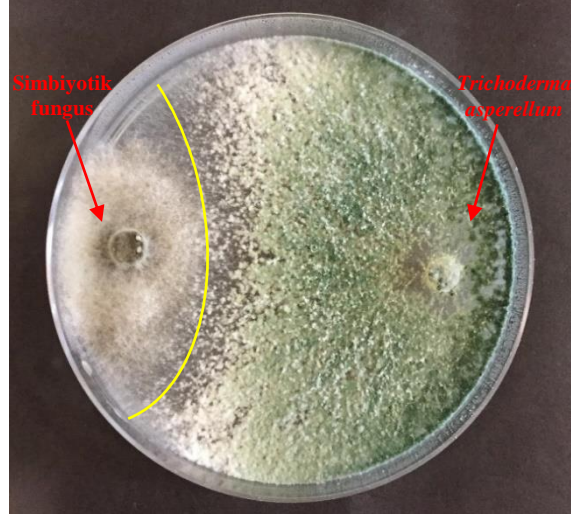
Çizelge 4.29. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.) üzerindeki antogonistik derecesi

Fungus türleri	Antogonistik derecesi
<i>T. harzianum</i>	2.00 ^a ±0.00 ^b ^c
<i>T. hamatum</i>	2.00±0.00 ^b
<i>T. asperellum</i>	1.00±0.00 ^a
<i>T. atroviride</i>	1.50±0.29 ^{ab}

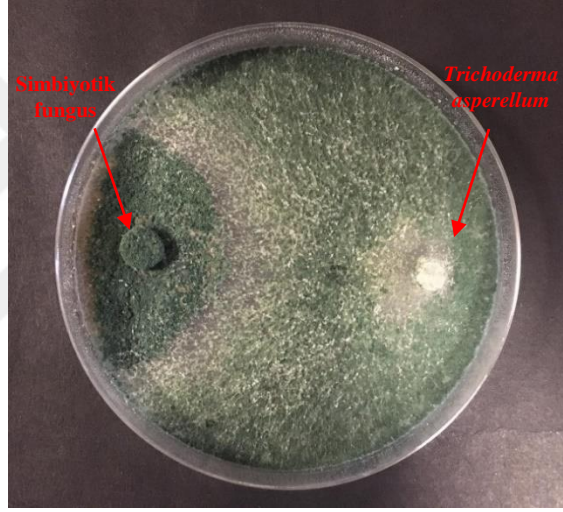
^aHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasını temsil etmektedir.

^bHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasının standart hatasını temsil etmektedir.

^cAynı satırdaki farklı harflere sahip ortalamalar TUKEY'e göre $P<0.05$ önem seviyesinde farklıdır.



Şekil 4.46. Simbiyotik fungus üzerinde gelişen *Trichoderma asperellum* (4 gün sonra)



Şekil 4.47. Simbiyotik fungus üzerinde gelişen *Trichoderma asperellum* (10 gün sonra)

4.6.2. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un böcek galerisindeki gelişmesine ve *X. germanus*'un yumurta bırakmasına etkisi

Trichoderma harzianum 11-TTR-2, *T. hamatum* F4, *T. asperellum* T-11-25 ve *T. atroviride* T-4-5 izolatlarının *X. germanus*'un galerisindeki simbiyotik fungusun gelişmesine ve böceğin yumurta bırakmasına etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda, bu fungusların böceklerin canlılığına ve galeri açmasına etkisi de araştırılmıştır. Bu çalışmada, dişi böceklerin uygulama yapılmış ve yapılmamış fındık dallarında 1-2 gün içerisinde galeri açmaya başladıkları gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, 18 gün sonunda kontrol fındık dallarına maruz bırakılan dişilerin %87.50'sinin canlı olduğu ve

%77.50-87.50 oranında galeri açtıkları tespit edilmiştir (Çizelge 4.30-4.32). Ayrıca, uygulamadan 6, 12 ve 18 gün sonraki incelemelerde kontrol dallardaki böcek galerilerinin en az %93.30'unun çok iyi gelişme gösteren simbiyotik fungusu (Şekil 4.48) sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.30-4.32). Uygulamadan 6 gün sonra, her kontrol grubundaki 10 dişi böceğin ortalama 25.25 yumurta (Şekil 4.49) bıraktığı belirlenirken, larva ve pupaya rastlanılmamıştır (Çizelge 4.30). Benzer olarak, uygulamadan 12 gün sonra yapılan incelemede her kontrol daldaki galerilerde ortalama 50.75 yumurta ve 61.00 larva (Şekil 4.50) bulunmuş, ancak pupaya rastlanılmamıştır (Çizelge 4.31). Ayrıca, 18 gün sonra her bir kontrol daldaki böcek galerilerinde 79.00 larva ve 22.25 pupa tespit edilmiştir (Çizelge 4.32). Sonuçlarda görüldüğü gibi böceklerin biyolojisi gereği 6. günde yumurtaların görüldüğü, 12. günde larva ve 18. günde de pupaların olduğu bulunmuştur. *Trichoderma* izolatlarının iki farklı konsantrasyonu (1×10^6 ve 1×10^8 spor mL⁻¹) ile muamele edilmiş dallara maruz bırakılan *X. germanus* dişilerinde 18 gün boyunca kontrol ile kıyaslandığında önemli derecede ölüm meydana gelmediği ve aynı zamanda da galeri açmasını etkilemediği görülmüştür ($P > 0.05$) (Çizelge 4.30-4.32). İlginç olarak, *T. harzianum*, *T. asperellum* ve *T. atroviride* uygulanmış dallara maruz bırakılan dişilerin çoğunun 18 gün boyunca canlı olmasına ve galeri oluşturmaya rağmen, bu galerilerin hiçbirinde simbiyotik fungus gelişmesinin olmadığı ve dolayısıyla yumurta bırakılmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.30-4.32). Simbiyotik fungusların olmadığı bu galerilerin çoğunda yeşilimsi renkte *Trichoderma* funguslarının geliştiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.53-4.54). *T. hamatum*'un 1×10^8 spor mL⁻¹ konsantrasyonu ile muamele edilmiş dallara bırakılan böcek galerilerinin çok azında seyrek olarak gelişen simbiyotik fungus görülmüş (Şekil 4.51 ve 4.52), ancak hiçbir yumurta bırakılmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.30-4.32). Ayrıca, *T. hamatum*'un 1×10^6 spor mL⁻¹ konsantrasyonu uygulanmış dallardaki galerilerin bazılarında seyrek mисле sahip simbiyotik fungus gelişmesi (Şekil 3.51 ve 4.52) ve kontrole göre daha az yumurta, larva ve pupa bulunmuştur (Çizelge 4.30-4.32).

Çizelge 4.30. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un 6 gün sonra böcek galerisindeki gelişmesine ve *X. germanus*'un yumurta bırakmasına etkisi

Fungus türleri		Canlılık (%Ort.±S.h)	Galeri (%Ort.±S.h)	Funguslu galeri ^a (%Ort.±S.h)	Yumurta (Ort.±S.h)
<i>T. harzianum</i>	1×10 ⁶	95.00 ^b ±5.00 ^c a ^d	80.00±5.77a	0.00±0.00d	0.00 ^e ±0.00c
	1×10 ⁸	95.00±2.80a	85.00±2.89a	0.00±0.00d	0.00±0.00c
<i>T. hamatum</i>	1×10 ⁶	95.00±2.89a	82.50±4.78a	69.95±2.01b	12.25±1.10b
	1×10 ⁸	95.00±2.89a	80.00±5.77a	21.82±2.92c	0.00±0.00c
<i>T. asperellum</i>	1×10 ⁶	97.50±2.50a	77.50±4.78a	0.00±0.00d	0.00±0.00c
	1×10 ⁸	95.00±2.89a	80.00±7.07a	0.00±0.00d	0.00±0.00c
<i>T. atroviridae</i>	1×10 ⁶	95.00±2.89a	80.00±4.08a	0.00±0.00d	0.00±0.00c
	1×10 ⁸	97.50±2.50a	80.00±4.08a	0.00±0.00d	0.00±0.00c
Kontrol		97.50±2.50a	85.50±2.50a	97.22±2.77a	25.25±3.94a

^aBöcek galerisinde gelişen simbiyotik fungusu ifade etmektedir.

^bHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasını temsil etmektedir.

^cHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasının standart hatasını temsil etmektedir.

^dAynı sütunda farklı harflere sahip ortalamalar TUKEY'e göre P<0.05 önem seviyesinde farklıdır.

^eHer uygulamadaki yumurta sayısının ortalamasını temsil etmektedir.

Çizelge 4.31. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un 12 gün sonra böcek galerisindeki gelişmesine ve *X. germanus*'un yumurta bırakmasına etkisi

Fungus türleri		Canlılık (%Ort.±S.h)	Galeri (%Ort.±S.h)	Funguslu galeri ^a (%Ort.±S.h)	Yumurta (Ort.±S.h)	Larva (Ort.±S.h)
<i>T. harzianum</i>	1×10 ⁶	92.50 ^b ±4.78 ^c a ^d	75.00±2.88a	0.00±0.00d	0.00 ^e ±0.00c	0.00 ^f ±0.00c
	1×10 ⁸	92.50±2.50a	80.00±4.08a	0.00±0.00d	0.00±0.00c	0.00±0.00c
<i>T. hamatum</i>	1×10 ⁶	90.00±0.00a	75.00±2.88a	60.70±6.17b	30.25±2.95b	26.00±2.88b
	1×10 ⁸	92.50±2.50a	80.00±4.08a	15.37±2.31c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
<i>T. asperellum</i>	1×10 ⁶	92.50±2.50a	72.50±4.78a	0.00±0.00d	0.00±0.00c	0.00±0.00c
	1×10 ⁸	90.00±4.08a	77.50±4.78a	0.00±0.00d	0.00±0.00c	0.00±0.00c
<i>T. atroviridae</i>	1×10 ⁶	92.50±4.78a	77.50±4.78a	0.00±0.00d	0.00±0.00c	0.00±0.00c
	1×10 ⁸	92.50±2.50a	75.00±2.88a	0.00±0.00d	0.00±0.00c	0.00±0.00c
Kontrol		95.00±2.88a	77.50±2.50a	97.22±2.77a	50.75±2.13a	61.00±5.67a

^aBöcek galerisinde gelişen simbiyotik fungusu ifade etmektedir.

^bHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasını temsil etmektedir.

^cHer bir uygulamanın tekerrürlerinin ortalamasının standart hatasını temsil etmektedir.

^dAynı sütunda farklı harflere sahip ortalamalar TUKEY'e göre P<0.05 önem seviyesinde farklıdır.

