T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA TOPRAKLARINDAN ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN İZOLASYONU, MORFOLOJİK KARAKTERİZASYONU VE *Sitophilus oryzae* ERGİNLERİNE KARŞI LABORATUAR ŞARTLARINDA VİRÜLENSLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Hazırlayan
Sevim DOĞAN (ATMACA)

Danışman
Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

Yüksek Lisans Tezi

Aralık 2016
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA TOPRAKLARINDAN ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN İZOLASYONU, MORFOLOJİK KARAKTERİZASYONU VE *Sitophilus oryzae* ERGİNLERİNE KARŞI LABORATUAR ŞARTLARINDA VİRÜLENSLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Sevim DOĞAN (ATMACA)

Danışman
Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL-2014-5465 kodlu proje ile desteklenmiştir.

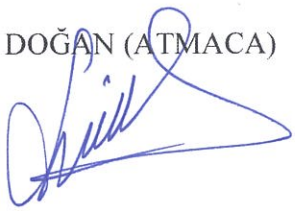
Aralık 2016
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Sevim DOĞAN (ATMACA)

İmza :



YÖNERGEYE UYGUNLUK

"Adana topraklarından entomopatojen fungusların izolasyonu, morfolojik karakterizasyonu ve *Sitophilus oryzae* erginlerine karşı laboratuar şartlarında virülensliklerinin belirlenmesi" adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Sevim DOĞAN (ATMACA)

Danışman

Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

Bitki Koruma ABD Başkanı

Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL danışmanlığında **Sevim DOĞAN (ATMACA)** tarafından hazırlanan **"Adana Topraklarından Entomopatojen Fungusların İzolasyonu, Morfolojik Karakterizasyonu Ve *Sitophilus oryzae* Erginlerine Karşı Laboratuar Şartlarında Virülensliklerinin Belirlenmesi"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

.

..16...../.12./ 2016...

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

Üye : Prof. Dr. Yusuf YANAR

Üye : Yard. Doç. Dr. Murat MUŞTU

ONAY:
Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 03/01/2017 tarih ve 2017/01-09. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..03.../..01.../ 2017

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bu günlere gelmemde en büyük katkı sahibi sayın hocam Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL'e teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalarım sırasında karşılaştığım zorlukları aşmamda yardımlarından dolayı laboratuvar arkadaşlarım Yunus Emre ÖZDEMİR ve Yunus Emre TAŞKESEN'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: FYL-2014-5465) teşekkür ederim.

Ayrıca; yaşamımın her aşamasında sabır göstererek beni daima destekleyen AİLEM'e sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım. Çalışmalarım süresince maddi ve manevi desteğiyle yanımda varlığını hep hissettiğim sevgili eşim MİTHAT'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Sevim DOĞAN (ATMACA)

Kayseri, Aralık 2016

ADANA TOPRAKLARINDAN ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN İZOLASYONU, MORFOLOJİK KARAKTERİZASYONU VE *Sitophilus oryzae* ERGİNLERİNE KARŞI LABORATUAR ŞARTLARINDA VİRÜLENSLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Sevim DOĞAN (ATMACA)
Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2016
Danışman: Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

ÖZET

Depolanmış ürün zararlılarının en önemlilerinden birisi, prinç biti, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)'dir. Pirinç biti ile mücadelede kullanılan yöntemlerin en yaygını kimyasal mücadeledir. Çevre ve insan sağlığına olan duyarlılığın giderek arttığı günümüz dünyasında, aşırı pestisit kullanımından kaynaklanan birçok olumsuz faktörün ortadan kaldırılması için alternatifler aranmaktadır. Bu alternatifler arasında, entomopatojen funguslar, tarımsal zararlılarla biyolojik mücadelede önemli bir yer tutmaktadır. Yürütmüş olduğumuz bu tez çalışması kapsamında, Adana İlinden alınan topraklardan, 9 adet *Fusarium* sp., 3 adet *Beauveria bassiana* ve 1 adet *Purpureocillium lilacinum* olmak üzere toplam 13 adet entomopatojen fungus izolasyonu gerçekleştirilmiş ve bu izolatların *S. oryzae* üzerinde etkinlikleri laboratuar şartlarında belirlenmiştir. Fungus izolatları içerisinden, *P. lilacinum* (224), *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının, tek doz çalışmasında *S. oryzae* erginlerine karşı en etkili izolatlar olduğu belirlenmiştir. Belirlenen bu izolatlarla 1×10^5, 1×10^6, 1×10^7, 1×10^8 ve 1×10^9 konidi/ml olmak üzere 5 farklı dozda uygulama yapılmış ve ölü böcekler, 5, 7, 9 ve 14. günde sayılmıştır. Bu dozlarda, *P. lilacinum, B. bassiana* ve *F.* sp. izolatları için, 14. günde oluşan ölüm oranları sırasıyla, %30, %52.5, %73.5, %100 ve %100; %47.5, %72.5, %100, %100 ve %100; %45, %93.8, %90, %100 ve %100 olarak hesaplanmıştır. LC_{50} ve LC_{95} değerleri ise, *P. lilacinum, B. bassiana* ve *F.* sp. izolatları için sırasıyla, 889, 16231; 4863, 10154 ve 2012, 10055 konidi/ergin olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, birbirine yakın sonuçlar veren *Fusarium* sp. (339) ve *B. bassiana* (310) izolatları, en virülens izolatlar olarak tespit edilmiş ve bunu *P. lilacinum* (224) izolatı takip etmiştir.

Anahtar Kelimeler: Depolanmış ürünler, *Sitophilus oryzae, Fusarium* sp., *Beauveria bassiana, Purpureocillium lilacinum*

ISOLATION AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI FROM ADANA SOILS AND DETERMINATION OF THEIR VIRULENCE AGAINST ADULTS OF *Sitophilus oryzae* IN LABORATORY CONDITIONS

Sevim DOĞAN (ATMACA)
Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
M.Sc. Thesis, December 2016
Supervisor: Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

ABSTRACT

One of the most important insect pest of stored products is *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). The most common method in the controlling of *S. oryzae* is chemical application. The alternatives are needed to overcome many side effects of excessive pesticide usage on environment and human beings. Of these alternatives, entomopathogenic fungi have an important role in biological control of agricultural pests. In this study, 13 entomopathogenic fungi in Adana Province was isolated including 9 *Fusarium* sp., 3 *Beauveria bassiana and* 1 *Purpureocillium lilacinum*. The efficacy of these isolates on *S. oryzae* was tested in laboratory conditions. *Purpureocillium lilacinum* (224), *B. bassiana* (310) and *F.* sp. (339) were the most effective isolates aginst *S. oryzae* in a single-dose experiments with $1x10^7$ conidia / ml. Then these isolated were applied in 5 different doses of $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$, $1x10^8$ and $1x10^9$ conidia / ml aginst *S. oryzae* and dead insects were counted on 5th, 7th, 9th and 14th days. The mortality at these 5 doses for *P. lilacinum*, *B. bassiana* and *F.* sp. isolates were calculated as, 30%, 52.5%, 73.5%, 100% and 100%; 47.5%, 72.5%, 100%, 100% and 100%; 45%, 93.8%, 90%, 100% and 100%, respectively. LC_{50} and LC_{95} values for *P. lilacinum*, *B. bassiana* and *F.* sp. were 889 and 16231; 4863 and 10154, and 2012 and 10055 conidia / adult, respectively. As a conclusion, *Fusarium* sp. and *B. bassiana* which produced similiar mortalities were more effective isolates aginst *S. oryzae* than *P. lilacinum.*

Keywords: Stored products, *Sitophilus oryzae*, *Fusarium* sp., *Beauveria bassiana*, *Purpureocillium lilacinum*

İÇİNDEKİLER

ADANA TOPRAKLARINDAN ENTOMOPATOJEN FUNGUSLARIN İZOLASYONU, MORFOLOJİK KARAKTERİZASYONU VE *Sitophilus oryzae* ERGİNLERİNE KARŞI LABORATUAR ŞARTLARINDA VİRÜLENSLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI ii
KABUL VE ONAY SAYFASI iii
TEŞEKKÜR iv
ÖZET v
ABSTRACT vi
İÇİNDEKİLER vii
KISALTMALAR VE SİMGELER x
TABLOLAR LİSTESİ xi
ŞEKİLLER LİSTESİ xiii
GİRİŞ 1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Entomopatojen Fungus İle İlgili Bilgiler 4
1.2. Depo Zararlısı *Sitophilus oryzae* (L.) (Col.: Curculionidae) (Pirinç biti) İle İlgili Bilgiler 8
1.3. Önceki Yapılan Çalışmalar 11

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar 21
2.2. Kullanılan Besi Yerleri ve Çözeltilerin Hazırlanışı 21
2.3. Entomopatojen Fungus, *Sitophilus oryzae* ve *Galleria mellonella* Erginleri 22

2.4. Entomopatojen Fungusların Topraktan İzolasyonu 22
2.5. *Galleria mellonella* (L.) Larvalarının Üretimi..... 24
2.6. Pirinç Biti, *Sitophilus oryzae*, Kültürü 24
2.7. Entomopatojen Fungusların Morfolojik Karekterizasyonu..... 26
2.8. Entomopatojen Fungusların Laboratuar Şartlarında *Sitophilus oryzae*'nin Erginlerine Karşı Biyolojik Etkinliklerinin Belirlenmesi..... 27
2.8.1. Tek Doz Tarama Denemeleri 27
2.8.2. Doz- Ölüm Denemeleri..... 28
2.9. Entomopatojen Fungusların Yüzde Çimlenme Oranlarının Belirlenmesi..... 28
2.10. Entomopatojen Fungusların *Sitophilus oryzae* Erginleri Üzerindeki Spor Üretiminin Belirlenmesi..... 29
2.11. Entomopatojen Fungusların Misel Gelişimi Üzerine Sıcaklığın Etkisi..... 30
2.12. Entomopatojen Fungusların Spor Üretimi Üzerine Sıcaklığın Etkisi..... 30
2.13. Veri Analizleri..... 30

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Entomopatojen Fungusların Topraktan İzolasyonu 32
3.2. Entomopatojen Fungusların Morfolojik Karekterizasyonu..... 35
3.3. Entomopatojen Fungusların Laboratuar Şartlarında *Sitophilus oryzae*'nin Erginlerine Karşı Biyolojik Etkinliklerinin Belirlenmesi..... 39
3.3.1. Tek Doz Tarama Denemeleri..... 39
3.3.2. Doz- Ölüm Denemeleri 44
3.4. Entomopatojen Fungusların Yüzde Çimlenme Oranlarının Belirlenmesi..... 54
3.5. Entomopatojen Fungusların *Sitophilus oryzae* Erginleri Üzerindeki Spor Üretiminin Belirlenmesi..... 55
3.6. Entomopatojen Fungusların Misel Gelişimi Üzerine Sıcaklığın Etkisi..... 56

3.7. Entomopatojen Fungusların Spor Üretimi Üzerine Sıcaklığın Etkisi 57

4. BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

KAYNAKLAR 62

EKLER 71

ÖZGEÇMİŞ 77

KISALTMALAR VE SİMGELER

%	: Yüzde
m	: Metre
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
g	: Gram
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
ppm	: Parts per million (milyonda bir)
sn	: Saniye
dk	: Dakika
^{o}C	: Derece santigrad
sp	: Tür
EPF	: Entomopatojen fungus
FAO	: Food and Agriculture Organization
LC_{50}	: Test hayvanlarının yarısını öldürmek için gerekli konsantrasyon
LC_{95}	: Test hayvanlarının %95'ini öldürmek için gerekli konsantrasyon
Mak.	: Maksimum
Min.	: Minimum
NaOCl	: Sodium hypochlorite
PDA	: Patates dekstroz agar
SDA	: Sabouraud dekstroz agar
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Örnek kodları, habitat tipleri ve entomopatojen fungus yüzdeleri 33

Tablo 2. Habitatlar, habitatlardan alınan örnek sayıları, pozitif örnek sayıları, *Fusarium* sp., *Beauveria bassiana, Purpureocillium lilacinum* belirlenen habitatların yüzdesi ve toplam yüzde 34

Tablo 3. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının $1x10^7$ konidi/ml dozunda, 5, 7, 9 ve 14. günde *Sitophilus oryzae* erginleri üzerinde oluşturduğu ölüm oranları 40

Tablo 4. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının tek doz uygulamasında ($1x10^7$ konidi/ml), 7. ve 14. günlerde *Sitophilus oryzae* erginleri üzerindeki mikosis oranları (%) 42

Tablo 5. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının 5.günde dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerine oluşturdukları ölüm oranları … 45

Tablo 6. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının 7. günde dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturdukları ölüm oranları 46

Tablo 7. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının 9. günde dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturdukları ölüm oranları 48

Tablo 8. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının 14.günde dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturdukları ölüm oranları. 50

Tablo 9. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının LC_{50} ve LC_{95} değerleri. 54

Tablo 10. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının yüzde çimlenme oranları. 55

Tablo 11. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının *Sitophilus oryzae* erginleri üzerindeki spor üretimi 56

Tablo 12. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının misel gelişimi üzerine sıcaklığın etkisi 57

Tablo. 13. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının spor üretimi üzerine sıcaklığın etkisi spor üretimi üzerine sıcaklığın etkisi 58

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Entomopatojen fungus enfeksiyonunun şematik gösterimi [15] 7
Şekil 2. *Sitophilus oryzae* (Col: Curculionidae)..... 8
Şekil 3. White tuzağındaki, üzerinde fungus sporulasyonu gerçekleşmiş *Galleria mellonella* larvaları..... 24
Şekil 4. *Galleria mellonella* (L.) larvalarının üretimi 25
Şekil 5. Denemelerde kullanılan böcek yetiştirme kavanozu. 26
Şekil 6. Entomopatojen fungusun *Sitophilus oryzae* 'de enfeksiyon oluşturması 28
Şekil 7. Germ tüpü ve çimlenmiş sporlar. 29
Şekil 8. Adana ve Kahramanmaraş İllerinde örnek alınan yerler ve bulunan entomopatojen fungusların dağılımı. 35
Şekil 9. *Beauveria bassiana* koloni görüntüsü. 36
Şekil 10. Konidial gelişimi oluşturan yapılar.. 36
Şekil 11. *Fusarium* sp. koloni görüntüsü. 37
Şekil 12. Makrokonidi ve mikrokonidiler. 37
Şekil 13. *Purpureocillium. lilacinum* koloni görüntüsü 38
Şekil 14. Konidiofor ve fiyalidler 38
Şekil 15. Entomopatojen fungus izolatlarının tek doz uygulamasında 7. ve 14. gün sonunda *Sitophilus oryzae* üzerinde mikosis oranları (%)..... 43
Şekil 16. *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatının günler ve dozlara göre *Sitophilus* oryzae üzerine ölüm oranları..... 51
Şekil 17. *Beauveria bassiana* (310) izolatının günler ve dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları..... 51
Şekil 18. *Fusarium* sp. (339) izolatının günler ve dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları. 52
Şekil 19. *Purpureocillium lilacinum* (224), *Beauveria bassiana* (310) ve *Fusarium* sp. (339) izolatlarının 7. günde dozlara göre % mikosis değerleri 53

Şekil 20. ***Purpureocillium lilacinum*** **(224),** ***Beauveria bassiana*** **(310) ve** ***Fusarium*** **sp. (339) izolatlarının 14.günde dozlara göre % mikosis değerleri 53**

GİRİŞ

Tahıllar, halkımızın temel besin kaynaklarından olup beslenmede önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde FAO'nun 2015 yılı verilerine göre yaklaşık 14 milyon hektar alanda tahıl ekimi yapılmış ve 34 milyon ton ürün elde edilmiştir. Buğday ve arpa Türkiye`nin her bölgesinde yetiştirilebilmekle birlikte özellikle Orta Anadolu Bölgesi`nde yaygın olarak üretilmektedir. TÜİK`e göre 2015 yılı ekmeklik buğday üretiminde %36`lık pay ile ilk sırada Orta Anadolu Bölgesi yer almaktadır. Orta Anadolu`yu %15 oranıyla Marmara Bölgesi ve %14 oranıyla Güneydoğu Anadolu Bölgesi izlemektedir. Üretimden en az pay %7 ile Doğu Anadolu ve Ege Bölgeleri almaktadır [1].

Ülkemizin vazgeçilmez besin kaynağının eldesinde kullanılan bu ürünler, üreticinin imkanlarına bağlı olarak kısa veya uzun vadeli depolanmaktadır. Ürünler depolama süresince zararlı etmenlerin saldırılarına maruz kalmakta ve bunun sonucu olarak üründe kalite ve kantite kayıpları görülmektedir. Depolarda zarar yapan etmelerin başında gelen böcekler, geçmişten günümüze kadar depolama süresi boyunca zarar meydana getirmiş ve halen yüksek oranda zarar meydana getirmektedir. Depolanmış tahıl ve baklagillerdeki böcek zararının miktarı, modern depolama tekniklerinin uygulanmadığı ülkelerde %10-40 civarındadır [2]. Tahıllarda depolama zararları ve kayıplar, ülkelerin gelişmişliklerine göre değişiklik göstermekle birlikte Türkiye'de ve Dünya'da yıllık yaklaşık %10 civarındadır. Genel olarak ülkemizin depolama şartlarının istenen düzeyde olmaması sebebiyle bu oran bazı depolarda %100'lere kadar varabilmektedir [3]. Depolanmış ürünlere mikroorganizmalar, kemirgenler ve özellikle böcekler zarar vermektedirler. Bu zararlılar gıda maddelerini kemirir, kırar ve yiyerek zarar verirler. Bundan dolayı mahsul ticari değerini ve tohumluk vasfını kaybeder.

Yapılan araştırmalar, zararlılardan dolayı tahıl üretiminde, dünyada yılda ortalama %10 kayıp meydana geldiğini saptamıştır. Depolanan ürünlerde %10 oranındaki bu kaybın, yarısının (%5) böceklerden meydana geldiği belirtilmektedir [4].

Sitophilus oryzae (L.) (Coleoptera: Curculionidae) dünya'nın hemen her yerinde bulunmasına rağmen soğuğa fazla dayanıklı olmadığı için sıcak bölgelerde daha yaygın olarak bulunmakta ve büyük zararlar yapmaktadır. Pirinç, buğday, arpa, mısır, sorgum ve diğer tahıl türlerinde zararlı olmaktadır. Zararı hem ergin hem de larvalar yapmaktadır. Larva tanenin içinde yaşamakta ve iç kısmını yemekte, erginler ise taneyi dışarıdan kemirerek zarar yapmaktadır. Bu zararlı yoğun olduğunda, tanenin sadece parçalanmış kabukları kalmakta, üründe kızışma ve küflenmeye sebep olmaktadır. Ayrıca zarar yaptığı taneler diğer sekonder zararlılar için ortam oluşturmaktadır. Bu tür, kırma ve un mamullerinde de zarar yapabilmektedir [3].

Depolarda meydana gelen bu zararları azaltmak için kültürel, fiziko-mekanik ve kimyasal mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. Bu mücadele yöntemlerinin içerisinde en çok kullanılanı kimyasal mücadeledir. *S. oryzae* ile mücadelede özellikle yüksek miktarda insektisit kullanılmaktadır. Kimyasal mücadelede kullanılan bu insektisitlerin hemen hepsi yurtdışından ithal edilmekte ve ülkemiz ekonomisine oldukça büyük bir mali yük getirmektedir. Ayrıca kimyasalların kullanımları sonucu su kaynaklarının kirlenmesi, toprak kirliliği, kalıntı vb. problemlerle insanoğlu yüz yüze kalmaktadır. Bitkisel üretimdeki öncelikler arasında "sağlıklı ürün" yani zararlı kimyasallarla bulaşmamış ürün anlayışı önemli bir yer tutmaktadır. Yaşadığımız yüzyılda zararlılar ile mücadelede geliştirilecek olan yeni tekniklerin çevreye zarar vermeyen bir yapıda olmasının gerekliliği kabul edilmektedir.

Çevre ve insan sağlığına olan duyarlılığının giderek arttığı günümüz dünyasında, aşırı pestisit kullanımından kaynaklanan birçok olumsuz faktörün ortadan kaldırılması için alternatifler aranmaktadır. Bu alternatifler arasında, entomopatojen funguslar, tarımsal zararlılarla biyolojik mücadelede önemli bir yer tutmaktadır. Mikrobiyal mücadelede, hastalık yapan fungus, bakteri, virüs, nematod ve protozoa gibi pek çok mikroorganizma kullanılmaktadır [5]. Virüsler, çoğunlukla Lepidoptera, Orthoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Diptera takımlarına bulunan böceklerde hastalık meydana getirmektedirler. Böceklere karşı biyolojik mücadelede kullanılan en önemli bakteriler

Serratia, *Esherichia*, *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinsleri içinde bulunmaktadır. Riketziyaların ise entomopatojen olanları *Rickettsiella* ve *Enterella* cinsleridir. Biyolojik mücadelede kullanımı sınırlıdır. Böcek patojeni protozoonların en önemlileri *Gregarine* (Apicomplexa) cinsi ve Mikrosporida takımları içinde bulunur. Böceklerde yaşayan en önemli entomopatojen nematodlar, Heterorhabditidae ve Steinernematidae; entomoparazit nematodlar ise Tetradonematidae, Mermithidae Neotylenchidae, Rhabditidae, Sphaerularidae ve Allantonematidae familyalarında bulunmaktadırlar [6]. En çok bilinen entomopatojen funguslar, *Metarhizium*, *Beauveria*, *Spicaria*, *Entomophthora*, *Lecanicillium* ve Aspergillus cinslerine giren bazı türlerdir [7]. Konukçu özgünlüğü, çevreye ve insan sağlığına zararsız oluşu, ticari preparat halinde kolaylıkla kullanımı gibi avantajları sayesinde son yıllarda pestisitler yerine tercih edilen biyolojik mücadele ajanları olmuşlardır. Funguslar, özellikle Lepidoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Coleoptera, Diptera takımlarında hastalık yaparlar. Böceklerde hastalıklar meydana getiren *Lecanicillium lecanii* (L.), *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplia*, *Isaria fumosorosea* ((Wize) A.H.S. Br. & G. Sm.) türleri biyolojik mücadelede kullanılan önemli fungus türleridir [8] ve geniş coğrafik dağılıma sahiptirler [9].

