

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ (*GALLERIA MELLONELLA* L.,
LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NE KARŞI YEREL MİKOİNSEKTİSİT
GELİŞTİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ranya Çağla DAĞAR

MAYIS 2025

TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ (*GALLERIA MELLONELLA* L.,
LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NE KARŞI YEREL MİKOİNSEKTİSİT
GELİŞTİRİLMESİ**

Ranya Çağla DAĞAR

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 24 / 04 / 2025

Tezin Savunma Tarihi : 09 / 05 / 2025

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İsmail DEMİR

İkinci Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Seda BİRYOL

Trabzon 2025

ÖNSÖZ

‘Büyük Bal Mumu Güvesi (*Galleria mellonella* L., Lepidoptera: Pyralidae)’ne Karşı Yerel Mikoinsektisit Geliştirilmesi’ isimli bu tez, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı’nda hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, konu seçimi ve çalışmalarım sırasında beni yönlendiren, her türlü desteği ve imkânı sağlayarak değerli bilgilerinden yararlandığım hocam Sayın Prof. Dr. İsmail DEMİR’e, laboratuvar çalışmalarım ile yakından ilgilenen ve her türlü desteği sunan ikinci tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Seda BİRYOL’a, laboratuvar maddi ve manevi imkânlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ’a, laboratuvar çalışmaları sürecindeki yardımları ve desteği için Uzm. Biyolog Ali SOYDİNCİ’ye teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın planlanması ve sonuçların değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Ardahan ESKİ’ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince laboratuvar imkânlarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölümü Başkanlığına teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca bana güç veren sevgileri, karşılıksız emekleri ve sarsılmaz destekleriyle, her adımda yanımda olduklarını hissettiren başta annem olmak üzere tüm aileme teşekkürlerimi sunarım.

Ranya Çağla DAĞAR

Trabzon 2025

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Büyük Bal Mumu Güvesi (*Galleria mellonella* L., Lepidoptera: Pyralidae)’ne Karşı Yerel Mikoinsektisit Geliştirilmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. İsmail DEMİR’in sorumluluğunda tamamladığımı, deneyleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 09/05/2025

Ranya Çağla DAĞAR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. <i>Galleria mellonella</i> L. (Büyük Bal Mumu Güvesi, Lepidoptera: Pyralidae).....	2
1.2.1. <i>Galleria mellonella</i> 'nın Yaşam Döngüsü	3
1.2.2. <i>Galleria mellonella</i> 'nın Dağılımı.....	5
1.2.3. <i>Galleria mellonella</i> 'nın Zararı	6
1.2.4. <i>Galleria mellonella</i> 'nın Mücadelesi	7
1.3. Zararlılarla Mücadelede Entomopatojenler.....	8
1.3.1. Entomopatojen Funguslar	9
1.3.2. Entomopatojen Fungusları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler	10
1.4. Entomopatojen Funguslardan Formülasyon Geliştirilmesi.....	11
1.4.1. Katı Substrat Fermentasyon	12
1.4.2. Sıvı Fermentasyon.....	13
1.5. Ticari Olarak Kullanılan Preparatlar	14
1.6. <i>Galleria mellonella</i> ile Mücadelede Entomopatojen Funguslar.....	17
1.7. Uçucu Yağların İnsektisit Olarak Kullanımı	18
1.7.1. <i>Galleria mellonella</i> ile Mücadelede Uçucu Yağlar	18
1.8. Tezin Amacı	20
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	21
2.1. Çalışmada Kullanılan Entomopatojen Funguslar.....	21
2.2. <i>Galleria mellonella</i> (Büyük Bal Mumu Güvesi) Kültürü	22

2.3.	Suşların Patojenitelerinin Belirlenmesi	23
2.3.1.	Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması	23
2.3.2.	Tarama Testi	24
2.3.3.	Doz Denemeleri	25
2.4.	Abiyotik Faktörlerin Suşlar Üzerindeki Etkileri	25
2.4.1.	Sıcaklığın Seçilen Fungal Suşların Gelişimleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi	25
2.4.2.	Sıcaklığın Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi	25
2.4.3.	UV'nin Seçilen Fungal Suşların Gelişimleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi	26
2.4.4.	UV'nin Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretim Üzerine Etkisi.....	26
2.4.5.	Nemin Seçilen Fungal Suşların Gelişimleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi	26
2.4.6.	Nemin Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi.....	26
2.5.	Yerel Mikoinsektisit Geliştirilmesi	27
2.5.1.	İlgili Suşlardan Spor Üretimlerinin Yapılması	27
2.5.2.	4-Güm-A (<i>Metarhizium anisopliae</i>)'nın Katı Substrat Konidiya Üretimi	27
2.5.3.	Hp-5 (<i>Beauveria bassiana</i>)'nın Üretilmesi.....	29
2.6.	Formülasyonda Kullanılacak Bitkisel Yağın Seçilmesi	30
2.7.	Sporların Bitkisel Yağ ile Karıştırılması	32
2.8.	Formülasyonun Etkinliğinin Test Edilmesi.....	33
2.8.1.	Formülasyonların Etkinliğinin Test Edilmesi	33
2.8.2.	Formülasyonların <i>Apis mellifera</i> L. (Bal arısı) Üzerindeki Etkisi	33
3.	BULGULAR.....	35
3.1.	Çalışmada Kullanılan Entomopatojen Funguslar.....	35
3.2.	Tarama Testi.....	36
3.3.	Doz Denemeleri.....	38
3.4.	Abiyotik Faktörlerin Seçilen Suşlar Üzerindeki Etkileri	42
3.4.1.	Sıcaklığın Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi	42
3.4.2.	UV'nin Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi.....	46

3.4.3. Nemin Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi.....	50
3.5. Formülasyonun Geliştirilmesi	54
3.5.1. 4-Güm-A (<i>Metarhizium anisopliae</i>) Suşunun Katı Substratta Üretilmesi.....	54
3.5.2. Hp-5 (<i>Beauveria bassiana</i>) Suşunun Üretilmesi	56
3.6. Formülasyonda Kullanılacak Bitkisel Yağın Seçilmesi	58
3.7. Üretilen Konidiyaların Bitkisel Yağ ile Karıştırılması.....	59
3.8. Mikoinsektisitlerin Etkinliğinin Test Edilmesi	62
3.8.1. Mikoinsektisitlerin <i>Galleria mellonella</i> Larvaları Üzerinde Test Edilmesi	62
3.8.2. Mikoinsektisitlerin <i>Apis mellifera</i> L. Üzerindeki Yan Etki Denemeleri	64
4. TARTIŞMA	68
5. SONUÇLAR.....	77
6. ÖNERİLER.....	79
7. KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ (*GALLERIA MELLONELLA* L., LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NE KARŞI YEREL MİKÖİNSEKTİSİT GELİŞTİRİLMESİ

Ranya Çağla DAĞAR

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. İsmail DEMİR
2025, 88 Sayfa

Arıcılık sektöründe önemli kayıplara neden olan *Galleria mellonella* (Büyük bal mumu güvesi, Lepidoptera: Pyralidae) ile mücadelede laboratuvar koleksiyonundan seçilen 13 adet entomopatojenik fungus 1×10^7 spor/ml konsantrasyonda zararlıya karşı test edildi. Tarama testleri sonuçlarına göre seçilen Hp-5, 4-Güm-A, Pa-5 ve As-2 kodlu suşların 1×10^9 spor/ml konsantrasyonda uygulamadan 10 gün sonra zararlı üzerinde sırasıyla %96,6, %83,3, %70 ve %66 ölüm etkisi ürettiği belirlendi. Bu suşların LC_{50} değerleri ise $5,5 \times 10^4$, $1,5 \times 10^5$, $1,2 \times 10^6$, $5,6 \times 10^5$ spor/ml olarak hesaplandı. Suşların virölans değerleri ve farklı sıcaklık, UV-B ve nem ortamlarındaki büyüme ve spor üretimleri değerlendirildiğinde, Hp-5 ve 4-Güm-A suşlarının daha avantajlı oldukları belirlendi. Bu iki suştan *Beauveria bassiana* (Hp-5) ve *Metarhizium anisopliae* (4-Güm-A) içerikli lavanta, ayçiçek ve lavanta-ayçiçek yağı bazlı altı adet mikoinsektisit geliştirildi. Geliştirilen mikoinsektisitler “WaxGuard” olarak adlandırıldı. En etkili mikoinsektisit olarak belirlenen “WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Lavanta Yağı” *G. mellonella* larvaları üzerinde %83,3 oranında ölüm üretti. Bütün uygulamalar *G. mellonella* üçüncü evre larvaları üzerinde ve laboratuvar koşullarında gerçekleştirildi. Bu mikoinsektisitlerin, Bal arısı (*Apis mellifera* L.) erginleri üzerindeki denemeleri, tüm uygulama gruplarında arıların en az %90’ının hayatta kaldığını ve yaşamaya devam ettiğini gösterdi. Bulgular, “WaxGuard”ın *G. mellonella*’nın mücadelesinde etkili olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Galleria mellonella*, Entomopatojenik fungus, Yağ bazlı mikoinsektisit

Master Thesis

SUMMARY

DEVELOPMENT OF LOCAL MYCOINSECTISIDE AGAINST THE GREATER WAX MOTH (*GALLERIA MELLONELLA* L., LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)

Ranya Çağla DAĞAR

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. İsmail DEMİR
2025, 88 Pages

In the control of *Galleria mellonella* (Greater wax moth, Lepidoptera: Pyralidae), which causes significant losses in the beekeeping sector, 13 entomopathogenic fungi selected from the laboratory collection were tested against the pest at a concentration of 1×10^7 spores/ml. According to the results of the screening tests, it was determined that the selected strains Hp-5, 4-Güm-A, Pa-5 and As-2 produced 96.6%, 83.3%, 70% and 66% mortality effect on the pest 10 days after application at a concentration of 1×10^9 spores/ml, respectively. LC_{50} values of these strains were calculated as 5.5×10^4 , 1.5×10^5 , 1.2×10^6 , 5.6×10^5 spores/ml. When the virulence values of the strains and their growth and spore production in different temperature, UV-B and humidity environments were evaluated, it was determined that Hp-5 and 4-Güm-A strains were more advantageous. Six lavender, sunflower, lavender-sunflower oil based mycoinsectisides containing *Beauveria bassiana* (Hp-5) and *Metarhizium anisopliae* (4-Güm-A) were developed from these two strains. The developed mycoinsectisides were named “WaxGuard”. “WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Lavender Oil” was determined as the most effective mycoinsectiside. It produced 83.3% mortality on *G. mellonella* larvae. All treatments were carried out on *G. mellonella* third instar larvae and under laboratory conditions. Trials of these mycoinsectisides on Honey bee (*Apis mellifera* L.) adults showed that at least 90% of bees survived and continued to live in all treatment groups. The findings suggest that “WaxGuard” may be effective in the control of *G. mellonella*.

Key Words: *Galleria mellonella*, Entomopathogenic fungi, Oil based mycoinsectiside

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Türkiye’de bal üretimi ve kovan sayısı	1
Şekil 2. <i>Galleria mellonella</i> ’nın yaşam döngüsü.....	4
Şekil 3. <i>Galleria mellonella</i> ’nın mevcut potansiyel dağılımı.....	5
Şekil 4. <i>Galleria mellonella</i> ’nın zararı ve istilası	6
Şekil 5. Entomopatojen fungusların etki mekanizması.....	10
Şekil 6. <i>Galleria mellonella</i> ’nın laboratuvar ortamında yetiştirilmesi	22
Şekil 7. Biyotest uygulamalarında kullanılan üçüncü evre <i>Galleria mellonella</i> larvası.....	23
Şekil 8. Uygun suşlar için gerçekleştirilen tarama testi	24
Şekil 9. Spor süspansiyonları inoküle edilmiş pirinç poşetleri	29
Şekil 10. Olfaktometre deney düzeneği	31
Şekil 11. Arıların toplanması	34
Şekil 12. Formülasyonların arılar üzerinde uygulanması	34
Şekil 13. Çalışmada kullanılan entomopatojen fungusların PDAY üzerindeki büyüme şekilleri.....	35
Şekil 14. Entomopatojen fungus suşlarının tarama testi uygulamasında <i>Galleria mellonella</i> larvaları üzerindeki mortalite oranları	36
Şekil 15. Entomopatojen fungusların <i>Galleria mellonella</i> larvaları üzerindeki mikoz ve melanizasyon görüntüleri.....	37
Şekil 16. Hp-5, 4-Güm-A, As-2 ve Pa-5’in farklı dozlarının <i>Galleria mellonella</i> larvaları üzerindeki etkileri.....	40
Şekil 17. 4-Güm-A, As-2, Hp-5 ve Pa-5 izolatlarının 10^{5-9} spor/ml dozlarında <i>Galleria mellonella</i> larvaları üzerindeki mikozlanma ve melanizasyonu	41
Şekil 18. Sıcaklığın seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine etkisi	43
Şekil 19. Sıcaklığın 4-Güm-A suşunun radyal büyümesi ve spor üretimi üzerine etkisi.....	44
Şekil 20. Sıcaklığın As-2 suşunun radyal büyümesi ve spor üretimi üzerine etkisi	44
Şekil 21. Sıcaklığın Hp-5 suşunun radyal büyümesi ve spor üretimi üzerine etkisi	45
Şekil 22. Sıcaklığın Pa-5 suşunun radyal büyümesi ve spor üretimi üzerine etkisi	45
Şekil 23. UV-B’nin seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerindeki etkisi	47

Şekil 24.	UV-B'nin, 4-Güm-A suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi.....	48
Şekil 25.	UV-B'nin, As-2 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi.....	48
Şekil 26.	UV-B'nin, Hp-5 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi	49
Şekil 27.	UV-B'nin, Pa-5 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi	49
Şekil 28.	Nemin fungal suşların radyal büyümeleri üzerindeki etkisi	51
Şekil 29.	Nemin, 4-Güm-A suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi	52
Şekil 30.	Nemin, As-2 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi	52
Şekil 31.	Nemin, Hp-5 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi.....	53
Şekil 32.	Nemin Pa-5 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi	53
Şekil 33.	4-Güm-A (<i>Metarhizium anisopliae</i>) suşunun katı substrat olarak seçilen pirinç üzerinde büyümesi.....	54
Şekil 34.	Pirinç üzerinde büyüyen 4-Güm-A suşunun ön kurutma aşaması	55
Şekil 35.	Katı substrat üzerinde üretilerek hasat edilmiş 4-Güm-A (<i>Metarhizium anisopliae</i>) sporları	56
Şekil 36.	Hp-5 suşunun besi yerinde üretilmesi ve saflaştırılması	57
Şekil 37.	Hp-5 suşunun blastosporlarının sprey kurutucuda kurutulması ve sprey kurutucudan geçirilmiş Hp-5 (<i>Beauveria bassiana</i>) sporları.....	58
Şekil 38.	WaxGuard <i>Beauveria bassiana</i> TR61, Lavanta Yağı (Hp-5 formülasyonu).....	59
Şekil 39.	WaxGuard <i>Beauveria bassiana</i> TR61, Ayçiçek Yağı (Hp-5 formülasyonu).....	60
Şekil 40.	WaxGuard <i>Beauveria bassiana</i> TR61, Lavanta+Ayçiçek Yağı (Hp-5 formülasyonu).....	60
Şekil 41.	WaxGuard <i>Metarhizium anisopliae</i> TR61, Lavanta Yağı (4-Güm-A Formülasyonu).....	61
Şekil 42.	WaxGuard <i>Metarhizium anisopliae</i> TR61, Ayçiçek Yağı (4-Güm-A formülasyonu).....	61
Şekil 43.	WaxGuard <i>Metarhizium anisopliae</i> TR61, Lavanta+Ayçiçek Yağı (4-Güm-A Formülasyonu).....	62
Şekil 44.	Mikoinsektisitlerin <i>Galleria mellonella</i> larvaları üzerindeki mortalite oranları	63
Şekil 45.	Geliştirilen mikoinsektisitlerin ve ticari ürünlerin <i>Galleria mellonella</i> larvaları üzerindeki mikozlanma ve melanizasyon görüntüleri.....	63
Şekil 46.	Mikoinsektisitlerin arıların beslenme ve davranışları üzerinde etkileri A)1. Günü	65
Şekil 47.	B) 10. günü	66

Şekil 48.	Mikoinsektisitlerin <i>Apis mellifera</i> L. üzerindeki ölüm ve hayatta kalma oranları.....	67
-----------	---	----



TABLÖLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Yaygın olarak kullanılan bazı ticari formülasyonlar	14
Tablo 2. Çalışmada kullanılan entomopatojen fungus suşları	21
Tablo 3. Geliştirilen formülasyonlar ve adları	32
Tablo 4. Entomopatojen fungusların <i>Galleria mellonella</i> larvaları üzerindeki probit analizinin parametre değerleri.....	38
Tablo 5. Seçilen entomopatojen fungusların <i>Galleria mellonella</i> üzerindeki probit analizinin parametre değerleri.....	41
Tablo 6. Sıcaklığın seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine etkisi	42
Tablo 7. Sıcaklığın seçilen fungal suşların spor üretimi üzerine etkisi	43
Tablo 8. UV-B'nin seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine etkisi	46
Tablo 9. UV-B'nin seçilen fungal suşların spor üretimi üzerine etkisi	47
Tablo 10. Nemin seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine etkisi.....	50
Tablo 11. Seçilen fungal suşların spor üretimi üzerine etkisi	50
Tablo 12. Geliştirilen mikoinsektisitlerin <i>Galleria mellonella</i> larvaları üzerindeki LC ₅₀ değerleri	64

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

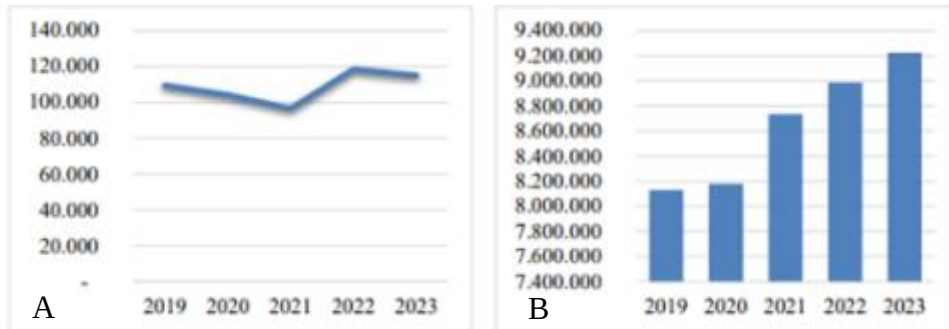
°C	: Derece
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dk	: Dakika
EPF	: Entomopatojenik fungus
g	: Gram
LC ₅₀	: %50 Öldürücü konsantrasyon
LT ₅₀	: %50 Öldürücü zaman
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
PDAY	: Patates dekstroz agar + maya ekstraktı
RH	: Bağlı nem
SDB	: Sabouraud dekstroz broth
UV	: Ultraviyole
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bal arısı (*Apis mellifera* L.), en az 150 milyon yıldır bal üreten bir tür olarak bilinmektedir. Günümüzde, kutup bölgeleri dışında dünyanın hemen her yerine yayılmış sosyal böcekler arasında yer almaktadır. Bal arıları tarafından üretilen temel ürünler arasında bal, polen, arı sütü, propolis, arı ekmeği (perga), arı zehri ve apilarnil bulunmaktadır. Bu ürünler, insan beslenmesi açısından önemli birer gıda maddesi olup sağlıklı ve dengeli beslenmeye katkı sağlamaktadır. Arıcılık, insan sağlığına, tarımsal üretime ve ülke ekonomisine sunduğu katkılar göz önünde bulundurulduğunda Türkiye için büyük bir öneme sahiptir. Ayrıca düşük sermaye ile yapılabilmesi, kısa sürede gelir getirmesi ve arazi varlığına bağlı olmaması gibi avantajları sayesinde, tarımsal üretim içinde özel bir konuma sahiptir. Türkiye'nin zengin bitki örtüsü ve elverişli iklim koşulları, arıcılığın deniz seviyesinden yüksek rakımlı yaylalara kadar geniş bir alanda sürdürülebilmesine olanak tanımaktadır.

Türkiye'de bal üretimi, 2023 yılında bir önceki seneye kıyasla %2.9 oranında azalarak 115 bin ton seviyesine gerilemiştir. Öte yandan, toplam kovan sayısı aynı dönemde %2.7 oranında artış göstermiştir (Şekil 1). Arıcılık, yalnızca doğrudan ekonomik katkı sağlamakla kalmayıp, tozlaşma yoluyla tarımsal üretimi artırarak ve meyve kalitesini iyileştirerek dolaylı olarak da fayda sunmaktadır. Ancak, arıcılık sektörü çevresel koşullardan hızlı şekilde etkilenmekte olup bu durum sektörün büyüme hızını yavaşlatmaktadır (Burucu, 2024).



Şekil 1. Türkiye'de bal üretimi ve kovan sayısı (Burucu, 2024)

A: Bal üretimi, B: Kovan sayısı

Arı kolonilerinin sayısındaki azalmada biyotik faktörler (arı hastalıkları ve zararlıları) ile abiyotik faktörler (olumsuz hava şartları ve iklim değişikliği) etkili olmaktadır (Neov vd., 2019). Arı hastalıkları ve zararlıları, arı ölümlerine yol açmakta ve arı ürünlerinin veriminde azalmaya sebep olmaktadır (Burucu, 2024). Bal arılarının gelişim evreleri, çeşitli hastalık etmenleri ve zararlılar için elverişli bir ortam oluşturabilmektedir. Ayrıca, küresel ölçekte hızlı ulaşımın yaygınlaşması, kıtalar ve ülkeler arasında arı, arıcılık ekipmanları ve arı ürünlerinin ticaretinin artması, arı hastalıklarının dünya genelinde kolayca yayılmasına sebep olmuştur. Bal arılarının gelişme dönemleri birçok hastalık etmeni ve zararlı için uygun bir ortam sağlayabilmektedir. Aynı zamanda dünyadaki hızlı ulaşım, kıtalar ve ülkelerarası arı, arıcılık malzemeleri ve arı ürünlerinin ticareti arı hastalıklarının dünyada kolayca yayılmasına neden olmuştur (Uygur & Girişgin, 2008).

Arı hastalıkları, hastalığı oluşturan mikroorganizmaya göre bakteriyel (Amerikan ve Avrupa yavru çürüklüğü, Septisemi), fungal (Kireç ve Taş hastalığı), viral (Arı felci ve Tulumsu yavru çürüklüğü), paraziter (*Varroa destructor*, *Acarapis woodi*) ve protozoon (*Nosema* ve *Amoeba*) ya da zararlılara göre; trake akarı (*Acarapis woodi*), arı akarı (*Varroa destructor*), arı biti, (*Braula coeca*) bal mumu (petek) güveleri (*Galleria mellonella* ve *Achroia grisella*) olarak sınıflandırılabilir (Uygur & Girişgin, 2008).

1.2. *Galleria mellonella* L. (Büyük Bal Mumu Güvesi, Lepidoptera: Pyralidae)

Büyük bal mumu güvesi (*Galleria mellonella*), Lepidoptera sınıfına aittir. Bal mumu güvesinin ergin veya diğer evreleri peteklerde zarara neden olmazken larvaları petekler için özellikle de karanlık, sıcak ve havalandırması yetersiz nemli ortamlarda depolanan peteklere büyük zararlar vererek arıcılık sektöründe önemli kayıplara neden olmaktadır (Akyol & Korkmaz, 2008).

Ülkemizde bulunan 4.700.000 kadar arı kolonilerinin yaklaşık 600.000 adetinin büyük bal mumu güvesi ile farklı miktarlarda bulaşık olduğu bildirilmektedir (Akyol & Korkmaz, 2008). Sektörde arıcıların peteklerin korunmasında yeterli bilgi ve bilince sahip olmaması, bal mumu işleme teknolojisinde var olan eksiklikler, kabartılmış peteklerinin yıllarca kullanımına, mum üretiminin düşmesine ve peteklerin korunma sorunlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ülkemizde özellikle sıcak ve ılıman bölgelerde kabartılmış

petek ve bal mumunun büyük bal mumu güvesinden korunması arıcılık sektörünün gelişmesi için önem arz etmektedir (Akyol & Korkmaz, 2008).

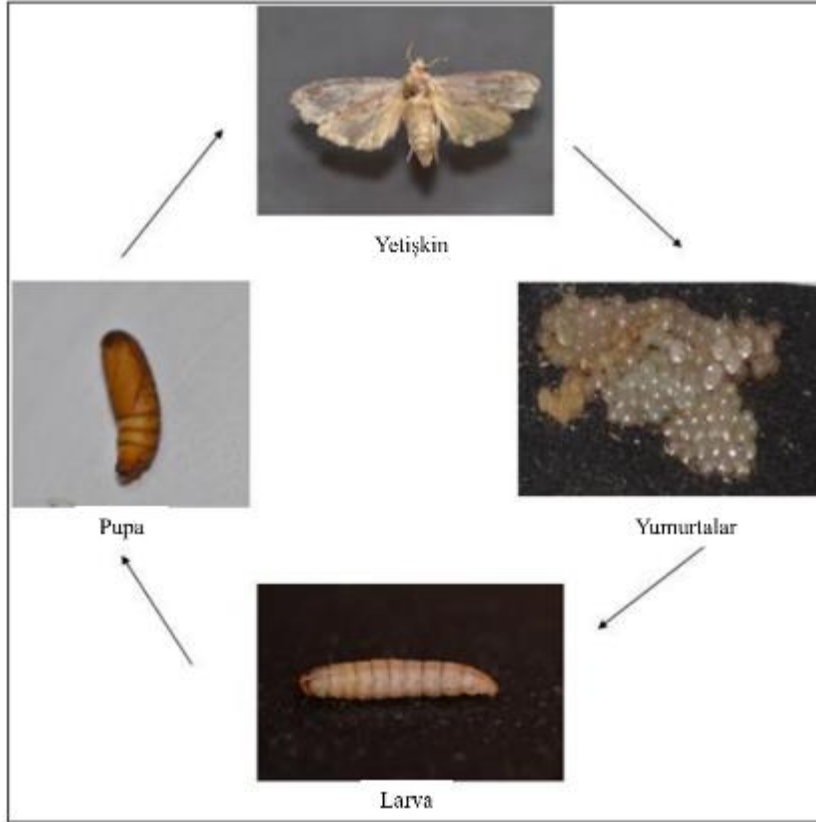
1.2.1. *Galleria mellonella*'nın Yaşam Döngüsü

Büyük bal mumu güvesinin yaşam evreleri yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört dönemden oluşmaktadır (Şekil 2). Çiftleşmiş ergin dişiler yumurtalarını kovanlardan oluşan yarı ve çatlaklara arı kolonilerinin ulaşamayacakları yerlere kümeler halinde bırakır. Her kümedeki yumurta sayısı yaklaşık 50-150 arasında değişiklik gösterebilmektedir (Akyol, 2013). Yumurtalar gözle görülemeyecek kadar küçük krem- beyazımtırak renkte yaklaşık 0.45 mm uzunluğunda, 0.40 mm çapında, 0.028 mg ağırlığındadır (Akyol, 2013). Gelişim boyunca yumurta beyazdan sarımsı bir renge dönüşür. Yumurtadan çıkmadan yaklaşık 4 gün önce, büyük mum güvesi larvası yumurtanın içinde koyu bir halka olarak görünür (Ellis vd., 2013). Yumurta evresi 8-17 gün arasında değişmektedir. Yumurta evresi ortamın sıcaklık ve nemine bağlıdır, 24-27 °C 5-8 gün, 10-16 °C arasındaki sıcaklıklarda 35 gün kadar olmaktadır (Akyol, 2013). Yumurtalar aşırı soğukta (0°C'de veya altında 4,5 saat) veya aşırı sıcakta (46 °C'de veya üstünde 70 dakika) hayatta kalamaz (Ellis vd., 2013).

Yumurtadan çıktıktan sonra, büyük bal mumu güvesi larvası kirli beyaz renktedir ve 1-3 mm uzunluğundadır (Ellis vd., 2013). Beslenmek için hızlı hareket eder ve petekle karşılaştıklarında tüneller oluşturarak beslenirler. Larval gelişim süresi uygun sıcaklık, nem ve besin kaynağına bağlıdır. Larval gelişim süresi sıcaklık ve besin durumuna göre ortalama 33-35 gün arasında değişmekte, ortalama 40 gün sürmektedir. Larvaların hayatta kalabilmesi için uygun sıcaklık 29-35 °C olup, 15°C altındaki sıcaklıklarda larva gelişimi durmaktadır. Olgun büyük bal mumu güvesi larvaları ahşabı delme yeteneğine sahiptir ve genellikle kovan gövdesinin veya çerçevelerinin ahşap eşyalarında girintiler oluşturur (Ellis vd., 2013). Olgun larvalar uygun koşullarda son larval dönemin başlangıcından itibaren 5. veya 6. günde pupa dönemine girerler. Kovanda pupa olmak için bir yer bulduktan sonra larva, kozayı oluşturacak ipek iplikleri örmeye başlar ve bunları kazılan girintilere bağlar (Ellis vd., 2013). Pupa dönemi ortalama 8-14 gün arasında değişir. Bu dönem metamorfoz (başkalaşım) dönemi olduğu için beslenme gerçekleşmez ve peteklerde zarar olmaz. Yetişkin büyük bal mumu güvesi yaklaşık 15 mm uzunluğundadır. Kanatlar gri renktedir, erkek büyük bal mumu güveleri dişilerden biraz daha küçüktür, daha açık renklidir (Akyol, 2013). Büyük bal mumu güveleri akşamın erken saatlerinde ergin olarak ortaya çıkar ve kanatlarını genişletip

kurutacak korunaklı bir yer bulur. Ergin kelebekler genellikle geceleri aktiftir, ağız parçaları köreldiği için beslenmezler (Akyol, 2013) ve dişiler ortalama 12 gün, erkekler ise ortalama 21 gün yaşarlar.

