



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DÜZCE İLİ EKOLOJİK KOŞULLARINDA BULUNAN
ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLARIN VE BİYOLOJİK
ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YEŞİM KESKİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SALİH KARABÖRKLÜ**

DÜZCE, 2019

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DÜZCE İLİ EKOLOJİK KOŞULLARINDA BULUNAN
ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLARIN VE BİYOLOJİK
ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yeşim KESKİN tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Salih KARABÖRKLÜ
Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Salih KARABÖRKLÜ
Düzce Üniversitesi

Prof. Dr. İsmet YILDIRIM
Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Semih YILMAZ
Erciyes Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 17/07/2019

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

17 Temmuz 2019

Yeşim KESKİN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Doç. Dr. Salih KARABÖRKLÜ'ye en içten dileklerle teşekkür ederim. Emek ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Nedim ALTIN hocama da ayrıca teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi BAP-2017.11.02.651 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir. Katkılarından dolayı Düzce Üniversitesi'ne ayrıca teşekkür ederim.

17 Temmuz 2019

Yeşim KESKİN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR.....	ix
SİMGELER.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
1.1.1. Yurt Dışındaki Çalışmalar.....	4
1.1.2. Türkiye'deki Çalışmalar.....	7
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
2.1. TOPRAK ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	11
2.2. BÖCEK KÜLTÜRÜ.....	11
2.3. TOPRAKTAN TUZAK YÖNTEMİ İLE FUNGUS İZOLASYONU.....	13
2.4. SAF KÜLTÜRLERİN ELDE EDİLMESİ.....	14
2.5. ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN TEŞHİSİ.....	15
2.6. İZOLATLARIN DİREKT PÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	15
2.6.1. Spor Süspansiyonunun Hazırlanması.....	15
2.6.2. Spor Süspansiyonunun Larvalara Uygulanması.....	16
2.7. İZOLATLARIN ÜRÜN ORTAMINDAKİ ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	16
2.7.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	17
2.7.2. Spor Süspansiyonlarının Ürüne Uygulanması.....	17
2.8. İZOLATLARIN TOPRAKTAKİ ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ	18
2.8.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	18
2.8.2. Spor Süspansiyonunun Toprağa Uygulanması.....	18
2.9. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE ANALİZİ.....	19
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	20
3.1. BULGULAR.....	20
3.1.1. EPF ve Yayılış Alanları.....	20
3.1.2. EPF Virülenslikleri.....	22
3.1.2.1. Doğrudan Püskürtme Sonrası İzolatların Virülensliği.....	22
3.1.2.2. Ürüne Püskürtme Sonrası İzolatların Virülensliği.....	24

3.1.2.3. Toprağa Püskürtme Sonrası İzolatların Virü lensliği.....	25
3.2. TARTIŞMA.....	26
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	31
5. KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	39



ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Entomopatojen fungusların etki mekanizması	3
Şekil 2.1. Un kurdu erginlerinin plastik küvet içerisinde kültüre alınması	13
Şekil 2.2. Tuzak böcek yöntemi sonrası toprak numunelerinin ters çevrilmesi	13
Şekil 2.3. Ölen larvaların steril petriler içindeki görüntüsü.....	14
Şekil 2.4. Saflaştırılmış entomopatojen fungus kültürleri ..	15
Şekil 2.5. Direk püskürtme yöntemi sonrası larvalar.....	16
Şekil 2.6. Spor süspansiyonlarının hazırlanması ve ürüne uygulanması.....	17
Şekil 2.7. Larvaların toprak içerisine atılarak ters çevrilmesi.	19
Şekil 3.1. Doğrudan püskürtme yöntemi sonrası entomopatojenik fungus izolatlarının <i>Tenebrio molitor</i> larvaları üzerindeki etkinliği.....	23
Şekil 3.2. Etkili entomopatojen fungus izolatlarının LT ₅₀ ve LT ₉₀ değerleri.	24
Şekil 3.3. Ürüne püskürtme sonrası fungus izolatlarının <i>Tenebrio molitor</i> larvaları üzerindeki virülenslikleri.....	25
Şekil 3.4. <i>Beauveria bassiana</i> ve <i>Metarhizium anisopliae</i> izolatlarının <i>T. molitor</i> larvalarına karşı topraktaki etkinliği.	26

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1. Toprak numunelerinin alındığı lokasyonlara ait bilgiler.	12
Çizelge 3.1. İzolatların lokasyonlara göre dağılımı.	20
Çizelge 3.2. İzolatların elde edildiği habitat özellikleri.	21



KISALTMALAR

a	Ağırlık
cm	Santimetre
EPF	Entomopatojen fungus
g	Gram
h	Hacim
kg	Kilogram
lt	Litre
LT ₅₀	%50'sinin ölmesi için geçen süre
LT ₉₀	%90'ının ölmesi için geçen süre
ml	Mililitre
PDA	Patates Dekstroz Agar

SİMGELER

°C
μg

Santigrad derece
Mikrogram



ÖZET

DÜZCE İLİ EKOLOJİK KOŞULLARINDA BULUNAN ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLARIN VE BİYOLOJİK ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yeşim KESKİN

Düzce Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Salih KARABÖRKLÜ

Temmuz 2019, 38 sayfa

Bu çalışma Düzce ilinde yayılış gösteren entomopatojenik fungusların belirlenmesi, yaygınlık ve dağılım durumlarının ortaya konması ve farklı ortam koşullarındaki etkinliklerinin tespiti amacıyla yapılmıştır. Farklı özelliklere sahip 54 lokasyonlardan alınan toprak örneklerinden *Beauveria bassiana* türüne ait 29, *Metarhizium anisopliae* türüne ait 16 izolat olmak üzere toplam 45 izolat elde edilmiştir. Entomopatojen fungusların genel yaygınlık oranı %33.33 iken tür bazındaki yaygınlık oranları ise *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türleri için sırasıyla %24.07 ve %11.11 olarak bulunmuştur. *M. anisopliae* 126-286 m arasında değişen rakımlardan, *B. bassiana* ise 19-1298 m arasında değişen rakımlardan izole edilmiştir. Ayrıca *B. bassiana* izolatları tarımsal ve ormanlık arazilerden, *M. anisopliae* izolatları ise çoğunlukla tarım arazileri ve meralık alanlardan elde edilmiştir. İzolatlar gerek doğrudan böceğe püskürtme, gerekse dolaylı olarak substrata uygulama sonrası *Tenebrio molitor* larvaları üzerinde yüksek öldürücü etki göstermiştir. Fungal izolatlar larvalara karşı püskürtme yoluyla (1×10^6 konidi/ml) uygulandığında *B. bassiana* YK11 ile YK16 ve *M. anisopliae* YK43, YK44 ve YK45 izolatlarının öldürme oranları 7 gün içerisinde %100 olmuştur. 10 gün içerisinde %100 öldürme etkinliği gösteren 12 izolat için öldürme süreleri (LT_{50} ve LT_{90}) hesaplanmıştır. LT_{50} ve LT_{90} değerleri *B. bassiana* izolatları için 43.08 ila 183.61 saat iken bu değerler *M. anisopliae* izolatları için 10.48 ila 189.24 saat olarak bulunmuştur. Buğdaya uygulama (1×10^7 konidi/ml dozda) sonrası izolatların etkinlikleri %3'lük süspansiyonda düşük iken (en yüksek %36.67) %10'luk süspansiyonda önemli oranda artmış ve *B. bassiana* YK23 ve YK26 izolatları için %93.33 ve %100'e ulaşmıştır. Aynı dozdaki toprak uygulamasında ise *B. bassiana* YK14, *M. anisopliae* YK38 ve YK45 izolatları *T. molitor* larvalarının tamamını 7 gün içerisinde öldürmüştür. Düzce ilinden elde edilen *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatlarının farklı koşullar altında *T. molitor* larvalarına karşı oldukça yüksek etki göstermiş olması bu fungusların tarımsal zarara neden böceklere karşı biyolojik mücadelede değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Entomopatojen fungus, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, Yaygınlık, Virülenslik.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES IN ECOLOGICAL CONDITIONS OF DUZCE

Yesim KESKIN

Duzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Plant Protection

Master's Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Salih KARABORKLU

July 2019, 38 pages

This study was carried out in order to determine entomopathogenic fungi occurring in Duzce province, to determine the prevalence and distribution, and to determine their activity in different environmental conditions. A total of 45 isolates were obtained from 54 soil samples of different location, including 29 isolates of *Beauveria bassiana* and 16 isolates of *Metarhizium anisopliae*. The overall prevalence of entomopathogenic fungi was 33.33% and the prevalence rates were 24.07% and 11.11% for *B. bassiana* and *M. anisopliae*, respectively. *M. anisopliae* was isolated from altitudes ranging from 126-286 m and *B. bassiana* from altitudes ranging from 19-1298 m. In addition, *B. bassiana* isolates were obtained from farmland and forestry land and *M. anisopliae* isolates were mostly obtained from farmland and pasture areas. The isolates showed high lethal effect on the larvae of *Tenebrio molitor* after the directly spraying on the insect and indirectly on the substrate. Fungal isolates were applied against the larvae (1×10^6 conidi/ml). The mortality rates of *B. bassiana* YK11 and YK16, and *M. anisopliae* YK43, YK44 and YK45 isolates were reached to 100% within 7 days. Lethal times (LT_{50} and LT_{90}) for 12 isolates showing 100% mortality was calculated. The LT_{50} and LT_{90} values were fluctuated from 43.08 to 183.61h for *B. bassiana*, while were fluctuated from 10.48 to 189.24h for *M. anisopliae* isolates. The efficacy of the isolates after the application to the wheat (1×10^7 conidi/ml dose) was lower in the 3% (w/v) aqueous suspension (<36.67%) but, mortalities significantly increased in the 10% aqueous suspension and mortality rates reached to 93.33% and 100% for the *B. bassiana* YK23 and YK26 isolates, respectively. In the same dose, *B. bassiana* YK14, *M. anisopliae* YK38 and YK45 isolates caused complete mortality against *T. molitor* larvae in 7 days after the soil application. *B. bassiana* and *M. anisopliae* isolates obtaining from Duzce province, exhibited a very high effect against *T. molitor* larvae under different conditions. Findings show that these fungi can be evaluated in biological control against insects causing agricultural damage.

Keywords: Entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, Prevalence, Virulence.

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artması nedeniyle ihtiyaç duyulan besin miktarı da artmaktadır. Bu nedenle tarımsal ürünlerden yüksek verim elde etmek için etkili üretim yöntemlerinin geliştirilmesinin yanı sıra ve meydana getirilen ürünün zararlılardan korunması da oldukça önem arz etmektedir (Azizoğlu vd., 2011; Schöller vd., 1997). Tarım ürünlerinde zarar yapan birçok böcek türü bilinmektedir (Ayvaz vd., 2010). Tarım ürünlerinde zarar yapan böceklerle karşı yaygın olarak kimyasal mücadele yöntemi kullanılmaktadır. Zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasalların yanlış veya yoğun kullanımı ve hatta bazı kimyasalların (fosfin ve metil bromid vb.) çevre ve insan sağlığına olumsuz etkileri nedeniyle insanlarda birtakım ekonomik, sosyal ve çevresel kaygılar oluşturmuştur (Arthur, 1996; Ayvaz vd., 2008; Zettler ve Arthur, 2000). Ekonomik, sosyal ve çevresel kaygılar nedeniyle kimyasal mücadeleye alternatif oluşturabilecek biyolojik temelli mücadele yöntemlerine olan ilgi artmıştır. Mikrobiyal böcek patojenleri (entomopatojenler) zararlılarla biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır (Lacey ve Goettel, 1995). Entomopatojenik fungus(lar) (EPF) mikrobiyal entomopatojenler içerisinde önemli bir yer teşkil etmektedir.

Dünyada ortalama olarak 1.5-5.1 milyon fungus türünün var olduğu bilinmektedir (Hibbett vd., 2011). Bu türlerden ise yaklaşık olarak 750-1000'i entomopatojen olarak sınıflandırılmaktadır (St. Leger vd., 2010). Entomopatojen funguslar böceklerin biyolojik mücadelesinde kullanılan ilk patojenler olmuştur (Vega vd., 2012). 1835 yılı başlarında Bassi ipek böceği larvalarında *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) türü fungusu keşfetmiş ve bu fungusu izole ederek diğer kelebek larvalarına transfer etmeyi başarmıştır. Aynı araştırmacı *B. bassiana*'nın zararlı böceklerle karşı kullanılabilceğini fikrini önermiştir (Steinhaus, 1975). İlk büyük ölçekli mikrobiyal insektisit üretimi ve arazi uygulaması ise Krassilstchik tarafından 1888 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *Metarhizium anisopliae* (Metschnikof) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) yüksek miktarda üretilmiş ve mayısböceğine karşı kullanılmıştır (Krassilstchik, 1888).

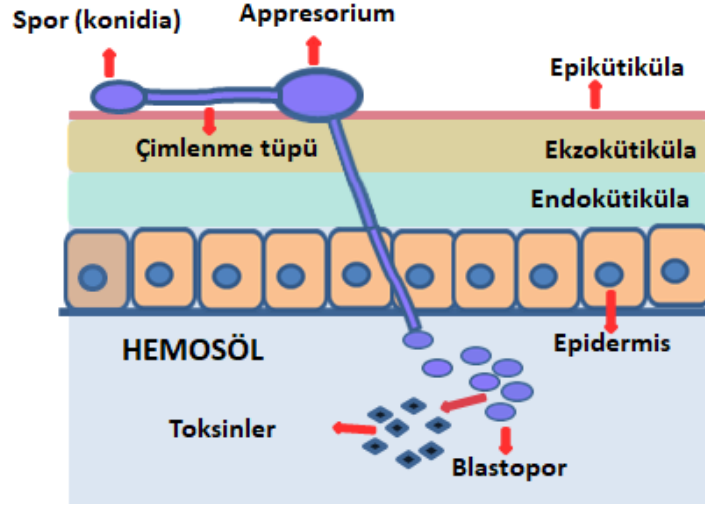
Entomopatojenik funguslar önemli biyolojik mücadele ajanları arasında yer almaktadır. EPF hem eşeyli hem de eşeysiz olarak üreyerek birçok enfektif spor üretmektedir (Vega vd., 2012). Birçok fungal entomopatojen ticari olarak üretilmekte ve zararlı böceklerin kontrolünde başarıyla kullanılmaktadır. 1960'lı yıllardan günümüze kadar biyolojik mücadele de 171 fungus temelli ürünün kullanıldığı bildirilmektedir. Bunların çoğunu ise *B. bassiana*, *B. brongniartii* (Sacc.) Petch, *M. anisopliae* ve *Isaria fumosorosea* (*Paecilomyces fumosoroseus*) (Wize) Brown & Smith (Ascomycota: Hypocreales) oluşturmaktadır (Vega vd., 2012).