^eHer uygulamadaki yumurta sayısının ortalamasını temsil etmektedir.

^fHer uygulamadaki larva sayısının ortalamasını temsil etmektedir.

Çizelge 4.32. *Trichoderma* türlerinin simbiyotik fungus (*Ambrosiella* sp.)'un 18 gün sonra böcek galerisindeki gelişmesine ve *X. germanus*'un yumurta bırakmasına etkisi

Fungus türleri		Canlılık (%Ort.±S.h)	Galeri (%Ort.±S.h)	Funguslu galeri ^a (%Ort.±S.h)	Larva (Ort.±S.h)	Pupa (Ort.±S.h)
<i>T. harzianum</i>	1×10 ⁶	82.50 ^b ±4.58 ^c a ^d	72.50±6.29a	0.00±0.00c	0.00 ^e ±0.00c	0.00 ^f ±0.00c
	1×10 ⁸	85.00±2.88a	80.00±4.08a	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
<i>T. hamatum</i>	1×10 ⁶	87.50±4.78a	75.00±2.88a	50.00±5.86b	23.75±2.86b	9.25±1.31b
	1×10 ⁸	82.50±2.50a	77.50±4.78a	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
<i>T. asperellum</i>	1×10 ⁶	82.50±4.78a	75.00±2.88a	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
	1×10 ⁸	87.50±2.50a	75.00±2.88a	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
<i>T. atroviridae</i>	1×10 ⁶	85.00±2.88a	80.00±4.08a	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
	1×10 ⁸	85.00±2.88a	77.50±4.78a	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
Kontrol		87.50±2.50a	82.50±4.78a	93.30±3.88a	79.00±4.41a	22.25±1.49a

^aBöcek galerisinde gelişen simbiyotik fungusu ifade etmektedir.

^bHer bir uygulamanın tekrürlerinin ortalamasını temsil etmektedir.

^cHer bir uygulamanın tekrürlerinin ortalamasının standart hatasını temsil etmektedir.

^dAynı sütunda farklı harflere sahip ortalamalar TUKEY'e göre P<0.05 önem seviyesinde farklıdır.

^eHer uygulamadaki larva sayısının ortalamasını temsil etmektedir.

^fHer uygulamadaki pupa sayısının ortalamasını temsil etmektedir.



Şekil 4.48. Kontrol daldaki *Xylosandrus germanus*'un galerisinde gelişen simbiyotik fungus (beyaz tabaka)



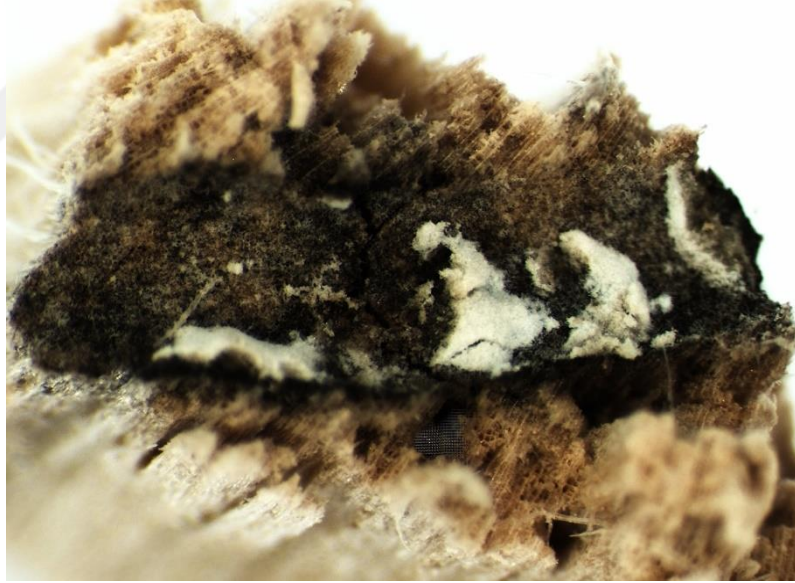
Şekil 4.49. Kontrol daldaki *Xylosandrus germanus*'un galerisindeki yumurtaları



Şekil 4.50. Kontrol daldaki *Xylosandrus germanus*'un galerisindeki larvaları



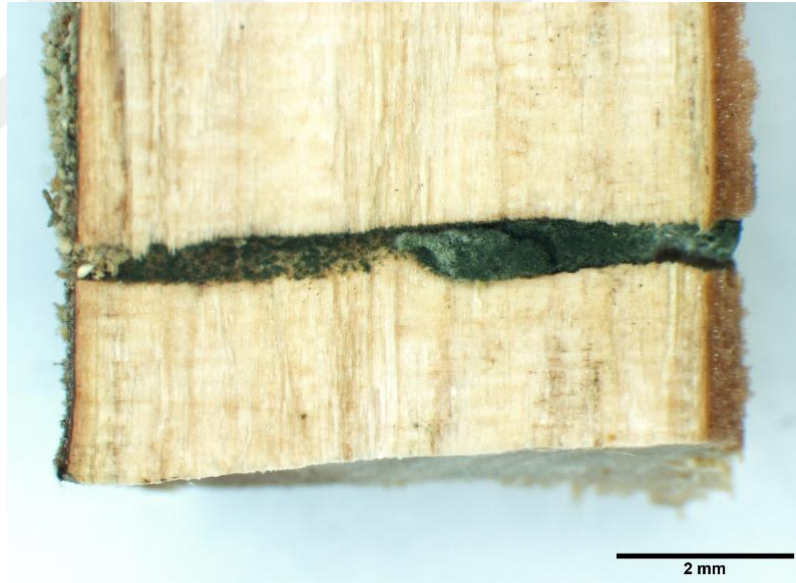
Şekil 4.51. *Trichoderma hamatum* uygulanmış daldaki *Xylosandrus germanus*'un galerisinde çok seyrek gelişen simbiyotik fungus (beyaz tabaka)



Şekil 4.52. *Trichoderma hamatum* uygulanmış daldaki *Xylosandrus germanus*'un galerisinde çok seyrek gelişen simbiyotik fungus (beyaz tabaka)



Şekil 4.53. *Trichoderma asperellum* uygulanmış daldaki *Xylosandrus germanus*'un galerisi ve simbiyotik fungus yerine gelişen *Trichoderma asperellum* (yeşilimsi renkte)



Şekil 4.54. *Trichoderma asperellum* uygulanmış daldaki *Xylosandrus germanus*'un galerisi ve simbiyotik fungus yerine gelişen *Trichoderma asperellum* (yeşilimsi renkte)

5. TARTIŞMA

Fındık, birçok çiftçi ailesinin geçim kaynağı olması ve tarım ürünleri ihracatında ilk sırada yer alması nedenleriyle Türkiye ve Karadeniz Bölgesi için sosyal ve ekonomik öneme sahiptir. Ambrosia böcekleri olarak bilinen *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* türleri fındık bahçelerinde yoğun olarak bulunmakta olup, fındık ağaçlarının dallarını kurutmak suretiyle önemli ekonomik zararlara neden olmaktadır. Aynı zamanda, bu böceklerin ağaçların odun dokusunda yaşaması, sadece ergin döneminde kısa süreliğine konukçusunu terk ederek dışarı çıkması ve bu çıkışlarında fındık bahçelerinde uzun bir zaman dilimine yayılmasından dolayı etkili bir mücadele yapılamamakta ve zararları önlenememektedir. Ambrosia böceklerine karşı kimyasal ilaç uygulamasında başarı sağlanmak istenildiğinde fazla sayıda ilaçlama yapılmasına gerek duyulmakta, ancak hem yüksek maliyet gerektirmesinden hem de yoğun olarak uygulanacak ilaçların çevredeki diğer canlılar ve insan sağlığı üzerinde oluşturabileceği ciddi olumsuz etkilerinden dolayı fazla tercih edilmemektedir. Bu sebeple, bu böceklere karşı etkili ve aynı zamanda çevre ve insan sağlığı için güvenli bir yöntem ihtiyacı vardır. Entomopatojen funguslar birçok avantajlarından dolayı fındıkta zararlı ambrosia böceklerinin mücadelesi için en uygun adayların başında gelmektedir. Bu funguslar sadece doğrudan uygulandığında etkili olmamakta, aynı zamanda uygulandığı yüzeyde uzun süre kalarak sonradan böceğin temas etmesiyle dolaylı olarak da etkili olabilmektedir. Bu özellik, korunaklı yerlerde yaşayan ve kısa süreliğine dışarı çıkan böceklerin mücadelesi için oldukça önemlidir. Diğer önemli avantajı ise bu funguslar enfekteli böcekler tarafından diğer bireylerine (horizontal) veya galerilerindeki diğer biyolojik dönemlerine (vertikal) taşınarak etkili olabilmektedir (Castrillo vd, 2013). Ayrıca, fındık bahçeleri entomopatojen fungusların nem ve sıcaklık istekleri bakımında oldukça uygundur. Tüm bu bilgilerden yola çıkarak entomopatojen fungusların ambrosia böceklerine karşı alternatif mücadele için oldukça potansiyel etmenler olduğunu söyleyebiliriz. Bu nedenle, ambrosia böcekleri üzerindeki entomopatojen fungusların tespit edilmesine ve bu böceklere karşı virülensliği yüksek izolatların belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada, Türkiye’de fındık yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Samsun, Ordu, Giresun, Düzce ve Sakarya illerindeki fındık bahçelerinden toplanan ambrosia böcekleri, *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* üzerindeki entomopatojen

fungusların izolasyonu, tanımlanması ve bu izolatların aynı böceklere karşı patojeniteleri belirlenmiştir. Ayrıca, patojenite çalışmaları sonucunda her üç böceğe karşı yüksek derecede virulent olduğu belirlenen farklı türlere ait bazı izolatların etkileri daha detaylı çalışmalarla araştırılmıştır. Buna ek olarak, mikoparazitik funguslar olarak bilinen *Trichoderma* spp.'nin ambrosia böcekleri ile ilişkili simbiyotik fungusa ve böceğin yumurta bırakmasına etkisi incelenmiştir.

