

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BATI ÇİÇEK TRİPSİ *Frankliniella occidentalis* (PERGANDE)
(THYSANOPTERA: THRIPIDAE)'DEN ENTOMOPATOJEN FUNGUS
İZOLASYONU, TANILANMASI VE ZARARLIYA KARŞI ETKİNLİKLERİNİN
TEST EDİLMESİ**

Musa KIRIŞIK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

HAZİRAN 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BATI ÇİÇEK TRİPSİ *Frankliniella occidentalis* (PERGANDE)
(THYSANOPTERA: THRIPIDAE)'DEN ENTOMOPATOJEN FUNGUS
İZOLASYONU, TANILANMASI VE ZARARLIYA KARŞI ETKİNLİKLERİNİN
TEST EDİLMESİ**

Musa KIRIŞIK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

HAZİRAN 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BATI ÇİÇEK TRİPSİ *Frankliniella occidentalis* (PERGANDE)
(THYSANOPTERA: THRIPIDAE)’DEN ENTOMOPATOJEN FUNGUS
İZOLASYONU, TANILANMASI VE ZARARLIYA KARŞI ETKİNLİKLERİNİN
TEST EDİLMESİ

Musa KIRIŞIK
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FDK-2019-4940 nolu proje ile desteklenmiştir.

HAZİRAN 2021

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BATI ÇİÇEK TRİPSİ *Frankliniella occidentalis* (PERGANDE)
(THYSANOPTERA: THRIPIDAE)’DEN ENTOMOPATOJEN FUNGUS
İZOLASYONU, TANILANMASI VE ZARARLIYA KARŞI ETKİNLİKLERİNİN
TEST EDİLMESİ

Musa KIRIŞIK
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 24/06/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fedai ERLER (Danışman)
Prof. Dr. İsmail KARACA
Doç. Dr. Hatice İKTEN
Doç. Dr. Mürsel ÇATAL
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KEÇECİ

ÖZET

Batı Çiçek Tripsi *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae)'den Entomopatojen Fungus İzolasyonu, Tanınması ve Zararlıya Karşı Etkinliklerinin Test Edilmesi

Musa KIRIŞIK

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fedai ERLER

Haziran 2021; 87 sayfa

Antalya örtüaltı yetiştiriciliğinde birçok sebze ve süs bitkisinin ana zararlısı olan *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) doğrudan bitkiler üzerinde zarar yapmakla birlikte önemli bazı virüslerin de vektörü olarak zarar yapmaktadır. Entomopatojen funguslar (EPF), dünya çapında zararlı böceklerle mücadelede yaygın olarak kullanılan mikrobiyal mücadele ajanlarından bir tanesidir. Zararlı böceklerin bulunduğu coğrafik bölgelerde bulunan yerel izolatlar, mücadelede önemli avantajlara sahiptirler. Bu çalışmada, Antalya İli'nde tarımsal faaliyetlerin yoğun olarak yapıldığı Aksu, Finike, Kaş, Kemer, Konyaaltı, Kumluca ve Manavgat ilçelerinden, bölgeyi en iyi şekilde temsil eden farklı alanlardan entomopatojen fungus ile enfekteli veya enfekteli olduğundan şüphelenilen *F. occidentalis* bireyleri toplanmıştır. Laboratuvarında stereo-mikroskop altında incelenen trips örneklerinden ölü olanlar, canlı ve hastalık belirtileri gösterenler tespit edilmiştir. Entomopatojen enfekteli olan bireyler SDA ortamına izole edilmiştir. Getirilen örneklerden yapılan izolasyonlar sonucunda; *Akanthomyces muscarius* türüne ait 2, *Alternaria infectoria* türüne ait 3, *Al. arborescens/brassicae* türüne ait 1, *Al. infectoria/forlicesenensis* türüne ait 1, *Sporothrix pallida* türüne ait 1, *Cladosporium cladosporioides* türüne ait 7, *Cladosporium oxysporum/cladosporioides* türüne ait 1, *Fusarium incarnatum/equiseti* türüne ait 1, *Al. alternata* türüne ait 5, *Al. alternata/arborescens* türüne ait 2, *Aspergillus ochraceus* türüne ait 1, *Fusarium oxysporum/chlamydosporum* türüne ait 1, *Beauveria bassiana* türüne ait 3, *Isaria fumosorosea* türüne ait 1 ve *Lecanicillium psalliotae* türüne ait 1 olmak üzere 31 farklı izolat elde edilmiştir. Elde edilen funguslardan etkili 5 izolatı elde etmek amacıyla, entomopatojen fungusların *F. occidentalis* üzerindeki etkinliklerini belirleme çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmalar $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\%70\pm5$ orantılı neme sahip iklim odasında gerçekleştirilmiştir. 1×10^7 konidiospor/ml dozda, *F. occidentalis*'e karşı $\%75$ ve üzeri ölüm oranına sahip *Beauveria bassiana* M48, *Beauveria bassiana* M49, *Isaria fumosorosea* M50, *Akanthomyces muscarius* DOA1 ve *Lecanicillium psalliotae* DOA3 izolatları yüksek patojenik özelliğe sahip oldukları belirlendi. Diğer 26 izolat, *F. occidentalis*'e karşı yürütülen çalışmada patojen özellik göstermedi. Ön deneme çalışmalarında ümitvar derecede patojen olarak belirlenen *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarının 1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidiospor /ml olacak şekilde hazırlanan spor süspansiyonlarında $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\%70\pm5$ orantılı neme sahip iklim odasında *F. occidentalis*'in farklı biyolojik dönemlerine (larva, pupa ve ergin dişi) karşı patojeniteleri araştırılmıştır. Çalışma kapsamında patojenik olan 5 izolat morfolojik olarak tanılanmış, ayrıca tüm izolatların

tür teşhisi moleküler yöntemler kullanılarak doğrulanmıştır. Sonuç olarak, *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarının, *F. occidentalis*'in farklı yaşam dönemlerine karşı gösterdikleri yüksek ölüm oranı nedeniyle biyolojik mücadelede etkili bir şekilde kullanılabileceği önerilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Antalya, Batı çiçek tripsi, Biyolojik mücadele, Entomopatojen fungus, *Frankliniella occidentalis*

JÜRİ: Prof. Dr. Fedai ERLER

Prof. Dr. İsmail KARACA

Doç. Dr. Hatice İKTEN

Doç. Dr. Mürsel ÇATAL

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KEÇECİ

ABSTRACT

Isolation and Identification of Entomopathogenic Fungi From Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), and Screening of Their Efficacy Against the Pest

Musa KIRIŞIK

PhD Thesis in Plant Protection Department

Supervisor: Prof. Dr. Fedai ERLER

June 2021; 87 pages

Frankliniella occidentalis (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), which is the major pest of many vegetable and ornamental plants in greenhouse growing in Antalya, can both directly damage plants by sucking plant sap and indirectly damage as the vector of some important plant viruses. Entomopathogenic fungi (EPF) are one of the most widely used microbial control agents in pest control worldwide. Local isolates of EPF in geographic areas where pests are found have important advantages in control. In this study, *F. occidentalis* individuals infected or suspected of being infected with EPF were collected from different locations representing the region in the best way in Kemer, Kumluca, Finike, Kaş, Konyaaltı, Manavgat and Aksu counties of Antalya Province where agricultural activities are carried out intensively. Among the collected thrips samples were examined under a stereo-microscope in the laboratory, and those which were dead, alive and showing disease symptoms were determined. EPF-infected individuals were isolated in SDA medium. As a result of the isolations made from the samples brought; 31 different isolates belonging to the genera *Akanthomyces*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Isaria*, *Lecanicillium* and *Sporothrix* were obtained. In order to determine the 5 most effective fungal isolates, all fungal isolates were screened for their pathogenicity against *F. occidentalis*. Pathogenicity assays were carried out in a climate chamber with a temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and a relative humidity of $70 \pm 5\%$. At a conidial concentration of 1×10^7 conidia/ml, 2 isolates of *Beauveria bassiana* (M48 and M49), 1 isolate of *Isaria fumosorosea* (M50), 1 isolate of *Akanthomyces muscarius* (DOA1) and 1 isolate of *Lecanicillium psalliotae* (DOA3) were determined to have high pathogenic activity with a mortality rate of $\geq 75\%$ against *F. occidentalis*. The remaining 26 isolates showed no pathogenicity in the study conducted against *F. occidentalis*. The isolates (M48, M49, M50, DOA1 and DOA3), which had been determined as promising pathogens in preliminary tests, were assayed at three different spore suspensions (1×10^5 , 1×10^6 and 1×10^7 conidia/ml) for their pathogenicity against different biological stages (larvae, pupa and adult females) of *F. occidentalis* in a climate chamber with a temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and a relative humidity of $70 \pm 5\%$. During the study, the 5 most virulent fungal isolates were identified morphologically, and the species identification of all isolates was confirmed by using molecular methods. As a result, it has been suggested that the isolates, M48, M49, M50, DOA1 and DOA3 can be used effectively in biological control of *F. occidentalis* due to having high mortality rates against different life stages of pest.

KEYWORDS: Antalya, Biological control, Entomopathogenic fungi, *Frankliniella occidentalis*, Western flower thrips

COMMITTEE: Prof. Dr. Fedai ERLER

Prof. Dr. İsmail KARACA

Assoc. Prof. Dr. Hatice İKTEN

Assoc. Prof. Dr. Mürsel ÇATAL

Asst. Prof. Dr. Mehmet KEÇECİ



ÖNSÖZ

Ülkemizde, *Frankliniella occidentalis*'e karşı başka ülkelerde de olduğu gibi kimyasal mücadele halen yaygın kullanılmaktadır. Polifag bir zararlı olan *F. occidentalis*, kısa generasyon süresi ve yüksek üreme potansiyeli sayesinde insektisitlere karşı direnç geliştirmek için önemli bir avantaja sahiptir. Çok sayıda zararlıda olduğu üzere söz konusu zararlıda da insektisitlere karşı direnç önemli ve yaygın bir sorundur, bu yüzden bazı insektisitler tavsiye dozunun üzerinde kullanılmaktadır. Bu durum, doğal düşmanları yok etmesinin yanı sıra çevre ve insan sağlığı üzerinde de istenmeyen olumsuz etkilere yol açmaktadır. Biyolojik mücadeleye doğru bir ilginin olduğu günümüzde, *F. occidentalis* ile mücadelede biyolojik preparatlar büyük önem arz etmektedir. Burada sunulan tez çalışmasında Antalya ve bazı ilçelerinden alınan entomopatojen funguslar ile enfekteli olduğu düşünülen *F. occidentalis* bireyleri üzerinden fungusların izolasyonu, moleküler, morfolojik olarak tanımlanması, en virulent izolatların belirlenmesi ve bunların laboratuvar şartlarında etkinliklerinin *F. occidentalis*'in değişik biyolojik dönemlerine karşı test edilmesi hedeflenmiştir. Sonuç olarak en etkili fungal izolatların belirlenerek, ileride yapılacak çalışmalarla zararlıya karşı etkili bir biyopreparat elde edilmesine temel oluşturacaktır. Böylece, ekonomik ve ekolojik açılardan bir düzeyde de olsa fayda sağlanabilecektir.

Bu araştırma için tavsiyeleriyle çalışmalarına yön veren, danışman hocam sayın Prof. Dr. Fedai ERLER (Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)'e, tez çalışmaları için laboratuvar altyapısını kullandığım Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dekanlığı'na ve Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na teşekkür ederim. Araştırmalarımnda yardımlarını esirgemeyen eşim ve meslektaşım Ziraat Yüksek Mühendisi Mukaddes ERSOYOL KIRIŞIK'a, kızım Cemile Doğa KIRIŞIK'a, araştırmalarımın bir kısmını yürüttüğüm Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitü Müdürlüğü (BATEM)'ne, Enstitü Müdürü Dr. Abdullah ÜNLÜ'ye ve Bitki Sağlığı Bölümü'nde çalışan mesai arkadaşlarım Dr. Emine TOPUZ, Ziraat Yüksek Mühendisi Tuba KAHRAMAN, Ziraat Yüksek Mühendisi Kübra YILDIZ, Dr. İlker KURBETLİ ve Ziraat Teknikeri Nalan KARATEKİN'e teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ.....	iii
AKADEMİK BEYAN	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Biyolojik Mücadele.....	2
1.2. Mikrobiyal Mücadele.....	2
1.3. Entomopatojen Funguslar.....	3
1.3.1. Entomopatojen fungusların sınıflandırılması.....	3
1.3.2. Entomopatojen fungusların genel biyolojisi.....	5
1.3.3. Entomopatojen fungusların etki mekanizmaları.....	5
1.3.4. Entomopatojen funguslar tarafından üretilen toksinler.....	6
1.3.5. Entomopatojen fungus kullanımının avantajları.....	7
1.3.6. Entomopatojen fungus kullanımının dezavantajları.....	8
1.3.7. Entomopatojen fungusların depolanması.....	8
1.3.7.1. Kısa süreli saklama tekniği (Seri transfer).....	8
1.3.7.2. Mineral yağ tekniği.....	8
1.3.7.3. Distil su altında saklama tekniği.....	9
1.3.7.4. Liyofilize ederek saklama tekniği	9
1.3.7.5. Silika jel tekniği.....	9
1.3.7.6. Sıvı azot dondurucularda kriyojenik saklama tekniği.....	10
1.3.8. Entomopatojen fungusların test yöntemleri.....	12
1.3.8.1. İnjesiyon yöntemi.....	12
1.3.8.2. Ağızdan penetrasyon yöntemi.....	12

1.3.8.3. Topikal uygulama yöntemleri	13
1.3.9. Ülkemizde ruhsatlı entomopatojen funguslar.....	14
1.4. <i>Frankliniella occidentalis</i> 'in Tanımı, Biyolojisi ve Zararı.....	14
1.4.1. Entomopatojen funguslar ile <i>Frankliniella occidentalis</i> 'in mücadelesi.....	17
2. KAYNAK TARAMASI.....	19
2.1. Ülkemizde Trips Türleri Üzerinde Entomopatojen Fungusların Etkinlik Belirleme Çalışmaları	19
2.2. Ülkemiz Dışında Trips Türleri Üzerinde Entomopatojen Fungusların Etkinlik Belirleme Çalışmaları	20
3. MATERYAL VE METOD	24
3.1. Materyal	24
3.2. Metod.....	24
3.2.1. Entomopatojen fungusların örneklenmesi ve izolasyonu.....	24
3.2.1.1. Örneklem yerleri ve zamanları.....	24
3.2.1.2. Enfekteli trips örneklerinin toplanması ve laboratuvara getirilmesi ...	26
3.2.1.3. Enfekteli trips örneklerinden fungus izolasyonu.....	26
3.2.2. Elde edilen entomopatojen fungus izolatlarının tanısı	27
3.2.2.1. Morfolojik tanıları.....	27
3.2.2.2. Moleküler tanımlamaları.....	28
3.2.2.3. Hedef gen bölgelerinin çoğaltılması.....	29
3.2.2.4. DNA dizi analizi ve filogenetik analiz.....	30
3.2.3. Elde edilen entomopatojen fungusların <i>F. occidentalis</i> 'e karşı etkinlikleri	30
3.2.3.1. <i>Frankliniella occidentalis</i> üretimi.....	30
3.2.3.2. Laboratuvar etkinlik testleri.....	31
3.2.3.3. Patojenisitesi yüksek 5 entomopatojen fungusun belirlenmesi	32
3.2.3.4. Ümitvar 5 entomopatojen fungusun laboratuvar koşullarında etkinliklerinin belirlenmesi.....	33
3.2.3.5. Spor çimlenmesinin belirlenmesi	34
3.2.5.5. Veri toplama ve istatistiksel analiz.....	35

4. BULGULAR	36
4.1. <i>Frankliniella occidentalis</i> 'ten İzole Edilen Funguslar	36
4.2. Elde Edilen Entomopatojen Fungus İzolatlarının Tanısı	37
4.2.1. Ümitvar 5 entomopatojen fungusun morfolojik tanılamaları	37
4.2.1.1. M48 isimli <i>Beauveria bassiana</i> izolatının morfolojisi	37
4.2.1.2. M49 isimli <i>Beauveria bassiana</i> izolatının morfolojisi	38
4.2.1.3. M50 isimli <i>Isaria fumosorosea</i> izolatının morfolojisi	39
4.2.1.4. DOA1 isimli <i>Akanthomyces muscarius</i> izolatının morfolojisi	39
4.2.1.5. DOA3 isimli <i>Lecanicillium psalliotae</i> izolatının morfolojisi	40
4.2.2. Entomopatojen fungusların moleküler tanılamaları	41
4.3. Elde Edilen Entomopatojen Fungusların <i>F. occidentalis</i> 'e Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesi	46
4.3.1. Patojenisitesi yüksek 5 entomopatojen fungusun belirlenmesi	46
4.3.2. Ümitvar 5 entomopatojen fungusun laboratuvar koşullarında etkinliklerinin belirlenmesi	47
4.3.1. Spor çimlenmesinin belirlenmesi	56
5. TARTIŞMA	57
5.1. <i>Frankliniella occidentalis</i> 'ten İzole Edilen Funguslar	57
5.2. Entomopatojen Fungusların Etkinliklerinin Belirlenmesi	57
5.3. Ümitvar 5 Entomopatojen Fungusun Morfolojik Tanılamaları	62
5.4. Entomopatojen Fungusların Moleküler Tanılamaları	63
6. SONUÇLAR	65
7. KAYNAKLAR	67
8. EKLER	77
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Batı Çiçek Tripsi *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae)’den Entomopatojen Fungus İzolasyonu, Tanılanması ve Zararlıya Karşı Etkinliklerinin Test Edilmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

24/06/2021

Musa KIRIŞIK

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	:Yüzde
°C	:Santigrat derece
dk	:Dakika
g	:Gram
l	:Litre
mg	:Miligram
ml	:Mililitre
µm	:Mikrometre
mm	:Milimetre
MgCl ₂	:Magnezyum klorür
UV	:Ultraviyole

Kısaltmalar

CTAB	:Cetyltrimethylammonium Bromide
DNA	:Deoxyribonucleic Acid
dNTP	:Deoxynucleotide Triphosphate
GPS	:Küresel Yer Belirleme Sistemi
ITS	:Internal Transcribed Spacer
PDA	:Patates Dekstroz Agar
PCR	:Polymerase Chain Reaction
SDA	:Sabaroud Dekstroz Agar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon aşamaları.....	6
Şekil 1.2. <i>Frankliniella occidentalis</i> yumurtası	15
Şekil 1.3. <i>Frankliniella occidentalis</i> larvaları.....	16
Şekil 1.4. <i>Frankliniella occidentalis</i> pupası.....	16
Şekil 1.5. <i>Frankliniella occidentalis</i> ergin dişi.....	17
Şekil 3.1. Enfekteli trips bireylerinin bitkilerden toplanması	24
Şekil 3.2. Üzerinde fungal gelişim görülen tripslerin sterilizasyondan sonra SDA ortamına konduktan birkaç gün sonraki gelişimi	27
Şekil 3.3. Entomopatojen fungusların mikroskopta morfolojik yönden incelenmesi	28
Şekil 3.4. Entomopatojen funguslardan DNA izolasyonu	29
Şekil 3.5. <i>Frankliniella occidentalis</i> 'in kavanozda çoğaltılması	31
Şekil 3.6. SDA ortamında gelişen fungusların misel ve sporlarının hasat edilmesi	32
Şekil 3.7. Spor süspansiyonları yaprakların üzerinde bulunan trips bireylerine ilaçlama kulesi (spray-tower) kullanılarak püskürtülmesi	33
Şekil 3.8. Entomopatojen fungusların etkinlik denemelerinin kurulumu	34
Şekil 4.1. a) M48 isimli <i>Beauveria bassiana</i> izolatının koloni görüntüsü b) Mikroskop görüntüsü.....	38
Şekil 4.2. a) M49 isimli <i>Beauveria bassiana</i> izolatının koloni görüntüsü b) Mikroskop görüntüsü.....	38
Şekil 4.3. a) M50 isimli <i>Isaria fumosorosea</i> izolatının koloni görüntüsü b) Mikroskop görüntüsü.....	39
Şekil 4.4. a) DOA1 isimli <i>Akanthomyces muscarius</i> izolatının koloni görüntüsü b) Mikroskop görüntüsü.....	40
Şekil 4.5. a) DOA3 isimli <i>Lecanicillium psalliotae</i> izolatının koloni görüntüsü b) Mikroskop görüntüsü.....	40
Şekil 4.6. ITS 2 ve ITS 5 primeri ile elde edilen DNA bantları, M; DNA ladder 100 bp (SolisBiodyne), DOA1, DOA2, DOA3'ün yaklaşık 580 bp'de, K4 yaklaşık 450 bp'de verdiği bantlar	41

Şekil 4.7. a-c ITS 1 ve ITS 4 primeri ile elde edilen DNA bantları, M; DNA ladder 100 bp (SolisBiodyne), tüm izolatların yaklaşık 580 bp’de verdiği bant görüntüsü.....	42
Şekil 4.8. Tezde elde edilen fungus izolatlarının ITS gen bölgelerinin filogenetik dendrogramı.....	45
Şekil 4.9. <i>Lecanicillium psalliotae</i> DOA3 izolatı tarafından enfekte edilen <i>F. occidentalis</i> larvası	48
Şekil 4.10. <i>Beauveria bassiana</i> M48 izolatı tarafından enfekte edilen <i>F. occidentalis</i> pupası.....	48
Şekil 4.11. <i>Beauveria bassiana</i> M49 izolatı tarafından enfekte edilen <i>F. occidentalis</i> ergin dişisi.....	49
Şekil 4.12. <i>Isaria fumosorosea</i> M50 izolatı tarafından enfekte edilen <i>F. occidentalis</i> ergin dişisi.....	49
Şekil 4.13. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde izolatların larva dönemine karşı sebep olduğu ölüm oranları (%)	51
Şekil 4.14. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde izolatların pupa dönemine karşı sebep olduğu ölüm oranları (%)	53
Şekil 4.15. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde izolatların ergin dişi dönemine karşı sebep olduğu ölüm oranları (%)	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Önemli entomopatojenik fungus cinsleri.....	4
Çizelge 1.2. Entomopatojen funguslar tarafından üretilen bazı toksinler.....	7
Çizelge 1.3. Entomopatojen fungusların saklama yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları.....	11
Çizelge 1.4. Ülkemizde ruhsatlı entomopatojen funguslar	14
Çizelge 3.1. Örneklerin toplanma yerleri, koordinatları, zamanları ve konukçusu.....	25
Çizelge 4.1. Elde edilen örneklerin türleri	36
Çizelge 4.2. İzolatların gen bankasındaki izolatlarla benzerlik oranları	43
Çizelge 4.3. Entomopatojen fungusların çimlenme ve <i>F. occidentalis</i> üzerine etkileri	46
Çizelge 4.4. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde izolatların larva dönemine karşı sebep olduğu ölüm oranları (%) ve standart sapmaları	50
Çizelge 4.5. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde izolatların pupa dönemine karşı sebep olduğu ölüm oranları (%) ve standart sapmaları	52
Çizelge 4.6. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde izolatların ergin dişilere karşı sebep olduğu ölüm oranları (%) ve standart sapmaları.....	54

1. GİRİŞ

Ülkemizde örtüaltı sebze ve süs bitkileri üretimi yoğun olarak Akdeniz sahil bandında yapılmaktadır. Bu üretimin en yoğun olarak yapıldığı il ise Antalya'dır. Türkiye örtüaltı sebze üretim alanı toplamı 757.201 dekadır. Antalya ili ve ilçelerinde bulunan örtü altı üretim alanı, bu toplamda %41'lik bir paya sahiptir (TÜİK 2020). Ek olarak, 2019 yılında Antalya'dan 263.791.071 dolar'lık yaş sebze ihracatı gerçekleştirildiği bildirilmiştir (BAİB 2020).

Üreticilerin zararlılarla mücadelede tek yolu kimyasal mücadele olarak görmeleri zamanla insan ve çevre sağlığına zarar vermiş, bunun yanı sıra zararlılarda direnç problemi de ortaya çıkmıştır. Bilinçsiz kimyasal uygulamaları doğada hali hazırda var olan faydalı popülasyonunun azalmasına da neden olmuştur. Ancak kimyasal mücadelenin zararlarının toplum tarafından kanıksanmaya başlanmasının ardından biyolojik mücadeleye bir merak ortaya çıkmıştır. Biyolojik mücadele ile ilgili çalışmaların yaygınlaşmasının ardından entomopatojen fungusların etkileri de merak edilmeye başlanmıştır. Çalışmalar sonucunda entomopatojen fungusların zararlıları kontrol altına alabilmede başarılı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Yerli entomopatojen fungusların zararlıları başarı ile kontrol altına alabildiğine dair çok sayıda çalışma olsa da, ülkemizde ruhsatlanmış yerli bir biyolojik ajan yoktur. Oysa getirilen bu preparatlar yurt dışı orjinli olup, ülkemiz koşullarına ne kadar adapte oldukları tam anlamıyla bilinmemektedir. Öte yandan, yurt dışı orjinli biyolojik preparatların kullanılması biyolojik çeşitliliğimizin korunması konusunda tartışmalara neden olmaktadır. Ülkemizde ve yurtdışında entomopatojen fungusların farklı ırklarının zararlılara etkisinin saptandığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Biyolojik mücadele uygulamalarında yerli doğal düşmanların kullanımı, bulunduğu yerdeki ekolojik şartlara uyumu dolayısıyla, mücadelede başarının temel ilkelerindendir. Bu sebeplerle Akdeniz Bölgesi'nde örtüaltı sebze yetiştiriciliğinde zararlı olan organizmalara karşı kullanılabilecek, bölge ekolojisi ile uyumlu, yerli entomopatojen fungusların araştırılması ve tespit edilenlerin yine bu zararlılar üzerinde patojenitelerinin tespit edilmesi önem arz etmektedir. Hali hazırda günümüzde biyolojik mücadelede ticari olarak kullanılan entomopatojen fungusların tamamının ithal olduğu ve dolayısıyla ekstra bir maliyet getirdiği göz önüne alınırsa bu tip çalışmalara ihtiyaç olduğu göz ardı edilmemelidir.

Fungusların sınıflandırılmasında kullanılan morfolojik yöntemlerin zaman zaman anlamsız benzerliklerden dolayı sorun olabilmektedir. Ancak sınıflandırmada kullanılan moleküler yöntemler sınıflandırmayı daha kolay hale getirmiştir. Fungusların moleküler tanılama araştırmalarında genellikle 18S rDNA, 28S rDNA, ITS gibi çekirdek ve mitokondrial rDNA bölgeleri ve RPB1, RPB2, EF-1 α gibi protein kodlayan genler kullanılmaktadır. ITS bölgelerinin küçük olması (500-800 bp), rahatlıkla kopyalanabilmesi, türe özgü problemleri geliştirebilme kolaylığı gibi özelliklerinden dolayı araştırmacılar tarafından fungus tanılmasında ITS primerleri kullanımı yaygındır (Kılıçoğlu ve Özkoç 2008).

Örtüaltı sebze ve süs bitkileri yetiştiriciliğinde çok sayıda hastalık ve zararlı etmeniyle karşılaşmakta ve bunlarla mücadele etme zorunluluğu ortaya çıkmaktadır. Bu zararlılardan biri de Batı çiçek tripsi *Frankliniella occidentalis* (Pergande)

(Thysanoptera: Thripidae)'tir. *F. occidentalis*'in yüksek oranda gösterdiği pestisit direnci sebebiyle kontrolü oldukça zordur (Minakuchi vd. 2013). Ayrıca bu türün yumurtalarını yaprak dokusunun içine bırakması, erginlerin ve larvaların çiçeklerin derinliklerinde, meyvenin kaliksi altında ve yeni açılmakta olan yapraklarda beslenmesinden, prepupa ve pupa aşamaları toprak altında ya da bitki artıkları içinde yer aldığından, pestisit uygulamalarından istenilen başarı sağlanamamaktadır (Rob ve Parella 1995, Weintraub vd. 2011). Ayrıca, *F. occidentalis* doğrudan yaptığı zararın yanında tütün, biber ve domateste, Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus; TSWV)'nün de vektörüdür (Pappu vd. 2000, Sakimura 1962). Bunun yanı sıra, süs bitkilerinde zararlı diğer bir virüs olan Impatiens Nekrotik Leke Virüsü (Impatiens Necrotic Spot Virus; INSV)'nün de vektörüdür (DeAngelis vd. 1994). Bahsi geçen bu virüslere karşı önlem almak için en etkili metot ise, tripslerle mücadele etmek yoluyla bu virüslerin bitkileri enfekte etmesini engellemektir (Rob ve Parella 1995).

Bu çalışmada; sebze ve süs bitkileri yetiştiriciliğinde önemli bir zararlı olan *F. occidentalis*'in genelde kimyasallara dayalı mücadele stratejisinin yerine çevreci bir yöntem olan entomopatojen fungusların etkili bir şekilde kullanımı amaçlanmaktadır. Bu amaçla; bu çalışmada entomopatojen fungusların söz konusu zararlı üzerinden izolasyonu, moleküler olarak tanımlanması ve en virulent ırkların belirlenmesi ve bunların laboratuvar şartlarında zararlının değişik biyolojik dönemlerine karşı etkinliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

1.1. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele, zararlı organizmalar üzerinde başarılı olan doğal düşmanları (böcekler, akarlar, omurgalılar, entomopatojen funguslar, bakteriler, virüsler, vs.) kullanarak zararlıları ekonomik zarar eşiğinin altında tutabilen bir mücadele metotudur. Doğal ekosistemlerde kendiliğinden süregelen 'doğal biyolojik mücadele'de birçok zararlının popülasyonu kontrol altındadır. Ancak intansif tarımın uygulandığı örtüaltı yetiştiriciliğinde yapılacak biyolojik mücadele için, biyolojik mücadele etmenlerinin laboratuvarda kitle halinde üretilip belli aralıklarla salınması gerekmektedir (Kırışik ve Erler 2017).

Üreticiler tarafından çoğu zaman intansif tarım alanlarında hedef yalnızca verim artışı olarak düşünülmektedir. Ancak buradaki temel prensibin tarımın sürdürülebilir olmasını sağlamak olmalıdır. Yapılacak olan tarımsal faaliyetlerin ekolojik dengeye katkı sağlayabilmesi, üretilen ürünlerin insan ve çevre sağlığına zararsız olması gerekmektedir. Bu noktada ürün kayıplarına neden olan zararlıların kontrolünde, biyolojik mücadele yönteminin en doğal yöntem olduğu düşünülmektedir.

1.2. Mikrobiyal Mücadele

Mikrobiyal mücadele, tarım ve ormancılıkta zarar oluşturan bir organizmanın zararlı etkisini mikroorganizmalar veya mikroorganizmaların ürünleri kullanılarak ortadan kaldırma işlemidir. Mikroorganizmalar; funguslar, bakteriler, virüsler, nematodlar ve protozoalardan oluşur. Bazıları böceklerin ölümüne neden patojen türlerdir. Ayrıca bazı türleri belli böcek tür, cins veya familyalarına özelleşmişlerdir. Böceğin etrafında veya toprakta bulunan mikroorganizmalar enfeksiyona neden olurlar. Mikroorganizmalar böcek vücuduna çeşitli yollarla girer. Virüsler, bakteriler,

nematotlar ve protozolar genellikle ağız yoluyla böcek vücuduna alınırlar. Funguslar ve bazı nematotlar ise kütikula yüzeyinden, kütikuladaki yaralardan ve anüs yoluyla böcek vücudunu enfekte edebilirler. Patojenler böceğin vücuduna girdikten sonra uygun koşullarda çoğalmaya başlarlar. Mikrobiyal preparatların hedeflenen zararlılara etkilerinin yanında, diğer mücadele yöntemleri ile uyumluluğu ve kullanımlarının güvenli olması avantajdır (Anonim 2019).

1.3. Entomopatojen Funguslar

Entomopatojen funguslar, zararlı böcekler ile mücadelede kullanılmış ilk patojen mikroorganizmalardır (Rombach ve Gillespie 1988). Bunun yanı sıra entomopatojen funguslar zararlılar üzerinde en yaygın hastalık yapıcı organizmalardır. Birkaç takson dışında bu funguslar konukçularını integumentten direkt enfekte etmesi bakımından böcek patojenleri arasında önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle ağız yoluyla alınması zorunlu olan patojenlerin başarısız olduğu sokucu-emici ağız yapısına sahip zararlıların mikrobiyal mücadelesinde oldukça başarılı bir gruptur. Böceğe temas eden ve yapışan fungus sporları çimlenir ve hiflerini yayarlar. Bunlar kütikulanın içine girer, hemosöle yayılır ve toksinlerini bırakarak hızlı bir şekilde ya da böceğin vücut fonksiyonlarını zarara uğratacak şekilde yoğun hif çoğalması ile yavaşça ölüme neden olurlar. Funguslar daha sonra spor oluştururlar, diğer böceklerde enfeksiyon oluşturacak sporları yayarlar ve böylece fungus hastalıkları böcek popülasyonları arasında yayılabilir. Sporlanma çimlenme ve enfeksiyon için genellikle nemli koşullara ihtiyaç duyulur (Anonim 2019). Uygun nem ve sıcaklık koşullarında entomopatojen funguslar zararlılarda epizootiğe yol açar ve o alandaki spesifik zararlı popülasyonunu azaltırlar (Shahid vd. 2012). Yapılan çalışmalarının çoğu, hedef zararlı için en etkili olan fungus izolatu ya da izolatlarının belirlenmesi ve biyolojik mücadelede kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır. Zararlılara spesifik olan entomopatojen fungusların korunması ve etkinliklerinin artırılması için, üretim sistemlerinde uygun şartların oluşturulması, tarımsal uygulama ve ortam düzenlemelerinin buna göre yapılması gerekir (Eilenberg vd. 2001; Eilenberg ve Meadow, 2002). Entomopatojen fungus izolatları konukçusunda yüksek patojenite gösterdiğinden izolat bazında oldukça spesifik etmenleridir ve bu özellikleri biyolojik mücadelede kullanımları açısından grubunun önemini arttırmaktadır (Leger vd. 2009).

Entomopatojen funguslar, uygulama sonrası doğada uzun süre kalarak zararlılara karşı uzun süreli kontrol sağlamaları, konukçuların tüm gelişme dönemlerini enfekte edebilme yetenekleri, genellikle insektisitlerle birlikte sinerjistik hareket etmeleri ve onlarla beraber karıştırılarak kullanılabilmesi ve kitle üretimi sorunlarının üstesinden kolayca gelilebilmeleri gibi biyolojik mücadelede kullanılmaları açısından birçok önemli avantajlara sahiptirler (Wan, 2003; Demirbağ, 2008).