Ergin dişi ve erkekler, yaklaşık 24 saat içinde çiftleşir. Çiftleşme sonrasında, akşam saatlerinde dişiler kovanlara girer ve yumurtalarını arıların ulaşamayacağı yerlerde, peteklerin diplerinde, çatlaklarda ve yarıklarda kümeler halinde bırakırlar. Dişiler, arı kolonileri güçlü olduğunda kovana giremediklerinde, yumurtalarını ağaç gövdelerinde bulunan yarıklara bırakırlar. Bir dişi, ortalama olarak 300 ila 1000 arasında yumurta bıraktıktan sonra, beslenmediği için peteklere zarar vermez ve bir süre sonra ölür (Akyol, 2013). Yılda 4-6 nesil geçirirler (Kwadha vd., 2017).

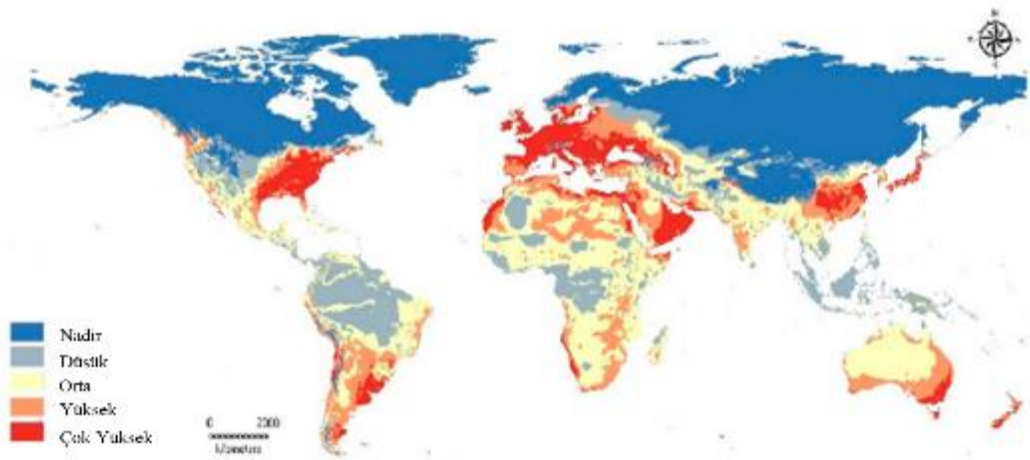


Şekil 2. *Galleria mellonella*'nın yaşam döngüsü (Vijayakumar vd., 2019)

1.2.2. *Galleria mellonella*'nın Dağılımı

Dünya çapında büyük bal mumu güvesinin dağılımı hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Ancak çeşitli biyotik ve abiyotik faktörler, türün oluşumunu ve yayılımını etkileyebilir (Hosni vd., 2022). Büyük bal mumu güvesi, ilk olarak Asya bal arısı (*Apis cerena*) kolonilerinde rapor edilmiş olup, ardından Kuzey Afrika, Büyük Britanya, Avrupa'nın bazı bölgeleri, Kuzey Amerika ve Yeni Zelanda'ya yayılmıştır (Kwadha vd., 2017). Daha sonra zararlı, arıcılığın yapıldığı her yerde zamanla yaygın olarak görülmüştür (Şekil 3).

Avrupa'da büyük bal mumu güvesi için en yüksek habitat uygunluğu Slovenya, Slovakya, Fransa, İtalya, Belçika ve Büyük Britanya'yı yüksek veya çok yüksek risk altına sokmaktadır. Diğer yandan Afrika kıtasının çoğunda orta düzeyde yaygınlık görülmekte, ancak Akdeniz kıyıları, Fas, Namibya, Batu Sahra kıyıları ve Güney Afrika'nın bazı bölgelerinde yüksek ve çok yüksek riskler gözlemlenmektedir. Asya'da ise risk, kıtanın güney kesiminde yüksektir; Basra Körfezi, Çin, Hindistan Vietnam, Tayland ve Japonya'nın bazı bölgelerinde ise çok yüksek risk söz konusudur. Kuzeydoğu Amerika, Şili ve Latin Amerika'nın orta hattı, Güney Amerika'nın güneybatı kıyı bölgeleri, Arjantin ve Brezilya'nın doğu Atlantik kıyıları da yüksek risk altındaki bölgelere örnek teşkil etmektedir. Avustralya'nın doğu kıyısı ise çok yüksek risk altında olup, Yeni Zelanda'da bu zararlının yaşamı için yüksek ve çok yüksek habitat uygunluğu bulunduğu gözlemlenmektedir (Hosni vd., 2022). Zararlının dağılım modelinin değişen iklim faktörleriyle birlikte değişebileceği öngörülmektedir (Kwadha vd., 2017).



Şekil 3. *Galleria mellonella*'nın mevcut potansiyel dağılımı (Hosni vd., 2022)

1.2.3. *Galleria mellonella*'nın Zararı

Küresel ölçekte *Galleria mellonella*, en zararlı ve ticari açıdan en önemli bal mumu zararlılarından biri olarak kabul edilmektedir. Şu ana kadar, bu zararlının yol açtığı ekonomik kayıplar küresel çapta kapsamlı bir şekilde değerlendirilmemiştir. Ancak, *Galleria* istilasından kaynaklanan tahmini ekonomik kayıp, ABD, Çin ve Avrupa ülkeleri gibi birçok ülkede milyonlarca dolar olarak hesaplanmaktadır (Hosni vd., 2022).

Bal mumu güvelerinin arıcılığa verdiği zarar, esasen larvaların beslenme alışkanlıklarından kaynaklanmaktadır. Popülasyonlar kontrolsüz bir şekilde çoğaldığında, kovanlar, gelişmekte olan yavrular ve depolanmış petekler ciddi şekilde zarar görebilir (Şekil 4). Optimum sıcaklık koşullarında, yumurtadan yeni çıkan larvalar, çevredeki kolonileri istila edebilecek kapasiteye sahiptir; yapılan araştırmalar, bu larvaların 50 metreden fazla mesafe kat edebileceğini ortaya koymaktadır. Yumurtadan çıktıktan sonra larvalar, bal mumu peteklerinde tüneller açarak ilerler. Yetişkin larvalar tarafından örülen ağ, çerçeveye veya kovanın gövdesine tutturulur ve koza, larvaların kazdığı ahşap boşluğa yapıştırılır. Larva tünelleri, kazınan ahşap çerçevelerle birlikte kovanda geri dönüşü olmayan bir hasara yol açar. Hasar, özellikle depolanmış peteklerde ve savunma mekanizmalarından yoksun zayıflamış arı kolonilerinde daha belirgin şekilde görülür. Yılın sıcak aylarında bal mumu güvesi nüfusları hızla artar ve petek ile ahşap çerçevelerin tamamen tahrip edilmesi, bir hafta gibi kısa süre içinde gerçekleşebilir (Cynthia, 2012). Popülasyon Mart ayında artmaya başlar, Ağustos ayında zirveye ulaşır.



Şekil 4. *Galleria mellonella*'nın zararı ve istilas (URL-1, 2025)

1.2.4. *Galleria mellonella*'nın Mücadelesi

Bal mumu güvesinin müdahale gerektiren sorunları genellikle bal sezonunun sonlarına doğru, ardından peteklerin üst tabakalarının depolanmasıyla ilişkili olarak ortaya çıkar. Bal mumu güvesinin kontrolü, özellikle sıcak havaların etkisiyle popülasyonlarının artış gösterdiği ve depolanmış peteklerin korunmasının kritik olduğu dönemlerde büyük önem taşır. Eğer kontrol altına alınmazsa, petekler hızla tahrip olabilir ve bu durum, arıclar için önemli ekonomik kayıplara yol açabilir. Bal mumu güvesine karşı fiziksel, kimyasal, kültürel ve biyolojik mücadele yöntemleri uygulanmaktadır (Komala & Seram, 2020).

Fiziksel mücadele, bal mumu güvesinin gelişimi ve büyümesi gibi çevresel faktörlere, özellikle sıcaklık koşullarına bağlı olduğu için avantajlıdır. Ancak, bu teknikler yalnızca bal arısının canlı evrelerinin bulunmadığı durumlarda uygulanabilir. Bal mumu güvesinin büyüme döneminin engellenmesi, arıcılık ekipmanları ve arı peteklerinin ısıtma ya da dondurma işlemleriyle sağlanabilir. Bu teknikler, büyük ölçekli tarımda daha yüksek maliyetler gerektirebilir ve daha çok küçük ölçekli arıcılıkta geçerlidir. Örneğin, -70°C sıcaklıkta dört beş saat veya -120°C'de iki saatlik bir soğutma işlemi, bal mumu güvesinin tüm evrelerini öldürebilir. Ayrıca, istila edilmiş petekler, ev tipi dondurucularda veya soğutma odalarında, 2-4,5 saat boyunca -7 ile -15 °C arasında bir sıcaklıkta muhafaza edilerek etkili bir şekilde yok edilebilir (Komala & Seram, 2020). *G. mellonella*'nın tüm larvalarını yok etmek için 60°C'de 4,5 saatlik bir sıcak su uygulaması etkili olabilir. Büyük ölçekli arıcılıkta, yaklaşık 45-80°C arası sıcaklıklarda 1-4 saatlik bir süreyle uygulama yapılabilmektedir. Küçük ölçekli arıcılıkta ise petekler 3-5 saat boyunca sıcak suya maruz bırakılabilir. Ayrıca, -150°C'de 2 saat, -12°C'de 3 saat veya -7°C'de 4,5 saatlik soğutma işlemleri de tüm evrelerin öldürülmesini sağlayabilir.

Kimyasal mücadelesinde bal mumu güvesine karşı tarihsel olarak kullanılan ve üzerinde kapsamlı çalışmalar yapılmış bazı fumigantlar arasında kükürt, asetik asit, etilen bromür, kalsiyum siyanür, metil bromür, fosfin, paradiklorobenzen (PDB), naftalin ve karbondioksit bulunmaktadır. Fumigantlar, hava geçirmez ortamlar altında muhafaza edilen peteklere uygulanmaktadır. PDB hariç tüm bu fumigantlar, güvelerin tüm yaşam evrelerini hedef alır ve yok eder, ancak PDB yalnızca yumurta yok etmez. Peteklerin büyük bal mumu güvelerinden korunmasında önemli bir yöntem, depolanan peteklerin fümigasyonudur. Kullanılan kimyasal maddeler, arı kolonileri ve diğer hedef olmayan böcekler için toksik olabilir (Komala & Seram, 2020).

Kültürel mücadele, arı kolonilerinin sağlığını korumaya, çatlaklar ve yarıkları uygun besin kaynaklarıyla kapatmaya odaklanır. Ayrıca, arıların peteklerini düzenli olarak değiştirerek zararlılardan korunabilirler. Arıcılara, zararlılara karşı savunmasız olan kovan malzemelerini uygun koşullarda depolama olanağı sağlanmalıdır. Ancak, kültürel mücadele yöntemleri genellikle rutin uygulamalardır ve çoğunlukla küçük ölçekli arıcılıkta etkili olmaktadır. Arı kolonilerini besleyerek güçlendirmek, boş çerçeve miktarını azaltmak veya arttırmak, enfekte petekleri düzenli olarak kontrol etmek ve güçlü arı popülasyonlarını desteklemek, en etkili yöntemler arasında yer alır. İstilanın ileri aşamalarında, bal mumu güvesi popülasyonunu kontrol altına almak için tüm peteklerin imhası gerekebilir (Komala & Seram, 2020).

Biyolojik mücadelesinde *Bacillus thuringiensis* (Bt) yaygın olarak kullanılan bakteriyel ajanlardan biridir (Kwadha vd., 2017). Bulaşmış petekler izole edilip kovan içinde Bt spor süspansiyonuna daldırılmakta veya süspansiyon ile püskürtülmektedir (Gulati & Kaushik, 2004; Harding vd., 2013). Bununla birlikte Burges'in yaptığı bir çalışmada (Burges, 1977), Bt'nin yalnızca ilk sezonda etkili olduğu, ancak ikinci ve üçüncü sezonlarda larva ölüm oranlarının belirgin şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, Gulati ve Kaushik (Gulati & Kaushik, 2004), Bt'nin yalnızca 13 ay boyunca etkili olduğunu rapor etmiştir. Burges (Burges, 1977), bu etkinlik düşüşünü açıklamak için iki olası neden önermiştir: (i) olgunlaşan dönemde yetişkin bal arıları balmumu ve propolis biriktirerek Bt sporlarının içeriğini seyreletmekte ve (ii) bakterilerin bozulmasına yol açmaktadır.

1.3. Zararlılarla Mücadelede Entomopatojenler

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkilerini, daha az zararlı bir düzeye çekmek amacıyla diğer organizmaların kullanılması sürecidir.

Entomopatojen kelimesi Tanzini ve ark. tarafından türetilmiş olup zararlı böceklerin popülasyonlarını kontrol eden mikroorganizmalar olarak tanımlamaktadır (Deka vd., 2021). Biyolojik mücadelede kullanılan entomopatojenik mikroorganizmalar, doğada hastalıklı veya ölü böcek, akar ve kenelerden temin edilen patojenlerdir. Bu zararlılarda hastalık oluşturan veya ölümüne neden olan pek çok bakteri, mantar, nematod, virüs ve protozoa türü bulunmaktadır.

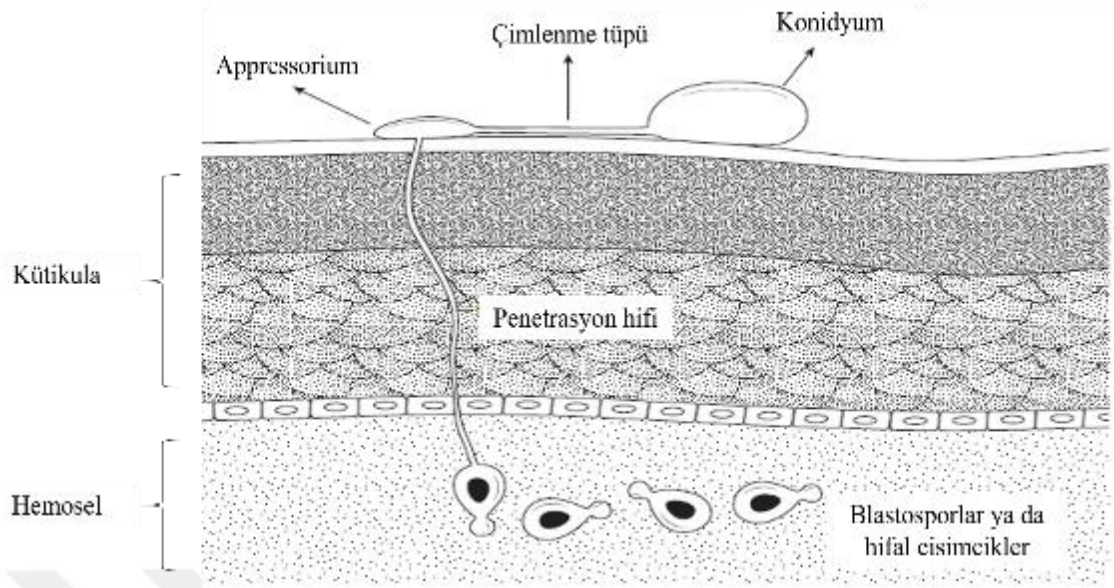
Entomopatojenik mikroorganizmaların biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılması, sadece böcekleri hedef almakla kalmaz, aynı zamanda insanlar ve diğer hedef olmayan

canlılar için çevre dostu bir çözüm sunar. Bu mikroorganizmalar, zararlının türüne ve kontrol ajanının biyolojik özelliklerine bağlı olarak farklı şekillerde kullanılabilir. Konakçıya özgüllük, toksik kalıntıların olmaması, bitkiler üzerinde zararlı etkilerin bulunmaması ve insan güvenliği gibi önemli özellikleri avantajları arasında sayılabilir. Entomopatojenler, etkili biyolojik kontrol ajanları olarak kullanılabilmesinin yanı sıra, üretim, formülasyon ve uygulama stratejilerinin dikkatlice incelenmesini gerektiren, başarılı biyolojik kontrol ajanları olarak geliştirilmelidir (Deka vd., 2021)

1.3.1. Entomopatojen Funguslar

Entomopatojenik funguslar, uzun yıllardır böcek zararlılarının kontrolü için etkili bir çözüm sunmaktadır. Bu mantarlar, özellikle lepidopteranlar gibi birçok böcek türünü enfekte etme kapasitesine sahiptir. Şu ana kadar yaklaşık 750 farklı mantar türünün entomopatojenik özellik gösterdiği bildirilmiş olup, bunların yalnızca bir kısmı biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmaktadır. Bu mantarlardan bazıları, *Metarhizium*, *Beauveria*, *Nomuraea*, *Lecanicillium* ve *Isaria* gibi cinslere ait türlerdir. Entomopatojenik funguslar, dünya genelinde topraklarda doğal olarak bulunmakta ve hem topraktan hem de funguslarla enfekte olmuş böcek kadavralarından izole edilebilmektedir (Sree & Varma, 2015). Sentetik kimyasal insektisitlerin aksine, entomopatojenik mantarların insan ve evcil hayvanlar üzerinde çok az sağlık riski oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca, birçok kimyasal insektisit çevresel tehlikeleri göz önüne alındığında, entomopatojenik funguslara olan ihtiyaç giderek artmaktadır (Roberts & Hajek, 1992).

Bakteri ve virüslerin aksine, fungusların enfeksiyon süreci için konakçının vücut tarafından yutulması gerekmez; fungusun, konakçının kütiküler tabakasına nüfuz etmesi, enfeksiyonun başlaması için yeterlidir (Roberts & Hajek, 1992). Bir konidyum, böceğin kütikulasına yerleştiğinde, burada çimlenerek bir çimlenme tüpü ve apressorium oluşturur. Penetrasyon hifleri, kütiküler katmanları geçerek blastosporlar veya hifal yapılarla dolu olan hemosele ulaşır (Şekil 5). Fungus büyümesi devam eder, hemosele boyunca ilerler, organları istila eder, metabolik süreçleri bozar ve toksik metabolitler üreterek son aşamada konağın ölümüne yol açar (Vega vd., 2012).



Şekil 5. Entomopatojen fungusların etki mekanizması (Vega vd., 2012)

1.3.2. Entomopatojen Fungusları Etkileyen Biyotik ve Abiyotik Faktörler

EPF'nin oluşumunu ve sürekliliğini etkileyen bir dizi biyotik ve abiyotik faktör bulunmaktadır. Biyotik faktörler arasında EPF'nin konakçı aralığı, latent dönemi, spor yoğunluğu ve dağılımı gibi etmenler yer alır; özellikle konakçı ile patojen arasındaki uyum önemli bir rol oynamaktadır. Böceğin popülasyonu, deri değişimi, gelişim aşamaları, beslenme alışkanlıkları, yaş, stres gibi faktörler, entomopatojenlere karşı savunmasızlığını artırabilecek unsurlar olarak kabul edilmektedir (Qayyum vd., 2021).

Abiyotik faktörler arasında ise sıcaklık, ışık, nem, UV ışınları, yağış ve rüzgar gibi unsurlar, EPF'nin böceklere karşı etkinliğini doğrudan etkileyebilir (Qayyum vd., 2021). Sıcaklık, EPF'nin etkinliğini belirleyen başlıca faktörlerden biridir ve böcekteki fungus gelişimi ile ölüm süresini etkiler (Qayyum vd., 2021).

Aşırı yağış, konidilerin havada yoğunluğunu düşürebilir ve sporları kadavralardan yıkayarak istenmeyen bir durum yaratabilir (Hall & Papierok, 1982). UV ışınlarıyla ilgili yapılan pek çok çalışma mevcuttur ve UV'nin fungusların büyüme, gelişim, üreme ve davranışları üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir (Vakalounakis & Christias, 1981). UV-B (290-320 nm) ışınları, konidilerin canlılıklarını etkileyerek ölümcül ve mutajenik DNA hasarına yol açar. UV ışınlarının neden olduğu hasar, fungal çimlenmenin gecikmesine ve

konidinin tamamen inaktive olmasına neden olarak biyoinsektisitlerin etkinliğini azaltır (Qayyum vd., 2021).

Nem ve kuraklık gibi faktörler de patojeniteyi etkiler. Yapılan in vitro deneyler, spor çimlenmesi için gerekli minimum bağıl nemin %92-93 olduğunu göstermektedir (Hall & Papierok, 1982). Ayrıca, rüzgarla yayılma, özellikle kuru formdaki sporlar için hastalığın yayılmasında önemli bir rol oynayabilir (Hall & Papierok, 1982).

1.4. Entomopatojen Funguslardan Formülasyon Geliştirilmesi

Biyopestisitler, bakteri, virüs, fungus, nematod gibi mikroorganizmalar ya da bitki özleri ve semiokimyasallar gibi doğal olarak oluşan maddelere dayalı aktif bileşenlerin formüle edilmiş halleri olarak tanımlanabilir (Bharti & Ibrahim, 2020). Fungusların mikrobiyal kontrol ajanı olarak kullanımı, 19. Yüzyılın sonlarından itibaren çeşitli araştırmalarla test edilmiştir (Sandhu vd., 2017). Entomopatojenik fungusların mikoinsektisit olarak etkin bir şekilde uygulanabilmesi ve kullanılabilmesi, virülans düzeyi, üretim verimliliği ve insanlar ile hedef dışı türler için güvenlik seviyesi gibi pek çok faktöre bağlıdır (Hussain vd., 2014).

Entomopatojenik funguslardan elde edilen mikoinsektisitler, böcek zararlıları üzerinde çevre dostu ve etkili bir kontrol sağlamak için kullanılmaktadır. Bu fungusların çevreye yayılma kolaylığı, hücre içi ve hücre dışı toksik metabolit çeşitliliği gibi özellikleri, tarımsal zararlıları kontrol etmek amacıyla biyopestisit olarak kullanılmalarına olan ilgiyi arttırmaktadır (Sandhu vd., 2017). Bir biyopestisit formülasyonunun içermesi gereken bileşenler şunlardır: (i) biyopestisit üretimi, işlenmesi ve depolanması sırasında stabilitenin sağlanması, (ii) uygulamayı kolaylaştırıcı özellikler), (iii) biyopestisitinin çevresel faktörlerden korunması, (iv) hedef üzerinde biyopestisit etkisini teşvik etme (Hynes & Boyetchko, 2006).

Biyopestisitlerin etkinliğini etkileyebilecek çeşitli faktörler bulunmakla birlikte, yavaş ölüm hızları, orta düzeyde etkinlik, zayıf depolama özellikleri, alanda kalıcılığın eksikliği ve yüksek maliyet gibi olumsuz durumlar bu faktörler arasındadır. Bu zorlukların çoğu tür seçimi, genetik iyileştirme, formülasyon ve uygulama stratejileri ile aşılabılır (Goette vd., 2010). Formülasyonların başarılı olabilmesi için etkili, depolama açısından uygun, ekonomik ve pratik bir kullanım sağlaması gerekmektedir (Ash, 2010).

Entomopatojenik funguslar, mikoinsektisit olarak kullanımı için geniş çapta incelenmiş ve birçok araştırmacı, bu fungusların seri üretimi konusunda genel bir değerlendirme yapmıştır. Bu çalışmalar çoğunlukla *Aschersonia*, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* (*Paecilomyces*) ve *Lecanicillium* (*Verticillium*) cinslerine ait fungus türleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Özellikle *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* türleri, geniş bir konukçu yelpazeyle üretilmesi nispeten kolay olan funguslardır (Ravensberg, 2011).

Herhangi bir ticari mikrobiyal kontrol ajanının başarısı, genellikle hedef zararlının etkili bir şekilde yönetilebilmesi için yeterli miktarda ajan üretme kapasitesine dayanır. Entomopatojenik funguslar, büyüme ortamına bağlı olarak farklı türde sporlar üretir. Hava konidileri, kadavraların yüzeyinde üretilirken, bazen blastosporlar olarak adlandırılan hifal cisimler, konağın hemoselinde üretilir. Fermentasyon ortamı ve yöntemine göre, elde edilecek spor türü değişir. Batık kültürlerde, öncelikle misel ve blastosporlar üretilirken, sıvı ortamda veya katı substratlar üzerinde hava konidileri üretilir (Goette vd., 2010).

Suş seçimi, entomopatojenik fungus türlerinin zararlılara karşı virülans gibi temel özelliklerde farklılık gösterdiği, genetik olarak heterojen koleksiyonlardan oluştuğunu göstermektedir. Suşlar arasındaki doğal varyasyon, biyokontrol funguslarının araştırılmasında uzun süredir kullanılmaktadır. Daha virülanslı veya çevresel kalıcılığı daha yüksek suşlar için yapılan seçimler, literatürde yaygın bir tema olmuştur. Zararlı böcekler için fungus kontrol ajanları arayışında, ilk adım genellikle en patojenik suşları belirlemek amacıyla çeşitli lokasyonlardan suşların test edilmesidir. Ayrıca, biyokontrol funguslarının seleksiyon yoluyla iyileştirilmesi de yapılmış, bazı durumlarda virülans iyileştirmeleri başarılı olmuştur (Goette vd., 2010).

Formülasyonlar, kuru ürünler (tozlar, granüller, ıslatılabilir tozlar, kapsüllenmiş ürünler) ve sıvı formülasyonlar (süspansiyonlar, emülsiyonlar ve kapsüllenmiş ürünler) olarak iki ana kategoriye ayrılabilir (Ash, 2010).

1.4.1. Katı Substrat Fermentasyon

Her organizmanın verimli üretimi için kendine özgü gereksinimleri vardır, bu da substrat tipi, besin ihtiyaçları gibi faktörlere dayanır. Bu nedenle, seri üretim süreci, her bir organizma için optimize edilerek gereksinimlere göre uyarlanmalıdır. Katı substrat fermentasyonu, fungusların doğal yollarla, yani hava miselyumu aracılığıyla sporlanmalarına olanak tanıdığı için büyük bir avantaja sahiptir. Bu nedenle,

Deuteromycetes türleri için katı substratlar, batık sistemlere kıyasla tercih edilen yöntemlerdir ve mikoinsektisitlerin ticari ölçekli üretimi açısından daha fazla araştırılmaya ihtiyaç duymaktadır (Bartlett & Jaronski, 1988).

Katı substrat fermentasyonu, doğal konidiasyon süreçlerini taklit ederek, son ürün olarak havada asılı konidiler üretir (Jaronski, 2013). Çoğu akademik ve endüstriyel sistem, Ascomycetes türlerini üretmek için geleneksel katı substrat fermentasyonunu kullanmakta olup, bu süreç elle yoğun veya oldukça mekanize edilmiş olabilir. Bazı sistemler, belirli türler için su altında sıvı fermentasyonu yöntemini de kullanmaktadır. İş gücü maliyetlerinin düşük olduğu durumlarda, polipropilen torbalar tercih edilmektedir. Bu torbalar arasında özel havalandırılmalı fungus torbaları, fermuarlı torbalar ve basit alışveriş torbaları yer almaktadır. Birleştirici bir özellik ise, bu plastik torbaların otoklavlanabilir olmasıdır; kullanılmamış, açılmamış fermuarlı torbalar genellikle steril kalmaktadır (Jaronski, 2013). Katı substrat kullanılarak yapılan üretim döngüsü 7-14 gündür, bundan sonra kültür genellikle 7-14 gün içinde kurutulmalı ve sporlar mekanik yolla uzaklaştırılmalıdır (Jaronski & Jackson, 2012; Jaronski, 2013) .

1.4.2. Sıvı Fermentasyon

Sıvı fermentasyon, katı substrat fermentasyonundan farklı olarak çeşitli propagül türleri üretmektedir; blastosporlar, sualtı konidyumları, stabilize olmuş miselyum ürünleri ve mikrosklerotlar. Blastosporlar, Ascomycetes türlerinin enfekte bir böceğin vücudunda ürediği vejetatif hücrelerdir. Bu hücrelerin büyümesi maya benzeri bir yapıda olup, gerçek maya tomurcuklanmasından farklıdır. *Beauveria*, *Metarhizium*, *Nomuraea* ve *Isaria* türleri, uygun sıvı fermentasyon koşulları altında blastosporlar oluşturur. Blastosporlar, hava konidyumlarından daha kırılgan yapıya sahip oldukları için çevresel koşullara karşı daha hassastır ve kuruma direncini arttırmak için özel önlemler gerektirir. Sualtı konidyumları ise *Beauveria* ve *Metarhizium* türleri tarafından üretilir. Mikrosikl konidiasyonu, hif büyümesinin engellenmeden doğrudan bir spor tarafından üretilmesi süreci olarak tanımlanır (Jaronski, 2013). Genelde yüksek konsantrasyonlarda karbon ve azot kaynakları içeren besin bakımından zengin ortamların vejetatif propagülleri (blastosporlar, hifal cisimler, miselyum ve mikrosklerotiya) daha büyük miktarlarda üretme ihtimal daha yüksektir. *B. bassiana* blastosporlarını yüksek konsantrasyonlarda elde etmek için yüksek oranda glikoza ihtiyaç vardır (Mascarin vd., 2015).

1.5. Ticari Olarak Kullanılan Preparatlar

Dünya çapında son yıllarda 80'den fazla şirket 171 mikoinsektisit ve akarisit geliştirmiştir ve bunlardan bazıları Tablo 1'de verilmiştir. *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, *Beauveria brongniartii* ve *Lecanicillium* sp. listelenen ürünlerin arasında en yaygın olan ana etken maddelerdir (Faria & Wraight, 2007).

