

**ENTOMOPATOJEN FUNGUS *Beauveria bassiana* ve
Paecilomyces fumosoroseus SPORLARININ BAZI
VEKTÖR SİNEKLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

**THE INVESTIGATION OF THE
ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana*
and *Paecilomyces fumosoroseus* SPORES THE
EFFECT ON SOME VECTOR FLIES**

SEMİHA SELDA YILDIZ

PROF. DR. NEVİN KESKİN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

BİYOLOJİ Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2015

SEMİHA SELDA YILDIZ' ın hazırladığı “**Entomopatojen Fungus *Beauveria bassiana* ve *Paecilomyces fumosoroseus* Sporlarının Bazı Vektör Sinekler Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Güven URAZ

Başkan

.....

Prof. Dr. Nevin KESKİN

Danışman

.....

Prof. Dr. Münevver ARISOY

Üye

.....

Doç. Dr. Aslı ÖZKIRIM

Üye

.....

Yrd. Doç. Dr. Sırma DİNÇER ÇAPAR

Üye

.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

10/07/2015

Semiha Selda YILDIZ

ÖZET

ENTOMOPATOJEN FUNGUS *Beauveria bassiana* ve *Paecilomyces fumosoroseus* SPORLARININ BAZI VEKTÖR SİNEKLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

SEMİHA SELDA YILDIZ

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez danışmanı: Prof. Dr. Nevin KESKİN

Temmuz 2015, XII + 104 Sayfa

Türkiye, sivrisinekler aracılığıyla bulaşan hastalıklar için uygun çevresel koşullar içeren bir coğrafyada bulunmaktadır. Sivrisinek türlerinin kanıtlanmış ve potansiyel vektör olmaları, insanlarla birlikte buldukları ortamlarda, bu organizmalarla mücadeleyi gerektirmektedir. Vektör sivrisineklerle mücadelede; kimyasal, fiziksel veya biyolojik birçok yöntem kullanılmaktadır. Biyolojik mücadelede mikroorganizmalardan omurgalılara kadar çok çeşitli canlıların kullanımı söz konusudur. Son dönemlerde mikrobiyal mücadele ajanlarından biri olan entomopatojen funguslarla yoğun olarak çalışılmaktadır. Dünya üzerinde yaygın bir şekilde bulunmaları, geniş konak aralığına ve yüksek konak seçiciliğine sahip olmaları, yararlı böcek populasyonlarını etkilemeden zararlı böcekler üzerinde etkili olmaları entomopatojen fungusları zararlılarla mücadelede ön plana çıkarmaktadır.

Entomopatojen funguslar, farklı konaklarında farklı suşlarıyla değişik etkiler gösterebilmektedir. Bu tez çalışmasında mücadele edilecek zararlı organizmalar olarak vektör özellikleriyle ön plana çıkmış; *Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvaları seçilmiştir. Türkiye' nin çeşitli illerinden, 150 toprak örneği toplanmış ve bu topraklardan toprak seyreltme yöntemiyle entomopatojen funguslar izole edilmiştir. İzolasyon sonucunda 65 adet *Beauveria bassiana* ve 6 adet *Paecilomyces fumosoroseus* bulunmuştur. Bu türlere ait toplamda 10 adet farklı suşun 1×10^7 konidiya/ml konsantrasyonu *Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti* larvaları üzerinde, Danimarka'dan getirtilen 1 adet standart suşun ise 1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidiya/ml konsantrasyonları *Aedes aegypti* larvaları üzerinde denenmiştir. Bu 11 farklı suşun her konsantrasyonu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olup, ortalama ölüm sayıları karşılaştırıldığında, en yüksek konsantrasyonunun en başarılı olduğu bulunmuştur. Ayrıca izole edilen bu 10 suş ile standart suş arasında istatistiksel olarak belirgin bir fark gözlenmiştir. Bu tez çalışması sonuçlarının, sivrisinek türleriyle sahada yapılacak mücadele çalışmalarına faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik kontrol, Entomopatojen fungus, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* SPORES THE EFFECT ON SOME VECTOR FLIES

SEMİHA SELDA YILDIZ

Master, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nevin KESKİN

July 2015, XII + 104 Pages

Turkey is located in a region has appropriate environmental conditions for diseases transmitted by mosquitoes. As some species of mosquitoes with people in their environment are proven to be a potential vector, it requires fighting against these organisms. In the fight against mosquito vectors; many methods are used such as chemical, physical or biological. In biological struggle, the use of a wide variety of microorganisms reaching up to the vertebrates are included. In recent years, entomopathogenic fungi which is one of the microbial control agents has been extensively studied. As they are widely distributed worldwide, with wide host range and have high host specificity, entomopathogenic fungi are expected to be effective on pests without affecting the populations of beneficial insects.

Entomopathogenic fungi can show different effects of different strains in different hosts. In this study, it came to the fore with the vector features as harmful organisms to be combatted; *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*

(Diptera:Culicidae) larvae were selected. From various provinces of Turkey, 150 soil samples were collected and by using the soil dilution method, entomopathogenic fungi were isolated from these soils. According to the results of isolation, 65 *Beauveria bassiana* and 6 *Paecilomyces fumosoroseus* strains were found respectively. The total of 10 different strains of these species 1×10^7 conidia/ml concentration of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* larvae, whereas brought the 1 standard strains from Denmark 1×10^5 , 1×10^6 and 1×10^7 conidia/ml were tested on *Aedes aegypti* larvae. Each concentration of the 11 different strains of the control group is statistically significant, as the average death time were compared, it was found that the highest concentration was the most successful. Also, a statistically significant difference in terms of standard strains with isolated from these 10 strains was observed. The results of this study is considered to be useful for working against the mosquito species is considered to be in the field.

Keywords: Biological control, Entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*

TEŞEKKÜR

Birlikte çalışmaya başladığımız ilk günden beri, konu ne olursa olsun bana hep destek olan, bilgisiyle beni en doğru şekilde yönlendiren, tüm imkanlarını seferber ederek çalışmalarımda gerekli alt yapıyı sağlayan, sevgisini ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen ve bir aile gibi hissetmemizi sağlayan çok değerli danışmanım, sevgili hocam Prof. Dr. Nevin KESKİN' e minnet duyar, teşekkürlerimi sunarım. EBAL' de çalışmam için izin veren, sineklerle ilgili her konuda bana yardımcı olan Prof. Dr. Salih Bülent ALTEN' e teşekkür ederim. Gece gündüz hafta içi haftasonu demeden her aradığımda sorularıma özenle cevap veren, her konuda bana yardımcı olan, başarılı bir ekip olmamızda çok büyük emeği olan, her daim bize evinin kapılarını açan, bilgisine güvendiğim ve yaratıcılığını örnek aldığım Erkay ÖZGÖR' e çok teşekkür ederim. İlk günden beri iyi bir ekip olmamız için çok çalışan, güzel başarılarla imza atmamızda her birinin ayrı ayrı emeği olan, lisansüstü eğitimine birlikte başladığım, sevgili arkadaşlarım Meltem ULUSOY' a ve İrem ÇELEBİER' e gösterdikleri itinalı çalışmadan dolayı ve desteklerini esirgemedi bana her daim yardımcı oldukları için çok teşekkür ederim. Sineklerle ilgili her konuda her türlü desteği sağlayan, beni çalışma ortamlarına alarak bilgilerini paylaşan, bana yardımcı olan Uzm. Özge ERİŞÖZ KASAP' a, Arş. Gör. Filiz GÜNAY' a, Gizem OĞUZ' a, Yasemen SARIKAYA' ya, Mert DOĞAN' a ve Salim ÇALIŞ' a çok teşekkür ederim. Sinek kolonilerini benimle paylaşan, istatistik çalışmalarımda yardımcı olan Oner KOÇAK' a teşekkür ederim. Yaptığı her arazi çalışması sonrasında, gittiği yerlerden toprak örneği getiren Doç. Dr. Mahmut KABALAK' a ve tezimin istatistik çalışmalarının yapılmasında bana zaman ayırıp yardımcı olan Arş. Gör. Onur TOKA' ya çok teşekkür ederim. Yıllardır her konuda bana destek olan çok sevdiğim değerli arkadaşım Arş. Gör. Efe KARACA başta olmak üzere tez çalışmamda emeği geçen Özge GÜLDERE' ye, Ali Can ÖZTABAK' a ve Alper ORHAN' a, ayrıca tez yazımında beni cesaretlendiren Arş. Gör. Hanife DÖNMEZ' e teşekkür ederim. Tüm yaşantım boyunca her zaman yanımda olan, her konuda bana yardımcı olmak için elinden geleni yapan, birlikte çok zorluklar atlattığım, çok sevdiğim sevgili ablam Melda YILDIZ' a, ailemizin yeni üyesi, neşe kaynağı yiğenim Toprak' a ve sevgili aileme herşey için çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kimyasal Mücadele	3
2.2. Fiziksel Mücadele.....	4
2.3. Biyolojik Mücadele	5
2.3.1. Biyolojik Mücadelede Kullanılan Mikroorganizmalar	5
2.3.1.1. Virüsler	5
2.3.1.2. Bakteriler	6
2.3.1.3. Protozoonlar	8
2.3.1.4. Nematodlar	8
2.3.1.5. Funguslar.....	9
2.3.1.5.1. Entomopatojen Fungusların Genel Biyolojileri.....	12
2.3.1.5.2. Entomopatojen Fungusların Etki Şekilleri.....	14
2.3.1.5.3. Entomopatojen Fungusların Çevreye Dağılımı ve Yayılımı	15
2.3.1.5.4. Entomopatojen Fungusların Kullanımındaki Avantaj ve Dezavantajlar	16
2.3.1.5.5. Biyolojik Kontrol Ajanı Olarak <i>Beauveria bassiana</i> ve <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	17
2.3.1.5.5.1. <i>Beauveria bassiana</i>	17
2.3.1.5.5.2. <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	22
2.4. Hedef Canlı Olarak Seçilmiş Sivrisinekler ve Genel Özellikleri	26
2.4.1. <i>Culex quinquefasciatus</i>	28
2.4.2. <i>Aedes aegypti</i>	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Toprak Örneklerinin Toplanması	31
3.2. Deneyde Kullanılan <i>Culex quinquefasciatus</i> ve <i>Aedes aegypti</i> Türlerinin Laboratuvar Populasyonlarının Üretilmesi	31
3.3. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar	32

3.3.1. Sabouraud Dextrose Agar (SDA)	32
3.3.1.1. Sabouraud Dextrose Agar + Yeast Extract (SDAY)	32
3.3.1.2. Veen's medium (SDA Seçici Besiyeri)	32
3.3.1.3. SDA Seçici Besiyeri	32
3.3.2. Malt Extract Agar (MEA)	33
3.3.3. Yulaf Unlu Agar (Oat Meal Agar)	33
3.3.4. Potato Dextrose Agar (PDA)	33
3.3.5. Tween 80	33
3.3.6. Zeytinyağı, Fındık yağı ve Ayçiçek yağı	33
3.3.7. Laktofenol Mavisi	33
3.4. İzolasyon	34
3.4.1. Toprak Seyreltme Yöntemi ile İzolasyon	34
3.5. Deney Suşlarının Seçilmesi	34
3.5.1. Preparat Hazırlama ve Mikroskopik İnceleme	34
3.6. Türlerin Teşhisi	35
3.7. Kullanılan Deney Suşları	35
3.8. Spor Solüsyonlarının Hazırlanması	35
3.9. Fungus Suşlarının <i>Culex quinquefasciatus</i> ve <i>Aedes aegypti</i> Üzerinde Denenmesi	37
3.10. İstatistiksel Yöntemler	38
4. SONUÇLAR	39
4.1. İzolasyon Sonuçları	39
4.2. Tür Teşhisi Sonuçları	39
4.3. Ölüm Nedeninden Fungusun Sorumlu Tutulması	40
4.4. Deney Sonuçları	42
4.4.1. Fungus Suşlarının <i>Culex quinquefasciatus</i> ve <i>Aedes aegypti</i> Üzerinde Denenme Sonuçları	42
5. TARTIŞMA	68
KAYNAKLAR	77
ÖZGEÇMİŞ	104

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojen fungusların fungi alemi içerisindeki taksonomik yerleri.....	10
Çizelge 2.2. Bazı funguslar ve ürettiği metabolitler.....	14
Çizelge 2.3. <i>Beauveria bassiana</i> tarafından üretilen bazı toksinler ve görevleri....	18
Çizelge 2.4. <i>Beauveria bassiana</i> 'ya ait bazı ticari ürünler ve hedef canlılar	20
Çizelge 2.5. <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> ' a ait ticari ürünler.....	24
Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan suşlar	43
Çizelge 4.2. Öncül çalışmada kullanılan spor solüsyonu konsantrasyonlarının kendi aralarında ve kontrol grubuyla LSD testi kullanılarak karşılaştırılması	44
Çizelge 4.3. Spor solüsyonu hazırlanmasında kullanılan solüsyon içeriklerinin ortalama ölüm değerleri bakımından birbirleriyle karşılaştırılması.....	46
Çizelge 4.4. Spor solüsyonu içeriğine ve spor solüsyonu konsantrasyonuna bağlı olarak ortalama ölüm sayılarının karşılaştırılması	47
Çizelge 4.5. Sivrisinek türlerinde denenen fungus izolatları ile kontrol grubu arasındaki ortalama ölüm değeri farkları	50
Çizelge 4.6. Fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamalarında ortalama ölüm sayıları arasındaki fark	55
Çizelge 4.7. Sivrisinek türlerine göre spor solüsyonlarında içerik ayrımı olmadan en az enfektif suş ve en enfektif suş	58
Çizelge 4.8. Spor solüsyonu içeriklerine göre sivrisinek türlerini ayrı ayrı en az öldüren ve en çok öldüren suşlar.....	59
Çizelge 4.9. Sivrisineklerde tür ayrımı ve spor solüsyonlarında içerik ayrımı olmadan en az enfektif suş ve en enfektif suş	62
Çizelge 4.10. Zeytinyağ bazlı uygulamalarda sivrisinek türlerine göre LT50 değerlerini karşılaştırma	62
Çizelge 4.11. Tween 80 bazlı uygulamalarda sivrisinek türlerine göre LT50 değerlerini karşılaştırma	63
Çizelge 4.12. Sivrisinek türleri arasında spor solüsyonu içeriği farkı olmadan LT50 değerlerinin karşılaştırılması.....	64
Çizelge 4.13. Çizelge 4.13. <i>Aedes aegypti</i> larvalarına uygulanan fungus izolatları ile standart suşun karşılaştırılması	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Entomopatojen bir fungusun enfeksiyon şeması	14
Şekil 2.2. <i>Beauveria bassiana</i> . A-D, konidial yapılar; E, sporlar	19
Şekil 2.3. <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> . A-C, konidial yapılar; D, sporlar	23
Şekil 2.4. Sivrisineklerin hayat döngüsü	26
Şekil 2.5. Anophelinae ve Culicinae üyelerinin nefes alırken vücutlarını suyun yüzeyinde tutma pozisyonları	27
Şekil 2.6. <i>Aedes</i> ve <i>Culex</i> cinsi sivrisineklerin morfolojik farklılıkları	30
Şekil 3.1. Neubauer lam ve lameli	36
Şekil 3.2. Neubauer lamında bulunan kareler ve sayım yapılan alanlar	37
Şekil 4.1. <i>Beauveria bassiana</i> konidiaları ve sporları	39
Şekil 4.2. <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> konidiaları ve sporları	40
Şekil 4.3. <i>Beauveria bassiana</i> ' yla enfekte <i>A. aegypti</i> larvası	41
Şekil 4.4. <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> ile enfekte <i>C. quinquefasciatus</i> larvası	42
Şekil 4.5. Öncül çalışmada kullanılan spor solüsyonu konsantrasyonlarının kendi aralarında ve kontrol grubuyla karşılaştırılması	45
Şekil 4.6. Spor solüsyonu hazırlanmasında kullanılan solüsyon içeriklerinin ortalama ölüm değerleri bakımından birbirleriyle karşılaştırılması	47
Şekil 4.7. Spor solüsyonu içeriğine ve spor solüsyonu konsantrasyonuna bağlı olarak ortalama ölüm sayılarının karşılaştırılması	49
Şekil 4.8. <i>Aedes aegypti</i> larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları bakımından kontrolden farkları	52
Şekil 4.9. <i>Aedes aegypti</i> larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatlarının Tween 80 bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları bakımından kontrolden farkları	53
Şekil 4.10. <i>Culex quinquefasciatus</i> larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları bakımından kontrolden farkları	53
Şekil 4.11. <i>Culex quinquefasciatus</i> larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatlarının Tween 80 bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları bakımından kontrolden farkları	54

Şekil 4.12. <i>Aedes aegypti</i> larvaları üzerinde denenen fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları arasındaki fark değerleri.....	57
Şekil 4.13. <i>Culex quinquefasciatus</i> larvaları üzerinde denenen fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları arasındaki fark değerleri	58
Şekil 4.14. <i>Aedes aegypti</i> larvaları için fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamalarında günlere göre toplam ölüm sayıları.....	60
Şekil 4.15. <i>Aedes aegypti</i> larvaları için fungus izolatlarının Tween 80 bazlı uygulamalarında günlere göre toplam ölüm sayıları.....	60
Şekil 4.16. <i>Culex quinquefasciatus</i> larvaları için fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamalarında günlere göre toplam ölüm sayıları.....	61
Şekil 4.17. <i>Culex quinquefasciatus</i> larvaları için fungus izolatlarının Tween 80 bazlı uygulamalarında günlere göre toplam ölüm sayıları.....	61
Şekil 4.18. Zeytinyağ bazlı uygulamalarda sivrisinek türlerine göre LT50 değerlerinin karşılaştırılması.....	63
Şekil 4.19. Tween 80 bazlı uygulamalarda sivrisinek türlerine göre LT50 değerlerinin karşılaştırılması.....	64
Şekil 4.20. Sivrisinek türleri arasında spor solüsyonlarında içerik farkı olmadan LT50 değerlerinin karşılaştırılması	65
Şekil 4.21. <i>Aedes aegypti</i> larvalarına uygulanan tüm suşlar ile standart suşun karşılaştırılması	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	derece santigrad
%	yüzde
µg	mikrogram
µl	mikrolitre

Kısaltmalar

ml	mililitre
mm	milimetre
mg	miligram
spp	subspecies
g	gram
atm	atmosfer
mm ³	milimetreküp
cm	Centimeter (Santimetre)
yy	yüzyıl
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane
NPV	Nuclear Polyhedrosis Virus (Nükleer Polihedroz Virüs)
GV	Granulosa Virus (Granuloz Virüs)
ICP	Insecticidal Crystal Protein (İnsektisidal Kristal Protein)
<i>Bs</i>	<i>Bacillus sphaericus</i>
<i>Bti</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
ITU	International Toxic Units (Uluslararası Toksik Birimler)
UP-ASI	The United Planters' Association of Southern India (Güney Hindistan Birleşmiş Ekiciler Birliği)
BNV	Batı Nil Virüsü
EBAL	Ekolojik Bilimler Araştırma Laboratuvarı
SDA	Sabouraud Dextrose Agar

SDAY	Sabouraud Dextrose Agar + Yeast Extract
MEA	Malt Extract Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
İTÜ	İstanbul Teknik Üniversitesi
RH	Relative Humidity (Bağıl nem)
LT50	Lethal time 50
LSD	Least Significant Difference (En Önemsiz Fark)
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Parçacık Uzunluğu Poliformizmi)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksüyon fragmenti uzunluk polimorfizmi)
ISSR-PCR	(Inter-Simple Sequence Repeat Polymerase Chain Reaction (Basit tekrarlı diziler arası polimeraz zincir reaksiyonu)

1. GİRİŞ

Dünya genelinde geniş ve bol dağılım gösteren sivrisinekler; insan ve hayvan sağlığı açısından çok önemli vektör ve ektoparazitlerdir. Vektörlük dışında, insanlara verdiği rahatsızlık da bazen çok önemli boyutlara ulaşabilmektedir [1]. Sivrisinekler, insanlardan ve hayvanlardan kan emmeleri sırasında; malarya, sarı humma, dang humması, filariyaz ve arboviral ensefalitler gibi önemli birçok hastalığın vektörlüğünü yaparlar. Bu nedenle, insanların ve sivrisineklerin ortak buldukları yerlerde bu canlılara karşı etkili mücadele yöntemleri geliştirilmelidir [2].

Sivrisineklerin vektörlük rollerinden kaynaklanan hastalıklar büyük zararlara neden olabilmektedir. Bu canlılarla mücadelede çeşitli yöntemler kullanılmakta olup, çeşitli kimyasallar ve biyolojik kökenli kontrol ajanları mücadelede önemli yer tutmaktadır.

Sivrisinekler ile mücadelede genellikle kimyasal pestisitler kullanılmaktadır. Ancak kullanılan kimyasallara karşı; sivrisineklerde direnç gelişimi, kimyasalların çevre kirliliğine neden olması, çevredeki faydalı böceklerin (örneğin; bal arılarının), kuşların ve balıkların ölümüne neden olması ve besin zinciri yoluyla da insanlara ulaşarak insan sağlığını olumsuz yönde etkilemesi gibi sorunlar, alternatif mücadele yöntemlerinin bulunmasını ve uygulanmasını gerekli kılmıştır [3-5]. Yeni bulunacak alternatif mücadele yönteminin; hedef canlıya yönelik, çevreye mümkün olduğunca az zarar veren, verimli ve ekonomik olması, kritik önem taşımaktadır [6]. Bu aşamada canlı organizmalar kullanılarak zararlılarla biyolojik mücadele yapılması fikri ortaya çıkmıştır. Gelişmiş ülkelerin birçoğunda, kimyasal pestisitlerin ortaya çıkardığı olumsuz etkilerden kaçınmak için, biyolojik mücadele ön planda tutulmakta ve bu konu üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Biyolojik mücadelede mikroorganizmalardan, omurgalılara kadar çok çeşitli canlı organizmalar kullanılabilir [7].

Biyolojik mücadelede son zamanlarda etkin olarak kullanılan mikrobiyal kontrol ajanları; bakteriler, funguslar, protozoalar, virüsler ve nematodlardır [8-10]. Bu

mikroorganizmalar ile yapılan mücadele yöntemi; zararlılar ile başa çıkmada etkili, çevreye zararsız ve uzun dönem kullanımda daha ekonomik bir yöntem olup kimyasal pestisit kullanıma göre avantajlıdır [11].

Mikrobiyal mücadelede etkin rol oynayan entomopatojen funguslar; pek çok zararlı böceğin doğal olarak kontrol altında tutulmasında önemli bir yere sahiptir. Dünya çapında entomopatojen funguslardan oluşan çok çeşitli ticari preparatlar bulunmakta ve bunlar zararlılar ile mücadelede kullanılmaktadır [12].

100 yılı aşkın süredir mikrobiyal kontrol ajanı olarak kullanılan entomopatojen fungusların şimdiye kadar yaklaşık 700 türü tanımlanmış olup, bunlardan *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus* (= *Isaria fumosorosea*) ve *Verticillium lecanii* gibi türler, birçok ülkede çeşitli zararlılar ile mücadelede ticari olarak üretilerek kullanılmaktadır [13-14]. Genel olarak birçok böcek takımı, fungal hastalıklara karşı duyarlıdır ve entomopatojen funguslar biyolojik mücadele ajanı olarak yüksek bir potansiyele sahiptir [15].

Toprak, entomopatojen funguslar için önemli bir kaynak olup, Hypocreales takımına ait *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Paecilomyces* spp. gibi pek çok entomopatojen fungus yaşam döngülerinin çoğunu toprakta geçirmektedir [16-17]. Farklı illerden toplanan toprak örneklerinden elde edilen entomopatojen fungus izolatlarının böcekler üzerinde uygulanacak konsantrasyonun doğru belirlenmesi, biyolojik mücadelede kontrol ajanı olarak kullanım başarısını etkileyen önemli bir faktördür. Bu çalışma; toprak seyreltme yöntemi ile elde edilen entomopatojen funguslardan *Beauveria bassiana* ve *Paecilomyces fumosoroseus*' un farklı suşlarının ve farklı konsantrasyonlarının, çeşitli hastalıklara vektörlük yapan sivrisinekler (*Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti*) üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla tasarlanmıştır.

Bu çalışmada; Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan toprak örneklerinden izole edilen 9 adet *Beauveria bassiana* ve 1 adet *Paecilomyces fumosoroseus* izolatları ile etkisi kanıtlanmış standart bir suşun, Diptera takımına ait *Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti* larvaları üzerindeki farklı konsantrasyonları denenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Diptera takımı Culicidae familyası üyesi olan sivrisinekler; yüksek adaptasyon ve dispersal yetilerinin olması, bunun yanı sıra populasyon yoğunluklarını hızlı ve üstel şekilde arttırabilmeleri nedeni ile dünyada, çöller ve kutuplar hariç her yerde bulunabilen arthropodlardır [18-19]. Sivrisinekler; insanlardan ve hayvanlardan kan emmeleri, malarya, sarı humma, dang humması, filariyaz ve ensefalit gibi birçok ölümcül ve salgın hastalık etkeni taşımaları nedeni ile kan emici böcekler arasında sağlık ve ekonomik yönden en önemli yeri işgal ederler [20]. Sivrisineklerin vektöriyel özellik kazanabilmeleri için kan emmeye ihtiyaçları vardır. Hastalığın iletilmesi için de en az bir yumurtlama döngüsünün tamamlanması ve tekrar kan emilmesi gereklidir. Bundan dolayı yumurtlama, hastalık taşıyan sivrisineklerin çoğunda önemli bir olaydır [21]. Vektör mücadele çalışmalarında da ana fikir, sivrisineklerin bu yumurtlama döngüsünün mümkün olduğunca çabuk bir şekilde kesintiye uğratılmasıdır [6].

Sivrisinek ve diğer vektörlerle mücadele, bu canlıların önemli hastalıkları bulaştırdığının anlaşıldığı 19. yy. sonlarında başlamıştır. Tarihteki en eski vektör mücadelesi; pencerelere sineklik takılması, sivrisinek cibinliklerinin kullanılması, bataklıkların kurutulması ya da doldurulması ve sivrisinek üreme alanlarına yağ veya Paris yeşilinin uygulanması olarak başlamıştır [22]. Günümüzde ise, çok çeşitli mücadele yöntemleri uygulanmaktadır.

2.1. Kimyasal Mücadele

Kimyasal mücadele, insektisit veya genel anlamda pestisit olarak adlandırılan çeşitli kimyasal maddeler kullanılarak yapılan mücadele yöntemidir. Sentetik organik insektisitlerden 1892'de dinitro-o-cresol' ün ilk defa vektör mücadelesinde kullanıldığı bilinmektedir [23]. 20.yüzyılın başlarından itibaren yeni kimyasalların geliştirilmeye başlanmasıyla pestisit kullanımı hız kazanmıştır Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)' nin 1939' da keşfedilmesi, vektörlerden kaynaklanan hastalıkların kontrolünde büyük bir devrim sayılmıştır. Modern organik sentetik pestisitlerin üretildiği 1940' lı yıllardan itibaren pestisit kullanımı 1960' lı ve 1970' li yıllarda hızla artmıştır. 1980' li yıllara gelindiğinde ise en yüksek

noktasına ulaşmıştır [24]. Bu durumun temel nedeni; kimyasal pestisitlerin etkilerinin hızlı olması, mevcut problemi kısa bir süre içerisinde çözmesi, kısa ölçekte daha ekonomik olması, kullanımının kolay oluşudur [25]. Kimyasal pestisitlerin aşırı oranda ve tekrarlanan kullanımı, seçim baskısı oluşturduğu ortamlarda, evrimsel süreçlerin bir sonucu olarak, zararlı popülasyonlarında pestisitlere karşı direnç gelişimine neden olmaktadır. Ayrıca kimyasal pestisitler; doğada parçalanmadan uzun süre kalabilmektedir. Yeraltı sularına veya bitki bünyesine geçip besin zincirinde yükseltgenerek birikmeye başlamakta, bundan dolayı çevresel kontaminasyona, hedef olmayan canlıların olumsuz yönde etkilenmesine ve insanlar tarafından uygun şekilde kullanılmadığında da ölüme neden olabilmektedir [6], [24], [26]. Kimyasalların bu olumsuz etkilerinden dolayı alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmiştir.

2.2. Fiziksel Mücadele

Fiziksel mücadele; sivrisineklerin ürediği alanların ortadan kaldırılması, azaltılması ya da kontrol altına alınması esasına dayanmaktadır. Mücadele alanında yer alan ve sivrisineğin üreme habitatlarını oluşturan toplama ve drenaj kanalları, kanaletler, kuyular, fosseptikler, havuzlar, taşkın sahaları gibi alanlarda; ıslah çalışmaları yapmak, buraları sivrisineğin üremesine uygun olmaktan çıkarmak ve bu düzenlemelerde kalıcılığı sağlamak fiziksel mücadelenin temelini oluşturmaktadır [6].

Gölet, bataklık gibi alanlarda ise daha farklı önlemler alınmaktadır. Bataklıkların, doğal ve yapay göletlerin etrafına hendek açılması ya da denize/nehire bağlayan kanalların açılarak suya akışkanlık kazandırılması ve böylelikle kuru topraklara yayılan suların emilerek sivrisineklerin gelişmeden ölmesi, üreme alanlarının yönetiminde tercih edilen fiziksel yöntemlerdir. Eskiden sıkça başvurulan bir yöntem olan bataklıkların kurutulması, günümüzde sulak alanların önem kazanması ve doğal yaşamın korunması nedeniyle terk edilmiştir [23], [27].

2.3. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele; bir zararlı organizmanın populasyon yoğunluğunu veya zararlı etkisini, olabileceğinden daha aza indirmek ve daha zararsız hale getirmek için başka organizmaların kullanılmasıdır [9]. 1990' lı yıllarda, kimyasal pestisitlerin canlılar üzerinde birçok zararlı etkisinin ortaya çıkması, çevre kirliliğine neden olması, uygulanan kimyasalların yüksek fiyatlara sahip olması ve mücadele edilecek canlıların kimyasallara karşı direnç geliştirmesi, kimyasal mücadeleye alternatif çevre dostu, etkisi uzun sürecek ve daha ucuz mücadele yöntemlerine geçilmesini zorunlu hale getirmiştir [24]. Bu yöntemlerden çevre dostu, ekonomik ve sürdürülebilir olanı ise biyolojik mücadeledir. Geçmiş çok eskilere dayanan biyolojik mücadelede, ilk olarak amfibiler, kuşlar ve memeliler kullanılmış olup, günümüzde de mikroorganizmalardan, omurgalılara kadar çok çeşitli canlılar kullanılmaktadır [7]. Özellikle mikrobiyal mücadele ajanlarının; insan dahil hedef dışı diğer canlılar üzerinde toksik etki göstermemesi, ürettikleri toksinlerin genellikle tür veya cins düzeyinde etkili olması ve birçok durumda pestisitlerle birlikte kullanılabilmesi sahip olduğu avantajlardandır. Ayrıca biyolojik insektisitlerin yarı ömürleri oldukça kısadır [28-29].

2.3.1. Biyolojik Mücadelede Kullanılan Mikroorganizmalar

2.3.1.1. Virüsler

Biyolojik mücadelede kullanılan mikrobiyal ajanların bir grubunu oluşturan virüsler; ipek böceği ve bal arısı gibi faydalı böceklerde hastalık oluşturup, ekonomik kayıplara neden olabildikleri gibi, zararlı böceklerde de enfeksiyon oluşturarak böceğin zararlı etkisinin ortadan kalkmasını sağlayabilmektedir. Böcek patojeni virüsler; Lepidoptera, Orthoptera, Coleoptera ve Diptera gibi böcek takımlarında hastalık yapabilmektedir [30]. Tanımlanan virüs gruplarından kontrol ajanı olarak en çok kullanılanı Baculoviridae familyasıdır. Bu familyada yer alan Nükleer Polihedroz Virüs (NPV) ile Granuloz virüsleri (GV) başlıca biyolojik ajanlardır. Bu ajanların bazıları çeşitli ülkelerde Mamcstrin (MbNPV), Gusano (AcMNPV), Cyd-X

(CpGV), Madex (CpGV), Granupom (CpGV), Gemstar (HzSNPV), Spod-X (SeMNPV), Spodopterin (SpliMNPV) adlarıyla piyasada yer almaktadır [31].