EPF çok çeşitli sıcaklık ve nem koşullarında etkilidirler (Wraight ve Carruthers, 1999) EPF mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır (Sevim vd. 2015). Şimdiye kadar en azından 90 cinsle ait 700 entomopatojenik fungus türü tanımlanmıştır. *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosorosea* ve *Lecanicillium lecanii* (*Verticillium lecanii*) (Zimm.) Zare and W. Gams (Ascomycota: Hypocreales) gibi bazı türler ise birçok ülkede pek çok zararlıyla mücadelede ticari olarak üretilerek kullanılmaktadır (Keskin vd. 2019; Rath, 2000). Entomopatojen funguslar içerisinde. *B. bassiana* ve *M. anisopliae* ilk keşfedilen funguslar olup ormanlık ve tarım arazileri gibi karasal ekosistemlerde oldukça yoğun olarak bulunmaktadırlar. *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türü funguslardan üretilen ticari ürünler bahçecilik, ormancılık ve tarımdaki entegre zararlı yönetimi (IPM) programlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Inglis vd., 1997). Bununla birlikte depolanmış tahıl zararlısı böceklerin biyolojik mücadelesinde ise hiçbir ticari entomopatojen fungus ürünü bulunmamaktadır (Batta, 2016; Karabörklü vd., 2019).

Entomopatojen fungusların memeliler üzerinde zehirleyici (toksik) etki göstermemesi, böceklerde direnç oluşturmaması, uzun süre çevrede kalabilmesi, konukçularının değişik dönemlerini enfekte edebilmesi ve kitle üretimlerinin yapılabilmesi en büyük avantajları olarak gösterilmektedir. Buna karşın kimyasal insektisitlere oranla zararlıyı daha geç öldürmesi, yüksek nem ihtiyacı duyması, fungusitlerle birlikte kullanılamaması ve üretim ve muhafaza maliyetinin yüksek olması ise en büyük dezavantajları olarak gösterilmektedir (Keskin vd. 2019; Sevim vd. 2015).

EPF böcekleri genellikle deri, trake ve yaralanmış vücut bölgelerinden enfekte edebildiği gibi sindirim sistemi ve diğer açıklıklar yoluyla da enfekte edebilmektedir (Sandhu, 1993). Genellikle eşeysiz olarak üreyen sporlar enfeksiyona neden olmaktadır. Enfeksiyonun başlangıç aşaması ise pasif veya spesifik olmayan tutunmadır (Castrillo

vd., 2005). İnfektif sporlar böcek kütikulasına tutunduktan sonra böceğin endokütikulasına nüfuz etmek için lipazlar, protazlar, amino-peptidazlar, kitinazlar vb. kütikül bozucu enzimler salgırlar (Kim vd., 2018; Parker vd., 2014; Sandhu, 1993). Nüfuz ettikten sonra sporlar kütikül üzerinde çimlenir, germ tüpü ve appressorium oluşturur. Daha sonra böceğin homoseline ulaşır, burada yayılır ve toksin üreterek böceği öldürür. Uygun koşullar altında böceğin ölümünden sonra fungus konukçudan dışarı doğru sporlaşmaya başlar (Karabörklü vd., 2018; Shah ve Pell, 2003).



Şekil 1.1. Entomopatojen fungusların etki mekanizması (Karabörklü vd. 2018).

Ülkemizde entomopatojen funguslarla ilgili yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde entomopatojenik fungusların ülkemizdeki hem tarım hem de orman zararlıları ile mücadelede büyük bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Bu çalışmaları;

1. Yerel popülasyonların belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalar
2. Önemli zararlıların mücadelesinde kullanma potansiyellerini tespit etmeye yönelik çalışmalar olarak gruplandırabiliriz.

Bu çalışma, Düzce ili ekolojik koşullarında yayılış gösteren entomopatojenik funguslar belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Ayrıca elde edilen entomopatojenik fungusların farklı koşullardaki virülenslikleri de *Tenebrio molitor* (Col.: Tenebrionidae) larvaları kullanılarak araştırılmıştır.

1.1. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Entomopatojen fungusların izolasyonu, tanımlanması ve etkinliklerinin belirlenmesine yönelik olarak gerek yurt dışında gerekse yurt içinde birçok çalışma yürütülmüştür.

1.1.1. Yurt Dışındaki Çalışmalar

Polonya’da yapılan bir çalışmada topraktan entomopatojen fungus izolasyonu için çavdar üretim alanları ve civardaki topraklardan örnekler alınmıştır. *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) ve *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları kullanılarak tuzaklama yöntemi ile fungus izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 20 ve 28 °C’deki inkübasyon periyodu sonucunda işlenmemiş topraklardan sadece *B. bassiana* izole edilmişken, işlenmiş ve işlenmemiş topraklardan ise *M. anisopliae* ve *I. fumosorosea* izole edilmiştir (Mietkiewski ve Mietkiewska, 1993).

Keller vd. (2003), İsviçre’de 1998-2000 yılları arasında toplam 82 bölgeden aldıkları toprak örneklerinde *Galleria* tuzak yöntemini kullanarak yaptıkları EPF taramasında %96 oranında *M. anisopliae* tespit etmişlerdir. Ayrıca *B. brongniartii*, *I. fumosorosea* gibi diğer entomopatojen fungusları da tespit etmişlerdir.

Yapılan diğer bir çalışmada İspanya’nın Alicante şehrinden tarım arazileri, ormanlık ve makilik (*Nerium oleander* L.) alanlar da dahil olmak üzere 61 ayrı bölgeden toprak örnekleri alınmıştır. Böcek patojeni fungusları tespit etmek amacıyla *G. Mellonella* tuzaklama yöntemi kullanılmıştır. Tarım ve ormanlık arazilerden alınan toprakların %32.8’inde EPF tespit edilmiş olup sırasıyla toprakların %21’inde *B. bassiana*, %6.4’ünde *M. anisopliae* ve %4.8 *L. lecanii* tespit edilmiştir (Asensio vd., 2003).

İtalya’da yapılan çalışmada ise topraktaki entomopatojen fungusların dağılımı ve görülme sıklığı araştırılmış olup ormanlık, mera, yonca ve buğday tarlarından alınan toprak örnekleriyle incelenmiştir. Yapılan entomopatojen fungus tespiti çalışmalarında *G. melonella* tuzak yöntemi kullanılarak *B. bassiana*, *M. anisopliae* ve *I. fumosorosea* izole edilmiştir. *B. bassiana* incelenen tüm topraklarda bulunurken *I. fumosorosea* ormanlar hariç bütün topraklardan izole edilmiştir. *M. anisopliae* ise sadece buğday tarlalarında bulunmuştur. Entomopatojen fungus türlerinin *G. mellonella* larvalarını enfekte etme yüzdeleri ise ormanda %77.3, buğday tarlalarında %27.5, yonca tarlalarında %16.5, otlaklarda ise %9.3 olarak tespit etmişlerdir (Tkaczuk ve Renella, 2003).

Hozzank vd. (2003) Avusturya'nın ekili arazilerinden, ormanlık alanlarından ve nadasa bırakılmış bölgelerinden toprak örnekleri almıştır. Tuzak böcek yöntemi ile *G. mellonella* ve *T. Molitor* (L.) larvalarını entomopatojen fungus tespitinde kullanmışlardır. Bu çalışmaları sonunda toprak örneklerinin %84'ünde entomopatojen fungus belirlemişlerdir. Entomopatojen fungusların bulunma oranlarını *B. bassiana* %74, *M. anisopliae* %29, *I. fumosorosea* %3 olarak belirtmişlerdir.

Danimarka'nın Kopenhag bölgesinde Meyling vd. (2005) yaptıkları çalışmada topraktan entomopatojen fungus izolasyonun da *G. mellonella* tuzak yöntemini kullanmışlardır. Tarım arazilerinde en yaygın fungus türünün *B. bassiana*, çalılık arazilerden alınan toprak örneklerin de ise *I. fumosorosea* olduğunu tespit etmişlerdir. İki yılda bir *B. bassiana*'nın tarım alanlarında belirgin bir şekilde kümelenildiğini de tespit etmişlerdir.

İtalya' da Apulia bölgesinin merkezinde bulunan Ofanto nehri vadisinin nehir kenarında bulunan farklı alanlardan Eylül 2003- Haziran 2004 arasındaki dönemde 73 farklı bölgeden örnekleme yapılarak entomopatojen funguslar araştırılmıştır. Tuzak böcek olarak *G.mellonella* ve *T. molitor* larvaları kullanılarak gerçekleştirilen çalışma sonucunda 69 toprak örneğinden (%94.5) 7 taksona ait 238 fungus izolatu elde edilmiştir (Scatigna vd., 2007).

Batı mısır kökkurdu *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae)'ya karşı Macaristan, Romanya, Sırbistan, Avusturya ve İtalya'da bulunan mısır alanlarından zararlı toplayarak ve toprak örnekleri olarak entomopatojen fungus taraması yapılmıştır. Mısır alanlarındaki topraklarda entomopatojen fungusların varlığının tespiti için tuzak böcek olarak *G. mellonella* ve *T. molitor* larvaları kullanılmıştır. *M. anisopliae* ve *Beauveria* enfeksiyonları larvaların %1.4'ünde, pupaların %0.2'sinde ve erginlerin %0.05'inde saptanmıştır. En yoğun entomopatojen fungus Macaristan' dan alınan örneklerde tespit edilmiştir. *M. anisopliae* tüm mısır alanlarında belirlenmiştir (Pilz vd., 2008).

Hindistan'ın merkezinde Madhya Pradesh ve Chhattisgarh ormanlık alanlarında, tarımın yapıldığı alanlarda yedi entomopatojen fungus türü izole edilmiştir. En çok izole edilen entomopatojen funguslar *B. bassiana*, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, *I. farinosa* (Holmsk.) Fries ve *I. fumosorosea* olduğu belirlenmiştir. Bu entomopatojen funguslar *Hyblaea puera* Cram. (Lep., Hyblaeidae), *Eutectona machaeralis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae), *Diachrysia orichalcea* Fabricius (Lepidoptera: Nactuidae),

Spodoptera litura Fab. (Lepidoptera: Noctuidae) ve doğal böcek türlerinden izole edilmiştir (Thakur ve Sandhu, 2009).

Irak'ın Kuzey bölgelerinde Gara dağlarında bazı bitkilerin üzerinde yaşayan böceklerde entomopatojen fungus ve fırsatçı fungusların beraber enfeksiyon yaptıklarını tespit edilmiş ve *Aspergillus flavus* Holds., *Aspergillus niger* van Tieghem ve *B. bassiana* gibi funguslarının yüksek oranda izolasyonlarını yapılmıştır. Steril miselyumlar ve fırsatçı patojenler olan, *Alternaria alternata* (Fr.: Fr.), *Curvularia* sp., *Fusarium* spp., *Humicola* sp., *Penicillium* spp., *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill., *Ulocladium atrum* (Pers.), *Trichoderma* spp. izole edilmiştir. Ayrıca önemli bir buğday zararlısı olan süne'den (*Eurygaster integriceps*, Puton (Hem. Scutelleridae)) *B. brongniartii* entomopatojen fungusu izole edilmiştir (Assaf vd., 2011).

Entomopatojen fungus tür çeşitliliğini ve yoğunluğunu belirlemeye yönelik Polonya'nın Siedlce şehrinde yapılan bir çalışmada orman ürünlerinin üretiminin yapıldığı ormanlık alan ve ona komşu küçük ölçekli ekilebilir tarım arazisinden toprak örnekleri alınmıştır. Orman ürünlerinin üretiminin yapıldığı alanda *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *M. flavoviride*, *I. farinosa* ve *I. fumosorosea* olmak üzere 6 tür tespit edilmiştir. Ekilebilir tarım arazisinde ise 3 tür *B. bassiana*, *M. anisopliae* ve *I. fumosorosea* rapor edilmiştir. Sonuç olarak yarı doğal habitatlarda entomopatojen fungusların biyolojik çeşitlilik kaynağının daha fazla olduğu vurgulanmıştır (Tkaczuk vd., 2012).

Kore'deki ilk entomopatojen fungus taraması çalışmasında 1080 toprak örneği alınmıştır. Çalışılan toprak örneklerinin %32'sinde (342 izolat) entomopatojen fungus bulunmuştur. En bol bulunan türler ise *Beauveria* spp. (125 izolat) ve *Metarhizium* spp. (82 izolat) olmuştur. Entomopatojenik funguslar, doğal dağlarda ve nehir kıyısındaki topraklarda, tarımsal arazilere oranla daha fazla bulunmuştur. İzole edilen fungusların patojenitesi balmumu güvesi *G. mellonella* larvaları kullanılarak değerlendirilmiştir. İzolatların %60'ının (207 izolat) bu model kullanılarak patojenik olduğu tespit edilmiştir (Shin vd., 2013).

1.1.2. Türkiye'deki Çalışmalar

Tokat bölgesinde Çam vd. (2002) patates zararlısı olan patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae) üzerine entomopatojen fungus *B. bassiana*'yı uygulamışlar ve yüksek öldürme etkinliği tespit etmişlerdir. *B. bassiana*'nın patates böceği larvalarını, erginlerinden daha iyi öldürdüğünü tespit etmişler.

Erzurum ve çevresinde Eken vd. (2006) karakavakta (*Populus nigra* L.) büyük zarar yapan küçük kavak uzun boynuzlu böceği (*Saperda populnea* L.)'ne karşı 2004-2005 yıllarında yürütülen çalışmada *B. bassiana*'nın etkinliğini araştırmışlar ve %100'e ulaşan ölümler gözlemişlerdir.

Kahramanmaraş ilinde Şekeroba, Kürtül ve Karacasu yörelerinde *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) larvalarının bulunduğu doğal ortamlardaki topraklarda bulunan entomopatojen fungusların *T. pityocampa* larvalarına etkisini belirlemek için bir çalışma yürütülmüştür. Topraktan doğrudan ve tuzak böcek yöntemi (*G. mellonella* ve *T. pityocampa* larvaları) kullanılarak *Isaria* cinsine ait 16, *Beauveria* cinsine ait 19 tane olmak üzere toplam 35 entomopatojen fungus izolatu elde edilmiştir. *Isaria* cinsinden seçilen 3 ve *Beauveria* cinsinden seçilen 5 fungus izolatının 5. dönem *T. pityocampa* larvalarını öldürdüğü tespit edilmiştir (Şahin, 2006).