Tablo 1. Yaygın olarak kullanılan bazı ticari formülasyonlar (Faria & Wraight, 2007)

Fungus	Ülke	Ticari ürün	Hedef zararlılar
<i>B. bassiana</i>	Çek Cumhuriyeti	Boverol	Coleoptera (Chrysomelidae)
	Çek Cumhuriyeti	Boverosil	Coleoptera (Curculionidae)+ diğer depo zararlıları
	Fransa	Ostrinil	Lepidoptera (Crambidae)
	İspanya	Trichobass-L	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Lepidoptera (Castniidae, Pieridae), Hemiptera (Aleyrodidae), Thysanoptera (Thripidae) + Acari (Tetranychidae)
	Güney Afrika	Bb Weevil	Coleoptera (Curculionidae)
	Hindistan	BioGuard Rich	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae), Lepidoptera (Crambidae), Thysanoptera (Thripidae)
	Hindistan	Racer	Lepidoptera (Noctuidae)
	Japonya	Biolisa-Madara	Coleoptera (Cerambycidae)
	Rusya	Boverin	Hemiptera (Aleyrodidae), Thysanoptera (Thripidae) + Acari (Tetranychidae)
	Meksika	Bea-Sin	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Aleyrodidae)
ABD	ABD	CornGard	Lepidoptera (Crambidae)
		Naturalis L— Home & Garden	Coleoptera (Chrysomelidae, Curculionidae, Scarabaeidae), Hymenoptera (Formicidae), Diptera (Tipulidae), Hemiptera (Lygaeidae, Cercopidae, Cicadellidae),

Tablo 1' in devamı

	ABD	Organigard Emulsifiable Suspension Mycoinsecticide	Aleyrodidae, Aphididae, Pseudococcidae, Psyllidae), Lepidoptera (Crambidae, Geometridae, Noctuidae), Orthoptera (Acrididae, Gryllotalpidae), Thysanoptera (Thripidae) + Acari (Tarsonemidae, Tetranychidae) + Crustacea + Diplopoda Coleoptera (Chrysomelidae, Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Miridae, Cicadellidae, Aleyrodidae, Aphididae, Pseudococcidae, Psyllidae), Thysanoptera (Thripidae), Orthoptera (Acrididae, Tettigoniidae), Lepidoptera (Crambidae)
	Kosta Rika, Panama Arjantin Brezilya	Beauvedieca Bb Moscas Bovenat	Coleoptera (Curculionidae) Diptera (Muscidae) Coleoptera (Curculionidae), Hemiptera (Aleyrodidae)
	Kolombiya	Agronova	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Lepidoptera (Noctuidae, Nymphalidae, Sphingidae)
<i>B. brongniartii</i>	Avusturya, İtalya İsviçre	MelocontPilzgerste Beauveria Schweizer	Coleoptera (Scarabaeidae) Coleoptera (Scarabaeidae)
<i>H. thompsonii</i>	Japonya Hindistan Hindistan ABD	BiolisaKamikiri MeteHit Mycohit Mycar	Coleptera (Cerambycidae) Acari Acari(Eriophyidae) Acari (Eriophyidae)
<i>I. fumosorosea</i> (<i>P. fumosoroseus</i>)	Hindistan	Priority	Acari (Eriophyidae,Tetranychid ae)
	Meksika Kolombiya	Pae-Sin Fumosil	Hemiptera (Aleyrodidae) Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae, Pseudococcidae), Thysanoptera (Thripidae)
	Kolombiya	Successor	Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae), Thysanoptera

Tablo 1' in devamı

<i>Lecanicillium</i> sp. <i>M. anisopliae</i>	İsviçre	MicroGermin Plus	(Thripidae) + Acari (Tetranychidae) Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae), Thysanoptera (Thripidae) + Acari (Tetranychidae)
	Hindistan	Bio-Catch	Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae, Pseudococcidae)
	Meksika	Verti-Sin	Hemiptera (Aphididae), Thysanoptera (Thripidae)
	Avusturya, İtalya	Granmet-P	Coleoptera (Scarabaeidae, Curculionidae, Nitidulidae)
	Almanya, İsviçre	BIO 1020	Coleoptera (Curculionidae)
	İsviçre	Metarhizium Schweizer	Coleoptera (Scarabaeidae)
	Hindistan	Biomet Rich	Coleoptera, Isoptera
	Meksika	Fitosan-M	Coleoptera (Scarabaeidae), Orthoptera
	Meksika	Meta-Sin	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Hemiptera (Cercopidae), Orthoptera
	ABD	Taenure Granular Bioinsecticide	Coleoptera (Curculionidae, Scarabaeidae), Diptera (Ephydriidae, Mycetophilidae, Sciaridae, Tipulidae), Thysanoptera (Thripidae)
	ABD	Tick-EX G	Acari + Coleoptera (Scarabaeidae)
	Kosta Rika, Panama	Metadieca	Hemiptera (Cercopidae)
	Brezilya	BioCerto para Cigarrinha	Hemiptera (Cercopidae)
	Brezilya Kolombiya	BioCerto PM Ago Biocontrol	Hemiptera (Cercopidae) Coleoptera, Hemiptera, Lepidoptera, Orthoptera
	Kolombiya	DeepGreen	Coleoptera (Scarabaeidae), Hemiptera (Miridae, Cicadellidae)

1.6. *Galleria mellonella* ile Mücadelede Entomopatojen Funguslar

Galleria ile mücadelede yapılan çalışmada biyokontrol ajanları olarak test edilen üç farklı biyosit olan *B. bassiana*, *M. anisopliae* ve *T. album*, *G. mellonella* larvalarını kontrol etmek amacıyla değerlendirilmiştir. Sonuçlar *T. album* mantarlarının *G. mellonella*'ya karşı güçlü bir toksik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, bazı biyolojik özelliklerde önemli bir azalma gözlemlenmiştir. Özellikle *M. anisopliae*, böceğin ergin çıkış oranını düşürmüş ve yaşam süresini kısaltmıştır. *B. bassiana* ise, en yüksek pupa ölüm oranını elde etmiş ve pupa ağırlığını azaltmıştır. Elde edilen bulgular, *G. mellonella* ile yapılan mücadelenin etkinliğini artırmak için mantarların kullanılabileceğini göstermektedir (Shoukry vd., 2019).

Adam vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, üçüncü larva instarları laboratuvar koşullarında 11 gün boyunca farklı konsantrasyonlara maruz bırakılarak yüksek mortalite oranları (%20-100) elde edilmiştir. Bu çalışma, *Beauveria bassiana*'nın *Galleria mellonella* üzerine etkili bir biyolojik kontrol ajanı olabileceğini açıkça ortaya koymuştur (Adam vd., 2017).

İbrahim vd. (2016) yaptıkları çalışmada *B. bassiana* ve *P. lilacinus*'un 1×10^8 spor/ml'lik konsantrasyonlarında *G. mellonella*'ya karşı yüksek larva ölümü meydana getiren izolatlar olduğu tespit edilmiştir. Artan konidiler konsantrasyonların pupa ve ergin çıkış oranları üzerinde belirgin şekilde olumsuz etkiler yarattığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, *B. bassiana* ve *P. lilacinus*'un *G. mellonella*'ya karşı biyolojik pestisit olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (İbrahim vd., 2016).

Doğan ve Keskin (2020) yaptıkları çalışmada biyolojik mücadele ajanı olarak *Beauveria bassiana* türünün 10 farklı izolatının dört konsantrasyonunu (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 spor/ml) *G. mellonella* üzerinde denemiştir. Letal süreler (LT₅₀) karşılaştırıldığında, her bir izolatın en yüksek konsantrasyonun aynı zamanda en etkili olduğu bulunmuştur (Doğan & Keskin, 2020).

Başka bir çalışma, *Beauveria bassiana* fungusunun üç uygulamasının (larva başına 1, 3 ve 6 g) laboratuvar koşullarında büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella*'nın gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Özellikle, bu fungusun larva başına 1 g kullanımı larva gelişimi üzerinde çok az etki göstermiş ve larvaların %80 i gelişimi normal şekilde tamamlamıştır. Larva başına 3 g kullanımı düşük ölüm oranına (%20) neden olmuş ve test larvalarının %70'i pupa olmuş ancak yetişkin olarak ortaya çıkamamıştır. Larva

başına sadece 6 g hızlı zararlı etkiler göstermiş ve test larvalarının gelişimini tamamen bozmuştur (%100 ölüm oranı). Sonuç olarak pratikte anlamlı olmadığını belirtmiştir (Abou-Shaara, 2020).

Oreste vd. büyük bal mumu mücadelesinde *B. bassiana*'nın yüksek düzeyde, *M. anisopliae*'nin orta düzeyde etkili olduğunu belirtmişlerdir (Oreste vd., 2012).

1.7. Uçucu Yağların İnsektisit Olarak Kullanımı

Botanik pestisitler, bitkilerden elde edilen doğal kimyasallardır ve sentetik pestisitlere göre çevre ve insan sağlığı üzerinde daha az olumsuz etki yapacak alternatifler sunmaktadır. Esansiyel yağlar ve bu yağların bileşenleri kullanılarak yapılan böcek ilaçları, depolanan tahıllarda karşılaşılan pek çok böcek zararlısına karşı etkinlik göstermektedir. Bu yağlar, itici, beslenme engelleyici, büyüme inhibe edici, yumurtlama önleyici ve ovisitler olarak formüle edilip uygulanmıştır (Ahl vd., 2017).

Depolanmış ürünler üzerinde biyoaktivite gösteren esansiyel yağlar arasında fesleğen, narenciye kabuğu, okaliptus, çeşitli nane türleri, lavanta ve biberiye yağları bulunmaktadır. Böceklerle karşı kovucu etkileri üzerine yapılan araştırmalar artmakta ve bu durum, esansiyel yağlara dayalı pestisitlerin böcek kontrolünde daha önemli bir rol oynayacağını göstermektedir (Isman vd., 2007).

1.7.1. *Galleria mellonella* ile Mücadelede Uçucu Yağlar

Bir çalışmada, tatlı bayrak (*Acorus calamus*), zerdeçal (*Curcuma longa*), tatlı fesleğen (*Ocimum basilicum*), tıbbi Coleus (*Coleus forskohlii*) gibi dört botanik ekstrakt ile okaliptus (*Eucalyptus globulus*), nane (*Mentha piperita*) ve limon otu (*Cymbopogon citratus*) uçucu yağlarının *Galleria mellonella*'ya karşı etkisi test edilmiştir. Tatlı fesleğen (%5)'lik *O. basilicum*'un *G. mellonella*'ya karşı %89.29 oranında larva ölümüne yol açtığı ve tatlı bayrak (*A. calamus*) ile %65.71 ölüm oranı gösterdiği belirlenmiştir. Diğer uçucu yağlar arasında, nane yağı (%80.24 larva ölümü), okaliptus yağı (%69.05) ve limon otu yağı (%50.48) izlemiştir. Nane yağı, aynı zamanda %24.56 oranında daha az petek kaybı ağırlığına yol açarak, larva zararını kontrol etmede etkinliğini ortaya koymuştur (Paulraj vd., 2021).

Omer vd. (2023) yaptıkları çalışmada, biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), karanfil (*Syzygium aromaticum*), okaliptus (*Eucalyptus* sp.) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) gibi

etanolik bitki özlerinin *Galleria mellonella*'nın geç dönem larvalarına karşı in vitro etkinliği incelenmiştir. Elde edilen veriler, bitkisel özlerin yüksek konsantrasyonlarda larva üzerinde ölüm oranını arttırdığını göstermiştir. Biberiye yağı, %20'lik uygulamada üç gün sonra %100 ölüm oranına ulaşırken, okaliptus (%96.58), tarçın (%92.66) ve karanfil (%64.86) takip etmiştir (Omer vd., 2023).

Helaly vd. (2022) yaptıkları çalışmada, beş farklı uçucu yağın; sarımsak (*Allium sativum*), kâfur (*Cinnamomum camphora*), mentol (*Mentha* sp.), tarçın (*Cinnamomum verum*) ve karanfil (*Dianthus* sp.) mum güvesi larvaları ve yetişkin bal arısı işçileri üzerindeki etkilerini incelemiştir. Tarçın, sarımsak, mentol, karanfil ve kâfur yağlarının mum güvesi larvalarına karşı oldukça etkili olduğu, özellikle tarçın ve sarımsak yağlarının sırasıyla 48 ve 96 saat sonra ölüm %100 ölüm oranına yol açtığı bulunmuştur. Ayrıca, bu uçucu yağların tümü, bal arısı işçileri için düşük toksisite göstererek güvenli bir seçenek sunmuştur (Helaly vd., 2022).

Said vd. (2019) yaptıkları çalışmada, lavanta, kâfur, nane, karanfil ve biberiye uçucu yağlarının dört farklı konsantrasyonda (%5-10-15-20) büyük bal mumu güvesi *G. mellonella*'nın üçüncü dönem larvaları üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. Biberiye yağı, kontrole kıyasla en yüksek ölüm oranlarına yol açarken, lavanta, nane, kâfur ve karanfil yağları sırasıyla daha düşük ölüm oranları göstermiştir. Bu çalışmada, biberiye ve lavanta uçucu yağlarının en etkili biyokontrol ajanları olduğu belirtilmiştir (Said vd., 2019).

Başka bir çalışmada neem yağı (*Azadirachta indica*), okaliptus yağı (*Eucalyptus* sp.), tütün özü (*Nicotiana tabacum*) ve malagueta biberi özünün (*Capsicum frutescens*) bal mumu güvesinin kontrolü için değerlendirilmiştir. Ayrıca bunların yetişkin arılar ve kolonilerin popülasyon büyümesi üzerindeki etkileri de değerlendirilmiştir. Popülasyon büyümesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için bunlar arı kolonilerine püskürtülmüştür. Neem ve okaliptus yağları düşük konsantrasyonlarda bal mumu güvesi ölümüne neden olmuş, ancak koloni popülasyonu büyümesini etkilememiştir. Bununla birlikte, yetişkin arılar üzerinde toksik etkiye sahip olduğu görülmüştür. Tütün ve biber ekstraktları güveyi etkili bir şekilde kontrol etmiş, yetişkin arı ölümüne neden olmamış veya kolonilerin popülasyon büyümesine müdahale etmemiştir. Bu çalışmayla, tütün ve biber ekstraktları bal arılarına zarar vermeden büyük bal mumu güvesini etkili bir şekilde kontrol edebildiği belirlenmiştir (Telles vd., 2020).

1.8. Tezin Amacı

Galleria mellonella, büyük bal mumu güvesi olarak bilinir ve arıcılık sektöründe ciddi ekonomik zararlara yol açmaktadır. Bu zararlının kontrolü için en çok kimyasal mücadele yöntemlerine başvurulmaktadır. Ancak kullanılan kimyasallar, arı kolonileri ve diğer hedef olmayan böcekler için sorun yaratabilir ve kalıntı bırakma riski taşır. Bu nedenle biyolojik mücadele, kimyasal insektisitlere alternatif olarak kullanılabilecek bir yöntemdir. Daha önce çeşitli böceklerle karşı etkili mikoinsektisitler geliştirilmiş olsa da, *Galleria mellonella*'ya karşı entomopatojenik funguslar üzerinde yapılan çalışmalara rağmen ticari preparatlar henüz geliştirilmemiştir.

Bu çalışmada, daha önceki araştırmalarda yüksek öldürücü etkiye sahip olduğu belirlenen *Beauveria* ve *Metarhizium* cinsine ait 13 yerel entomopatojen fungus suşu, *Galleria mellonella* mücadelesinde kullanılmak üzere tarama testi gerçekleştirilmiştir. Tarama testleri sonucunda Hp-5, 4-Güm-A, Pa-5 ve As-2 kodlu suşlar seçilmiş ve bu suşların virülans değerleri ile farklı sıcaklık, UV-B ve nem koşullarındaki büyüme ve spor üretimleri değerlendirilmiştir. Hp-5 ve 4-Güm-A suşlarının avantajlı olduğu belirlenerek, lavanta, ayçiçek ve lavanta-ayçiçek yağı bazlı altı mikoinsektisit formülasyonu geliştirilmiştir. Bu mikoinsektisitler “WaxGuard” adıyla adlandırılmıştır. Son olarak, geliştirilen mikoinsektisitlerin bal arısı (*Apis mellifera* L.) üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, *Galleria mellonella*'ya karşı etkili olan fungal suşları belirleyerek yerel mikoinsektisit geliştirmektir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Çalışmada Kullanılan Entomopatojen Funguslar

Bu çalışmada kullanılacak entomopatojen funguslar, Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı entomopatojen kültür koleksiyonundan temin edildi. Bu isolatlar, Doğu Karadeniz Bölgesi'nden alınan çeşitli toprak örnekleri ve bölgede yaygın olan çeşitli tarım ve orman zararlılarından izole edilmiştir. İzolatların tanımlamaları klasik ve moleküler yöntemlerle gerçekleştirilmiş, ayrıca bu isolatların farklı zararlı organizmalar üzerindeki insektisidal etkileri de değerlendirilmiştir. Bu isolatlara ait kaynaklar ve tür bilgileri Tablo 2'de bulunmaktadır.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan entomopatojen fungus suşları

No	İzolat Kodu	Kaynak	Türü	Referans
1	4-Güm-A (KTU-51)	Toprak	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Sevim vd., 2010
2	287 (KTU-7)	Toprak	<i>Beauveria bassiana</i>	Sevim vd., 2010
3	269 (KTU-60)	Toprak	<i>Metarhizium brunneum</i>	Sevim vd., 2010
4	As-2	<i>Amphimallon solstitialis</i>	<i>Metarhizium flavoviride</i>	Biryol vd., 2020
5	As-18	<i>Amphimallon solstitialis</i>	<i>Metarhizium flavoviride</i>	Biryol vd., 2020
6	Hp-4	<i>Hypera postica</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Yücel vd., 2018
7	Hp-5	<i>Hypera postica</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Yücel vd., 2018
8	K4	<i>Hypera postica</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Yücel vd., 2018
9	K5	<i>Hypera postica</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Yücel vd., 2018
10	Oj-3	<i>Orasanga japonica</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Bayramoğlu vd., 2020
11	Oj-7	<i>Orasanga japonica</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Bayramoğlu vd., 2020
12	Pa-5	<i>Pristiphora abietina</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Biryol vd., 2021
13	Rh (KTU-57)	<i>Rhynchites bacchus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Sevim vd., 2010

Patojenite testlerinde kullanılacak fungus izolatları, 1×10^5 spor/ml yoğunluğundaki stok çözeltilerden alınarak, Patates Dekstroz Agar + Maya Ekstraktı (PDAY) besi yerine 100 µl olacak şekilde yayma ekim yöntemiyle aktarıldı ve 25 °C’de 2-3 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin ardından oluşan koloniler, taze PDAY besi yerlerine aktararak yenilendi, etüvde büyütüldü ve çalışmalarda kullanılmak üzere 4 °C’de saklandı.

2.2. *Galleria mellonella* (Büyük Bal Mumu Güvesi) Kültürü

Primer kültür olarak *Galleria mellonella* larvaları Trabzon ilinde depolanmış bal mumu peteklerinden toplandı. Böcek kültürü laboratuvar ortamında yapay besi yeride (300 g buğday unu, 100 ml bal, 100 ml gliserol ve 50 g kuru mayadan hazırlanan karışım) 28 ± 2 °C sıcaklık ve 65 ± 5 bağıl nem oranında yeterince hava açıklığı bulunan cam kavanozlarda yetiştirilerek laboratuvar kültürü haline getirildi (Şekil 6). Biyotest uygulamalarında laboratuvar kültüründen sağlanan üçüncü evre larvalar kullanıldı (Şekil 7).



Şekil 6. *Galleria mellonella*’nın laboratuvar ortamında yetiştirilmesi



Şekil 7. Biyotest uygulamalarında kullanılan üçüncü evre *Galleria mellonella* larvası

2.3. Suşların Patojenitelerinin Belirlenmesi

Mikoinsektisit geliştirilecek suşun belirlenmesi için Tablo 2’de verilen entomopatojen fungus suşlarının, laboratuvarında yetiştirilen sağlıklı, büyük bal mumu güvesi bireyleri üzerinde tarama ve doz testleri gerçekleştirildi.

2.3.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

Tarama ve doz testlerinde kullanılacak fungus izolatlarının 1×10^5 spor/ml yoğunluğundaki stok çözeltilerinden 100 µl PDAY besiyeri üzerine yayma ekim yapıldı ve 25 °C’de 2-3 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon tamamlandıktan sonra, tek koloniler seçilerek yeni PDAY besiyeri üzerine aktarıldı ve bu kültürler 25 °C’de 4 hafta süreyle inkübe edildi. Süre sonunda, steril %0,1’lik Tween 80 çözeltisinden 10 ml petri kabına eklendi, ardından fungus yüzeyi cam baget yardımıyla kazınarak sporlar toplandı. Toplanan spor süspansiyonları, çift kat steril tülbentten süzülerek 50 ml’lik steril tüplere aktarıldı, böylece miselyum ve agar parçaları uzaklaştırıldı. Daha sonra süspansiyonlar, 5 dakika boyunca vorteksenerek homojen hale getirildi. Spor konsantrasyonları Neubauer hemositometresi ile sayılarak belirlenen konsantrasyonlara ayarlandı (Sevim vd., 2010a).

Sporların canlılık oranları, 100 µl spor süspansiyonunun PDAY agar yüzeyine yayma ekimiyle test edildi. Ekim işleminin ardından, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda sporların çimlenme özellikleri değerlendirildi. Bu süreçte, çimlenme tüpü çapı spor çapını aşan sporlar

çimlenmiş olarak kabul edildi. Test sonuçlarına göre, çimlenme oranı %95 veya daha yüksek olan sporlar patojenite testleri için kullanıldı (Sevim vd., 2010b).

2.3.2. Tarama Testi

Tarama testi için plastik kaplar (en: 193 mm, boy: 127 mm) kullanıldı. Kullanılacak kaplar üzerinde hava delikleri açıldı. Plastik kapların içerisine büyük bal mumu güvesi besini ve 10 larva yerleştirildi (Şekil 8).

Tablodaki suşlar laboratuvar koşullarında büyük bal mumu güvesi larvalarına her bir test kabında 1×10^7 spor/ml konsantrasyonda püskürtme yöntemiyle uygulandı. Kontrol grubunda ise steril %0,1'lik Tween 80 çözeltisi kullanılarak larvalara püskürtme yapıldı. Fungal inokülasyonun ardından deney düzenekleri $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, $\%60 \pm 5$ bağıl nem ve 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık ışık döngüsünde 10 gün boyunca inkübe edildi (Sevim vd., 2010a). Deney süresince, uygulamadan itibaren 7 gün boyunca günlük kontroller gerçekleştirildi ve ölümler kaydedildi.

Ölen bireyler, steril nemli filtre kağıdı bulunan petri kaplarına aktarıldı ve üzerlerinde mikoz gelişimi incelendi (Sevim vd., 2010a). Tüm deneyler üç tekrarlı olarak yürütüldü.



Şekil 8. Uygun suşlar için gerçekleştirilen tarama testi

2.3.3. Doz Denemeleri

Sonraki çalışma olan doz denemeleri aşamasında kullanılmak üzere en yüksek virülans etkisine sahip dört suş 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*), As-2 (*Metarhizium flavoviride*), Hp-5 (*Beauveria bassiana*), Pa-5 (*Beauveria bassiana*) seçildi. Bu dört fungal suş, büyük bal mumu güvesi larvaları üzerinde 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 spor/ml konsantrasyonlarında laboratuvar koşullarında test edildi. Deneyler, 2.3.2’de izlenen yöntemler kullanılarak gerçekleştirildi. Plastik kaplar 7 gün süre ile günlük olarak kontrol edildi, ölen bireyler sayıldı ve her izolatin virülans değerleri Abbot formülü (Abbott, 1925) ile hesaplandı.

2.4. Abiyotik Faktörlerin Suşlar Üzerindeki Etkileri

2.4.1. Sıcaklığın Seçilen Fungal Suşların Gelişimleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

4-Güm-A, As-2, Hp-5 ve Pa-5 suşlarından taze fungal spor süspansiyonları hazırlandı ve spor yoğunlukları sayılarak stok konsantrasyonlar belirlendi. Bu stoklardan $2,8 \times 10^7$ spor/ml yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanarak PDAY besi yeri içeren petri kaplarının üç farklı noktasına inoküle edildi. Deneyler 8, 18, 28, 30 ve 35 °C sıcaklıklarında gerçekleştirildi. Her sıcaklık derecesi için üç petri kabı hazırlandı ve 28 °C kontrol grubu olarak kullanıldı (Couceiro vd., 2021).

2.4.2. Sıcaklığın Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi

Deney düzeneği 2.4.1’de açıklandığı şekilde kuruldu. Koloni çapları 12 gün boyunca düzenli aralıklarla ölçülerek kaydedildi ve radyal büyüme hesaplandı. Daha sonra inkübasyonun 12. gününde petri kaplarından spor hasatları yapıldı. Hasat edilen sporların Neubauer hemositometresi ile sayıldı ve üretilen spor konsantrasyonları hesaplandı (Couceiro vd., 2021).

2.4.3. UV'nin Seçilen Fungal Suşların Gelişimleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

4-Güm-A, As-2, Hp-5 ve Pa-5 suşlarından taze fungal spor süspansiyonları hazırlandı ve spor yoğunlukları sayılarak stok konsantrasyonlar belirlendi. Bu stoklardan $2,8 \times 10^7$ spor/ml yoğunluğunda alınan spor süspansiyonları, PDAY besi yeri bulunan petri kaplarının üç farklı noktasına inoküle edildi. Deneyde, petri kapları 0, 30, 60 ve 120 dakika süreyle UV-B ışığına maruz bırakıldı ve ardından 28 °C sıcaklıkta inkübe edildi. Her bir zaman dilimi için üç petri kabı kullanıldı ve 0 dakika, kontrol grubu olarak belirlendi (Couceiro vd., 2021). Denemeler UV-B (15 W, 312 nm) lambalarına 20 cm mesafeye yerleştirilen petri kaplarında yapıldı (Villamizar vd., 2010; Cuartas-Otálora vd., 2019).

2.4.4. UV'nin Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretim Üzerine Etkisi

Deney düzeneği 2.4.3'te açıklandığı şekilde kuruldu. Koloni çapları, 12 gün boyunca ölçülerek kaydedildi ve radyal büyüme hesaplandı. İnkübasyonun 12. gününde, petri kaplarından sporlar hasat edildi ve spor yoğunlukları Neubauer hemositometresi ile sayılarak hesaplandı (Couceiro vd., 2021).

2.4.5. Nemin Seçilen Fungal Suşların Gelişimleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

4-Güm-A, As-2, Hp-5 ve Pa-5 suşlarından taze fungal spor süspansiyonları hazırlandı ve spor yoğunlukları sayılarak stok konsantrasyonlar belirlendi. Bu stoklardan $2,8 \times 10^7$ spor/ml yoğunluğunda alınan spor süspansiyonları, PDAY besi yeri bulunan petri kaplarının üç farklı noktasına inoküle edildi. Petriler %55, 75 ve 95 nem oranlarında 28 °C'de iklimlendirme kabininde (Fitoclima 600, Aralab) inkübe edildi ve %75 nem oranı kontrol grubu olarak belirlendi (Acheampong vd., 2020). Her nem yüzdesi için üç petri kabı kullanıldı.

2.4.6. Nemin Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi

Deney düzeneği 2.4.5'te açıklandığı şekilde kuruldu. Koloni çapları 12 gün boyunca ölçülerek kaydedildi ve radyal büyüme hesaplandı. İnkübasyon süresinin 12. gününde

petrilerden spor hasatları yapıldı ve spor konsantrasyonları Neubauer hemositometresi ile sayılarak hesaplandı.

2.5. Yerel Mikoinsektisit Geliştirilmesi

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre bundan sonraki çalışmalarda kullanılacak suşların seçimi yapıldı. Önceki basamaklarda öldürücü etkisi yüksek ve abiyotik faktörlere dayanıklılıkları iyi düzeyde olan 4-Güm-A ve Hp-5 suşları formülasyon çalışmalarında kullanılmak üzere belirlendi.

2.5.1. İlgili Suşlardan Spor Üretimlerinin Yapılması

Bu bölümde, farklı cinslere uygun büyüme yöntemleri uygulandı. Önceki araştırmalar ve literatür verilerine göre, *Metarhizium* cinsine ait suşların bifazik kültür sisteminde katı substrat üzerinde kuru formülasyonlarla üretilmesinin daha verimli olduğu, *Beauveria* cinsine ait suşların ise sıvı ortamda üretildiğinde daha yüksek spor verimi sağladığı bilinmektedir. Bu sebeple spor üretiminde 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*) için katı substrat, Hp-5 (*Beauveria bassiana*) için sıvı ortam kullanılmıştır.

2.5.2. 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*)'nın Katı Substrat Konidiya Üretimi

Kullanılacak fungal izolat, 1×10^5 spor/ml konsantrasyonundaki stok solüsyonlarından PDAY besi yerine 100 µl eklenerek yayma ekim yapıldı ve 25 ± 2 °C'de 2-3 gün süreyle inkübe edildi. Büyüme tamamlandıktan sonra, tek tek koloniler seçilerek PDAY besi yerine transfer edilip 25 °C'de 4 hafta inkübe edildi. Bu sürenin sonunda, petri üzerine 10 ml steril %0,1 Tween 80 eklenip cam bagetle kazıma işlemi yapılarak sporlar toplandı. Spor süspansiyonu Neubauer hemositometresiyle sayıldı ve konsantrasyonu $2,9 \times 10^6$ spor/ml'ye ayarlandı. Elde edilen spor süspansiyonu, hazırlanan besi yerine (1 litre için; 30 g Glukoz veya Sukroz, 20 g Maya ekstratı, 4 g Potasyum Hidrojen Fosfat (K_2HPO_4), 25 g Kazein hidrolizat, 10 mg Gentamisin ve pH 5,6) 1:10 oranında inoküle edildi. Karışım, 500 mL'lik erlen içinde 150 ml olacak şekilde 150 rpm'de 28 °C'de 4 gün süreyle inkübe edildi (Seema vd., 2013).

İzolattan daha fazla spor elde etmek amacıyla katı substrat olarak pirinç kullanıldı. Nişastanın uzaklaşabilmesi için pirinç, soğuk saf su ile üç defa yıkandı ve su tutma

kapasitesinin arttırılması için derin bir kapta 30 dakika bekletildi. Fazla suyu süzülen pirinçler, her 1 kg pirinç için 300 ml steril saf su ve 20 ml bitkisel yağ eklenerek, suyu çekene kadar ön pişirme işlemine tabi tutuldu. Büyütme işlemi yapılacak olan fungus büyütme torbaları, hava delikleri açılarak ve pirinç konulacak delikler pamuk ile kapatılarak hazırlandı. Hazırlanan poşetlere yarı pişmiş pirinçler, her bir poşette 150 g olacak şekilde yerleştirildi ve 121 °C’de, 1.1 atm basınç altında 40 dakika süreyle otoklavlandıktan sonra soğutulmaya bırakıldı (Seema vd., 2013).