Sitoplazmik Polihedroz virüsler, Densovirusler, İridovirusler ve Entomopoksvirusler özellikle sivrisineklerde enfeksiyona neden olan viruslerdir [32-33]. Cheng ve Carner' ın 2000 yılında Endonezya' da yapmiş oldukları bir çalışmada, soyafasulyesi ilmek böceği *Thysanoplusia orichalcea* L. (Lepidoptera:Noctuidae) larvalarından Single Nuclear Polyhedrosis Virus' lerini (SNPV) izole etmişler ve bunları 7 Noctuidae (*Spodoptera exigua*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera eridania*, *Trichoplusia ni*, *Pseudoplusia includens*, *Anticarsia gemmatalis*, *Helicoverpa zea*) türüne karşı denemişlerdir. Özellikle *P. includens* larvalarında büyük oranda ölüm görmüşlerdir [34]. Yine 2000 yılında yapılan başka bir çalışmada da iridovirusleri, patates böceği *Leptinotarsa decemlineata*' da (Coleoptera:Chrysomelidae) denemişlerdir [35]. Bunların yanısıra biyolojik mücadelede böcek viruslerinin, gen ifade vektörü ve gen terapi vektörü olarak kullanılma potansiyelleri de, endüstriyel anlamda oldukça önemlidir [36-39].

2.3.1.2. Bakteriler

Bakteriler; mikrobiyolojik mücadele ajanlarının temelini oluşturmaktadır. Genellikle böceklere karşı yapılan mücadelelerde, spor oluşturan ve fakültatif aerob bakterilerden kristal protein taşıyanları kullanılmaktadır [40]. İnsektisidal kristal proteinler (Insecticidal Crystal Protein=ICP), çok sayıda tarım ve orman zararlısı ile hastalık taşıyan vektörlerde toksik etki gösterip ölüme neden olurlar [17], [40-41].

Kristal proteinler böceğin beslenmesi sırasında sudan alınır, yüksek alkali bir ortam olan orta bağırsakta çözünür, proteazların etkisi ile aktif hale geçen toksin, orta bağırsak hücrelerinin özel kısımlarına bağlandıktan sonra, hücre zarından geçer ve zarda delikler açar. Bu durumda bağırsak epitel hücrelerinin iyon dengesi bozulur ve böcek ölür [42-44].

Mücadelede kullanılan *Bacillus* cinsine ait bakterilerden en çok çalışılanı *Bacillus thuringiensis*' tir. Bu bakteri türünün, her biri belli bir böceği öldürebilen, farklı

toksinler üretebilen birçok suşu ve varyetesi bulunmaktadır. Örneğin; *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, Lepidoptera takımı larvaları için, *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* (*Bti*) Diptera takımı larvaları için ve *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* ise patates böceği (*L. decemlineata* (Coleoptera:Chrysomelidae)) ve pamuk kurdu (*S. exigua* (Lepidoptera:Noctuidae)) böcekleri için kullanılmaktadır [45-47].

Ancak *Bti* uygulanan alanlarda, uygulamadan hemen sonra spor sayısında önemli ölçüde azalmalar olmaktadır ve *Bti* sporları ölü larvalar üzerinde çoğalamamaktadır. Bu nedenle *Bti* uygulamalarının belirli aralıklarla (örneğin; 10 günde bir) tekrarlanması gerekmektedir [48-49].

Mücadelede kullanılan diğer önemli bir tür ise, *Bacillus sphaericus* (*Bs*)' tur. Bu türe ait kristal proteinler özellikle *Culex* ve bazı *Anopheles* türleri üzerinde çok etkilidir [50-51].

1997 yılında Mulla ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, *B. sphaericus* içeren VectoLex CG (50 ITU/mg) formülasyonu *C. quinquefasciatus* türüne karşı kullanılmış ve bu formülasyonun 28 günün üzerinde kalıcı ve öldürücü bir etki gösterdiği bulunmuştur [52]. Bir başka çalışmada, yine *Bs* içeren aynı formülasyonunun *Culex* larvaları üzerine 30 günün üzerinde kontrol sağladığı bulunmuştur [53].

Genel olarak zararlılara *Bti* ve *Bs* uygulanmasının ardından böcek beslenmesi durmakta ve iki saat içerisinde böcek aktivitelerinde azalmalar gerçekleşip, yaklaşık altı saat sonunda da böcek paralyze olmaktadır [48]. Ancak *Bs* uygulamaları *Bti* uygulamalarına göre daha uzun süre kalıcı etki göstermektedir. Bunun nedeni, *Bs* sporlarının ölü larvalar üzerinde çoğalabilmesidir [50], [54-55]. Bu özelliğinden dolayı *Bs* uygulamalarında, birkaç hafta sonra dahi yumurtadan yeni çıkan böcekler enfekte olur [54].

Mücadelede kullanılan diğer önemli tür ise *Serratia* cinsine ait bakterilerden *Serratia marcescens*' tir. Bu tür, kitini parçalayabilen en etkili bakterilerden biridir [56-58]. Potansiyel böcek patojeni olarak kullanılmaktadır. Ürettiği kitinaz, bu

bakterinin virülansında proteaz ve lektinaz ile birlikte çok önemli rol oynamaktadır [57]. Inglis' in 2001 yılında yaptığı bir çalışmada laboratuvar ortamında tütün tomurcuk kurdu *Heliothis virescens*' e (Lepidoptera:Noctuidae) karşı *S. marcescens*' i kullanmış, yumurta sayısında ve yumurtadan çıkan larva sayısında düşüş olduğunu gözlemlemiştir [59]. Lysyk 2002 yılında yapmış olduğu bir çalışmada da, ahır sineği olan *Stomoxys calcitrans* (Diptera:Muscidae) erginlerinin *S. marcescens* ile enfekte olduklarını gözlemlemiştir [60].

2.3.1.3. Protozoonlar

Biyolojik mücadelede; Zoomastigina, Apicomplexa, Microsporidia ve Ciliophora filumuna ait protozoonlar kullanılmaktadır [9], [61]. Protozoonlardan; Vavraria, Amblyospora ve Parathelohania cinsi mikrosporidyumlar, Lepidoptera ve Diptera ordolarına patojendirler [61]. Bu organizmalar enfekte ettikleri zararlının ölümüne neden olmazlar. Bunun yerine konağın hayat süresinin kılmasına, canlılığın azalmasına, kilo kaybına ve üreme potansiyelinin azalmasına neden olurlar [62]. Ayrıca birçok entomopatojen protozoanın biyolojisi karmaşıktır. Bu organizmalar sadece yaşayan konaklarda gelişebilir ve ara konaklara ihtiyaç duymaktadır. İnsanlarda da hastalığa neden olabildikleri için protozoonlar, biyolojik mücadelede sınırlı uygulama alanına sahiptirler [41], [63].

2.3.1.4. Nematodlar

Entomopatojen nematodlar, optimum koşullar ve uygun ortam sağlandığında çok sayıda zararlı böceğin biyolojik kontrolünü sağlayabilen canlılardır. Biyolojik kontrol ajanı olarak 7 nematod familyası (Mermithidae, Allantonematidae, Neotylenchidae, Sphaerularidae, Rhabditidae, Steinernematidae ve Heterorhabditidae) ön plana çıkmıştır. Bu familyalar içerisinde, Heterorhabditidae ve Steinernematidae en çok çalışılanlardır [64]. Entomopatojen nematod türleri, oldukça geniş bir konak dağılımına, konağı aktif arama ve enfekte edebilme özelliğine ve uygun koşullarda uzun süre canlı kalabilme yeteneğine sahiptirler [65-67].

Entomopatojen nematodların biyolojik kontrolde tercih edilmelerinin başlıca nedenleri; konak spektrumlarının çok geniş olması, kitle üretimlerinin kolay olması, arazide uygulanma yöntemlerinin basit olması, konağını kısa bir sürede öldürmesi ve çevreye toksik etki göstermemeleridir [68-70].

Entomopatojen nematodlar, sindirim sistemlerinde bulunan Enterobacteriaceae familyasına ait bakteriler ile (*Xenorhabdus* spp. ve *Photorhabdus* spp.) mutualistik bir ilişki içindedir. Nematodlar konak böceğe ağız, anüs ve spirakulum gibi vücut açıklıklarından giriş yaparlar ve konağa girdikten sonra türe özgü simbiyotik bakterileri böcek hemosölüne bırakırlar. Bu simbiyotik bakteriler, ürettikleri endo ve ekzotoksinler sayesinde konağı öldürürler. Konağın ölümü; konağın büyüklüğüne, sıcaklığa ve nematod türüne bağlı olarak 48-72 saat içerisinde gerçekleşir [68], [71-72]. Entomopatojen nematodlar enfekte ettikleri böceklerde; ömür uzunluğunda kısalmaya, uçuş aktivitesinde azalmaya, fertilitenin bozulmasına, gelişmenin gecikmesine ya da diğer fizyolojik, morfolojik ve davranışsal bozukluklara neden olabilmekte, ağır enfeksiyon durumunda ise enfekte olan böcekte ölüme neden olabilmektedir [73].

Şu an için altmıştan fazla ülkede, yüzlerce laboratuarda entomopatojen nematodlar ve birlikte yaşadıkları simbiyotik bakteriler üzerine çalışmalar sürdürülmektedir [74]. Entomopatojen nematodlar ticari olarak üretilen bir ürün haline gelmiş olup seralarda, fındık bahçelerinde, mantar üretim alanlarında, çilek tarlalarında, çim ekili alanlarda, golf sahalarında, meyve ve sebze bahçelerinde, turunçgil yetiştirme alanlarında rahatlıkla kullanılabileceği yapılan araştırmalarla gösterilmiştir [75]. Ancak bu kontrol ajanının uygulamanın maliyeti yüksektir.

2.3.1.5. Funguslar

Fungi alemi içerisinde 700'den fazla entomopatojen fungus türü yer almaktadır ve bunlar zararlı böcek popülasyonlarıyla mücadelede önemli bir yere sahiptir [12]. Entomopatojen fungusların sistematik pozisyonlarına göre ortaya çıkarılan gruplandırılmada entomopatojen veya entomoparazitik funguslar; Blastocladiomycota, Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina, Eurotiomycetes, Laboulbeniomycetes, Dothideomycetes, Sordariomycetes ve Pucciniomycetes

grupları içerisinde yer alırlar (Çizelge 2.1.) *B. bassiana*, *P. fumosoroseus*, *M. anisopliae* gibi önemli entomopatojenler, Ascomycota filumunda, Sordariomycetes sınıfında ve Hypocreales takımında yer almaktadır [74].

Çizelge 2.1. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojen fungusların fungi alemi içerisindeki taksonomik yerleri [76], [77]

Filum	Blastocladiomycota
Filum	Microsporidia
Filum	Glomeromycetes
Alt filum	Kickxellomycotina
Alt filum	Entomophthoromycotina
Takım	Entomophthoralean
Filum	Ascomycota
Alt filum	Pezizomycotina
Sınıf	Eurotiomycetes
Sınıf	Dothideomycetes
Sınıf	Laboulbeniomycetes
Sınıf	Sordariomycetes
Takım	Hypocreales
Familya	Clavicipitaceae
Cins	
Telemorf	<i>Hypocrella</i>
	<i>Metacordyceps</i>
	<i>Regiocrella</i>
	<i>Torrubiella</i>
Anamorf	<i>Aschersonia</i>
	<i>Metarhizium</i>
	<i>Nomuraea</i>
	<i>Paecilomyces- gibi *</i>
	<i>Pochonia</i>
	<i>Rotiferophthora</i>
	<i>Verticillium- gibi**</i>

Familya **Cordycipitaceae**

Cins

Telemorf

Cordyceps

Torrubiella

Anamorf

Beauveria

Engyodontium

Isaria

Lecanicillium

Mariannaea-gibi

Microhilum

Simplicillium

Familya

Ophiocordycipitaceae

Cins

Telemorf

Ophiocordyceps

Elaphocordyceps

Anamorf

Haptocillium

Harposporium

Hirsutella

Hymenostilbe

Paecilomyces-gibi*

Paraisaria

Sorospora

Syngliocladium

Tolypocladium

Verticillium-gibi**

Filum

Basidiomycota

Alt filum

Pucciniomycotina

Sınıf

Pucciniomycetes

Takım

Septobasidiales

* Önceden *Paecilomyces* bölümünde Isarioidea içerisinde yer alan türler. Günümüzde bu türler *Paecilomyces*' den ve *Isaria*' dan kesin bir şekilde ayrılmıştır.

** Önceden *Verticillium* bölümünde Prostrata içerisinde yer alan türler. Günümüzde bu türler *Verticillium*' dan kesin bir şekilde, ayrılmış fakat yeni sınıflandırılmaları yapılmamıştır.

Böceklerdeki fungal hastalıklar, İtalyan Agostino Bassi' nin ipek böceklerindeki beyaz muskardin hastalığını 1834-1835 yıllarında aydınlatmasından bu yana bilinmektedir [7], [78-79].

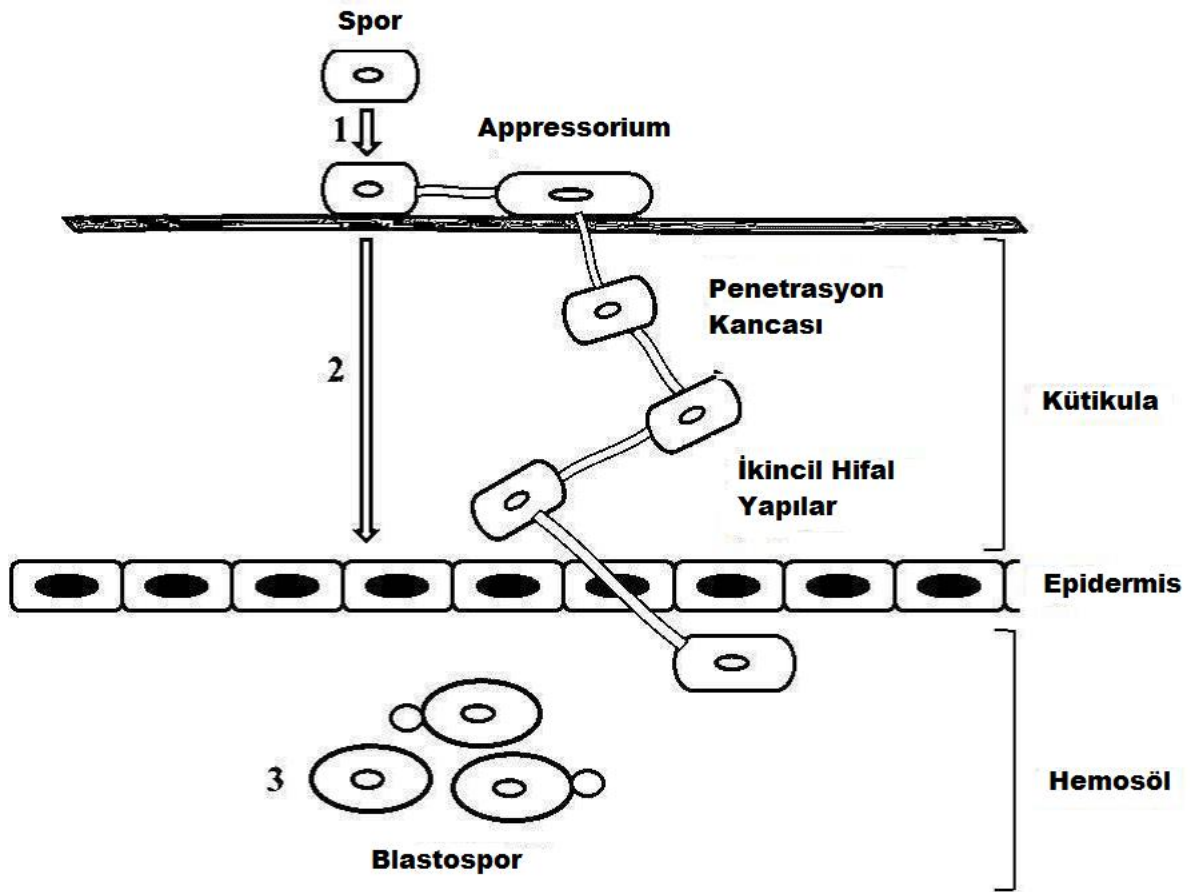
100 yılı aşkın süredir mikrobiyal mücadele ajanı olarak kullanılan entomopatojen funguslar; spesifik böcek türlerini enfekte eden zorunlu patojenler, pek çok böcek türünü enfekte edebilen genel patojenler ve fakültatif patojenler olarak kendi içinde gruplandırılabilir [12], [78].

Şimdiye kadar tanımlanmış entomopatojen funguslardan *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* (*I. fumosorosea*) ve *V. lecanii*, birçok ülkede zararlılarla mücadelede ticari olarak üretilerek kullanılmaktadır [13]. Örneğin, *B. bassiana* Brezilya' da muz kurduna (*Cosmopolites sordidus* (Coleoptera:Curculionidae)), Çin' de çam tırtılına (*Dendrolimus* spp. (Lepidoptera:Lasiocampidae)), Avrupa' da ise afidlere (Hemiptera:Aphididae) ve mısır kurduna (*Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera:Pyralidae)) karşı kullanılmaktadır [12].

2.3.1.5.1. Entomopatojen Fungusların Genel Biyolojileri

Entomopatojen fungusların yaşam döngüleri genellikle konaklarının gelişme safhaları ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir [80]. Bakteri ve virüslerden farklı olarak, entomopatojen funguslar konaklarını yalnızca bağırsaktan değil, aynı zamanda böceklerin solunum deliklerinden ve integumentin yüzeyinden de enfekte edebilmektedir. Bu özellik sayesinde konağı tarafından yenilmesine gerek yoktur ve konak aralığı çiğneme yapan böcekler ile sınırlı kalmamaktadır [81]. Bu durum bitki öz sıvısı (başta afidler) veya hayvan kanı ile beslenen böceklerin mikrobiyal mücadelesinde entomopatojen funguslara önemli avantajlar sağlamaktadır [8], [12].

Entomopatojen fungusların hayat döngüsünde (Şekil 2.1.); fungus ilk olarak enfektif sporlar üretir ve genellikle eşeysiz olarak üreyen sporlar enfeksiyondan sorumludur. Enfeksiyondaki başlangıç aşaması pasif veya özgül olmayan tutunmadır. Bu adım, böceğin kütikulasına temas için birçok farklı yol içermektedir. Örneğin, *B. bassiana*, *M. anisopliae* ve *Nomurae rileyi* türlerinde tutunma işlemi, sporlarda yer alan iyi organize olmuş fasikül rodletler ve böcek kütikulası arasındaki hidrofobik ilişkinin sonucu olarak gerçekleşir. Sucul ortamlarda yaşayan entomopatojen funguslarda ise tutunma işlemi zoosporların kese oluşturması ile gerçekleşir [80], [82]. Tutunma işleminin ardından sporlar, konağın çeşitli bariyerlerinin üstesinden gelmek için, fungusa yardımcı olan appressorium yapısını oluşturmak üzere çimlenmeye başlar [83]. Bundan sonra çimlenmiş spor, kütikulanın içerisine penetre olur. Penetrasyon aşamasında; proteaz, kitinaz ve lipaz gibi kütikulayı parçalayan bazı enzimler konağa girişte önemli rol oynamaktadır [84]. Penetrasyonu takiben, hemosölün içerisindeki filamentöz fungus yapıları, maya benzeri hifal yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar. Bu yapılar hemolenf içerisinde dolaşırlar ve tomurcuklanma ile çoğalırlar. Daha sonra fungus, tekrar filamentöz yapılara geçiş yaparak iç dokuları ve organları istila eder ve sonunda böcek ölür [80], [82]. Son olarak fungus, ölmüş böcek üzerinde sporlaşır ve yeni oluşmuş sporlar başka bir konağı enfekte edebilir. Uygun koşullar altında, bu durum aynı şekilde devam eder. Genel hayat döngüsü bu şekilde olan entomopatojen fungusların üremesini ve hayatta kalmasını birçok çevresel faktör etkilemektedir [12].



Şekil 2.1. Entomopatojen bir fungusun enfeksiyon şeması [85]

2.3.1.5.2. Entomopatojen Fungusların Etki Şekilleri

Entomopatojen funguslar, farklı metabolitler üreterek konaklarını farklı şekilde öldürmektedir (Çizelge 2.2.) [86]. Bu metabolitlerden bazılarının önemli patojenite etmeni olduğu bilinmektedir [87]. Bugüne kadar çoğu araştırmacı *B. bassiana* ve *M. anisopliae* tarafından üretilen metabolitlere odaklanmıştır. Çünkü bu iki entomopatojen fungus önemli mikrobiyal mücadele ajanlarıdır.

Çizelge 2.2. Bazı funguslar ve ürettiği metabolitler [84], [86-87]

Funguslar	Metabolitler
<i>Beauveria bassiana</i>	Beauverisin, bassianin, bassianolid, beauverolidler, tenellin, oosporin, okzalik asit, bassiakridin, siklosporin A

<i>Beauveria brongniartii</i>	Oosporin
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Destruksinler (28 tip), sitokalasin C
<i>Metarhizium sp.</i>	Hidroksifungerin A ve B
<i>Verticillium lecanii</i>	Dipikolinik asit, hidroksikarboksilik asit, siklosporin
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Beauverisin, beauverolidler, dikarboksilik asit
<i>Hirsutella thompsonii</i>	Hirsutellin A, hirsutellin B, fomalakton

2.3.1.5.3. Entomopatojen Fungusların Çevreye Dağılımı ve Yayılımı

Toprak, entomopatojen funguslar için önemli bir kaynak olup, toprakta bulunan entomopatojen funguslar biyolojik mücadele açısından büyük önem taşımaktadır [15], [17]. Bir patojenin oluşturduğu hastalığın gelişmesinde enfektif yapılarının dağılması ve yayılması oldukça önemlidir. Hypocreales ordosuna ait entomopatojen fungusların enfektif yapıları, ölü böcekler üzerinden pasif olarak çevreye dağılmaktadır. Bu dağılım rüzgar ve yağmur gibi etmenlerle gerçekleşmektedir [88]. Entomophthoralean ordosundaki fungusların sporları ise, hidrostatik basınç altında aktif olarak salınmaktadır. Salınımdan sonra sporların yayılımı, rüzgarla gerçekleşmektedir [80]. Bazı durumlarda da, entomopatojen funguslar canlı olan enfekte böcek ile bir başka böceğe geçerek yayılabilir. Örneğin; *Entomophthora thripidum* ve *Strongwellsea catrans* ile enfekte sinekler ve bazı afid türleri, uzun mesafede fungusları taşıyarak göç edebilmektedir [80], [86]. Ayrıca, bazı arthropodlar da entomopatojen türlerin yayılımında görev alabilmektedir [89-90].

Bunlara ek olarak, dinlenme yapılarının (restring spore) oluşması da pek çok fungusun yayılımı için ana faktör olabilmektedir. Konağın sayısı azaldığında ve olumsuz çevre koşulları başladığında, pek çok Entomophthoralean ordosuna ait

fungus türü, uzun süre toprakta kalabilen, mitozdan (azigospor) veya mayozdan (zigospor) oluşan dinlenme yapılarını (resting spore) üretmektedir [12], [80]. Bu da fungusun yayılımına katkı sağlayan faktörlerdendir.

2.3.1.5.4. Entomopatojen Fungusların Kullanımındaki Avantaj ve Dezavantajlar

Mikrobiyal mücadelede kullanılan entomopatojen fungusların bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir: [85]

- * Entomopatojen funguslar çok geniş konak spektrumuna ve yüksek konak seçiciliğine sahiptir. Yararlı böcek popülasyonlarını etkilemeden, zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılabilirler.
- * Genellikle konaklarının tüm gelişme fazlarını enfekte ederler ve bu nedenle herhangi bir uygun fazda kullanılabilirler.
- * Fazla sporlanmayı takiben, konaklarının hızlı ölümlerine neden olurlar, bu nedenle, uygun koşullarda çok zararlı epizootiklere neden olabilirler.
- * Entomopatojen funguslar, genellikle insan ve diğer omurgalılar üzerinde sağlık tehdidi oluşturmazlar.
- * Entomopatojen funguslar insektisitlerle birlikte kullanılabilir ve bazı hallerde onlarla sinerjistik olarak hareket edebilirler.
- * İnsektisit direnci gibi problemlere yol açmaz. Böylece uzun süre mücadelede kullanılabilir [91].
- * Biyoteknolojik araştırmalar ile geliştirilmeye uygundur.

Entomopatojen fungusların insektisit olarak kullanımlarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır:

- * Kimyasal insektisitler böcekleri 2-3 saatte öldürebilirken, entomopatojen funguslar için daha uzun bir süre gerekmektedir.
- * Bazen yüksek seçiciliğinden dolayı, ilave mücadele etmenlerinin kullanılması gerekebilir.
- * Fungal sporlar; UV ışını, sıcaklık ve nem gibi çevresel faktörlerden olumsuz etkilenir [61].
- * Üretimleri nispeten pahalıdır ve sporların saklanması için soğuk ortamlar gereklidir.
- * Zararlı populasyonlar üzerindeki etkinliği ve devamlılığı farklı konaklarda farklılık gösterir. Bu nedenle, böceğe özgül uygulama tekniklerinin standardizasyonu, uzun süreli çalışma ve araştırma gerektirmektedir.
- * Bağışıklık sistemi baskılanmış ve alerjik olarak çok hassas insanlarda bazen risk oluşturabilmektedir [91-92].

2.3.1.5.2. Biyolojik Kontrol Ajanı Olarak *Beauveria bassiana* ve *Paecilomyces fumosoroseus*

2.3.1.5.2.1. *Beauveria bassiana*

Entomopatojen fungus türlerinden biri olan *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin ilk kez 180 yıl önce tanımlanmış olup, *B. bassiana*'nın böceklerde hastalık yapabileceği ilk kez 1835 yılında İtalyan araştırmacı Agostino Bassi di Lodi tarafından gösterilmiştir [84], [93]. Beyaz muskardin olarak isimlendirdiği bu hastalığı bir ipek böceği türü olan *Bombyx mori*'de gözlemlemiş ve ilk enfeksiyon deneylerini başlatmıştır. O zamandan beri bu türün, zararlı böceklerin kontrolünde kullanılması düşünülmüştür [84].

Beauveria bassiana, dünyanın ılıman ve tropikal bölgeleri dahil çoğu yerde geniş yayılım gösterir ve enfekte olmuş böceklerden, havadan ve topraktan izole edilebilir [94-95]. Bu kadar geniş bir dağılıma sahip olmasının yanısıra, enfekte edebileceği konak sayısı da fazladır [84]. Gastropoda, Acari, Dermaptera,

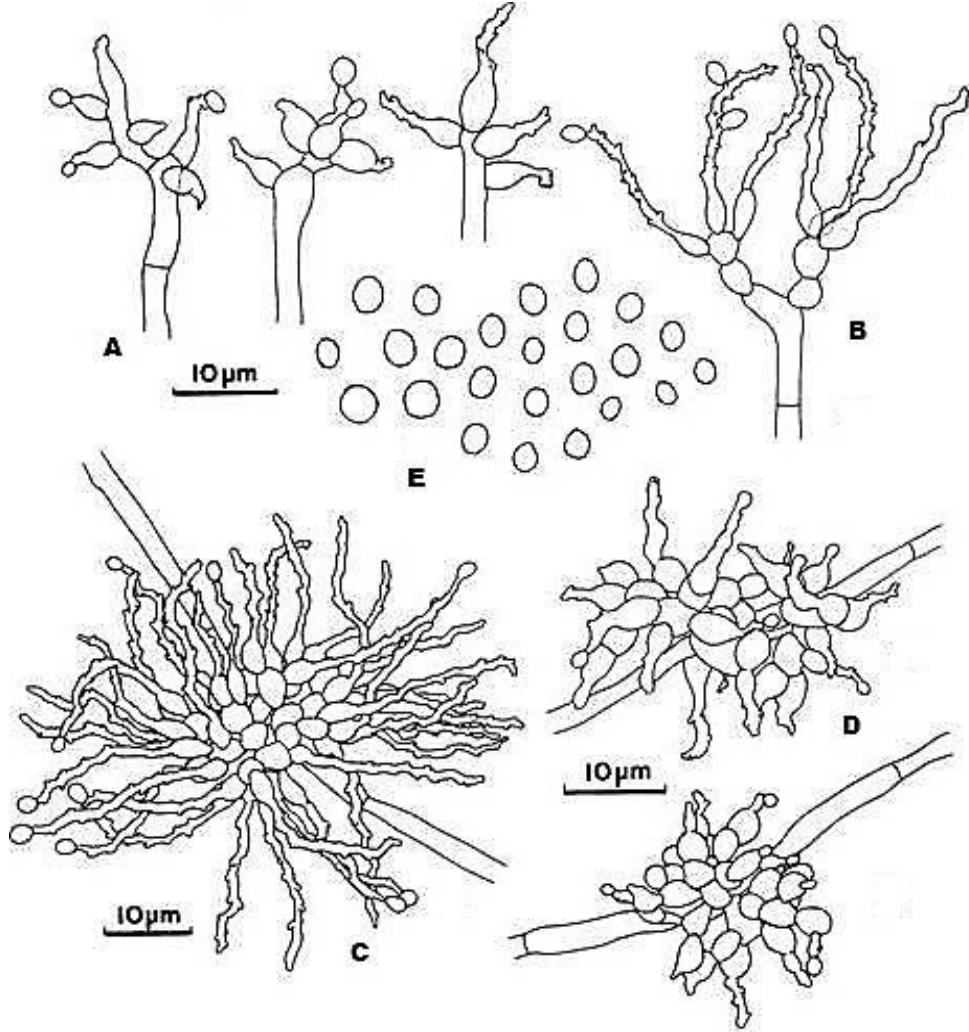
Heteroptera, Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Diptera, Hemiptera, Orthoptera, Siphonaptera, Isoptera, Thysanoptera, Mantodea, Neuroptera, Dermaptera, Blattariae, Embioptera ve Araneae takımlarına patojendir [96-98].

Beauverisin, bassianin, bassianolid, beauverolid, tenellin, oosporin, okzalik asit, bassiakridin, siklosporin A ve hidrofilik kitinaz benzeri proteinler ürettiği metabolit/ toksin ve proteinlere örnektir (Çizelge 2.3.) [99-100].

Çizelge 2.3. *Beauveria bassiana* tarafından üretilen bazı toksinler ve görevleri

Toksin	İşlevi
Beauverisin	İyonofor olarak görev yapıp, hücre zarı geçirgenliğini bozar. Bu nedenle hücrede gerçekleşen olaylar zarar görür [86], [101].
Bassianolid	İyonofor olarak görev yapar, antibiyotik etki gösterir [87], [102].
Bassianin ve Tenellin	Eritrosit membranındaki ATPaz' ları inhibe eder [103].
Bassiakridin	Özellikle çekirgelerde, kitin bağlayıcı toksik bir protein olarak görev yapar [104].
Siklosporin A	Böcek savunma hücrelerine baskı yapabilir [105-106].

Beauveria bassiana, önce beyaz ardından sarımsı ya da kırmızımsı kolonileriyle karakterize edilir. Koloninin alt yüzeyi sarımsıdan pembemsiye değişir. Konidiyojen hücreleri şişe şeklinde ve çoğunlukla zigzaglı bir yapı oluşturan 20 µm uzunluğunda bir sapa sahiptir. Konidiyalar, hiyalin yapıda genellikle elipsoidal olup, kartopu gibi kümeler oluştururlar (Şekil 2.2.) [84].



Şekil 2.2. *Beauveria bassiana*. A-D, konidiyal yapılar; E, sporlar [107]

Beauveria bassiana; 5°C-38°C arasındaki sıcaklıklarda gelişim gösterebilir. Ancak optimum gelişim sıcaklığı 23°C-28°C'dir [108-109]. Bu entomopatojen fungusun, hedef dışı canlılara karşı herhangi bir alerjik, toksik ve bulaşıcı etkisinin olmadığı kanıtlanmıştır [110-119]. Ancak bazı istisnai durumlar da vardır. Örneğin; MacLeod' un 1954 yılında yayınladığı bir çalışmada, 14 kemirgen hayvanın

akciğer dokusunda *B. bassiana*'ya rastlanmış ancak, yapılan histolojik incelemeler fungusun dokulara herhangi bir patojenik etkisinin olmadığını göstermiştir [96]. Buna ek olarak, *B. bassiana*'nın insanlarda alerjik reaksiyonlara sebep olduğunu gösteren bazı kayıtlar da vardır. Müller-Kögler 1967 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, bu türlerin ticari olarak üretildiği yerlerde çalışan insanlarda oluşturduğu alerjik reaksiyonlardan söz etmiştir. Ayrıca *B. bassiana*'nın insanlarda ve tavşanlarda mikotik keratit hastalığına neden olduğu da rapor edilmiştir [111], [120-124].