Bu Yüksek Lisans çalışması ile, Adana İlinde yapılan bir sörvey çalışmasından elde edilen toprak örneklerinden entomopatojen fungus izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen entomopatojen fungusların, *Galleria mellonella* (L.) üzerinde patojenite testi yapılarak patojen olup olmadıkları belirlenmiştir. Patojen olduğu belirlenen fungus izolatlarının teşhisileri, morfolojik olarak yapılmış ve *S. oryzae* (Coleoptera: Curculioniade) üzerinde virülensliği belirlenerek biyolojik mücadelede kullanılabilirliği araştırılmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Entomopatojen Funguslar İle İlgili Bilgiler

Entomopatojen funguslar (EPF), böceklerde hastalık etmeni olan patojenler içinde tür sayısı, geniş konukçu spektrumu, dışarıdan kolaylıkla teşhis edilebilmeleri ve yaygın biçimde gözlenebilmeleri açısından oldukça avantajlı bir gruptur. Bu avantajlarının yanında elde edilen fungus izolatları izole edildiği böcek konukçusunda yüksek patojenite gösterdiğinden izolat bazında oldukça spesifik biyolojik mücadele etmenleridirler ve bu özellikleri biyolojik mücadelede kullanımları açısından grubunun önemini artırmaktadır [10].

Fungusların biyolojik mücadelede kullanımı diğer mikrobiyal etmenlere göre daha avantajlıdır. Çünkü zararlı böcekleri enfekte eden fungusların çeşitliliğinin oldukça fazla olması, fungusların böceklerin farklı dönemlerinde patojen olabilmeleri, biyolojik mücadelede kullanılan fungusların insan sağlığına zarar vermemesi avantajlarından bazılarıdır. Entomopatojen funguslar genellikle 20-25°C sıcaklıkta iyi gelişir. Böceklerde hastalık meydana getirmeleri için yüksek neme ihtiyaç duyarlar [11]. Sıcaklık, ışık ve nem gibi çevresel faktörler fungal patojenitenin oluşmasında etkilidir. Yüksek nemlilik, konukçu kutikulasında çimlenmenin başlaması için gereklidir. Bununla beraber böceklerde enfeksiyona neden olan entomopatojen fungusların düşük

sıcaklık, kuraklık ve besin kıtlığı gibi olumsuz çevre şartlarında hayatta kalmaları biyolojik mücadeledeki önemlerini artırmaktadır [6].

Funguslar genellikle böceklerin tüm gelişme dönemlerini enfekte edebilirler. Bazı fungal patojenler çok geniş konukçu spektrumuna sahiptir. Funguslar insektisitlerle birlikte kullanılabilir. Entomopatojen funguslar böcek kutikulasına tutunma, penetrasyon ve konukçu içerisinde genellikle hemosölde hızlı çoğalmaları ile karakterize edilirler ve doku ve organları istila edip tahrip ederek konukçuda ölümler, yaralanmalar, hastalıklar, halsizlikler meydana getirebilirler. Funguslar özellikle Lepidoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Coleoptera, Diptera takımlarında hastalık yaparlar. Böceklerde hastalıklar meydana getiren *Lecanicillium lecanii* (L.), *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplia*, *Isaria fumosorosea* ((Wize) A.H.S. Br. & G. Sm.) türleri biyolojik mücadelede kullanılan önemli fungus türleridir [8] ve geniş coğrafik dağılıma sahiptirler [9].

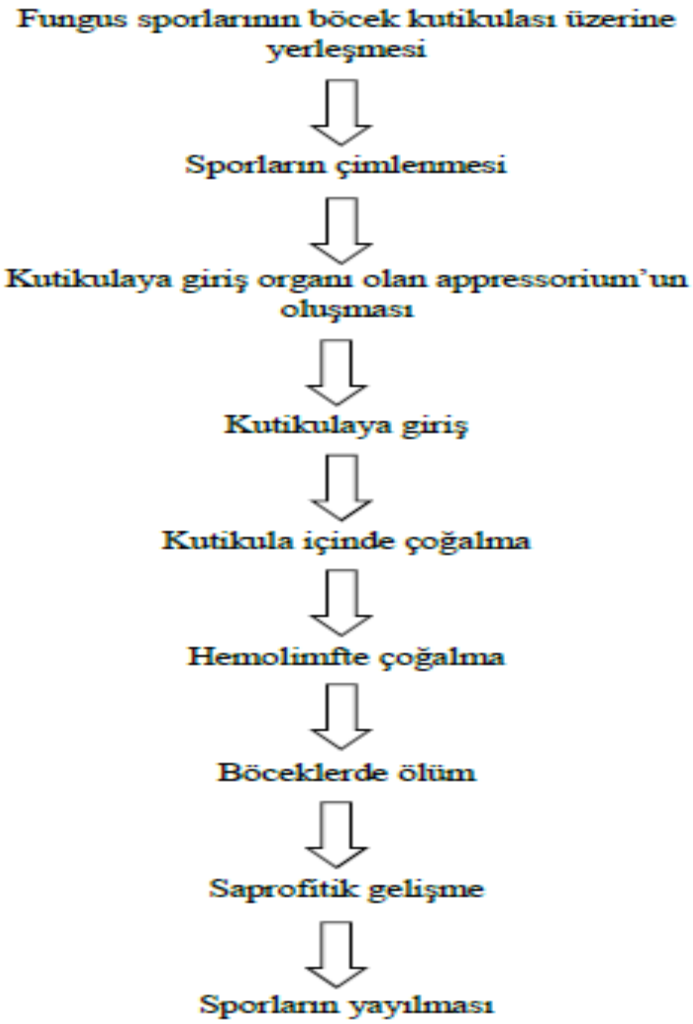
Entomopatojen funguslar hayatta kalabilmeleri için fungus, konukçu ve çevre arasındaki hassas dengeyi korumaya ihtiyaç duyarlar. Enfeksiyona sebep olmak için bakteriler ve virüsler gibi sindirilmeye ihtiyaç duymazlar, doğrudan kutikulaya penetrasyon ile enfekte ederler [10]. Fungusların başarılı bir şekilde geliştirilmesi için çevresel faktörler çok önemlidir. Bütün çevresel faktörler mikopatojenlerin enfekte özelliğini etkiler ve bunlar içerisinde en önemli olanı nem faktörüdür. Eğer nem faktörü çevrede çok düşük ise, böcek fungus tarafından öldürülse de asla dış sporülasyon oluşmaz [12].

Entomopatojen fungusların çoğunda enfektif birim konidi veya sporlardır. Rüzgar ve yağmur gibi etkenlerin yardımıyla konukçu böceğin kutikulası üzerine gelen konidiler uygun çevresel durumlar altında konukçu kutikulası ile bağlantı kurunca kütikulaya giriş organı olan apressoriumdan çimlenme tüpleri ya da enfeksiyon kancası çıkarırlar. Bu yapılar kitinaz, proteaz ve lipaz gibi kutikulayı ayrıştıran kompleks enzimleri salgılar. Bu durum ise, çimlenme tüpünün hemosölde ve yağlı vücutta yayılmasını kolaylaştırır. Aynı zamanda birçok entomopatojen fungus apressorium oluşumu boyunca müsilaj salgılar. Bu musilaj salgısı ise kutikula yüzeyine apressorial yapısının bağlanmasını sağlar. Müsilaj'ın nem çekme özelliği vardır ve elverişli bir çevre ortamı hazırlarlar. Hemosölün içerisinde yayılan hifler besinleri tüketir, çoğalmaya devam eder. Hemosöl içeriği tükenince konukçu böcek ölür ve sonra fungus çimlenir [12].

Uygun çevresel koşullar altında fungus konukçu içinde çoğalır ve kutikula dışına çıkar (Şekil 1). Dışarıda spor ya da benzer yapılar oluşturarak çevreye yayılır. Eğer ortam şartları yayılmaya uygun değilse fungus hayatta kalabilmek için dinlenme evresine geçer. Fungusun çoğalması ve hayatta kalabilmesi konukçu ve çevre bu yüzden çok önemli bir noktayı oluşturur [13].

Biyolojik mücadele etmeni olarak fungusların kullanılmasında bir böceğin davranışları doğrudan etkilidir. Böcek ve entomopatojen fungus arasındaki etkileşimde iki önemli nokta vardır. Bunlardan ilki; hedef böceğin fungal patojeni bulması ve ondan kaçınması, ikincisi ise; konukçu böcekler arasında fungal patojenlerin yayılmasıdır. Böceğin davranışları enfeksiyonun olup olmayacağını etkileyebilir aynı zamanda enfeksiyon oluşma ihtimalini artırıp ya da azaltabilir [14].

Enfeksiyon sürecinde fungal patojenlerin metabolitlerinin de ilgisi vardır. Biyo-krom (örneğin; bassianin ve tenellin) ya da dibezokinin (örneğin; oosporin) gibi pigmentler böcek vücudunda renk değişiminden sorumludur. EPF'lerin çoğunun ürettiği toksinler böcekler için zehir olarak davranırlar ve böceği öldürürler [12].



Şekil 1. Entomopatojen fungus enfeksiyonunun şematik gösterimi [15]

Tahıl ürünlerinde zarar veren ağustos böceği üzerinde enfeksiyona sebep olan yeşil muscardine adında da bilinen *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin ilk kez 19. yy sonlarında tanımlamıştır. Bu elde edilen sonuç sonrasında böceklerin kontrolü çalışmalarında mikroorganizmaların kullanılabileceği öne sürülmüştür. O zamandan beri yüzlerce fungus tanımlanmış ve çeşitli zararlı böcek ve otların biyolojik kontrolünde kullanılmıştır [16].

1.2. Depo Zararlısı *Sitophilus oryzae* (L.) (Col.: Curculionidae) (Pirinç biti) İle İlgili Bilgiler

Sistematikteki yeri:

Şube: Arthropoda

Sınıf: Insecta

Takım: Coleoptera

Familya: Curculionidae

Cins: *Sitophilus*

Tür: *Sitophilus oryzae* (L).

Sinonim: *Calandra oryzae*

Tanımı: Ergin, yumurta, larva ve pupa morfolojik olarak buğday bitine çok benzemektedir (Şekil 2). Erginlerin, her bir elitron'u üzerinde ikişer adet turuncu lekenin bulunması, arka kanatların gelişmiş olması, pronotum'un üzerindeki çukurcukların yuvarlak ve muntazam sıra halinde dizilmesi, ayrıca boyunun 2.5-4 mm ile biraz daha küçük olmasıyla buğday bitinden kolayca ayrılmaktadır [3].



Şekil 2. *Sitophilus oryzae* (Col.: Curculionidae)

Biyolojisi: Bu türün arka kanatları bulunduğu için iyi uçabilmektedir. Bu sebeple dişiler, yumurtalarını tarlada veya depolarda, tanelerde hortumu ile açtığı deliklere bırakarak üzerini jelâtinimsi bir madde ile kapatmaktadırlar. Bir dişi 120–280 adet yumurta bırakmakta, çıkan larvalar tanelerin içerisinde beslenerek olgun hale gelmekte ve burada pupa olmaktadır. Uygun şartlarda gelişme süresini 26–30 gün içerisinde tamamlamakta, erginler ortalama 4–5 ay kadar yaşamakta ve yılda 5–6 döl vermektedir. Soğuk yerlerde generasyon süresi uzamakta ve yılda verdiği döl süresi azalmaktadır [3].

Zararı: Dünya'nın hemen her yerinde bulunmasına rağmen soğuğa fazla dayanıklı olmadığı için sıcak bölgelerde daha yaygın olarak bulunmakta ve büyük zararlar yapmaktadır. Pirinç, buğday, arpa, mısır, sorgum ve diğer tahıl türlerinde zararlı olmaktadır. Zararı hem ergin hem de larvalar yapmaktadır. Larva tanenin içinde yaşamakta ve iç kısmını yemekte, erginler ise taneyi dışardan kemirerek zarar yapmaktadır. Bu zararlı, yoğun olduğunda tanenin sadece parçalanmış kabukları kalmakta, üründe kızışma ve küflenmeye sebep olmaktadır. Ayrıca zarar yaptığı taneler diğer sekonder zararlılar için ortam oluşturmaktadır. Bu tür kırma ve un mamullerinde de zarar yapabilmektedir [3].

Mücadelesi:

Kültürel Önlemler: Ambarda ürüne sağlıklı bir ortam sağlamak amacıyla; kültürel önlemler iki aşamalı olarak uygulamaya konulur.

İlk aşamada ürün ambara konulmadan önceki önlemler uygulanır:

– Ambar eski ürün artıklarından temizlenir.

– Zararlı girişini engellemek üzere pencerelere uygun sıklıkta tel geçirilir.

– Ambar serin, havadar, aydınlık ve aktarmaya olanak verecek şekilde bölmeli olması için gerekli önlemler alınır.

– Ambarın iç ve dış yüzeyleri kireçle badana edilir.

– Ambar zararlılarına konukçuluk edebilecek diğer gıda maddeleri ve eski ürün artıkları ambardan uzaklaştırılır.

– Ambar yüzeylerindeki yarık, çatlak vb. böceklere barınma olanağı sağlayacak girintiler sıva ile kapatılır.

İkinci aşamada ürün ambara alınırken ve alındıktan sonraki önlemler uygulanır:

– Yeni ürün eski üründen ayrı olarak depolanır

– Ürünün nemi %13'ten fazla olmamalıdır

– Ürünün kırıksız olması; taş, toz vb. yabancı madde içermemesine özen gösterilir.

– Ürün çuvallı ise ızgaralar üzerine istiflenir. Dökme ürün ise tek yığın olarak değil, bir kaç yığın halinde ambarlanır. Yığın ve istifler ile duvar arasında 0.5 m aralık bırakılır.

– Ürün ambarda kaldığı sürece, en az 20 günlük aralarla kontrol edilir. Bu kontrollerde, üründe zararlı bulaşması olup olmadığı aranır.

Kimyasal Mücadele:

Hububat ambar zararlıları için 4 ayrı yöntemle kimyasal mücadele uygulanır. Boş ambar ilaçlaması, koruyucu ilaçlama, ürün fümigasyonu ve boşluk ilaçlaması.

Boş ambar ilaçlaması: Kültürel önlemler bölümünde belirtilen ambarın kireçle badana edilmesi işleminden sonra, ambardaki olası bulaşmaları önlemek üzere, ambarlamadan 15 gün önce uygulanır.

Koruyucu ilaçlama: Ürün ambara konulmadan önce, ürünü ambarlama sürecince böceklerden korumak amacıyla uygulanır.

Ürün fümigasyonu: Magnezyum fosfit ve alüminyum fosfit etkili maddeli fümigantlarla yapılan bu ilaçlamada fümigasyon tekniği uygulanır. Bu uygulamada bulaşık ürün gaz geçirmez bir oda ya da çadır altına alınarak bu ortama ekli tabloda belirtilen dozda fümigant verilir ve ürün gerekli süre içinde bu ortamda tutulur. Magnezyum fosfit ve alüminyum fosfit uygulamalarında ise süre çevre sıcaklığına bağlıdır. Bu süre 12–15°C'de 5 gün, 15–20°C ve üstündeki sıcaklıklarda ise 3 gündür.

Diklorvos uygulamalarında bir ton ürüne bir litre ilaçlı su püskürtülerek ürünün üzeri en az 24 saat süreyle kapatılır. Bu uygulamada sıcaklık en az 25°C olmalıdır.

Boşluk ilaçlaması: Un üretilen ya da depolanan birimlerde bulaşma görüldüğünde uygulanır. Diklorvos etkili maddeli preparatların buhar etkisinden yararlanmak amacına yönelik olan bu ilaçlama un üreten ve depolayan birimlerde istif, yığın veya makine aralarındaki boşluklara uygulanır. İlaçlanan birim en az 16 saat kapalı tutulur [3].

1.3. Önceki Yapılan Çalışmalar

Kocatürk ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, Orta Anadolu bölgesinin merkezinde sünelerin kışı geçirdikleri bölgelerde entomopatojen fungusların bu zararlılar üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, sünelerde, *B. bassiana*'nın %77.7-55.8 oranında ölümlere sebep olurken, *Mucor* sp., *Alternaria* sp.ve *Penicillium* sp.'nün düşük oranlarda ölümlere sebep olduğu belirlenmiştir [17].

Cogburn ve ark. (1999)'nın yaptığı çalışmada, *S. oryzae*, *Rhyzopertha domoinica* ve *Tribolium castaneum* erginlerine, *B. bassiana* ile daldırma yöntemi kullanılarak yapılan müdahalede, erginlerde %80-100 arasında ölümler olmuştur. Yeni böcek çıkışlarında ise %83-99 oranında azalmalar olmuştur [18].

Bello ve ark. (2000)'nın yaptığı çalışmalarda *S. oryzae'*ye karşı *Metarhizium anisopliae* ve *B. bassiana* izolatları kullanılmıştır. Ergin ölüm oranları *M. anisopliae* izolatları ile %97.5 olmuş *B. bassiana* ile ise %74.8 olarak kaydedilmiştir [19].

Padin ve ark. (2002)'nın yaptığı çalışmalarda, makarnalık buğday ve fasulyede kayıplara sebep olan *T. castaneum*, *S. oryzae*, *Acantoscelides obtectus* türlerinin nüfuz ettiği pirinçler, herhangi bir şey uygulanmadan *B. bassiana* izolatları ile muamele gördükten sonra tartılmıştır. *B. bassiana* ile dane kayıp ağırlıklarının azaltıldığı ve ürün ağırlığında %81.5 artış olduğu saptanmıştır [20].

Shtayeh ve ark. (2003)'nın dokuz aylık bir çalışma periyodunda, sulanmış bitki tarlalarında ve orkidelerin yetiştiği topraklarda entomopatojenik funguslar, *Galleria* tuzak metodu kullanılarak incelenmiştir. Toprak örnekleri çalışmasında %33.6 oranında entomopatojenik fungusların oluştuğu belirlenmiş ve bunlar içerisinde ise en yaygın olarak *Conidiobolus coronatus* (Costantin) bulunmuştur. Tarla çalışmasında bulunan entomopatojenik fungusların izolasyonu üzerinde, toprağın organik içeriği ve vejetasyon tipinin önemli birer özellik olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışma

sonucunda *C. coronatus*'un tarımda biyolojik mücadele için iyi bir aday olabileceği ortaya konulmuştur [21].

Keller ve ark. (2003), iki yıl boyunca, seçici besiyeri ve *Galleria* tuzak metodu ile, İsviçre'nin kuzey, doğu, merkez ve güney batısındaki 82 alandan topladıkları toprak örneklerinden entomopatojen fungus izolasyonu yapmışlardır. İki metodun da izolasyon oranları birbirine oldukça benzese de, *Galleria* metodunun fungus izolasyonunda daha hassas olduğu vurgulanmıştır. Toprak alanların %96'sında *M. anisopliae* izole edilmiş, *B. brongniartii* sadece konukçu böceği olan *M. melolontha*'nın kolonize olduğu alanlar ile sınırlı kalmıştır. Ayrıca, *B. bassiana*, *Isaria fumosorosea* (Wize) ve *Conidiobolus* sp. gibi entomopatojenler de topraktan izole edilmiştir [22].

Asensio ve ark. (2003)'nın farklı ekosistemlerin toprakta bulunan entomopatojenik funguların bulunmasına etkisini araştırmak için İspanya'nın güneydoğu bölgesindeki Alicante ilinde yaptıkları çalışmada; orman, ekin alanı, doğal ortam ve bahçelerden 61 toprak örneği alınmıştır. Böcek patojenlerinden en çok entomopatojen funguslara rastlanmış (%32.8) ve bu funguslar arasında en sık *B. bassiana* (%21) gözlenmiştir. *M. anisopliae* (%6.4) ve *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) (%4.8) türlerine daha az rastlanmıştır [23].

Batta (2004)'nın yaptığı çalışmalarda, *M. anisopliae'*nin kül, tebeşir tozu ve kömür ile yapılan çeşitli formulasyonları, ergin böcekleri önemli oranlarda öldürmüştür. Ergin böcek ölümleri, *S. oryzae*'de %98.2 oranında olmuştur [24].

Kavallieratos ve ark. (2004)'nın yaptığı çalışmalarda diatom tozu ile birlikte kullanılan *M. anisopliae* formulasyonları, buğday deposuna püskürtme yöntemi kullanılarak uygulanmıştır. Bir başka depoya da diatom tozu olmayan *M. anisopliae* uygulanmış bu sayede *T. confusum, R. dominica, S. oryzeae* türlerinin erginlerinde %82-100 ölümler görülmüştür [25].

Lord (2005) yaptığı çalışmalarda, diatom tozu ile birlikte *M. anisopliae* formulasyonlarını buğday depolarına uygulamıştır. Bir başka depoya da diatom tozu olmadan *M. anisopliae* uygulamıştır. Bu sayede *R. dominica, S. oryzae, T. confusum* erginlerinde ölümler olmuştur. Yalnızca *M. anisopliae*, depoların tüm yüzeyine püskürtme yöntemi ile uygulanmış ve %58-72 ölümler olmuş; diatom tozu ve *M.*

anisopliae formulasyonu da aynı yöntemle uygulanmış ve %84-92 ölümler olmuştur [26].

Cherry ve ark. (2005)'nın yaptıkları çalışmada, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* 'nin 12 yerli izolatının virülenslikleri *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) üzerinde değerlendirilmiştir. LC_{50} değerleri, $1x10^8$ konidi/ml dozunda süspansiyon içinde daldırılıp 3., 6. ve 12. günde sayılarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak ***B. bassiana*** 0362 ve ***M. anisopliae*** 0351 izolatları etkili bulunmuştur [27].

Şahin (2006) yaptığı çalışmada, Kürtül, Karacasu ve Şekeroba yörelerinden alınan topraklardan, *G. mellonella* ve *T. pityocampa* larvaları kullanılarak tuzak böcek yöntemi ile izolasyon sonucunda, toplam 35 entomopatojen fungus elde etmiştir. Bunların 16 tanesi *Paecilomyces* cinsine, 19 tanesi *Beauveria* cinsine aittir [28].

Athanassiou ve Steenberg (2006)'in yaptığı çalışmalarda, *B. bassiana*'yı *S. granarius*'a karşı 2 farklı nem, 3 farklı sıcaklık koşullarında kullanmışlar ve 7. günün sonunda ölüm oranını belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda en yüksek ölüm oranı, 25ºC ve %55 oransal nemde gerçekleşmiştir. %75 nemde daha yüksek ölüm oranı elde edilmiştir. Ancak hiçbir uygulamada %50'nin üzerine çıkılmamıştır [29].

Hansen (2007) yaptığı bir çalışmada; *S granarius*'a karşı *B. bassiana*'yı test etmiştir. *S. granarius* ile bulaşık buğday depoları 2 farklı alanda incelenmiştir. Hiçbir etkili madde uygulanmayan ünitede böcek sayısının 5000 kat arttığı gözlenmiştir. *B. bassiana* ile püskürtme yöntemi kullanılarak müdahale edilen ünitede ise, böcek erginlerinde %83-98 ölümler gerçekleşmiştir [30].