Sıvı kültürde üretilen blastosporların toplanabilmesi için, kültür besi yeri 10.000 rpm’de 1 dakika süreyle santrifüj edilip, 3 kez steril su ile yıkama işlemi uygulandı. Elde edilen sporlar, steril saf suda çözülerek 1×10^7 - 5×10^8 spor/ml konsantrasyona getirildi. Bu spor süspansiyonlarından, her biri 150 g pirinç içeren fungus büyütme poşetlerine 7.5 ml inokülasyon yapıldı (Şekil 9). İnokülasyon işleminden sonra poşetlere masaj yapılarak, fungus sporlarının tüm substratla temas etmesi sağlandı. Büyümesi için poşetler, 28 °C’de bir etüvde yaklaşık 20 gün inkübe edildi. İnokülasyon süresince, fungus sporlarının iyi gelişebilmesi için her 5 günde bir poşetlere masaj yapıldı ve pirinç ile fungus karışımının homojen olması sağlandı. İnkübasyon süresi sonunda poşetler açılarak fungus sporları kraft kâğıdına aktarıldı ve 10 gün boyunca ön kurutmaya bırakıldı. Kurutma işleminin ardından, üretilen fungal sporlar, elek (45 µm mesh-1) kullanılarak pirinç yüzeyinden ayrıldı. Eleme işlemi tamamlandıktan sonra, toplanan fungal sporlar vakumlu desikatör yardımıyla nem oranı %5’in altına düşene kadar kurutuldu. Elde edilen fungal sporlardan gram başına düşen fungus miktarı hesaplandı. Üretim sonucunda elde edilen katkısız fungal sporlar, yağ formülasyonlarında kullanılmak üzere 100 ml cam şişelere ayrı ayrı paketlenildi ve +4 °C’de düşük nem kapasitesine sahip bir buzdolabında saklandı.



Şekil 9. Spor süspansiyonları inoküle edilmiş pirinç poşetleri

2.5.3. Hp-5 (*Beauveria bassiana*)’nın Üretilmesi

Blastosporların sıvı ortamda üretilmesi için basal tuz besi yeri kullanıldı. Bir litre besi yeri hazırlanırken: 80 g glukoz, 25 g hidrolize kazein, 2 g KH_2PO_4 , 0,4 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,3 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 37 MG $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 50 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 16 mg $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 14 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 500 mg tiamin, riboflavin, pantotenik asit, niasin, piridoksamin, tiyotik asit, 50 mg folik asit, biotin ve B12 vitamini ilave edildi. Glukoz oranı %20 w/v olarak ayarlandı ve ayrı bir şekilde otoklav edilip besi yerine eklendi. Kültür ortamının pH’ı 5,8 olarak düzenlendi ve 121 °C’de 20 dakika süreyle otoklavlandı (Mascarin vd., 2015a).

Kullanılacak fungal izolat, 1×10^5 spor/ml konsantrasyonundaki stok solüsyonlarından PDAY besi yerine 100 µl eklenerek yayma ekim yapıldı ve 25 ± 2 °C’de 2-3 gün inkübe edildi. Büyüme tamamlandıktan sonra, tek koloniler seçilerek PDAY besi yerine transfer edilip 25 °C’de 4 hafta süreyle inkübe edildi. Bu sürenin sonunda, petri üzerine 10 ml steril %0,1 Tween 80 eklenip cam bagetle karıştırılarak sporlar toplandı. Spor konsantrasyonu 1×10^6 spor/ml’ye ayarlandı ve 250 ml’lik erlenlerde bulunan 150 ml’lik başlangıç kültürüne (basal tuz besi yeri) 1:10 oranında inokülasyon yapıldı. Ardından, kültür 350 rpm’de 25 °C’de 3 gün inkübe edildi (Mascarin vd., 2015a).

İnkübasyonun ardından, blastosporlar bir elek ile süzülüp, hifal yapılar uzaklaştırıldı. Blastosporların toplanabilmesi için kültür, 10.000 g’da 10 dakika santrifüj edilip, üç kez

steril saf su ile yıkandı. Yıkama işlemi sonrasında blastosporlar steril suda çözülerek, konsantrasyonları minimum 2×10^{10} spor/ml olacak şekilde ayarlandı.

Temizlenen blastosporlar, yağsız süt tozu ile çözülerek final konsantrasyonu litre başına 200 g ve 2×10^{11} spor/ml olacak şekilde ayarlandı ve kurutma işlemi uygulandı. Kurutma işlemi, iç sıcaklık $95 \pm 2^\circ\text{C}$, dış sıcaklık ise $48 \pm 2^\circ\text{C}$ olarak ayarlandı. Geri besleme oranı, 20 ml dk⁻¹, 5.7-5.9 bar air plessure ve geri beslenme hacmi 100-300 ml olarak ayarlandı ve sprey kurutucuda gerçekleştirildi. Elde edilen sporlar, nem oranı %5'in altına düşene kadar vakumlu desikatörde kurutuldu. Sonrasında, kurutulmuş sporlar, kullanılmak üzere $+4^\circ\text{C}$ 'de bir buzdolabında saklandı.

2.6. Formülasyonda Kullanılacak Bitkisel Yağın Seçilmesi

Zararlıının hem lavanta ve mentol kokularına yönelimini araştırmak hem de formülasyonda kullanılacak esansiyel yağı seçmek için 5 kollu cam olfaktometre kullanıldı. Deney düzeneği, Türümen ve Karaca (Türümen & Karaca, 2020)'nin yaptığı çalışmadan uyarlanarak şu şekilde kuruldu: Lavanta ve mentol yağları %10, %50 ve %100 konsantrasyonlarda olmak üzere 3 tekrarlı ve her tekrarda 10 larva kullanılacak şekilde hazırlandı. Olfaktometre kollarının uçlarına içlerinde pamuk olan 50'lik falkonlar koyuldu. Kontrole %0,1'lik Tween 80 koyuldu. Hazırlanan konsantrasyonlar pamuklara damlatıldı. *Galleria mellonella* larvaları olfaktometre koluna bırakıldı ve davranışları gözlemlendi (Şekil 10). 1 saat sonra gözlemler kaydedildi.



Şekil 10. Olfaktometre deney düzeneği

Lavanta, mentol ve ayçiçeği yağlarının hem formülasyonda kullanılma yüzdesini hem de inkübasyon sonucunda yağların fungus sporlarının çimlenme üzerindeki etkisini belirlemek için deney düzeneği kuruldu. Altılı kuyu hücre kültürü kaplarına %1, %5, %10, %20 ve %50 oranlarında lavanta, mentol ve ayçiçek yağları, SDB besi yeri ve 1×10^7 fungus sporları koyuldu. Kaplar 350 rpm'de 25 °C'de 3 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda süspansiyonlar spektrofotometrede ölçüldü.

2.7. Sporların Bitkisel Yağ ile Karıştırılması

Mikoinsektisit üretiminde, ürünün biyolojik ve fiziksel özelliklerinin standartlara uygun olması büyük önem taşır. Ticari olarak üretilen ve kullanılan diğer yağ formülasyonlarına benzer içeriklere sahip olmak, ürünün doğada kalıcılığını ve raf ömrünü artırır. Ayrıca, biyolojik ve fiziksel özelliklerin iyileştirilmesini destekleyerek maliyetin azaltılmasına katkı sağlayan yardımcı kimyasal maddelerin kullanılması gereklidir.

İlk olarak, 2.5.2 ve 2.5.3'te açıklanan yöntemle izolattan toz halinde istenen miktarda (10-30 g arası, 10^{11} spor/g⁻¹) fungal sporlar üretildi. Ardından, 3 g naftalin sülfanik asit, 0,1 g askorbik asit, 30 ml bitkisel yağ, 10 ml emülsifiye edici madde lesitin, 1 ml Silvet-L-77 ve 10 g toz fungus karışımı steril su ile 100 ml'ye tamamlandı. Karışım, cam şişede homojenizatörle 50 rpm'de <10 °C'de 5 dakika karıştırıldı. Sonrasında 1 g sodyum aljinat eklenip 30 dakika daha karıştırıldı ve pH 5,4'e ayarlandı. Stok formülasyonu, ayçiçek için %30 yağ ve lavanta için %5 yağ oranında hazırlandı. Uygulama için konsantrasyon, spor sayılarak 1×10^9 spor/ml'ye ayarlandı. Biyotest çalışmalarında ise 1 ml'lik 1×10^8 spor/ml konsantrasyonunda uygulamalar yapıldı. Geliştirilen formülasyonlar Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Geliştirilen formülasyonlar ve adları

Geliştirilen Formülasyonlar	Adları
WaxGuard <i>Beauveria bassiana</i> , TR61	Ayçiçek yağı + Hp-5 formülasyonu
WaxGuard <i>Beauveria bassiana</i> , TR61	Lavanta yağı + Hp-5 formülasyonu
WaxGuard <i>Metarhizium anisopliae</i> , TR61	Ayçiçek yağ ı+ 4-Güm-A formülasyonu
WaxGuard <i>Metarhizium anisopliae</i> , TR61	Lavanta yağı + 4-Güm-A formülasyonu
WaxGuard <i>Beauveria bassiana</i> , TR61	Ayçiçek ve Lavanta yağı + Hp-5 formülasyonu
WaxGuard <i>Metarhizium anisopliae</i> , TR61	Ayçiçek ve Lavanta yağı + 4-Güm-A formülasyonu

2.8. Formülasyonun Etkinliğinin Test Edilmesi

2.8.1. Formülasyonların Etkinliğinin Test Edilmesi

Bu aşamada geliştirilen WaxGuard-*Metarhizium* ve WaxGuard-*Beauveria* ürünlerinin zararlı üzerindeki etkinliklerini belirlemek amaçlandı. Üretilen formülasyonların insektisidal aktiviteleri larvalar üzerinde plastik kaplarda laboratuvar ortamında gerçekleştirildi. Biyoassay çalışmaları için 1×10^8 spor/ml konsantrasyonunda spor süspansiyonları hazırlandı. Hazırlanan süspansiyonlar *Galleria mellonella* larvalarına püskürtme yöntemiyle uygulandı. Uygulamanın ardından deney düzenekleri $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, $\%60 \pm 5$ bağıl nem ve 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık ışık döngüsünde 10 gün boyunca inkübe (Sevim vd., 2010a). Uygulamadan sonra deney düzeneği günlük olarak kontrol edildi. Ölü larvalar nemli filtre kağıdı bulunan steril petrilere aktarıldı. Deneyler üçer tekrarlı, her kapta 10 birey olacak şekilde gerçekleştirildi. 7. günün sonunda ölüm oranları Abbot formülüne (Abbott, 1925) göre hesaplandı.

2.8.2. Formülasyonların *Apis mellifera* L. (Bal arısı) Üzerindeki Etkisi

Apis mellifera arı kovanından alınarak havalandırma açıklığı bulunan plastik kaplara aktarıldı ve laboratuvar ortamına getirildi (Şekil 11). Her kapta yaklaşık 20 ± 5 arı olacak şekilde 3 tekrarlı deney düzeneği kuruldu. Formülasyonların konsantrasyonu 1×10^8 spor/ml olacak şekilde hazırlandı (Şekil 12) ve uygulama püskürtme yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Uygulamadan sonra deney düzeneği günlük olarak kontrol edildi ve 10. günün sonunda ölüm oranları kaydedildi.



Şekil 11. Arıların toplanması



Şekil 12. Formülasyonların arılar üzerinde uygulanması

3. BULGULAR

3.1. Çalışmada Kullanılan Entomopatojen Funguslar

Deney düzeneği 2.1’de açıklandığı şekilde kuruldu. İnkübasyon sonucunda büyüyen entomopatojenik funguslar Şekil 13’te verilmiştir.

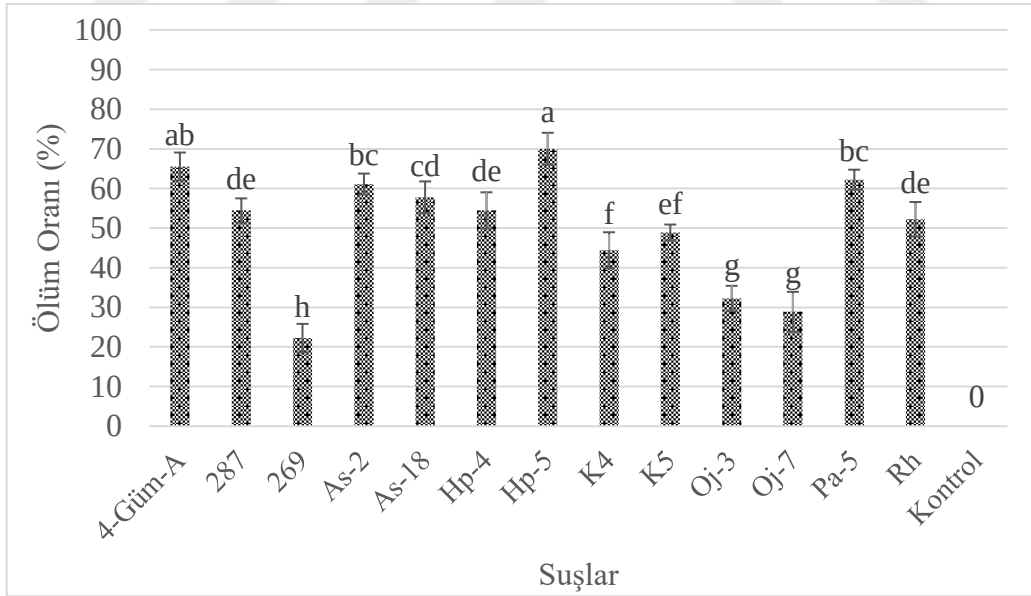


Şekil 13. Çalışmada kullanılan entomopatojen fungusların PDAY üzerindeki büyüme şekilleri

3.2. Tarama Testi

Fungus izolatlarının 1×10^7 spor/ml konsantrasyonunda *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan tarama testi sonucunda, tüm izolatların zararlı üzerinde etkili olduğu belirlendi.

Uygulama sonrası 7. günde ölüm oranlarının %22-70 arasında değiştiği tespit edildi (Şekil 14). *Galleria mellonella* larvalarında enfeksiyonun ardından ikinci günde ölümler gözlemlendi. Ölen larvalarda mikozlanma ve melanizasyon belirtileri tespit edildi (Şekil 15). Mikozlanmayan bazı larvalarda parazitlenme ortaya çıktı. Fungal izolatların *G. mellonella* üzerindeki patojenite seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, izolatların kontrol grubuna kıyasla farklı ölüm oranlarına sahip olduğu belirlendi ($F=48,072$, $df=12$, $p<0,05$). İzolatlar kendi aralarında değerlendirildiğinde ise tüm izolatların birbirinden farklı ölüm oranlarına sahip olduğu tespit edildi ($F=48,072$, $df=12$, $p<0,05$). *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan testlerde, *Beauveria bassiana* izolatlarının diğer cinslere ait izolatlara göre daha yüksek etkiye sahip olduğu belirlendi. Kontrol grubu ölümlerinde mikozlanmaya rastlanmadı.



Şekil 14. Entomopatojen fungus suşlarının tarama testi uygulamasında *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki mortalite oranları



Şekil 15. Entomopatojen fungusların *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki mikoz ve melanizasyon görüntüleri

En yüksek ölüm ve mikozlanma oranları sırasıyla Hp-5 (*Beauveria bassiana*), 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*), As-2 (*Metarhizium flavoviride*) ve Pa-5 (*Beauveria bassiana*) izolatlarında gözlemlendi. Uygulamanın ardından 7. günde 1×10^7 spor/ml konsantrasyonundaki LT₅₀ değerleri Hp-5 için 5,83, 4-Güm-A için 5,91, Pa-5 için 6,23 ve As-2 için 6,34 olarak hesaplandı (Tablo 4). Yüksek insektisidal etkiye sahip izolatlar için en uygun doz seviyesini belirlemek amacıyla doz denemeleri gerçekleştirildi.

Tablo 4. Entomopatojen fungusların *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki probit analizinin parametre değerleri

Suşlar	LT ₅₀ (FL, %95) (günler) ^a	(Slope ± SE) ^b	LT ₉₅	df	X ²
4-Güm-A	5,91 (5,35-6,74)	0,5±0,066	10,22	4	0,027
287	6,51 (5,84-7,66)	0,5±0,069	11,08	4	0,667
269	8,42 (7,30-11,68)	0,33±0,107	12,56	4	1,347
As-2	6,34 (5,75-7,31)	0,5±0,07	10,56	4	0,203
As-18	6,43 (5,72-7,72)	0,36±0,065	11,54	4	0,129
Hp-4	6,74 (5,95-8,33)	0,36±0,066	12,11	4	0,048
Hp-5	5,83 (5,29-6,59)	0,48±0,067	9,97	4	0,154
K4	7,09 (6,25-8,82)	0,4±0,07	12,17	4	0,31
K5	6,92 (6,22-8,23)	0,5±0,076	11,2	4	1,72
Oj-3	8,01 (6,98-10,57)	0,5±0,086	12,61	4	0,988
Oj-7	8,24 (7,10-11,30)	0,375±0,086	13,12	4	1,22
Pa-5	6,23 (5,58-7,31)	0,5±0,066	11,01	4	0,045
Rh	6,89 (6,03-8,70)	0,4±0,065	12,52	4	0,083

Slope: Eğim, SE: Standart hata, df: Serbestlik derecesi, X²: Ki-kare.

^aGüven aralığı %95 önem seviyesinde

^b*G. mellonella*'nın fungus izolatlarına karşı tepki eğimi

3.3. Doz Denemeleri

Tarama testi sonucunda, 13 entomopatojenik fungus arasında en yüksek insektisidal aktiviteye sahip olan 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*), As-2 (*Metarhizium flavoviride*), Hp-5 (*Beauveria bassiana*) ve Pa-5 (*Beauveria bassiana*) suşları, doz denemelerinde kullanılmak üzere seçildi. Bu denemeler kapsamında, her bir izolatın spor süspansiyonları 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ve 1×10^9 spor/ml konsantrasyonlarında uygulanmış olup, elde edilen ölüm oranları Abbot formülü (Abbott, 1925) ile hesaplandı. Deney sonuçları, uygulanan spor konsantrasyonunun artmasıyla ölüm oranlarında da paralel bir yükseliş olduğunu ortaya koydu (Şekil 16).

Dört fungal suşun en yüksek konsantrasyonda (1×10^9 spor/ml) neden olduğu ölüm oranları sırasıyla; Hp-5 için %96,6, 4-Güm-A için %83,3, Pa-5 için %70 ve As-2 için %66 olarak belirlendi.

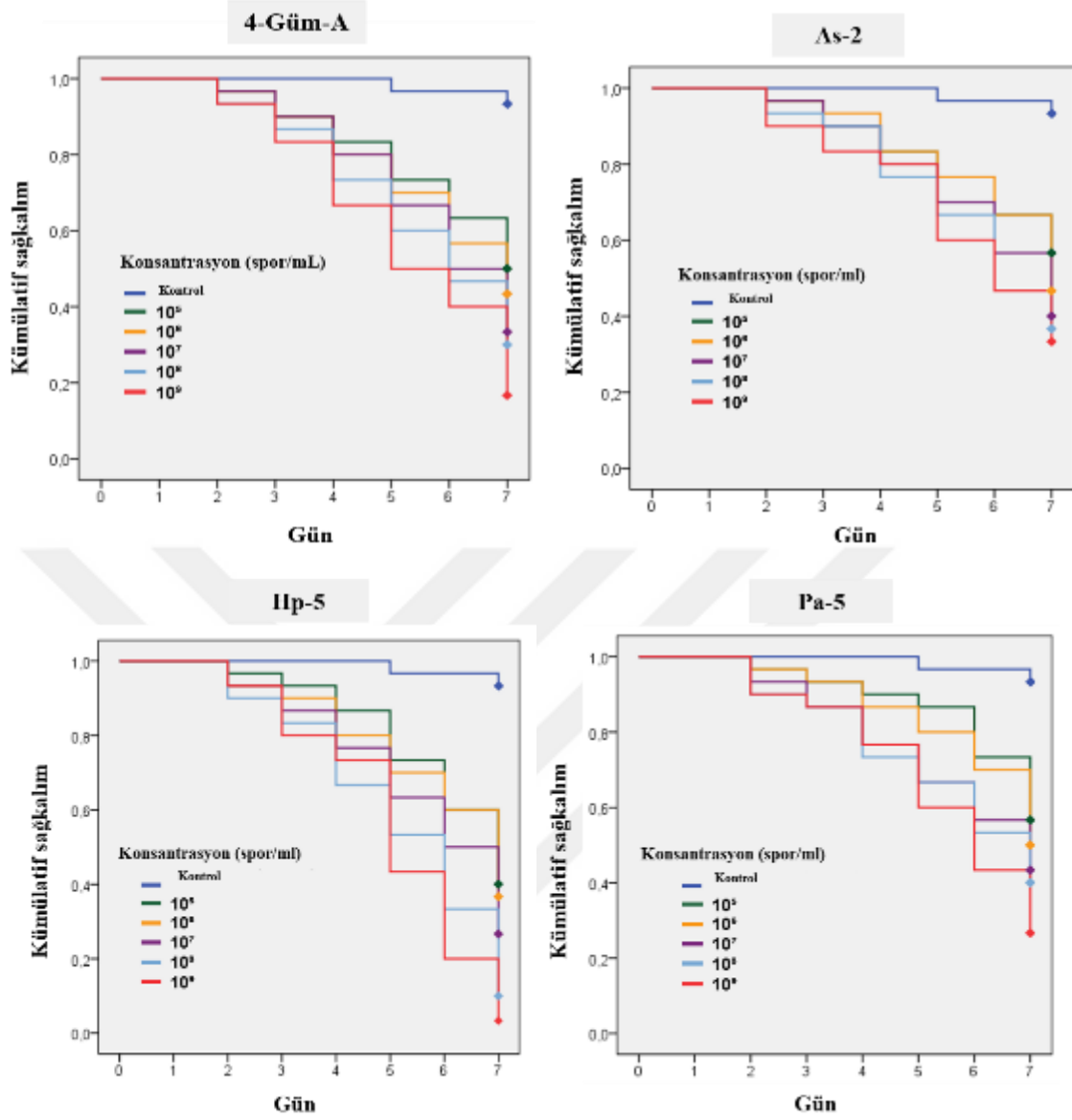
Uygulamanın 7. günü itibariyle, 4-Güm-A izolatının 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 spor/ml konsantrasyonlarında *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki ölüm oranları ise sırasıyla %70, %66,6, %56,6 ve %50 olarak hesaplandı. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler, 4-Güm-A izolatının farklı doz seviyeleri arasında anlamlı farklar olduğunu gösterdi ($p < 0,05$).

As-2 izolatının 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 spor/ml konsantrasyonlarında *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki ölüm oranları ise sırasıyla %63,3, %60, %53,3 ve %43,3 olarak hesaplandı. İstatistiksel analizler, As-2 izolatının farklı konsantrasyonları arasında anlamlı farklılıkların bulunduğunu ortaya koydu ($p < 0,05$).

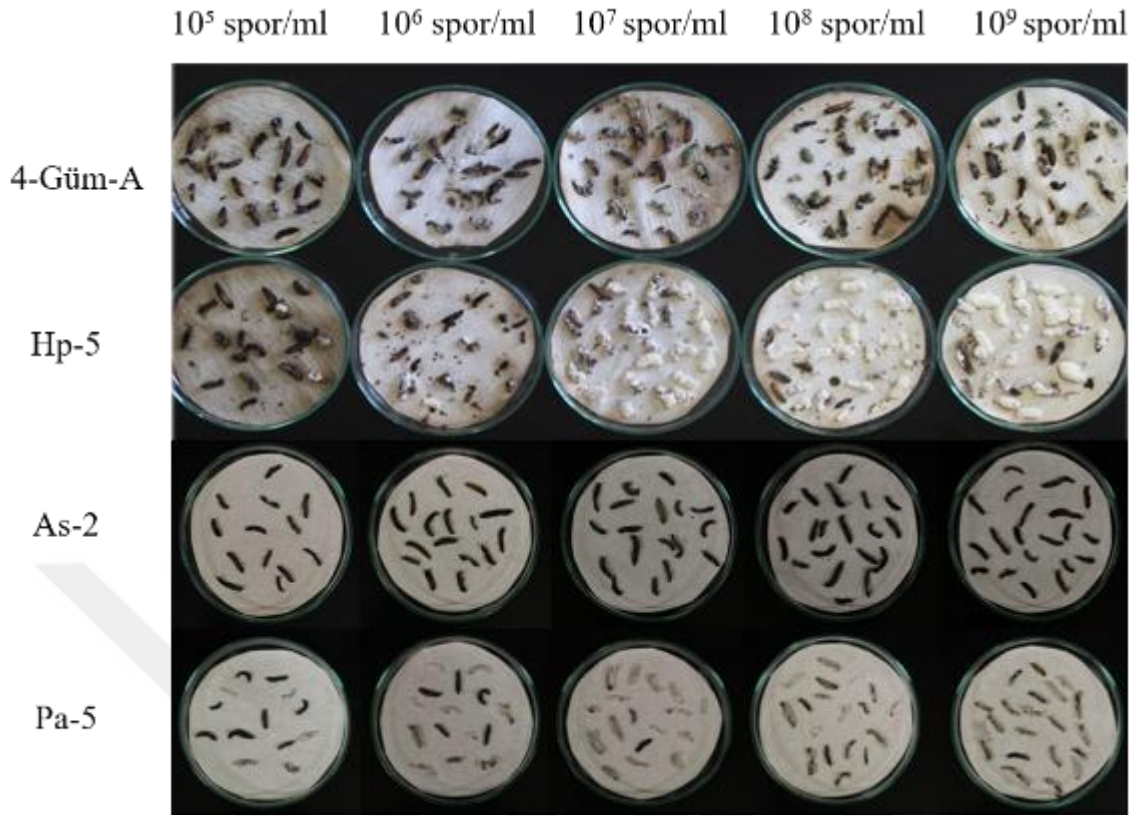
Hp-5 izolatının 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 spor/ml konsantrasyonlarında *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki ölüm oranları ise sırasıyla %90, %73,3, %63,3 ve %60 olarak belirlendi. Yapılan analizler, Hp-5 izolatının farklı konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu gösterdi ($p < 0,05$).

Pa-5 izolatının 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 ve 1×10^5 spor/ml konsantrasyonlarında *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki ölüm oranları ise sırasıyla %60, %56,6, %50 ve %43,3 olarak belirlendi. İstatistiksel analizler, Pa-5 izolatının farklı konsantrasyonları arasında anlamlı farklılıkların bulunduğunu ortaya koydu ($p < 0,05$).

Farklı doz seviyelerinin karşılaştırıldığı deneyler sonucunda, Hp-5 ve 4-Güm-A izolatlarının diğer suşlara kıyasla daha yüksek ölüm oranına sahip olduğu belirlendi. Ayrıca, ölen larvalarda mikozlanma ve melanizasyon belirtileri gözlemlendi (Şekil 17).



Şekil 16. Hp-5, 4-Güm-A, As-2 ve Pa-5'in farklı dozlarının *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki etkileri



Şekil 17. 4-Güm-A, As-2, Hp-5 ve Pa-5 izolatlarının 10^{5-9} spor/ml dozlarında *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki mikozlanma ve melanizasyonu

Denemelerin 7. gününde belirlenen LC_{50} değerleri ise 4-Güm-A için $1,5 \times 10^5$ spor/ml, As-2 için $5,6 \times 10^5$ spor/ml, Hp-5 için $5,5 \times 10^4$ spor/ml, Pa-5 için $1,2 \times 10^6$ spor/ml olarak hesaplandı (Tablo 5).

Tablo 5. Seçilen entomopatojen fungusların *Galleria mellonella* üzerindeki probit analizinin parametre değerleri

Suşlar	LC_{50} (FL, %95) ^a	(Slope $\pm$ SE) ^b	LC_{95}	df	X^2
4-Güm-A	$1,5 \times 10^5$ (1×10^4 - $6,7 \times 10^5$)	$0,25 \pm 0,042$	$3,45 \times 10^{12}$	3	1,275
As-2	$5,6 \times 10^5$ ($7,8 \times 10^3$ - $3,6 \times 10^6$)	$0,175 \pm 0,04$	$1,49 \times 10^{17}$	3	0,915
Hp-5	$5,5 \times 10^4$ (2×10^2 - $9,7 \times 10^5$)	$0,5 \pm 0,05$	$1,9 \times 10^9$	3	6,115
Pa-5	$1,2 \times 10^6$ ($7,6 \times 10^4$ - $5,9 \times 10^6$)	$0,2 \pm 0,041$	$1,17 \times 10^{16}$	3	0,366

Slope: Eğim, SE: Standart hata, df: Serbestlik derecesi, X^2 : Ki-kare.

^aGüven aralığı %95 önem seviyesinde

^b*G. mellonella*'nın fungus izolatlarına karşı tepki eğimi

3.4. Abiyotik Faktörlerin Seçilen Suşlar Üzerindeki Etkileri

3.4.1. Sıcaklığın Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi

Beş farklı sıcaklık derecesinin (8, 18, 28, 30, 35 °C) radyal büyüme üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada, deney grubunun 12. gününde kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 6). Kontrol grubu olarak 28 °C'deki deney grubu dikkate alınmıştır. Fungal suşlar 8 °C ve 35 °C'de hiçbir büyüme göstermedi (Tablo 6, Şekil 18). Sıcaklığın seçilen fungal suşların spor üretimi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yapılan deneyde, petrilerden toplanan fungal sporlar süspansiyon haline getirildi ve Neubauer hemositometresi kullanılarak sayıldı, ardından konsantrasyonları hesaplandı. İstatistiksel analizler sonucunda, farklı sıcaklık koşullarında suşların spor üretiminde, kontrol sıcaklığı (28 °C) ile karşılaştırıldığında anlamlı farklar olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 7).