Ambrosia böcekleri, *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* türlerinden yapılan izolasyon sonucu toplam 47 adet entomopatojen fungus izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların moleküler karakterizasyonu sonucu 6 farklı cins içerisindeki 8 türe ait olduğu belirlenmiştir. Bu türler, *B. bassiana*, *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *L. lecanii*, *P. lilacinum*, *C. rosea* ve *M. anisopliae* olarak tanımlanmıştır. Özellikle de *L. lecanii* en yoğun bulunan tür olarak tespit edilmiş, onu *B. bassiana* ve *B. pseudobassiana* türleri takip etmiştir. Mevcut olarak gerek dünyada gerekse de ülkemizde *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* türlerinden entomopatojen fungusların izolasyonu ve tanımlanması ile ilgili tarafımızdan yapılan çalışmada, Samsun ilindeki fındık bahçelerinden toplanan *A. dispar* ve *X. germanus*'un enfeksiyonlu bireylerinden *L. muscarium*, *P. parvisporus*, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türleri tespit edilmiştir (Tuncer vd, 2018b). Bu çalışmada ise, daha çok il ve ilçelerden örnekleme yapılmış ve farklı türler belirlenmiştir. Önceki çalışmadan farklı olarak *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *L. lecanii*, *P. lilacinum* ve *C. rosea* türleri tespit edilmiş olup, aynı zamanda bu türler *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii*'den ilk kez elde edilmiştir. Aynı zamanda, bu funguslar diğer ambrosia böcekleri için de ilk kayıt konumundadır. Çünkü ambrosia böceklerinden entomopatojen fungus izolasyonu ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Bu tez çalışmasında, *L. lecanii* ambrosia böceklerinden elde edilen en yaygın tür olarak belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda, bu türün yaprak bitleri, beyazsinekler, thrips ve diğer böceklerden izole edildiği belirtilmiştir (Goettel vd, 2008). Ancak, *L. lecanii*'nin ambrosia böceklerinden izole edildiğine dair kayıt bulunmazken, aynı cinse ait *L. muscarium*'un fındık bahçelerindeki ambrosia böcekleri *A. dispar* ve *X. germanus*'tan ve Türkiye'deki ormanlarda zararlı kabuk böceği *D. micans*'dan izole edildiği tespit edilmiştir (Esmer, 2011; Kushiyeve, 2015). Aynı zamanda, patojenite çalışmaları *L. lecanii*'nin bazı izolatlarının *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* erginlerine karşı oldukça etkili olduğunu göstermiştir. Özellikle de TR-81-004, TR-54-003, TR-28-008 ve TR-28-007 izolatlarının LT₅₀ değeri *A. dispar* erginleri

üzerinde sırasıyla 4.72, 4.83, 4.91 ve 5.17 gün ve *X. germanus* erginlerinde ise sırasıyla 4.43, 4.62, 6.33 ve 5.56 gün olarak oldukça düşük bulunmuştur. Ayrıca, uygulamadan 9 gün sonra bu izolatlar *A. dispar* erginlerinde %100 ve *X. germanus* erginlerinde ise %84-100 arasında ölüm meydana getirmiştir. Buna ek olarak, TR-81-004 izolatının LT₅₀ değeri *X. saxesenii* erginlerinde 4.57 gün olarak bulunmuş ve aynı zamanda bu izolatın 9 gün içinde %100 ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Ancak, bazı izolatların oldukça etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Bazı araştırmacılar tarafından mikoparazitik fungus olarak da bilinen *L. lecanii* özellikle de afitlere, beyazsineklere ve akarlar karşı biyolojik mücadele ajanı olarak başarıyla kullanılmaktadır (Alavo vd, 2001). Ancak, şu ana kadar bu fungusların ambrosia böceklerine karşı etkinliklerinin belirlendiği çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma, bazı izolatların oldukça etkisiz olduğu tespit edilse de, *L. lecanii*'nin yerli ve etkili izolatlarının ambrosia böcekleri ile mücadelede alternatif etmenler olabileceği görülmektedir.

Bu çalışmada izole edilen türler arasında *B. bassiana* ve *B. pseudobassiana*'da bulunmaktadır. Özellikle de tüm Dünya'da yaygın bir entomopatojen olan *B. bassiana*, bazı kabuk böcekleri de dahil olmak üzere çok sayıda böcek türünden izole edilmiştir (Zimmermann, 2007a; Draganova vd, 2010; Esmer, 2011). Bu fungusdan üretilen birçok preparat mevcut olup, tarımsal zararlılara karşı yaygın olarak kullanılmaktadır (Zimmermann, 2007a). Bu fungus, daha önce fındık bahçelerindeki *X. germanus*'tan ve Karadeniz Bölgesi'ndeki fındık bahçelerinden alınan topraklardan da izole edilmiştir (Sevim, 2010; Kushiyeve, 2015). Aynı zamanda, bu türün Karadeniz Bölgesi'ndeki fındık bahçelerinde yaygın bulunabileceği ve fındık zararlılarına karşı kullanılabilmesi belirtilmiştir (Sevim, 2010). Diğer taraftan, patojenite çalışmalarımızda, *B. bassiana*'nın 11 izolatının 8'inin LT₅₀ değeri *A. dispar* için 4.12-5.69 gün ve *X. germanus* için ise 3.97-5.78 gün olarak belirlenmiş ve aynı zamanda bu izolatlar her iki böcekte 9 gün içinde %100 ölüme neden olmuştur. Ayrıca, *X. saxesenii* erginlerinde de yüksek derecede ölüm meydana getirmiştir. Benzer olarak, bu böcekler karşı uygulanan *B. pseudobassiana*'nın LT₅₀ değeri ve günlük ölüm oranları *B. bassiana*'nın değerlerine oldukça yakın bulunmuştur. Bu sonuçlar, *B. bassiana* ve *B. pseudobassiana*'nın bazı izolatları hariç ambrosia böceklerine karşı oldukça etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmaya paralel olarak, *B. bassiana* izolatlarının bazı kabuk (*S. amygdali*, *D. micans*, *I. sexdentatus* ve *I. typographus*) ve ambrosia böceklerine (*T. lineatum*, *A. dispar* ve *X. germanus*) karşı yüksek derecede virulent olduğu ve mücadelesinde kullanılabilmesi belirtilmiştir (Prazak, 1991; 1997; De La

Rosa vd, 1997; Samuels vd, 2002; Kreutz vd, 2004; Draganova vd, 2006; Batta, 2007; Sevim, 2010; Esmer, 2011; Tuncer vd, 2016; 2019). Benzer bir çalışmada, *B. bassiana* (TR-217) izolatının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonun *A. dispar* ve *X. germanus* erginlerine karşı uygulanması sonucu LT_{50} değerinin sırasıyla 4.47 ve 6.03 gün olduğu ve 8 gün içerisinde sırasıyla %100 ve %80 ölüm meydana getirdiği belirtilmiştir (Kushiyev vd, 2017; Tuncer vd, 2019). Aynı zamanda, *B. pseudobassiana*'nın da *D. micans*, *I. sexdentatus* ve *I. typographus* gibi kabuk böceklerine karşı oldukça etkili olduğu saptanmıştır (Kocaçevik vd, 2015; 2016). Sonuç olarak, bu çalışmada *B. bassiana* ve *B. pseudobassiana*'nın ambrosia böceklerine karşı çok yüksek derecede patojenik funguslar olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen *I. fumosorosea* ve *I. farinosa* türleri Dünya'nın her yerinde yaygın olarak bulunan böcek patojenleridir. *I. farinosa*, *D. micans*, *I. typographus* ve *T. lineatum* gibi kabuk böceklerinden (Wegensteiner, 2007; Draganova vd, 2010; Esmer, 2011), *I. fumosorosea* ise Karadeniz Bölgesindeki fındık bahçelerinin toprağından izole edilmiştir (Sevim, 2010). Ancak, ambrosia böceklerinden izole edildiğine dair kaynak bulunmamıştır. Patojenite çalışmasında en etkili bulunan *I. fumosorosea*'nın TR-55-002 izolatının LT_{50} değeri *A. dispar*'da 5.19 gün, *X. germanus*'ta 5.36 gün ve *X. saxesenii*'de ise 5.32 gün olarak bulunmuştur. Aynı zamanda, TR-55-002 izolatı uygulanmış erginlerde 9 gün içerisinde %100 ölüm meydana gelmiştir. Diğer izolatlarının bazıları yüksek derecede etkili olurken, bazılarının etkinliği ise oldukça düşük bulunmuştur. *I. farinosa* ve *I. fumosorosea*, Dünya çapında pek çok zararlının mücadelesinde kullanılmasına rağmen (Zimmermann, 2008), ambrosia böcekleriyle ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Türkiye'deki bir çalışmada, *I. fumosorosea* (TR-78-3) izolatının 1×10^8 spor mL^{-1} konsantrasyonda uygulanması sonucu LT_{50} değeri *A. dispar* ve *X. germanus* erginlerinde sırasıyla 4.78 ve 4.18 gün olarak bulunmuş ve 8 gün sonra %100 ölüme neden olduğu belirlenmiştir (Kushiyev vd, 2018). Çalışmamızın sonuçları, *Isaria* spp.'nin bazı izolatlarının *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* erginlerine karşı iyi bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada elde edilen önemli entomopatojen funguslardan biri de *M. anisopliae*'dir. *M. anisopliae*, *B. bassiana* ile birlikte böceklere karşı biyolojik mücadele etmeni olarak en çok çalışılan entomopatojen fungustur (Zimmerman, 2007b). Bu fungusun pek çok önemli zararlıya karşı iyi bir patojen olduğu tespit edilmiş olup, aynı zamanda ticari preparat olarak da başarıyla kullanılmaktadır

(Zimmerman, 2007b). Bu fungus, önceki çalışmamızda *X. germanus*'tan izole edilmiş olup, diğer ambrosia böceklerinden izole edildiğine dair kayıt bulunmamaktadır. *M. anisopliae*, ayrıca Karadeniz Bölgesi'ndeki fındık bahçelerinden alınan topraklardan yoğun olarak izole edilmiş ve fındık zararlılarına karşı iyi bir mücadele etmeni olabileceği belirtilmiştir (Sevim, 2010). Bu çalışmada, *M. anisopliae* izolatlarının *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* erginlerine uygulanması sonucu LT₅₀ değeri diğer funguslara göre oldukça düşük bulunmuş olup, ayrıca tüm böceklerde 9 gün içinde %100 ölüm meydana getirmiştir. Bu sonuçlar, *M. anisopliae*'nin tüm izolatlarının ambrosia böceklerine karşı yüksek derecede etkili olduğunu göstermektedir. Bu fungusun bazı kabuk böceklerine etkili olduğu tespit edilmesine rağmen (Samuels vd, 2002; Pava-Ripoll vd, 2008; Mudrončková vd, 2013), ambrosia böcekleri üzerindeki etkinliği sadece birkaç çalışmada incelenmiştir (Tuncer vd, 2019). Yapılan bu çalışmada, 1×10^8 spor mL⁻¹ konsantrasyonda *X. germanus* erginlerine karşı uygulanan *M. anisopliae* (TR-106) izolatının LT₅₀ değerinin 4.43 gün olduğu ve bu erginlerde 8 gün içinde %100 ölüm meydana geldiği tespit edilmiştir (Tuncer vd, 2019).