1.3.1. Entomopatojen fungusların sınıflandırılması

Entomopatojenik funguslar, sexüel veya aseksüel sporlar yoluyla veya her ikisiyle çoğalan filogenetik olarak çeşitli, heterotrofik, ökaryotik, tek hücreli veya çok hücreli (filamentler) mikroorganizmalar grubudur (Mora vd. 2017). Entomopatojenik funguslar, ‘saprophagous’ adı verilen ölü böcekleri istila edebilen funguslar ve ‘entomophagous’ adı verilen canlı böcekleri enfekte eden funguslar olarak ikiye ayrılabilir (Butt vd. 2006). Dünyada tahmin edilen 1.5 ile 5.1 milyon fungus türünden

(Hibbett vd. 2007) 100 cinse ait yaklaşık 750 ila 1.000 türün böcekler üzerinde enfeksiyon yapan türler olduğu belirlenmiştir (St. Leger ve Wang, 2010). Çizelge 1.1’de bazı önemli entomopatojen fungus cinsleri gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Önemli entomopatojenik fungus cinsleri (Boucias ve Pendland, 1998)

Alem	Filum	Sınıf	Takım	Cins
Protista	Oomycota	Oomycetes	Lagenidiales	Lagenidium
			Saprolegniales	Aphanomycopsis
				Atkinsiella
				Couchia
				Leptolegnia
	Chytridiomycota	Chytridiomycetes	Blastocladales	Catenaria
				Coelomomyces
				Coelomycidium
			Chytridiales	Myriophagus
				Coelomycidium
Mycota	Zygomycota	Zygomycetes	Entomophthorales	Basidiobolus
				Comdiobolus
				Entomophaga
				Entomophthora
				Erynia
				Massospora
				Neozygites
				Strongwellsea
				Zoophthora
				Sporadiniella
		Trichomycetes	Mucaorales	
			Amoebidiales	Amoebidium
			Asellariales	
			Ecerinales	
			Herpellales	
	Basidiomycota	Phragmobasidiomycetes	Septobasidiales	Septobasidium
	Ascomycota	Laboulbeniomyces	Laboubeniales	Uradinella
		Hemiascomycetes	Endomycetales	Hesperomyces
		Loculoascomycetes		Candida
			Myriangiales	Metchnikowia
		Plectomycetes	Pleosporales	Myriangium
			Ascospaerales	Pononectria
		Pyrenomycetes	Sphacriales	Ascospaera
				Calonectria
				Cordyceps
				Cordycepioidus
				Hypocrella
				Nectria
	Deuteromycota	Hyphomycetes	Sphaeropsidales	Torrubiella
				Aschersonia
				Tetranacrium
				Acremonium
				Akanthomyces
				Aspergillus
				Beauveria
				Culicinomyces
				Engyodontium
				Funicularis
				Fusarium
				Gibellula
				Harpographium
				Hirsutella
				Hymenostilbe
				Metarhizium
				Nomuraea
				Isaria
				Sorospora
				Sporothrix
				Syngliocladium
				Tetracrium
				Tolypocladium
				Verticillium
			Myceliasterrilia	Aegerita

Zygomycota'ya ait Entomophthorales takımı, *Entomophthora*, *Conidiobolus*, *Entomophaga*, *Erynia* ve *Pandora* cinsleri ile çoğunlukla bilinmektedir. Böcek patojenleri içerisinde en çok çalışılan grup ise Ascomycota'ya ait Hypocreales takımındır. Bu grubun en bilinmiş cinsleri ise *Beauveria*, *Metarhizium* ve *Isaria* cinsleri bugün birçok bio-insektisit ana preparatını oluşturmaktadır.

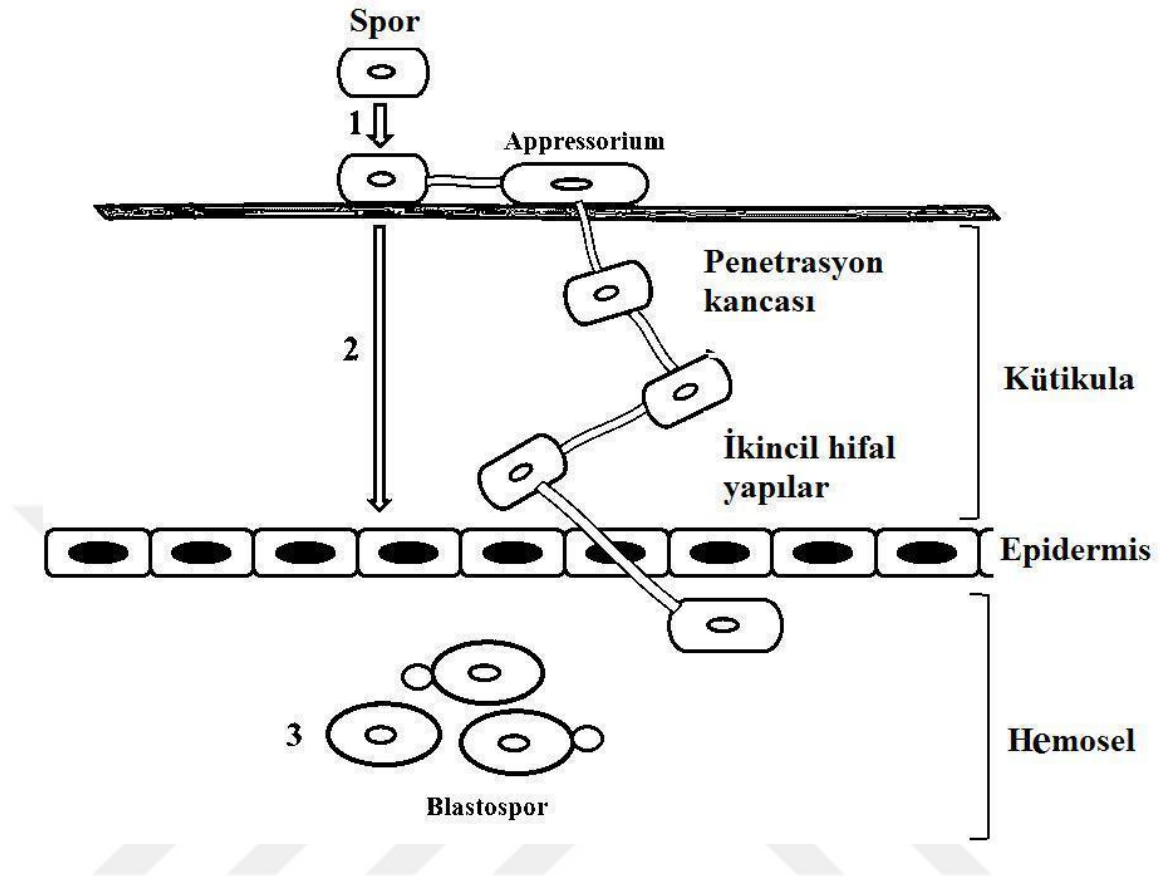
1.3.2. Entomopatojen fungusların genel biyolojisi

Çoğu entomopatojen fungusun hayat döngüsü çevre koşullarına ve konukçu böceğin dönemleri ile ilişkilidir (Shah ve Pell, 2003). Entomopatojenik funguslar, ağız yolu ile alınmaya gerek kalmadan konukçularının kütikülüne bağlanan, çimlenen ve nüfuz eden sporlar (konidia) üretirler. Fungus aktivitesi, biyotik ve abiyotik ortamdan şiddetle etkilenir; konidium çimlenmesi, enfeksiyon ve sporülasyon için %95'in üzerinde nem gereklidir ve öldürme hızı yüksek oranda sıcaklığa bağlıdır (Roy vd. 2006). Entomopatojenik fungusların hayat döngülerinde öncelikle fungus enfektif bir spor üretir. Ardından bu spor konukçusunun kütikulası üzerinde tutunarak penetre olur. Penetrasyonun ardından spor çimlenerek böcek dokusu içerisine doğru germ tüpünü oluşturur ve bundan sonra appressorium oluşumu görülür. Penetrasyon sonucunda genellikle integümentin enfeksiyon bölgelerinde melanizasyon meydana gelmektedir. (Ferron, 1978). Melanizasyon sonucunda konukçunun gelişimi yavaşlar ya da tamamen durur. Entomopatojen fungus konukçunun hemosölünü enfekte etmesinin ardından hemosöl içerisinde toksin üretimi artar ve konukçu ölümü gerçekleşir. Koşulların uygun olması durumunda, konukçunun ölümünün ardından, fungus konukçudan dışarı doğru spor üretir. Bu olaya ise 'konidiyogenezis' denir (Goettel vd. 2005; Shah ve Pell, 2003). Konukçudan dışarı doğru üretilen sporlar ise sekonder enfeksiyon kaynağı oluşturarak diğer böceklerin ölmesine neden olur. Çevre koşullarının enfeksiyon için uygun olmadığı zamanlarda ise fungus, bu şartlara uyum sağlayabilen dinlenme sporlarını meydana getirir (Goettel vd. 2005).

1.3.3. Entomopatojen fungusların etki mekanizmaları

Entomopatojenik funguslar, yaşamlarını sürdürmek amacıyla her nesilde yeteri kadar yeni infektif spor üretmek ve çeşitli konukçu zorluklarıyla karşılaşmak zorundadırlar (Mora vd. 2017). Öncelikli olarak, başarılı bir penetrasyon için, yüksek miktarda spor, yapışkan spor yüzeyleri veya yapışmayı arttıran maddelerin salınması gerekmektedir (Vega vd, 2008). Bunun yanı sıra, sporlar böcek dış iskeletine temas ettikten sonra hızlı bir şekilde çimlenmeli ve penetrasyonunu başlatmalıdır ya da oral alımdan sonra sindirime kadar böcek vücudu içerisinde spor yapısı bozulmamalıdır. Fungal hücrelerin, öldürecekleri konukçunun bağışıklık sistemini çökertmesi için hemosöl, kaslar veya konukçunun vücudunun diğer dokularında hızla çoğalması gerekmektedir (Vega vd. 2008).

Metarhizium spp. ve *Beauveria* spp. gibi *Hypocreales* üyeleri, canlı konukçu üzerinde parazitik bir dönem ve ölüm sonrasında ise saprotrofik bir dönem geçirirler. Bu funguslar, konukçu savunmasını yenmek için çeşitli toksinler kullanırlar. Entomophthorales üyelerinde ise aksine saprofitik gelişme çok azdır veya hiç görülmez ve toksinlerin yardımı olmaksızın konukçada kolonize olarak öldürürler (Charnley ve Collins 2007). Böcek kutikulası üzerinde fungal enfeksiyonun gelişimi Şekil 1.1'de verilmiştir.



Şekil 1.1. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyonun aşamaları (Sevim vd. 2015)

1.3.4. Entomopatojen funguslar tarafından üretilen toksinler

Entomopatojen fungusların bir kısmı böcek vücudu içerisinde mikotoksinler üretirler. Roberts (1981), böceklerde toksik olan fungus metabolitleri üzerine yapılan çalışmalarda; toksinin etki biçiminin belirlenmesi, zararlı kontrolünde kullanılabilecek yeni toksinleri belirlemenin, toksinlerin güvenirliliğinin araştırılması ve doğal ürünler üzerindeki yan etkilerinin araştırılması amaçlanmasının gerektiğini bildirmiştir. Entomopatojen fungusların tamamının mikotoksin üretmediği, 250 bine yakın fungus türünden sadece 350'sinin mikotoksin oluşturabildiği bildirilmiştir (Örtücü vd. 2010). *Beauveria*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Aspergillus*, *Isaria* ve *Verticillium* gibi deuteromycetesler ve *Cordyceps* ve *Entomophthora* gibi ascomycetesler çok bilinen mikotoksin üreten en önemli cinsler olarak bilinmektedir (Zimmermann, 2010). Mikotoksinlerin her ne kadar zararlı mücadelesinde kullanılmasının avantajları olsa da, toksik fungus metabolitlerinin besin zincirine girmesi, insanlar ve hayvanlar için risk oluşturması endişesi vardır (Strasser vd. 2000). Bu nedenle, entomopatojen fungusların üreticilerin hizmetine sunulmadan önce insan ve çevre sağlığına, yararlı organizmalara etkilerinin iyi araştırılması gerekmektedir. Konukçuya spesifik *Beauveria* ve *Metarhizium* cinslerine ait funguslar gibi biyolojik preparatların ticarileşmesi risklerin

azaltılması anlamında önem arz etmektedir. Çizelge 1.2’de entomopatojen funguslar tarafından üretilen bazı toksinlere yer verilmiştir.

Çizelge 1.2. Entomopatojen funguslar tarafından üretilen bazı toksinler (Boucias ve Pendland, 1998)

Toksin	Üretici Fungus	Genel Aktivitesi
Azoksibensonoid	<i>Entomophthora virulenta</i>	Çeşitli toksik etkiler
Sordisepin	<i>Cordyceps</i>	RNA sentezini bloklar
Beauverisin	<i>Beauveria bassiana</i>	İyonofor, lipid tabakalarında çözünür ve özel iyonlar için membran permeabilitesini artırır. Bu sayede hücre organel ve fonksiyonlarına zarar verir.
	<i>Isaria</i>	
	<i>Fusarium</i>	
Bassionolid	<i>Beauveria bassiana</i>	İyonofor
Siklosporin A	<i>Beauveria bassiana</i>	Omugalı T hücrelerinde Ca ⁺⁺ bağımlı sinyal transdüksiyonunda bir adımı bloklar. Bu sayede immunobaskılamaya sebep olur. Böcek savunma hücrelerine baskı da yapabilir.
	<i>Tolypocladium</i>	
	<i>Verticillium</i>	
	<i>Fusarium</i>	
Oosporin	<i>Beauveria bassiana</i>	Kırmızı pigment, antimikrobiyal
Oksalik asit	<i>Beauveria brongniartii</i>	
Destruksin	<i>Metarhizum anisopliae</i>	Kas membranlarındaki Ca ⁺⁺ kanallarını etkileyebilir, immunobaskılama ve sitopatik.
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	
Sitokhalasin	<i>Metarhizum anisopliae</i>	Aktin filament uzamasını bloklar.
Swainsonin	<i>Metarhizum anisopliae</i>	İndolizidin alkaloid.
Hirsutellin A	<i>Hirsutella thompsonii</i>	Ribozomal inhibe edici protein (RIP), rRNA’nın bir spesifik yarılmasına sebep olur ve protein sentesini inhibe eder.
Efrapeptin	<i>Tolypocladium inflatum</i>	Mitokondriyal ATPaz aktivitesini inhibe eder.
Aflotoksin	<i>Aspergillus</i>	Böceklerde üreme mekanizmasını inhibe eder, omurgalılarda kanserojendir.
Kojik asit	<i>Aspergillus flavus</i>	Antimikrobiyal
Restriktosin	<i>Aspergillus</i>	RIP-tip toksin.

1.3.5. Entomopatojen fungus kullanımının avantajları

* Zararlıyla mücadele açısından bazı durumlarda yüksek konukçu seçiciliğine sahip

olmaları (entomopatojenik funguslar zararlı olmayan parazit ve yararlı böcek popülasyonlarını etkilemeden zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılabilir),

* Memeliler üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermemeleri ve böylece çevre kirliliği gibi insektisit uygulamaları sonucu karşılaşılan zararların azaltılması,

* İnsektisid direnci gibi problemlerin olmaması ve böylece uzun süreli bir mücadele sağlamaları,

* Biyoteknolojik araştırmalar ile geliştirilmeye uygun olmaları,

* Uygulama sonrası çevrede uzun süre kalmaları ve böylece uzun süreli bir mücadele sağlamalarıdır.

1.3.6. Entomopatojen fungus kullanımının dezavantajları

* En ciddi dezavantaj, fungal sporların UV radyasyonuna ve neme duyarlı olmaları,

* Fungusitlerden olumsuz etkilenmeleri,

* Etkinliklerini kimyasal insektisitlere göre daha uzun sürede göstermeleri (Bir çok kimyasal insektisitler böcekleri sadece 2-3 saat gibi kısa bir sürede öldürürken, entomopatojenik funguslar genellikle bir haftadan daha uzun sürelerde etkili olabilmektedir.)

* Üretimlerinin pahalı olmasıdır.

1.3.7. Entomopatojen fungusların depolanması

Bir haftadan başlayarak birkaç yıla kadar entomopatojen fungusları depolama teknikleri mevcuttur. Depolama aşamasında, araştırmacının ihtiyaçları ve ekonomisi önemli iki faktördür. Entomopatojen funguslar, granül, sıvı, EC, granül formülasyonları halinde ve yeni yaklaşımlardan biri olan ‘kurutulmuş misel tekniği’ ile preparasyon edilebilir. Entomopatojen fungusların depolanması donma üstü sıcaklıklarda depolama, liyofilize ederek saklama ve donma durumunda saklama olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Donma üstü sıcaklıklarda saklama yöntemini ana olarak kısa süreli saklama (seri transfer), mineral yağ ve distil su altında saklama teknikleri oluşturmaktadır. Donma durumunda saklama yöntemini ise ana olarak silika jel ve sıvı azot dondurucularında kriyojenik saklama teknikleri oluşturmaktadır.

1.3.7.1. Kısa süreli saklama tekniği (Seri transfer)

Kısa süreli saklama, 1 yıla kadar kültürlerin saklanması içerir. Entomopatojen fungusların kısa süre içerisinde alt kültürlerle alınmasıyla bu yöntem uygulanır. Küçük koleksiyonlar için uygun ve masrafsız bir yöntem olmasına rağmen, akarlar ve bazı mikroorganizmalar ile bulaşıklık riski, zaman kaybı, işgücü dezavantajlarıdır. En önemli dezavantajı ise sürekli alt kültürlerle alınması entomopatojen fungusların böcekleri enfekte yapma yeteneklerinin kaybına neden olabilir (Onions 1971).

1.3.7.2. Mineral yağ tekniği

Steril mineral yağ katmanı altında kültürlerin eğik olarak saklanmasıdır. Eski metotlardan biri olmasına rağmen hala yaygın olarak kullanılan ekonomik bir yöntemdir. Bu metot soğutmaya toleransı olmayan funguslar için yaygın kullanılan bir yöntemdir. Mineral yağ, hem kurumayı önler hem de gaz alışverişini azaltır, böylece fungus metabolizması çok düşük bir seviyeye iner. Bu depolama metodunda önemli olan nokta saklanacak şişelerin contalarının kauçuk olmamasıdır. Çünkü kauçuk contalardaki bazı yağda çözünen bileşenler funguslar için toksik olabilir (Onions 1971). Entomopatojen funguslar bu yöntemle yıllarca saklanabilir. Entomopatojenlerin patojenitesi aylarca saklandıktan sonra da aynı kalabilir, ancak bazı taksonların patojenisitesi veya virölansı, yağ altında uzun yıllar saklandıktan sonra azalabilir. Kültürler birkaç yıl ve istisnai durumlarda, oda sıcaklığında veya 15-20°C'de 32 yıla kadar tutulabilir. Bu yöntemin bir faydası ise yağ ayrıca akar istilasını da azaltır. Yağ kaplama tekniğinin en büyük dezavantajı, fungusların büyümeye devam etmesidir. Bu yöntem aslında dondurulması sorun olan ve spor üretmeyen funguslar için uygundur (Cavalcanti, 1991; Silva vd. 1994; Balardin ve Loch, 1988).

1.3.7.3. Distil su altında saklama tekniği

Metabolik olarak inaktif fungusların steril distile su içinde saklanmasıdır. Oomycetes ve Entomophthorales gibi dondurularak kurutulamayan organizmalar için kullanılan bir yöntemdir. Bazı fungus türleri 20 yıl boyunca bu steril su içerisinde yaşayabilir. Bu teknik, neredeyse tüm omurgasızların fungal patojenlerini saklamak için kullanılabilir. Bu yöntemle oda sıcaklığında fungusları saklama mümkündür. Ancak eğer buzdolabında saklamamız mümkün ise kültürlerimiz daha uzun süre canlı kalacaktır. Bu teknikteki en önemli problem; su hacmi için çok fazla inokulum fungusun uzun süreli dayanma kabiliyetini tehlikeye atabilir. Uzun süre depolama için; su hacmi, inokulum kesitlerinden en az 40 kez daha büyük olmalıdır (Castellani, 1967; Figueiredo ve Pimentel, 1975; Clark ve Dick, 1974; Lastra vd. 2002; Hartung de Capriles vd. 1989).

1.3.7.4. Liyofilize ederek saklama tekniği

Liyofilizasyon, fungal germplazma korunmalarında en yaygın olarak kullanılan önemli bir tekniktir. Liyofilize olmuş ampüller doldurularak canlandırmak için gönderildikten sonra kültürler kısa süre için muhafaza edilebilir ve tekrar canlandırılmak üzere alıcılara gönderilebilir. Bu teknik hemen hemen tüm konidial funguslarda Hypomycetes, Coelomycetes, Ascomycetes ve Basidiomyceteslerde kullanılabilir. Liyofilizasyon, Oomycetes ve Entomophthorales gibi su içeriği çok yüksek funguslar için kullanışlı değildir (Humber 2012).

1.3.7.5. Silika jel tekniği

Silika jel yöntemi fungus sporlarının -20°C dondurucular kullanılarak susuz silika jel kristalleri üzerinde depolanmasıdır. Bu tür preparatlar oda sıcaklığında saklanabilir ve canlılık daha hızlı azalır. Bu yöntem, entomopatojenler dahil olmak üzere birçok fungus için ucuz, basit ve güvenilirdir. Ancak hücrelerinde yüksek

boşluklu hacimlere sahip funguslar (örn., Oomycetes fungusları ve entomophthoraleans) için uygun bir depolama yöntemi değildir (Bell ve Hamalle, 1974; Smith, 1993).

1.3.7.6. Sıvı azot dondurucularda kriyojenik saklama tekniği

Sıvı azotta depolama birçok organizmanın depolanmasında etkili bir yöntemdir. Birkaç günde sıvı azotun yenilenmesi gerektiği için liyofilizasyondan biraz daha maliyetlidir. Kriyojenik tekniklerin kullanılmasına rağmen, evrensel olarak uygulanabilir bir protokolü yoktur. Entomopatojen fungusların donma ve çözülme ile ciddi şekilde zarar görebileceğinden, kimyasal kriyoprotektanlar çoğu protokolda kullanılırlar: Kriyoprotektanlar iki tiptedir:

1- Hücre zarından kolayca geçebilen ve hücre içinde ve ekstrasellüler olarak koruyan gliserol ve dimetil sülfoksit (DMSO) gibi nüfuz eden maddeler.

2- Hücre zarına karşı koruyucu etkilerini kullanan sukroz, laktoz, glukoz, mannitol, sorbitol, dekstran, polivinil-pirolidon ve hidrosietil nişasta gibi nüfuz etmeyen maddeler.

Gliserol ve DMSO'nun funguslar için en etkili olduğu bilinmektedir (Ohmasa vd. 1992).

Sıvı azot dondurucularında kriyojenik saklamanın avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır;

Avantajları:

- * Kültür stoklarının genetik değişkenliğinin önlenmesi,
- * Zaman kaybı ve işgücünün azalması,
- * Tekrarlanan patojenisite testlerine duyulan ihtiyacın ortadan kaldırılması,
- * Kültür bulaşıklıklarının önlenmesi,
- * Kültürlerin uzun süreli saklanabilmesidir.

Dezavantajları:

- * Yüksek maliyet,
- * Her 2 günde bir değiştirilmesi gereken sıvı nitrojen,
- * Soğutma üniteleri için alan ihtiyacı,
- * Sürekli gözetim ihtiyacıdır.

Entomopatojen fungusların depolanmasında bugüne kadar çok sayıda metot geliştirilmiş ve kullanılmaktadır. Bu metotların avantajları ve dezavantajları Çizelge

1.3.'te özetlenmiştir.

Çizelge 1.3. Entomopatojen fungusların saklama yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları (Humber, 2012)

Sıcaklık	Saklama Yöntemleri	Avantajları	Dezavantajları
0°C'nin üzerinde	Seri transfer (4°C'de saklama)	-Teknik olarak basittir. -Fenotipik özelliklerin takibine izin verir.	-Temel fenotipik karakterler değişebilir. -Materyal ve çalışmaya sürekli ihtiyaç vardır.
	Mineral Yağ	Ucuz ve teknik olarak kolaydır.	-Bazı funguslar soğuğu tolere edemez. -Saha darlığı; tüpler dik konumda tutulmalıdır. -Periyodik olarak kontaminasyon için kontrol edilmelidir.
	Distile su	-Ucuz ve teknik olarak kolaydır. -Küçük vialler kullanıldığı için küçük bir alana ihtiyaç vardır.	Su seviyeleri ve kontaminasyonlar için kontrol edilmelidir.
	Liyofilize	-Standart metotlar birçok fungus için kullanılabilir. -Kurutulmuş kültürler posta ile gönderilebilir.	-Ekipmanlar nispeten pahalıdır. -Ampuller soğutulmalıdır. -Bazı funguslar için uygun değildir.
0 °C'nin altında	Silika jel	-Ucuz ve teknik olarak kolaydır. Standart tip soğutucular kullanılır. -Her kültür için sadece bir tüp saklanabilir. -Oda sıcaklığında ve 20 °C'de muhafaza edilebilir.	Uzun süreli başarı vida kapağının güvenliğine bağlıdır.
	Standart (-20 °C'de)	-Ucuz ve kolayca uygulanabilir	-Tavsiye edilmez (silika jel saklaması hariç) -Elektrik kesilmesinde örneğin kaybolma riski
	Aşırı soğutma (-80°C veya -120°C'de)	-Birçok laboratuvar için uygun ve kullanışlıdır. -Sıvı azotsuz uzun süre saklama yapar.	-Soğutucu sıcaklığı buz kristalleri oluşumuna neden olur -Elektrik kesilmesinde örneğin kaybolma riski -Azot stoklarının yapılması tavsiye edilir.
	Buhar fazı (-120 °C'den -196 °C'ye)	-Sıvı azot vialleri kontamine etmez. -Eritildiği zaman tüplerin patlama riski yoktur. -Saklama süresini uzatır. -Kültürü yapılabilir fungusların tüm tipleri stoklanabilir.	-Sıcaklık nispeten kararsızdır. -Sıvı azot miktarı sürekli kontrol edilmelidir. -Otomatik sıvı azot seviye kontrolü elektriğin kesilmesine bağlıdır.
	Sıvı faz (-196 °C'de)	-Batırma süresince sıcaklık sabittir. -Buz kristaller oluşma ihtimali yoktur. -Azot seviyelerinin izlenmesi minimaldir. -Elektrik kesintilerinden etkilenmez.	-Viallerin yerleştirilmesi sırasında azot çıkışı olabilir. -Viallerin içerikleri saklama esnasında azot sızıntılarıyla kontamine olabilir. -Sıvı azot içeren vialler eritildiği zaman patlayabilir.

1.3.8. Entomopatojen fungusların test yöntemleri

Entomopatojen funguslar ile yapılan biyotestler, onların biyolojik mücadele etmeni olarak zararlılara karşı kullanılma potansiyellerini belirlemeye yardım eder. Bilinmeyen bir fungusun patojenisite testinde, orijinal olarak izole edildiği böcek türünün kullanılması en iyisidir. Eğer bu mümkün değilse, o zaman laboratuvar böcekleri kullanılabilir.

1.3.8.1. İnjesiyon yöntemi

Fungal materyalin hifal yapılarının veya protoplastlarının hemosöle enjesiyonu ile gerçekleştirilir. Fungus hücrelerinin büyüklüğünden dolayı, bu yöntem sadece büyük böceklerde kullanılabilir. İnjesiyon yoluyla aşılama, çoğunlukla çok sayıda enfekte edilmiş böcek gerektiğinde, böcekteki immünolojik tepkileri merak edildiği zaman veya konukçu üzerinde bir patojeni devam ettirmeye çalışırken kullanılır. Böcekleri aşılayarak içten enfekte etmek amacıyla, şırınga pistonunu hareket ettirmek için motorlu bir mikroenjektör kullanılabilir. Enjekte edilecek inokulum hacmi, konukçu böceğin boyutuna bağlıdır. Bununla birlikte, böcek üzerindeki olumsuz etkileri en aza indirmek için mümkün olan en küçük hacim kullanılmalıdır. Bu yöntemdeki önemli noktalar ise şunlardır;

- * Enjekte edilecek fungal materyal 1-2 günlük kültürlerden elde edilmelidir.
- * Hifal yapılarla birlikte kültürler filtre edilmelidir ve miselyum, son hacmi steril saf su içerisine yerleştirilmeden önce yıkanmalıdır.
- * Hifal yapılar ve protoplast solüsyonları böceklerle introhemosolik foodpad veya proleg tabanından verilmelidir.
- * Bu işlemde hücrelerin hemosöle verilmesi esnasında bağırsağın delinmemesi önemlidir.
- * Böcekler enjekte edildikten sonra normal büyüme koşullarında bekletilmelidir.
- * İnjesiyonla enfeksiyondan sonra böceklerin nemli ortamda tutulmalarına gerek yoktur (Demirbağ, 2008; Inglis vd, 2012).

1.3.8.2. Ağızdan penetrasyon yöntemi

Konukçu böceğe sindirim sistemi yoluyla doğrudan bulaşmak amaçlandığı durumlarda bu yöntem kullanılabilir. Örneğin, Hypocreales takımına ait funguslar genellikle konukçunun vücuduna doğrudan nüfuz etmesi yoluyla girdiğinden, bu yöntem bu takım için uygun değildir. Bu yöntemin uygulamasında en basit metot, enfektif fungusların doğrudan yüzeye veya yem substratının içine dahil edilmesidir (Inglis vd. 2012).

1.3.8.3. Topikal uygulama yöntemleri

Hangi topikal uygulama yönteminin uygulanacağı, genellikle böceklerin boyutuna, uygulama yapılacak böceklerin sayısına ve kullanılan formülasyona bağlıdır.

(1). Doğrudan uygulama

a. Daldırma yöntemi

Her ne kadar doz miktarı kesin olarak bilinmese de, böceklerin entomopatojen fungus süspansiyonlarına batırılması, entomopatojenik Hypocreales takımı üzerinde yapılan çalışmalarda başarıyla kullanılmıştır. Daldırma yöntemi uygulamalarında; artan enfektif entomopatojen fungus konsantrasyonları ile bir dizi sulu süspansiyon hazırlanır. Böcekler belirli bir süre için tek bir süspansiyona daldırılır. Ancak konukçuların vücutlarının büyük olması durumunda her bir böcek için ayrı bir konsantrasyon hazırlanması gerekir. Çünkü büyük böceklerde, daldırılan her bir böcek, solüsyon içerisinden belli bir miktarda konsantrasyonu azaltacaktır. Ancak küçük vücutlu böceklerde buna gerek yoktur. Daldırma yöntemlerini kullanarak, maruz kalma genellikle konidia/ml olarak ifade edilir (Inglis vd. 2012).

b. Spreyleme yöntemi

Topikal uygulamanın en sık kullanılan enfeksiyon yöntemlerinden birisidir. Entomopatojen fungus solüsyonunun doğrudan konukçu böcek üzerine püskürtülmesiyle uygulanan bir metottur. Bu metot için entomopatojenik uygulamalarda en sık kullanılan cihaz, sprey-tower gibi sabit püskürtücülerdir. Bu yöntemin avantajı sabit bir basınçta her bir tekrüre düşen konidi miktarının eşit olmasıdır (Inglis vd, 2012).

c. Damlacık yöntemi

Büyük böceklerde, inokulumun bir damlasını doğrudan böceğin belirli bir bölgesine yerleştirilmesine damlacık yöntemi denir. Damlacıkları konukçu böcek üzerine bırakmada mikropipet veya mikroenjektörlerden faydalanılabilir. Ancak yağ formülasyonları kullanılırken yağın kendisi zehirli olabileceğinden dikkatli olunmalıdır (Inglis vd, 2012).

(2). İndirekt uygulama

İnokulumu doğrudan böcek yüzeyine vermek yerine, dolaylı yöntemlerle inokulumu ikincil bir substrat aracılığıyla vermek olarak bu yöntem açıklanabilir. En yaygın yöntem olarak bir substrat içerisine entomopatojeni bulaştırmak ve sonra üzerine böcekleri aktarmaktır. Böcekler inokulumu beslenme ya da hareket esnasında temas ederek bünyelerine alırlar (Inglis vd, 1996). İnokulumun bir yaprak yüzeyine uygulanması, Lepidoptera larvaları gibi yapraklarla beslenen böceklerde yaygın olarak kullanılır. Bu yöntemde yapraklar, yaprak diskleri veya petri kapları entomopatojen funguslar ile muamele edilir ve patojenisite ölçülür. Bu yöntem, Lepidoptera larvaları ve patates böceği gibi çeşitli konukçular üzerinde birçok entomopatojen fungusun biyolojik etkinliğini belirlemede başarıyla kullanılmıştır (Ignoffo vd, 1983). Bu yöntem

için iki farklı yaklaşım bulunmaktadır;

Spor oluşturan kültürler ile direkt temas: Aynı tip yol ile kendiliğinden çok miktarda konidiya oluşturan kültürler için uygundur. (Örn; *Entomophthora coronata*)

Konidiya ile kaplı bir yüzey ile temas: İlk olarak 1871 yılında *Pieris brassicae* (Pieridae: Lepidoptera) larvalarının *Zoophtora radians* ile enfeksiyonu, test böceklerinin fungus konidialarının serpildiği lahana yapraklarına maruz bırakılmasıyla başarıldı.

Pratikte ise plastik ya da cam petri gibi yüzeylerin konidialar ile kaplanması ve ardından bu yüzeylere test böceklerinin salınmasından oluşur (Demirbağ, 2008).

1.3.9. Ülkemizde ruhsatlı entomopatojen funguslar

Ülkemizde çok sayıda ticari entomopatojen fungus tarım alanlarında zararlılar ile mücadele amacıyla ruhsat almıştır. Çizelge 1.4’te görüldüğü gibi bu fungusların hiç biri ülkemiz orijinli funguslar değildir.

Çizelge 1.4. Ülkemizde ruhsatlı entomopatojen funguslar (Anonim 2021)

NO	BKÜ ADI	MİKROBİYAL ETMENİ	UYGULANACAK ZARARLI ADI	FİRMA ADI	İTHAL EDİLDİĞİ ÜLKE
1	Bio Act	<i>Isaria lilacinus</i> strain 251	Domates Kök Ur Nematodu	Boyut	Almanya
2	Bio Nematon	<i>Isaria lilacinus</i> strain Pl-1	Domates Kök Ur Nematodu	Agrobest	Hindistan
3	Dopteril	<i>Beauveria bassiana</i> atcc. strain 74040	Biber Çiçek Tripsi, Domates Beyazsinek, Kiraz Sineği, Bağda İki Noktalı Kırmızı Örümcek	Boyut	İtalya
4	Nibortem	<i>Verticillium lecanii</i> strain Vl-1	Hıyar Beyazsinek, Batı Çiçek Tripsi	Agrobest	Hindistan
5	Nostalgist	<i>Beauveria bassiana</i> strain Bb-1	Pamuk Yeşil Kurdu	Agrobest	Hindistan
6	Priority	<i>Isaria fumosoreus</i> strain Pfs-1	Hıyar, Domates ve Çilekte Kırmızı Örümcek.	Agrobest	Hindistan
7	Mycotal	<i>Verticillium lecanii</i> strain m	Beyazsinek Larvaları, Trips Larvaları ve İki Noktalı Kırmızı Örümcek	Koppert	Hollanda

1.4. *Frankliniella occidentalis*’in Tanımı, Biyolojisi ve Zararı

Frankliniella occidentalis erginleri açık sarı veya sarımsı esmer renkli, genelde 0.5–2 mm boyunda, dar ve silindirik vücutludur. Ovipozitör aşağı doğru kıvrıktır.

Kanatları kirpik şeklinde saçaklara sahiptir. Erkekler popülasyonda daha az rastlanır. Dişiler erkeklerden daha büyüktür. Yumurta böbrek şeklinde, beyazımsı sarı ve 0.25 mm boyundadır (Şekil 1.2). Larvaları ergine benzer. İkinci dönem larvanın sonunda hareketsiz olan prepupa dönemini geçirir. Prepupa döneminde kanat izleri belirir. Pupa döneminde kanatları ve antenleri biraz daha gelişmiş olur (Anonim 2008).