Dört suş arasında en iyi radyal gelişme ve spor üretimi, kontrol sıcaklığı olarak kabul edilen 28 °C'de gözlemlendi. Bu sıcaklıkta 4-Güm-A 17 mm, As-2 16 mm, Hp-5 17 mm ve Pa-5 ise 18 mm yarıçapında radyal büyüme gösterdi. Kontrol sıcaklığının altındaki ve üstündeki sıcaklıklarda ise tüm suşlar büyüme kaybı yaşadı.

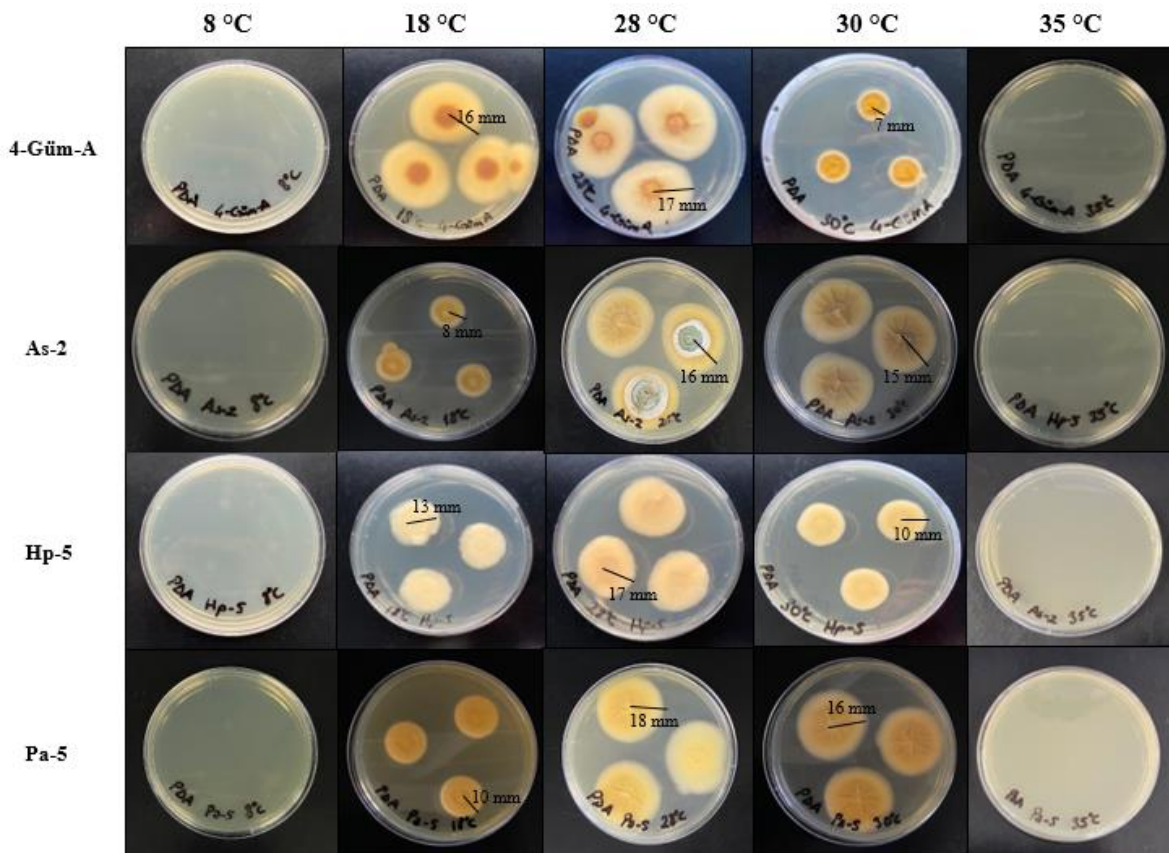
4-Güm-A ve Hp-5 suşları, diğer suşlar ve kontrol sıcaklığıyla kıyaslandığında 18 °C'de en iyi radyal büyüme gösteren suşlar olarak belirlendi. Pa-5 suşu ise 30 °C'de diğer suşlara göre daha iyi radyal büyüme sergileyen izolat olarak tespit edildi (Tablo 6).

Tablo 6. Sıcaklığın seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine etkisi

Sıcaklık (°C)	Suşlar (mm± SD)			
	4-Güm-A	As-2	Hp-5	Pa-5
8	0±0	0±0	0±0	0±0
18	15.9 ±0.24	8.3 ±0.46	13.2±0.21	10.5±0.86
28	17.0 ±0.12	16.3±0.32	17.4±0.26	18.0±0.45
30	7.4±0.37	14.8±0.43	10.1±0.91	16.2±0.18
35	0±0	0±0	0±0	0±0

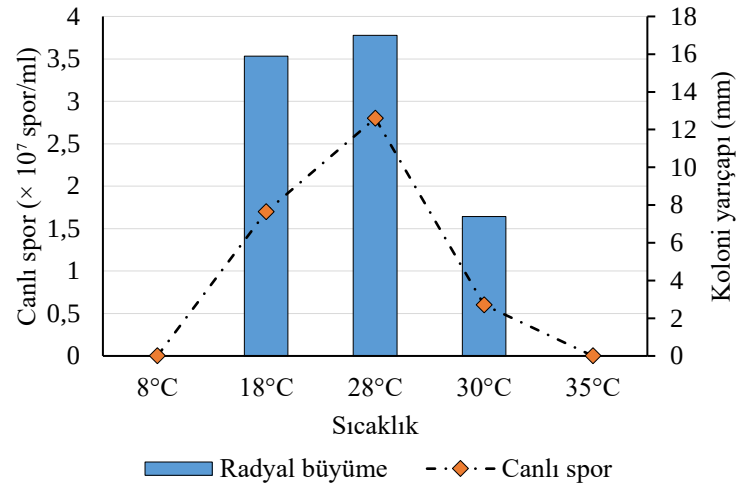
Tablo 7. Sıcaklığın seçilen fungal suşların spor üretimi üzerine etkisi

Sıcaklık (°C)	Suşlar (spor/ml $\times 10^7 \pm$ SD)			
	4-Güm-A	As-2	Hp-5	Pa-5
8	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
18	$1,7 \times 10^7 \pm 0.32$	$0,6 \times 10^7 \pm 0.83$	$2,5 \times 10^7 \pm 0.12$	$1,8 \times 10^7 \pm 0.18$
28	$2,8 \times 10^7 \pm 0.34$	$2,4 \times 10^7 \pm 0.33$	$3,5 \times 10^7 \pm 0.67$	$3,6 \times 10^7 \pm 0.88$
30	$0,6 \times 10^7 \pm 0.77$	$1,8 \times 10^7 \pm 0.64$	$1,8 \times 10^7 \pm 0.63$	$3 \times 10^7 \pm 0.66$
35	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0



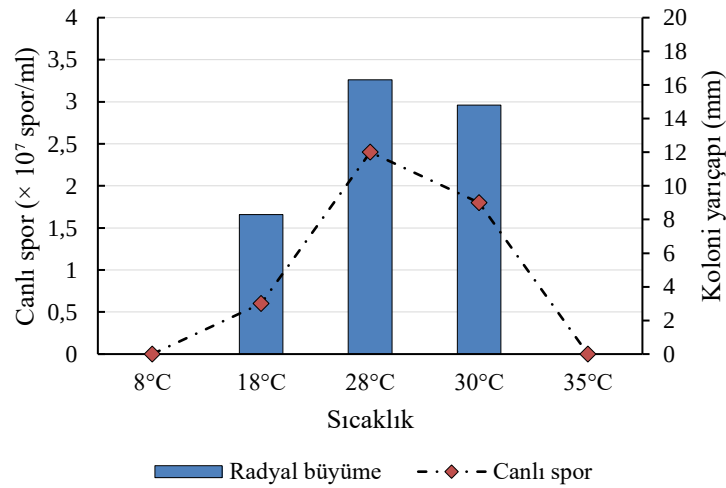
Şekil 18. Sıcaklığın seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine etkisi

Kontrol sıcaklığına (28 °C) kıyasla, 4-Güm-A izolatının 18 °C'de 12 gün sonunda %6,48 büyüme kaybı olduğu hesaplandı. Aynı izolatın 30 °C'de ise %56,48 büyüme kaybına uğradığı tespit edildi. 4-Güm-A 18 °C'de $1,7 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda spor üretimine sahip olurken, 30 °C'de $0,6 \times 10^7$ spor/ml ve 28 °C'de $2,8 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda spor üretimi gerçekleştirdiği hesaplandı (Şekil 19).



Şekil 19. Sıcaklığın 4-Güm-A suşunun radyal büyümesi ve spor üretimi üzerine etkisi

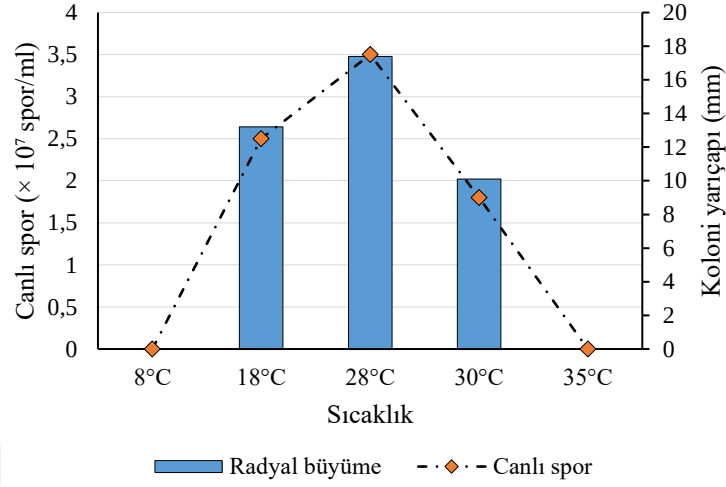
As-2 izolatu 18 °C'de 12 gün sonunda kontrol sıcaklığına göre %49,08 büyüme kaybı gösterdi, 30 °C'de ise %9,21'lik bir kayıp yaşandı. As-2 18 °C'de $0,6 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda spor üretimine sahip olurken, 30 °C'de $1,8 \times 10^7$ spor/ml ve 28 °C'de $2,4 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda spor üretimi gerçekleştiği hesaplandı (Şekil 20).



Şekil 20. Sıcaklığın As-2 suşunun radyal büyümesi ve spor üretimi üzerine etkisi

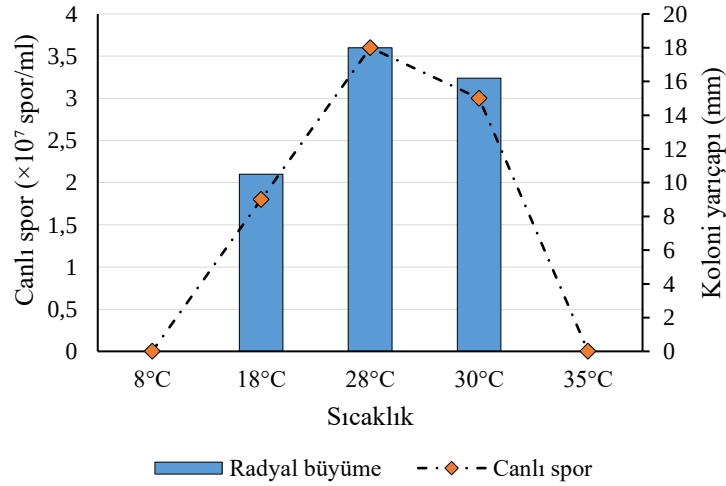
Hp-5 izolatu 18 °C'de kontrol sıcaklığına göre %24,14 büyüme kaybı yaşarken, aynı izolat 30 °C'de %41,96'lık bir büyüme kaybı gösterdi. Hp-5 18 °C'de $2,5 \times 10^7$ spor/ml

konsantrasyonda spor üretimine sahip olurken, 30 °C’de $1,8 \times 10^7$ spor/ml ve 28 °C’de $3,5 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda spor üretimi gerçekleştirdiği hesaplandı (Şekil 21).



Şekil 21. Sıcaklığın Hp-5 suşunun radyal büyümesi ve spor üretimi üzerine etkisi

Pa-5 izolatı ise 18 °C’de kontrol sıcaklığına göre %41,67 büyüme kaybı yaşadı ve 30 °C’de %10’luk bir kayıp gözlemlendi. Pa-5 18 °C’de $1,8 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda spor üretimine sahip olurken, 30 °C’de 3×10^7 spor/ml ve 28 °C’de $3,6 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonda spor üretimi gerçekleştirdiği hesaplandı (Şekil 22).



Şekil 22. Sıcaklığın Pa-5 suşunun radyal büyümesi ve spor üretimi üzerine etkisi

3.4.2. UV'nin Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi

Fungal suşların radyal büyümesi üzerinde UV-B (290-320 nm) ışınlarının etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, misel yarıçapları uygulamanın 12. gününde ölçüldü. İstatistiksel analiz sonuçları, maruziyet süresi arttıkça büyümenin azaldığını ve dört suşun da 120 dakika süreyle maruz bırakıldığında hiç büyüme göstermediğini ortaya koydu (Tablo 8). 4-Güm-A, As-2, Hp-5 ve Pa-5 suşlarının kontrol (0 dk) grubunda ölçülen radyal büyüme yarıçapları sırasıyla 17, 16, 19 ve 18 mm olarak hesaplanmıştır. Bu suşların 30 dakika maruziyet sonrası radyal büyüme yarıçapları sırasıyla 10, 4, 13 ve 10 mm olarak belirlendi. Suşların 60 dakika maruziyet sonrasında, radyal büyüme yarıçapları sırasıyla 8, 1, 10 ve 2 mm olduğu tespit edildi (Şekil 23).

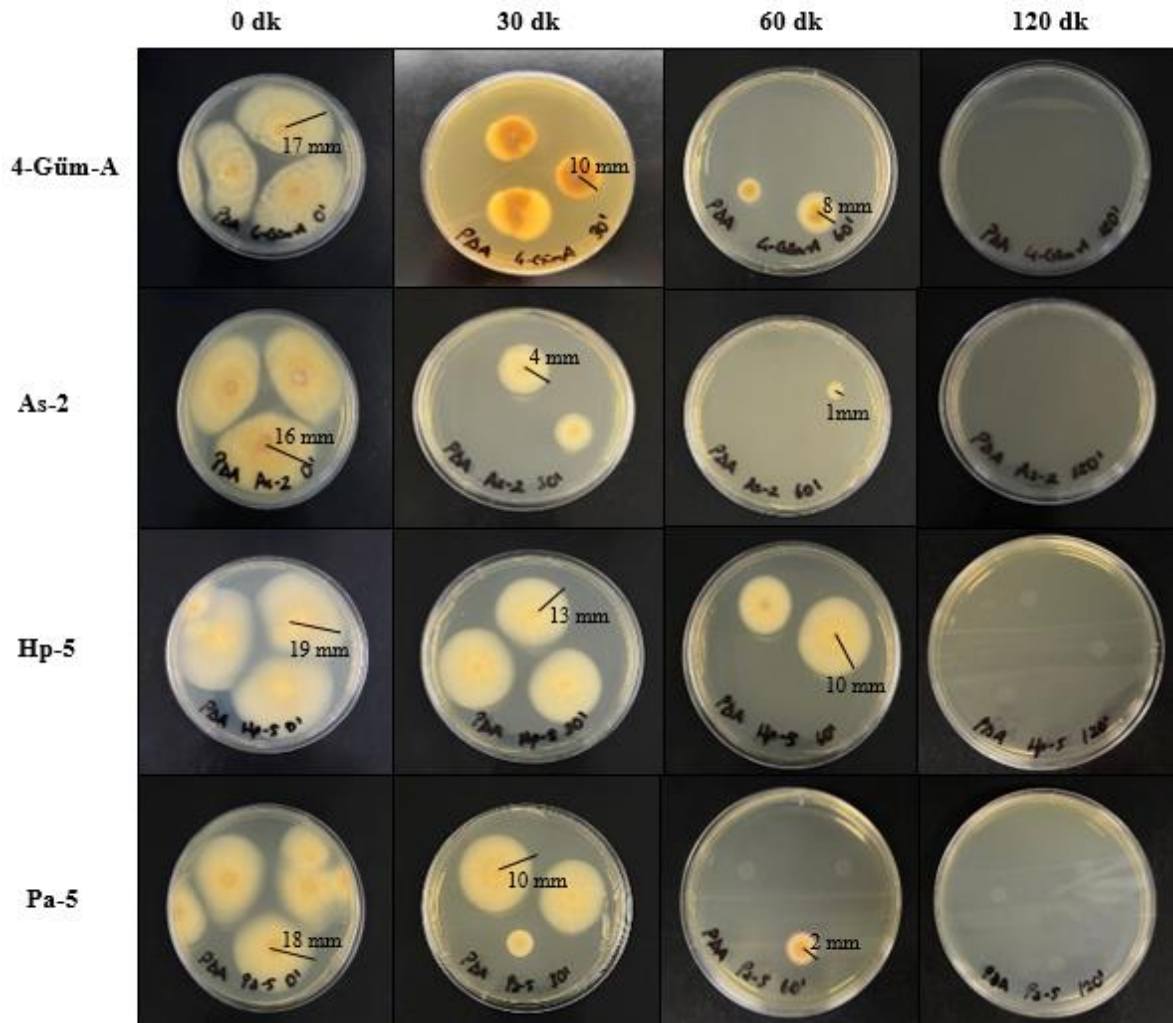
UV-B ışınlarının fungal suşlardaki spor üretimi üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmada, 0, 30, 60 ve 120 dakika süreyle UV-B'ye maruz bırakılan kültürlerden sporlar hasat edilerek, Neubauer hemositometresi kullanılarak spor konsantrasyonları sayıldı ve hesaplandı. Maruziyet süresinin artmasıyla birlikte, fungal suşların spor üretiminde bir azalma olduğu gözlemlendi (Tablo 9). Ayrıca, dört suşun da 120 dakika sonunda spor üretmediği belirlendi. Radyal büyüme ve spor üretimi bakımından 4-Güm-A suşunun As-2 suşuna göre, Hp-5 suşunun Pa-5 suşuna göre daha dayanıklı olduğu gözlemlendi.

Tablo 8. UV-B'nin seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine etkisi

Maruz kalma süresi (dk)	Suşlar (mm± SD)			
	4-Güm-A	As-2	Hp-5	Pa-5
0	17.2±0.11	16.5±0.41	19.2±0.55	18.3±0.42
30	10.4±0.38	4.0±0.11	13.3±0.68	9.8±0.31
60	8.1±0.13	1.0±0.37	10.1±0.77	1.9±0.58
120	0±0	0±0	0±0	0±0

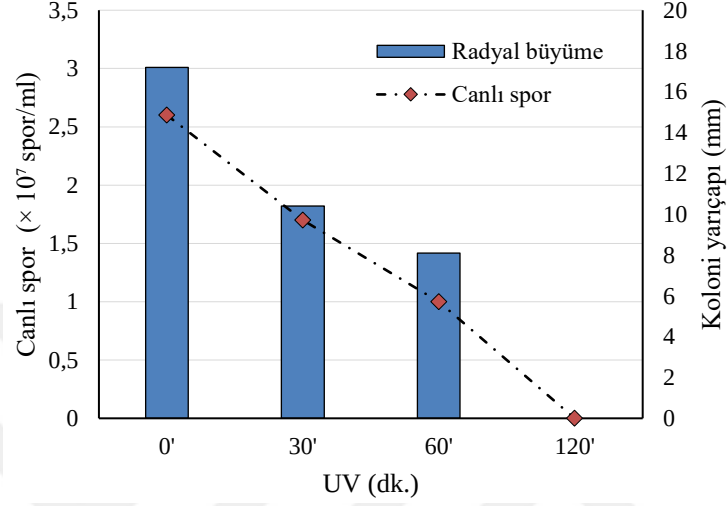
Tablo 9. UV-B'nin seçilen fungal suşların spor üretimi üzerine etkisi

Maruz kalma süresi (dk)	Suşlar (spor/ml $\times 10^7 \pm$ SD)			
	4-Güm-A	As-2	Hp-5	Pa-5
0	$2,6 \times 10^7 \pm 0.18$	$2,5 \times 10^7 \pm 0.29$	$3,1 \times 10^7 \pm 0.14$	$3 \times 10^7 \pm 0.57$
30	$1,7 \times 10^7 \pm 0.47$	$1 \times 10^7 \pm 0.17$	$2,2 \times 10^7 \pm 0.13$	$1,3 \times 10^7 \pm 0.81$
60	$1 \times 10^7 \pm 0.80$	$0,3 \times 10^7 \pm 0.22$	$1,2 \times 10^7 \pm 0.73$	$0,5 \times 10^7 \pm 0.72$
120	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0



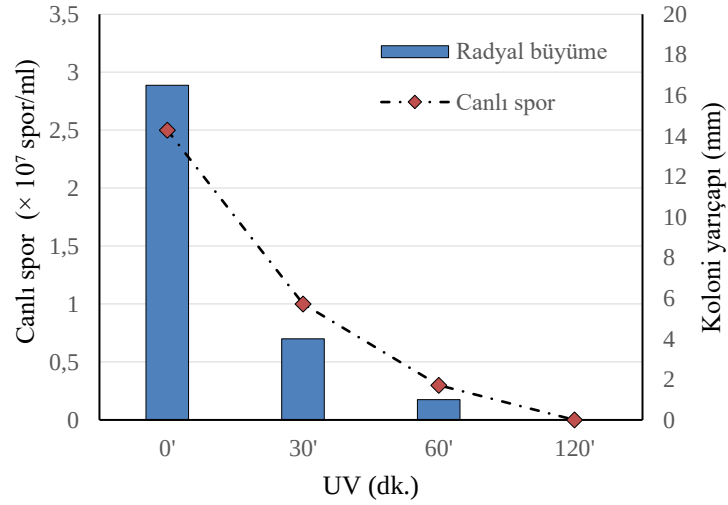
Şekil 23. UV-B'nin seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerindeki etkisi

4-Güm-A suşunun radyal büyüme oranı kontrol grubuna kıyasla 30 dk maruziyette %39,54, 60 dk maruziyette ise %52,91 oranında azalma olduğu görüldü. 4-Güm-A'nın kontrol grubunda (0 dk) $2,6 \times 10^7$ spor/ml, 30 dk'da $1,7 \times 10^7$ spor/ml ve 60 dk'da 1×10^7 spor/ml konsantrasyonlarda spor ürettiği tespit edildi (Şekil 24).



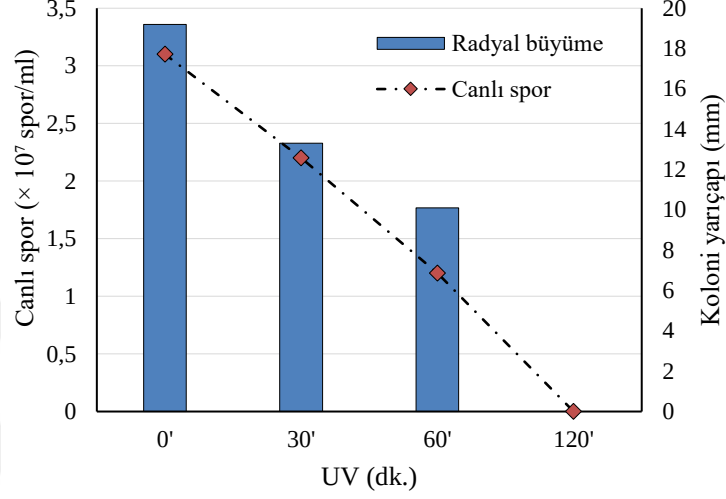
Şekil 24. UV-B'nin, 4-Güm-A suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi

As-2 suşunun radyal büyüme oranı kontrol grubuna kıyasla 30 dk maruziyette %75,76, 60 dk maruziyette ise %93,94 oranında azalma olduğu görüldü. As-2'nin kontrol grubunda (0 dk) $2,5 \times 10^7$ spor/ml, 30 dk'da 1×10^7 spor/ml ve 60 dk'da $0,3 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonlarda spor ürettiği tespit edildi (Şekil 25).



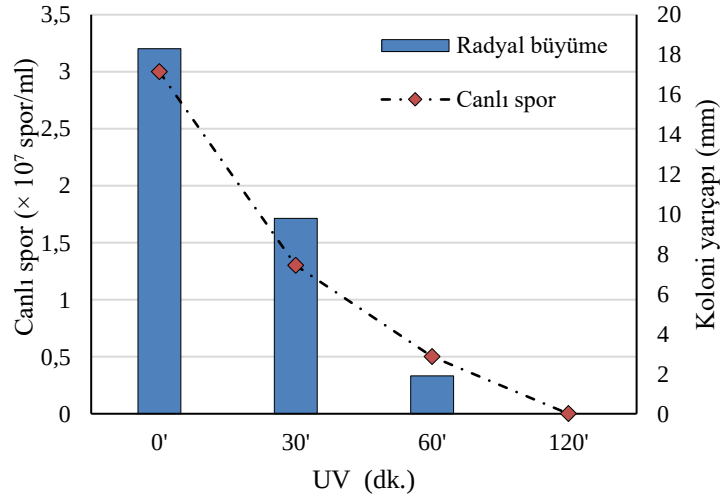
Şekil 25. UV-B'nin, As-2 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi

Hp-5 suşunun radyal büyüme oranı kontrol grubuna kıyasla 30 dk maruziyette %30,73, 60 dk maruziyette ise %52,60 oranında azalma olduğu görüldü. Hp-5'in kontrol grubunda (0 dk) $3,1 \times 10^7$ spor/ml, 30 dk'da $2,2 \times 10^7$ spor/ml ve 60 dk'da $1,2 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonlarda spor ürettiği tespit edildi (Şekil 26).



Şekil 26. UV-B'nin, Hp-5 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi

Pa-5 suşunun radyal büyüme oranı kontrol grubuna kıyasla 30 dk maruziyette %46,45, 60 dk maruziyette ise %89,62 oranında azalma olduğu görüldü. Pa-5'in kontrol grubunda (0 dk) 3×10^7 spor/ml, 30 dk'da $1,3 \times 10^7$ spor/ml ve 60 dk'da $0,5 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonlarda spor ürettiği tespit edildi (Şekil 27).



Şekil 27. UV-B'nin, Pa-5 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi

3.4.3. Nemin Seçilen Fungal Suşların Radyal Büyümesi ve Spor Üretimi Üzerine Etkisi

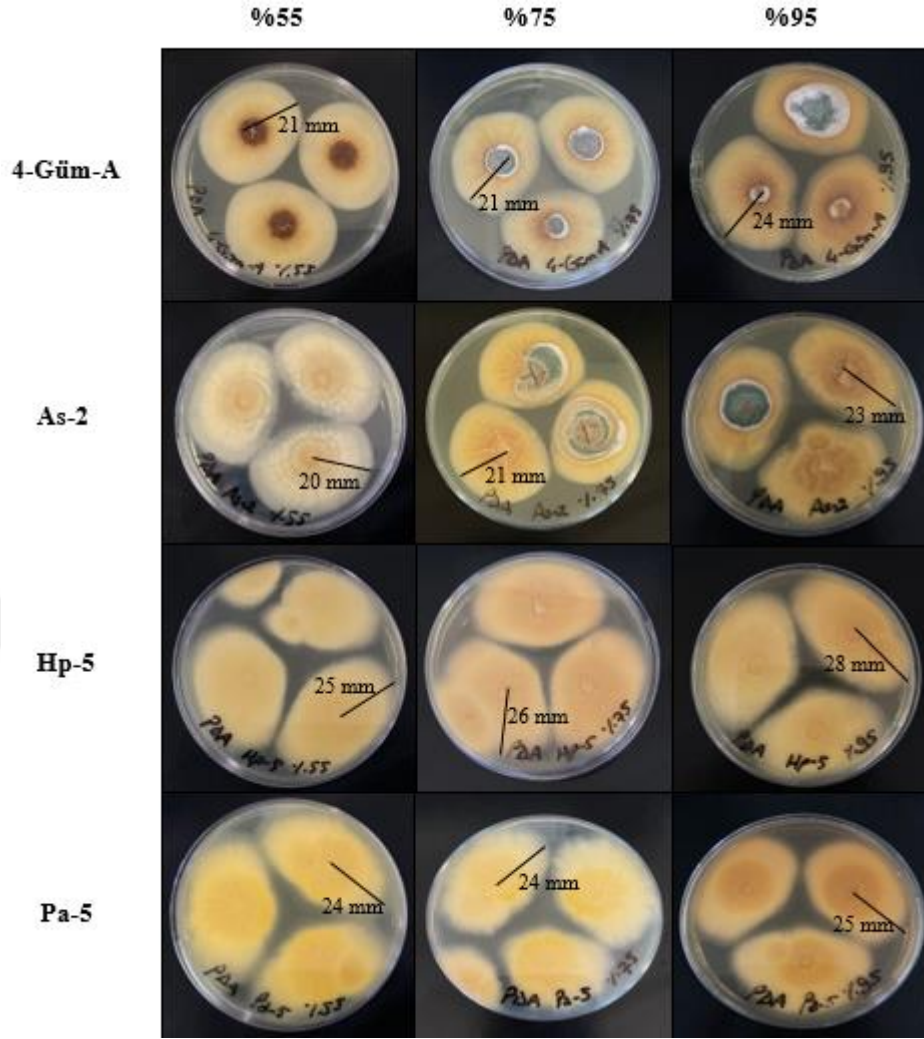
Seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine nemin etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, misel çapları uygulamanın 12. gününde ölçüldü. 4-Güm-A suşunda %55, 75 ve 95 nem koşullarında koloni yarıçap büyüklüğü sırasıyla 21, 21 ve 24 mm; As-2 suşunda 20, 21 ve 23 mm; Hp-5 suşunda 25, 26 ve 28 mm ve Pa-5 suşunda ise 24, 24 ve 25 mm olarak ölçüldü (Şekil 28, Tablo 10). Nemin fungal suşların spor üretimi üzerine etkisinin belirlenmesi için yapılan çalışmada, %55, 75 ve 95 nem koşullarında bırakılan kültürlerden sporlar hasat edilerek, Neubauer hemositometresi kullanılarak spor konsantrasyonları sayıldı ve spor sayısı hesaplamaları yapıldı. Nem oranı arttıkça seçilen dört suşta da spor üretiminde artış olduğu görüldü (Tablo 11).