Kıvan (2007), laboratuar şartlarında süne, *Eurygaster integriceps* Puton, erginleri üzerinde yapmış olduğu çalışmalarda 4 tane *B. bassiana* ve 1 tane *M. anisopliae* var *anisopliae* izolatlarını denemiştir. *B. bassiana* izolatlarından biri Tekirdağ orijinli diğer üçü ise ARSEF koleksiyonundan (5665, 1394, 6444) temin edilmiştir. Her bir izolatın tek dozu (10^6) erginlere 5 saniye süre uygulanmıştır. *B. bassiana*'ya maruz kalan süne erginlerinin %82.5'inin, *M. anisoplia*'ya maruz kalan süne erginlerinin ise %100'ünün 8 gün sonra öldüğü tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile uygulama grubu arasında istatiksel olarak fark olduğunu gözlemlenmiştir. Bu çalışma, Kahramanmaraş ilinde süneye karşı entomopatojen fungusların uygulanabilirliği hakkında umut vermiştir [31].

Thungrabeab ve Tongma (2007) yaptıkları çalışmada, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* gibi entomopatojenik fungusların, doğal düşmanlar ve faydalı toprak böcekleri gibi hedef olmayan böcekler üzerine etkilerini incelenmiştir. Yapılan çalışmada konidi süspansiyonun son konsantrasyonu $1x10^8$ olarak ayarlanmıştır. *Coccinella semptempunctata* (L), *Chrysoperla carnea* (Stephens)'nın 1. dönem larvaları ve *Dicyphus tamaninii* (Him., Mirida), *Hemicoelus nitidus* (Fabricius)'un erginleri test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara *göre B. bassiana*'nın faydalı toprak böceklerine ve doğal düşmanlar üzerine patojenitesinin olmadığı belirlenirken, *M. anisopliae'* nin doğal düşmanlara %4 oranında patojenite gösterdiği belirlenmiştir [32].

Moraga ve ark. (2007)'nın yaptığı çalışmada, İspanya'da doğal toprak ortamları ve kültür yapılan bölgelerden 244 toprak örneği alınarak entomopatojen fungusların oluşumları ve dağılımları araştırılmıştır. Alınan toprak örneklerinin 175'in de %71.7 oranında EPF izole edilmiş ve bu izolasyonda sadece *B. bassiana* ve *M. anisopliae* bulunmuştur. 204 toprak örneğinin 104'ün de *B. bassiana* (%42.6), 18'in de *M. anisopliae* (%7.3) ve 53 toprak örneğinde ise %21.7 oranında her iki fungus türü bulunmuştur. Habitat tipine bakmaksızın, *B. bassiana, M. anisopliae'* ya göre yüksek kil ve pH içerikli ve düşük organik madde içerikli topraklarda bol miktarda bulunmuştur. [33].

Er ve ark. (2008) doğu Akdeniz bölgesinde 2004-2005 yıllarında coccinellidlerin doğal hastalık etmeni olan entomopatojen fungusları belirlemek üzere çalışma yürütmüşlerdir. Coccinellidlerin patojenleri olarak *Beauveria* ve *Paecilomyces* türleri saptanmıştır [34].

Sun ve Liu (2008)'nin yaptığı çalışmada, Çin'in farklı bölgelerindeki orman ve dağlardan örneklenen topraklardan 6 EPF türü; *B. bassiana, M. anisopliae* var. *anisoplia, L. lecanii, I. farinosus, I. fumosoroseus* ve *Tolypocladium inflatum* (Rostr.), izole edilmiş ve en yaygın olanları *B. bassiana, M. anisopliae* var. *anisoplia* ve *I. farinosus* olarak gözlenmiştir [35]. Ayrıca Sun ve ark. (2008)'nın Çin'in tarla bitkileri alanlarında ve meyve bahçelerinde yaptıkları araştırmada, en çok *B. bassiana, M. anisopliae* var. *anisoplia* ve *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) türlerine rastlanmıştır [36].

Sun ve ark. (2008), iki farklı toprak habitatından (tarla ve orkideler) alınan topraklarda toplamda 29 tür izole etmiş ve tanımlamıştır. Tarla topraklarından 25 tür, orkidelerinin

olduğu topraklardan ise 20 tür izole edilmiştir. Yaygın böcek patojeni türler olan *B. bassiana, M. anisopliae var. anisopliae* ve *I. fumosoroseus* türlerinim her iki habitattan da izole edilmesine rağmen, *B. bassiana* ve *I. fumosoroseus* türleri orkide ürünlerinin olduğu toprakta daha fazla bulunmuş ve *M. anisopliae var. anisopliae* ise daha çok tarla topraklardan izole edilmiştir. EPF'ların yanında fırsatçı bir patojen olan *Mucor* spp. tarla ürünlerinin olduğu topraklarda çok bulunmuştur [36].

Batta (2008)'nın yaptığı çalışmalarda, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* funguslarının çeşitli formulasyonları, ergin *R. dominica, S. oryzae, T. castaneum* türlerine karşı uygulanmış ve ölüm oranları karşılaştırılmıştır. *R. dominica*'da, %43-78, *S. oryzae*'de %85 -96, *T. castaneum*'da %47 -86 ölümler görülmüştür [37].

Er ve Mart (2009), Kahramanmaraş bölgesinde (Türkoğlu, Göksun, Sekeroba, Elbistan, Pazarcık) 2003-2005 yıllarında toplanan böceklerden ve toprak örneklerinden, tuzak böcek (*G. mellonella* larvası) yöntemi ile entomopatojenik fungusların belirlenmesine yönelik çalışma yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda, yaprak bitlerinde *Pandora* sp. Humber (Entomophthoraceae), *Hypera postica* (Gyll.) (Curculionidae: Coleoptera) larvalarında *Zoophthora* sp. Batko (Entomophthoraceae) ve *H. postica* erginlerinde *Beauveria* sp. cinsine ait funguslar belirlenmiştir. Toprak örneklerinden en çok *Beauveria* cinsine ait funguslar ile *Isaria* (=*Peacilomyces*) ve *Metarhizium* cinsine bağlı entomopatojenik fungusların izolasyonu yapılmıştır [38].

Kılıç ve ark. (2009), seralarda ve tarım arazilerinde zararlı olan beyazsinek, *Bemisia tabaci* Gennedius, (Homoptera: Aleyrodidae)'ye karşı kimyasal pestisit (cypermethrin) kullanımına alternatif olabilecek mücadele yöntemlerini araştırmak için, 15 *B. bassiana* izolatını denemişlerdir. Bu izolatlardan 10 tanesi Türkiye'nin çeşitli bölgelerindeki topraktan (Tokat, Erzurum ve Kayseri) izole edilmiş, 5 tanesi ise ARSEF–USA'den temin edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, *B. bassiana*'nın beyazsineğin kontrolünde cypermethrin'e göre etkisinin az olduğu, fakat farklı entomopatojenik fungus ve izolatların denenmesi ile alternatif bir kontrol ajanı bulunabileceğini belirtmişlerdir [39].

Sevim (2010)'in yaptığı çalışmada, fındık yetiştiriciliğinin çok olduğu arazilerde entomopatojenik fungusların topraktaki dağılımını belirlemek için *Galleria* larvaları kullanılmıştır. Bu çalışma sonucunda, örneklenen toprakların %20.6'sında

entomopatojenik fungus bulunmuştur. Morfolojik, ITS dizileri, 18S ve EF1-α genleri temel alınarak yapılan çalışma sonucunda, *B. bassiana*, *B. bassiana* cf. *bassiana*, *M. anisopliae* var. *anisoplia*, *Metarhizium* sp., *I. fumosoroseus* ve *Evlachovaea* sp. türleri teşhis edilmiştir. Bu funguslar fındıkta önemli zararlı olan *Melolontha melolontha* (L.)'a karşı test edilmiş ve tüm fungusların patojenik olduğu fakat *M. anisopliae* var. *anisoplia* ve *Evlachovaea* sp. insektisit aktivitesinin daha çok olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda *M. melolontha*'ya karşı entomopatojenik fungusların iyi bir biyolojik kontrol ajanı olabileceği vurgulanmıştır [40].

Ahmed (2010) yaptığı çalışmada, *S. zeaamais*'e karşı *Lecanicillium lecanii*, *Isaria fumosarosea*, *M. anisopliae* entomopatojen funguslarını kullanmıştır. *Lecanicillium lecanii*, *Isaria fumosarosea*, *M. anisopliae* türleri ile 3 farklı doz hazırlanmış ve bu böceğin erginlerine daldırma yöntemi ile muamele edilmiştir. Bütün bu formulasyonların yeterli düzeyde, bazen %100'lere varan, öldürücü etkiye sahip olduğu belirtilmiştir [41].

Pedrini ve ark. (2010)'nın yaptığı çalışmada, *T. Castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) ve *Ulomoides dermestoides* (Fairmaire) (Coleoptera: Tenebrionidae) erginlerine karşı, *B. bassiana*, $1x10^6$, $1x10^7$, $1x10^8$ ve $1x10^9$ konidi/ml dozlarında uygulanmış ve 14 gün sonunda kümülatif ölüm oranları hesaplamıştır. Analizler neticesinde, *T. castaneum* erginlerine yapılan uygulamada, $1x10^6$, $1x10^7$, $1x10^8$ ve $1x10^9$ konidi/ml dozlarında sırasıyla ölüm oranları; %0, %0, %0 ve %4 olarak hesaplanmıştır. *U. dermestoides* erginlerine yapılan uygulamada, $1x10^6$, $1x10^7$, $1x10^8$ ve $1x10^9$ konidi/ml dozlarında ise sırasıyla ölüm oranları, %0, %7, %13 ve %11 olarak belirlenmiştir [42].

Wakil ve Ghazanfar (2010) yaptıkları çalışmada, *M. anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes)'nin patojenik etkisini değerlendirmek için *R. dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) bireylerini kullanmışlardır. $8x10^3$, $8 x10^5$, $8x10^7$ ve $8x10^9$ konidi/kg dozlarında 25°C ve %60 nemde denemeleri kurarak, 7 ve 14. günde sayımlar yapmışlardır. Çalışma sonunda denemelerin başarılı olduğunu ve *M. anisopliae*'nin yüksek dozlarının entegre mücadele çalışmalarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir [43].

Khashaveh ve ark. (2011) yaptığı çalışmada depo zararlıları *O. surinamensis*, *S. granarius*, *T. castaneum* karşı *B. bassiana*'yı kullanmıştır. Böceklerin kimyasal pestisit

kullanılarak mücadelesi yerine çeşitli mikrobiyal pestisitlerin kullanılmasıyla kontrolüne yönelik bu çalışmada, *B. bassiana* daldırma yöntemi ile kullanılarak, böceklerin erginleri %68-92 oranında azaltılmış ve gözle görülür sonuçlar oluşturmuştur. *B. bassiana*'nın $2x10^9$ konidi/ml dozu *T. castaneum* erginleri üzerinde denenmiştir. 5., 10. ve 15. günlerdeki sayım sonuçları kaydedilmiş, LC_{50} ve LC_{95} (mg kg^{-1}) değerleri hesaplanmıştır. Beşinci gün değerleri sırasıyla 2568.11 ve 16.149.5, 10.gün değerleri sırasıyla 1166.47 ve 10055.4, 15.gün değerleri sırasıyla 747.74 ve 4186.8 mg kg^{-1} olarak hesaplanmıştır [44].

Mahdneshin ve ark. (2011)'nın yaptığı çalışmada, *B. bassiana* ve *M. anisopliae'nin* beş farklı İran izolatının patojenisitesi, laboratuar şartlarında 27 ± 1 ° C ve % 60 ± 5 bağıl nemde daldırma yöntemiyle *Callosobruchus maculatus* erginlerine karşı, 1.9×10^7, 9.8×10^6, 2.4×10^7, 2.6×10^8 ve 1.2×10^8 konidi/ml dozlarında değerlendirilmiştir. *B. bassiana* uygulamasından 11 gün sonra börülce böceğinin kümülatif mortalitesi % 86.2, %88.3, %96.3, %84.4 ve %80.9 oranlarında değişiklik göstermiştir. En yüksek ölüm oranı, *B. bassiana* İRAN 441C izolatında elde edilmiştir [45].

Muştu ve ark. (2011) *Isaria farinosa* (Holm ex S. F. Gray) ve *B. bassiana* izolatlarını, $1x10^6$ ve $1x10^8$ konidia konsantrasyonunda, %70 ve %95 nemde, *Aelia rostrata* Boh. (Hemiptera: Pentatomidae) üzerinde test etmiştir. Yapılan çalışma, 27±1 sıcaklığında, 16 saat ışık, 8 saat karanlık periyodunda yapılmış ve 6, 9, 12. günler sonunda ölüm oranları belirlenmiştir. Deneyler sonucunda entomopatojenlerin her ikisi de, %95 nem ve $1x10^8$ konidi konsantrasyonunda en etkili sonuca vermiştir. *I. farinosa* %70 nem faktörü altında 12. günün sonunda ölümlere sebep olurken, *B. bassiana* 9. günün sonunda %100 ölümlere sebep olmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda, *A. rostrata* üzerine yapılan çalışmada, *B. bassiana*'nın, *I. farinosa*'ya göre daha etkili olduğu belirlenmiştir [46].

Medo ve Cagan (2011), Slovenya'da 2008 yılında entomopatojenik fungusların varlığını belirlemek amacı ile 901 toprak örneği almış ve *G. mellonella* tuzak metodu ile Dodin ve siklohekzilamin içeren seçici ortam (SM) kullanarak EPF'ları izole etmiştir. *G. mellonella* ile yapılan yöntemde dört tür; *B. bassiana* (örneklerin %31'inde), *M. anisopliae* (örneklerin %8'inde), *I. farinosa* (örneklerin %6'sında) ve *I. fumosorosea* (örneklerin %6'sında); SM ile yapılan yöntemde ise üç tür; *B. bassiana* (örneklerin %

36'sında), *M. anisopliae* (örneklerin 37'sinde) ve *I. fumosorosea* (örneklerin %9'unda) bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre *B. bassiana,* farklı habitatlarda sıkça bulunmasına rağmen, ormanlık bölgeler gibi doğal habitatlarda daha bol bulunmuştur. *I. farinosa,* orman habitatlarında oldukça sınırlı bulunurken, *I. fumosorosea* çit topraklarından alınan toprak örneklerinde bol miktarda bulunmuştur. *M. anisopliae* tarla ve çayır örneklerinden alınan topraklarda daha bol bulunmuştur. *B. bassiana* ve *I. farinosa'*nın bulunmasında düşük toprak pH'sı önemli faktördür. Her iki fungus türü de yüksek organik içerikli topraklarda bolca bulunmaktadır [47].

Zamani ve ark. (2013)'nın yaptığı çalışmada *B. bassiana* 'nın $1x10^6$ ve $1x10^8$ konidi/ml dozları, *T. castaneum*'a uygulanmıştır. 5, 7 ve 9.günlerde sayımlar yapılarak % ölüm oranları hesaplanmıştır. Sonuç olarak; $1x10^6$ konidi/ml dozunda, günlere göre % ölüm sırasıyla; %18.33, %23.09 ve %30.71; $1x10^8$ konidi/ml dozunda günlere göre % ölüm sırasıyla; %21.66, %25.98 ve % 37.77 olarak hesaplanmıştır [48].

Bayrak ve ark. (2015)'nın yaptığı çalışmada, *B. bassiana* ve *Fusarium* sp.'nün biyolojik etkinliği, *S. granarius, Lasioderma serricorne, Acanthoscelides obtectus* erginleri üzerinde laboratuar şartlarında karşılaştırılmıştır. $1x10^6$, $1x10^7$ ve $1x10^8$ konidi/ml dozları uygulanmış olup, sayımlar inokulasyonu takiben 7 ve 14. günde yapılarak ölüm oranları hesaplanmıştır. 14. günde $1x10^8$ konidi/ml dozunda yüzde ölüm oranları *B. bassiana* için sırasıyla, %7.5, %95 ve %98.8; *Fusarium* sp. için sırasıyla, %7.5, %100 ve %86.3 olarak hesaplanmıştır. LC_{50} değerleri *B. bassiana* için sırasıyla, 429, 101 ve 349, *Fusarium* sp. için sırasıyla; 400, 251 ve 390 konidi/ergin olarak belirlenmiştir [49].

Karabulut ve ark. (2016)'nın yaptığı çalışmada, *T. confusum*'a karşı *B. bassiana* ve *Fusarium* sp. izolatlarını, $1x10^7$ konidi/ml dozunda kullanmıştır. Sayımlar 7, 14 ve 21. günde yapılarak % ölüm oranları hesaplanmıştır. *B. bassiana* kontrolden farklı bir etki göstermemiştir. *Fusarium* sp. 21. günde %63.3 ile en yüksek ölüm oranını oluşturmuştur [50].

Yalçın ve ark. (2016), Tokat ilindeki tarla topraklarından izole edilen 38 entomopatojen fungusu ve 1 ticari izolat *B. bassiana* strain Bb-1 (%1.5)'i, pirinç biti *S. oryzae* (L.)' ye karşı 1×10^7 konidi/ml dozunda uygulamıştır. Ölüm oranları 1., 3. ve 5. günlerde kaydedilmiştir. 14. günde mikosis oranları kaydedilmiştir. Beşinci günde GOPT-138-2, GOPT-64, GOPT-41-1 ve GOPT-355 kodlu izolatlar sırasıyla %79.5, 75, 68.2 ve 68.2

ölüm oranına neden olmuştur. Mikosis oranı 14. günün sonunda, en yüksekten düşüğe doğru sırasıyla, GOPT-114 (%78.95), GOPT-161 (%78.57), GOPT-302 (%70.27), GOPT-19(2)-1 (%70), GOPT-297 (%67.78), GOPT 332 (%65.97), GOPT-167 (%61.54), GOPT-458 (%60) ve GOPT-41-1 (%42.50) kodlu izolatlar için hesaplanmıştır [51].

Polat ve ark. (2016), Tokat ilinden izole edilen *B. bassiana* entomopatojen fungusuna ait 18 izolatı, *S. granarius* üzerinde $1x10^7$ konidi/ml dozunda denemiştir. Ölüm oranları 5., 7. ve 9. günlerde kayıt edilmiştir. 7. ve 14. günlerde mikosiz oranları kaydedilmiştir. Dokuzuncu günde GOPT-332, GOPT-127, GOPT-250 kodlu izolatlar sırasıyla %44, %42 ve 38 ölüm oranına neden olmuştur. En yüksek mikosiz oranı 14. günün sonunda, GOPT-89, GOPT-250, GOPT-245 kodlu izolatlarda sırasıyla %75, 67.7, 59.9 olarak elde edilmiştir ve bunu %52.8 ile GOPT-460 kodlu izolat takip etmiştir [52].

Atay ve Yanar (2016)'ın yaptıkları çalışmada, *S. granarius* ve *Gonioctena fornicata*'dan izole edilen 13 entomopatojen fungus izolatının buğday biti *S. granarius* (L.) üzerindeki etkinliği, 1×10^8 konidi/ml dozunda incelenmiştir. Ölüm oranları 1, 3, 5, 7, 9 ve 14. günlerde kaydedilmiştir. 7 ve 14. günlerde mikosis oranları kaydedilmiştir. En yüksek ölüm oranı 14. günde HP-30 (78,3) izolatında elde edilmiş ve bunu sırasıyla GN8-1(%76.7), GN20-2 (%71.3), GN23 (%69), GN8-1(2) (%60±6.83) izolatları takip etmiştir. En yüksek mikosis oranı (%100) 14. günün sonunda GN5-2 ve HP22-1 kodlu izolatlarda elde edilmiştir ve bunu GN20-2 (%97.7), GN8-1 (%96.7), GN23 (%95.2), GN8-1(2) (%92.9) ve HP30 (%87.5) nolu izolatlar takip etmiştir. Çalışma sonucunda *S. granarius*'un başta HP-30 (%78.3), GN8-1 (%76.7) ve GN20-2 (%73.3)'ye karşı olmak üzere, entomopatojenik fungus enfeksiyonlarına hassas olduğu ortaya konulmuştur [53].

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Araştırma mikroskobu, iklim kabini, inkübatör, etüv, otoklav, steril kabin, derin dondurucu (-20ºC), hassas terazi, buzdolabı (+4ºC), saf su cihazı, buz kutusu, thoma lamı, cam kavanoz, tül, paket lastiği, boru kelepçesi, mikro pipet, pipet ucu, kurutma kağıdı, lam, lamel, Petri kabı, falkon tüpü, vortex, beher, alüminyum folyo, çelik tencere, pamuk, plastik numune kapları ve erlenmayer tez çalışmasında kullandığımız alet ve cihazları oluşturmuştur.

2.2. Kullanılan Besi Yerleri ve Çözeltilerin Hazırlanışı

Araştırma süresince kullanılan besi yerlerinin ve çözeltilerin hazırlanışı ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir:

PDA (Patato Dextrose Agar; Merck): 39 g/L olacak şekilde saf su içinde ısıtılarak eritilmiş, 121ºC'da otoklavda 15 dakika sterilize edilip ve steril Petri kaplarına dökülmüştür.

SDA (Sabouraud %2 glucose Agar; Merck): 47 g/L olacak şekilde saf su içinde ısıtılarak eritilmiş, 121ºC'da otoklavda 15 dakika sterilize edilip ve steril Petri kaplarına dökülmüştür.

Galleria mellonella üretimi için besin ortamı: Bronskill (1961)'den uyarlanan yöntem kullanılmıştır. 300 g mısır unu, 200 g süttozu, 200 g soya unu, 400 g kepek geniş bir

kapta karıştırılmıştır. 400 g bal, 400 g gliserin, 100 g maya büyük çelik tencereye konulmuş ve düşük sıcaklıkta maya eriyene kadar karıştırılmıştır. Sonra üzerine toz karışım eklenmiş iyice karışıncaya kadar karıştırılmıştır. Bir litrelik cam kavanozların 1/3'üne kadar besin konulmuş ve soğuduktan sonra buzdolabında saklanmıştır [54].

NaOCl %1: 100 ml distile suya 1 ml sodyum hipoklorit konularak solüsyon hazırlanmıştır. Böcek kadavralarının yüzeysel dezenfeksiyonu için kullanılmıştır.

Ethanol %70: 100 ml distile suya 70 ml Ethanol konularak solüsyon hazırlanmıştır. Yüzey ve aletlerin dezenfeksiyonu için kullanılmıştır.

2.3. Entomopatojen Fungus, *Sitophilus oryzae* ve *Galleria mellonella* Erginleri

Çalışmalarda kullanılan EPF'ler, (9 adet *Fusarium* sp., 3 adet *Beauveria bassiana* ve 1 adet *Purpureocillium lilacinum*) Adana topraklarında yürütülen sörvey çalışmaları sonucunda elde edilmiştir. Denemelerde kullanılan *S. oryzae,* Kahramanmaraş Sütçü imam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Ali Arda Işıkber'den ve *Galleria mellonella,* Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Alper Susurluk'tan temin edilmiş ve Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde kültüre alınmıştır.