Günümüzde *B. bassiana*'ya ait birçok ticari ürün bulunmaktadır ve bu ürünler çeşitli canlılar üzerinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.4. *Beauveria bassiana* 'ya ait bazı ticari ürünler ve hedef canlılar [125]

Ürün	Üretici Ülke	Hedef Böcek
Boverol®	Çek Cumhuriyeti	Coleoptera (Chrysomelidae)
Ostrinil®	Fransa	Lepidoptera (Crambidae)
Trichobass-L®	İspanya	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Lepidoptera, (Castniidae, Pieridae), Hemiptera (Aleyrodidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Tetranychidae)
Bb Plus®	Güney Afrika	Hemiptera (Aphididae), Acari (Tetranychidae)
BioGuard Rich®	Hindistan	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera, (Aleyrodidae, Aphididae),

		Lepidoptera (Crambidae), Thysanoptera (Thripidae)
Biolisa-Mdara®	Japonya	Coleoptera (Cerambycidae)
Boverin®	Rusya	Hemiptera (Aleyrodidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Tetranychidae)
Bea-Sin®	Meksika	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera,
BotaniGard 22 WP®	Meksika, İtalya, Danimarka, ABD, İsveç, İspanya, Japonya	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera, (Miridae, Cicadellidae, Fulgoridae, Aleyrodidae, Aphididae, Pseudococcidae, Psyllidae), Thysanoptera, (Thripidae)
Mycotrol WP®	Meksika, ABD, Danimarka, İtalya, İsveç	Coleoptera (Chrysomelidae, Scarabaeidae, Curculionidae), Hemiptera (Cicadellidae, Miridae, Fulgoridae,Psyllidae), Lepidoptera (Crambidae)
Beuvedieca®	Kostarika, Panama	Coleoptera (Curculionidae)
Bazam®	Honduras, El Salvador, Guatemala, Jamaika	Coleoptera (Chrysomelidae, Curculionidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae), Lepidoptera (Noctuidae)
Bb Vinchuca®	Arjantin	Hemiptera (Reduviidae)

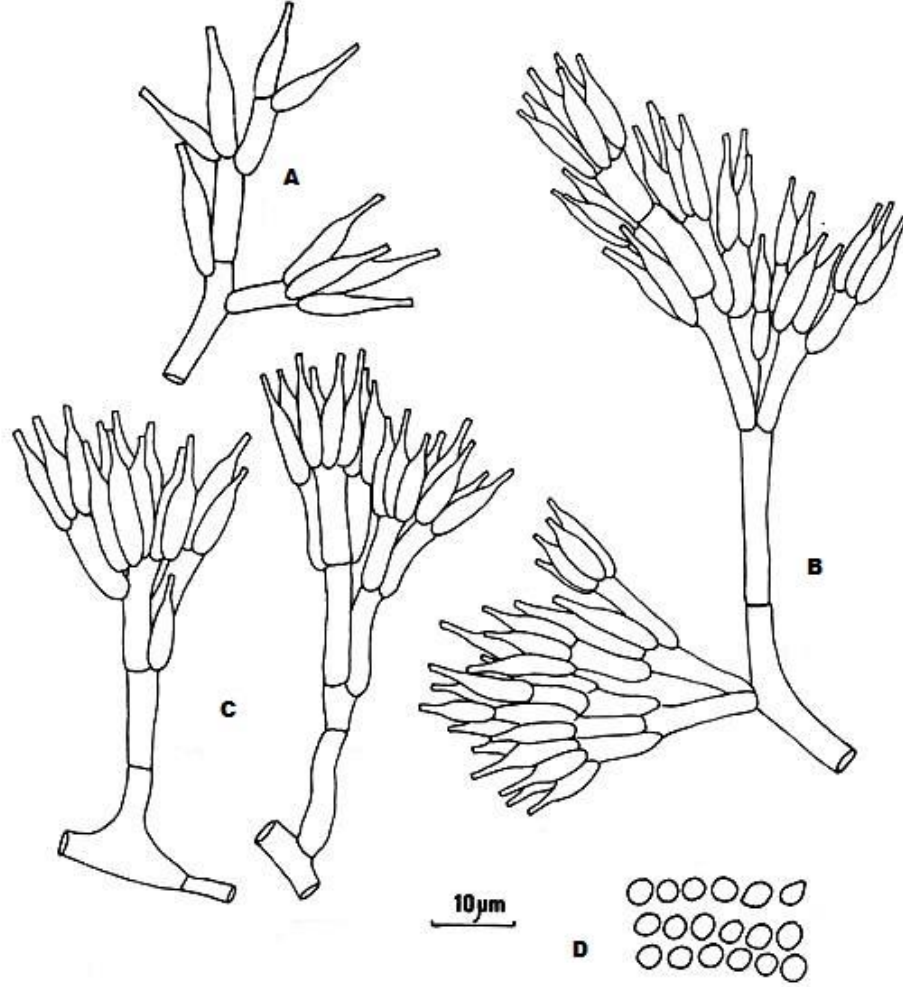
Brocaril 50 WP®	Kolombiya, Honduras	Coleoptera (Curculionidae)
-----------------	---------------------	----------------------------

2.3.1.5.2.2. *Paecilomyces fumosoroseus*

İlk olarak Ukrayna' da 1904 yılında, şeker pancarı kurdunun *Cleonus punctiventris* (Coleoptera:Curculionidae) larvaları üzerinde Wize tarafından *Isaria fumosorosea* olarak tanımlanmıştır [126]. Samson' un 1974 yılında yapmış olduğu monografik cins çalışmaları sonucunda da Isorioidea familyasının yeni bir bölümü olan *Paecilomyces* grubuna dahil edilmiş ve adı Brown ve Smith tarafından *Paecilomyces fumosoroseus* olarak değiştirilmiştir [127-128].

Paecilomyces fumosoroseus; dünyada geniş bir yayılım göstermekte olup, özellikle Lepidoptera takımı üyelerinden, bitkilerden, havadan ve topraktan izole edilebilmektedir [95], [125]. Yaklaşık olarak 1990' lardan beri laboratuvarında, serada ve sahada biyolojik mücadelede kullanılabilirliği kayıtlara geçen *P. fumosoroseus*; Blattodea, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Isoptera, Lepidoptera, Neuroptera, Thysanoptera ve Acari takımlarına patojendir [125].

Hızlı gelişme özelliğine sahip olan fungus kolonileri; beyazımsı, pembemsi gri, sarımsı veya kahverengimsi pembe renklerinde olabilmektedir. Pembe sinnemata, 10-20 mm uzunluğa erişebilmektedir. Konidiasporları konidyafora bağlayan fiyalidler; taban kısmı küre ile elips arasında bir şekle sahip olup, şişeye benzemektedir. Konidiasporlar ise fuzoiden ovoide değişen bir şekilde ve hiyalin yapıdadır (Şekil 2.3.) [125], [129].



Şekil 2.3. *Paecilomyces fumosoroseus*. A-C, konidial yapılar; D, sporlar [130]

Toksinleri ve metabolitleri hakkındaki bilgiler *B. bassiana* ve *M. anisopliae*' ye oranla daha kısıtlı olmasına rağmen, beauverisin kayda geçen ilk metabolitidir [131]. Beauverolidler, piridin-2,6-dikarbosilik asit ve dipikolinik asit, yine izole edilen metabolit/toksinlerine örnektir [132-133].

Paecilomyces fumosoroseus; 5°C-32°C sıcaklıkları arasında gelişim gösterebilir ancak optimum gelişim sıcaklığı 25°C' dir [134]. Yaklaşık 40 yıl önce yürütülmüş çalışmalarda, *P. fumosoroseus*' un hedef olmayan canlılar (amfibiler, kuşlar ve memeliler) üzerinde herhangi bir toksik veya patojenik etkisinin olmadığı gözlenmiştir [134-136].

Piyasada ticari ürün haline getirilmiş ve hedef canlılar üzerinde etkin şekilde kullanılan *P. fumosoroseus*' a ait ürünler bulunmaktadır (Çizelge 2.5.)

Çizelge 2.5. *Paecilomyces fumosoroseus*' a ait ticari ürünler [137-138]

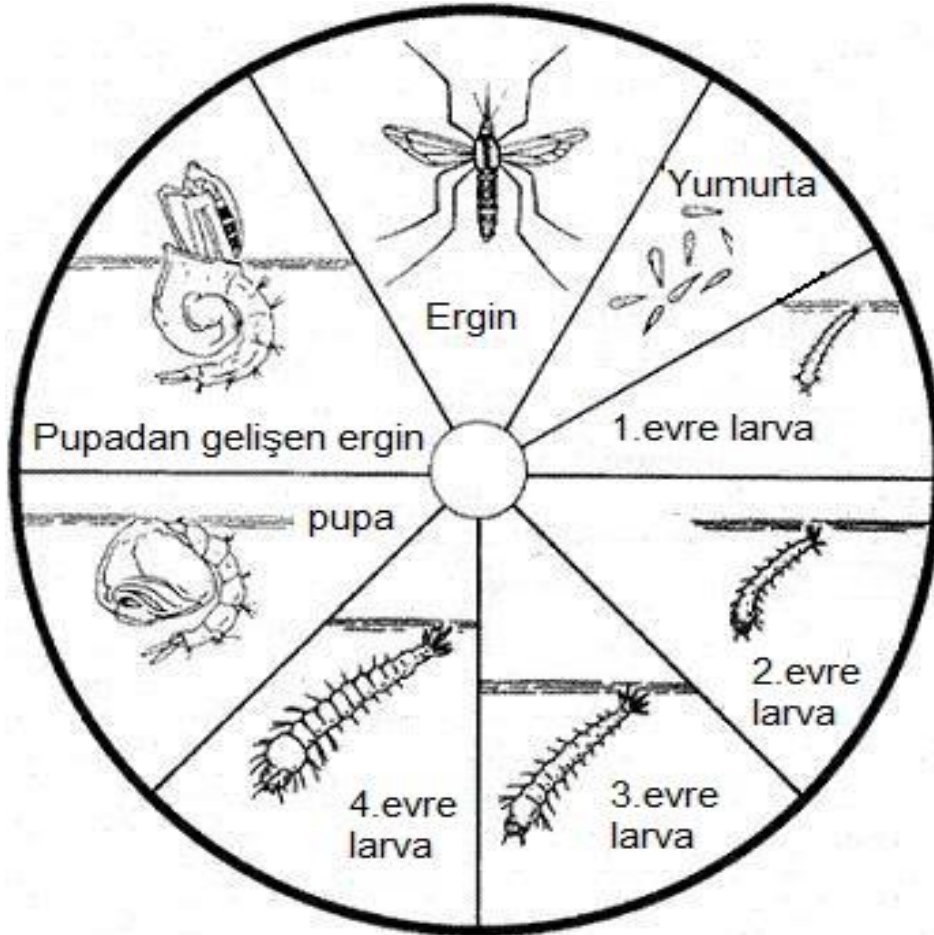
Ürün	Üretici Ülke	Hedef Böcek
Ago Biocontrol (<i>Paecilomyces 50</i>)	Ago Biocontrol, Kolombiya	Coleoptera, nematodlar
Bemisin®	Probiagro, Venezuela	Hemiptera (beyaz sinekler)
Fumosil®	Productos Biologicos Perkins Ltd., Kolombiya	Hemiptera (beyaz sinekler, afidler), Thysanoptera
Micobiol Completo® (mix with <i>B. bassiana</i> , <i>M.</i> <i>anisoplia</i> , <i>N. rileyi</i> , <i>B.</i> <i>thuringiensis</i>)	NI, Kolombiya	Coleoptera, Hemiptera, Lepidoptera, Diptera, Acari
Micobiol® HE (mix with <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> , <i>N. rileyi</i> , <i>H. thomsonii</i> , <i>P.</i> <i>lilacinus</i>) <i>Lecanicillium</i> spp.,	NI, Kolombiya	Coleoptera, Hemiptera, Acari, nematodlar <i>Lecanicillium</i> spp.,
Multiplex Mycomite®	The United Planters' Association of Southern India (UP-ASI), the Tea Research Foundation and Muliplex Biotech Pvt. Ltd.	<i>Olingonychus coffeae</i>

Pae-Sin®	Agrobiologicos del Noroeste S.A. de C.V. (Agrobionsa), Meksika	Hemiptera
PFR-97 20% WDG®	Certis, ABD	Hemiptera, Thysanoptera,
PreFeRal WG® (Apopka strain 97)	Biobest Biological Systems, Belçika	Hemiptera
Priority®	T.Stanes & Company, Hindistan	Acari(<i>Tetranychus urticae</i> , <i>Panonychus ulmi</i> , <i>Aculus schlectendall</i>)
Successor®	Live Systems Technology S.A., Kolombiya	Hemiptera, Thysanoptera, Acari
Tri-Sin® (mix with <i>B.</i> <i>bassiana</i> and <i>M. anisopliae</i>)	Agrobiologicos del Noroeste S.A. de C.V. (Agrobionsa), Meksika	Hemiptera (Psyllidae)

Beauveria bassiana ve *P. fumosoroseus*' un enfeksiyon mekanizması diğer entomopatojenlerde olduğu gibidir. Enfeksiyon; sporun kütiküle tutunmasıyla başlar. Ardından sporun çimlenmesi ve kütiküle penetrasyon gerçekleşir. Penetrasyon kütikulanın daha ince bölgelerinden ya da ağız parçalarından olur. Daha sonra konağın bağışıklık sisteminin üstesinden gelinmesi aşaması gerçekleşir. Konak içerisinde hifal yapıların ya da blastosporların üretilmesi, ölü konakta saprofitik üreme ve yeni konidiyaların üretilmesiyle enfeksiyon son bulur. Konaklarının ölümü, böceğin besin depolarının tüketilmesinden, fungusların ürettiği metabolit veya toksinlerden kaynaklanmaktadır [84].

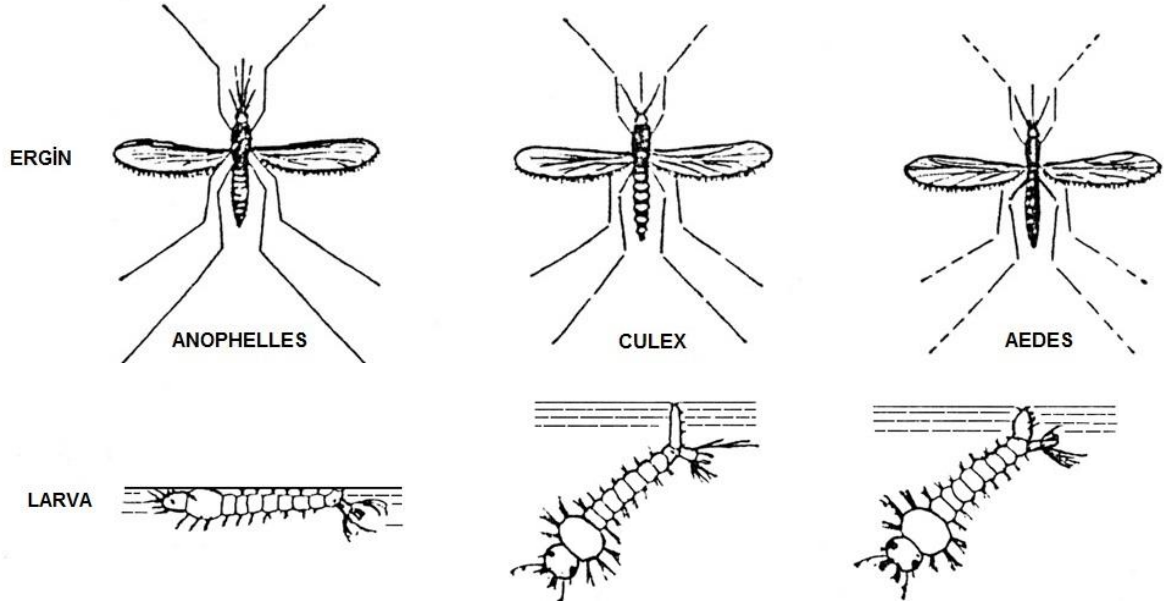
2.4. Hedef Canlı Olarak Seçilmiş Sivrisinekler ve Genel Özellikleri

Sivrisinekler; Arthropoda şubesi, Insecta sınıfı, Diptera takımı, Nematocera alttakımı içerisinde yer alan, Culicidae familyası içerisinde incelenmektedir [23]. Culicidae familyasına bağlı Anophelinae ve Culicinae alt familyalarında insan sağlığı açısından önemli gruplar bulunmaktadır [139]. Culicinae alt familyası; Aedes, Uranotaenia, Culiseta, Culex, Mansonia, Coquillettidia, Orthopodomyia ve Ochlerotatus cinsleri ile temsil edilmektedir [140-141]. Yüksek adaptasyon ve dispersal yetenekleri sayesinde dünyada, çöller ve kutuplar hariç her yerde bulunabilmektedirler [19-20], [142]. Sivrisinekler, hayat döngülerinde yumurta, larva, pupa ve ergin evreleri olduğu için tam başkalaşım gösteren holometabol canlılardır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Sivrisineklerin hayat döngüsü [143]

Türe bağılı olarak tek seferde 50-500 arası yumurta bırakabilirler [23]. Yumurtalar, türlere ve suyun sıcaklığına bağılı olarak 1-4 günde açılırlar [6]. Larvalar nefes almak için sık sık su yüzeyine çıkarlar. Anophelinae üyeleri suyun yüzeyinde yatay durumda nefes alırken, Culicinae üyeleri nefes alırken vücutlarını suyun yüzeyine eğik pozisyonda tutarlar (Şekil 2.5.) [144].



Şekil 2.5. Anophelinae ve Culicinae üyelerinin nefes alırken vücutlarını suyun yüzeyinde tutma pozisyonları [145]

Yumurtadan çıkan larvalar, pupa formuna geçene kadar üç kez deri değiştirirler. Bu süreçte larvalar boyut farklarından ayırt edilebilen dört evre geçirirler. Sivrisinek larvaları sudaki mikroorganizma ve organik partiküllerle beslenirler [146]. Bununla beraber bazı sivrisinek türlerinin larvalarında kanibalizm gözlenmektedir. Genelde yüksek yoğunlukta popülasyonlarda ve/veya ortamda az besin olduğu durumlarda görülen bu davranışın bireylerin gelişme hızlarına olumlu etkileri olduğu kaydedilmiştir [147-149].

Sivrisinek larvaları; ortamdaki besin miktarına, suyun sıcaklığına ve türe bağılı olarak ortalama 7-16 günde pupa evresine geçer [6]. Virgüle benzeyen vücut yapısı ile pupa, metamorfozun şekillendiği ve ergine ait yapıların oluştuğu son

evredir [6]. Pupalar genelde 3-5 gün içinde ergin hale geçerler. Ancak ortam koşullarına bağlı olarak (genelde düşük sıcaklıklarda) bu süre 10 güne kadar çıkabilmektedir [150].

Pupadan çıkan ergin 1-2 dakika içinde ekstremitelerini kurutarak beslenme arayışına girer. Ergin sivrisinekler genelde çiçek nektarlarıyla beslenir. Sadece dişi bireyler, yumurta oluşumunda vitellus proteinlerini sentezlemek için, gerekli aminoasitleri kan emerek sağlarlar [144], [150]. Kan emmek için tercih ettiği canlıya göre; zoofilik (hayvanlardan kan emen), antropofilik (insanlardan kan emen) ya da zoo-antropofilik (hem insandan, hem de hayvanlardan kan emen), dinlenme alanı tercihlerine göre; ekzofilik (dış mekanlarda dinlenen) ya da endofilik (iç mekanlarda dinlenen), kan emme alanlarındaki tercihlerine göre ise ekzofajik (dış mekanlarda kan emen) ya da endofajik (iç mekanlarda kan emen) olarak gruplandırılabilir [144].

2.4.1. *Culex quinquefasciatus*

Türkiye' deki 13 *Culex* cinsi sivrisinek türünden biri olan *C. quinquefasciatus*, tüm dünyada tropik ve subtropik alanlarda yaygındır [151-152].

Dişileri açık ve kapalı ortamlarda, ortam sıcaklığı düştüğünde, gece özellikle 24:00-02:00 saatleri arasında kan emerler. Oldukça saldırgan olan bu tür, zoo-antropofildir. Bu türün dişileri kan emdikten 4 gün sonra suyun üzerinde yüzen paketler halinde yumurtalarını bırakırlar. Erkek bireylerin larva süreleri dişilerinkinden kısayken, pupa süreleri daha uzundur [153].

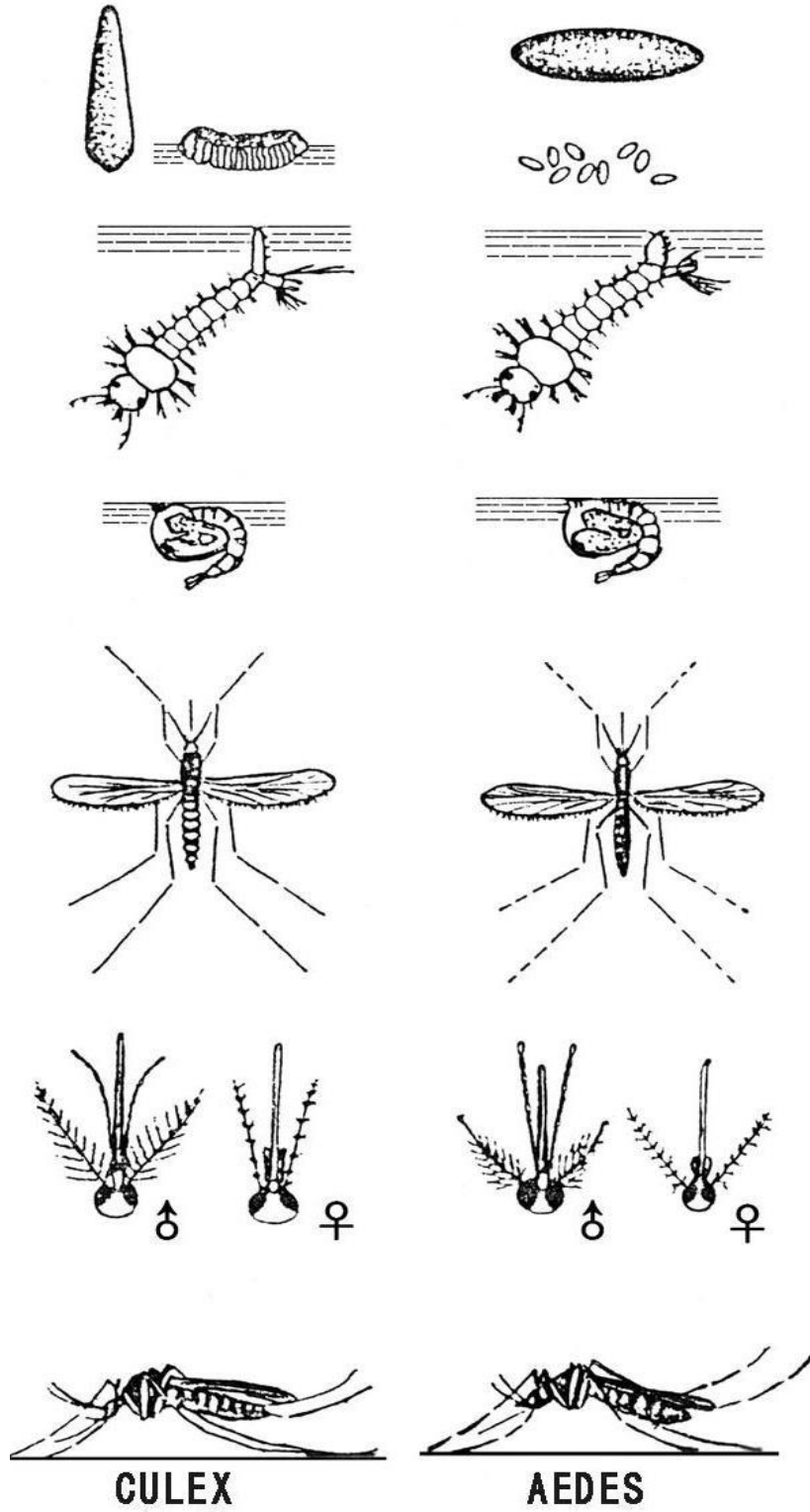
Culex quinquefasciatus taşıdığı flavivirüsler ile ateşli hastalıklara ve ensefalitlere, parazitler ile de, kuş sıtmasına ve filariyazise neden olmaktadır [151]. 160 *Plasmodium* türünden yalnızca 4 tanesi (*P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae*) konak olarak insanı kullanır. *Plasmodium relictum*, *C. quinquefasciatus* tarafından taşındığı bilinen kuş sıtması parazitidir [152]. Bir diğer önemli parazit, filariyal bir helmint olan *Wuchereria bancrofti* dir. Bu parazit lenf damarlarını tıkayarak iltihaplanmaya yol açar, özellikle ayak ve bacaklarda aşırı şişme görülür.

Türkiye' nin Antalya, Samsun ve Elazığ illerinde de görülen bu hastalık, 2014 yılında Dünya Sağlık Örgütü' nün yayınladığı bildiriye göre dünyada 120 milyondan fazla insanda görülmektedir [154,155]. *C. quinquefasciatus*' un taşıdığı virüslerden en önemlileri ise Kuzey Amerika' nın doğusu ve güneyinde görülen St. Louis Ensefalit Virüsü, Rift Vadisi Virüsü, Uzak Doğu' da görülen Japon Ensefalit Virüsü, Asya, Avrupa, Afrika ve Orta Doğu' dan sonra Kuzey Amerika kıtasında da yayılım gösteren, kuşları, memelileri ve insanları enfekte edebilen Batı Nil Virüsüdür (BNV) [156-157]. Özellikle BNV, merkezi sinir sistemine etki edebilmesi ve ciddi nörolojik hastalıklara neden olmasından dolayı oldukça önemlidir. BNV ile enfekte bireylerin %80' inde hastalık asemptomatik olarak gelişir. Türkiye' de de bu virüse ait tanımlanmış ilk olgular 2010 yılında bildirilmiştir [158-159].

2.4.2. *Aedes aegypti*

Tropiklerde ve subtropiklerde yaygın olarak görülen *A. aegypti*, önemli bir vektör sivrisinektir. Bu türün dişi bireyleri yumurtalarını, *C. quinquefasciatus* türünün dişilerinden farklı olarak tek tek bırakırlar (Şekil 2.6.). Yumurtadan ergine kadar geçen süre; türe, suyun fizikokimyasal özelliklerine, iklim koşullarına, besin faktörlerine göre değişmekle birlikte 7-16 gün sürmektedir [150], [160-162].

Çoğunlukla gündüzleri aktif olan *A. aegypti*; dang humması, sarı humma ve chikungunya hastalığına neden olan virüslerin taşınmasında büyük rol oynamaktadır. 2012 Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dang humması, sivrisinekler aracılığıyla bulaşan en önemli viral hastalıklardan biridir. Hastalık 3 aşamada (ateşlenme, kritik, iyileşme) ilerler. İlk aşamada yüksek ateş görülür ve kişi hastalık süresince kemikleri kırılırcasına şiddetli ağrılar yaşar. Dünya nüfusunun %40' ı bu hastalığa yakalanma riski altındadır ve şimdiye kadar herhangi bir tedavisi bulunamamıştır [163]. Sarı hummada; ani ateş yükselmesi, böbrek işlevlerinde bozulma, cildin ve gözlerin sararması gibi belirtiler görülür. Tedavi edilmeyen vakaların %50' si ölümlle sonuçlanır. Chikungunya hastalığında da, yüksek ateşle birlikte vücuttaki çoğu eklemden şiddetli ağrılar olur ve hasta kişi dik duramaz hale gelir. Aşısı veya herhangi bir tedavisi yoktur [164-167].



Şekil 2.6. Aedes ve Culex cinsi sivrisineklerin morfolojik farklılıkları [145]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Türkiye'nin çeşitli illerinden toplam 150 toprak örneği toplanmış ve bu topraklardan toprak seyreltme yöntemi ile entomopatojen olabileceği düşünülen 71 fungus örneği elde edilmiştir. Bunların arasından *Beauveria* spp. ve *Paecilomyces* spp. olabileceği düşünülen türler seçilmiştir. Bu örneklerin tanımlanmaları için çalışmalar yapılmıştır.

3.1. Toprak Örneklerinin Toplanması

Entomopatojen fungus izolasyonunda kullanılacak toprak örnekleri; 2013-2014 yılının Kasım ve Temmuz ayları arasında toplanmıştır. Toprak örneklerinin alındığı yerler rastgele seçilmiştir [168]. Yaklaşık 500 g'lık toprak örnekleri; ekili-dikili alanlardan, orman zemininden, ruderal alanlardan ve çayırılık yerlerden toplanmıştır. Toprak örneklerinin alınmasında yüzeyden başlayıp 5-20 cm'lik derinliğe kadar olan yerler tercih edilmiştir [169-172]. Örneklerin alınımında kullanılan alet, her toprak alınımından sonra %70'lik etil alkol ile steril edilmiştir. Toprak örneklerinin alındığı yerlerin adı ve o toprağa ait vejetasyon tipinin kaydedilmesinin ardından toprakların kurummasını önlemek için toprak örnekleri plastik torbalar içine alınmıştır [68].

3.2. Deneyde Kullanılan *Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti* Türlerinin Laboratuvar Populasyonlarının Üretilmesi

Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Ekolojik Bilimler Araştırma Laboratuvarı (EBAL) ve Eğitim Fakültesi Pestisit Araştırma ve Referans Laboratuvarı'nda kolonizasyonu yapılmış olan *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* türü sivrisineklerin laboratuvar populasyonları kullanılmıştır.

Kolonizasyon işlemi, Yazgan 2003; Eastwood, 2011; Zheng 2015 ve Govindarajan, 2015 temel alınarak yapılmıştır [173-176].

Koloniler, $26\pm 2^\circ$ C sıcaklık, % 65 ± 10 RH nem ve 12:12 saat aydınlık:karanlık (L:D) koşullarında üretilmiştir. *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* erginleri, 40x40x40

cm' lik tül kafeslerde yetiştirilmiştir. *C. quinquefasciatus* erginlerine bildircından, *A. aegypti* erginlerine ise tavşandan haftada bir kez kan emdirilmiştir. Erginler %10' luk glukoz çözeltisi ile beslenmiştir. Yumurta almak için *C. quinquefasciatus* bulunan kafeslere su dolu kaplar, *A. aegypti* bulunan kafeslere ise su dolu kaplar ve bu kapların içine kenarlarını kaplayacak şekilde kurutma kağıtları konulmuştur. 3-4 günlük yumurtlama periyodundan sonra yumurtalar kafesten alınarak 7x11x18 cm' lik içlerinde bir litre distile su bulunan kaplara aktarılmıştır. Yumurtadan çıkan larvalar, Sera® dip balık yemi ile beslenmiştir.

3.3. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar

3.3.1. Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Maya ve küflerin geliştirilmesinde kullanılan bir besiyeri çeşididir [177].

3.3.1.1. Sabouraud Dextrose Agar + Yeast Extract (SDAY)

%1 oranında maya özütü ilave edilmiş olan SDA (Sigma- Aldrich)' lı besiyeri, 120° C' de 1 atm basınç altında 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. Bu besiyeri fungusların spor üretmeleri için kullanılmıştır [178].

3.3.1.2. Veen's medium (SDA Seçici Besiyeri)

Entomopatojen funguslar topraktan izole edilirken; toprak bakterilerinin üremesini önlemek amacıyla geniş spektrumlu bir antibiyotik olan Chloramphenicol 50 µg/ml ve Actidone (Cyclohexamide) 250 µg/ml SDA besiyerine eklenerek seçici özellikte bir besiyeri oluşturulmuştur. Besiyeri 120° C ve 1 atm basınç altında 20 dakika otoklavda steril edilmiştir [117], [179].

3.3.1.3.SDA Seçici Besiyeri

Entomopatojen olmayan fungusları elimine etmek amacıyla, içerisinde 1 ml Dodine (9 ml distile su içerisinde 1 g Dodine çözülerek hazırlanmış çözeltiden) ve 500 µl Chloramphenicol (10 ml %96' lık etanol içinde 1 g Chloramphenicol çözülerek hazırlanmış çözeltiden) SDA besiyerine ilave edilerek hazırlanmıştır [86], [180-181].

3.3.2. Malt Extract Agar (MEA)

30 g malt özütü ve 30 g agar 1 litre distile suda çözülmüştür ve 120° C' de 1 atm basınç altında 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. Bu besiyeri fungusların tür tanımlanmasında kullanılmıştır.