Tablo 10. Nemin seçilen fungal suşların radyal büyümesi üzerine etkisi

Nem (%)	Suşlar (mm± SD)			
	4-Güm-A	As-2	Hp-5	Pa-5
55	20.9±0.11	19.7±0.56	25.0±0.18	23.8±0.22
75	21.3±0.43	20.1±0.27	26.0±0.51	24.1±0.56
95	24.4±0.63	22.8±0.45	28.2±0.71	25.3±0.97

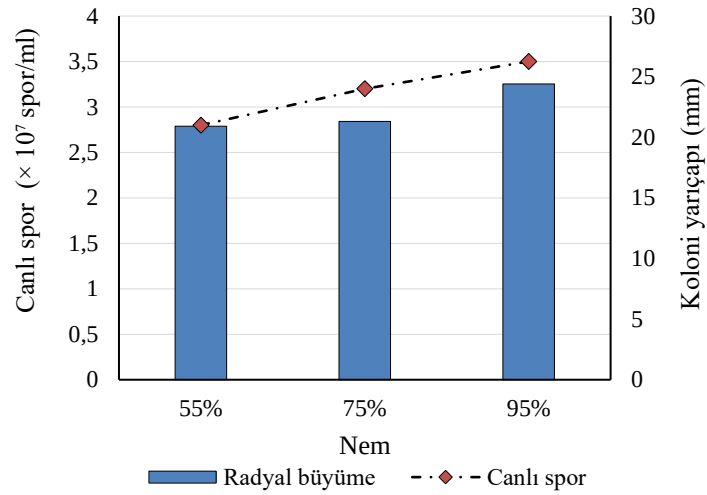
Tablo 11. Seçilen fungal suşların spor üretimi üzerine etkisi

Nem (%)	Suşlar (spor/ml × 10 ⁷ ± SD)			
	4-Güm-A	As-2	Hp-5	Pa-5
55	2,8 × 10 ⁷ ±0.17	2,5 × 10 ⁷ ±0.22	3 × 10 ⁷ ±0.49	2,9 × 10 ⁷ ±0.22
75	3,2 × 10 ⁷ ±0.48	2,8 × 10 ⁷ ±0.59	3,5 × 10 ⁷ ±0.47	3 × 10 ⁷ ±0.56
95	3,5 × 10 ⁷ ±0.66	3 × 10 ⁷ ±0.33	3,8 × 10 ⁷ ±0.56	3,5 × 10 ⁷ ±0.97



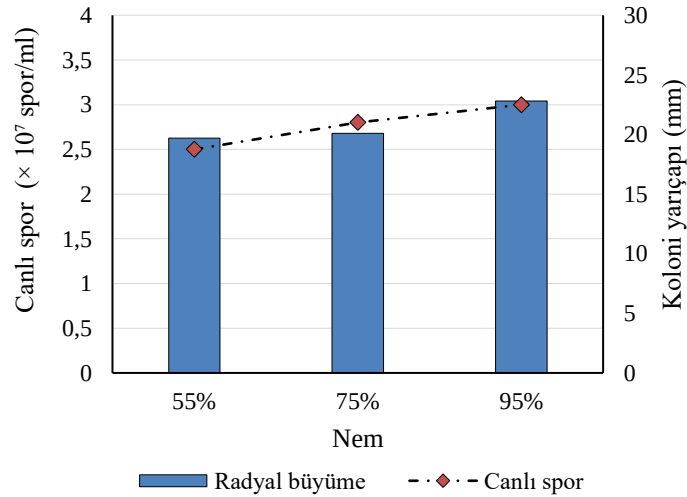
Şekil 28. Nemin fungal suşların radyal büyümeleri üzerindeki etkisi

4-Güm-A suşunun kontrol grubuna (%75) göre %55 nem seviyesinde %1,88 oranında radyal büyümesinde azalma olduğu belirlendi. Aynı suş için %95 nem seviyesinde radyal büyümede %14,55 oranında büyüme olduğu görüldü. 4-Güm-A suşunun %55'te $2,8 \times 10^7$ spor/ml, %75'te $3,2 \times 10^7$ spor/ml ve %95'te $3,5 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonlarında spor ürettiği tespit edildi (Şekil 29).



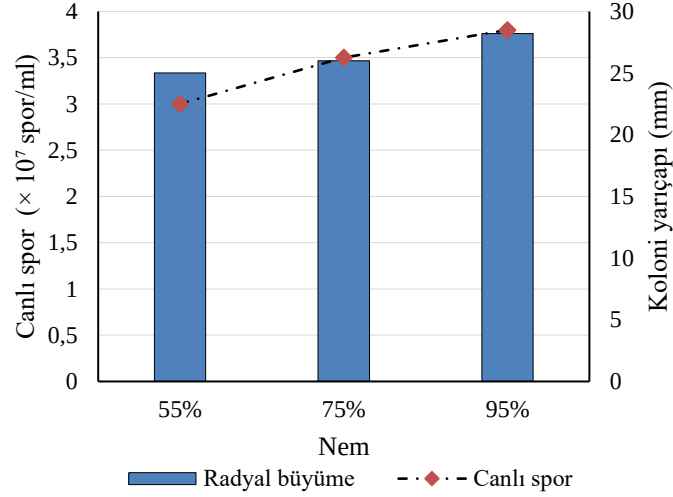
Şekil 29. Nemin, 4-Güm-A suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi

As-2 suşunun kontrol grubuna (%75) göre %55 nem seviyesinde %2 oranında radyal büyümesinde azalma olduğu belirlendi. Aynı suş için %95 nem seviyesinde radyal büyümede %13,43 oranında büyüme olduğu görüldü. As-2 suşunun %55'te $2,5 \times 10^7$ spor/ml, %75'te $2,8 \times 10^7$ spor/ml ve %95'te 3×10^7 spor/ml konsantrasyonlarında spor ürettiği tespit edildi (Şekil 30).



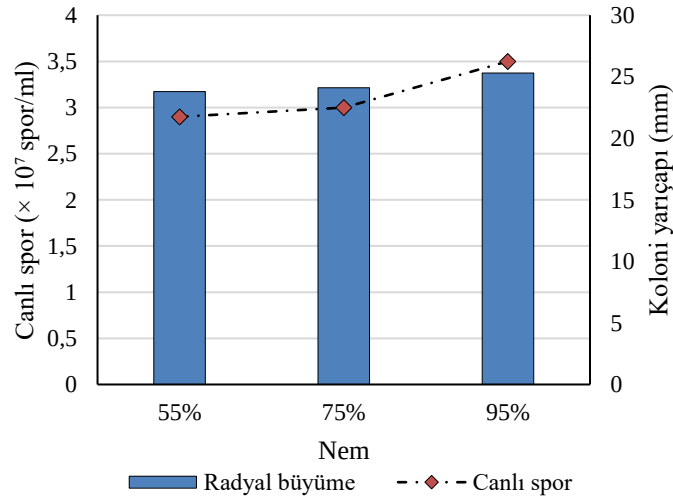
Şekil 30. Nemin, As-2 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi

Hp-5 suşunun kontrol grubuna (%75) göre %55 nem seviyesinde %3,85 oranında radyal büyümesinde azalma olduğu belirlendi. Aynı suş için %95 nem seviyesinde radyal büyümede %8,46 oranında büyüme olduğu görüldü. Hp-5 suşunun %55'te 3×10^7 spor/ml, %75'te $3,5 \times 10^7$ spor/ml ve %95'te $3,8 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonlarında spor ürettiği tespit edildi (Şekil 31).



Şekil 31. Nemin, Hp-5 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi

Pa-5 suşunun kontrol grubuna (%75) göre %55 nem seviyesinde %1,25 oranında radyal büyümesinde azalma olduğu belirlendi. Aynı suş için %95 nem seviyesinde radyal büyümede %4,97 oranında büyüme olduğu görüldü. Pa-5 suşunun %55'te $2,9 \times 10^7$ spor/ml, %75'te 3×10^7 spor/ml ve %95'te $3,5 \times 10^7$ spor/ml konsantrasyonlarında spor ürettiği tespit edildi (Şekil 32).



Şekil 32. Nemin Pa-5 suşunun radyal büyüme ve spor üretimi üzerine etkisi

3.5. Formülasyonun Geliştirilmesi

Doz denemeleri ve abiyotik faktörlere dayanıklılık özellikleri değerlendirildiğinde 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*) ve Hp-5 (*Beauveria bassiana*) suşlarının mikoinsektisit geliştirilmesinde avantajlı olduğu sonucuna varıldı.

3.5.1. 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*) Suşunun Katı Substratta Üretilmesi

Fungus kültürü hazırlandıktan sonra, büyütme torbalarına aktarıldı. Bu işlem sonrasında, her kilogram pirinç için 150 ml fungus sporu çözeltisi eklenerek, 1×10^7 ile 5×10^8 spor/ml arasında bir konsantrasyon sağlandı. Deney düzeneği 2.5.2’de açıklandığı şekilde kuruldu. Ardından, torbalar 28 °C sıcaklıkta 20-30 gün boyunca inkübe edilmeye bırakıldı. İnkübasyon süresince, fungus sporlarının düzgün bir şekilde gelişebilmesi için, her 5 günde bir, torbalara masaj yapılarak sporların homojen bir şekilde dağılması sağlandı (Şekil 33). Fungal gelişme bağlı olarak pirinçler yeşil renge büründü. Kontaminasyon riskine karşı torbalardaki fungal gelişim günlük izlendi.



Şekil 33. 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*) suşunun katı substrat olarak seçilen pirinç üzerinde büyümesi

Konidiyalardan spor hasadı gerçekleştirmek amacıyla büyüme sonrası bir ön kurutma işlemi uygulandı (Şekil 34). Bu işlem, 28 °C’de 10-15 gün süresince inkübasyona bırakılarak tamamlandı. Süreç boyunca, kraft kâğıtlarından her 5 günde bir örnekler alınarak yaş ve kuru ağırlık ölçümleri yapıldı, ardından nem oranları hesaplandı. Örnek alma işlemi, kontaminasyon riskini minimuma indirmek için steril kabinde gerçekleştirildi. Pirinçlerin

büyütme torbasında fungus gelişimi için inkübasyon edilmesiyle pirinçlerin nemli olduğu görüldü ve eleme işlemini zorlaştırdığı görüldü bu yüzden ön kurutma işleminin olması gerektiği görüldü.



Şekil 34. Pirinç üzerinde büyüyen 4-Güm-A suşunun ön kurutma aşaması

Ön kurutmanın ardından, uygun gözenek boyutlarına sahip elekler kullanılarak fungus sporları toplandı. 4-Güm-A izolatından elde edilen sporlar, vakumlu desikatör yardımıyla nem oranı %5'e düşürülene kadar kurutuldu. Kurutma işlemi sonrasında, sporların seri seyreltiklerinden seçici besi yerine ekim yapıldı ve gram başına düşen aktif spor miktarı koloni oluşturan birim (CFU) olarak 2×10^{11} spor/ml şeklinde belirlendi. Hazırlanan toz formundaki sporlar, kullanılmak üzere 100 ml'lik cam şişelerde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de düşük nemli bir ortamda muhafaza edildi (Şekil 35).



Şekil 35. Katı substrat üzerinde üretilerek hasat edilmiş 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*) sporları

3.5.2. Hp-5 (*Beauveria bassiana*) Suşunun Üretilmesi

Hp-5 suşuna ait blastosporlar, sıvı ortamda başlangıç kültürü ile üretildi. Hazırlanan blastosporlar, 5×10^6 spor/ml yoğunluğunda bir süspansiyon olarak basal tuz besi yerine eklenerek inokülasyon gerçekleştirildi. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından elde edilen blastosporlar, steril su içerisinde çözülüp minimum 2×10^{10} spor/ml konsantrasyonuna ayarlandı. Deney düzeneği 2.5.3'te açıklandığı şekilde kuruldu.

Kurutma işlemine geçilmeden önce blastosporların morfolojik değişiklik gösterip göstermediğini belirlemek için mikroskopla gözlem yapıldı. Buna ek olarak, sporlar PDAY besi yerine aktarılarak aktif yapıların oluşumu değerlendirildi. Üretilen blastosporlar, kurutma işleminden önce besi yeri kalıntılarından arındırıldı (Şekil 36).



Şekil 36. Hp-5 suşunun besi yerinde üretilmesi ve saflaştırılması

Blastosporların süt tozu (Skim Milk Powder) içerisinde çözülmesi, sprey kurutma işlemi sırasında virülans kaybını minimum düzeyde tutmak için tercih edildi. Hp-5 blastosporları sprey kurutucuda kurutuldu (Şekil 37). Kurutma işlemi sonrasında elde edilen sporların koloni oluşturan birim değerini belirlemek amacıyla kuru sporlardan 1 g alınarak seri seyreltik çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden seçici besi yerine ekim yapılarak koloni sayımı gerçekleştirildi. Spor konsantrasyonu, gram başına 2×10^{11} aktif blastospor olacak şekilde ayarlandı ve yağ formülasyonunda kullanılacak aktif spor miktarı hesaplandı. Son olarak, elde edilen sporlar kullanılmak üzere 100 ml'lik cam şişelerde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de düşük nemli bir ortamda muhafaza edildi (Şekil 37).



Şekil 37. Hp-5 suşunun blastosporlarının spray kurutucuda kurutulması ve spray kurutucudan geçirilmiş Hp-5 (*Beauveria bassiana*) sporları

3.6. Formülasyonda Kullanılacak Bitkisel Yağın Seçilmesi

İlk olarak *Galleria mellonella* larvalarının bitkisel yağlara olan ilgisi değerlendirildi. Deney düzeneği 2.6'da açıklandığı gibi kuruldu. Larvaların mentol ve lavanta yağlarına olan hareketi gözlemlendi ve bir saatin sonunda larvaların mentol ve kontrole kıyasla lavanta yağına yöneldiği görüldü.

Larvaların yağ tercihinin tespitinden sonra seçilen fungal suşların belirlenen yağların farklı konsantrasyonlarındaki çimlenme oranları değerlendirildi. 2.6'da açıklandığı gibi kurulan deney düzeneği üzerinde çalışıldı. İnkübasyon sonunda süspansiyonlar spektrofotometrede ölçüldü. Hp-5 ve 4-Güm-A suşlarının %5 lavanta yağı ve %30 ayçiçek yağı içeren süspansiyonda en iyi spor üretiminin gerçekleştiği gözlemlendi.

3.7. Üretilen Konidiyaların Bitkisel Yağ ile Karıştırılması

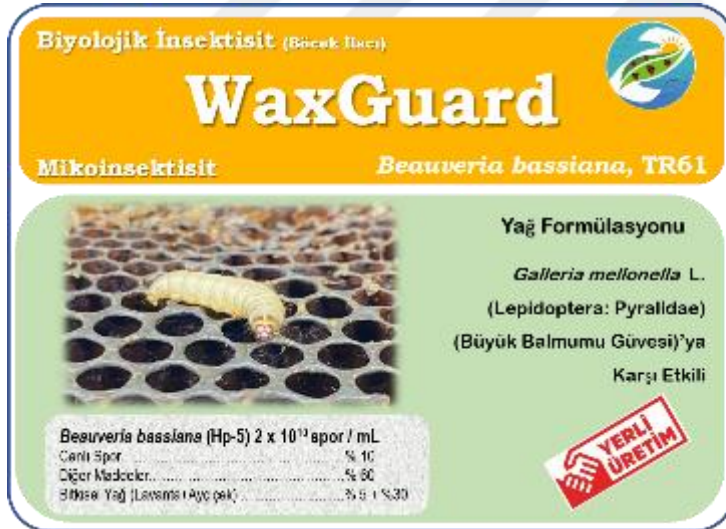
Her iki suş kullanılarak yukarıda belirtildiği şekilde toz formunda sporlar elde edildi. Bu suşlardan 2.7’de açıklandığı üzere %30 Ayçiçek yağı ve %5 Lavanta yağı içeren formülasyonlar hazırlandı. Oluşturulan bu formülasyonlara; WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Lavanta Yağı (Hp-5 formülasyonu); WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Ayçiçek Yağı (Hp-5 formülasyonu); WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Ayçiçek ve Lavanta Yağı (Hp-5 formülasyonu); WaxGuard *Metarhizium anisopliae* TR61, Lavanta Yağı (4-Güm-A formülasyonu); WaxGuard *Metarhizium anisopliae* TR61, Ayçiçek Yağı (4-Güm-A formülasyonu); WaxGuard *Metarhizium anisopliae* TR61, Ayçiçek ve Lavanta Yağı (4-Güm-A formülasyonu) adı verildi (Şekil 38- Şekil 43). Ürünlerin bileşimi, stok formülasyon içeriğinde %10 aktif spor içerecek şekilde düzenlendi. Ürünlerin nihai konsantrasyonu ise 2×10^{10} CFU/ml olarak ayarlandı.



Şekil 38. WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Lavanta Yağı (Hp-5 formülasyonu)



Şekil 39. WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Ayçiçek Yağı (Hp-5 formülasyonu)



Şekil 40. WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Lavanta+Ayçiçek Yağı (Hp-5 formülasyonu)



Şekil 41. WaxGuard *Metarhizium anisopliae* TR61, Lavanta Yağı (4-Güm-A Formülasyonu)



Şekil 42. WaxGuard *Metarhizium anisopliae* TR61, Ayçiçek Yağı (4-Güm-A formülasyonu)



Şekil 43. WaxGuard *Metarhizium anisopliae* TR61, Lavanta+Ayçiçek Yağı (4-Güm-A Formülasyonu)

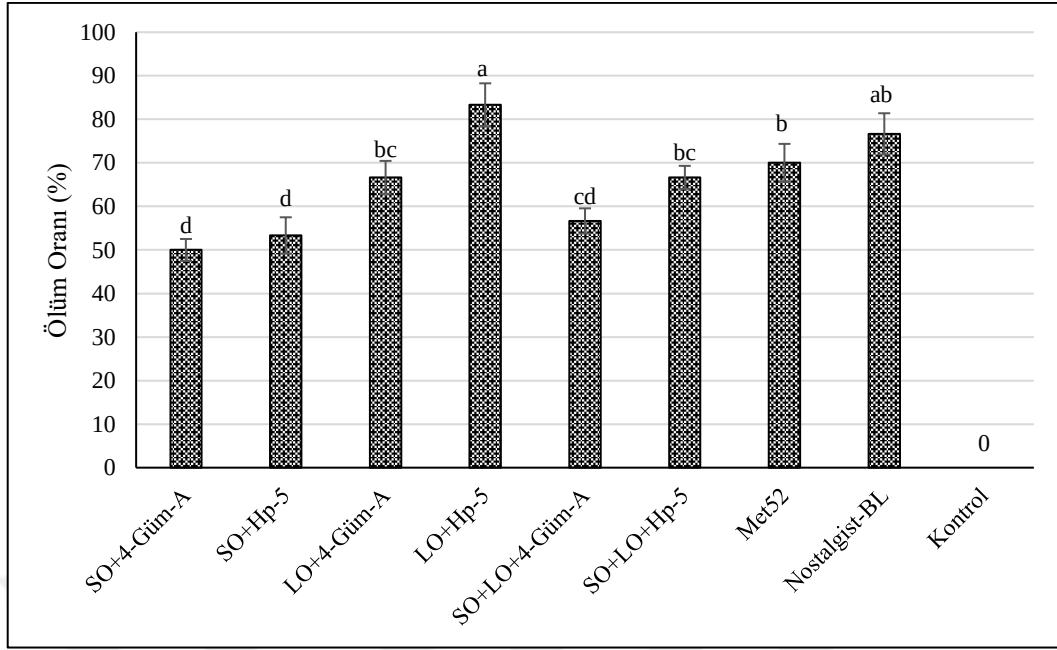
3.8. Mikoinsektisitlerin Etkinliğinin Test Edilmesi

3.8.1. Mikoinsektisitlerin *Galleria mellonella* Larvaları Üzerinde Test Edilmesi

Mikoinsektisitlerin stok solüsyonlarından 1×10^8 spor/ml uygulama solüsyonları hazırlandı. Solüsyonlar üçüncü evre *Galleria mellonella* larvalarına uygulandı. Uygulama sonrası ölü tespit edilen larvalar sayıldı ve yüzde ölüm değerleri hesaplandı.

Yapılan çalışmada geliştirilen formülasyonlar, ticari ürünler ve kontrol grubu karşılaştırıldı, aralarında anlamlı farklılıklar ortaya koyuldu ($p < 0,05$). Uygulama sonucunda Hp-5 (*B. bassiana*)’dan üretilen LO+Hp-5 ürününün en yüksek mortalite oranına sahip olduğu belirlendi (Şekil 44). Ölen larvalar üzerinde mikozlanma ve melanizasyon görüldü (Şekil 45). Üretilen mikoinsektisitlerin zararlı üzerinde test edilmesi sonucunda Abbot formülüne (Abbott, 1925) göre LO+Hp-5 %83,3, LO+4-Güm-A için %66,6, SO+LO+Hp-5 için %66,6, SO+LO+4-Güm-A için %56,6, SO+Hp-5 %53,3, SO+4-Güm-A için %50 oranlarında mortalite belirlendi (Şekil 44). Kontrol gruplarında ticari ürün Nostalgist-BL için %76,6, Met52 için %70 ve Kontrol %0 olarak belirlendi.

Tüm durumlar Tek Yönlü Varyans Analiz (ANOVA)’da Post Tukey HSD testinde karşılaştırıldı ve gruplar arasındaki anlamlı farklar ortaya koyuldu ($F=27,02$, $df=7$, $p < 0,05$).



Şekil 44. Mikoinsektisitlerin *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki mortalite oranları
SO: Ayçiçek Yağı, LO: Lavanta Yağı



Şekil 45. Geliştirilen mikoinsektisitlerin ve ticari ürünlerin *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki mikozlanma ve melanizasyon görüntüleri

Geliştirilen mikoinsektisitlerin *Galleria mellonella* larvalarına uygulanmasından yedi gün sonra belirlenen LC₅₀ değerleri LO+4-Güm-A için $0,6 \times 10^7$ spor/ml, SO+4-Güm-A için $0,5 \times 10^8$ spor/ml, SO+LO+4-Güm-A için $0,3 \times 10^8$ spor/ml, LO+Hp-5 için $0,9 \times 10^6$ spor/ml, SO+Hp-5 için $0,3 \times 10^8$ spor/ml ve SO+LO+Hp-5 için $0,6 \times 10^6$ spor/ml olarak hesaplandı (Tablo 12).

Tablo 12. Geliştirilen mikoinsektisitlerin *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki LC₅₀ değerleri

Formülasyon	LC ₅₀ (konidia ml ⁻¹) (FL 95%) ^a	(Slope ± SE) ^b	X ²	df
LO+4-Güm-A	$0,6 \times 10^7$ ($0,36 \times 10^6$ - $1,1 \times 10^8$)	0,38±0,636	0,97	1
SO+4-Güm-A	$0,5 \times 10^8$ ($0,15 \times 10^5$ - $2,2 \times 10^8$)	0,13±1,82	0,94	1
SO+LO+4-Güm-A	$0,3 \times 10^8$ (1×10^6 - 1×10^8)	0,3±0,78	0,95	1
LO+Hp-5	$0,9 \times 10^6$ ($0,6 \times 10^5$ - $1,1 \times 10^7$)	0,49±0,57	0,98	1
SO+Hp-5	$0,3 \times 10^8$ ($0,6 \times 10^5$ - $1,4 \times 10^{10}$)	0,17±1,36	0,99	1
SO+LO+Hp-5	$0,6 \times 10^6$ ($0,3 \times 10^5$ - $1,1 \times 10^8$)	0,38±0,64	0,97	1

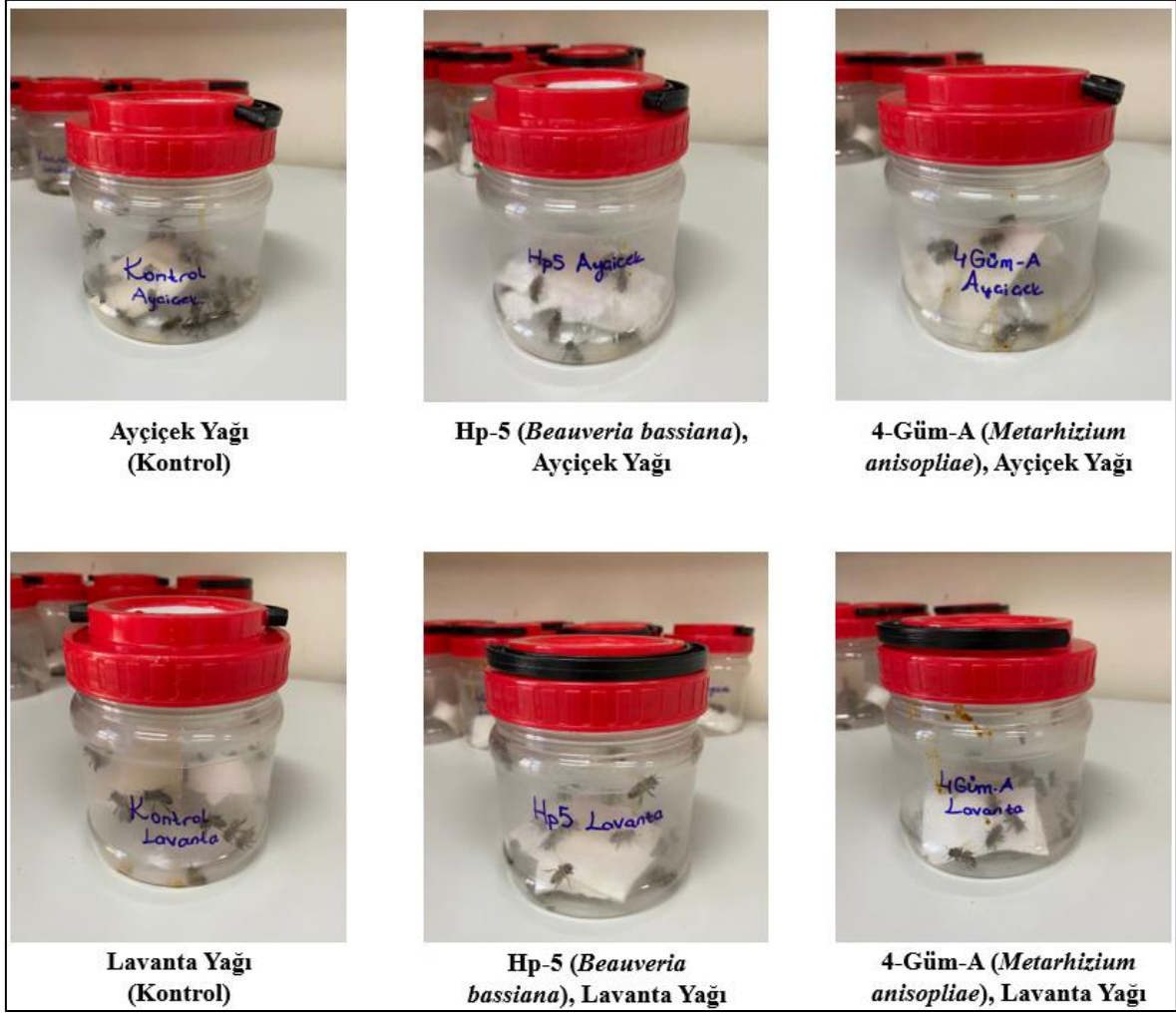
Slope: Eğim, SE: Standart hata, df: Serbestlik derecesi, X²: Ki-kare.

^aGüven aralığı %95 önem seviyesinde

^b*G. mellonella*'nın geliştirilen formülasyonlara karşı tepki eğimi

3.8.2. Mikoinsektisitlerin *Apis mellifera* L. Üzerindeki Yan Etki Denemeleri

Mikoinsektisitlerin stok solüsyonlarından 1×10^8 spor/ml konsantrasyon hazırlandı ve püskürtme yöntemi uygulanarak arılara püskürtüldü (Şekil 46). Uygulamanın 10. günün sonunda ölüm oranları Abbot formülüne (Abbott, 1925) göre hesaplandı. Bal arılarının uygulamadan sonraki 10. gününde %90'ın üzerinde hayatta kaldığı görüldü. Laboratuvar ortamına getirilen bal arılarının hareketliliklerinde kontrol gruplarına kıyasla önemli bir değişiklik görülmedi (Şekil 47). Uygulama sonucunda hayatta kalma oranları SO+4-Güm-A'da %92, SO+Hp-5'te %100, LO+4-Güm-A'da %90,6, LO+Hp-5'te %97,3, Kontrol SO %94,6, Kontrol LO %97,3 olarak belirlendi (Şekil 48). Ölüm oranları SO+4-Güm-A'da %8, SO+Hp-5'te %0, LO+4-Güm-A'da %12, LO+Hp-5'te %4, Kontrol SO %8 ve Kontrol LO %4 olarak belirlendi (Şekil 48). Yapılan çalışmada geliştirilen formülasyonların arı üzerindeki etkileri karşılaştırıldı ($p < 0,05$). Tüm durumlar Tek Yönlü Varyans Analiz (ANOVA)'da Post Hoc Tukey HSD testinde karşılaştırıldı ($F=1,936$, $df=5$, $p < 0,05$).



Şekil 46. Mikoinsektisitlerin arıların beslenme ve davranışları üzerinde etkileri A)1. Günü



**Ayçiçek Yağı
(Kontrol)**



**Hp-5 (*Beauveria bassiana*),
Ayçiçek Yağı**



**4-Güm-A (*Metarhizium
anisopliae*), Ayçiçek Yağı**



**Lavanta Yağı
(Kontrol)**

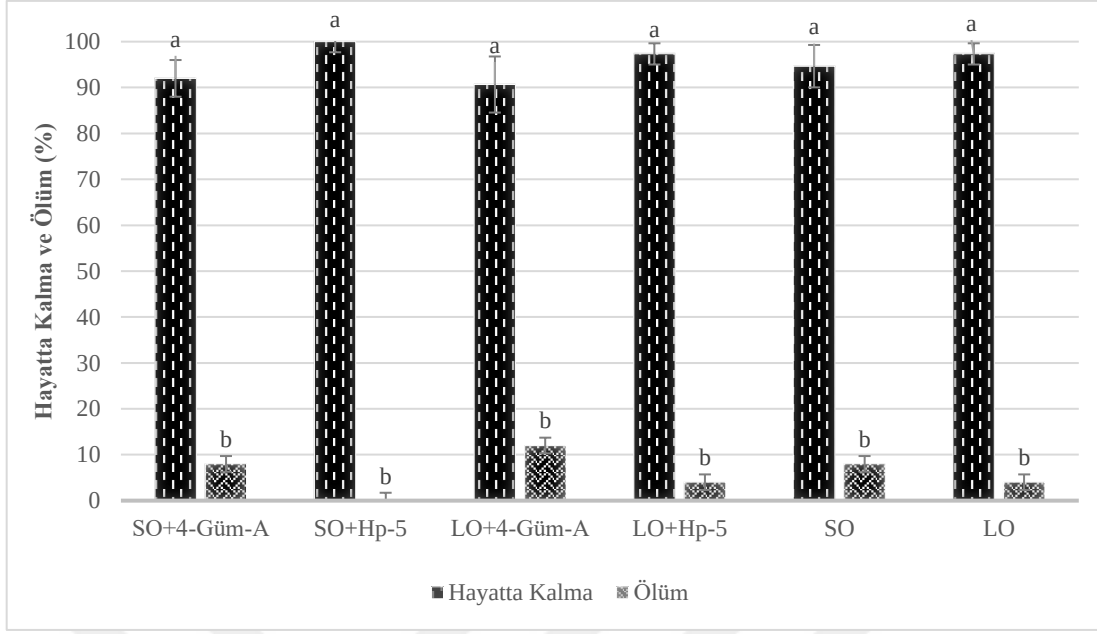


**Hp-5 (*Beauveria bassiana*),
Lavanta Yağı**



**4-Güm-A (*Metarhizium
anisopliae*), Lavanta Yağı**

Şekil 47. B) 10. günü



Şekil 48. Mikoinsektisitlerin *Apis mellifera* L. üzerindeki ölüm ve hayatta kalma oranları
 SO: Ayçiçek Yağı, LO: Lavanta Yağı

4. TARTIŞMA

Arıcılık ve bal üretimi, ekosistemlerin sürdürülebilirliği, tarımsal verimlilik ve insan sağlığı açısından son derece kritik bir öneme sahiptir. Ülkemizin zengin bitki örtüsü ve uygun ekolojik koşulları sayesinde arıcılık sektöründe büyük bir potansiyel bulunmaktadır. Ancak, mevcut koşullara rağmen, koloni başına verim dünya ortalamasının oldukça altında kalmaktadır (Akyol, 2013). Bu verim düşüklüğünün başlıca sebepleri arasında genetik yapı, çevresel faktörler, koloni yönetimi ve hastalıklar ile parazitler yer almaktadır. Özellikle hastalık ve parazitlerle etkin bir mücadele yapılmaması, hem verimliliği düşürmekte hem de kullanılan kimyasalların arıcılık ürünlerine geçiş yaparak insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bal arılarında (*Apis mellifera* L.) verim kaybına yol açan zararlardan biri de Büyük bal mumu güvesi (*Galleria mellonella* L., Lepidoptera: Pyralidae) olup, bu zararlı, arıcıların petek koruma konusunda karşılaştığı önemli sorunlarından biridir (Akyol, 2013).

Galleria mellonella ile mücadele için yaygın kullanılan kimyasal fumigant paradiklorobenzen, etkinliği sınırlı olup, sadece önleyici amaçlarla kullanılır ve ciddi bir güve istilasını ortadan kaldırmaz (Sanford, 2025). Fiziksel kontrol yöntemleri arasında ise sterilizasyon ve sıcaklık uygulamaları yer almaktadır. *Bacillus thuringiensis* ile biyolojik mücadelede peteklere püskürtülen bir süspansiyon şeklinde uygulanarak güve larvaları üzerinde birkaç hafta süren bir etki göstermektedir (Sanford, 2025). Ancak, entomopatojenik fungusların kullanımı, zararlıya karşı umut verici bir biyolojik mücadele alternatifi olarak ortaya çıkmaktadır (Reithinger vd., 1997).

Bu araştırmada, yerel olarak ülkemizden farklı toprak ve zararlı böceklerden izole edilen 13 etkili entomopatojen fungus izolatu kullanılarak *Galleria mellonella* üzerine etkinlik testi yapılmıştır. Yapılan tarama testi, doz denemeleri ve abiyotik faktörlerin etkisi deneyleri sonucunda Hp-5 (*Beauveria bassiana*) ve 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*) izolatlarının bu zararlıya karşı daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu iki izolat ile lavanta ve ayçiçek yağı içeren yağ formülasyonları geliştirilmiş ve bu mikoinsektisitler laboratuvar koşullarında zararlı üzerinde testlere tabi tutulmuştur.

Shoukry vd. (Shoukry vd., 2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *Trichoderma album* funguslarının *Galleria mellonella*'ya karşı güçlü toksik etkiler gösterdiği ve ayrıca *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* funguslarının *G. mellonella*'nın biyolojik özelliklerinde (zararlının ergin çıkış oranını düşürme, yaşam süresini kısaltma vb.) değişiklikler yarattığını gözlemlemiştir. Bu bulgular, *Galleria mellonella* ile mücadelede

etkinliğin arttırılması için entomopatojen fungusların kullanılabileceğini önermektedir. Adam vd. (Adam vd., 2017) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, üçüncü larva instarları laboratuvar koşullarında 11 gün boyunca farklı konsantrasyonlara maruz bırakılarak yüksek mortalite oranları (%20-100) elde edilmiştir. Bu çalışma, *Beauveria bassiana*'nın *Galleria mellonella* üzerine etkili bir biyolojik mücadele etmeni olabileceğini açıkça ortaya koymuştur. Başka bir araştırmada ise *B. bassiana* ve *Paecilomyces lilacinus*'un 10^8 spor/ml'lik konsantrasyonlarında, *G. mellonella*'ya karşı yüksek larva ölüm oranları meydana getiren izolatlar tespit edilmiştir. Artan konidial konsantrasyonların, pupa ve ergin çıkış oranları üzerinde belirgin şekilde olumsuz etkiler yarattığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, *B. bassiana* ve *P. lilacinus*'un *G. mellonella*'ya karşı biyolojik pestisit olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (İbrahim vd., 2016). Bu tezde ise *Beauveria bassiana*, *Metarhizium flavoviridae* ve *Metarhizium anisopliae* izolatları kullanılmıştır. Tarama testlerinde 1×10^7 spor/ml konsantrasyonda 4-Güm-A (*M. anisopliae*), Hp-5 (*Beauveria bassiana*), Pa-5 (*Beauveria bassiana*) ve As-2 (*Metarhizium flavoviridae*) suşlarının *G. mellonella* üzerinde etkili olduğu görülmüştür.

Doğan ve Keskin (Doğan & Keskin, 2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, *Beauveria bassiana*'nın 10 farklı izolatu ve dört farklı konsantrasyon (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 spor/ml) *Galleria mellonella* üzerinde test edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, her izolatu en yüksek konsantrasyonunun en yüksek etkili olduğu belirlenmiştir. (Bayramoğlu vd., 2024) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *Dermanyssus gallinae* üzerinde yüksek virölans gösteren suşlar sırasıyla Pa-4 (*Beauveria bassiana*) ve As-2 (*Metarhizium flavoviride*) olarak saptanmış ve bu suşlar, 7 gün içinde sırasıyla %92,7 ve %90,2 oranında ölüm oranı meydana getirmiştir. Ek olarak, 4-Güm-A suşunun, kontrol grubuna kıyasla *D. gallinae* üzerinde etkili olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada, 7. günde Hp-5 izolatu'nun %80 ölüm oranı gösterdiği kaydedilmiştir.

Biryol vd. (Biryol vd., 2022) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, *Myzus persicae* nimfleri üzerinde 1×10^7 spor/ml konsantrasyonunda 4-Güm-A suşunun %94 mortalite oranı gösterdiği ve bu suşun diğer funguslar arasında en etkili izolatlardan biri olarak değerlendirildiği belirtilmiştir. Biryol vd. (Biryol vd., 2020) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, *Amphimallon solstitiale* üzerinde As-2 suşunun %96 ölüm oranına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Bu tezde etkili bulunan 4-Güm-A, Hp-5, Pa-5 ve As-2 suşlarının 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 spor/ml konsantrasyonları *G. mellonella* üzerinde uygulanmıştır. En

yüksek konsantrasyonda enfeksiyonun 7. gününde elde edilen ölüm oranları şu şekilde sıralanmıştır: Hp-5 için %94,6, 4-Güm-A için %83,3, Pa-5 için %70 ve As-2 için %66. Bu bulgular, farklı böcek türleri üzerinde gerçekleştirilen çalışmaların virülans farklılıklarını ortaya koymaktadır. Özellikle *G. mellonella*, *D. gallinae*, *M. persicae* ve *A. solstitiale* gibi farklı zararlılar üzerinde test edilen izolatların etkileri, türler arasındaki farklı biyolojik özellikler ve zayıflıklar doğrultusunda değişkenlik göstermektedir.

Virülans, fungusların zararlılara karşı potansiyelini değerlendirmek için en önemli göstergelerden biri olup, yapılan laboratuvar çalışmaları yüksek virülanslı fungusların biyolojik mücadele etmenleri olarak seçilmesinin temelini oluşturmuştur (Li vd., 2012). Farklı böcek türlerinin, farklı izolatlara karşı gösterdiği tepki, biyolojik mücadele stratejilerinin tür bazlı özelleştirilmesinin önemini vurgulamaktadır.

Bal peteklerinin, depolandığı alanlarda nem ve sıcaklık oranları, balın kalitesini ve peteklerin sağlığını doğrudan etkileyen önemli faktörlerdir. Genellikle bal peteklerinin depolandığı alanlardaki sıcaklık 20-25 °C arasında olmalıdır. Bu sıcaklık aralığı, balın doğal yapısının korunmasına yardımcı olur ve peteklerdeki balın bozulmasını engeller. Sıcaklık bu aralığın üzerinde olursa, balın kristalleşmesi veya bozulması hızlanabilir. Balın nem oranı, %17-18 civarında olmalıdır. Bal peteklerinin depolandığı alanlarda ise ortam nem oranının %60-70 arasında olması idealdir. Bu nem seviyesi, balın doğru şekilde olgunlaşmasına ve peteklerin sağlıklı bir şekilde muhafaza edilmesine yardımcı olur. Bu nedenle bal peteklerinin depolandığı alanlarda nem ve sıcaklık kontrolü, balın uzun süre taze kalabilmesi için oldukça önemlidir.

Mikopestisit ürünlerinin geliştirilmesinde, çevresel faktörler olan sıcaklık, nem ve UV ışınına karşı toleransın dikkate alınması gerektiği vurgulanmıştır (Fernandes vd., 2015; Tumuhaise vd., 2018). Sıcaklık ve nem gibi abiyotik faktörler, spor çimlenmesi ve konakçı kolonizasyonu üzerinde önemli etkilere sahiptir. İki ana ekolojik faktör olan sıcaklık ve nem, entomopatojenik fungusların gelişimi ve etkileri üzerinde doğrudan etkiler yaratmaktadır. Genel olarak 35 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar, entomopatojenik fungusların büyümesini ve gelişmesini engellemektedir (Zimmermann, 2007). Bu tez çalışmasında 8, 18, 28, 30 ve 35 °C'de seçilen dört izolatın radyal büyüme ve spor üretimi incelenmiş ve 35 °C'de tüm suşlarda radyal büyüme ve spor üretimi görülmemiştir. Çoğu deuteromycetes konidisi, 20 °C veya daha düşük sıcaklıklarda bile uzun süre canlılığını koruyabilmektedir. Yapılan çalışmada 18 °C'de *Metarhizium anisopliae* ve *Beauveria bassiana* suşlarının spor ürettiği gözlenmiştir. *Beauveria bassiana* için izolatlara bağlı olarak optimum sıcaklık aralığı 23-28

°C'dir (Zimmermann, 2007). Bu çalışmada ise *M. anisopliae* ve *B. bassiana* izolatlarının en iyi spor üretimini 28 °C'de gerçekleştirdiği tespit edilmiştir.

Mikroklimatik faktörler, özellikle sıcaklık ve bağıl nem, alanda fungal gelişimin etkinliğini artırmada büyük öneme sahiptir. Bu çalışmada kullanılan Hp-5, 4-Güm-A, Pa-5 ve As-2 izolatlarının en yüksek spor üretimini 28 °C'de gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, 30 °C'de 4- Güm-A izolatının radyal büyümesinde belirgin bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Dimbi vd. (Dimbi vd., 2004) tarafından yapılan bir çalışmada, *M. anisopliae* için en verimli sıcaklık aralığının 24 ile 30 °C arasında olduğu belirtilmiştir. Genel olarak, entomopatojenik mantarların in vitro ortamda büyümesi ve çimlenmesi için en uygun sıcaklık 25 °C'dir. Ancak, çimlenme ve büyüme hızının 30 °C'nin üzerinde hızla azaldığı veya bozulduğu da gözlemlenmiştir (Fransen vd., 1987). Qazzaz vd. (Qazzaz vd., 2015), ile Ortucu ve Algur (Ortucu & Algur, 2017) tarafından yapılan araştırmalarda, farklı sıcaklıklarda 5 farklı *B. bassiana* izolatının radyal büyümesi ve spor üretiminin özellikle 30 °C'de azalmaya başladığı ifade edilmiştir. Hp-5 (*B. bassiana*) izolatının radyal büyümesi, sıcaklık 28 °C'yi aştığında belirgin bir şekilde düşmüştür. Entomopatojenik fungusların geniş sıcaklık aralıklarında büyüme ve spor üretme yetenekleri, özellikle yarı kurak iklimlerde biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmalarını son derece faydalı hale getirmektedir.

Entomopatojenik fungusların alanda hayatta kalma kapasitesi, güneş ışığından, özellikle UV-A (320-400 nm) ve UV-B (290-320 nm) ışınlarından etkilenmektedir. UV ışınları, konidi canlılığını, genellikle ölümcül ve mutajenik DNA hasarı yoluyla engellemektedir (Moore vd., 1993). UV ışınlarının, sitoplazmik membranlar, organeller ve DNA üzerinde doğrudan ve dolaylı hasar yaratarak, çimlenmeyi geciktirdiği veya tamamen inaktivasyonuna neden olduğu, biyoinsektisitlerin etkinliğini önemli ölçüde azaltmaktadır (Chelico vd., 2006; Rangel vd., 2006). UV ışınlarına maruz kalan fungal konidilerin, yeniden canlanması ve çimlenme sürecinin uzun süre devam etmesi gerekmektedir. Özellikle UV-B ışınlarına birkaç saat maruz kalan *Metarhizium* enfeksiyöz konidileri, kasıtlı olarak etkisiz hale gelmektedir (Braga vd., 2001). EPF türleri arasında UV radyasyonuna karşı genetik direnç farklılık göstermektedir (Fernandes vd., 2007). Konidiler ayrıca, termal stres ve kuruma gibi dolaylı güneş ışığı etkilerine de maruz kalabilmektedir (Rangel vd., 2006). Güneş radyasyonunun etkisi, konidilerin maruz kaldığı yoğunluk ve süresine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Fernandes vd., 2007). Bu tezde, UV-B ışınlarının fungal suşlardaki spor üretimi üzerine etkisi incelenmiş ve 0, 30, 60 ve 120 dakika süreyle UV-B

ışınlarına maruz bırakılan kültürlerden sporlar hasat edilmiştir. 0 dakika kontrol grubu olarak belirlenmiştir. 120 dakika sonunda dört izolatin hiçbirinde spor üretimi gözlemlenmemiştir. UV-B ışınlarına maruz kalma süresi arttıkça, radyal büyüme ve spor üretiminde belirgin bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Yağ bazlı formülasyonların, konidilerin UV ışınlarına karşı dayanıklılığını önemli ölçüde artırdığı ve geleneksel su bazlı formülasyonlara göre konidilerin çimlenme oranlarını iyileştirdiği belirtilmiştir (Alves vd., 1998).

Bağıl nem ve su içeriği, özellikle entomopatojenik mikroorganizmaların hayatta kalma, çevreye yayılma ve böceklerde hastalık üretme yeteneklerini etkileyen önemli faktörlerdir. Entomopatojenik funguslar için nem, kalıcılık ve hayatta kalma üzerinde çeşitli etkiler yaratır. Sıcaklık ve nem arasındaki etkileşim fungal biyoloji üzerinde oldukça önemlidir. Nem oranı yüksek olan koşullarda, bazı funguslar aşırı sıcaklıklara daha iyi tolerans gösterebilir. İn vitro deneyler, farklı bağıl nem seviyelerinin *Beauveria* türlerinin büyüme ve spor üretimi üzerindeki etkilerini kanıtlamıştır (Padmini & Padmaja, 2010).

Qazzaz vd. (Qazzaz vd., 2015) *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* gibi entomopatojenik mantarların nem oranlarına duyarlılığını incelemiş ve nemin %70 ile %80 arasında olduğu koşullarda her iki mantar türünün de en yüksek çimlenme oranlarına ulaştığını tespit etmiştir. %60'ın altındaki nem seviyelerinde ise çimlenme oranlarında belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, nemin %85'in üzerine çıkması mantarların büyüme hızını engellemiş ve spor üretiminde azalma gözlemlenmiştir. Bu bulgular, entomopatojenik mantarların nem koşullarına olan duyarlılığını ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, bu çalışmada 4-Güm-A ve Hp-5 suşlarının en yüksek radyal büyüme ve spor üretimini %95 nem seviyesinde gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir. Bu farklılık, mantar türlerinin yerel ekosistemlerinden ve kaynak aldıkları yerlerden kaynaklanıyor olabilir. 4-Güm-A suşu Doğu Karadeniz bölgesindeki toprak örneğinden izole edilirken, Hp-5 suşu, aynı bölgedeki *Hypera postica* türünden alınmıştır. Doğu Karadeniz bölgesinin yüksek nem oranları, bu suşların nem seviyelerine adaptasyonunu ve en yüksek büyüme performanslarını sergilemelerini açıklayabilir. Bu bağlamda, nemin mantarlarının büyüme ve spor üretimindeki rolü, hem ekolojik koşullara hem de fungus kaynağının özelliklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Bu bulgular, biyolojik mücadele etmenlerinin daha etkili hale gelmesi için nemin fungusların çimlenme ve büyüme oranlarına etkisinin optimize edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Formülasyonlar, mantarın UV ışınlarına karşı daha dayanıklı olmasını sağlarken, aynı zamanda nemin fungus üzerindeki etkilerini de dengeleyebilir.

Sonuç olarak, fungal entomopatojenlerin ekolojik özelliklerinin daha iyi anlaşılması, yeni biyolojik pestisit formülasyonlarının geliştirilmesine olanak sağlayabilir. Ayrıca, bu tür biyopestisitlerin yaygın kullanımı teşvik edilebilir. Genetiği değiştirilmiş böcek öldürme gücü, artırılmış kalıcılık, daha etkin dağıtım mekanizmaları ve birden fazla zararlıya karşı etkili mikrobiyal ürünler geliştirilmelidir. Bu ilerlemeler doğrultusunda, entomopatojenik funguslar üzerine daha fazla araştırma ve endüstriyel uygulamalar gerekmektedir. Kısa vadede, entegre zararlı yönetimi için uyumluluk, etkinlik, yatırım artışı ve entomopatojen formülasyonlarının keşfi beklenmektedir.

Bir biyopestisit formülasyonunun bileşenleri; (i) biyopestisit üretimi, işlenmesi ve depolanması sırasında stabiliteyi sağlamak, (ii) uygulamaya yardımcı olmak, (iii) biyopestisiti çevresel olumsuz koşullardan korumak ve (iv) hedeflenen biyopestisit aktivitesini desteklemek üzere tasarlanmış bileşiklerden oluşmalıdır (Jones & Burges, 1998). Formülasyonlar genellikle üç bileşenden meydana gelir; aktif bileşen yani mikroorganizma veya spor, taşıyıcılar çoğunlukla hedefe yoğun bir şekilde iletilmesi ve desteklenmesi için kullanılan inert maddeler ve adjuvanlar, aktif bileşenin işlevini UV radyasyonundan koruyarak destekleyen, yağmur dayanıklılığını sağlayan, nemi tutan veya biyopestisitin yayılmasını ve dağılmasını teşvik eden bileşikler (Jones & Burges, 1998; Boyetchko vd., 2002).

Fermentasyon ve formülasyon, biyopestisitin etkinliğini belirlemede birbirine yakın ilişkili süreçlerdir. Fermentasyon ortamının (katı hal veya sıvı ortamda) seçimi, kullanılan bileşenlerin konsantrasyonu, oksijen transferi, inkübasyon sıcaklığı, hasat zamanı ve sonrası işlemler gibi faktörler, formülasyon sürecinden önce, büyük ve kararlı bir mikrobiyal popülasyon oluşturulması için optimize edilmesi gereken koşullardır (Stowell, 1991; Montazeri & Greaves, 2002). Pirinç, maya ekstraktı, mısır maserasyon sıvısı ve melas gibi karbon ve azot kaynakları, substrat veya taşıyıcı olarak kullanıldığında spor üretiminin artırılmasına olanak tanımaktadır (Talwar, 2005). Bu sebeple, bu yöntem, özellikle spor veriminin yüksek olması ve bu türün suşlarının katı substratlarda üretiminde karşılaşılan zorlukların minimal olması nedeniyle tercih edilmiştir. *Beauveria*, *Metarhizium*, *Nomuraea* ve *Isaria* türleri, uygun sıvı fermentasyon koşullarında blastosporlar üretmektedir. Genel olarak, yüksek karbon ve azot içerikli besin açısından zengin sıvı ortamlar, vejetatif propagüllerin (blastosporlar, hifal yapılar, miselyum ve mikrosklerotlar) daha yüksek miktarlarda üretilme olasılığını artırmaktadır. Bu tez çalışmasında, 4-Güm-A (*M. anisopliae*) için geliştirilen formülasyon stratejisi katı substrat ortamı seçilerek üretilmiş,

Hp-5 (*B. bassiana*) için sıvı ortam kullanılmıştır. Biyopestisitlerin formülasyonu ve maliyet etkinliğini destekleyen formülasyon bileşenlerinin değerlendirilmesi, son on yıl içerisinde farklı mikroorganizmalarla önemli ilerlemeler kaydetmiştir (Rodham vd., 1999; Boyette vd., 1996; Amiet-Charpentier vd., 1998; Wraight vd., 2001; Daigle vd., 2002; Greaves vd., 2001; Jayaraj vd., 2005). Formülasyon geliştirme ve uygulama stratejilerinin başarısı, biyopestisit zararlı etkileşiminin ekolojik dinamiklerinin anlaşılmasını gerektirir (Deacon, 1991). Ayrıca, biyopestisit, haşerelerin en hassas olduğu büyüme aşamalarında etkili bir şekilde hedeflenebilmesi için uygulama oranı ve zamanlaması optimize edilmelidir.

Yağ bazlı formülasyonların, konidilerin UV radyasyonuna karşı toleransını önemli ölçüde artırdığı ve konidilerin çimlenmesini iyileştirdiği, geleneksel su bazlı formülasyonlarla karşılaştırıldığında bildirilmiştir (Alves vd., 1998). Uygun bir formülasyon, biyolojik etmenlerin uygulanmasını ve işlenmesini kolaylaştırarak, aktif bileşeni çevresel olumsuz faktörlerden koruyarak etkinliğini artırır (Nian vd., 2015). Mikropestisitler, birçok üründe böcek zararlılarına karşı kullanılmak üzere geleneksel olarak formüle edilmiştir (Faria & Wraight, 2007). Bazı formülasyonlar, sporlara zarar veren abiyotik faktörlere karşı koruma sağlar. Örneğin, yağ bazlı formülasyonlar, sporları su hasarına (Xavier-Santos vd., 2011) ve UV ışınlarının (Hedimbi vd., 2008); ya da kimyasal pestisitlerin (Lopes vd., 2011) olumsuz etkilerine karşı koruyabilir. Bu tür formülasyonların avantajları, yağ bazlı formülasyonların günümüzde önem kazandığını göstermektedir. Yağ bazlı formülasyonların, öldürme etkisi ve çevresel olumsuz etkilere karşı koruma sağlama özellikleri, zararlı kontrolünde yaygın olarak rapor edilmiştir (Lopes vd., 2011; Oliveira vd., 2018). Literatür taraması, yağ bazlı formülasyonların farklı böcek türlerinde ve farklı oranlarda test edildiğini göstermektedir. Örneğin, *Metarhizium anisopliae* ve *Beauveria bassiana* formülasyonları, *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica* (Batta Y. , 2008), *Anopheles gambiae* ve *Anopheles stephensi* (Bukhari vd., 2011)'ye karşı biyolojik mücadele etmenleri olarak kullanılmıştır. Ayrıca *B. bassiana*'nın %50 yağ formülasyonları (Luz & Batagin, 2005) ve *M. anisopliae*'nin %10 hindistancevizi yağ formülasyonları (Hedimbi vd., 2011), badem kabuk böceklerine karşı %19 hindistancevizi yağı ve %28 soya fasulyesi yağı formülasyonları (Batta, 2007) gibi farklı yağ bazlı formülasyonlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Luz ve Batagin (Luz & Batagin, 2005) tarafından gerçekleştirilen çalışmanın sonuçlarına göre, *B. bassiana* konidileri, emülsifiye bitkisel yağlarla muamele edildikten sonra çimlenme yeteneğine sahiptir. Ayrıca, kullanılan yağ türünün, konidilerin kantitatif çimlenmesi üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Konidiler en yüksek

çimlenmeyi mısır yağı (%92.5) ile gösterirken, bunu sırasıyla deve dikenı yağı (%32.8), keten tohumu yağı (%27) ve soya fasulyesi yağı (%19) takip etmiştir. Yağların %10 oranında uygulandığı durumlarda, tüm bitkisel yağların *B. bassiana* üzerinde gözle görülür bir toksik etki yaratmadığı belirlenmiştir. Bu tezde ise lavanta yağı ve ayçiçek yağı formülasyonlarının *Galleria mellonella* üzerindeki etkinliği incelenmiştir.

Yağ bazlı taşıyıcıların, çevresel stresin fungal konidi üzerindeki olumsuz etkilerini azaltarak enfeksiyon oranını artırdığı bildirilmiştir (Prior vd., 1988; Kaaya vd., 1996; Kaaya & Hassan, 2000; Batta , 2003). Ayrıca, konidilerin yağ bazlı formülasyonlarla daha uzun süre hayatta kalması ve bulaşıcılığının artırılması sağlanabilir (Milner, 1997). Yağ bazlı emülsiyonların, konidilerin lipofilik böcek kütiküllerine daha güçlü bir şekilde tutunmasını sağlayarak konidiaların kalıcılığını artırdığı ve bu nedenle saf sulu süspansiyonlara kıyasla avantaj sağladığı düşünülmektedir (Prior vd., 1988). Sulu süspansiyonlarla karşılaştırıldığında, yağ bazlı formülasyonlar konak eklem bacaklıların hidrofobik kütiküllerinde konidiaların yayılmasını ve tutunmasını kolaylaştırmaktadır (David-Henriet vd., 1998). Ayrıca, yağ bazlı formülasyonların soğuk gibi çeşitli çevresel koşullara karşı konidilerin ömrünü uzatabileceği de bilinmektedir (Prior vd., 1988).

Botanik pestisitler, bitkilerden elde edilen doğal bileşikler olup, sentetik pestisitlere göre çevre ve insan sağlığı üzerinde daha düşük olumsuz etkiler gösteren alternatifler sunmaktadır. Esansiyel yağlar ve bu yağların bileşenleri, depolanan tahıllarda karşılaşılan birçok zararlı böceğe karşı etkinlik göstermektedir. Depolama sırasında biyoaktivite sergileyen esansiyel yağlar arasında fesleğen, narenciye kabuğu, okaliptus, farklı nane türleri, lavanta ve biberiye yağları yer almaktadır.

Bir çalışmada, lavanta, kâfur, nane, karanfil ve biberiye uçucu yağlarının dört farklı konsantrasyonda (%5-10-15-20) büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella*'nın üçüncü dönem larvaları üzerindeki etkisi incelenmiştir (Said vd., 2019). Sonuçlar, biberiye ve lavanta uçucu yağlarının en etkili biyolojik kontrol ajanları olduğunu ortaya koymuştur. Bu tez çalışmasında ise mikoinsektisitte kullanılacak bitkisel yağların seçimi için mentol ve lavanta yağlarının fungusla etkileşimi araştırılmış ve en iyi spor üretiminin %5 lavanta yağı ile elde edildiği görülmüştür. Ayrıca, Türümen ve Karaca (Türümen & Karaca, 2020) tarafından yapılan bir çalışmadan uyarlanarak, lavanta ve mentol yağlarının *Galleria* larvalarının yönelimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiş ve larvaların lavantaya yöneldiği gözlenmiştir. Bu bulgular, mikoinsektisitte lavanta yağının cezbedici olarak kullanılmasının avantajlı olduğunu göstermektedir.

Çalışmada, abiyotik faktörlere karşı dayanıklılık, tarama testleri ve doz denemeler sonucunda avantajlı bulunan 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*) ve Hp-5 (*Beauveria bassiana*) suşlarından yağ bazlı 6 prototip mikoinsektisit geliştirilmiştir. Yeni mikoinsektisitlerin genel adı olarak WaxGuard tercih edilmiştir.

Sonuçlar, WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Lavanta Yağı içeren mikopestisit 1×10^8 spor/ml konsantrasyonunda uygulandığında, diğer mikopestisitlere kıyasla *G. mellonella* larvaları üzerinde daha yüksek virülansa sahip olduğunu göstermiştir. Ball vd. (Ball vd., 1994) tarafından yapılan çalışmada hedef olmayan bir organizma olarak arılar üzerinde bir mikopestisit güvenli bir şekilde uygulanabilirliğini göstermiştir. Ayrıca çekirge ve çekirge mücadelesinde halen geliştirilmekte olan mikopestisit kimyasal pestisit arılar için ölçülebilir derecede daha az zararlı olduğu ortaya konmuştur. Bu tez kapsamında oluşturulan mikoinsektisitlerin *Apis mellifera* üzerindeki etkisi incelenmiş ve %90'ın üzerinde hayatta kalma oranı belirlenmiştir. Bu çalışmada, yerel izolat olan Hp-5'ten (*Beauveria bassiana*) *Galleria mellonella*'ya karşı çevre dostu ve güvenilir bir mikrobiyal mücadele preparatının geliştirilmesine yönelik yeni adımlar atılmıştır. Bu bulgular, geliştirilen mikoinsektisit, geleneksel sentetik insektisitlere karşı *Galleria mellonella* direncinin yönetiminde etkili bir araç olabileceğini göstermektedir.

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışması sonucunda aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı.

1. Entomopatojenik fungus kültürlerinden 13 adet etkili izolatın *Galleria mellonella* larvaları üzerinde etkinliği belirlendi. Bu izolatlar, zararlı üzerinde %22-70 oranında ölüm meydana getirdi. Bu izolatlardan Hp-5 (*Beauveria bassiana*), 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*), Pa-5 (*Beauveria bassiana*) ve As-2 (*Metarhizium flavoviride*) 1×10^7 spor/ml konsantrasyonda 7. günde sırasıyla %70, %65,5, %62,2 ve %61,1 ölüm oranı gösterdi.
2. Tarama testi uygulama sonrası insektisidal etkisi yüksek olan dört izolat 10^5 - 10^9 spor/ml konsantrasyonlarında zararlı üzerinde denendi ve 1×10^9 spor/ml konsantrasyonda Hp-5 %96,6, 4-Güm-A %83,3, Pa-5 %70 ve As-2 %66,6 mortalite gösterdi.
3. Yapılan doz denemelerinde Hp-5, 4-Güm-A, Pa-5 ve As-2'nin LC_{50} değerleri sırasıyla $5,5 \times 10^4$, $1,5 \times 10^5$, $1,2 \times 10^6$ ve $5,6 \times 10^5$ spor/ml olarak belirlendi.
4. 18 °C'de kontrol grubuna kıyasla Hp-5 izolatının bu sıcaklıkta en iyi radyal büyüme ve spor üretimi gösteren suş olduğu belirlendi. 30 °C'de kontrol grubuna kıyasla Pa-5'in bu sıcaklıkta en iyi radyal büyüme ve spor üretimi gösteren suş olduğu belirlendi.
5. UV-B'nin 30 dk.'lık ve 60 dk.'lık etkisinde suşlar kontrol grubu ile kıyaslandığında Hp-5 ve 4-Güm-A suşunun diğer iki izolata göre daha iyi radyal büyüme gösterdiği belirlendi. UV-B'nin 30 dk.'lık ve 60 dk.'lık etkisinde spor üretimleri kontrol grubu ile kıyaslandığında Hp-5 ve 4-Güm-A'nın diğer suşlara göre daha dayanıklı olduğu belirlendi. UV-B'nin 120 dk.'lık etkisinde dört suшта radyal büyüme ve spor üretimi gözlenmedi.
6. Nemin %55 ve %95 seviyesinde Pa-5'e kıyasla Hp-5'in, As-2'ye kıyasla 4-Güm-A'nın daha iyi radyal büyüme ve spor üretim oranına sahip olduğu belirlendi.
7. *Galleria mellonella* larvalarının mentol yağına kıyasla lavanta yağına yönelim gösterdiği belirlendi. Hp-5 ve 4-Güm-A suşlarının %5 lavanta yağı ve %30 ayçiçek yağı içeren süspansiyonda en iyi spor üretimini gerçekleştirdiği belirlendi.
8. İnsektisidal etkisi yüksek ve çevresel faktörlere toleransı olan Hp-5 (*Beauveria bassiana*) ve 4-Güm-A (*Metarhizium anisopliae*) suşlarından ayçiçek ve lavanta

yağı içeren WaxGuard *Beauveria bassiana*, TR61 ve WaxGuard *Metarhizium anisopliae*, TR61 adlı 6 mikoinsektisit geliştirildi.

9. Üretilen formülasyonlar *Galleria mellonella* üzerinde laboratuvar koşullarında 1×10^8 spor/ml konsantrasyonda zararlıda 7. günde %50'nin üzerinde mortalite gösterdi.
10. En etkili formülasyonun %83,3 oranında mortalite gösterdiği 'WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Lavanta Yağı' formülasyonu olduğu belirlendi. Bu formülasyonun LC_{50} değeri $0,9 \times 10^6$ spor/ml, slope; 0.49, SE; 0.57, X^2 ; 0.98, df;1 olarak hesaplandı.
11. Üretilen formülasyonların *Apis mellifera* L. üzerindeki etkisinde laboratuvar koşullarında 1×10^8 spor/ml konsantrasyonda 10. günde alınan verilerde bal arılarının %90'ın üzerinde hayatta kaldığı belirlendi.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada *Galleria mellonella* mücadelesinde kullanılabilecek mikoinsektisitler geliştirildi. Çalışmada elde edilen sonuçlar neticesinde gelecek çalışmalara yönelik olarak aşağıdaki hususlar önerilmiştir.

1. Mikoinsektisit (WaxGuard *Beauveria bassiana* TR61, Lavanta Yağı) arazi koşullarında *Galleria mellonella* üzerinde kullanımına yönelik çalışmalar yapılmalı.
2. Mikoinsektisit *Apis mellifera* L. üzerindeki yan etki denemeleri arazi koşullarında da yürütülmeli.
3. Mikoinsektisit orta ve büyük ölçekte üretimine yönelik çalışmalar yapılmalı.
4. Mikoinsektisit ruhsatlandırmaya yönelik esas Ar-Ge çalışmaları yapılmalı.
5. Sektör ve ilgili kamu kurumları bilgilendirilmeli

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W. S. (1925). A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265-267.
- Abou-Shaara, H. F. (2020). Effects of the Fungus, *Beauveria bassiana*, on the Larval Development of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*, (Lepidoptera: Pyralidae) under Laboratory Conditions. *Journal of Apiculture*, 35(1), 81-84.
- Acheampong, M., Coombes, C., Moore, S., & Hill, M. (2020). Temperature tolerance and humidity requirements of select entomopathogenic fungal isolates for future use in citrus IPM programmes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 174.
- Adam, M. A., Elbashir, M. I., & El-Niweiri, M. A. (2017). Control of The Greater Wax Moth *Galleria mellonella* (L.), Using the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*, 3(1), 2386-2409.
- Ahl, H. A.-A., Hikal, W. M., & Tkachenko, K. G. (2017). Essential Oils with Potential as Insecticidal Agents: A Review. *International Journal of Environmental Planning and Management*, 3(4), 23-33.
- Akyol, E. (2013). Mum Güvesi (*Galleria mellonella* L.) Zararı ve Kontrol Yöntemleri. *Arıcılık Araştırma Dergisi*.
- Akyol, E., & Korkmaz, A. (2008). Peteklerin Büyük Mum Güvesi (*Galleria mellonella* L.)'ne Karşı Korunmasında -5°C Soğuk Uygulamasının Etkisi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 8(1), 26-29.
- Alves, R. T., Bateman, R. P., Prior, C., & Leather, S. R. (1998). Effects of simulated solar radiation on conidial germination of *Metarhizium anisopliae* in different formulations. *Crop Protection*, 17(8), 675-678.
- Amiet-Charpentier, C., Benoit, J., Gadille, P., & Richard, J. (1998). Preparation of rhizobacteria-containing polymer microparticles using a complex coacervation method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 179-190.
- Ash, G. J. (2010). The science art and business of successful bioherbicides. *Biological Control*, 52, 230-240.
- Ball, B. V., Pye, B. J., Carreck, N. L., Moore, D., & Bateman, R. P. (1994). Laboratory testing of a mycopesticide on non-target organisms: The effects of an oil formulation of. *Biocontrol Science and Technology*, 4(3), 289-296.
- Bartlett, M. C., & Jaronski, S. T. (1988). Mass production of entomogenous fungi for biological control of insects. In: M. N. Burge , *Fungi in Biological Control Systems*. Manchester: Manchester University Press, 61-85.

- Batta, Y. (2003). Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Crop Protection*, 22(2), 415-422.
- Batta, Y. (2008). Control of Main Stored-Grain Insects with New Formulations of Entomopathogenic Fungi in Diatomaceous Earth Dusts. *International Journal of Food Engineering*, 4(1), 9.
- Batta, Y. A. (2007). Biocontrol of almond bark beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Applied Microbiology*, 5(1), 1406–1414.
- Bayramoğlu, M., Bayramoğlu, Z., Aydın, L., Zengin, S. A., Çırak, V. Y., Demirbağ, Z., & Demir, İ. (2024). Entomopathogenic fungi with biological control potential against poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*, Arachnida: Dermanyssidae). *Veterinary Parasitology*, 328.
- Bharti, V., & Ibrahim, S. (2020). Biopesticides: Production, Formulation and Application Systems. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(10), 3931-3946.
- Biryol, S., Demirbağ, Z., Erdoğan, P., & Demir, İ. (2022). Development of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as a mycoinsecticide to control green peach aphid, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) and investigation of its biocontrol potential. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25.
- Biryol, S., Efe, D., Eski, A., Demirbağ, Z., & Demir, İ. (2020). Fungal pathogens of *Amphimallon solstitiale* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Scarabaeidae). *Türk Entomoloji Dergisi*, 44(3), 375-384.
- Boyetchko, S., Roskopf, E., Caesar, A., & Charudattan, R. (2002). Biological weed control with pathogens: Search for candidates to applications. *Applied Mycology and Biotechnology*, 239-274.
- Boyette, C. D., Quimby, P. C., Caesar, A. J., Birdsall, J. L., Connick, W. J., Daigle, D. J., Abbas, H. K. (1996). Adjuvants, Formulations, and Spraying Systems for Improvement of Mycoherbicides. *Weed Technology*, 637-644.
- Braga, G. U., Flint, S. D., Miller, C. D., Anderson, A. J., & Roberts, D. W. (2001). Variability in Response to UV-B among Species and Strains of *Metarhizium* Isolated from Sites at Latitudes from 61°N to 54°S. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78(2), 98-108.
- Bukhari, T., Takken, W., & Koenraadt, C. J. (2011). Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. *Parasites & Vectors*, 4,23.
- Burges, H. D. (1977). *Galleria mellonella* on beecomb by h-serotype *Bacillus turingiensis* and the effect of chemical additives. *Apidologie*, 8, 155–168.
- Burucu, V. (2024). *Arıcılık Ürün Raporu*. TEPGE.

- Chelico, L., Haughian, J. L., & Khachatourians, G. G. (2006). Nucleotide excision repair and photoreactivation in the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Beauveria nivea*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* and *Verticillium lecanii*. *J. Appl. Microbiol.*, 100(5), 964-72.
- Couceiro, J. d., Fatoresso, M. B., Demétrio, C. G., Meyling, N. V., & Jr, Í. D. (2021). UV-B Radiation Tolerance and Temperature-Dependent Activity Within the Entomopathogenic Fungal Genus *Metarhizium* in Brazil. *Frontiers in Fungal Biology*, 645-737.
- Cuartas-Otálora, P. E., Gómez-Valderrama, J. A., Ramos, A. E., Barrera-Cubillos, G. P., & Villamizar-Rivero, L. F. (2019). Bio-Insecticidal Potential of Nucleopolyhedrovirus and Granulovirus Mixtures to Control the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Viruses*, 11(8), 684.
- Cynthia, B. (2012). Greater Wax Moth *Galleria mellonella* (Linnaeus 1758). *ENY5572*, 12. University of Florida: Spring.
- Daigle, D. J., Connick, W. J., & Boyetchko, S. M. (2002). Formulating a Weed-Suppressive Bacterium in “Pesta”. *Weed Technology*, 16, 407–413.
- David-Henriet, A. I., Pye, B. J., & Butt, T. M. (1998). Formulation and application of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for the control of crucifer pests in Europe. *IOBC WPRS Bulletin*, 21, 89–90.
- Deacon, J. W. (1991). Significance of ecology in the development of biocontrol agents against soil-borne plant pathogens. *Biocontrol Science and Technology*, 5-20.
- Deka, B., Baruah, C., & Babu, A. (2021). Entomopathogenic microorganisms; their role in insect pest management. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, 121.
- Dimbi, S., Maniania, N. K., Lux, S. A., & Mueke, J. M. (2004). Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of African tephritid fruitflies. *BioControl*, 49, 83–94.
- Doğan, Y., & Keskin, N. E. (2020). Isolation of Entomopathogenic Fungi from Turkey Soil and Testing of Different Doses on *Galleria mellonella* (Lepidoptera:Pyralidae). *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C-Biology*, 29(2), 213-242.
- Ellis, J. D., Graham, J. R., & Mortensen, A. (2013). Standard Methods for Wax Moth Research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-17.
- Faria, M. R., & Wraight, S. P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification. *Biological Control*, 43, 237-56.
- Fernandes, É. K., Rangel, D. E., Braga, G. U., & Roberts, D. W. (2015). Tolerance of entomopathogenic fungi to ultraviolet radiation: a review on screening of strains and their formulation. *Current Genetics*, 61(3), 427-40.

- Fernandes, E. K., Rangel, D. E., Moraes, A. M., Bittencourt, V. R., & Roberts, D. W. (2007). Variability in tolerance to UV-B radiation among *Beauveria* spp. isolates. *J. Invertebr. Pathol.*, 96(3), 237-43.
- Fransen, J. J., Winkelman, K., & Lenteren, J. C. (1987). The differential mortality at various life stages of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae), by infection with the fungus *Aschersonia aleyrodis* (Deuteromycotina: Coelomycetes). *Journal of Invertebrate Pathology*, 50(2), 158-165.
- Goette, M. S., Eilenberg, J., & Glare, T. (2010). Entomopathogenic Fungi and their Role in Regulation of Insect Populations. In: L. I. Gilbert, & S. S. Gill, *Insect Control : Biological and Synthetic Agents*. Elsevier, 387-431.
- Greaves, M. P., Pring, R. J., & Lawrie, J. (2001). A Proposed Mode of Action of Oil-Based Formulations of a Microbial Herbicide. *Biocontrol Science and Technology*, 273-281.
- Gulati, R., & Kaushik, H. (2004). Enemies of honeybees and their management A review. *Agric. Rev.*, 25, 189–200.
- Hall, R. A., & Papierok, B. (1982). Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. *Parasitology*, 84, 205-240.
- Harding, C. R., Schroeder, G. N., Collins, J. W., & Frankel, G. (2013). Use of *Galleria mellonella* as a Model Organism to Study *Legionella pneumophila* Infection. *J Vis Exp.*, 22;(81), 50964.
- Hedimbi, M., Kaaya, G. P., & Chinsebu, K. C. (2011). Mortalities induced by entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* to different ticks of economic importance using two formulations. *International Research Journal of Microbiology*, 2(4), 141-145,.
- Hedimbi, M., Kaaya, G. P., Singh, S., Chimwamurombe, P. M., Gindin, G., Glazer, I., & Samish, M. (2008). Protection of *Metarhizium anisopliae* conidia from ultra-violet radiation and their pathogenicity to *Rhipicephalus evertsi* ticks. *Experimental and Applied Acarology*, 149-156.
- Helaly, E. G., Ali, M. A., & Ghazala, N. A. (2022). Evaluation of Some Essential Oils Against Wax Moth Larvae (Lepidoptera: *Galleria mellonella* L.) and Adult Honeybee Workers (Hymenoptera: *Apis mellifera* L.). *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 30 (1), 157-162.
- Hosni, E. M., Al-Khalaf, A. A., Nasser, M. G., Abou-Shaara, H. F., & Radwan, M. H. (2022). Modeling the Potential Global Distribution of Honeybee Pest, *Galleria mellonella* under Changing Climate. *Insects*, 13(5), 484.
- Hussain, A., Rizwan-ul-Haq, M., Al-Ayedh, H., & Al-Jabr, A. M. (2014). Mycoinsecticides: Potential and Future Perspective. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 6(1), 45-53.

- Hynes, R. K., & Boyetchko, S. M. (2006). Research initiatives in the art and science of biopesticide formulations. *Soil Biology and Biochemistry*, 845-849.
- Ibrahim, A. A., Mohamed, H., El-Naggar, S. E., Swelim, M. A., & Elkhawaga, O. E. (2016). Isolation and Selection of Entomopathogenic Fungi as Biocontrol Agent against the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26(2), 249-253.
- Isman, M. B., Machial, C. M., Miresmailli, S., & Bainard, L. D. (2007). Essential Oil-Based Pesticides: New Insights from Old Chemistry. In: H. Ohkawa, H. Miyagawa, & P. W. Lee, *Pesticide Chemistry; Crop Protection, Public Health, Environmental Safety*. Weinheim: Wiley, 201-209.
- Jaronski, S. T. (2013). Mass production of entomopathogenic fungi: state of the art. In: J. A. Morales-Ramos, M. G. Rojas, & D. I. Shapiro-Ilan, *Mass Production of Beneficial Organisms*. Amsterdam: Elsevier, 317-357.
- Jaronski, S. T., & Jackson, M. A. (2012). Mass production of entomopathogenic Hypocreales. In: L. A. Lacey, *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. San Diego: second ed. Academic Press, 255-284.
- Jayaraj, J., Radhakrishnan, N., Kannan, R., Sakthivel, K., Suganya, D., Venkatesan, S., & Velazhahan, R. (2005). Development of new formulations of *Bacillus subtilis* for management of tomato damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*. *Biocontrol Science and Technology*, 55-65.
- Jones, K. A., & Burges, H. D. (1998). Technology of Formulation and Application. In: H. D. Burges, *Formulation of Microbial Pesticides—Beneficial Microorganisms, Nematodes and Seed Treatments*. Dordrecht: Kluwer Academic, 7-30.
- Kaaya, G. P., & Hassan, S. (2000). Entomogenous Fungi as Promising Biopesticides for Tick Control. *Experimental & Applied Acarology*, 913-926.
- Kaaya, G. P., Mwangi, E. N., & Ouna, E. A. (1996). Prospects for biological control of livestock ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum*, using the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 67(1), 15-20.
- Komala, & Seram, D. (2020). Greater WaxMoth (*Galleria mellonella* L.) an Important Insect Pest of Honeybees. *International Journal of Creative Research Thoughts*, 8(11).
- Kwadha, C. A., Ong'amo, G. O., Ndegwa, P. N., Raina, S. K., & Fombong, A. T. (2017). The Biology and Control of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. *Insects*, 8(2), 61.
- Li, M., Lin, H., Li, S., Chen, P., Jin, L., & Yang, J. (2012). Virulence of entomopathogenic fungi to adults and eggs of *Nilaparvata lugens* Stal (Homoptera: Delphacidae). *African Journal of Agricultural Research*, 7(14), 2183-2190.

- Lopes, R., Pauli, G., Mascarin, G., & Faria, M. (2011). Protection of entomopathogenic conidia against chemical fungicides afforded by an oil-based formulation. *Biocontrol Science and Technology*, 125-137.
- Luz, C., & Batagin, I. (2005). Potential of oil-based formulations of *Beauveria bassiana* to control *Triatoma infestans*. *Mycopathologia*, 160(1), 51-62.
- Mascarin, G. M., Jackson, M. A., Kobori, N. N., Behle, R. W., & Junior, I. D. (2015a). Liquid culture fermentation for rapid production of desiccation tolerant blastospores of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* strains. *Journal of Invertebrate Pathology*, 127, 11-20.
- Mascarin, G. M., Jackson, M. A., Kobori, N. N., Behle, R. W., Dunlap, C. A., & Júnior, Í. D. (2015). Glucose concentration alters dissolved oxygen levels in liquid cultures of *Beauveria bassiana* and affects formation and bioefficacy of blastospores. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 6653–6665.
- Milner, R. J. (1997). Prospects for biopesticides for aphid control. *BioControl*, 227-239.
- Montazeri, M., & Greaves, M. P. (2002). Effects of Culture Age, Washing and Storage Conditions on Desiccation Tolerance of *Colletotrichum truncatum* Conidia. *Biocontrol Science and Technology*, 12(1), 95-105.
- Moore, D., Bridge, P. D., Higgins, P. M., Bateman, R. P., & Prior, C. (1993). Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. *Annals of Applied Biology*, 122(3), 605-616.
- Neov, B., Georgieva, A., Shumkova, R., Radoslavov, G., & Hristov, P. (2019). Biotic and Abiotic Factors Associated with Colonies Mortalities of Managed Honey Bee (*Apis mellifera*). *Diversity*, 11(12), 237.
- Nian, X.-G., He, Y.-R., Lu, L.-H., & Zhao, R. (2015). Evaluation of alternative *Plutella xylostella* control by two *Isaria fumosorosea* conidial formulations - oil-based formulation and wettable powder - combined with *Bacillus thuringiensis*. *Pest Management Science*, 71(12), 1675-84.
- Oliveira, D. G., Lopes, R. B., Rezende, J. M., & Jr., I. D. (2018). Increased tolerance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* conidia to high temperature provided by oil-based formulations. *Journal of Invertebrate Pathology*, 151-157.
- Omer, S. A., Faraj, I. M., & Faraj, N. M. (2023). Insecticidal Activity of Some Plant Extract Against Greater Wax Moth Larvae (*Galleria mellonella* L.). *Agricultural Science*, 6(2), 86-96.
- Oreste, M., Bubici, G., & Poliseno, M. (2012). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin against *Galleria mellonella* L. and *Tenebrio molitor* L. in laboratory assays. *Journal of Zoology*, 95, 43-8.

- Ortucu, S., & Algur, Ö. F. (2017). A Laboratory Assessment of Two Local Strains of the *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and Their Potential as a Mycopesticide. *Journal of Pathogens*, 7628175.
- Padmini, P. C., & Padmaja, V. (2010). mpact of Different Relative Humidities on In vitro Growth And Sporulation of Entomopathogenic Fungal Isolates of *Beauveria* Species. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 1(4), 355-359.
- Paulraj, S., Govindasamy, U., & Pernamallur, S. A. (2021). Evaluation of Botanical Extracts for the Management of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae) Under Stored Conditions. *Uludağ Bee Journal*, 21(2), 227-236.
- Prior, C., Jollands, P., & Patourel, G. I. (1988). Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 52(1), 66-72.
- Qayyum, M. A., Bilal, H., Ali, U. N., Raza, H., & Wajid, M. (2021). Factors Affecting the Epizootics of Entomopathogenic Fungi-A. *Journal of Bioresource Management*, 8(4), 78-85.
- Qazzaz, F. O., Al-Masr, M. I., & Barakat, R. M. (2015). Effectiveness of *Beauveria bassiana* native isolates in the biological control of the mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). *Advances in Entomology*, 3(02), 44-55.
- Rangel, D. E., Anderson, A. J., & Roberts, D. W. (2006). Growth of *Metarhizium anisopliae* on non-preferred carbon sources yields conidia with increased UV-B tolerance. *J. Invertebr. Pathol.*, 93(2), 127-34.
- Ravensberg, W. J. (2011). Mass Production and Product Development of a Microbial Pest Control Agent. In: W. J. Ravensberg, *A Roadmap to the Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods*. Springer, 59-127.
- Reithinger, R., Davies, C. R., Cadena, H., & Alexander, B. (1997). Evaluation of the fungus *Beauveria bassiana* as a potential biological control agent against phlebotomine sand flies in Colombian coffee plantations. *Journal of Invertebrate Pathology*, 70(2), 131-5.
- Riabi, H. R., Mohammadzadeh, A., Mirzahosseini, S. A., Chahak, A. F., & Iman, J. (2023). Isolation of the Gut Microbiome of *Galleria mellonella* Sp. (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae and Its Role in the Digestion of Polyethylene Plastic. *Water Air Soil Pollut*, 234, 523.
- Roberts, D. W., & Hajek, A. E. (1992). Entomopathogenic Fungi as Bioinsecticides. In: G. F. Leathem, *Frontiers in Industrial Mycology*. Boston: Springer, 144-159.
- Rodham, D. K., Wang, Y., Cantwell, J. B., & Winn, P. D. (1999). Formulating microbial biocontrol agents. *Pestic. Sci.*, 55, 340–342.

- Said, S. M., Hammam, M. A., & Kader, S. K.-E. (2019). Insectisidal Activity Against the Greater Wax Moth (*Galleria mellonella* L.) and Chemical Composition of Five Plant Essential Oils. *Menoufia J. Plant Prot.*, 145-161.
- Sandhu, S. S., Shukla, H., Aharwal, R. P., Kumar, S., & Shukla, S. (2017). Efficacy of Entomopathogenic Fungi as Green Pesticides: Current and Future Prospects. In: D. G. Panpatte, Y. K. Jhala, R. V. Vyas, & H. N. Shelat, *Microorganisms for Green Revolution*. Singapore: Springer, 327-349.
- Sanford, M. T. (2025, Nisan 17). *Wax Control*. APIS.3,(9): [Http: // www. iFas.UFL.edu/~entweb/Apis/Apis/htm](http://www.ifas.ufl.edu/~entweb/Apis/Apis/htm) adresinden alınmıştır.
- Seema, Y., Neeraj, T., & Krishan, K. (2013). Mass production of entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* using rice as a substrate by diphasic liquid-solid fermentation technique. *International Journal of Advanced Biological Research*, 3(3), 331-335.
- Sevim, A., Demir, İ., & Demirbag, Z. (2010a). Molecular Characterization and Virulence of *Beauveria* spp. from the Pine Processionary Moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Mycopathologia*, 170, 269–277.
- Sevim, A., Demir, İ., Tanyeli, E., & Demirbağ, Z. (2010b). Screening of entomopathogenic fungi against the European spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae). *Biocontrol Science and Technology*, 20(1), 3-11.
- Shoukry, I. F., Ahmed, F. A., Khater, K. S., El-lakwah, S. F., & Abd-Elmonem, H. M. (2019). Evaluation of the Effectiveness of Some Entomopathogenic Fungi on the Greater Wax Moth Larvae, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: galleriidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 12(4), 41-55.
- Sree, K. S., & Varma, A. (2015). An Introduction to Entomopathogenic Microorganisms. In: K. S. Sree, & A. Varma, *Biocontrol of Lepidopteran Pests*. Switzerland: Springer, 43, 1-10.
- Stowell, L. J. (1991). Submerged Fermentation of Biological Herbicides. In: D. O. TeBeest, *Microbial Control of Weeds*. Boston: Springer, 225-261.
- Talwar, B. H. (2005). Isolation and characterization of entomopathogenic fungi and their effectiveness. *Ph.D. Thesis, In Agricultural Entomology, Department of Agricultural Microbiology*. Dharwad.
- Telles, D. M., Martineli, G. M., Scaloppi, M. F., Luz, M. P., Kadri, S. M., & Orsi, R. O. (2020). Natural Products can Efficiently Control the Greater Wax Moth (Lepidoptera: Pyralidae), but are Harmless to Honey Bees. *Sociobiology*, 67(1), 89-93.
- Tumuhaise, V., Ekesi, S., Maniania, N., Tonnang, H., C. T., Ndegwa, P., Mohamed, S. (2018). Temperature-dependent growth and virulence, and mass production potential of two candidate isolates of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin for managing *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) on cowpea. *African Entomology*, 26(1), 73-83.

- Türümen, Y. U., & Karaca, İ. (2020). Farklı Besin ve Uçucu Yağların *Bombus terrestris*'in Yönelimine Etkisi. *Türk Bilim ve Mühendislik Dergisi*, 2(1), 6-11.
- URL-1. (2025, Nisan 17). <https://biochemtech.eu/products/the-greater-wax-moth-galleria-mellonella> adresinden alınmıştır.
- Uygur, Ş. Ö., & Girişgin, A. O. (2008). Bal Arısı Hastalık ve Zararlıları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 8(4), 130-142.
- Vakalounakis, D. J., & Christias, C. (1981). Sporulation in *Alternaria cichorii* is controlled by a blue and near ultraviolet reversible photoreaction. *Canadian Journal of Botany*, 59(5), 626-628.
- Vega, F. E., Meyling, N. V., Luangsa-ard, J. J., & Blackwell, M. (2012). Fungal Entomopathogens. In: F. E. Vega, & H. K. Kaya, *Insect Pathology (Second Edition)*. Academic Press, Elsevier, 171-220.
- Vijayakumar, K. T., Neethu, T., Shabarishkumar, S., Taredahalli, N., Madhu, K. V., Bhat, N. S., & Kuberappa, G. C. (2019). Survey, biology and management of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. in Southern Karnataka, India. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7(4), 585-592.
- Villamizar, L., Barrera, G., Cotes, A. M., & Martínez, F. (2010). Eudragit S100 microparticles containing *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus: physicochemical characterization, photostability and in vitro virus release. *Journal of Microencapsulation*, 27(4), 314-324.
- Wraight, S. P., Jackson, M. A., & Koc, S. L. (2001). Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. In: T. M. Butt, C. Jackson, & N. Magan, *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*. Wallingford: CABI Publishing, 253-287.
- Xavier-Santos, S., Lopes, R. B., & Faria, M. (2011). Emulsifiable oils protect *Metarhizium robertsii* and *Metarhizium pingshaense* conidia from imbibitional damage. *Biological Control*, 261-267.
- Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553-596.

ÖZGEÇMİŞ

İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Mersin’de tamamladı. 2018-2022 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nde lisans öğrenimi gördü. 2022-2023 öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve hâlen burada öğrencidir. Yabancı dili İngilizcedir.