2.4. Entomopatojen Fungusların Topraktan İzolasyonu

Adana İlinde Eylül-Ekim-Kasım ve Mart-Nisan-Mayıs aylarında araziler gezilmiş, toprak sıcaklığının 10°C'nin üzerine çıktığı zamanlarda [55], 15-20 cm derinlikten, paçal yapma yöntemiyle toprak örnekleri alınmıştır. Sadece bir adet toprak örneği, Kahramanmaraş, Afşin, Alipınar yolundan bir çalışma dönüşü şeker pancarı yetiştirilen tarladan alınmıştır. İzole edilen entomopatojen funguslara kodlar verilmiştir (Tablo 1). Gezilen alanlar ile ilgili GPS bilgileri kaydedilmiştir (Ek-1). Belirlenen lokasyonlar çerçevesinde; çayır-mera, sebze, bahçe bitkileri/bağ, tarla bitkileri ve orman habitatlarından toprak örnekleri alınmıştır. Arazinin 6-8 farklı yerinden alınan toprak örnekleri karıştırılarak yaklaşık 1 litrelik toprak örneği plastik kaplara konularak, buz kutusu içerisinde laboratuara getirilmiştir.

Laboratuara getirilen toprak örneklerinden EPF'lar, *Galleria* tuzak yöntemi ile izole edilmiştir. Bu işlem için 4-5. dönem mum güvesi (*Galleria mellonella* (Lepidoptera:

Pyralidae)) larvaları kullanılmıştır. Bir litrelik plastik kaplar içerisindeki toprağa 7 adet *G. mellonella* larvası yerleştirilmiştir. Kaplar inkübatörde (25±2°C) 10 gün bekletilerek her 3 günde bir incelemeye tabi tutulmuştur [56, 57]. İnceleme sonucu, öldüğü tespit edilen larvalar, fungal gelişim gerçekleşmeden önce White Tuzağı [58]'ından uyarlanan bir tuzak üzerine yerleştirilmiştir [59]. Bu tuzağı oluşturmak için, orta boy (9 cm çaplı) Petri kaplarının içerisine küçük boy (6 cm çaplı) petri kabı konularak üzerine 7 cm çapında filtre kağıdı yerleştirilmiştir. Petri kaplarına 15-20 ml saf su ilave edildikten sonra, küçük petri kaplarının üzerindeki filtre kağıtlarına ölü larvalar konulmuştur (Şekil 3). Larvalar bu tuzakta 10-12 gün bekletilerek sporulasyon gerçekleşen ölü böcekler, %1'lik sodyum hipoklorit solüsyonuyla 3 dk. yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra, 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Kadavralar yüzey sterilazisyonundan sonra, kurutma kağıdı üzerine alınarak kurumaları için beklenmiştir.

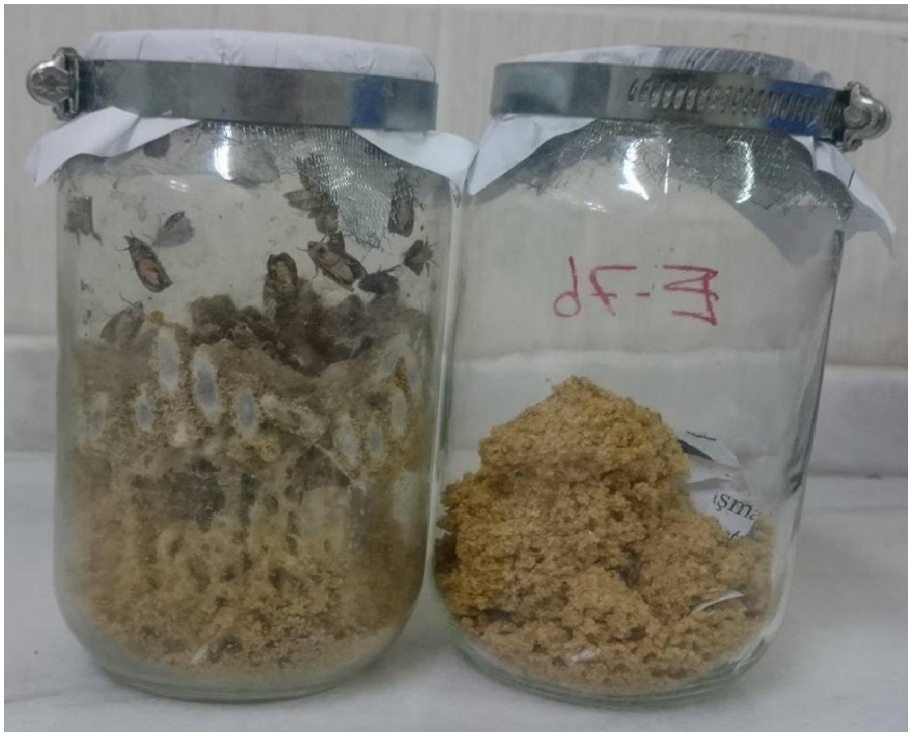
Daha sonra bu kadavralardan, içerisinde Potato dextrose agar ve Sabouraud %2 glucose agar bulunan Petri kaplarına ekim yapılmış ve Petriler 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır [60]. İnkübasyon neticesinde fungal gelişme görünen örneklerden öze yardımı ile fungusların saflaştırılması gerçekleştirilmiştir [61]. Elde edilen bu saf entomopatojen fungusların, *Galleria mellonella* (L.) üzerinde patojenite testi yapılarak patojen olup olmadıkları belirlenmiştir. Patojen olduğu belirlenen fungus izolatlarının teşhisleri, morfolojik olarak yapılmış ve kültürleri buzdolabında (4°C) saklanarak, her 2-3 ayda bir yenilenip canlı olarak elde tutulması sağlanmıştır.



Şekil 3. White tuzağındaki, üzerinde fungus sporulasyonu gerçekleşmiş *Galleria mellonella* larvaları

2.5. *Galleria mellonella* (L.) Larvalarının Üretimi

Topraktan entomopatojen fungus izole etmek amacıyla kullanılacak *G. mellonella* larvalarının kültürü, Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde oluşturulmuştur. *G. mellonella* erginleri, 27±2°C'de %60.5 nispi nemdeki kültür kavanozlarına alınmış ve kelebeklerin yumurta bırakabilmeleri için kavanozlara kâğıtlar yerleştirilmiştir (Şekil 4). Elde edilen yumurtalar kavanozlar içerisindeki besi ortamına yerleştirilerek larvaların gelişmesi beklenmiştir. Böylece *G. mellonella* larvalarının 4.ve 5. evreye gelmiş bireyleri topraktan fungus izole etmek için kullanılmıştır [62].



Şekil 4. *Galleria mellonella* (L.) larvalarının üretimi

2.6. Pirinç Biti, *Sitophilus oryzae* Kültürü

Sitophilus oryzae erginlerinin yetiştirilmesinde 1 litrelik cam kavanozlar kullanılmıştır. Kavanozların ağızları paket lastiği yardımıyla tül ile kapatılmıştır. Hazırlanan böcekler

kavanozlara alınarak 27±2°C sıcaklıkta karanlık iklim odasında muhafaza edilmiştir (Şekil 5).

Sitophilus oryzae'den aynı yaşta popülasyonlar elde etmek için 1 litrelik kavanozlara 200 g temiz buğday doldurulmuştur. 300 adet ergin dişi ve erkekler 2 hafta süreyle bu kavanozlar içine alınarak, 27±2°C sıcaklıkta karanlık iklim odasında yumurtlamaya bırakılmıştır. İki hafta sonunda ergin bireyler kavanozlardan uzaklaştırılmış ve sadece yumurtaların kalması sağlanmıştır. Bu kültürler yine 27±2°C sıcaklıkta karanlık iklim odasında inkübe edilerek böcek çıkışları beklenmiştir. Yumurtadan çıkan 3 gün yaştaki bireyler denemelerde kullanılmıştır [19,63].



Şekil 5. Denemelerde kullanılan böcek yetiştirme kavanozu

2.7. Entomopatojen Fungusların Morfolojik Karekterizasyonu

Fungus ile enfekte olmuş böceklerin dış görünüşleri, koloni morfolojisi, konidiyagenez ve konidia hücrelerinin büyüklükleri entomopatojen fungusların tür teşhislerinde önemli özelliklerdir. Mikroskop preparatlarının hazırlanmasında "lam kültür' teknikleri kullanılmıştır [64]. Fungusların mikroskobik olarak incelenmesi şu şekilde yapılmıştır;

- Steril bir lam üzerine, 1x1 cm^2 şeklinde parçalara ayrılmış PDA besiyeri konulmuştur.

- Besiyeri üzerine incelenecek fungus kültüründen iğne öze ile ekim yapılarak besiyerinin üzeri steril lamel ile kapatılmıştır.

- Yaklaşık 4-5 gün 23- 24^oC'de inkübe edilmiştir.

- İnkübasyon sonrasında pens yardımıyla besiyeri üzerindeki lamel dikkatlice alınarak lamel üzerine 1-2 damla %70'lik etanol damlatılmıştır Etanol, örneği sabitlemek, hava kabarcıklarını uzaklaştırmak, yoğun hif ve sporları birbirinden ayırmak için kullanılmıştır.

- Lamel üzerine damlatılan etanol tamamen uçtuktan sonra fungal yapıların daha net görülebilmesi için lam üzerine 1 damla laktofenol mavisi çözeltisinden damlatılıp lamel 45$^{o'}$lik açı ile kapatılmıştır.

- Lamelin dışına taşan çözelti temizlenerek çözeltinin örneğe iyice karışması beklenmiştir.

- Laktofenol mavisi ile boyanan funguslar mikroskopta incelenerek teşhis edilmiştir.

- Tür teşhislerinde ışık mikroskobu ve diseksiyon mikroskobu kullanılmıştır. İzolatlar ışık mikroskobu altında spor yapıları ve konidiyoforları incelenmiştir.

Mikroskop altında incelenen hiflerin özelliği, havai olup olmadığı, fruktifikasyon organlarının gelişimi, konidiyoforların yapısı, çap ve boylarının ölçüleri, sporların ölçüleri ve renkleri incelenip çeşitli kaynaklar kullanılarak tür tayini gerçekleştirilmiştir

[65, 66, 67]. Yapılan bu teşhisler doğrulatılmak üzere, Dr. Richard Humber'a gönderilmiştir.

2.8. Entomopatojen Fungusların Laboratuar Şartlarında *Sitophilus oryzae* Erginlerine Karşı Biyolojik Etkinliklerinin Belirlenmesi

2.8.1. Tek Doz Tarama Denemeleri

Çalışmanın bu kısmında topraktan izole edilen tüm entomopatojen fungus türlerinin, tek dozda ($1x10^7$ konidi/ml) sprey uygulama yöntemi ile virülenslikleri laboratuar şartlarında belirlenmiştir.

Spor süspansiyonunun hazırlanması aşamasında; çalışmada kullanılacak fungus izolatları, PDA ortamı içeren 9 cm çapındaki petrilere ekilerek, 25±2°C'de iki hafta inkübasyona bırakılmıştır. Sonra petrilere %0.01 Tween 20 ile hazırlanmış steril sudan 10 ml ilave edilip, cam baget ile dikkatli bir şekilde kazınarak sporlar hasat edilmiştir. Süspansiyon, 50 ml'lik steril Falkon tüplerine 4 katlı gazlı bezden süzülerek misel ve agar parçaları uzaklaştırılmıştır. Elde edilen süspansiyon 5 dak. vortekslenerek homojen hale getirilmiştir. Süspansiyonun spor sayısı, mikroskopta Thoma lamında sayılıp, gerekli konsantrasyonlarda seyreltmeler yapılarak, 1ml'de $1x10^7$ konidi olacak şekilde ayarlanmıştır [70]. Hazırlanan süspansiyon aynı gün içerisinde kullanılana kadar +4°C de saklanmıştır [71].

Funguslar, içinde kurutma kağıdı bulunan 9 cm'lik Petri kaplarında, 3 gün yaştaki 20 böceğe belirlenen dozda uygulanmış ve 24 saat süreyle besinsiz 25±2°C'de bırakılmıştır. Bu süre sonunda böcekler, içerisinde 50 g buğday bulunan numune kaplarına (5 cm çap ve 7 cm yükseklik) alınarak 14 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Denemeler 4 tekerrürlü gerçekleştirilmiş olup, kontrolde %0.01 Tween 20 kullanılmıştır [19, 49]. Sayımlar 5, 7, 9 ve 14. günde yapılmış ve ölü böcekler kaydedilip ölüm oranları hesaplanmıştır [68]. Yüzde mikoz oluşumunu belirlemek için ise, ölü erginler %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisiyle yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra, 3 kez steril ditile su ile yıkanmış ve steril nemli filtre kağıdı içeren petrilere konulmuştur. Entomopatojen fungusların *S. oryzae* üzerindeki mikoz değerleri; sporlanan *S. oryzae* erginleri / ölen *S. oryzae* erginleri oranıyla hesaplanmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. Entomopatojen fungusun *Sitophilus oryzae* 'de enfeksiyon oluşturması

2.8.2. Doz- Ölüm Denemeleri

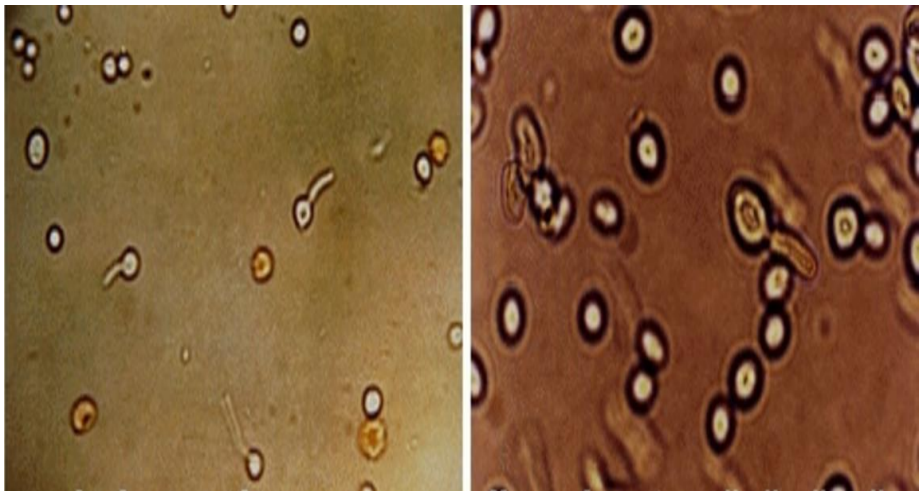
Tek doz taramaları sonucunda en virülens bulunan, 310 nolu *B. bassiana*, 339 nolu *F.* sp. ve 224 nolu *P. lilacinum* entomopatojen fungus izolatları, belirlenen 5 dozda ($1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$, $1x10^8$ ve $1x10^9$ konidi/ml) *S. oryzae* üzerinde, sprey inokule yöntemi kullanılarak denemeye alınmıştır [28, 69].

Sprey uygulama yöntemi ve yüzde mikoz oluşumununun belirlenmesi, 2.2.5.1. bölümünde belirtildiği gibi uygulanmıştır. Bu denemeler sonucunda, fungusların oluşturdukları ölüm oranları yanında, her fungus için LC_{50} ve LC_{95} değerleri de hesaplanmıştır.

2.9. Entomopatojen Fungusların Yüzde Çimlenme Oranlarının Belirlenmesi

İzole edilen entomopatojen fungusların yüzde spor çimlenmesi Posada ve Vega tarafından belirlenen metodun küçük değişiklikler yapılmasıyla belirlenmiştir [72]. Bunun için, 1×10^7 spor/ml konsantrasyona sahip spor solüsyonlarından 25 µl alınarak PDA agar üzerine yayma ekimleri yapılmıştır. Ekimleri yapılan petriler 25±2 °C'de 24 saat boyunca ve karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petrilerden her bir

fungus için toplam 3 örnek besiyeri kare şeklinde kesilerek alınmış ve mikroskop lamı üzerine koyularak incelenmiştir. Toplamda her bir örnekten 100 spor sayılarak yüzde çimlenme hesaplanmıştır. Germ tüpü spor çapından büyük olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Germ tüpü ve çimlenmiş sporlar

2.10. Entomopatojen Fungusların *Sitophilus. oryzae* Erginleri Üzerindeki Spor Üretiminin Belirlenmesi

İzole edilen fungusların böcekler üzerindeki spor üretimlerinin belirlenmesi Posada ve Vega tarafından belirlenen metoda göre yapılmıştır [72]. Spor süspansiyonu $1x10^6$ olarak ayarlanmış sprey inokule yöntemiyle böceklere uygulanmıştır. İnokulasyon için böcekler 24±2°C' de 7-10 gün süreylere bekletilmiştir. Ölen böcekler sporulasyon için nem çemberine alınmıştır ve sonrasında spor üretimi belirlenmiştir. Bunu belirlemek için her bir fungus için 3 tekrarlı olmak kaydıyla toplam 15 enfekte böcek (her bir tekrar için 5 enfekte böcek) steril %0.01'lik Tween 20 solüsyonu içerisine ayrı ayrı atılmış ve 1 dakika süre ile vortekslenerek böcek üzerinde oluşan sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Bunun ardından spor sayıları hemositometre ile belirlenmiş ve her bir fungus için böcek başına düşen 1 milimetredeki spor üretimi belirlenmiştir.

2.11. Entomopatojen Fungusların Üzerindeki Misel Gelişimi Üzerine Sıcaklığın Etkisi

İzole edilen fungusların radyal büyüme oranı üzerine sıcaklığın etkisini belirlemek amacıyla, fungusların PDA besiyerlerine ekimleri yapılmış ve 10, 15, 20, 25, 30 ve 37°C'de 7 gün boyunca karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan hemen sonra misellerin çapları ölçülerek sonuçlar mm/gün olarak değerlendirilmiş ve grafik şeklinde gösterilmiştir [60].

2.12. Entomopatojen Fungusların Spor Üretimi Üzerine Sıcaklığın Etkisi

Fungusların spor üretimi üzerindeki sıcaklık etkisini belirlemek için funguslar PDA besiyerlerine ekimleri yapılmış ve 10, 15, 20, 25, 30 ve 37°C'de 14 gün boyunca karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda petrilere 10 ml %0.01'lik Tween 20 içeren steril su ilave edildikten sonra steril bir cam çubukla karıştırılarak sporların suya geçmesi sağlanmış ve homojenizasyon için vortekslenmiştir. Sporlar suya geçtikten sonra sonuç süspansiyon dört katlı gazlı bezden süzülmüştür. Daha sonra son konsantrasyon bir hemositometre yardımı ile belirlenmiş ve sonuçlar spor/ml olarak kaydedilmiştir [60].

2.13. Veri Analizleri

Entomopatojen fungusların yüzde ölüm oranlarının değerlendirilmesinde ergin ölümlerinin % ölüm oranı Abbott formülü ile hesaplanmıştır [73].

$$P=[1-(T/C)]*100$$

P: Entomopatojen fungus'un neden olduğu % böcek ölümü,

C: Uygulama sonrası kontrol grubunda yaşayan böcek sayısı,

T: Entomopatojen fungus uygulama sonrası yaşayan böcek sayısı.

Fungusların *S. oryzae* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları arasındaki farkların karşılaştırılmasında, SPSS 13.0 istatistik programı kullanılarak ANOVA uygulanmış ve LSD testi kullanılmıştır. Letal konsatrasyon (LC_{50} ve LC_{95}) değerleri probit analizi ile hesaplanmıştır [74].

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Entomopatojen Fungusların Topraktan İzolasyonu

Sörvey alanlarından alınan toplam 80 adet toprak örneğinden; 9 adet *Fusarium* sp., 3 adet *Beauveria bassiana* ve 1 adet *Purpureocillium lilacinum* olmak üzere toplam 13 adet entomopatojen fungus izole edilmiştir. Pozitif örneklerin yüzdesi %16.2 olarak bulunmuştur (100 X 13 / 80).

Bahçeköy-Karataş lokasyonundan alınan 9 adet toprak örneğinden sadece sebzeden 1 adet *Fusarium* sp. izolatı (%11.1) elde edilmiştir. Ceyhan ilçesinden 25 adet toprak örneği alınmış ve çayır-meradan alınan 5 toprak örneğinden 1 adet *B. bassiana* izolatı (%4), bahçe bitkileri/bağ habitatından alınan 7 toprak örneğinden 1 adet *Fusarium* sp. izolatı (%4) elde edilmiştir. Mansurlu –Kozan ilçesinden 2 adet toprak örneği alınmış ve bahçe bitkileri/bağ habitatından 1 adet *P. lilacinum* (%50) izolatı elde edilmiştir. Karaömerli- Sarıçam ilçesinden 3 adet toprak örneği alınmış ve çayır-mera habitatından 1, bahçe bitkileri/bağ habitatından 1 olmak üzere 2 adet toprak örneğinde *Fusarium* sp. izolatı (%66.7) elde edilmiştir. Çukurova lokasyonundan 16 adet toprak örneği alınmış ve alınan örneklerden; sebze ve bahçe bitkileri/bağ habitatında 1'er adet *Fusarium* sp. izolatı (%12.5) elde edilmiştir. Karaisalı ilçesinden 18 adet toprak örneği alınmış, çayır-mera habitatından 1, orman habitatından 2 adet *Fusarium* sp. izolatı (%16.7) elde edilmiştir. Feke ilçesinden alınan 6 adet toprak örneğinden bahçe bitkileri/bağ habitatında 1 adet *Fusarium* sp. izolatı elde edilmiş ve alınan toprak örneğinin %16,7 pozitif bulunmuştur. Kahramanmaraş, Afşin, Alipınar yolu üzerinde tarla bitkileri habitatından alınan bir adet toprak örneğinden ise *Fusarium* sp. izolatı elde edilmiştir.

Tablo 1. Toprak örneği kodları, habitat tipleri ve entomopatojen fungus elde ediliş yüzdeleri

Örnek kodu	Lokasyon	Habitatlar (Pozitif örnek / Test edilen toplam örnek)					% F	% B	% P	% EPF
		Çayır- Mera	Sebze	Bahçe Bitkileri/ Bağ	Tarla Bitkileri	Orman				
165	Bahceköy-Karataş	0/1	1(F)/4	0/1	0/3	-	11.1	0.0	0.0	11.1
195-213	Ceyhan	1(B)/5	-	1(F)/7	0/11	0/2	4.0	4.0	0.0	8.0
224	Mansurlu -Kozan	-	-	1(P)/1	0/1	-	0.0	0.0	50.0	50.0
251-252	Karaömerli- Sarıçam	1(F)/1	-	1(F)/1	0/1	-	66.7	0.0	0.0	66.7
307-310	Çukurova	0/1	1(B)/4	1(B)/5	0/4	0/2	0.0	12.5	0.0	12.5
327-328-334	Karaisalı	1(F)/3	0/2	0/2	0/5	2(F)/6	16.7	0.0	0.0	16.7
339	Feke	-	-	1(F)/5	0/1	-	16.7	0.0	0.0	16.7
452	Kahramanmaraş, Afşin, Alipınar	-	-	-	1(F)/1	-	100.0	0.0	0.0	100.0

B= *Beauveria bassiana*, F= *Fusarium* sp., P= *Purpureocillium lilacinum*

Pozitif örneklerin habitat bazında dağılımı Tablo 2'de verilmiştir. *Fusarium* sp. izolatı en çok orman alanlarında (%20), en az ise tarla bitkileri alanından (%3.7) elde edilmiştir. *B. bassiana* izolatı sırasıyla; sebze, çayır-mera, bahçe bitkileri/bağ alanlarından izole edilmiş ve tarla bitkileri, orman habitatlarında ise rastlanmamıştır. *P. lilacinum* izolatı sadece bahçe bitkileri/bağ alanından izole edilmiştir. Entomopatojen funguslara en çok %27.3 oran ile çayır-mera alanında, en az ise %3.7'ilk oran ile tarla bitkileri alanında rastlanmıştır. Test edilen toplam örnek sayısı 80 adet ve pozitif örnek sayısı 13 adet olarak belirlenmiştir.