3.3.3. Yulaf Unlu Agar (Oat Meal Agar)

Entomopatojen fungusların mikroskopik incelemelerinin yapılmasında kullanılan yulaf unlu agar; 60 g yulaf unu ve 12,5 g agarın 1 litre distile suda çözülmesiyle hazırlanır.

3.3.4. Potato Dextrose Agar (PDA)

PDA (Sigma-Aldrich) izole edilen entomopatojen fungusların saklanması amacıyla kullanılmıştır [11], [182].

3.3.5. Tween 80

Spor solüsyonları hazırlanırken ve sporlar suya alınırken Tween 80 (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır.

3.3.6. Zeytinyağı, Fındık yağı ve Ayçiçek yağı

Spor solüsyonlarının hazırlanmasında ve deney kaplarında sporların su yüzeyinde kalmasını sağlamak amacıyla kullanılmıştır.

3.3.7. Laktofenol Mavisi

Fungus örneklerinin boyanmasında Laktofenol mavisi (Merck) kullanılmıştır.

3.4. İzolasyon

3.4.1. Toprak Seyreltme Yöntemi ile İzolasyon

Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan toprak örneklerinden 1' er gram alınarak, içinde 10 ml distile su bulunan steril test tüplerine konulmuştur. Her bir test tüpü homojenizasyonu sağlamak amacıyla 30 saniye boyunca vortekslenmiştir. Ardından karışımdan 1 ml alınarak içinde 9 ml distile su bulunan test tüpüne eklenmiş ve böylece 10 kez seyreltme yapılmıştır [183].

Seyreltmenin ardından her bir test tüpünden alınan 0,5 ml miktarındaki karışım Veen's Medium seçici besiyerine eklenmiş ve drigalski spatülü yardımı ile besiyerine yayılmıştır. Besiyerleri $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de 14 gün boyunca fungal gelişime bırakılmıştır. Daha sonra üreyen *Beauveria* spp. ve *Paecilomyces* spp. olabilecek örnekler SDAY besiyerine ekilerek saf kültür elde edilmeye çalışılmıştır [94].

3.5. Deney Suşlarının Seçilmesi

İzole edilen fungus örnekleri; ilk aşamada SDA besiyerindeki koloni özelliklerine göre seçilmeye çalışılmıştır. Bu besiyerinde üreyen *Beauveria* spp. ve *Paecilomyces* spp. olabilecek türlerin koloni özellikleri göz önüne alınarak bu özellikleri sağlamayan örnekler elenmiştir. *Beauveria* spp. kolonilerinin rengi; önce beyaz, sonra sarımsı pembemsi, *Paecilomyces* spp. örnekleri ise; pembemsi gri, beyaz, sarımsı veya kahverengimsi pembe renginde olabilmektedir [79], [128].

3.5.1. Preparat Hazırlama ve Mikroskopik İnceleme

Preparat hazırlanırken; temiz lam üzerine bir damla etil alkol konulmuş, fungusun üremiş olduğu yulaf unlu agar ortamından steril öze yardımı ile az miktarda fungus örneği alınmıştır. Fungusun yapısını kaybetmeden lam üzerine yayılması sağlanmıştır. Alkolün uçması için bir süre beklenilmiş, daha sonra örnek üzerine bir lamel kapatılarak mikroskofta inceleme yapılmıştır.

Hazırlanan preparatlarda *Beauveria* cinsi için en karakteristik özellikler olan, taban kısmı globoz veya şişe şeklinde şişkin sporojen hücreler ve küçük şeffaf sporların meydana getirdiği kümelerin gözlemlendiği örnekler seçilmiştir. *Paecilomyces* cinsi için ise filamentleri ve konidyaforları sık dizilim gösteren ve konidyaları fuzoidden ovoide değişen şekilde olan örnekler seçilmiştir [129], [184-185].

3.6. Türlerin Teşhisi

İzole edilen funguslar arasından *Beauveria* spp. ve *Paecilomyces* spp. olabileceği düşünülen örneklerin morfolojik tür tayinleri, "Entomopathogenic Fungal Identification" adlı kaynak baz alınarak yapılmıştır [184].

Moleküler teşhisler ise; *Beauveria* spp. için Ege Üniversitesi'nden Doç. Dr. Alev Haliki tarafından, *Paecilomyces* spp. için ise İstanbul Teknik Üniversitesi (İTÜ) Arı Teknokent şirketi olan Bioeksen Ar-Ge ekibi tarafından yapılmıştır.

3.7. Kullanılan Deneysel Suşları

Yapılan tüm deneyler sonucunda Türkiye'nin çeşitli illerinden elde edilen entomopatojen fungus türlerinden *B. bassiana* ve *P. fumosoroseus* olabilecek türler teşhis edilmiştir. Bu suşlardan 9 adet *B. bassiana* ve 1 adet *P. fumosoroseus* seçilerek toplamda 10 adet suş ve 1 adet *B. bassiana*'nın standart suşu (KVL-03129) sivrisinekler üzerinde denenmiştir.

3.8. Spor Solüsyonlarının Hazırlanması

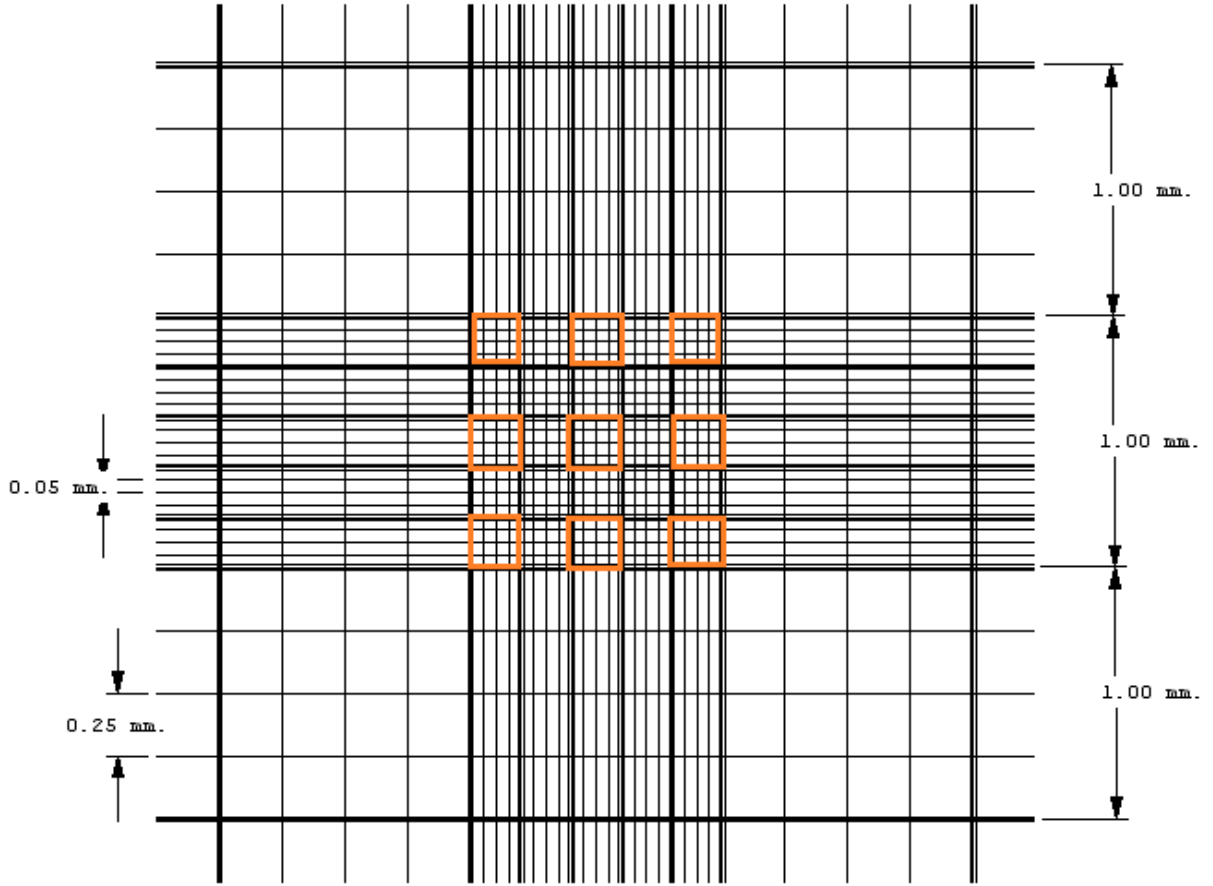
Her bir izolatın spor solüsyonu, 14 gün boyunca SDAY besiyerinde üremiş kültürlerden hazırlanmıştır. Bu besiyerlerine içerisinde %1 Tween 80 bulunan 10 ml distile su veya her bir bitkisel yağ için ayrı ayrı hazırlanmış içerisinde %1 bitkisel yağ bulunan 10 ml distile su eklenmiştir [7]. Ardından her bir izolat, spor ve misellerin birbirinden ayrılması için vorteks cihazının en yüksek ayarında 2 dakika karıştırılmıştır Süspansiyondaki konidyal konsantrasyon; Neubauer Improved lamında sayılmıştır (Şekil 3.1.)



Şekil 3.1. Neubauer lam ve lameli

Spor sayımında Neubauer Improved laminın ortasında yer alan 25 kareden, $0,004 \text{ mm}^3$ hacimli alanlardan 9 tanesi seçilmiş ve sayım yapılmıştır (Şekil 3.2.). Bulunan spor sayısı 0.036 ile bölünerek 1 μl ' deki spor sayısı bulunmuştur. 1 ml' deki spor sayısına ulaşmak için ise bulunan sonuç 1000 ile çarpılmıştır [186].

$$1 \text{ ml' deki spor sayısı} = \frac{9 \text{ alandaki toplam spor sayısı}}{0.036} \times 1000$$



Şekil 3.2. Neubauer lamında bulunan kareler ve sayım yapılan alanlar

Çalışmada elde ettiğimiz her fungus izolatı için 1' er (1×10^7 konidya/ml) ve standart suş için 3' er (1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidya/ml) konsantrasyon hazırlanmıştır [187].

3.9. Fungus Suşlarının *Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti* Üzerinde Denenmesi

İlk olarak *A. aegypti* türünden 2.evre larvalar her deney setinde 50 adet olacak şekilde $7 \times 11 \times 18$ cm' lik, içerisinde 250 ml distile su ve 2,5 ml spor solüsyonu içeren kaplara konulmuştur. Spor solüsyonları; %1' lik Tween 80 ve de %1' lik bitkisel yağ ile standart suş olan KVL-03129 ile 3 ayrı konsantrasyonda (1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidya/ml) ve kontrol grubu oluşturularak hazırlanmıştır. Burada spor solüsyonları 250ml distile suya eklendikleri için 1 ml başına düşen spor sayısı değişmiş 1×10^3 , 1×10^4 ve 1×10^5 konidya/ml' ye düşmüştür. Bu öncül çalışma

sonuçları baz alınarak, etkili olan spor konsantrasyonu ve spor solüsyonu içeriğiyle diğer suşlar için deney planı yapılmıştır.

Her deney setinde *A. aegypti* türü için 2.evre larvalar 50 adet olacak şekilde, *C. quinquefasciatus* türü için ise 2.evre larvalar 25 adet olacak şekilde, 7x 11x 18 cm' lik deney kaplarına koyulmuştur. Kapların içerisinde 250 ml distile su ve 2,5 ml spor solüsyonu (seçilmiş entomopatojen fungus izolatlarından ayrı ayrı hazırlanan, %1' lik Tween 80 ve de %1' lik bitkisel yağ ile oluşturulmuş) bulunmaktadır. Hazırlanan deney setleri, 26±2 °C sıcaklık, % 65±10 RH nem ve 12:12 saat aydınlık:karanlık (L:D) koşullarında muhafaza edilmiştir (Bu yöntem Bukhari, 2011' göre modifiye edilerek tasarlanmıştır) [188].

Deney setleri her gün kontrol edilmiş ve enfekte olduğu tespit edilen ölü larvalar içerisinde filtre kağıdı bulunan petri kaplarına aktarılmıştır [7]. Bu petriler ayrı ayrı poşetlere konularak 26±2°C' lik etüvde saklanmış ve kavruların üzerinde fungus gözlenmesi için her gün kontrol edilmiştir. Yine bu petrilerde de funguslar için gerekli olan yüksek nemin sağlanması için petrilere distile su eklenmiştir [7].

Kurulan deney setleri için aynı yöntemle kontrol grupları oluşturulmuş, fakat kontrol gruplarına spor solüsyonu verilmeyip, içerisine %1 oranında Tween 80 veya %1 bitkisel yağ eklenmiş distile su verilmiştir [189].

3.10. İstatistiksel Yöntemler

Türkiye topraklarından izole edilmiş suşlardan seçilen 10 suşun 1' er ve standart suşun 3' er konsantrasyonu *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* larvaları üzerinde denenmiş ve veriler kaydedilmiştir. Ayrıca bu gruplar için kontrol grubu da oluşturulmuş ve verileri kaydedilmiştir.

Bu 10 suşun patojenite etkilerine; dozun, suşun ve spor solüsyonu içeriğinin etkisinin olup olmadığı tek yönlü Anova testi ile araştırılmıştır. LT50 değerlerinin hesaplanmasında, EPA probit analiz programı kullanılmış, bu değerlerin karşılaştırılmasında ise t testi uygulanmıştır. Suşlar ise kendi arasında LSD testi ile karşılaştırılmış ve Duncan analizi kullanılarak yorumlar yapılmıştır.

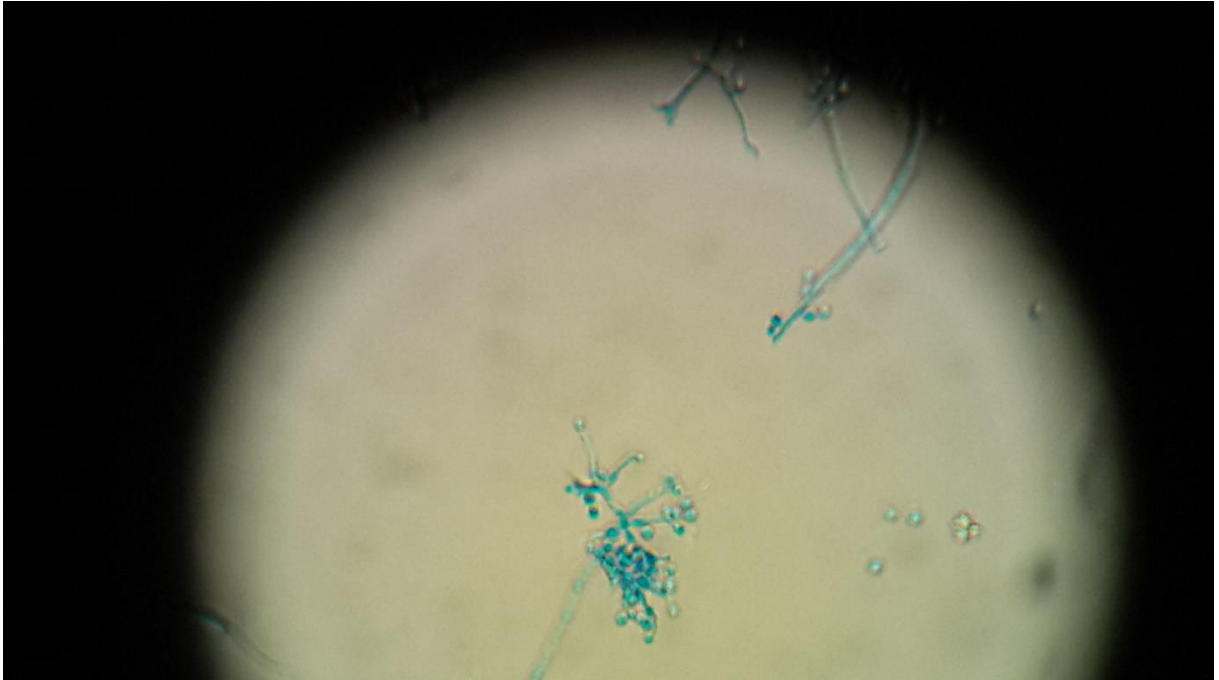
4. SONUÇLAR

4.1. İzolasyon Sonuçları

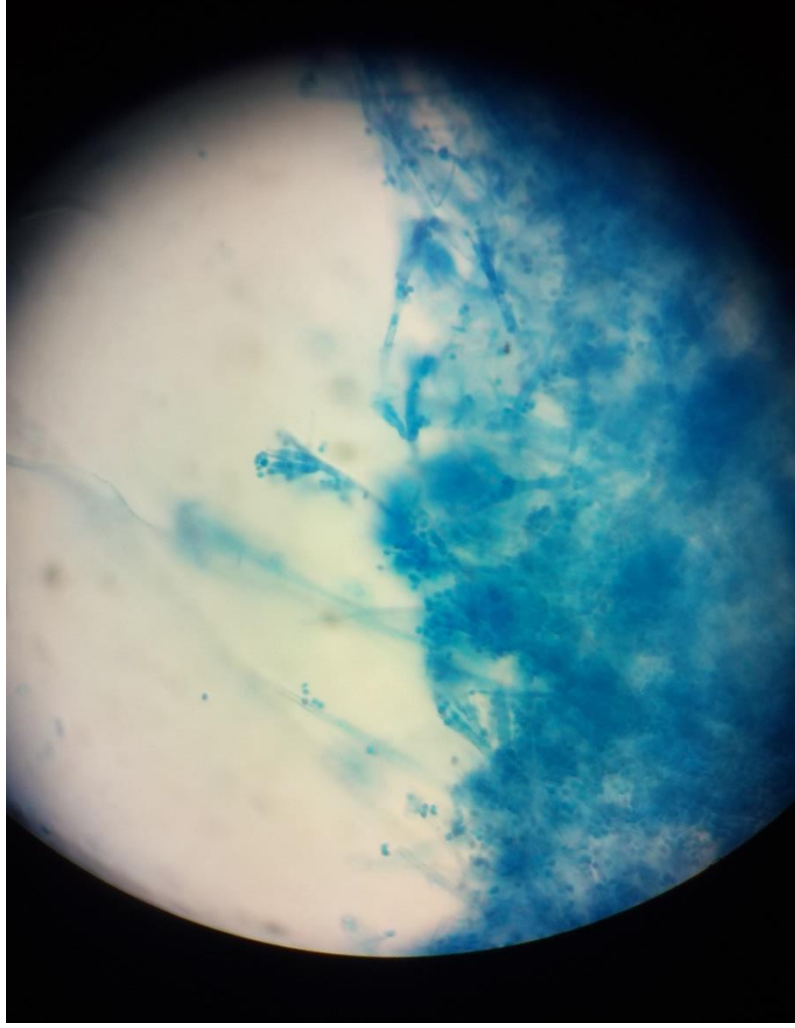
Çalışma kapsamında topraktan entomopatojen fungus izolasyonu toprak seyreltme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Uygulanan bu yöntemle toplamda 71 adet entemopatojen fungus örneği elde edilmiştir. İzolasyon sonuçlarına göre *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* larvaları üzerinde denenen suşlar rastgele seçilmiştir.

4.2. Tür Teşhisi Sonuçları

Laktofenol mavisi damlatılmış preparatlarda *Beauveria* cinsi için en karakteristik özellikler olan, taban kısmı globoz veya şişe şeklinde şişkin sporojen hücreler ve küçük şeffaf sporların meydana getirdiği kümelerin gözlemlendiği örnekler seçilmiştir (Şekil 4.1.). *Paecilomyces* cinsi için ise dalları ve konidiyaforları sıkı olan, konidiyaları fusoidden ovoide değişen şekle sahip olan örnekler seçilmiştir (Şekil 4.2.) [190].



Şekil 4.1. *Beauveria bassiana* konidiyaları ve sporları (Fotoğraf: Semiha Selda YILDIZ, 2015)



Şekil 4.2. *Paecilomyces fumosoroseus* konidiaları ve sporları (Fotoğraf: Semiha Selda YILDIZ, 2015)

Ege Üniversitesi'nden Doç. Dr. Alev Haliki tarafından 65 adet *B. bassiana*, İstanbul Teknik Üniversitesi (İTÜ) Arı Teknokent şirketi Bioeksen Ar-Ge ekibi tarafından ise 6 adet *P. fumosoroseus* tanımlanmıştır.

4.3. Ölüm Nedeninden Fungusun Sorumlu Tutulması

Toprak seyreltme yöntemi ile elde edilen entomopatojen funguslarla, larvaların enfekte olmasının ardından ölüm nedeninden fungusun sorumlu tutulabilmesi için larvaların öldükten 1-2 gün sonra içlerinin hifal yapılarla dolması ve kadavrada kötü koku oluşmaması özellikleri beklenmiştir. Bu belirtilerin gözlemlendiği larvalarda, ölüm nedeninden entomopatojen fungusun sorumlu olduğu belirtilmiştir [7].



Şekil 4.3. *Beauveria bassiana*' yla enfekte *A. aegypti* larvası (Fotoğraf: Semiha Selda YILDIZ, 2015)



Şekil 4.4. *Paecilomyces fumosoroseus* ile enfekte *C. quinquefasciatus* larvası (Fotoğraf: Semiha Selda YILDIZ, 2015)

4.4. Deney Sonuçları

4.4.1. Fungus Suşlarının *Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti* Üzerinde Denenme Sonuçları

Bu çalışmada D-2, İZ, L-1, Ay-3, BY-V, İÇ, Bol, BY-G, Trb, RZ suşları ve KVL-03129 standart suşu kullanılmıştır (Çizelge 4.1.).

Standart suşun 3' er farklı konsantrasyonunun ve diğer 10 suşun 1' er konsantrasyonunun patojenitesi incelenmiş ve elde edilen ölü larva sayıları, her gün deney setinin kontrol edilmesiyle kaydedilmiştir. *A. aegypti* türü sivirisineklerin deney düzeneğinde 50 adet, *C. quinquefasciatus* türü için ise 25 adet larva kullanılmış ve deneyler 3 kez tekrarlanmıştır. Çizelge ve grafiklerdeki tüm ortalama ölüm değerleri, 7 günlük ölüm değerlerinin ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan suşlar

	Suş Kodu	Toprak Örneğinin Alındığı Yer	Toprak Örneğinin Alındığı Yerin Vejetasyon Tipi
1.Suş	D-2	Denizli- Honaz	Ruderal alan
2. Suş	İZ*	İzmit- Akmeşe*	Ekili alan
3.Suş	L-1	Tekirdağ- Lüleburgaz	Ruderal alan
4.Suş	Ay-3	Aydın- Altinkum	Ekili alan
5. Suş	BY-V	Ankara- Beytepe Vadi Altı	Ağaç dikili alan
6. Suş	İÇ	İstanbul- Çatalca	Çayırılık alan
7. Suş	Bol	Bolu- Gerede	Ormanlık alan
8. Suş	Trb	Trabzon- Maçka	Ormanlık alan
9. Suş	BY-G	Ankara- Beytepe Gölet	Ağaç dikili alan
10. Suş	RZ	Rize- Şahintepesi	Ormanlık alan
11.suş	KVL-03129	-	-

* *Paecilomyces fumosoroseus* suşunu ifade etmektedir. Diğer suşlar *Beauveria bassiana*'dır.

Oluşturulan spor solüsyonu konsantrasyonları; 1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidiya/ml olacak şekilde hazırlanmıştır ve öncül çalışma verilerine göre bu konsantrasyonlar arasında ortalama ölüm sayıları açısından fark olup olmadığı LSD testi ile araştırılmıştır (Çizelge 4.2.).

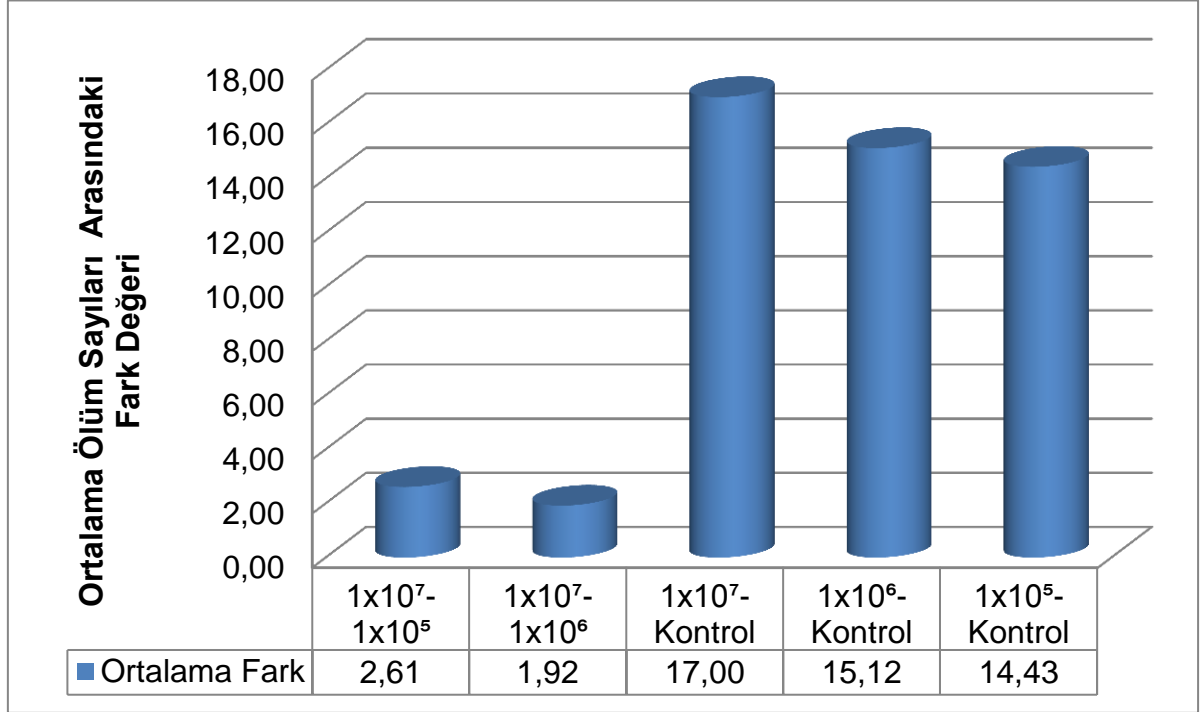
Çizelge 4.2. Öncül çalışmada kullanılan spor solüsyonu konsantrasyonlarının kendi aralarında ve kontrol grubuyla LSD testi kullanılarak karşılaştırılması

A (Doz)	B (Doz)	Ortalama Ölüm Sayıları Arası Fark (A-B)	Standart Hata	P Değeri (Sig.)
1×10^5	1×10^6	-,69	2,092	,742
	1×10^7	-2,61	2,092	,360
	Kontrol	14,43	2,092	,000*
1×10^6	1×10^5	,69	2,092	,742
	1×10^7	-1,92	2,092	,214
	Kontrol	15,12	2,092	,000*
1×10^7	1×10^5	2,61	2,092	,360
	1×10^6	1,92	2,092	,214
	Kontrol	17,04	2,092	,000*
Kontrol	1×10^5	-14,43	2,092	,000*
	1×10^6	-15,12	2,092	,000*
	1×10^7	-17,04	2,092	,000*

* $p < 0,05$ olan örnekleri ifade eder.

Öncül çalışma verilerine göre standart suşun (KVL-03129) *A. aegypti* larvaları üzerinde denenen tüm dozları (1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidiya/ml) ile kontrol grubu arasında, LSD testine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$) (Çizelge 4.2.). Buna göre etkinlik açısından denenen dozların hepsi larvaların ölmesini sağlamıştır. Dozların kendi arasında karşılaştırılması sonucunda ise, denenen 3 doz arasında ortalama ölüm sayıları bakımından fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p > 0,05$). Ancak çalışmalara, ölüm ortalamaları göz önüne alınarak, kontrol grubuyla arasındaki fark en çok olan ve

en yüksek sayıda ölüm ortalamasına sahip 1×10^7 konidiya/ml ile devam edilmiştir (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Öncül çalışmada kullanılan spor solüsyonu konsantrasyonlarının kendi aralarında ve kontrol grubuyla karşılaştırılması

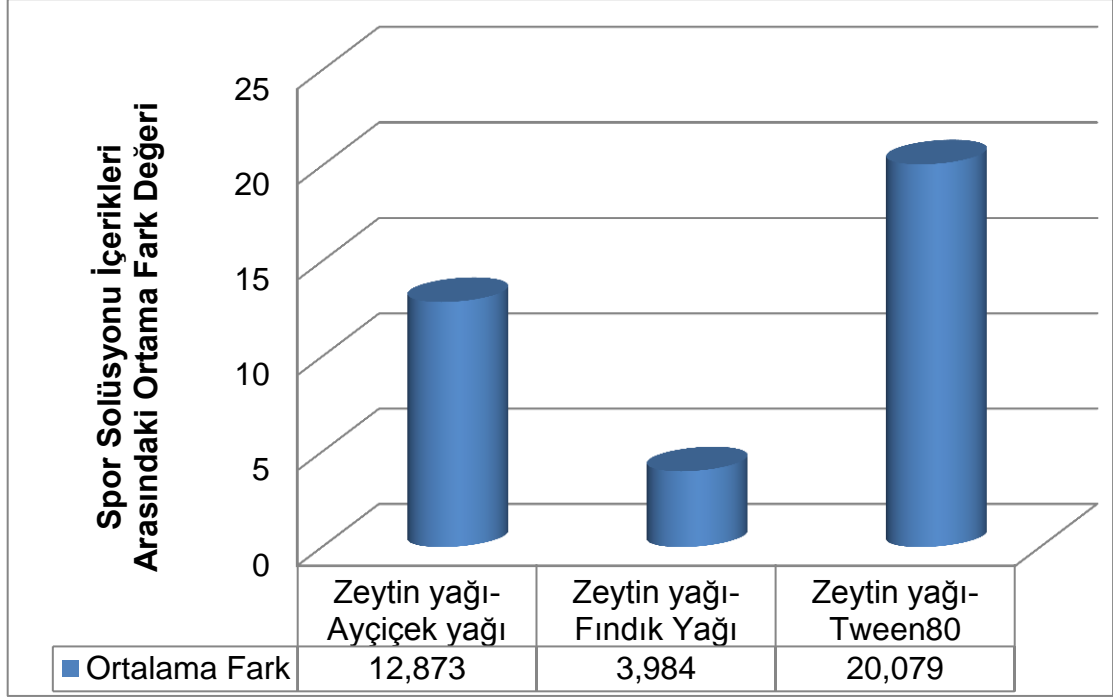
Spor solüsyonu hazırlanmasında kullanılan maddelerin (zeytinyağı, ayçiçek yağı, fındık yağı ve Tween 80), ortalama ölüm süreleri bakımından aralarında fark olup olmadığı LSD testi ile araştırılmıştır (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Spor solüsyonu hazırlanmasında kullanılan solüsyon içeriklerinin ortalama ölüm değerleri bakımından birbirleriyle karşılaştırılması

Solüsyon içerikleri		Ortalama ölüm sayıları arası fark (A-B)	Standart hata	P değeri (Sig.)
A	B			
Zeytinyağı	Ayçiçek yağı	12,873	2,416	,000*
	Fındık yağı	3,984	2,416	,100
	Tween 80	20,079	2,416	,000*
Ayçiçek yağı	Zeytinyağı	-12,873	2,416	,000*
	Fındık yağı	-8,889	2,416	,000*
	Tween 80	7,206	2,416	,003*
Fındık yağı	Zeytinyağı	-3,984	2,416	,100
	Ayçiçek yağı	8,889	2,416	,000*
	Tween 80	16,095	2,416	,000*
Tween 80	Zeytinyağı	-20,079	2,416	,000*
	Ayçiçek yağı	-7,206	2,416	,003*
	Fındık yağı	-16,095	2,416	,000*

*Solüsyon içerikleri arasında, istatistiksel olarak farklı olanları gösterir ($p < 0,05$)

Spor solüsyonu hazırlanmasında kullanılan bitkisel yağlar ile Tween 80 arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0,05$) (Çizelge 4.3.). Öncül çalışma sonuçlarına göre hazırlanan solüsyonlardan zeytinyağ bazlılar ile fındık yağı bazlılar arasında istatistiksel olarak fark olmadığı ancak 7 günlük ortalama ölüm sayısına baktığımızda ise zeytinyağ bazlı solüsyon içeren deney setlerinde, fındık yağı içerenlerden daha fazla sayıda ortalama ölüm olduğu LSD testine göre tespit edilmiştir (Şekil 4.6.) Bu nedenle deneye zeytinyağ bazlı ve Tween 80 bazlı solüsyonlar ile devam edilmiştir.