Bu çalışmada izole edilen diğer funguslar ise *P. lilacinum* ve *C. rosea*'dır. Toprak kökenli bir fungus olan *P. lilacinum*, tropikal bölgelerdeki böcekler üzerinden izole edilmiştir. Ancak, bu fungusların kabuk ve ambrosia böceklerinden izolasyonu ve bu böceklere karşı patojenitesi ile ilgili bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada izole edilen *P. lilacinum* izolatlarının LT₅₀ değerinin *A. dispar* ve *X. germanus* erginlerinde 6.68 ile 7.72 gün arasında değiştiği ve aynı zamanda 9 gün içinde %60-72 arasında ölüme neden olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, *P. lilacinum*'un bu ambrosia böcekleri üzerinde kısmen etkili olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan, *C. rosea* genellikle mikoparazitik olarak bilinen, ancak birkaç çalışmada entomopatojen olarak rapor edilen bir fungustur (Toledo vd, 2006). Bu fungusun da ambrosia böceklerinden izole edildiğine veya etkisinin test edildiğine dair kayıt bulunmamaktadır. Ayrıca, bu çalışmada kullanılan *C. rosea* izolatlarının etkisiz veya çok düşük bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiş ve kullanılma potansiyellerinin olmadığı görülmüştür.

Patojenite çalışmalarında, entomopatojen fungusların *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* erginleri üzerindeki etkinliğinin genellikle türler arasında ve aynı türe ait farklı izolatlar arasında bile oldukça değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Bilindiği üzere, entomopatojen fungusların virülensliği cinsler arasında, bir cins içerisinde ve hatta bir türün izolatları arasında bile farklılık gösterebilmektedir (Goettel vd, 2005).

Çünkü entomopatojen funguslar genellikle genetik olarak farklı izolatlardan oluşmaktadır. Bu izolatlar virülenslikleri bakımından birbirlerinden farklılık gösterebilmektedir (Sevim vd, 2015). Bu nedenle, entomopatojen çalışmalarında genellikle aynı türe ait çok sayıda izolat kullanılmakta ve virülensliği yüksek olanlar belirlenmektedir. Aynı zamanda, virülensliği yüksek izolatların seçimi entomopatojen fungus preparatlarının geliştirilmesindeki en önemli aşamayı oluşturmaktadır (Goettel vd, 2005). Sonuç olarak, bu çalışmada ambrosia böceklerine oldukça etkili *B. bassiana*, *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *L. lecanii* ve *M. anisopliae* türlerine ait birçok yerli izolat elde edilmiştir.

Patojenite çalışmalarında yerli izolatların kıyaslanması amacıyla kullanılan *V. lecanii*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* ve *M. anisopliae* preparatları uygulamadan 9 gün sonra *A. dispar* erginlerinde sırasıyla %28, %24, %24 ve %32 ve *X. germanus* erginlerinde ise sırasıyla %36, %28, %28 ve %24 oranında ölüm meydana getirmiştir. Bu sonuçlar, ticari preparatların entomopatojen fungus izolatlarına göre oldukça düşük etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuçların aksine, *B. bassiana* (Naturalis), *M. brunneum* (F52) ve *I. fumosorosea* (Ifr 3581 ve PFR) biopreparatlarının *X. germanus*, *X. crassiusculus* ve *X. glabratus*'un erginlerine karşı oldukça yüksek ölüme neden olduğu tespit edilmiştir (Castrillo vd, 2011; 2013; Carrillo vd, 2015). Ancak Castrillo vd (2011), *B. bassiana* preparatının (GHA) *X. germanus* erginlerinde uygulamadan 6 gün sonra %6.7 gibi çok düşük ölüm meydana getirdiğini saptamıştır. Sonuç olarak, bu biyopreparatların farklı zararlı böcekler için ruhsatlandırılmış olmasından dolayı, çalışmamızda kullanılan ambrosia böcekleri üzerindeki etkilerinin düşük çıkmış olabileceği düşünülmektedir.

Patojenite çalışmalarında yüksek virülenslik gösteren *B. bassiana* (TR-55-034) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin farklı konsantrasyonlarının (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor mL⁻¹) *A. dispar* ve *X. germanus* erginleri üzerinde farklı oranlarda ölüme neden olduğu belirlenmiştir. *X. germanus* böceğinde, TR-55-019 izolatının LT₅₀ değeri konsantrasyonlara göre 4.01 ile 8.56 gün arasında değişirken, bu değer TR-55-034 izolatında ise 4.40 ile 12.80 gün arasında değişmiştir. *A. dispar* böceğinde ise TR-55-019 izolatının LT₅₀ değeri konsantrasyonlara göre 3.63 ile 9.30 gün iken, bu değer TR-55-034 izolatında ise 4.48 ile 8.44 gün olmuştur. Uygulamadan 9 gün sonra, her iki izolatın en yüksek 3 konsantrasyonu (1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor mL⁻¹) *A. dispar* ve *X. germanus* erginlerinde %100 ölüm meydana getirmiştir. Sonuç olarak, bu izolatların her iki böceğe karşı konsantrasyonun artmasına bağlı olarak

etkinliğinin arttığı ve LT₅₀ değerlerinin aynı oranda düştüğü belirlenmiştir. Entomopatojen fungusların konsantrasyonunun artmasıyla etkinliğinin arttığı ve LT₅₀ değerlerinin düştüğü birçok çalışmada gösterilmiştir (Kocaçevik vd, 2016; Kushiyeve vd, 2018; Tuncer vd, 2019). Yapılan bir çalışmada, *B. cf. bassiana* KTU-53 izolatının farklı konsantrasyonları (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor mL⁻¹) uygulanan *D. micans*'in erginlerinde konsantrasyonlara göre artan bir ölüm belirlenmiştir. Özellikle de fungusun 1×10^8 spor mL⁻¹ konsantrasyonu ile muamele edilen erginlerde 7 gün içerisinde %100 ölüm meydana gelmiş olup, diğer konsantrasyonlarda ise daha düşük ölümler görülmüştür (Sevim, 2010).

Entomopatojen fungusların en önemli avantajlarından biri enfeksiyonlu bireyler tarafından sağlıklı bireylere yayılarak etkili olmasıdır. Steinkraus (2006) sporlarının yayılma yeteneğinin entomopatojen fungusların böcek zararlılarına karşı başarısını etkileyen en önemli parametre olduğunu belirtmiştir. Sporların yayılması horizontal (bireyler arasında) ve vertikal (generasyonlar arasında) olarak bir türün içinde veya türler arasında meydana gelmektedir (Baverstock vd, 2010). Horizontal yayılma enfekteli ve sağlıklı bireyler arasında doğrudan veya enfekteli bireylerden dağılan sporların yüzeyde birikmesi ve daha sonra gelen sağlıklı bireylerin temas etmesiyle dolaylı olarak gerçekleşmektedir (Baverstock vd, 2010). Bu çalışmada, *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin *A. dispar* ve *X. germanus* erginleri arasında horizontal yayılarak etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak, TR-55-002 ve TR-81-004 izolatlarının ambrosia böcekleri arasında horizontal yayılarak etkisinin düşük olduğu, ancak TR-55-034 ve TR-55-019 izolatlarının oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir. TR-55-034 izolatu %50 ve %75 oranında uygulamada her iki böcekte 15 gün içinde %100 ölüme neden olurken, TR-55-019 izolatu da %75 uygulamada %100 ve diğer uygulamalarda da yüksek derecede ölüm meydana getirmiştir. Çalışmada fungal bulaştırmanın yapıldığı oranlardan daha yüksek ölüm oranlarının elde edilmiş olması, fungal sporların, ortak yaşam alanlarını paylaşan erginler arasında etkili bir şekilde horizontal olarak yayılabildiğini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar ileride yapılması planlanan alan uygulamalarındaki entomopatojen fungusların başarısında önemli avantaj sağlayacağını göstermektedir. Ancak, bu çalışmada kullanılan entomopatojen funguslar arasında önemli derecede farklılık görülmüş olup, bu farklılığın öncelikle izolatların virülensliğinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Patojenite çalışmalarında da görüldüğü gibi tüm türler her iki böceğin erginlerinde %100 ölüme

neden olmuş, ancak TR-55-034 ve TR-55-019 izolatları diğerlerine göre bu orana daha kısa sürede ulaşmıştır. Ayrıca, Roy ve Pell, (2000) bazı fungusların sporların dağılım mekanizması sayesinde kolayca taşınabildiğini ve bazılarının ise taşınmasının oldukça sınırlı olduğunu belirtmiştir. Aynı zamanda, fungusların taşınarak etkisinin spor üretimi, sporların yayılması, sporların hayatta kalması ve çimlenme özelliklerine göre değişebildiğini belirtmiştir (Roy ve Pell, 2000). Bu çalışmaya paralel olarak, *M. anisopliae*'nin farklı böcek türlerinde (Kaakeh vd, 1996; Quesada-Moraga vd, 2004; 2006; 2008) ve *B. bassiana*'nın ise kabuk ve ambrosia böceklerinin erginleri arasında horizontal yayılarak etkili olduğu bazı çalışmalarda tespit edilmiştir (Prazak, 1991; 1997; Kreutz vd, 2004; Kocaçevik vd, 2015; 2016). Kabuk böceği *I. typographus* erginlerinin 1:1, 2:1, 5:1, 10:1 ve 20:1'nin *B. bassiana*'nın ticari preparatı (Boverol) ile muamele edilmesi sonucu 7 gün içinde ergin böceklerde sırasıyla %96, %90, %83, %77 ve %75 oranında oldukça yüksek derecede ölüm meydana gelmiştir. Benzer olarak, *D. micans*, *I. sexdentatus* ve *I. typographus*'un erginlerinin %25, %50, %75 ve %100'nün *B. pseudobassiana* (ARSEF 927) izolatının 1×10^6 spor mL^{-1} konsantrasyonu ile uygulanması sonucu 15 gün içinde tüm uygulamalarda %100 ölüm meydana geldiği tespit edilmiştir (Kocaçevik vd, 2015; 2016). Önceki çalışmalar ile kıyaslandığında bizim sonuçların biraz daha düşük olduğu görülmekte olup, bunun böceğin türü, boyutu, yaşayışı, davranışı, izolatların virülensliği gibi faktörlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Meyling ve Eilenberg (2007) entomopatojen fungusların spolarının taşınmasının fungus türüne, konukçu böceğin türüne ve konukçu böceğin boyutuna göre değişebileceğini belirtmiştir.