Sun ve ark. (2008)' nın Çin'in tarla bitkileri alanlarında ve meyve bahçelerinde yaptıkları araştırmada en çok *B. bassiana*, *M. anisopliae* var. *anisoplia* ve *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) türlerine rastlanmıştır [37]. Bizim çalışmamızda ise, aynı habitatlardan, *B. bassiana, P. lilacinum* ve *Fusarium* sp. izolatları elde edilmiştir.

Çayır-mera alanında en çok *Fusarium* sp. izolatı (18.2), sebze alanında *Fusarium* sp. (%10) ve *B. bassiana* (%10) izolatı, bahçe bitkileri/bağ alanında her üç izolat cinsi de bulunmuş ve sırasıyla; %13.6 oranında *Fusarium* sp., %4.5 oranında *B. bassiana* ve *P. lilacinum* izolatı elde edilmiştir. Tarla bitkileri ve orman alanlarında sadece *Fusarium* sp. izolatı sırasıyla %3.7 ve %20 oranında bulunmuştur.

Önceki yapılan çalışmalarda, Adana İlinde yapılan benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Kahramanmaraş İlinde yapılan bir çalışmada; Kürtül, Karacasu ve Şekeroba lokasyonları incelenmiştir. Tuzak böcek yöntemi ile izolasyon sonucunda toplam 35 entomopatojen fungus elde edilmiştir; bunların 16 tanesi *Paecilomyces* cinsine, 19 tanesi *Beauveria* cinsine ait olduğu belirtilmektedir [29].

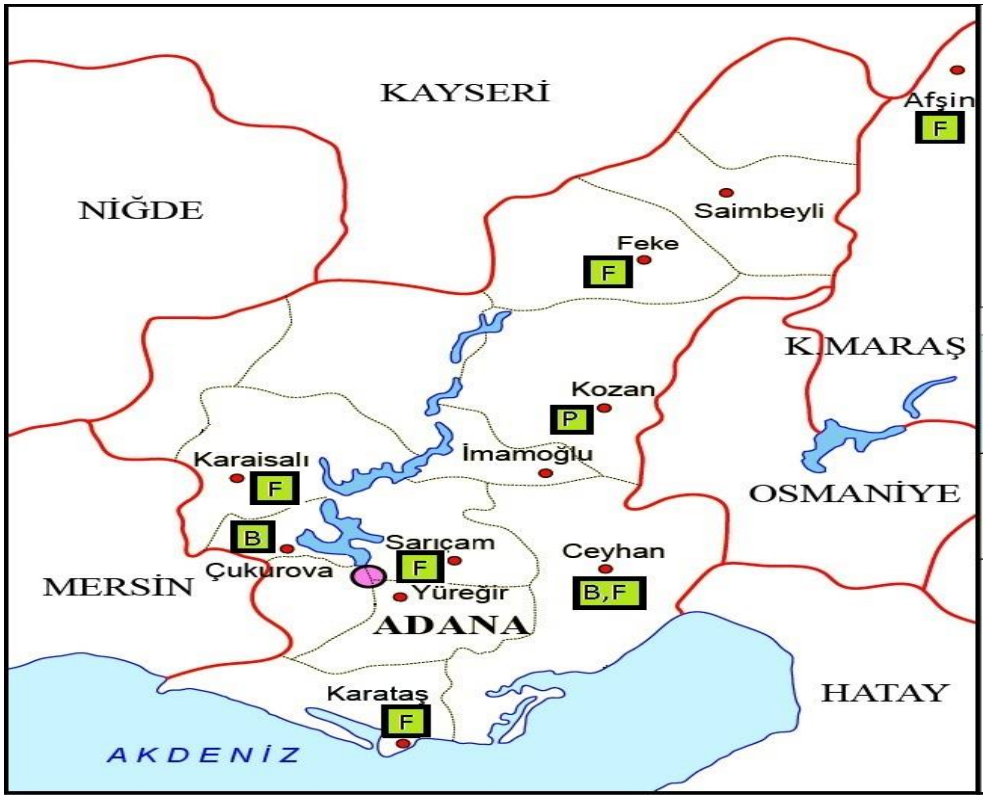
Er ve Mart (2009), Kahramanmaraş bölgesinde (Türkoğlu, Göksun, Sekeroba, Elbistan, Pazarcık) arazi çalışmalarından topladıkları böceklerden ve toprak örneklerinden tuzak böcek (*G. mellonella* larvası) yöntemi ile entomopatojenik fungusların belirlenmesine yönelik çalışma yapmışlardır. Toprak örneklerinden en çok *Beauveria* cinsine ait funguslar ile *Isaria* (=*Peacilomyces*) ve *Metarhizium* cinsine bağlı entomopatojenik fungusların izolasyonu yapılmıştır [39].

Tablo 2. Habitatlar, habitatlardan alınan örnek sayıları, pozitif örnek sayıları, *Fusarium* sp., *Beauveria bassiana, Purpureocillium lilacinum* belirlenen habitatların yüzdesi ve toplam yüzde

Habitat	Pozitif örnek / Test edilen toplam örnek	Adedi ve % *Fusarium* sp.	Adedi ve % *Beauveria bassiana*	Adedi ve % *Purpureocillium lilacinum*	% Toplam
Çayır- Mera	3/11	2-18.2	1-9.1	0-0	27.3
Sebze	2/10	1-10.0	1-10.0	0-0	20.0
Bahçe Bitkileri/ Bağ	5/22	3-13.6	1-4.5	1-4.5	22.6
Tarla Bitkileri	1/27	1-3.7	0-0	0-0	3.7
Orman	2/10	2-20.0	0-0	0-0	20.0

Çalışma kapsamında fungusların elde edildikleri lokasyonlar, harita üzerinde incelendiğinde, Adana İlinde 7, Kahramanmaraş İlinde ise 1 farklı ilçeden örnekler alındığı görülmektedir (Şekil 8). Harita incelendiğinde tespit edilen 3 cinsin coğrafi şartlar açısından belirli bir düzen içinde dağılım meydana getirmediği görülmüştür.

Adana, ülkemizin Akdeniz Bölgesi'nde yer almaktadır. Kışları ılık ve yağışlı, yazları ise sıcak ve kuraktır. En yüksek sıcaklık 2012'de nemle birlikte 53°C, nemsiz 46°C olarak ölçülmüştür. En düşük sıcaklıksa 28 Ocak 2012'de -6°C olarak kayıtlara geçmiştir [75].



B= *Beauveria bassiana*, F= *Fusarium* sp., P= *Purpureocillium lilacinum*

Şekil 8. Adana ve Kahramanmaraş İllerinde örnek alınan yerler ve bulunan entomopatojen fungusların dağılımı

3.2. Entomopatojen Fungusların Morfolojik Karekterizasyonu

Adana topraklarından alınan toprak örneklerinden izole edilen 13 EPF izolatlarının PDA ortamında gelişim karakteristikleri ve morfolojik yapılarının mikroskopta incelenmesi sonucunda 3 farklı türe ait oldukları tespit edilmiştir. Yapılan bu teşhisler Dr. Richard Humber'a gönderilerek doğrulattırılmıştır.

Beauveria bassiana (Balsamo-Crivelli)

Alem: Fungi

Bölüm: Ascomycota

Sınıf: Sordariomycetes

Takım: Hypocreales

Familya: Clavicipitaceae

Cins: *Beauveria*

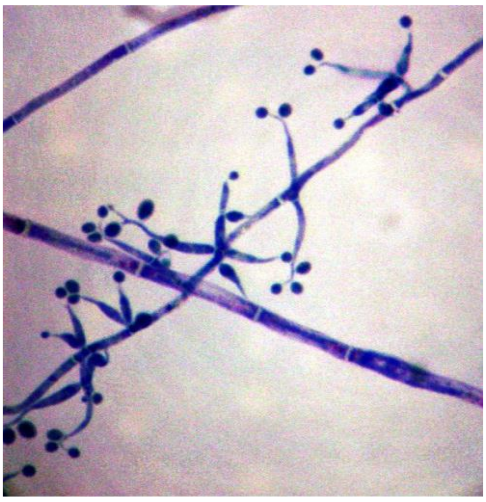
Tür: *B. bassiana*

Sinonim: *Botrytis bassiana* Bals.-Criv.

Patates dekstroz agar kültür ortamında 14 günde 25ºC'de 25 mm çapında koloni oluşturmakta, koloni başlangıçta beyaz renkte, kültür yaşlandıkça sarımsı beyaz tonlarına dönüşmüştür. Kolonilerin alt kısımları renksizdir ve herhangi bir koku gözlenmemiştir (Şekil 9). Hifler şeffaf, düz duvarlı yapıdadır. Hiflerden yan olarak gelişen elips veya alt kısımları silindirik şeklinde şişkin hücrelerden 1-5 tane konidiofor hücreleri gelişir. Konidiyofor hücreleri küçük gruplar şeklinde veya tek olarak, küre şeklinden şişe şekline (armut) benzeyen, bazen taban kısmı uzamış ve yapılan ölçümler sonucunda ortalama 2.0±0.5 x 6±1.5 µm boyutlarında, uç kısmı uzamış zigzag dişli yapılardan oluştuğu gözlenmiştir. Bu dişli yapıların her birinden bir tane şeffaf, düz, küre veya genişçe elips şeklinde, ortalama 1.6±0.5 x 2.0±1.0 µm boyutlarında konidi taşırlar (Şekil 10).



Şekil 9. *Beauveria bassiana* koloni görüntüsü



Şekil 10. Konidial gelişimi oluşturan yapılar

***Fusarium* sp.**(Link)

Alem: Fungi

Bölüm: Ascomycota

Sınıf: Sordariomycetes

Takım: Hypocreales

Familya: Nectriaceae

Cins: *Fusarium*

Fusarium sp. 7 günde 25ºC'de 25 mm çapında koloni meydana getirebilmekte kolonilerinde havai miselyumlar beyaz renkte gelişimlerine başlarken ilerleyen evrede renk hafif sarımsı morumsu renk alır. Kültür ortamında alt kısmın rengi kırmızımsı morumsu renktedir (Şekil 11). Phialidler tekil halde, kısa yapıda, Makrokonidiler fuziform (iğ biçimli), çoğu zaman 2-3 bölmeli, hafifçe kıvrılmış, 15.1x7.6 µm boyutlarındadır. Mikrokonidiler tekil halde, zincir oluşturmayan, çoğunlukla tek hücreli septasız, elips veya silindirik yapıda, bazen düz bazen de hafif kıvrılmış, 2.7x8.6 µm boyutlarındadır (Şekil 12).



Şekil 11. *Fusarium* sp. koloni görüntüsü



Şekil 12. Makrokonidi ve mikrokonidiler

Purpureocillium lilacinum (Thom) Luangsa-ard, Hou- braken, Hywel-Jones & Samson

Alem: Fungi

Bölüm: Ascomycota

Sınıf: Sordariomycetes

Takım: Hypocreales

Familya: Ophiocordycipitaceae

Cins: *Purpureocillium*

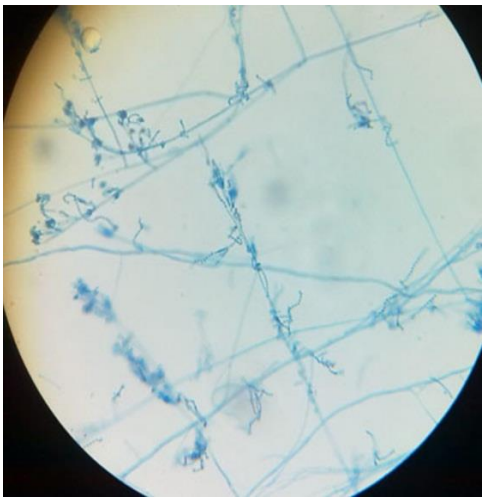
Tür: *Purpureocillium lilacinum*

Sinonim: *Paecilomyces lilacinus* (Thom)

Patates dekstroz agar kültür ortamında 7 günde 25ºC'de 25 mm çapında koloni meydana getirmekte, koloni pamuksu görünümde, gençken beyaz, yaşlandıkça leylak rengine dönmektedir (Şekil 13). Hifler şeffaf ve düz çeperli, 2.5-3 µm kalınlığında, konidiyoforlar hafif pürüzlü, genellikle 2-4'lü fiyalidler taşımakta, fiyalidler 7-9 µm uzunluğunda, alt kısımları şişkin ve belirgin bir boyun kısmına sahip, konidiler uzun zincirler halinde, elips şeklinde, şeffaf, ortalama 2.5x2 µm boyutlarındadır (Şekil 14).



Şekil 13. *Purpureocillium. lilacinum* koloni görüntüsü



Şekil 14. Konidiofor ve fiyalidler

Entomopatojen fungusların tanısı sonucunda bulunan; hiflerin özelliği, havai olup olmadığı, fruktifikasyon organlarının gelişimi, konidiyoforların yapısı, çap ve boylarının ölçüleri, sporların ölçüleri ve renkleri önceki yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir [65, 66, 67].

3.3. Entomopatojen Fungusların Laboratuar Şartlarında *Sitophilus oryzae*'nin Erginlerine Karşı Biyolojik Etkinliklerinin Belirlenmesi

3.3.1. Tek Doz Tarama Denemeleri

Yapılan uygulama sonunda 13 izolatın 5. gün sonunda tek dozda ($1x10^7$ konidi/ml) oluşturduğu ölüm oranı kontrolden farklı bulunmamıştır. 5. günde *F.* sp. izolatları içerisinde en yüksek ölümü (%18.8) 339 nolu örnek, en düşük ölümü (%6.3) 252 nolu örnek göstermiştir. *B. bassiana* izolatları içerisinde en yüksek ölümü (%35.0) 310 nolu örnek, en düşük ölümü (%12.5) 307 nolu örnek göstermiştir. *P. lilacinum* (224) izolatın ölüm değeri %21.3 olarak belirlenmiştir(Tablo 3).

Yedinci günde *F.* sp. izolatları içerisinde en yüksek ölümü (%71.3) 339 nolu örnek, en düşük ölümü (%23.8) 213 nolu örnek göstermiştir. *B. bassiana* izolatları içerisinde en yüksek ölümü (%75.0) 310 nolu örnek, en düşük ölümü (%35.0) 195 nolu örnek göstermiştir. *P. lilacinum* (224) izolatın ölüm değeri %67.5 olarak belirlenmiştir.

Dokuzuncu günde *F.* sp. izolatları içerisinde en yüksek ölümü (%97.5) 339 nolu izolat, en düşük ölümü (%47.5) 165 nolu izolat oluşturmuştur. *B. bassiana* izolatları içerisinde en yüksek ölümü (%92.5) 310 nolu örnek, en düşük ölümü (%68.8) 195 nolu örnek göstermiştir. *P. lilacinum* (224) izolatının meydana getirdiği ölüm oranı %90.0 olarak belirlenmiştir.

Ondördüncü günde *F.* sp. izolatları içerisinde en yüksek ölümü (98.8) 339 nolu izolat, en düşük ölümü (%47.5) 165 nolu izolat göstermiştir. *B. bassiana* izolatları içerisinde en yüksek ölümü (%94.3) 310 nolu izolat, en düşük ölümü (%69.0) 195 nolu izolat olusturmuştur. *P. lilacinum* (224) izolatın ölüm değeri 90.5 olarak belirlenmiştir.

Tek dozda ($1x10^7$ konidi/ml) yapılan çalışmada, uygulanan entomopatojen fungus izolatları en yüksek ölüm oranını 14. günde göstermiştir. Günler ilerledikçe ölüm oranında artış gözlenmiştir. *B. bassiana* izolatları (307 ve 310), *F.* sp. izolatları (334,

339 ve 452) ve *P. lilacinum* (224) izolatının 9 ve 14. günde oluşturduğu ölüm oranları arasında fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 3).

Tablo 3. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının $1x10^7$ konidi/ml dozunda, 5, 7, 9 ve 14. günde *Sitophilus oryzae* erginleri üzerinde oluşturduğu ölüm oranları

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Günler Ölüm oranı ± SH (min.-mak.)			
		5	7	9	14
Beauveria bassiana	195	20.0±3.1Bc* (15-30)	35.0±4.5CDb (25-50)	68.8±3.7DEa (60-80)	69.0±3.7DEa (60-80)
Beauveria bassiana	307	12.5±2.8BCDc (5-20)	51.3±5.2BCb (30-60)	83.8±4.1ABCa (70-90)	85.0±4.1ABCa (70-90)
Beauveria bassiana	310	35.0±3.1Ac (25-40)	75.0±3.1Ab (70-85)	92.5±2.8ABa (85-100)	94.3±2.8ABa (90-100)
Fusarium sp.	165	7.5±1.3DEb (5-10)	35.0±5.3CDa (25-50)	47.5±4.2Fa (40-60)	47.5±4.2Fa (40-60)
Fusarium sp.	213	6.3±2.1Ec (0-10)	23.8±2.1Db (20-30)	63.8±5.8Ea (50-75)	65.0±4.8Ea (50-75)
Fusarium sp.	251	6.3±3.3Ec (0-15)	40.0±4.4CDb (25-50)	72.5±4.5CDEa (60-85)	73.0±4.5CDEa (60-85)
Fusarium sp.	252	6.3±1.1Ec (5-10)	35.0±5.3CDb (25-50)	61.3±5.7Ea (50-75)	65.0±5.6Ea (50-75)
Fusarium sp.	327	17.5±3.8BCc (10-30)	52.5±1.3BCb (50-55)	72.5±3.7CDEa (60-80)	72.5±3.8CDEa (60-80)
Fusarium sp.	328	8.8±3.7CDEc (0-20)	46.3±4.2Cb (25-55)	80.0±4.3BCDa (65-85)	82.3±4.2BCDa (70-90)
Fusarium sp.	334	11.3±2.1BCDc (5-15)	36.3±3.1BCb (25-50)	83.8±4.5ABCa (75-95)	83.8±4.5BCDa (75-95)
Fusarium sp.	339	18.8±4.1Bc (5-25)	71.3±7.2Ab (50-90)	97.5±2.1Aa (90-100)	98.8±2.2Aa (90-100)
Fusarium sp.	452	13.8±3.7BCDc (5-25)	65.0±4.3ABb (50-70)	90.0±3.5ABa (80-100)	90.3±3.5ABa (80-100)
Purpureocillium lilacinum	224	21.3±2.1Bc (15-25)	67.5±4.2ABb (55-75)	90.0±1.8ABa (85-95)	90.5±1.8ABa (85-95)
Kontrol	-	0.0±0.0Fa (0-0)	3.8±2.1Ea (0-10)	6.3±2.1Ga (0-10)	6.3±2.1Ga (0-10)

* Sütunlardaki aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

* Satırlardaki aynı küçük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

Tek dozda ($1x10^7$ konidi/ml) yapılan çalışma sonucunda ölü olan bireyler nem çemberine alınarak mikosis oluşumu için bekletilmiştir. Yedi ve 14. günlerde yapılan sayımlar sonucunda elde edilen değerler % olarak ifade edilmiştir (Tablo 4). Yedinci günde en yüksek mikosis oranı (%35) 310 nolu *B. bassiana* izolatında, en düşük mikosis oranı (%8.8) 328 nolu *F*. sp. izolatında elde edilmiştir. Ondördüncü gün sonunda ise benzer şekilde; en yüksek mikosis oranı (%75) 310 nolu *B. bassiana* izolatında, en düşük mikosis oranı (%23.8) 213 nolu *F*. sp. izolatında elde edilmiştir. *P. lilacinum* izolatında 7 ve 14. günde mikosis oranları sırasıyla; %21.3 ve %67.5 olarak hesaplanmıştır. Kontrolde meydana gelen ölümlerde mikosis gözlenmemiştir. Ölü bireyler arasında mikosis gözlenmesi popülasyonda entomopatojen fungus varlığının sürekliliği açısından önemlidir. Bu süreç horizontal yayılım olarak ifade edilebilir [76].

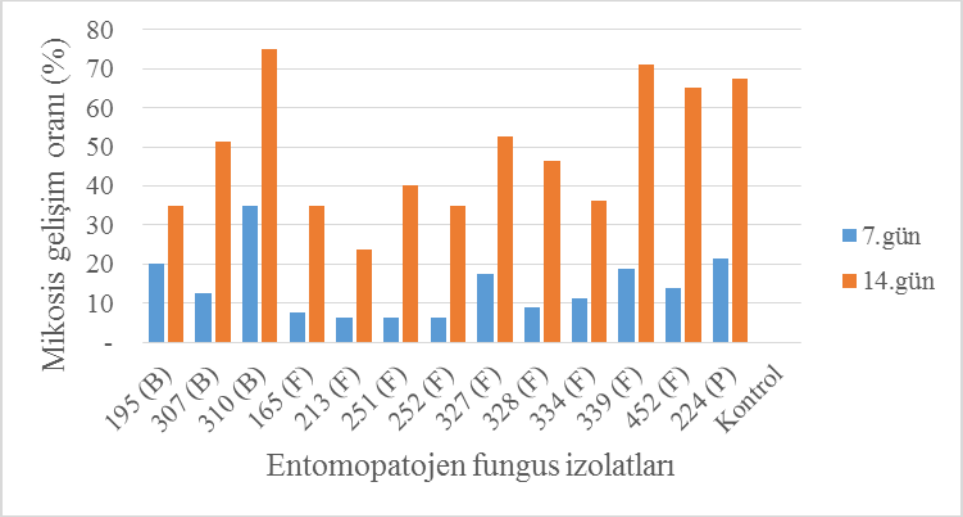
Tablo 4. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının tek doz uygulamasında ($1x10^7$ konidi/ml), 7. ve 14. günlerde *Sitophilus oryzae* erginleri üzerindeki mikosis oranları (%)

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Günler (% mikosis)	
		7	14
Beauveria bassiana	195	20.0 Ab*	35.0 Ca
Beauveria bassiana	307	12.5 BCb	51.3 Ba
Beauveria bassiana	310	35.0 Ab	75.0 Aa
Fusarium sp.	165	7.5 Cb	35.0 Ca
Fusarium sp.	213	6.3 Cb	23.8 CDa
Fusarium sp.	251	6.3 Cb	40.0 Ca
Fusarium sp.	252	6.3 Cb	35.0 Ca
Fusarium sp.	327	17.5 Bb	52.5 Ba
Fusarium sp.	328	8.8 Cb	46.3 BCa
Fusarium sp.	334	11.3 BCb	36.3 Ca
Fusarium sp.	339	18.8 ABb	71.3 Aa
Fusarium sp.	452	13.8 BCb	65.0 Aa
Purpureocillium lilacinum	224	21.3 Ab	67.5 Aa
Kontrol	-	0.0 Da	0.0 Da

* Sütunlardaki aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur ($P<0.05$).