Turunçgil unlu biti, *Planacoccus citri* (Risso) ve bağ unlu biti, *Planacoccus ficus* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) türlerine karşı entomopatojen fungus türü *I. farinosa* ile yapılan çalışma sonucunda fungusun bu zararlıların %80'den fazlasını öldürdüğü belirlenmiştir (Demirci vd., 2008).

Doğu Akdeniz Bölgesinde 2004-2005 yıllarında Coccinellidlerin doğal hastalık etmeni olan entomopatojen fungusları belirlemek üzere bir çalışma yürütülmüştür. Coccinellidlerin patojenleri olarak *Beauveria* sp. ve *Isaria* sp. türleri saptanmıştır (Er vd., 2008).

Seralarda ve tarım arazilerinde zararlı olan beyazsineğe (*Bemisia tabaci* Gennadius, (Hemiptera: Aleyrodidae) karşı kimyasal pestisit (cypermethrin) kullanımına alternatif olabilecek mücadele yöntemlerini araştırmak için 15 *B. bassiana* izolatu denenmiştir. Bu izolatlardan 10 tanesi Türkiye'nin çeşitli bölgelerindeki topraklardan (Tokat, Erzurum ve Kayseri) izole edilmiş, 5 tanesi ise ARSEF-USA'dan temin edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda *B. bassiana*'nın beyazsineğin kontrolünde cypermethrin'e göre

etkisinin az olduğu fakat farklı entomopatojen fungus ve izolatlarının denenmesi ile alternatif bir mücadele etmeni olabileceğini tespit etmişlerdir (Kılıç vd., 2009).

Kahramanmaraş ilinde 2003-2005 yıllarında yapılan çalışmada ölü böcek ve toprak örneklerinden tuzak böcek (*G. mellonella* larvası) yöntemi ile entomopatojen taraması yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda, yaprak bitlerinde (*Rhopalosiphum padi* L. ve *Sitobion avenae* F. (Hemiptera: Aphididae) *Pandora* sp. Humber (Entomophthoraceae), *Hypera postica* (Gyll.) (Curculionidae: Coleoptera) larvalarında *Zoophthora* sp. Batko (Entomophthoraceae) ve *H. postica* erginlerinde *Beauveria* sp. Vuillemin (Hyphomycetes) cinsine ait funguslar belirlenmiştir. Toprak örneklerinden en çok *Beauveria* cinsine ait funguslar ile *Isaria* ve *Metarhizium* cinsine bağlı entomopatojen fungusların izolasyonu yapılmıştır. İklim verilerinin incelenmesi sonucunda araştırma bölgesinde, bahar ayları entomopatojen fungusların etkili olabileceği en uygun aylar olarak değerlendirilmiştir (Er vd., 2009).

Yapılan başka bir çalışmada *G. mellonella* larvaları hedef canlı olarak kullanılmış ve 180 toprak örneğinden 48 *B. bassiana* izolatu ve 1 *B. brongniartii* (Sacc.) izolatu elde edilmiştir. Biyolojik mücadele etmeni olan *B. bassiana*'nın ülkemiz topraklarından elde edilen farklı suşları ve Danimarka'dan getirtilen bir suşunun 4'er konsantrasyonu (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidi/ml) *G. mellonella* larvaları üzerine denenmiş ve her suşun en yüksek konsantrasyonunun larvalar üzerinde en etkili olduğu gözlenmiştir (Doğan, 2009).

Etkili ve güvenli biyolojik mücadele etmenlerini bulabilmek için Türkiye'nin fındık yetiştirilen bölgesinde entomopatojen fungusları izole etmek için bir survey çalışması yapılmış ve elde edilen funguslardan 7 irkin *Melolontha melolontha*'ya karşı etkinliği araştırılmıştır. *G. mellonella* tuzak böcek yöntemi ile toplanan 301 toprak örneğinden %20.59'unda entomopatojen fungus bulunmuştur. *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* 34 bölgeden izole edilmiş ve en fazla bulunan fungus türü olduğu tespit edilmiştir (Sevim vd., 2010).

Doğu Karadeniz Ormanlarında *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Scolytidae)'a karşı etkili bir fungal etmen tespit etmek amacıyla zararlının larva ve ergin evrelerinden çeşitli doğal fungus suşları izole edilmiş ve bunların morfolojik (enfeksiyon şekli, koloni morfolojisi, spor şekli) ve moleküler karakterizasyonları yapılmıştır. İzolasyon çalışmaları sonucunda, zararlıdan 4 cinse ait toplam 12 fungal

izolat elde edilmiştir. Elde edilen funguslar, *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare ve Gams, *I. farinosa*, *Fusarium* spp., *B. bassiana* ve *Beauveria* sp. olarak tanımlanmıştır. *L. muscarium*, *I. farinosa* ve *Fusarium* spp. *D. micans*'tan ilk kez izole edilmiştir. *B. bassiana* ve *Beauveria* sp. izolatlarının değişik oranlardaki spor süspansiyonlarının *D. micans* larva ve erginleri üzerindeki virülansı araştırılmıştır. Ölüm oranlarının larva ve erginlerde %100'e yaklaştığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre bu fungusların *D. micans*'a karşı biyolojik mücadelede etkin olarak kullanılabileceğini önerilmiştir (Esmer, 2011).

Samsun'da yapılan çalışmada ise fındık zararlılarından *Hypantia cunea* (Drury) (Lepidoptera: arctiidae)'nın biyolojik mücadele etmenleri araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda bu zararlı üzerinden *Aspergillus westerdijkiae* Frisvad ve Samson, *B. bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* (*I. fumosorosea*), *P. lilacinus* (*Purpureocillium lilacinus*) (Thom) Samson ve *Trichoderma koningiopsis* izole edilmiştir (Sullivan, 2011).

Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş illerindeki Antep fıstığı bahçelerinde bulunan entomopatojen fungusları *Galleria* tuzak böcek yöntemi kullanılarak tespit etmek amacıyla 2011 yılında 58 toprak örneği toplamıştır. Toprak örneklerinin %68.97'sinde entomopatojen fungus tespit edilmiş olup en sık rastlanılan il Adıyaman iken bunu Gaziantep ve Kahramanmaraş takip etmiştir. Adıyaman ve Kahramanmaraş'tan alınan örneklerden sadece *B. bassiana* izolatları elde edilirken Gaziantep'ten alınan örneklerde *B. brogniartii* ve *M. anisopliae* izolatlarına da rastlanılmıştır. Toplam olarak elde edilen 162 entomopatojen fungus izolatınının 142'si *B. bassiana*, 4'ü *B. brogniartii* ve 16'sı *M. anisopliae* olarak belirlenmiştir (Er, 2013).

Kahramanmaraş merkez köylerindeki buğday tarlalarından alınan toprak örneklerinden *G. mellonella* tuzak böcek yöntemi kullanarak entomopatojen funguslar elde edilmiş ve teşhisleri yapılmıştır. Topraktan yapılan izolasyonlar sonucunda *B. bassiana*, *Aspergillus flavus* (Linn), *Fusarium* spp. ve *Penicillium* spp. tespit edilmiştir. Kahramanmaraş merkez köylerinden izole edilen *Beauveria* spp. izolatlarıyla yapılan patojenite testleri sonucunda bazı izolatların *G. mellonella* larvalarında %100 ölüme sebep olduğu belirtilmiştir. Ayrıca *Aspergillus* spp. örnekleri ile yapılan patojenite testlerinde ise %60'a varan ölüm oranları görülmüştür (Koz ve Güven, 2014).

Isparta ilinin altı ilçesindeki altı farklı bölgeden toplanan toprak örneklerinden entomopatojen funguslar izole edilmiş ve patojeniteleri test edilmiştir. Böcek (*Galeria*) tuzak metodu kullanılarak yapılan çalışmada 196 toprak örneği ve 1080 adet *G. mellonella* larvası kullanılmıştır. Yapılan izolasyon sonucunda 1080 larvadan 777 (%72)'sinde fungus izole edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu en çok rastlanılan EPF *Beauveria* spp. (164 izolat) ve *Metarhizium* spp. (40 izolat) olmuştur. En çok rastlanılan fırsatçı funguslar ise sırasıyla, *Fusarium* spp. (%45.69 oranında), *Aspergillus* spp. (%14.29 oranında) ve *Penicillium* spp. (%2.83 oranında) olmuştur. Patojenite testi için *Beauveria*, *Metarhizium*, *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Paecilomyces* cinslerine ait izolatlardan seçilen 55 fungus 4. dönemdeki *G. mellonella* larvalarına uygulanmıştır. *Beauveria* spp. ve *Metarhizium* spp. izolatları oldukça etkili bulunmuştur. BMAUM-M3003 olarak kodlanan *Metarhizium* izolatı en virulent tür olmuş ve LT₅₀ değeri 0.56 gün olarak belirlenmiştir. Ayrıca, bazı *Beauveria* izolatlarının LT₅₀ değerleri ise 1.43-2.84 gün olarak tespit edilmiştir. *Aspergillus* spp. ve *Fusarium* spp. izolatları *G. mellonella* larvaları üzerinde oldukça düşük patojenite göstermiştir (%0-10) (Baydar vd., 2016).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Araştırma Laboratuvar'larında yürütülmüştür.

2.1. TOPRAK ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Düzce ilinin ekolojik koşulları göz önüne alınarak farklı ekolojik özelliklere sahip olan bölgelerden toprak örnekleri alınmıştır. Toplam 54 farklı lokasyondan toprak örneği alınmıştır (Çizelge 2.1). Toprak örneği alınırken üst toprak yüzeyi hafifçe sıyrılmış ve toprak üst yüzeyinden başlanarak 20-25 cm derinliğinde bir tabakadan örnek alımı yapılmıştır (Keskin vd. 2019). Toprak örnekleri özel plastik kaplar içine alınarak (yaklaşık 1 kg) alındığı yer, vejetasyon tipi, rakım ve GPS koordinatları kaydedilmiştir (Çizelge 2.1). Örnek alımı 2017 ilkbahar mevsiminde gerçekleştirilmiştir. Alınan toprak örnekleri laboratuvara getirilmiş ve tuzaklama işlemine kadar 25°C de, %60±5 nem ve 14: 10 saatlik (aydınlık/karanlık) fotoperiyot koşullarında tutulmuştur.

2.2. BÖCEK KÜLTÜRÜ

Entomopatojen fungusların farklı koşullardaki etkinliklerin belirlenmesinde kullanılmak üzere *Tenebrio molitor* larvaları kültüre alınmıştır. Un kurdu erginleri Biyolojik Mücadele Araştırma Laboratuvarı'ndan (Düzce Üniversitesi, Biyoloji Bölümü) temin edilmiştir. Erginler içerisinde buğday unu, buğday kepeği, mısır unu ve maya bulunan (sırasıyla, 40 g + 40 g +15 g +5 g) plastik küvetlerde (48 x 33 x 8 cm ebatlarında) kültüre alınmıştır (Karabörklü vd., 2019). Besi yerlerinin üzerine larvaların nem ihtiyacının karşılanması amacıyla nemlendirilmiş yumurta kartonları konulmuştur (Şekil 2.1). Böcek kültürleri laboratuvar ortamında 25°C de, %60±5 nem ve 14: 10 saatlik (aydınlık/karanlık) fotoperiyotta tutulmuştur. Üretilen *T. molitor* larvaları topraktan fungus izole etmek amacıyla kullanılmıştır. Yeni çıkan erginler ise kültürün devamını sağlayabilmesi için tekrar kültüre alınmıştır.

Çizelge 2.1. Toprak numunelerinin alındığı lokasyonlara ait bilgiler.