Ambrosia böceklerinin ergin ve larvaları galerilerinde simbiyotik fungusları yetiştirmekte ve gelişen fungus miselleri üzerinde beslenmektedir. Bu nedenle, simbiyotik funguslar böceklerin hayatlarını devam ettirebilmesi için oldukça önemlidir. Bazı entomopatojen fungusların ambrosia böcekleri ile simbiyotik ilişkili fungusların gelişmesini engelleyebildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Castrillo vd, 2013; 2016). Özellikle de *B. bassiana* ve *M. anisopliae*'nin *X. crassiusculus* ve *X. germanus*'un erginleri tarafından galerilerine taşınabildiği ve galerilerinde gelişen simbiyotik fungusların gelişmesini olumsuz etkileyebildiği belirlenmiştir (Castrillo vd, 2013; 2016). Bu çalışmaların aksine, bizim sonuçlarımızda *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin *X. germanus*'un galerilerinde gelişen simbiyotik fungus üzerinde herhangi bir olumsuz etki göstermediği tespit edilmiştir. Aynı zamanda, Petri çalışmalarında

yapılan ikili testlerde bu fungusların simbiyotik fungusun gelişmesini olumsuz etkilemediğini teyit etmiştir.

Bu çalışmada, *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin farklı konsantrasyonları (1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor mL⁻¹) ile muamele edilmiş dallarda *X. germanus* dişilerinin kontrol dallara kıyasla daha az galeri açtığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, bazı istisnalar dışında genel olarak fungus türleri ve konsantrasyonları arasında böceğin galeri açmasında önemli derecede fark olmadığı belirlenmiştir. Entomopatojen fungusların bu etkisi böceğin ölmeden önce hem bitkiye vereceği zararı azaltmakta hem de galeri açmasını engelleyerek yumurta bırakma ihtimalini ortadan kaldırmaktadır. Benzer olarak, hazır besin tüplerinde yapılan çalışmalarda, *B. bassiana* (Naturalis ve GHA) ve *M. brunneum* (F52)'un ticari preparatları uygulanmış *X. germanus* ve *X. crassiusculus* erginlerinin daha az galeri oluşturduğu belirlenmiştir (Castrillo vd, 2011; 2013). Yapılan alan çalışmasında, *M. brunneum* uygulanmış dallara *X. germanus*'un daha az saldırdığı belirlenmiştir (Castrillo vd, 2013). Bu araştırmacılar, entomopatojen fungus uygulamasının hem böceklerin daha az saldırmasına neden olabileceğini hem de uygulanmış yüzeye temas etmesiyle böceğin ölümüne neden olabileceğini belirtmiştir. Çoğu araştırmacı *Metarhizium* spp. ve *Beauveria* spp.'nin böceklerin beslenmesinde önemli derecede azalmaya neden olduğunu göstermiştir (Roy vd, 2006). Beslenmedeki bu azalmanın entomopatojen funguslar tarafından oluşturulan toksinlerden kaynaklanabileceği varsayılmıştır (Roy vd, 2006).

Entomopatojen fungusların en dikkat çekici ve en önemli özelliklerinden biri de böceklerin yumurtasına etkisidir. Bu çalışmada, *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin farklı konsantrasyonları (1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor mL⁻¹) ile muamele edilen *X. germanus* dişilerinin daha az yumurta bıraktığı görülmüştür. Ancak, yumurta sayısındaki azalmanın bu fungusların böceklerin ölümüne neden olmasından ve daha az bireyin yumurta bırakmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir. Ayrıca, 1×10^8 spor mL⁻¹ konsantrasyonda uygulanan *B. bassiana*'nın bu dişilerin üremesinde önemli derecede azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar diğer bazı çalışmalardaki sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Laboratuvar ve alan çalışmasında, *B. bassiana* ile muamele edilmiş ağaçlarda ambrosia böceği *T. lineatum*'un dişilerinin kontrol ile kıyaslandığında daha az yumurta bıraktığı tespit edilmiştir (Prazak, 1991; 1997). Benzer olarak, *B. bassiana* (Naturalis ve GHA) ve *M. brunneum* (F52)'un ticari

preparatları uygulanmış *X. germanus* ve *X. crassiusculus*'un dişilerinin kontrol ile kıyaslandığında, hazır besin tüplerinde daha az yumurta bıraktığı saptanmıştır (Castrillo vd, 2013). Diğer taraftan, entomopatojen fungus uygulanmış dallara maruz bırakılan dişilerin bıraktıkları yumurtaların bazılarının enfeksiyonlu olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı yumurtalar beyaz şeffaf olarak görülürken, enfeksiyonlu yumurtalar ise siyah mat bir renk almıştır. Ayrıca, bu yumurtalardan re-izolasyon yapılarak yumurtaların enfeksiyonlu olduğu teyit edilmiştir. Bu durum entomopatojen fungusların *X. germanus*'un nesilleri arasında vertikal olarak taşınabildiğini göstermektedir. Bizim sonuçlara benzer olarak, *B. bassiana* (Naturalis ve GHA) ve *M. brunneum* (F52)'un ticari preparatları uygulanmış *X. germanus* ve *X. crassiusculus*'un dişileri tarafından bırakılan yumurtaların çoğunun enfeksiyonlu olduğu belirlenmiştir (Castrillo vd, 2011; 2013). Bu sonuçlar, fındık dalına uygulanan entomopatojen fungusların *X. germanus*'un sadece erginlerinin ölümüne neden olmadığı, aynı zamanda diğer biyolojik dönemlerine de bulaşarak böcek popülasyonu etkileyebildiğini göstermektedir.

Bu çalışmada yerli *Trichoderma* spp.'ne ait farklı izolatların hem Petri hem de dal testlerinde *X. germanus* ile ilişkili simbiyotik fungusun gelişmesini önemli derecede baskıladığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak, *X. germanus*'un *Trichoderma* uygulanan dallardaki galerilerinde yumurta bırakmadığı, sadece *T. hamatum*'un 1×10^6 spor mL^{-1} konsantrasyonunda oldukça az yumurtanın bulunduğu belirlenmiştir. Bilindiği üzere, simbiyotik funguslar ambrosia böceklerinin larva ve erginleri için yegâne besin kaynağı olarak hizmet etmektedir (Batra, 1967). Bu nedenle, bu fungusların *Trichoderma* spp. tarafından baskılanması böcek popülasyonunu azaltmak için önemli bir alternatif yöntem sunmaktadır. Birçok araştırmacı ambrosia böceklerinin galerilerine aşladıkları simbiyotik fungusun gelişmeye başlamadan yumurta bırakmadıklarını belirtmiştir (French ve Roeper, 1972; Weber ve McPherson, 1983a; Weber ve McPherson, 1984; Ranger vd, 2016a). Bu araştırmacılara paralel olarak bu çalışmada *T. harzianum*, *T. asperillum* ve *T. atroviride* ile muamele edilen dallara maruz bırakılan böceklerin canlı olmasına rağmen, galerilerinde hiç yumurta bulunmadığı görülmüştür. Bu durumun böcek galerilerinde simbiyotik fungus yerine *Trichoderma* fungusunun gelişmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada, Petri ortamında *T. harzianum* (T-22)'un *X. crassiusculus* ve *X. germanus* ile ilişkili sırasıyla *Ambrosiella roeperi* ve *A. grosmaniae* simbiyotik fungusların gelişmesini baskıladığı tespit edilmiştir. Ayrıca *T. harzianum* ile muamele

edilmiş kayın dallarında bu iki ambrosia böceği tarafından oluşturulan galerilerin oldukça seyrek simbiyotik fungus içerdiği ve çok az yumurta bulunduğu belirlenmiştir (Castrillo vd, 2016). Bu çalışma ve bizim çalışmamızın sonuçlarından yola çıkarak *Trichoderma* spp.'nin sadece simbiyotik fungusun gelişmesini baskılayarak böceklerin besin kaynağını yok etmediğini, aynı zamanda böceklerin davranışını da etkileyerek yumurta bırakmasını tamamen engellediğini veya önemli derecede azalttığını söyleyebiliriz.

Trichoderma spp.'nin hem Petri ortamında hem de dal yönteminde *A. dispar* ile ilişkili simbiyotik fungusun da gelişmesini engellediği gözlenmiş, ancak kontrol uygulamadaki *A. dispar* dişilerinin yumurta bırakması sağlanamadığından dolayı, bu çalışmaya dahil edilmemiştir. Buna rağmen, yaptığımız gözlemlerimizden ve *X. germanus*'taki sonuçlardan yola çıkarak *Trichoderma* spp.'nin *A. dispar*'ın mücadelesinde de potansiyel etmenler olabileceğini rahatlıkla söyleyebiliriz. Çünkü her iki böceğin hem biyolojileri hem de galerilerinde yetiştirdikleri simbiyotik fungus birbirine oldukça benzemektedir. Her iki simbiyotik fungus da *Ambrosiella* cinsine girmektedir. Diğer taraftan, ambrosia böcekleri sıklıkla *Fusarium* gibi önemli bitki patojeni fungusların taşınmasında rol oynamaktadır (Ploetz vd, 2013). *Trichoderma* türlerinin olası bir avantajı da bu böcekler tarafından taşınabilecek sekonder fungusların gelişmesini engelleyebilecek olmasıdır (Castrillo vd, 2013). Bilindiği gibi *Trichoderma* türleri *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Sclerotinia* gibi bitki patojenlerine karşı iyi bir antagonistik yeteneğe sahiptir (Aydın, 2015).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Türkiye'deki fındık yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Samsun, Ordu, Giresun, Düzce ve Sakarya illerine ait bazı ilçelerden toplanan *A. dispar*, *X. germanus* ve *X. saxesenii* olmak üzere 3 ambrosia böceğinden toplam 8 farklı türe ait 47 adet entomopatojen fungus izolat elde edilmiştir. Bu türler; *B. bassiana*, *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *L. lecanii*, *P. lilacinum*, *C. rosea* ve *M. anisopliae*'dir. Özellikle de *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *L. lecanii*, *P. lilacinum* ve *C. rosea* türleri ambrosia böceklerinden izole edilen ilk kayıt niteliğini taşımaktadır. Bu funguslardan yapılan patojenite çalışmalarında, özellikle de *B. bassiana*, *B. pseudobassiana*, *I. fumosorosea*, *L. lecanii* ve *M. anisopliae*'nin izolatlarının (bazı izolatlar hariç) ambrosia böceklerine karşı oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *B. bassiana* (TR-55-034) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin *A. dispar* ve *X. germanus* erginleri arasında horizontal olarak etkili bir şekilde yayılabildiği saptanmıştır. Buna ek olarak, *B. bassiana* (TR-55-034), *I. fumosorosea* (TR-55-002), *L. lecanii* (TR-81-004) ve *M. anisopliae* (TR-55-019)'nin *X. germanus* dişilerinin yumurtalarını enfekte edebildiği belirlenmiştir. Diğer taraftan, *Trichoderma* türlerinin *X. germanus*'un galerisinde yetiştirdiği simbiyotik fungusun gelişmesini baskıladığı ve dolayısıyla böceğin yumurta bırakmasını engellediği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada ambrosia böceklerinden izole edilen yeni türler elde edilmiş literatüre önemli katkı sağlanmıştır. Aynı zamanda farklı bölgelerden izole edilen geniş ve yerli entomopatojen fungus izolatlarının ambrosia böcekleri üzerindeki patojeniteleri belirlenerek gelecekte yapılacak preparatlar için altyapı hazırlanmıştır. Aynı zamanda, yerli *Trichoderma* spp.'nin de ambrosia böceklerine karşı preparatı için altyapısı sağlanmıştır. Ancak, preparatların geliştirilmesi için detaylı bir arazi çalışmasının gerekli olduğu unutulmamalıdır.