Şekil 4.6. Spor solüsyonu hazırlanmasında kullanılan solüsyon içeriklerinin ortalama ölüm değerleri bakımından birbirleriyle karşılaştırılması

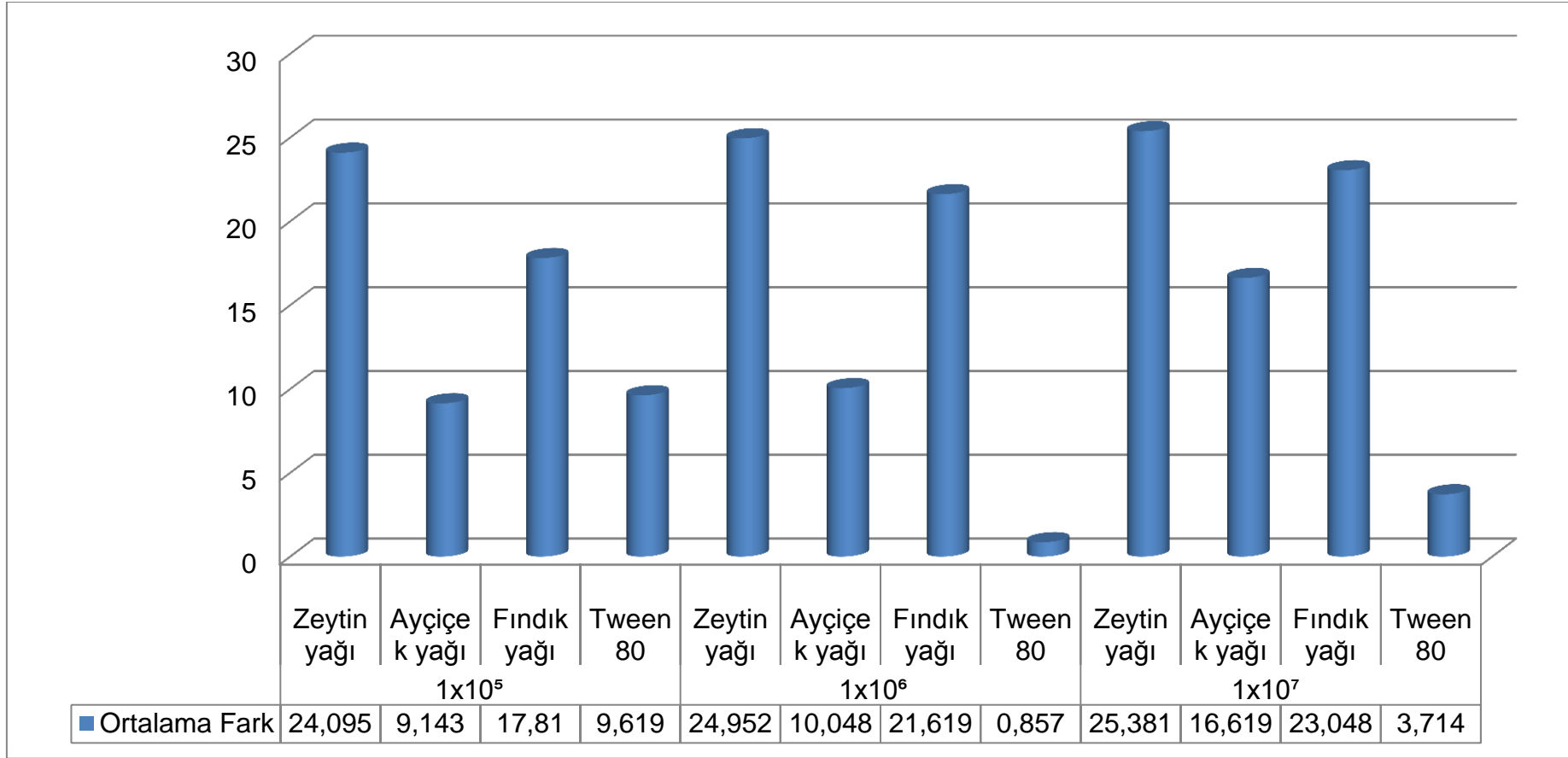
Hazırlanan farklı spor solüsyonları ile farklı spor konsantrasyonları arasındaki ilişki LSD testi kullanılarak karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Spor solüsyonu içeriğine ve spor solüsyonu konsantrasyonuna bağlı olarak ortalama ölüm sayılarının karşılaştırılması

Doz	Solüsyon İçeriği	Ortalama ölen larva sayısı	Standart hata	% 95 Güven Aralıkları
1x10 ⁵	Zeytinyağı	24,095	2,959	18,267-29,924
	Ayçiçek yağı	9,143	2,959	3,314-14,972
	Fındık yağı	17,810	2,959	11,981-23,638
	Tween 80	9,619	2,959	3,790-15,448
1x10 ⁶	Zeytinyağı	24,952	2,959	19,124-30,781
	Ayçiçek yağı	10,048	2,959	4,219-15,876
	Fındık yağı	21,619	2,959	15,790-27,448
	Tween 80	,857	2,959	-4,972-6,686

1x10 ⁷	Zeytinyağı	25,381	2,959	19,552-31,210
	Ayçiçek yağı	16,619	2,959	10,790-22,448
	Fındık yağı	23,048	2,959	17,219-28,876
	Tween 80	3,714	2,959	-2,114-9,543

Spor konsantrasyonları arasında fark olmadığı Çizelge 4.2.' de gösterilmiştir. Buna ek olarak konsantrasyon ve solüsyon içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren Çizelge 4.4.' e ve Şekil 4.7.' ye bakıldığında ortalama ölüm değerlerinde en yüksek ölüm 1x10⁷ konidiya/ml' de görülmüştür. Deneye 1x10⁷ konsantrasyonu ile Tween 80 ve zeytinyağ bazlı solüsyonlar hazırlanarak devam edilmiştir.



Şekil 4.7. Spor solüsyonu içeriğine ve spor solüsyonu konsantrasyonuna bağlı olarak ortalama ölüm sayılarının karşılaştırılması

Çizelge 4.5. Sivrisinek türlerinde denenen fungus izolatları ile kontrol grubu arasındaki ortalama ölüm değeri farkları

Sivrisinek Türü	Suşlar	Ortalamalar arası fark (Zeytinyağ-Kontrol)	P Değeri (Sig.)	Ortalamalar arası fark (Tween 80- Kontrol)	P değeri (Sig.)
<i>A. aegypti</i> **	Denizli (D-2)	38,238	,000*	25,381	,000*
	İzmit (İZ)	32,000	,000*	21,905	,000*
	Lüleburgaz (L-1)	37,524	,000*	21,619	,000*
	Aydın (Ay-3)	37,286	,000*	18,857	,000*
	Beytepe Vadi Altı(BY-V)	38,524	,000*	25,857	,000*
	İstanbul Çatalca (İÇ)	34,476	,000*	35,238	,000*
	Bolu (Bol)	45,619	,000*	38,905	,000*
	Trabzon (Trb)	37,810	,000*	37,333	,000*
	Beytepe Gölet (BY-G)	42,429	,000*	47,143	,000*
	Rize (RZ)	42,857	,000*	39,238	,000*

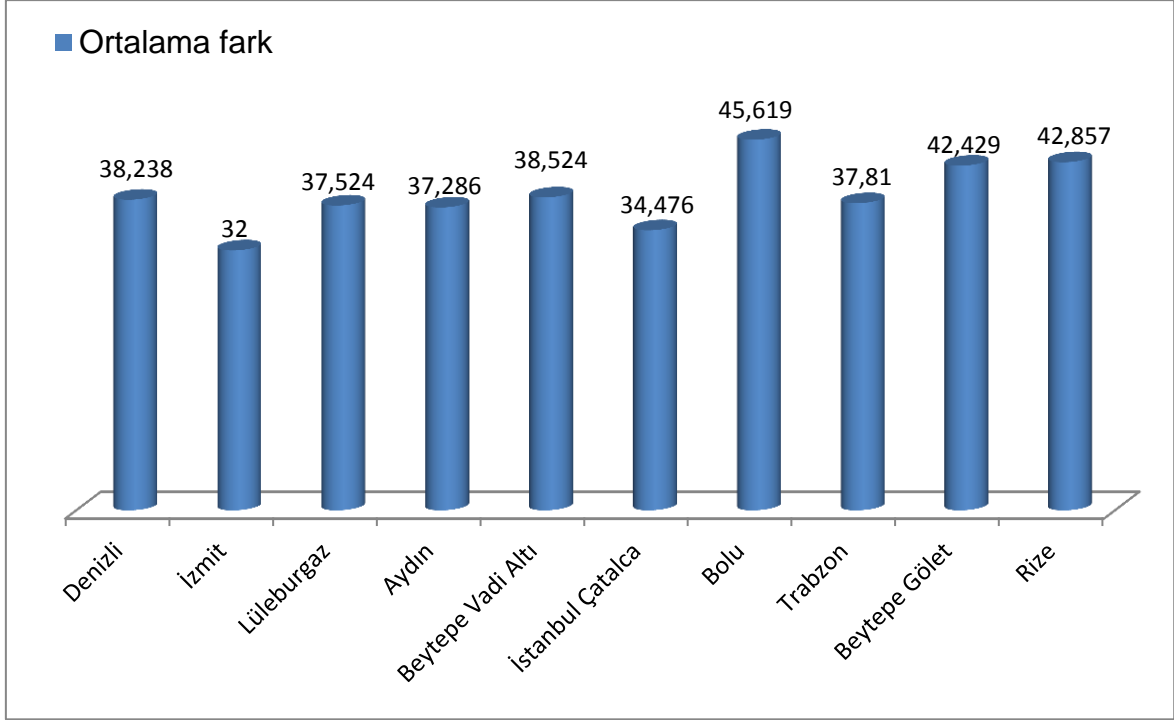
<i>C. quinquefasciatus</i> ***	Denizli (D-2)	23,190	,000*	22,524	,000*
	İzmit (İZ)	16,571	,000*	13,857	,000*
	Lüleburgaz (L-1)	15,286	,000*	14,472	,000*
	Aydın (Ay-3)	19,238	,000*	10,381	,000*
	Beytepe Vadi Altı (BY-V)	20,048	,000*	12,095	,000*
	İstanbul Çatalca (İÇ)	19,571	,000*	10,286	,000*
	Bolu (Bol)	23,238	,000*	22,381	,000*
	Trabzon (Trb)	22,333	,000*	22,524	,000*
	Beytepe Gölet (BY-G)	22,619	,000*	21,524	,000*
	Rize (RZ)	21,905	,000*	22,810	,000*

* İstatistiksel olarak farklılığı gösterir ($p < 0,05$).

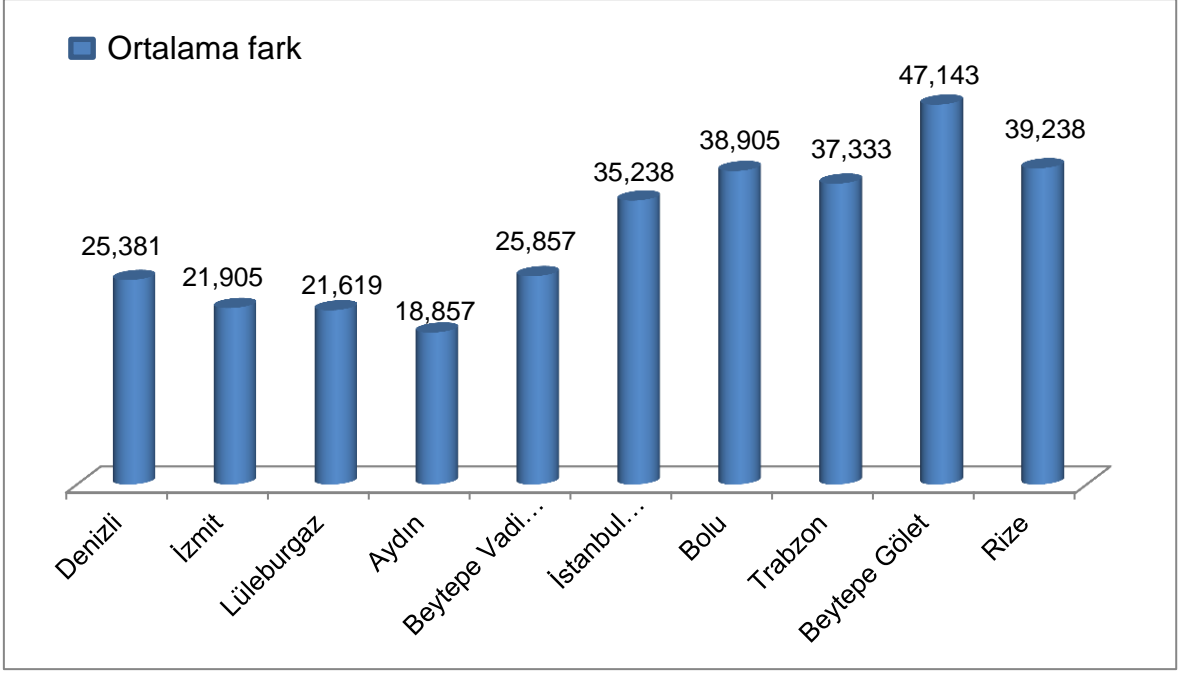
** *A. aegypti* larvaları 50 adettir.

*** *C. quinquefasciatus* larvaları 25 adettir.

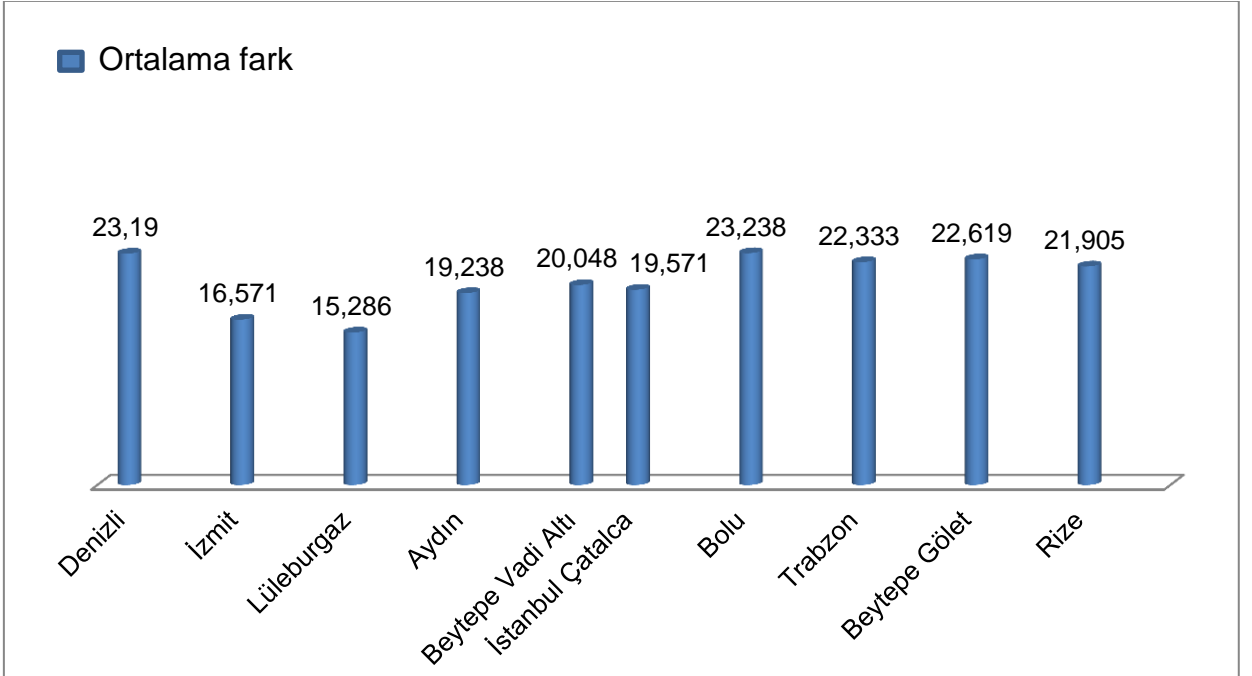
Toprak örneklerinden elde edilip sivrisinek larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatları (D-2, İZ, L-1, Ay-3, BY-V, İÇ, Bol, Trb, BY-G, RZ) ve bunların farklı spor solüsyonlarının hepsi (zeytinyağ bazlı ve Tween 80 bazlı) kontrol grubundan farklı olup, her iki larva türü üzerinde de ölüme neden olmuştur. İstatistiksel veriler bu durumu desteklemektedir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.5.) (Şekil 4.8., Şekil 4.9., Şekil 4.10., Şekil 4.11).



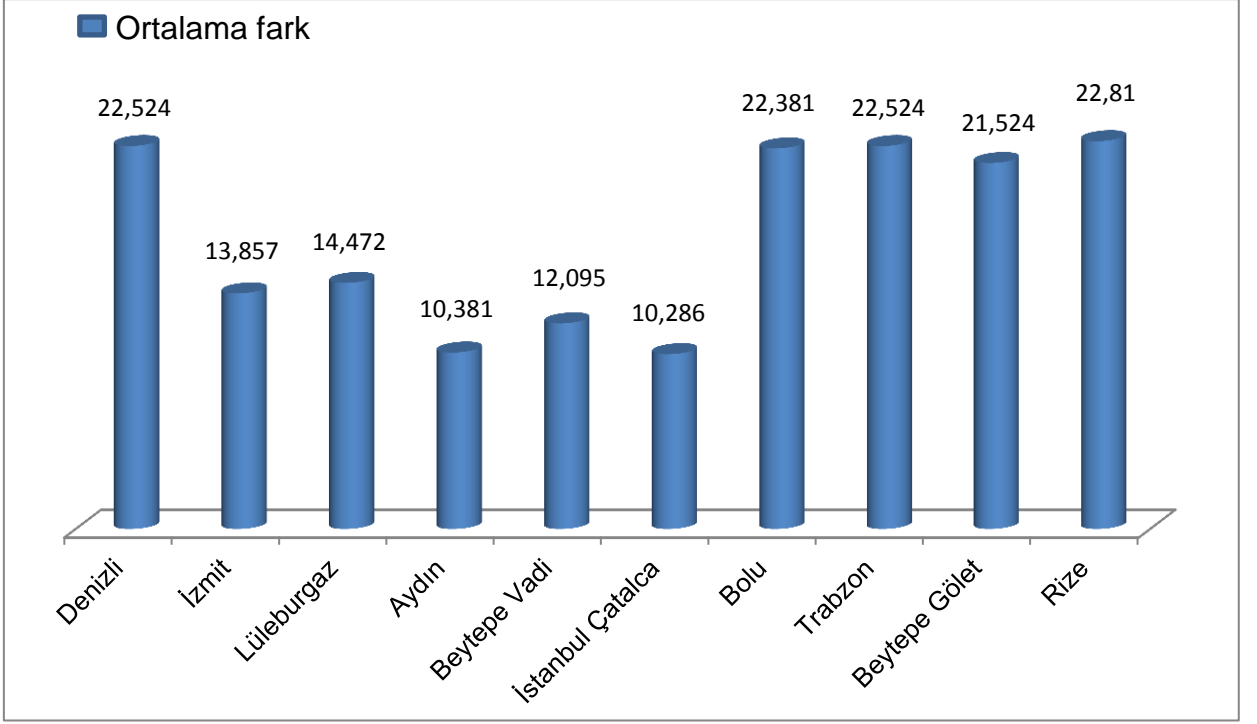
Şekil 4.8. *Aedes aegypti* larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları bakımından kontrolden farkları



Şekil 4.9. *Aedes aegypti* larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatlarının Tween 80 bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları bakımından kontrolden farkları



Şekil 4.10. *Culex quinquefasciatus* larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları bakımından kontrolden farkları



Şekil 4.11. *Culex quinquefasciatus* larvaları üzerinde denenen tüm fungus izolatlarının Tween 80 bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları bakımından kontrolden farkları

Toprak örneklerinden elde edilen fungus izolatlarından rastgele seçilmiş olan ve sivrisinek larvaları üzerinde denenen 10 suşun, spor solüsyonu içerikleri bakımından karşılaştırılması LSD testine göre yapılmıştır (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamalarında ortalama ölüm sayıları arasındaki fark

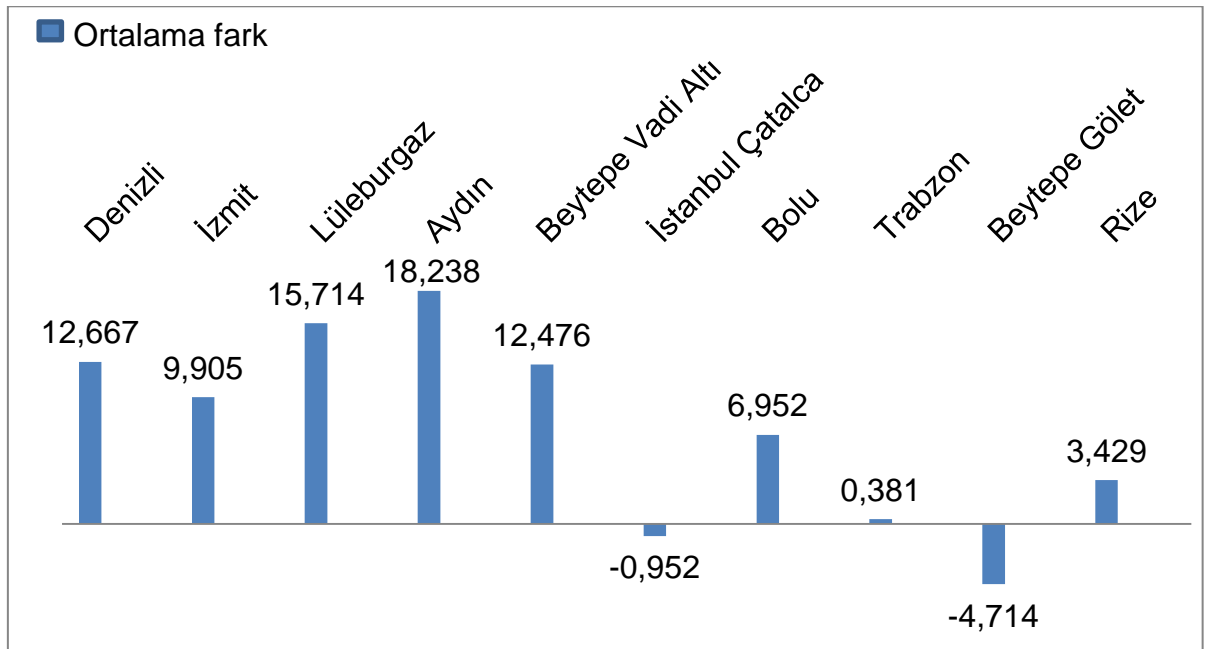
Sivrisinek Türü	Suşlar	Ortalamalar arası fark (Zeytinyağ-Tween 80)	Standart Hata	P Değeri(Sig.)
<i>A. aegypti</i>	Denizli (D-2)	12,667	6,228	,049*
	İzmit (İZ)	9,905	6,006	,107
	Lüleburgaz (L-1)	15,714	5,556	,007*
	Aydın (Ay-3)	18,238	5,712	,003*
	Beytepe Vadi Altı (BY-V)	12,476	5,999	,044*
	İstanbul Çatalca (İÇ)	-,952	5,639	,867
	Bolu (Bol)	6,952	3,928	,084
	Trabzon (Trb)	,381	5,181	,942
	Beytepe Gölet (BY-G)	-4,714	2,744	,093
	Rize (RZ)	3,429	4,235	,423

<i>C. quinquefasciatus</i>	Denizli (D-2)	,000	,514	1,000
	İzmit (İZ)	2,571	2,291	,268
	Lüleburgaz (L-1)	1.095	2,908	,708
	Aydın (Ay-3)	9,143	2,278	,000*
	Beytepe Vadi Altı (BY-V)	8,333	2,468	,002*
	İstanbul Çatalca (İÇ)	9,143	2,682	,001*
	Bolu (Bol)	,524	,370	,165
	Trabzon (Trb)	-,524	,594	,383
	Beytepe Gölet (BY-G)	,714	,693	,309
	Rize (RZ)	,190	,706	,789

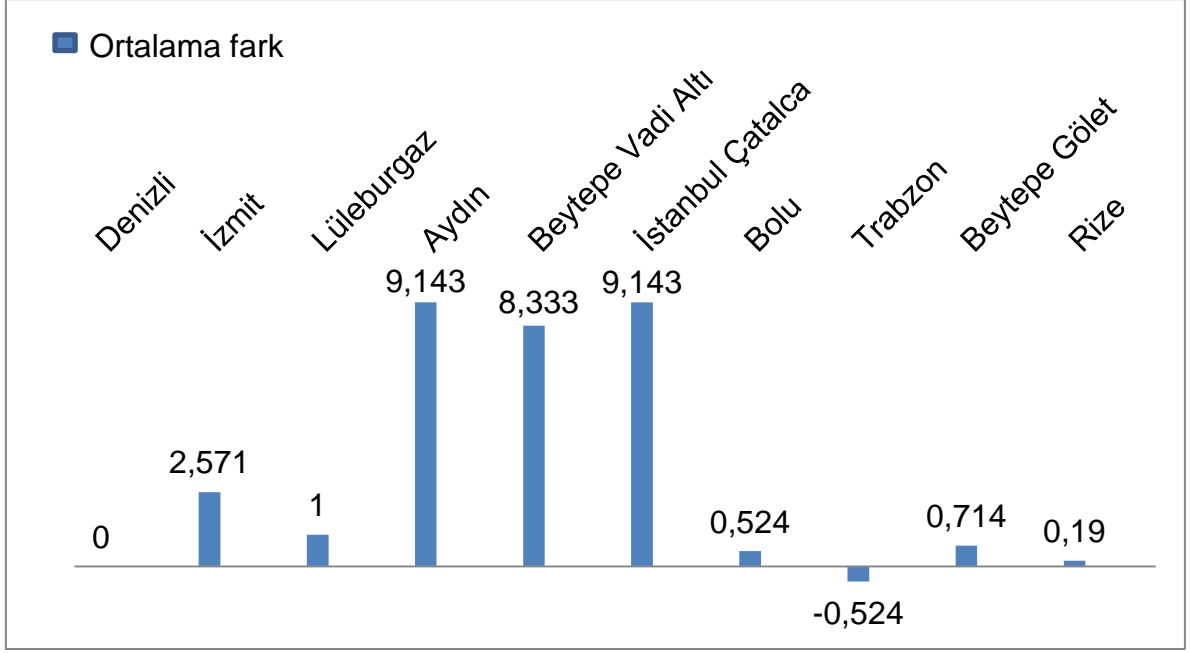
* İstatistiksel olarak farklılık gösteren suşlar ($p < 0,05$).

Aedes aegypti larvaları için denenen 10 suş içinde 4 tanesinin (D-2, L-1, Ay-3, BY-V) zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p<0,05$) (Çizelge 4.5.) (Şekil 4.12.). *C. quinquefasciatus* larvaları için denenen 10 suş içinde 3 tanesinin (Ay-3, BY-V, İÇ) zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p<0,05$) (Çizelge 4.5.) (Şekil 4.13.).

Çizelgede yer alan değerler, zeytinyağ bazlı uygulamanın ortalama ölüm sayılarından Tween 80 bazlı uygulamaların ortalama ölüm sayılarının çıkarılmasıyla elde edilmiştir. Çıkan negatif değerler, Tween 80 bazlı uygulamaların ortalama ölüm sayılarının zeytinyağ bazlı uygulamanın ortalama ölüm sayılarından daha yüksek olduğu değerleri ifade etmektedir.



Şekil 4.12. *Aedes aegypti* larvaları üzerinde denenen fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları arasındaki fark değerleri



Şekil 4.13. *Culex quinquefasciatus* larvaları üzerinde denenen fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamalarının ortalama ölüm sayıları arasındaki fark değerleri

Sivrisinek türlerine göre, spor solüsyonlarında içerik ayrımı olmadan en az enfektif suş ve en enfektif suş Duncan analizine göre incelenmiştir (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. Sivrisinek türlerine göre spor solüsyonlarında içerik ayrımı olmadan en az enfektif suş ve en enfektif suş

Sivrisinek Türü	Ortalama olarak en az sayıda ölüme neden olan suş	Ortalama olarak en çok sayıda ölüme neden olan suş
<i>A. aegypti</i>	Ay-3	BY-G
<i>C. quinquefasciatus</i>	Ay-3	Bol

Spor solüsyonların içerik farkı olmadan her iki sivrisinek türünü de ortalama olarak en az sayıda öldüren suş aynı çıkmış olup Ay-3 (Aydın) suşudur. *A. aegypti* için en yüksek ölüm ortalaması gösteren suş; By-G (Beytepe-Gölet)' tir. *C. quinquefasciatus* için ise en yüksek ölüm ortalaması gösteren suş; Bol (Bolu)' dur (Çizelge 4.7.).

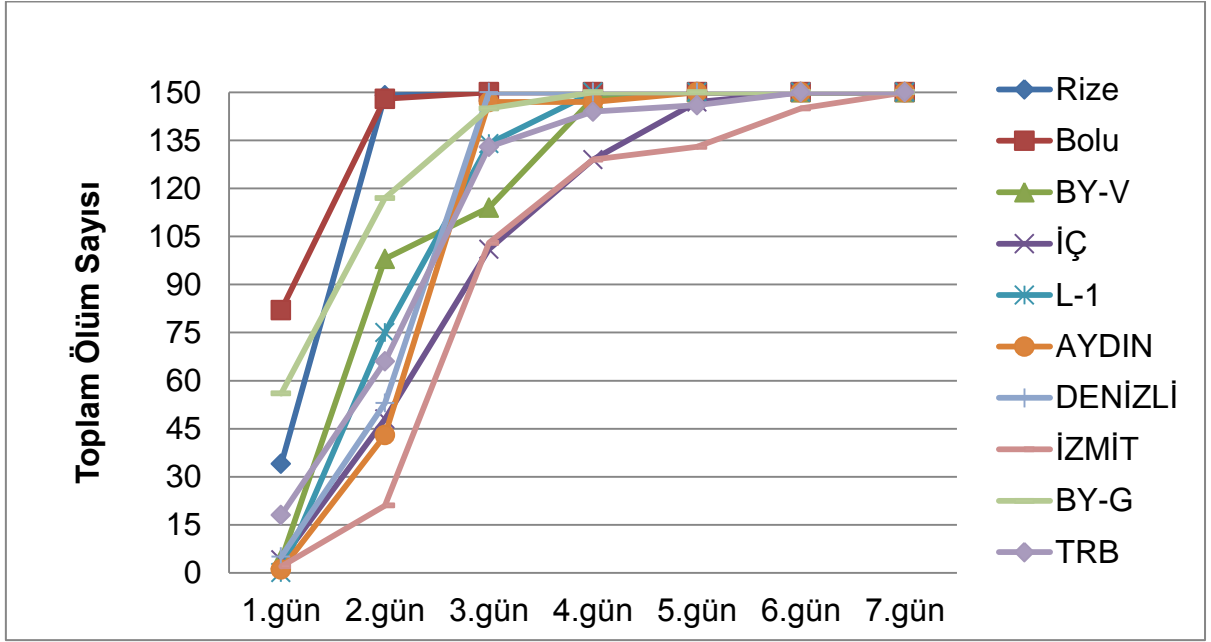
Sivrisinek türlerini, spor solüsyonu içeriklerine göre ayrı ayrı en az öldüren suş ve en çok öldüren suş Duncan analizine göre incelenmiştir (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Spor solüsyonu içeriklerine göre sivrisinek türlerini ayrı ayrı en az öldüren ve en çok öldüren suşlar

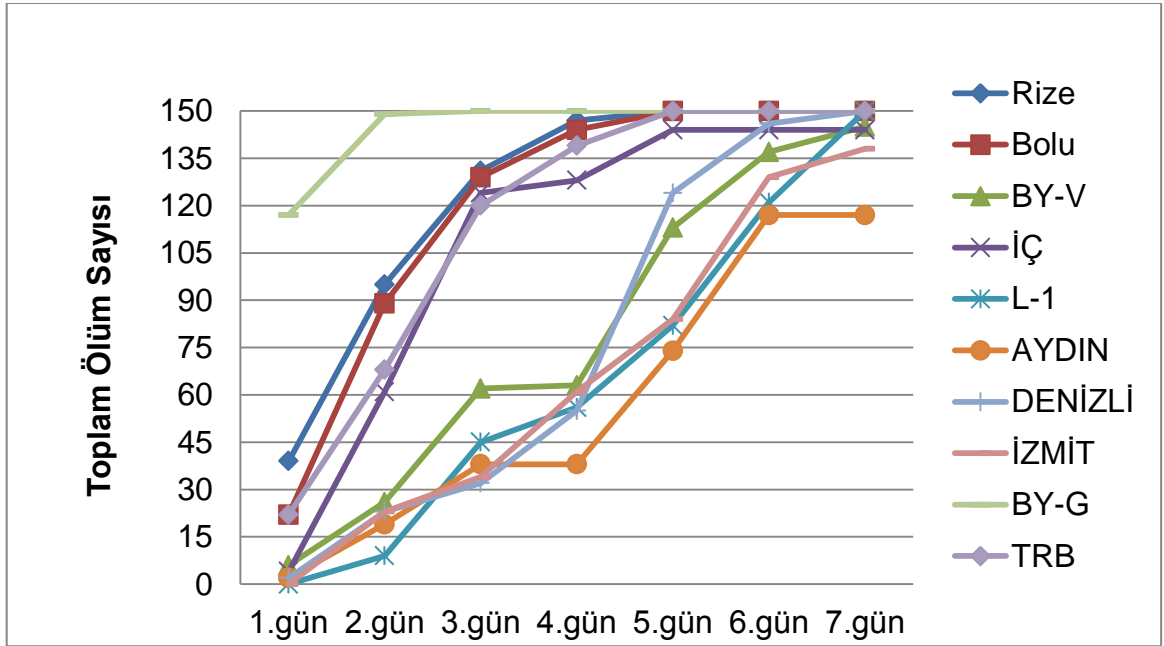
Sivrisinek türü	Zeytinyağ bazlı		Tween 80 bazlı	
	En az sayıda ölüm ortalaması gösteren suş	En çok sayıda ölüm ortalaması gösteren suş	En az sayıda ölüm ortalaması gösteren suş	En çok sayıda ölüm ortalaması gösteren suş
<i>A. aegypti</i>	İZ	Bol	Ay-3	BY-G
<i>C. quinquefasciatus</i>	L-1	Bol	Ay-3	Trb

Duncan analizine göre; zeytinyağ bazlı olup *A. aegypti* larvalarını ortalama olarak en az öldüren suş; İZ (İzmit), en çok öldüren suş; Bol (Bolu) suşudur. Tween 80 bazlı solüsyonlarda ise en az öldüren suş; Ay-3 (Aydın), en çok öldüren suş; BY-G (Beytepe-Gölet) suşudur. *C. quinquefasciatus* larvalarını zeytinyağ bazlı olup ortalama olarak en az öldüren suş; L-1 (Lüleburgaz), en çok öldüren suş; Bol (Bolu) suşudur. Tween 80 bazlı solüsyonlarda ise en az öldüren suş; Ay-3 (Aydın), en çok öldüren suş; Trb (Trabzon) suşudur (Çizelge 4.5., Çizelge 4.8.).