Sayı	Yer	Arazi	Rakım	Koordinatlar
1.	Konuralp/Düzce	Mera	173m	40°54'24.56"K, 31°08'19.80"D
2.	Sarımışe/Çilimli	Mera	157m	40°53'08.07"K, 31°04'15.39"D
3.	Söğütlü/Çilimli	Fındıklık	160m	40°53'05.60"K, 31°03'28.54"D
4.	Sultaniye/Gümüşova	Mısır tarlası	121m	40°50'32.85"K, 31°00'05.57"D
5.	Hacıyakup/Gölyaka	Mısır tarlası	128m	40°46'04.48"K, 31°00'42.40"D
6.	Hacıyakup/Gölyaka	Karalahana tarlası	128m	40°46'05.16"K, 31°00'44.06"D
7.	Hamamüstü/Gölyaka	Fındıklık	325m	40°45'12.56"K, 31°02'05.00"D
8.	Güzeldere/Gölyaka	Ormanlık	410m	40°43'15.51"K, 31°03'04.24"D
9.	Efteni Gölü/Gölyaka	Mera	126m	40°45'27.77"K, 31°02'16.59"D
10.	Hasanlar/Düzce	Ceviz altı	211m	40°54'53.05"K, 31°16'12.98"D
11.	Akçaören/ Yığılca	Kestane altı	420m	40°56'30.54"K, 31°17'29.59"D
12.	Akçaören/ Yığılca	Kestane altı	422m	40°56'30.53"K, 31°17'29.19"D
13.	Gelenöz/Yığılca	Mera	261m	40°56'00.03"K, 31°20'08.55"D
14.	İğneler/Yığılca	Mısır tarlası	286m	40°56'42.32"K, 31°21'37.08"D
15.	İğneler/Yığılca	Fındık bahçesi	286m	40°56'43.03"K, 31°21'36.05"D
16.	DAGEM/Yığılca	Lavandula bahçesi	299m	40°56'25.87"K, 31°22'09.07"D
17.	Güney/Yığılca	Çam altı	340m	40°57'08.73"K, 31°25'02.82"D
18.	Yığılca	Ormanlık	412m	40°58'39.47"K, 31°26'16.29"D
19.	Yığılca	Ormanlık	434m	40°58'53.21"K, 31°26'12.87"D
20.	Yığılca	Kestane altı	437m	40°58'54.86"K, 31°26'11.42"D
21.	Yığılca-Alaplı Yolu	Ormanlık	511m	40°58'57.18"K, 31°25'12.52"D
22.	Yığılca-Alaplı Yolu	Fındıklık	485m	40°59'37.90"K, 31°25'14.30"D
23.	Yığılca-Alaplı Yolu	Ormanlık	314m	41°01'43.34"K, 31°26'07.75"D
24.	Yığılca-Alaplı Yolu	Ormanlık	317m	41°01'38.84"K, 31°26'03.93"D
25.	Akkaya/Akçakoca	Fındıklık	22m	41°06'25.53"K, 31°15'59.01"D
26.	Akkaya/Akçakoca	Fındıklık	71m	41°05'52.48"K, 31°15'26.55"D
27.	Akçakoca	Fındıklık	9m	41°05'13.17"K, 31°08'36.83"D
28.	Doğancılar/Akçakoca	Fındıklık	48m	41°03'58.87"K, 31°10'11.06"D
29.	Fakılı/ Akçakoca	Fındıklık	51m	41°03'12.92"K, 31°10'59.89"D
30.	Kurtsuyu/Düzce	Fındıklık	509m	40°59'10.03"K, 31°12'28.69"D
31.	Kurtsuyu/Düzce	Kestanelik	468m	41°59'07.63"K, 31°11'21.84"D
32.	Çilimli	Kavaklık	156m	40°52'36.02"K, 31°03'00.25"D
33.	Avlayan/Cumayeri	Mera	116m	40°53'15.80"K, 30°57'39.61"D
34.	Kahveleryanı/Gümüşova	Kavaklık	123m	40°52'05.69"K, 31°00'09.09"D
35.	Dokuzdeğirmen/Cumayeri	Fındıklık	128m	40°54'09.01"K, 30°57'17.08"D
36.	Subaşı/Cumayeri	Fındıklık	165m	40°55'07.38"K, 30°57'41.51"D
37.	Akpınar/Cumayeri	Fındıklık	252m	40°55'52.25"K, 30°58'11.02"D
38.	Akpınar/Cumayeri	Ormanlık	248m	40°55'51.44"K, 30°58'11.11"D
39.	Davutağa/Cumayeri	Fındıklık	410m	40°56'43.37"K, 30°58'21.26"D
40.	Esmahanım/Akçakoca	Fındıklık	138m	40°59'24.36"K, 30°58'55.22"D
41.	Esmahanım/Akçakoca	Elmalık	114m	40°59'47.64"K, 30°59'16.15"D
42.	Yenice/Akçakoca	Cevizlik	55m	41°01'00.97"K, 31°00'16.21"D
43.	Uğurlu/Akçakoca	Fındıklık	19m	41°01'56.71"K, 30°59'57.47"D
44.	Melenağzı/Akçakoca	Tarla	4m	41°03'56.74"K, 30°57'48.20"D
45.	Paşalar/Akçakoca	Fındıklık	139m	41°02'40.34"K, 31°02'00.68"D
46.	Paşalar/Akçakoca	Fındıklık	139m	41°02'40.41"K, 31°02'01.45"D
47.	Tahirli/Akçakoca	Fındıklık	84m	41°03'55.74"K, 31°04'06.66"D
48.	Bakacak/Kaynaşlı	Fındıklık	793m	40°45'02.34"K, 31°22'19.05"D
49.	Bakacak/Kaynaşlı	Ormanlık	797m	40°45'04.37"K, 31°22'19.16"D
50.	Dipsizgöl/Kaynaşlı	Fındıklık	847m	40°43'19.39"K, 31°21'54.07"D
51.	Topuk yaylası/Kaynaşlı	Ormanlık	1264m	40°41'44.39"K, 31°22'07.62"D
52.	Topuk yaylası/Kaynaşlı	Ormanlık	1298m	40°41'34.52"K, 31°21'33.98"D
53.	Topuk yaylası/Kaynaşlı	Ormanlık	1298m	40°41'43.80"K, 31°21'52.63"D
54.	Günbaşı/Düzce	Fındıklık	179m	40°41'43.80"K, 31°13'46.00"D



Şekil 2.1. Un kurdu erginlerinin plastik küvet içerisinde kültüre alınması.

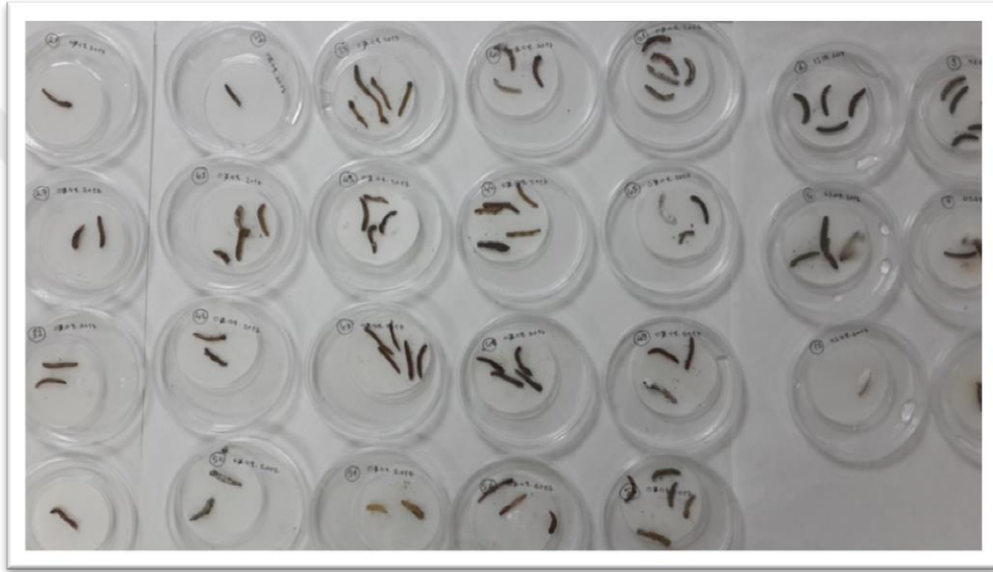
2.3. TOPRAKTAN TUZAK YÖNTEMİ İLE FUNGUS İZOLASYONU

Araziden toplanıp laboratuvara ulaştırılan her bir toprak örneği içerisinde 5'er adet un kurdu, *Tenebrio molitor* larvası (15. dönem) (Morales-Ramos vd., 2015) konulmuş ve plastik kapların kapağı kapatılmıştır. Larvalar toprağın altında kalacak şekilde kaplar ters çevrilmiştir. Tüm bu işlemler 25°C'de %60±%5 nemde ve 14: 10 saatlik (aydınlık/karanlık) fotoperiyoda sahip bir iklim odasında gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Tuzak böcek yöntemi sonrası toprak numunelerinin ters çevrilmesi.

Toprak içerisindeki larvalar 15 gün boyunca günlük olarak kontrol edilmiştir. Ölü larvalar kaplardan alınmış ve üzerinde filtre kağıdı bulunan küçük steril cam petri kapaklarının üzerine konulmuştur (Şekil 2.3). Üzerinde ölmüş larva bulunan petri kapakları ise daha sonra içerisinde su bulunan büyük petri kaplarına konulmuş ve petrilerin kapakları kapatılmıştır. Fungusların büyüme ve gelişimi için nem sağlamak üzere büyük petri içerisine düzenli aralıklarla steril damıtılmış su eklenmiştir. Kadavralardaki fungus gelişimi 7-10 gün boyunca takip edilmiştir. Kadavralar üzerindeki funguslar sporlanmaya başlayınca buradan alınan konidiosporlar Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamına ekilmiştir.

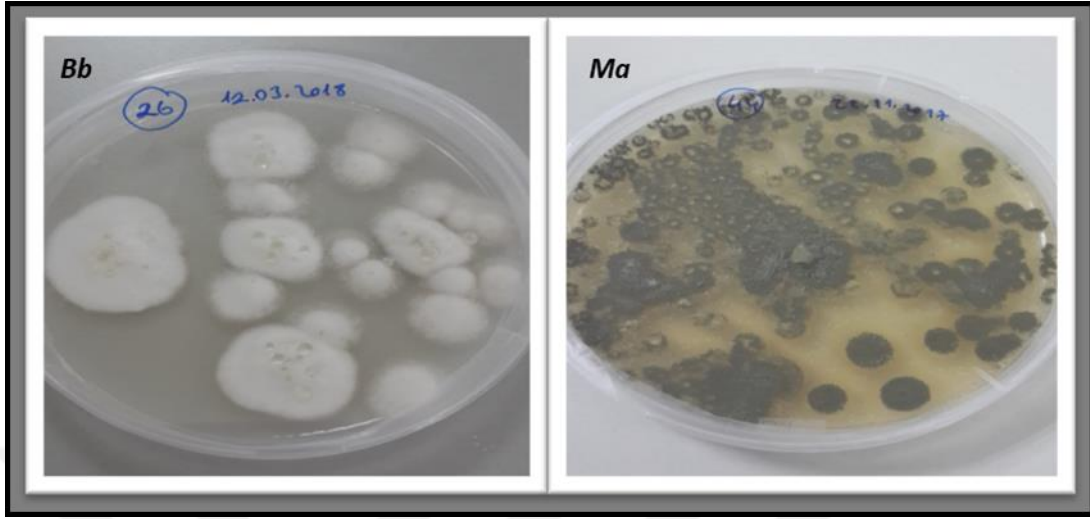


Şekil 2.3. Ölen larvaların steril petriler içindeki görüntüsü.

2.4. SAF KÜLTÜRLERİN ELDE EDİLMESİ

Ölen larvalardan alınan konidiosporların ekimi için PDA besi ortamı hazırlanmıştır. Besi ortamı hazırlanmasında 1 lt suya 40 g PDA ilave edilmiş ve PDA'nın iyice çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra çözelti 121°C sıcaklıkta 20 dakika süreyle otoklavda tutularak steril edilmiştir. Steril edilen besi ortamına istenmeyen mikroorganizmaların elimine edilmesi amacıyla antibiyotik (rifampisin 50 µg ml⁻¹ ve ampisilin 50 µg ml⁻¹) eklenmiş ve besi yerleri steril kabinde steril petri kaplarına dökülmüştür. Soğuma işlemi sonrası PDA besiyeri üzerine ölmüş larvaların vücut yüzeyinde gelişen fungusların konidiosporlarından öze yardımıyla alınmış ve ekim yapılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra izolatlar 25°C'de inkübasyona kaldırılmıştır. 7

günlük inkübasyondan sonra farklı görülen fungus kolonilerinden tekrar ekim yapılarak saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Saflaştırılmış entomopatojen fungus kültürleri. *Bb*: *Beauveria bassiana*,
Ma: *Metarhizium anisopliae*.

2.5. ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN TEŞHİSİ

Saflaştırma işlemi sonrası fungusların koloni gelişimleri stereomikroskop yardımıyla (10X büyütmede) günlük olarak takip edilmiştir. Ayrıca izolatların konidi oluşumları ve morfolojik gelişimleri günlük hazırlanan preparatlar vasıtasıyla ışık mikroskopuyla da (400X büyütmede) incelenmiştir.

Fungus ile enfekte olmuş böceklerin dış görünüşleri, koloni morfolojisi, konidiyafor ve konidi hücrelerin şekil ve büyüklükleri gibi önemli yapılar tür teşhisinde kullanılmıştır. Fungus türleri Humber'e (2012) göre sınıflandırılmış ve tanımlanmıştır.

2.6. İZOLATLARIN DİREKT PÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

2.6.1. Spor Süspansiyonunun Hazırlanması

Spor süspansiyonun larvalara yeterli miktarda uygulanabilmesi için entomopatojen fungus izolatları PDA besiyerlerine ekilmiş ve $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de karanlıkta inkübe edilmiştir. Ekimden 10-15 gün sonra gelişen konidiosporlar kazıma yöntemi ile toplanarak %0.03 Tween 80 içeren 20 ml distile steril su içerisine eklenerek spor süspansiyonu

hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonun konidiospor yoğunluğunun hesaplanabilmesi için Thoma Lamı (0.100 mm x 0.0025 mm²) ve ışık mikroskobu kullanılmış her bir fungus izolatu için 1x10⁶ konidi/ml yoğunlukta spor süspansiyonu hazırlanmıştır.

2.6.2. Spor Süspansiyonunun Larvalara Uygulanması

Entomopatojen fungusların etkisini test etmek amacıyla her bir izolattan 10⁶ konidi/ml yoğunlukta 20 ml spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Her bir fungus izolatu püskürtme yöntemi kullanılarak 10 adet 14. dönem *T. molitor* larvasına uygulanmıştır. Kontrol grubu için konidiospor içermeyen %0.03 Tween 80 ile hazırlanmış steril distile su kullanılmıştır. Denemeler her bir izolat ve kontrol grubu için 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Uygulamadan sonra larvalar filtre kağıdı ile kaplanmış steril plastik petri kaplarına aktarılmıştır (Şekil 2.5). *T. molitor* larvalarının bulunduğu petri kapları 10 gün boyunca günlük olarak kontrol edilmiştir. Yapılan gözlemler sonucu ölen larvalar içerisinde su bulunan petri sistemine alınarak 25°C’de tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Direk püskürtme uygulamasından 10 gün sonra yapılan kontrollerde 12 fungus izolatının *T. molitor* larvalarının tamamını (%100) öldürdüğü görülmüştür. İzolatların farklı koşullardaki etkinliklerinin araştırılmasında bu 12 izolat üzerine yoğunlaşmıştır.



Şekil 2.5. Direk püskürtme yöntemi sonrası larvalar.

2.7. İZOLATLARIN ÜRÜN ORTAMINDAKİ ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

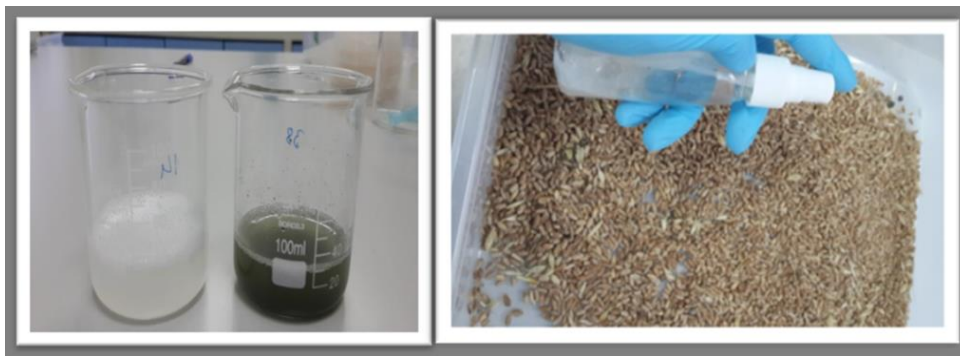
Bu çalışma direkt püskürtme yöntemi sonucunda yüksek etki gösteren izolatların buğday ortamındaki etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

2.7.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

Saf kültürlerden alınan konidiosporlar yeni hazırlanan PDA besi ortamına ekilmiştir. İzolatların gelişimleri inkübatörde oda sıcaklığında 10-15 gün süreyle takip edilmiştir. İzolatlara ait konidiosporlar besi ortamından kazınarak alınmış ve her bir izolat için spor süspansiyonu hazırlanmıştır. İzolatlardan alınan konidiosporlar %0.03 oranında Tween 80 içeren ve içerisinde 3 ml ve 10 ml distile su bulunan iki farklı beherde karıştırılarak konidiosporların homojen dağılımı sağlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlardan alınan örnekler mikroskop altında Thoma lamı yardımıyla sayılmış ve her bir izolat için konidiospor yoğunluğu 1×10^7 konidi/ml olarak ayarlanmıştır.