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Ak, K. 2016. Fındık bahçelerinde zararlı yazıcı böceklere (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) karşı yapışkan ve yapışkan olmayan tuzakların karşılaştırılması. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 31:1, 165-170.
- Ak, K., Uysal, M. and Tuncer, C. 2005. Giresun, Ordu ve Samsun illerinde fındık bahçelerinde zarar yapan yazıcı böcek (Coleoptera: Scolytidae) türleri, kısa biyolojileri ve bulunuş oranları. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20:2, 37-44.
- Ak, K., Saruhan, I., Tuncer, C., Akyol, H. ve Kılıç, A. 2011. Ordu ili kivi bahçelerinde yazıcı böcek (Coleoptera: Scolytidae) türlerinin tespiti ve zarar oranları. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 1:4, 229-234.
- Alavo, T. B. C., Sermann, H. and Bochow, H. 2001. Biocontrol of aphids using *Verticillium lecanii* in greenhouse: Factor reducing the effectiveness of the entomopathogenic fungus. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 34, 407-424.
- Anonim, 2011. Fındık Tanıtma Grubu. <http://www.ftg.org.tr/tr/default.asp> (Erişim tarihi: 20.09.2016).
- Anonim, 2018. 2018 Fındık Raporu. Ziraat Mühendisleri Odası. http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=30070&tipi=17&sube=0 (Erişim Tarihi: 27.01.2019).
- Aydın, M. H. 2015. Bitki fungal hastalıklarıyla biyolojik savaşta *Trichoderma*'lar. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 2:2, 135-148.
- Batra, L. R. 1963. Ecology of Ambrosia fungi and their dissemination by beetles. *Transactions of the Kansas Academy of Science*, 66, 213-236.
- Batra, L. R. 1967. Ambrosia fungi: a taxonomic revision and nutritional studies of some species. *Mycologia*, 59, 976-1017.
- Batta, Y. A. 2007. Biocontrol of almond bark beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1406-1414.
- Baverstock, J., Roy, H. E. and Pell, J. K. 2010. Entomopathogenic fungi and insect behaviour: from unsuspecting hosts to targeted vectors. *BioControl*, 55, 89-102.
- Beaver, R. A. 1989. Insect-fungus relationships in the bark and *Ambrosia* beetles. In: Wilding, N., Collins, N. M., Hammond, P. M., Webber, J. F. (Eds), *Insect fungus Interactions*. 14th Symposium of the Royal Entomological Society of London, 121.
- Bell, D. K., Wells, H. D. and Markham, C. R. 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72:4, 379-382.

- Biedermann, P. H. W., Klepzig, K. D., Taborsky, M. and Six, D. L. 2012. Abundance and dynamics of filamentous fungi in the complex ambrosia gardens of the primitively eusocial beetle *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *FEMS Microbiology Ecology*, 1-13.
- Biedermann, P. H. W. 2007. Social behavior in sib mating fungus farmers. MS thesis, University of Berne, 85, Berne, Switzerland.
- Bischoof, J. F., Rehner, S. A. and Humber, R. A. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*, 101, 512-530.
- Brodeur, J. 2012. Host specificity in biological control: insights from opportunistic pathogens. *Evolutionary Applications*, 5, 470-480.
- Brownbridge, M., Reay, S. D. and Cummings, N. J. 2010. Association of entomopathogenic fungi with exotic bark beetles in New Zealand pine plantations. *Mycopathologia*, 169, 75–80.
- CABI, 2019. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/57157> (Erişim tarihi: 07.09.2019).
- Carrillo, D., Dunlap, C. A., Avery, P. B., Navarrete, J., Duncan, R. E., Jackson, M. A., Behle, R. W., Cave, R. D., Crane, J., Rooney, A. P. and Peña, J. E. 2015. Entomopathogenic fungi as biological control agents for the vector of the laurel wilt disease, the red bay ambrosia beetle *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control*, 81, 44-50.
- Castrillo, L. A., Griggs, M. H. and Vandenberg, J. D. 2016. Competition between biological control fungi and fungal symbionts of ambrosia beetles *Xylosandrus crassiusculus* and *X. germanus* (Coleoptera: Curculionidae): mycelial interactions and impact on beetle brood production. *Biological Control*, 103, 138-146.
- Castrillo, L. A., Griggs, M. H., Ranger, C. M., Reding, M. E. and Vandenberg, J. D. 2011. Virulence of commercial strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood. *Biological Control*, 58, 121-126.
- Castrillo, L. A., Griggs, M. H. and Vandenberg, J. D. 2013. Granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae), survival and brood production following exposure to entomopathogenic and mycoparasitic fungi. *Biological Control*, 67, 220-226.
- Clarkson, J. M. and Chamley, A. K. 1996. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends in Microbiology*, 4, 5.
- De Fine Licht, H. H. and Biedermann, P. H. W. 2012. Patterns of functional enzyme activity suggest that larvae are the key to successful fungus farming by ambrosia beetles. *Frontiers in Zoology*, 9, 13.
- De La Rosa, W., Alatorre, R., Trujillo, J. and Barrera, F. 1997. Virulence of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes) strains against the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). *Economic Entomology*; 90, 1534-1538.
- Domsch, K. H., Gams, W. and Anderson, T. H. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic Press, 860, London.

- Draganova, S., Takov, D. and Doychev, D. 2010. Naturally occurred entomopathogenic fungi on three bark beetle species (Coleoptera: Curculionidae) in Bulgaria. *Journal Pesticides and Phytomedicine*, 25:1, 59–63. doi: 10.2298/PIF1001059D
- Draganova, S., Takov, D. and Doychev, D. 2006. Bioassay with isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown & Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae). *Plant Science*, 44, 24-28.
- Driver, F., Milner, R. J. and Trueman, J. W. H. 2000. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. *Mycological Research*, 104, 134-150.
- Eilenberg, J., Hajek, A. and Lomer, C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, 46, 387-400.
- Erper, I., Saruhan, I., Akca, I., Aksoy, H. M. and Tuncer, C. 2016. Evaluation of some entomopathogenic fungi for controlling the green shield bug, *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26:3, 573–578.
- Esmer, E. 2011. *Dendroctonus micans* 'tan entomopatojen fungusların izolasyonu, karakterizasyonu ve mikrobiyal mücadele potansiyelinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 69s.
- Fraedrich, S. W., Harrington, T. C., Rabaglia, R. J., Ulyshen, M. D., Mayfield, A. E., III, Hanula, J. L., Eickwort, J. M. and Miller, D. R. 2008. A fungal symbiont of the redbay ambrosia beetle causes a lethal wilt in redbay and other Lauraceae in the Southeastern United States. *Plant Disease*, 92, 215-224.
- French, J. R. and Roeper, R. A. 1972. Interactions of the ambrosia beetle, *Xyleborus dispar* (Coleoptera: Scolytidae), with its symbiotic fungus *Ambrosiella hartigii*. *The Canadian Entomologist*, 104, 1635-1641.
- Galko, J., Dzurenko, M., Ranger, C. M., Kulfan, J., Kula, E., Nikolov, C., Zúbrik, M. and Zach, P. 2019. Distribution, habitat preference and management of the invasive ambrosia beetle *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in European forests with an emphasis on the West Carpathians. *Forests*, 10, 10.
- Goettel, M. S., Eilenberg, J. and Glare, T. 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In: Gilbert, L. I., Iatrou, K., Gill, S.S. (Eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 361-405.
- Goettel, M. S., Koike, M., Kim, J. J., Aiuchi, D., Shinya, R. and Brodeur, J. 2008. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98, 256–261.
- Hajek, A. E. and St. Leger, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insects hosts. *Annual Review of Entomology*, 39, 293-322.
- Harrington, T. C. 2005. Ecology and evolution of mycophagous bark beetles and their fungal partners. In: Vega, F. E., Blackwell, M. (Eds), *Ecological and*

- Evolutionary Advances in Insect-Fungal Associations. Oxford University Press, New York, 257 - 291.
- Hekimoğlu, B. ve Altındeğer, M. 2019. Fındık Sektörünün Mevcut Durumu. Strateji Geliştirme Birimi, Samsun, 56 pp.
- Hulcr, J. and Dunn, R. R. 2011. The sudden emergence of pathogenicity in insect-fungus symbioses threatens naive forest ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B.*, 278, 2866 - 2873.
- Işık, M. 1984. Karadeniz Bölgesi fındık bahçelerinde zarar yapan dalkıran, *Xyleborus (Anisandrus) dispar* Fabr. (Coleoptera, Scolytidae) böceğinin biyolojisi ve mücadele metotları üzerinde araştırmalar. Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü, Samsun Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Araştırma Eserleri Serisi: 30, 63 , Samsun.
- Işık, M., Ecevit, O., Kurt, M. A. ve Yüceci, T. 1987. Doğu Karadeniz Bölgesi fındık bahçelerinde entegre savaş olanakları üzerinde araştırmalar. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları: 20, 95, Samsun.
- Jakuš, R. and Blaženec, M. 2011. Treatment of bark beetle attacked trees with entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Folia Forestalia Polonica, Series A-Forestry*, 53:2, 150-155.
- Kaakeh, W. B., Reid, L. and Bennett, G. W. 1996. Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Imperfect fungi: Hyphomycetes) and hydramethylnon among german cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Entomological Science*, 31, 378–390.
- Knížek, M. 2011. Scolytinae. In: Löbl, I., Smetana, A. (Eds), Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Apollo Books, Stenstrup 7: 86–87, 204-251.
- Kocacevik, S., Sevim, A., Eroglu, M., Demirbag, Z. and Demir, I. 2015. Molecular characterization, virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* from *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Applied Entomology*, 139, 381–389.
- Kocacevik, S., Sevim, A., Eroğlu, M., Demirbağ, Z. and Demir, I. 2016. Virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* S. A. Rehner & Humber in *Ips sexdentatus* and *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40, 241–248.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F. and Nagy, E. 2003. *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, 41:1, 37-42.
- Kreutz, J., Vaupel, O. and Zimmermann, G. 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle, *Ips typographus* L. in the laboratory under various conditions. *Journal of Applied Entomology*, 128, 384-389.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 3:7, 1870-1874.
- Kushiye, R., Tuncer, C., Erper, I., Ozdemir, I. O. and Saruhan, I. 2018. Efficacy of native entomopathogenic fungus, *Isaria fumosorosea* against bark and ambrosia beetles, *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford

- (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28, 55.
- Kushiyevev, R., Tuncer, C., Erper, I. and Saruhan, I. 2017. Effectiveness of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Anisandrus dispar* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). IX. International Hazelnut Congress, 15–19 August 2017, Book of Abstracts, p. 178, Samsun, Turkey.
- Kushiyevev, R. 2015. Fındıkta önemli yazıcı böcek türlerindeki fungusların belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 63 s.
- Kühnholz, S., Borden, J. H. and Uzunovic, A. 2003. Secondary ambrosia beetles in apparently healthy trees: adaptations, potential causes and suggested research. *Integrated Pest Management Reviews*, 6, 209-219.
- Lim, S. Y., Lee, S., Kong, H. G. and Lee, J. 2014. Entomopathogenicity of *Simplicillium lanosoniveum* isolated in Korea. *Mycobiology*, 42:4, 317-321.
- Luangsa-ard, J., Houbraeken, J., Van Doorn, T., Hong, S. B., Borman, A. M., Hywel-Jones, N. L. and Samson, R. A. 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Letters*, 321:2, 141-149.
- Mayers, C. G., McNew, D. L., Harrington, T. C., Roeper, R. A., Fraedrich, S. W., Biedermann, P. H., Castrillo, L. A. and Reed, S. E. 2015. Three genera in the Ceratocystidaceae are the respective symbionts of three independent lineages of ambrosia beetles with large, complex mycangia. *Fungal Biology*, 119, 1075–1092.
- Meyling, N. V. and Eilenberg, J. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Biological Control*, 43, 145-155.
- Meyling, N. V. 2008. PCR-based characterisation of entomopathogenic fungi for ecological studies. Vegqure, Copenhagen, 14 S.
- Mudrončeková, S., Mazáň, M., Nemčovič, M. and Šalamon, I. 2013. Entomopathogenic fungus species *Beauveria bassiana* (Bals.) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) used as mycoinsecticide effective in biological control of *Ips typographus*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2, 2469–2472.
- Muro, M. A., Elliott, S., Moore, D., Parker, B. L., Skinner, M., Reid, W. and Boussini, M. E. 2005. Molecular characterization of *Beauveria bassiana* isolates obtained from overwintering sites of sunn pests (*Eurygaster* and *Aelia* species). *Mycological Research*, 109, 294-306.
- Nonaka, K., Kaifuchi, S., Omura, S. and Masuma, R. 2013. Five new *Simplicillium* species (Cordycipitaceae) from soils in Tokyo, Japan. *Mycoscience*, 54, 42-53.
- Oliver, J. B. and Mannion, C. M. 2001. Ambrosia beetle (Coleoptera: Scolytidae) species attacking chestnut and captured in ethanol-baited traps in middle Tennessee. *Environmental Entomology*, 30, 909-918.

- Ownley, B., Griffin, M., Klingeman, W., Gwinn, K., Moulton, J. and Pereira, R. 2008. *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98, 267-270.
- Pantou, M. P., Mavridou, A. and Typas, M. A. 2003. IGS sequence variation, Group I introns and the complete nuclear ribosomal dna of the entomopathogenic fungus *Metarhizium*: excellent tools for isolate detection and phylogenetic analysis. *Fungal Genetics and Biology*, 38, 159-174.
- Pava-Ripoll, M., Posada, F. J., Momen, B., Wang, C. S. and St. Leger, R. S. 2008. Increased pathogenicity against coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) by *Metarhizium anisopliae* expressing the scorpion toxin (AaIT) gene. *Journal of Invertebrate Pathology*, 99, 220-226.
- Ploetz, R. C., Hulcr, J., Wingfield, M. J. and De Beer, Z. W. 2013. Destructive tree diseases associated with ambrosia and bark beetles: black swan events in tree pathology?. *Plant Disease*, 97, 856–872.
- Polar, P., Kairo, M. T. K., Peterkin, D., Moore, D., Pegram, R. and John, S. A. 2005. Assessment of fungal isolates for development of a myco-acaricide for cattle tick control. *Vector- Borne and Zoonotic Diseases*, 3, 276-284.
- Prazak, R. A. 1991. Studies on indirect infection of *Trypodendron lineatum* Oliv. with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Zeitschrift fur Angewandte Entomologie*, 111, 431-441.
- Prazak, R. A. 1997. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hypomycetes) against *Trypodendron lineatum* Oliv. (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 104, 459-465.
- Quesada-Moraga, E., Martin-Carballo, I., Garrido-Jurado, I. and Santiago-Alvarez, C. 2008. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* among laboratory populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*, 47, 115-124.
- Quesada-Moraga, E., Ruiz-García, A. and Santiago-Álvarez, C. 2006. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against puparia and adults of *C. capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 99, 1955–1966.
- Quesada-Moraga, E., Santos-Quirós, R., Valverde-García, P. and Santiago-Álvarez, C. 2004. Virulence, horizontal transmission and sublethal reproductive effects of *Anisopliae* (Anamorphic fungi) on the german cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 87, 51–58.
- Ranger, C. M., Schultz, P. B., Reding, M. E., Frank, S. D. and Palmquist, D. E. 2016a. Flood stress as a technique to assess preventive insecticide and fungicide treatments for protecting trees against ambrosia beetles. *Insects*, 7, 40-50.
- Ranger, C. M., Reding, M. E., Schultz, P. B., Oliver, J. B., Frank, S. D., Adesso, K. M., Chong, J. H., Sampson, B., Werle, C., Gill, S. and Krause, C. 2016b. Biology, ecology and management of nonnative ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in ornamental plant nurseries. *Journal of Integrated Pest Management*, 7:1.

- Rehner, S. A. and Buckley, E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to cordyceps teleomorphs. *Mycologia*, 97, 84-98.
- Rehner, S. A., 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, 1055-1073.
- Rehner, S. A., Posada, F., Buckley, E. P., Infante, F., Castillo, A. and Vega, F. E. 2006. Phylogenetic origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. pathogens of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93, 11-2.
- Robertson, J. L., Russell, R. M., Preisler, H. K. and Savin, E. 2007. Bioassays with arthropods. Second edition. CRC Press, 199.
- Roeper, R. A. 1995. Patterns of mycetophagy in Michigan ambrosia beetles. *Michigan Academician*, 26, 153-161.
- Roy, H. E. and Pell, J. K. 2000. Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 737-752.
- Roy, H. E., Steinkraus, D. C., Eilenberg, J., Hajek, A. E. and Pell, J. K. 2006. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annual Review of Entomology*, 331, 51-57.
- Rudinsky, J. A. 1962. Ecology of Scolytidae. *Annual Review of Entomology*, 7, 327-348.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425.
- Samson, R. A. 1974. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. *Studies in Mycology*, 6, 1-119.
- Samuels, R. I., Pereira, R. C. and Gava, C. A. T. 2002. Infection of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) by Brazilian isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Biocontrol Science and Technology*, 12, 631-635.
- Samuels, G. J. 2006. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology*, 96:2, 195-206.
- Saruhan, I., Erper, I., Tuncer, C. and Akca, I. 2015. Efficiency of some entomopathogenic fungi as biocontrol agents against *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae). *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 52:2, 273-278.
- Schneider-Orelli, O. 1913. Untersuchungen über den pilzzüchtenden Obstbaumborkenkäfer *Xyleborus (Anisandrus) dispar* und seinen Nährpilz. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 38, 25-110.
- Schvester, D. 1954. Le Xylébore disparate, *Anisandrus dispar* F. (Coléoptère Scolytide) en France. *Annales des Epiphyties, Serie C*, 5, 225-257.
- Selmi, E. 1998. Türkiye Kabuk Böcekleri ve Savaşı. İ.Ü.Yayın No. 4042, İ.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü Yayın No. 11, İstanbul, 196 s.

- Sevim, A. 2010. Doğu Karadeniz Bölgesi'nden entomopatojen fungusların izolasyonu, karakterizasyonu ve virulanlarının belirlenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 31-32.
- Sevim, A., Sevim, E. ve Demirbağ, Z. 2015. Entomopatojen fungusların genel biyolojileri ve Türkiye'de zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılma potansiyelleri. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8:1, 115-147.
- Shah, P. A. and Pell, J. K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 413-423.
- Sönmez, E. 2012. *Gryllotalpa gryllotalpa*'dan entomopatojen fungusların izolasyonu ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 123s.
- Speranza, S., Bucini, D. and Papparatti, B. 2009. European shot-hole borer [*Xyleborus dispar* (F.)]: comparison between capture with chemio-chromotropic Rebell Rosso traps and modified Mastrap L traps. *Acta Horticulture*, 845, 535-537.
- Steinkraus, D. C. 2006. Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92, 125-131.
- Strasser, H., Vey, A. and Tariq, M. B. 2000. Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species?. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 717-735.
- Şahin, G. ve Özden, N. 2015. Düzce ilinde fındık üretim alanlarında görülen yazıcıböcek türleri (Coleoptera: Scolytidae) üzerine araştırmalar. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14: 3.
- Tamura, K. and Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10, 512-526.
- Tanada, Y. and Kaya, H. K. 1993. *Insect pathology*. New York, NY: Academic Press.
- Toledo, A. V., Virla, E., Humber, R. A., Paradell, S. L. and López, L. 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.
- Tuncer, C., Kushiyevev, R., Erper, I., Ozdemir, I. O. and Saruhan, I. 2019. Efficacy of native isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the invasive ambrosia beetle, *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29, 28.
- Tuncer, C., Akça, I., Saruhan, I. ve Ak, K. 2016. Fındıkta zararlı olan yazıcı böceklerle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) karşı mücadelede tuzak etkinliğinin artırılması ve semiokimyasal destekli tuzak bitki yönteminin geliştirilmesi. 2012-2016. TUBİTAK-1001-1170788 Proje Sonuç raporu.
- Tuncer, C. and Ecevit, O. 1997. Current status of hazelnut pests in Turkey. *Acta Horticulturae*, 445, 545-550.