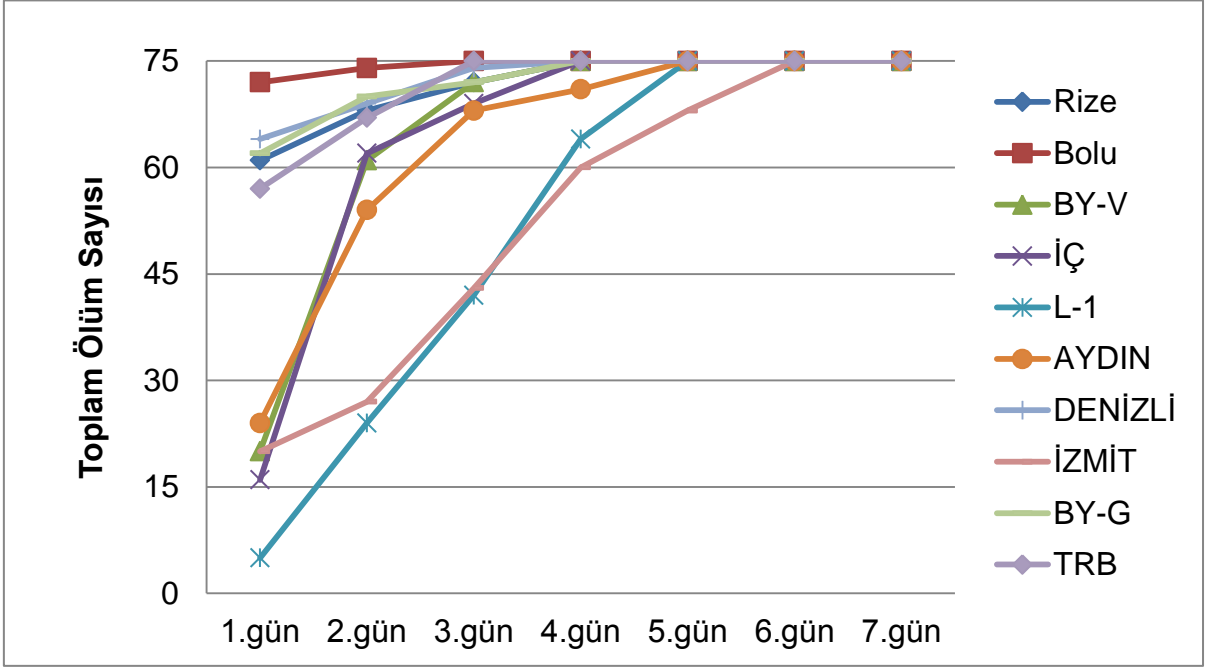
Aedes aegypti ve *C. quinquefasciatus* larvalarının spor solüsyonu içeriklerine ve günlere göre toplam ölüm sayıları ayrı ayrı verilmiştir (Şekil 4.14, Şekil 4.15., Şekil 4.16., Şekil 4.17.).



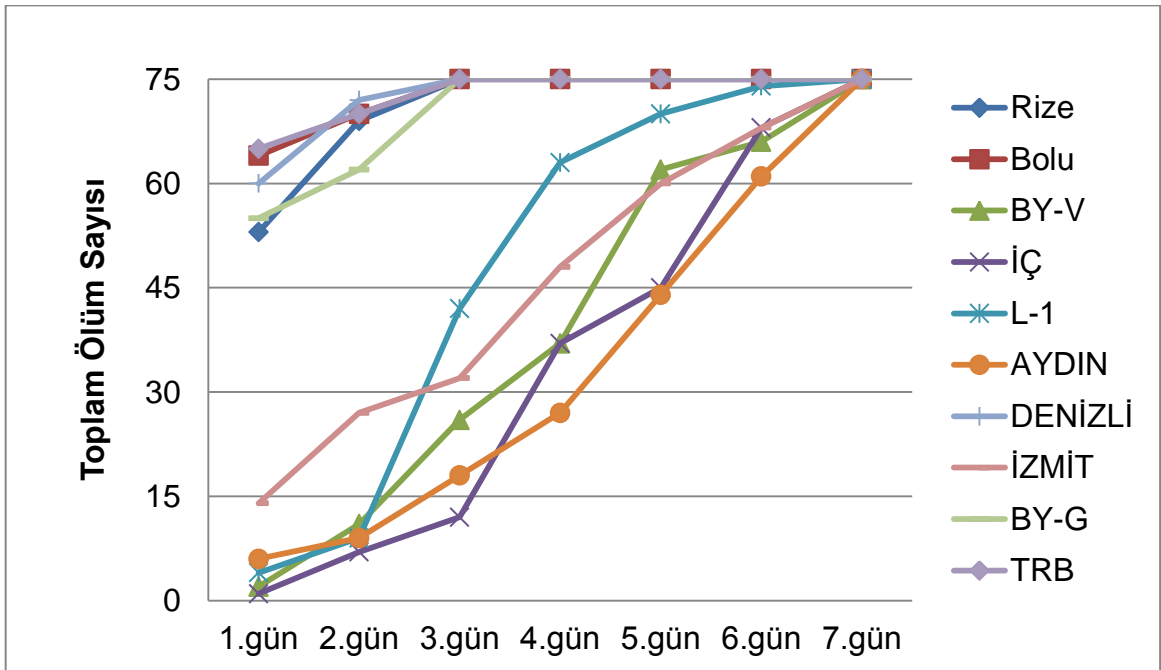
Şekil 4.14. *Aedes aegypti* larvaları için fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamalarında günlere göre toplam ölüm sayıları



Şekil 4.15. *Aedes aegypti* larvaları için fungus izolatlarının Tween 80 bazlı uygulamalarında günlere göre toplam ölüm sayıları



Şekil 4.16. *Culex quinquefasciatus* larvaları için fungus izolatlarının zeytinyağ bazlı uygulamalarında günlere göre ölüm sayıları



Şekil 4.17. *Culex quinquefasciatus* larvaları için fungus izolatlarının Tween 80 bazlı uygulamalarında günlere göre toplam ölüm sayıları

Sivrisineklerde tür ayrımı ve spor solüsyonlarında içerik ayrımı olmadan en az enfektif suş ve en enfektif suş, Duncan analizine göre belirlenmiştir (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Sivrisineklerde tür ayrımı ve spor solüsyonlarında içerik ayrımı olmadan en az enfektif suş ve en enfektif suş

Ortalama olarak en az sayıda ölüme neden olan suş	Ortalama olarak en çok sayıda ölüme neden olan suş
İZ	BY-G

Tür ayrımı olmadan en az enfektif suş; İZ (İzmit), en enfektif suş; BY-G (Beytepe-Gölet) suşudur (Çizelge 4.9.).

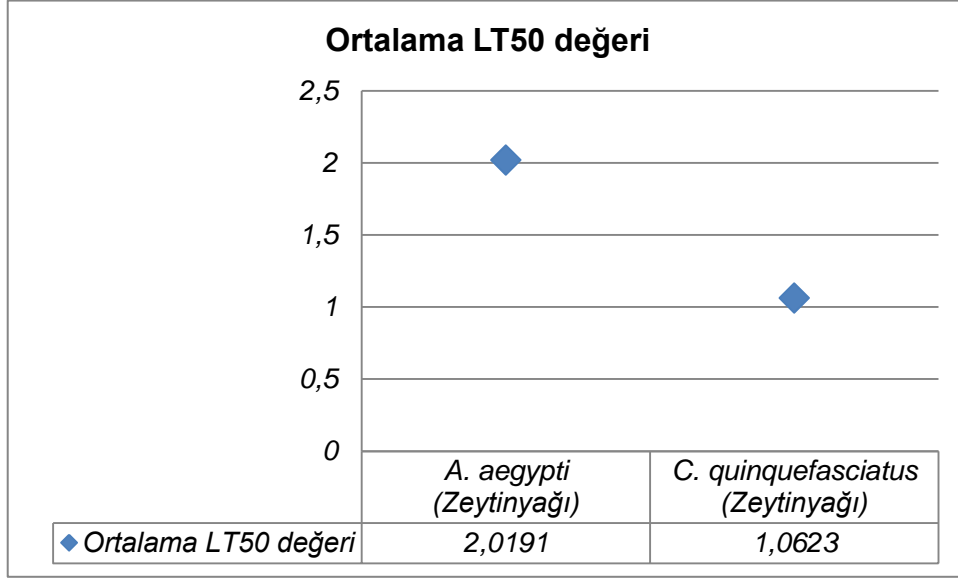
Spor solüsyonu içeriklerine göre ve spor solüsyonu içeriklerinden bağımsız olarak sivrisineklerin LT50 değerleri, EPA probit analiz programı kullanılarak hesaplanmıştır. Bu değerlerin, sivrisinek türlerine göre ortalamaları arasında fark olup olmadığı t testi ile incelenmiştir (Çizelge 4.10., Çizelge 4.11., Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.10. Zeytinyağ bazlı uygulamalarda sivrisinek türlerine göre LT50 değerlerinin karşılaştırılması

Levene testiyle varyansların homojenliği için P değeri (Sig.)	t Testi sonucu ortalamalar arasındaki eşitlik için P değeri (Sig.)	<i>A. aegypti</i> için Ortalama LT50 değeri	<i>C. quinquefasciatus</i> için Ortalama LT50 değeri
,532	,010*	2,0191	1,0623

* İstatistiksel olarak ortalamalar arasında fark olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$)

Zeytinyağ bazlı uygulamalarda, LT50 değerleri için ortalamalar arasında fark vardır ($p < 0,05$). Sivrisinek türlerinin ortalama LT50 değerlerine bakıldığında, *C. quinquefasciatus* larvaları, *A. aegypti* larvalarından daha kısa sürede ölmüştür (Çizelge 4.10.) (Şekil 4.18.).

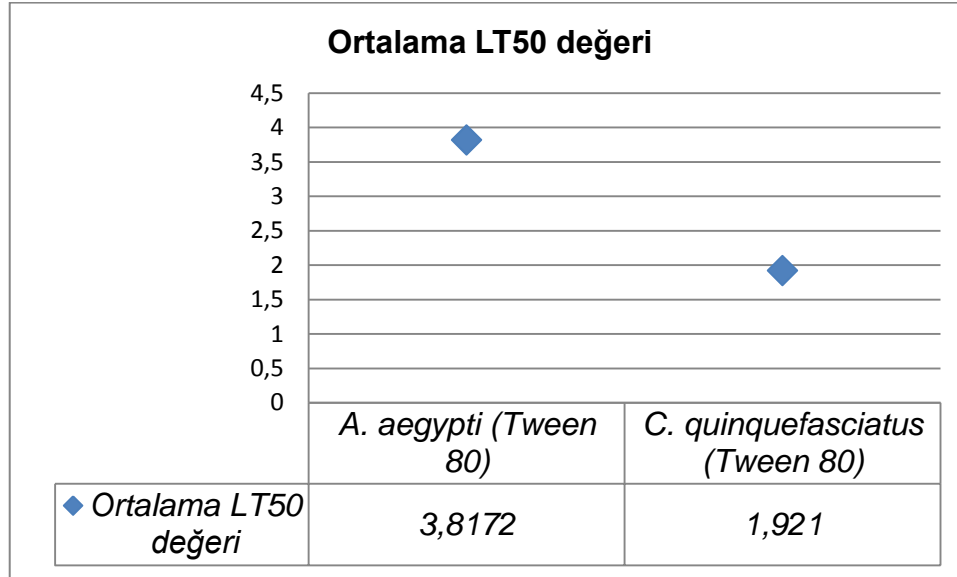


Şekil 4.18. Zeytinyağ bazlı uygulamalarda sivrisinek türlerine göre LT50 değerlerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.11. Tween 80 bazlı uygulamalarda sivrisinek türlerine göre LT50 değerlerinin karşılaştırılması

Levene testiyle varyansların homojenliği için P değeri (Sig.)	t Testi sonucu ortalamalar arasındaki eşitlik için P değeri (Sig.)	<i>A. aegypti</i> için Ortalama LT50 değeri	<i>C. quinquefasciatus</i> için Ortalama LT50 değeri
,438	,140	3,8172	1,9210

Tween 80 bazlı uygulamalarda LT50 değerleri için ortalamalar arasında fark yoktur ($p>0,05$). Tween 80 bazlı uygulamalar sonucunda ortalama LT50 değerleri farklı olmasına rağmen t testi sonucuna göre iki sivrisinek türü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (Çizelge 4.11.) (Şekil 4.19.).



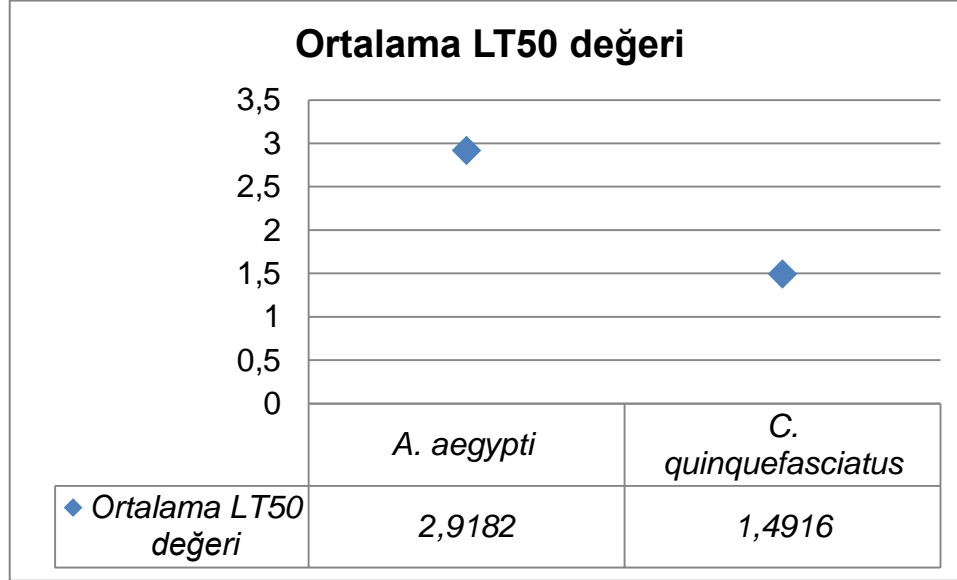
Şekil 4.19. Tween 80 bazlı uygulamalarda sivrisinek türlerine göre LT50 değerlerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.12. Sivrisinek türleri arasında spor solüsyonu içeriği farkı olmadan LT50 değerlerinin karşılaştırılması

Levene testiyle varyansların homojenliği için P değeri (Sig.)	t Testi sonucu ortalamalar arasındaki eşitlik için P değeri (Sig.)	<i>A. aegypti</i> için Ortalama LT50 değeri	<i>C. quinquefasciatus</i> için Ortalama LT50 değeri
,335	,037*	2,9182	1,4916

* İstatistiksel olarak ortalamalar arasında fark olduğunu göstermektedir ($p<0,05$)

LT50 değerleri için yapılan t testine göre ölüm süreleri arasında fark vardır ($p < 0,05$). Sivrisinek türlerinin ortalama LT50 değelerine bakıldığında, *C. quinquefasciatus* larvaları, *A. aegypti* larvalarından daha kısa sürede ölmüştür (izelge 4.12.) (Şekil 4.20.).



Şekil 4.20. Sivrisinek türleri arasında spor solüsyonlarında içerik farkı olmadan LT50 değerlerinin karşılaştırılması

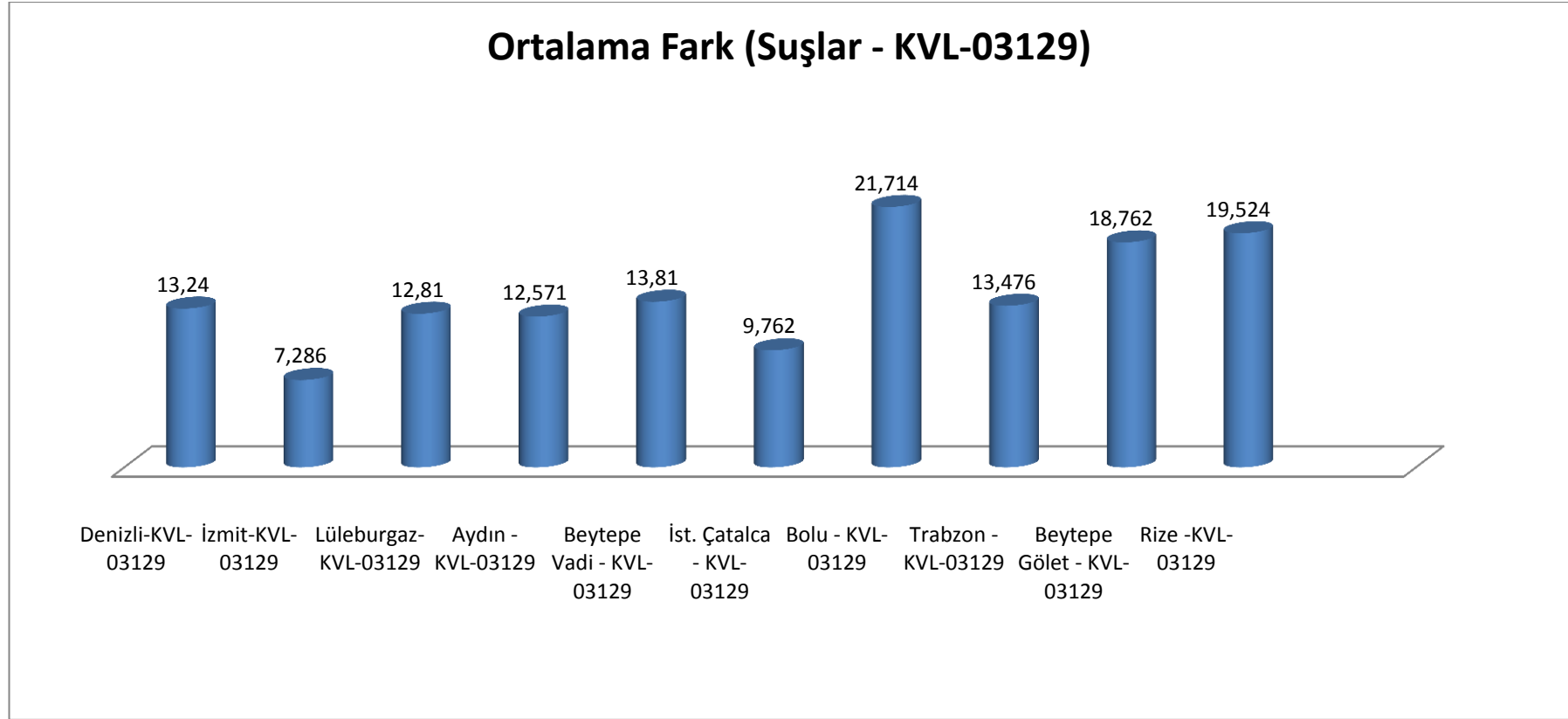
ncl alıŐmada, *B. bassiana*'nin standart suşu olan KVL-03129 *A. aegypti* larvaları üzerinde denenmiştir. Standart suş ile topraktan izole edilerek rastgele seçilip *A. aegypti* larvaları üzerinde deneneni diğer 10 suş arasında fark olup olmadığı LSD testi ile araştırılmıştır (izelge 4.13.). Bu ncl alıŐma *C. quinquefasciatus* türü için yeterli sayıda larva olmadığından yapılamamıştır.

Çizelge 4.13. *Aedes aegypti* larvalarına uygulanan fungus izolatları ile standart suşun karşılaştırılması

Suşlar		Ortalamalar Arası Fark (A-B)	Standart Hata	P Değeri(Sig.)
A	B			
KVL-03129	D-2	-13,5238	5,2220	,010*
	İZ	-7,2857	5,2220	,164
	L-1	-12,8095	5,2220	,015*
	Ay-3	-12,5714	5,2220	,017*
	BY-V	-13,8095	5,2220	,009*
	İÇ	-9,7619	5,2220	,063
	Bol	-21,7143	5,2220	,000*
	Trb	-13,4762	5,2220	,011*
	BY-G	-18,7619	5,2220	,000*
	RZ	-19,5238	5,2220	,000*

* İstatistiksel olarak ortalamalar açısından farklı olan suşları göstermektedir (p<0,05)

KVL-03129 suşu ile İZ (İzmit) ve İÇ (İstanbul Çatalca) suşları arasında ortalama ölüm sayıları açısından fark olmasına rağmen LSD testine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p>0,05) (Çizelge 4.11.) (Şekil 4.21.). Diğer denenen tüm suşlar, standart suştan farklılık göstermiştir (p<0,05) (Çizelge 4.11.) (Şekil 4.21.). Burada negatif sonuçların bulunmasının nedeni; standart suş uygulaması olan deney kaplarında ölen larva sayısının, diğer suşların uygulandığı deney kaplarında ölen larva sayısından ortalamalar bakımından daha az olmasıdır.



Şekil 4.21. *Aedes aegypti* larvalarına uygulanan tüm suşlar ile standart suşun karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında, 2013-2014 yılları arasında Türkiye' nin çeşitli illerinden 150 toprak örneği toplanmıştır. Alınan toprak örneklerinden entomopatojen fungus izolasyonları ve identifikasyonları yapılmış, bu fungus izolatlarının çeşitli hastalıkların vektörlüğünü yapan *Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti* larvaları üzerinde, mikrobiyal mücadele ajanı olarak kullanılma potansiyelleri araştırılmıştır.

Vektör kaynaklı hastalıklar, dünya üstündeki bütün hastalıkların neredeyse %17' sini oluşturmaktadır. Her yıl 1 milyondan fazla insan malarya, dang humması, sarı humma, filariyaz, Japon ensefaliti, Leishmaniasis, Chagas ve Afrika uyku hastalığı nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu hastalıkların dağılımını, çevresel ve sosyal faktörlerin karışık dinamizmi belirlemektedir. Son yıllarda atmosferdeki sera gazının artması; havanın ısınmasına, buzulların erimesine ve dolayısıyla deniz seviyesinin yükselmesine, fırtınalara ve kuraklıklara zemin hazırlamaktadır. Küresel ısınmayla birlikte iklim değişikliği, çarpık kentleşme, seyahat ve ticaret gibi çevre sorunları vektörlerin dağılımında ve hastalık bulaşımı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yapılan küresel iklim modellemeleri; bu tür sorunlar nedeniyle vektörlerin yayılış alanlarının genişleyeceğini öngörmektedir [19]. Bu duruma; dang humması, chikungunya ve Batı Nil Ateşi hastalık etkeni virüslerin daha önce görülmediği ülkelerde ortaya çıkıp hastalık bulaştırması örnek verilebilir [191]. Vektöriyel hastalıklardan korunmak için mutlaka vektörlerle mücadele edilmesi gerekmektedir. Sivrisinekler en iyi bilinen vektörlerdir. Tez kapsamında, taşıdıkları birçok hastalık etkenleri nedeniyle hedef canlı olarak Culicidae familyasına ait *Culex quinquefasciatus* ve *Aedes aegypti* tercih edilmiştir.

Toprak, entomopatojen funguslar için önemli bir yaşam yeridir ve birçok entomopatojen fungus, hem işlenmiş toprakta hem de doğal habitatlarda bulunabilir [88], [171], [192]. Entomopatojen fungusların izolasyonu, doğadan farklı yöntemlerle gerçekleştirilebilir. Bu çalışmada, toprak seyreltme yöntemi ile izolasyon gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar genellikle tuzak yöntemiyle, *Galleria mellonella* (Lepidoptera:Pyralidae) ya da *Tenebrio molitor* L.

(Coleoptera:Tenebrioidae) böceklerini kullanarak, entomopatojen fungus izolasyonu yapmaktadır. Ancak toprak seyreltme yöntemi ile izolasyon da mümkündür [193]. Nitekim Gayathri ve arkadaşlarının 2010 yılında, Schapovaloff ve arkadaşlarının da 2012 yılında bu yöntemle yapmış oldukları başarılı çalışmalar ve elde ettikleri veriler, toprak seyreltme yöntemiyle de entomopatojen fungus izolasyonunu destekler niteliktedir [194-195]. Tez kapsamında da bu yöntem kullanılarak, 150 toprak örneğinden 65 adet *B. bassiana* ve 6 adet *P. fumosoroseus* olmak üzere toplamda 71 adet entomopatojen fungus izole edilmiştir.

Toprak seyreltme ile yapılan izolasyon sonucunda *P. fumosoroseus*, *B. bassiana*' ya göre daha az sayıda izole edilmiştir. Bu durumun nedeni, *B. bassiana*' nın zararlıları daha hızlı enfekte etmesi, enfeksiyonun diğer zararlılara bulaşarak tekrarlanması ve fungusun bu şekilde topraktaki varlığını hiç kaybetmemesi örnek verilebilir [171]. Buna ek olarak toprakların toplandığı yerlerdeki iklim ve toprak özellikleri *P. fumosoroseus*' un gelişmesi için gerekli olan özellikleri taşıyamıyor olabilir. Dünya üstünde de entomopatojen funguslar farklı habitatlarda farklı zamanlarda farklı oranlarda bulunabilirler. Danimarka' da 2002 yılında yapılan bir çalışmada toprak örneklerinin %82' sinde *P. fumosoroseus* izole edilmiş iken, 2006 yılında Danimarka' da yapılan başka bir çalışmada ise yaygın olarak *B. bassiana* izole edilmiştir. Sevim ve arkadaşlarının 2010 yılında Karadeniz bölgesi' nde yapmış oldukları çalışmada ise *M. anispoliae*' yi yüksek oranda izole ederken, bu çalışmada *M. anispoliae* bulunamamış, yüksek oranda *B. bassiana* ve daha az oranda da *P. fumosoroseus* izole edilmiştir. Buradan anlaşılacağı üzere habitat farklılığı, örneklerin toplandığı yer ve örnek toplama zamanı entomopatojen fungus izolasyonunda çeşitlilik oluşturmaktadır [85], [88], [196].

Tez kapsamında, *G. mellonella* tuzak yöntemi kullanılarak 2002 yılında izole edilmiş ve ARS (Advanced Recovery Systems) entomopatojenik fungus koleksiyonuna kaydı yapılmış *B. bassiana*' nın standart suşu olan KVL-03129 (ARSEF 8032) kullanılmıştır. Biyolojik mücadele çalışmalarında hedef zararlı ile aynı orjinli mücadele ajanı kullanmak yaygın olmakla birlikte hedef zararlının doğal alanından gelmemiş mücadele ajanları ile de başarılı çalışmalar yapılmıştır [88], [197]. Kontrol ajanı başka bölgelerden getirilecekse, getirileceği alana uyum

sağlama şansının yüksek olması gerekmektedir. Herhangi bir yerde başarılı olan bir ajan, başka yerde iyi bir sonuç vermeyebilir [7]. Ayrıca çevre güvenliği ve ekosistem dengesi göz önüne alındığında mikrobiyal kontrol programlarında, entomopatojen fungusların doğal suşlarının kullanılmasının daha uygun olduğu bilinmektedir [198]. Bununla birlikte, yerel izolatlar yabancı izolatlarla karşılaştırıldıklarında, zararlı böcekler ile ekolojik uygunluğa sahip olmaları nedeniyle, hedef dışı organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri de önemli derecede azdır [199-200]. Bu çalışmada da zararlılara karşı Türkiye topraklarından izole edilen suşların daha başarılı olacağı düşünülerek toplamda 10 farklı *B. bassiana* ve *P.fumosoroseus* suşu kullanılmıştır.

Yapılan öncül çalışmada, *A. aegypti* larvaları üzerinde *B. bassiana*'nın standart suşunun (KVL-03129) 4 farklı spor solüsyonu (Tween 80, zeytinyağı, fındık yağı ve ayçiçek yağı) ile 3 farklı konsantrasyonu (1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 konidiya/ml) denenmiştir. Deney setleri 250 ml distile su ve 2,5 ml spor solüsyonu ile oluşturulmuştur. 250 ml distile suya spor solüsyonlarını eklemenin sonucunda 1 ml' deki spor sayısı 1/100 oranında seyrelmiştir. 1×10^7 konidiya/ml' deki solüsyon, 1×10^5 konidiya/ml' ye düşmüş; 1×10^6 konidiya/ml' deki solüsyon, 1×10^4 konidiya/ml' ye düşmüş ve 1×10^5 konidiya/ml' deki solüsyon, 1×10^3 konidiya/ml' ye düşmüştür. Bu tür deneylerde hedef canlının üzerinde farklı konsantrasyonların denenmesindeki amaç virulansta oluşabilecek küçük değişiklikleri gözlemleyebilmektir [192], [197], [201-203]. Elde edilen veriler ve istatistik çalışmaları sonucunda, denen tüm konsantrasyonlar, 1/100 oranında seyrelmesine rağmen larvaların ölmesine neden olmuştur. Konsantrasyonların kendi arasında karşılaştırılması sonucunda ise, ortalama ölüm sayıları bakımından fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Bu nedenle çalışmalara, ölüm ortalamaları göz önüne alınarak, kontrol grubuyla arasındaki fark en çok olan ve en yüksek sayıda ölüm ortalamasına sahip olan 1×10^7 konidiya/ml ile devam edilmiştir (Çizelge 4.2) (Şekil 4.5.). Daha önce yapılmış bir çalışmada; *B. bassiana*'nın 3 farklı suşunun 1×10^7 konidiya/ml konsantrasyonu lahana güvesi *Mamestra brassicae* (Lepidoptera:Noctuidae) üzerinde denenmiş ve bu konsantrasyon kontrol grubuyla karşılaştırdığında yüksek oranda başarılı bulunmuştur [192]. Başka bir çalışmada da Trudel ve arkadaşları (2007), 6 farklı *B. bassiana* suşunun 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ,

1x10⁹ ve 1x10¹⁰ konidiya/ml konsantrasyonları beyaz çam kurdu *Pissodes strobi* (Coleoptera:Curculionidae) türünde denemişler ve kontrol grubuna göre başarılı mortalite elde etmişlerdir [204]. Bizim bulgularımız da bu araştırmacılarla paralellik göstermektedir.