2.7.2. Spor Süspansiyonunun Ürüne Uygulanması

12 izolatin buğday ortamındaki etkinliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada 100'er gr buğday örneği alınarak 370 ml'lik cam kavanozlara konulmuştur. Kavanozlar daha sonra 90°C sıcaklıkta 30 dk süreyle otoklavda steril edilmiştir. Her bir izolat için spor süspansiyonu, 3 ml (~%3 ağırlık/hacim) ve 10 ml (~%10 ağırlık/hacim) distile suda 1×10^7 konidi/ml yoğunlukta ayarlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar buğday örnekleri üzerine püskürtülerek uygulanmıştır (Şekil 2.6). Uygulama işlemi sırasında buğday örnekleri iyice karıştırılmıştır. Daha sonra 15. dönem *T. molitor* larvalarından 10'ar adet alınarak kavanozlara atılmıştır. Denemeler 10 gün süreyle takip edilmiş ve ölen larvalar kaydedilmiştir. Her bir izolatin öldürme etkinliği (virülenslik derecesi) belirlenmiştir. Kontrol grubu için aynı işlemler uygulanmış ve buğday örnekleri üzerine yalnızca Tween + distile su karışımı uygulanmıştır. Bütün gruplar için denemeler üç tekrar halinde yürütülmüştür. Denemeler 25°C de ± 5 nemde ve 14: 10 saatlik fotoperiyotta iklim odasında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.6. Spor süspansiyonlarının hazırlanması ve ürüne uygulanması.

2.8. İZOLATLARIN TOPRAKTAKİ ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

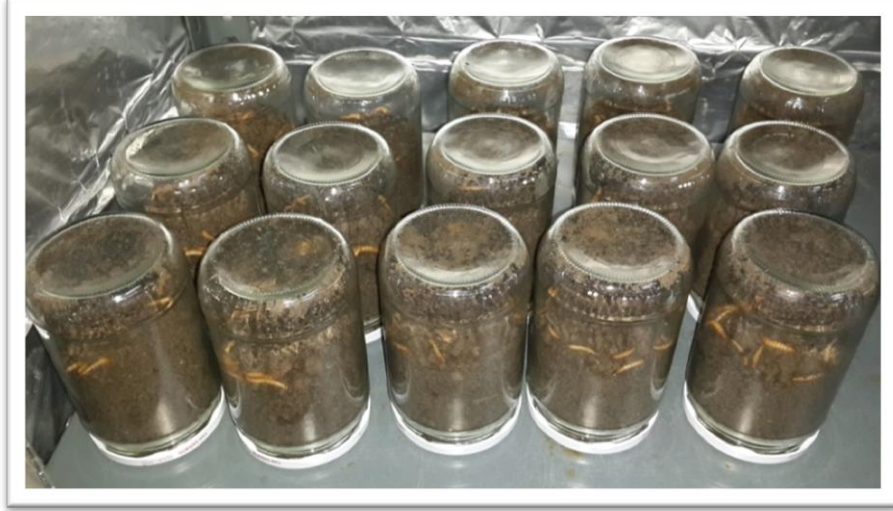
Bu çalışma direkt püskürtme yöntemi sonucunda yüksek etki gösteren izolatların toprak ortamındaki etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

2.8.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

PDA besi ortamında üretilen fungus konidiosporları yukarıdaki prosedürde olduğu gibi kazıma yöntemiyle alınmış ve her bir izolat için spor süspansiyonu hazırlanmıştır. İzolatlardan alınan konidiosporlar %0.03 oranında Tween 80 içeren 10 ml distile steril su içerisine karıştırılarak konidiosporların homojen dağılımı sağlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlardaki konidiospor yoğunluğu her bir izolat için 1×10^7 konidi/ml olarak ayarlanmıştır.

2.8.2. Spor Süspansiyonunun Toprağa Uygulanması

Araziden alınan toprak örnekleri solucan gübresiyle (2/1 oranında) karıştırılmıştır. Karıştırılan toprak örnekleri 650 ml'lik cam kavanozlara 2/3 oranında (~400 g) konulmuştur. Kavanozlar daha sonra 121°C sıcaklıkta 20 dakika süreyle otoklavda steril edilmiştir. Her bir izolat için 10 ml distile suda 1×10^7 konidi/ml yoğunlukta ayarlanan süspansiyonlar topraklara püskürtülerek uygulanmıştır. Uygulama işlemi sırasında topraklar iyice karıştırılmıştır. 14. dönem *T. molitor* larvalarından 10'ar adet alınarak kavanozlara atılmış ve kavanozlar bulaşma sağlanması amacıyla ters çevrilmiştir (Şekil 2.7). Denemeler 7 gün süreyle takip edilmiş ve ölen larvalar kaydedilmiştir. 7 günün sonunda her bir izolatın öldürme etkinliği (virülenslik derecesi) belirlenmiştir. Kontrol grubu için aynı işlemler uygulanmış ve topraklara yalnızca Tween + distile su karışımı uygulanmıştır. Bütün gruplar için denemeler üç tekrar halinde yürütülmüştür. Denemeler 25°C de %60±5 nemde ve 14: 10 (Aydınlık/Karanlık) saatlik fotoperiyotta iklim odasında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.7. Larvaların toprak içerisine atılarak ters çevrilmesi.

2.9. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE ANALİZİ

Larvalarda görülen ölüm oranları (%) her bir izolat için hesaplanmıştır. İzolatların virülensliklerinin karşılaştırılmasında SPSS (SPSS 17.0 commercial software, SPSS, Inc., Chicago, IL) programı kullanılarak varyans analizi (tek-faktör ANOVA) yapılmıştır. Normal dağılım için % verilerin karekök dönüşümleri yapılmıştır. Ortalamalar %95'lik güven aralığında Tukey-Kramer HSD post testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Aynı istatistik programı, fungus izolatlarının LT_{50} ve LT_{90} değerlerinin hesaplanması için probit analizinde de kullanılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. BULGULAR

3.1.1. EPF ve Yayılış Alanları

Düzce ilinin farklı ekolojik koşullarından alınan 54 toprak örneğinde tuzak böcek yöntemi kullanılarak entomopatojen fungus taraması yapılmıştır. Toplam 18 toprak numunesinde entomopatojen fungus tespiti yapılmıştır. Entomopatojen fungus bulunma oranı (yaygınlığı) incelendiğinde Düzce il geneli için bu oran %33.33 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Entomopatojen fungusların ilçeler ölçeğindeki yaygınlığı araştırıldığında en yüksek yaygınlık %60 ile Gölyaka ilçesinde tespit edilmiştir. Bu ilçeyi sırasıyla %50 ve %40 yaygınlık oranı ile Kaynaşlı ve Merkez ilçe takip etmiştir. Gümüşova ilçesinden alınan örneklerde ise EPF tespit edilememiştir. EPF tespit edilen toprak örneklerinden ise toplamda 45 EPF izolatu elde edilmiştir. En fazla EPF izolatu 16 adet ile Yığılca ilçesinden izole edilmiştir. Bu ilçeyi 10 adet ile Gölyaka ilçesi takip etmiştir.

Çizelge 3.1. İzolatların lokasyonlara göre dağılımı.

Lokasyon	Örnek Sayısı	EPF Bulunan Örnek Sayısı	Bulunma Oranı (%)	İzolat Sayısı
Akçakoca	13	3	23.08	6
Cumayeri	6	1	16.67	2
Çilimli	3	1	33.33	2
Gölyaka	5	3	60.00	10
Gümüşova	2	0	0.00	0
Merkez	5	2	40.00	5
Kaynaşlı	6	3	50.00	4
Yığılca	14	5	35.71	16
İl geneli	54	18	33.33	45

Elde edilen 45 izolatuın 29'unu *Beauveria bassiana*, 16 tanesi ise *Metarhizium anisopliae* oluşturmuştur (Çizelge 3.2). Tür bazında yaygınlık oranları incelendiğinde *B. bassiana* türünün yaygınlık oranı %24.07 (13/54) iken bu oran *M. anisopliae* türü için

%11.11 (6/54) olarak bulunmuştur. EPF elde edilen 18 toprak örneğinden yalnızca birinde (%1.85) her ki türe de rastlanmıştır (Çizelge 3.2). *B. bassiana* türü Akçakoca, Cumayeri, Çilimli, Kaynaşlı ve Yığılca ilçelerinden elde edilmiştir. *M. anisopliae* türü ise Gölyaka, Merkez ilçe ve Yığılca ilçelerinden elde edilmiştir.

B. bassiana izolatları hem tarımsal arazilerden hem de ormanlık arazilerden elde edilmiştir. *M. anisopliae* izolatları ise çoğunlukla tarım arazilerinden elde edilmiş olmakla beraber mera ve ormanlık arazilerden de elde edilmiştir.

Deniz seviyesine yakın alanlardan (19 m) yüksek dağlık bölgelere (1298 m) kadar birçok yükseltide EPF elde edilmiştir. *M. anisopliae* izolatları 126-286 m arasında değişen rakımlara sahip bölgelerden, *B. bassiana* izolatları ise 19-1298 m arasında değişen rakımlara sahip bölgelerden izole edilmiştir (Çizelge 3.2.).

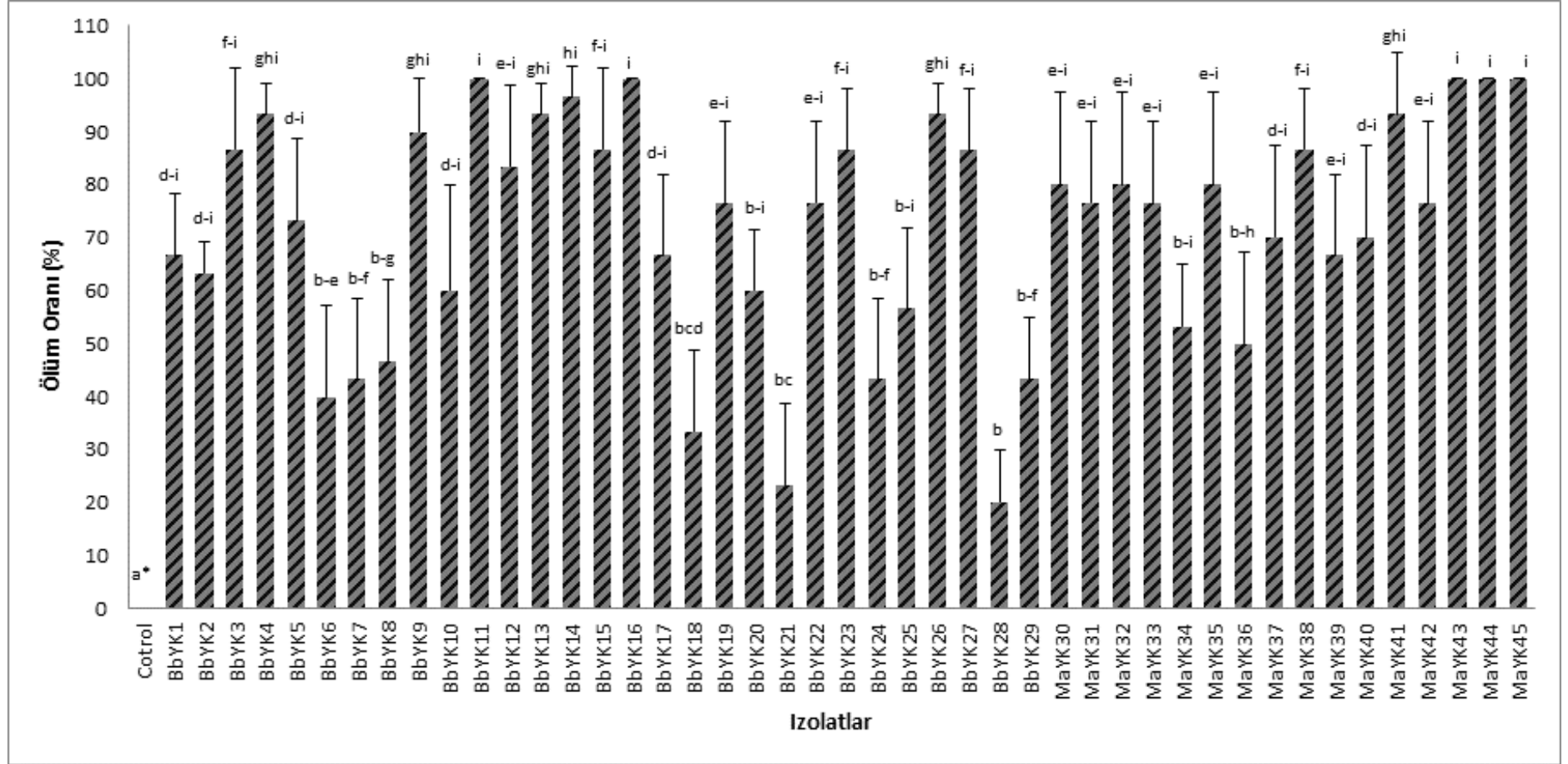
Çizelge 3.2. İzolatların elde edildiği habitat özellikleri.