* Satırlardaki aynı küçük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur ($P<0.05$).

En yüksek ölüm oranlarının 310 nolu *B. bassiana* (%94.3), 339 nolu *F.* sp. (%98.8) ve 224 nolu *P. lilacinum* (%90.5) izolatlarından elde edildiği (Çizelge 3) ve bu izolatların aynı zamanda mikosis değerlerinin de yüksek olması (%75, %71.3 ve %67.5) (Şekil 15) nedeniyle doz-ölüm denemeleri için bu izolatlar seçilmiştir.



B= *Beauveria bassiana*, F= *Fusarium* sp., P= *Purpureocillium lilacinum*

Şekil 15. Entomopatojen fungus izolatlarının tek doz uygulamasında 7. ve 14. gün sonunda *Sitophilus oryzae* üzerinde mikosis oranları (%)

Bello ve ark. (2000) 'nın tek dozda yaptığı çalışmada, *S. oryzae*'ye karşı *Metarhizium anisopliae* ve *B. bassiana* izolatlarını kullanmış ve ergin ölüm oranını, *M. anisopliae* izolatı ile %97.5, *B. bassiana* ile ise %74.8 olarak bulmuştur [19]. Bizim çalışmamızda kullandığımız *B. bassiana* izolatı, %94.3 ölüm oranı ile *S. oryzae* üzerinde daha etkili bulunmuştur. Bu farklılık, kullanılan izolat farklılığından dolayı olabilir.

Yalçın ve ark. (2016), Tokat ilindeki tarla topraklarından izole edilen 38 ve 1 ticari *B. bassiana* (Strain Bb-1) izolatnı pirinç biti *S. oryzae* (L.)'ye karşı 1×10^7 konidi/ml dozunda uygulamıştır. Beşinci günde en yüksek ölüm oranı, GOPT-138-2 ve GOPT-64 kodlu izolatlar için sırasıyla %79.55 ve %75.00 olarak belirlenmiştir [52]. Bizim çalışmamızda 5. günde ölüm oranları en düşük *F.* sp. 213, *F.* sp. 251 ve *F.* sp. 252 izolatlarında %6.21 olarak bulunmuştur. En yüksek ölüm oranı, *P. lilacinum* 224 izolatında %21.25 olarak hesaplanmıştır. *B. bassiana* izolatlarında en yüksek ölüm oranları *B. bassiana* 310 ve *B. bassiana* 195 nolu izolatlar için sırasıyla %35 ve %20 olarak belirlenmiştir. Yaptığımız çalışmada, *B. bassiana* için bulduğumuz ölüm oranları (%35 ve %20) daha düşük bulunmuştur. Bunun, izolat ve lokasyon farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Polat ve ark. (2016), Tokat ilinden izole edilen 18 *B. bassiana* izolatını, *S. granarius* üzerinde $1x10^7$ konidi/ml dozunda denemiştir. Ölüm oranları 5., 7. ve 9. günlerde kayıt

edilmiştir. 7. ve 14. günlerde mikosiz oranları kaydedilmiştir. Beşinci günde en yüksek ölüm oranı GOPT-332 ve GOPT-127 izolatları için %44 ve %42 olarak hesaplanmıştır. En yüksek mikosiz oranı 14. günün sonunda GOPT-89, GOPT-250, GOPT-245 kodlu izolatlarda sırasıyla %75, 61.67, 59.89 olarak elde edilmiştir ve bunu %52.79 ile GOPT-460 kodlu izolat takip etmiştir [53]. Bu çalışmada kullanılan entomopatojen fungusların % ölüm oranları bizim izolatlarımızdan daha yüksek değerde bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, *B. bassiana* izolatlarında en yüksek ölüm oranları *B. bassiana* 310 ve *B. bassiana* 195 nolu izolatlar için sırasıyla %35 ve %20 olarak belirlenmiştir. Mikosis değerleri ise, 14. günün sonunda *B. bassiana* 310, *B. bassiana* 307, *B. bassiana* 195 nolu izolatlarda sırasıyla; %75, %51.25 ve %35 olarak bulunmuştur.

3.3.2. Doz-Ölüm Denemeleri

Belirlenen entomopatojen izolatlarının oluşturdukları ölüm oranları 5, 7, 9 ve 14. günde kaydedilmiş ve günler ilerledikçe ölüm oranlarının da arttığı gözlemlenmiştir (Tablo 5, Tablo 6, Tablo 7 ve Tablo 8). Denemelerde kullanılan 3 izolatın günler ve dozlara göre *S. oryzae* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları grafiklerde verilmiştir (Şekil 16, Şekil 17 ve Şekil 18). *B. bassiana* (310), *F.* sp. (339) ve *P. lilacinum* (224) izolatlarının *S. oryzae* erginleri üzerindeki mikoz değerleri 7. ve 14. günde değerlendirilmiş ve grafikle ifade edilmiştir (Şekil 19 ve Şekil 20). *B. bassiana* (310), *F.* sp. (339) ve *P. lilacinum* (224) izolatlarının LC_{50} ve LC_{95} değerleri Tablo 9'da verilmiştir.

Denemeye alınan izolatların, 1×10^5, 1×10^6, 1×10^7, 1×10^8 ve 1×10^9 konidi/ml dozlarında, 5. günde meydana getirdikleri ölüm oranları incelendiğinde; en yüksek ölüm oranının $1x10^9$ konidi/ml dozunda, en düşük ise $1x10^5$ konidi/ml dozunda olduğu gözlenmiştir.

Tablo 5. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının 5. günde dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerine oluşturdukları ölüm oranları

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Doz (konidi/ml) ± SH (min.-mak.)				
		$1x10^5$	$1x10^6$	$1x10^7$	$1x10^8$	$1x10^9$
Purpureocillium lilacinum	224	2.5±2.2Bc* (0-10)	10.0±3.4ABc (0-20)	27.5±3.8Bb (20-40)	42.5±1.3Ba (40-45)	48.8±2.1Ca (45-55)
Beauveria bassiana	310	15.0±3.1ABc (10-25)	18.8±3.3ABc (10-25)	40.0±3.1Ab (30-45)	50.0±0.0Bb (50-50)	66.3±4.5Ba (55-75)
Fusarium sp.	339	15.0±3.4ABd (5-25)	25.5±2.2Ad (15-25)	45.0±1.8Ac (40-50)	68.8±5.1Ab (601-85)	85.0±3.1Aa (75-90)
Kontrol	-	0.0±0.0Ba (0-0)	1.3±1.1Ba (0-5)	1.3±1.1Ca (0-5)	0.0±0.0Ca (0-0)	2.5±1.3Da (0-5)

* Sütunlardaki aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

* Satırlardaki aynı küçük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

Beşinci günde $1x10^5$ konidi/ml dozunda elde edilen değerlere bakıldığında, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı (%2.5) istatistiki olarak kontrolden farklı bulunmamıştır. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları; %15 olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta olduğu gözlenmiştir.

Beşinci günde $1×10^6$ konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı (%10) yine istatistiki olarak kontrolden farklı bulunmamıştır. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla, %18.8, %25.5 olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta yer almıştır.

Beşinci günde $1x10^7$ konidi/ml dozunda elde edilen değerler incelendiğinde, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı %27.5 olarak bulunmuştur. *B.*

bassiana (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla; %40.0 ve %45.0 olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta olduğu gözlenmiştir.

Beşinci günde $1x10^8$ konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı (%42.5) ve *B. bassiana* (310) izolatının oluşturduğu ölüm oranı (%50.0) istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. *F.* sp. (339) izolatının ölüm oranı ise %68.8 olarak bulunmuş ve $1x10^8$ konidi/ml dozunda en yüksek değer olarak gözlenmiştir.

Beşinci günde $1x10^9$ konidi/ml dozunda, her üç izolat için de istatistiki olarak farklı ölüm değerleri hesaplanmıştır. *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı %48.8 ile en düşük olmuştur. *B. bassiana* (310) izolatı %66.3 ve *F.* sp. (339) izolatı %85 ölüm oluşturmuştur. *F.* sp. (339) izolatının ölüm oranı, $1x10^9$ konidi/ml dozunda en yüksek değer olarak gözlenmiştir. Her üç izolatda dozlar arttıkça ölüm oranı artmıştır.

Tablo 6. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının, 7. günde dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturdukları ölüm oranları

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Doz (konidi/ml) ± SH (min.-mak.)				
		$1x10^5$	$1x10^6$	$1x10^7$	$1x10^8$	$1x10^9$
Purpureocillium lilacinum	224	8.8±2.8ABd* (0-15)	30.0±1.8BCc (25-35)	41.3±5.4Cb (25-55)	72.5±1.3Ba (70-45)	65.0±1.8Ba (60-70)
Beauveria bassiana	310	21.3±1.1Ad (20-25)	41.3±3.7Ac (30-50)	52.5±1.3Bb (50-55)	82.5±2.2Aa (75-85)	81.3±2.1Aa (75-85)
Fusarium sp.	339	22.5±2.2Ad (15-25)	37.5±2.8ABc (30-45)	68.8±5.1Ab (60-85)	85.0±3.1Aa 75-90)	90.0±2.5Aa (85-95)
Kontrol	-	1.3±1.1Ba (0-5)	0.0±0.0Ca (0-0)	0.0±0.0Da (0-0)	0.0±0.0Ca (0-0)	2.5±1.3Ca (0-5)

* Sütunlardaki aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

* Satırlardaki aynı küçük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

Purpureocillium lilacinum (224), *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının 1×10^5, 1×10^6, 1×10^7, 1×10^8 ve 1×10^9 konidi/ml dozlarında 7. günde meydana getirdikleri ölüm oranlarının, en yüksek $1x10^9$ konidi/ml dozunda, en düşük ise $1x10^5$ konidi/ml dozunda olduğu görülmüştür.

Yedinci günde $1x10^5$ konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı (%8.8) istatistiki olarak kontrolden farklı bulunmazken, *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatları, sırasıyla %21.3 ve %22.5 ile istatistiki açıdan aynı grupta yer almıştır.

Yedinci günde 1×10^6 konidi/ml dozunda elde edilen değerlere bakıldığında, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranının %30 olduğu görülmektedir. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla, %41.3 ve %37.5 olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta olduğu gözlenmiştir.

Yedinci günde $1x10^7$ konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224), *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının meydana getirdiği ölüm oranları sırasıyla, %41.3, %52.5 ve %68.8 olarak hesaplanmış ve istatistikî olarak farklı bulunmuştur.

Yedinci günde $1x10^8$ konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı %72.5 olmuştur. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla, %82.5 ve %85 olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta olduğu gözlenmiştir.

Yedinci günde $1x10^9$ konidi/ml dozunda izolatların oluşturduğu ölüm oranları sırasıyla, %65, %81.3 ve %90 olarak gerçekleşmiştir. *P. lilacinum* (224) izolatı istatistiki olarak ayrı grupta yer alıken, diğer 2 izolat aynı grupta yer almıştır. Her üç izolatda da, dozlar arttıkça ölüm oranı artmış en yüksek ölüm oranı 1×10^9 konidi/ml dozunda *F.* sp. (339) izolatında hesaplanmış ve bunu sırasıyla *B. bassiana* ve *P. lilacinum* izlemiştir.

Tablo 7. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının 9. günde dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturdukları ölüm oranları

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Doz (konidi/ml) ± SH (min.-mak.)				
		$1x10^5$	$1x10^6$	$1x10^7$	$1x10^8$	$1x10^9$
Purpureocillium lilacinum	224	21.3±2.1Bd* (15-25)	43.8±5.4Bc (25-50)	58.8±3.7Cb (50-70)	85.0±0.0Ba (85-85)	77.5±1.3Ba (75-80)
Beauveria bassiana	310	35.0±1.8Ad (30-40)	60.0±3.1Ac (55-70)	90.0±3.1Ab (85-100)	98.8±1.1Aa (95-100)	100.0±0.0Aa (100-100)
Fusarium sp.	339	33.8±2.1Ad (30-40)	58.8±3.7Ac (50-70)	77.5±2.8Bb (70-80)	95.0±1.8Aa (90-100)	97.5±2.2Aa (90-100)
Kontrol	-	1.3±1.1Ca (0-5)	1.3±1.1Ca (0-5)	1.3±1.1Da (0-5)	1.3±1.1Ca (0-5)	2.5±1.Ca (0-5)

* Sütunlardaki aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

* Satırlardaki aynı küçük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

Belirlenen izolatların 1×10^5, 1×10^6, 1×10^7, 1×10^8 ve 1×10^9 konidi/ml dozlarında 9. günde meydana getirdikleri ölüm oranları incelendiğinde en yüksek ölüm oranının $1x10^9$ konidi/ml dozunda, en düşük ise $1x10^5$ konidi/ml dozunda olduğu gözlenmiştir.

Dokuzuncu günde $1x10^5$ konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224) izolatı, %21.3 ölüm oranı ile en düşük etkiyi gösterirken, bunu sırasıyla %35 ve %33.8 ile *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatları izlemiştir. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatları istatistiki açıdan aynı grupta yer almıştır.

Dokuzuncu günde 1×10^6 konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı %43.8 olmuştur. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm

oranları sırasıyla, %60 , %58.8 olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta yer almıştır.

Dokuzuncu günde $1x10^7$ konidi/ml dozunda elde edilen değerlere bakıldığında, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranının %58.8 olarak gerçekleştiği görülmüştür. *B. bassiana* (310) ve *Fusarium* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla, %90 ve %77.5 olarak bulunmuş ve tüm izolatların istatistiki açıdan farklı grupta olduğu gözlenmiştir.

Dokuzuncu günde $1x10^8$ konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı %85 olarak bulunmuştur. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla, %98.8 ve %95 olmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta olduğu gözlenmiştir.

Dokuzuncu günde $1x10^9$ konidi/ml dozunda elde edilen değerler incelendiğinde, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranının %77.5 olarak gerçekleştiği gözlenmiştir. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla; %100 ve %97.5 olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan aynı grupta olduğu gözlenmiştir. Her üç izolatda da, dozlar arttıkça ölüm oranı artmış ve en yüksek ölüm oranı, 1×10^9 konidi/ml dozunda, %100 ile *B. bassiana* (310) izolatında hesaplanmıştır.

Yedinci *P. lilacinum* (224) ve *B. bassiana* (310) izolatları, dokuzuncu günde ise, *P. lilacinum* (224) izolatının, $1x10^8$ konidi/ml ve $1x10^9$ konidi/ml dozları incelendiğinde; ölüm oranları arasında istatistiki açıdan fark bulunmamasına rağmen, $1x10^8$ konidi/ml dozunda ölüm oranı daha yüksek bulunmuştur. Bu durumda; doz arttışına bağlı olarak entomopatojen fungus sporlarının besin için rekabete girmiş olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 8. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının 14. günde dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturdukları ölüm oranları

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Doz (konidi/ml) ± SH (min.-mak.)				
		$1x10^5$	$1x10^6$	$1x10^7$	$1x10^8$	$1x10^9$
Purpureocillium lilacinum	224	30.0±2.5Cd * (25-35)	52.5±1.3Cc (50-55)	73.5±4.5Cb (60-85)	100.0±0.0Aa (100-100)	100.0±0.0Aa (100-100)
Beauveria bassiana	310	47.5±2.2Ac (40-50)	72.5±2.2Bb (70-80)	100.0±0.0Aa (100-100)	100.0±0.0Aa (100-100)	100.0±0.0Aa (100-100)
Fusarium sp.	339	45.0±0.0ABc (45-45)	93.8±3.3Ab (85-100)	90.0±1.8Bb (85-95)	100.0±0.0Aa (100-100)	100.0±0.0Aa (100-100)
Kontrol	-	1.3±1.1Da (0-5)	1.3±1.1Da (0-5)	1.3±1.1Da (0-5)	5.0±2.5Ba (0-10)	2.5±1.3Ba (0-5)

* Sütunlardaki aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

* Satırlardaki aynı küçük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

Purpureocillium lilacinum (224), *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının 1×10^5, 1×10^6, 1×10^7, 1×10^8 ve 1×10^9 konidi/ml dozlarında 14. günde meydana getirdikleri ölüm oranları incelendiğinde, en yüksek ölüm oranının $1x10^9$ konidi/ml dozunda *B. bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *P. lilacinum* (224) izolatlarında ve en düşük ise $1x10^5$ konidi/ml dozunda *P. lilacinum* izolatında gerçekleştiği gözlenmiştir.

On dördüncü günde $1x10^5$ konidi/ml dozunda elde edilen değerlere bakıldığında, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranının %30 olduğu görülmektedir. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla; %47.5 ve %45

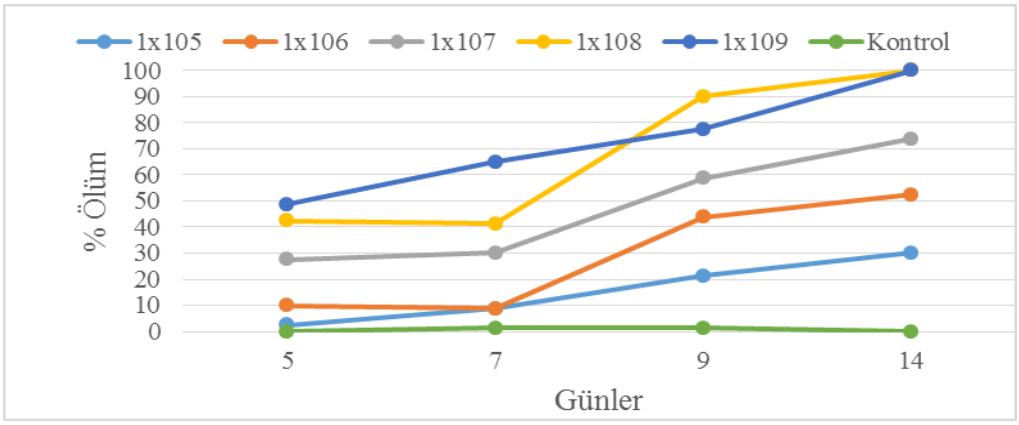
olarak bulunmuş ve istatistiki açıdan, 224 nolu izolat farklı grupta yer alırken 310 ve 339 nolu izolatlar aynı grupta yer almıştır.

On dördüncü günde 1×10^6 konidi/ml dozunda, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranı %52.5 olarak bulunmuştur. Bunu, *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatları, sırasıyla; %72.5 ve %93.8 ölüm oranı ile izlemiş ve istatistiki açıdan tüm izolatların farklı grupta olduğu gözlenmiştir.

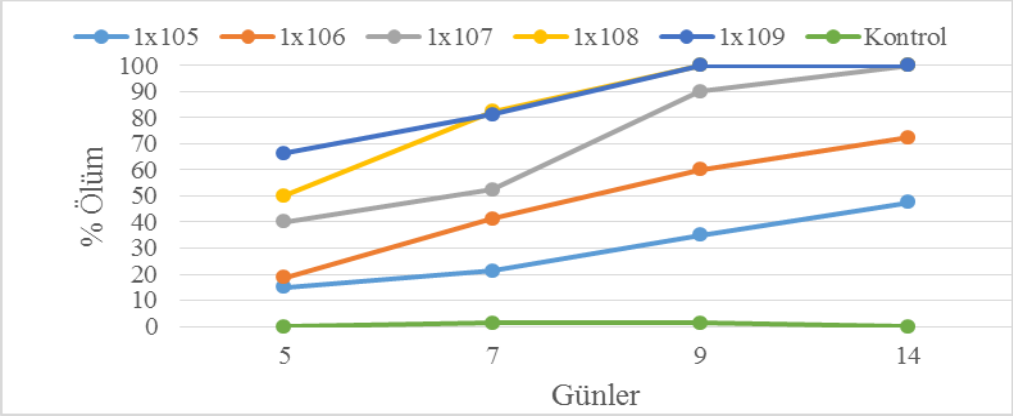
On dördüncü günde $1x10^7$ konidi/ml dozunda elde edilen değerlere bakıldığında, *P. lilacinum* (224) izolatının oluşturduğu ölüm oranının %73.5 olduğu gözlenmektedir. *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının ölüm oranları sırasıyla; %100 ve %90 olarak gerçekleşmiş ve tüm izolatlar istatistiki açıdan farklı grupta yer almıştır.

On dördüncü günde $1x10^8$ ve $1x10^9$ konidi/ml dozlarında, her üç izolatın da %100 ölüm oranına sahip olduğu ve istatistiki olarak birbirinden ayrılmadığı görülmüştür. Her üç izolatda da dozlar arttıkça ölüm oranı artmıştır. En yüksek ve en erken ölüm oranı $1x10^7$ konidi/ml dozunda, %100 ölüm oranı ile *B. bassiana* (310) izolatında hesaplanmıştır.

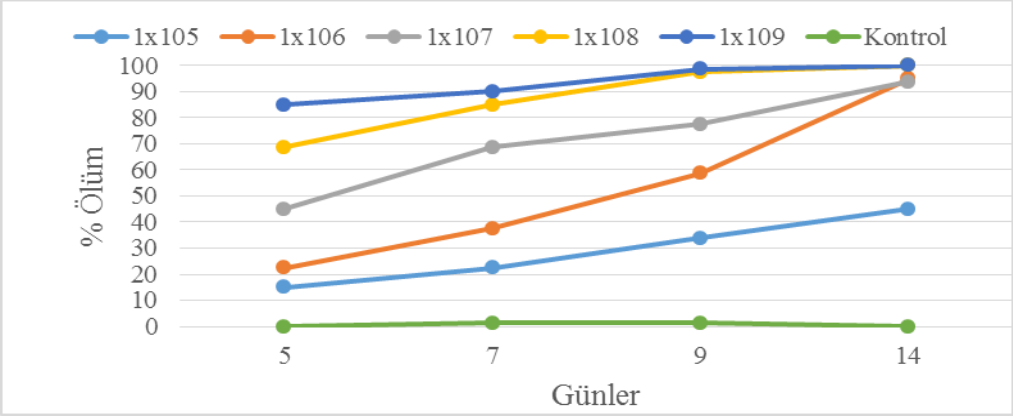
Purpureocillium lilacinum (224), *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının günler ve dozlara göre *S. oryzae* üzerindeki ölüm oranları grafikte incelendiğinde, en hızlı ölümü, 9. günde *F.* sp. (339) izolatının oluşturduğu, en yüksek ölümü ise, *F.* sp. (339) ve *B. bassiana* (310) izolatlarının gerçekleştirdiği gözlenmiştir (Şekil 16, 17, 18).