Spor solüsyonlarına bakıldığında, zeytinyağı ile ayçiçek ve Tween 80 ile hazırlanan solüsyonlar arasında enfektivite açısından farklılık olduğu ve zeytinyağ bazlı solüsyonların daha enfektif olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.3.) (Şekil 4.6.). Zeytinyağı ile formülasyonu yapılan sporların, fındık yağı ile hazırlanan solüsyonla arasında ortalama ölüm sayıları açısından fark olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.3.). Ancak hem daha fazla sayıda ortalama ölüm sayısına sahip olması, hem de ekonomik olması nedeniyle çalışmalara zeytinyağı ile devam edilmiştir. Çalışma kapsamında, solüsyon içerikleriyle konsantrasyon arasındaki ilişki de incelenmiştir (Çizelge 4.4.) (Şekil 4.7.). Buradan elde edilen verilere göre daha fazla sayıda ölüm ortalamasına sahip olan 1x10⁷ konidiya/ml ile devam edilmiştir (Çizelge 4.4.) (Şekil 4.7.). Bu öncül çalışma temel alınarak; *B. bassiana* ve *P. fumosoroseus*' a ait suşlar rastgele seçilmiş ve yapılan deneyde bu suşların spor solüsyonlarının 1x10⁷ konidiya/ml konsantrasyonu ile Tween 80 ve zeytinyağ bazlı spor solüsyonları hazırlanmıştır. Tween 80 seçilmesindeki amaç; yağ bazlı uygulamalarla karşılaştırma yapmak içindir. Bu solüsyonların, *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* larvalarının yaşam süreleri üzerinde bir etkisinin olup olmadığını ve enfeksiyona uğratılmamış larvaların, spor solüsyonlarıyla muamele edilmiş olanlara göre sağlıklı olduğunu göstermek için kontrol grupları oluşturulmuştur.

Çalışmada yağ bazlı spor solüsyonu hazırlanmasındaki asıl amaç; sporları su yüzeyinde tutmaktır. Fungus sporları hidrofobik özellik gösterir ve polar yüzeylere zayıf bir şekilde bağlanır. Su polar bir moleküldür ve hidrofobik özellikteki sporlar suyla direkt temas ettiklerinde kümeleşip çöker. Bu nedenle bitkisel ya da sentetik yağlarla spor solüsyonlarının uygulanması, çökmeyi azaltmaktadır. Sporların yağ bazlı uygulanması özellikle düşük nemin olduğu ortamlarda böcek kütükülü üzerindeki nemi korumaya yarar. Böylece sporların gelişimi için gerekli nem sağlanmış olur. Bu uygulama aynı zamanda sporların hayatta kalma süresini uzatır ve zararlı üzerine yapışmayı artırır [205]. Yağ bazlı uygulamalar, yüksek sıcaklıklarda UV' ye karşı spor canlılığını korumaya yardımcı olur [206-207].

Ayrıca böceğin enfekte olması aşamasında kütikül yapısına etki eder ve daha kolay penetrasyona neden olur [208-209]. Birçok araştırmacı da yaptıkları çalışmalarda sentetik ya da bitkisel yağları kullanarak yağ bazlı solüsyonlar uygulamıştır. Inglis'in 1997 yılında çekirgeler üzerinde yapmış olduğu çalışmada, yağ bazlı *B. bassiana* konidialarının UV-B radyasyonuna, su bazlı konidialardan daha uzun süre dayandığını, buna ek olarak yağ formülasyonlu konidiaların daha yüksek sıcaklığa ve ışığa dayandığını gözlemlemiştir [210]. 2002 yılında Batta, *M. anisopliae* sporlarını, hindistan cevizi ve soya fasulyesi yağlarının karışımıyla beyaz sinekler (Hemiptera:Aleyrodidae) üzerinde uygulamıştır [211]. 2006 yılında yapılan bir başka çalışmada süne böceği *Eurygaster integriceps*' e (Hemiptera:Scutelleridae) karşı *B. bassiana*' nın yağ bazlı solüsyonu uygulanmıştır. Çalışmada sporların böcek kütikülüne daha iyi yapıştığı görülmüştür [212]. Bukhari 2011 yılında anofel larvalarıyla yaptığı çalışmada *B. bassiana* ve *M. anisopliae* sporlarını yağ bazlı (sentetik ve bitkisel) ve Tween 80 bazlı olarak uygulamış ve yağ bazlı sporların daha etkili olduğunu bulmuştur [188]. Kirubakaran'ın 2014 yılında yapmış olduğu bir çalışmada da pirinç güvesine *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera:Pyralidae), *B. bassiana* ve *M. anisopliae* sporlarını kanola yağı kullanarak uygulamış ve etkili sonuçlar elde etmiştir. Bu çalışma örnekleri yapılan bu tez çalışmasıyla paralellik göstermektedir [213].

Rastgele seçilen 10 izolatin 1' er (1×10^7 konidiya/ml) ve standart suşun 3' er (1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidiya/ml) konsantrasyonu ve spor solüsyonları, *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* larvaları üzerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek oranda ölüme neden olmuştur (Çizelge 4.5.) (Şekil 4.8., Şekil 4.9., Şekil 4.10., Şekil 4.11.). Farklı konsantrasyonların, kontrol grubuna göre farklı etkiler gösterebildiği, ayrıca konsantrasyonlar ve ölüm oranları arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu, Klingen, Trudel ve Veys' in ayrı ayrı yapmış oldukları çalışmalarda da bulunmuştur [192], [204], [214].

Seçilen suşların farklı solüsyon içeriklerine göre, aralarındaki ortalama ölüm sayılarına bakıldığında ise, *A. aegypti* larvaları için D-2 (Denizli), L-1 (Lüleburgaz), Ay-3 (Aydın) ve BY-V (Beytepe Vadi Altı) suşlarının, zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu

($p < 0,05$) görülmüş, bu suşların zeytinyağ bazlı uygulamalarının larvaları daha çok öldürdüğü tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.) (Şekil 4.12.). *C. quinquefasciatus* larvaları için ise, Ay-3 (Aydın), BY-V (Beytepe Vadi Altı) ve İÇ (İstanbul Çatalca) suşlarının zeytinyağ bazlı uygulamaları ile Tween 80 bazlı uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p < 0,05$) ve bu suşların zeytinyağ bazlı uygulamalarının larvaları daha çok öldürdüğü tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.) (Şekil 4.13.). Zeytinyağ ile birlikte uygulanan sporlar su yüzeyinde daha fazla kalmaktadır ve bundan dolayı larvaların sporlarla temas etme olasılığı yüksektir. Zeytinyağ bazlı uygulamaların Tween 80 bazlı uygulamalardan daha fazla sayıda larva ölümüne neden olması bu yüzden olabilir. Ayrıca günlere göre de spor solüsyonu içeriklerini karşılaştıracak olursak; zeytinyağ bazlı uygulamalar 2-3. günlerde yüksek oranda larva ölümüne neden olurken; Tween 80 bazlı uygulamalarda ölümler 3-4. günlerden sonra artmaya başlamıştır (Şekil 4.14., Şekil 4.15., Şekil 4.16., Şekil 4.17.).

Spor solüsyon içeriği farkı olmadan her iki sivrisinek türünü de ortalama olarak en az sayıda öldüren suş aynı çıkmış olup, Ay-3 (Aydın) suşudur (Çizelge 4.7.). Bu suş ekili alandan toplanan topraktan izole edilmiştir (Çizelge 4.1.). Bu suşun daha az enfektif çıkmasının nedeni; ekili alanlarda çeşitli kimyasal pestisitlerin kullanılmasına bağlı olarak toprakta kalıntı bırakması ve bu kalıntıların fungusa etki ederek enfektivitesini olumsuz yönde etkilemesi olabilir. Ayrıca coğrafik ve iklimsel farklılıklar da fungusun patojenitesini etkilemiş olabilir [79], [85], [125].

Spor solüsyon içeriği farkı olmadan, *A. aegypti* için en yüksek ölüm ortalaması gösteren suş; By-G (Beytepe-Gölet)' tir. *C. quinquefasciatus* için ise en yüksek ölüm ortalaması gösteren suş; Bol (Bolu)' dur (Çizelge 4.7.). Bu iki entomopatojen fungusta tür olarak *B. bassiana*' dır. Örneklerin alındığı yerler sırasıyla ağaçlık ve ormanlık alanlardır. Bu suşların spor solüsyon içeriği farkı olmadan en yüksek patojeniteyi göstermelerinin nedeni; toprak örneklerinin alındığı yerdeki toprağın yapısı ve o yerin iklimsel özellikleri olabilir [79], [85], [125].

Spor solüsyon içeriklerine göre zeytinyağ bazlı olup *A. aegypti* larvalarını ortalama olarak en çok öldüren; Bol (Bolu) suşudur. Tween 80 bazlı solüsyonlarda ise BY-G (Beytepe-Gölet) suşudur. *C. quinquefasciatus* larvalarını zeytinyağ bazlı olup

ortalama olarak en çok öldüren Bol (Bolu) suşudur. Tween 80 bazlı solüsyonlarda ise RZ (Rize) suşunda ortalama olarak en çok ölüm görülmüştür (Çizelge 4.5., Çizelge 4.8.) (Şekil 4.8., Şekil 4.9., Şekil 4.10., Şekil 4.11.). Bu 3 suşun (Bol (Bolu), BY-G (Beytepe-Gölet) ve RZ (Rize)) ortak özelliği ağaçlık ve ormanlık alandan elden edilmiş olmasıdır. İzolatların elde edildiği topraklar, iklimsel özellikleri bakımından benzerlik göstermektedir. Bol yağış alır ve nem oranı yüksektir. Bu izolatlar, diğer izolatlardan toprağın alındığı yerin iklimsel özellikleri bakımından ve coğrafik özellikler bakımından farklılık gösteriyor olabilir.

Sivrisineklerde tür ayrımı olmadan en az enfektif izolat; İZ (İzmit) çıkmıştır. Her iki sivrisinek türü için de en yüksek ölüm ortalaması gösteren suş; BY-G (Beytepe-Gölet) suşudur (Çizelge 4.9.). Suşlar arasında görülen enfektivite farklılıklarına; örneğin toplandığı coğrafik koşulların, iklim özelliklerinin, sıcaklık değişimlerinin ve ekosistem dinamiklerinin neden olabileceği söylenebilir. Ayrıca çevresel etmenlerden dolayı genetik ve fenotipik farklılıklar görülebilir. Bu farklılıklar da tür üretkenliği ve patojenite gibi özellikleri etkileyebilir [215-216]. Bidochka ve arkadaşları 2002 yılında Kanada'dan izole ettikleri *B. bassiana* izolatlarında, habitat tipi ve çeşitli sıcaklık değişimlerine bağlı olarak farklı gruplar tespit etmişlerdir [217]. Sevim ve arkadaşları ise 2010 yılında yaptıkları çalışmada elde ettikleri izolatları; AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism = Çoğaltılmış Parçacık Uzunluğu Poliformizmi) analizi başta olmak üzere, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA = Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism = Restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi), ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat Polymerase Chain Reaction = Basit tekrarlı diziler arası polimeraz zincir reaksiyonu), izoenzim analizi ve DNA dizi analizi gibi tekniklerle olası çeşitlilikleri göstermişlerdir [218-222]. Bu örnekler, yapılan tez çalışmasıyla paralellik göstermektedir. Bu çalışmada da çeşitliliğin coğrafik lokalite ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yapılan bu çalışmada, entomopatojen fungusların farklı suşlarının varlığı, farklı toprak örneklerinde olabileceği ve lokalitelere göre farklılık gösterebileceği ortaya konulmuştur.

Zeytinyağ bazlı uygulamalarda, *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* larvalarının LT50 değerlerine bakıldığında *C. quinquefasciatus* larvalarının ortalama 1,0623 günde, *A. aegypti* larvalarının ise, 2,0191 günde öldüğü tespit edilmiş (Çizelge 4.10.) (Şekil 4.18.) ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak t testine göre anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Çizelge 4.10.). Bu sonuçlardan, zeytinyağ bazlı uygulamalarda, *C. quinquefasciatus* larvalarının *A. aegypti* larvalarından daha çabuk öldüğü söylenebilir.

Tween 80 bazlı uygulamalarda, *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* larvalarının LT50 değerlerine bakıldığında *C. quinquefasciatus* larvalarının ortalama 1,9120 günde, *A. aegypti* larvalarının ise, 3,8172 günde öldüğü tespit edilmiştir. Ortalama LT50 değerleri farklı olmasına rağmen t testi sonucuna göre iki sivrisinek türü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur (Çizelge 4.11.) (Şekil 4.19.). Buradan Tween 80 bazlı uygulamaların sivrisinek türleri üzerinde LT50 değerleri açısından fark olmadığı, her iki tür için de yaklaşık aynı zamanlarda öldüğü yorumu yapılabilir.

Spor solüsyonlarında içerik farkı olmadan LT50 değerlerine bakıldığında, *C. quinquefasciatus* larvaları 1,4916 günde, *A. aegypti* larvaları ise 2,9182 günde ölmüştür. Her iki solüsyon tipi (zeytinyağ bazlı ve Tween 80 bazlı) için *C. quinquefasciatus*, *A. aegypti* larvalarından daha kısa sürede ölmüştür ve fungus sporlarına karşı daha hassastır diyebiliriz (Çizelge 4.12.) (Şekil 4.20.). Sonuç olarak dış ortam şartları her iki sivrisinek türü için de eşit olarak hazırlanmıştır. *C. quinquefasciatus* larvalarının daha erken sürede ölmesinin nedeni sivrisineğin genetik ve ekolojik özellikleri olabilir.

Öncül çalışmada standart suşun 3 farklı konsantrasyonu (1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidiya/ml) ve 4 farklı solüsyon tipi (zeytinyağı, fındık yağı, ayçiçek yağı ve Tween 80) *A. aegypti* larvaları üzerinde denenmiştir. *C. quinquefasciatus* larvaları üzerinde böyle bir öncül çalışma yapılamamıştır. Bunun nedeni yeterli sayıda *C. quinquefasciatus* larvasının olmamasıdır. Standart suşun, topraktan izole edilen ve rastgele seçilip denenilen suşlar ile arasındaki ilişkiye bakıldığında; İZ (İzmit) ve İÇ (İstanbul Çatalca) suşları ortalama ölüm sayıları bakımından standart suş ile farklı değerlere sahip olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa sahip değildir ($p > 0,05$) (Çizelge 4.13.). Ancak denenilen diğer suşlar, standart

suştan istatistiksel olarak farklılık göstermiştir ve ortalama olarak daha fazla larva ölümüne neden olmuştur ($p < 0,05$) (Çizelge 4.13.). Standart suşun, elde edilen suşlara göre daha az enfektif çıkmasının nedenleri; su ortamına uygulanan standart suşun ortama uyum sağlayamamış olması, elde edildiği coğrafyanın (Danimarka) farklı özelliklere sahip olması ve denenen canlılarla ekolojik uygunluk gösterememiş olması örnek verilebilir. Sonuçta, biyolojik mücadelede kullanılan izolatların, yerli izolatlar olması önem taşımaktadır.

Sonuçta denenen *B. bassiana* ve *P. fumosoroseus* suşlarının ve standart suşun *C. quinquefasciatus* ve *A. aegypti* larvaları üzerinde başarılı mortalite sağladığı gözlenmiştir. Yapılan istatistiksel çalışmalar doğrultusunda larvalar üzerinde denenen tüm spor solüsyonu konsantrasyonları deney setlerinde seyrelmeye uğrasa da kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermiştir (Çizelge 4.5.; Çizelge 4.13.).

Yapılan bu çalışmalar laboratuvar koşullarında sabit bir sıcaklıkta ($26 \pm 2^\circ \text{C}$), belirli bir nemde ($\% 65 \pm 10 \text{RH}$) ve 12:12 aydınlık:karanlık ortamda tutularak yapılmıştır. Bu etmenlerin entomopatojen fungusların patojenitesi üzerinde duruma göre olumlu ya da olumsuz etkileri vardır. Çünkü patojenite, sadece entomopatojen fungusun biyokimyası, fizyolojisi ve hastalık gelişiminin moleküler biyolojisine bağlı olmaz aynı zamanda çevresel etmenlere de bağlıdır. Bu etmenler içerisinde bağıl nem, UV ışınları, sıcaklık ve besin mevcudiyeti başarılı bir mikoinsektisidin performansını etkiler [223]. UV ışınlarının entomopatojen fungusları olumsuz yönde etkilediğini, birçok araştırmacı yaptıkları çalışmalarda göstermiştir. Örneğin; ılıman ve tropiklerde yaz vakti öğle saatlerinde dik açıyla gelen güneş ışığına birkaç saat maruz kalan fungus sporları patojenitelerini kaybetmiştir [223-224].

Bu çalışma ile birlikte ülkemiz topraklarından elde edilen entomopatojen fungus izolatlarının, denenen sivrisinekler üzerinde potansiyel mücadele ajanı olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda, çevresel koşulların ve böcek davranışlarının, denenen suşların patojenitelerini nasıl etkilediğine bakılması amaçlanmaktadır. Ayrıca bu suşların farklı zararlı böcekler ve vektörler üzerindeki etkilerinin incelenmesinin sonraki biyolojik kontrol çalışmaları için faydalı veriler oluşturacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Cox, F.E.G., Modern Parasitology: A textbook of parasitology, Second edition, Blackwell Science Ltd., London, 276pp, **1993**.
- [2] James, M.T., Harwood, R.F., *Herms's Medical Entomology*. (6th ed.). New York: Macmillan Publishing Co., Inc., **1969**.
- [3] Van Driesche, R.G., Bellows Jr.T.S., Biological Control, An International Thomson Publishing, New York, 447p, **1996**.
- [4] Peter, G., Plant Pests and Their Control, Fenemore, London, **1984**.
- [5] Ecevit, O., Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, Samsun, **1988**.
- [6] Alten, B., Çağlar, S.S., Vektör ekolojisi ve mücadelesi: Sıtma vektörünün biyo-ekolojisi mücadele organizasyonu ve yöntemleri, Sağlık Bakanlığı, Ankara, 249s, **1998**.
- [7] Hansoylu, R.B., *Türkiye Topraklarından Elde Edilen Entomopatojen Fungus Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. Suşlarının Biyolojik Kontrol Ajanı Olarak Kullanılması*, Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2003**.
- [8] Lacey, L.A., Goettel, M.S., Current Developments in Microbial Control of Insect Pests And Prospects for The Early 21st Century, *Entomophaga*, 40, 3-27, **1995**.
- [9] Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., Suggestions for Unifying the Terminology in Biological Control, *Biocontrol*, 46, 387-400, **2001**.
- [10] Demirbağ, Z., Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon, **2008**.

- [11] Kamp, A.M., Bidochka, M.J., Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars, *Letters in Applied Microbiology*, 35, 74–77, **2002**.
- [12] Goettel, M.S., Eilenberg, J., Glare, T., Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations. In: *Comprehensive Molecular Insect Science*, (Ed; Gilbert, L.I., Iatrou, K., Gill, S.S.), Amsterdam, 361-405, **2005**.
- [13] Rath, A.C., The Use of Entomopathogenic Fungi for Control of Termites, *Biocontrol Science and Technology*, 10, 563- 581, **2000**.
- [14] Luangsa-Ard, J.J., Hywel-Jones, N.L., Manoch, L., Samson, R.A., On the relationships of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* species, *Mycological research*, 109 (5): 581–589, **2005**.
- [15] Roberts, D.W., Word Picture of Biological Control of Insects by Fungi, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84, 89-100, **1989**.
- [16] Keller, S., Zimmerman, G., Mycopathogens of Soil Insects, In: *Insect-Fungus Interactions*, (EdS., Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F.), London, 239-270, **1989**.
- [17] Jackson, T.A., Saville, D.J., Bioassays of replicating bacteria against soil-dwelling insect pests. Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. (Eds., Navon, A., Ascher, K.R.S.), CABI, New York. pp. 73-94, **2000**.
- [18] Chapman, R.F., Cambridge University Pres, Fourth Edition, 403–408, **1998**.
- [19] Epstein, P.R., Is global warming harmful to health?, *Scientific American*, 283, 36–43, **2000**.
- [20] Şahin, İ., Antalya ve çevresindeki sivrisinekler (Diptera: Culicidae) ve filariose vektörü olarak önemleri üzerinde araştırmalar. II. Sivrisinek faunasını belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar. *Doğa Bilim Dergisi*, A2, 8(3): 385-396, **1984**.

- [21] Bentley, M.D., Day, J.F., Chemical Ecology and Behavioral Aspects of Mosquito Oviposition, Annual Review of Entomology, 39, 401-421, **1989**.
- [22] Rozendaal, J.A., Vector Control Methods For Use By Individuals And Communities İngiltere, World Health Organisation, **1997**.
- [23] Becker, N., Petrić, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J., Kaiser, A., *Mosquitoes and Their Control* New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 378, **2003**.
- [24] Pedigo, L.P., Entomology and Pest Management. Second Edition, Prentice-Hall Pub., Englewood Cliffs, NJ. 679 pp, **1996**.
- [25] Dent, D., Insect Pest Management, Cabi Bioscience Ascot, UK, 432 pp, **2000**.
- [26] Çağlar, S.S., Karasinek *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae)'da Tetramethrin'e dirençlilik düzeyi ve hayat tablosu çalışmaları. *Doga Turkish Journal of Zoology*, 15, 91-97, **1991**.
- [27] Florida Coordinating Council On Mosquito Control *Florida mosquito control: The state of the mission as defined by mosquito controllers, regulators, and environmental managers*. University of Florida, **1998**.
- [28] Sezen, K., *Coleoptera Takımına Ait Bazı Fındık Zararlılarında Virüs Tespiti ve Biyolojik Mücadelede Kullanım Potansiyeli*, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, **2004**.
- [29] Oğurlu, İ., Biyolojik Mücadele, Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, Isparta, **2000**.
- [30] Nalçacıoğlu, R., Virüsler ve biyolojik mücadele. Entomopatojenler ve biyolojik mücadele, (Ed: Demirbağ, Z.), Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon. ss. 51-108, **2008**.

- [31] Toprak, U., *Bazı Bakulovirüs Preparatlarının Laboratuvar Koşullarında Noctuidae Familyasındaki Önemli Tarımsal Zararlı Türler Üzerinde Etkinliklerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2004**.
- [32] Federici, B.A., Viral pathogens of mosquito larvae. *Bulletin of the American Mosquito Control Association*, 6: 62-74, **1985**.
- [33] Becnel, J.J., White, S.E., Mosquito Pathogenic Viruses- The Last 20 Years. Biorational Control of Mosquitoes, Bulletin No 7. Supplement to the *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(2): 36-49, **2007**.
- [34] Cheng, X., Carner, G.R., Characterization of a Single-Nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus of *Thysanoplusia orichalcea* L. (Lepidoptera: Noctuidae) from Indonesia, *Journal of Invertebrate Pathology*, 75, 279–287, **2000**.
- [35] EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) Council., Data Sheets On Quarantine Pests '*Leptinotarsa decemlineata*', Prepared by CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003, **2009**.
- [36] Anderson, D., Harris, R., Polayes, D., Ciccarone, V., Donahue, R., Gerard, G. Jessee, J., Rapid generation of recombinant baculoviruses and expression of foreign genes using the Bac-to-Bac® baculovirus expression system, *Focus*, 17, 53-58, **1996**.
- [37] Ciccarone, V.C., Polayes, D., Luckow, V.A., Generation of recombinant baculovirus DNA in *E. coli* using baculovirus shuttle vector, Cilt 13, U. Reischt, (Ed: Totowa, N.J.), Humana Press Inc., **1997**.
- [38] Merrihew, R.V., Clay, W.C., Condreay, J.P., Witherspoon, S.M., Dallas, W.S., Kost, T.A., Chromosomal integration of transduced recombinant baculovirus DNA in mammalian cells, *Journal of Virology*, 75, 2, 903–909, **2001**.

[39] Stanbridge, L.J., Dussupt, V., Maitland, N.J., *Journal of Biomedical Biotechnology*, 2, 79–91, **2003**.

[40] Katı, H., Bakteriler ve biyolojik mücadele. Entomopatojenler ve biyolojik mücadele, (Ed: Demirbağ, Z.), Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon. ss. 109-174, **2008**.

[41] Azizoğlu, U., Bulut, S., Yılmaz, S., Organik Tarımda Biyolojik Mücadele; Entomopatojen Biyoinspektisitler, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 28(5): 375-381, **2012**.

[42] Nielson-LeRoux, C., Rao, D.R., Murhy, J.R., Carron, A., Mani, T.R., Hamon, S., Mulla, M.S., Various Leves of Cross-Resistance to *Bacillus sphaericus* Strains in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Colonies Reistant to *Bacillus sphaericus* Strain 2362, *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (11): 5049-5054, **2001**.

[43] Smith, A.W., Camara-Artigas, A., Brune, D.C., Allen, J.P., Implications of High Molecular Weight Oligomers of the Binary Toksin from *Bacillus sphaericus*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 88: 27-33, **2005**.

[44] El-Bendary, M.A., *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* biopesticides production, *Journal of Basic Microbiology*, 46 (2): 158-170, **2006**.

[45] Held, G.A., Bulla, L.A., Jr. Ferrari, E., Hoch, J., Aronsono, A.I., Minnich, S.A., Cloning and localization of the lepidopteran protoxin gene of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 79, pp. 6065-6069, **1982**.

[46] Ananda, K.P., Sharma, R.P., Malik, V.S., The insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis*, *Advances in Applied Microbiology*, (42) , pp. 1-43, **1996**.

[47] Liu, Y.T., Sui, M.J., Ji, D.D., Wu, I.H., Chou, C.C., Chen, C.C., Protection from ultraviolet irradiation by melanin of mosquitocidal activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 62 (2) , pp. 131-136, **1993**.

- [48] Glare, T.R., O'Callaghan, M., Environmental and Health Impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*, Report for the Ministry of Health, Biocontrol and Biodiversity, Grasslands Division, Lincoln, pp 58, **1998**.
- [49] Hajaj, M., Carron, A., Deleuze, J., Gaven, B., Sertier-Rio, M., Vigo, G., Thiery, I., Nielsen-LeRoux, C., Lagneau, C., Low Persistence of *Bacillus thuringiensis* Serovar *israelensis* Spores in Four Mosquito Biotopes of a Salt Marsh in Southern France, *Microbial Ecology*, 50: 475-487, **2005**.
- [50] Davidson, W.E., The Present Status of *Bacillus sphaericus*, Israel, *Journal of Entomology*, 23: 9-15, **1989**.
- [51] Boonserm, P., Moonsom, S., Boonchoy, C., Promdonkoy, B., Partasarathy, K., Torres, J., Association of the Components of the Binary Toxin from *Bacillus sphaericus* in Solution and with Model Lipid Bilayers, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 342: 1273-1278, **2006**.
- [52] Mulla, M.S., Rodcharoen, J., Ngamsuk, W., Tawatsin, A., Pan-Urai, P., Thavara, U., Field Trials With *Bacillus sphaericus* Formulations Against Polluted Water Mosquitoes in a Suburban Area of Bangkok, Thailand, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13(4): 297-304, **1997**.
- [53] Ali, A., Chowdhury, M.A., Aslam, A.F., Ul-Ameen, M., Hossain, M.I., Habiba, D.B., Field Trials With *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* Commercial Formulations Against *Culex quinquefasciatus* Larvae in Suburban Dhaka, Bangladesh, *Medical Entomology and Zoology*, 51 (4): 257-264, **2000**.
- [54] Yoshimura, G., Wright, S., Towzen, J., Efficacy of *Bacillus sphaericus* at the Sacramento Regional Wastewater Treatment Plant Demonstration Wetlands, Proc. Mosq. And Vector Control Assoc. of CA, 64: 124-129, **1996**.

- [55] Pei, G., Oliveira, C.M.F., Yuan, Z., Nielson- LeRoux, C., Silva-Filha, M.H., Yan, J., Reigs, L., A strain of *Bacillus sphaericus* Causes Slower Development of Resistance in *Culex quinquefasciatus*, *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6): 3003-3009, **2002**.
- [56] Brurberg, M.B., Nes, I.F., Eijsink, V.G., Comparative studies of chitinases A and B from *Serratia marcescens*. *Microbiology*, 142, 7, 1581–1589, **1996**.
- [57] Uchiyama, T., Kaneko, R., Yamaguchi, J., Inoue, A., Yanagida, T., Nikaidou, N., Regue, M., Watanabe, T., Uptake of N, N'-Diacetylchitobiose [(GlcNAc)₂] via the phosphotransferase system is essential for chitinase production by *Serratia marcescens* 2170, *Journal of Bacteriology* , 185, 6, 1776-1782, **2003**.
- [58] Vaaje-Kolstad, G., Horn, S.J., van Aalten, D.M.F., Synstad, B., Eijsink, V.G.H., The non-catalytic chitin-binding protein Cbp21 from *Serratia marcescens* is essential for chitin degradation, *Journal of Biological Chemistry*, 280, 31, 28492-28497, **2005**.
- [59] Inglis, G.D., Lawrence, A.M., Effects of *Serratia marcescens* on the F1 generation of laboratory-reared *Heliothis virescens* (Lepidoptera:Noctuidae), *Journal of Economic Entomology*, 94, 362-366, **2001**.
- [60] Lysyk, T.J., Kalischuk-Tymensen, L.D., Selinger, L.B., Comparison of Selected Growth Media for Culturing *Serratia marcescens*, *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* as Pathogens of Adult *Stomoxys calcitrans* (Diptera:Muscidae), *Journal of Medical Entomology*, 39, 1, 89-98, **2002**.
- [61] Klingen, I., Haukelan, S., The soil as a reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes. An Ecological and Societal Approach to Biological Control, (Eds: Eilenberg, J., Hokkanen, H.M.T.), *Springer*, Netherlands. pp. 145-212, **2006**.
- [62] Bekircan, Ç., *Büyük Lahana Kelebeği (Pieris Brassicae L.; Lepidoptera: Pieridae)'Nde Yeni Bir Mikrosporidium (Protista) Türünün Karakterizasyonu*,

Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, **2012**.

[63] Maddox, J.V., Protozoan Diseases. In "Epizootiology of Insect Diseases pp. 417-452, Ed. Fuxa, J.R., Tanada, Y., Wiley, New York., **1987**.

[64] Lacey, L.A., Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?, *Biological Control*, 21, 230- 248, **2001**.

[65] Bedding, R.A., Molyneux, A.S., Akhurst, R.J., *Heterorhabditis* spp., *Neoaplectana* spp. and *Steinernema kraussei*, interspecific and intraspecific differences in infectivity to insects, *Experimental Parasitology*, 55: 248-257, **1983**.

[66] Kaya, H.K., Entomogenous Nematodes for Insect Control in IPM Systems. In: (Eds: Hoy, M.A., Herzog, D.C.), Biological Control in Agricultural IPM Systems. Orlando, FL: Academic, 283-302, **1985**.

[67] Bedding, R.A., Logistics and Strategies for Introducing Entomopathogenic Entomopathogenic Nematode Technology in Developing Countries. In: (Eds: Gaugler, R., Kaya, H.K.), Entomopathogenic Nematodes for Biological Control, C.R.C. Boca Raton, FL, 233-248, **1990**.

[68] Hazır, S., Kaya, H.K., Stock, S.P., Keskin, N., Entomopathogenic Nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for Biological Control of Soil Pests, **2003b**.

[69] Ramos-Rodríguez, O., Campbell, J.F., Ramaswamy, S.B., Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* against the storedproduct insect pests *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*, *Biological Control*, 40, 15-21, **2007**.

[70] Ehlers, R., Current and Future Use of Nematodes in Biocontrol: Practice and Commercial Aspect with Regard to Regulatory Policy Issue, *Biocontrol Science and Technology*, 6, 303-316, **1996**.

- [71] Kaya, H.K., Stock, S.P., Techniques in insect nematology. In "Manual of Techniques in Insect Pathology" (Ed: Lacey, L.), *Academic Press*, San Diego, 281-324, **1997**.
- [72] Walsh, K.T., Webster, J.M., Interaction of microbial populations in *Steinernema* (Steinernematidae, Nematoda) infected *Galleria mellonella* larvae, *Journal of Invertebrate Pathology*, 83, 118-126, **2003**.
- [73] Koppenhöfer, A.M., Nematodes. In: (Eds: Lacey, L.A., Kaya, H.K.), *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer, 283-301, **2000**.
- [74] Burnell, A.M., Stock, S.P., Heterorhabdits, *Steinernema* and their bacterial symbionts lethal pathogens of insects, *Nematology*, 2, 31-42, **2000**.
- [75] Gökçe, C., *Çeşitli Toprak Örneklerinden Entomopatojen Nematodların İzolasyonu, Tanımlanması Ve Patojenitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, **2011**.
- [76] Humber, R.A., Evaluation of Entomopathogenity in Fungi, *Journal of Invertebrate Pathology*, 98, 262-266, **2008**.
- [77] Roy, H.E., Steinkraus, D.C., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Pell, J.K., Bizarre Interactions and Endgames: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts, *Annual Review of Entomology*, 51, 331-57, **2006**.
- [78] Hall, R.A., Papierok, B., Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. *Parasitology*, (Eds: Anderson, R.M., Canning, E.U.), Cambridge University, Great Britain. 84, pp. 205-240, **1982**.
- [79] Zimmermann, G., Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, *Biocontrol Science and Technology*, 17(5/6): 553-596, **2007a**.

- [80] Shah, P.A., Pell, J.K., Entomopathogenic Fungi as Biological Control Agents, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 413-423, **2003**.
- [81] Fuxa, J.R., Ecological Considerations for the Use of Entomopathogens in IPM, *Annual Review of Entomology*, 32, 225-51, **1987**.
- [82] Hajek, A.E., St. Leger, R.J., Interactions Between Fungal Pathogens and Insects Hosts, *Annual Review of Entomology*, 39, 293-322, **1994**.
- [83] Clarkson, J.M., Chamley, A.K., New Insights into the Mechanisms of Fungal Pathogenesis in Insects, *Trends Microbiology*, 4,5, **1996**.
- [84] Castrillo, L.A., Roberts. D.W., Vandenberg, J.D., The Fungal Past, Present, and Future: Germination, Ramification, and Reproduction, *Journal of Invertebrate Pathology*, 89, 46-56, **2005**.
- [85] Sevim, A., *Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu Ve Virülanslarının Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, **2010**.
- [86] Zimmermann, G., Review on Safety of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*, *Biocontrol Science and Technology*, 17, 879-920, **2007b**.
- [87] Strasser, H., Vey, A., Tariq, M.B., Are There any Risks in Using Entomopathogenic Fungi for Pest Control, with Particular Reference to the Bioactive Metabolites of *Metarhizium*, *Tolyocladium* and *Beauveria* species *Biocontrol Science and Technology*, 10, 717-735, **2000**.
- [88] Meyling, N.V., Eilenberg, J., Ecology of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Temperate Agroecosystems: Potential for Conservation Biological Control, *Biological Control*, 43, 145-155, **2007**.
- [89] Dromph, K., Collembolans as vectors of Entomopathogenic Fungi, *Pedobiologia*, 47, 245-256, **2003**.

- [90] Meyling, N.V., Eilenberg, J., Occurrence and Distribution of Soil Borne Entomopathogenic Fungi within a Single Organic Agroecosystem, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 113, 336-341, **2006**.
- [91] Wan, H., Molecular Biology of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: Insect-Cuticle Degrading Enzymes and Development of a New Selection Marker for Fungal Transformation, PhD thesis, Combined Faculties for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto-Carola University of Heidelberg, Germany, **2003**
- [92] Santaro, P.H., Neves, P.M.O.J., Alexandre, P.M., Sartori, D., Alves, L.F.A., Fungaro, M.H.P., Selection of *Beauveria bassiana* isolates to control *Alphitobius diaperinus*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 97, 83-90, **2008**.
- [93] Webster, J., Weber, R.W.S., Introduction to Fungi, Cambridge University Press, New York, Third Edition, 701p, **2007**.
- [94] Shimazu, M., Sato, H., Maehara, N., Density of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in forest air and soil, *Applied Entomology and Zoology*, 37(1):19–26, **2002**.
- [95] Airaudi, D., Filipello-Marchisio, V., 'Fungal Biodiversity in the Air of Turin', *Mycopathologia*, 136, 95-102, **1996**.
- [96] MacLeod, D.M., Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. and *Tritirachium* Limber, *Canadian Journal of Botany*, 32: 818-890. **1954**.
- [97] Leatherdale, D., The arthropod hosts of entomogenous fungi in Britain. *Entomophaga*, 15: 419-435, **1970**.
- [98] Goettel, M.S., Poprawski, T.J., Vandenberg, J.D., Li, Z.Z., Roberts, D.W., Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. In: (Eds: Laird, M., Lacey, L., Davidson, E.W., Safety of microbial insecticides, Boca Raton, FL: CRC Press. pp 209-231, **1990**.

- [99] Fuguet, R., Vey, A., Comparative analysis of the production of insecticidal and melanizing macromolecules by strains of *Beauveria* spp.: in vivo studies, *Journal of Invertebrate Pathology*, 85: 152-167, **2004**.
- [100] Boucias, D.G., Pendland, J.C., Principles of insect pathology, Boston, MA: Kluwer Academic Publishers. p.568, **1998**.
- [101] Roberts, D.W., Toxins of entomopathogenic fungi. In: Burges HD, editor. Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. London: Academic Press. pp 441-464, **1981**.
- [102] Vey, A., Hoagland, R., Butt, T.M., Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. In: (Eds: Butt, T.M., Jackson, C.W., Magan, N.), Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential. Wallingford: CAB International. pp 311-346, **2001**.
- [103] Jeffs, L.B., Khachatourians, G.G., Toxic properties of *Beauveria* pigments on erythrocyte membranes, *Toxicon*, 35: 1351-1356, **1997**.
- [104] Quesada-Moraga, E., Vey, A., Bassiacridin, a protein toxic for locusts secreted by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, *Mycological Research*, 108:441-452, **2004**.
- [105] Deacon, J.W., Fungal Biology, Blackwell Publishing, Oxford Uk, 4th edition, 371 pp, **2005**.
- [106] Demir, İ., Funguslar ve biyolojik mücadele. Entomopatojenler ve biyolojik mücadele, (Ed: Demirbağ, Z.), Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon. ss. 175-244, **2008**.
- [107] http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal_detail.jsp?id=FU200802230001
(Nisan 2015)

- [108] Müller-Kögler, E., Pilzkrankheiten bei Insekten, Anwendung zur biologischen Schädlingsbekämpfung und Grundlagen der Insektenmykologie, Berlin: P. Parey Verlag, p: 444, **1965**.
- [109] Roberts, D.W., Campbell, A.S., Stability of entomopathogenic fungi, *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America*, 10: 19-76, **1977**.
- [110] Steinhaus, E., Concerning the harmlessness of insect pathogens and the standardization of microbial control products, *Journal of Economic Entomology*, 50: 715-720, **1957**.
- [111] Müller-Kögler, E., Nebenwirkungen insektenpathogener Pilze auf Mensch und Wirbeltiere: Aktuelle Fragen. *Entomophaga*, 12: 429-441, **1967**.
- [112] Ignoffo, C.M., Effects of entomopathogens on vertebrates, *Annals New York Academy Sciences*, 217: 141-172, **1973**.
- [113] Austwick, P.K.C., The pathogenic aspects of the use of fungi: The need for risk analysis and registration of fungi, *Ecological Bulletin (Stockholm)* 31: 91-102, **1980**.
- [114] Burges, H.D., Safety, safety testing and quality control of microbial pesticides, In: Burges, H.D., editör, *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*, London: Academic Press. pp 737-767, **1981**.
- [115] Saik, J.E., Lacey, L.A., Lacey, C.M., Safety of microbial insecticides to vertebrates - domestic animals and wildlife, In: Laird, M., Lacey, L.A., Davidson, E.W., editors, *Safety of microbial insecticides*. Boca Raton, FL: CRC Press. pp 115-132, **1990**.

- [116] Siegel, J.P., Shaddock, J.A., Safety of microbial insecticides to vertebrates - humans. In: Laird M, Lacey LA, Davidson EW, editors. Safety of microbial insecticides. Boca Raton, FL: CRC Press. pp 101-113, **1990**.
- [117] Goettel, M.S., Hajek, A.E., Siegel, J.P., Evans, H.C., Safety of fungal biocontrol agents, In: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N., editors, Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential, Wallingford: CAB International, pp 347-376, **2001**.
- [118] Goettel, M.S., Jaronski, S.T., Safety and registration of microbial agents for control of grasshoppers and locusts, *Memoirs of the Entomological Society Canada*, 171: 83-99, **1997**.
- [119] Vestergaard, S., Cherry, A., Keller, S., Goettel, M.,. Safety of hyphomycete fungi as microbial control agents. In: Hokkanen HMT, Hajek AE, editors. Environmental impacts of microbial insecticides. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp 35-62. **2003**.
- [120] Sachs, S.W., Baum, J., Mies, C., *Beauveria bassiana* keratitis, *British Journal of Ophthalmology*, 69: 548-550, **1985**.
- [121] Strasser, H., Kirchmair, M., Potential health problems due to exposure in handling and using biological control agents. In: Eilenberg J, Hokkanen HMT, editors. An ecological and societal approach to biological control. Berlin: *Springer*, pp 275-293, **2006**.
- [122] Kisla, T.A., Cu-Unjieng, A., Sigler, L., Sugar, J., Medical management of *Beauveria bassiana* keratitis, *Cornea*, 19: 405-406, **2000**.
- [123] Sigler, L., Miscellaneous opportunistic fungi. Microascaceae and other Ascomycetes, Hyphomycetes, Coelomycetes and Basidiomycetes. In: Howard, D.H., editör, Pathogenic fungi in humans and animals, New York: Marcel Dekker, Inc. pp 637-676, **2003**.

[124] Ishibashi, Y., Kaufman, H.E., Ichinoe, M., Kazawa, S., The pathogenicity of *Beauveria bassiana* in the rabbit cornea, *Mykosen*, 30: 115-126, **1987**.

[125] Zimmermann, G., The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control, *Biocontrol Science and Technology*, 18:9, 865-901, **2008**.

[126] Wize, M.C., "Die durch Pilze hervorgerufenen Krankheiten des Rüberrüsselkäfers (*Cleonus punctiventris* Germ.) mit besonderer Berücksichtigung neuer Arten", *Bulletin International de l'Académie des Sciences de Cracovie, Classe des Sciences Mathématique et Naturelles*, 713-727, **1904**.

[127] Samson, R.A., 'Paecilomyces and Some Allied Hyphomycetes', *Studies in Mycology*, 6, 32-36, 38-41, **1974**.

[128] Brown, A.H.S., Smith, G., The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage *Byssochlamys* Westling, *Transactions of the British Mycological Society*, 40: 17-89, **1957**.

[129] Barnett, H.L., Hunter, B.B., Illustrated genera of imperfect fungi 4th ed. Published 1998 by APS Press in St. Paul, Minn . Written in English, **1998**.

[130]

http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.cbs.knaw.nl/publications/1006/content_files/sim6fig9.jpg&imgrefurl=http://www.cbs.knaw.nl/publications/1006/content_files/content.htm&h=680&w=780&tbnid=VKELMyHZlwfoTM:&zoom=1&docid=6sHQB_HvEqXYLM&itg=1&ei=0WeRVdG9BcKXsAGJmp3oDq&tbm=isch&ved=0CGkQMyhFMEU (Mayıs, 2015)

[131] Bernardini, M., Carilli, A., Pacioni, G., Santurbano, B., 'Isolation of Beauvericin From *Paecilomyces fumosoroseus*', *Phytochemistry*, 14, 1865, **1975**.

- [132] Jegorov, A., Sedmera, P., Matha, V., Simek, P., Zahradníčková, H., Landa, Z., Eyal, J., 'Beauverolides L and La from *Beauveria tenella* and *Paecilomyces fumosoroseus*', *Phytochemistry*, 37, 1301-1303, **1994**.
- [133] Asaff, A., Cerda-Garcia-Rojas, C., De la Torre, M., 'Isolation of Dipicolinic Acid as an Insecticidal Toxin from *Paecilomyces fumosoroseus*', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68, 542-547, **2005**.
- [134] Yeo, H., Pell, J.K., Alderson, P.G., Clark, S.J., Pye, B.J., 'Laboratory Evaluation of Temperature Effects on the Germination and Growth of Entomopathogenic Fungi and on their Pathogenicity to Two Aphid Species', *Pest Management Science*, 59, 156-165, **2003**.
- [135] Hartmann, G.C., Wasti, S.S., Hendrickson, D.L., 'Murine Safety of Two Species of Entomogenous Fungi, *Cordyceps militaris* (Fries) Link and *Paecilomyces fumoso-roseus* (Wize) Brown and Smith', *Applied Entomology and Zoology*, 14, 217-220, **1979**.
- [136] Wasti, S.S., Hartmann, G.C., Rousseau, A.J., 'Gypsy Moth Mycoses by Two Species of Entomogenous Fungi and an Assessment of their Avian Toxicity', *Parasitology*, 80, 419-424, **1980**.
- [137] Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N., 'Introduction-Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential', in *Fungi as Biocontrol Agents*, (Eds: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N.), Wallingford: CABI Publishing, pp. 1-8, **2001**.
- [138] Wraight, S.P., Jackson, M.A., de Kock, S.L., 'Production, Stabilization and Formulation of Fungal Biocontrol Agents', in *Fungi as Biocontrol Agents*, (Eds: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N.), Wallingford: CABI Publishing, pp. 253-287, **2001**.
- [139] Eldridge, B.F., *Biology of disease vectors: Mosquitoes, the Culicidae* (Edt: Marquardt, W.C.), Elsevier Academic Press, Second Edition, 785p, **2005**.

[140] Service, M.W., Mosquitoes (Culicidae), In: (Eds: Lane, R.P., Crosskey, R.W.), Medical Insects and Archanids, Chapman and Hall, 120-240, **1993**.

[141] Snow, K.R., Mosquitoes, Naturalists"s Handbook 14, The Richmond Publishing, Great Britain, 66p, **1990**.

[142] Odum, E.P., Barrett, G.W., Ekoloji"nin Temel İlkeleri, (çev: Kani Işık) Palme Yayıncılık, Beşinci Baskı, 598s, **2008**.

[143] <http://www.nathanwoodward.co.uk/wp-content/gallery/culicidae-life-cycle/811.JPG> (Mart 2015)

[144] Merdivenci, A., Türkiye'nin Sivrisinekleri–Yurdumuzda varlığı bilinen sivrisineklerin biyo morfolojisi, biyo-ekolojisi, yayılışı ve sağlık önemleri, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 354s, **1984**.

[145] <http://cc.shsmu.edu.cn:8090/G2S/Template/View.aspx?courseId=5240&topMenuId=27449&action=view&type=&name=&menuType=1&curfolid=57082> (Mart 2015)

[146] Garros, C., Ngugi, N., Githeko, A.E., Tuno, N., Yan, G., Gut Content Identification of Larvae of the *Anopheles gambiae* Complex in Western Kenya Using a Barcoding Approach, *Molecular Ecology Resources*, 8: 512-518, **2008**.

[147] Church, S.C., Sherratt, T.N., The Selective Advantages of Cannibalism in a Neotropical Mosquito, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 39:117-123, **1996**.

[148] Dennehy, J.J., Robakiewicz, P., Livdahl, T., Larval Rearing Conditions Affect Kin-Mediated Cannibalism in a Treehole Mosquito, *Oikos*, 95(2):335-339, **2001**.

[149] Koenraadt, C.J.M., Takken, W., Cannibalism and Predation Among Larvae of the *Anopheles Gambiae* Complex, *Medical and Veterinary Entomology*, 17:61-66, **2003**.

[150] Marshall, F.J., "The British Mosquitoes", Johnson Reprint Corporation, London, 332p, **1938**.

[151] Subra, R., Biology and control of *Culex pipiensquinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera, Culicidae) with special reference to Africa, *Insect Science and Its Application*, 1, 319- 338, **1981**.

[152] Wilke, A.B.B., Vidal, P.O., Suesdek, L., M., Marrelli, T., Population genetics of neotropical *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), *Parasites & Vectors*, 7:468, **2014**.

[153] Volkman, S.K., Barry, A.E., Lyons, E.J., Nielsen, K.M., Thomas, S.M., Choi, M., Thakore, S.S., Day, K.P., Wirth, D.F., Hartl, D.L., Recent origin of *Plasmodium falciparum* from a single progenitor, *Science*, 293, 482-484, **2001**.

[154] Pothikasikorn, J., Bangs, M.J., Boonplueang, R., Chareonviriyaphap, T., Susceptibility of various mosquitoes of Thailand to nocturnal subperiodic *Wuchereria bancrofti*, *Journal of Vector Ecology*, 33, 313–320, **2008**.

[155] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs102/en/> (Mayıs,2015)

[156] Peterson, A.T., Robbins, A., Restifo, R., Howell, J., Nasci, R., Predictable ecology and geography of West Nile virus transmission in the central United States, *Journal of Vector Ecology*, 33, 342–352, **2008**.

[157] Kilpatrick, A.M., LaDeau, S.L., Marra, P.P., Ecology of West Nile virus transmission and its impact on birds in the western hemisphere, *The Auk*, 124, 1121–1136, **2007**.

[158] Ergünay, K., Aydoğan, S., Menemenlioğlu, D., Ankara bölgesinde nedeni bilinmeyen merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında Batı Nil virusunun araştırılması, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44: 255-262, **2010**.

[159] Ozkul, A., Yıldırım, Y., Pınar, D., Serological evidence of West Nile Virus (WNV) in mammalian species in Turkey. *Epidemiology Infection*, 134:826-829, **2005**.

[160] Koopmans, M., Martina, B., Reusken, C., Van Manen, K., “West Nile Virus in Europe: Waiting Fort the Start of the Epidemic?” pp. 123-151, In W. Takken and B.G.J. Knols (eds.), *Emerging Pests and Vector-Borne Diseases in Europe*, vol. 1. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, **2007**.

[161] Ramsdale, C.D., Alten, B., Çağlar, S.S., Özer, N., A revised, annotated checklist of the mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Turkey, *European Mosquito Bulletin*, 9, 18–27, **2001**.

[162] Günay, F., *Türkiye Sivrisinek Faunası Üzerine Dna Barkodlama Yöntemiyle Moleküler Analizler*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2015**.

[163] <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2014/en/>(Mayıs,2015)

[164] Powell, J.R., Tabachnick, W.J., History of domestication and spread of *Aedes aegypti* - A Review, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 108 (Suppl. I): 11-17, **2013**.

[165] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html>
(Haziran,2015)

[166] <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ums/S-S/Sari-humma-Yellow-fever.pdf>
(Haziran,2015)

[167] <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ums/C-C/Chikungunya-atesi.pdf>
(Haziran,2015)

- [168] Asensio, L., Carbonell, T., Lopez-Jimenez, J.A., Lopez-Llorca, L.V., Entomopathogenic fungi in soils from Alicante province, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 1(3), 34-75, **2003**.
- [169] Stock, S.P., Pryor, B.M., Kaya H.K., Distribution of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in natural habitats in California, USA, *Biodiversity and Conservation*, 8: 535-549, **1999**.
- [170] Ali-Shtayeh, M.S., Abdel-Basit B.M.M., Jamous, R.M., Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area, *Mycopathologia*, 156, 235- 244, **2002**.
- [171] Keller, S., Kessler, P., Schweizer, C., Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metharhizium anisopliae*, *BioControl*, 48: 307–319, **2003**.
- [172] Kessler, P., Enkerli, J., Schweizer, C., Keller, S., Survival of *Beauveria brongniartii* in the soil after application as a biocontrol agent against the European cockchafer *Melolontha melolontha*, *BioControl*, 49: 563–581, **2004**.
- [173] Yazgan, Ü.N., *Şanlıurfa İlinde İklim Değişikliği-Sıtma-Vektör Organizma Tabanlı Coğrafi Bilgi Sistemi Oluşturulması*, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bilim Uzmanlığı Tezi, Ankara, **2003**.
- [174] Zheng, M.L., Zhang, D.J., Damiens, D.D., Yamada, H., Gilles, J.R.L., Standard operating procedures for standardized mass rearing of the dengue and chikungunya vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) - I - egg quantification, *Parasites & Vectors*, 8:42, **2015**.
- [175] Eastwood, G., Kramer, L.D., Goodman, S.J., Cunningham, A.A., West Nile Virus Vector Competency of *Culex quinquefasciatus* Mosquitoes in the Galápagos Islands, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(3), pp. 426–433, **2011**.

- [176] Govindarajan, M., Rajeswary, M., Ovicidal and adulticidal potential of leaf and seed extract of *Albizia lebbek* (L.) Benth. (Family: Fabaceae) against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae), *Parasitol Research*, **2015**.
- [177] Ortiz-Urquiza, A., Riveiro-Miranda, L., Santiago-Alvarez, C., Quesada-Moraga, E., Insect-toxic secreted proteins and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 105(3), 270-278, **2010**.
- [178] Valero-Jiménez, C.A., Debets, A.J., van Kan, J.A, Schoustra, S.E, Takken, W., Zwaan, B.J, Koenraadt, C.J., Natural variation in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against malaria mosquitoes, *Malaria Journal*, 13:479, **2014**.
- [179] Veen, K.H., Ferron, P., A selective medium for the isolation of *Beauveria tenella* and *Metarhizium anisopliae*, *Journal of Insect Pathology*, 8:268- 269, **1966**.
- [180] Doberski, J., Tribe, H.T., Isolation of entomogenous fungi from elm bark and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, *Transactions of the British Mycological Society*, 74:95–100, **1980**.
- [181] Posadas, J.B., Comerio, R.M., Mini, J.I., Nussenbaum, A.L., Lecuona, R.E., A novel dodine-free selective medium based on the use of cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) to isolate *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* sensu lato and *Paecilomyces lilacinus* from soil, *Mycologia*, 104(4), pp. 974–980, **2012**.
- [182] Abebe, H., Potential of entomopathogenic fungi for the control of *Macrotermes subhyalinus* (Isoptera: Termitidae), Ph.D. thesis, Addis Ababa University, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ethiopia, 161p, **2002**.

- [183] Hu, G., Leger, R.J.St., Field Studies Using a Recombinant Mycoinsecticide (*Metarhizium anisopliae*) Reveal that It Is Rhizosphere Competent, *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12), p. 6383–6387, **2002**.
- [184] Humber, R.A., Entomopathogenic Fungal Identification. APS/ESA Workshop, American Phytopathological Society/Entomological Society of America Joint Annual Meeting, 8-12 November, Las Vegas, Nevada, USA. 26 p., **1998**.
- [185] Hasenekoğlu, İ., Toprak mikrofungusları, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No:689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları, No:II, Cilt:II, s. 39-46, **1991**.
- [186] Özgör, E., *Isparta ve Burdur İlleri Bal Arılarında (Apis Mellifera L.) Kış Sonu Kayıplarının Mikrobiyal Ve Paraziter Hastalıklar Yönünden İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2012**.
- [187] Vu, V.H., Hong, S.I., Kim, K., Selection of Entomopathogenic Fungi for Aphid Control, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 104(6), 498-505, **2007**.
- [188] Bukhari, T., Takken, W., Koenraadt, J.M.C., Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae, *Parasites & Vectors*, 4: 23, **2011**.
- [189] Vänninen, I., Husberg, G.B., Hokkanen, H.M.T., Occurrence of entomopathogenic fungi and entomoparasitic nematodes in cultivated soils in Finland, *Entomologica Fennica*, 53, 65-71, **1989**.
- [190] Onions, A.H.S., Barron, G.L., Monophialidic species of Paecilomyces. Mycological Paper 107: 1-25, **1967**.
- [191] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs387/en/> (Mayıs,2015)

- [192] Klingen, I., Meadow, R., Aandal, T., Mortality of *Delia floralis*, *Galleria mellonella* and *Mamestra brassicae* with insect pathogenic hyphomycetous fungi, *Journal of Applied Entomology.*, 126, 231-237, **2002**.
- [193] Sun, M., Ren, Q., Guan, G., Liu, Z., Ma, M., Gou, H., Chen, Z., Virulence of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces lilacinus* to the engorged female *Hyalomma anatolicum anatolicum* tick (Acari: Ixodidae) *Veterinary Parasitology*, 180, 389–393, **2011**.
- [194] Gayathri, G., Balasubramanian, C., Moorthi, P.V., Kubendran, T., Larvicidal potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize), Brown and Smith on *Culex quinquefasciatus* (Say), *Journal of Biopesticides* 3(1 Special Issue) 147 – 151, **2010**.
- [195] Schapovaloff, M.E., Alves, L.F.A., Fanti, A.L., Alzogaray, R.A., Lastra, C.C.L., Susceptibility of adults of the cerambycid beetle *Hedypathes betulinus* to the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Purpureocillium lilacinum*, *Journal of Insect Science*, Vol. 14, Article 127, **2014**.
- [196] Doğan, Y., *Türkiye Topraklarından Elde Edilen Entomopatojen Fungusların Biyolojik Kontrol Ajanı Olarak Kullanılması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2008**.
- [197] Hicks, B.J., Watt, A.D., Cosens, D., The potential of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as a biological control agent against to pine beauty moth, *Panolis flammea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Forest Ecology and Management*, 149, 275-281, **2001**.
- [198] Beron, C.M., Diaz, B.M., Pathogenicity of hyphomycetous fungi against *Cyclocephala signaticollis*, *BioControl*, 50, 143-150, **2005**.
- [199] Gulsar, B., Subahasan, J.K., Iyer, R., Occurrence and Distribution of Entomopathogenic Nematodes in White Grub Endemic Areas of Kerala, *J. Plant Crops*, 32, 333-334, **2004**.

- [200] Takatsuka, J., Characterization of *Beauveria bassiana* Isolates from Japan Using Intersimple-Sequence Repeat-Anchored Polymerase Chain Reaction (ISSR-PCR) Amplification, *Applied Entomology and Zoology*, 42, 563-571, **2007**.
- [201] Brownbridge, M., Costa, S., Jaronski, S.T., , Effects of *in Vitro* Passage of *Beauveria bassiana* on Virulence to *Bemisia argentifolii*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 77, 280-283, **2001**.
- [202] De La Rosa, W., Lopez, F.L., Liedo, P., *Beauveria bassiana* as a pathogen of the mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions, *Journal of Economic Entomology*, 95(1): 36-43, **2002**.
- [203] Luz, C., Rocha, L.F.N., Nery, G.V., Detection of Entomopathogenic Fungi in Peridomestic Triatomine-Infested Areas in Central Brazil and Fungal Activity Against *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae), *Neotropical Entomology*, 33(6): 783-791, **2004**.
- [204] Trudel, R., Lavalley R., Guertin, C., Cote, C., Todorova, S.I., Alfaro, R., Kope, H., Potential of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) for controlling the white pine weevil, *Pissodes strobi* (Col., Curculionidae). *Journal of Applied Microbiology*, 131(2), 90-97, **2007**.
- [205] Jenkins, N.E., Thomas, M.B. Effect of formulation and application method on the efficacy of aerial and submerged conidia of *Metarhizium flavoviride* for locust and grasshopper control. *Pest Sci.* 46:299–306, **1996**.
- [206] Moore, D., Prior, C., The potential of mycoinsecticides. *Biocontrol News Inform.* 14:31–40, **1993**.

- [207] Stathers, T.E., Moore, D., Prior, C., The effect of different temperatures on the stability of *Metarhizium flavoviridae* conidia stored in vegetable and mineral oils, *Journal of Invertebrate Pathology*, 62: 111–115, **1993**.
- [208] Bateman, R.P., Carey, M., Moore, D., Prior, C., The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. *Annals of Applied Biology*, 122:145–152, **1993**.
- [209] Polar, P., Kairo, M.T.K., Petrkin, D., Moore, D., Pegram, R., John, S., Assessment of fungal isolates for development of a myco-acaricide for cattle tick control. *Vector-Borne Zoonot.* 5:276–284, **2005**.
- [210] Inglis, G.D., Johnson, D.L., Goettel, M.S., Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symptodulosporae) of grasshoppers under field Conditions. *Environmental Entomology*, 26:400–409, **1997**.
- [211] Batta, Y.A., Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes), *Crop Protection* 22, 415–422, **2003**.
- [212] Bandani, A.R, Esmailpour N., Oil formulation of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, against Sunn pest, *Eurygaster integriceps* puton (Heteroptera: Scutelleridae), *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71(2):443–448, **2006**.
- [213] Kirubakarana, S.A., Sathish-Narayanana, S., Revathia, K., Chandrasekarana, R., Senthil-Nathana, S., Effect of oil-formulated *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae), *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, Vol. 47, No. 8, 977–992, **2014**.

- [214] Veys-Behbahani, R., Sharififard, M., Dinparast-Djadid, N., Shamsi, J., Fakoorziba, M.R., Laboratory evolution of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against *Anopheles stephensi* larvae (Diptera: Culicidae) Asian Pac J Trop Dis, 4(Suppl 2): S799-S802, **2014**.
- [215] Dobzansky, T., Ayala, F.J., Stebbins, G.L., Valentine, J.W., Evolution, W.H: Freeman and Company, San Fransisco, 572p, **1977**.
- [216] Reeve, M.W., Fowler, K., Partridge, L., Increased body size confers greater fitness at lower experimental temperature in male *Drosophila melanogaster*, *Journal of Evolutionary Biology*, 13, 836 – 844, **2000**.
- [217] Bidochka, J.M., Menzies, V.F., Kamp, M.A., Genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* are associated with habitat and thermal growth preferences, *Archives Microbiology*, 178 :531–537, **2002**.
- [218] Rehner, S.A., Buckley, E.P., Isolation and Characterization of Microsatellite Loci from the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales), *Molecular Ecology Notes*, 3, 409-411, **2003**.
- [219] Rehner, S.A., Posada, F., Buckley, E.P., Infante, F., Castillo, A., Vega, F.E., Phylogenetic Origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. Pathogens of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 93, 11-21, **2006**.
- [220] Muro, M.A., Mehta, S. Moore, D., The Use of Amplified Fragment Length Polymorphism for Molecular Analysis of *Beauveria bassiana* Isolates from Kenya and Other Countries, and Their Correlation with Host and Geographical Origin, *FEMS Microbiol. Lett.*, 229, 249-257, **2003**.
- [221] Muro, M.A., Elliott, S., Moore, D., Parker, B.L., Skinner, M., Reid, W., Boussini, M.E., Molecular Characterization of *Beauveria bassiana* Isolates Obtained from Overwintering Sites of Sunn Pests (*Eurygaster* and *Aelia* species), *Mycological Research*, 109, 294-306, **2005**.

[222] Gaitan, A., Valderrama, A.M., Saldarriaga, G., Velez, P., Bustillo, A., Genetic Variability of *Beauveria bassiana* Associated with the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* and Other Insects, *Mycological Research*, 106, 1307-1314, **2002**.

[223] Chelico, L., Haughian, J.L., Khachatourians, G.G., Nucleotide excision repair and photoreactivation in the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Beauveria nivea*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* and *Verticillium lecanii*, *Journal of Applied Microbiology*, 100, 964-972, **2006**.

[224] Fernandes, E.K.K., Rangel, D.E.N., Moraes, A.M.L., Bittencourt, V.R.E.P., Roberts, D.W., Variability in tolerance to UV-B radiation among *Beauveria* spp. isolates, *Journal of Invertebrate Pathology*, 96, 237-243, **2007**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik bilgileri

Adı Soyadı : Semiha Selda YILDIZ
Doğum Yeri : Ankara
Medeni Hali : Bekar
E-posta : seldayildiz@hacettepe.edu.tr
Adresi : İlker Mah. 794.sok. No:10/12 Çankaya-ANKARA

Eğitim

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi Uygulamalı Biyoloji Anabilim Dalı
Doktora :

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce YDS 68,75 (D)
Almanca başlangıç

İş Deneyimi : -

Deneyim Alanları

Entomopatojen fungusların üretilmesi, çeşitli canlılar üzerindeki etkilerinin araştırılması. Kum sineği ve sivrisinek kolonileri oluşturma ve yetiştirme çalışmaları.

Tezden üretilmiş Projeler ve Bütçesi : -

Tezden Üretilmiş Yayınlar : -

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu İle Katıldığı Toplantılar

Yıldız S.S., Keskin N., Özgör E., Schiesser A., Çelebier İ., Ulusoy M., "Ülkemiz Topraklarında Entomopatojen Fungusların Araştırılması"(poster bildiri) 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir, 23-27 Haziran 2014.