- Tuncer, C., Knížek, M. and Hulcr, J. 2017. Scolytinae in hazelnut orchards of Turkey: clarification of species and identification key (Coleoptera, Curculionidae). *ZooKeys*, 710, 65-76.
- Tuncer, C., Özdemir, İ. O. ve Kushiyeve, R. 2018a. Fındık hastalık ve zararlıları; mevcut durum ve riskler. *Türktobb Dergisi*, 27, 14-17.
- Tuncer, C., Kushiyeve, R. ve Erper, I. (2018b). Determination of fungal flora on *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Acta Horticulture*, 1226.
- Tuncer, C., Özdemir, İ. O. ve Kushiyeve, R. (baskıda). Türkiye fındık bahçelerinde yeni zararlı türler: *Xylosandrus germanus* Blandford (Col.: Curculionidae: Scolytinae), *Metcalfa pruinosa* say (Hem.: Flatidae), *Croesus septentrionalis* Linnaeus (Hym.: Tenthredinidae) ve *Anoplophora chinensis* Forster (Col.: Cerambycidae). *Black Sea Journal of Agriculture*.
- Tuncer, C., Saruhan, I. and Akca, I. 2005. The insect pest problem affecting hazelnut kernel quality in Turkey. *Acta Horticulture*, 668, 367–376.
- Weber, B. C. and McPherson, J. E. 1983a. Life history of the ambrosia beetle *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Scolytidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 76, 455-462.
- Weber, B. C. and McPherson, J. E. 1983b . World list of host plants of *Xylosandrus germanus* (Blandford) (Coleoptera: Scolytidae). *Coleopterists' Bulletin*, 37, 114-134.
- Weber, B. C. and McPherson, J. E. 1984. The ambrosia fungus of *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Scolytidae). *The Canadian Entomologist*, 116, 281-283.
- Wegensteiner, R. 2007. Pathogens in bark beetles. In: Lieutier F., Day K.R., Battisti A., Grégoire J.-C., Evans, H.F. (Eds), *Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis*. Springer, Dordrecht, 291-314.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White, T. J. (Eds), *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, New York, USA, 315–322.
- Zare, R. and Gams, W. 2001. A revision of *Verticillium* sect. *Prostata* IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. nov. *Nova Hedwigia*, 73, 1-50.
- 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, 865–901.
- Zimmermann, G. 2007a. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, 553-596.
- Zimmermann, G. 2007b. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, 879-920.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Rahman KUSHİYEV

Doğum Tarihi : 29.07.1991

Doğum Yeri : Türkmenistan

Ana Dili : Türkmençe

Yabancı Dili : Türkçe, İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : 24 Nolu lise/Wekil-bazar/Türkmenistan (2007)

Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2009-2013)

Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2013-2015)

Doktora : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2015- 2019)

Aldığı ödüller : Bölüm 1.liği (Lisans)
Lisans Fakülte 2.liği (Lisans)

Aldığı burslar : Tübitak-2215 Yabancı Uyruklular Lisansüstü Burs Programı (2014-2019)

YAYINLAR

1. Kongre Bildirileri

Tuncer, C., **Kushiyev, R.**, Saruhan, I. and Erper I. (2016). Determination of the effectiveness of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Turkey 6th Plant Protection Congress with International Participation, September 5-8, 2016 Konya, TURKEY.

Kushiyev, R., Tuncer, C., Erper, I. and Saruhan, I. (2017). Effectiveness of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Anisandrus dispar* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). IX. International congress on Hazelnut, 15-19 August, Samsun/ TURKEY.

Kushiyev, R., Erper, I., Türkkan, M. and Tuncer, C (2017). Evaluation of fungicides against *Ambrosiella* spp. associated with *Anisandrus dispar* and *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). IX. International congress on Hazelnut, 15-19 August, Samsun/ TURKEY.

Tuncer, C., Akça, I., Aker, O., **Kushiyeu, R.** and Liu, J. (2017). Evaluation of some entomopatogenic fungi isolates and commercial bioinsecticides against hazelnut weevil, *Curculio nucum* (Coleoptera, Curculionidae). IX. International congress on Hazelnut, 15-19 August, Samsun/ TURKEY.

Tuncer, C., **Kushiyeu, R.** and Erper, I. (2017). Fungal flora on *Anisandrus dispar* and *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) in Hazelnut Orchards. IX. International congress on Hazelnut, 15-19 August, Samsun/ TURKEY.

Ozdemir, O., Tuncer, C., **Kushiyeu, R.** and Erper, I. (2017). Effectiveness of entomopatogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). 6th Entomopathogens and microbial control congress, 14-16 September, Tokat/TURKEY.

Kushiyeu, R., Erper, I., Saruhan, I., Ozdemir, I.O., Toksöz, Ş. and Tuncer, C. (2017). Repellent effects of some entomopatogenic fungi and commercial bioinsecticides against *Xylosandrus germanus* Blandford (Scolytinae). 6th Entomopathogens and microbial control congress, 14-16 September, Tokat/TURKEY.

Kushiyeu, R., Ozdemir, I.O. and Tuncer, C. (2018). Determination of efficacy of some insecticides against *Anisandrus dispar* Fabricius (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). International Agricultural Science Congress, 09-12 May, Van/TURKEY.

Kushiyeu, R., Tuncer, C., Ozdemir, I.O. and ERPER, I. (2018). Survey on entomopatogenic fungi on *Ambrosia Beetles* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Hazelnut Orchards. International Agricultural Science Congress, 09-12 May, Van/TURKEY.

2.Kongre Sunumları

Tuncer, C., **Kushiyeu, R.**, Erper, I., Ozdemir, I.O. and Saruhan, I. (2017). Effectiveness of entomopatogenic fungus *Isaria fumosorosea* against *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). 6th Entomopathogens and microbial control congress, 14-16 September, Tokat/TURKEY.

Toksöz, Ş., **Kushiyeu, R.**, Baltacı, A., Türk, E. and Saruhan, I. (2017). Pest Management in Organic Tomato Cultivation. 1st International Organic Agriculture and Biodiversity Symposium, 27-29 September, Bayburt/TURKEY.

Ozdemir, I.O., **Kushiyeu, R.**, Erper, I. and Tuncer, C. (2018). Effectiveness of entomopatogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Thaumetopoea pityocampa* Shiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). International Agricultural Science Congress, 09-12 May 2018, Van/TURKEY.

Tuncer, C., **Kushiyev, R.** and Erper, E. (2018). Determination of fungal flora on *Anisandrus dispar* and *Xylosandrus germanus* in Hazelnut Orchards. The 4rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity, 03-06 July, Kiev/UKRAINE.

Kushiyev, R., Erper, I., Ozdemir, I.O., Yıldırım, E. and Tuncer, C. (2019). Determination of sensitivity of four *Trichoderma* species to some fungicides used hazelnut orchards. International Conference on Advances in Plant Sciences, 25-26 April, Bosnai-Herzegovina.

Kushiyev, R., Ozdemir, I.O. and Tuncer, C. (2019). Determination of the efficacy of some insecticides and bio-insecticides against adults of *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). International Conference on Advances in Plant Sciences, 25-26 April, Bosnai-Herzegovina.

3. Makaleler

Saruhan, I., Akça, I. and **Kushiyev, R.** (2014). Toxicity of some biopesticides on fall webworm (*Hyphantria cunea* Durr, Lepidoptera: Arctidae), Egyptian Journal of Biological Pest Control, 24, 1, 7 / 2014.

Aker, O. and **Kushiyev, R.** (2016). Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* on larvae of fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctidae) at different temperatures. International Journal of Zoology Studies, 1 (6): 29-32.

Rahman, K., Onur, A. ve Celal T. (2017). Ambrosya Böcekleri (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae ve Platypodinae) ile Ambrosya Fungusları Arasındaki Simbiyotik İlişkiler. Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 21(2): 239-246.

Tuncer, C., **Kushiyev, R.**, Liu, J. ve Akça, İ. (2018). *Metarhizium anisopliae* ve *Beauveria bassiana* izolat ve preparatlarının *Curculio nucum*'a karşı etkinlikleri. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 33.

Kushiyev, R., Tuncer, C. ve Erper, İ. (2018). Kabuk ve ambrosya böceklerine karşı alternatif mücadele olarak entomopatojen fungusların kullanımı. Ormancılık Araştırma Dergisi, 5 (2), 1-1.

Erper, I., **Kushiyev, R.**, Türkkın, M. and Tuncer, C. (2018). Evaluation of some fungicides against symbiotic fungus *Ambrosiella hartigii* associated with *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Selcuk J Agr Food Sci, 32 (1), 60-66.

Tuncer, C., **Kushiyev, R.** and Erper, I. (2018). Fungal flora on *Anisandrus dispar* and *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) in Hazelnut Orchards. *Acta Horticulturea*, 1226.

Töksöz, Ş., **Kushiyev, R.**, Baltacı, A., Türk, E. ve Saruhan, İ. (2018). Organik domates yetiştiriciliğinde zararlılar ile mücadele. TÜRKTOBB Dergisi 26: 32-37.

Tuncer, C., Özdemir, İ.O. and **Kushiyeu, R.** (2018). Fındık hastalık ve zararlıları; mevcut durum ve riskleri. TÜRKTOBB dergisi, 27, 14-17.

Kushiyeu, R., Tuncer, C., Erper, I., Ozdemir, I.O. and Saruhan, I. (2018). Effectiveness of entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* against *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 28;55.

Erper, I., **Kushiyeu, R.**, Yıldırım, E., Turkan, M. and Tuncer, C. (2019). Determination of efficacy of some fungicides used in hazelnut orchards against *Ambrosiella hartigii* Batra symbiotically associated with *Anisandrus dispar* Fabricius (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) under laboratory conditions. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 34;128-134.

Tuncer, T., **Kushiyeu, R.**, Erper, I., Ozdemir, I.O. and Saruhan, I. (2019). Efficacy of native isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the invasive ambrosia beetle, *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 29:28.

Ozdemir, I.O., **Kushiyeu, R.**, Erper, I. and Tuncer, C. (2019). Efficacy of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). Archives of Phytopathology and Plant Protection.

Tuncer, C., Özdemir, İ.O. ve **Kushiyeu, R.** (basımda). Türkiye fındık bahçelerinde yeni zararlı türler: *Xylosandrus germanus* Blandford (Col.: Curculionidae: Scolytinae), *Metcalfa prunosa* say (Hem.: Flatidae), *Croesus septentrionalis* Linnaeus (Hym.: Tenthredinidae) ve *Anoplophora chinensis* Forster (Col.: Cerambycidae). Black Sea Journal of Agriculture.