Sayı	İlçe	Habitat	Rakım (m)	İzolat
1	Yığılca	Orman arazisi	420	<i>Beauveria bassiana</i> YK1-4
2	Yığılca	Orman arazisi	422	<i>Beauveria bassiana</i> YK5
3	Yığılca	Tarım arazisi	286	<i>Beauveria bassiana</i> YK6, 7 <i>Metarhizium anisopliae</i> YK45
4	Yığılca	Orman arazisi	340	<i>Beauveria bassiana</i> YK8-14
5	Yığılca	Tarım arazisi	485	<i>Beauveria bassiana</i> YK15
6	Çilimli	Tarım arazisi	156	<i>Beauveria bassiana</i> YK16, 17
7	Cumayeri	Tarım arazisi	114	<i>Beauveria bassiana</i> YK18, 19
8	Akçakoca	Tarım arazisi	138	<i>Beauveria bassiana</i> YK20, 21
9	Akçakoca	Tarım arazisi	19	<i>Beauveria bassiana</i> YK22, 23
10	Akçakoca	Tarım arazisi	139	<i>Beauveria bassiana</i> YK24, 25
11	Kaynaşlı	Orman arazisi	797	<i>Beauveria bassiana</i> YK26
12	Kaynaşlı	Orman arazisi	1264	<i>Beauveria bassiana</i> YK27, 28
13	Kaynaşlı	Orman arazisi	1298	<i>Beauveria bassiana</i> YK29
14	Düzce	Mera	173	<i>Metarhizium anisopliae</i> YK30
15	Gölyaka	Tarım arazisi	128	<i>Metarhizium anisopliae</i> YK31-35
16	Gölyaka	Ormanlık arazi	410	<i>Metarhizium anisopliae</i> YK36
17	Gölyaka	Mera	126	<i>Metarhizium anisopliae</i> YK37-40
18	Düzce	Tarım arazisi	211	<i>Metarhizium anisopliae</i> YK41-44

3.1.2. EPF Virülenslikleri

3.1.2.1. Doğrudan Püskürtme Sonrası İzolatların Virülensliği

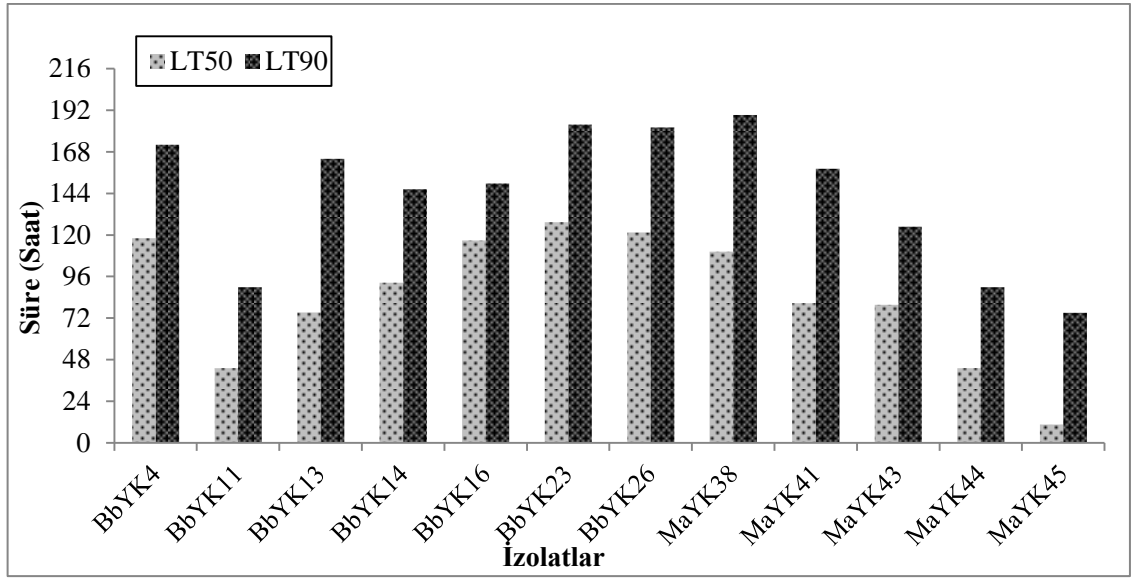
EPF izolatlarının insektisidal aktiviteleri 14. dönem *T. molitor* larvalarına karşı test edilmiştir (Şekil 3.1). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kullanılan 45 izolatın tamamı *T. molitor* larvaları üzerinde önemli oranda öldürücü etki göstermiştir ($F = 13.943$; $df = 45$; $P < 0.0001$). İzolatların virülenslikleri %20 ile %100 arasında değişiklik göstermiştir. En virulent izolatlar, *B. bassiana* YK11, YK16 ve *M. anisopliae* YK43, YK44 ve YK45 olmuştur. Bu izolatlar, *T. molitor* larvalarının tamamını 7 gün içerisinde öldürmüştür. Ek olarak, *B. bassiana* YK4, YK9, YK13, YK14 ve YK26 izolatları %90 ve üzerinde öldürücü etki göstermiştir. Ancak, *B. bassiana* YK28 izolatı ise en düşük ölüm oranına (%20) sahip olmuştur. *M. anisopliae* YK41 %93.34 oranında öldürücü etki göstermiştir. *M. anisopliae* izolatları arasındaki en düşük ölüm oranı ise YK36 izolatında %50 olarak kaydedilmiştir. *B. bassiana* YK4, YK13, YK14, YK23 ve YK26 izolatlarının göstermiş olduğu öldürücü etki 10. günün sonunda %100'e ulaşmıştır. *M. anisopliae* izolatlarından YK38 ve YK41 de benzer şekilde aynı uygulama süresi sonunda %100 öldürme oranına ulaşmıştır. Toplam 12 izolat, 10. günün sonunda %100 öldürme oranına ulaşmıştır.



Şekil 3.1. Doğrudan püskürtme yöntemi sonrası entomopatojenik fungus izolatlarının *Tenebrio molitor* larvaları üzerindeki etkinliği.

*Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmaktadır ($P \leq 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir. Bb: *Beauveria bassiana*, Ma: *Metarhizium anisopliae*.

Bu izolatlar için 1×10^6 konidi/ml konsantrasyonda popülasyonun %50 ve %90'ını öldürmek için gereken süreler (LT_{50} ve LT_{90}) de hesaplanmıştır (Şekil 3.2). *B. bassiana* izolatlarının LT_{50} değerleri 43.08 ila 127.40 saat, LT_{90} değerleri ise 89.84 ila 183.61 saat arasında değişmiştir (Şekil 3.2). Bununla birlikte, *M. anisopliae* izolatlarının LT_{50} ve LT_{90} değerleri sırasıyla 10.48 ila 110.39 saat ve 75.11 ila 189.24 saat arasında değişmiştir. Diğer izolatlarla karşılaştırıldığında, en hızlı öldürme süresine sahip izolat *M. anisopliae* YK45 izolatı olmuştur. LT_{50} ve LT_{90} değerleri bu izolat için sırasıyla 10.48 ve 75.11 saat olarak hesaplanmıştır.

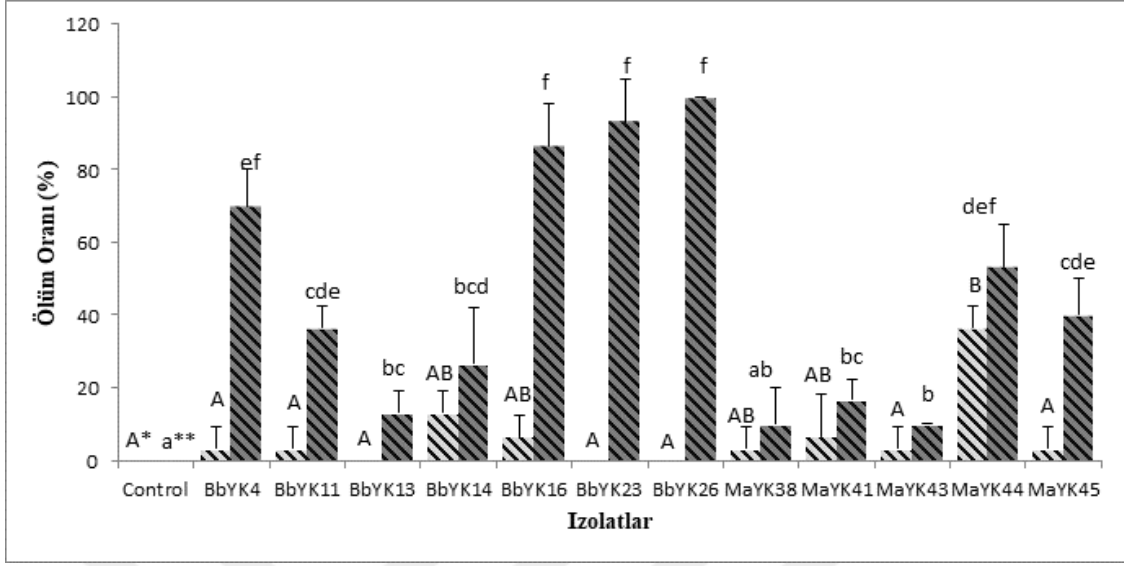


Şekil 3.2. Etkili entomopatojen fungus izolatlarının LT_{50} ve LT_{90} değerleri. Bb: *Beauveria bassiana*, Ma: *Metarhizium anisopliae*.

3.1.2.2. Ürüne Püskürtme Sonrası İzolatların Virülensliği

Yüksek virülensliğe sahip izolatların buğday ortamındaki virülenslikleri *T. molitor* larvalarına karşı araştırılmıştır (Şekil 3.3). *T. molitor* larvaları 1×10^7 konidi/ml konidiospor içeren %3 (a/h)'lük sulu süspansiyon uygulanmış buğdaylar içerisine konulduğunda EPF izolatları *M. anisopliae* YK41 dışında önemli ölçüde öldürücü etki gösterememiştir. *M. anisopliae* YK41 izolatı ise larvalar üzerinde %36.37 oranında öldürücü etki göstermiştir ($F = 31.356$; $df = 12$; $P < 0.0001$). Bununla birlikte, EPF izolatlarının virülenslikleri %10 (a/h) sulu süspansiyon uygulaması sonrası önemli ölçüde artış göstermiştir ($F = 31.356$; $df = 12$; $P < 0.0001$). *B. bassiana* YK26, 10 günlük sürenin sonunda larvaların tamamını öldürmüştür. Aynı uygulama süresinin sonunda *B. bassiana* YK23 ve YK16 izolatları ise sırasıyla %93.33 ve %86.67 oranında öldürücü

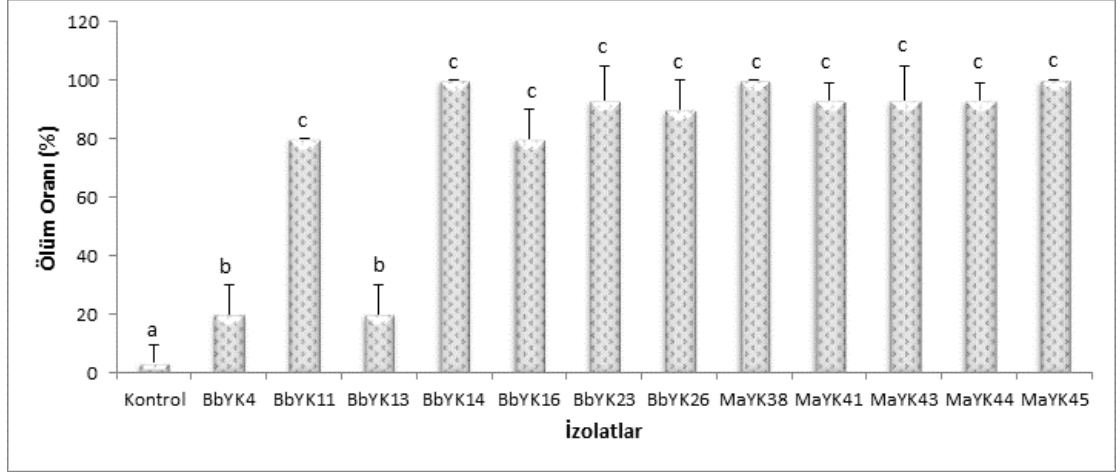
etki göstermiştir. Yüzde ölümler diğer *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatları için %10 ile %70 arasında değişmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Ürüne püskürtme sonrası fungus izolatlarının *Tenebrio molitor* larvaları üzerindeki virülenslikleri. *%3'lük uygulama için farklı büyük harflerle gösterilen ortamlar arasında istatistiksel açıdan fark vardır ($P \leq 0.05$). **%10'luk uygulama için farklı küçük harflerle gösterilen ortamlar arasında istatistiksel açıdan fark vardır ($P \leq 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir. Bb: *Beauveria bassiana*, Ma: *Metarhizium anisopliae*.

3.1.2.3. Toprağa Püskürtme Sonrası İzolatların Virülensliği

Yüksek etkinlik gösteren EPF izolatlarının toprak koşullarındaki virülenslikleri 14. dönem un kurdu, *T. molitor* larvaları üzerinde araştırılmıştır (Şekil 3.4). Yapılan çalışma sonucu izolatların larvalar üzerinde oldukça etkili olduğu görülmüştür. İzolatlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli düzeyde öldürücü etki göstermiştir ($F = 43.634$; $df = 12$; $P < 0.0001$). Larvalarda görülen ölüm oranları %20 ile %100 arasında değişiklik göstermiştir. *B. bassiana* YK14, *M. anisopliae* YK38 ve YK45 izolatları 7. günün sonunda *T. molitor* larvalarının tamamını (%100) öldürmüştür. Bu izolatları ise %93.33'lük ölüm oranıyla *B. bassiana* YK23, *M. anisopliae* YK41, YK43 ve YK44 izolatları takip etmiştir. En düşük ölüm oranı ise %20 ile *B. bassiana* YK4 ve YK13 izolatlarında görülmüştür (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* izolatlarının *T. molitor* larvalarına karşı topraktaki etkinliği. *Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmaktadır ($P \leq 0.05$). Hata çubukları standart sapmaları göstermektedir. Bb: *Beauveria bassiana*, Ma: *Metarhizium anisopliae*.

3.2. TARTIŞMA

Düzce ilinin farklı ekolojik koşullarına sahip topraklarından alınan örneklerde EPF taraması yapılmıştır. Yapılan taramalar sonucu elde edilen verilerden yola çıkarak entomopatojen fungus yaygınlığı ilçeler ve il bazında belirlenmiştir. EPF yaygınlığı il bazında %33.33 iken bu oran Gölyaka ilçesinde %60'a ulaşmıştır. Tür bazında EPF yaygınlığı incelendiğinde ise bu oranlar *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türleri için sırasıyla %24.07 ve %11.11 olarak bulunmuştur. Bu türlerin bir arada bulunma oranı ise %1.85 olarak kaydedilmiştir. Quesada-Moraga vd. (2007) tarafından İspanya'da yapılan entomopatojen fungusların varlığının ve yaygınlığının araştırıldığı çalışmada alınan toprak örneklerinin %42.6'sında *B. bassiana*, %7.3'ünde ise *M. anisopliae* türü funguslar tespit edilmiştir. Aynı araştırmacılar her iki türün ise toprak örneklerinin %21.7'sinde birlikte bulunduğunu belirlemişlerdir. Bu sonuçlara göre Düzce ilindeki *M. anisopliae* yoğunluğunun daha fazla olduğu *B. bassiana* yoğunluğunun ise daha düşük olduğu görülmektedir. Buna karşın Keller vd. (2003) tarafından İsviçre'de yapılan bir çalışmada ise *M. anisopliae* yaygınlığı %96 olarak bulunmuştur. Yine İspanya'da yapılan başka bir çalışmada ise EPF yaygınlığı %32.8, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* yaygınlıkları ise sırasıyla %21.04 ve %6.4 olarak rapor edilmiştir (Asensio vd., 2003). Avusturya'da yapılan bir çalışmada ise yaygınlık oranları *B. bassiana* için %74 ve *M. anisopliae* için %29 olarak kaydedilmiştir (Hozzank vd., 2003). Kore'de yapılan bir

çalışmada ise EPF yaygınlığı yaklaşık %32 olarak, *Beauveria* spp yaygınlığı %12 ve *Metarhizium* spp. yaygınlığı ise %8 olarak belirlenmiştir (Shin vd., 2013).

Ülkemizde Doğu Karadeniz’de yapılan bir çalışmada ise EPF yaygınlığı %20.59 olarak kaydedilmiştir. En yaygın tür ise %11.30 ile *M. anisopliae* türü iken bu türü %4.3 ile *B. bassiana* takip etmiştir (Sevim vd., 2010). Kendi çalışmamızdan elde edilen bulgularla karşılaştırıldığında Düzce ilinde genel EPF yaygınlığı ile *B. bassiana* yaygınlığının Doğu Karadenize göre daha yüksek olduğu, *M. anisopliae* yaygınlığının ise benzer olduğu görülmektedir. Buna karşın Adıyaman, Gaziantep ve Kahramanmaraş illerindeki Antep fıstığı bahçelerindeki EPF yaygınlığı ise %68.97 olarak kaydedilmiştir. *B. bassiana* yaygınlığı %65.52 olarak bulunmuş iken *M. anisopliae* yaygınlığı %10.34 olarak bulunmuştur. Kahramanmaraş’ta sadece *B. bassiana* izolatları elde edilmişken Gaziantep’ten alınan örneklerde *B. brogniartii* ve *M. anisopliae* izolatları da elde edilmiştir (Er, 2013). Yaygınlık çalışmaları incelendiğinde oldukça farklı sonuçlar göze çarpmaktadır.

EPF izolatlarının yükselti ile ilişkisi incelendiğinde izolatların deniz seviyesine yakın alanlardan (19 m) yüksek dağlık bölgelere (1298 m) kadar birçok yükseltide yayılış gösterdiği görülmektedir. *M. anisopliae* izolatları daha dar bir yükselti aralığından elde edilmişken (126-286 m) *B. bassiana* izolatları ise daha geniş bir yükselti aralığından (19-1298 m) elde edilmiştir. EPF izolatlarının habitatlara göre dağılımı incelendiğinde *B. bassiana* izolatlarının tarımsal ve ormanlık arazilerden hemen hemen eşit düzeyde elde edildiği *M. anisopliae* izolatlarının ise çoğunlukla tarım arazileri olmakla beraber mera ve ormanlık arazilerden elde edildiği görülmüştür. Benzer şekilde *B. bassiana* türünün doğal ve ekimi yapılan topraklarda eşit düzeyde dağılım gösterdiği, *M. anisopliae* türünün ise ekim yapılan alanlarda daha yaygın olduğu Quesada-Moraga vd. (2007) tarafından rapor edilmiştir. Buna karşın Sanchez-Pena vd. (2011) tarafından rapor edilen *B. bassiana* türünün çoğunlukla ormanlık alanlarda yayılış gösterdiğine yönelik bir çalışma da bulunmaktadır. Buna karşın aynı araştırmacılar *M. anisopliae* türünün ise çoğunlukla tarım alanlarında yayılış gösterdiğini bildirmişlerdir. *Metarhizium* ve *Beauveria* türleri ile yapılan ekolojik çalışmalar bu fungusların bulunma oranları ve dağılımlarının toprak faktörlerine (pH, organik madde içeriği ve toprak yapısı) ve coğrafik konuma (Enlem, boylam ve yükselti) göre değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur.

Elde edilen EPF izolatlarının farklı koşullardaki virülenslikleri araştırıldığında izolatların oldukça yüksek etki gösterdiği görülmüştür. EPF izolatları *T. molitor* larvalarına karşı püskürtme yoluyla (1×10^6 konidi/ml) uygulandığında iki *B. bassiana* izolatı (YK11 ve YK16) ve üç *M. anisopliae* (YK43, YK44 ve YK45) izolatının 7 gün içinde %100 öldürme etkinliğine ulaştığı belirlenmiştir. Toplam 12 EPF izolatı (7 *B. bassiana* ve 5 *M. anisopliae*) 10 gün içerisinde larvaların tamamını öldürmüştür. Benzer şekilde Lestari ve Rao (2017) tarafından yaptıkları çalışmada *Beauveria* spp. ve *Metarhizium* spp. uygulanmış (4×10^5 konidi/ml) *T. molitor* larvalarının sırasıyla %80 ve %100'ünün 14 gün içerisinde öldüğü görülmüştür. Komaki vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada *B. bassiana* (ARSEF-4984) izolatı iki farklı konsantrasyonda (1×10^5 ve 1×10^7 konidi/ml) *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) erginlerine karşı uygulanmış ve 10 günlük uygulama süresi sonunda erginlerin sırasıyla %89.3 ve %100'ünün öldüğü görülmüştür. *B. bassiana* BbZ3 and BbZ4 izolatları ile yapılan sera ve arazi uygulamasında 9-10 gün içerisinde *Laniifera cyclades* Druce (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının tamamının öldüğü görülmüştür (Lozano-Gutierrez ve Espana-Luna, 2008).

T. molitor larvalarının tamamını 10 gün içerisinde öldüren izolatlar için LT_{50} ve LT_{90} değerleri hesaplanmıştır. LT_{50} ve LT_{90} değerleri *B. bassiana* izolatları için 43.08 ile 183.61 saat arasında değişiklik göstermişken bu değerler *M. anisopliae* izolatları için 10.48 ile 189.24 arasında değişiklik göstermiştir. En hızlı öldürme süresine sahip izolat LT_{50} ve LT_{90} saatlik değerleri ile *M. anisopliae* YK45 olmuştur. Etkili EPF izolatlarının konukçularını uygulamadan sonra 72-120 saatlik bir sürede öldürdüğü Janli vd. (2017) tarafından rapor edilmiştir. Cherry vd. (2005), *Callosobruchus maculatus* (F.) 'un (Coleoptera; Chrysomelidae) kontrolü için *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatları 1×10^8 konidi/ml konsantrasyonda uygulandığında LT_{50} değerleri 74.64 ile 146.88 saat olarak hesaplanmıştır. Bizim çalışmamızda ise bu değerler 10.48 ile 43.08 saat arasında değişmiştir.

EPF izolatlarının ürün ortamındaki etkinliklerinin araştırılmasında iki farklı sulu süspansiyon buğday örnekleri üzerine uygulanmış (1×10^7 konidi/ml dozda) ve daha sonra içerisine *T. molitor* larvaları atılarak larvalar üzerindeki etki araştırılmıştır. Buğday numunelerine %3'lük sulu süspansiyon püskürtüldüğünde 10 günlük uygulama süresi sonunda fungal izolatların düşük etki gösterdiği görülmüştür. En yüksek ölüm oranı %36.37 ile *M. anisopliae* YK44 izolatında görülmüştür. Sulu süspansiyon miktarı

%10'a çıkarıldığında ölüm oranlarında artış gözlenmiş ve *B. bassiana* YK23 ve YK26 izolatları aynı uygulama süresi sonunda %93.33 ve %100 oranında öldürücü etki göstermiştir. Diğer izolatların öldürme oranları ise %10 ila %86.67 arasında değişiklik göstermiştir. Entomopatojen funguslar birçok araştırmacı tarafından ürünlere karıştırılarak böceklere uygulanmıştır. Rice ve Cogburn (1999), yaptıkları çalışmada *B. bassiana* 22292A izolatının etkinliğini üç farklı besin ortamında pirinç biti, *Sitophilus oryzae* (L.) (Col.: Curculionidae), ekin kambur biti, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Col.: Bostrichidae) ve un bitine *Tribolium castaneum* (Herbst) (Col.: Tenebrionidae) karşı test etmişlerdir. Uygulamadan 21 sonra erginlerdeki ölüm oranlarının her üç böcek türü ve besi ortamı için %80 ile %100 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada *M. anisopliae* (V275, V245 ve Ma23) izolatlarının %10'luk sulu süspansiyonları (1×10^7 konidi/ml) mısır danelerine uygulanmış ve *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculinidae) erginlerindeki etkisi araştırılmıştır. Uygulama sonrası erginlerde sırasıyla %72.5, %70.9 ve %85.2 oranlarında ölümler görülmüştür (Ahmed, 2010). Kavallieratos vd. (2014) *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatları *S. oryzae* erginlerine karşı değişen konsantrasyonlarda (2.11×10^7 ve 2.11×10^8 , 1.77×10^7 ve 1.77×10^8) ürüne uygulandığında 14 günün sonunda erginlerde %0 ila %100 arasında mortalite görülmüştür. Yazarlar ayrıca ürüne uygulamaya göre direkt erginlere püskürtme yönteminin daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

EPF izolatlarının topraktaki etkinliklerinin belirlenmesine yönelik yaptığımız diğer bir çalışmada da oldukça etkili sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen EPF izolatları toprağa 1×10^7 konidi/ml dozda uygulandığında izolatların *T. molitor* larvalarına karşı oldukça virulent oldukları görülmüştür. *B. bassiana* YK14, *M. anisopliae* YK38 ve YK45 izolatları *T. molitor* larvalarının tamamını 7 gün içerisinde öldürmüştür. Batta vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada *B. bassiana* BG1 ırkı püskürtme yöntemiyle (1×10^8 konidi/ml dozda) *T. molitor* larvalarına karşı uygulanmış ve 7 günlük sürenin sonunda larvalardaki ölüm oranı %40 olarak rapor edilmiştir. Bununla birlikte aynı araştırmacılar aynı etmeni özel bir formülasyon şeklinde uyguladıklarında ise ölüm oranının %96.6'ya yükseldiği görülmüştür. Sonuçlar karşılaştırıldığında çalışmamızda kullanılan izolatların daha düşük dozda ve toprakta uygulanmasına karşın oldukça iyi sonuçlar verdiği görülmektedir. Yaptığımız çalışmada kullanılan diğer izolatların virülenslikleri ise 7. günün sonunda %20 ila %93.33 arasında değişiklik göstermiştir. Rohde vd. (2006) *B. bassiana* uygulamasından 10 gün sonra *Alphitobius diaperinus* (Panzer)

(Coleoptera: Tenebrionidae) larvalarındaki ölüm oranının izolatlara göre %7–100 arasında değişiklik gösterdiğini rapor etmiştir. Bir diğer çalışmada ise *Metarhizium* sp. izolatları (CEP413, CEP589, CEP590 ve CEP591) ile *T. molitor* larvalarına karşı yapılan çalışmada ise 1×10^6 konidi/ml filtre kâğıtlarına emdirilerek uygulanmıştır. Yapılan bu çalışmada ise 6. günün sonunda en yüksek ölüm oranı %94 olarak kaydedilmiştir (Juan vd., 2017).



4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Düzce ilinin farklı ekolojik özelliklere sahip bölgelerinden toprak örneği alınmış ve entomopatojen fungus taraması yapılmıştır. Entomopatojen fungusların yayılışı, dağılımları ve virülenslikleride araştırılmıştır. 54 toprak örneğinden *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* türlerine ait toplam 45 entomopatojen fungus izolatu elde edilmiştir. *B. bassiana* türüne ait 29 izolat, *M. anisopliae* türüne ait 16 izolat elde edilmiştir. EPF türlerinin Düzce ilindeki yaygınlık oranı %33.33 olarak bulunmuştur. Bu oran ilçeler bazında yer yer %60'lara ulaşmıştır. Tür bazında EPF yaygınlığı ise *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türleri için sırasıyla %24.07 ve %11.11 olarak bulunmuştur. EPF izolatlarının dağılımı incelendiğinde izolatların deniz seviyesine yakın alanlardan (19 m) yüksek dağlık bölgelere (1298 m) kadar birçok yükseltide yayılış gösterdiği görülmüştür. EPF izolatlarının habitatlara göre dağılımı incelendiğinde *B. bassiana* izolatlarının tarımsal ve ormanlık arazilerde *M. anisopliae* izolatlarının ise çoğunlukla tarım arazilerinde ve meralık alanlarda yayılış gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde EPF yönünden Düzce ilinin iyi bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir.

Elde edilen EPF izolatlarının farklı koşullardaki virülenslikleri araştırıldığında izolatların oldukça yüksek etki gösterdiği görülmüştür. İzolatlar gerek doğrudan böceğe püskürtme, gerekse dolaylı olarak substrata uygulama sonrası *Tenebrio molitor* larvaları üzerinde yüksek öldürücü etki göstermiştir. Uygulama yöntemleri içerisinde en etkili yöntemin doğrudan püskürtme yöntemi olduğu ve en yüksek virülensliğin elde edildiği görülmüştür. Doğrudan püskürtme yöntemi sonrası 12 EPF izolatu 10 gün içerisinde %100 öldürme oranına ulaşmıştır. Toprağa ve buğdaya uygulama sonrası da EPF izolatları önemli öldürücü etki göstermiş ve öldürme oranı %100'e ulaşan izolatlar olmuştur. EPF izolatlarının öldürme süreleri analiz edildiğinde çok kısa sürede konukçusunu öldürebilen izolatlar olduğu görülmüştür. Uygulama yöntemleri değerlendirildiğinde entomopatojen fungusların çok farklı şekillerde uygulanabileceği ve çok farklı koşullarda yüksek etkinlik gösterebileceği anlaşılmaktadır.

B. bassiana ve *M. anisopliae* izolatlarının farklı koşullar altında *T. molitor* larvalarına karşı oldukça yüksek böcek öldürücü aktivite sergilemesi bu fungusların tarımsal zarara neden olan birçok böceğe karşı biyolojik mücadelede kullanılabileceğini göstermiştir. Elde edilecek olan yerli entomopatojen funguslar yerelde zarar oluşturan böcekler için oldukça önemli bir potansiyel oluşturmaktadır. Ancak, tarımsal zarara neden olan böceklere karşı kullanım olanaklarının detaylı bir şekilde araştırılması gerekmektedir.