Şekil 16. *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatının günler ve dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları



Şekil 17. *Beauveria bassiana* (310) izolatının günler ve dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları

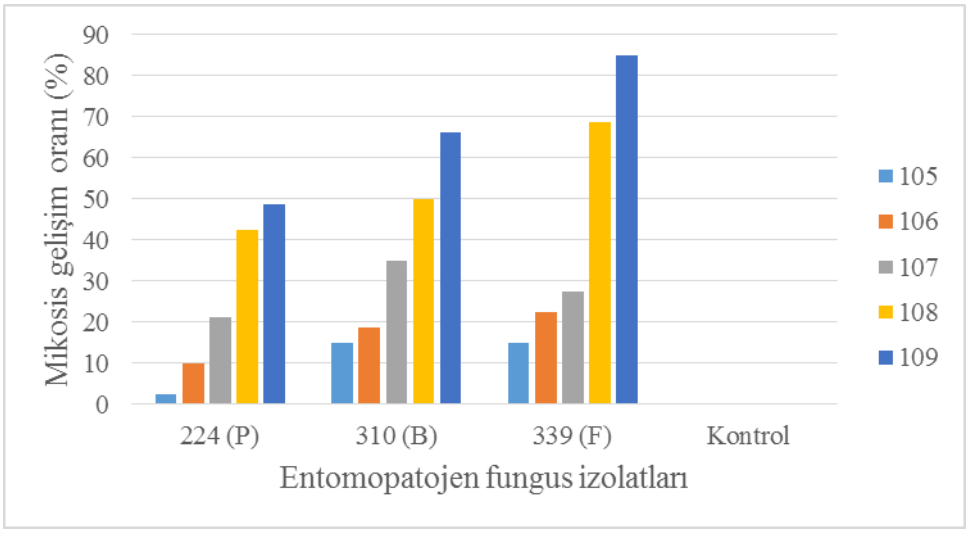


Şekil 18. *Fusarium* sp. (339) izolatının günler ve dozlara göre *Sitophilus oryzae* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları

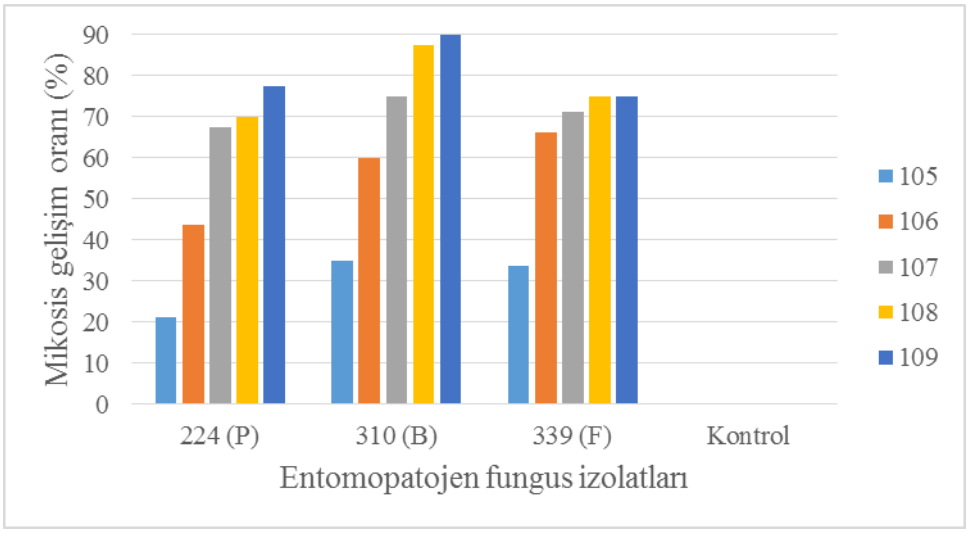
Yedinci ve 14. günde oluşan % mikoz değerlerine bakıldığında, her üç izolatda da yüksek değerlerde mikosis oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 19 ve Şekil 20). Yedinci günde; en düşük mikozlanma %12.5 ile, *P. lilacinum* (224) izolatında $1x10^5$ dozunda oluşurken, en yüksek mikozlanma, %91.5 ile, 1×10^9 konidi/ml dozunda *B. bassiana* (339) izolatında gözlenmiştir. On dördüncü günde en yüksek mikozlanma %92 ile 1×10^9 konidi/ml dozunda *B. bassiana* (310) izolatında gözlenmiştir. En düşüğü de *P. lilacinum* (224) izolatında hesaplanmıştır. Doz ve zaman arttıkça mikozlanma yüzdesinde artış gözlenmiştir.

Hansen (2007) yaptığı bir çalışmada; *S granarius*'a karşı *B. bassiana*'yı $1x10^8$ konidi/ml dozunda test etmiştir. Püskürtme yönteminin kullanıldığı çalışmada böcek erginlerinde %83-98 ölüm gerçekleşmiştir. Elde edilen sonuç bizim çalışmamızda elde edilen %100 değeri ile benzerlik göstermektedir [31].

Batta (2008)'nın yaptığı çalışmada, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* funguslarının çeşitli formulasyonlarını $1x10^8$ konidi/ml dozunda, ergin *R. dominica*, *S. oryzae*, *T. castaneum* türlerine karşı uygulanmış ve ölüm oranları karşılaştırılmıştır. *R. dominica*'da %43-78, *S. oryzae*'de %85-96, *T. castaneum*'da %47-86 arasında ölümler görülmüştür. Çalışmamızda, *B. bassiana*'nın $1x10^8$ konidi/ml dozunda *S. oryzae*'de oluşturduğu %100'lük ölüm oranı, Batta'nın sonuçlarına benzerlik göstermektedir [38].



Şekil 19. *Purpureocillium lilacinum* (224), *Beauveria bassiana* (310) ve *Fusarium* sp. (339) izolatlarının 7. günde dozlara göre % mikosis değerleri



Şekil 20. *Purpureocillium lilacinum* (224), *Beauveria bassiana* (310) ve *Fusarium* sp. (339) izolatlarının 14. günde dozlara göre % mikosis değerleri

Atay ve Yanar (2016)'ın yaptıkları çalışmada *S. granarius* ve *Gonioctena fornicata*'dan izole edilen 13 entomopatojen fungus izolatının buğday biti *S. granarius* (L.) üzerindeki etkinliği 1×10^8 konidi/ml dozunda incelenmiştir. Ölüm oranları 1, 3, 5, 7, 9 ve 14. günlerde kaydedilmiştir. 7. ve 14. günlerde mikosis oranları kaydedilmiştir. En yüksek ölüm oranı 14. günde HP-30 izolatında (%78.33) elde edilmiştir. En yüksek mikosis oranı (%100) 14. günün sonunda GN5-2 ve HP22-1 kodlu izolatlarda elde edilmiştir [54]. Yaptığımız çalışmada 1×10^8 konidi/ml dozunda değerler incelendiğinde *P. lilacinum* (224), *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının sırasıyla 14. günde % mikosis değerleri; %70, %87, %72 olarak bulunmuştur. 1×10^9 konidi/ml dozunda 14. gün sonunda hesaplanan mikosis değerleri sırasıyla; %77, %90 ve %73 olarak hesaplanmıştır. Doz ve günler arttıkça mikosis değerlerinde artış gözlemlenmiştir.

Tablo 9. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının LC_{50} ve LC_{95} değerleri

Entomopatojen Fungus	Örnek No	LC_{50}	LC_{95}
Purpureocillium lilacinum	224	8892.5	16230.7
Beauveria bassiana	310	4863.4	10153.9
Fusarium sp.	339	2011.6	10055.4

Çalışmamızda, LC_{50} değerleri, *F.* sp. (339), *B. bassiana* (310) ve *P. lilacinum* (224) izolatları için sırasıyla, 2011.6, 4863.4 ve 8892.5 konidi / ergin olarak hesaplanmıştır. LC_{95} değerleri ise sırasıyla; 10055.4, 10153.9 ve 16230.7 konidi / ergin olarak gerçekleşmiştir. Bu değerler, ölüm oranları ve % mikosis değerleri ile paralellik göstermektedir.

Bayrak ve ark. (2015)'nın yaptığı çalışmada, *B. bassiana* ve *Fusarium* sp.'nün biyolojik etkinliği, *S. granarius* erginleri üzerinde laboratuar şartlarında karşılaştırılmıştır. LC_{50} değerleri *B. bassiana* için 429.2 konidi / ergin, *Fusarium* sp. için 400.9 konidi / ergin, olarak belirlenmiştir. Bizim sonuçlarımızdan oldukça farklı olan bu LC_{50} değerleri, farklı bir böcek türü ve farklı izolatların kullanımından kaynaklanmıştır [50].

3.4. Entomopatojen Fungusların Yüzde Çimlenme Oranlarının Belirlenmesi

İzole edilen fungusların yüzde spor çimlenmesi Tablo 10'da verilmiştir. Germ tüpü spor çapından büyük olan sporların çimlenmiş olarak kabul edildiği çalışmada, %100'e yakın çimlenmenin olduğu görülmüştür. Denemelerimizde kullandığımız *P. lilacinum* (224), *B. bassiana* (310) ve *F.* sp. (339) izolatlarının oluşturduğu yüksek ölüm oranlarında, bu yüksek çimlenme oranı ve dolayısıyla yüksek enfeksiyon oranının da katkısı olmuştur.

Tablo 10. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının yüzde çimlenme oranları

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Lokasyon	Çimlenme oranı (%) ± SH (min.-mak.)
Purpureocillium lilacinum	224	Mansurlu-Kozan	97.7±1.2 a* (95-100)
Beauveria bassiana	310	Çukurova	91.0±0.5 a (90-92)
Fusarium sp.	339	Feke	95.0±2.1 a (90-98)

* Aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur ($P<0.05$).

Posada ve Vega (2005), *B. bassiana* üzerinde yaptıkları çalışmada, bizim sonuçlarımıza paralel olarak %100'e yakın çimlenme oranı bulduklarını aktarmışlardır [72].

3.5. Entomopatojen Fungusların *Sitophilus oryzae* Erginleri Üzerindeki Spor Üretiminin Belirlenmesi

İzole edilen fungusların *Sitophilus oryzae* üzerindeki spor üretimleri hemositometre ile belirlenmiş ve her bir fungus için böcek başına mililitredeki spor üretimi olarak verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, en yüksek spor üretimini, böcek başına mililitrede $5.20x10^3$ spor ile *B. bassiana* (310) izolatının oluşturduğunu, bunu sırasıyla mililitrede

$1.35x10^3$ ve $0.70x10^2$ spor ile *F.* sp. (339) ve *P. lilacinum* (224) izolatının takip ettiği görülmüştür.

Tablo.11. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının *Sitophilus oryzae* erginleri üzerindeki spor üretimi

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Lokasyon	Böcek başına düşen spor (spor/ml) ± SH
Purpureocillium lilacinum	224	Mansurlu-Kozan	$0.70x10^2$±0.4 c*
Beauveria bassiana	310	Çukurova	$5.20x10^3$±1.7 a
Fusarium sp.	339	Feke	$1.35x10^3$±0.3 b

*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiki olarak fark yoktur ($P<0.05$).

3.6. Entomopatojen Fungusların Misel Gelişimi Üzerine Sıcaklığın Etkisi

Beauveria bassiana (310), *F.* sp. (339) ve *P. lilacinum* (224) izolatlarının radyal büyüme oranı üzerine sıcaklığın etkisini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, sonuçlar mm/gün olarak değerlendirilmiştir (Tablo 12). Entomopatojen funguslar, diğer bitki zararlısı funguslar gibi oda şartlarında (24±1°C) optimum büyüme göstermektedir. Sonuçlar incelendiğinde benzer bir durumun görüldüğü anlaşılmaktadır. Her üç entomopatojen fungus izolatı da, optimum sıcaklık değerine kadar, sıcaklık arttıkça miselyal gelişimini artırmıştır. *B. bassiana* (310) izolatının miseliyal gelişiminin, *P. lilacinum* (224) ve *F.* sp. (339) izolatlarına göre daha yavaş olduğu görülmüştür.

Tablo 12. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının misel gelişimi üzerine sıcaklığın etkisi

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Misel gelişimi (mm/gün±SH) (min.-mak.)					
		10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	37°C
Purpureocillium lilacinum	224	0.1±0.6C d*	0.3±0.6B c	1.9±0.8B b	12.8±0.4A a	12.9±0.0A a	12.9±0.0A a
		(0-3)	(0-3)	(12-15)	(88-90)	(90-90)	(90-90)
Beauveria bassiana	310	0.2±0.6B d	0.6±0.2A c	1.6±0.9C b	8.8±1.0B a	8.8±1.0B a	8.8±1.0B a
		(0-3)	(4-5)	(10-14)	(60-65)	(60-65)	(60-65)
Fusarium sp.	339	0.4±1.0A d	1.0±0.8C c	2.1±1.5A b	12.8±0.2B a	12.9±0.0A a	12.9±0.0A a
		(0-5)	(2-6)	(10-18)	(89-90)	(90-90)	(90-90)

* Sütunlardaki aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

* Satırlardaki aynı küçük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

Ali-Shtayeh ve ark. (2002)'nın yaptıkları çalışmada, *Paecilomyces farinosus (=Purpureocillium lilacinum)* izolatının, sıcaklık değerlerine göre miseliyal gelişimi belirlenmiştir. Miseliyal gelişim, 10, 15, 20, 25, 30 ve 37°C'de sırasıyla, 0.2, 0.6, 0.7, 13.1, 13.8 ve 13,8 mm/gün olarak hesaplanmıştır. Bulunan bu değerler, bizim aynı sıcaklıklardaki çalışmamızda elde edilen sırasıyla; 0.2, 0.3, 1.9, 12.8, 12.9 ve 12.9 mm/gün değerleri ile benzerlik göstermektedir [60].

3.7. Entomopatojen Fungusların Spor Üretimi Üzerine Sıcaklığın Etkisi

Çalışmamızda elde edilen entomopatojen fungusların spor üretimi üzerindeki sıcaklık etkisini belirlemek için yapılan çalışmadaki sonuçlar Tablo 13'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, optimum sıcaklığa ne kadar yaklaşılırsa, spor üretimi de aynı şekilde

artmaktadır. Sıcaklık yükseldikçe sporulasyonda azalma gözlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda sporulasyon yok denecek kadar az olmuştur.

Purpureocillium lilacinum (224) izolatında düşük sıcaklıkta (10°C) sporulasyon çok az gerçekleşmiştir. Sıcaklık 25°C 'ye geldiğinde sporulasyon fazlalaşmıştır. Yüksek sıcaklıkta (37°C) sporulasyon değeri düşmüştür. *Beauveria bassiana* (310) izolatı için en çok sporulasyon 25 ve 30°C olmuş ve düşük sıcaklıkta (10°C) sporulasyon benzer bir şekilde çok az olmuştur. *Fusarium* sp. (339) izolatı için de benzer bir durum gözlenmiştir.

Tablo. 13. *Beauveria bassiana* (310), *Fusarium* sp. (339) ve *Purpureocillium lilacinum* (224) izolatlarının spor üretimi üzerine sıcaklığın etkisi

Entomopatojen Fungus	Örnek No	Ortalama konidi/petri ($x10^6$) ± Standart hata					
		10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	37°C
Purpureocillium lilacinum	224	0.1±0.0 Ad*	1.1±0.6 Bc	0.7±0.0 Bcd	2.9±0.1 Bb	26±1.2 Aa	0.1±0.0 Bd
Beauveria bassiana	310	0.0±0.0 Ad	0.2±0.0 Bc	0.1±0.0 Bc	0.5±0.1 Ca	0.3±0.0 Cab	0.1±0.0 Bd
Fusarium sp.	339	0.0±0.0 Ad	6.4±0.1 Ab	8.6±0.1 Aa	3.5±0.1 Ae	5.0±0.1 Bc	4.0±0.1 Ad

* Sütunlardaki aynı büyük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

* Satırlardaki aynı küçük harfi içeren ortalamalar arasında LSD testine göre istatistikî olarak önemli bir fark yoktur (P<0.05).

Ali-Shtayeh ve ark. (2002)'nın yaptıkları çalışmada *Paecilomyces farinosus (=Purpureocillium lilacinum)* izolatı için spor üretimi üzerine sıcaklığın etkisi belirlemişlerdir. 10, 15, 20, 25, 30 ve 37°C'de sırasıyla; 0.1±0.01, 1.1±0.6, 2±0.1, 0.6±0.01, 28±1.2 ve 0.1±0.01 konidi/petri olarak hesaplanmıştır. Bizim çalışmamız bulunan değerler sırasıyla; 0.1, 1.1, 0.7, 2.9, 26 ve 0.1 ile benzerlik göstermektedir [60].

4. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile daha önce hiç çalışma yapılmayan Adana İli topraklarından entomopatojen fungus izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Sörvey kapsamında; Bahçeköy-Karataş, Ceyhan, Mansurlu –Kozan, Karaömerli- Sarıçam, Çukurova, Karaisalı, Feke ve Kahramanmaraş, Afşin, Alipınar olmak üzere 8 farklı yerden toplam 80 adet toprak örneği alınmıştır. Belirlenen lokasyonlar çerçevesinde; çayır-mera, sebze, bahçe bitkileri/bağ, tarla bitkileri ve orman habitatları incelenmiştir.

Elde edilen entomopatojen fungusların, *Galleria mellonella* (L.) üzerinde patojenite testi yapılarak, patojen olup olmadıkları belirlenmiştir. Patojen olduğu belirlenen fungus izolatlarının teşhisleri, morfolojik olarak yapılmıştır. İzole edilmiş olan EPF izolatlarının, PDA ortamında gelişim karakteristikleri ve morfolojik yapılarının mikroskopta incelenmesi sonucunda 3 farklı türe ait oldukları tespit edilmiştir. Teşhis sonucunda; 9 adet *Fusarium* sp., 3 adet *Beauveria bassiana* ve 1 adet *Purpureocillium lilacinum* olmak üzere toplam 13 adet entomopatojen fungus izole edilmiştir.

Elde edilen bu entomopatojen fungus izolatlarının, depo zararlısı, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculioniade) üzerinde etkinlikleri laboratuar şartlarında belirlenmiştir. Topraktan izole edilen tüm entomopatojen fungus türlerinin tek dozda ($1x10^7$ konidi/ml) *S. oryzae* üzerinde oluşturduğu ölüm oranları, 5, 7, 9 ve 14. günde sayım yapılarak hesaplanmıştır. Yedi ve 14. günde % mikosis değerleri de hesaplanmıştır.

Yapılan bu çalışma sonucunda, en virülens 3 entomopatojen fungus izolatı, 310 nolu *B. bassiana*, 339 nolu *F.* sp. ve 224 nolu *P. lilacinum* olarak belirlenmiştir.

Belirlenen izolatlarla, 1×10^5, 1×10^6, 1×10^7, 1×10^8 ve 1×10^9 konidi/ml olmak üzere 5 farklı dozda, *S. oryzae* üzerinde uygulama yapılmıştır. Ölü böcekler sayılarak yüzde ölüm oranları ve mikoz değerleri ve LC_{50} ve LC_{95} değerleri hesaplanmıştır. *P. lilacinum* (224), *B. bassiana* (310) ve *Fusarium* sp. (339) izolatlarının günler ve dozlara göre *S. oryzae* üzerindeki ölüm oranları incelendiğinde, en hızlı ölümü *F.* sp. (339) izolatının oluşturduğu, en yüksek ölümü ise, *F.* sp. (339) ve *B. bassiana* (310) izolatlarının gerçekleştirdiği gözlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda, *Fusarium* sp. (339) ve *B. bassiana* (310) izolatları birbirine yakın sonuçlar vererek en virülens izolatlar olarak tespit edilmiştir. Bunu *P. lilacinum* (224) izolatı takip etmiştir. Önceki yapılan çalışmalarda, *S. oryzae* üzerinde *B. bassiana* izolatı en virülens bulunurken, bizim çalışmamızda, *Fusarium* sp. izolatının da *B. bassiana* kadar virülens olduğu belirlenmiştir. *Fusarium* sp.'nin tür teşhisi yapılıp ve bitki paraziti olup olmadığı tespit edildikten sonra çalışmalarda kullanılabileceği öngörülmüştür.

Belirlenen entomopatojen fungusların yüzde spor çimlenmesi belirlenmiş ve sonuçların %100'e yakın olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre, her üç izolat için de enfeksiyon hızının fazla olabileceği ön görülmüştür. İzole edilen entomopatojen fungusların *S. oryzae* üzerindeki spor üretimleri incelendiğinde, sporulasyonun en çok *B. bassiana* (310) izolatı için gerçekleştiği görülmüştür.

İzole edilen fungusların radyal büyüme oranı üzerine sıcaklığın etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, her üç entomopatojen fungus izolatında da, optimum sıcaklık değerine kadar, sıcaklık arttıkça miseliyal gelişimin de arttığı gözlenmiştir. *B. bassiana* (310) izolatının miseliyal gelişiminin, *P. lilacinum* (224) ve *Fusarium* sp. (339) izolatlarına göre daha yavaş olduğu görülmüştür.

Fungusların spor üretimi üzerindeki sıcaklık etkisini belirlemek için yapılan çalışmadaki sonuçlar incelendiğinde; radyal büyümeye benzer şekilde, optimum sıcaklığa ne kadar yaklaşılırsa spor üretiminin de aynı şekilde arttığı gözlenmiştir. Sıcaklık yükseldikçe

sporulasyonda azalma görülmüş, düşük sıcaklıklarda sporulasyon yok denecek kadar az olmuştur.

Sonuç olarak; *Fusarium* sp. (339), *B. bassiana* (310), *P. lilacinum* (224) izolatları biyolojik mücadele ajanı olarak ümit vericidir. Bu çalışma, entomopatojen fungusların potansiyel olarak *S. oryzae* erginlerine karşı kullanılması için bir ön çalışma niteliğindedir. Etkili bulunan *Fusarium* sp. (339), *B. bassiana* (310) ve *P. lilacinum* (224) izolatlarının, depo zararlıları ve diğer zararlılara karşı kullanılabilirliğinin araştırılması gereklidir. Gelecekteki çalışmalarla, entomopatojen fungusların etki süresinin kısaltılması, daha spesifikleştirilmesi, raf ömrünün uzatılabilmesi gibi konularda kaydedilecek ilerlemeler ve diğer mücadele teknikleri ile sinerji oluşturulması, entomopatojen fungusların kullanılabilirliğini artıracak ve ülkemizi ve dünyamızı daha yaşanabilir bir hale getirecektir.