Şekil 1.2. *Frankliniella occidentalis* yumurtası (Anonim 2020a)

Dişi birey ovipozitörü yardımıyla yumurtasını bitki dokusu içine bırakır (Dağlı ve Tunç 2006). Yumurta daha çok yaprak, çiçek yaprağı gibi daha yumuşak olan dokuya bırakılır. Mevsime göre değişmekle birlikte yumurtalar 4-10 günde açılır. Larvalar yumurtadan çıkar çıkmaz yaprağın alt yüzünde beslenir ve oldukça hareketlidir. İkinci larva döneminin sonunda kendini yere atar, toprakta bulunan doğal çatlaklardan içeriye girerek 15 mm derinlikte veya nemli yerlerde prepupa ve pupa dönemini geçirir. *F. occidentalis*'in üremesi en fazla 30°C'de olur, 35°C'de gelişme olmaz. En uygun sıcaklık olan 25°C'de dört gün içinde popülasyon yoğunluğu ikiye katlanır. *F. occidentalis* haplo-diploid bir çoğalma gösterir, yani döllenmemiş yumurtalardan erkek, döllenmiş yumurtalardan dişi bireyler meydana gelir (Kumm ve Moritz 2009). Çiftleşen dişilerden 1/3 oranında erkek birey meydana gelir. Şekil 1.3'de larva dönemi, 1.4'de pupa dönemi ve 1.5'de dişi ergin birey görülmektedir.



Şekil 1.3. *Frankliniella occidentalis* larvaları (Anonim 2020b)



Şekil 1.4. *Frankliniella occidentalis* pupası (Anonim 2020c)

Dişi bir ergin hayatı boyunca 150–300 yumurta bırakır. Yumurtalar ayrı ayrı bırakılır ve sıcaklığa bağlı olarak 3-4 gün içinde açılırlar (Caon ve Burfield 2006). Ergin çıkışları sıcaklığa bağlı olarak genellikle 2–9 gün sonradır. Yeni çıkan ergin dişi ilk 24 saat hareketsizdir. Ergin olduktan 72 saat sonra yumurta bırakmaya başlar ve yaşamı boyunca aralıklı olarak devam eder. Ergin dişi 40–90 gün yaşayabilir, erkek birey daha kısa ömürlüdür. Yılda en fazla 15 döl verir. Kışı genellikle ergin dönemde geçirir (Anonim 2008).



M. KIRIŞIK

Şekil 1.5. *Frankliniella occidentalis* ergin dişisi

1.4.1 Entomopatojen funguslar ile *Frankliniella occidentalis*'in mücadelesi

Özellikle yurtdışında, entomopatojen fungusların *F. occidentalis*'i başarıyla kontrol altına aldığıyla ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin Mousavi vd (2017), *Beauveria bassiana*'yı erginler üzerine sera koşullarında test etmiştir. 10^8 konidia/ml konsantrasyonda yaklaşık 2 gün içerisinde %98.4 ölüm elde etmiştir. Ancak bazı çalışmalarda, thripslerin ergin öncesi dönemlerine karşı *B. bassiana*'nın etkisinin, gömlek değişiminden dolayı düşük olduğu bulunmuştur (Vestergaard vd., 1995). *Metarhizium anisopliae*'nin thripsler de dahil olmak üzere 200'den fazla böceği enfekte ettiği belirlenmiştir (Cloyd 1999; McNeil 2005). Ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda *M. anisopliae*'nin thripsleri kontrol altına alabileceği belirtilmiştir (Dura vd. 2012; Uçak vd. 2014; Ekesi vd. 1998; Maniania vd. 2003a; Ansari vd. 2008). Ayrıca Avrupa'da ticari olarak mevcut olan *Verticillium lecanii* uzun yıllardır trips ve diğer sera zararlıları ile mücadelede kullanılmaktadır (Ravensberg vd. 1990; Helyer vd. 1992). Ülkemizde ise Uçak vd (2014), *V. lecanii*'nin de içerisinde bulunduğu bazı biyopestisitlerin *F. occidentalis*'e etkisini kuru film tekniği ve yaprak daldırma tekniği

kullanılarak araştırmışlardır. Laboratuvar bioassayleri sonunda *V. lecanii*'nin *F. occidentalis*'e başarılı olduğu sonucuna varılmıştır.



2. KAYNAK TARAMASI

Entomopatojen fungusların farklı ırklarının zararlılar üzerinde etkisinin saptandığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Ülkemizde ve ülkemiz dışında yapılan çalışmalar bu bölümde özetlenmiştir.

2.1. Ülkemizde Trips Türleri Üzerinde Entomopatojen Fungusların Etkinlik Belirleme Çalışmaları

Dura vd. (2012), 2008 yılında Ege Bölgesi'nde ve 2009 yılında Akdeniz Bölgesi'nde sera şartlarındaki denemelerinde *M. anisopliae*'nin *F. occidentalis*'e karşı etkinliğini ve etkili kullanım dozunun belirlenmesini hedeflemişlerdir. Araştırma sonucunda *M. anisopliae*'nin ruhsatlı kimyasal ilaç kadar başarılı olduğu ve en etkin kullanım dozunun 100 ml/100 L su (% 29×10^8 cfu/gr) olduğunu belirlenmiştir.

Sevim vd. (2014), *Rhynchites bacchus* L. (Coleoptera: Rhynchitidae) üzerinden izole ettikleri *B. bassiana* izolatını rRNA kompleksinin ITS1-5.8S-ITS2 bölgesi (571 bp) ve elongation faktörü alfa-1 geninin (EF1-a) (1.016 bp) kısmi dizisini kullanarak moleküler karakterizasyonu ortaya çıkarmışlardır.

Uçak vd. (2014), bazı biyopestisitlerin *F. occidentalis*'e etkisini kuru film tekniği ve yaprak daldırma tekniği kullanılarak larva dönemi üzerinde test etmişlerdir. *Isaria fumosoroseus* izolat Pf-1 (Priority), *V. lecanii* izolat VL-1(Bio-catch), *Beauveria bassiana* izolat Bb-1 (Bio-power), *M. anisopliae* izolat Ma-1 (Bio-magic) ve *Isaria lilacinus* izolat Pl-1 (Bio-nematon) ticari preparatları testlerde kullanılmıştır. Kuru film tekniği metodu sonuçlarında *B. bassiana* izolat Bb-1 ve *M. anisopliae* izolat Ma-1'in en etkili izolatlar olduğu belirlenmiştir. Yaprak daldırma metodu sonuçlarında ise, *I. fumosoroseus* izolat Pf-1, *V. lecanii* izolat VL-1 ve *I. lilacinus* izolat Pl-1 en yüksek etkiye sahip izolatlar olmuş ve aynı istatistiki gruba girmişlerdir.

Demirözer vd. (2016), Adana Karataş bölgesinde *A. gossypii* üzerinden elde ettikleri *F. subglutinans* (12A) izolatını *F. occidentalis* ergin dişileri ve 2. dönem larvalara karşı yaprak daldırma metodu ile 1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor/ml konsantrasyonlarında test etmişlerdir. Çalışma sonunda erginler üzerinde yapılan testte 9. gün sonunda ölüm oranı %100'e ulaşmıştır. İkinci dönem larva üzerine yapılan testlemede ise en yüksek ölüm oranı 8. gün sonunda %50 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonunda *F. subglutinans* (12A) izolatının erginler üzerinde daha etkili olduğu kanısına varılmıştır.

Demirözer (2019), laboratuvar çalışmasında, *F. subglutinans* (12A) izolatının hedef kitlesel yayılmasını ve tripslerin kontrolü için enfekteli *F. occidentalis* dişileri kullanılarak incelenmiştir. Çalışma 1×10^6 spor/ml konsantrasyonunda ve daldırma metodu kullanılarak yürütülmüştür. Enfekteli thripslerin sağlıklı bireylerin ortamında salındıktan sonra ortalama ölüm oranı %48.2'ye ulaşmış ve enfekteli birey sayısındaki artışın ölüm oranları üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır. Sonuçlar, ortamda 1×10^6 spor/ml konsantrasyonun fungus varlığının 7. günde ölüm oranını %90.9'a çıkardığını tespit edilmiştir. Kadavraların çevresinde bulunduğu testte ise ölüm oranı 8. günde %45.7'ye ulaşmıştır.

Uzun vd. (2019), Mersin-Tarsus yöresinde *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) üzerinden elde ettikleri *Fusarium subglutinans* (8A) izolatını *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae) ergin dişileri üzerine test etmişlerdir. Çalışmada, 1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor/ml konsantrasyonlarını yaprak daldırma metodu ile test etmişlerdir. Çalışma sonucunda en yüksek ölüm oranı 9. gün sonunda elde edilirken, en yüksek mikozis (enfekteli böcek) oranı 10. gün sonunda 1×10^6 ve 1×10^8 spor/ml konsantrasyonlarında elde etmişlerdir.

2.2. Ülkemiz Dışında Trips Türleri Üzerinde Entomopatojen Fungusların Etkinlik Belirleme Çalışmaları

Vestergaard vd. (1995), *V. lecanii* ve *M. anisopliae* türlerine ait birçok izolatın *F. occidentalis* üzerindeki etkinliğini araştırmıştır. Bu çalışmada, *M. anisopliae*'nin 1×10^7 konsantrasyonu *F. occidentalis* ergin bireyleri üzerinde daldırma metodu kullanılarak test edilmiştir. Uygulamadan 7 gün sonra yapılan sayımlarda *M. anisopliae*'nin tüm izolatları en düşük %94 etki göstermiştir. Buna karşın *V. lecanii* izolatları yine 7. gün sayımında nispeten düşük etki göstermiş ve %20-70 arasında bir ölüm oranı elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışma kapsamında en etkili izolat olan *M. anisopliae* türüne ait 275 izolatın farklı doz ve sıcaklıklarda etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada 23°C'de 5 gün sonra LC₅₀ değeri 3×10^5 konidia/ml olarak tespit edilmiştir. Bunun yanında 1×10^7 konidia/ml konsantrasyonda 18-20°C'de LT₅₀ değeri 4 gün, 23-26°C'de ise 3 gün olarak tespit edilmiştir.

Maniania vd. (2003b), Kenya'da Avrupa'ya kasımpatı ihracatı yapılan bir serada yapmış oldukları denemede *M. anisopliae*'nin tek başına ve methomyl (Lannate®) etkili maddesi ile birlikte olan etkileri araştırılmıştır. *F. occidentalis*'in larva ve ergin dönemleri üzerinden yapılan bu çalışmada *M. anisopliae* 1×10^{13} konidia/ha + methomyl 44 g/ha dozu ve 1×10^{13} konidia/ha + Lannate 440 g/ha dozunun her iki biyolojik dönemde de yüksek etki gösterdiği belirlenmiştir.

Thungrabeab vd. (2006), Tayland'dan elde edilen 5 farklı entomopatojen fungusun [2 adet *B. bassiana* (Bb. 4591 and Bb. 5335), 2 adet *M. anisopliae* (Ma. 6079 and Ma. 7965) ve 1 adet *P. fumosoroseus* (Pfu.5338)] farklı sıcaklık ve konukçu bitkilerde *F. occidentalis*'e ve *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae)'ye karşı etkinliğini araştırmışlardır. Çalışmaları sonunda, LC₅₀ değerlerinin sıcaklık arttıkça azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca entomopatojen funguslar farklı spor konsantrasyonlarında her iki trips türü içinde 16°C'ye göre, 20°C ve 25°C'de daha başarılı olmuşlardır. Beş izolat arasında, *B. bassiana* Bb. 5335 ve *M. anisopliae* Ma. 7965, daha geniş bir sıcaklık aralığında her iki thrips türüne karşı etkinlik açısından daha üstün olduğu belirlenmiştir. Ayrıca her iki trips türü için de denemede kullanılan bazı bitkilerin fungus enfeksiyonlarına diğer bitkilerden daha hassas olduğu tespit edilmiştir.

Sengonca vd. (2006), Tayland'daki farklı konukçulardan izole edilen 11 cinsten 25 türe ait 41 entomopatojenik mantar izolatının, *F. occidentalis*'e karşı potansiyelini araştırmışlardır. Bu mantar izolatlarından 14'ü yüksek patojenisite düzeyi göstermiştir. Bunların 6'sı *Beauveria* izolatı, 4'ü *Metarhizium* izolatı, 3'ü *Paecilomyces* izolatı ve 1'i de *Cordyceps* izolatı olarak tanımlanmıştır. İkinci aşamada, 14 virülant izolat, birinci dönem larvalarına karşı çoklu konsantrasyonlarda taranmıştır. Fungus izolatları arasında

LC₅₀ değerlerinin önemli ölçüde değiştiği görülmüştür. LC₅₀ değerleri, *Beauveria* spp. için 2.39×10^4 - 5.89×10^6 konidia/ml, *Metarhizium* spp. için 2.00×10^4 - 5.00×10^5 konidia/ml, *Paecilomyces* spp. için 3.89×10^4 - 5.49×10^6 konidia/ml, ve *Cordyceps* sp. için ise 4.67×10^5 konidia/ml olarak bulunmuştur.

Ansari vd. (2008), *F. occidentalis*'in larva ve pupa dönemlerine *M. anisopliae*'nin etkisini belirlemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. V275 ve ERL700 izolatları, test edilen tüm ortamlarda en başarılı 2 izolat olarak tespit edilmiştir. Bu iki izolat 1×10^{10} konidia/l konsantrasyonda inokülasyondan 11 gün sonra trips larva ve pupalarında %85-96 ölüme neden olmuştur.

Gouli vd. (2008), entomopatojen fungus aktivitesini ve sürdürülebilirliğini arttırmak için, *M. anisopliae*'nin diğer entomopatojenik funguslar *B. bassiana* ve *Lecanicillium muscarius* R. Zare & W. Gams (Hypocreales: Cordycipitaceae) ile ve antagonistik fungus *Trichoderma viride* Pers. (Hypocreales: Hypocreaceae) ile kombinasyon halinde ilişkisinin araştırmışlardır. *T. viride*, entomopatojen funguslar için gerekli olan yüksek nem koşullarında ortaya çıkmıştır. Sonuçlar, *F. occidentalis*'nin kontrolü için farklı entomopatojen fungus türlerini tank karışımlarında kullanmanın seri üretim için iyi bir sonuç verdiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra, *M. anisopliae* ile *T. viride*'nin karışım formülasyonunun, geniş spektrumlu mikopestisit olarak kullanılabileceği ve seri üretim yapılabileceği sonucuna varılmıştır.

Gouli vd. (2009), entomopatojenik funguslar, *M. anisopliae*, *V. lecanii* ve *B. bassiana*'nın üretken ve aktif izolatlarına ait uygulamadan sonra böcek ölüm oranını ve *F. occidentalis*'in ölümüne kadar yapraklarda meydana getirdiği zararı ölçmüşlerdir. *F. occidentalis*'in ikinci dönem larvaları için *M. anisopliae*'nin LC₅₀'si, *V. lecanii*'nin iki katı, *B. bassiana*'nın ise 1.7 katı olarak tespit etmişlerdir. İzolatların 5×10^6 spor/ml konsantrasyonlarında yaprakların toplam zarar görmüş alanları ise *M. anisopliae* için %2.2, *V. lecanii* için %5.2, *B. bassiana* için %4.5 ve kontrolde ise %13.7 olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda en etkili fungusun, ölüm oranlarının yüksek olması ve zararlının bitki yapraklarında az zarar yapmasından dolayı *M. anisopliae* olduğu sonucuna varılmıştır.

Gao vd. (2012), Batı çiçek tripslerinin kontrolü için *B. bassiana*'nın beş farklı izolatının etkinliğini araştırmışlardır. Çalışmada fungal izolatlar birinci dönem larvalara 1×10^4 - 1×10^7 konidia/ml konsantrasyonunda sera koşullarında uygulanmıştır. Uygulamadan 10 gün sonra yapılan sayımlarda RSB izolatı %69-96 ölüm oranı ile en viulant izolat olarak belirlenmiştir.

Niassy vd. (2012), *F. occidentalis*'in larva döneminin kontrolü için ümit vaat eden fungus izolatlarını tespit etmeyi amaçlamışlardır. On *M. anisopliae* izolatı ve 8 *B. bassiana* izolatını, *F. occidentalis*'in ikinci dönem larvalarına karşı patojenisite taramasında kullanmışlardır. Bunun yanı sıra konidial üretim ve genetik polimorfizm de araştırılmıştır. *M. anisopliae*'nin ICIPE 7, ICIPE 20, ICIPE 69 ve ICIPE 665 izolatları 8.0-8.9 günlük en kısa LT₅₀ değerlerine sahip olmuşlardır. Ayrıca, en düşük LC₅₀ değerlerine ICIPE 69, ICIPE 7 ve ICIPE 20 sırasıyla 1×10^7 , 2×10^7 ve 3×10^7 konidia/ml sahip olmuşlardır. Ek olarak, *M. anisopliae* ICIPE 69 izolatı, *M. anisopliae*'nin ICIPE 7 ve ICIPE 20 izolatlarından önemli ölçüde daha fazla konidia ürettiği belirlenmiştir. ICIPE 69'un, patojenisite testlerindeki başarısı ve tarla etkinliği göz önüne alındığında,

ticari bir biyopestisit olmasının önerilebileceği kanaatine varılmıştır.

Skinner vd. (2012), *B. bassiana*'nın ARS7060 izolatı ve *M. anisopliae*'nin ERL1171 izolatı ile mikozlanmış darı tanelerini, içinde kadife çiçeği bulunan saksı toprağının üst yüzeyine karıştırmışlardır. Bulaştırmadan 8 hafta sonra, bitki başına ortalama toplam trips sayısının, ERL1171 ve ARS 7060 uygulamalarında kontrol grubuna göre sırasıyla %81 ve %90 daha az olduğunu belirlemişlerdir.

Kivett (2015), yaptığı bir çalışmada 3 entomopatojenik fungus *B. bassiana*, *I. fumosoroseus* ve *M. anisopliae* ile bir bakteri olan *Chromobacterium subtsugae*'nin izolatlarının *F. occidentalis*'in ergin ve nimfleri üzerindeki etkinliğini belirlemeyi ve son kullanım tarihinden sonra kullanıldığında ürün etkinliğini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Ayrıca, entomopatojen fungusların azadirachtin ile birleştğinde *F. occidentalis* nimflerine karşı etkinliğini de değerlendirilmiştir. Sonuç olarak erginlerin entomopatojenik funguslar tarafından enfeksiyonlara karşı daha duyarlı olduklarını, taze konsantrasyonların eski konsantrasyonlardan daha yüksek ölüm oranı ile sonuçlandığını ve *M. anisopliae* ile azadirachtin kombinasyonu hariç diğer entomopatojenik funguslarla azadirachtin karıştırıldığında ölüm oranında her hangi bir artış gözlenmemiştir.

Saito ve Brownbridge (2016), çalışmalarını, toprak altında yaşayan predetörlerin mikrobiyal biyo-kontrol ajanları ile uyumluluğunu incelemek ve *F. occidentalis*'in pupa dönemine karşı etkinliklerini değerlendirmek üzere tasarlamışlardır. Deneme çalışmalarında, ticari olarak kullanılabilen, *M. brunneum* strain F52 ve *B. bassiana* GHA izolatlarını kullanmışlardır. Çalışma sonucunda, test edilen avcılara karşı mikrobiyal ajanların neden olduğu ölüm oranları %2.93 ile %60.95 arasında belirlenmiştir. Predetörler ve entomopatojen fungusların aynı yerde bulundukları ortamda *F. occidentalis* önemli derecede gelişmiştir. Buna karşın sadece *F. occidentalis*'in olduğu ortamda ise ölüm oranı %90'lara ulaşmıştır.

Lee vd. (2017), *B. bassiana* granüllerini kullanarak Batı çiçek tripsi'nin toprakta bulunan dönemlerine etkinliğini belirlemeye çalışmışlardır. Gelişmiş yeşil flüoresan proteini (Bb-egfp) eksprese eden bir *B. bassiana* izolatı kullanarak, Bb-egfp'nin tripslere karşı aşırı derecede virülent olduğunu doğrulamışlardır. Bir örtüaltı denemesinde, BbERL836 ve BbERL1578 izolatları, saksıda yetişen domateslerin toprak yüzeyine uygulanmış ve fungus uygulamasından üç gün sonra, *F. occidentalis* dişi bireyleri domates bitkilerine salınmıştır. BbERL836 ve BbERL1578'in uygulamalarında 20 ila 40 gün sonra popülasyonların %75 ila 90 arasında bir azalma gözlenmiş, kimyasal kontrol yapılan alanda ise popülasyonun %85 oranında azaldığı belirlenmiştir. Tarla denemelerinde ise salatalık bitkisi üzerinde yapılan denemede ise her iki türün, %90 oranında popülasyonda azalmaya neden olduğu tespit edilirken, bir semi-sentetik ilaç olan spinoteram %85 oranında bir popülasyon düşüşüne neden olmuştur.

Li (2019), çalışmasında entomopatjenik fungus *B. bassiana* ve bir predatör böcek olan *Dalotia coriaria* Kraatz (Coleoptera: Staphylinidae)'nın birlikte kullanımlarının *F. occidentalis* üzerinde etkinliğini belirlemeye çalışmıştır. Bu amaçla iki sera denemesi yürütmüştür. İnsektisitleri de mücadele amaçlı kullandığı bu denemede, deneme sonucunda insektisit uygulanan deneme parsellerinde bulunan sarı

yapışkan tuzaklarda daha az birey bulurken (ortalama aralığı: 0.46), *B. bassiana* ve *D. coriaria*'nın birlikte uygulandığı parsellerde daha fazla birey saptanmıştır (ortalama aralığı: 0.3-105.1).

Zhang vd. (2019), *F. occidentalis*'in toprakaltı dönemlerinin kontrolünün, toprağa karıştırılmış entomopatojenik funguslar ile doyurulmuş granüllerin kullanımıyla arttırılabileceği yaklaşımında bulunmuşlardır. Bu amaçla, *B. bassiana*'nın granüler bir formülasyonunu, laboratuvar ve sera koşullarında *F. occidentalis*'in toprakta bulunan pupa dönemi üzerinde test etmişlerdir. *B. bassiana* granülleri uygulanmış patlıcan bitkisi bulunan serada yapılan denemede, işlenmiş toprakta yetişen patlıcanlarda *F. occidentalis* popülasyonunun 8 hafta sonra işlenmemiş toprakta yetişen bitkilere göre %70 daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *B. bassiana*'nın farklı toprak nemi koşulları altında granüller üzerindeki hayatta kalması ve büyümesinin belirlendiği çalışmada, %20 toprak neminin ideal olduğu belirlenmiştir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyalini, Batı çiçek tripsi (*Frankliniella occidentalis*) ölü bireyleri üzerinden izole edilen entomopatojen funguslar, mikroskoplar, GPS cihazı, iklim odası, steril kabin, sprey-tower, buzdolabı, kimyasallar ve laboratuvar araç-gereçleri oluşturmuştur.

Çalışmalar, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (BATEM), Bitki Sağlığı Bölümü, Entomoloji Laboratuvarı ve Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Entomoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.2. Metod

3.2.1. Entomopatojen fungusların örneklenmesi ve izolasyonu

3.2.1.1. Örneklemeye yerleri ve zamanları

Çalışma kapsamında, bitki üzerinde bulunan ve fungal enfeksiyona maruz kalmış zararlı trips bireylerinden entomopatojen fungusların izolasyonu için örnekler toplanmıştır (Şekil 3.1). Örnekler, Antalya İli'nde tarımsal faaliyetlerin yoğun olarak yapıldığı Aksu, Finike, Kaş, Kemer, Konyaaltı, Kumluca ve Manavgat ilçelerinden, bölgeyi en iyi şekilde temsil eden farklı lokasyonlardan olmak üzere toplamda 60 örnek olacak şekilde sonbahar ve ilkbahar mevsimlerinde, meteorolojik koşullara bağlı olarak belirli periyotlar halinde alınmıştır. Örneklemeler sırasında sera seçiminde, doğal alanlara yakın olmaları, fazla güneş ışığı almayan ve rutubetin yoğun olduğu kuzey yönde olmaları gibi durumlar dikkate alınmıştır. Ayrıca, mümkün olduğunca pestisit uygulamalarının yapılmadığı ve her bir lokaliteyi en iyi biçimde temsil eden sera veya tarlaların olmasına da dikkat edilmiştir (Klingen vd. 2002). Alınan örnekler etiketlenerek laboratuvara getirilmiştir. Etiket üzerine; örneklerin GPS koordinatları, lokalite adı, yükselti, alındığı tarih, bitki çeşidi, örneklemeye yerinin çevresinde orman vs. gibi doğal alanların bulunup bulunmadığı gibi gerekli bilgiler kaydedilmiştir. Örneklerin toplanma yerleri, koordinatları, zamanları ve konukçusunu gösteren bilgiler Çizelge 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Enfekteli trips ergin ve larva bireylerinin bitkilerden toplanması

Çizelge 3.1. Örneklerin toplanma yerleri, koordinatları, zamanları ve konukçusu

No	GPS		İlçe	Mahalle	Konukçu	Tarih
1	37° 01' 49" N	30° 47' 39" E	Aksu	Topallı	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
2	37° 11' 03" N	30° 47' 12" E	Aksu	Karaöz	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
3	37° 03' 43" N	30° 48' 04" E	Aksu	Kurşunlu	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
4	37° 11' 13" N	30° 47' 13" E	Aksu	Karaöz	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
5	37° 11' 32" N	30° 47' 24" E	Aksu	Karaöz	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
6	37° 06' 47" N	30° 48' 01" E	Aksu	Yeşilkaraman	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
7	37° 06' 53" N	30° 48' 02" E	Aksu	Yeşilkaraman	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
8	36° 54' 25" N	30° 50' 53" E	Aksu	Köseler	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
9	37° 11' 25" N	30° 46' 16" E	Aksu	Karaöz	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
10	37° 01' 27" N	30° 46' 46" E	Aksu	Topallı	<i>F. occidentalis</i>	20.05.2019
11	36° 28' 11" N	30° 00' 44" E	Finike	Yeşilköy	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
12	36° 25' 36" N	29° 55' 12" E	Finike	Dağbağ	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
13	36° 28' 27" N	29° 58' 21" E	Finike	Yazır	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
14	36° 25' 26" N	29° 55' 50" E	Finike	Dağbağ	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
15	36° 20' 54" N	30° 06' 30" E	Finike	Yeşilyurt	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
16	36° 20' 58" N	30° 06' 23" E	Finike	Yeşilyurt	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
17	36° 20' 42" N	30° 12' 01" E	Finike	Sahilkent	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
18	36° 18' 54" N	30° 07' 56" E	Finike	İskele	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
19	36° 19' 09" N	30° 07' 48" E	Finike	İskele	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
20	36° 21' 16" N	30° 12' 20" E	Finike	Sahilkent	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
21	36° 21' 30" N	29° 47' 22" E	Kaş	Dirgenler	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
22	36° 23' 22" N	29° 52' 06" E	Kaş	Karadağ	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
23	36° 23' 14" N	29° 51' 28" E	Kaş	Karadağ	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
24	36° 19' 49" N	29° 44' 28" E	Kaş	Kasaba	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
25	36° 19' 25" N	29° 44' 18" E	Kaş	Kasaba	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
26	36° 22' 21" N	29° 47' 29" E	Kaş	Dirgenler	<i>F. occidentalis</i>	17.05.2019
27	36° 39' 54" N	30° 32' 26" E	Kemer	Göynük	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
28	36° 39' 59" N	30° 32' 42" E	Kemer	Göynük	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
29	36° 17' 44" N	30° 24' 05" E	Kumluca	Karaöz	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
30	36° 16' 45" N	30° 24' 34" E	Kumluca	Karaöz	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
31	36° 19' 32" N	30° 24' 58" E	Kumluca	Adrasan	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
32	36° 19' 48" N	30° 24' 51" E	Kumluca	Adrasan	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
33	36° 19' 26" N	30° 24' 18" E	Kumluca	Adrasan	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
34	36° 19' 06" N	30° 24' 25" E	Kumluca	Adrasan	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
35	36° 16' 40" N	30° 24' 31" E	Kumluca	Karaöz	<i>F. occidentalis</i>	14.05.2019
36	36° 22' 24" N	30° 23' 44" E	Kumluca	Belen	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
37	36° 23' 16" N	30° 25' 52" E	Kumluca	Yazır	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
38	36° 23' 15" N	30° 24' 08" E	Kumluca	Belen	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
39	36° 23' 31" N	30° 25' 04" E	Kumluca	Yazır	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
40	36° 22' 48" N	30° 23' 50" E	Kumluca	Belen	<i>F. occidentalis</i>	27.09.2019
41	36° 53' 42" N	30° 31' 17" E	Konyaaltı	Doyran	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
42	36° 54' 14" N	30° 31' 58" E	Konyaaltı	Doyran	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
43	36° 54' 23" N	30° 32' 16" E	Konyaaltı	Doyran	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
44	36° 52' 14" N	30° 30' 47" E	Konyaaltı	Akdamlar	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
45	36° 52' 24" N	30° 31' 06" E	Konyaaltı	Akdamlar	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
46	36° 52' 27" N	30° 31' 15" E	Konyaaltı	Akdamlar	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
47	36° 53' 20" N	30° 32' 26" E	Konyaaltı	Gökçam	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
48	36° 52' 29" N	30° 32' 54" E	Konyaaltı	Karatepe	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
49	36° 55' 22" N	30° 33' 46" E	Konyaaltı	Aşağıkaraman	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
50	36° 55' 01" N	30° 33' 01" E	Konyaaltı	Aşağıkaraman	<i>F. occidentalis</i>	24.05.2020
51	36° 55' 33" N	31° 12' 46" E	Manavgat	Taşagıl	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019

(Devamı Arkada)

Çizelge 3.1'in devamı

52	37° 09' 22" N	31° 11' 51" E	Manavgat	Beşkonak	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019
53	37° 09' 05" N	31° 11' 37" E	Manavgat	Beşkonak	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019
54	37° 09' 37" N	31° 11' 43" E	Manavgat	Beşkonak	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019
55	36° 55' 37" N	31° 11' 53" E	Manavgat	Çakış	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019
56	36° 56' 10" N	31° 12' 49" E	Manavgat	Taşağıl	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019
57	36° 55' 16" N	31° 12' 41" E	Manavgat	Çakış	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019
58	37° 09' 18" N	31° 11' 22" E	Manavgat	Beşkonak	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019
59	37° 09' 02" N	31° 11' 36" E	Manavgat	Beşkonak	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019
60	36° 55' 54" N	31° 13' 02" E	Manavgat	Çakış	<i>F. occidentalis</i>	23.09.2019

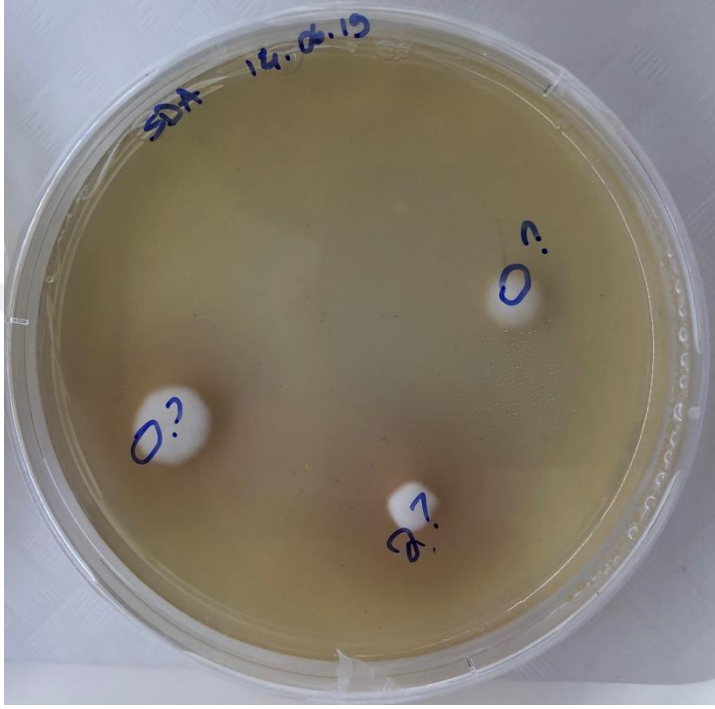
3.2.1.2. Enfekteli trips örneklerinin toplanması ve laboratuvara getirilmesi

Seralardan entomopatojen funguslar tarafından enfekte edilmiş trips örnekleri toplanmıştır. Sörveyler sırasında seçilen örnekleme sera veya tarlalarında köşegenler doğrultusunda gidilerek, örnekleme alanını temsil edecek sayıda bitkinin çiçek, yaprak ve meyveleri kontrol edilmiştir. Entomopatojen funguslar tarafından enfekte edilmiş ya da enfekteli olduğundan şüphelenilen tripsleri bulunduran çiçek, yaprak ve meyveler toplanarak kilitli plastik torbalara veya içerisinde filtre kağıdı olan örnek kaplarına yerleştirilerek etiketlenmiştir. Etiketlenen örnekler buz kutuları içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Canlı olarak getirilen böcekler havalandırma sağlanmış plastik kavanozlarda bir hafta süre ile günlük olarak gözlem altına alınmıştır. Bu süre içerisinde doğal ortamında beslendiği bitki, böcek beslenmesi için kavanozlara yerleştirilmiştir. Toplanan böcekler iklim odasında $25\pm 1^\circ\text{C}$, $65\pm 5\%$ nemde ve doğadaki yaşam habitatına mümkün olduğunca yakın bir biçimde hastalığın gelişimi için inkübasyona tabii tutulmuştur.

3.2.1.3. Enfekteli trips örneklerinden fungus izolasyonu

Laboratuvarda stereo-mikroskop altında incelenen trips örneklerinden ölü olanlar, canlı ve hastalık semptomları gösterenler tespit edilmiştir. Üzerinde fungal gelişme gözlenen ölü trips kavraklarından saf kültür elde etmek için; kavraklar önce %1'lik sodyum hipoklorit (NaClO) solüsyonu ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş, yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 1 dakika distile suda bekletilerek içerisinde nemli filtre kağıdı bulunan steril petri kaplarına alınmıştır. Petri kapları, $26\pm 2^\circ\text{C}$ 'de, 12:12 saatlik (Aydınlık: Karanlık; L:D) fotofazda 7-10 günlük inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon neticesinde eksternal fungal büyüme görülmüş örneklerden spatül yardımı ile misel parçaları alınmış ve daha sonra tek spor izolasyonları yapılarak saf kültürleri elde edilmiştir. Safılaştırma sırasında ilk besiyeri olarak SDAY [%1 yeast ekstrakt ilave edilmiş Sabouraud Dextroz Agar (SDA) besiyeri] kullanılmıştır. Bakteri kontaminasyonunu engellemek için besi yerine 50 µg/ml ampicillin, 20 µg/ml oranında geniş spektrumlu bir antibiyotik olan tetrasiklin ve 200 µg/ml oranlarında streptomisin ilave edilmiştir. Daha sonra elde edilen entomopatojen fungusların saf kültürleri kriyogenik tüplerde -20°C 'de (DNA çalışmaları için) iki paralel halinde saklanmıştır. Bu şekilde teşhisleri yapılan fungusların izolasyon oranları ve Antalya İli'ndeki yaygınlıkları belirlenmiştir. Mikroskobik incelemede ölü olmayan, ancak enfekteli

olduğundan şüphelenilen hasta tripsler, belirli bir süre kontrollü şartlarda beslendikten sonra ölenler, ölüm nedeninin fungal enfeksiyon olup olmadığının araştırılması için incelemeye alınmak üzere %1'lik sodyum hipoklorit ile yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 1 dakika distile suda bekletilerek içerisinde nemli filtre kağıdı bulunan steril petri kaplarına aktarılıp üzerlerinde fungal gelişimin olup olmadığı gözlenmiştir. Üzerinde fungal gelişme görülenlerden, yukarıda bahsi geçen yöntem kullanılarak fungus izolasyonu yapılmıştır (Şekil 3.2).



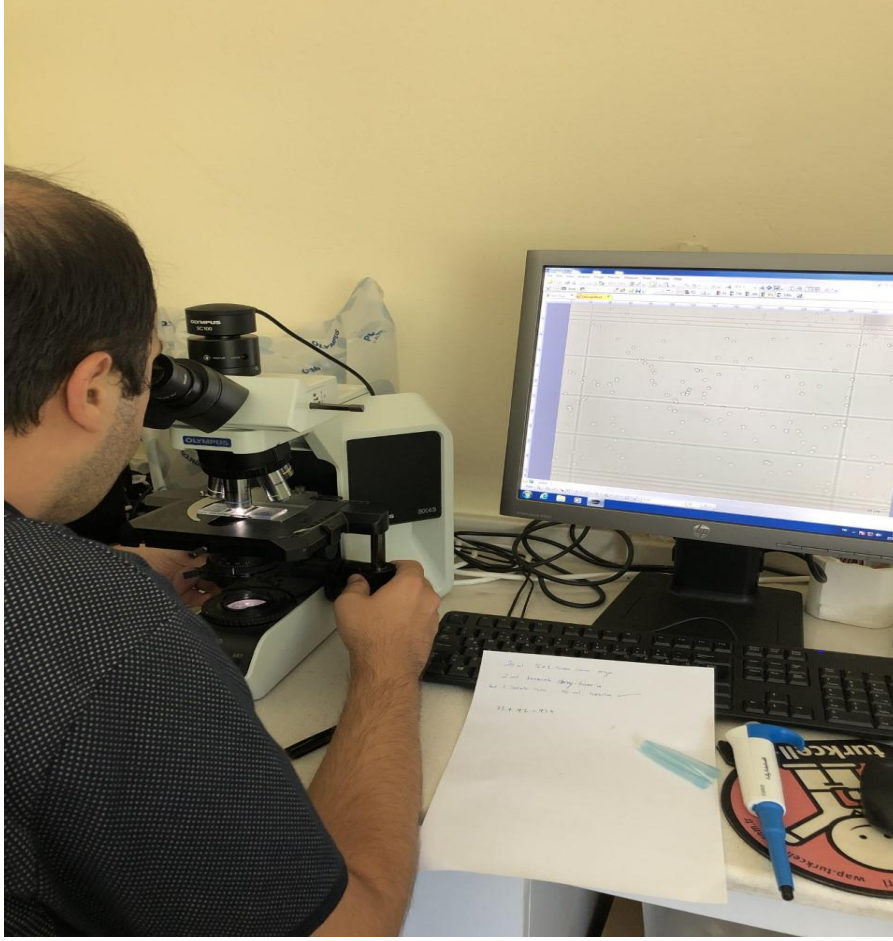
Şekil 3.2. Üzerinde fungal gelişim görülen tripslerin sterilizasyondan sonra SDA ortamına konduktan birkaç gün sonraki gelişimi

3.2.2. Elde edilen entomopatojen fungus izolatlarının tanısı

3.2.2.1. Morfolojik tanıları

Tripsler üzerinde biyolojik etkinliği en yüksek 5 entomopatojen fungus izolatının morfolojik tanısı, görüntülü ışık mikroskobu ve diseksiyon mikroskobu kullanılarak yapılmıştır. Fungus ile enfekte olmuş tripslerin dış görünüşleri, koloni morfolojisi, konidiyagenez ve konidiaların şekil ve büyüklükleri gibi önemli yapılar detaylı bir şekilde fotoğraflanarak teşhiste kullanılmıştır. Mikroskobik incelemeler ve teşhis için fungal kolonilerin hazırlanmasında hızlı ve etkin bir teknik olan “Slide culture; Lam kültürü” tekniği kullanılmıştır (Lacey, 1997). Lam kültürü tekniği kullanılarak hazırlanan fungal izolat, oda sıcaklığında 48 saat bekletildikten sonra düşük ışık yoğunluğu altında fungal gelişme olup olmadığını belirlemek için kontrol edilmiştir. Lam kültürü tekniği kullanılarak hazırlanmış fungal kolonilerin her birinden, stereo-mikroskop altında iğne yardımıyla bir parça alınarak, laktofenol-pamuk mavisi

(lactophenol-analine blue) solüsyonundan damlatılmış lam üzerine yerleştirilmiş ve lamın üzeri hava damlacığı kalmayacak şekilde lamel ile kapatılmıştır (de Hoog, 1972). Bu şekilde hazırlanan preparattaki fungus izolatlarının, görüntülü ışık mikroskopunda hif ve konidiofor yapıları, spor ölçümleri ve spor şekli belirlenerek ve koloni morfolojilerine (pigmentasyon, gelişme hızı, vb.) göre ilgili literatür kullanılarak teşhisleri yapılmıştır (Eken, 2011) (Şekil 3.3). Tanısı yapılan kültürleri saklamak için test tüplerinde PDA hazırlanmış ve izolatlar tüp içine aktarıldıktan sonra 24-26°C’de bir süre fungusun gelişimi sağlanmış ve daha sonra da +4°C’de saklanmıştır.



Şekil 3.3. Entomopatojen fungusların mikroskopta morfolojik yönden incelenmesi

3.2.2.2. Moleküler tanımlamaları

Tez kapsamında elde edilen 31 izolatın DNA izolasyonları için öncelikle kültürler PDA besiyerinde 25°C sıcaklıkta yaklaşık 1 hafta geliştirilmiştir. Elde edilen fungal kültürlerden DNA izolasyonu için geleneksel CTAB metodu kullanılmıştır. Fungal misellerden (100 mg) veya spor (50 mg) aşısı iğnesiyle 1.5 ml mikrofüt tüplerine aktarılmış ve üzerine %2’lik 500 µl CTAB buffer içerisinde örnekler parçalanmıştır. Üç saat 65°C’de inkübasyona bırakılmış, daha sonra 450 µl Chloroform + isoamyl (24:1) solüsyonu eklenip vortekslendikten sonra 14 000 g de 20 dk santrifüj edilmiştir. Üst faz

dikkatlice yeni tüpe aktarılmış ve içerisindeki sıvı miktarı kadar -20°C 'den çıkartılmış isopropanol eklenmiştir. Ertesi güne kadar -20°C 'de bekletilmiş ve 14 000 g de 20 dk santrifüj yapılmıştır. Santrifüjden sonra tüplerin altında pelet olduğu gözlenmiş ve pelete dikkat edilerek üstündeki tüm sıvı uzaklaştırılıp bir süre beklenmiş ve 200 μl +4 dereceden alınmış %70'lik etanol pelet üzerine bırakılıp, 14 000 g de 5 dk santrifüj yapılmıştır. Ardından üst sıvı uzaklaştırılmıştır. Sıvı uzaklaştırıldıktan sonra pelet kurumaya bırakılmıştır. Tamamen etanol uzaklaştırıldıktan sonra 100 μl civarı zayıf TE veya otoklav edilmiş saf su pelet üzerine eklenmiş ve DNA solüsyonları elde edilmiştir. Elde edilen DNA'ların kalite ve kantitesi %1'lik agaroz jel ortamında kontrol edildikten sonra uzun süreli muhafaza için -20°C 'de saklanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Entomopatojen funguslardan DNA izolasyonu

3.2.2.3. Hedef gen bölgesinin çoğaltılması

Bu aşamada öncelikle, birçok organizmanın moleküler tanılamasında kullanılan ITS gen bölgesine ait PCR primerleri kullanılmıştır. ITS primerleri belirlenirken önceden yapılmış benzer çalışmalardan faydalanılmıştır. Bu amaçla ITS bölgesi için universal olarak kabul edilen ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'), ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC -3'), ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ve ITS5 (5'- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG -3') (White vd. 1990) primerleri kullanılmıştır. *Sporothrix pallida*, *Akanthomyces muscarius* ve *Lecanicillium psalliotae*

izolatlarının ITS2-ITS5 primerleri kullanılırken, diğer izolatların tamamının teşhisinde ITS1-ITS4 primerleri kullanılmıştır.

Her bir PCR reaksiyonu 5.0 µl içeren 10x Taq buffer (Thermo Scientific, MA, USA), 3.0 µl 2.5 mM MgCl₂, 8.0 µl 100 mM dNTPs, 1 µl (320 pmol) her bir primer, 0.25 µl 5 U/µL Taq DNA polymerase-recombinant (Thermo Scientific, MA, USA), 27.8 µl steril distile su ve 4.0 µl DNA solüsyonu (standard PCR) içerecek şekilde toplam 50 µl olarak hazırlanmıştır. PCR koşulları ise başlangıç denatürasyonu 95°C’de 5 dk., denatürasyon 95°C’de 1 dk, annealing 55°C’de 1 dk ve extension 72°C’de 2 dk 35 döngü olacak şekilde yürütülmüştür. Son extension adımı 72°C’de 5 dk olarak yapılmıştır. Amplifikasyonu gerçekleştiren PCR ürünleri (10 µl) ve 100 bp DNA Ladder (ThermoScientific, MA, USA) 0.5 x TAE (Tris-Base 4.84 g, AceticAcid [Glacial] 1.02 ml, 0.5 M EDTA [pH: 8.0] 2 ml, ddH₂O 1000 ml) tampon çözeltisi içinde ve %1.5 agaroz jel’ de 75 V/cm’ de 1 h 30 dk yürütülmüştür. Yürütülen agaroz jel, ethidiumbromid (1 mg /l) ile boyanarak ultraviyole ışık görüntüleme cihazında (Viber Lourmat SR 1257, UV transilluminator, France) görüntülenerek kayıt altına alınmıştır. Değerlendirme sonucunda DNA dizilim analizi için uygun olanlar ticari PCR saflaştırma kitleri ile saflaştırılarak DNA dizi analizine gönderilmiştir. Daha sonra DNA diziliminin belirlenmesi ile filogenetik analiz ve mevcut gen bankaları bilgilerinin karşılaştırmaları sonucunda izolatların tanılanması gerçekleşmiştir.

3.2.2.4. DNA dizi analizi ve filogenetik analiz

PCR amplifikasyon ürünleri BM Labosis-Macro Gene (Çankaya, Ankara) (www.bmlabosis.com) tarafından sekanslanmıştır. Sekanslanan ürünler Bio-Edit (Hall, 1999) programında değerlendirilerek ve BLAST algoritma kullanılarak entomopatojenlerin NCBI gen bankasındaki akrabalık ilişkileri tespit edilmiştir (Altschul vd. 1990). Moleküler filogenetik analizler Kimura-2 parametrik model kullanılarak Mega 7 programı ile yapılmıştır (Kimura, 1980) ve dendogramlar elde edilmiştir.

3.2.3. Elde edilen entomopatojen fungusların *F. occidentalis*’e karşı etkinliklerinin belirlenmesi

3.2.3.1. *Frankliniella occidentalis* üretimi

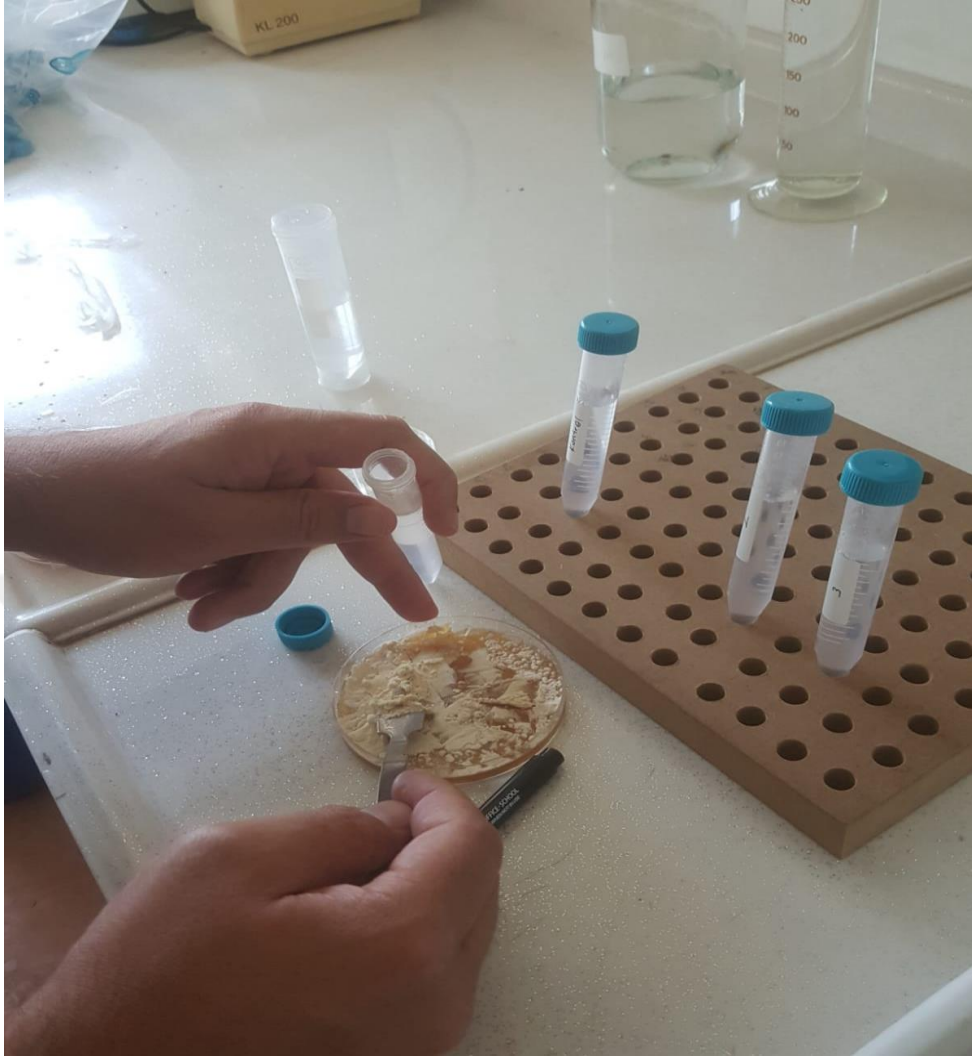
Tripslere beslenme ve yumurta bırakma ortamı sağlamak için taze fasulye meyveleri kullanılmıştır. Kapakları filtre kağıdı ile kapatılmış plastik kaplar üretim kafesi olarak kullanılmış ve tripslerin pupa dönemini geçirmeleri için bunların tabanına 2-3 kat havlu kağıt serilmiştir. Çamaşır suyu ile dezenfekte edilen, şeker ve aminoasit solüsyonlarına daldırılıp kurutulan taze fasulye meyveleri üretilmek istenen tripslerle birlikte üretim kafeslerine bırakılmış, 3-4 gün aralıkla taze fasulye meyveleri yenileri ile değiştirilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *Frankliniella occidentalis*'in kavanozda çoğaltılması

3.2.3.2. Laboratuvar etkinlik testleri

Elde edilen fungal izolatlardan, biyolojik etkinlik testlerine alınan 5 tanesinin seçim kriteri şu şekilde olmuştur; fungal izolatların morfolojik ve moleküler tanımlamalarından sonra: 1) Bilinen entomopatojen funguslardan olanlar, 2) Bulunuş frekansı çok fazla olanlar (yani söz konusu konukçu tripsler üzerinde sıklıkla görülenler), 3) Laboratuvarda yapay ortamlarda kolay gelişebilenler ve 4) Günümüzde ticari uygulamalarda etkinliği kanıtlanmış olan entomopatojen funguslardan ya da onlara en yakın gruplardan olanlar 5) Laboratuvarda yapılan ön denemelerde ümitvar görülenler öne çıkarılmış ve bunlardan 5 tanesi seçilip patojenite testlerinde kullanılmıştır. Denemelerde kullanılan fungusların inokulum üretiminde SDA (Sabouraud Dekstroz Agar: peptone 10 g/L, glucose 20 g/L, & agar-agar 20 g/L) ortamı kullanılmıştır. Entomopatojen fungus izolatları SDA ortamında 25°C'ye ayarlı inkubatörde karanlıkta 7-10 gün süre ile geliştirilmiştir. Gelişen fungusların sporları steril saf su ve bir spatül yardımı ile yıkanarak 4 kat steril tülbentten süzülerek %0.03 Tween 80 içeren steril saf su içerisine alınmıştır (Şekil 3.6). Böylece elde edilen stok spor solüsyonu 2 dk vortekslenmiştir. Daha sonra denemelerde kullanılacak olan inokulum, 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 konidiospor/ml olacak şekilde elde edilen stok spor süspansiyonundan Thoma lamında sayılarak hazırlanmıştır (Gabarty vd. 2014).



Şekil 3.6. SDA ortamında gelişen fungusların misel ve sporlarının hasat edilmesi

3.2.3.3. Patojenisitesi yüksek 5 entomopatojen fungusun belirlenmesi

İzolasyonu yapılan 14 türe ait 31 izolatın *F. occidentalis*'e karşı entomopatojen olma durumları araştırılmıştır. Elde edilen funguslardan en etkili 5 fungal izolatı elde etmek amacıyla, entomopatojen fungusların *F. occidentalis* üzerindeki etkinliklerini belirleme çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmalar $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\%70\pm 5$ orantılı neme sahip iklim odasında gerçekleştirilmiştir. Petrilere (15 cm çapında) önce nemlendirilmiş pamuk konularak sonra börülce yaprağı alt yüzü yukarı gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra kültürden elde edilen *F. occidentalis*'in ergin dişi bireyleri, her petriye 25 birey olmak üzere ince uçlu fırça yardımıyla yerleştirilmiştir. Entomopatojen fungusların tek dozda (1×10^7 konidiospor/ml) hazırlanan spor süspansiyonu spray-tower ile yaprakların üzerine uygulanmıştır. Uygulamadan 7 gün sonra canlı ve ölü birey sayıları kaydedilmiştir. Ölü tripsler, nemli kurutma kağıdı içeren petri kaplarına alınmış ve spor gelişimi için 14 gün tutulmuştur. Ölümünün fungusdan meydana geldiğini doğrulamak için, enfekteli tripslerden preparat yapılarak

mikroskobik değerlendirme yapılmıştır. Her bir petri kabı 1 tekerrür olacak şekilde, çalışma 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

3.2.3.4. Ümitvar 5 entomopatojen fungusun laboratuvar koşullarında etkinliklerinin belirlenmesi

Petrilere (15 cm çapında) önce nemlendirilmiş pamuk konulmuş ve daha sonra börülce yaprağı alt yüzü yukarı gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra kültürden elde edilen *F. occidentalis*'in larva, pupa ve ergin dişi bireyleri ayrı ayrı olmak üzere test edilmiştir. Her bir test için petrilere 20 birey ince uçlu fırça yardımıyla yerleştirilmiştir. Larva ve ergin dönemleri denemelerinde, kavonoz kültüründe fasulye kapsülleri üzerinde yetiştirilen tripsler CO₂ tüpleri yardımıyla bayıltılarak petrilere aktarılmıştır. Pupa dönemi denemelerinde ise, zararlı çok hareketli olmadığından yumuşak uçlu fırça yardımıyla tripsler petrilere aktarılmıştır. Testlerde kullanılan *F. occidentalis*'in aynı yaşta farklı biyolojik dönemlerini elde etmek amacıyla yaprak diskleri üzerine 25 adet 0-48 saatlik bireyleri belirli periyotlarda aktarılmış ve istenen yaşa gelene kadar beslenmiştir. Bu şekilde aynı yaşta *F. occidentalis*'in farklı biyolojik dönemleri (larva, pupa ve ergin dişi) elde edilmiştir. Entomopatojen fungus izolatları 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 konidiospor/ml dozlarında hazırlanmıştır. Spor süspansiyonları yaprakların üzerinde bulunan trips bireylerine ilaçlama kulesi (spray-tower) kullanılarak püskürtülmüştür (Şekil 3.7). İlaçlama kulesi her bir tekerrür için 2 ml hacim ve 1 atm basınçta çalıştırılmıştır. Her bir biyolojik dönem testleri aynı metotlar kullanılarak ayrı ayrı yürütülmüştür. Püskürtmeden 3, 7 ve 10 gün sonra canlı ve ölü birey sayıları kaydedilmiştir. Ölü tripsler, nemli kurutma kağıdı içeren petri kaplarına alınarak spor gelişimi için 14 gün tutulmuştur. Ölümünün fungustan kaynaklandığını doğrulamak için, enfekteli tripslerden preparat yapılarak mikroskobik değerlendirme yapılmış, gerektiği durumlarda reizolasyon yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tripslere karşı ruhsat almış bir entomopatojen fungus (Nibortem SL, %1,5 *Verticillium lecanii* strain Bb-1 %1,5 - 1×10^6 üzeri 8 kob/ml min) ve trips mücadelesinde yaygın kullanılan bir insektisit (Laser SC, 480 g/l Spinosad) kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ise trips verilmiş yaprakların üzerine %0.03 tween 80 içeren su püskürtülmüştür. Her bir petri kabı bir tekerrür olacak şekilde, çalışma 4 tekerrürlü olarak dizayn edilmiştir. Entomopatojen fungusların *F. occidentalis* üzerindeki etkinliklerini belirlemek amacıyla, çalışmalar 25 ± 1 °C sıcaklık ve %70±5 orantılı neme sahip iklim odasında yürütülmüştür (Şekil 3.8).



Şekil 3.7. Spor süspansiyonlarının yaprakların üzerinde bulunan trips ergin bireylerine ilaçlama kulesi (spray-tower) kullanılarak püskürtülmesi



Şekil 3.8. Entomopatojen fungusların etkinlik denemelerinin kurulumu

3.2.3.5. Spor çimlenmesinin belirlenmesi

Patojenisite testleri esnasında kullanılan spor konsantrasyonlarından 0.1 ml alınarak PDA besiyeri üzerine ekim yapılmıştır. Petriler 24 saat 24°C’de inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon işleminden daha sonra mikroskop altında 400x büyütmede dört farklı mikroskop alanında sayımlar gerçekleştirilmiştir. Sporların kendi boyları kadar çimlenme tüpü oluşturan sporlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir (Safavi vd. 2010). Çimlenme yüzdesi ise aşağıda verilen formüle göre belirlenmiştir.

$$\% \text{ çimlenme} = [a/(a+b)] \times 100$$

a; çimlenen spor sayısı

b; çimlenmeyen spor sayısı

3.2.3.4. Veri toplama ve istatistiki analiz

Laboratuvardaki patojenisite testlerinde muamele etkinlikleri, uygulamadan 3, 7 ve 10 gün sonra yapılan canlı/ölü sayımlarıyla belirlenmiştir. Stereo-mikroskop altında yapılan sayımlarda zararlı bireyleri tek tek kontrol edilerek üzerinde herhangi bir fungal gelişme olup olmadığı gözlenmiştir. Her entomopatojenin belli yapı ve renkte misel gelişimi olduğundan, doğal ölümler deneme dışı bırakılmıştır. Test edilen entomopatojenlerin % etkinlikleri aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Henderson ve Tilton, 1955).

$$\text{Etkinlik (\%)} = [1 - (A1 \times B1 / A2 \times B2) \times 100]$$

Burada;

A1 = Uygulamadan sonra muameleli bitki aksamındaki yaşayan birey sayısı,

A2 = Uygulamadan önce muameleli bitki aksamındaki yaşayan birey sayısı,

B1 = Uygulamadan sonra kontroldeki bitki aksamındaki yaşayan birey sayısı,

B2 = Uygulamadan önce kontroldeki bitki aksamındaki yaşayan birey sayısı.

Laboratuvarda petri denemelerinden elde edilen % ölümler kare-kök transformasyonu (arcsine square-root transformation) ile normalize edilip sonra da Varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Muameleler arasındaki önemli farklılıkları belirlemek için ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi (Duncan's Multiple Range Test; DMRT; $P \leq 0.05$) kullanılmıştır (SPSS® 26,0).

4. BULGULAR

4.1. *Frankliniella occidentalis*'ten İzole Edilen Funguslar

Yürütülen tez çalışmasında amaç, doğrudan *F. occidentalis* üzerinde enfeksiyon yapan entomopatojen fungusları izole etmektir. Bu amaçla, arazi çalışmaları esnasında, 60 farklı lokasyona gidilmiş ve 20x büyütme lup kullanılarak ölü veya enfekteli *F. occidentalis* bireyleri belirlenmiş ve örnekler alınarak laboratuvara getirilmiştir. Örnek toplama çalışması kapsamında 60 farklı lokasyondan alınan örneklerin bir kısmında fungal gelişimin olmaması ve bazılarının da yapılan ön moleküler çalışmalar neticesinde aynı izolatlar olduğunun ortaya çıkması nedeniyle izolat sayımız 31'e düşmüştür. Getirilen örneklerden yapılan izolasyonlar sonucunda; *Akanthomyces*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Isaria*, *Lecanicillium* ve *Sporothrix* cinslerinden 15 farklı türe ait 31 farklı izolat elde edilmiştir. İzolasyon sonucunda yapılan moleküler ve morfolojik tanılama sonuçlarına göre fungusların türleri ve alındığı lokasyonlar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmada elde edilen fungal izolatların ait olduğu fungus türleri

No	İzolat adı	Fungal tür	Alındığı lokasyon
1	K1	<i>Alternaria infectoria</i>	Karaöz/Aksu
2	K2	<i>Al. arborescens/brassicae</i>	Belen/Kumluca
3	K3	<i>Al. infectoria/forlicesenensis</i>	Dirgenler/Kaş
4	K4	<i>Sporothrix pallida</i>	Sahilkent/Finike
5	K5	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Karatepe/Konyaaltı
6	K6	<i>Cladosporium oxysporum/cladosporioides</i>	Gökçam/Konyaaltı
7	K7	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Aşağıkaraman/Konyaaltı
8	K8	<i>Fusarium incarnatum/equiseti</i>	Taşagıl/Manavgat
9	K9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Beşkonak/Manavgat
10	K10	<i>Alternaria alternata</i>	Çakış/Manavgat
11	K12	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Taşagıl/Manavgat
12	K13	<i>Alternaria alternata/arborescens</i>	Beşkonak/Manavgat
13	K17	<i>Alternaria alternata/arborescens</i>	Beşkonak/Manavgat
14	K19	<i>Alternaria alternata</i>	Topallı/Aksu
15	K20	<i>Alternaria alternata</i>	Kurşunlu/Aksu
16	K22	<i>Alternaria infectoria</i>	Karadağ/Kaş
17	K23	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Göynük/Kemer
18	K25	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Adrasan/Kumluca

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.1'in devamı

19	K27	<i>Alternaria alternata</i>	Köseler/Aksu
20	K29	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Yeşilkaraman/Aksu
21	K33	<i>Alternaria alternata</i>	Karaöz/Kumluca
22	K34	<i>Fusarium oxysporum/chlamydosporum</i>	Adrasan/Kumluca
23	K35	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Belen/Kumluca
24	K38	<i>Alternaria infectoria</i>	Yazır/Kumluca
25	M47	<i>Beauveria bassiana</i>	Karadağ/Kaş
26	M48	<i>B. bassiana</i>	Kasaba/Kaş
27	M49	<i>B. bassiana</i>	Kasaba/Kaş
28	M50	<i>Isaria fumosorosea</i>	Dirgenler/Kaş
29	DOA1	<i>Akanthomyces muscarius</i>	İskele/Finike
30	DOA2	<i>Ak. muscarius</i>	Sahilkent//Finike
31	DOA3	<i>Lecanicillium psalliotae</i>	İskele/Finike

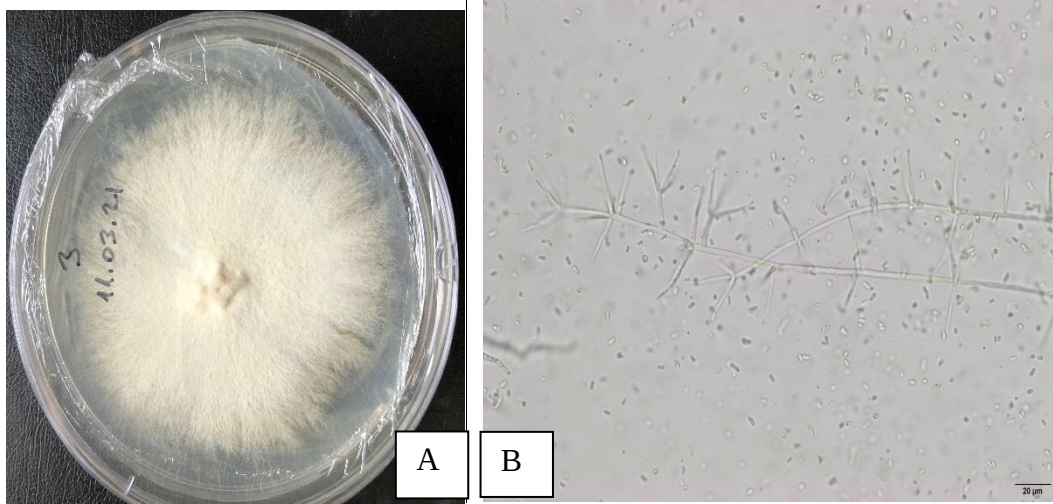
4.2. Elde Edilen Entomopatojen Fungus İzolatlarının Tanısı

4.2.1. Ümitvar 5 entomopatojen fungusun morfolojik tanılamaları

Frankliniella occidentalis üzerinde biyolojik etkinliği en yüksek 5 entomopatojen fungusun (M48, M49, M50, DOA1 ve DOA3) morfolojik tanıları gerçekleştirilmiştir. Ümitvar 5 izolattan ikisi *B. bassiana* (M48 ve M49), biri *I. fumosorosea* (M50), biri *A. muscarius* (DOA1), biri de *L. psalliotae* (DOA3) türleri olarak tanımlanmıştır. İzole edilen fungusların orijinal tanımları, koloni görüntüleri ve mikroskopik fotoğrafları ise Şekil 4.1-Şekil 4.5'de verilmiştir.

4.2.1.1. *Beauveria bassiana* M48 izolatının morfolojisi

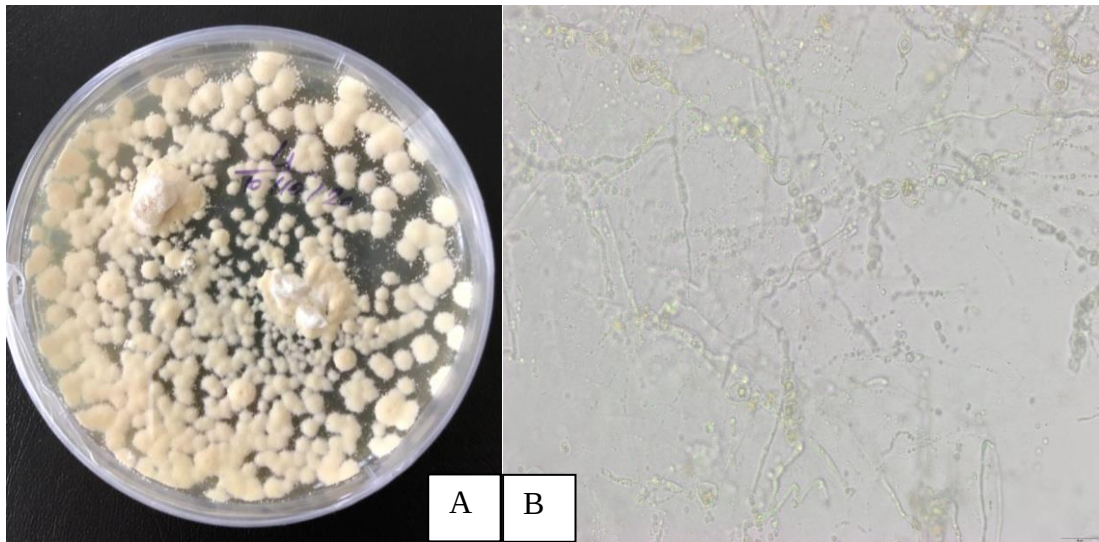
Patates dekstroaz agar kültür ortamında gelişen koloniler genellikle yavaş büyümüştür. PDA ortamında genellikle 7 günde 24°C'de 20 mm çapında koloni oluşturmuştur. Koloniler, tüylü, ilk başta beyaz, ancak daha sonra sıklıkla sarı renkli hale gelmiştir. Konidi verici hücrelerin tabanları şişe şeklinde olup bu hücrelerin üzerinde zigzak şeklinde ana gövde oluşmuştur. Zigzak biçimindeki ana gövdenin her bir uzantısında bir konidi oluşmuştur. *B. bassiana*'nın konidileri küremsi, düz çeperli, şeffaf olup septa görülmemektedir. Bunun yanında *B. bassiana* klamidospore oluşturmamıştır. Yapılan konidi ölçümleri sonucunda büyüklükleri ortalama en 2.27 µm, ortalama boy 2.11 µm'dir (N=50) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. A) *Beauveria bassiana* M48 izolatının koloni görüntüsü **B)** Konidiyofor ve konidilerin görüntüsü

4.2.1.2. *Beauveria bassiana* M49 izolatının morfolojisi

Patates dekstroza agar kültür ortamında gelişen koloniler genellikle yavaş büyümüşür. PDA ortamında genellikle 7 günde 24°C'de 20 mm çapında koloni oluşturmuştur. Koloniler, tüylü, ilk başta beyaz, ancak daha sonra sıklıkla sarı renkli hale gelmişlerdir. Konidi verici hücrelerin tabanları şişe şeklinde olup bu hücrelerin üzerinde zigzag şeklinde ana gövde oluşmaktadır. Zigzag biçimindeki ana gövdenin her bir uzantısında bir konidi oluşmaktadır. Hif şişkinlikleri oluşmuştur. *B. bassiana*'nın konidileri küremsi, düz çeperli, şeffaf olup septa görülmemektedir. Bunun yanında *B. bassiana* klamidospore oluşturmamaktadır. Yapılan konidi ölçümleri sonucunda büyüklükleri ortalama en 2.28 µm, ortalama boy 2.37 µm'dir (N=50) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. A) *Beauveria bassiana* M49 izolatının koloni görüntüsü **B)** Konidiyofor ve konidilerin görüntüsü

4.2.1.3. *Isaria fumosorosea* M50 izolatının morfolojisi

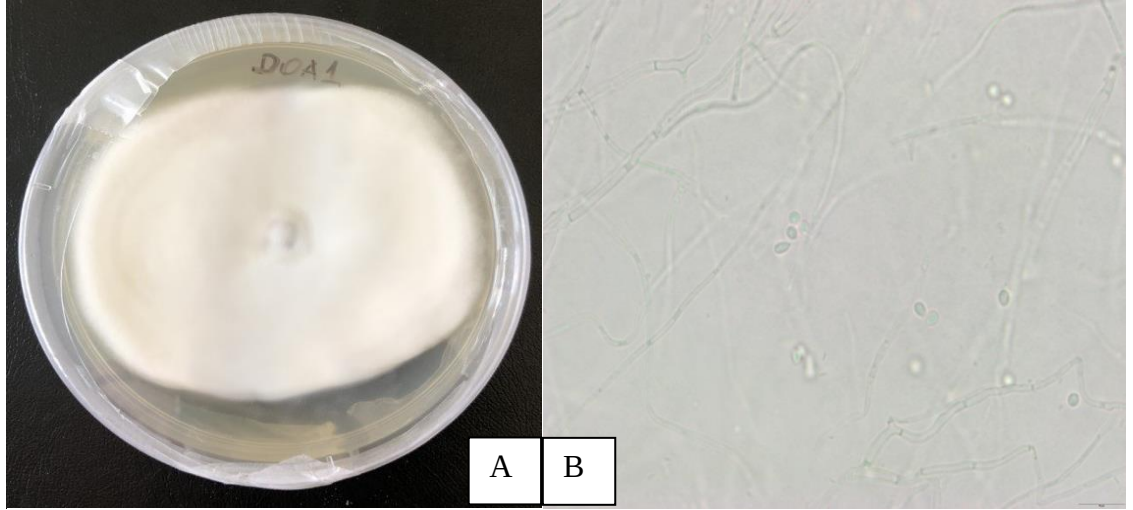
Patates dekstroza agar kültür ortamında gelişen koloniler genellikle hızlı büyümektedir. Kültür ortamında 7 günde 24°C'de 40 mm çapında koloni oluşturabilmektedir. Koloniler öncelikle açık sarı renkli olmasına rağmen, büyüdükçe giderek pudra rengine dönüşmektedir. Fialitleri şişe benzeri şekildedir. Şişe şeklindeki fialitlerin, şişmiş bazal bölgedeki ortalama uzunluğu 5.6 µm ve çapı 1.5 µm olarak belirlenmiştir ($N = 50$). Konidiler zincir şeklinde, şeffaf ve elips biçimindedir. Yapılan konidi ölçümleri sonucunda büyüklükleri ortalama en 2.19 µm, ortalama boy 1.93 µm'dir ($N=50$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. A) *Isaria fumosorosea* M50 izolatının koloni görüntüsü B) Konidiyofor ve konidilerin görüntüsü

4.2.1.4. *Akanthomyces muscarius* DOA1 izolatının morfolojisi

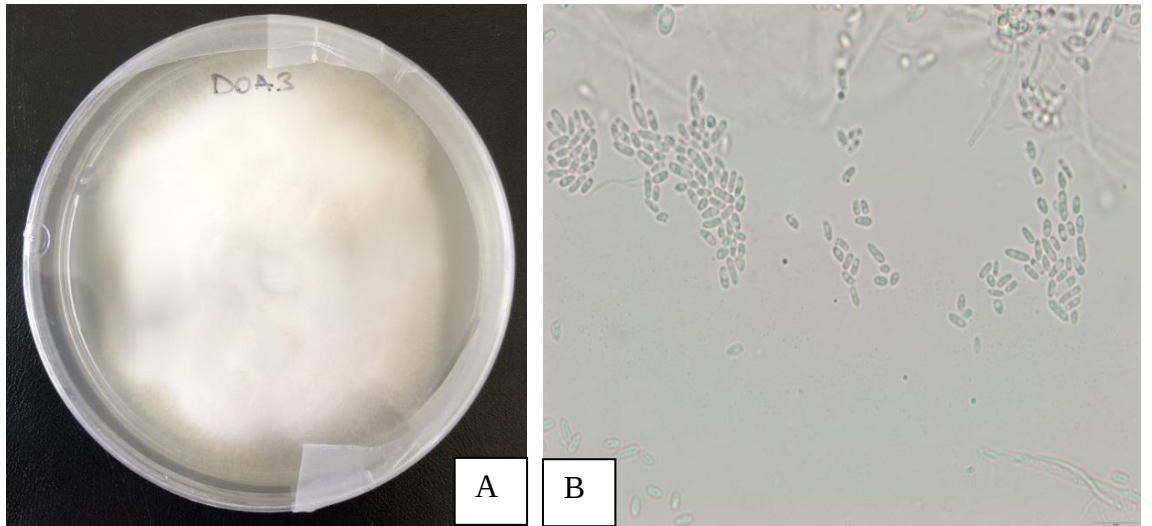
Patates dekstroza agar kültür ortamında gelişen koloniler genellikle yavaş büyümektedir. PDA ortamında genellikle 7 günde 24°C'de 20 mm çapında koloni oluşturmuştur. Koloniler dairesel, kompakt, pamuksu, kabarık ve beyaz renklidir. Miselyum bölmeli, dallı, hiyalin, pürüzsüz hiflerden oluşur. Konidioforlar, dik, esnek, bölmeli, dallı, pürüzsüzdür. Konidiler değişik boyutlarda, şeffaf, tek hücreli, pürüzsüz ve elips biçimindedir. Yapılan konidi ölçümleri sonucunda büyüklükleri ortalama en 2.47 µm, ortalama boy 2.47 µm'dir ($N=50$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. A) *Akanthomyces muscarius* DOA1 izolatının koloni görüntüsü **B)** Konidiyofor ve konidilerin görüntüsü

4.2.1.5. *Lecanicillium psalliotae* DOA3 izolatının morfolojisi

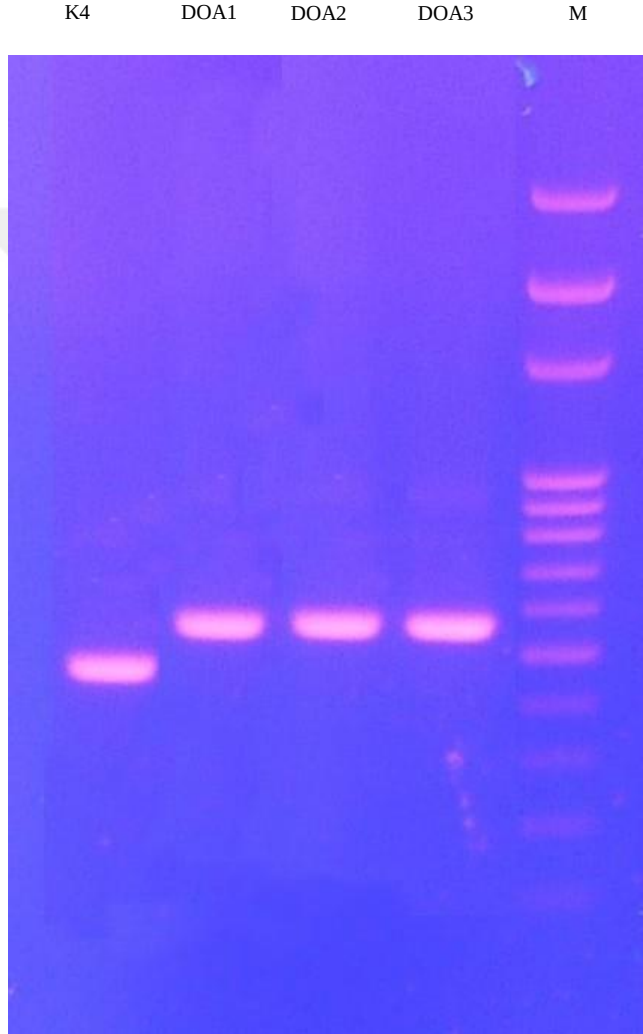
Patates dekstroz agar kültür ortamında gelişen koloniler genellikle yavaş gelişmektedir. PDA ortamında genellikle 7 günde 24°C’de 20 mm çapında koloni oluşturmuştur. Koloniler dairesel, kompakt, pamuksu, kabarık ve beyaz renklidir. *L. psalliotae* kladidospor oluşturmamaktadır. Bu fungus türünde vertisillat dallanma gözlenmiştir. *L. psalliotae* konidileri orak biçimindedir. Fungus daha küçük olan ikincil konidiler de oluşturabilmektedir. Yapılan konidi ölçümleri sonucunda büyüklükleri ortalama en 2.07 µm, ortalama boy 3.67 µm’dir ($N=50$) (Şekil 4.5).



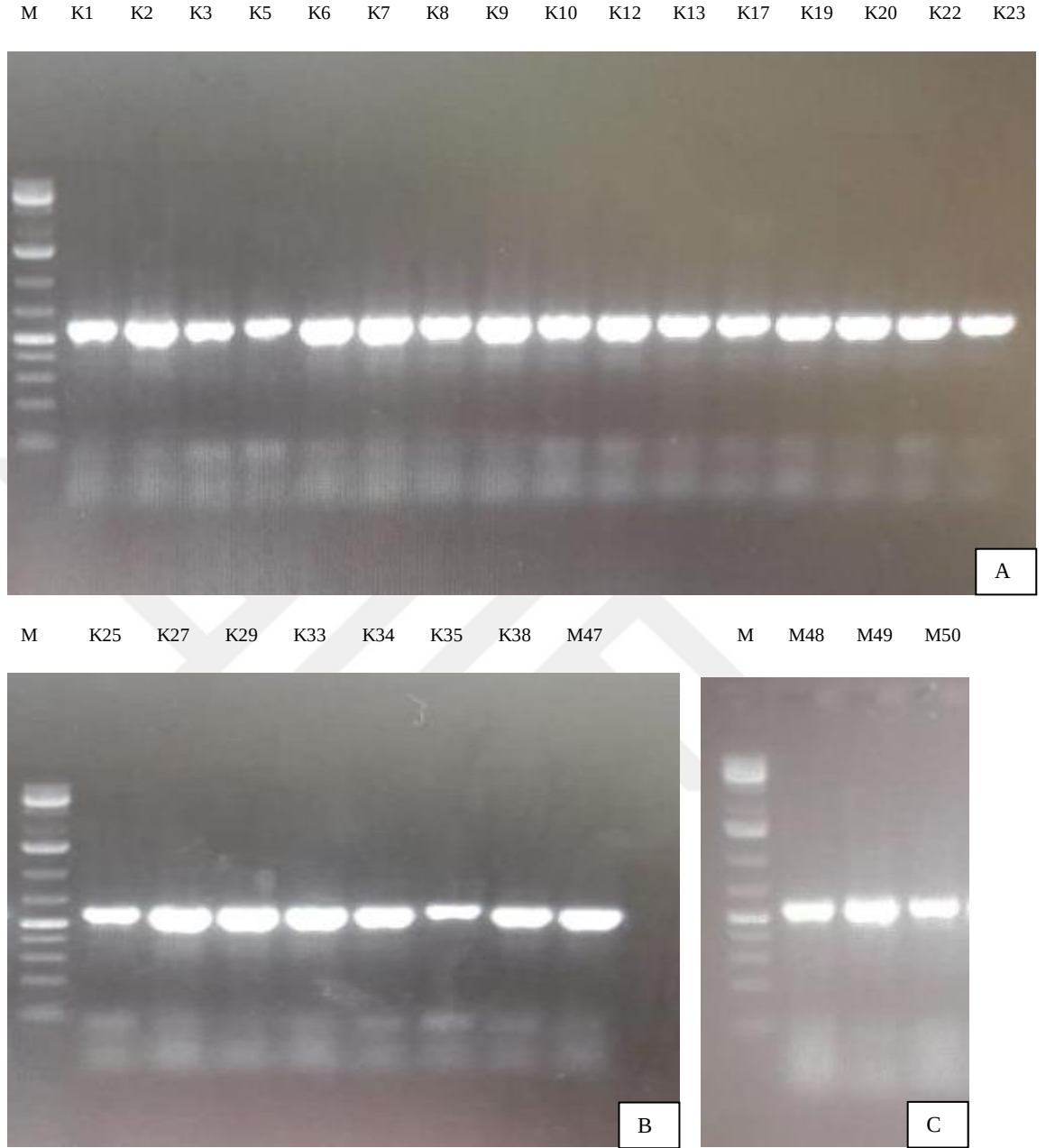
Şekil 4.5. A) *Lecanicillium psalliotae* DOA3 izolatının koloni görüntüsü **B)** Konidiyofor ve konidilerin görüntüsü

4.2.2. Entomopatojen fungusların moleküler tanılamaları

S. pallida K4, *A. muscarius* DOA1 ve DOA2 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarının ITS2-ITS5 primerleri kullanılırken, diğer izolatların tamamının teşhisinde ITS1-ITS4 primerleri kullanılmıştır. *S. Pallida* K4 izolatı ITS2-ITS5 primerleri kullanılarak 450 bp’de bant verirken, diğer tüm izolatlar yaklaşık 580 bp’de bant vermiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7.). Tez kapsamında elde edilen izolatların sekans bilgileri Ek 1’de verilmiştir.



Şekil 4.6. ITS 2 ve ITS 5 primeri ile elde edilen DNA bantları, M; DNA ladder 100 bp (SolisBiodyne), *A. muscarius* DOA1 ve DOA2 ve *L. psalliotae* DOA3’ün yaklaşık 580 bp’de, *S. pallida* K4 yaklaşık 450 bp’de verdiği bantlar



Şekil 4.7. A-C ITS 1 ve ITS 4 primeri ile elde edilen DNA bantları, M; DNA ladder 100 bp (SolisBiodyne), ITS 1 ve ITS 4 primeri kullanılan tüm izolatların yaklaşık 580 bp’de verdiği bant görüntüsü

Moleküler çalışmaların sonuçlarına göre 12 adet *Alternaria* izolatı, 8 adet *Cladosporium* izolatı, 3 adet *Beauveria* izolatı, 2 adet *Akanthomyces* izolatı, 2 adet *Fusarium* izolatı, 1 adet *Isaria* izolatı, 1 adet *Lecanicillium* izoaltı, 1 adet *Sporothrix* izolatı, 1 adet *Aspergillus* izolatı, NCBI gen bankasındaki kayıtlı olan izolatlarla benzerlik göstermiştir. BLAST algoritma analizi sonucunda entomopatojen fungus türlerinin ITS sekans benzerlik oranları, benzerlik gösterdiği organizmalara ait gen bankası numarası Çizelge 4.2’de verilmiştir.

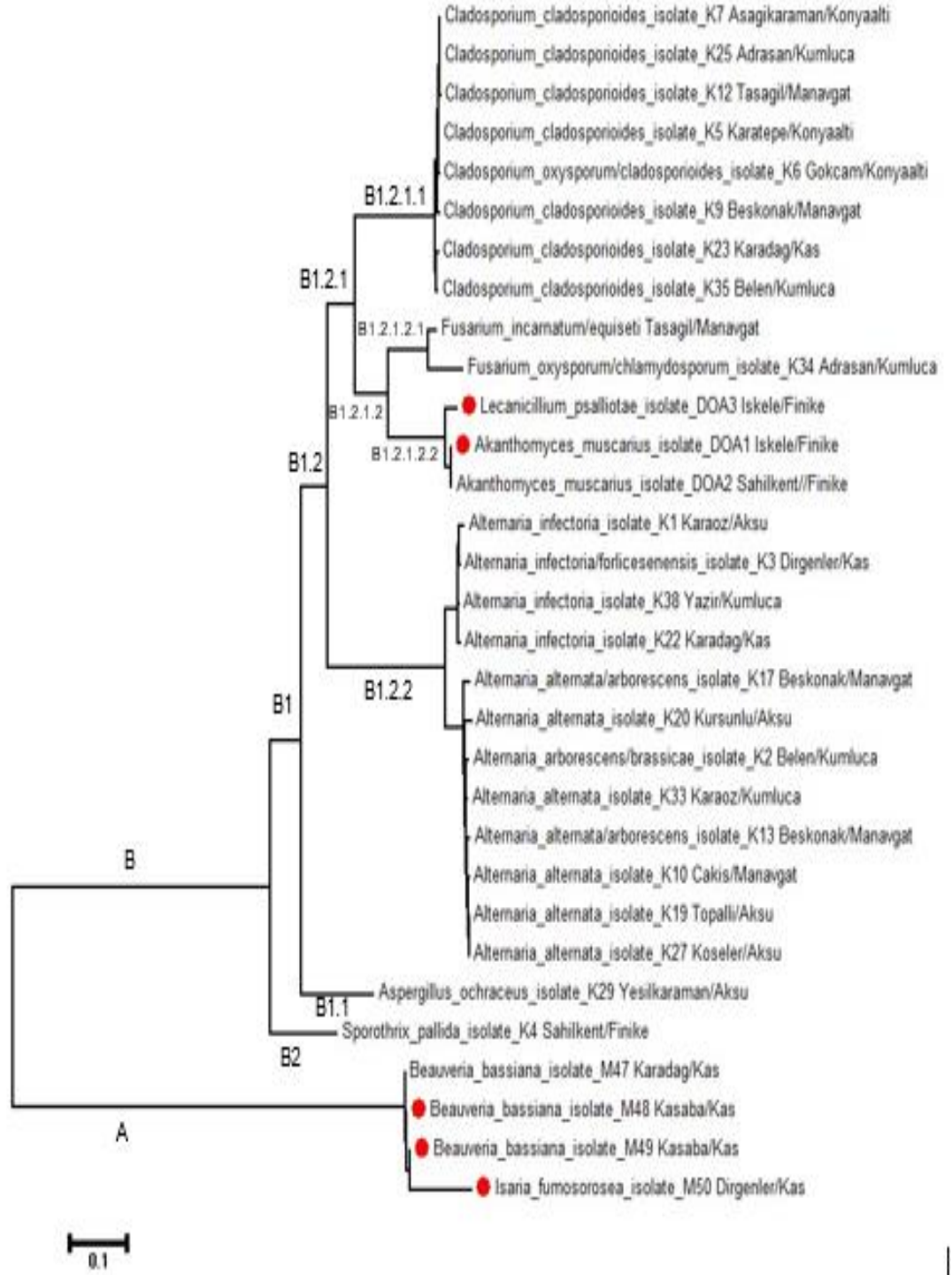
Çizelge 4.2. İzolatların gen bankasındaki izolatlarla benzerlik oranları

No	İzolat Kodu	Tür	Gen bankası numarası	ITS sekans benzerliği
1	K1	<i>Alternaria infectoria</i>	KT223363.1	99
2	K2	<i>Alternaria arborescens/brassicae</i>	KX463046.1	99
3	K3	<i>Alternaria infectoria/forlicesenensis</i>	KT223363.1	99
4	K4	<i>Sporothrix pallida</i>	MH857542.1	100
5	K5	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	KX867548.1	100
6	K6	<i>Cladosporium oxysporum/cladosporioides</i>	KT835050.1	99
7	K7	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	KT898685.1	100
8	K8	<i>Fusarium incarnatum/equiseti</i>	KY436233.1	100
9	K9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	MG845218.1	99
10	K10	<i>Alternaria alternata</i>	KP174670.1	100
11	K12	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	LC133887.1	99
12	K13	<i>Alternaria alternata/arborescens</i>	KP174670.1	99
13	K17	<i>Alternaria alternata/arborescens</i>	KP174670.1	99
14	K19	<i>Alternaria alternata</i>	KP174670.1	99
15	K20	<i>Alternaria alternata</i>	KP174670.1	99
16	K22	<i>Alternaria infectoria</i>	LC171676.1	99
17	K23	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	KR028334.1	100
18	K25	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	MG845218.1	100
19	K27	<i>Alternaria alternata</i>	KT898758.1	99
20	K29	<i>Aspergillus ochraceus</i>	MF034457.1	100
21	K33	<i>Alternaria alternata</i>	KC145172.1	99
22	K34	<i>Fusarium oxysporum/chlamydosporum</i>	MG551565.1	95
23	K35	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	KR028334.1	100
24	K38	<i>Alternaria infectoria</i>	LC171676.1	99
25	M47	<i>Beauveria bassiana</i>	MF187104.1	99
26	M48	<i>Beauveria bassiana</i>	EU334677.1	99
27	M49	<i>Beauveria bassiana</i>	KC243961.1	99
28	M50	<i>Isaria fumosorosea</i>	MG921210.1	99
29	DOA1	<i>Akanthomyces muscarius</i>	MN080299.1	99
30	DOA2	<i>Akanthomyces muscarius</i>	MH859686.1	99
31	DOA3	<i>Lecanicillium psalliotae</i>	AB160994.1	99

DNA dizi analizleri yapılan, entomopatojen fungusların ITS gen bölgeleri esas alınarak MEGA 7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) Filogenetik Ağaç Programı ile yapılan analiz sonucunda türlerin birbirleri arasındaki genetik benzerlik/farklılıklar belirlenmiştir (Şekil 4.8).

Farklı lokasyonlardan toplanan ve farklı patojenite gücüne sahip izolatlar elde edilen dendrogramda öncelikle iki gruba (A ve B) ayrılmıştır. A grubu Kaş ilçesinin farklı lokasyonlarından toplanmış olan dört izolatı içerirken (*B. bassiana* M47, *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49 ve *I. fumosorosea* M50 izolatları), B grubu iki alt gruba ayrılmıştır. Sahilkent/Finike lokasyonundan toplanan *S. pallida* K4 izolatı diğer izolatlardan ayrılmış ve tek başına B2’de yer almıştır. B1 grubu ise tekrar iki alt dala ayrılarak Yeşilköy/Aksu lokasyonundan toplanmış olan *As. ochraceus* K29 izolatı diğer örneklerden ayrılarak B1.1’de yer alırken, izolatların% 85’e yakını (26 izolat) B1.2 grubunda yer almıştır. B1.2 tekrar iki alt gruba ayrılmış ve B1.2.1 grubunda farklı lokasyonlardan toplanmış 13 izolat yer almıştır. Bu izolatlardan Finike lokasyonundan toplanmış olan üç izolat (*L. psalliotae* DOA3, *Ak. muscarius* DOA1 ve *Ak. muscarius* DOA2 izolatları) diğerlerinden ayrılarak bir alt grupta toplanmışlardır (B1.2.1.2.2). B1.2.2 grubu ise farklı lokasyonlardan toplanmış izolatları barındırmakla birlikte bazı izolatlar toplandıkları lokasyonlarına göre kısmen bir arada toplanmışlardır.

Elde edilen veriler sonucunda fungus türleri arasında coğrafik farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra patojenisitesi yüksek olarak belirlenen izolatlardan *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarının aynı lokasyondan (İskele/Finike) toplandığı tespit edilirken, patojenisitesi yüksek diğer *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49 ve *I. fumosorosea* M50 izolatlarının Kaş ilçesinden toplandığı tespit edilmiştir. Kaş ve Finike ilçelerinden toplanan bu izolatların ortak özelliği ormanlık alanlara yakın ve nem oranı yüksek alanlardan alınmış olmalarıdır.



Şekil 4.8. Bu tez çalışmasında elde edilen fungus izolatlarının ITS gen bölgelerinin filogenetik dendrogramı

4.3. Elde Edilen Entomopatojen Fungusların *F. occidentalis*'e Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesi

4.3.1. Patojenisitesi yüksek 5 entomopatojen fungusun belirlenmesi

Biyolojik etkinlik testlerine alınan toplam 31 izolattan, 4 türe ait toplam 5 izolattın *F. occidentalis*'e karşı ümitvar patojenler olduğu belirlenmiştir. Tek dozda (1×10^7 konidiospor/ml) elde edilen ölüm oranları, izolat numaraları ile birlikte Çizelge 4.2'de verilmiştir. Kullanılan kriterlere göre: *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatları yüksek derecede patojen olarak belirlenmiştir. Diğer 26 izolat, *F. occidentalis*'e karşı yürütülen çalışmada hiç ya da düşük patojen özellik göstermiştir.

Bu denemede *F. occidentalis*'e karşı %75 ve üzeri ölüm oranına sahip ve kriterlere uygun olan izolatlar (*B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3) bir sonraki patojenisite çalışması için seçilmiştir. Belirlenen izolatların seçiminde %75 ve üzeri ölüm elde etme kriteri diğer 4 kritere göre daha çok belirleyici olmuştur.

Çizelge 4.3. Entomopatojen fungusların çimlenme ve *F. occidentalis* üzerine etkileri

İzolat kodu	Tür	Fungus spor çimlenmesi (%)	Ergin dişi bireylerin ölüm oranı (%)
K1	<i>Alternaria infectoria</i>	>95	35
K2	<i>Alternaria arborescens/brassicae</i>	>90	0
K3	<i>Alternaria infectoria/forlicesenensis</i>	>95	5
K4	<i>Sporothrix pallida</i>	>95	70
K5	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	>95	0
K6	<i>Cladosporium oxysporum/cladosporioides</i>	>90	0
K7	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	>90	5
K8	<i>Fusarium incarnatum/equiseti</i>	>90	0
K9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	>90	5
K10	<i>Alternaria alternata</i>	>95	25
K12	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	>95	0

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.3'ün devamı

K13	<i>Alternaria alternata/arborescens</i>	>95	10
K17	<i>Alternaria alternata/arborescens</i>	>95	5
K19	<i>Alternaria alternata</i>	>90	5
K20	<i>Alternaria alternata</i>	>95	10
K22	<i>Alternaria infectoria</i>	>95	65
K23	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	>90	15
K25	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	>95	10
K27	<i>Alternaria alternata</i>	>95	20
K29	<i>Aspergillus ochraceus</i>	>95	20
K33	<i>Alternaria alternata</i>	>95	15
K34	<i>Fusarium oxysporum/chlamydosporum</i>	>95	0
K35	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	>95	0
K38	<i>Alternaria infectoria</i>	>90	20
M47	<i>Beauveria bassiana</i>	>95	70
M48	<i>Beauveria bassiana</i>	>95	80
M49	<i>Beauveria bassiana</i>	>95	75
M50	<i>Isaria fumosorosea</i>	>95	75
DOA1	<i>Akanthomyces muscarius</i>	>95	75
DOA2	<i>Akanthomyces muscarius</i>	>95	70
DOA3	<i>Lecanicillium psalliotae</i>	>95	80

4.3.2. Ümitvar 5 entomopatojen fungusun laboratuvar koşullarında etkinliklerinin belirlenmesi

Ön deneme çalışmalarında ümitvar derecede patojen olarak belirlenen *B.*

bassiana M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarının 1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidiospor /ml olacak şekilde hazırlanan spor süspansiyonlarında $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık ve $\%70 \pm 5$ orantılı neme sahip iklim odasında *F. occidentalis*'in farklı biyolojik dönemlerine (larva, pupa ve ergin dişi) karşı patojeniteleri araştırılmıştır. Ümitvar 5 izolatın *F. occidentalis*'in larva dönemine karşı ölüm oranları Çizelge 4.3'te, pupa dönemine karşı ölüm oranları Çizelge 4.4'te, ergin dişilerine karşı ölüm oranları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Ölü bireylerden elde edilen bazı mikroskop fotoğrafları ise Şekil 4.9-4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.9. *Lecanicillium psalliotae* DOA3 izolatı tarafından enfekte edilen *F. occidentalis* larvası



Şekil 4.10. *Beauveria bassiana* M48 izolatı tarafından enfekte edilen *F. occidentalis* pupası



Şekil 4.11. *Beauveria bassiana* M49 izolatı tarafından enfekte edilen *F. occidentalis* ergin dişisi



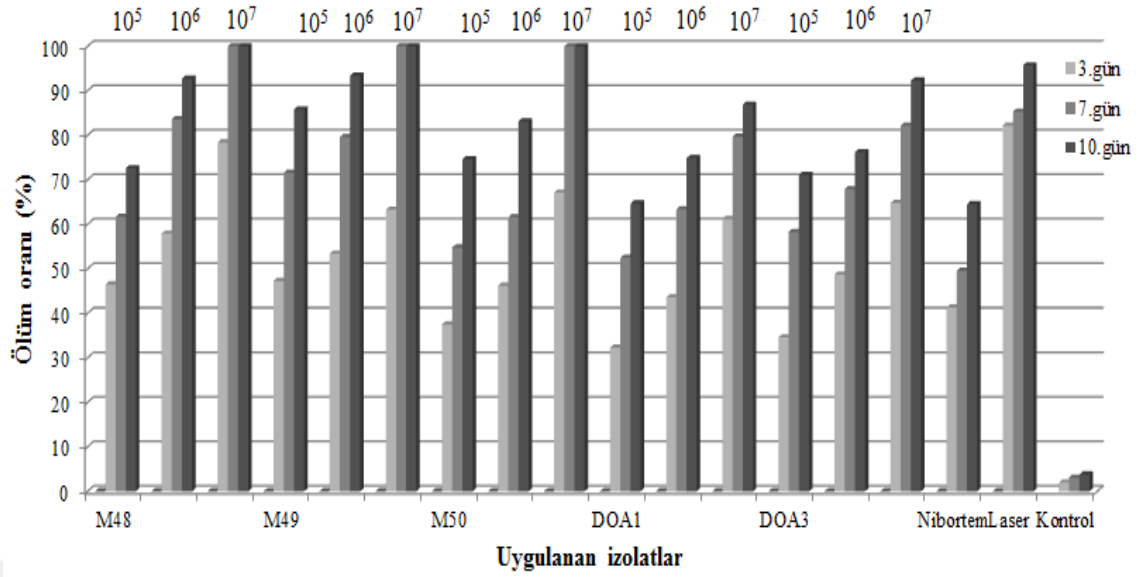
Şekil 4.12. *Isaria fumosorosea* M50 izolatı tarafından enfekte edilen *F. occidentalis* ergin dişisi

Çizelge 4.4. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde test edilen fungal izolatların *F. occidentalis* larvalarında neden olduğu ölüm oranları (%) ve standart sapmaları

İzolat	Dozlar (konidiospor/ml)	3.gün	7.gün	10.gün
<i>B. bassiana</i> M48	1x10 ⁵	46.5±8.2 c	61.7±3.3 c	72.6±4.5 c
	1x10 ⁶	57.9±3.5 b	83.6±2.2 b	92.7±0.9 b
	1x10 ⁷	78.4±2.7 a (A)	100±0.0 a (A)	100±0.0 a (A)
<i>B. bassiana</i> M49	1x10 ⁵	47.3±8.9 b	71.6±5.6 c	85.8±2.2 c
	1x10 ⁶	53.4± 0.7 b	79.6±0.9 b	93.4±0.6 b
	1x10 ⁷	63.3± 1.2 a (B)	100±0.0 a (A)	100±0.0 a (A)
<i>I. fumosorosea</i> M50	1x10 ⁵	37.5±5.7 c	54.8±6.2 c	74.6±3.8 c
	1x10 ⁶	46.2±3.8 b	61.6±1.1 b	83.1±2.3 b
	1x10 ⁷	67.1±1.5 a (B)	100±0.0 a (A)	100±0.0 a (A)
<i>A. muscarius</i> DOA1	1x10 ⁵	32.3±8.5 c	52.5±6.7 c	64.7±4.9 c
	1x10 ⁶	43.6±3.8 b	63.4±2.4 b	74.9±1.6 b
	1x10 ⁷	61.2±2.9 a (B)	79.7±1.4 a (C)	86.9±1.8 a (D)
<i>L. psalliotae</i> DOA3	1x10 ⁵	34.6±7.1 c	58.3±7.5 c	71.1±4.1 c
	1x10 ⁶	48.7±3.4 b	67.9±1.8 b	76.2±1.5 b
	1x10 ⁷	64.8±1.8 a (B)	82.2±1.6 a (BC)	92.3±1.1 a (C)
Nibortem	%1,5 <i>Verticillium lecanii</i> strain Bb- 1 %1,5 - 1x10 ⁸ kob/ml min	41.3±9.5 (C)	49.6±6.6 (D)	64.5±5.1 (E)
Laser	480 g/l Spinosad	82.2±4.6 (A)	85.3±0.3 (B)	95.7±0.1 (B)
Kontrol		2.0±1.2	3.1±1.4	3.8±2.2

* 3., 7. ve 10. günlerdeki ölüm oranları ayrı ayrı değerlendirilmiş, her bir sütunda aynı harfleri alan ölüm oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

**Herbir izolat öncelikle dozlar arasında küçük harflerle gruplandırılmıştır. İkinci olarak 1x10⁷ dozları ve pozitif kontroller kendi arasında büyük harflerle harflendirilmiştir.



Şekil 4.13. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde test edilen fungal izolatların *F. occidentalis* larvalarında neden olduğu ölüm oranları (%)

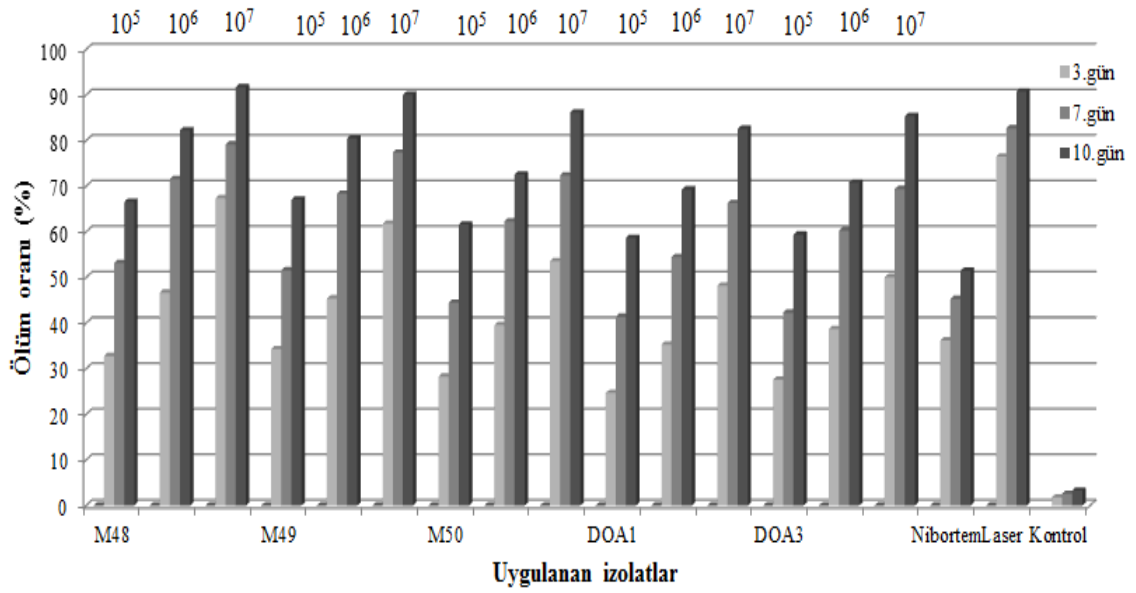
Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere, *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarının 10. gün değerlendirmesinde; 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda %86.9 ile %100 arasında değişen ölüm oranları ümitvar izolatlardan elde edilmiştir. 1×10^7 konidiospor/ml dozu bütün uygulamalarda istatistiki açıdan en etkili doz olarak belirlenmiştir. Bu nedenle tüm izolatlar için 1×10^7 konidiospor/ml dozundaki etki pozitif kontroller ile karşılaştırılmış ve istatistiki olarak farklılıkları belirlenmiştir. Uygulamanın 3. gününde, 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, pozitif kontrol 480 g/l Spinosad ile birlikte *B. bassiana* M48 izolatının en yüksek etki (A) yi gösterdiği belirlenmiştir. Diğer izolatlar, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3, ikinci yüksek etki (B) grubuna girmişlerdir. Uygulamanın 7. gününde ise 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, en etkili izolatın *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50 izolatları olduğu ve (A) etki grubuna girdikleri belirlenmiştir. *L. psalliotae* DOA3 izolatı (BC) etki grubuna, *A. muscarius* DOA1 izolatı ise üçüncü etki (C) grubuna girmiştir. Son olarak uygulamanın 10. gününde ise 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, %100 etkiye sahip olan ve (A) etki grubuna giren M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50 izolatları olduğu tespit edilmiştir. *L. psalliotae* DOA3 izolatı üçüncü etki (C) grubuna, *A. muscarius* DOA1 izolatı ise dördüncü etki grubuna (D) girdikleri belirlenmiştir. Çalışma esnasında pozitif kontrollerden bir diğeri %1,5 *Verticillium lecanii* strain Bb-1 $\%1,5 - 1 \times 10^8$ kob/ml min'nin tüm sayımlarda en düşük etki grubunda bulunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde test edilen fungal izolatların *F. occidentalis* pupalarında neden olduğu ölüm oranları (%) ve standart sapmaları

İzolat	Dozlar (konidiospor/ml)	3.gün	7.gün	10.gün
<i>B. bassiana</i> M48	1x10 ⁵	32.8±8.9 c	53.2±4.8 c	66.6±5.2 c
	1x10 ⁶	46.7±0.8 b	71.6±2.0 b	82.3±1.6 b
	1x10 ⁷	67.4±2.8 a (B)	79.2±0.7 a (A)	91.7±0.6 a (A)
<i>B. bassiana</i> M49	1x10 ⁵	34.3±10.1 c	51.6±6.5 c	67.1±5.6 c
	1x10 ⁶	45.4±5.8 b	68.4±1.5 b	80.5±2.4 b
	1x10 ⁷	61.8±2.0 a (B)	77.4±1.8 a (AB)	90.1±0.4 a (A)
<i>I. fumosorosea</i> M50	1x10 ⁵	28.3±10.1 c	44.5±9.7 c	61.6±5.9 c
	1x10 ⁶	39.6±4.0 b	62.3±1.6 b	72.6±1.6 b
	1x10 ⁷	53.6±3.3 a (C)	72.4±2.1 a (BC)	86.2±0.8 a (B)
<i>A. muscarius</i> DOA1	1x10 ⁵	24.7±10.8 b	41.4±10.1 c	58.7±6.1 c
	1x10 ⁶	35.3±5.0 b	54.5±3.5 b	69.3±1.3 b
	1x10 ⁷	48.2±2.8 a (C)	66.3±3.6 a (C)	82.6±1.7 a (C)
<i>L. psalliotae</i> DOA3	1x10 ⁵	27.6±7.7 c	42.3±10.3 b	59.4±6.0 c
	1x10 ⁶	38.7±4.4 b	60.3±1.1 b	70.8±3.7 b
	1x10 ⁷	50.1±4.0 a (C)	69.4±4.5 a (C)	85.4±2.9 a (B)
Nibortem	%1,5 <i>Verticillium lecanii</i> strain Bb-1 %1,5 - 1x10 ⁸ kob/ml min	36.2±7.8 (D)	45.3±8.4 (D)	51.5±3.0 (D)
Laser	480 g/l Spinosad	76.5±2.2 (A)	82.7±1.5 (A)	90.8±1.1 (A)
Kontrol		1.8±1.1	2.6±1.9	3.3±1.5

* 3., 7. ve 10. günlerdeki ölüm oranları ayrı ayrı değerlendirilmiş, her bir sütunda aynı harfleri alan ölüm oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

**Herbir izolat öncelikle dozlar arasında küçük harflerle gruplandırılmıştır. İkinci olarak 1x10⁷ dozları ve pozitif kontroller kendi arasında büyük harflerle harflendirilmiştir.



Şekil 4.14. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde test edilen fungal izolatların *F. occidentalis* pupalarında neden olduğu ölüm oranları (%)

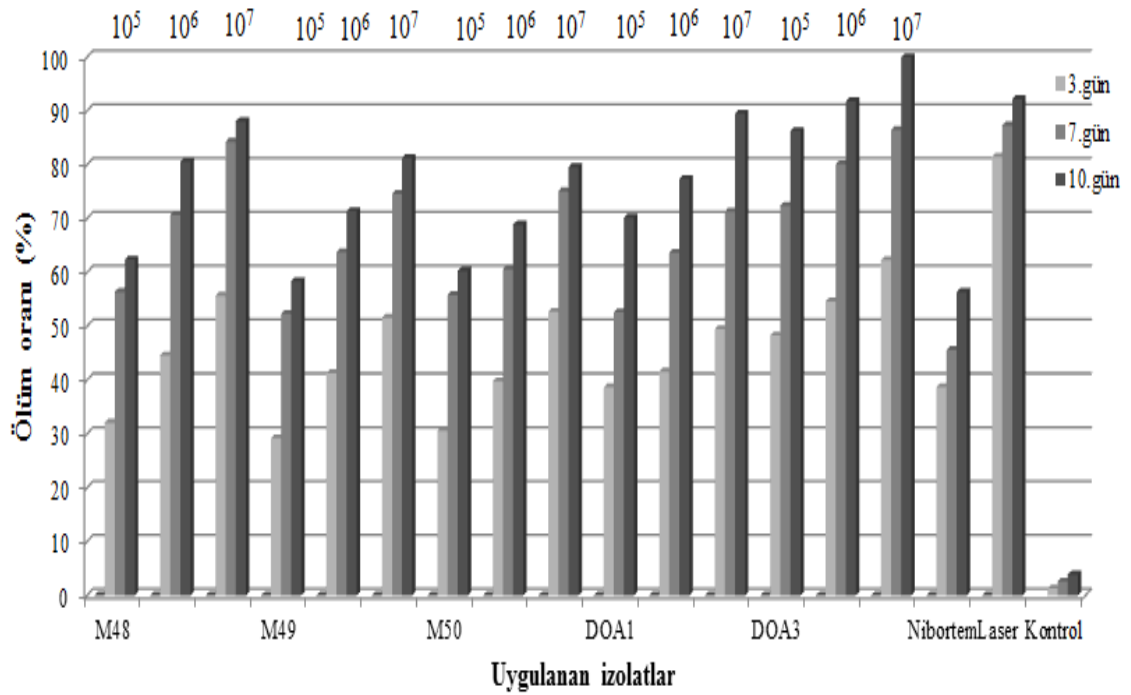
Çizelge 4.5'te görüldüğü üzere, *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarının 10. gün değerlendirmesinde; 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda %82.6 ile %91.7 arasında değişen ölüm oranları ümitvar izolatlardan elde edilmiştir. 1×10^7 konidiospor/ml dozu bütün uygulamalarda istatistiki açıdan en etkili doz olarak belirlenmiştir. Bu nedenle tüm izolatlar için 1×10^7 konidiospor/ml dozundaki etki pozitif kontroller ile karşılaştırılmış ve istatistiki olarak farklılıkları belirlenmiştir. Uygulamanın 3. gününde, 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, en etkili izolatın (A) grubuna giren pozitif kontrol 480 g/l Spinosad'dan sonra (B) etki grubuna giren *B. bassiana* M48 ve *B. bassiana* M49 izolatları olduğu görülmektedir. Diğer izolatlar, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 üçüncü etki (C) grubuna girmişlerdir. Uygulamanın 7. gününde ise 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, en etkili izolatın (A) grubuna giren pozitif kontrol 480 g/l Spinosad ile birlikte *B. bassiana* M48 izolatı olduğu belirlenmiştir. *B. bassiana* M49 izolatı (AB) etki grubuna, *I. fumosorosea* M50 izolatı (BC) etki grubuna, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatları ise üçüncü etki (C) grubuna girmişlerdir. Son olarak uygulamanın 10. gününde ise 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, en etkili izolatın pozitif kontrol 480 g/l Spinosad ile birlikte en yüksek etki (A) grubuna giren *B. bassiana* M48 ve *B. bassiana* M49 izolatları olduğu görülmektedir. *I. fumosorosea* M50 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatları ikinci etki (B) grubuna, *A. muscarius* DOA1 izolatı ise üçüncü etki grubuna (C) girdikleri belirlenmiştir. Çalışma esnasında pozitif kontrollerden bir diğeri %1,5 *Verticillium lecanii* strain Bb-1 %1,5 - 1×10^8 kob/ml min'nin tüm sayımlarda en düşük etki grubunda bulunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde test edilen fungal izolatların *F. occidentalis* ergin dişilerinde neden olduğu ölüm oranları (%) ve standart sapmaları

İzolat	Dozlar (konidiospor/ml)	3.gün	7.gün	10.gün
<i>B. bassiana</i> M48	1x10 ⁵	32.1±3.9 c	56.4±5.3 c	62.4±5.6 c
	1x10 ⁶	44.6±4.4 b	70.7±6.8 b	80.6±5.6 b
	1x10 ⁷	55.7±5.6 a (BC)	84.3±6.2 a (A)	88.1±5.9 a (B)
<i>B. bassiana</i> M49	1x10 ⁵	29.2±2.6 c	52.3±4.8 c	58.4±4.6 c
	1x10 ⁶	41.3±4.1 b	63.8±5.9 b	71.4±5.3 b
	1x10 ⁷	51.6±5.3 a (C)	74.6±6.4 a (B)	81.3±6.7 a (C)
<i>I. fumosorosea</i> M50	1x10 ⁵	30.6±3.1 c	55.8±2.8 c	60.3±3.8 c
	1x10 ⁶	39.8±5.2 b	60.6±4.8 b	68.9±5.1 b
	1x10 ⁷	52.7±6.8 a (C)	75.1±7.1 a (B)	79.6±7.3 a (C)
<i>A. muscarius</i> DOA1	1x10 ⁵	38.7±2.8 c	52.6±3.3 c	70.2±5.7 c
	1x10 ⁶	41.6±4.2 b	63.7±5.4 b	77.4±6.8 b
	1x10 ⁷	49.5±5.1 a (C)	71.3±6.7 a (B)	89.5±8.0 a (B)
<i>L. psalliotae</i> DOA3	1x10 ⁵	48.3±2.8 c	72.4±3.3 c	86.3±7.3 c
	1x10 ⁶	54.6±4.2 b	80.1±5.4 b	91.8±4.2 b
	1x10 ⁷	62.3±5.1 a (B)	86.5±6.7 a (A)	100±0.0 a (A)
Nibortem	%1,5 <i>Verticillium lecanii</i> strain Bb-1 %1,5 - 1x10 ⁸ kob/ml min	38.7±2.8 (D)	45.6±4.2 (C)	56.4±4.6 (D)
Laser	480 g/l Spinosad	81.5±4.6 (A)	87.3±6.1 (A)	92.2±5.6 (B)
Kontrol		1.3±1.3	2.6±1.3	3.9±2.6

* 3., 7. ve 10. günlerdeki ölüm oranları ayrı ayrı değerlendirilmiş, her bir sütunda aynı harfleri alan ölüm oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

**Herbir izolat öncelikle dozlar arasında küçük harflerle gruplandırılmıştır. İkinci olarak 1x10⁷ dozları ve pozitif kontroller kendi arasında büyük harflerle harflendirilmiştir.



Şekil 4.15. İnkubasyonun 3., 7. ve 10. günlerinde test edilen fungal izolatların *F. occidentalis* ergin dişilerinde neden olduğu ölüm oranları (%)

Çizelge 4.6'da görüldüğü üzere, *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarının 10. gün değerlendirmesinde; 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda %79.6 ile %100 arasında değişen ölüm oranları ümitvar izolatlardan elde edilmiştir. 1×10^7 konidiospor /ml dozu bütün uygulamalarda istatistiki açıdan en etkili doz olarak belirlenmiştir. Bu nedenle tüm izolatlar için 1×10^7 konidiospor/ml dozundaki etki pozitif kontroller ile karşılaştırılmış ve istatistiki olarak farklılıkları belirlenmiştir. Uygulamanın 3. gününde, 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, en etkili izolatın (A) grubuna giren pozitif kontrol 480 g/l Spinosad'dan sonra (B) etki grubuna giren *L. psalliotae* DOA3 izolatı olduğu görülmektedir. *B. bassiana* M48 izolatı (BC) etki grubuna, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50 ve *A. muscarius* DOA1 izolatları ise üçüncü etki (C) grubuna girmişlerdir. Uygulamanın 7. gününde ise 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, en etkili izolatın *B. bassiana* M48 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatları olduğu ve (A) etki grubuna girdikleri belirlenmiştir. *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50 ve *A. muscarius* DOA1 izolatları ise ikinci etki (B) grubuna girmişlerdir. Son olarak uygulamanın 10. gününde ise 1×10^7 konidiospor/ml konsantrasyonda uygulanan süspansiyonlar incelendiğinde, %100 etkiye sahip olan ve (A) etki grubuna giren DOA3 izolatı olduğu tespit edilmiştir. *B. bassiana* M48 ve *A. muscarius* DOA1 izolatları ise ikinci etki (B) grubuna, *B. bassiana* M49 ve *B. bassiana* M50 izolatlarının ise üçüncü etki (C) grubuna girdiği görülmüştür. Çalışma esnasında pozitif kontrollerden bir diğeri %1,5 *Verticillium lecanii* strain Bb-1 %1,5 - 1×10^8 kob/ml min'nin tüm sayımlarda en

düşük etki grubunda bulunduğu belirlenmiştir.

4.3.3. Spor çimlenmesinin belirlenmesi

Patojenisite testlerinden önce uygulanacak spor süspansiyonlarının %90 ve üzeri çimlenme oranına sahip olup olmadığı belirlenmiştir. %90'dan daha az çimlenme oranına sahip değerler belirlendiğinde, elde edilen ölüm oranları, uygulanan spor konsantrasyonu için belirleyici olamaz. Bu sebeple uygulamalar sırasında kullanılan tüm spor konsantrasyonlarının çimlenme oranları belirlenmiştir. Çizelge 4.2'de de görüleceği gibi, hazırlanan bütün spor konsantrasyonlarının %90 ve üzeri çimlenme oranına sahip olduğu görülmüştür.



5. TARTIŞMA

Bu çalışma, ülkemiz sebze üretim alanlarının en önemli zararlılarından biri olan *Frankliniella occidentalis* zararlısı üzerinden elde edilmiş entomopatojen fungusları, bu fungusların moleküler karakterizasyonunu, zararlıya karşı patojenisitelerinin belirlenmesini, yüksek patojenite belirlenen 5 izolatın morfolojik karakterizasyonuna ait bulguları içermektedir. İzole edilen funguslar metot bölümünde belirtilen 5 seçim kriteri ile belirlenmiş olup etkili bulunanlar; *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarıdır. Bu paragrafta sözü edilen konular aşağıda alt başlıklar halinde detaylı olarak tartışılmıştır.

5.1. *Frankliniella occidentalis*'ten İzole Edilen Funguslar

Daha önce yürütülen tez çalışmalarına bakıldığında zaman genellikle topraktan entomopatojen fungus izole etmek üzerine kurgulanmış olduğu bilinmektedir. Ancak yürütülen bu tez çalışmasında ise amaç, doğrudan *F. occidentalis* üzerinde enfeksiyon yapan entomopatojen fungusları izole etmektir. Antalya il sınırları içerisinde yürütülen arazi çalışmaları sırasında 60 farklı lokasyona gidilerek örnekler toplanmış ve yapılan izolasyonlar sonucunda; *Akanthomyces*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Isaria*, *Lecanicillium* ve *Sporothrix* cinslerine ait 31 farklı izolat elde edilmiştir.

Mevcut literatür incelendiğinde *Akanthomyces* (Danilovich vd. 2020; Du vd. 2019), *Alternaria* (Raizada 1976; Miczulski ve Machowicz-Stefaniak, 1977; Ozino 1982; Machowicz-Stefaniak ve Miczulski, 1985; Shabana ve Ragab, 1997; Sharma ve Sharma 2014), *Aspergillus* (Seye vd. 2014; Karthia vd. 2018; Wang vd. 2019), *Beauveria* (Wraight vd. 2000; Ekesi vd. 2002; Abe ve Ikegami 2005; Ansari vd. 2008; Sánchez-Peña vd. 2011, Gao vd. 2012; Wu vd. 2013; Zhang vd. 2019), *Cladosporium* (Abdel-Baky 2000; Abdel-Baky ve Abdel-Salam, 2003), *Fusarium* (Mohanty vd. 2008; Sharma ve Marques 2018), *Isaria* (Arthurs vd. 2013; Ansari vd. 2008; Bugti vd. 2018), *Lecanicillium* (Gouli vd. 2009; Senthil Kumar vd. 2015; Annamalai vd. 2016) ve *Sporothrix* (Faria vd. 2020) cinslerinin entomopatojen özelliklere sahip türlerinin olduğu tespit edilmiştir.

5.2. Entomopatojen Fungusların Etkinliklerinin Belirlenmesi

Laboratuvarında yürütülen biyolojik etkinlik testlerinde 14 fungal türe ait 31 izolatın, *F. occidentalis*'e karşı tek dozda (1×10^7 konidiospor/ml) etkinlikleri belirlenmiştir. Uygulamadan 7 gün sonra yapılan değerlendirmeler neticesinde; izolatlardan %0-80 arasında değişen ölüm oranları elde edilmiştir (Çizelge 4.2). Bu çalışma sonucunda hiç patojenisite göstermeyen (%0 ölüm) *A. arborescens/brassicae* K2, *C. cladosporioides* K5, *C. oxysporum/cladosporioides* K6, *F. incarnatum/equiseti* K8, *C. cladosporioides* K12 ve (*F. oxysporum/chlamydosporum* K34 izolatları olmuştur. En yüksek ölüm oranı ise sırasıyla %80 ile *B. bassiana* M48 ve *L. psalliotae* DOA3, %75 ile *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50 ve *A. muscarius* DOA1 izolatları olmuştur. Bu testler sonucunda, *F. occidentalis*'e karşı %75 ve üzeri ölüm oranına sahip ve kriterlere uygun olan izolatlar (*B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea*

M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3) ümitvar olarak belirlenmiş ve bir sonraki patojenisite çalışması için seçilmiştir.

Du vd. (2019), topraktan izole ettiği iki *Akanthomyces attenuatus* izolatını (SCAUDCL-38 ve SCAUDCL-56) baklagillerde zararlı bir trips türü olan *Megalurothrips usitatus* Bagnall (Thysanoptera: Thripidae)'a karşı 5 farklı dozda (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 konidia/ml) test etmişlerdir. İçerisinde 1 cm uzunluğunda soya fasulyesi kabuğu bulunan santrifüj tüplerini 2 saatliğine konsantrasyonlara daldırdıktan sonra tripslere kalıntıya maruz bırakmışlardır. Denemeden 5 gün sonra yapmış oldukları sayımlarda SCAUDCL-38 izolatının 1×10^8 konidia/ml dozunda %76.25, SCAUDCL-56 izolatının ise %57.5 ölüm oranına sahip olduklarını belirlemişlerdir. Du vd. (2019)'un 1×10^8 konidia/ml dozunda elde ettiği ölüm oranları %76.25 ve %57.5, bizim çalışmamızda aynı cinse ait *A. muscarius* türüne ait izolatlardan (DOA1 ve DOA2) daha düşüktür. Çalışmamızda tek doz denemelerinde, 1×10^7 konidiospor/ml dozunda 10. gün sonunda *A. muscarius* DOA1 için %75, *A. muscarius* DOA2 için %70 ölüm oranı tespit edilmiştir. Ölüm oranları kıyaslandığında çalışmamızda elde edilen sonuçlar bir miktar daha yüksektir.

Danilovich vd. (2020), Arjantin'de topraktan LY72.14 isimli *A. muscarius* türüne ait bir entomopatojen fungusu izole etmişlerdir. Bu izolat ile larva daldırma yöntemi kullanarak *Anastrepha fraterculus* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) meyve sineğinin erginlerine karşı 1×10^7 ve 1×10^8 konidia/ml dozlarında %43-45 seviyesinde ölüm oranları elde etmişlerdir. Larva ve pupa dönemleri için ölüm oranları daha düşük seviyelerdedir. Bizim yürüttüğümüz çalışmada ise izole edilen aynı türe ait *A. muscarius* DOA1 ve *A. muscarius* DOA2 izolatı trips erginlerine karşı sırasıyla %75 ve %70 etki göstermiş olup bu çalışmadan bir miktar daha yüksek patojeniteye sahip oldukları görülmektedir.

Shabana ve Ragab (1997), Mısır'da *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) zararlısı üzerinden izole edilen entomopatojen fungus *Alternaria infectoria* çalışma sonucunda *C. rusci*'nin yumurta, nimf ve erginine karşı patojenik olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada kalıntı metodu kullanılarak 5×10^5 propagule/ml dozunda *A. infectoria* ile muamele edilen yumurtalarda %74.8 ölüm meydana geldiği bildirilmiştir. Yine aynı dozda nimflere karşı yürütülen çalışmada 2 gün sonra %30 nimf ölüm oranına ulaşmışlardır. Yürütülen bu tez çalışmasında ise aynı türe ait *A. infectoria* K1, *A. infectoria* K22 ve *A. infectoria* K38 izolatlarının erginlere karşı 1×10^7 konidia/ml dozunda uygulamadan 7 gün sonra etkileri sırasıyla %35, %65 ve %20 olarak bulunmuştur. Shabana ve Ragab (1997) çalışmalarının %74.8 yumurta ölümü, bizim çalışmamızda elde edilen ergin ölüm oranlarından bir miktar yüksektir. Ayrıca Shabana ve Ragab (1997)'ın bu çalışması *A. infectoria* 'nın entomopatojen bir fungus olduğunu gösteren ilk kayıt niteliğindedir.

Seye vd. (2014), yaptıkları çalışma ile *Aspergillus* türlerinin saprofitik olarak yaşamalarına karşın zararlı kontrol ajanları olarak yaprak biti kontrolünde faydalı olabileceğini bildirmişlerdir. Yürüttükleri çalışmada kullanılan *A. clavatus* izolatını *Oedaleus senegalensis* (Krauss) (Orthoptera: Acrididae) türünden, *A. flavus* izolatını ise *Agriotes lineatus* (L.) larvae (Coleoptera: Elateridae) larvaları üzerinden izole etmişlerdir. Bu izolatları 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 ve 1×10^7 konidia/ml konsantrasyonunda bezelye yaprakbiti *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera: Aphididae) zararlısı üzerinde test etmişlerdir. Çalışmaya göre 5. günde yaprak biti ölüm oranları dozlara bağlı olarak *A. flavus* için % 49.90-90.90, *A. clavatus* için % 51.47-84.06 arasında değişmiştir. Bizim çalışmamızın tek doz denemelerinde aynı cinse ait *A. ochraceus* K29 izolatı için, 1×10^7 konidiospor/ml dozunda ve 7. gün sonunda, ölüm oranı %20 olarak belirlenmiş olup izolatımızın bu çalışmadan bir miktar daha düşük patojenisiteye sahip olduğu görülmektedir.

Karhti vd. (2018), Hindistan'da bulunan bir kültür koleksiyonundan elde ettikleri *A. flavus* izolatını *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae)'nın 3. ve 4. larva dönemlerine karşı test etmişlerdir. Larva daldırma metodu kullandıkları bu çalışmayı dört farklı dozda yürütmüşlerdir (4×10^2 , 4×10^4 , 4×10^6 ve 4×10^8 konidia/ml). En yüksek ölüm oranları 4×10^8 konidia/ml dozunda gerçekleşmiş ve bu oranlar 3. larva dönemi için %71, 4. larva dönemi için %63 olarak belirlemişlerdir. Görüleceği üzere bizim çalışmamızda elde edilen *A. ochraceus* K29 izolatı'nın 1×10^7 konidiospor/ml dozunda elde edilen ölüm oranından bir miktar daha yüksek ölüm oranını tespit ettikleri görülmektedir.

Wang vd. (2019), Kanatlı kırmızı akarı *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) üzerinden izole edilen *Aspergillus* sp. Dg-1 isimli izolatı filtre kağıdı daldırma metodu kullanarak 1×10^7 konidiospor/ml dozda yine aynı akar (*D. gallinae*) üzerinde test etmişlerdir. Ancak ölüm oranları nimf ve erginler için %20 civarında tespit edilmiştir. Wang vd. (2019) bulmuş olduğu sonuçlar *A. ochraceus* K29 izolatı'nın 1×10^7 konidiospor/ml dozunda elde edilen ölüm oranı (%20) ile paralellik göstermektedir.

Gao vd. (2012), farklı zararlıların larvaları üzerinden izole edilen 5 farklı *B. bassiana* izolatı larva daldırma metodu kullanılarak *F. occidentalis* 1. larva dönemine laboratuvar koşullarında test edilmiştir. En etkili bulunan RSB izolatı en düşük doz olan 1×10^4 konidiospor/ml dozunda %69, en yüksek doz olan 1×10^7 konidiospor/ml dozda %96 oranında ölüm meydana getirmiştir. Gao vd. (2012)'nin bulmuş olduğu sonuçlar *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49 izolatlarının 1×10^7 konidiospor/ml dozunda 7. ve 10. gün sonunda elde edilen *F. occidentalis* larva ölüm oranı (%100) ile paralellik göstermektedir.

Sánchez-Peña vd. (2011), Meksika'da tarım ve orman alanlarında bulunan topraklardan izole ettikleri *B. bassiana* izolatını *F. occidentalis* erginleri üzerinde test

etmişlerdir. Ergin daldırma metodu ile yürüttükleri bu çalışmada 1×10^7 konidiospor/ml dozda uygulamadan 6 gün sonra en yüksek %88 oranında ölüm elde etmişlerdir. Sánchez-Peña vd. (2011)'nin bulmuş olduğu sonuçlar *B. bassiana* M47, M48 ve M49 izolatlarının 1×10^7 konidiospor/ml dozunda 10. gün sonunda elde edilen *F. occidentalis* ergin ölüm oranı (~%80) ile paralellik göstermektedir.

Abe ve Ikegami (2005), içerisinde *F. occidentalis*'in de bulunduğu 5 farklı trips türüyle yürüttükleri çalışmada 3 farklı (AZA38, GOM03 ve KOG02) *B. bassiana* izolatını trips türlerine karşı laboratuvar koşullarında test etmişlerdir. Bu çalışmada inokülasyon metodu kullanılarak 1×10^7 konidiospor/ml dozunda en yüksek ölüm oranları KOG02 izolatında meydana gelmiştir. Uygulamadan 7 gün sonra yapılan sayımlarda ergin erkeklerdeki ölüm oranı (%83), ergin dişilerdeki ölüm oranı (%50) olarak belirlenmiştir. Abe ve Ikegami (2005)'nin bulmuş olduğu sonuçlar *B. bassiana* M47, *B. bassiana* M48 ve *B. bassiana* M49 izolatlarının 1×10^7 konidiospor/ml dozunda 10. gün sonunda elde edilen *F. occidentalis* dişi birey ergin ölüm oranından (~%80) bir miktar düşüktür ancak erkek ölüm oranları bizim yürüttüğümüz çalışma ile paralellik göstermektedir.

Ansari vd. (2008), *F. occidentalis*'e karşı içerisinde *B. bassiana* izolatlarında bulunduğu entomopatojen fungusları zararlının pupa dönemine farklı ortamlar kullanarak test etmişlerdir. Çalışma neticesinde *B. bassiana* izolatları zararlının pupasına karşı 1×10^{10} konidiospor/ml dozunda %53-84 arasında ölüme neden olmuşlardır. Ansari vd. (2008)'nin bulmuş olduğu sonuçlar, *B. bassiana* M48 ve *B. bassiana* M49 izolatlarının 1×10^7 konidiospor/ml dozunda 10. gün sonunda elde edilen *F. occidentalis* pupalarının ölüm oranından (%90) bir miktar düşüktür.

Wu vd. (2013), önemli bir diğer zararlı türü *T. tabaci* üzerinde yürütmüş oldukları çalışmada *B. bassiana* izolatlarını 1×10^7 konidiospor/ml dozunda ergin bireylere karşı uygulamışlardır. Çalışmalarında trips daldırma metodunu kullanan araştırmacılar, uygulamadan 4 gün sonra yapmış oldukları sayımda SZ-26 izolatının en yüksek ölüm oranına (%83) sahip olduğunu belirlemişlerdir. Wu vd. (2013)'nin bulmuş olduğu sonuçlar *B. bassiana* M47, *B. bassiana* M48 ve *B. bassiana* M49 izolatlarının 1×10^7 konidiospor/ml dozunda 10. gün sonunda elde edilen *F. occidentalis* ergin ölüm oranı (~%80) ile paralellik göstermektedir.

Zhang vd. (2019), *F. occidentalis*'e karşı *B. bassiana* izolatlarını granül hale getirerek farklı yoğunluklarda toprak ile karıştırarak, toprak altında geçirilen pupa dönemine karşı GZGY-1-3 izolatının etkinliğini test etmişlerdir. *B. bassiana* (1×10^8 konidiospor/ml/g) granülleri 0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 g/kg oranlarında toprak ile karıştırılıp zararlının pupa dönemine karşı bu oranların etkinliği araştırılmıştır. 20 adet pre-pupa bu karışımların her birine konularak deneme başlatılmış ve 5 gün sonra trips erginleri sayılarak sonuçlar belirlenmiştir. Çalışma neticesinde en yüksek *F.*

occidentalis ölüm oranı (%83), 100 g *B. bassiana* içeren granüllerin 1 kg toprak ile karıştırılmasıyla elde edilen karışımda olduğu belirlenmiştir. Zhang vd. (2019)'nin bulmuş olduğu sonuçlar, *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49 izolatlarının 1×10^7 konidiospor/ml dozunda 10. gün sonunda elde edilen *F. occidentalis* pupalarının ölüm oranından (~%90) bir miktar düşüktür.

Abdel-Baky ve Abdel-Salam (2003), Mısır'ın Dakahlia bölgesinden afit ve beyazsinekler üzerinden izole edilen 3 farklı *Cladosporium* spp. izolatı yine beyazsinek ve afitlere 1×10^7 konidiospor/ml dozunda test edilmiştir. Çalışmada izolatlar ile nemlendirilmiş kurutma kağıdı metodu kullanılmıştır. Kullanılan izolatların biri de tezimizde de kullanılan *C. cladosporioides* türü olup çalışma sonunda afit ve beyazsinekler üzerinde %6.05 ölüm oranı elde edilmiştir. Bulunan bu sonuçlar çalışmamızda kullanılan *C. cladosporioides* (K5, K6, K7, K9, K12, K23, K25 ve K35) izolatlarının ölüm oranları (%0-15) ile nispeten örtüşmektedir.

Mohanty vd. (2008), Hindistan'ın Delhi bölgesinden *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) zararlısı üzerinden izole ettiği *Fusarium pallidroseum* izolatını yine aynı zararlıya karşı 10^2 , 10^5 , 10^{10} ve 10^{15} konidia/mm dozlarında kurutma kağıdı metodu ile test etmişlerdir. Ancak, *F. pallidroseum* izolatının 7. gün sayımında en üst dozda (10^{15} konidia/mm) dahi ölüm oranı %24.97 olarak belirlenmiştir. Buna rağmen yürüttüğümüz tez çalışmasında elde edilen *F. incarnatum* K8 ve *F. oxysporum* K34 izolatları 1×10^7 konidiospor/ml dozunda trips erginlerine karşı hiçbir öldürücü etki gösterememiştir (%0). Her ne kadar iki çalışmadaki bulunan türler *Fusarium* cinsine ait olsa da her birinin farklı türlere ait olması ölüm oranlarındaki farklılığın nedeni olarak düşünülebilir. Bunun yanında uygulandıkları zararlıların da farklı olması ölüm oranı üzerine önemli bir etkindir.

Arthurs vd. (2013), ticari olarak kullanılan bazı entomopatojen fungusların zararlı bir trips türü olan *Scirtothrips dorsalis* Hood (Thysanoptera: Thripidae) üzerinde test etmişlerdir. Çalışmalarında farklı dozlarda (1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ve 1×10^9 konidia/ml) *B. bassiana* ve *I. fumosorosea* izolatlarını kullanmışlardır. Laboratuvar çalışmalarında sprey-tower kullanarak ilaçlama metodunu kullanmışlardır. Çalışma neticesinde larva dönemine karşı yürütülen testlerde 1×10^8 konidia/ml dozunda *B. bassiana* izolatında %50'ye yakın ölüm oranı elde edilirken, *I. fumosorosea* izolatında %80'e yakın ölüm oranı elde edilmiştir. Tezimiz kapsamında larva dönemine karşı yürüttüğümüz çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmadan elde edilen sonuçlardan bir miktar daha yüksektir. Yürütülen bir diğer çalışma ise ergin dönemine karşı izolatların etkinliğinin belirlenmesidir. Burada ise 1×10^8 konidia/ml dozunda *B. bassiana* izolatında %95'e yakın ölüm oranı elde edilirken, *I. fumosorosea* izolatında %80'e yakın ölüm oranı elde edilmiştir. Yürüttüğümüz tezde erginlere karşı yapılan çalışmada, 1×10^7 konidiospor/ml dozunda, uygulamadan 10 gün sonra ümitvar izolatlardan olan *B. bassiana* M49 izolatı %88.1 ölüm oranına ve *B. bassiana* M49

izolatı %81.3 ölüm oranına sahip olmuşlardır. Bizim çalışmamızdaki elde edilen ölüm oranları ergin bireyler için karşılaştırıldığında nispeten düşük olduğu görülmektedir. Bunun doz farklılığından meydana gelebileceği düşünülmüştür. Tez kapsamında bir diğer ümitvar izolat olan *I. fumosorosea* M50 izolatının 1×10^7 konidiospor/ml dozunda, uygulamadan 10 gün sonra %79.6 ölüm oranına sahip olmuştur. *I. fumosorosea* M50 izolatı için elde ettiğimiz sonuçlar Arthurs vd. (2013) ile kıyaslandığında benzer oranlar olduğu belirlenmiştir.

Bugti vd. (2018), bir Aleyrodidae (Hemiptera) türü üzerinden elde ettikleri *I. fumosorosea* izolatını laboratuvar koşullarında *Jacobiasca formosana* Paoli (Hemiptera: Cicadellidae), *A. gossypii*, *B. tabaci*, and *Stephanitis nashi* Esaki & Takeya (Hemiptera: Tingidae) zararlılarına karşı 1×10^8 konidiospor/ml dozunda spray-tower kullanarak test etmişlerdir. Çalışmaları neticesinde 10. gün sonunda %81-100 aralığında ölüm oranı tespit etmişlerdir. Tez kapsamında bulunan *I. fumosorosea* M50 izolatının 1×10^7 konidiospor/ml dozunda, uygulamadan 10 gün sonra erginlere karşı %79.6 ölüm oranına sahip olmuştur. Ölüm oranları arasındaki bu fark çalışma yaptığımız türlerin farklı olması ve konsantrasyonların farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Gouli vd. (2009), *F. occidentalis* üzerinden elde ettiği *Lecanicillium lecanii*'yi ve *Paraclemensia acerifoliella* Fitch (Lepidoptera: Incurvariidae) üzerinden elde ettiği *B. bassiana* izolatlarını 5×10^6 , 2.5×10^6 ve 1.25×10^6 dozlarında spray-tower ile *F. occidentalis* larvaları üzerinde test etmişlerdir. Uygulamadan 7 gün sonra yapmış oldukları sayımlarda 5×10^6 dozu uygulamalarında, *L. lecanii* izolatı %70 ölüme neden olurken *B. bassiana* izolatı %67.5 ölüme neden olmuştur. Tezimiz kapsamında larva dönemine karşı yürüttüğümüz çalışmadan elde edilen ölüm oranları bu çalışmadan elde edilen sonuçlardan bir miktar yüksektir.

Senthil Kumar vd. (2015), Hindistan'da kakule bitkisinde zarar yapan *Sciothrips cardamomi* Ramakrishna (Thysanoptera: Thripidae) zararlısına karşı yine *S. cardamomi* zararlısından elde ettikleri *L. psalliotae* izolatını 1×10^7 konidiospor/ml dozunda erginlere karşı test etmişlerdir. Ergin birey daldırma yöntemi ile yürüttükleri çalışma neticesinde, 10. gün sonunda %62.9 ölüm oranı elde etmişlerdir. Tez çalışmamız kapsamında *L. psalliotae* DOA3 izoaltı ile ergin döneme karşı yürüttüğümüz çalışmada 10. gün sonunda ölüm oranımız %100 olarak belirlenmiş ve bu çalışma ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlarımız arasındaki farklılığın kullandığımız metot farkları ya da izolatların patojenliği arasındaki farklardan olabileceği kanaatine varılmıştır.

5.3. Ümitvar 5 Entomopatojen Fungusun Morfolojik Tanılamaları

Entomopatojenik fungusların tanılamalarında çok sayıda farklı morfolojik

karakter kullanılmaktadır. Konukçuda meydana gelen enfeksiyon biçimi, besi ortamlarındaki koloni morfolojisi, renkleri, sporların yapısı ve boyutları, hiflerin yapısı ve boyutları, sporların tek başına ya da zincir biçiminde olması, konidiyoforların yapısı, dinlenme yapılarının (resting spores) boyutu ve diğer bazı fungus karakterleri entomopatojen fungusların morfolojik tür teşhisinde yararlanılan bazı özelliklerdir (Humber, 1997).

Tez çalışması kapsamında ümitvar olan 4 türe ait 5 farklı izolatin morfolojik tanılması yapılmıştır. Bu izolatlar; *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatlarıdır. Yürütülen diğer çalışmalar ile tez çalışmamızda yapılan morfolojik tanılamalar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Du vd. 2019; Senthil Kumar vd 2015).

Türler arasındaki morfolojik ayrımın zor olması nedeniyle yeni tür tanımları artık moleküler tanımlamaya da ihtiyaç duymaktadır. Özellikle *Beauveria* türlerinin morfolojik tanılamalarla birbirinden ayrılması hayli güçtür. Bu türün farklı besi yeri ortamlarında bile morfolojik özellikleri değişebilmektedir. Mikroskop altında yapılan gözlemlere bakıldığında neredeyse tamamının spor yapısı silindirikdir. Bu nedenle kesin tür ayrımı için uygun primerler (ITS, TEF gibi) kullanarak ancak tür ayrımına gidilebilmektedir (Rehner ve Buckley 2005, Glare 2008).

Bazı türler için morfolojik tanılamalar artık bugün net olarak maalesef yeterli değildir. Morfolojik tanılama çalışmalarının yanında mutlaka moleküler tanılama çalışmalarının da olması türlerin sağlıklı taksonomik bir ayrıma gitmesine yardımcı olacaktır.

5.4. Entomopatojen Fungusların Moleküler Tanılamaları

Entomopatojen fungusların zararlılar ile mücadelede kullanılmasında temel basamak tür teşhislerinin doğru ve güvenilir yapılmasıdır. Her ne kadar morfolojik tür tanılama çalışması bazen yeterli gibi görülse de bazı türlerin birbirine çok benzer yapıda morfolojik özelliklerinin olması kafa karışıklığına neden olmaktadır. Bunun yanında morfolojik tanının doğru ve güvenilir şekilde yapılabilmesi için uzman kişilere yaptırılması gereklidir. Bu durumda oldukça vakit alıcı ve her zaman ulaşılamama gibi problemlere zaman zaman neden olmaktadır. DNA sekans analizlerinden elde edilen veriler ile entomopatojenik fungusların tür teşhislerinin yapılması günümüzde kullanılan en son teknoloji olarak bilinmektedir. DNA sekans analizinden elde edilen veriler ile NCBI gen bankasındaki kayıtlı olan funguslara ait DNA dizileri karşılaştırıldığında türlerin birbirine benzerlik oranını bulmak ve tür teşhisini yapabilmek artık mümkündür. Ayrıca moleküler tanılama hızlı, güvenilir ve tüm bilim dünyası tarafından kabul edilmesi gibi avantajlara sahiptir. İnsani hataları minimuma düşürmesi ve dolayısıyla doğru kültürlerle devam etme garantisini bize sunması nedeniyle bilimsel çalışmalarda moleküler tanılama ön plana çıkmaktadır.

Entomopatojen fungusların moleküler tanılamasında PCR kaynaklı metotların kullanımı tür teşhisleri ve filogenilerinin bilinmesinde çok yararlı olmaktadır. DNA’da bulunan bazı spesifik bölgelerin sekans analizinin yapılması çok sayıda mikroorganizma için filogenetik araştırmalarda kullanılmaktadır. Entomopatojen funguslarda, günümüzde ITS gen bölgesi tür teşhislerinin yapılmasında ve hatta tür içi genetik varyasyonun ortaya çıkarılmasında kullanılmaktadır (Driver vd. 2000; Muro vd. 2003; Meyling, 2008). Bunun yanında EF1- α ve 18S gen bölgeleri de tür içi korunmuş bölgeler olarak tespit edildiğinden tür teşhislerinde kullanılmaktadır (Pantou vd. 2003; Rehner ve Buckley, 2005; Rehner vd. 2006).

Tez çalışması kapsamında, moleküler çalışmaların sonuçlarına göre 12 adet *Alternaria* izolatı, 8 adet *Cladosporium* izolatı, 3 adet *Beauveria* izolatı, 2 adet *Akanthomyces* izolatı, 2 adet *Fusarium* izolatı, 1 adet *Isaria* izolatı, 1 adet *Lecanicillium* izolatı, 1 adet *Sporothrix* izolatı, 1 adet *Aspergillus* izolatı, NCBI gen bankasındaki kayıtlı olan izolatlarla benzerlik göstermiştir. *Sporothrix pallida*, *Akanthomyces muscarius* ve *Lecanicillium psalliotae* izolatlarının ITS2-ITS5 primerleri kullanılırken, diğer izolatların tamamının teşhisinde ITS1-ITS4 primerleri kullanılmıştır. *S. pallida* izolatı ITS2-ITS5 primerleri kullanılarak 450 bp’de bant verirken, diğer tüm izolatlar yaklaşık 580 bp’de bant vermiştir. Yürütülen diğer çalışmalar ile tez çalışmamızda yapılan moleküler tanılamalar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Senthil Kumar vd. 2015; Du vd. 2019; Wang vd. 2019; Faria vd. 2020).

6. SONUÇLAR

Zararlılara karşı mücadelede insan ve çevre sağlığını korumak amacıyla uygulanabilecek en temel mücadele yöntemi biyolojik mücadeledir. Biyolojik mücadelenin unsurlarından bir tanesi de entomopatojen funguslar ile yapılan mücadele çalışmalarıdır. Bu çalışma ile Antalya ve ilçelerinden alınan ölü veya enfekteli *F. occidentalis* örneklerinden entomopatojen funguslar izole edilmiş, daha sonra moleküler ve morfolojik tanımlanması yapılmış, en etkili olan 5 fungal izolat belirlenmiş ve daha sonra zararlı *F. occidentalis*'in farklı biyolojik dönemleri üzerindeki etkileri tespit edilmiştir.

Yürütülen bu tez çalışması neticesinde Antalya ve ilçelerinde toplam 60 farklı lokasyona gidilmiş ve ölü veya enfekteli *F. occidentalis* bireyleri belirlenmiş ve örnekler alınarak laboratuvara getirilmiştir. Getirilen örneklerden yapılan izolasyonlar sonunda; *Akanthomyces*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Isaria*, *Lecanicillium* ve *Sporothrix* cinslerine ait 31 farklı izolat elde edilmiştir.

İzolasyonu yapılan 14 türe ait 31 izolatın *F. occidentalis*'e karşı entomopatojen olma durumları araştırılmıştır. Elde edilen funguslardan etkili 5 fungus izolatı elde etmek amacıyla, entomopatojen fungusların *F. occidentalis* üzerindeki etkinliklerini belirleme çalışmaları yürütülmüştür. Biyolojik etkinlik testlerine alınan toplam 31 izolattan, 4 türe ait toplam 5 izolatın *F. occidentalis*'e karşı ümitvar patojenler olduğu belirlenmiştir. Kullanılan kriterlere göre, *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 izolatları yüksek derecede patojen olarak belirlenmiştir.

Çalışmada ayrıca ümitvar derecede patojen olarak *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 isimli izolatların *F. occidentalis*'in farklı biyolojik dönemlerine (larva, pupa ve ergin dişi) karşı patojeniteleri de belirlenmiştir. Yürütülen çalışmalar sonunda *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50 izolatları larva dönemine karşı yeterli başarıyı göstermiştir. Pupa dönemine karşı yürütülen çalışmalarda ise *B. bassiana* M48 ve *B. bassiana* M49 izolatları istenilen başarıyı göstermiştir. *L. psalliotae* DOA3 izolatı da zararlının ergin dönemine karşı yeterli ölüm oranını ulaştırmıştır. Bu nedenlerden dolayı, uygulama alanlarında zararlının farklı dönemlerinde başarılı olan izolatların karışım şeklinde kullanılarak uygulanabileceği tespiti yapılmıştır.

Yürütülen bu tez çalışması kapsamında *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 isimli izolatların detaylı morfolojik ölçümleri ve tanımlamaları da yapılmıştır. İzolatların belirlenen morfolojik özellikleri sayesinde tür doğrulamaları da yapılmıştır.

Tez çalışması kapsamında izole edilen tüm fungusların moleküler tanımlamaları yapılmıştır. *Sporothrix pallida*, *Akanthomyces muscarius* ve *Lecanicillium psalliotae* izolatlarının ITS2-ITS5 primerleri kullanılırken, diğer izolatların tamamının teşhisinde ITS1-ITS4 primerleri kullanılmıştır. *S. pallida* izolatı ITS2-ITS5 primerleri kullanılarak 450 bp'de bant verirken, diğer tüm izolatlar yaklaşık 580 bp'de bant vermiştir. Moleküler çalışmaların sonuçlarına göre 12 adet *Alternaria* izolatı, 8 adet *Cladosporium* izolatı, 3 adet *Beauveria* izolatı, 2 adet *Akanthomyces* izolatı, 2 adet *Fusarium* izolatı, 1

adet *Isaria* izolatı, 1 adet *Lecanicillium* izoaltı, 1 adet *Sporothrix* izolatı ve 1 adet *Aspergillus* izolatı, NCBI gen bankasındaki kayıtlı olan izolatlarla benzerlik göstermiştir. BLAST algoritma analizi sonucunda entomopatojen funguslar türlerinin ITS sekans benzerlik oranları belirlenmiştir.

Karakterizasyonu yapılan 31 tane entomopatojen fungus izolatının aralarındaki akrabalık derecelerini tespit etmek için MEGA7 Filogenetik Ağaç Programı ile filogenetik ağaç grafiği çizilmiştir. Elde edilen veriler sonucunda fungus türleri arasında coğrafik farklılıkların olduğu tespit edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlara göre şu öneriler şu şekilde sıralanabilir;

- 1- Ümitvar derecede patojen olarak belirlenen *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50, *A. muscarius* DOA1 ve *L. psalliotae* DOA3 isimli izolatlardan *F. occidentalis*'in larva mücadelesinde *B. bassiana* M48, *B. bassiana* M49, *I. fumosorosea* M50 izolatları, pupa mücadelesinde *B. bassiana* M48 ve *B. bassiana* M49 izolatları, ergin mücadelesinde ise *L. psalliotae* DOA3 izolatı önerilebilir.
- 2- Bu izolatların etkinliği arazi şartlarında da kanıtlandığı takdirde formülasyon çalışmaları yapılarak kitlesel üretime yönelik adımlar atılmalıdır.
- 3- Antalya ilinin özellikle yaz aylarında yüksek nemli olması ve ormanlık alanların bol miktarda olması nedeniyle çevre koşullarına adapte olmuş ve bölgemize özgü yeni entomopatojen fungus izolatlarının izole edilmesine devam edilmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abe, M. and Ikegami, T. 2005. Susceptibility of five species of thrips to different strains of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Applied Entomology and Zoology*, 40(4), 667-674.
- Abdel-Baky, N. F. 2000. *Cladosporium* spp. an entomopathogenic fungus for controlling whiteflies and aphids in Egypt. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3(10), 1662-1667.
- Abdel-Baky, N. F. and Abdel-Salam, A. H. 2003. Natural incidence of *Cladosporium* spp. as a bio-control agent against whiteflies and aphids in Egypt. *Journal of Applied Entomology*, 127(4), 228-235.
- Aguilera Sammaritano, J. A., López Lastra, C. C., Leclerque, A., Vazquez, F., Toro, M. E., D'Alessandro, C. P. And Lechner, B. E. 2016. Control of *Bemisia tabaci* by entomopathogenic fungi isolated from arid soils in Argentina. *Biocontrol Science and Technology*, 26(12), 1668-1682
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. and Lipman, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403-410.
- Annamalai, M., Kaushik, H. D. and Selvaraj, K. 2016. Bioefficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Lecanicillium lecanii* Zimmerman against *Thrips tabaci* Lindeman. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: *Biological Sciences*, 86(2), 505-511.
- Anonim, 2008. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığının 2015 yılında yayınladığı “Zirai Mücadele Teknik Talimatları” Kitabı, Cilt 3: 281-286
- Anonim 2019. abs.cu.edu.tr › Dokumanlar › 217484409_dersnotu_1 [Son erişim tarihi: 02.10.2019].
- Anonim 2020a. <http://www.infonet-biovision.org/print/ct/78/pests>. (Son erişim tarihi: 13.10.2020).
- Anonim 2020b. <https://www.cropscience.bayer.com/en/crop-compendium/pests-diseases-weeds/pests/frankliniella-occidentalis> (Son erişim tarihi: 13.10.2020).
- Anonim 2020c. <https://www.entocare.nl/wp-content/uploads/2017/02/Frankliniella-occidentalis-pupa-1.jpg> (Son erişim tarihi: 13.10.2020).
- Anonim 2021. <https://bku.tarimorman.gov.tr/Duyuru/Bulten?csrt=17056629674541363279> (Son erişim tarihi: 26.06.2021).
- Ansari, M. A., M. Brownbridge, F. A. Shah and T. M. Butt, 2008. Efficacy of entomopathogenic fungi against soil-dwelling life stages of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in plant-growing media. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 127(2): 80-87.
- Arthurs S.P., Aristizábal L.F. and Avery P.B.. 2013. Evaluation of entomopathogenic fungi against chilli thrips, *Scirtothrips dorsalis*. *Journal of Insect Science* 13:31. Available online: <http://www.insectscience.org/13.31>

- BAİB, 2020. Batı Akdeniz İhracatçılar Birliği, <https://www.baib.gov.tr/tr/online-islemler-ihracat-istatistikleri-mal-grubu-bazinda-ihracat-raporu.html> [Son erişim tarihi: 12.12.2020].
- Balardin, R. S. and Loch, L. C. 1988. Methods for inoculum production and preservation of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. *Summa Phytopathol.*, 14, 144-151.
- Bell, J. V. and Hamalle, R. J. 1974. Viability and pathogenicity of entomogenous fungi after prolonged storage on silica gel at -20°C. *Can. J. Microbiol.*, 20, 639-642.
- Boucias, D. G. and Pendland, J. C. 1998. Principles of insect pathology. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Bugti G.A., Na C., Bin W. and Lin H.F. 2018. Control of plant sap-sucking insects using entomopathogenic fungi *Isaria fumosorosea* strain (Ifu13a). *Plant Protect. Sci.*, 54: 258–264.
- Butt, T.M., Wang, C., Shah, F.A. and Hall, R. 2006. Degeneration of entomogenous fungi. In: EILENBERG, J.; HOCKKANEN, H.M.T. (Eds.). *An Ecological and societal approach to Biological Control*, p.213-226.
- Caon, G. and Burfield, T. 2006. Western Flower Thrips (WFT) *Frankliniella occidentalis* (Pergande) Thripidae, Thysanoptera (yayınlanmamış), Avustralya.
- Castellani, A. 1967. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. *Further researched. J. Trop. Med. Hyg.*, 70, 181-184.
- Cavalcanti, M. A. D. Q. 1991. Viability of Basidiomycotina cultures preserved in mineral oil. *Rev. Latinoam. Microbiol.*, 32, 265-268.
- Charnley, A.K. and Collins, S.A., 2007. Entomopathogenic fungi and their role in pest control. *Environmental and Microbial Relationships. The Mycota IV*, 2nd ed., Eds: Kubicek, C.P., Druzhinina, I.S. Springer-Verlag, Berlin, 159–187.
- Clark, G. and Dick, M. W. 1974. Long-term storage and viability of aquatic Oomycetes. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 63, 611-612.
- Cloyd, R. A. 1999. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Midwest Biological Control News*, VI(7).
- Dağlı, F. and Tunç, İ. 2006. *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) üzerinde farklı gruplardan insektisidlerle yaprak kalıntı testleri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(1): 9-14.
- DeAngelis, J. D., Sether, D. M., and Rossignol, P. A. 1994. Transmission of impatiens necrotic spot virus in peppermint by western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Economic Entomology*, 87(1), 197-201.
- Demirbağ, Z. 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Esen Ofset Matbaacılık (s. 325), Trabzon.
- Demirözer, O., Uzun, A., Arici, Ş. E., Gep, İ. and Bakay, R. 2016. Insecticidal effect of *Fusarium subglutinans* on *Frankliniella occidentalis* (Pergande)(Thysanoptera: Thripidae). *Hellenic Plant Protection Journal*, 9(2), 66-72.
- Demirözer, O. 2019. Target-oriented dissemination of the entomopathogenic fungus

- Fusarium subglutinans* 12A by the Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande)(Thysanoptera: Thripidae). *Phytoparasitica*, 47(3), 393-403.
- Danilovich, M. E., Ovruski, S. M., Fariña, J. I. and Delgado, O. D. 2020. First report on the entomopathogenicity and virulence of *Akanthomyces muscarius* LY 72.14, a Yungas native fungal isolate, for *Anastrepha fraterculus* control. *Biocontrol Science and Technology*, 1-16.
- Driver, F., Milner, R.J. and Trueman, J.W.H. 2000. A Taxonomic Revision of *Metarhizium* Based on a Phylogenetic Analysis of rDNA Sequence Data, *Mycological Research*, 104, 134-150.
- Du, C., Yang, B., Wu, J., & Ali, S. (2019). Identification and virulence characterization of two *Akanthomyces attenuatus* isolates against *Megalurothrips usitatus* (Thysanoptera: Thripidae). *Insects*, 10(6), 168.
- Dura, O., Dura, S. and Bilen, E. 2012. Biberde zararlı Batı çiçek tripsinin (*Frankliniella occidentalis* (Pergande)) biyolojik mücadelesinde *Metarhizium anisopliae* str. F52'nin etkin dozunun belirlenmesi. *Bahçe*, 41(1): 1-7.
- Eilenberg, J., Hajek, A. and Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol* 46, 387–400
- Eilenberg, J. and Meadow, R. 2002. Fungi for biological control of brassica root flies *Delia radicum* and *Delia floralis*. In *Advances in Microbial Control of Insect Pests* (pp. 181-191). Springer, Boston, MA.
- Eken, C. 2011. Isolation, identification and preservation of entomopathogenic fungi. *Microbial Insecticides: Principles and Applications*. 1-28.
- Ekesi, S., Maniania N. K., Onu I. and Löhr, B. 1998. Pathogenicity of entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) to the legume flower thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) (Thysan., Thripidae). *Journal of Applied Entomology*, 122(1-5): 629-634.
- Ekesi, S., Maniania N. K. and Lux, S. A. 2002. Mortality in Three African Tephritid Fruit Fly Puparia and Adults Caused by the Entomopathogenic Fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology*, 12:1, 7-17, DOI: 10.1080/09583150120093077
- Faria, M., de Souza, D. A. and Lopes, R. B. 2020. Microbial Control of *Leptopharsa heveae* Drake & Poor (Hemiptera: Tingidae) in Brazilian Rubber Tree Plantations: a Brief Historical Account and Identification of Entomopathogenic Fungi by Means of Multigene Phylogeny. *Neotropical Entomology*, 49(6), 864-873.
- Ferron, P. 1978. Biological control of insects by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, 23, 409-42.
- Figueiredo, M. B., and Pimentel, C. P. V. 1975. Métodos utilizados para conservação de fungos na micoteca da seção de micologia fitopatológica do Instituto Biológico. *Summa Phytopathol.*, 1, 299-302.
- Gabarty, A., Salem, H. M., Fouda, M. A., Abas, A. A. and Ibrahim, A. A. 2014. Pathogenicity induced by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and

- Metarhizium anisopliae in *Agrotis ipsilon* (Hufn.). *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 7(1), 95-100.
- Gao, Y., Reitz, S. R., Wang, J., Xu, X., & Lei, Z. (2012). Potential of a strain of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) as a biological control agent against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Biocontrol Science and Technology*, 22(4), 491-495.
- Glare, T. R., Reay, S. D., Nelson, T. L and Moore, R. 2008. *Beauveria caledonica* is a naturally occurring pathogen of forest beetles. *Mycological Research*, 112, 352-360.
- Goettel, M.S., Eilenberg, J. and Glare, T. 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In "Comprehensive Molecular Insect Science." (L.I. Gilbert, K. Iatrou, S.S. Gill, eds), s. 361-405, Amsterdam: Elsevier.
- Gouli, S., Gouli, V., Skinner, M., Parker, B., Marcelino, J. and Shternshis, M. 2008. Mortality of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, under influence of single and mixed fungal inoculations. *Journal of Agricultural Technology*, 4(2), 37-47.
- Gouli, V. V., Gouli, S. Y., Skinner, M., and Shternshis, M. V. 2009. Effect of the entomopathogenic fungi on mortality and injury level of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 42(2), 118-123.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In Nucleic acids symposium series (Vol. 41, No. 41, pp. 95-98). [London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000.
- Hartung de Capriles, C., Mata, S. and Middelveen, M. 1989. Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years. *Mycopathologia*, 106, 73-80.
- Helyer, N., Gill, G., Bywater, A. and Chambers, R. 1992. Elevated humidities for control of chrysanthemum pests with *Verticillium lecanii*. *Pest Management Science*, 36(4): 373-378.
- Henderson, C. F. and Tilton, E. W. (1955). Tests with acaricides against the brown wheat mite. *Journal of Economic Entomology*, 48(2), 157-161.
- Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M. and Cannon, P.F. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, v.111, p.509-47,
- Hoog, G. D. 1972. The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodontium* gen. nov. *Stud. Mycol*, 1, 1-41.
- Humber, R. A. 1997. Entomopathogenic Fungal Identification. In: "Manual of Techniques in Insect Pathology." (L.A. Lacey, ed), San Diego, 153-185.
- Humber, R. A. 2012. Preservation of entomopathogenic fungal cultures. *Manual of techniques in invertebrate pathology*, 2, 317-27.

- Ignoffo, C. M., Garcia, C., Kroha, M. J., Samsin kov , A. and K lallov , S. 1983. A leaf surface treatment bioassay for determining the activity of conidia of *Beauveria bassiana* against *Leptinotarsa decemlineata*. *J. Invertebr. Pathol.*, 41, 385-386.
- Inglis, G. D., Johnson, D. L. and Goettel, M. S. 1996. An oil-bait bioassay method used to test the efficacy of *Beauveria bassiana* against grasshoppers. *J. Invertebr. Pathol.*, 67, 312-315.
- Inglis, G. D., Enkerli, J. U. E. R. G. and Goettel, M. S. 2012. Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales. *Manual of techniques in invertebrate pathology*, 189-253.
- Karthi, S., Vaideki, K., Shivakumar, M. S., Ponsankar, A., Thanigaivel, A., Chellappandian, M. and Senthil-Nathan, S. 2018. Effect of *Aspergillus flavus* on the mortality and activity of antioxidant enzymes of *Spodoptera litura* Fab.(Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Pesticide biochemistry and physiology*, 149, 54-60.
- Kılı o lu, M. and  zko ,  . (2008). Fungal sistematikteki moleküler gelişmeler. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 23(1), 65-72.
- Kırışık, M. and Erler, F. 2017. The usage possibilities of entomopathogenic fungi in the control of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande)(Thysanoptera: Thripidae). *Türkiye Entomoloji B lteni*, 7(4), 293-303.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16(2), 111-120.
- Kivett, J. M. 2015. Efficacy of entomopathogenic organisms *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosoroseus*, *Metarhizium anisopliae* and *Chromobacterium subtsugae* against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, under both laboratory and greenhouse conditions (Doctoral dissertation, Kansas State University).
- Klingen, I., Eilenberg, J. and Meadow, R. 2002. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. *Agriculture, ecosystems & environment*, 91(1-3), 191-198.
- Kumar, C. S., Jacob, T. K., Devasahayam, S., D'Silva, S. and Kumar, N. K. (2015). Isolation and characterization of a *Lecanicillium psalliotae* isolate infecting cardamom thrips (*Sciothrips cardamomi*) in India. *BioControl*, 60(3), 363-373.
- Kumm, S. and Moritz, G. 2009. Life-cycle variation, including female production by virgin females in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Applied Entomology*, 134: 491-497.
- Lacey, L. A. (Ed.). 1997. *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press.
- Lee, S. J., Kim, S., Kim, J. C., Lee, M. R., Hossain, M. S., Shin, T. S. and Kim, J. S. 2017. Entomopathogenic *Beauveria bassiana* granules to control soil-dwelling stage of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *BioControl*, 62(5), 639-648.
- Leger, R.J. ST. and Wang, C., 2009. Entomopathogenic Fungi and the Genomics Era, *Insect Pathogens: Molecular Approaches and Techniques* 1- 21s.

- Li, Y. 2019. Effects of the rove beetle, *Dalotia coriaria*, on western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, under laboratory conditions; and integrating the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, with *D. coriaria* to suppress western flower thrips populations under greenhouse conditions (Doctoral dissertation).
- López Lastra, C. C., Hajek, A. E. and Humber, R. A. 2002. Comparing methods of preservation for cultures of entomopathogenic fungi. *Can. J. Bot.*, 80, 1126-1130.
- Machowicz-Stefaniak, Z. and B. Miczulski, 1985. Tests to determine the pathogenicity of the fungus *Alternaria alternata* Keissler to larvae of the blue cereal leaf beetle *Oulema gallaeciana* Heyden (Coleoptera: Chrysomelidae). *Roczniki Nauk Rolniczych*, 15: 151-157.
- Maniania, N. K., S. Sithanantham, S. Ekesi, K. Ampong-Nyarko, J. Baumgärtner, B. Löhr and C. M. Matoka, 2003a. A field trial of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for control of onion thrips, *Thrips tabaci*. *Crop Protection*, 22: 553-559.
- Maniania, N. K., Ekesi, S., Löhr, B. and Mwangi, F. 2003b. Prospects for biological control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, with the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, on chrysanthemum. *Mycopathologia*, 155(4), 229-235.
- McNeil Jr, D. G. 2005. Fungus fatal to mosquito may aid global war on Malaria. The New York Times, 10.
- Meyling, N., V. 2008. PCR-Based Characterisation of Entomopathogenic Fungi for Ecological Studies, Vegqure, Copenhagen, 14 S.
- Miczulski, B. and Z. Machowicz-Stefaniak, 1977. Fungi associated with the cereal leaf beetle *Oulema gallaeciana* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 29: 386-387.
- Minakuchi, C., Inano, Y., Shi, X., Song, D., Zhang, Y., Miura, K. and Sonoda, S. 2013. Neonicotinoid resistance and cDNA sequences of nicotinic acetylcholine receptor subunits of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Applied entomology and zoology*, 48(4), 507-513.
- Mohanty, S. S., Raghavendra, K., Rai, U. and Dash, A. P. 2008. Efficacy of female *Culex quinquefasciatus* with entomopathogenic fungus *Fusarium pallidoroseum*. *Parasitology research*, 103(1), 171-174.
- Mora, M. A. E., Castilho, A. M. C. and Fraga, M. E. 2017. Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. *Arquivos do Instituto Biológico*, 84.
- Mousavi, E. S., Naderi, D., Kalateh Jari, S., Abdossi, V. and Dehghanzadeh, H. 2017. Efficacy of the Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* against the Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande)(Thysanoptera: Thripidae) under Greenhouse Conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 27(1).
- Muro, M.A., Elliott, S., Moore, D., Parker, B.L., Skinner, M., Reid, W. and Boussini, M.E. 2005. Molecular Characterization of *Beauveria bassiana* Isolates Obtained

- from Overwintering Sites of Sunn Pests (*Eurygaster* and *Aelia* species), *Mycological Research*, 109, 294-306.
- Niassy, S., Maniania, N. K., Subramanian, S., Gitonga, L. M., Mburu, D. M., Masiga, D. and Ekesi, S. 2012. Selection of promising fungal biological control agent of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Letters in applied microbiology*, 54(6), 487-493.
- Ohmasa, M., Abe, Y., Babasaki, K., Hiraide, M. and Okabe, K. 1992. Preservation of cultures of mushrooms by freezing. *Nippon Kingakkai Kaiho*, 44(4), 467-479.
- Onions, A. H. S. 1971. Preservation of fungi. In C. Booth (Ed.), *Methods in Microbiology*, Vol. 4 (pp. 113-151). London, UK: Academic Press.
- Ozino, M., 1982. Preliminary researches on hyphomycetes isolated from *Zyginidia pullula* Allionia (Turin), 25: 101-104.
- Örtücü, S., Algur, Ö.F. and Aydoğan, M.N. 2010. Entomopatojen Fungus Toksinlerinin İnsektisidal Etkileri. 1. Ulusal Palandöken Toksikoloji Sempozyumu, 28-30 Mayıs 2010, Erzurum.
- Pantou, M.P., Mavridou, A. and Typas, M.A. 2003. IGS Sequence Variation, Group-I Introns and the Complete Nuclear Ribosomal DNA of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium*: Excellent Tools for Isolate Detection and Phylogenetic Analysis, *Fungal Genetics and Biology*, 38, 159-174.
- Pappu, H. R., Csinos, A. S., McPherson, R. M., Jones, D. C. and Stephenson, M. G. 2000. Effect of acibenzolar-S-methyl and imidacloprid on suppression of tomato spotted wilt Tospovirus in flue-cured tobacco. *Crop Protection*, 19(5), 349-354.
- Raizada, U., 1976. A preliminary report on the fungi infesting thrips (Thysanoptera: Thripidae). *Entomon*, 1: 155-158.
- Ravensberg, W. J., Malais, M. and Van der Schaaf, D. A. 1990. *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against glasshouse whitefly. In: Brighton Crop Protection Conference, *Pests & Diseases*, Vol. 1. (pp. 265-268). British Crop Protection Council.
- Rehner, S. A and Buckley, E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, 97(1), 84-98.
- Rehner, S.A., Posada, F., Buckley, E.P., Infante, F., Castillo, A. and Vega, F.E. 2006. Phylogenetic Origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. Pathogens of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93, 11-21.
- Robb, K.L. and Parella, M.P. 1995. IPM of Western Flower Thrips. In: B.L, Parker, M. Skinner and T. Lewis.(Editors), *Thrips Biology and Management*. Plenum Press. Newyork pp. 365-370.
- Roberts DW. 1981. Toxins of entomopathogenic fungi. In: Burges HD, editor. *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. London: Academic Press. pp 441-464.
- Rombach, M. C. and Gilespe, A.T., 1988. Entomogenous Hyphomycetes for Insect and

- Mite Control on Greenhouse Crops. *Biocontrol News and Information*, 9, 7-18.
- Roy, H. E., Steinkraus, D. C., Eilenberg, J., Hajek, A. E. and Pell, J. K. 2006. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annu. Rev. Entomol.*, 51, 331-357.
- Saito, T. and Brownbridge, M. 2016. Compatibility of soil-dwelling predators and microbial agents and their efficacy in controlling soil-dwelling stages of western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *Biological control*, 92, 92-100.
- Sakimura, K. 1962. *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), a vector of the tomato spotted wilt virus, with special reference to the color forms. *Annals of the Entomological Society of America*, 55(4), 387-389.
- Sánchez-Peña S.R., Lara, J. S. J. and Medina, R.F. 2011. Occurrence of entomopathogenic fungi from agricultural and natural ecosystems in Saltillo, Mexico, and their virulence towards thrips and whiteflies. *Journal of Insect Science* 11:1 available online: insectscience.org/11.1
- Sengonca, C., Thungrabeab, M. and Blaaser, P. 2006. Potential of different isolates of entomopathogenic fungi from Thailand as biological control agents against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande)(Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113(2), 74-80.
- Sevim, A., Sevim, E., Demir, İ ve Demirbağ, Z. 2014. *Rhynchites bacchus* L.(Coleoptera: Rhynchitidae)'dan İzole Edilen *Beauveria bassiana*'nın Moleküler ve Patojenitesi. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(2), 33-47.
- Sevim, A., Sevim, E. and Demirbağ, Z. 2015. Entomopatojenik fungusların genel biyolojileri ve Türkiye'de zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılma potansiyelleri. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 8(1), 115-147.
- Seye, F., Bawin, T., Boukraa, S., Zimmer, J. Y., Ndiaye, M., Delvigne, F. and Francis, F. 2014. Effect of entomopathogenic *Aspergillus* strains against the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae). *Applied entomology and zoology*, 49(3), 453-458.
- Shabana, Y. M. and Ragab, M. E. 1997. *Alternaria infectoria*, a promising biological control agent for the fig wax scale, *Ceroplastes rusci* (Homoptera: Coccidae), in Egypt. *Biocontrol Science and Technology*, 7(4), 553-564.
- Shah, P.A. and Pell, J.K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 413-423.
- Shahid, A. A., Rao, Q. A., Bakhsh, A. and Husnain, T. 2012. Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. *Archives of Biological Sciences*, 64(1), 21-42.
- Sharma, I. and Sharma, A. 2014. Use of *Alternaria* spp. as a pest control agent: a review. *World App. Sci. J*, 31, 1869-1872.
- Sharma, L. and Marques, G. 2018. *Fusarium*, an entomopathogen—A myth or reality?. *Pathogens*, 7(4), 93.
- Smith, C. 1993. Long-term preservation of test strains (fungus). *Int. Biodeterior.*

- Biodegrad., 31, 227-230.
- Strasser, H., Vey, A. and Butt, T. M. 2000. Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species?. *Biocontrol Science and Technology*, 10(6), 717-735.
- St. Leger, R.J. and Wang, C. 2010. Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve efficacy against insect pests. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.85, p.901-907.
- Safavi, S.A., Kharrazi, A., Rasouljan, G.R. and Bandani, A.R. 2010. Virulence of Some Isolates of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* on *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12, 13-21.
- Skinner, M., Gouli, S., Frank, C. E., Parker, B. L. and Kim, J. S. 2012. Management of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) with granular formulations of entomopathogenic fungi. *Biological Control*, 63(3), 246-252.
- Silva, A. M. M. D., Borba, C. M. and Oliveira, P. C. D. 1994. Viability and morphological alterations of *Paracoccidioides brasiliensis* strains preserved under mineral oil for long periods of time. *Mycoses*, 37, 165-169.
- Thungrabeab, M., Blaaser, P. and Sengonca, C. 2006. Effect of temperature and host plant on the efficacy of different entomopathogenic fungi from Thailand against *Frankliniella occidentalis* (Pergande) and *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in the laboratory. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113(4), 181-187.
- TÜİK 2020. Türkiye İstatistik Kurumu. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> [Son erişim tarihi: 12.12.2020].
- Uçak, H., Karaca, İ. and Güven, Ö., 2014. Bazı biyopestisitlerin *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thripidae: Thysanoptera)'e etkileri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 5(2): 137-148.
- Uzun, A., Demirözer, O. and Arıcı, Ş. E. 2019. Acaricidal activity of *Fusarium subglutinans* 12A on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(1), 83-88.
- Vega, F. E., Posada, F., Aime, M. C., Pava-Ripoll, M., Infante, F and Rehner, S. A. 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control*, 46, 72-82.
- Vestergaard, S., Gillespie, A. T., Butt, T. M., Schreiter G. and Eilenberg, J. 1995. Pathogenicity of the hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science & Technology*, 5(2): 185-192.
- Wan, H. 2003. Molecular biology of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: Insect-cuticle degrading enzymes and Development of a new selection marker for fungal Transformation. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Combined Faculties

for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto-Carola University of Heidelberg, Germany.

- Wang, C., Huang, Y., Zhao, J., Ma, Y., Xu, X., Wan, Q. and Pan, B. 2019. First record of *Aspergillus oryzae* as an entomopathogenic fungus against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary parasitology*, 271, 57-63.
- Weintraub, P. G., Pivonia, S. and Steinberg, S. 2011. How many *Orius laevigatus* are needed for effective western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, management in sweet pepper?. *Crop protection*, 30(11), 1443-1448.
- Wraight, S. P., Carruthers, R. I., Jaronski, S. T., Bradley, C. A., Garza, C. J., and Galaini-Wraight, S. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological control*, 17(3), 203-217.
- Wu, S., Yulin G., Xuenong X., Yaping Z., Jing W., Zhongren L. and Guy S. 2013. Laboratory and greenhouse evaluation of a new entomopathogenic strain of *Beauveria bassiana* for control of the onion thrips *Thrips tabaci*. *Biocontrol Science and Technology*, 23:7, 794-802, DOI: 10.1080/09583157.2013.794896
- Zhang, X., Lei, Z., Reitz, S. R., Wu, S. and Gao, Y. 2019. Laboratory and Greenhouse Evaluation of a Granular Formulation of *Beauveria bassiana* for Control of Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Insects*, 10(2), 58.
- Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553-596.

8. EKLER

Ek 1. Tez kapsamında elde edilen izolatların sekans bilgileri

>Seq1 [organism=Alternaria infectoria] [isolate=K1] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

```
CCCCCGTAACGAGTCAGGTTGTAAAAAGGCTTGCTGGACGCTGACCTTGGCTGGCAAAGAGCGCGAC
TTGTGCTGCGCACCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATGACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCGAACTGG
AGACAAAAGACGCCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTT
TGGAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACT
ACGTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAA
TTAATTACGTTGTTACTGACGCTGATTGCTATTGCAAAAGATTTGTGGTTGGTCCTGAGGGCGGGCG
AGCCCACCCAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACACGGGTGAATAATTCAGCAGGGCCGGCCCCGCC
GCGCACGCCGTGAAGCAGTGCCCGACGGGGGTGTCCAGCCCGCCTTGTTATTGTGTAATGATCCCT
CCGCAGGTTTACCTAACGGAAACA
```

>Seq2 [organism= Alternaria arborescens/brassicae] [isolate=K2] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

```
CCCTGGGCCACCAGCCCAAAGTTGAAAAAAGGCTTATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGC
GACTTGTGCTGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAG
CTAGAGACAAGACGCCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
TTTGAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA
CTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGT
AATTATTAATTTGTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCG
AACCACCAAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCG
AGAGGTTCCAGCCCGCCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTTACCTAACGGAAACAAA
```

>Seq3 [organism= Alternaria infectoria/forlicesenensis] [isolate=K3] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

```
CTGTTAATGGAGTCAGGTTGAAAAAGGCTTGCTGGACGCTGACCTTGGCTGGCAAAGAGCGCGACTT
GTGCTGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATGACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCGAACTGGAG
ACAAAAGACGCCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTG
GAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTAC
GTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATT
AATTACGTTGTTACTGACGCTGATTGCTATTGCAAAAGATTTGTGGTTGGTCCTGAGGGCGGGCGAG
CCCACCCAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACACGGGTGAATAATTCAGCAGGGCCGGCCCCGCCGC
GCACGCCGTGAAGCAGTGCCCGACGGGGGTGTCCAGCCCGCCTTGTTATTGTGTAATGATCCCTCC
GCAGGTTTAC
```

>Seq4 [organism= Sporothrix pallida] [isolate=K4] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and

internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

```
GGTCACCTTGTAAGAGTTGCACGTCATGCGCGTTTTGACGGCAGGGCGCCGGCGGGGCGTCTGAGCG
AGGGGAGAGAACTTGCGTCCAGTACTGCGCTCGGAGCCAACCAGCCGGGCCCGCCACTCGCTTTCGG
GGCCCTCCGCCAGGCGGAGGAGCCCCAACACCAGCGCGCAACGGGGCGCGTGAGGGGGGAAATGACG
CTCGGACAGGCATGCCCCGCCAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGGTTCGCT
GAATTCTGCAATTCACATTACGTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGAT
CCGTTGTTGAAAGTTTTGATTATTTGTTTTTAATCCTCAGACTGTTTCTAGTGGTTGAGATATAAAG
GTTCTGATAGGGCCCGCCGCCCCCGGCGGGGCAGGGCGG
```

>Seq5 [organism= *Cladosporium cladosporioides*] [isolate=K5] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

```
CTATTACTACTACTTAGAATGGGGTTGTTTTACGGCGTAGCCTCCCGAGCACCCTTTAGCGAATAGT
TTCCACAACGCTTAGGGGACAGAAGACCCAGCCGGTCGATTTGAGGCACGCGGCGGACCGCGTTGCC
CAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATACCAGGGG
GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTT
GCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTTAATTTATTAATTAAGT
TTACTCAGACTGCAAAGTTACGCAAGAGTTTGAAGTGTCCACCCGGAGCCCCCGCCGAAGGCAGGG
TCGCCCCGGAGGCAACAGAGTCGGACAACAAAGGGTTATGAACATCCCGGTGGTAAACCGGGGTCAC
TTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCC
```

>Seq6 [organism= *Cladosporium oxysporum/cladosporioides*] [isolate=K6] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

```
GTGTAATGAGCTACTTAGAATGGGGTTGTTTTACGGCGTAGCCTCCCGAGCACCCTTTAGCGAATAG
TTTCCACAACGCTTAGGGGACAGAAGACCCAGCCGGTCGATTTGAGGCACGCGGCGGACCGCGTTGC
CCAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATACCAGGG
GGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTT
CGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTTAATTTATTAATTAAG
TTTACTCAGACTGCAAAGTTACGCAAGAGTTTGAAGTGTCCACCCGGAGCCCCCGCCGAAGGCAGG
GTCGCCCCGGAGGCAACAGAGTCGGACAACAAAGGGTTATGAACATCCCGGTGGTTAGACCGGGGTC
ACTTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTACCTAACGGAACAA
```

>Seq7 [organism= *Cladosporium cladosporioides*] [isolate=K7] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

```
CAGTATGACTACCTTAGAATGGGGTTGTTTTACGGCGTAGCCTCCCGAACACCCTTTAGCGAATAGT
TTCCACAACGCTTAGGGGACAGAAGACCCAGCCGGTCGATTTGAGGCACGCGGCGGACCGCGTTGCC
CAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATACCAGGGG
GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTT
GCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTTAATTTATTAATTAAGT
TTACTCAGACTGCAAAGTTACGCAAGAGTTTGAAGTGTCCACCCGGAGCCCCCGCCGAAGGCAGGG
```

TCGCCCCGAGGCAACAGAGTCGGACAACAAAGGGTTATGAACATCCCGGTGGTTAGACCGGGGTCA
CTTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCC

>Seq8 [organism= *Fusarium incarnatum/equiseti*] [isolate=K8] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence

CAGAAACGAGTACATTCAGAGTTGGGGTTTTACGGCGTGGCCGCGACGATTACCAGTAACGAGGTGT
ATGATTACTACGCTATGGAAGCTCGACGTGACCGCCAATCGATTTGGGGAACGCGGGTTACCGCGAG
TCCCAACACCAAGCTGAGCTTGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATACTGG
CGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCAT
TTTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTTGTTT
GTTTTACTCAGAAGTTCCACTAAAAACAGAGTTTAGGGGTCCTCGGGCGGGCCGTCCCGTTTTACGG
GGCGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACGTATAGGTATGTTACAGGGGTTTGGGAGTTGTAAACTCGG
TAATGATCCCTCCGCAGGTTCC

>Seq9 [organism= *Cladosporium cladosporioides*] [isolate=K9] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence

CAGTTACTTTCACCTAGAATGGGGTTGTTTTACGGCGTAGCCTCCCGAGCACCCCTTTAGCGAATAGT
TCCCAACACGCTTAGGGGACAGAAGACCCAGCCGGTCGATTTGAGGCACGCGGCGGACCGCGTTGCC
CAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATACCAGGGG
GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTC
GCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTTAATTTATTAATTAAGT
TTACTCAGACTGCAAAGTTACGCAAGAGTTTGAAGTGTCCACCCGGAGCCCCCGCCGAAGGCAGGG
TCGCCCCGAGGCAACAGAGTCGGACAACAAAGGGTTATGAACATCCCGGTGGTTAGACCGGGGTCA
CTTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCC

>Seq10 [organism= *Alternaria alternata*] [isolate=K10] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence

CAGTTATGAGTCAAGTTGAAAGGCTTATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGCGACTTGTGC
TGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAGACA
AGACGCCCCAACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGAATA
CCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTTATC
GCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTAA
TTTGTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCGAACCCACCA
AGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCC
AGCCCGCCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCCACAGGAAAACAGAG

>Seq11 [organism= *Cladosporium cladosporioides*] [isolate=K12]
internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA
gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S
ribosomal RNA gene, partial sequence

CTTCATTAACGGGCTAACCTTAGATGGGGTTGTTTTACGGCGTAGCCTCCCGAACACCCTTTAGCGA
ATAGTTTCCACAACGCTTAGGGGACAGAAGACCCAGCCGGTCGATTTGAGGCACGCGGCGGACCGCG
TTGCCCAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATACC
AGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGC
ATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTAAATTTATTAAT
TAAGTTTACTCAGACTGCAAAGTTACGCAAGAGTTTGAAGTGTCACCCCGGAGCCCCCGCCGAAGG
CAGGGTCGCCCCGGAGGCAACAGAGTCGGACAACAAAGGGTTATGAACATCCCGGTGGTTAGACCGG
GGTCACTTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCACTTACGGAAACAA

>Seq12 [organism= *Alternaria alternata*/arborescens] [isolate=K13]
internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA
gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S
ribosomal RNA gene, partial sequence

CAGTACGAGTCAGTTGATTAGGCTTATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGCGACTTGTGCT
GCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAGACAA
GACGCCCCAACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGAATAC
CAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTTATCG
CATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTAAT
TTGTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCGAACCCACCAA
GGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCA
GCCCCGCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTCTTCTACGCTTTGCATTTTGGACTCTCCT
CATCTAACATCCTCTCACGTCAAGATACTGAACAGAT

>Seq13 [organism= *Alternaria alternata*/arborescens] [isolate=K17]
internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA
gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S
ribosomal RNA gene, partial sequence

CTGGTACGAGTCAGTGAATAGGCTTATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGCGACTTGTGCT
GCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAGACAA
GACGCCCCAACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGAATAC
CAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTTATCG
CATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTAAT
TTGTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCGAACCCACCAA
GGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCA
GCCCCGCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTATTTTTCGCCCTTTTGTCTTACCGTGA
GCTATGAGTAAGTGGCATCCAGTAAGTGATTCT

>Seq14 [organism= *Alternaria alternata*] [isolate=K19] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence

CAGTTACGAGTCAAGTTGAAAAGGCTTATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGCGACTTGTG
CTGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAGAC
AAGACGCCCCAACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGAAT
ACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTTAT
CGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTA
ATTTGTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCGAACCCACC

AAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCTAAAAGGAGAAAAACA

>Seq15 [organism= *Alternaria alternata*] [isolate=K20] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CTGTACGCTACGTTGAAGAGGCTTATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAAGAGTGCGACTTGTGCTGC
GCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAGACAAGA
CGCCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGAATACCA
AAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTTATCGCA
TTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAAAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTAATTT
GTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCGAACCCACCAAGG
AAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGC
CCGCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCACTAACGGAAAAACAAAA

>Seq16 [organism= *Alternaria infectoria*] [isolate=K22] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CAGTTTTTAAAGTCAGGTTGAAAAAGGCTTGCTGGACGCTGACCTTGGCTGGCAAAGAGCGCGACTT
GTGCTGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATGACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCGAACTGGAG
ACAAAAGACGCCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTG
GAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTAC
GTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATT
AATTACGTTGTTACTGACGCTGATTGCTATTGCAAAAGGTTTGTGGTTGGTCCTGAGGGCGGGCGAG
CCCACCCAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACACGGGTGAATAATTCAGCAGGGCCGGCCCCGCCGC
GCACGCCGTGAAGCAGTGCCAGCGGGGGGTGTCCAGCCCGCCTTGTTATTGTGTAATGATCCCTCC
GCAGGTTCACTT

>Seq17 [organism= *Cladosporium cladosporioides*] [isolate=K23] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CAGTCTTCGACTCACTTAGAATGGGGTTGTTTTACGGCGTAGCCTCCCGAACACCCCTTTAGCGAATA
GTTTCCACAACGCTTAGGGGACAGAAGACCCAGCCGGTCGATTTGAGGCACGCGGCGGACCGCGATG
CCCAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATACCAGG
GGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATT
TCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTTAATTTATTAATTAA
GTTTACTCAGACTGCAAAGTTACGCAAGAGTTTGAAGTGTCCACCCGGAGCCCCCGCCGAAGGCAG
GGTCGCCCCGGAGGCAACAGAGTCGGACAACAAAGGGTTATGAACATCCCGGTGGTTAGACCGGGGT
CACTTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTTAC

>Seq18 [organism= *Cladosporium cladosporioides*] [isolate=K25] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CAGGAACGACTACTTAGAATGGGGTTGTTTTACGGCGTAGCCTCCCGAACACCCTTTAGCGAATAGT
 TTCCACAACGCTTAGGGGACAGAAGACCCAGCCGGTTCGATTTGAGGCACGCGGCGGACCGCGTTGCC
 CAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATACCAGGGG
 GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTT
 GCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTTAATTTATTAATTAAGT
 TTACTCAGACTGCAAAGTTACGCAAGAGTTTGAAGTGTCCACCCGGAGCCCCCGCCGAAGGCAGGG
 TCGCCCCGGAGGCAACAGAGTCGGACAACAAAGGGTTATGAACATCCCGGTGGTTAGACCGGGGTCA
 CTTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCC

>Seq19 [organism= *Alternaria alternata*] [isolate=K27] internal
 transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
 internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
 RNA gene, partial sequence

CAGTTACGAGCTCAAGTTGAAAAAGGCTTATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGCGACTTG
 TGCTGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAG
 ACAAGACGCCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGA
 ATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTT
 ATCGCATTTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTAT
 TAATTTGTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCGAACCCA
 CCAAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGT
 TCCAGCCCGCCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTTCATT

>Seq20 [organism= *Aspergillus ochraceus*] [isolate=K29] internal
 transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
 internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
 RNA gene, partial sequence

CCGTAAATTGAGTAACTGGCAATAGTTGGTTGCTTTTTACGCGTCGGCCAGCAGCCGGCCGGGCCTAC
 AAGAGCGGGTGACAAAGCCCCATACGCTCGAGGACCGGACGCGGTGCCGCCGCTGCCTTTCTGGGCCC
 GTCCCCCTGGGGGGGACGACGACCAACACACAAGCCGTGCTTGAGGGCAGCAATGACGCTCGGAC
 AGGCATACCCCCGGAATACCAGGGGGTGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCT
 GCAATTCACATTAATTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCGGAACCAAGAGATCCATTGT
 TGAAAGTTTTAACTGATTGCGATACAATCGACTCAGACGACAAAACCTTCAGACAGTGTTACGTTGG
 TGTCTCCGGCGAGCGCTGTGCCCCCTAAAAGAAAAAGGGGCGGGCTCGCCGAAGCAACAAGGTACG
 GTATACACGGGTGGGAGGTTGGGCCCGAGGGACCCTCACTCAGTAATGATCCTTCCGCAGGTTCC
 TT

>Seq21 [organism= *Alternaria alternata*] [isolate=K33] internal
 transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
 internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
 RNA gene, partial sequence

GCATTTTCGGAGTCAAAGTTGAAAAAGGCTTATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGCGACTTG
 TGCTGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAG
 ACAAGACGCCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGA
 ATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTT
 ATCGCATTTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTAT
 TAATTTGTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCGAACCCA

CCAAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGT
TCCAGCCCGCCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCACTAAACGGAAACAAAA

>Seq22 [organism= *Fusarium oxysporum/chlamydosporum*] [isolate=K34]
internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA
gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S
ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGGTTTCGACTAATTCGAAATGGGGTTTTACGGCGTGGCCGCCCGATTACCAGTAACGAGGTGTAT
GATTACTACCCTACGGAAGCTCGACGTGACCGCCAATCTATTTGGGGAACGCTCGTTACC GCGAGTC
CCAACACCAAGCTGAGCTTGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCGCCCCAATACTGGCG
GGGGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCTCATTT
TGCTGCGTTCTTCTCCATGCCTGAACCAACAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTTGTTTGT
TTTACTCCAACTTCCACTAAAAACAGAGTTTAGGGTCTCCGGCGGCCCGTCCCGTTTTACGGGGC
GCGGGCTGATCCGCCAAGGCAACATATAGGTATGTTTACAGGGGTTTGGGAGTTGTAACTCGGTAA
TGATCCCTCCGCACGTTACCTACGGAAACAAAA

>Seq23 [organism= *Cladosporium cladosporioides*] [isolate=K35]
internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA
gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S
ribosomal RNA gene, partial sequence

CCAGTTAATGAATACTTAGAATGGGGTTGTTTTACGGCGTAGCCTCCCGAACACCCTTTAGCGAATA
GTTTCCACAACGCTTAGGGGACAGAAGACCCAGCCGGTTCGATTTGAGGCACGCGCGGACCGCGATG
CCCAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCGCCGGAATACCAGG
GGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATT
TCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTTAATTTATTAATTAA
GTTTACTCAGACTGCAAAGTTACGCAAGAGTTTGAAGTGTCCACCCGGAGCCCCCGCCGAAGGCAG
GGTCGCCCCGGAGGCAACAGAGTCGGACAACAAAGGGTTATGAACATCCCGGTGGTTAGACCGGGGT
CACTTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTACCTAACGGAAACA

>Seq24 [organism= *Alternaria infectoria*] [isolate=K38] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence

CCAGTATGGATTTCAGGTTGAAAAGGCTTGCTGGACGCTGACCTTGGCTGGCAAAGAGCGCGACTTGT
GCTGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATGACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCGAACTGGAGAC
AAAAGACGCCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGA
ATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACGT
ATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTGTAATTAA
TTACGTTGTTACTGACGCTGATTGCTATTGCAAAGGTTTGTGGTTGGTCCTGAGGGCGGGCGAGCC
CACCCAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACACGGGTGAATAATTCAGCAGGGCCGGCCCCGCCGCGC
ACGCCGTGAAGCAGTGCCAGCGGGGGGTGTCCAGCCCGCCTTGTTATTGTGTAATGATCCCTCCGC
AGGTTCC

>Seq25 [organism= *Beauveria bassiana*] [isolate=M47] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence

GTAGCATATTAGCTCTACGAATGGTGACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCC
 CTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCG
 GCCCCGCGGGGACCTCAAACCTCTTGATTTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATG
 AATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATAA
 GTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATTC
 TGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCCCCCTTGGGGAGGTTCGGCGTTGGGG
 ACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAAT
 ACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGACCTCGA
 ATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAAGGGGGGAAGAAAAATTGAAGAAAAAGTT
 GTGGTGGGGTTTTTTTTGATCCGCGGAAAAACAATTCTTGGAGGGAAGAACTTCGGGTGAAATTTAA
 GGGATATAAAAGGAAAAAGGGGGGAGAAAAAGGCTGGCGTCTGCTAGACTCCGGCATGGGTTGGAA
 TCTCAACCAGCCACGGGCGATGGGCCGTCCCCCCTCTCCTTCCCATCTTTGTTATCGCCGCTCACC
 CCCCTTACGCTATTTTCATGCCGGCTTTTTTACCATAATTTAACAATGATGTTCCCGTTTTAAGCGGTT
 TGGAGAATTAAACGTGGTTTAAACGCTGATGAGTGGTGGGGGGGGGCGCGGGCGCGGTGCCGGTTC
 CGGCAGTTAGCGCCGATGGGGCGGGCGGACGTTGGTTTGGATTTCCGCTTCTGCCCAGTTGCGCC
 CCCTTCTCGTTTGGGGACGAAGTATCCGCGAGCACTTGAATGGGGCGGAGAAAATTGTAAATGTAAA
 ATAAAGTCAGGCGGAAGTGGGGTCGGGATTGAAGATATAGTTTAGTGCCAGAATTAATGCGCTGAGA
 TGTTAAAGGCCCTGTGATATTGTAAAAATGTGCTACGGCTACGGCCGTCGATGCATTTCTGGGTT
 AAACCTTTTCGCCTCCTTGTCAAATGTTTAAACCCTGTTTTTTTTTTATTATATTAGATTTTAGATA
 AACATAGGCTTTTAAACGTCAGATTCATGTTTTTGGCCGCGCCGGCGTGTGCGGGCGGGTGCGCGCGGC
 ACCCGCGGTTTTTCCACCCCCGTCACAATAAAAAAACACACGAATTAATATAATATTAAAGAAT
 TAACAAAAAACCCAAACACCCCCATTAAAAAACTGCTTTGTACACTGTTAAAAATTAACAGATAAAA
 AAAACAAAACCTAAAACAATAAGACAATTAAATTTCTTTGAGCGCGTGCCAAATGTTGTATTTTA
 AAATTAATTATGAATAATACAACCAAAACCCACGGCCCCGTAAGGCACGGCAAAAACGGTAAATTAAT
 TTTACGCGAATGTGTGTGGAAGGGGATATGGGAGGGAGTTGTAAATGGAAAATTACATTAAATAT
 AGAAACCCAAAATGGTATTTCTAACCGACCCCCCCTGCTCCGCAACTATTTTACCCTTTTATTTTC
 CCCCCCTCCCCTTCCCCGCGTAATCCAAAAGGCCGTGTACTGCCAGCGGGGCCCCGTGGAATGCATGTT
 TGCGGAAAGTGGGGAAGACAGGGAGGGAGAGCGTTTGAATAAATGGGTGATTGGGGAACGGCGGGGG
 GCCCCCGAAATGAGTGTGGTGGAGGAATGTGGGGACAGTGGGGGGGGATGGGAAAAGATTTGGAGA
 CGACCGTTGGAAGGCCGAGAAAAAGAACTGACGGATGGTAGGGGGGGGCTGTTTTTTTTTTTTTTTTT
 TTTTTTTT

>Seq26 [organism= *Beauveria bassiana*] [isolate=M48] internal
 transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
 internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
 RNA gene, partial sequence

GGATGTCAGCTCTACGATTGGTGACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCCCTT
 CTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCC
 CGCCGGGGACCTCAAACCTCTTGATTTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAAT
 CAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATAAGTA
 ATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATTTCTGG
 CGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCCCCCTTGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACC
 GGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACA
 GCTCGCACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGACCTCGAATC
 AGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAAAGGGGGGAAGGAAAAAGAAATTAATAAAAA
 AATGGAGTTTGGGGTTTTTCATGGAAGCGGGGGGGGAAAAAGAAAACCCAGGGGGGGGAAGTTCCGCC
 GGTGTTGAAATTTGGAGGAATTAAGGGGAATGGAGACGGGAGAAAAGAGGGTGGCCTTTCTTTTTT
 TCTCTCCGGTTTTTGATTTTTTTTTTTTCATCCGTGGTCAGGGCGGAGGGGCGTGAGGGGGTGTTCG

[illegible]

```
>Seq27 [organism=Beauveria bassiana] [isolate=M49] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence
```

[illegible]

[illegible]

```
>Seq28 [organism=Isaria fumosorosea] [isolate=M50] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence
```

TCTGAAAGGCAACACGTGTGTGGACATTTCCCAGAAGTTTTCACAACTTTCCCAACCCTCCTGTGAAC
CTACCCATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCGTCCGGACGGCCTCGCGCCGGCCCCGCACCTGG
ACCCAGGCGGCCGCCGGAGACCACGCAACCCTGCATCCATCAGTCTCTCTGAATCCGCCGCAAGGCA
ACACAAACGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA
ATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG
CCAGCATTTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACGTCCCCGGGGACGTGGC
CTTGGGGACCGGCAGCACCCCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCG
AAGTACTACAGCTCGCACCGGAAACCCGACGCGGCCCGCCGTGAAACCCCCAACTCTGAACGTTGA
CCTCGGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATACAAAACCCGGAGAAGGAATATTTTTTGA
AAAAAGGGAGAGAGG

```
>Seq29 [organism=Akanthomyces muscarius] [isolate=DOA1] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence
```

[illegible]

```
>Seq30 [organism=Akanthomyces muscarius] [isolate=DOA2] internal
transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and
internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal
RNA gene, partial sequence
```

TCAACCTGATCCGAGGTACGTTTACAAGTTGGGTGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGGTTCCGGT
GCGAGTTGGATTACTACGCAGAGGTGCGCGCGGACGGGCCGCGGACTCCATTTTCGGGGACGGCGGTAT
GCTGCCGTTCCCCAACGCCGATTTCCCCGAGGGGAAGTCGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCA
TGCCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCGTCAAT
TCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAA
GTTTTGATTCAATTTGTTTTGCCTTGCGGCGAATTCAGAAGATGCTGATAATACAGAGTTTGTGGGTC
TCCGGCGGCCGCGCTGGGTCCGGGCCGCGGGCGGCGGAGGCCGTCCGGACGCCGGGGCGAGTCCGCC
GAAGCAACAGTAGGTATGTTACATAAGGGTTTGGGAGTTGTAAACTCGATAATGATCCCTCCGCTG
GTTACCAACGGGAGACCATGTTACAACCTTATATACTTCCAAA

>Seq31 [organism=Lecanicillium psalliotae] [isolate=DOA3] internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

AGGTCACGTTTCAGAAAGTGGGGTGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGGTTCCGGTGCGAGGTTGGAT
TACTACGCAGAGGTCGCCGCGGACGGGGCCGCACTCCATTTCTGGGGCCGGCGGTATGCTGCCAGTCC
CCAACGCCGATTTCCCCAAAGGGAAGTCGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGA
ATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTT
ATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTCA
TTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAAACTGCTGATACAAAATAGTTTTGGTGGTCTCCGGCG
GCCGCCTGGGTCCGGGCCGCGGGCGGCGCTAGGCCGTCCGGACGCCGGGGCGAGTCCGCCGAAGCAA
CATTATGGTATGTTACATAAGGGTTTGGGAGTTGTAACTCTGTAATGATCCCTCCGCTGGTTCAC
CAACGGAGACCTTGTTACGACTTTTACTTCCA



ÖZGEÇMİŞ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2017-2021	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2014-2017	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2008-2013	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırmacı	Tarım ve Orman Bakanlığı
2016-Devam Ediyor	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Bölümü, Antalya
Mühendis	Tarım ve Orman Bakanlığı
2013-2016	Gelendost İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Isparta

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. KIRIŞIK M., Dağlı F., 2021. Resistance to bifenazate and abamectin in *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae) greenhouse populations collected from coastal regions of Antalya (Turkey) in 2016. Fresenius Environmental Bulletin (Kabul edilmiş makale).
2. KIRIŞIK, M., Erler, F., Boyacı, F., Bayram, Y., 2020. Evaluation of resistance in 16 eggplant genotypes to the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Phytoparasitica, 1-11.

3. KIRIŞIK M., Ünlü M., Erler F., 2020. Evaluation of some melon lines for their resistance against melon aphid, *Aphis gossypii* Glover. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 44(3), 322-329.
4. Erler F., KIRIŞIK M., Topuz E., 2020. Comparable study on different colored sticky traps for catching of adult *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Fresenius Environmental Bulletin, Volume 29-No.09/2020, 7349-7354.
5. Kahraman T., KIRIŞIK M., Kahraman MU., 2020. Determination of Pests and Beneficial Species in Avocado Orchards in Antalya Province. Horticultural Studies, 37(2):150-154 DOI: 10.16882/HortiS.833769
6. KIRIŞIK M., Topuz E., 2019. Ispanak zararlısı *Tyrophagus neiswanderi* (Acari: Acaridae)'ye karşı farklı dozlarda *Isaria fumosorosea*'nın etkinliğinin belirlenmesi. Horticultural Studies, 7-7. <https://doi.org/10.16882/derim.2019.444321>.
7. KIRIŞIK M., Topuz E., Çobanoğlu S., 2018. *Tyrophagus neiswanderi* (Acari: Acaridae) as a Pest of Greenhouse Spinach in Antalya, Turkey. Journal of Agricultural Sciences 24 (4), 517-522.
8. KIRIŞIK M., Erler F., 2018. The usage possibilities of entomopathogenic fungi in the control of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Türkiye Entomoloji Bülteni, 7 (4), 293-303.
9. KIRIŞIK M., Erler F., 2017. Antalya ilinde örtüaltı sebze üretim alanlarında ticari boyutta kullanılan biyolojik mücadele etmenleri. Mediterranean Agricultural Sciences, 30(3), 189-195.

Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

1. KIRIŞIK M., Kahraman T., Erler F., 2020. *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki (Btk)'nin *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae)'ye karşı farklı yöntemlerle etkisinin belirlenmesi. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 11(1), 55-63. DOI: 10.31019/tbmd.620020
2. Baki D., KIRIŞIK M., Erler F., 2020. Antalya İli topraklarından *Galleria mellonella* kullanılarak izole edilen potansiyel entomopatojen fungus izolatlarının *Myzus persicae*'ye etkilerinin belirlenmesi . Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 11(1), 43-54. DOI: 10.31019/tbmd.620116

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. KIRIŞIK M., Dağlı F., 2017 Susceptibility to abamectin and bifenazate in 5 *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) populations from Antalya in 2016. 2nd International Balkan Agriculture Congress, 14-16 May 2017, Tekirdağ/ TURKEY.
2. Topuz E., KIRIŞIK M., Keçeci M., Gümrükçü E., Özdemir I., 2017. Studies on Pests in Some Minor Vegetables Cultivated in Antalya Province. International Conference on

Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF 2017 Cappadocia / Turkey).

3. KIRIŞIK M., Topuz E., 2017. Determination of the Effect Entomopathogen Fungus *Paecilomyces fumosoroseus* against a Spinach Pest *Tyrophagus neiswanderi* (Acari: Acaridae). 6th Entomopathogens And Microbial Control Congress, 14-16 Sep 2017 Tokat/ TURKEY.

4. KIRIŞIK M., 2017. Use of Entomopathogenes in Glasshouse Vegetable Production. 6th Entomopathogens And Microbial Control Congress, 14-16 Sep 2017 Tokat/ TURKEY.

5. Erler F., Ateş A., Tosun H., İkten C., İmrek B., Topuz E., KIRIŞIK M., 2018. Evaluation of Two Entomopathogenic Fungi and Their Combination with Summer Oil for the Control of Tomato Moth, *Tuta absoluta* (Meyrick). International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF 2018 Çeşme-İzmir/ Turkey), 2-5 April 2018.

6. Erler F., Biçen Ş., Önder Z., Tosun H., İkten C., İmrek B., Topuz E., KIRIŞIK M., 2018. Efficacy of Different Coloured Sticky Traps in Capturing Tomato Moth, *Tuta absoluta* (Meyrick). International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF 2018 Çeşme-İzmir/ Turkey), 2-5 April 2018.

7. KIRIŞIK M., Dağlı F., 2018. Efficacy of some acaricides against abamectin-resistant *Tetranychus urticae* population from Antalya, Turkey. International Agricultural Sciences Congress, 09-12 May 2018 Van/Turkey.

8. KIRIŞIK M., Topuz E., Erler F., 2018. Effect mechanism of entomopathogenic fungi and produced some toxins. International Agricultural Sciences Congress, 09-12 May 2018 Van/Turkey.

9. Erler F., KIRIŞIK M., Ünlü M., 2018. Determination of the cotton-melon aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) resistance in some melon lines by choice-test experiments. 1. International Gap Agriculture & Livestock Congress 25-27 April 2018 – Şanlıurfa/TURKEY.

10. Ünlü M., Kurum R., Sülü S.M., KIRIŞIK M., 2018. Determination of resistance status of melon landraces against *Acidovorax citrulli* and *Aphis gossypii* in Turkey. 30. International Horticultural Congress 12-16 August 2018-İstanbul/TURKEY.

11. KIRIŞIK, M., Sansür, T., 2019. Molecular Identification Approaches for Mealybug Pest Species (Hemiptera: Pseudococcidae). 1. Moleküler Bitki Koruma Kongresi, 10-13 Nisan 2019, Adana, Türkiye

12. Yıldız, K., Sansür, T., KIRIŞIK, M., 2019. Search for presence of *Xylella fastidiosa* and its vectors in olive and citrus orchards in Antalya Province. 1. Moleküler Bitki Koruma Kongresi, 10-13 Nisan 2019, Adana, Türkiye.

13. KIRIŞIK, M., Kahraman, T., Erler F., 2019. *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki (Btk)'nin *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae)'ye karşı

püskürtme ve sub-lethal etkisinin belirlenmesi. 7. Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele Kongresi, 11-13 Eylül 2019, Kayseri, Türkiye.

14. Baki, D., KIRIŞIK, M., Erler F., 2019. Antalya İli'nden toplanan toprak örneklerinden *Galleria mellonella* (L.) kullanarak entomopatojen fungus izolasyonu ve Yeşil Şeftali Afidi (*Myzus persicae* Sulzer)'ne karşı etkinliklerinin belirlenmesi. 7. Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele Kongresi, 11-13 Eylül 2019, Kayseri, Türkiye.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. KIRIŞIK M., Sansür T., Topuz E., 2018. Karanfil yetiştiriciliğinde sorun olan Batı çiçek tripsi [*Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae)] 'nin bazı insektisitlere karşı direnç durumunun belirlenmesi. Uluslararası Katılımlı Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi 14-17 Kasım 2018- Muğla/Türkiye.

2. KIRIŞIK M., Topuz E., Çobanoğlu S., 2018. Türkiye (Antalya)'de örtüaltı ıspanak zararlısı: *Tyrophagus neiswanderi* (Acari: Acaridae). Uluslararası Katılımlı Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi 14-17 Kasım 2018- Muğla/Türkiye.