5. KAYNAKLAR

- Ahmed, B. I. (2010). Potentials of entomopathogenic fungi in controlling the menace of maize weevil *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculinidae) on stored maize grain. *Archives of Phytopathology Plant Protection*, 43(2), 107-115.
- Arthur, F. H. (1996). Grain protectants: current status and prospects for the future. *Journal of Stored Products Research*, 32(4), 293–302.
- Asensio, L., Carbonell, T., Lo'pez-Jime'nez, J.A., Lo'pez-Llorca, L.V (2003). Entomopathogenic fungi in soils from Alicante province. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 1(3), 37-45.
- Assaf, L. H., Haleem, R. A., Abdullah, S.K. (2011). Association of entomopathogenic and other opportunistic fungi with insect in dormant locations. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 4(2), 87-92.
- Ayvaz, A., Albayrak, S., Karaborklu, S. (2008). Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupae of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pest Management Science*, 64, 505-512.
- Ayvaz, A., Sagdic, O., Karaborklu, S., Ozturk, I. (2010). Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored product insects. *Journal of Insect Science*, 10(21), 1-13.
- Azizoglu, U., Yilmaz, S., Karaborklu, S., Ayvaz, A. (2011). Ovicidal activity of microwave and UV radiations on mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 35(3), 437-446.
- Batta, Y., Murdoch, G., Mansfield, S. (2010). Investigations into the formulation and application of entomopathogenic fungi against larvae of yellow meal worm (*Tenebrio molitor* L., Coleoptera: Tenebrionidae). *General and Applied Entomology*, 39, 5-8.
- Batta, Y. A. (2016). Recent advances in formulation and application of entomopathogenic fungi for biocontrol of stored-grain insects. *Biocontrol Science Technology*, 26(9), 1171-1183.
- Baydar, R., Güven, Ö., Karaca, I. (2016). Occurrence of entomopathogenic fungi in agricultural soils from Isparta Province in Turkey and their pathogenicity to *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26(2), 323-327.
- Castrillo, L. A., Roberts, D.W., Vandenberg, J.D. (2005). The fungal past, present, and future: Germination, ramification, and reproduction. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89, 46-56.

- Cherry, A. J., Abalo, P., Hell, K. (2005). A laboratory assessment of the potential of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) to control *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. *Journal of Stored Products Research*, 41(3), 295-309.
- Çam, H., Gökçe, A., Yanar, Y., Kadioğlu, İ. (2002). Entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.'nın patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say., üzerindeki etkisi. İçinde *Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi* (ss. 359-364). Erzurum, Türkiye.
- Demirci, F., Ülgentürk, S., Kaydan, B. (2008). *Entomopatojen Paecilomyces farinosus'un turunçgil unlu biti Planococcus citri ve bağ unlu biti Planococcus ficus üzerine etkinliği ve bazı fungusitlerle etkileşimleri*, Ankara, Türkiye, Proje no: 104O200.
- Doğan, Y. (2009). 'Türkiye topraklarından elde edilen entomopatojen fungusların biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılması', Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Eken, C., Tozlu, G., Dane, E., Çoruh, S., Demirci, E. (2006). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) to larvae of the small poplar longhorn beetle, *Saperda populnea* (Coleoptera: Cerambycidae). *Mycopathologia*, 162, 69-71.
- Er, M. K., Tunaz, H., Işıkber, A. A., Satar, S., Mart, C., Uygun, N. (2008). Pathogenicity of entomopathogenic fungi to *Coccinella septempunctata* L. (Col: Coccinellidae) and a survey of fungal diseases of Coccinellids. *KSU Journal of Science and Engineering*, 11(1), 118-122.
- Er, M. K., Mart, C. (2009). Kahramanmaraş ilinde belirlenen bazı entomopatojen funguslar ve ilin entomopatojen fungus kullanımı bakımından değerlendirmesi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 12(2), 52-58.
- Er, M. K. (2013). Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş antep fıstığı bahçelerinde bulunan entomopatojen fungusların tespiti. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 4(2), 155-163.
- Esmer, E. T. (2011). '*Dendroctonus micans*'tan entomopatojenik fungusların izolasyonu, karakterizasyonu ve mikrobiyal mücadele potansiyellerinin araştırılması', Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye.
- Hibbett, D. S., Ohman, A., Glotzer, D., Nuhn, M., Kirk, P., Nilsson, R. H. (2011). Progress in molecular and morphological taxon discovery in fungi and options for formal classification of environmental sequences. *Fungal Biological Reviews*, 25, 38-47.
- Hozzank, A., Wegensteiner, R., Waitzbauer, W., Burnell, A., Mracek, Z., Zimmermann, G. (2003). Investigations on the occurrence of entomopathogenic fungi and entomoparasitic nematodes in soils from Lower Austria. *IOBC wprs Bulletin*, 26(1), 77-80.
- Humber, R. A. (2012). Identification of entomopathogenic fungi. İçinde *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (ss. 151-187). 2nd. ed., Washington, USA: Academic Press.

- Inglis, G. D., Johnson, D. L., Goettel, M. S. (1997). Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symptodulosporae) of grasshoppers under field conditions. *Environmental Entomology*, 26(2), 400-409.
- Janli, D., Purwanto, M. G. M., Artadana, I. B., Askitosari, T. D. (2017). Extraction and toxicity assay of mycotoxin from entomopathogenic fungi isolate of Kusuma Agrowisata Orchard Batu, Jawa Timur, Indonesia. İçinde *International Conference on Natural Resources and Life Sciences (NRLS-2016)* (ss. 63-74).
- Juan A., A. S., Andreas, L., María C., D., Karina A., T., Fabio, V., Andrew G.S., C., Claudia C., L. L., Bernardo L. (2017). Entomopathogenic fungi: Are polisporic isolates more pathogenic than monosporic strains?. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 76(3-4), 39-43.
- Karabörklü, S., Azizoglu, U., Azizoglu, Z. B. (2018). Recombinant entomopathogenic agents: a review of biotechnological approaches to pest insect control. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(14), 1-12.
- Karabörklü S., Altın, N., Keskin, Y. (2019). Native Entomopathogenic fungi isolated from Duzce, Turkey and their virulence on the mealworm beetle *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Philippines Agricultural Scientist*, 102(1), 82-89.
- Kavallieratos, N. G., Athanassiou, C. G., Aountala, M. M., Kontodimas, D. C. (2014). Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Isaria fumosorosea* for control of *Sitophilus oryzae*. *Journal of Food Protection*, 77(1), 87-93.
- Keller, S., Kessler, P., Schweizer, C. (2003). Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metharhizium anisopliae*. *Biocontrol*, 48, 307-319.
- Keskin, Y., Karabörklü S., Altın, N. (2019). Bazı yerel entomopatojen fungusların toprak koşullarındaki etkinliklerinin *Tenebrio molitor* L. (Col.: Tenebrionidae) larvaları kullanılarak araştırılması. *Türkiye Teknoloji ve Uygulamalı Bilimler Dergisi*, 2(1), 26-31.
- Kılıç, E., Yıldırım E., İskender, N. A., Algur, Ö. F. (2009). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Viilemin, 1826 (Deuteromycotina: Hypomycetes) isolates to various development stages of *Bemisia tabaci* Gennadius, 1936 (Homoptera: Aleyrodidae). *Bio-science Research Bulletin*, 25(1), 17-28.
- Kim, J. C., Lee, M. R., Kim, S., Lee, S. J., Park, S. E., Nai, Y. S., Lee, G. S., Shin, T. Y., Kim, J. S. (2018). *Tenebrio molitor*-mediated entomopathogenic fungal library construction for pest management. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21(1), 196-204.
- Komaki, A., Kordali, Ş., Bozhüyük, A. U., Altınok, H H., Kesdek, M., Şimşek, D., Altınok, M. A. (2017). Laboratory assessment for biological control of *Tribolium confusum* du Val., 1863 (Coleoptera: Tenebrionidae) by entomopathogenic fungi. *Turkish Journal of Entomology*, 41(1), 95-103.
- Koz, C., Güven Ö. (2014). Kahramanmaraş merkez köylerindeki buğday tarlalarından izole edilen entomopatojen funguslar. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 5(1), 39-51.
- Krassiltstchik, I. M. (1888). La production industrielle des parasites ve'ge'taux pour la destruction des insects nuisibles. *Bull. Sci. France Belg*, 19, 461-472.

- Lacey, L. A., Goettel, M. S. (1995). Current developments in microbial control of insect pests and prospects for the early 21st century. *Entomophaga*, 40(1), 3-27.
- Lestari, A. S., Rao, S. (2017). Laboratory bioassays of *Metarhizium* spp and *Beauveria* spp against *Tenebrio molitor* larvae. İçinde *Proceedings of the International Symposium for Sustainable Humanosphere* (ss. 206-212). Bogor, Indonesia.
- Lozano-Gutierrez, J., Espena-Luna, M. P. (2008). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against the white grub *Laniifera cyclades* (Lepidoptera: Pyralidae) under field and greenhouse conditions . *Florida Entomologist*, 91(4), 664-668.
- Meyling, N. V., Eilenberg, J. (2005). Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113, 336-341.
- Mietkiewski, R., Mietkiewska, Z. (1993). Occurrence of entomopathogenic fungi in arable soil. *Acta Mycologica*, 28(1), 77-82.
- Morales-Ramos, J. A., Kay, S., Guadalupe Rojas, M., Shapiro-Ilan, D. I., Tedders, W. L. (2015). Morphometric analysis of instar variation in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 108(2), 146-159.
- Parker, B., Skinner, M., El Bouhssini, M., Brownbridge, M. (2014). Introduction to Entomopathogenic Fungal Biological Control Agents. İçinde *Entomopathogenic Fungi for Integrated Pest Management* (ss. 1-13). A Manual for Development; ICARDA: Amman, Jordan.
- Pilz, C., Wegensteiner, R., Keller, S. (2008). Natural Occurrence of Insect Pathogenic Fungi and Insect Parasitic Nematodes in *Diabrotica virgifera virgifera* populations. *Biocontrol*, 53(2), 353-357.
- Quesada-Moraga, E., Navas-Cortes, J. A., Maranhao, E. A. A., Ortiz-Urquiza, A., Santiago-Alvarez, C. (2007). Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research*, 111, 947-966.
- Rath, A. C. (2000). The use of entomopathogenic fungi for control of termites. *Biocontrol Science and Technology*, 10(5), 563-581.
- Rice, W. C., Cogburn, R. R. (1999). Activity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Deuteromycota: Hyphomycetes) against three coleopteran pests of stored grain. *Journal of Economic Entomology*, 92(3), 691-694.
- Rohde, C., Alves, L., Neves, P., Alves, S. B., Da Silva, E., De Almeida, J. (2006). Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotropical Entomology*, 35(2), 231-240.
- Sanchez-Pena, S. R., Lara, J. S. J., Medina, R. F. (2011). Occurrence of entomopathogenic fungi from agricultural and natural ecosystems in Saltillo, Mexico, and their virulence towards thrips and whiteflies. *Journal of Insect Science*, 11(1), 1-10.
- Sandhu, S. S. (1993). Mode of entry of *Beauveria bassiana* in *Helicoverpa armigera* larvae. *Nat Acad Sci Ind*, 16(4), 133-135.

- Scatigna, M. A. E., Polisenio, M., Vlora, A., Zimmermann, G., Tarasco, E. (2007). Entomopathogenic fungi in riparian soils of the ofanto river valley (Apulia region, Italy). *IOBC wprs Bulletin*, 30(1), 143-146.
- Schöller, M., Prozell, S., Al-Kirshi, A. G., Reichmuth, C. (1997). Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. *Journal of Stored Products Research*, 33(1), 81-97.
- Sevim, A., Demir, İ., Demirbağ, Z. (2010). Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey. *BioControl*, 55, 279-297.
- Sevim, A., Sevim, E., Demirbağ, Z. (2015). Entomopatojenik fungusların genel biyolojileri ve Türkiye’de zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılma potansiyelleri. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(1), 115-147.
- Shah, P. A., Pell, J. K. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 413-423.
- Shin, T. Y., Lee, W. W., Ko, S. H., Choi, J. B., Bae, S. M., Choi, J. Y., Lee, K. S., Jeb, Y. H., Jin, B. R., Woo, S. D. (2013). Distribution and characterisation of entomopathogenic fungi from Korean soils. *Biocontrol Science and Technology*, 23(3), 288-304.
- St. Leger, R. J., Wang, C. (2010). Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve efficacy against insect pests. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 901-907.
- Steinhaus, E.A. (1975). *Disease in a Minor Chord*. Columbus: Ohio State University Press.
- Sullivan, G. T. (2011). ‘*Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)’nın Kışlık Pupalarının Biyolojik Mücadele Etmenlerinin Belirlenmesi ve Elde Edilen Entomopatojen Fungusların Etkinliklerinin Belirlenmesi’, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye.
- Şahin, H. (2006). ‘Çam Kese Tırtılı (*Thaumetopoea pityocampa*) (Den & Schiff)) (Lepidoptera: Thaumetopoeldae)’na Karşı Farklı Entomopatojen Fungus İzolatlarının Etkinliklerinin Araştırılması’, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Thakur, R., Sandhu, S. S. (2009). Distribution, occurrence and natural invertebrate hosts of indigenous entomopathogenic fungi of Central India. *Indian Journal of Microbiology*, 50(1), 89-96.
- Tkaczuk, C., Renella, G. (2003). Occurrence of entomopathogenic fungi in soils from Central Italy under different managements. *IOBC wprs Bulletin*, 26(1), 85-89.
- Tkaczuk, C., Krzyczkowski, T., Wegensteiner, R. (2012). The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from mid-field woodlots and adjacent small-scale arable fields. *Acta Mycologica*, 47(2), 191-202.
- Vega, F. E., Meyling, N. V., Luangsa-ard, J. J., Blackwell, M. (2012). Fungal entomopathogens. İçinde *Insect pathology* (ss. 171-220). Academic Press.

- Wraight, S. P., Carruthers, R. I. (1999). Production, delivery, and use of mycoinsecticides for control of insect pests on field crops. İçinde *Methods in Biotechnology: Biopesticides* (ss. 233-269). Totova: Humana Press Inc.
- Zettler, J. L., Arthur, F. H. (2000). Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. *Crop Protection*, 19, 577-582.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Yeşim KESKİN
Doğum Tarihi ve Yeri : 10.02.1994 Kdz. Ereğli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ysmkskn67@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Bitki Koruma	Düzce Üniversitesi	2019
Lisans	Bahçe Bitkileri	Ankara Üniversitesi	2016
Lise		Alaplı Çok Programlı Anadolu Lisesi	2012

YAYINLAR

1. Karabörklü S., Altın, N., Keskin, Y. 2019. Native Entomopathogenic fungi isolated from Duzce, Turkey and their virulence on the mealworm beetle *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Philippines Agricultural Scientist*, 102(1), 82–89.
2. Keskin, S., Karabörklü, S., Altın N. 2019. Bazı yerel entomopatojen fungusların toprak koşullarındaki etkinliklerinin *Tenebrio molitor* L. (Col.: Tenebrionidae) larvaları kullanılarak araştırılması. *Türkiye Teknoloji ve Uygulamalı Bilimler Dergisi*, 2(1), 26-31.