Türkiye'de, tarımsal zararlılar ile mücadelede, entomopatojenlerin varlığı araştırılarak, biyo-preparatların üretimine yönelik çalışmalara hız kazandırılmalı ve entegre mücadele kapsamında kullanılacak alternatif entomopatojen preparatların sayısı artırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Türkiye İstatistik Kurumu, **http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001,** (Erişim tarihi: Kasım 2016).

2. Shaaya, E., Kostjucovskı, M., Eılberk, J., Sukprakarn, C., 1997. Plant Oils as Fumigants and Contact Insecticides for The Control of Stored-Product Insects. **Journal of Stored Products Research, 33**, 7-15.

3. Yıldırım, E., Özbek,H., Aslan,İ., 2001. Depolanmış Ürün Zararlıları. **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:191**.

4. Dizlek, H., Karatekin, E., Özer, M.S., Gül, H., 2008. Tahılların depolanmasında en sık karşılaşılan sorunlar ve bu sorunların çözüm önerileri., *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21,-23 Mayıs 2008, Erzurum, 391s.

5. Oğurlu, İ., 2000. Biyolojik Mücadele, **Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 8, Orman Fakültesi Yayın No: 1**, Isparta.

6. Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K., Ertürk, Ö., 2008. **Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele**, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon.

7. Müller-Kögler, E. 1965. Pilzkrankheiten bei Insekten. Anwendung zur biologischen Schädlingsbekämpfung und Grundlagen der Insektenmykologie. P. Parey Verlag, Berlin - Hamburg. 444 p.

8. De Melo, D.R., Fernandes, E.K.K., Da Costa, G. L., Scott, F.B., Bittencourt, V.R.E.P., 2008. Virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to Ctenocephalides felis felis, **Annals of the New York Academy of Sciences, 1149**: 388–390.

9. Kamp, A.M., Bidochka, M.J., 2002. Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars, **Letters in Applied Microbiology, 35**: 74–77.

10. Leger, R.J. ST., Wang, C., 2009. Entomopathogenic Fungi and the Genomics Era, Insect Pathogens: **Molecular Approaches and Techniques 1**- 21s.

11. Ferron, P., 1977. Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (Fungi Imperfecti. Moniliales) in imagines of Acanthoscelites obtectus (Col. Bruchidae). **Enhtomophaga, 22(4)**: 393-396.

12. Talwar, B.H., 2005. Isolation and Characterisation of Entomopathogenic Fungi and their Effectiveness, Doctor of Philosopy, Dharward University of Agricultural Scıences, Department of Agricultural Microbiology, **College of Agriculture, Dharward-580** 005.

13. Goettel, M. S., Eilenberg, J. and Glare, T. 2010. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations. In: "**Insect Control: Biological and Synthetic Agents**", (Eds.): Gilbert, L. I. and Gill, S. S.. Academic Press, Amesterdam, PP. 387-432.

15. Deacon, J.W., 1983. Microbial contol of pests and diseases Van nostrand. New York, 43s.

16. Jackson, M.A., Jaronski, S.T., 2009. Production of microsclerotia of the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and their potential for use as a biocontrol agent for soil-inhabiting insects, **Mycological Research II 3**, 842-850s.

17. Kocatürk, S., Barış, M., Özmen, O., Tuncer, G., 1998. Orta Anadolu Bölgesi'nde kımıl (*Aelia rostrata* Boh.)'da saptanan entomopatojen funguslar ve etkinlikleri üzerine araştırmalar, *Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi*, 25-28 Ocak 1994, İzmir.

18. Cogburn, R., Rice, C., Robert, R., 1999. Activity of the Entomopathogenic Fungus *Beaveria bassiana* (Deuteromycota: Hyphomycetes) Against Three Coleopteran Pests of Stored Grain. **Journal of Economic Tecnology, 92 (3)**: 691-694.

19. Bello, G., Padin, S., Fabrizo, M., 2000. Laboratory evaluation of chemical biological control of the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) in stored grains. **Joumal of Stored Products Research, 37 (1)**: 77 -84.

20. Padin, S., Fabrizio, M., Bello, G., 2002. Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. **Journal of Stored Products Research, 38 (1)**: 69-74.

21. Shtayeh, M.S.A., Mara'i, A.B.B.M, Jamous, R.M, 2003. Distribution, occurence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area, **Mycopathologia 154**: 235-244s.

22. Keller, S., Kessler, P., Schweizer, C., 2003. Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. **Biocontrol 48**: 307–319s.

23. 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 3**: 37–45s.

24. Batta,Y.A., 2004. Control of rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.Coleoptera:Curculionidae) with various formulations of *Metarhizium anisopliae*. **Crop Protection, 23 (2)**: 103-108,.

25. Kavallieratos, N.G., Micholaki, M.P., Batta, Y.A., 2004. Effect of the combined use of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin and diatomaceous earth for the control of three stored-product beetle species, **Crop Protection, 25 (5)**: 418-425.

26. Lord, J.C., 2005. Low humidity, moderate temperature, and desiccant dust favor efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) for the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Buruchidae). **Biological Control, 34 (2)**: 1 80-1 86.

27. Cherry, A.J., Abalob, P., Hella, K., 2005. A laboratory assessment of the potential of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) to control *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. **Journal of Stored Product Research, 41**, 295-309.

28. Şahin, H., 2006. Çam kesetırtılı (*Thaumetopoea pityocampa* (Den&Schiff)) (Lepidoptra Thaumetopoeidae)'na karşı entomopatojen fungus izolatlarının etkinliklerinin araştırılması, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 23s.

29. Athanassiou, C.G., Steenberg, T., Kavallieratos, I.G., 2006. Insecticidal effect of diatomaceous earth applied alone or in combination with *Beauveria bassiana* and beta cyfluthrin against *Sitophilus granarius* on stored wheat. **International Organisation for Biological and Integrated Control/West Palaearctic Regional Section 86 (2)**: 275-284.

30. Hansen, L.S., 2007. Combining larval parasitoids and an entomopathogenic fungus for biological control of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) in stored grain. **Biological Control, 40 (2)**: 237-242.

31. Kıvan, M., 2007. Entomopatojen Fungus *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes)'nin *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scultelleridae) üzerinde patojenitesi. **Entomol gener 30 (1)**, 063-069; Stuttgart.

32. Thungrabeab, M., Tongma, S., 2007. Effect of Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on Nontarget Insects, **KMITL Science and Technology Journal Vol. 7**. S1 Nov.

33. Moraga, E.Q., Navas-Cortes, J., Maranhao, E.A.A., Ortız-Urquıza, A., Santıago-Alvarez, C., 2007. Factors Affecting the Occurrence and Distribution of Entomopathogenic Fungi in Natural and Cultivated Soils, **Micological Research III**, 947-966s, Spain.

34. 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. **KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 11**: 118-122s.

35. Sun, B. D., Liu, X. Z., 2008. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. **Applied Soil Ecology, 39**: 100–108s.

36. Sun, B. D., Yu, H.Y., Chen, A.J., Liu, X.Z., 2008. Insect-associated fungi in soils of field crops and orchards. **Crop Protection, 27**:1421-1426 s.

37. Batta, Y.A., 2008. Control of Main Stored-Grain lnsects with New Formulations of Entomopathogenic Fungi in Diatomaceous Earth Dusts. **Internatİonal Journal of Food Engineering, 4 (1)**: 1556-3758.

38. Er, M.K., Mart, C., 2009. Kahramanmaraş İlinde Belirlenen Bazı Entomopatojen Funguslar ve İlin Entomopatojen Fungus Kullanımı Bakımından Değerlendirilmesi. **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 12 (2)**: 52-58s.

39. 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* (Homoptera: Aleyrodidae) **Bio-science Research Bulletin, 25 (1)**: 17-28s.

40. Sevim, A., 2010. Doğu Karadeniz bölgesinden entomopatojenik fungusların izolasyonu, karakterizasyonu ve virülanslarının belirlenmesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 168s.

41. Ahmed, B.I., 2010. Potentials of Entomopathogenic Fungi in Controlling the Menace of Maize Weevil *Sitophilus zeamis* on Stored Maize Grain. **Arcives of Phytopathology and Plant Protection, 43 (2)**: 107-115.

42. Pedrini, N., Villaverde, M. L., Fuse, C. B., Bello, G. M., Juarez, M. P., 2010. *Beauveria bassiana* Infection Alters Colony Development and Defensive

Secretions of The Beetles *Tribolium castaneum* and *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae), **Journal of Economic Entomology 103(4):** 1094-1099.

43. Wakil, W., Ghazanfar, M., U., 2010. Entomopathogenic fungus as a biological control agent against *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae) on stored wheat, **Archives Of Phytopathology And Plant Protection, 43:12**, 1236-1242.

44. Khashaveh, A., Ghosta, Y., Safaralizadeh, M. H., Ziaee, M., 2011. The Use Of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in Assays with Storage Grain Beetles**, Journal of Agricultural Science and Technology Vol. 13**: 35-43.

45. Mahdneshin, Z., Vojoudi, S., Ghosta, Y., Safaralizadae, M., H., Saber, M., 2011. Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi, Iranian isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin against the control of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae), **African Journal of Microbiology Research Vol. 5(29)**, pp. 5215-5220.

46. Muştu, M., Demirci, F., Koçak, E., 2011. Mortality effects of *Isaria farinosa* (Holm.) and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Sordariomycetes: Hypocreales) on *Aelia rostrata* Boh. (Hemiptera: Pentatomidae), **Türkiye Entomoloji Dergisi**, **2011, 35 (4)**: 559-568s.

47. Medo, J., Cagan, L., 2011. Factors affecting the occurrence of entomopathogenic fungi in soils of Slovakia as revealed using two methods, **Biological Control 59**: 200–208s.

48. Zamani, Z., Aminaee, M., M., Khaniki, G., B., 2013. Introduction of *Beauveria bassiana* as a Biological Control Agent for *Tribolium castaneum* in Kerman Province, **Archives of Phytopathology and Plant Protection, 46:18**, 2235–2243.

49. Bayrak, N., Doğan, S., Canhilal, R., 2015. The Activityy of *Beauveria bassiana* and *Fusarium* sp. on Some Storage Pests., *5. Entomopathogens and Microbial Control Congress*. 09-11 September, Ankara, 89s.

50. Karabulut, V., Bayrak, N., Atmaca, S., Canhilal, R., 2016. *Tribolium confusum*'a karşı entomopatojen fungusların (*Beauveria bassiana*, *Fusarium* sp.) biyolojik etkinliklerinin belirlenmesi. *6. Bitki Koruma Kongresi*. 5-8 Eylül, Konya, 134s.

51. Yalçın, M., Yanar, D., Yanar, Y., 2016. Laboratuvar Koşullarında Entomopatojen Fungusların *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)'ye Karşı Etkinliği. *6. Bitki Koruma Kongresi.* 5-8 Eylül, Konya, 70s.

52. Polat, İ., Yanar, D., Yanar, Y., Topçu, E., Dalkıran, E., 2016. Bazı Entomopatojen Fungus İzolatlarının Buğday Biti, *Sitophilus granarius* L. Üzerine Etkisi. *6. Bitki Koruma Kongresi.* 5-8 Eylül, Konya, 71s.

53. Atay, T., Yanar, D., 2016. Laboratuvar Koşullarında Entomopatojen Fungus İzolatlarının *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)'a Karşı Etkisi. 6. *Bitki Koruma Kongresi.* 5-8 Eylül, Konya, 72s.

54. Bronskill J.F. 1961. A cage to simplify the rearing of the Greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). **Journal of the Lepidopterists' Society, l5 (2)**: 102-104.

55. Anonim, 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları, 68-71, Cilt 1. Başak Matbacılık, Ankara, 283s.

56. Keller, S., Zimmermann, G., 1989. Mycopathogens of soil insects. In: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F. (Eds.), Insect-Fungus Interactions. **Academic Press**, London, 239–270s.

57. Meyling, N., Eilenberg, J., 2006. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. **Agriculture Ecosystems and Environment 113**, 336–341s.

58. White, G. F., 1927. A method for obtining infective nematode from cultures. **Sciences 66**: 302-303.

59. Canhilal, R. and Carner G.R., 2006. Natural occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in South Carolina, **Journal of Agricultural and Urban Entomology., 23(3)**: 159–166.

60. Ali-Shtayeh, M.S., Abdel-Basit, M., Jamous, R. 2002. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. **Mycopathologia, 156**, 235-244.

61. Vanninen, I. ve Husberg, G., B., 1989. Occurence of Entomopathogenic Fungi and Entomoparasitic Nematodes in Cultivated Soils in Finland, **Entomologica Fennica, 53**, 65-71.

62. Bedding. R. A., Akhurst R.J., A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil, **Nematologica 21**: 109-116, (1975).

63. Hidalgo, E., Moore, D., Le Patourel, G., 1998. The Effect of Different Formulations of *Beauveria bassiana* on *Sitophilus zeamais* in Stored Maize. **Journal Of Stored Products Research Vol. 34**, No. 2/3, pp. 171-179.

64. Lacey, L.A., 1997. Manual of techniques in insect pathology. **Academic Press, San Diego**.

65. Samson, R.A., Evans, H.C., Latge, J.P., 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. **SpringerVerlag**, New York.

66. Goettel, M. S., Inglis, G.D., 1997. Fungi: Hyphomycetes. In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of Techniques in Insect Pathology. **Academic Press, San Diego, USA, pp. 213**– 249.

67. Humber, R., A., 1997. Entomopathogenic Fungal Identification. In: Manual of, Lacey, L., A. (Ed.), San Diego, **Techniques in Insect Pathology 153**-185.

68. Shams, S.M.R. 2011. A relationship marketing model to enable sustainable organizational growth of the Bangladesh Cricked Board: A stakeholder causal scope analysis. Central Quessland University, Australia.

69. Khashaveh, A., Chelav, H., S., 2013. Laboratory Bioassay of Iranian Isolates of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) against two Species of Storage Pest. **Agriculturae Conspectus Scientificus . 78:1** (35-40).

70. Eken, C., Hayat, R., 2009. Preliminary evaluation of *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries in laboratory conditions, as a potential candidate for biocontrol of *Tetranychus urticae* Koch. **World Journal of Microbiology and Biotechnology 25**, 489492.

71. Safavi, S.A., Kharrazi, A., Rasoulian, G.R., Bandani, A.R., 2010. Virulence of Some Isolates of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* on *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. **Journal of Agricultural Science and Technology, 12**, 13-21.

72. Posada, F., Vega, E., F. 2005. Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte in cocoa seedlings (*Theobroma cacao*). **Mycologia, 97(6)**, 2005, pp. 1195–1200.

73. Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology. 18**: 265-267.

74. SPSS, 2003. A simple Guide and Reference, 11.0 Update. Pearson Education Inc., Boston.

75. Anonim, 2016. Çukurova Ünversitesi, Adana tanıtım sitesi, **http://adana.cukurova.edu.tr/adana.asp**, (Erişim tarihi: Kasım 2016).

76. Demir, İ., Sönmez, E., Sevim, A., Demirbağ, Z., 2016. Çam Kese Böceği (*Thaumetopoea pityocampa*, Lepidoptera: Thaumetopoeidae)'nin Fungal Patojenlerinin Biyolojik Mücadele Etmeninin Araştırılması. *6. Bitki Koruma Kongresi*. 5-8 Eylül, Konya, 68s.

EK Tablo 1. Çalışma boyunca alınan toprak örnekleri, koordinatları, rakımları ve habitatları

Örnek kodu	**Alınan yer**	**Koordinatı**		**Yükseklik (m)**	**Habitat**
		Enlem	**Boylam**		
159	Bahceköy-Karataş	36° 37 161K	35° 25 197D	11	Buğday
160	Bahceköy-Karataş	36° 37 221K	35° 25 293D	8	Zeytin
161	Bahceköy-Karataş	36° 35 860K	35° 27 160D	8	Çayır
162	Bahceköy-Karataş	36° 37 295K	35° 22 840D	3	pamuk
163	Bahceköy-Karataş	36° 39 881K	35° 21 347D	5	Pamuk
164	Bahceköy-Karataş	36° 42 079K	35° 20 269D	2	biber
165	Bahceköy-Karataş	36° 42 079K	35° 20 266D	5	Marul
166	Bahceköy-Karataş	36° 42 238K	35° 20 257D	5	patlıcan
167	Bahceköy-Karataş	36° 42 238K	35° 20 257D	5	Marul
168	Tuzla	36° 43 718K	35° 17 53D	7	çim
189	Ceyhan	36° 00 677 K	35° 42 366D	45	Ayçiçeği
190	Ceyhan	36° 00 677 K	35° 42 366D	45	Çayır
191	Ceyhan	37° 01 813 K	35° 44 340D	36	Orman
192	Ceyhan	37° 01 813	35° 44	36	T. hurması

		K	340D		
193	Ceyhan	37° 02 670K	35° 45 866D	34	Buğday
194	Ceyhan	37° 02 803K	35° 46 062D	31	Buğday
195	Ceyhan	37° 02 803K	34° 46 108D	24	Çim
196	Ceyhan	37° 03 063 K	34° 46 553D	25	Mısır
197	Ceyhan	37° 03 197 K	35° 47 544D	35	Çim
198	Ceyhan	37° 03 196 K	35° 47 581D	35	Mısır
199	Ceyhan	37° 03 094 K	35° 48 870D	22	Çim
200	Ceyhan	37° 03 162 K	35° 50 575D	29	Çim
201	Ceyhan	37° 03 198 K	35° 50 940D	31	T..hurması
202	Ceyhan	37° 03 198 K	35° 50 940D	31	Orman
203	Ceyhan	37° 03 407K	35° 53 021D	32	Mısır
204	Ceyhan	37° 03 407K	35° 53 021D	32	Buğday
205	Ceyhan	37° 03 508K	34° 54 016D	32	Mısır
206	Ceyhan	37° 03 524 K	34° 50 069D	32	Pamuk
207	Ceyhan	37° 03 627 K	35° 55 129D	34	Mısır

208	Ceyhan	37° 03 811 K	35° 57 463D	38	Mısır
209	Ceyhan	37° 03 668 K	35° 57 427D	37	Erik
210	Ceyhan	37° 03 719 K	35° 57 215D	37	Elma
211	Ceyhan	37° 03 719 K	35° 57 215D	37	Armut
212	Ceyhan	37° 03 731 K	35° 57 128D	37	Erik
213	Ceyhan	37° 03 731 K	35° 57 128D	37	Elma
224	Mansurlu -Kozan	37° 25 16K	35° 44 41D	123	Portakal
225	Mansurlu -Kozan	37° 25 44 K	35° 25 44D	129	Mısır
250	Karaömerli-Sarıçam	37° 06 28 K	35° 20 49D	76	Mısır
251	Karaömerli-Sarıçam	35° 08 31 K	35° 19 22D	76	Nar
252	Karaömerli-Sarıçam	35° 06 58 K	35° 20 51D	80	Çim
301	Çukurova	37° 06 028 K	35° 21 512D	81	Buğday
302	Çukurova	37° 06 576 K	35° 20 663D	76	Mısır
303	Çukurova	37° 06 500K	35° 20 610D	96	Orman
304	Çukurova	37° 08 422 K	35° 20 116D	61	Ispanak
305	Çukurova	37° 08 614 K	35° 20 082D	72	Biber

306	Çukurova	37° 08 614 K	35° 20 082D	72	zeytin
307	Çukurova	37° 09 423K	35° 18 500 D	82	Kabak
308	Çukurova	37° 11 054 K	35° 17 534D	142	Fasülye
309	Çukurova	37° 11 190 K	35° 17 330D	118	Zeytin
310	Çukurova	37° 11 275K	35° 17 206D	112	Nar
311	Çukurova	37° 11 270 K	35° 17 300D	110	Şeftali
312	Çukurova	37° 11 194 K	35° 14 490D	105	Çim
313	Çukurova	37° 11 194 K	35° 14 490D	105	Buğday
314	Çukurova	37° 11 365K	35° 12 829 D	103	Ayçiçeği
315	Çukurova	37° 12 123 K	35° 12 434D	134	Bag
316	Çukurova	37° 12 780 K	35° 12 441D	156	Orman
317	Karaisalı	37° 13 999K	35° 12 194D	191	İncir
318	Karaisalı	37° 13 999 K	35° 12 194D	191	Zeytin
319	Karaisalı	37° 15 426 K	35° 11 790D	288	Orman
320	Karaisalı	37° 16 143K	35° 11 618D	345	Orman
321	Karaisalı	37° 17 243 K	35° 10 968 D	248	Orman

322	Karaisalı	37° 17 190 K	35° 09 023D	172	Çim
323	Karaisalı	37° 17 190 K	35° 09 023D	172	Patlıcan
324	Karaisalı	37° 17 190K	35° 09 023D	172	Mısır
325	Karaisalı	37° 16 957 K	35° 08 962D	165	Turp buğday
326	Karaisalı	37° 16 123 K	35° 05 555D	251	bugday
327	Karaisalı	37° 16 616K	35° 04 620D	304	Orman
328	Karaisalı	37° 20 743 K	35° 04 079 D	492	Orman
329	Karaisalı	37° 21 696 K	35° 03 352D	449	Çim
330	Karaisalı	37° 21 696K	35° 03 352D	449	Orman
331	Karaisalı	37° 14 848 K	35° 03 183D	229	Buğday
332	Karaisalı	37° 11 608 K	35° 00 643D	150	Buğday
333	Karaisalı	37° 10 860 K	34° 58 278D	251	Bakla
334	Karaisalı	37° 11 237K	34° 56 062 D	392	Çim
335	Feke	37° 08 873 K	34° 53 009D	437	Bag
336	Feke	37° 06 344 K	34° 53 882D	296	Zeytin
337	Feke	37° 03 671K	34° 55 434D	212	Zeytin

338	Feke	37° 01 025 K	34° 56 331D	114	Buğday
339	Feke	36° 58 512 K	34° 57 047D	39	Biber
340	Feke	36° 58 512K	34° 57 047D	39	Turunçgil
452	Kahramanmaraş, Afşin, Alipınar	38°12 20K	36° 52 55D	1256	Şeker pancarı

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Sevim DOĞAN (ATMACA)
Uyruğu: Türkiye (TC)
Doğum Tarihi ve Yeri: 26 Kasım 1989, Kayseri
Medeni Durumu: Evli
Tel: +90 542 439 27 41
email: sevim.dogan@bozok.edu.tr
Yazışma Adresi: Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 66900 Merkez/YOZGAT

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	EÜ Fen Bilimler Enstitüsü	2016
Lisans	EÜ Ziraat Fak. Bitki Koruma B.	2012
Lise	Talas Lisesi, Kayseri	2006

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2014- Halen	Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce